



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105884900 A

(43) 申请公布日 2016. 08. 24

(21) 申请号 201510472421. 9

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2012. 04. 19

C07K 16/46(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

(30) 优先权数据

61/477, 089 2011. 04. 19 US

61/539, 297 2011. 09. 26 US

61/558, 192 2011. 11. 10 US

61/619, 244 2012. 04. 02 US

(62) 分案原申请数据

201280028639. X 2012. 04. 19

(71) 申请人 梅里麦克制药股份有限公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 J·鲍姆 B·约翰逊

A·A·卢戈夫斯科 徐俐晖

N·科利 J·B·费兹格拉德

S·亚当斯

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

代理人 陈文平 徐志明

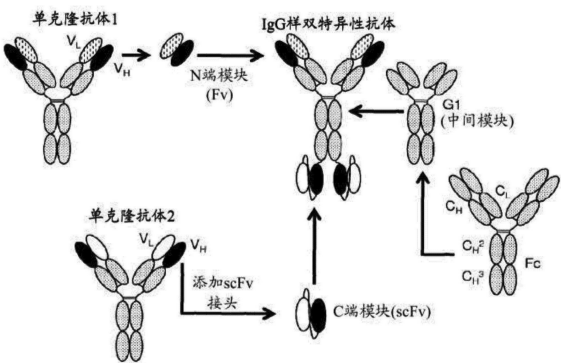
权利要求书2页 说明书142页 附图137页

(54) 发明名称

单特异性和双特异性抗 IGF-1R 和抗 ERBB3 抗体

(57) 摘要

本文提供适用作抗赘生剂且特异性结合人 IGF-1R 和人 ErbB3 的新颖单特异性和双特异性抗体。示例性抗体抑制经由 IGF-1R 和 ErbB3 中的任一者或两者进行的信号转导。示例性多价蛋白质包含至少一个抗 IGF-1R 结合位点和至少一个抗 ErbB3 结合位点。在某些实施方案中,结合位点可经由免疫球蛋白恒定区连接。还提供新颖抗 ErbB3 和抗 IGF-1R 抗体(例如,单克隆抗体)。



1. 一种多价双特异性抗体 (PBA), 所述抗体为包含两对多肽链的蛋白质, 所述两对中的各对包含通过至少一个重链-轻链键联结于轻链的重链; 其中

各对包含至少一个抗 IGF-1R 结合位点和至少一个抗 ErbB3 结合位点; 且

各对包含含有所述 PBA 的所述重链的 N 端部分和所述 PBA 的所述轻链的 N 端部分的第一结合位点以及为完全由所述 PBA 的所述重链包含的 C 端 scFv 的第二结合位点, 所述 C 端 scFv 含有通过 scFv 接头联结于轻链可变区的重链可变区; 且

所述抗 IGF-1R 结合位点经由由所述 PBA 的所述重链包含的重链免疫球蛋白 (HC Ig) 恒定区连接于所述抗 ErbB3 结合位点, 且

所述两对由各对的所述 HC Ig 恒定区之间的至少一个键联接, 且

(i) 所述抗 IGF-1R 结合位点包含重链可变 (VH) 结构域, 所述重链可变 (VH) 结构域包含一组三个 VH 互补决定区 (CDR), 所述 VH 互补决定区 (CDR) 包含 (a) 具有包含选自 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:8-31 和 SEQ ID NO:384-385 组成的组的 SEQ ID NO 的氨基酸序列的氨基酸序列的重链的 VHCDR1 (氨基酸编号 26-35)、VHCDR2 (氨基酸编号 51-66) 和 VHCDR3 (氨基酸编号 99-111); 或 (b) 一组三个 VH 互补决定区 (CDR), 所述 VH 互补决定区 (CDR) 包含含有 SEQ ID NO:302 的 VHCDR1、含有 SEQ ID NO:303 的 VHCDR2 和含有 SEQ ID NO:304 的 VHCDR3; 和轻链可变 (VL) 结构域, 所述轻链可变 (VL) 结构域包含一组三个 VLCDR, 所述 VLCDR 包含 (c) 具有包含选自 SEQ ID NO:2-3、SEQ ID NO:32-133 和 SEQ ID NO:386-387 组成的组的 SEQ ID NO 的氨基酸序列的氨基酸序列的轻链的 VLCDR1 (氨基酸编号 24-34)、VLCDR2 (氨基酸编号 50-56) 和 VLCDR3 (氨基酸编号 89-97); 或 (d) 一组三个 VLCDR, 所述 VLCDR 包含含有 SEQ ID NO:305 的 VLCDR1、含有 SEQ ID NO:306 的 VLCDR2 和含有 SEQ ID NO:307 或 SEQ ID NO:308 的 VLCDR3, 且

各 CDR 进一步包含氨基端和羧基端, 其中各组 CDR 的所述 CDR 在相应重链或轻链中按 CDR1、CDR2 和 CDR3 的线性氨基至羧基顺序排列, 且

(ii) 所述抗 ErbB3 结合位点包含重链可变 (VH) 结构域, 所述重链可变 (VH) 结构域包含一组三个 VH CDR, 所述 VH CDR 包含 (e) 具有包含选自 SEQ ID NO:4-5、SEQ ID NO:134-165 和 SEQ ID NO:388 组成的组的 SEQ ID NO 的氨基酸序列的氨基酸序列的重链的 VHCDR1 (氨基酸编号 26-35)、VHCDR2 (氨基酸编号 51-66) 和 VHCDR3 (氨基酸编号 99-111); 或 (f) 一组三个 VH CDR, 所述 VH CDR 包含含有 SEQ ID NO:309 的 VHCDR1、含有 SEQ ID NO:310 的 VHCDR2 和含有 SEQ ID NO:311 的 VHCDR3; 和轻链可变 (VL) 结构域, 所述轻链可变 (VL) 结构域包含一组三个 VLCDR, 所述 VLCDR 包含 (g) 具有包含选自 SEQ ID NO:6-7 和 SEQ ID NO:166-200 组成的组的 SEQ ID NO 的氨基酸序列的氨基酸序列的轻链的 VLCDR1 (氨基酸编号 23-33)、VLCDR2 (氨基酸编号 49-55) 和 VLCDR3 (氨基酸编号 88-98); 或 (h) 轻链可变 (VL) 结构域, 所述轻链可变 (VL) 结构域包含一组三个 VLCDR, 所述 VLCDR 包含含有 SEQ ID NO:312 的 VLCDR1、含有 SEQ ID NO:313 的 VLCDR2 和含有 SEQ ID NO:314 或 SEQ ID NO:315 的 VLCDR3, 且

各 CDR 进一步包含氨基端和羧基端, 其中各组 CDR 的所述 CDR 在所述抗体中按 CDR1、CDR2 和 CDR3 的线性氨基至羧基顺序排列,

且

(iii) 其中所述 PBA 不包含以下两者: (a) 包含含有 SEQ ID NO:35 的轻链和含有 SEQ

ID NO:11 的重链的抗 IGF-1R 模块,和 b) 包含含有 SEQ ID NO:175 的轻链和含有 SEQ ID NO:145 的重链的抗 ErbB3 模块。

2. 如权利要求 1 所述的多价双特异性抗体,其中所述抗 IGF-1R VLCDR3 包含 SEQ ID NO:308 或所述抗 ErbB3VLCDR3 包含 SEQ ID NO:315。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的多价双特异性抗体,其中所述两对多肽链具有基本上一致的序列。

4. 如权利要求 1 至 3 中任一项所述的多价双特异性抗体,其中所述 HC Ig 恒定区之间的所述至少一个键中的至少一者为二硫键或所述至少一个重链-轻链键中的至少一者为二硫键。

5. 如权利要求 1 至 3 中任一项所述的多价双特异性抗体,其中所述 HC Ig 恒定区之间的所述至少一个键中的至少一者为范德华键 (van der Waals bond) 或所述至少一个重链-轻链键中的至少一者为范德华键。

6. 如权利要求 1 至 5 中任一项所述的多价双特异性抗体,其中所述抗 ErbB3 结合位点为所述 C 端 scFv。

7. 如权利要求 1 至 5 中任一项所述的多价双特异性抗体,其中所述抗 IGF-1R 结合位点为所述 C 端 scFv。

8. 如权利要求 1 至 7 中任一项所述的多价双特异性抗体,其中所述抗 IGF-1R 结合位点、所述 HC Ig 恒定区和所述抗 ErbB3 结合位点包含由单一连续多肽链包含的那一对的所述重链。

9. 如权利要求 1 至 8 中任一项所述的多价双特异性抗体,其:

(i) 在体外在 $1\mu\text{M}$ 或 $1\mu\text{M}$ 以下、或 100nM 或 100nM 以下、或 10nM 或 10nM 以下、或 1nM 或 1nM 以下的浓度下抑制肿瘤细胞生长,或

ii) 如 pErbB3 和 pIGF-1R 中任一者或两者磷酸化的抑制所指示,以 10nM 或 10nM 以下、或 1nM 或 1nM 以下、或 100pM 或 100pM 以下的 IC_{50} ,或至少 70%、或至少 80%、或至少 90% 的最大抑制百分比抑制异调蛋白 (heregulin) 和 IGF1 诱导的信号转导中的任一者或两者。

10. 如权利要求 9 所述的多价双特异性抗体,其中生长抑制在培养物中在 DU145 细胞中以 CTG 测定进行测量。

单特异性和双特异性抗 IGF-1R 和抗 ERBB3 抗体

[0001] 本申请是申请日为 2012 年 04 月 19 日和发明名称为“单特异性和双特异性抗 IGF-1R 和抗 ERBB3 抗体”的 201080028639.X 号发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求 2011 年 4 月 19 日提交的美国临时申请号 61/477,089、2011 年 9 月 26 日提交的美国临时申请号 61/539,297、2011 年 11 月 10 日提交的美国临时申请号 61/558,192 和 2012 年 4 月 2 日提交的美国临时申请号 61/619,244 的优先权。在允许的情况下,前述申请各自的全文以引用的方式并入本文用于任何及所有目的。

[0004] 序列表

[0005] 本申请含有序列表,所述序列表以 ASCII 格式通过 EFS-Web 提交并且由此全文以引用的方式并入本文。所述 ASCII 拷贝创建于 2012 年 4 月 5 日,名称为 1141PC01.txt 并且大小为 950,611 比特。

[0006] 背景

[0007] 肿瘤细胞表达刺激细胞增殖的生长因子和细胞因子的受体。针对所述受体的抗体可有效阻断由生长因子和细胞因子介导的细胞增殖刺激,且可由此抑制肿瘤细胞增殖和肿瘤生长。靶向癌细胞上的受体的市售治疗性抗体包括例如曲妥珠单抗 (trastuzumab),其靶向 HER2 受体 (也称为 ErbB2),用于治疗乳腺癌;和西妥昔单抗 (cetuximab),其靶向表皮生长因子受体 (EGFR,也称为 HER1 或 ErbB1),用于治疗结肠直肠癌和头颈癌。

[0008] 单克隆抗体已显著提高我们治疗癌症的能力,然而临床研究显示许多患者对单特异性疗法反应并不充分。这部分归因于癌症的多基因性质,其中癌细胞依赖于多种且通常冗余的增殖路径。能够一次阻断多种生长和存活路径的双特异性或多特异性抗体有可能更好地满足阻断癌症生长的挑战,并且实际上其中多种正在进行临床开发。然而,双特异性抗体因在其设计和优化中需要考虑的变量的数量大为增加以及其与天然存在的抗体的结构差异而存在实质性设计难题。

[0009] 单克隆抗体如曲妥珠单抗、西妥昔单抗、贝伐单抗 (bevacizumab) 和盘尼图单抗 (panitumumab) 在临床上已显著改善患者结果,且当前在临床开发中有超过两百种治疗性单克隆抗体正在进行测试。然而,显而易见受单个致癌基因促成的肿瘤并非常态,并且治疗通常导致抗性机制活化,这转而还需要靶向介入。举例来说,在曲妥珠单抗抗性的多种临床前模型中,抑制 IGF-1R 使对曲妥珠单抗的敏感性恢复。已在临床上尝试靶向剂的组合,但迄今为止其仅获得有限的临床成功并且组合时可能过于昂贵。因抗性或因肿瘤受多个生长因子路径促成而需要抑制多个靶标使得对双特异性抗体的关注增加。当前开发的双特异性抗体通常以经验方式设计。此外,这些双特异性抗体的药用性质几乎总是不如单克隆抗体。这些因素造成开发双特异性抗癌疗法的主要难题。由靶向多种癌症存活路径获得的重要附加效益可由在鉴别和工程改造具有最佳特征的双特异性抗体之前增加的工作得出。其需要由计算模拟以鉴别最佳靶向策略和设计规格、工程改造具有这些特征的抑制剂和实验验证治疗假设组成的叠代方法。我们将此工程改造框架分为两个类别:选择具有稳固药用性质的适当分子格式,和计算模拟以鉴别最佳靶标和最佳治疗设计特征,例如在 IgG 样双特异

性抗体中（图 8）。

[0010] 抗体的一个主要优势为其紧密结合几乎任何细胞外靶标的能力。此性质由抗体可变区 (VR) 的两个特征促成：六个互补决定区 (CDR) 的大平坦表面和抗体实际上具有可同时靶向两个分子的两个结合臂。在双特异性抗体中，双重靶标结合导致更紧密亲和力，这是因为一旦抗体一个臂结合于细胞外靶标，第二臂即被局限于质膜上方的狭窄区域（约 100 埃）且因此在细胞表面附近浓缩。这产生快得多的次级结合事件，所述事件不受扩散限制。需要对次级结合事件进行加速。亲和力和亲合性均为可合理工程改造的性质，因为前者可经由计算机化亲和力成熟进行改良且后者可通过工程改造针对细胞表面上存在的相同或不同抗原的其它靶向臂而增强。除结合能力外，抗体还可具有由其 Fc 结构域介导的多种效应功能：在人中通过与活化型 Fc γ RI、Fc γ RIIa/c、Fc γ RIIIa 和抑制性 Fc γ RIIb 受体相互作用而确定的抗体依赖性细胞毒性 (ADCC) 和抗体依赖性细胞吞噬作用 (ADCP)；由抗体结合于补体系统的组分而触发的补体依赖性细胞毒性 (CDC)；和经由新生儿 Fc 受体 (FcRn) 的主动再循环而介导的长半衰期。所有这些功能均可调节以使抗癌疗法的有效性优化且可保留以有益于双特异性蛋白质。

[0011] 由 IgG 抗体的重链可变结构域 (VH) 和轻链可变结构域 (VL) 构成的可变片段 (Fv) 为显示完整抗原结合的最小抗体片段。这些可变结构域可成功地融合成单链构建体 (scFv)，不过亲和力与完整原生抗体相比通常在一定程度上降低。大部分当前双特异性格式的特征在于一个或若干个 scFv 模块经由低复杂度接头连接于 IgG 重链或 IgG 轻链的 N 端或 C 端。另一双特异性抗体格式为双可变结构域免疫球蛋白 (DVD-Ig)。DVD-Ig 由在 N 端有第二 VH 结构域经由短接头连接的第一 IgG 重链和在 N 端有第二 VL 结构域类似地连接的第一 IgG 轻链组成。第二 VH/VL 结构域形成对一种抗原具有特异性的对，而第一 VH/VL 形成对不同抗原具有特异性的单独结合位点。

[0012] IgG 样抗体的二价格式具有一个潜在限制；其可交联细胞表面抗原，所述抗原中的一些会因二聚化而活化，从而以不受控方式触发不当信号传导事件。为解决此难题，已开发出可调节单价双特异性抗体格式。通过将不对称“钮-孔 (knobs and holes)”并入 Fc 片段中产生的单臂抗 c-Met 治疗性抗体 MetMab 已显示在胰腺癌模型中有效且正在多个临床试验中进行研究。最近已对此“钮-孔”格式进行扩充以并入靶向 EGFR 的抗体片段，产生靶向 EGFR/ErbB1 和 c-Met/HGFR 的功能性单价双特异性蛋白质。Gunasekaran 等已描述通过将互补性带电表面工程改造至 Fc 片段中实施的“钮-孔”构想的替代实施方案。Davis 等已描述“SEED”方法，其使用含有来自人 IgG 和 IgA 的片段的修饰的不对称 Fc 来形成异聚单价抗体。最后，Bostrom 等已描述构建可以高亲和力结合 HER2 或 VEGF 的双功能 Fab 片段的新颖工程改造方法。在组合于典型抗体分子中时，这些 Fab 片段将以不同价数啮合 HER2 或 VEGF，所述价数将取决于细胞环境和生长因子浓度。

[0013] 双特异性抗体设计的另一重要组分为药用性质的优化。为在临床上适用，治疗性蛋白质须稳定，保持长时间可溶且具有稳固的可制造性概况。双特异性抗体通常不如单克隆抗体稳定，且最初可能不具有足以用于开发的药用性质。其可经由分子工程改造、经由下游配制活动或如最通常所实施的经由两种方法的组合加以稳定化。

[0014] 已长期认识到使小分子药物候选物中的化学制造和控制不利条件降至最低的重要性并且已提出预测药物相似性的准则。许多组使用概念上类似的方法通过评估以下不

利序列特征来评定基于 IgG 的蛋白质的适合性：如非典型二硫键和未配对半胱氨酸、另外的糖基化位点、酪氨酸硫酸化基元、溶剂可接近的甲硫氨酸、天冬酰胺去酰胺化基元和酸裂解位点。另外的糖基化位点和天冬酰胺去酰胺化位点为天然抗体序列中十分常见的特征。实际上据报导，超过 20% 的重链可变结构域被糖基化且超过 5% 的生殖系基因含有天冬酰胺-甘氨酸去酰胺化基元。抗体中的去酰胺化速率可使用 Robinson 提出的方法可靠地估算，Robinson 提出结构限制性环形成丁二酰亚胺中间体的效率并不高且因此为稳定的。

[0015] 虽然典型 N 连接型糖基化基元 (NXS 和 NXT, 其中 X 为除脯氨酸以外的任何氨基酸) 可在抗体序列中容易地检测到, 但 O 连接型位点 (其因也可以负面影响药用性质而为不利条件) 较难以识别。最近已报导抗体轻链可变结构域的若干 O 连接型修饰, 主要在富含 GS 的序列基元附近。存在在发现阶段改良候选蛋白质的亲和力和稳定性的许多方法, 包括结构指导的设计、聚焦文库筛选和酵母展示; 因此, 我们发现在早期概念验证蛋白质中移除具有风险的所述潜在不利条件为有益的。

[0016] 其它不利条件, 如聚集和免疫原性根据工程改造的观点更具挑战性。所述两种性质不仅为多方面性质, 而且还难以在小规模生物化学和生物物理学测试中对其进行充分评估, 且因此其倾向于首先在开发的后期检测。如所证明, 降低抗体免疫原性的最佳方法为进行人源化。此方法已由多种在临床上良好耐受的人源化抗体广泛验证。最近提出的“超人源化”方法将人生殖系序列引入 CDR 中以产生‘完全人’抗体。此方法需要将 CDR 中的各氨基酸 (“aa”) 突变以便确定其在抗原结合中的贡献; 所得抗体可具有较低免疫原性。除基于序列的特征外, 抗体和抗体样蛋白质的免疫原可取决于其聚集稳定性。有趣的是, 抗体模块 (诸如 scFv) 中的“人性”和稳定性可经由在知识基础上的方法共同工程改造。

[0017] 蛋白质抗体溶解性的工程改造为另一项令人生畏的任务, 因为所述性质还综合涉及若干项物理-化学参数。然而, 已提出多种减轻不溶性的方法。Pepinsky 等使用糖基工程改造、同型转换和结构指导的诱变来增强单克隆抗体的溶解性。Chennamsetty 等已描述依赖于分子动力学模拟来计算称为表面聚集倾向的参数, 从而相对于聚集改良溶解性的无偏方法, 并且应用此技术在抗体的易聚集区中引入稳定化氨基酸 (“aas”)。有趣的是, 在其抗体分析中, 易聚集区通常与赋予 Fc 受体或抗原结合的功能上重要的区共定位, 并且因此不能轻易移除。

[0018] 抗体中分子功能与药用性质之间的这种联系为常见的。其可使得双特异性抗体的优化变得极为复杂, 因为其序列的甚至更大的部分也位于功能上重要的区中。因此, 为能够成功进行工程改造, 鉴别关键分子功能和最佳设计特征为重要的。

[0019] 计算模拟以鉴别最佳靶标和最佳治疗设计特征

[0020] 计算模拟为在实验室和临床上指导药物开发决定的极有用工具。群体药物动力学模拟为使用模型来优化剂量时程和临床试验设计的成熟实例。对于具有已知靶标的疗法, 可在设计过程中的极早期利用计算模拟。多任务高通量定量蛋白质测量技术的进展使得能够观测细胞信号传导网络中存在的复杂动力学。这些数据允许建立捕捉与诸如癌症等疾病相关的生物系统的机理行为的网络模型。通过经由网络建模模拟潜在治疗剂, 可以加快的速度设计更有效的治疗剂和更精确地预测设计参数。

[0021] 传统上, 用于靶向疗法的药用药剂的选择始于自大量分子、生物学和生理学数据选择的已知靶标。然而, 甚至在已充分研究和大量靶向的生物系统中, 仍存在新发现的机

会,其可自模拟路径或网络模型得到帮助。

[0022] 因此,用于癌症治疗的其它治疗方法,并且尤其是经过工程改造以具有优良生物物理学和治疗性质的基于多特异性抗体的蛋白质难以获得,但对其仍有需要以克服当前抗体疗法的限制和提供其它效益。

[0023] 概述

[0024] 本文提供多价双特异性抗体 (PBA),所述抗体为包含两对多肽链的蛋白质,所述两对中的各对包含重链通过至少一个重链-轻链键联结于轻链;其中 (a) 各对包含至少一个抗 IGF-1R 结合位点和至少一个抗 ErbB3 结合位点;和 (b) 各对包含含有 PBA 重链的 N 端部分和 PBA 轻链的 N 端部分的第一结合位点,和为完全由 PBA 的重链包含的 C 端 scFv 的第二结合位点,所述 C 端 scFv 含有重链 VR 通过 scFv 接头联结于轻链 VR;且抗 IGF-1R 结合位点经由由 PBA 的重链包含的重链免疫球蛋白 (HC Ig) 恒定区 (CR) 连接于抗 ErbB3 结合位点,且所述两对由各对的 HC Ig CR 之间的至少一个键联接。在优选实施方案中,抗 IGF-1R 结合位点包含重链可变 (VH) 结构域,所述重链可变 (VH) 结构域包含一组三个 VH 互补决定区 (CDR),所述 CDR 包含 (a) 具有包含选自 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:8-31 和 SEQ ID NO:384-385 组成的组的 SEQ ID NO(中所示)的氨基酸序列的氨基酸序列的重链的 VHCDR1(氨基酸编号 26-35)、VHCDR2(氨基酸编号 51-66) 和 VHCDR3(氨基酸编号 99-111);或 (b) 一组三个 VH 互补决定区 (CDR),所述 CDR 包含含有 SEQ ID NO:302 的 VHCDR1、含有 SEQ ID NO:303 的 VHCDR2 和含有 SEQ ID NO:304 的 VHCDR3,和轻链可变 (VL) 结构域,所述轻链可变 (VL) 结构域包含一组三个 VLCDR,所述 VLCDR 包含 (c) 具有包含选自 SEQ ID NO:2-3、SEQ ID NO:32-133 和 SEQ ID NO:386-387 组成的组的 SEQ ID NO 的氨基酸序列的氨基酸序列的轻链的 VLCDR1(氨基酸编号 24-34)、VLCDR2(氨基酸编号 50-56) 和 VLCDR3(氨基酸编号 89-97);或 (d) 一组三个 VLCDR,所述 VLCDR 包含含有 SEQ ID NO:305 的 VLCDR1、含有 SEQ ID NO:306 的 VLCDR2 和含有 SEQ ID NO:307 或 SEQ ID NO:308 的 VLCDR3,且各 CDR 进一步包含氨基端和羧基端,其中各组 CDR 的 CDR 在相应重链或轻链中按 CDR1、CDR2 和 CDR3 的线性氨基至羧基顺序排列,或其中 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 的序列包含独立地表示在图 1 中的相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸,且 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 的序列包含独立地表示在图 2 中的相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸,条件为 PBA(i) 不包含抗 IGF-1R SF 模块与抗 ErbB3C8 模块两者;或 (ii) 包含一个或多个氨基酸分别不同于 SF 或 C8 模块的 CDR 或 FR 的至少一个 CDR 或 FR。在某些实施方案中,抗 ErbB3 结合位点包含 VH 结构域,所述 VH 结构域包含一组三个 VH CDR,所述 CDR 包含 (e) 具有包含选自 SEQ ID NO:4-5、SEQ ID NO:134-165 和 SEQ ID NO:388 组成的组的 SEQ ID NO 的氨基酸序列的氨基酸序列的重链的 VHCDR1(氨基酸编号 26-35)、VHCDR2(氨基酸编号 51-66) 和 VHCDR3(氨基酸编号 99-111);或 (f) 一组三个 VH CDR,所述 CDR 包含含有 SEQ ID NO:309 的 VHCDR1、含有 SEQ ID NO:310 的 VHCDR2 和含有 SEQ ID NO:311 的 VHCDR3,和轻链可变 (VL) 结构域,所述轻链可变 (VL) 结构域包含一组三个 VLCDR,所述 VLCDR 包含 (g) 具有包含选自 SEQ ID NO:6-7 和 SEQ ID NO:166-200 组成的组的 SEQ ID NO 的氨基酸序列的氨基酸序列的轻链的 VLCDR1(氨基酸编号 23-33)、VLCDR2(氨基酸编号 49-55) 和 VLCDR3(氨基酸编号 88-98);或 (h) 轻链可变 (VL) 结构域,所述轻链可变 (VL) 结构域包含一组三个 VLCDR,所述 VLCDR 包含含有 SEQ ID NO:312 的 VLCDR1、含有 SEQ ID NO:313 的 VLCDR2 和

含有 SEQ ID NO:314 或 SEQ ID NO:315 的 VLCDR3,且各 CDR 进一步包含氨基端和羧基端,其中各组 CDR 的 CDR 在抗体中按 CDR1、CDR2 和 CDR3 的线性氨基至羧基顺序排列,或其中 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 的序列包含独立地表示在图 3 中的相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸,且 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 的序列包含独立地表示在图 4 中的相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸,其中 PBA(i) 不包含含有包含 SEQ ID NO:35 的轻链和包含 SEQ ID NO:11 的重链的抗 IGF-1R 模块和 b) 含有包含 SEQ ID NO:175 的轻链和包含 SEQ ID NO:145 的重链的抗 ErbB3C8 模块。在某些实施方案中,抗 IGF-1R VLCDR3 包含 SEQ ID NO:308 或抗 ErbB3 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:315。在某些实施方案中,两对多肽链具有基本上一致的序列。HC Ig CR 键之间的至少一个键中的至少一者为二硫键且可为二硫键或范德华键 (van der Waals bond),或所述至少一个重链-轻链键中的至少一者为二硫键且可为二硫键或范德华键。在某些实施方案中,抗 ErbB3 结合位点为 C 端 scFv,且在某些实施方案中,抗 IGF-1R 结合位点为 C 端 scFv。PBA 的抗 IGF-1R 结合位点、HC Ig CR 和抗 ErbB3 结合位点可包含由单一连续多肽链包含的那一对的重链。

[0025] PBA 可 (i) 在体外在 $1\mu\text{M}$ 或 $1\mu\text{M}$ 以下、或 100nM 或 100nM 以下、或 10nM 或 10nM 以下、或 1nM 或 1nM 以下的浓度下抑制肿瘤细胞的生长,或 ii) 以 10nM 或 10nM 以下、或 1nM 或 1nM 以下、或 100pM 或 100pM 以下的 IC_{50} ,或至少 70%、或至少 80%、或至少 90% 的最大抑制百分比抑制异调蛋白 (heregulin) 和 IGF1 诱导的信号转导中的任一者或两者,如 pErbB3 和 pIGF-1R 中的任一者或两者磷酸化的抑制所指示。生长抑制可在培养物中在 DU145 细胞中以 CTG 测定进行测量。信号转导的抑制可在培养物中在 BxPC-3 细胞中以 80ng/ml 的 IGF-1 和 20ng/ml 的异调蛋白刺激 15 分钟后测定。

[0026] 在某些实施方案中,PBA 的各 HC Ig CR 包含介导与另一对的 CH3 结构域接合的 CH3 结构域。各 HC Ig CR 还可包含 CH2 结构域、铰链和 CH1 结构域。在某些实施方案中,PBA 的 CH1 结构域以其 C 端连接于铰链的 N 端,所述铰链以其 C 端连接于 CH2 结构域的 N 端,所述 CH2 结构域以其 C 端连接于 CH3 结构域的 N 端。

[0027] 各第一结合位点可包含第一 VH 结构域,且 PBA 的各 CH1 结构域可以其 N 端连接于第一 VH 结构域的 C 端。PBA 的各 CH3 结构域可以其 C 端连接于 scFv 的 N 端。PBA 的各 CH3 结构域可以其 C 端连接于连接型接头的 N 端,所述接头以其 C 端连接于 scFv 的 N 端。各轻链可包含第一 VL 结构域,所述第一 VL 结构域与第一 VH 结构域缔合形成第一结合位点。各第一 VL 结构域可以其 C 端连接于 CL 结构域的 N 端。各第一结合位点可为抗 IGF-1R 结合位点且各 scFv 可为抗 ErbB3scFv。各第一结合位点可为抗 ErbB3 结合位点且各 scFv 可为抗 IGF-1R scFv。PBA 的 HC Ig CR 可为 IgG CR,例如 IgG1 或 IgG2CR。

[0028] 在某些实施方案中,PBA 的抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:8 的相应 CDR 的氨基酸序列,且 PBA 的抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:32 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中,PBA 的抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:9 的相应 CDR 的氨基酸序列,且 PBA 的抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:33 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中,PBA 的抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:10 的相应 CDR 的氨基酸序列,且 PBA 的抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:34 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中,PBA 的抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:11 的相应 CDR 的氨基酸序列,且 PBA

的抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:35 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:8 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且 PBA 的抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:33 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:10 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且 PBA 的抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:32 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0029] 在某些实施方案中, PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:134 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:166 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:135 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:167 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:168 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:137 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:138 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:170 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:139 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:171 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:140 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:172 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:141 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:173 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:142 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:174 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:143 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:175 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0030] 在某些实施方案中, PBA 的抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:8 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:32 的相应 CDR 的氨基酸序列; 且 (a) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:134 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:166 的相应 CDR 的氨基酸序列; 或 (b) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:135 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:167 的相应 CDR 的氨基酸序列; 或 (c) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID

NO:168 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (d) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:137 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (e) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:138 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:170 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (f) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:139 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:171 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (g) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:140 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:172 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (h) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:141 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:173 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (i) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:142 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:174 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (j) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:143 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:175 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (k) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0031] 在某些实施方案中, PBA 的抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:9 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:33 的相应 CDR 的氨基酸序列; 且 (a) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:134 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:166 的相应 CDR 的氨基酸序列; 或 (b) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:135 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:167 的相应 CDR 的氨基酸序列; 或 (c) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:168 的相应 CDR 的氨基酸序列; 或 (d) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:137 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列; 或 (e) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:138 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:170 的相应 CDR 的氨基酸序列; 或 (f) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:139 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:171 的相应 CDR 的氨基酸序列; 或 (g) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:140 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:172 的相应 CDR 的氨基酸序列; 或 (h) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:141 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:173 的相应 CDR 的氨基酸序列; 或 (i) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:142 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:174 的相应 CDR 的氨基酸序列; 或 (j) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:143 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包

含 SEQ ID NO:175 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (k) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0032] 在某些实施方案中, PBA 的抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:10 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:34 的相应 CDR 的氨基酸序列 ; 且 (a) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:134 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:166 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (b) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:135 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:167 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (c) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:168 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (d) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:137 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (e) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:138 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:170 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (f) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:139 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:171 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (g) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:140 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:172 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (h) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:141 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:173 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (i) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:142 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:174 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (j) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:143 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:175 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (k) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0033] 在某些实施方案中, PBA 的抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:11 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:35 的相应 CDR 的氨基酸序列 ; 且 (a) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:134 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:166 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (b) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:135 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:167 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (c) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:168 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (d) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:137 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (e) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ

ID NO:138 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:170 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (f) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:139 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:171 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (g) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:140 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:172 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (h) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:141 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:173 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (i) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:142 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:174 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (j) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0034] 在某些实施方案中, PBA 的抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:8 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:33 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;且 (a) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:134 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:166 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (b) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:135 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:167 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (c) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:168 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (d) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:137 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (e) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:138 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:170 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (f) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:139 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:171 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (g) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:140 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:172 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (h) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:141 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:173 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (i) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:142 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:174 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (j) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:143 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:175 的相应 CDR 的氨基酸序列 ;或 (k) PBA 的抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0035] 在某些实施方案中, PBA 的抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:10 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:32

的相应 CDR 的氨基酸序列 ; 且 (a) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:134 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:166 的相应 CDR 的氨基酸序列 ; 或 (b) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:135 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:167 的相应 CDR 的氨基酸序列 ; 或 (c) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:168 的相应 CDR 的氨基酸序列 ; 或 (d) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:137 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列 ; 或 (e) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:138 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:170 的相应 CDR 的氨基酸序列 ; 或 (f) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:139 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:171 的相应 CDR 的氨基酸序列 ; 或 (g) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:140 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:172 的相应 CDR 的氨基酸序列 ; 或 (h) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:141 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:173 的相应 CDR 的氨基酸序列 ; 或 (i) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:142 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:174 的相应 CDR 的氨基酸序列 ; 或 (j) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:143 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:175 的相应 CDR 的氨基酸序列 ; 或 (k) PBA 的抗 ErbB3 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列且 PBA 的抗 ErbB3 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0036] 在某些实施方案中, PBA 的各抗 IGF-1R 结合位点包含含有 SEQ ID NO:1 的序列的 VH 结构域, 其中所述序列包含独立地表示在图 1 中的相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸, 和 / 或 PBA 的各抗 IGF-1R 结合位点包含含有 SEQ ID NO:2 (或 3) 的序列的 VL 结构域, 其中所述序列包含独立地表示在图 2 中的相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸。

[0037] 在某些实施方案中, PBA 的各抗 ErbB3 结合位点包含含有 SEQ ID NO:4 (或 5) 的序列的 VH 结构域, 其中所述序列包含独立地表示在图 3 中的相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸, 和 / 或 PBA 的各抗 ErbB3 结合位点包含含有 SEQ ID NO:6 (或 7) 的序列的 VL 结构域, 其中所述序列包含独立地表示在图 4 中的相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸。

[0038] 在某些实施方案中, PBA 的各抗 IGF-1R 结合位点包含含有 SEQ ID NO:1 的序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:2 (或 3) 的序列的 VL 结构域, 且 PBA 的各抗 ErbB3 结合位点包含含有 SEQ ID NO:4 (或 5) 的序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:6 (或 7) 的序列的 VL 结构域。

[0039] 在某些实施方案中, PBA 的各抗 IGF-1R 结合位点包含含有 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列的 VH 结构域, 其中 X1 不为 T、X2 不为 V、X6 不为 R、X8 不为 D 或 X10 不为 I, 或含有 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列的 VL 结构域, 或 PBA 的各抗 ErbB3 结合位点包含含有 SEQ ID NO:5

的氨基酸序列的 VH 结构域或含有 SEQ ID NO:7 的序列的 VL 结构域。在某些实施方案中, PBA 的各抗 IGF-1R 结合位点包含含有 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列的 VH 结构域, 其中 X1 不为 T、X2 不为 V、X6 不为 R、X8 不为 D 或 X10 不为 I, 含有 SEQ ID NO:3 的序列的 VL 结构域; 且 PBA 的各抗 ErbB3 结合位点包含含有 SEQ ID NO:5 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:7 的序列的 VL 结构域。

[0040] 在某些实施方案中, PBA 的各抗 IGF-1R 结合位点包含含有选自 SEQ ID NO:8-31 组成的组的氨基酸序列的 VH 结构域和 / 或含有选自 SEQ ID NO:32-133 组成的组的氨基酸序列的 VL 结构域, 和 / 或各抗 ErbB3 结合位点包含选自 SEQ ID NO:134-165 组成的组的 VH 氨基酸序列; 和 / 或选自 SEQ ID NO:166-200 组成的组的 VL 氨基酸序列。在某些实施方案中, (a) 各第一 VH 结构域包含选自 SEQ ID NO:8-31 组成的组的氨基酸序列, 各第一 VL 结构域包含选自 SEQ ID NO:32-133 组成的组的氨基酸序列, 各第二 VH 结构域包含选自 SEQ ID NO:134-165 组成的组的氨基酸序列且各第二 VL 结构域包含选自 SEQ ID NO:166-200 组成的组的氨基酸序列, 或 (b) 各第一 VH 结构域包含选自 SEQ ID NO:134-165 组成的组的氨基酸序列, 各第一 VL 结构域包含选自 SEQ ID NO:166-200 组成的组的氨基酸序列, 各第二 VH 结构域包含选自 SEQ ID NO:8-31 组成的组的氨基酸序列且各第二 VL 结构域由选自包含 SEQ ID NO:32-133 的组的氨基酸序列组成。

[0041] 在某些实施方案中, PBA 的各抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:8 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:32 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的各抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:9 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:33 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的各抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:34 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的各抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:11 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:35 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的各抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:8 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:33 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的各抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:32 的氨基酸序列。

[0042] 在某些实施方案中, PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:134 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:166 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:135 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:167 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:168 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:137 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:138 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:170 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:139 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:171 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:140 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:172 的氨基酸序列。在某些实施方案中,

PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:141 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:173 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:142 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:174 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:143 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:175 的氨基酸序列。在某些实施方案中, PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列。

[0043] 在某些实施方案中，PBA 的各抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:8 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:32 的氨基酸序列；且 (a)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:134 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:166 的氨基酸序列；或 (b)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:135 的氨基酸序列且 PBA 的 ErbB3 VL 结构域包含 SEQ ID NO:167 的氨基酸序列；或 (c)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:168 的氨基酸序列；或 (d)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:137 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列；或 (e)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:138 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:170 的氨基酸序列；或 (f)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:139 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:171 的氨基酸序列；或 (g)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:140 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:172 的氨基酸序列；或 (h)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:141 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3 VL 结构域包含 SEQ ID NO:173 的氨基酸序列；或 (i)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:142 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:174 的氨基酸序列；或 (j)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:143 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:175 的氨基酸序列；或 (k)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列。

[0044] 在某些实施方案中, PBA 的各抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:9 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:33 的氨基酸序列; 且 (a) PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:134 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:166 的氨基酸序列; 或 (b) PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:135 的氨基酸序列且 PBA 的 ErbB3 VL 结构域包含 SEQ ID NO:167 的氨基酸序列; 或 (c) PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:168 的氨基酸序列; 或 (d) PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:137 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列; 或 (e) PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:138 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:170 的氨基酸序列; 或 (f) PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:139 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:171 的氨基酸序列; 或 (g) PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:140 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:172 的氨基酸序列; 或 (h) PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:141 的氨基酸序列且 PBA 的各

抗 ErbB3 VL 结构域包含 SEQ ID NO:173 的氨基酸序列 ;或 (i)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:142 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:174 的氨基酸序列 ;或 (j)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:143 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:175 的氨基酸序列 ;或 (k)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列。

[0045] 在某些实施方案中,各抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列且各抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:34 的氨基酸序列 ;且 (a)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:134 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:166 的氨基酸序列 ;或 (b)PBA 的各抗 ErbB3 VH 结构域包含 SEQ ID NO:135 的氨基酸序列且 PBA 的 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:167 的氨基酸序列 ;或 (c)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:168 的氨基酸序列 ;或 (d)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:137 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列 ;或 (e)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:138 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:170 的氨基酸序列 ;或 (f)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:139 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3 VL 结构域包含 SEQ ID NO:171 的氨基酸序列 ;或 (g)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:140 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:172 的氨基酸序列 ;或 (h)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:141 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:173 的氨基酸序列 ;或 (i)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:142 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:174 的氨基酸序列 ;或 (j)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:143 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:175 的氨基酸序列 ;或 (k)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列。

[0046] 在某些实施方案中,PBA 的各抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:11 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:35 的氨基酸序列 ;且 (a)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:134 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:166 的氨基酸序列 ;或 (b)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:135 的氨基酸序列且 PBA 的 ErbB3 VL 结构域包含 SEQ ID NO:167 的氨基酸序列 ;或 (c)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:168 的氨基酸序列 ;或 (d)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:137 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列 ;或 (e)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:138 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:170 的氨基酸序列 ;或 (f)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:139 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:171 的氨基酸序列 ;或 (g)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:140 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:172 的氨基酸序列 ;或 (h)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:141 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3 VL 结构域包含 SEQ ID NO:173 的氨基酸序列 ;或 (i)PBA 的各抗 ErbB3VH 结构域

含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且 PBA 的各抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列。

[0049] 在某些实施方案中, (a) PBA 的各重链包含选自由以下组成的组的氨基酸序列: SF-G1-P1 (SEQ ID NO:212); SF-G1-M1.3 (SEQ ID NO:214); SF-G1-M27 (SEQ ID NO:216); SF-G1-P6 (SEQ ID NO:218); SF-G1-B69 (SEQ ID NO:220); P4-G1-C8 (SEQ ID NO:222); P4-G1-P1 (SEQ ID NO:224); P4-G1-M1.3 (SEQ ID NO:226); P4-G1-M27 (SEQ ID NO:228); P4-G1-P6 (SEQ ID NO:230); P4-G1-B69 (SEQ ID NO:232); M78-G1-C8 (SEQ ID NO:234); M78-G1-P1 (SEQ ID NO:236); M78-G1-M1.3 (SEQ ID NO:238); M78-G1-M27 (SEQ ID NO:240); M78-G1-P6 (SEQ ID NO:242); M78-G1-B69 (SEQ ID NO:244); M57-G1-C8 (SEQ ID NO:246); M57-G1-P1 (SEQ ID NO:248); M57-G1-M1.3 (SEQ ID NO:250); M57-G1-M27 (SEQ ID NO:252); M57-G1-P6 (SEQ ID NO:254) 和 M57-G1-B69 (SEQ ID NO:256) 和 / 或 PBA 的各轻链包含选自由以下组成的组的氨基酸序列: SF κ 轻链 (SEQ ID NO:202); P4 κ 轻链 (SEQ ID NO:204); M78 κ 轻链 (SEQ ID NO:206); 和 M57 κ 轻链 (SEQ ID NO:208); 或 (b) PBA 的各重链包含选自由以下组成的组的氨基酸序列: P1-G1-P4 (SEQ ID NO:268); P1-G1-M57 (SEQ ID NO:270); P1-G1-M78 (SEQ ID NO:272); M27-G1-P4 (SEQ ID NO:274); M27-G1-M57 (SEQ ID NO:276); M27-G1-M78 (SEQ ID NO:278); M7-G1-P4 (SEQ ID NO:280); M7-G1-M57 (SEQ ID NO:282); M7-G1-M78 (SEQ ID NO:284); B72-G1-P4 (SEQ ID NO:286); B72-G1-M57 (SEQ ID NO:288); B72-G1-M78 (SEQ ID NO:290); B60-G1-P4 (SEQ ID NO:292); B60-G1-M57 (SEQ ID NO:294); B60-G1-M78 (SEQ ID NO:296); B60-G2-M78 (SEQ ID NO:355) 和 M7-G2-M78 (SEQ ID NO:357) 和 / 或 PBA 的各轻链包含选自由以下组成的组的氨基酸序列: P1 λ 轻链 (SEQ ID NO:258); M27 λ 轻链 (SEQ ID NO:260); M7 λ 轻链 (SEQ ID NO:262); B72 λ 轻链 (SEQ ID NO:264); 和 B60 λ 轻链 (SEQ ID NO:266)。

[0050] 在某些实施方案中, (a) PBA 的各重链包含因至少一个氨基酸添加、缺失或取代而与选自由以下组成的组的氨基酸序列不同的氨基酸序列: SF-G1-P1 (SEQ ID NO:212); SF-G1-M1.3 (SEQ ID NO:214); SF-G1-M27 (SEQ ID NO:216); SF-G1-P6 (SEQ ID NO:218); SF-G1-B69 (SEQ ID NO:220); P4-G1-C8 (SEQ ID NO:222); P4-G1-P1 (SEQ ID NO:224); P4-G1-M1.3 (SEQ ID NO:226); P4-G1-M27 (SEQ ID NO:228); P4-G1-P6 (SEQ ID NO:230); P4-G1-B69 (SEQ ID NO:232); M78-G1-C8 (SEQ ID NO:234); M78-G1-P1 (SEQ ID NO:236); M78-G1-M1.3 (SEQ ID NO:238); M78-G1-M27 (SEQ ID NO:240); M78-G1-P6 (SEQ ID NO:242); M78-G1-B69 (SEQ ID NO:244); M57-G1-C8 (SEQ ID NO:246); M57-G1-P1 (SEQ ID NO:248); M57-G1-M1.3 (SEQ ID NO:250); M57-G1-M27 (SEQ ID NO:252); M57-G1-P6 (SEQ ID NO:254) 和 M57-G1-B69 (SEQ ID NO:256) 且 PBA 的各轻链包含选自由以下组成的组的氨基酸序列: SF κ 轻链 (SEQ ID NO:202); P4 κ 轻链 (SEQ ID NO:204); M78 κ 轻链 (SEQ ID NO:206); 和 M57 κ 轻链 (SEQ ID NO:208); 或 (b) PBA 的各重链包含选自由以下组成的组的氨基酸序列: SF-G1-P1 (SEQ ID NO:212); SF-G1-M1.3 (SEQ ID NO:214); SF-G1-M27 (SEQ ID NO:216); SF-G1-P6 (SEQ ID NO:218); SF-G1-B69 (SEQ ID NO:220); P4-G1-C8 (SEQ ID NO:222); P4-G1-P1 (SEQ ID NO:224); P4-G1-M1.3 (SEQ ID NO:226); P4-G1-M27 (SEQ ID NO:228); P4-G1-P6 (SEQ ID NO:230); P4-G1-B69 (SEQ ID NO:232); M78-G1-C8 (SEQ ID NO:234); M78-G1-P1 (SEQ ID NO:236); M78-G1-M1.3 (SEQ ID NO:238); M78-G1-M27 (SEQ ID NO:240);

M78-G1-P6 (SEQ ID NO:242) ;M78-G1-B69 (SEQ ID NO:244) ;M57-G1-C8 (SEQ ID NO:246) ;
M57-G1-P1 (SEQ ID NO:248) ;M57-G1-M1.3 (SEQ ID NO:250) ;M57-G1-M27 (SEQ ID NO:252) ;
M57-G1-P6 (SEQ ID NO:254) 和 M57-G1-B69 (SEQ ID NO:256) ;且 PBA 的各轻链包含因至少一个氨基酸添加、缺失或取代而与选自以下组成的组的氨基酸序列不同的氨基酸序列 :
SF κ 轻链 (SEQ ID NO:202) ;P4 κ 轻链 (SEQ ID NO:204) ;M78 κ 轻链 (SEQ ID NO:206) ;
和 M57 κ 轻链 (SEQ ID NO:208) ;或 (c) PBA 的各重链包含因至少一个氨基酸添加、缺失或取代而与选自包含以下的组的氨基酸序列不同的氨基酸序列 :P1-G1-P4 (SEQ ID NO:268) ;
P1-G1-M57 (SEQ ID NO:270) ;P1-G1-M78 (SEQ ID NO:272) ;M27-G1-P4 (SEQ ID NO:274) ;
M27-G1-M57 (SEQ ID NO:276) ;M27-G1-M78 (SEQ ID NO:278) ;M7-G1-P4 (SEQ ID NO:280) ;
M7-G1-M57 (SEQ ID NO:282) ;M7-G1-M78 (SEQ ID NO:284) ;B72-G1-P4 (SEQ ID NO:286) ;
B72-G1-M57 (SEQ ID NO:288) ;B72-G1-M78 (SEQ ID NO:290) ;B60-G1-P4 (SEQ ID NO:292) ;
B60-G1-M57 (SEQ ID NO:294) ;B60-G1-M78 (SEQ ID NO:296) ;B60-G2-M78 (SEQ ID NO:355)
和 M7-G2-M78 (SEQ ID NO:357) 且 PBA 的各轻链包含选自以下组成的组的氨基酸序列 :
P1 λ 轻链 (SEQ ID NO:258) ;M27 λ 轻链 (SEQ ID NO:260) ;M7 λ 轻链 (SEQ ID NO:262) ;
B72 λ 轻链 (SEQ ID NO:264) ;和 B60 λ 轻链 (SEQ ID NO:266) ;或 (d) PBA 的各重链包含选自包含以下的组的氨基酸序列 :P1-G1-P4 (SEQ ID NO:268) ;P1-G1-M57 (SEQ ID NO:270) ;
P1-G1-M78 (SEQ ID NO:272) ;M27-G1-P4 (SEQ ID NO:274) ;M27-G1-M57 (SEQ ID NO:276) ;
M27-G1-M78 (SEQ ID NO:278) ;M7-G1-P4 (SEQ ID NO:280) ;M7-G1-M57 (SEQ ID NO:282) ;
M7-G1-M78 (SEQ ID NO:284) ;B72-G1-P4 (SEQ ID NO:286) ;B72-G1-M57 (SEQ ID NO:288) ;
B72-G1-M78 (SEQ ID NO:290) ;B60-G1-P4 (SEQ ID NO:292) ;B60-G1-M57 (SEQ ID NO:294) ;
B60-G1-M78 (SEQ ID NO:296) ;B60-G2-M78 (SEQ ID NO:355) 和 M7-G2-M78 (SEQ ID NO:357)
且 PBA 的各轻链包含因至少一个氨基酸添加、缺失或取代而与选自以下组成的组的氨基酸序列不同的氨基酸序列 :P1 λ 轻链 (SEQ ID NO:258) ;M27 λ 轻链 (SEQ ID NO:260) ;M7 λ 轻链 (SEQ ID NO:262) ;B72 λ 轻链 (SEQ ID NO:264) ;和 B60 λ 轻链 (SEQ ID NO:266) ,其中 PBA 在至少一个氨基酸、CDR 或可变结构域方面与 16F 不同。

[0051] 在某些实施方案中, (a) 通过至少一个键结合于 PBA 的另一重链的 PBA 的各重链包含与以下氨基酸序列之一至少 90% 一致或因 1-30 个氨基酸取代、缺失和 / 或添加而与以下氨基酸序列之一不同的氨基酸序列 :SF-G1-P1 (SEQ ID NO:212) ;SF-G1-M1.3 (SEQ ID NO:214) ;SF-G1-M27 (SEQ ID NO:216) ;SF-G1-P6 (SEQ ID NO:218) ;SF-G1-B69 (SEQ ID NO:220) ;P4-G1-C8 (SEQ ID NO:222) ;P4-G1-P1 (SEQ ID NO:224) ;P4-G1-M1.3 (SEQ ID NO:226) ;P4-G1-M27 (SEQ ID NO:228) ;P4-G1-P6 (SEQ ID NO:230) ;P4-G1-B69 (SEQ ID NO:232) ;M78-G1-C8 (SEQ ID NO:234) ;M78-G1-P1 (SEQ ID NO:236) ;M78-G1-M1.3 (SEQ ID NO:238) ;M78-G1-M27 (SEQ ID NO:240) ;M78-G1-P6 (SEQ ID NO:242) ;M78-G1-B69 (SEQ ID NO:244) ;M57-G1-C8 (SEQ ID NO:246) ;M57-G1-P1 (SEQ ID NO:248) ;M57-G1-M1.3 (SEQ ID NO:250) ;M57-G1-M27 (SEQ ID NO:252) ;M57-G1-P6 (SEQ ID NO:254) 和 M57-G1-B69 (SEQ ID NO:256) , 和 (b) 通过至少一个键结合于 (a) 的一个重链的 PBA 的各轻链包含与以下氨基酸序列之一至少 90% 一致或因 1-30 个氨基酸取代、缺失和 / 或添加而与以下氨基酸序列之一不同的氨基酸序列 :SF κ 轻链 (SEQ ID NO:202) ;P4 κ 轻链 (SEQ ID NO:204) ;M78 κ 轻链 (SEQ ID NO:206) ;和 M57 κ 轻链 (SEQ ID NO:208) ;或 (c) 通过至少一个键结合于

PBA 的另一重链的 PBA 的各重链包含与以下氨基酸序列之一至少 90% 一致或因 1-30 个氨基酸取代、缺失和 / 或添加而与以下氨基酸序列之一不同的氨基酸序列 :P1-G1-P4 (SEQ ID NO:268) ;P1-G1-M57 (SEQ ID NO:270) ;P1-G1-M78 (SEQ ID NO:272) ;M27-G1-P4 (SEQ ID NO:274) ;M27-G1-M57 (SEQ ID NO:276) ;M27-G1-M78 (SEQ ID NO:278) ;M7-G1-P4 (SEQ ID NO:280) ;M7-G1-M57 (SEQ ID NO:282) ;M7-G1-M78 (SEQ ID NO:284) ;B72-G1-P4 (SEQ ID NO:286) ;B72-G1-M57 (SEQ ID NO:288) ;B72-G1-M78 (SEQ ID NO:290) ;B60-G1-P4 (SEQ ID NO:292) ;B60-G1-M57 (SEQ ID NO:294) ;和 B60-G1-M78 (SEQ ID NO:296) ;B60-G2-M78 (SEQ ID NO:355) 和 M7-G2-M78 (SEQ ID NO:357), 和 (d) 通过至少一个键结合于 (c) 的一个重链的 PBA 的各轻链包含与以下氨基酸序列之一至少 90% 一致或因 1-30 个氨基酸取代、缺失和 / 或添加而与以下氨基酸序列之一不同的氨基酸序列 :P1 λ 轻链 (SEQ ID NO:258) ;M27 λ 轻链 (SEQ ID NO:260) ;M7 λ 轻链 (SEQ ID NO:262) ;B72 λ 轻链 (SEQ ID NO:264) ;和 B60 λ 轻链 (SEQ ID NO:266)。

[0052] 在某些实施方案中, (a) PBA 的各重链包含与以下氨基酸序列之一至少 95% 一致或因 1-10 个氨基酸取代、缺失和 / 或添加而与以下氨基酸序列之一不同的氨基酸序列 :SF-G1-P1 (SEQ ID NO:212) ;SF-G1-M1.3 (SEQ ID NO:214) ;SF-G1-M27 (SEQ ID NO:216) ;SF-G1-P6 (SEQ ID NO:218) ;SF-G1-B69 (SEQ ID NO:220) ;P4-G1-C8 (SEQ ID NO:222) ;P4-G1-P1 (SEQ ID NO:224) ;P4-G1-M1.3 (SEQ ID NO:226) ;P4-G1-M27 (SEQ ID NO:228) ;P4-G1-P6 (SEQ ID NO:230) ;P4-G1-B69 (SEQ ID NO:232) ;M78-G1-C8 (SEQ ID NO:234) ;M78-G1-P1 (SEQ ID NO:236) ;M78-G1-M1.3 (SEQ ID NO:238) ;M78-G1-M27 (SEQ ID NO:240) ;M78-G1-P6 (SEQ ID NO:242) ;M78-G1-B69 (SEQ ID NO:244) ;M57-G1-C8 (SEQ ID NO:246) ;M57-G1-P1 (SEQ ID NO:248) ;M57-G1-M1.3 (SEQ ID NO:250) ;M57-G1-M27 (SEQ ID NO:252) ;M57-G1-P6 (SEQ ID NO:254) 和 M57-G1-B69 (SEQ ID NO:256), 和 (b) PBA 的各轻链包含与以下氨基酸序列之一至少 95% 一致或因 1-10 个氨基酸取代、缺失和 / 或添加而与以下氨基酸序列之一不同的氨基酸序列 :SF κ 轻链 (SEQ ID NO:202) ;P4 κ 轻链 (SEQ ID NO:204) ;M78 κ 轻链 (SEQ ID NO:206) ;和 M57 κ 轻链 (SEQ ID NO:208) ;或 (c) PBA 的各重链包含与以下氨基酸序列之一至少 95% 一致或因 1-10 个氨基酸取代、缺失和 / 或添加而与以下氨基酸序列之一不同的氨基酸序列 :P1-G1-P4 (SEQ ID NO:268) ;P1-G1-M57 (SEQ ID NO:270) ;P1-G1-M78 (SEQ ID NO:272) ;M27-G1-P4 (SEQ ID NO:274) ;M27-G1-M57 (SEQ ID NO:276) ;M27-G1-M78 (SEQ ID NO:278) ;M7-G1-P4 (SEQ ID NO:280) ;M7-G1-M57 (SEQ ID NO:282) ;M7-G1-M78 (SEQ ID NO:284) ;B72-G1-P4 (SEQ ID NO:286) ;B72-G1-M57 (SEQ ID NO:288) ;B72-G1-M78 (SEQ ID NO:290) ;B60-G1-P4 (SEQ ID NO:292) ;B60-G1-M57 (SEQ ID NO:294) ;和 B60-G1-M78 (SEQ ID NO:296) ;B60-G2-M78 (SEQ ID NO:355) 和 M7-G2-M78 (SEQ ID NO:357), 和 (d) PBA 的各轻链包含与以下氨基酸序列之一至少 95% 一致或因 1-10 个氨基酸取代、缺失和 / 或添加而与以下氨基酸序列之一不同的氨基酸序列 :P1 λ 轻链 (SEQ ID NO:258) ;M27 λ 轻链 (SEQ ID NO:260) ;M7 λ 轻链 (SEQ ID NO:262) ;B72 λ 轻链 (SEQ ID NO:264) ;B60 λ 轻链 (SEQ ID NO:266)。

[0053] 示例性 PBA 包括以下 : (a) 包含以下的 SF-G1-P1PBA : 两条重链, 各自包含 SEQ ID NO:212 的重链氨基酸序列 ; 和两条轻链, 各自包含 SEQ ID NO:202 的轻链序列 ; (b) 包含以下的 SF-G1-M1.3PBA : 两条重链, 各自包含 SEQ ID NO:214 的重链氨基酸序列 ; 和两条轻

链,各自包含 SEQ ID NO:202 的轻链氨基酸序列;(c) 包含以下的 SF-G1-M27PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:216 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:202 的轻链氨基酸序列;(d) 包含以下的 SF-G1-P6PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:218 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:202 的轻链氨基酸序列;(e) 包含以下的 SF-G1-B69PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:220 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:202 的轻链氨基酸序列;(f) 包含以下的 P4-G1-C8PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:222 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:204 的轻链氨基酸序列;(g) 包含以下的 P4-G1-P1PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:224 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:204 的轻链氨基酸序列;(h) 包含以下的 P4-G1-M1.3PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:226 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:204 的轻链氨基酸序列;(i) 包含以下的 P4-G1-M27PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:228 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:204 的轻链氨基酸序列;(j) 包含以下的 P4-G1-P6PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:230 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:204 的轻链氨基酸序列;(h) 包含以下的 P4-G1-B69PBA 两条重链,各自包含 SEQ ID NO:232 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:204 的轻链氨基酸序列;(i) 包含以下的 M78-G1-C8PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:234 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:206 的轻链氨基酸序列;(j) 包含以下的 M78-G1-P1PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:236 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:206 的轻链氨基酸序列;(k) 包含以下的 M78-G1-M1.3PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:238 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:206 的轻链氨基酸序列;(l) 包含以下的 M78-G1-M27PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:240 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:206 的轻链氨基酸序列;(m) 包含以下的 M78-G1-P6PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:242 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:206 的轻链氨基酸序列;(n) 包含以下的 M78-G1-B69PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:244 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:206 的轻链氨基酸序列;(o) 包含以下的 M57-G1-C8PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:246 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:208 的轻链氨基酸序列;(p) 包含以下的 M57-G1-P1PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:248 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:208 的轻链氨基酸序列;(r) 包含以下的 M57-G1-M1.3PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:250 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:208 的轻链氨基酸序列;(s) 包含以下的 M57-G1-M27PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:252 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:208 的轻链氨基酸序列;(t) 包含以下的 M57-G1-P6PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:254 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:208 的轻链氨基酸序列;(u) 包含以下的 M57-G1-B69PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:256 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:208 的轻链氨基酸序列;(v) 包含以下的 P1-G1-P4PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:268 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:258 的轻链氨基酸序列;(w) 包含以下的 P1-G1-M57PBA:两条重链,各自包含 SEQ ID NO:270 的重链氨基酸序列;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:258 的轻链氨基酸序列;(x) 包含以下的 P1-G1-M78PBA:两条重链,各

自包含 SEQ ID NO:272 的重链氨基酸序列 ;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:258 的轻链氨基酸序列 ;(y) 包含以下的 M27-G1-P4PBA :两条重链,各自包含 SEQ ID NO:274 的重链氨基酸序列 ;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:260 的轻链氨基酸序列 ;(z) 包含以下的 M27-G1-M57PBA :两条重链,各自包含 SEQ ID NO:276 的重链氨基酸序列 ;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:260 的轻链氨基酸序列 ;(aa) 包含以下的 M27-G1-M78PBA :两条重链,各自包含 SEQ ID NO:278 的重链氨基酸序列 ;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:260 的轻链氨基酸序列 ;(ab) 包含以下的 M7-G1-P4PBA :两条重链,各自包含 SEQ ID NO:280 的重链氨基酸序列 ;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:262 的轻链氨基酸序列 ;(ac) 包含以下的 M7-G1-M57PBA :两条重链,各自包含 SEQ ID NO:282 的重链氨基酸序列 ;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:262 的轻链氨基酸序列 ;(ad) 包含以下的 M7-G1-M78PBA :两条重链,各自包含 SEQ ID NO:284 的重链氨基酸序列 ;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:262 的轻链氨基酸序列 ;(ae) 包含以下的 B72-G1-P4PBA :两条重链,各自包含 SEQ ID NO:286 的重链氨基酸序列 ;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:264 的轻链氨基酸序列 ;(af) 包含以下的 B72-G1-M57PBA :两条重链,各自包含 SEQ ID NO:288 的重链氨基酸序列 ;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:264 的轻链氨基酸序列 ;(ag) 包含以下的 B72-G1-M78PBA :两条重链,各自包含 SEQ ID NO:290 的重链氨基酸序列 ;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:264 的轻链氨基酸序列 ;(ah) 包含以下的 B60-G1-P4PBA :两条重链,各自包含 SEQ ID NO:292 的重链氨基酸序列 ;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:266 的轻链氨基酸序列 ;(ai) 包含以下的 B60-G1-M57PBA :两条重链,各自包含 SEQ ID NO:294 的重链氨基酸序列 ;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:266 的轻链氨基酸序列 ;和 (aj) 包含以下的 B60-G1-M78PBA :两条重链,各自包含 SEQ ID NO:296 的重链氨基酸序列 ;和两条轻链,各自包含 SEQ ID NO:266 的轻链氨基酸序列。

[0054] 本文还提供单特异性抗体。在某些实施方案中,抗 IGF-1R 单克隆抗体包含按氨基至羧基顺序包含如图 5A 的 SEQ ID NO:202 中加点状下划线所示 SF κ 轻链的 VLCDR1 序列、VLCDR2 序列和 VLCDR3 序列的第一序列,抗体进一步包含按氨基至羧基顺序包含如图 5A 的 SEQ ID NO:210 中分别前三个加点状下划线序列所示 SF 重链的 VHCDR1 序列、VHCDR2 序列和 VHCDR3 序列的第二序列,其中第一序列与第二序列不重叠。在某些实施方案中,抗 IGF-1R 单克隆抗体按氨基至羧基顺序包含如图 5A 的 SEQ ID NO:204 中加点状下划线所示 P4 κ 轻链的 VLCDR1 序列、VLCDR2 序列和 VLCDR3 序列,抗体进一步按氨基至羧基顺序包含如图 5A 的 SEQ ID NO:222 中分别前三个加点状下划线序列所示 P4 重链的 VHCDR1 序列、VHCDR2 序列和 VHCDR3 序列。在某些实施方案中,抗 IGF-1R 单克隆抗体按氨基至羧基顺序包含如图 5A 的 SEQ ID NO:206 中加点状下划线所示 M78 κ 轻链的 VLCDR1 序列、VLCDR2 序列和 VLCDR3 序列,抗体进一步按氨基至羧基顺序包含如图 5A 的 SEQ ID NO:234 中分别前三个加点状下划线序列所示 M78 重链的 VHCDR1 序列、VHCDR2 序列和 VHCDR3 序列。在某些实施方案中,抗 IGF-1R 单克隆抗体按氨基至羧基顺序包含如图 5A 的 SEQ ID NO:208 中加点状下划线所示 M57 κ 轻链的 VLCDR1 序列、VLCDR2 序列和 VLCDR3 序列,抗体进一步按氨基至羧基顺序包含如图 5A 的 SEQ ID NO:246 中分别前三个加点状下划线序列所示 M57 重链的 VHCDR1 序列、VHCDR2 序列和 VHCDR3 序列。

[0055] 在某些实施方案中,抗 IGF-1R 抗体包含含有一组三个包含 VHCDR1、VHCDR2、

VHCDR3 的 VH CDR 的 VH 结构域,和 / 或含有一组三个包含 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 的 VL CDR 的 VL 结构域,CDR 分别包含 SEQ ID NO:302、303、304、305、306 和 307 的序列,且各 CDR 进一步包含氨基端和羧基端,其中各组 CDR 的 CDR 在抗体中按 CDR1、CDR2 和 CDR3 的线性氨基酸至羧基顺序排列,其中 CDR 包含独立地表示图 1 (VH) 或图 2 (VL) 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸,且抗体不包含 SF 模块。在某些实施方案中,抗 IGF-1R 抗体的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 分别包含 SEQ ID NO:302、303、304、305、306 和 308 的序列。在某些实施方案中,抗 IGF-1R 抗体的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 结构域包含 SEQ ID NO:8-10 和 12-31 中任一者的相应氨基酸序列,且抗 IGF-1R 抗体的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 结构域包含 SEQ ID NO:32-34 和 36-133 中任一者的相应氨基酸序列。在某些实施方案中,(a) 抗 IGF-1R 抗体的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:8 的相应 CDR 的氨基酸序列且抗 IGF-1R 抗体的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:32 的相应 CDR 的氨基酸序列;或 (b) 抗 IGF-1R 抗体的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:9 的相应 CDR 的氨基酸序列且抗 IGF-1R 抗体的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:33 的相应 CDR 的氨基酸序列;或 (c) 抗 IGF-1R 抗体的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:10 的相应 CDR 的氨基酸序列且抗 IGF-1R 抗体的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:34 的相应 CDR 的氨基酸序列;或 (d) 抗 IGF-1R 抗体的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:11 的相应 CDR 的氨基酸序列且抗 IGF-1R 抗体的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:35 的相应 CDR 的氨基酸序列;或 (e) 抗 IGF-1R 抗体的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:8 的相应 CDR 的氨基酸序列且抗 IGF-1R 抗体的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:33 的相应 CDR 的氨基酸序列;或 (f) 抗 IGF-1R 抗体的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:10 的相应 CDR 的氨基酸序列且抗 IGF-1R 抗体的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:32 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0056] 在某些实施方案中,抗 IGF-1R 抗体的 VH 结构域包含 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列,所述序列包含独立地表示图 1 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸;抗 IGF-1R 抗体的 VL 结构域包含 SEQ ID NO:2 (或 3) 的氨基酸序列,所述序列包含独立地表示图 2 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸;或抗 IGF-1R 抗体的 VH 结构域包含 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列且抗 IGF-1R 抗体的 VL 结构域包含 SEQ ID NO:2 或 3 的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗 IGF-1R 抗体的 VH 结构域包含选自由 SEQ ID NO:8-10 和 12-31 组成的组的氨基酸序列且 VL 结构域包含选自由 SEQ ID NO:32-34 和 36-133 组成的组的氨基酸序列。

[0057] 在某些实施方案中,(a) 抗 IGF-1R 抗体的 VH 结构域包含与 SEQ ID NO:8-10 和 12-31 中任一者的氨基酸序列至少 90% 一致或因 1-30 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:8-10 和 12-31 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列,和 / 或 (b) 抗 IGF-1R 抗体的 VL 结构域包含与 SEQ ID NO:32-34 和 36-133 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列至少 90% 一致或因 1-30 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:32-34 和 36-133 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列不同的氨基酸序列。在某些实施方案中,(a) 抗 IGF-1R 抗体的 VH 结构域包含与 SEQ ID NO:8-10 和 12-31 中任一者的氨基酸序列至少 95% 一致或因 1-10 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:8-10 和 12-31 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列,和 / 或 (b) VL 结构域包含与 SEQ ID NO:32-34 和 36-133 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列至少 95% 一致或因 1-10 个氨基酸的氨基酸

取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:32-34 和 36-133 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列不同的氨基酸序列。

[0058] 抗 IGF-1R 抗体可为 IgG1 抗体,例如分离的和 / 或单克隆 IgG1 抗体。

[0059] 在某些实施方案中,抗 IGF-1R 抗体为包含两对多肽链的蛋白质,各对包含重链和轻链;其中 (a) 各重链包含 SEQ ID NO:359、360 或 361 的氨基酸序列;和 / 或 (b) 各轻链包含 SEQ ID NO:204、206 或 208 的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗 IGF-1R 抗体为包含两对多肽链的蛋白质,各对包含重链和轻链;其中 (a) 各重链包含与 SEQ ID NO:359、360 或 361 中任一者的氨基酸序列至少 90%一致或因 1-30 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:359、360 或 361 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列,和 / 或 (b) 各轻链包含与 SEQ ID NO:204、206 或 208 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列至少 90%一致或因 1-30 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:204、206 或 208 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列不同的氨基酸序列。在某些实施方案中, (a) 抗 IGF-1R 抗体的各重链包含与 SEQ ID NO:359、360 或 361 中任一者的氨基酸序列至少 95%一致或因 1-10 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:359、360 或 361 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列,和 / 或 (b) 各轻链包含与 SEQ ID NO:204、206 或 208 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列至少 95%一致或因 1-10 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:204、206 或 208 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列不同的氨基酸序列。

[0060] 示例性抗体包括 (a) 包含各自含有 SEQ ID NO:359 的重链氨基酸序列的两条重链和各自含有 SEQ ID NO:204 的轻链氨基酸序列的两条轻链的抗 IGF-R1 单克隆 IgG1 抗体 P4; (b) 包含各自含有 SEQ ID NO:360 的重链氨基酸序列的两条重链和各自含有 SEQ ID NO:206 的轻链氨基酸序列的两条轻链的抗 IGF-R1 单克隆 IgG1 抗体 M78; (c) 包含各自含有 SEQ ID NO:361 的重链氨基酸序列的两条重链和各自含有 SEQ ID NO:208 的轻链氨基酸序列的两条轻链的抗 IGF-R1 单克隆 IgG1 抗体 M57; (d) 包含各自含有 SEQ ID NO:361 的重链氨基酸序列的两条重链和各自含有 SEQ ID NO:206 的轻链氨基酸序列的两条轻链的抗 IGF-R1 单克隆 IgG1 抗体 M57/M78; 和 (e) 包含各自含有 SEQ ID NO:359 的重链氨基酸序列的两条重链和各自含有 SEQ ID NO:208 的轻链氨基酸序列的两条轻链的抗 IGF-R1 单克隆 IgG1 抗体 P4/M57。

[0061] 抗 IGF-1R 抗体可包含一个或多个其它结合位点,例如抗 ErbB3 结合位点。

[0062] 还提供抗 ErbB3 单克隆抗体,例如单克隆抗 ErbB3 抗体。在某些实施方案中,抗 ErbB3 按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:258 中加点状下划线所示 P1 λ 轻链的 VLCDR1 序列、VLCDR2 序列和 VLCDR3 序列,抗体进一步按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:268 中分别前三个加点状下划线序列所示 P1 重链的 VHCDR1 序列、VHCDR2 序列和 VHCDR3 序列。在某些实施方案中,抗 ErbB3 单克隆抗体按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:260 中加点状下划线所示 M27 λ 轻链的 VLCDR1 序列、VLCDR2 序列和 VLCDR3 序列,抗体进一步按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:274 中分别前三个加点状下划线序列所示 M27 重链的 VHCDR1 序列、VHCDR2 序列和 VHCDR3 序列。在某些实施方案中,抗 ErbB3 单克隆抗体按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:262 中加点状下划线所示 M7 λ 轻链的 VLCDR1 序列、VLCDR2 序列和 VLCDR3 序列,抗体进一步按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:280 中分别前三个加点状下划线序列所示 M7 重链的 VHCDR1 序列、

VHCDR2 序列和 VHCDR3 序列。在某些实施方案中,抗 ErbB3 单克隆抗体按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:264 中加点状下划线所示 B72 λ 轻链的 VLCDR1 序列、VLCDR2 序列和 VLCDR3 序列,抗体进一步按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:286 中分别前三个加点状下划线序列所示 B72 重链的 VHCDR1 序列、VHCDR2 序列和 VHCDR3 序列。在某些实施方案中,抗 ErbB3 单克隆抗体按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:266 中加点状下划线所示 B60 λ 轻链的 VLCDR1 序列、VLCDR2 序列和 VLCDR3 序列,抗体进一步按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:292 中分别前三个加点状下划线序列所示 B60 重链的 VHCDR1 序列、VHCDR2 序列和 VHCDR3 序列。

[0063] 在某些实施方案中,特异性结合人 ErbB3 的分离的抗 ErbB3 抗体包含含有一组三个包含 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 的 VH CDR 的 VH 结构域,和 / 或含有一组三个包含 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 的 VL CDR 的 VL 结构域,CDR 分别包含 SEQ ID NO:309、310、311、312、313 和 314 的序列,且各 CDR 进一步包含氨基端和羧基端,其中各组 CDR 的 CDR 在抗体中按 CDR1、CDR2 和 CDR3 的线性氨基至羧基顺序排列,其中 CDR 包含独立地表示图 3(VH) 或图 4(VL) 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸,且抗体不包含 C8 模块。在某些实施方案中,抗 ErbB3 抗体的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 分别包含 SEQ ID NO:309、310、311、312、313 和 315 的序列。在某些实施方案中,抗 ErbB3 抗体的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 结构域包含 SEQ ID NO:134-142 和 144-165 中任一者的相应氨基酸序列,且抗体的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 结构域包含 SEQ ID NO:166-174 和 176-200 中任一者的相应氨基酸序列。

[0064] 在某些实施方案中,抗 ErbB3 抗体的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:134 的相应 CDR 的氨基酸序列,且抗 ErbB3 抗体的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:166 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗 ErbB3 抗体的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:135 的相应 CDR 的氨基酸序列,且抗 ErbB3 抗体的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:167 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗 ErbB3 抗体的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列,且抗 ErbB3 抗体的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:168 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗 ErbB3 抗体的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:137 的相应 CDR 的氨基酸序列,且抗 ErbB3 抗体的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗 ErbB3 抗体的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:138 的相应 CDR 的氨基酸序列,且抗 ErbB3 抗体的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:170 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗 ErbB3 抗体的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:139 的相应 CDR 的氨基酸序列,且抗 ErbB3 抗体的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:171 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗 ErbB3 抗体的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:140 的相应 CDR 的氨基酸序列,且抗体的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:172 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗 ErbB3 抗体的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:141 的相应 CDR 的氨基酸序列,且抗 ErbB3 抗体的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:173 的相应 CDR 的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗 ErbB3 抗体的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:142 的相应 CDR 的氨基酸序列,且抗 ErbB3 抗体的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:174 的相应 CDR

的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗 ErbB3 抗体的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列,且抗 ErbB3 抗体的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0065] 在某些实施方案中,抗 ErbB3 抗体的 VH 结构域包含 SEQ ID NO:4(或 5)的氨基酸序列,所述序列包含独立地表示图 3 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸,和/或抗 ErbB3 抗体的 VL 结构域包含 SEQ ID NO:6(或 7)的氨基酸序列,所述序列包含独立地表示图 4 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸。在某些实施方案中,抗 ErbB3 抗体的 VH 结构域包含选自 SEQ ID NO:134-142 和 144-165 组成的组的氨基酸序列且抗 ErbB3 抗体的 VL 结构域包含选自 SEQ ID NO:166-174 和 176-200 组成的组的氨基酸序列。

[0066] 在某些实施方案中,(a) 抗 ErbB3 抗体的 VH 结构域包含与 SEQ ID NO:134-142 和 144-165 中任一者的氨基酸序列至少 90%一致或因 1-30 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:134-142 和 144-165 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列,和/或 (b) 抗 ErbB3 抗体的 VL 结构域包含与 SEQ ID NO:166-174 和 176-200 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列至少 90%一致或因 1-30 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:166-174 和 176-200 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列不同的氨基酸序列。在某些实施方案中,(a) 抗 ErbB3 抗体的 VH 结构域包含与 SEQ ID NO:134-142 和 144-165 中任一者的氨基酸序列至少 95%一致或因 1-10 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:134-142 和 144-165 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列,和/或 (b) VL 结构域包含与 SEQ ID NO:166-174 和 176-200 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列至少 95%一致或因 1-10 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:166-174 和 176-200 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列不同的氨基酸序列。

[0067] 抗 ErbB3 抗体可为 IgG1 抗体,例如分离的单克隆 IgG1 抗体。

[0068] 在某些实施方案中,抗 ErbB3 抗体为包含两对多肽链的蛋白质,各对包含重链和轻链;其中 (a) 各重链包含 SEQ ID NO:362、363、364、365 或 366 的氨基酸序列;和/或 (b) 各轻链包含 SEQ ID NO:258、260、262、264 或 266 的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗 ErbB3 抗体为包含两对多肽链的蛋白质,各对包含重链和轻链;其中 (a) 各重链包含与 SEQ ID NO:362、363、364、365 或 366 中任一者的氨基酸序列至少 90%一致或因 1-30 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:362、363、364、365 或 366 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列,和/或 (b) 各轻链包含与 SEQ ID NO:258、260、262、264 或 266 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列至少 90%一致或因 1-30 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:258、260、262、264 或 266 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列不同的氨基酸序列。在某些实施方案中,抗 ErbB3 抗体为包含两对多肽链的蛋白质,各对包含重链和轻链;其中 (a) 各重链包含与 SEQ ID NO:362、363、364、365 或 366 中任一者的氨基酸序列至少 95%一致或因 1-10 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:362、363、364、365 或 366 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列,和 (b) 各轻链包含与 SEQ ID NO:258、260、262、264 或 266 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列至少 95%一致或因 1-10 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:258、260、262、264 或 266 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列不同的氨基酸序列。

[0069] 抗 ErbB3 抗体可包含一个或多个其它结合位点,例如抗 IGF-1R 结合位点。

[0070] 示例性抗 ErbB3 抗体包括：(a) 包含各自含有 SEQ ID NO:362 的重链氨基酸序列的两条重链和各自含有 SEQ ID NO:258 的轻链氨基酸序列的两条轻链的抗 ErbB3 单克隆 IgG1 抗体 P1；(b) 包含各自含有 SEQ ID NO:363 的重链氨基酸序列的两条重链和各自含有 SEQ ID NO:260 的轻链氨基酸序列的两条轻链的抗 ErbB3 单克隆 IgG1 抗体 M27；(c) 包含各自含有 SEQ ID NO:364 的重链氨基酸序列的两条重链和各自含有 SEQ ID NO:262 的轻链氨基酸序列的两条轻链的抗 ErbB3 单克隆 IgG1 抗体 M7；(d) 包含各自含有 SEQ ID NO:365 的重链氨基酸序列的两条重链和各自含有 SEQ ID NO:264 的轻链氨基酸序列的两条轻链的抗 ErbB3 单克隆 IgG1 抗体 B72；(e) 包含各自含有 SEQ ID NO:366 的重链氨基酸序列的两条重链和各自含有 SEQ ID NO:266 的轻链氨基酸序列的两条轻链的抗 ErbB3 单克隆 IgG1 抗体 B60；和 (f) 包含各自含有 SEQ ID NO:363 的重链氨基酸序列的两条重链和各自含有 SEQ ID NO:262 的轻链氨基酸序列的两条轻链的抗 ErbB3 单克隆 IgG1 抗体 M27/M7。

[0071] 还提供 scFv，其可为单克隆 scFv。示例性 scFv 包括 (a) 包含 SEQ ID NO:367 的氨基酸序列的抗 IGF-R1scFv 抗体 P4；(b) 包含 SEQ ID NO:368 的氨基酸序列的抗 IGF-R1scFv 抗体 M57；(c) 包含 SEQ ID NO:369 的氨基酸序列的抗 IGF-R1scFv 抗体 M78；(d) 包含 SEQ ID NO:370 的氨基酸序列的抗 ErbB3 scFv 抗体 C8；(e) 包含 SEQ ID NO:371 的氨基酸序列的抗 ErbB3scFv 抗体 P1；(f) 包含 SEQ ID NO:372 的氨基酸序列的抗 ErbB3scFv 抗体 M1.3；(g) 包含 SEQ ID NO:373 的氨基酸序列的抗 ErbB3scFv 抗体 M27；(h) 包含 SEQ ID NO:374 的氨基酸序列的抗 ErbB3scFv 抗体 P6；和 (i) 包含 SEQ ID NO:375 的氨基酸序列的抗 ErbB3scFv 抗体 B69。

[0072] 还提供包含 PBA；抗 IGF-1R 抗体；或抗 ErbB3 抗体和药学上可接受的载剂的组合物。包含抗 IGF-1R 抗体的组合物可进一步包含抗 ErbB3 抗体。包含抗 ErbB3 抗体的组合物可进一步包含抗 IGF-1R 抗体。

[0073] 还提供例如包含至少一个编码序列的核酸分子，至少一个编码序列编码如本文所述的抗体或其链。核酸分子可包含启动子核苷酸序列和强化子核苷酸序列中的任一者或两者，所述核苷酸序列可操作地连接于至少一个编码序列且促进或增强抗体的表达。还涵盖载体，例如包含一种或多种本文提供的核酸分子的载体，以及包含一个或多个本文提供的载体的宿主细胞。还提供产生本文提供的 PBA、抗 IGF-1 抗体或抗 ErbB3 抗体的方法，其包含在适于表达 PBA、抗 IGF-1 抗体或抗 ErbB3 抗体的条件下培养包含一种或多种编码本文提供的抗体（例如 PBA）或其链的核酸的细胞。进一步提供治疗患有癌症的受试者的方法，所述方法包括向受试者施用治疗有效量的一种或多种本文提供的抗体或 PBA 或组合物。

[0074] 本文还提供抗 IGF-1R+ 抗 ErbB3PBA，其中当 PBA 以等于或高于 5mg/kg 的剂量静脉内施用时，PBA 在食蟹猕猴 (*Cynomolgus monkey*) 体内具有至少 45 小时的半衰期。在某些实施方案中，PBA 在为小鼠或食蟹猕猴的生物体体内具有比另一结合相同表位的多价双特异性抗体在相同生物体体内的半衰期在统计上显著较长（例如长 50%、2 倍或 2 倍以上）的半衰期，其中抗原结合特异性的方向在 fab 与 scfv 之间相反。

[0075] PBA 可使细胞（例如癌细胞）中异调蛋白诱导的 pAKT 信号传导抑制至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99% 或 100%。PBA 可使细胞（例如癌细胞）中 IGF-1 诱导的 pAKT 信号传导抑制至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99% 或 100%。PBA 可使细

胞（例如癌细胞）中胰岛素诱导的 pAKT 信号传导抑制至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99% 或 100%。PBA 可使细胞（例如癌细胞）中 IGF-2 诱导的 pAKT 信号传导抑制至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99% 或 100%。

[0076] PBA 在体内或体外抑制肿瘤细胞中的 mTOR 活化（磷酸化）的程度可大于单特异性抗 IGF-1R Ab#A 或与 PBA 结合 IGF-1R 上的相同表位的单特异性抗 IGF-1R Ab。PBA 在体内或体外降低肿瘤细胞中的 mTOR 蛋白水平的程度可大于单特异性抗 IGF-1R Ab#A 或与 PBA 结合 IGF-1R 上的相同表位的单特异性抗 IGF-1R Ab。在某些实施方案中，相对于单特异性抗 IGF-1R Ab#A 或相对于与 PBA 结合 IGF-1R 上的相同表位的单特异性抗 IGF-1R Ab，PBA 在体内或体外使肿瘤细胞中的 mTOR 活化或 mTOR 蛋白水平至少降低 50% 倍，或降至 1/2 倍、1/3 倍、1/4 倍或 1/5 倍或低于 1/5 倍。在某些实施方案中，PBA 在 nu/nu 小鼠中的人异种移植物模型中比等摩尔量的抗 IGF-1R IgG 更有效地抑制肿瘤生长。在一些实施方案中，异种移植物模型包含人 DU145、BxPC-3、SK-ES-1 或 Caki-1 细胞异种移植物。在另一实施方案中，多价双特异性抗体在 nu/nu 小鼠中的人异种移植物模型中比等摩尔量的抗 IGF-1R IgG 与等摩尔量的抗 ErbB3IgG 组合的组合更有效地抑制肿瘤生长。

[0077] 特别地，本发明涉及以下各项：

[0078] 1. 一种多价双特异性抗体（PBA），所述抗体为包含两对多肽链的蛋白质，所述两对中的各对包含通过至少一个重链-轻链键联结于轻链的重链；其中

[0079] 各对包含至少一个抗 IGF-1R 结合位点和至少一个抗 ErbB3 结合位点；且

[0080] 各对包含含有所述 PBA 的所述重链的 N 端部分和所述 PBA 的所述轻链的 N 端部分的第一结合位点以及为完全由所述 PBA 的所述重链包含的 C 端 scFv 的第二结合位点，所述 C 端 scFv 含有通过 scFv 接头联结于轻链可变区的重链可变区；且

[0081] 所述抗 IGF-1R 结合位点经由由所述 PBA 的所述重链包含的重链免疫球蛋白（HC Ig）恒定区连接于所述抗 ErbB3 结合位点，且

[0082] 所述两对由各对的所述 HC Ig 恒定区之间的至少一个键联接，且

[0083] (i) 所述抗 IGF-1R 结合位点包含重链可变（VH）结构域，所述重链可变（VH）结构域包含一组三个 VH 互补决定区（CDR），所述 VH 互补决定区（CDR）包含 (a) 具有包含选自 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:8-31 和 SEQ ID NO:384-385 组成的组的 SEQ ID NO 的氨基酸序列的氨基酸序列的重链的 VHCDR1（氨基酸编号 26-35）、VHCDR2（氨基酸编号 51-66）和 VHCDR3（氨基酸编号 99-111）；或 (b) 一组三个 VH 互补决定区（CDR），所述 VH 互补决定区（CDR）包含含有 SEQ ID NO:302 的 VHCDR1、含有 SEQ ID NO:303 的 VHCDR2 和含有 SEQ ID NO:304 的 VHCDR3；和轻链可变（VL）结构域，所述轻链可变（VL）结构域包含一组三个 VLCDR，所述 VLCDR 包含 (c) 具有包含选自 SEQ ID NO:2-3、SEQ ID NO:32-133 和 SEQ ID NO:386-387 组成的组的 SEQ ID NO 的氨基酸序列的氨基酸序列的轻链的 VLCDR1（氨基酸编号 24-34）、VLCDR2（氨基酸编号 50-56）和 VLCDR3（氨基酸编号 89-97）；或 (d) 一组三个 VLCDR，所述 VLCDR 包含含有 SEQ ID NO:305 的 VLCDR1、含有 SEQ ID NO:306 的 VLCDR2 和含有 SEQ ID NO:307 或 SEQ ID NO:308 的 VLCDR3，且

[0084] 各 CDR 进一步包含氨基端和羧基端，其中各组 CDR 的所述 CDR 在相应重链或轻链中按 CDR1、CDR2 和 CDR3 的线性氨基至羧基顺序排列，且

[0085] (ii) 所述抗 ErbB3 结合位点包含重链可变 (VH) 结构域, 所述重链可变 (VH) 结构域包含一组三个 VH CDR, 所述 VH CDR 包含 (e) 具有包含选自 SEQ ID NO:4-5、SEQ ID NO:134-165 和 SEQ ID NO:388 组成的组的 SEQ ID NO 的氨基酸序列的氨基酸序列的重链的 VHCDR1 (氨基酸编号 26-35)、VHCDR2 (氨基酸编号 51-66) 和 VHCDR3 (氨基酸编号 99-111); 或 (f) 一组三个 VH CDR, 所述 VH CDR 包含含有 SEQ ID NO:309 的 VHCDR1、含有 SEQ ID NO:310 的 VHCDR2 和含有 SEQ ID NO:311 的 VHCDR3; 和轻链可变 (VL) 结构域, 所述轻链可变 (VL) 结构域包含一组三个 VLCDR, 所述 VLCDR 包含 (g) 具有包含选自 SEQ ID NO:6-7 和 SEQ ID NO:166-200 组成的组的 SEQ ID NO 的氨基酸序列的氨基酸序列的轻链的 VLCDR1 (氨基酸编号 23-33)、VLCDR2 (氨基酸编号 49-55) 和 VLCDR3 (氨基酸编号 88-98); 或 (h) 轻链可变 (VL) 结构域, 所述轻链可变 (VL) 结构域包含一组三个 VLCDR, 所述 VLCDR 包含含有 SEQ ID NO:312 的 VLCDR1、含有 SEQ ID NO:313 的 VLCDR2 和含有 SEQ ID NO:314 或 SEQ ID NO:315 的 VLCDR3, 且

[0086] 各 CDR 进一步包含氨基端和羧基端, 其中各组 CDR 的所述 CDR 在所述抗体中按 CDR1、CDR2 和 CDR3 的线性氨基至羧基顺序排列,

[0087] 且

[0088] (iii) 其中所述 PBA 不包含以下两者: a) 包含含有 SEQ ID NO:35 的轻链和含有 SEQ ID NO:11 的重链的抗 IGF-1R 模块, 和 b) 包含含有 SEQ ID NO:175 的轻链和含有 SEQ ID NO:145 的重链的抗 ErbB3 模块。

[0089] 2. 如第 1 项所述的多价双特异性抗体, 其中所述抗 IGF-1R VLCDR3 包含 SEQ ID NO:308 或所述抗 ErbB3 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:315。

[0090] 3. 如第 1 或 2 项所述的多价双特异性抗体, 其中所述两对多肽链具有基本上一致的序列。

[0091] 4. 如第 1 至 3 项中任一项所述的多价双特异性抗体, 其中所述 HC Ig 恒定区之间的所述至少一个键中的至少一者为二硫键或所述至少一个重链-轻链键中的至少一者为二硫键。

[0092] 5. 如第 1 至 3 项中任一项所述的多价双特异性抗体, 其中所述 HC Ig 恒定区之间的所述至少一个键中的至少一者为范德华键 (van der Waals bond) 或所述至少一个重链-轻链键中的至少一者为范德华键。

[0093] 6. 如第 1 至 5 项中任一项所述的多价双特异性抗体, 其中所述抗 ErbB3 结合位点为所述 C 端 scFv。

[0094] 7. 如第 1 至 5 项中任一项所述的多价双特异性抗体, 其中所述抗 IGF-1R 结合位点为所述 C 端 scFv。

[0095] 8. 如第 1 至 7 项中任一项所述的多价双特异性抗体, 其中所述抗 IGF-1R 结合位点、所述 HC Ig 恒定区和所述抗 ErbB3 结合位点包含由单一连续多肽链包含的那一对的所述重链。

[0096] 9. 如第 1 至 8 项中任一项所述的多价双特异性抗体, 其:

[0097] (i) 在体外在 $1\mu\text{M}$ 或 $1\mu\text{M}$ 以下、或 100nM 或 100nM 以下、或 10nM 或 10nM 以下、或 1nM 或 1nM 以下的浓度下抑制肿瘤细胞生长, 或

[0098] ii) 如 pErbB3 和 pIGF-1R 中任一者或两者磷酸化的抑制所指示, 以 10nM 或 10nM

以下、或 1nM 或 1nM 以下、或 100pM 或 100pM 以下的 IC₅₀，或至少 70%、或至少 80%、或至少 90% 的最大抑制百分比抑制异调蛋白 (heregulin) 和 IGF1 诱导的信号转导中的任一者或两者。

[0099] 10. 如第 9 项所述的多价双特异性抗体，其中生长抑制在培养物中在 DU145 细胞中以 CTG 测定进行测量。

[0100] 11. 如第 9 项所述的多价双特异性抗体，其中信号转导的抑制在培养物中在 BxPC-3 细胞中以 80ng/ml 的 IGF-1 和 20ng/ml 的异调蛋白刺激 15 分钟后测定。

[0101] 12. 如第 1 至 11 项中任一项所述的多价双特异性抗体，其中各所述 HC Ig 恒定区包含介导与另一对的 CH3 结构域的联接的 CH3 结构域。

[0102] 13. 如第 12 项所述的多价双特异性抗体，其中各所述 HC Ig 恒定区包含 CH2 结构域。

[0103] 14. 如第 13 项所述的多价双特异性抗体，其中各所述 HC Ig 恒定区包含铰链。

[0104] 15. 如第 14 项所述的多价双特异性抗体，其中各所述 HC Ig 恒定区包含 CH1 结构域。

[0105] 16. 如第 15 项所述的多价双特异性抗体，其中各所述 CH1 结构域以其 C 端连接于铰链的 N 端，所述铰链以其 C 端连接于 CH2 结构域的 N 端，所述 CH2 结构域以其 C 端连接于 CH3 结构域的 N 端。

[0106] 17. 如第 16 项所述的多价双特异性抗体，其中各所述第一结合位点包含第一 VH 结构域，且其中各所述 CH1 结构域以其 N 端连接于所述第一 VH 结构域的 C 端。

[0107] 18. 如第 17 项所述的多价双特异性抗体，其中各所述 CH3 结构域以其 C 端连接于所述 scFv 的 N 端。

[0108] 19. 如第 18 项所述的多价双特异性抗体，其中各所述 CH3 结构域以其 C 端连接于连接型接头的 N 端，所述连接型接头以其 C 端连接于所述 scFv 的 N 端。

[0109] 20. 如第 19 项所述的多价双特异性抗体，其中各所述轻链包含第一 VL 结构域，所述第一 VL 结构域与所述第一 VH 结构域缔合形成所述第一结合位点。

[0110] 21. 如第 20 项所述的多价双特异性抗体，其中各所述第一 VL 结构域以其 C 端连接于 CL 结构域的 N 端。

[0111] 22. 如第 21 项所述的多价双特异性抗体，其中各所述第一结合位点为抗 IGF-1R 结合位点且各所述 scFv 为抗 ErbB3scFv。

[0112] 23. 如第 21 项所述的多价双特异性抗体，其中各所述第一结合位点为抗 ErbB3 结合位点且各所述 scFv 为抗 IGF-1R scFv。

[0113] 24. 如第 1 至 23 项中任一项所述的多价双特异性抗体，其中各所述 HC Ig 恒定区为 IgG 恒定区。

[0114] 25. 如第 24 项所述的多价双特异性抗体，其中各所述 HC IgG 恒定区为 HC IgG1 恒定区。

[0115] 26. 如第 24 项所述的多价双特异性抗体，其中各所述 HC IgG 恒定区为 HC IgG2 恒定区。

[0116] 27. 如第 1 项所述的多价双特异性抗体，其中

[0117] a. 所述抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:8 的相应 CDR 的氨基

酸序列,且所述抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:32 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0118] b. 所述抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:9 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:33 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0119] c. 所述抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:10 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:34 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0120] d. 所述抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:11 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:35 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0121] e. 所述抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:8 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:33 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0122] f. 所述抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:10 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:32 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0123] g. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:134 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:166 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0124] h. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:135 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:167 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0125] i. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:168 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0126] j. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:137 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0127] k. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:138 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:170 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0128] l. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:139 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:171 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0129] m. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:140 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:172 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0130] n. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:141 的相应 CDR 的氨基

酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:173 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0131] o. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:142 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:174 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0132] p. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:143 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:175 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0133] q. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0134] 28. 如第 1 至 27 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中所述抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:8 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:32 的相应 CDR 的氨基酸序列;且

[0135] a. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:134 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:166 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0136] b. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:135 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:167 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0137] c. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:168 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0138] d. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:137 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0139] e. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:138 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:170 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0140] f. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:139 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:171 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0141] g. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:140 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:172 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0142] h. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:141 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:173 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0143] i. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:142 的相应 CDR 的氨基

酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:174 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0144] j. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:143 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:175 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0145] k. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0146] 29. 如第 1 项所述的多价双特异性抗体,其中所述抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:9 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:33 的相应 CDR 的氨基酸序列;且

[0147] a. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:134 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:166 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0148] b. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:135 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:167 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0149] c. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:168 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0150] d. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:137 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0151] e. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:138 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:170 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0152] f. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:139 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:171 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0153] g. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:140 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:172 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0154] h. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:141 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:173 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0155] i. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:142 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:174 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0156] j. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:143 的相应 CDR 的氨基

酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:175 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0157] k. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0158] 30. 如第 1 项所述的多价双特异性抗体,其中所述抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:10 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:34 的相应 CDR 的氨基酸序列;且

[0159] a. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:134 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:166 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0160] b. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:135 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:167 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0161] c. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:168 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0162] d. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:137 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0163] e. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:138 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:170 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0164] f. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:139 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:171 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0165] g. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:140 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:172 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0166] h. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:141 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:173 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0167] i. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:142 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:174 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0168] j. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:143 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:175 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0169] k. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基

酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0170] 31. 如第 1 项所述的多价双特异性抗体,其中所述抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:11 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:35 的相应 CDR 的氨基酸序列;且

[0171] a. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:134 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:166 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0172] b. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:135 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:167 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0173] c. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:168 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0174] d. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:137 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0175] e. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:138 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:170 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0176] f. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:139 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:171 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0177] g. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:140 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:172 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0178] h. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:141 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:173 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0179] i. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:142 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:174 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0180] j. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0181] 32. 如第 1 项所述的多价双特异性抗体,其中所述抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:8 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:33 的相应 CDR 的氨基酸序列;且

[0182] a. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:134 的相应 CDR 的氨基

酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:166 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0183] b. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:135 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:167 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0184] c. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:168 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0185] d. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:137 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0186] e. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:138 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:170 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0187] f. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:139 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:171 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0188] g. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:140 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:172 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0189] h. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:141 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:173 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0190] i. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:142 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:174 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0191] j. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:143 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:175 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0192] k. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0193] 33. 如第 1 项所述的多价双特异性抗体,其中所述抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:10 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:32 的相应 CDR 的氨基酸序列;且

[0194] a. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:134 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:166 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0195] b. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:135 的相应 CDR 的氨基

酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:167 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0196] c. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:168 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0197] d. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:137 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0198] e. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:138 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:170 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0199] f. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:139 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:171 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0200] g. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:140 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:172 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0201] h. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:141 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:173 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0202] i. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:142 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:174 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0203] j. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:143 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:175 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0204] k. 所述抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0205] 34. 如第 1 至 33 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 IGF-1R 结合位点包含含有 SEQ ID NO:1 的序列的 VH 结构域,其中所述序列包含独立地表示在图 1 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸。

[0206] 35. 如第 1 至 34 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 IGF-1R 结合位点包含含有 SEQ ID NO:2 的序列的 VL 结构域,其中所述序列包含独立地表示在图 2 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸。

[0207] 36. 如第 35 项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 IGF-1R 结合位点包含含有 SEQ ID NO:1 的序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:2 的序列的 VL 结构域,其中所述序列包含独立地表示在图 1 (VH) 和图 2 (VL) 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸。

[0208] 37. 如第 1 至 36 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 IGF-1R 结合

位点包含含有 SEQ ID NO:3 的序列的 VL 结构域,其中所述序列包含独立地表示在图 2 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸。

[0209] 38. 如第 37 项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 IGF-1R 结合位点包含含有 SEQ ID NO:1 的序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:3 的序列的 VL 结构域。

[0210] 39. 如第 1 至 38 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 ErbB3 结合位点包含含有 SEQ ID NO:4 的序列的 VH 结构域,其中所述序列包含独立地表示在图 3 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸。

[0211] 40. 如第 1 至 39 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 ErbB3 结合位点包含含有 SEQ ID NO:6 的序列的 VL 结构域,其中所述序列包含独立地表示在图 4 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸。

[0212] 41. 如第 40 项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 ErbB3 结合位点包含含有 SEQ ID NO:4 的序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:6 的序列的 VL 结构域。

[0213] 42. 如第 1 至 41 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 ErbB3 结合位点包含含有 SEQ ID NO:5 的序列的 VH 结构域,其中所述序列包含独立地表示在图 3 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸。

[0214] 43. 如第 1 至 42 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 ErbB3 结合位点包含含有 SEQ ID NO:7 的序列的 VL 结构域,其中所述序列包含独立地表示在图 4 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸。

[0215] 44. 如第 43 项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 ErbB3 结合位点包含含有 SEQ ID NO:5 的序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:7 的序列的 VL 结构域。

[0216] 45. 如第 41 项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 IGF-1R 结合位点包含含有 SEQ ID NO:1 的序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:2 的序列的 VL 结构域,且各所述抗 ErbB3 结合位点包含含有 SEQ ID NO:4 的序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:6 的序列的 VL 结构域。

[0217] 46. 如第 44 项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 IGF-1R 结合位点包含含有 SEQ ID NO:1 的序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:3 的序列的 VL 结构域,且所述抗 ErbB3 结合位点包含含有 SEQ ID NO:5 的序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:7 的序列的 VL 结构域。

[0218] 47. 如第 1 至 46 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 IGF-1R 结合位点包含含有 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列的 VH 结构域,其中 X1 不为 T、X2 不为 V、X6 不为 R、X8 不为 D 或 X10 不为 I,或含有 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列的 VL 结构域,或其中各所述抗 ErbB3 结合位点包含含有 SEQ ID NO:5 的氨基酸序列的 VH 结构域或含有 SEQ ID NO:7 的序列的 VL 结构域。

[0219] 48. 如第 47 项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 IGF-1R 结合位点包含含有 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列的 VH 结构域,其中 X1 不为 T、X2 不为 V、X6 不为 R、X8 不为 D 或 X10 不为 I,或含有 SEQ ID NO:3 的序列的 VL 结构域,且各所述抗 ErbB3 结合位点包含含有 SEQ ID NO:5 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:7 的序列的 VL 结构域。

[0220] 49. 如第 1 至 48 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 IGF-1R 结合位点包含含有选自 SEQ ID NO:8-31 组成的组的氨基酸序列的 VH 结构域。

[0221] 50. 如第 1 至 49 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 IGF-1R 结合位点包含含有选自 SEQ ID NO:32-133 组成的组的氨基酸序列的 VL 结构域。

[0222] 51. 如第 1 至 50 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 ErbB3 结合位点包含选自 SEQ ID NO:134-165 组成的组的 VH 氨基酸序列。

[0223] 52. 如第 1 至 51 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 ErbB3 结合位点包含选自 SEQ ID NO:166-200 组成的组的 VL 氨基酸序列。

[0224] 53. 如第 1 至 52 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中

[0225] a. 各所述第一 VH 结构域包含选自包含 SEQ ID NO:8-31 的组的氨基酸序列,各所述第一 VL 结构域包含选自 SEQ ID NO:32-133 组成的组的氨基酸序列,各所述第二 VH 结构域包含选自 SEQ ID NO:134-165 组成的组的氨基酸序列,且各所述第二 VL 结构域包含选自包含 SEQ ID NO:166-200 的组的氨基酸序列,或

[0226] b. 各所述第一 VH 结构域包含选自包含 SEQ ID NO:134-165 的组的氨基酸序列,各所述第一 VL 结构域包含选自 SEQ ID NO:166-200 组成的组的氨基酸序列,各所述第二 VH 结构域包含选自包含 SEQ ID NO:8-31 的组的氨基酸序列,且各所述第二 VL 结构域包含选自包含 SEQ ID NO:32-133 的组的氨基酸序列。

[0227] 54. 如第 1 至 53 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中

[0228] a. 各所述抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:8 的氨基酸序列且各所述抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:32 的氨基酸序列 ;或

[0229] b. 各所述抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:9 的氨基酸序列且各所述抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:33 的氨基酸序列 ;或

[0230] c. 各所述抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列且各所述抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:34 的氨基酸序列 ;或

[0231] d. 各所述抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:11 的氨基酸序列且各所述抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:35 的氨基酸序列 ;或

[0232] e. 各所述抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:8 的氨基酸序列且各所述抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:33 的氨基酸序列 ;或

[0233] f. 各所述抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列且各所述抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:32 的氨基酸序列 ;或

[0234] g. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:134 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:166 的氨基酸序列 ;或

[0235] h. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:135 的氨基酸序列且所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:167 的氨基酸序列 ;或

[0236] i. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:168 的氨基酸序列 ;或

[0237] j. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:137 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列 ;或

[0238] k. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:138 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:170 的氨基酸序列 ;或

[0239] l. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:139 的氨基酸序列且各所述抗

ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:171 的氨基酸序列 ;或

[0240] m. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:140 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:172 的氨基酸序列 ;或

[0241] n. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:141 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:173 的氨基酸序列 ;或

[0242] o. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:142 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:174 的氨基酸序列 ;或

[0243] p. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:143 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:175 的氨基酸序列 ;或

[0244] q. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列。

[0245] 55. 如第 1 至 53 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:8 的氨基酸序列且各所述抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:32 的氨基酸序列 ;且

[0246] a. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:134 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:166 的氨基酸序列 ;或

[0247] b. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:135 的氨基酸序列且所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:167 的氨基酸序列 ;或

[0248] c. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:168 的氨基酸序列 ;或

[0249] d. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:137 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列 ;或

[0250] e. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:138 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:170 的氨基酸序列 ;或

[0251] f. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:139 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:171 的氨基酸序列 ;或

[0252] g. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:140 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:172 的氨基酸序列 ;或

[0253] h. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:141 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:173 的氨基酸序列 ;或

[0254] i. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:142 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:174 的氨基酸序列 ;或

[0255] j. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:143 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:175 的氨基酸序列 ;或

[0256] k. 各所述抗 ErbB3 VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列。

[0257] 56. 如第 1 至 53 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:9 的氨基酸序列且各所述抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:33 的氨基酸序列 ;且

[0258] a. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:134 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:166 的氨基酸序列 ;或

[0259] b. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:135 的氨基酸序列且所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:167 的氨基酸序列 ;或

[0260] c. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:168 的氨基酸序列 ;或

[0261] d. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:137 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列 ;或

[0262] e. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:138 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:170 的氨基酸序列 ;或

[0263] f. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:139 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:171 的氨基酸序列 ;或

[0264] g. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:140 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:172 的氨基酸序列 ;或

[0265] h. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:141 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:173 的氨基酸序列 ;或

[0266] i. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:142 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:174 的氨基酸序列 ;或

[0267] j. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:143 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:175 的氨基酸序列 ;或

[0268] k. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列。

[0269] 57. 如第 1 至 53 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列且各所述抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:34 的氨基酸序列 ;且

[0270] a. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:134 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:166 的氨基酸序列 ;或

[0271] b. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:135 的氨基酸序列且所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:167 的氨基酸序列 ;或

[0272] c. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:168 的氨基酸序列 ;或

[0273] d. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:137 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列 ;或

[0274] e. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:138 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:170 的氨基酸序列 ;或

[0275] f. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:139 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:171 的氨基酸序列 ;或

[0276] g. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:140 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:172 的氨基酸序列 ;或

[0277] h. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:141 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:173 的氨基酸序列 ;或

[0278] i. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:142 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:174 的氨基酸序列 ;或

[0279] j. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:143 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:175 的氨基酸序列 ;或

[0280] k. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列。

[0281] 58. 如第 1 至 53 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:11 的氨基酸序列且各所述抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:35 的氨基酸序列 ;且

[0282] a. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:134 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:166 的氨基酸序列 ;或

[0283] b. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:135 的氨基酸序列且所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:167 的氨基酸序列 ;或

[0284] c. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:168 的氨基酸序列 ;或

[0285] d. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:137 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列 ;或

[0286] e. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:138 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:170 的氨基酸序列 ;或

[0287] f. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:139 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:171 的氨基酸序列 ;或

[0288] g. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:140 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:172 的氨基酸序列 ;或

[0289] h. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:141 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:173 的氨基酸序列 ;或

[0290] i. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:142 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:174 的氨基酸序列 ;或

[0291] j. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列。

[0292] 59. 如第 1 至 53 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:8 的氨基酸序列且各所述抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:33 的氨基酸序列 ;且

[0293] a. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:134 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:166 的氨基酸序列 ;或

[0294] b. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:135 的氨基酸序列且所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:167 的氨基酸序列 ;或

[0295] c. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且各所述抗

ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:168 的氨基酸序列 ;或

[0296] d. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:137 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列 ;或

[0297] e. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:138 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:170 的氨基酸序列 ;或

[0298] f. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:139 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:171 的氨基酸序列 ;或

[0299] g. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:140 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:172 的氨基酸序列 ;或

[0300] h. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:141 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:173 的氨基酸序列 ;或

[0301] i. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:142 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:174 的氨基酸序列 ;或

[0302] j. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:143 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:175 的氨基酸序列 ;或

[0303] k. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列。

[0304] 60. 如第 1 至 53 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中各所述抗 IGF-1R VH 结构域包含 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列且各所述抗 IGF-1R VL 结构域包含 SEQ ID NO:32 的氨基酸序列 ;且

[0305] a. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:134 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:166 的氨基酸序列 ;或

[0306] b. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:135 的氨基酸序列且所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:167 的氨基酸序列 ;或

[0307] c. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:168 的氨基酸序列 ;或

[0308] d. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:137 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列 ;或

[0309] e. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:138 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:170 的氨基酸序列 ;或

[0310] f. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:139 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:171 的氨基酸序列 ;或

[0311] g. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:140 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:172 的氨基酸序列 ;或

[0312] h. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:141 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:173 的氨基酸序列 ;或

[0313] i. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:142 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:174 的氨基酸序列 ;或

[0314] j. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:143 的氨基酸序列且各所述抗

ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:175 的氨基酸序列 ;或

[0315] k. 各所述抗 ErbB3VH 结构域包含 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列且各所述抗 ErbB3VL 结构域包含 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列。

[0316] 61. 如第 1 至 60 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中

[0317] a. 各所述重链包含选自以下组成的组的氨基酸序列:SF-G1-P1(SEQ ID NO:212);SF-G1-M1.3(SEQ ID NO:214);SF-G1-M27(SEQ ID NO:216);SF-G1-P6(SEQ ID NO:218);SF-G1-B69(SEQ ID NO:220);P4-G1-C8(SEQ ID NO:222);P4-G1-P1(SEQ ID NO:224);P4-G1-M1.3(SEQ ID NO:226);P4-G1-M27(SEQ ID NO:228);P4-G1-P6(SEQ ID NO:230);P4-G1-B69(SEQ ID NO:232);M78-G1-C8(SEQ ID NO:234);M78-G1-P1(SEQ ID NO:236);M78-G1-M1.3(SEQ ID NO:238);M78-G1-M27(SEQ ID NO:240);M78-G1-P6(SEQ ID NO:242);M78-G1-B69(SEQ ID NO:244);M57-G1-C8(SEQ ID NO:246);M57-G1-P1(SEQ ID NO:248);M57-G1-M1.3(SEQ ID NO:250);M57-G1-M27(SEQ ID NO:252);M57-G1-P6(SEQ ID NO:254)和 M57-G1-B69(SEQ ID NO:256),且各所述轻链包含选自以下组成的组的氨基酸序列:SF κ 轻链(SEQ ID NO:202);P4 κ 轻链(SEQ ID NO:204);M78 κ 轻链(SEQ ID NO:206);和 M57 κ 轻链(SEQ ID NO:208);或

[0318] b. 各所述重链包含选自包含以下的组的氨基酸序列:P1-G1-P4(SEQ ID NO:268);P1-G1-M57(SEQ ID NO:270);P1-G1-M78(SEQ ID NO:272);M27-G1-P4(SEQ ID NO:274);M27-G1-M57(SEQ ID NO:276);M27-G1-M78(SEQ ID NO:278);M7-G1-P4(SEQ ID NO:280);M7-G1-M57(SEQ ID NO:282);M7-G1-M78(SEQ ID NO:284);B72-G1-P4(SEQ ID NO:286);B72-G1-M57(SEQ ID NO:288);B72-G1-M78(SEQ ID NO:290);B60-G1-P4(SEQ ID NO:292);B60-G1-M57(SEQ ID NO:294);B60-G1-M78(SEQ ID NO:296);B60-G2-M78(SEQ ID NO:355)和 M7-G2-M78(SEQ ID NO:357),且各所述轻链包含选自以下组成的组的氨基酸序列:P1 λ 轻链(SEQ ID NO:258);M27 λ 轻链(SEQ ID NO:260);M7 λ 轻链(SEQ ID NO:262);B72 λ 轻链(SEQ ID NO:264);和 B60 λ 轻链(SEQ ID NO:266)。

[0319] 62. 如第 1 至 61 项中任一项所述的多价双特异性抗体,其中

[0320] a. 各所述重链包含因至少一个氨基酸添加、缺失或取代而与选自以下组成的组的氨基酸序列不同的氨基酸序列:SF-G1-P1(SEQ ID NO:212);SF-G1-M1.3(SEQ ID NO:214);SF-G1-M27(SEQ ID NO:216);SF-G1-P6(SEQ ID NO:218);SF-G1-B69(SEQ ID NO:220);P4-G1-C8(SEQ ID NO:222);P4-G1-P1(SEQ ID NO:224);P4-G1-M1.3(SEQ ID NO:226);P4-G1-M27(SEQ ID NO:228);P4-G1-P6(SEQ ID NO:230);P4-G1-B69(SEQ ID NO:232);M78-G1-C8(SEQ ID NO:234);M78-G1-P1(SEQ ID NO:236);M78-G1-M1.3(SEQ ID NO:238);M78-G1-M27(SEQ ID NO:240);M78-G1-P6(SEQ ID NO:242);M78-G1-B69(SEQ ID NO:244);M57-G1-C8(SEQ ID NO:246);M57-G1-P1(SEQ ID NO:248);M57-G1-M1.3(SEQ ID NO:250);M57-G1-M27(SEQ ID NO:252);M57-G1-P6(SEQ ID NO:254)和 M57-G1-B69(SEQ ID NO:256),且各所述轻链包含选自以下组成的组的氨基酸序列:SF κ 轻链(SEQ ID NO:202);P4 κ 轻链(SEQ ID NO:204);M78 κ 轻链(SEQ ID NO:206);和 M57 κ 轻链(SEQ ID NO:208);或

[0321] b. 各所述重链包含选自以下组成的组的氨基酸序列:SF-G1-P1(SEQ ID NO:212);SF-G1-M1.3(SEQ ID NO:214);SF-G1-M27(SEQ ID NO:216);SF-G1-P6(SEQ ID

N0:218) ;SF-G1-B69(SEQ ID N0:220) ;P4-G1-C8(SEQ ID N0:222) ;P4-G1-P1(SEQ ID N0:224) ;P4-G1-M1.3(SEQ ID N0:226) ;P4-G1-M27(SEQ ID N0:228) ;P4-G1-P6(SEQ ID N0:230) ;P4-G1-B69(SEQ ID N0:232) ;M78-G1-C8(SEQ ID N0:234) ;M78-G1-P1(SEQ ID N0:236) ;M78-G1-M1.3(SEQ ID N0:238) ;M78-G1-M27(SEQ ID N0:240) ;M78-G1-P6(SEQ ID N0:242) ;M78-G1-B69(SEQ ID N0:244) ;M57-G1-C8(SEQ ID N0:246) ;M57-G1-P1(SEQ ID N0:248) ;M57-G1-M1.3(SEQ ID N0:250) ;M57-G1-M27(SEQ ID N0:252) ;M57-G1-P6(SEQ ID N0:254) 和 M57-G1-B69(SEQ ID N0:256) ;且各所述轻链包含因至少一个氨基酸添加、缺失或取代而与选自自由以下组成的组的氨基酸序列不同的氨基酸序列 :SF κ 轻链 (SEQ ID N0:202) ;P4 κ 轻链 (SEQ ID N0:204) ;M78 κ 轻链 (SEQ ID N0:206) ;和 M57 κ 轻链 (SEQ ID N0:208) ;或

[0322] c. 各所述重链包含因至少一个氨基酸添加、缺失或取代而与选自包含以下的组的氨基酸序列不同的氨基酸序列 :P1-G1-P4(SEQ ID N0:268) ;P1-G1-M57(SEQ ID N0:270) ;P1-G1-M78(SEQ ID N0:272) ;M27-G1-P4(SEQ ID N0:274) ;M27-G1-M57(SEQ ID N0:276) ;M27-G1-M78(SEQ ID N0:278) ;M7-G1-P4(SEQ ID N0:280) ;M7-G1-M57(SEQ ID N0:282) ;M7-G1-M78(SEQ ID N0:284) ;B72-G1-P4(SEQ ID N0:286) ;B72-G1-M57(SEQ ID N0:288) ;B72-G1-M78(SEQ ID N0:290) ;B60-G1-P4(SEQ ID N0:292) ;B60-G1-M57(SEQ ID N0:294) ;B60-G1-M78(SEQ ID N0:296) ;B60-G2-M78(SEQ ID N0:355) 和 M7-G2-M78(SEQ ID N0:357) ,且各所述轻链包含选自自由以下组成的组的氨基酸序列 :P1 λ 轻链 (SEQ ID N0:258) ;M27 λ 轻链 (SEQ ID N0:260) ;M7 λ 轻链 (SEQ ID N0:262) ;B72 λ 轻链 (SEQ ID N0:264) ;和 B60 λ 轻链 (SEQ ID N0:266) ;或

[0323] d. 各所述重链包含选自包含以下的组的氨基酸序列 :P1-G1-P4(SEQ ID N0:268) ;P1-G1-M57(SEQ ID N0:270) ;P1-G1-M78(SEQ ID N0:272) ;M27-G1-P4(SEQ ID N0:274) ;M27-G1-M57(SEQ ID N0:276) ;M27-G1-M78(SEQ ID N0:278) ;M7-G1-P4(SEQ ID N0:280) ;M7-G1-M57(SEQ ID N0:282) ;M7-G1-M78(SEQ ID N0:284) ;B72-G1-P4(SEQ ID N0:286) ;B72-G1-M57(SEQ ID N0:288) ;B72-G1-M78(SEQ ID N0:290) ;B60-G1-P4(SEQ ID N0:292) ;B60-G1-M57(SEQ ID N0:294) ;B60-G1-M78(SEQ ID N0:296) ;B60-G2-M78(SEQ ID N0:355) 和 M7-G2-M78(SEQ ID N0:357) ,且各所述轻链包含因至少一个氨基酸添加、缺失或取代而与选自自由以下组成的组的氨基酸序列不同的氨基酸序列 :P1 λ 轻链 (SEQ ID N0:258) ;M27 λ 轻链 (SEQ ID N0:260) ;M7 λ 轻链 (SEQ ID N0:262) ;B72 λ 轻链 (SEQ ID N0:264) ;和 B60 λ 轻链 (SEQ ID N0:266) 。

[0324] 63. 如第 62 项所述的多价双特异性抗体,其中

[0325] a. 通过至少一个键结合于另一重链的各所述重链包含与以下氨基酸序列之一至少 90% 一致或因 1-30 个氨基酸取代、缺失和 / 或添加而与以下氨基酸序列之一不同的氨基酸序列 :SF-G1-P1(SEQ ID N0:212) ;SF-G1-M1.3(SEQ ID N0:214) ;SF-G1-M27(SEQ ID N0:216) ;SF-G1-P6(SEQ ID N0:218) ;SF-G1-B69(SEQ ID N0:220) ;P4-G1-C8(SEQ ID N0:222) ;P4-G1-P1(SEQ ID N0:224) ;P4-G1-M1.3(SEQ ID N0:226) ;P4-G1-M27(SEQ ID N0:228) ;P4-G1-P6(SEQ ID N0:230) ;P4-G1-B69(SEQ ID N0:232) ;M78-G1-C8(SEQ ID N0:234) ;M78-G1-P1(SEQ ID N0:236) ;M78-G1-M1.3(SEQ ID N0:238) ;M78-G1-M27(SEQ ID N0:240) ;M78-G1-P6(SEQ ID N0:242) ;M78-G1-B69(SEQ ID N0:244) ;M57-G1-C8(SEQ ID

NO:246);M57-G1-P1(SEQ ID NO:248);M57-G1-M1.3(SEQ ID NO:250);M57-G1-M27(SEQ ID NO:252);M57-G1-P6(SEQ ID NO:254)和M57-G1-B69(SEQ ID NO:256),且

[0326] b. 通过至少一个键结合于(a)的一条重链的各所述轻链包含与以下氨基酸序列之一至少90%一致或因1-30个氨基酸取代、缺失和/或添加而与以下氨基酸序列之一不同的氨基酸序列:SF κ 轻链(SEQ ID NO:202);P4 κ 轻链(SEQ ID NO:204);M78 κ 轻链(SEQ ID NO:206);和M57 κ 轻链(SEQ ID NO:208);或

[0327] c. 通过至少一个键结合于另一重链的各所述重链包含与以下氨基酸序列之一至少90%一致或因1-30个氨基酸取代、缺失和/或添加而与以下氨基酸序列之一不同的氨基酸序列:P1-G1-P4(SEQ ID NO:268);P1-G1-M57(SEQ ID NO:270);P1-G1-M78(SEQ ID NO:272);M27-G1-P4(SEQ ID NO:274);M27-G1-M57(SEQ ID NO:276);M27-G1-M78(SEQ ID NO:278);M7-G1-P4(SEQ ID NO:280);M7-G1-M57(SEQ ID NO:282);M7-G1-M78(SEQ ID NO:284);B72-G1-P4(SEQ ID NO:286);B72-G1-M57(SEQ ID NO:288);B72-G1-M78(SEQ ID NO:290);B60-G1-P4(SEQ ID NO:292);B60-G1-M57(SEQ ID NO:294);和B60-G1-M78(SEQ ID NO:296);B60-G2-M78(SEQ ID NO:355)和M7-G2-M78(SEQ ID NO:357),且

[0328] d. 通过至少一个键结合于(c)的一条重链的各所述轻链包含与以下氨基酸序列之一至少90%一致或因1-30个氨基酸取代、缺失和/或添加而与以下氨基酸序列之一不同的氨基酸序列:P1 λ 轻链(SEQ ID NO:258);M27 λ 轻链(SEQ ID NO:260);M7 λ 轻链(SEQ ID NO:262);B72 λ 轻链(SEQ ID NO:264);和B60 λ 轻链(SEQ ID NO:266)。

[0329] 64. 如第63项所述的多价双特异性抗体,其中

[0330] a. 各所述重链包含与以下氨基酸序列之一至少95%一致或因1-10个氨基酸取代、缺失和/或添加而与以下氨基酸序列之一不同的氨基酸序列:SF-G1-P1(SEQ ID NO:212);SF-G1-M1.3(SEQ ID NO:214);SF-G1-M27(SEQ ID NO:216);SF-G1-P6(SEQ ID NO:218);SF-G1-B69(SEQ ID NO:220);P4-G1-C8(SEQ ID NO:222);P4-G1-P1(SEQ ID NO:224);P4-G1-M1.3(SEQ ID NO:226);P4-G1-M27(SEQ ID NO:228);P4-G1-P6(SEQ ID NO:230);P4-G1-B69(SEQ ID NO:232);M78-G1-C8(SEQ ID NO:234);M78-G1-P1(SEQ ID NO:236);M78-G1-M1.3(SEQ ID NO:238);M78-G1-M27(SEQ ID NO:240);M78-G1-P6(SEQ ID NO:242);M78-G1-B69(SEQ ID NO:244);M57-G1-C8(SEQ ID NO:246);M57-G1-P1(SEQ ID NO:248);M57-G1-M1.3(SEQ ID NO:250);M57-G1-M27(SEQ ID NO:252);M57-G1-P6(SEQ ID NO:254)和M57-G1-B69(SEQ ID NO:256),且

[0331] b. 各所述轻链包含与以下氨基酸序列之一至少95%一致或因1-10个氨基酸取代、缺失和/或添加而与以下氨基酸序列之一不同的氨基酸序列:SF κ 轻链(SEQ ID NO:202);P4 κ 轻链(SEQ ID NO:204);M78 κ 轻链(SEQ ID NO:206);和M57 κ 轻链(SEQ ID NO:208);或

[0332] c. 各所述重链包含与以下氨基酸序列之一至少95%一致或因1-10个氨基酸取代、缺失和/或添加而与以下氨基酸序列之一不同的氨基酸序列:P1-G1-P4(SEQ ID NO:268);P1-G1-M57(SEQ ID NO:270);P1-G1-M78(SEQ ID NO:272);M27-G1-P4(SEQ ID NO:274);M27-G1-M57(SEQ ID NO:276);M27-G1-M78(SEQ ID NO:278);M7-G1-P4(SEQ ID NO:280);M7-G1-M57(SEQ ID NO:282);M7-G1-M78(SEQ ID NO:284);B72-G1-P4(SEQ ID NO:286);B72-G1-M57(SEQ ID NO:288);B72-G1-M78(SEQ ID NO:290);B60-G1-P4(SEQ ID

N0:292) ;B60-G1-M57(SEQ ID N0:294) ;和 B60-G1-M78(SEQ ID N0:296) ;B60-G2-M78(SEQ ID N0:355) 和 M7-G2-M78(SEQ ID N0:357), 且

[0333] d. 各所述轻链包含与以下氨基酸序列之一至少 95% 一致或因 1-10 个氨基酸取代、缺失和 / 或添加而与以下氨基酸序列之一不同的氨基酸序列 :P1 λ 轻链 (SEQ ID N0:258) ;M27 λ 轻链 (SEQ ID N0:260) ;M7 λ 轻链 (SEQ ID N0:262) ;B72 λ 轻链 (SEQ ID N0:264) ;和 B60 λ 轻链 (SEQ ID N0:266)。

[0334] 65. 一种 SF-G1-P1 多价双特异性抗体, 其包含 :

[0335] 两条重链, 其各自包含 SEQ ID N0:212 的重链氨基酸序列 ;和

[0336] 两条轻链, 其各自包含 SEQ ID N0:202 的轻链序列。

[0337] 66. 一种 SF-G1-M1.3 多价双特异性抗体, 其包含 :

[0338] 两条重链, 其各自包含 SEQ ID N0:214 的重链氨基酸序列 ;和

[0339] 两条轻链, 其各自包含 SEQ ID N0:202 的轻链氨基酸序列。

[0340] 67. 一种 SF-G1-M27 多价双特异性抗体, 其包含 :

[0341] 两条重链, 其各自包含 SEQ ID N0:216 的重链氨基酸序列 ;和

[0342] 两条轻链, 其各自包含 SEQ ID N0:202 的轻链氨基酸序列。

[0343] 68. 一种 SF-G1-P6 多价双特异性抗体, 其包含 :

[0344] 两条重链, 其各自包含 SEQ ID N0:218 的重链氨基酸序列 ;和

[0345] 两条轻链, 其各自包含 SEQ ID N0:202 的轻链氨基酸序列。

[0346] 69. 一种 SF-G1-B69 多价双特异性抗体, 其包含 :

[0347] 两条重链, 其各自包含 SEQ ID N0:220 的重链氨基酸序列 ;和

[0348] 两条轻链, 其各自包含 SEQ ID N0:202 的轻链氨基酸序列。

[0349] 70. 一种 P4-G1-C8 多价双特异性抗体, 其包含 :

[0350] 两条重链, 其各自包含 SEQ ID N0:222 的重链氨基酸序列 ;和

[0351] 两条轻链, 其各自包含 SEQ ID N0:204 的轻链氨基酸序列。

[0352] 71. 一种 P4-G1-P1 多价双特异性抗体, 其包含 :

[0353] 两条重链, 其各自包含 SEQ ID N0:224 的重链氨基酸序列 ;和

[0354] 两条轻链, 其各自包含 SEQ ID N0:204 的轻链氨基酸序列。

[0355] 72. 一种 P4-G1-M1.3 多价双特异性抗体, 其包含 :

[0356] 两条重链, 其各自包含 SEQ ID N0:226 的重链氨基酸序列 ;和

[0357] 两条轻链, 其各自包含 SEQ ID N0:204 的轻链氨基酸序列。

[0358] 73. 一种 P4-G1-M27 多价双特异性抗体, 其包含 :

[0359] 两条重链, 其各自包含 SEQ ID N0:228 的重链氨基酸序列 ;和

[0360] 两条轻链, 其各自包含 SEQ ID N0:204 的轻链氨基酸序列。

[0361] 74. 一种 P4-G1-P6 多价双特异性抗体, 其包含 :

[0362] 两条重链, 其各自包含 SEQ ID N0:230 的重链氨基酸序列 ;和

[0363] 两条轻链, 其各自包含 SEQ ID N0:204 的轻链氨基酸序列。

[0364] 75. 一种 P4-G1-B69 多价双特异性抗体, 其包含 :

[0365] 两条重链, 其各自包含 SEQ ID N0:232 的重链氨基酸序列 ;和

[0366] 两条轻链, 其各自包含 SEQ ID N0:204 的轻链氨基酸序列。

- [0367] 76. 一种 M78-G1-C8 多价双特异性抗体,其包含:
- [0368] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:234 的重链氨基酸序列;和
- [0369] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:206 的轻链氨基酸序列。
- [0370] 77. 一种 M78-G1-P1 多价双特异性抗体,其包含:
- [0371] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:236 的重链氨基酸序列;和
- [0372] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:206 的轻链氨基酸序列。
- [0373] 78. 一种 M78-G1-M1.3 多价双特异性抗体,其包含:
- [0374] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:238 的重链氨基酸序列;和
- [0375] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:206 的轻链氨基酸序列。
- [0376] 79. 一种 M78-G1-M27 多价双特异性抗体,其包含:
- [0377] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:240 的重链氨基酸序列;和
- [0378] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:206 的轻链氨基酸序列。
- [0379] 80. 一种 M78-G1-P6 多价双特异性抗体,其包含:
- [0380] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:242 的重链氨基酸序列;和
- [0381] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:206 的轻链氨基酸序列。
- [0382] 81. 一种 M78-G1-B69 多价双特异性抗体,其包含:
- [0383] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:244 的重链氨基酸序列;和
- [0384] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:206 的轻链氨基酸序列。
- [0385] 82. 一种 M57-G1-C8 多价双特异性抗体,其包含:
- [0386] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:246 的重链氨基酸序列;和
- [0387] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:208 的轻链氨基酸序列。
- [0388] 83. 一种 M57-G1-P1 多价双特异性抗体,其包含:
- [0389] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:248 的重链氨基酸序列;和
- [0390] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:208 的轻链氨基酸序列。
- [0391] 84. 一种 M57-G1-M1.3 多价双特异性抗体,其包含:
- [0392] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:250 的重链氨基酸序列;和
- [0393] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:208 的轻链氨基酸序列。
- [0394] 85. 一种 M57-G1-M27 多价双特异性抗体,其包含:
- [0395] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:252 的重链氨基酸序列;和
- [0396] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:208 的轻链氨基酸序列。
- [0397] 86. 一种 M57-G1-P6 多价双特异性抗体,其包含:
- [0398] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:254 的重链氨基酸序列;和
- [0399] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:208 的轻链氨基酸序列。
- [0400] 87. 一种 M57-G1-B69 多价双特异性抗体,其包含:
- [0401] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:256 的重链氨基酸序列;和
- [0402] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:208 的轻链氨基酸序列。
- [0403] 88. 一种 P1-G1-P4 多价双特异性抗体,其包含:
- [0404] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:268 的重链氨基酸序列;和
- [0405] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:258 的轻链氨基酸序列。

- [0406] 89. 一种 P1-G1-M57 多价双特异性抗体,其包含:
- [0407] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:270 的重链氨基酸序列;和
- [0408] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:258 的轻链氨基酸序列。
- [0409] 90. 一种 P1-G1-M78 多价双特异性抗体,其包含:
- [0410] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:272 的重链氨基酸序列;和
- [0411] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:258 的轻链氨基酸序列。
- [0412] 91. 一种 M27-G1-P4 多价双特异性抗体,其包含:
- [0413] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:274 的重链氨基酸序列;和
- [0414] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:260 的轻链氨基酸序列。
- [0415] 92. 一种 M27-G1-M57 多价双特异性抗体,其包含:
- [0416] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:276 的重链氨基酸序列;和
- [0417] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:260 的轻链氨基酸序列。
- [0418] 93. 一种 M27-G1-M78 多价双特异性抗体,其包含:
- [0419] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:278 的重链氨基酸序列;和
- [0420] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:260 的轻链氨基酸序列。
- [0421] 94. 一种 M7-G1-P4 多价双特异性抗体,其包含:
- [0422] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:280 的重链氨基酸序列;和
- [0423] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:262 的轻链氨基酸序列。
- [0424] 95. 一种 M7-G1-M57 多价双特异性抗体,其包含:
- [0425] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:282 的重链氨基酸序列;和
- [0426] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:262 的轻链氨基酸序列。
- [0427] 96. 一种 M7-G1-M78 多价双特异性抗体,其包含:
- [0428] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:284 的重链氨基酸序列;和
- [0429] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:262 的轻链氨基酸序列。
- [0430] 97. 一种 B72-G1-P4 多价双特异性抗体,其包含:
- [0431] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:286 的重链氨基酸序列;和
- [0432] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:264 的轻链氨基酸序列。
- [0433] 98. 一种 B72-G1-M57 多价双特异性抗体,其包含:
- [0434] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:288 的重链氨基酸序列;和
- [0435] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:264 的轻链氨基酸序列。
- [0436] 99. 一种 B72-G1-M78 多价双特异性抗体,其包含:
- [0437] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:290 的重链氨基酸序列;和
- [0438] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:264 的轻链氨基酸序列。
- [0439] 100. 一种 B60-G1-P4 多价双特异性抗体,其包含:
- [0440] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:292 的重链氨基酸序列;和
- [0441] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:266 的轻链氨基酸序列。
- [0442] 101. 一种 B60-G1-M57 多价双特异性抗体,其包含:
- [0443] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:294 的重链氨基酸序列;和
- [0444] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:266 的轻链氨基酸序列。

[0445] 102. 一种 B60-G1-M78 多价双特异性抗体,其包含:

[0446] 两条重链,其各自包含 SEQ ID NO:296 的重链氨基酸序列;和

[0447] 两条轻链,其各自包含 SEQ ID NO:266 的轻链氨基酸序列。

[0448] 103. 一种抗 IGF-1R 单克隆抗体,其包含按氨基至羧基顺序包含如图 5A 的 SEQ ID NO:202 中加点状下划线所示 SF κ 轻链的 VLCDR1 序列、VLCDR2 序列和 VLCDR3 序列的第一序列,所述抗体进一步包含按氨基至羧基顺序包含如图 5A 的 SEQ ID NO:210 中分别前三个加点状下划线序列所示 SF 重链的 VHCDR1 序列、VHCDR2 序列和 VHCDR3 序列的第二序列,其中所述第一序列与所述第二序列不重叠。

[0449] 104. 一种抗 IGF-1R 单克隆抗体,其按氨基至羧基顺序包含如图 5A 的 SEQ ID NO:204 中加点状下划线所示 P4 κ 轻链的 VLCDR1 序列、VLCDR2 序列和 VLCDR3 序列,所述抗体进一步按氨基至羧基顺序包含如图 5A 的 SEQ ID NO:222 中分别前三个加点状下划线序列所示 P4 重链的 VHCDR1 序列、VHCDR2 序列和 VHCDR3 序列。

[0450] 105. 一种抗 IGF-1R 单克隆抗体,其按氨基至羧基顺序包含如图 5A 的 SEQ ID NO:206 中加点状下划线所示 M78 κ 轻链的 VLCDR1 序列、VLCDR2 序列和 VLCDR3 序列,所述抗体进一步按氨基至羧基顺序包含如图 5A 的 SEQ ID NO:234 中分别前三个加点状下划线序列所示 M78 重链的 VHCDR1 序列、VHCDR2 序列和 VHCDR3 序列。

[0451] 106. 一种抗 IGF-1R 单克隆抗体,其按氨基至羧基顺序包含如图 5A 的 SEQ ID NO:208 中加点状下划线所示 M57 κ 轻链的 VLCDR1 序列、VLCDR2 序列和 VLCDR3 序列,所述抗体进一步按氨基至羧基顺序包含如图 5A 的 SEQ ID NO:246 中分别前三个加点状下划线序列所示 M57 重链的 VHCDR1 序列、VHCDR2 序列和 VHCDR3 序列。

[0452] 107. 一种分离的抗 IGF-1R 抗体,其特异性结合人 IGF-1R,其中

[0453] a. 所述抗 IGF-1R 抗体包含含有一组三个包含 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 的 VH CDR 的 VH 结构域,和含有一组三个包含 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 的 VL CDR 的 VL 结构域,所述 CDR 分别包含 SEQ ID NO:302、303、304、305、306 和 307 的序列,且各 CDR 进一步包含氨基端和羧基端,其中各组 CDR 的所述 CDR 在所述抗体中按 CDR1、CDR2 和 CDR3 的线性氨基至羧基顺序排列,其中

[0454] b. 所述 CDR 包含独立地表示在图 1 (VH) 或图 2 (VL) 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸,且

[0455] c. 所述抗体不包含 SF 模块。

[0456] 108. 如第 107 项所述的抗 IGF-1R 抗体,其中所述 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 分别包含 SEQ ID NO:302、303、304、305、306 和 308 的序列。

[0457] 109. 如第 108 项所述的抗 IGF-1R 抗体,其中所述 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 结构域包含 SEQ ID NO:8-10 和 12-31 中任一者的相应氨基酸序列,且所述 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 结构域包含 SEQ ID NO:32-34 和 36-133 中任一者的相应氨基酸序列。

[0458] 110. 如第 109 项所述的抗 IGF-1R 抗体,其中

[0459] a. 所述 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:8 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:32 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0460] b. 所述 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:9 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:33 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0461] c. 所述 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:10 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:34 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0462] d. 所述 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:11 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:35 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0463] e. 所述 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:8 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:33 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0464] f. 所述 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:10 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:32 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0465] 111. 如第 110 项所述的抗 IGF-1R 抗体,其中所述 VH 结构域包含 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列,所述序列包含独立地表示在图 1 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸。

[0466] 112. 如第 107 至 111 项中任一项所述的抗 IGF-1R 抗体,其中所述 VL 结构域包含 SEQ ID NO:2 的氨基酸序列,所述序列包含独立地表示在图 2 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸。

[0467] 113. 如第 112 项所述的抗 IGF-1R 抗体,其中所述 VH 结构域包含 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列,且所述 VL 结构域包含 SEQ ID NO:2 的氨基酸序列。

[0468] 114. 如第 107 至 113 项中任一项所述的抗 IGF-1R 抗体,其中所述 VL 结构域包含 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列,所述序列包含独立地表示在图 2 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸。

[0469] 115. 如第 114 项所述的抗 IGF-1R 抗体,其中所述 VH 结构域包含 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列,且所述 VL 结构域包含 SEQ ID NO:3 的氨基酸序列。

[0470] 116. 如第 115 项所述的抗 IGF-1R 抗体,其中所述 VH 结构域包含选自由 SEQ ID NO:8-10 和 12-31 组成的组的氨基酸序列且所述 VL 结构域包含选自由 SEQ ID NO:32-34 和 36-133 组成的组的氨基酸序列。

[0471] 117. 如第 107 至 116 项中任一项所述的抗 IGF-1R 抗体,其中

[0472] a. 所述 VH 结构域包含与 SEQ ID NO:8-10 和 12-31 中任一者的氨基酸序列至少 90%一致或因 1-30 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:8-10 和 12-31 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列,且

[0473] b. 所述 VL 结构域包含与 SEQ ID NO:32-34 和 36-133 中任一者的氨基酸序列至少 90%一致或因 1-30 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:32-34 和 36-133 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列。

[0474] 118. 如第 117 项所述的抗 IGF-1R 抗体,其中

[0475] a. 所述 VH 结构域包含与 SEQ ID NO:8-10 和 12-31 中任一者的氨基酸序列至少 95%一致或因 1-10 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:8-10 和 12-31 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列,且

[0476] b. 所述 VL 结构域包含与 SEQ ID NO:32-34 和 36-133 中任一者的氨基酸序列至少 95%一致或因 1-10 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:32-34 和 36-133 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列。

[0477] 119. 如第 103 至 118 项中任一项所述的抗 IGF-1R 抗体,其为 IgG1。

[0478] 120. 如第 107 至 119 项中任一项所述的抗 IGF-1R 抗体,所述抗体为包含两对多肽

链的蛋白质,各所述对包含重链和轻链;其中

[0479] a. 各所述重链包含 SEQ ID NO:359、360 或 361 的氨基酸序列;或

[0480] b. 各所述轻链包含 SEQ ID NO:204、206 或 208 的氨基酸序列。

[0481] 121. 如第 120 项所述的抗 IGF-1R 抗体,其中

[0482] a. 各所述重链包含 SEQ ID NO:359、360 或 361 的氨基酸序列,且

[0483] b. 且各轻链包含 SEQ ID NO:204、206 或 208 的氨基酸序列。

[0484] 122. 如第 107 至 121 项中任一项所述的抗 IGF-1R 抗体,所述抗体为包含两对多肽链的蛋白质,各所述对包含重链和轻链;其中

[0485] a. 各所述重链包含与 SEQ ID NO:359、360 或 361 中任一者的氨基酸序列至少 90% 一致或因 1-30 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:359、360 或 361 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列,且

[0486] b. 各所述轻链包含与 SEQ ID NO:204、206 或 208 中任一者的氨基酸序列至少 90% 一致或因 1-30 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:204、206 或 208 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列。

[0487] 123. 如第 122 项所述的抗 IGF-1R 抗体,其中

[0488] a. 各所述重链包含与 SEQ ID NO:359、360 或 361 中任一者的氨基酸序列至少 95% 一致或因 1-10 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:359、360 或 361 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列,且

[0489] b. 各所述轻链包含与 SEQ ID NO:204、206 或 208 中任一者中的氨基酸序列至少 95% 一致或因 1-10 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:204、206 或 208 中任一者中的氨基酸序列不同的氨基酸序列。

[0490] 124. 一种抗 IGF-R1 单克隆 IgG1 抗体 P4,其包含两条各自包含 SEQ ID NO:359 的重链氨基酸序列的重链和两条各自包含 SEQ ID NO:204 的轻链氨基酸序列的轻链。

[0491] 125. 一种抗 IGF-R1 单克隆 IgG1 抗体 M78,其包含两条各自包含 SEQ ID NO:360 的重链氨基酸序列的重链和两条各自包含 SEQ ID NO:206 的轻链氨基酸序列的轻链。

[0492] 126. 一种抗 IGF-R1 单克隆 IgG1 抗体 M57,其包含两条各自包含 SEQ ID NO:361 的重链氨基酸序列的重链和两条各自包含 SEQ ID NO:208 的轻链氨基酸序列的轻链。

[0493] 127. 一种抗 IGF-R1 单克隆 IgG1 抗体 M57/M78,其包含两条各自包含 SEQ ID NO:361 的重链氨基酸序列的重链和两条各自包含 SEQ ID NO:206 的轻链氨基酸序列的轻链。

[0494] 128. 一种抗 IGF-R1 单克隆 IgG1 抗体 P4/M57,其包含两条各自包含 SEQ ID NO:359 的重链氨基酸序列的重链和两条各自包含 SEQ ID NO:208 的轻链氨基酸序列的轻链。

[0495] 129. 如第 103 至 128 项中任一项所述的抗 IGF-1R 抗体,其包含一个或多个其它结合位点。

[0496] 130. 如第 129 项所述的抗 IGF-1R 抗体,其包含抗 ErbB3 结合位点。

[0497] 131. 一种抗 ErbB3 单克隆抗体,其按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:258 中加点状下划线所示 P1 λ 轻链的 VLCDR1 序列、VLCDR2 序列和 VLCDR3 序列,所述抗体进一步按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:268 中分别前三个加点状下划线序列所示 P1 重链的 VHCDR1 序列、VHCDR2 序列和 VHCDR3 序列。

[0498] 132. 一种抗 ErbB3 单克隆抗体,其按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:260 中加点状下划线所示 M27 λ 轻链的 VLCDR1 序列、VLCDR2 序列和 VLCDR3 序列,所述抗体进一步按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:274 中分别前三个加点状下划线序列所示 M27 重链的 VHCDR1 序列、VHCDR2 序列和 VHCDR3 序列。

[0499] 133. 一种抗 ErbB3 单克隆抗体,其按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:262 中加点状下划线所示 M7 λ 轻链的 VLCDR1 序列、VLCDR2 序列和 VLCDR3 序列,所述抗体进一步按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:280 中分别前三个加点状下划线序列所示 M7 重链的 VHCDR1 序列、VHCDR2 序列和 VHCDR3 序列。

[0500] 134. 一种抗 ErbB3 单克隆抗体,其按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:264 中加点状下划线所示 B72 λ 轻链的 VLCDR1 序列、VLCDR2 序列和 VLCDR3 序列,所述抗体进一步按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:286 中分别前三个加点状下划线序列所示 B72 重链的 VHCDR1 序列、VHCDR2 序列和 VHCDR3 序列。

[0501] 135. 一种抗 ErbB3 单克隆抗体,其按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:266 中加点状下划线所示 B60 λ 轻链的 VLCDR1 序列、VLCDR2 序列和 VLCDR3 序列,所述抗体进一步按氨基至羧基顺序包含如图 5B 的 SEQ ID NO:292 中分别前三个加点状下划线序列所示 B60 重链的 VHCDR1 序列、VHCDR2 序列和 VHCDR3 序列。

[0502] 136. 一种分离的抗 ErbB3 抗体,其特异性结合人 ErbB3,其中

[0503] a. 所述抗 IGF-1R 抗体包含含有一组三个包含 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 的 VH CDR 的 VH 结构域,和含有一组三个包含 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 的 VL CDR 的 VL 结构域,所述 CDR 分别包含 SEQ ID NO:309、310、311、312、313 和 314 的序列,且各 CDR 进一步包含氨基端和羧基端,其中各组 CDR 的所述 CDR 在所述抗体中按 CDR1、CDR2 和 CDR3 的线性氨基至羧基顺序排列,其中

[0504] b. 所述 CDR 包含独立地表示在图 3 (VH) 或图 4 (VL) 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸,且

[0505] c. 所述抗体不包含 C8 模块。

[0506] 137. 如第 136 项所述的抗 ErbB3 抗体,其中所述 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 分别包含 SEQ ID NO:309、310、311、312、313 和 315 的序列。

[0507] 138. 如第 137 项所述的抗 ErbB3 抗体,其中所述 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 结构域包含 SEQ ID NO:134-142 和 144-165 中任一者的相应氨基酸序列,且所述 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 结构域包含 SEQ ID NO:166-174 和 176-200 中任一者的相应氨基酸序列。

[0508] 139. 如第 138 项所述的抗 ErbB3 抗体,其中

[0509] a. 所述 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:134 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:166 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0510] b. 所述 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:135 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:167 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0511] c. 所述 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:168 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0512] d. 所述 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:137 的相应 CDR 的氨基酸序列,且所述 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0513] e. 所述 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:138 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且所述 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:170 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0514] f. 所述 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:139 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且所述 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:171 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0515] g. 所述 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:140 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且所述 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:172 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0516] h. 所述 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:141 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且所述 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:173 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0517] i. 所述 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:142 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且所述 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:174 的相应 CDR 的氨基酸序列;或

[0518] j. 所述 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3 包含 SEQ ID NO:136 的相应 CDR 的氨基酸序列, 且所述 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 包含 SEQ ID NO:169 的相应 CDR 的氨基酸序列。

[0519] 140. 如第 136 至 139 项中任一项所述的抗 ErbB3 抗体, 其中所述 VH 结构域包含 SEQ ID NO:4 的氨基酸序列, 所述序列包含独立地表示在图 3 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸。

[0520] 141. 如第 136 至 140 项中任一项所述的抗 ErbB3 抗体, 其中所述 VL 结构域包含 SEQ ID NO:6 的氨基酸序列, 所述序列包含独立地表示在图 4 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸。

[0521] 142. 如第 141 项所述的抗 ErbB3 抗体, 其中所述 VH 结构域包含 SEQ ID NO:4 的氨基酸序列, 且所述 VL 结构域包含 SEQ ID NO:6 的氨基酸序列。

[0522] 143. 如第 136 至 142 项中任一项所述的抗 ErbB3 抗体, 其中所述 VH 结构域包含 SEQ ID NO:5 的氨基酸序列, 所述序列包含独立地表示在图 3 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸。

[0523] 144. 如第 136 至 143 项中任一项所述的抗 ErbB3 抗体, 其中所述 VL 结构域包含 SEQ ID NO:7 的氨基酸序列, 所述序列包含独立地表示在图 4 中相应位置所示的任何氨基酸的可变氨基酸。

[0524] 145. 如第 144 项所述的抗 ErbB3 抗体, 其中所述 VH 结构域包含 SEQ ID NO:5 的氨基酸序列, 且所述 VL 结构域包含 SEQ ID NO:7 的氨基酸序列。

[0525] 146. 如第 145 项所述的抗 ErbB3 抗体, 其中所述 VH 结构域包含选自由 SEQ ID NO:134-142 和 144-165 组成的组的氨基酸序列且所述 VL 结构域包含选自由 SEQ ID NO:166-174 和 176-200 组成的组的氨基酸序列。

[0526] 147. 如第 136 至 146 项中任一项所述的抗 ErbB3 抗体, 其中

[0527] a. 所述 VH 结构域包含与 SEQ ID NO:134-142 和 144-165 中任一者的氨基酸序列至少 90%一致或因 1-30 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:134-142 和 144-165 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列, 且

[0528] b. 所述 VL 结构域包含与 SEQ ID NO:166-174 和 176-200 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列至少 90%一致或因 1-30 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:166-174 和 176-200 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列不同的氨基酸序列。

[0529] 148. 如第 147 项所述的抗 ErbB3 抗体, 其中

[0530] a. 所述 VH 结构域包含与 SEQ ID NO:134-142 和 144-165 中任一者的氨基酸序列至少 95%一致或因 1-10 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:134-142 和 144-165 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列,且

[0531] b. 所述 VL 结构域包含与 SEQ ID NO:166-174 和 176-200 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列至少 95%一致或因 1-10 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:166-174 和 176-200 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列不同的氨基酸序列。

[0532] 149. 如第 131 至 149 项中任一项所述的抗 ErbB3 抗体,其为 IgG1。

[0533] 150. 如第 136 至 149 项中任一项所述的抗 ErbB3 抗体,所述抗体为包含两对多肽链的蛋白质,各所述对包含重链和轻链;其中

[0534] a. 各所述重链包含 SEQ ID NO:362、363、364、365 或 366 的氨基酸序列;或

[0535] b. 各所述轻链包含 SEQ ID NO:258、260、262、264 或 266 的氨基酸序列。

[0536] 151. 如第 150 项所述的抗 ErbB3 抗体,其中

[0537] a. 各所述重链包含 SEQ ID NO:362、363、364、365 或 366 的氨基酸序列,且

[0538] b. 且各轻链包含 SEQ ID NO:258、260、262、264 或 266 的氨基酸序列。

[0539] 152. 如第 136 至 151 项中任一项所述的抗 ErbB3 抗体,所述抗体为包含两对多肽链的蛋白质,各所述对包含重链和轻链;其中

[0540] a. 各所述重链包含与 SEQ ID NO:362、363、364、365 或 366 中任一者的氨基酸序列至少 90%一致或因 1-30 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:362、363、364、365 或 366 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列,且

[0541] b. 各所述轻链包含与 SEQ ID NO:258、260、262、264 或 266 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列至少 90%一致或因 1-30 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:258、260、262、264 或 266 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列不同的氨基酸序列。

[0542] 153. 如第 152 项所述的抗 ErbB3 抗体,其中

[0543] a. 各所述重链包含与 SEQ ID NO:362、363、364、365 或 366 中任一者的氨基酸序列至少 95%一致或因 1-10 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:362、363、364、365 或 366 中任一者的氨基酸序列不同的氨基酸序列,且

[0544] b. 各所述轻链包含与 SEQ ID NO:258、260、262、264 或 266 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列至少 95%一致或因 1-10 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:258、260、262、264 或 266 中任一者的氨基酸序列的氨基酸序列不同的氨基酸序列。

[0545] 154. 如第 131 至 153 项中任一项所述的抗 ErbB3 抗体,其包含一个或多个其它结合位点。

[0546] 155. 如第 154 项所述的抗 ErbB3 抗体,其包含抗 IGF-1R 结合位点。

[0547] 156. 一种抗 ErbB3 单克隆 IgG1 抗体 P1,其包含两条各自包含 SEQ ID NO:362 的重链氨基酸序列的重链和两条各自包含 SEQ ID NO:258 的轻链氨基酸序列的轻链。

[0548] 157. 一种抗 ErbB3 单克隆 IgG1 抗体 M27,其包含两条各自包含 SEQ ID NO:363 的重链氨基酸序列的重链和两条各自包含 SEQ ID NO:260 的轻链氨基酸序列的轻链。

[0549] 158. 一种抗 ErbB3 单克隆 IgG1 抗体 M7,其包含两条各自包含 SEQ ID NO:364 的重链氨基酸序列的重链和两条各自包含 SEQ ID NO:262 的轻链氨基酸序列的轻链。

[0550] 159. 一种抗 ErbB3 单克隆 IgG1 抗体 B72,其包含两条各自包含 SEQ ID NO:365 的

重链氨基酸序列的重链和两条各自包含 SEQ ID NO:264 的轻链氨基酸序列的轻链。

[0551] 160. 一种抗 ErbB3 单克隆 IgG1 抗体 B60, 其包含两条各自包含 SEQ ID NO:366 的重链氨基酸序列的重链和两条各自包含 SEQ ID NO:266 的轻链氨基酸序列的轻链。

[0552] 161. 一种抗 ErbB3 单克隆 IgG1 抗体 M27/M7, 其包含两条各自包含 SEQ ID NO:363 的重链氨基酸序列的重链和两条各自包含 SEQ ID NO:262 的轻链氨基酸序列的轻链。

[0553] 162. 一种抗 IGF-R1 单克隆 scFv 抗体 P4, 其包含 SEQ ID NO:367 的氨基酸序列。

[0554] 163. 一种抗 IGF-R1 单克隆 scFv 抗体 M57, 其包含 SEQ ID NO:368 的氨基酸序列。

[0555] 164. 一种抗 IGF-R1 单克隆 scFv 抗体 M78, 其包含 SEQ ID NO:369 的氨基酸序列。

[0556] 165. 一种抗 ErbB3 单克隆 scFv 抗体 C8, 其包含 SEQ ID NO:370 的氨基酸序列。

[0557] 166. 一种抗 ErbB3 单克隆 scFv 抗体 P1, 其包含 SEQ ID NO:371 的氨基酸序列。

[0558] 167. 一种抗 ErbB3 单克隆 scFv 抗体 M1.3, 其包含 SEQ ID NO:372 的氨基酸序列。

[0559] 168. 一种抗 ErbB3 单克隆 scFv 抗体 M27, 其包含 SEQ ID NO:373 的氨基酸序列。

[0560] 169. 一种抗 ErbB3 单克隆 scFv 抗体 P6, 其包含 SEQ ID NO:374 的氨基酸序列。

[0561] 170. 一种抗 ErbB3 单克隆 scFv 抗体 B69, 其包含 SEQ ID NO:375 的氨基酸序列。

[0562] 171. 一种组合物, 其包含如第 1 至 102 项中任一项所述的多价双特异性抗体和药学上可接受的载剂。

[0563] 172. 一种组合物, 其包含如第 103 至 130 项中任一项所述的抗 IGF-1R 抗体和药学上可接受的载剂。

[0564] 173. 如第 172 项所述的组合物, 其进一步包含抗 ErbB3 抗体, 所述抗 ErbB3 抗体任选地为如第 131 至 161 项中任一项所述的抗 ErbB3 抗体。

[0565] 174. 一种组合物, 其包含如第 131 至 161 项中任一项所述的抗 ErbB3 抗体和药学上可接受的载剂。

[0566] 175. 如第 174 项所述的组合物, 其进一步包含抗 IGF-1R 抗体, 所述抗 IGF-1R 抗体任选地为如第 103 至 130 项中任一项所述的抗 IGF-1R 抗体。

[0567] 176. 一种核酸分子, 其包含至少一个编码序列, 所述至少一个编码序列编码如第 1 至 170 项中任一项所述的抗体。

[0568] 177. 如第 176 项所述的核酸分子, 所述核酸分子包含启动子核苷酸序列和强化子核苷酸序列中的任一者或两者, 所述核苷酸序列可操作地连接于所述至少一个编码序列且促进或增强所述抗体的表达。

[0569] 178. 一种载体, 其包含一个或多个如第 176 或 177 项所述的核酸分子。

[0570] 179. 一种分离的细胞, 其包含一个或多个如第 178 项所述的载体。

[0571] 180. 一种产生如第 1 至 170 项中任一项所述的多价双特异性抗体、抗 IGF-1R 抗体或抗 ErbB3 抗体的方法, 其包括在适于表达所述多价双特异性抗体、抗 IGF-1R 抗体或抗 ErbB3 抗体的条件下培养如第 179 项所述的细胞。

[0572] 181. 一种治疗患有癌症的受试者的方法, 所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的以下一者或多者: (a) 一种或多种如第 103 至 170 项中任一项所述的抗体, 或 (b) 至少一种如第 1 至 102 项中任一项所述的多价双特异性抗体, 或 (c) 如第 171 至 175 项中任一项所述的组合物。

[0573] 182. 如第 1 至 102 项中任一项所述的多价双特异性抗体, 其中所述抗体当以等于

或高于 5mg/kg 的剂量静脉内施用时在食蟹猕猴 (*Cynomolgus monkey*) 体内具有至少 45 小时的半衰期。

[0574] 183. 如第 1 至 102 和 182 项中任一项所述的多价双特异性抗体, 其中所述抗体在为小鼠或食蟹猕猴的生物体体内的所述半衰期在统计上长于结合相同表位的另一多价双特异性抗体在相同生物体体内的半衰期, 其中抗原结合特异性的方向在所述 fab 与所述 scfv 之间相反。

[0575] 184. 如第 1 至 102 和 182 至 183 项中任一项所述的多价双特异性抗体, 其使癌细胞中异调蛋白诱导的 pAKT 信号传导抑制至少 50%。

[0576] 185. 如第 1 至 102 和 182 至 184 项中任一项所述的多价双特异性抗体, 其使癌细胞中 IGF-1 诱导的 pAKT 信号传导抑制至少 50%。

[0577] 186. 如第 1 至 102 和 182 至 185 项中任一项所述的多价双特异性抗体, 其使癌细胞中胰岛素诱导的 pAKT 信号传导抑制至少 50%。

[0578] 187. 如第 1 至 102 和 182 至 185 项中任一项所述的多价双特异性抗体, 其使癌细胞中 IGF-2 诱导的 pAKT 信号传导抑制至少 50%。

[0579] 188. 如第 1 至 102 和 182 至 187 项中任一项所述的多价双特异性抗体, 其在体内或体外抑制肿瘤细胞中 mTOR 活化的程度大于单特异性抗 IGF-1R Ab#A。

[0580] 189. 如第 188 项所述的多价双特异性抗体, 其在体内或体外降低肿瘤细胞中 mTOR 蛋白水平的程度大于单特异性抗 IGF-1R Ab#A。

[0581] 190. 如第 188 或 189 项所述的多价双特异性抗体, 其在体内或体外使肿瘤细胞中的 mTOR 活化或蛋白水平降至相对于单特异性抗 IGF-1R Ab#A 的至多 1/2。

[0582] 191. 如第 190 项所述的多价双特异性抗体, 其在体内或体外使肿瘤细胞中的 mTOR 活化或蛋白水平降至相对于单特异性抗 IGF-1R Ab#A 的至多 1/3。

[0583] 192. 如第 1 至 102 项中任一项所述的多价双特异性抗体, 其中所述多价双特异性抗体在 nu/nu 小鼠中的人异种移植物模型中比等摩尔量的抗 IGF-1R IgG 更有效地抑制肿瘤生长。

[0584] 193. 如第 192 项所述的多价双特异性抗体, 其中所述异种移植物模型包含人 DU145、BxPC-3、SK-ES-1 或 Caki-1 细胞异种移植物。

[0585] 194. 如第 193 项所述的多价双特异性抗体, 其中所述多价双特异性抗体在 nu/nu 小鼠中的人异种移植物模型中比等摩尔量的抗 IGF-1R IgG 与等摩尔量的抗 ErbB3IgG 组合的组合更有效地抑制肿瘤生长。

[0586] 附图简述

[0587] 图 1A-B: 示例性 IGF-1R VH 序列 (SEQ ID NO: 8-31 和 384-385, 自上至下连续编号) 与其所来源的共同序列 (SEQ ID NO: 1) 的比对。CDR 加有下划线且 CDR 的 SEQ ID NO 作为方括号中的编号 (例如 “[S. 302]”) 提供于 CDR 上方。

[0588] 图 2A-E: 示例性 IGF-1R VL 序列 (SEQ ID NO: 32-133 和 386-387, 自上至下连续编号) 与其所来源的两个共同序列 (SEQ ID NO: 2 和 3) 的比对。SEQ ID NO: 2 包括 16F 的 VL 结构域, 而 SEQ ID NO: 3 不包括。CDR 加有下划线且 CDR 的 SEQ ID NO 作为方括号中的编号提供于 CDR 上方。

[0589] 图 3A-B: 示例性 ErbB3VH 序列 (SEQ ID NO: 134-165 和 388, 自上至下连续编号)

与其所来源的两个共同序列 (SEQ ID NO:4 和 5) 的比对。SEQ ID NO:4 包括 16F 的 VH 结构域,而 SEQ ID NO:5 不包括。CDR 加有下划线且 CDR 的 SEQ ID NO 作为方括号中的编号提供于 CDR 上方。

[0590] 图 4A-B:示例性 ErbB3VL 序列 (SEQ ID NO:166-200,自上至下连续编号)与其所来源的两个共同序列 (SEQ ID NO:6 和 7) 的比对。SEQ ID NO:6 包括 16F 的 VL 结构域,而 SEQ ID NO:7 不包括。CDR 加有下划线且 CDR 的 SEQ ID NO 作为括号中的编号提供于 CDR 上方。

[0591] 图 5:示例性抗 IGF-1R-IgG1-抗 ErbB3(图 5A)和抗 ErbB3-IgG1-抗-IGF-1R(图 5B)多价双特异性抗体的轻链和重链的氨基酸序列。

[0592] 图 5A 示出以下抗 IGF-1R-IgG1-抗 ErbB3 杂交重链的氨基酸序列:SF-G1-C8(即 16F-SEQ ID NO:210);SF-G1-P1(SEQ ID NO:212);SF-G1-M1.3(SEQ ID NO:214);SF-G1-M27(SEQ ID NO:216);SF-G1-P6(SEQ ID NO:218);SF-G1-B69(SEQ ID NO:220);P4-G1-C8(SEQ ID NO:222);P4-G1-P1(SEQ ID NO:224);P4-G1-M1.3(SEQ ID NO:226);P4-G1-M27(SEQ ID NO:228);P4-G1-P6(SEQ ID NO:230);P4-G1-B69(SEQ ID NO:232);M78-G1-C8(SEQ ID NO:234);M78-G1-P1(SEQ ID NO:236);M78-G1-M1.3(SEQ ID NO:238);M78-G1-M27(SEQ ID NO:240);M78-G1-P6(SEQ ID NO:242);M78-G1-B69(SEQ ID NO:244);M57-G1-C8(SEQ ID NO:246);M57-G1-P1(SEQ ID NO:248);M57-G1-M1.3(SEQ ID NO:250);M57-G1-M27(SEQ ID NO:252);M57-G1-P6(SEQ ID NO:254)和 M57-G1-B69(SEQ ID NO:256)。

[0593] 图 5B 示出以下抗 ErbB3-IgG1-抗 IGF-1R 杂交重链的氨基酸序列:P1-G1-P4(SEQ ID NO:268);P1-G1-M57(SEQ ID NO:270);P1-G1-M78(SEQ ID NO:272);M27-G1-P4(SEQ ID NO:274);M27-G1-M57(SEQ ID NO:276);M27-G1-M78(SEQ ID NO:278);M7-G1-P4(SEQ ID NO:280);M7-G1-M57(SEQ ID NO:282);M7-G1-M78(SEQ ID NO:284);B72-G1-P4(SEQ ID NO:286);B72-G1-M57(SEQ ID NO:288);B72-G1-M78(SEQ ID NO:290);B60-G1-P4(SEQ ID NO:292);B60-G1-M57(SEQ ID NO:294);B60-G1-M78(SEQ ID NO:296);B60-G2-M78(SEQ ID NO:355)和 M7-G2-M78(SEQ ID NO:357)。

[0594] 图 5A 和 5B 的这些杂交重链各自包含三个命名模块且各自根据其模块组成(参见图 8)进行命名,其中左边第一个名称为氨基端模块,中间第二个名称为中间模块(如所示,在序列提供于图 5A 和 5B 中的多价双特异性抗体中,始终为 G1 或 G2)且右边第三个名称为羧基端模块。各第一氨基端模块包含自左至右包含各自有点状下划线所指示的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 的重链 VR。各第二中间模块命名为 G1 或 G2 且包含 IgG1CR,且不形成多价双特异性抗体中的抗原结合位点。G1 或 G2 模块序列的铰链、CH2 和 CH3 部分加有单底线。CH1 部分始于 ASTK(SEQ ID NO:392)。连接 G1 模块与第三模块的 Gly-Ser 接头序列加有双底线。各第三羧基端模块出现在此 Gly-Ser 接头序列的右侧且包含 scFv,所述 scFv 包含自左至右包含 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3(各自加有点状下划线)的重链 VR、Gly-Ser scFv 接头(加有双波状底线)和包含 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3(各自加有点状下划线)的轻链 VR。

[0595] 各氨基端或羧基端重链模块的结合特异性与图 5A 或 5B 的相应命名轻链相同。

[0596] 图 5A 示出以下成熟抗 IGF-R1 κ 轻链的氨基酸("aa")序列:SF(SEQ ID NO:202)、

P4 (SEQ ID NO:204)、M78 (SEQ ID NO:206) 和 M57 (SEQ ID NO:208)。

[0597] 图 5B 示出以下成熟抗 ErbB3 λ 轻链的氨基酸序列:P1 (SEQ ID NO:258)、M27 (SEQ ID NO:260)、M7 (SEQ ID NO:262)、B72 (SEQ ID NO:264) 和 B60 (SEQ ID NO:266)。

[0598] 图 5A 和 5B 的各轻链自左至右包含 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 (各自加点状下划线)。CL 结构域在抗 IGF-1R VL 结构域中始于“RTVAA” (SEQ ID NO:393) 且在抗 ErbB3VL 结构域中始于“QPKAA” (SEQ ID NO:394)。

[0599] 为形成包含图 5A 和 5B 的重链和轻链的完整多价双特异性抗体,将各重链与共享重链的氨基端模块的名称的轻链共表达。所得各多价双特异性抗体采取 IgG 抗体的形式 (其如同原生 IgG 抗体,包含两个基本上相同的抗原结合位点),具有 scFv 附接于 IgG 的两条重链各自的羧基端。

[0600] 图 6:示例性 6A) 抗 IGF-1R IgG1 抗体和 6B) 抗 ErbB3IgG1 抗体的氨基酸序列;和 6C) 抗 IGF-1R scFv 和 6D) 抗 ErbB3scFv 的氨基酸序列。

[0601] 图 7:SF-G1-C8 (16F) 的 7A) 重链和 7B) 轻链的氨基酸序列,各自具有在成熟抗体中不存在的前导序列。重链氨基酸序列 (SEQ ID NO:300) 为具有附加 N 端前导序列的 SF-G1-C8 (SEQ ID NO:210) 的重链氨基酸序列。轻链氨基酸序列 (SEQ ID NO:298) 为具有附加 N 端前导序列的 SF κ 轻链 (SEQ ID NO:202) 的轻链氨基酸序列。前导序列以粗体加下划线显示;加有点状下划线的序列为如上所示的 CDR;接头 (铰链、连接型接头和 scFv 接头) 在其粗体序列上方说明,且个别 CH3 氨基酸残基 E356 和 M358 以黑体显示 (其为可如下取代为 E356D 和 M358L 的氨基酸)。图 7A 中的 CH1、CH2、CH3、VH 和 VL 结构域和图 7B 中的 CL 结构域的身份在各结构域的上方说明,各自的起点由直角箭头指示。

[0602] 图 8:示出得到 Ig 样四价双特异性抗体的模块的示意图。结合结构域 (“N 端模块”和“C 端模块”) 所来源的抗体标记为单克隆抗体 1 和单克隆抗体 2。图和模块在本质上为概念性的;联结在一起以制备这种双特异性抗体的实际 DNA 片段可能与模块的限制不一致,但最终结果基本上如所示。此外,单克隆抗体 1 和单克隆抗体 2 可能不呈所示的 IgG 格式,例如任一者或两者可为 scFv。如果使用 scFv 作为 N 端模块的来源,那么通过移除编码 scFv 接头的 DNA 序列以产生分别由重链和轻链多肽链包含的 VH 和 VL 区来将其由 scFv 格式转变为 Fv 格式。

[0603] 图 9:模拟 ErbB 网络以预测最佳 ErbB3 治疗剂的设计。9A) 图解描绘 ErbB 网络的复杂性:配体结合、受体二聚化、受体运输和细胞内信号传导各自表述于基于质量-作用的动力学模型中。9B) 使用 ErbB 网络中各蛋白质的模拟扰动来鉴别在异调蛋白或乙胞素 (betacellulin) 刺激下下游信号磷酸化 Akt 对各蛋白质的敏感性。经由解离速率的变化检查在异调蛋白 (9C) 或乙胞素 (9D) 刺激下 Akt 对抗 ErbB3 抗体的剂量反应性的多种亲和力结合常数。各图自上至下所列 K_d 的顺序对应于各图中自左至右曲线的顺序。

[0604] 图 10:预测双特异性抗体共抑制两条路径的能力取决于相对受体水平。计算模拟表达三种不同摩尔比的各受体:另一受体的细胞中计算模拟的双特异性抗体对 A) IGF-1R、B) ErbB3 和 C) 共有下游信号传导路径成分 Akt (Akt 激酶) 的活性水平的影响。各图中的三条曲线可由其右手末端各自与图边框相交的相对位置加以鉴别。最左边 x 轴 / 最下边 y 轴交线 = IGF-1R 为 ErbB3 10 倍多的模拟,中间交线 = 等量 IGF-1R 与 ErbB3 的模拟,最右边 x 轴 / 最上边 y 轴交线 = ErbB3 为 IGF-1R 10 倍多的模拟。归因于双特异性剂对 IGF-1R 的

亲和力较低,因此当 ErbB3 水平降低时 IGF-1R 抑制的效力降低,表明亲合性的作用。未能有效抑制 IGF-1R 导致抑制 pAkt 的能力降低(右)。因双特异性剂对 ErbB3 的亲和力较强,因此抑制 ErbB3 的能力不受 IGF-1R 水平影响。

[0605] 图 11:通过共价酵母展示对 scFv 亲和力和稳定性进行同时优化。11A) 通过荧光活化细胞分选测量的热激发后分离的酵母展示 scFv 模块对可溶性 GFR2(ErbB3)-Fc 的亲和力。11B) 对共价连接于酵母表面的优化 scFv 模块进行的热激发测定证实其较高热稳定性。通过荧光活化细胞分选测量 65℃ 下热应激 5 分钟后残留的对 ErbB3-Fc 的残余结合活性。MFI = 平均荧光强度。

[0606] 图 12:可使用微差扫描荧光来估算血清稳定性。12A) 通过微差扫描荧光测定法获得的微观稳定性测量值。12B) 根据在 37℃ 下在小鼠血清中孵育前(100%)和 3 天后的结合活性百分比测量的宏观稳定性。概念验证双特异性蛋白质在微观(A)与宏观(B)性质两方面均显示与稳定化类似物相比较低的稳定性。

[0607] 图 13:优化的双特异性抗体显示与概念验证双特异性抗体相比较强的细胞结合。与表达 IGF-1R 与 ErbB3 两者的 BxPC-3 细胞的结合通过荧光活化细胞分选进行测量。

[0608] 图 14:与 ADRr 和 MCF7 细胞的结合。14A) 与 ADRr 细胞的结合。如此图和以下图 14B、18、19、20A 和 20B 中所用,“模块 2-21 的 IgG”是指具有与 ILE-12 中相同的抗 ErbB3VR 的抗 ErbB3 抗体。“模块 2-3 的 IgG”是指具有与 ELI-7 和 ILE-10 中相同的抗 ErbB3VR 的抗 ErbB3 抗体。“模块 5-7 的 IgG”是指具有与 ELI-7、ILE-10 和 ILE-12 中相同的抗 IGF-1R VR 的抗 IGF-1R 抗体。14B) 与 MC7 细胞的结合。

[0609] 图 15:ILE-7 和 ELI-7 对 pAKT 的抑制。

[0610] 图 16:ELI-7 对 DU145 细胞生长的影响(通过 CTG 测定测量)。RLU = 相对发光单位。

[0611] 图 17:通过 CTG 测定测量的 ELI-7 对 BxPC-3 细胞生长的抑制。

[0612] 图 18:异种移植肿瘤生长曲线。IgG 抗体的描述提供于图 14A 的图例中。

[0613] 图 19:第 41 天时的 BxPC-3 最终异种移植肿瘤体积。

[0614] 图 20:异种移植肿瘤生长速率和尺寸。20A) DU145 肿瘤生长曲线。20B) 第 36 天时的 DU145 肿瘤体积。

[0615] 图 21:多价双特异性抗体在宽泛的 ErbB3 和 IGF-1R 受体水平范围内抑制信号传导。ELI-7 显示在经过修饰以含有宽泛范围的 IGF1R 和 ErbB3 受体水平的 BxPC-3 细胞系中抑制 pAkt。“BxPC-3 对照”是指具有不变 IGF-1R 和 ErbB3 水平的 BxPC-3 细胞。“BxPC-3-IGF1R-Mod1”是指 IGF-1R 水平降低 37% 的 BxPC-3 细胞。“BxPC-3-ErbB3-Mod1”是指 ErbB3 水平降低 48% 的 BxPC-3 细胞。“BxPC-3-ErbB3-Mod2”是指 ErbB3 水平降低 88% 的 BxPC-3 细胞。

[0616] 图 22:在 BcPC3 细胞中由 16F(SF-G1-C8)“再工程改造双特异性剂”和 ELI-7“原始双特异性剂”所致的 pIGF-1R 水平降低。

[0617] 图 23:BxPC-3 细胞中 16F(SF-G1-C8)、抗 IGF-1R Ab#B(西妥木单抗(cixutumumab);SEQ ID 324+SEQ ID 325)、抗 ErbB3Ab#A(SEQ ID 336+SEQ ID 337)或抗 IGF-1R Ab#B+抗 ErbB3Ab#A 对 23A) IGF1R、23B) ErbB3 和 23C) AKT 的磷酸化的抑制,和 DU145 细胞中 16F(SF-G1-C8)、抗 IGF-1R Ab#B(西妥木单抗;SEQ ID 324+SEQ ID 325)、抗

ErbB3Ab#A(SEQ ID 336+SEQ ID 337) 或抗 IGF-1R Ab#B+ 抗 ErbB3Ab#A 对 23D) IGF1R、23E) ErbB3 和 23F) AKT 的磷酸化的抑制。

[0618] 图 24A-F:16F(SF-G1-C8)(图 24A-C) 与 抗 IGF-1R Ab#A(加尼图单抗(ganitumab);SEQ ID 327+SEQ ID 328)、抗 ErbB3Ab#A(SEQ ID 336+SEQ ID 337) 和 抗 IGF-1R Ab#A+ 抗 ErbB3Ab#A(图 24D-F) 的信号传导抑制的比较。IGF1R 磷酸化的抑制于上图中示出(图 24A 和 D), ErbB3 磷酸化的抑制于中图中示出(图 24B 和 E), 且 AKT 磷酸化的抑制于下图中示出(图 24C 和 F);所有均在 BxPC-3 细胞中。

[0619] 图 25:双特异性抗体显示与 BxPC-3 细胞强结合。如通过 FACS 所测量,在将指定抗体与 BxPC-3 细胞一起孵育后产生结合曲线。

[0620] 图 26:双特异性抗体显示与重组 ErbB3 蛋白强结合,指定抗体在 ErbB3-His 涂布的盘中孵育且通过 ELISA 测量结合抗体水平后产生结合曲线。

[0621] 图 27A-C:双特异性抗体显示对双重路径信号传导的强抑制。pIGF1R(图 27A)、pErbB3(图 27B) 和 pAKT(图 27C) 产生的 BxPC-3 信号抑制如所示。

[0622] 图 28:指定双特异性抗体在血清中在 37°C 下 72 小时的稳定性百分比。

[0623] 图 29:A-D 示出如 FACS 所测量,各种双特异性抗体(如所示)与 BxPC-3 细胞的结合。在 29A) 中,M27/M7-IgG-P4、M27/M7-IgG-M57 和 M27/M7-IgG-M78 双特异性抗体的 N 端模块含有 M27 重链和 M7 轻链。

[0624] 图 30A-I:示出如根据 pIGF1R 水平的变化所测量,各种双特异性抗体(如所示)的 BxPC-3 信号抑制数据。

[0625] 图 31A-K:示出如根据 pErbB3 水平的变化所测量,各种双特异性抗体(如所示)的 BxPC-3 信号抑制数据。

[0626] 图 32A-I:示出如根据 pAKT 水平的变化所测量,各种双特异性抗体(如所示)的 BxPC-3 信号抑制数据。

[0627] 图 33:A-D 示出如根据 pIGF1R 水平的变化所测量,各种双特异性抗体(如所示)与抗 ErbB3Ab#A(SEQ ID NO:336+SEQ ID NO:337) 和抗 IGF-1R Ab#A(加尼图单抗;SEQ ID NO:327+SEQ ID NO:328) 的组分的 BxPC-3 信号抑制数据的比较。

[0628] 图 34:A-D 示出如根据 pErbB3 水平的变化所测量,各种双特异性抗体(如所示)与抗 ErbB3Ab#A(SEQ ID NO:336+SEQ ID NO:337) 和抗 IGF-1R Ab#A(加尼图单抗;SEQ ID NO:327+SEQ ID NO:328) 的组分的 BxPC-3 信号抑制数据的比较。

[0629] 图 35:A-D 示出如根据 pAKT 水平的变化所测量,各种双特异性抗体与抗 ErbB3Ab#A(SEQ ID NO:336+SEQ ID NO:337) 和抗 IGF-1R Ab#A(加尼图单抗;SEQ ID NO:327+SEQ ID NO:328) 的组分的 BxPC-3 信号抑制数据的比较。

[0630] 图 36:A-B 示出各种双特异性抗体(如所示)在鼠血清中在 37°C 下 5 天的校正稳定性。

[0631] 图 37A-C:根据本文的公开内容可并入多价双特异性抗体中的抗 IGF-1R 抗体的重链、轻链和 scFv 的公布氨基酸序列。

[0632] 图 38A-D:根据本文的公开内容并入多价双特异性抗体中的抗 ErbB3 抗体的重链、轻链和 scFv 的公布氨基酸序列。

[0633] 图 39:A-B 示出在 DU145 细胞中由 PBA A)M7-G1-M78(“M7-M78”)、

P4-G1-M1.3 (“P4-M1.3”)、P4-G1-C8 (“P4-C8”) 和 B)SF-G1-C8 (“SF-C8”) 与不存在 PBA (“IGF1+HRG”) ;不存在诱导剂和 PBA (“无 Tx”) ;仅有抗 EGF1R mAb ;仅有抗 ErbB3mAb ;和抗 IGF-1R+ 抗 ErbB3 的组合的情况下对 IGF1 和异调蛋白 (HRG) 信号转导的抑制的比较, 如根据对 AKT 磷酸化的抑制所测量。C-D 示出与 A-B 中类似, 但在 BxPC-3 细胞中获得的抑制数据。此图和图 40-44 和 51 中的抗 IGF1R 和抗 ErbB3mAb 分别为抗 IGF-1R Ab#A (加尼图单抗 ;SEQ ID NO:327+SEQ ID NO:328) 和抗 ErbB3Ab#A (SEQ ID NO:336+SEQ ID NO:337)。

[0634] 图 40 :A-C 示出如通过对 AKT 磷酸化的抑制所测量, PBA M7-G1-M78、P4-M1.3、P4-C8 和 SF-C8 在具有 A-D) 野生型水平的 IGF-1R 和 ErbB3 ;B-E) 水平降低约 50 % 的 IGF-1R ;或 C-F) 水平降低约 50 % 的 ErbB3 的 BxPC-3 细胞中对 IGF1 和异调蛋白 (HRG) 诱导的信号转导的抑制。

[0635] 图 41 :A-D 示出如根据 AKT 磷酸化的抑制所测量, BxPC-3 细胞中 PBA M7-G1-M78、P4-M1.3、P4-C8 和 SF-C8 对由 A-B) 40ng/ml IGF1 或 C-D) 400ng/ml IGF1 诱导的信号转导的抑制。

[0636] 图 42 :A-D 示出如根据 AKT 磷酸化的抑制所测量, BxPC-3 细胞中 PBA M7-G1-M78、P4-M1.3、P4-C8 和 SF-C8 对由 A-B) 20ng/ml IGF1 或 C-D) 200ng/ml 异调蛋白 (HRG) 诱导的信号转导的抑制。

[0637] 图 43 :A-B 示出 A) 与 PBA M7-G1-M78、P4-M1.3、P4-C8 和 SF-C8 一起孵育 15 分钟后 ;或 B) 与 PBA 一起孵育 2 小时后 A549 细胞中基本信号传导的抑制。C-D 示出 C) 与 PBA M7-G1-M78、P4-M1.3、P4-C8 和 SF-C8 一起孵育 15 分钟后 ;或 D) 与 PBA 一起孵育 2 小时后 BsPC-3 细胞中基本信号传导的抑制。所有信号传导均通过测量 pAKT 水平来测定。

[0638] 图 44A-B :示出用 P4-G1-C3 或 P4-G1-M1.3 处理 24 小时后 A549 细胞 (图 44A) 和 BxPC-3 细胞 (图 44B) 中的总 IGF1R 水平。

[0639] 图 45 :示出血清饥饿 (“饥饿”) 或仅用 IGF1 或 IGF2 处理或在 PBA P4-M1.3 或 P4-C8 存在下用 IGF1 或 IGF2 处理的 DU145 或 MIA PaCa-2 (高 IR) 细胞中 pIGF1R、pAkt 和 B- 肌动蛋白的蛋白质水平的蛋白质印迹。

[0640] 图 46 :示出血清饥饿 (“饥饿”) 或用 IGF1 处理 ;在 P4-M1.3 存在下用 IGF1 处理 ;用胰岛素处理或在 P4-M1.3 存在下用胰岛素处理的 DU145 细胞中 pIGF1R、pAkt 和 B- 肌动蛋白的蛋白质水平的蛋白质印迹。

[0641] 图 47 :示出在不存在配体下 (泳道 1-3) 或在存在 IGF1 和异调蛋白 (HRG) 下 (泳道 4-6) 和在不存在 PBA 下或在存在 PBA M7-78 或 P4-C8 下孵育的 BxPC-3 细胞中 IGF1R、pIGF1R、ErbB3、pErbB3、pAkt 和 B- 肌动蛋白的蛋白质水平的蛋白质印迹。

[0642] 图 48 :A-F 示出小鼠或食蟹猕猴血清中孵育 0 或 5 天后所存在的 A-B)M7-G1-M78 ;C-D)P4-G1-M1.3 ;E-F)P4-G1-C8 的量。G-H 示出在涂有 IGF-1R (G) 或 ErbB3 (H) 的盘中人血清中 0 或 6 天后所存在的 P4G1-M1.3 的量。

[0643] 图 49 :A-F 示出 PBA P4-C8 (A、D)、P4-M1.3 (B、E) 和 M7-M78 (C、F) 与 A-C) 人、小鼠、大鼠和食蟹猕猴 ErbB3 以及 D-F) 人、小鼠、大鼠和食蟹猕猴 EGF-1R 的结合的水平。未提供 M7-M78 与大鼠和食蟹猕猴 IGF-1R 的结合。

[0644] 图 50 :A-B 示出使 A) IGF1 和 B) IGF2 自与盘结合的 IGF-1R 脱离所必需的 PBA P4-G1-M1.3 的浓度。

[0645] 图 51 :A-F 示出在体外在经过 IGF-1+HRG 或 IGF-1+HRG+P4-G1-M1.3 处理的 BxPC-3 细胞中随时间每毫克总蛋白质中磷酸化 IGF-1R(A)、磷酸化 ErbB3(B)、磷酸化 Akt(C)、磷酸化 ERK(p44/p42 ;D)、磷酸化 mTOR(Ser2448, E) 和磷酸化 S6(Ser235/236 ;5F) 的 ng 数。

[0646] 图 52: 在用血清、IGF1、IGF1 与 P4M1.3(P4-G1-M1.3)、IGF2、IGF2 与 P4M1.3(P4-G1-M1.3)、胰岛素和胰岛素与 P4M1.3(P4-G1-M1.3) 处理的 BxPC-3 和 A673 细胞中 pIGF1R、pAKT 和 B 肌动蛋白的水平。

[0647] 图 53 :A-B 示出在注射了 PBS、P4-G1-M1.3 或抗 IGF-1R Ab#A 之一的小鼠的研究结束 BxPC-3 肿瘤中 mTOR(A) 和磷酸化 mTOR(“pmTOR”)的水平。

[0648] 图 54A-K :示出在注射了 PBS、P4-G1-M1.3、抗 IGF-1R Ab#A+ 抗 ErbB3 IgG 和 mTOR 抑制剂依维莫司 (everolimus) 之一的小鼠的研究结束 Caki-1 肿瘤中, IGF-1R(A) 和胰岛素受体 (B)、ErbB3(C) 和 EGFR(D)、在残基 S473 上磷酸化的 AKT(“pAKT S473”) (E) 和 T308(“pAKT T308”) (F)、磷酸化 Fox01 和 Fox03a(“磷酸化 Fox01(Thr24)/Fox03a(Thr32)”)、在残基 S2448(H) 和 S2481(I) 上磷酸化的 mTOR 以及在残基 S235/236(J) 和 S240/244(K) 上磷酸化的 S6(“pS6 S235/236”和“pS6S240/244”)的水平。

[0649] 图 55A-E :示出在注射了 PBS、P4-G1-M1.3 或抗 IGF-1R Ab#A 之一的小鼠的研究结束 BxPC-3 肿瘤中, IGF-1R(A) 和 ErbB3(B)、磷酸化 EGFR(“pEGFR”) (C) 以及磷酸化 mTOR(“pmTOR S2448”) (D) 和磷酸化 S6(“pS6 S235/236”) (E) 的水平。

[0650] 图 56A-B :示出在盘用 IGF-1R-His 涂布且向各孔中添加了 P4-G1-M1.3 的连续稀释液的 ELISA 测定中 IGF-1(“IGF1”,左图) (A) 和 IGF-2(“IGF2”,右图) (B) 的水平。

[0651] 图 57 :A-D 示出在 DU145(A)、BxPC-3(B)、SK-ES-1(C) 和 Caki-1(D) 异种移植模型中随时间的平均肿瘤体积。向小鼠注射以下之一 :PBS、500 μ g P4-G1-M1.3、100 μ g P4-G1-M1.3、500 μ g P4-G1-C8 或 100 μ g P4-G1-C8(A) ;PBS、500 μ g P4-G1-M1.3、300 μ g P4-G1-M1.3、100 μ g P4-G1-M1.3、500 μ g P4-G1-C8、300 μ g P4-G1-C8、100 μ g P4-G1-C8、375 μ g 抗 IGF-1R Ab#A(加尼图单抗 ;SEQ ID NO:327+SEQ ID NO:328)、225 μ g 抗 IGF-1R Ab#A(加尼图单抗 ;SEQ ID NO:327+SEQ ID NO:328) 或 75 μ g 抗 IGF-1R Ab#A(加尼图单抗 ;SEQ ID NO:327+SEQ ID NO:328) (B) ;PBS、500 μ g P4-G1-M1.3、300 μ g P4-G1-M1.3 或 100 μ g P4-G1-M1.3(C) ; 或 PBS、500 μ g P4-G1-M1.3、300 μ g P4-G1-M1.3、100 μ g P4-G1-M1.3、以等暴露量给药的抗 IGF-1R+ 抗 ErbB3 或以等摩尔量给药的抗 IGF-1R+ 抗 ErbB3(D)。

[0652] 图 58 示出靶标介导的药物处置模型与由来自注射了 M1.3-G1-P4 的小鼠的小鼠血液获得的实验数据的拟合。实线为给予 500 μ g 剂量的小鼠的拟合,而点线为给予 100 μ g 剂量的小鼠的拟合。

[0653] 序列简述 :

[0654] 本文提及和序列表中所列的氨基酸 (“aa”) 序列说明如下。

[0655] SEQ ID NO:1 为来源于示例性 IGF-1R VH 序列的氨基酸共同序列。

[0656] SEQ ID NO:2 为来源于示例性 IGF-1R VL 序列的氨基酸共同序列。

[0657] SEQ ID NO:3 为来源于示例性 IGF-1R VL 序列的氨基酸共同序列,所述示例性 IGF-1R VL 序列不包括 16F 的 IGF-1R 结合位点的 VL 序列。

[0658] SEQ ID NO:4 为来源于示例性 ErbB3VH 序列的氨基酸共同序列。

[0659] SEQ ID NO:5 为来源于示例性 ErbB3VH 序列的氨基酸共同序列,所述示例性 ErbB3VH 序列不包括 16F 的 ErbB3 结合位点的 VH 序列。

[0660] SEQ ID NO:6 为来源于示例性 ErbB3VL 序列的氨基酸共同序列。

[0661] SEQ ID NO:7 为来源于示例性 ErbB3VL 序列的氨基酸共同序列,所述示例性 ErbB3VL 序列不包括 16F 的 ErbB3 结合位点的 VL 序列。

[0662] SEQ ID NO:8-31 为图 1 的 IGF-1R VH 氨基酸序列。

[0663] SEQ ID NO:32-133 为图 2 的 IGF-1R VL 氨基酸序列。

[0664] SEQ ID NO:134-165 为图 3 的 ErbB3VH 氨基酸序列。

[0665] SEQ ID NO:166-200 为图 4 的 ErbB3VL 氨基酸序列。

[0666] SEQ ID NO:201-256 为图 5A 中提供的抗 IGF-1R/ 抗 ErbB3IgG1(scFv)₂的成熟轻链和重链的核苷酸序列(奇数编号)和氨基酸序列(偶数编号),其序列 ID 编号如下。 κ 轻链:SF(SEQ ID NO:201 和 202);P4(SEQ ID NO:203 和 204);M78(SEQ ID NO:205 和 206);和 M57(SEQ ID NO:207 和 208)。重链 scFv 融合物(杂交体):SF-G1-C8(即 16F;SEQ ID NO:209 和 210);SF-G1-P1(SEQ ID NO:211 和 212);SF-G1-M1.3(SEQ ID NO:213 和 214);SF-G1-M27(SEQ ID NO:215 和 216);SF-G1-P6(SEQ ID NO:217 和 218);SF-G1-B69(SEQ ID NO:219 和 220);P4-G1-C8(SEQ ID NO:221 和 222);P4-G1-P1(SEQ ID NO:223 和 224);P4-G1-M1.3(SEQ ID NO:225 和 226);P4-G1-M27(SEQ ID NO:227 和 228);P4-G1-P6(SEQ ID NO:229 和 230);P4-G1-B69(SEQ ID NO:231 和 232);M78-G1-C8(SEQ ID NO:233 和 234);M78-G1-P1(SEQ ID NO:235 和 236);M78-G1-M1.3(SEQ ID NO:237 和 238);M78-G1-M27(SEQ ID NO:239 和 240);M78-G1-P6(SEQ ID NO:241 和 242);M78-G1-B69(SEQ ID NO:243 和 244);M57-G1-C8(SEQ ID NO:245 和 246);M57-G1-P1(SEQ ID NO:247 和 248);M57-G1-M1.3(SEQ ID NO:249 和 250);M57-G1-M27(SEQ ID NO:251 和 252);M57-G1-P6(SEQ ID NO:253 和 254) 和 M57-G1-B69(SEQ ID NO:255 和 256)。

[0667] SEQ ID NO:257-296 为图 5B 中提供的抗 ErbB3/ 抗 IGF-1R IgG1(scFv)₂的成熟轻链和重链的核苷酸序列(奇数编号)和氨基酸序列(偶数编号),其序列 ID 编号如下。 λ 轻链:P1(SEQ ID NO:257 和 258);M27(SEQ ID NO:259 和 260);M7(SEQ ID NO:261 和 262);B72(SEQ ID NO:263 和 264);和 B60(SEQ ID NO:265 和 266)。重链 scFv 融合物(杂交体):P1-G1-P4(SEQ ID NO:267 和 268);P1-G1-M57(SEQ ID NO:269 和 270);P1-G1-M78(SEQ ID NO:271 和 272);M27-G1-P4(SEQ ID NO:273 和 274);M27-G1-M57(SEQ ID NO:275 和 276);M27-G1-M78(SEQ ID NO:277 和 278);M7-G1-P4(SEQ ID NO:279 和 280);M7-G1-M57(SEQ ID NO:281 和 282);M7-G1-M78(SEQ ID NO:283 和 284);B72-G1-P4(SEQ ID NO:285 和 286);B72-G1-M57(SEQ ID NO:287 和 288);B72-G1-M78(SEQ ID NO:289 和 290);B60-G1-P4(SEQ ID NO:291 和 292);B60-G1-M57(SEQ ID NO:293 和 294);和 B60-G1-M78(SEQ ID NO:295 和 296)。

[0668] SEQ ID NO:297 和 298 为如图 7B 中所示具有信号序列的 16F 的轻链的核苷酸和氨基酸序列。

[0669] SEQ ID NO:299 和 300 为如图 7A 中所示具有信号序列的 16F 的重链的核苷酸和氨基酸序列。

[0670] SEQ ID NO:301 为示例性重链结构域的一部分,其中在 CH3 结构域的 C 端与接头的

N 端之间插入赖氨酸 SLSLSPGKGGGS (SEQ ID NO:301- 附加赖氨酸加有下划线)。

[0671] SEQ ID NO:302-304 分别为抗 IGF-1R VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 结构域的共同序列, 其为 SEQ ID NO:1 的和图 1 中所示的 VH 共同序列的 CDR 序列。

[0672] SEQ ID NO:305-307 分别为抗 IGF-1R VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 的共同序列, 其为 SEQ ID NO:2 的和图 2 中所示的 VL 共同序列的 CDR 序列。

[0673] SEQ ID NO:308 为抗 IGF-1R VLCDR3 的共同序列, 其为 SEQ ID NO:3 的和图 2 中所示的 VL 共同序列的 CDR3 序列。

[0674] SEQ ID NO:209-311 分别为抗 ErbB3VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 结构域的共同序列, 其为 SEQ ID NO:4 的和图 3 中所示的 VH 共同序列的 CDR 序列。

[0675] SEQ ID NO:312-314 分别为抗 ErbB3VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 结构域的共同序列, 其为 SEQ ID NO:6 的和图 4 中所示的 VL 共同序列的 CDR 序列。

[0676] SEQ ID NO:315 为抗 ErbB3VLCDR3 的共同序列, 其为 SEQ ID NO:7 的和图 4 中所示的 VL 共同序列的 CDR3 序列。

[0677] SEQ ID NO:316 为抗 ErbB3/ 抗 IGF-1R IgG2 四价双特异性蛋白 ELI-7 的重链的氨基酸序列。

[0678] SEQ ID NO:317 为抗 ErbB3/ 抗 IGF-1R IgG2 四价双特异性蛋白 ELI-7 的轻链的氨基酸序列。

[0679] SEQ ID NO:318 为抗 IGF-1R/ 抗 ErbB3 四价双特异性蛋白 ILE-10 的重链的氨基酸序列。

[0680] SEQ ID NO:319 为抗 IGF-1R/ 抗 ErbB3 四价双特异性蛋白 ILE-12 的重链的氨基酸序列。

[0681] SEQ ID NO:320 为抗 IGF-1R/ 抗 ErbB3 四价双特异性蛋白 ILE-10 和 ILE-12 的轻链的氨基酸序列。

[0682] SEQ ID NO:321-335 为表 1 的抗 IGF-1R 抗体的 Fab 重链 (Fab HC)、Fab 轻链 (Fab LC) 和 scFv 的氨基酸序列, 所述序列列于图 37 中。

[0683] 表 1- 抗 IGF-1R 抗体

[0684]

抗 IGF-1R	Fab		scFv
	Fab HC	Fab LC	
抗 IGF-1R Ab#C(菲图木单抗 (figitumumab))	SEQ ID NO:321	SEQ ID NO:322	SEQ ID NO:323
抗 IGF-1R Ab#B(西妥木单抗)	SEQ ID NO:324	SEQ ID NO:325	SEQ ID NO:326
抗 IGF-1R Ab# A(加尼图单抗)	SEQ ID NO:327	SEQ ID NO:328	SEQ ID NO:329
BIIB-G11	SEQ ID NO:330	SEQ ID NO:331	SEQ ID NO:332
BIIB-C06	SEQ ID NO:333	SEQ ID NO:334	SEQ ID NO:335

[0685] SEQ ID NO:336-353 为表 2 的抗 ErbB3 抗体的 Fab 重链 (Fab HC)、Fab 轻链 (Fab LC) 和 scFv 的氨基酸序列,所述序列列于图 38 中。

[0686] 表 2- 抗 ErbB3 抗体

[0687]

抗 ErbB3	Fab	scFv
---------	-----	------

[0688]

	Fab HC	Fab LC	
抗 ErbB3 Ab# A	SEQ ID NO:336	SEQ ID NO:337	SEQ ID NO:338
H3	SEQ ID NO:339	SEQ ID NO:340	SEQ ID NO:341
MM Ab#3	SEQ ID NO:342	SEQ ID NO:343	SEQ ID NO:344
MM Ab#14	SEQ ID NO:345	SEQ ID NO:346	SEQ ID NO:347
MM Ab#17	SEQ ID NO:348	SEQ ID NO:349	SEQ ID NO:350
MM Ab#19	SEQ ID NO:351	SEQ ID NO:352	SEQ ID NO:353

[0689] SEQ ID NO:354 和 355 为图 5B 中所示的 B60-IgG2-M78 多价双特异性抗体的核苷酸和氨基酸序列。

[0690] SEQ ID NO:356 和 357 为图 5B 中所示的 M7-IgG2-M78 多价双特异性抗体的核苷酸和氨基酸序列。

[0691] SEQ ID NO:358-360 为图 6A 中所示的 SF、P4、M78 和 M57 抗 IGF-1R IgG1 单克隆抗体重链的氨基酸序列。

[0692] SEQ ID NO:362-366 为图 6B 中所示的 P1、M27、M7、B72 和 B60 抗 ErbB3 IgG1 单克隆抗体重链的氨基酸序列。

[0693] SEQ ID NO:367-369 为图 6C 中所示的 P4、M57 和 M78 抗 IGF-1R scFv 单克隆抗体的氨基酸序列。

[0694] SEQ ID NO:370-375 为图 6D 中所示的 C8、P1、M1.3、M27、P6 和 B69 抗 ErbB3scFv 单克隆抗体的氨基酸序列。

[0695] SEQ ID NO:376-379 分别为重链 P4M-G1-M1.3、P4M-G1-C8、P33M-G1-M1.3 和 P33M-G1-C8 的氨基酸序列。

[0696] SEQ ID NO:380 和 381 分别为 P33M κ 轻链和 P4M κ 轻链的氨基酸序列。SEQ ID NO:382 和 383 分别为抗 IGF-1R scFv M76 和抗 ErbB3scFv P6L 的氨基酸序列。结合位点 M76 的 VH 和 VL 结构域分别由 SEQ ID NO:31 和 133 的氨基酸序列组成。

[0697] SEQ ID NO:384 和 385 分别为抗 IGF-1R 结合位点模块 P4M 和 P33M 的 VH 结构域的氨基酸序列。

[0698] SEQ ID NO:386 和 387 分别为抗 IGF-1R 结合位点模块 P4M 和 P33M 的 VL 结构域的氨基酸序列。

[0699] SEQ ID NO:388 为抗 ErbB3 结合位点模块 P6L 的 VH 结构域的氨基酸。VL 结构域由 SEQ ID NO:173 的氨基酸序列组成。

[0700] SEQ ID NO:389 和 390 分别为抗 IGF-1R 重链 P4M-G1-P6L 和 P33M-G1-P6L 的氨基酸序列。

[0701] SEQ ID NO:391 为抗 ErbB3 重链 P1-G1-M76 的氨基酸序列。

[0702] SEQ ID NO:392 为图 5A 和 5B 的杂交重链的 CH1 部分开始的氨基酸序列。

[0703] SEQ ID NO:393 和 394 分别为图 5A 和 5B 的轻链的抗 IGF-1R 和 ErbB3VL 结构域中 CL 结构域开始的氨基酸序列。

[0704] SEQ ID NO:395-402 为示例性 Gly-Ser 多肽接头的氨基酸序列。

[0705] SEQ ID NO:403 为六聚组氨酸标签的氨基酸序列。

[0706] SEQ ID NO:404 为 IgG2 恒定结构域（包括 CH1、铰链、CH2 和 CH3 区）的氨基酸序列。

[0707] SEQ ID NO:405-408 分别为 SF-G1-P1、SF-G1-M27、M57 - G1-C8、M7-G1-M78 重链的重链的氨基酸序列，包括前导序列（各序列的 N 端 19 个氨基酸）。

[0708] SEQ ID NO:409 为 M7-G1-M78 重链的核苷酸序列，包括前导序列。SEQ ID NO:410-411 分别为 P4-G1-M1.3 重链的氨基酸和核苷酸序列，包括前导序列（氨基酸序列的 N 端 19 个氨基酸）。

[0709] SEQ ID NO:412-413 分别为 P4-G1-C8 重链的氨基酸和核苷酸序列，包括前导序列（氨基酸序列的 N 端 19 个氨基酸）。

[0710] SEQ ID NO:414-415 分别为 M7 λ 轻链的氨基酸和核苷酸序列，包括前导序列（氨基酸序列的 N 端 21 个氨基酸）。

[0711] SEQ ID NO:416-417 分别为 P4 κ 轻链的氨基酸和核苷酸序列，包括前导序列（氨基酸序列的 N 端 20 个氨基酸）。

[0712] SEQ ID NO:418 为 IgG1 模块的氨基酸序列，具有铰链、CH2 和 CH3 区（序列的 C 端 231 个氨基酸）。

[0713] SEQ ID NO:419-424 分别为重链 P4M-G1-M1.3、P4M-G1-C8、P4M-G1-P6L、P33M-G1-M1.3、P33M-G1-C8 和 P33M-G1-P6L 的核苷酸序列。

[0714] SEQ ID NO:425 为 P1-G1-M76 抗 ErbB3-G1/ 抗 EGF-1R 双特异性抗体的核苷酸序列。

[0715] SEQ ID NO:426 和 427 分别为 P33M κ 和 P4M κ 轻链的核苷酸序列。

[0716] SEQ ID NO:428 为 M76 抗 IGF-1R scFv 的核苷酸序列。

[0717] SEQ ID NO:429 为 P6L 抗 ErbB3scFv 的核苷酸序列。

[0718] 详细描述

[0719] 本文提供特异性结合 IGF-1R 或 ErbB3 的新颖单特异性抗体。所述抗体包括 IgG 抗体和 scFv 抗体。还提供特异性结合人 IGF-1R 和人 ErbB3 的双特异性抗体，例如多价双特异性抗体（“PBA”）。这些蛋白质为经由 IGF-1R 和 ErbB3 中的任一者或两者进行的肿瘤细胞增殖和信号转导的有效抑制剂。所述蛋白质可用于治疗细胞增殖性病症，例如癌症。

[0720] 定义

[0721] 为方便起见，说明书、实施例和随附权利要求书中所用的某些术语和短语的含义提供如下。

[0722] “药剂”是指活性分子，例如治疗性蛋白质，例如药物。

[0723] “氨基酸取代”是指蛋白质中的一个特定氨基酸 (“aa”) 替换为另一氨基酸。取代可为保守性取代, 如下文所定义。

[0724] “抗 ErbB3 结合位点”是指特异性结合人 ErbB3 的结合位点。

[0725] “抗 IGF-1R 结合位点”是指特异性结合人 IGF-1R 的结合位点。

[0726] “抗原结合位点”是指包含抗体的 VH 和 / 或 VL 结构域或其至少一个 CDR 的结合位点。举例来说, 抗原结合位点可包含以下、基本上由以下组成或由以下组成: 仅 VHCDR3 或连同 VHCDR2 一起和任选地连同 VHCDR1。在某些实施方案中, 抗原结合位点包含 VH 结构域和 VL 结构域, 其可存在于同一多肽上或两个不同多肽上, 例如 VH 结构域存在于重链上且 VL 结构域存在于轻链上。

[0727] 抗体的“抗原结合部分”是指保留特异性结合抗原 (例如 IGF-1R 或 ErbB3) 的能力的抗体的一个或多个片段。已证实抗体的抗原结合功能可由全长抗体的片段保留。术语抗体的“抗原结合部分”内涵盖的结合片段的实例包括 (i) Fab 片段, 一种由 VL、VH、CL 和 CH1 结构域组成的单价片段; (ii) F(ab')₂ 片段, 一种由两个通过二硫桥键在铰链区连接的 Fab 片段组成的二价片段; (iii) 由 VH 和 CH1 结构域组成的 Fd 片段; (iv) 由抗体的单一臂的 VL 和 VH 结构域组成的 Fv 片段; (v) 由 VH 结构域组成的 dAb 片段; 和 (vi) 分离的互补决定区 (CDR)。此外, 尽管 VL 和 VH 为 Fv 片段的两个结构域, 但 VL 和 VH 由单独的基因编码, 其可使用重组方法通过使得能将其制成 VL 和 VH 区配对形成单价蛋白质的单一蛋白质链的合成接头联结, 所述单价蛋白质称为单链 Fv (scFv), 参见美国专利号 5, 892, 019。所述单链抗体也意欲涵盖于术语抗体的“抗原结合部分”内。还涵盖单链抗体的其它形式, 如双功能抗体。双功能抗体为二价双特异性抗体, 其中 VH 和 VL 结构域表达于单一多肽链上, 但使用过短以致不允许同一链上的两个结构域之间发生配对的接头, 由此迫使所述结构域与另一链的互补结构域配对并产生两个抗原结合位点。

[0728] “结合亲和力”是指结合相互作用的强度且包括实际结合亲和力以及表观结合亲和力两者。实际结合亲和力为缔合速率相对于解离速率的比率。表观亲和力可包括例如由多价相互作用产生的亲和性。解离常数 (K_d) 通常为结合亲和力的倒数, 且可使用表面等离子体共振测定 (例如, 如在 BIACORE 3000 仪器 (GE Healthcare) 中, 例如使用重组 ErbB3 作为分析物和抗 ErbB3 抗体作为配体所测定) 或细胞结合测定便利地测量, 所述测定各自描述于美国专利号 7, 846, 440 的实施例 3 中。

[0729] “结合部分”、“结合结构域”或“结合位点”是指结合多肽或当如此说明时其重链或轻链中直接参与介导抗体与靶分子 (即抗原) 的特异性结合的部分、区或位点。示例性结合结构域包括抗原结合位点、配体的受体结合结构域、受体的配体结合结构域或酶促结构域。在优选实施方案中, 结合结构域包含抗原结合位点或由抗原结合位点组成 (例如包含来自抗体的可变重 (VH) 链序列和可变轻 (VL) 链序列或六个 CDR 安置于替代框架区中 (例如任选地包含一个或多个氨基酸取代的人框架区)。在某些实施方案中, 结合位点可基本上仅由 VH 或 VL 链序列构成。结合位点可完全来自一种物种, 例如其仅具有来源于一种物种的生殖系序列的序列。举例来说, 结合位点可为人 (即来自人物种)、小鼠或大鼠。结合位点还可被人源化, 即 CDR 是来自一种物种且框架 (FR) 是来自另一物种。举例来说, 结合位点可具有来源于小鼠抗体的 CDR 和来自人物种的 FR。某些人源化结合位点在一个或多个 CDR 中包含突变以使得 CDR 看起来更类似于供体抗体的 CDR。某些人源化抗体还可可在一个或多

个 FR 中包含突变。一般来说,结合位点中的突变可增强结合位点与其靶抗原的结合的亲合力,和 / 或其可使结合位点稳定,例如延长其半衰期。

[0730] “CDR”或“互补决定区”是指重链和轻链多肽两者的 VR 内发现的不连续抗原结合位点。这些特定区已由以下文献描述:Kabat 等, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) 和 Kabat 等, Sequences of protein of immunological interest. (1991), 和 Chothia 等, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987) 和 MacCallum 等, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), 其中定义包括当彼此比较时氨基酸残基的重叠和子集。阐述涵盖如上文引用参考文献各自所定义的 CDR 的氨基酸残基以供比较。如本文所用,且如果无其它规定,那么“CDR”如 Kabat 所定义。

[0731] 表 3. CDR 定义

[0732]

	CDR 定义		
	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³
VHCDR1	31-35	26-32	30-35
VHCDR2	50-65	53-55	47-58
VHCDR3	95-102	96-101	93-101
VLCDR1	24-34	26-32	30-36
VLCDR2	50-56	50-52	46-55
VLCDR3	89-97	91-96	89-96

[0733] ¹残基编号遵循 Kabat 等, 1991, 同上的命名法

[0734] ²残基编号遵循 Chothia 等, 同上的命名法

[0735] ³残基编号遵循 MacCallum 等, 同上的命名法

[0736] “CH1 结构域”是指位于 VH 结构域与铰链之间的重链免疫球蛋白恒定结构域。其涵盖 EU 位置 118-215。CH1 结构域可为天然存在的 CH1 结构域, 或一个或多个氨基酸已被取代、添加或缺失的天然存在的 CH1 结构域, 条件为所述 CH1 结构域具有所要生物性质。所要生物活性相对于天然存在的序列可为天然生物活性、增强的生物活性或降低的生物活性。

[0737] “CH2 结构域”是指位于铰链与 CH3 结构域之间的重链免疫球蛋白恒定结构域。其涵盖 EU 位置 231-340。CH2 结构域可为天然存在的 CH2 结构域, 或一个或多个氨基酸已被取代、添加或缺失的天然存在的 CH2 结构域, 条件为所述 CH2 结构域具有所要生物性质。所要生物活性相对于天然存在的序列可为天然生物活性、增强的生物活性或降低的生物活性。

[0738] “CH3 结构域”是指位于 CH2 结构域的 C 端的重链免疫球蛋白恒定结构域且涵盖来自 CH2 结构域的 N 端的约 110 个残基, 例如约位置 341-446b (EU 编号系统)。CH3 结构域可为天然存在的 CH3 结构域, 或一个或多个氨基酸 (“aas”) 已被取代、添加或缺失的天然存在的 CH3 结构域, 条件为所述 CH3 结构域具有所要生物性质。所要生物活性相对于天然存在的序列可为天然生物活性、增强的生物活性或降低的生物活性。CH3 结构域可包含或不包含 C 端赖氨酸。

[0739] “CH4 结构域”是指 IgM 和 IgE 抗体中位于 CH3 结构域的 C 端的重链免疫球蛋白恒

定结构域。CH4 结构域可为天然存在的 CH4 结构域,或一个或多个氨基酸已被取代、添加或缺失的天然存在的 CH4 结构域,条件为所述 CH4 结构域具有所要生物性质。所要生物活性相对于天然存在的序列可为天然生物活性、增强的生物活性或降低的生物活性。

[0740] “CL 结构域”是指位于 VH 结构域的 C 端的重链免疫球蛋白恒定结构域。其涵盖约 Kabat 位置 107A-216。CL 结构域可为天然存在的 CH1 结构域,或一个或多个氨基酸已被取代、添加或缺失的天然存在的 CL 结构域,条件为所述 CL 结构域具有所要生物性质。所要生物活性相对于天然存在的序列可为天然生物活性、增强的生物活性或降低的生物活性。CL 结构域可包含或可不包含 C 端赖氨酸。

[0741] “保守性取代”或“保守性氨基酸取代”是指蛋白质或肽中的一个或多个氨基酸残基被特定置换氨基酸置换,对于各特定取代前氨基酸残基来说,所述特定置换氨基酸已知不可能改变这个特定氨基酸残基被这个特定置换氨基酸取代的蛋白质或肽的构形或功能。所述保守性取代通常涉及一个氨基酸被置换为在电荷和 / 或大小方面与第一氨基酸类似的另一氨基酸,且包括异亮氨酸 (I)、缬氨酸 (V) 或亮氨酸 (L) 中的任一者彼此置换、天冬氨酸 (D) 取代谷氨酸 (E) 和反之亦然;谷氨酰胺 (Q) 取代天冬酰胺 (N) 和反之亦然;和丝氨酸 (S) 取代苏氨酸 (T) 和反之亦然。所属领域中已知在特定序列或结构环境中保守的其它取代。举例来说,甘氨酸 (G) 和丙氨酸 (A) 经常可彼此取代以产生保守性取代,丙氨酸与缬氨酸 (V) 也可如此。相对疏水性的甲硫氨酸 (M) 经常可保守性取代亮氨酸或异亮氨酸或被亮氨酸或异亮氨酸保守性取代,且有时保守性取代缬氨酸或被缬氨酸保守性取代。赖氨酸 (K) 和精氨酸 (R) 在氨基酸残基的重要特征为其电荷且预期这两种碱性氨基酸残基的不同 pK 不重要的位置中经常可互换。所述取代的作用可使用取代计分矩阵 (如 PAM120、PAM-200 和 PAM-250) 进行计算。其它此类保守性取代 (例如具有类似疏水性特征的整个区 (例如跨膜结构域) 的取代) 为熟知的。

[0742] 免疫球蛋白轻链上的 CR 结构域可互换地称为“CL”、“轻链 CR 结构域”、“CL 区”或“CL 结构域”。免疫球蛋白的重链上的恒定结构域 (例如铰链、CH1、CH2 或 CH3 结构域) 可互换地称为“CH”、“重链恒定结构域”、“CH”区或“CH 结构域”。免疫球蛋白轻链上的可变结构域可互换地称为“VL”、“轻链可变结构域”、“VL 区”或“VL 结构域”。免疫球蛋白重链上的可变结构域可互换地称为“VH”、“重链可变结构域”、“VH 区”或“VH 结构域”。

[0743] “结构域”是指重链或轻链多肽的区,例如独立地折叠的球蛋白区或非球蛋白区 (例如接头结构域),其可包含可由例如 β -折叠片和 / 或链间二硫键稳定的肽环 (例如 1 至 4 个肽环)。免疫球蛋白重链和轻链的恒定区和 VR 通常折叠成结构域。具体来说,CH1、CH2、CH3、CH4、CL、VH 和 VL 结构域中的每一者通常形成环结构。

[0744] “EC₅₀”或“EC50”是指提供蛋白质对特定系统 (如结合测定或信号转导路径) 的最大作用的 50% 的分子 (例如 PBA) 的浓度。

[0745] “ErbB3”和“HER3”是指如美国专利号 5,480,968 中所述的 ErbB3 蛋白。人 ErbB3 蛋白序列示出于图 4 和美国专利号 5,480,968 的 SEQ ID NO:4 中,其中前 19 个氨基酸对应于自成熟蛋白质裂解的前导序列。ErbB3 为受体的 ErbB 家族的成员,所述家族的其它成员包括 ErbB1 (EGFR)、ErbB2 (HER2/Neu) 和 ErbB4。虽然 ErbB3 本身缺乏酪氨酸激酶活性,但其本身在 ErbB 与另一 ErbB 家族受体 (例如 ErbB1、ErbB2 和 ErbB4,其为受体酪氨酸激酶) 二聚化后磷酸化。ErbB 家族的配体包括异调蛋白 (HRG)、乙胞素 (BTC)、表皮生长因子 (EGF)、乙

酰肝素结合表皮生长因子 (HB-EGF)、转化生长因子 α (TGF- α)、双调蛋白 (amphiregulin; AR)、上皮有丝分裂蛋白 (epigen; EPG) 和外调蛋白 (epiregulin; EPR)。人 ErbB3 的氨基酸序列以 Genbank 保藏编号 NP_001973.2 (受体酪氨酸蛋白激酶 erbB-3 同种型 1 前驱体) 提供且指定基因 ID:2065。

[0746] “EU”指示重链 CR 中的氨基酸位置 (包括 CH1、铰链、CH2 和 CH3 结构域中的氨基酸位置) 在本文中是根据 EU 指数编号系统进行编号 (参见 Kabat 等, “Sequences of Proteins of Immunological Interest”, U.S. Dept. Health and Human Services, 第 5 版, 1991)。

[0747] “Fab”是指抗体的抗原结合部分, 其包含两条链: 包含 VH 结构域和 CH1 结构域的第一链和包含 VL 结构域和 CL 结构域的第二链。尽管 Fab 通常描述为经过木瓜蛋白酶处理的抗体的 N 端片段且包含一部分铰链区, 但其在本文中还可用于表示重链不包含一部分铰链的结合结构域。

[0748] “Fc 区”是指单一免疫球蛋白重链中始于铰链区中紧接木瓜蛋白酶裂解位点上游 (即 IgG 中的残基 216, 取重链 CR 的第一个残基为 114) 且结束于抗体的 C 端的部分。因此, 完整 Fc 区至少包含铰链、CH2 结构域和 CH3 结构域。二聚化的两个 Fc 区称为“Fc”或“Fc 二聚体”。Fc 区可为天然存在的 Fc 区, 或一个或多个氨基酸已被取代、添加或缺失的天然存在的 Fc 区, 条件为所述 Fc 区具有所要生物性质。所要生物活性相对于天然存在的序列可为天然生物活性、增强的生物活性或降低的生物活性。

[0749] “框架区”或“FR”或“FR 区”包括作为 VR 的部分但不为 CDR 的部分的氨基酸残基 (例如使用 CDR 的 Kabat 定义)。因此, VR 框架的长度在约 100-120 个氨基酸之间但仅包括 CDR 以外的那些氨基酸。对于重链 VR 的特定实例和如 Kabat 等, 1991, 同上所定义的 CDR 来说, 框架区 1 对应于 VR 中涵盖氨基酸 1-30 的结构域; 框架区 2 对应于 VR 中涵盖氨基酸 36-49 的结构域; 框架区 3 对应于 VR 中涵盖氨基酸 66-94 的结构域, 且框架区 4 对应于 VR 中自氨基酸 103 至 VR 末端的结构域。轻链的框架区类似地由各轻链 VR CDR 分隔。类似地, 使用 Chothia 等或 McCallum 等关于 CDR 的定义, 框架区边界如上所述由各别 CDR 末端分隔。在优选实施方案中, CDR 如 Kabat 所定义。

[0750] “全长抗体”为包含一个或多个重链和一个或多个轻链的抗体。各重链由重链 VR (在本文中缩写为 VH) 和重链 CR 构成。重链 CR 由三个结构域 CH1、CH2 和 CH3 和任选地存在的第四结构域 CH4 构成。各轻链由轻链 VR (在本文中缩写为 VL) 和轻链 CR 构成。轻链 CR 由一个结构域 CL 构成。VH 和 VL 区可进一步细分为具有高变性的区, 称为互补决定区 (CDR), 其间插有较保守的区, 称为框架区 (FR)。各 VH 和 VL 通常由三个 CDR 和四个 FR 构成, 自氨基端至羧基端按以下顺序排列: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3 和 FR4。免疫球蛋白可为任何类型类别 (例如 IgG、IgE、IgM、IgD、IgA 和 IgY) 或子类 (例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 和 IgA2) 或子类。

[0751] “Gly-Ser 接头”或“Gly-Ser 肽”是指由甘氨酸和丝氨酸残基组成的肽。示例性 Gly-Ser 肽包含氨基酸序列 (Gly₄Ser)_n (SEQ ID NO:395), 其中 $n = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20$ 或 20 以上。在某些实施方案中, n 为 1 与 5 之间的数值, n 为 6 与 10 之间的数值, n 为 11 与 15 之间的数值, n 为 16 与 20 之间的数值, n 为 21 与 25 之间的数值, 或 n 为 26 与 30 之间的数值。

[0752] “重链免疫球蛋白 CR”或“HC Ig CR”可包含 CH1 结构域和 Fc 区,所述 Fc 区可包含铰链、CH2 结构域、CH3 结构域和 / 或 CH4 结构域。轻链免疫球蛋白 CR 可包含 CL 结构域。

[0753] “铰链”或“铰链区”或“铰链结构域”是指重链中位于 CH1 结构域与 CH2 结构域之间的柔性部分。其长度为约 25 个氨基酸,且分为“上铰链”、“中铰链”和“下铰链”。铰链可为天然存在的铰链,或一个或多个氨基酸已被取代、添加或缺失的天然存在的铰链,条件为所述铰链具有所要生物性质。所要生物活性相对于天然存在的序列可为天然生物活性、增强的生物活性或降低的生物活性。

[0754] “IC₅₀”或“IC50”是指提供最大活性(例如对刺激物的反应或组成性活性)的 50% 抑制的分子(例如 PBA)的浓度,即使活性降至最大活性与基线之间的半程浓度的浓度。IC₅₀ 值可使用例如 Cheng-Prusoff 方程转化为绝对抑制常数(Ki)。在受结合剂(诸如本文提供的抗体或双特异性结合蛋白)抑制的系统中,IC50 可能与 EC50 不可区分。

[0755] “IGF-1R”或“IGF1R”是指胰岛素样生长因子 1(IGF-1, 先前称为促生长因子 C(somatomedin C))的受体。IGF-1R 还结合胰岛素样生长因子 2(IGF-2)且由胰岛素样生长因子 2(IGF-2)活化。IGF1-R 为受体酪氨酸激酶,其在受 IGF-1 或 IGF-2 活化后自体磷酸化。人 IGF-1R 前驱体的氨基酸序列以 Genbank 保藏编号 NP_000866 提供且指定基因 ID: 3480。

[0756] “IgG-(scFv)₂”表示由具有两个各自自由 IgG 重链和 IgG 轻链构成的 N 端 Fab 结合位点的 IgG 组成的四价 PBA,其中各重链的 C 端连接于由 VH 结构域与 VL 结构域构成的结合位点的 scFv。当免疫球蛋白 CR 为 IgG1 的 CR 时,PBA 称为“IgG1-(scFv)₂”。示例性 IgG1-(scFv)₂PBA 为四个结合位点包含两个基本上相同的抗 IGF-1R 结合位点和两个基本上相同的抗 ErbB3 结合位点者。下文在详细描述中在子标题“包含 IgG1CR 的示例性 IGF-1R+ErbB3PBA”下所述的 38 个四价 PBA(还参见图 5A 和 5B)各自包含两个联结的基本上相同的亚基,各亚基包含彼此以二硫键键结的重链和轻链,例如 M7-G1-M78(SEQ ID NO:284 和 SEQ ID NO:262)、P4-G1-M1.3(SEQ ID NO:226 和 SEQ ID NO:204)和 P4-G1-C8(SEQ ID NO:222 和 SEQ ID NO:204),为所述 IgG1-(scFv)₂蛋白的示例性实施方案。当免疫球蛋白 CR 为 IgG2 的 CR 时,蛋白质称为“IgG2-(scFv)₂”。示例性“IgG2-(scFv)₂蛋白为 ELI-7。当免疫球蛋白 CR 部分来自 IgG1 且部分来自 IgG 的另一同型(例如 IgG2)时,蛋白质称为例如“IgG1/2-(scFv)₂”。

[0757] “免疫球蛋白 CR”或“Ig CR”是指免疫球蛋白(即抗体)中其可变结构域以外的部分。在某些实施方案中,免疫球蛋白 CR 包含“重链免疫球蛋白 CR”和“轻链免疫球蛋白 CR”。

[0758] 生物活性受结合蛋白“抑制”是指生物活性由结合蛋白介导的任何可再现的可检测降低。在一些实施方案中,抑制使生物活性产生统计显著性降低,例如生物活性相对于不存在结合蛋白下测得的生物活性降低约 5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或 100%。

[0759] 在提及多核苷酸、多肽或蛋白质时的“分离的”意谓所述多核苷酸、多肽或蛋白质实质上自在自然界中与其或其类似物伴随出现的多核苷酸、多肽、蛋白质或其它大分子移除。尽管术语“分离的”不欲要求特定纯度,但通常蛋白质将为至少约 75%纯,更优选为至少约 80%纯,更优选为至少约 85%纯,更优选为至少约 90%纯,更优选为至少约 95%纯,且

最优选为至少约 99% 纯。

[0760] 与免疫球蛋白氨基酸序列位置的指定有关的“Kabat”指示轻链 CR(例如 CL 结构域)中的氨基酸位置是根据 Kabat 指数编号系统(参见 Kabat 等, 1991., *op. cit.*)进行编号。

[0761] “连接于”在上下文中是指氨基酸或核苷酸的直接或间接连接或联结。“间接连接”是指经由包含例如一个或多个氨基酸或核苷酸的接头或结构域介导的连接。“直接连接”或“直接地连接”当提及两个多肽区段时是指在所述两个多肽区段之间存在共价键,例如两个多肽区段连续联结而无插入序列。

[0762] “接头”是指将两个结构域或区连接在一起的一个或多个氨基酸。接头可为柔性的以允许由接头连接的结构域形成适当三维结构,由此允许其具有所需生物活性。连接 scFv 的 VH 和 VL 的接头在本文中称为“scFv 接头”。连接 VH 结构域的 N 端或 CH3 结构域的 C 端与第二 VH 结构域(例如 scFv 的 VH 结构域)的接头称为“连接型接头(connecting linker)”。

[0763] “模块”是指 PBA 中在结构上和 / 或功能上不同的部分,如结合位点(例如 scFv 结构域或 Fab 结构域)和 Ig 恒定结构域。本文提供的模块可与其它模块以大量组合重排(通过重组核酸或完全或部分重新合成新多核苷酸对其编码序列进行重组)以产生广泛多种 PBA,例如如本文所公开。举例来说,“SF”模块是指结合位点“SF”,即至少包含 SF VH 和 SF VL 结构域的 CDR。“C8”模块是指结合位点“C8”。

[0764] “PBA”是指多价双特异性抗体,其为包含至少两个不同结合部分或结构域且因此包含至少两个不同结合位点(例如两个不同抗体结合位点)的人工杂交蛋白质,其中多个结合位点中的一者或多者例如经由肽键彼此共价连接。本文所述的优选 PBA 为抗 IGF-1R+ 抗 ErbB3PBA,其为包含一个或多个特异性结合 IGF-1R 蛋白(例如人 IGF-1R 蛋白)的第一结合位点和一个或多个特异性结合 ErbB3 蛋白(例如人 ErbB3 蛋白)的第二结合位点的多价双特异性抗体。抗 IGF-1R+ 抗 ErbB3PBA 的命名与抗 IGF-1R 和抗 ErbB3 结合位点在分子中的方向无关,而在 PBA 名称包含两个由斜线(/)分开的抗原时,斜线左边的抗原位于斜线右边抗原的氨基端。PBA 可为二价结合蛋白、三价结合蛋白、四价结合蛋白或具有 4 个以上结合位点的结合蛋白。示例性 PBA 为四价双特异性抗体,即具有 4 个结合位点但仅结合两种不同抗原或表位的抗体。示例性双特异性抗体为四价“抗 IGF-1R/ 抗 ErbB3”PBA 和“抗 ErbB3/ 抗 IGF-1R”PBA。通常,四价 PBA 的 N 端结合位点为 Fab 且 C 端结合位点为 scFv。

[0765] “一致性百分比”或“一致性%”是指两个或两个以上核酸或多肽序列或子序列在将所述两个序列对准以获得最大对应性且比较时相同(100%一致)或具有指定百分比的相同核苷酸或氨基酸残基。为对准以获得最大对应性,可将空隙引入所比较的一个序列中。接着比较相应位置上的氨基酸残基或核苷酸并定量。当第一序列中的位置由与第二序列中相应位置相同的残基占据时,那么所述序列在那个位置一致。两个序列之间的一致性百分比为所述序列所共享的一致位置的数目的函数(例如,一致性% = 一致位置的数目 / 位置总数(例如重叠位置) × 100)。在某些实施方案中,两个序列具有相同长度。一个序列与另一序列的实测一致性%的测定可使用数学算法进行测定。用于两个序列的所述比较的数学算法的一个非限制性实例并入作为 GCG 序列比对软件包的一部分的 ALIGN 程序(2.0 版)中。当利用 ALIGN 程序例如用于比较氨基酸序列时,可使用 PAM120 加权残基表、空隙长度罚分 12 和空隙罚分 4。用于序列分析的其它算法在所属领域中为熟知的并且许多可在线获

得。

[0766] 参考部分的（例如结构域的）“部分”或“片段”是指完整参考部分（例如结构域，例如天然存在的结构域）中占参考部分尺寸的至少或至多 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、98% 或 99% 的离散部分。

[0767] “scFv 接头”是指插入 scFv 的 VL 与 VH 结构域之间的肽或多肽结构域。scFv 接头优选允许 VL 和 VH 结构域的定向呈抗原结合构形。在一个实施方案中，scFv 接头包含仅包含甘氨酸和丝氨酸的肽或多肽接头（“Gly-Ser 接头”）或由其组成。在某些实施方案中，scFv 接头包含二硫键。

[0768] “scFv 蛋白”是指由包含一个轻链可变结构域（VL）和一个重链可变结构域（VH）的单一多肽组成的结合蛋白，其中各可变结构域是来源于相同或不同抗体。scFv 蛋白通常包含插入 VH 结构域与 VL 结构域之间的 scFv 接头。ScFv 蛋白在所属领域中为已知的且描述于例如美国专利号 5,892,019 中。

[0769] “相似性”或“相似性百分比”在两个或两个以上多肽序列的情况下是指两个或两个以上序列或子序列在比较和对准以获得最大对应性时具有指定百分比的相同或保守性取代的氨基酸残基。举例来说，当第一氨基酸序列与第二氨基酸序列中与第一序列中所含数目相同数目的氨基酸进行比较或与通过所属领域中所已知的计算机相似性程序对准的多肽的对准进行比较，与第二氨基酸序列至少 50%、60%、70%、75%、80%、90% 或甚至 95% 一致或保守性取代时，第一氨基酸序列可视为与第二氨基酸序列相似。所述术语还适用于两个或两个以上多核苷酸序列。

[0770] 当提及结合位点与其靶表位或结合位点组合与其靶表位的结合时，“特异性结合（Specific binding）”、“特异性地结合（specifically binds）”、“选择性结合（selective binding）”和“选择性地结合（selectively binds）”以及“特异性地结合（binds specifically）”、“选择性地结合（binds selectively）”意谓结合位点展现与靶表位的免疫特异性结合。特异性结合表位的结合位点对靶表位展现显著亲和力，且通常因其并不对任何不相关表位展现显著亲和力且优选不对任何不相关表位展现等于、大于对靶表位的亲和力或比对靶表位的亲和力低两个数量级以内的亲和力而展现与其它表位的交叉反应性。“显著”或优选结合包括解离常数“Kd”为 10^{-8} 、 10^{-9} 、 10^{-10} 、 10^{-11} 、 10^{-12} M、 10^{-13} M 或 Kd 值甚至更低的结合。应注意，较低 Kd（解离常数）值指示较高结合亲和力，因此 10^{-7} 的 Kd 为比 10^{-8} 的 Kd 高的 Kd 值，但指示比 10^{-8} 的 Kd 低的结合亲和力。值为约 10^{-7} M 且甚至低至约 10^{-8} M 的解离常数为适于治疗性抗体的解离常数的高端。结合亲和力可由解离常数的范围指示，例如 10^{-6} 至 10^{-12} M、 10^{-7} 至 10^{-12} M、 10^{-8} 至 10^{-12} M 或更优选（即，或较低值解离常数）。纳摩尔浓度（ 10^{-9} M）至皮摩尔浓度（ 10^{-12} M）范围内或更低的解离常数通常最适用于治疗性抗体。适合解离常数为 50nM 或 50nM 以下的 Kd（即结合亲和力为 50nM 或 50nM 以上，例如 Kd 为 45nM），或 40nM、30nM、20nM、10nM、1nm、100pM、10pM 或 1pM 或 1pM 以下的 Kd。特异性或选择性结合可根据用于测定这种结合的所属领域中公认的方式，包括例如根据史卡查分析和 / 或竞争结合测定进行测定。

[0771] 多价双特异性抗体

[0772] 本文提供多价双特异性抗体（“PBA”），其可为分离的单克隆抗体。示例性 PBA 包含至少一个抗 IGF-1R 结合位点和至少一个抗 ErbB3 结合位点或至少两个抗 IGF-1R 结合位

点和至少两个抗 ErbB3 结合位点。在一优选实施方案中,抗 IGF-1R 结合位点特异性结合人 IGF-1R 且抗 ErbB3 结合位点特异性结合人 ErbB3。在某些实施方案中,PBA 包含两个彼此缔合形成单一蛋白质的重链-轻链对,其中各重链-轻链对包含抗 IGF-1R 结合位点和抗 ErbB3 结合位点。在某些实施方案中,第一重链-轻链对的抗 IGF-1R 结合位点和抗 ErbB3 结合位点经由免疫球蛋白 CR 连接,所述免疫球蛋白 CR 与另一重链-轻链对的免疫球蛋白 CR 缔合(例如通过二硫键)形成例如单一 IgG 样蛋白质。如本文所述的优选 PBA 具有有利性质,如与其分离的抗 IGF-1R 结合部分或其分离的抗 ErbB3 结合部分相比相等地或更有效地抑制肿瘤细胞增殖和降低或稳定肿瘤生长的能力,且在某些实施方案中,抑制肿瘤侵袭力和肿瘤转移中任一者或两者的能力。本文所述的示例性 PBA 与其分离的抗 IGF-1R 结合部分或其分离的抗 ErbB3 结合部分相比可相等地或更有效地抑制 IGF-1R 和 ErbB3 介导的信号转导中的任一者或两者,如 IGF-1R、ErbB3 和 AKT 磷酸化。示例性 PBA 将 (i) 使肿瘤细胞生长抑制例如至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 或 90% 以上;或 (ii) 使 IGF-1r、ErbB3 或 Akt 磷酸化抑制例如至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 或 90% 以上,例如与其分离的抗 IGF-1R 结合部分或其分离的抗 ErbB3 结合部分相比程度类似或更有效,或 (i) 与 (ii) 两者。示例性 PBA 将 (iii) 为稳定的,例如在溶液中在 4℃、室温或 37℃ 下 1、2、3、4、5 天或 5 天以上后至少 80% 为单体,或 (iv) 具有至少 50℃、55℃、65℃ 或 65℃ 以上的 T_m(例如,如 DSF 所测定),或 (iii) 与 (iv) 两者。本文所述的 PBA 可用于例如治疗患有癌症的受试者。

[0773] 在某些实施方案中,PBA 的免疫球蛋白 CR 可包含 IgG 重链的 CR,其可包含 Fc 区。免疫球蛋白恒定结构域可以重链-轻链对形式存在,其重链 Fc 区可包含与另一所述重链-轻链对的 CH3 结构域缔合(例如通过二硫键)的 CH3 结构域。免疫球蛋白 CR 部分还可包含 CH2 结构域、铰链和/或 CH1 结构域。如本文进一步描述,PBA 的 CH1、铰链、CH2 或 CH3 结构域各自可为天然存在的(或野生型)结构域,或其可因一个或多个氨基酸取代(例如保守性取代)、添加或缺失而与天然存在的结构域不同,条件为特定结构域保留其所要生物活性,如 CH3 和 CL 缔合活性中的任一者或两者。存在时,CH1、铰链、CH2 和 CH3 结构域的顺序优选如其在天然情况下所存在为 N 端至 C 端,即 CH1、铰链、CH2、CH3。所述结构域可彼此直接或间接联结或连接。间接连接为经由具有一个或多个氨基酸的接头介导的连接。在一个实施方案中,各 CH 结构域直接连接于其相邻结构域。因此,在一个实施方案中,CH1 结构域以其 C 端连接于铰链结构域的 N 端,所述铰链结构域以其 C 端连接于 CH2 结构域的 N 端,所述 CH2 结构域以其 C 端连接于 CH3 结构域的 N 端。

[0774] 某些 PBA 包含至少两个抗 IGF-1R 和至少两个抗 ErbB3 结合位点,各自分别与 IGF-1R 或 ErbB3 特异性结合。所述结合位点可为任何类型的免疫球蛋白来源的结合位点或模拟结合位点,条件为各结合位点特异性结合其各别靶标。举例来说,结合位点可为 Fab 结构域、scFv 或单结构域抗体的片段。PBA 的抗 IGF-1R 和抗 ErbB3 结合位点可为相同类型的结合位点或为不同类型。举例来说,抗 IGF-1R 结合位点可为 Fab 且抗 ErbB3 结合位点可为 scFv。或者,抗 IGF-1R 结合位点可为 scFv 且抗 ErbB3 结合位点可为 Fab。在另一实施方案中,一个抗 ErbB3 结合位点为 Fab 且另一抗 ErbB3 结合位点为 scFv;在另一实施方案中,一个抗 IGF-1R 结合位点为 Fab 且另一抗 IGF-1R 结合位点为 scFv。在一些实施方案中,第一和第二 Fab 分别连接至免疫球蛋白 CR 结构域的 N 端和 C 端。在一些实施方案中,第一和

第二 scFv 分别连接至免疫球蛋白 CR 结构域的 N 端和 C 端。在一些实施方案中,至少一个 Fab 结构域连接至免疫球蛋白 CR 的 N 端(例如呈 Fab 和 CR 的天然排列)且至少一个 scFv 连接至免疫球蛋白 CR 的 C 端。在一些实施方案中,至少一个 scFv 连接至免疫球蛋白 CR 的 N 端且至少一个 Fab 连接至免疫球蛋白 CR 的 C 端。Fab 和 scFv 和抗 IGF-1R 和抗 ErbB3 双特异性抗体的示例性排列列于表 4 中。

[0775] 表 4 :PBA 中的示例性抗 IGF-1R 和抗 ErbB3 排列

[0776]

		连接至免疫球蛋白 CR 的 N 端			
		抗 IGF-1R scFv	抗 IGF-1R Fab	抗 ErbB3 scFv	抗 ErbB3 Fab
连接至免疫球蛋白 CR 的 C 端	抗 IGF-1R scFv			是	是
	抗 IGF-1R Fab			是	是
	抗 ErbB3 scFv	是	是		
	抗 ErbB3 Fab	是	是		

[0777] 在某些实施方案中,PBA 的免疫球蛋白 CR 包含连接至第一重链可变结构域 (VH) 结构域的 CH1 结构域。举例来说,CH1 结构域可以 N 端连接于第一 VH 结构域的 C 端。

[0778] 在某些实施方案中,PBA 的免疫球蛋白 CR 包含连接至第二 VH 结构域的 CH3。当提及本文提供的基于 IgG(例如来源于 IgG 或包含 IgG CR 的至少一部分和 IgG) 的 PBA 的第一和第二结合位点时,“第一”结合位点是指位于免疫球蛋白 CR 部分的 N 端的结合位点,而“第二”结合位点为位于免疫球蛋白 CR 部分的 C 端的结合位点。举例来说,CH3 结构域可以其 C 端连接于第二 VH 结构域的 N 端。CH3 结构域可以其 C 端连接于接头的 N 端,所述接头以其 C 端连接于第二 VH 结构域的 N 端。这种接头可适用于提供恒定免疫球蛋白区与第二 VH 结构域之间的柔性,以使得可获得适当三维结构以允许蛋白质具有生物活性。

[0779] 在某些实施方案中,PBA 包含两个作为如抗体中通常所发现的抗原结合位点的结合位点(即其包含两个 Fab)。所述 PBA 通常包含两条轻链,其中各轻链包含与两条重链各自的 VH 结构域缔合(例如通过二硫键键结)以形成两个结合位点的轻链可变 (VL) 结构域。VL 结构域可连接于恒定轻链 (CL) 结构域且形成轻链 Fab 区。举例来说,VL 结构域可以其 C 端连接于 CL 结构域的 N 端。在第一与第二结合位点为 Fab 的实施方案中,PBA 具有两条不同轻链,称为第一和第二轻链,其中第一和第二轻链分别包含第一和第二 VL 结构域,且任选地分别包含第一和第二 CL 结构域,且分别与第一和第二 VH 结构域且任选地与第一和第二 CH1 结构域缔合(例如二聚化)。

[0780] 在 PBA 包含一个或多个 scFv 的实施方案中,各 scFv 的 VH 结构域连接于 scFv 接头,所述 scFv 接头连接于 VL 结构域,且 VH 结构域与 VL 结构域彼此缔合形成抗原结合位点。在一个实施方案中,VH 结构域以其 C 端连接于 scFv 接头的 N 端,所述 scFv 接头以其 C 端连接于 VL 结构域的 N 端。在一个 scFv 连接于免疫球蛋白 CR 的 N 端且一个 scFv 连接于其 C 端的实施方案中,免疫球蛋白 CR 的 N 端连接于第一 VH 结构域,所述第一 VH 结构域连接于第一 scFv 接头,所述第一 scFv 接头连接于第一 VL 结构域,且所述第一 VH 结构域与所述第

一 VL 结构域形成第一结合位点；且免疫球蛋白 CR 的 C 端连接于第二 VH 结构域，所述第二 VH 结构域连接于第二 scFv 接头，所述第二 scFv 接头连接于第二 VL 结构域，且所述第二 VH 结构域与所述第二 VL 结构域形成第二结合位点且两个所述免疫球蛋白 CR 二聚化或以其它方式缔合（例如通过至少一个键，例如二硫键或范德华键）以形成单一四价蛋白质。

[0781] 在优选实施方案中，免疫球蛋白 CR 为人免疫球蛋白 CR，即其基本上由获自人免疫球蛋白谱系的氨基酸序列组成。免疫球蛋白 CR 可为任何免疫球蛋白同型、类别或子类的 CR。在一个实施方案中，免疫球蛋白 CR 为 IgG CR，如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4CR。在某些实施方案中，CR 为由至少两种不同类别或子类或类型的免疫球蛋白构成的杂交体。举例来说，免疫球蛋白 CR 可具有一个来自 IgG1 的结构域和一个或多个来自 IgG4 蛋白的其它结构域。如本文进一步描述，在某些实施方案中，免疫球蛋白 CR 内的结构域（例如 CH1、铰链、CH2 或 CH3）可主要来自免疫球蛋白的一种同型，但可具有一个或多个氨基酸突变（例如取代、添加或缺失），例如以提供归属于另一类型或类别的免疫球蛋白 CR 的突变型免疫球蛋白 CR。

[0782] 在某些实施方案中，PBA 具有 IgG-(scFv)₂ 结构。所述蛋白质包含具有两个第一结合位点的 IgG 抗体，具有第二结合位点的 scFv 连接于所述 IgG 抗体，例如连接于 IgG 蛋白的两个 C 端中的每一者。示例性 IgG-(scFv)₂ 为 IgG1-(scFv)₂，其中 IgG 为 IgG1。

[0783] 在某些实施方案中，PBA 包含具有由 scFv-Fc-scFv 表示的结构的重链且所述 PBA 可具有结构 (scFv-Fc-scFv)₂。Fc 可为包含铰链、CH2 和 CH3 结构域的 Fc 区。在某些实施方案中，所述蛋白质不包含 CH1 或 CL 结构域。

[0784] 在一个实施方案中，PBA 包含两个相同的形成 IgG 样分子的重链-轻链对，其中各对包含一个为抗 IGF-1R Fab 的结合部分和另一为抗 ErbB3scFv 的结合部分，且其中所述两个结合部分经由免疫球蛋白 CR 连接，所述免疫球蛋白 CR 按 N 端至 C 端顺序包含铰链结构域、CH2 结构域和 CH3 结构域。scFv 可经由接头连接于 CH3 结构域。在一示例性实施方案中，PBA 包含形成二聚体的两条相同重链和两条相同轻链，其中各轻链与重链缔合，且其中各重链包含：第一 VH 结构域，所述第一 VH 结构域以其 C 端连接于 CH1 结构域的 N 端，所述 CH1 结构域以其 C 端连接于铰链结构域的 N 端，所述铰链结构域以其 C 端连接于 CH2 结构域的 N 端，所述 CH2 结构域以其 C 端连接于 CH3 结构域的 N 端，所述 CH3 结构域以其 C 端连接于接头的 N 端，所述接头以其 C 端连接于第二 VH 结构域的 N 端，所述第二 VH 结构域以其 C 端连接于 scFv 接头的 N 端，所述 scFv 接头以其 C 端连接于第二 VL 结构域的 N 端，所述第二 VL 结构域与所述第二 VH 结构域缔合形成第二结合位点；且其中各轻链包含第一 VL 结构域，所述第一 VL 结构域以其 C 端连接于 CL 结构域的 N 端，其中所述 VH 结构域与所述第一 VL 结构域形成第一结合位点。在一个实施方案中，第一结合位点为抗 IGF-1R 结合位点且第二结合位点为抗 ErbB3 结合位点。在另一实施方案中，第一结合位点为抗 ErbB3 结合位点且第二结合位点为抗 IGF-1R 结合位点。

[0785] 在某些实施方案中，PBA 包含含有由 SEQ ID NO:304 的共同序列组成的 VHCDR3 和任选地存在的分别由 SEQ ID NO:302 和 303 的共同序列组成的 VHCDR1 和 / 或 VHCDR2 的 IGF-1R 结合位点（参见图 1）。在某些实施方案中，SEQ ID NO:304 的最末（C 端）X 氨基酸不为 I。PBA 还可包含含有由 SEQ ID NO:307 或 308 的共同序列组成的 VLCDR3 和任选地存在的分别由 SEQ ID NO:305 和 306 的序列组成的 VHCDR1 和 VHCDR2 中任一者或两者的抗

IGF-1R 结合位点(参见图2)。在某些实施方案中,PBA 包含含有分别由 SEQ ID NO:302、303、304、305、306 和 307(或 308)的共同序列组成的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 的抗 IGF-1R 结合位点。

[0786] 在某些实施方案中,PBA 包含含有由 SEQ ID NO:311 的共同序列组成的 VHCDR3 和任选地存在的分别由 SEQ ID NO:309 和 310 的序列组成的 VHCDR1 和/或 VHCDR2 的抗 ErbB3 结合位点(参见图3)。PBA 还可包含含有由 SEQ ID NO:314 或 315 的共同序列组成的 VLCDR3 和任选地存在的分别由 SEQ ID NO:312 和 313 的序列组成的 VHCDR1 和/或 VHCDR2 的抗 IGF-1R 结合位点(参见图4)。在某些实施方案中,PBA 包含含有分别由 SEQ ID NO:309、310、311、312、313 和 314(或 315)的序列组成的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 的抗 IGF-1R 结合位点。

[0787] SEQ ID NO:302-315 的序列阐述如下:

[0788] 抗 IGF-1R CDR

[0789] VHCDR1 共同序列:GFX1FSX2YPMH(SEQ ID NO:302)

[0790] VHCDR2 共同序列:ISX1X2GGATX3YADSVKG(SEQ ID NO:303)

[0791] VHCDR3 共同序列:DFYX1X2LTGNAFDX3(SEQ ID NO:304)

[0792] VLCDR1 序列:RASQGISSYLA(SEQ ID NO:305)

[0793] VLCDR2 共同序列:AX1STX2QS(SEQ ID NO:306)

[0794] VLCDR3 共同序列:QQYX1X2X3PLT(SEQ ID NO:307) 和 QQYWX1X2PLT(SEQ ID NO:308)

[0795] 抗 ErbB3CDR

[0796] VHCDR1 序列:GFTFDDYAMH(SEQ ID NO:309)

[0797] VHCDR2 共同序列:ISWX1SGSX2GYADSVKG(SEQ ID NO:310)

[0798] VHCDR3 共同序列:DLGX1X2QWX3X4GFDY(SEQ ID NO:311)

[0799] VLCDR1 序列:QGDSLRSYYAS(SEQ ID NO:312)

[0800] VLCDR2 序列:GKNNRPS(SEQ ID NO:313)

[0801] VLCDR3 共同序列:X1SRDX2X3GX4X5WV(SEQ ID NO:314) 和 X1SRDX2PGX3X4WV(SEQ ID NO:315)

[0802] 之后接有数字的各氨基酸“X”为可变氨基酸,其独立地表示任何氨基酸,如位于图 1、2、3 或 4 中相应位置的任何氨基酸。SEQ ID NO:302 的 X1-X2、SEQ ID NO:303 的 X1-X2 和 SEQ ID NO:304 的 X1-X3 的示例性氨基酸提供于图 1 中氨基酸序列中的相应位置处。SEQ ID NO:306 的 X1-X2、SEQ ID NO:307 的 X1-X3 和 SEQ ID NO:308 的 X1-X2 的示例性氨基酸提供于图 2 中氨基酸序列中的相应位置处。SEQ ID NO:310 的 X1-X2 和 SEQ ID NO:311 的 X1-X4 的示例性氨基酸提供于图 3 中氨基酸序列中的相应位置处。SEQ ID NO:314 的 X1-X5 或 SEQ ID NO:315 的 X1-X4 的示例性氨基酸提供于图 4 中氨基酸序列中的相应位置处。

[0803] 示例性 PBA 包含含有分别由 SEQ ID NO:302、303、304、305、306 和 307(或 308)的序列组成的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 的抗 IGF-1R 结合位点和含有分别由 SEQ ID NO:309、310、311、312、313 和 314(或 315)的序列组成的 VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 的抗 ErbB3 结合位点。

[0804] 示例性 PBA 包含一个或多个来自图 1-4 中提供的一个或多个 VR 的 CDR。在某些实

施方案中,抗 IGF-1R 结合位点包含 1、2 或 3 个图 1 的 VH 结构域之一的 CDR 和 / 或 1、2 或 3 个图 2 的 VL 结构域之一的 CDR。举例来说,抗 IGF-1R 结合部分可包含来自 SEQ ID NO:11 的 CDR1、CDR2 和 / 或 CDR3 和 / 或来自 SEQ ID NO:35 的 CDR1、CDR2 和 / 或 CDR3(16F 的 CDR)。在某些实施方案中,抗 IGF-1R 结合部分包含图 1 和 2 的 CDR 的组合,条件为(即其中)(i) 结合部分不为 16F 的结合部分,或(ii) 抗 IGF-1R 结合实体的 CDR 中的 1、2、3、4、5 或 6 者不存在于 16F 的抗 IGF-1R 结合实体中,或(iii) 抗 IGF-1R 结合实体的 VH 或 VL 结构域分别与 16F 中的相应 VH 或 VL 结构域不同。

[0805] 示例性 PBA 包含含有包含图 1 中的序列(例如 SEQ ID NO:8、9、10 和 11 中的一者)的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域的抗 IGF-1R 结合实体(所述 CDR 的位置示出于图 1 中)。PBA 还可包含含有包含 SEQ ID NO:32、33、34 和 35 中的一者的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域的抗 IGF-1R 结合实体(所述 CDR 的位置示出于图 2 中)。在某些实施方案中,PBA 包含含有包含 SEQ ID NO:8、9、10 和 11 中的一者的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域和包含 SEQ ID NO:32、33、34 和 35 中的一者的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域的抗 IGF-1R 结合实体。在特定实施方案中,抗 IGF-1R 结合结构域包含含有 SEQ ID No:8 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID No:32 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中,抗 IGF-1R 结合结构域包含含有 SEQ ID No:9 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID No:33 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中,抗 IGF-1R 结合结构域包含含有 SEQ ID No:10 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID No:34 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中,抗 IGF-1R 结合结构域包含含有 SEQ ID No:11 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID No:35 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中,抗 IGF-1R 结合结构域包含含有 SEQ ID No:8 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID No:33 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中,抗 IGF-1R 结合结构域包含含有 SEQ ID No:10 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID No:32 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域。

[0806] 在某些实施方案中,抗 ErbB3 结合位点包含 1、2 或 3 个图 3 的 VH 结构域之一的 CDR 和 / 或 1、2 或 3 个图 4 的 VL 结构域之一的 CDR。举例来说,抗 ErbB3 结合部分可包含来自 SEQ ID NO:143 的 CDR1、CDR2 和 / 或 CDR3 和 / 或来自 SEQ ID NO:175 的 CDR1、CDR2 和 / 或 CDR3(16F 的 CDR)。在某些实施方案中,抗 ErbB3 结合部分包含图 1 和 2 的 CDR 的组合,条件为(即其中)(i) 结合部分不为 16F 的结合部分,或(ii) 抗抗 ErbB3 结合实体的 CDR 中的 1、2、3、4、5 或 6 者不存在于 16F 的抗 ErbB3 结合实体中,或(iii) 抗 IGF-1R 结合实体的 VH 或 VL 结构域分别与 16F 中的相应 VH 或 VL 结构域不同。示例性 PBA 包含含有包含图 3 中的序列(例如 SEQ ID NO:134-143 中的一者)的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域的抗 ErbB3 结合实体(所述 CDR 的位置示出于图 3 中)。PBA 还可包含含有包含 SEQ ID NO:166-175 中的一者的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域的抗 ErbB3 结合实体(所述 CDR 的位置提供于图 4 中)。在某些实施方案中,PBA 包含含有包含 SEQ ID NO:134-143 中的一者的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域

和包含 SEQ ID NO:166-175 中的一者的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域的抗 ErbB3 结合实体。在特定实施方案中,抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID No:134 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID No:166 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中,抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID No:135 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID No:167 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中,抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID No:136 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID No:168 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中,抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID No:137 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID No:169 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中,抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID No:138 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID No:170 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中,抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID No:139 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID No:171 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中,抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID No:140 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID No:172 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中,抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID No:141 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID No:173 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中,抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID No:142 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID No:174 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中,抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID No:143 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID No:175 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中,抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID No:136 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID No:169 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列的 VL 结构域。

[0807] 结合位点还可包含图 1-4 的 VR 的一个或多个 CDR,其中 1、2 或 3 个氨基酸已改变,例如取代、添加或缺失,条件为所述结合位点仍能够特异性结合其靶标。

[0808] 在某些实施方案中,抗 IGF-1R 结合位点包含含有以下共同序列的 VH 结构域:EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFX1FSX2YPMHWVRQAPGKGLEWVX3SISX4X5GGATX6YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRX7EDTAVYYCAKDFYX8X9LTGNAFDX10WGQGTXX11VTVSS(SEQ ID NO:1;CDR加有下划线)。

[0809] 这个共同序列是通过比对 24 个高亲和力抗 IGF-1R 结合位点的 VH 序列而获得。比对示出于图 1 中。

[0810] 在某些实施方案中,SEQ ID NO:1 的氨基酸 X1-X11 各自独立地表示任何氨基酸。在其它实施方案中,SEQ ID NO:1 的氨基酸 X1-X11 各自独立地表示在图 1 的任何序列中的那些位置上所示的任何氨基酸。在一个所述实施方案中,X1 为 T,X2 为 V,X3 为 S,X4 为 S,X5 为 S,X6 为 R,X7 为 A,X8 为 D,X9 为 I,X10 为 I,且 X11 为 T(SF 重链 16F;SEQ ID NO:11)。示例性 IGF-1R VH 序列阐述为 SEQ ID NO:8-31。

[0811] 在某些实施方案中,抗 IGF-1R 结合位点的 VH 结构域包含 SEQ ID NO:1 的共同序列,条件为(即其中)所述序列不为 SF 重链 16F 的序列,例如有至少一个氨基酸不同。在某些实施方案中,抗 IGF-1R 结合位点的 VH 结构域包含 SEQ ID NO:1 的共同序列,条件为(即其中)X1 不为 T, X2 不为 V, X6 不为 R, X8 不为 D 或 X10 不为 I。示例性抗 IGF-1R VH 序列阐述为 SEQ ID NO:8-10 和 12-31。

[0812] 在某些实施方案中,抗 IGF-1R 结合位点包含含有以下共同序列的 VL 结构域:

[0813] DIQX1TQSPSSLSASX2GDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAX3STX4QSGVPSRFS
GSGTX5FTLTISLQPEDX6X7TYYCQQYX8X9X10PLTFGGGTKVEIK(SEQ ID NO:2 ;CDR加有下划线)。

[0814] 这个共同序列是通过比对约 100 个高亲和力抗 IGF-1R 结合位点的 VL 序列而获得。比对示出于图 2 中。

[0815] 在某些实施方案中,SEQ ID NO:2 的氨基酸 X1-X10 各自独立地表示任何氨基酸。在其它实施方案中,SEQ ID NO:2 的氨基酸 X1-X10 各自独立地表示在图 2 的任何序列中的那些位置上所示的任何氨基酸。在一个所述实施方案中,X1 为 M, X2 为 T, X3 为 A, X4 为 L, X5 为 D, X6 为 F, X7 为 A, X8 为 F, X9 为 T, 且 X10 为 F(SF κ 轻链 16F ;SEQ ID NO:35)。示例性 IGF-1R VL 序列阐述为 SEQ ID NO:32-133。

[0816] 在某些实施方案中,抗 IGF-1R 结合位点的 VL 结构域包含 SEQ ID NO:2 的共同序列,条件为(即其中)所述序列不为 SF 轻链 16F 的序列,例如有至少一个氨基酸不同。在某些实施方案中,抗 IGF-1R 结合位点的 VL 结构域包含 SEQ ID NO:2 的共同序列,条件为(即其中)X2 不为 T, X6 不为 F, 或 X8 不为 F。当 X2 不为 T, X6 不为 F, 和 / 或 X8 不为 F 时, X2 可为 L, X6 可为 F, 和 / 或 X8 可为 F, 如以下共同序列中所述 :DIQX1TQSPSSLSASLGDRVTITCR
ASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAX2STX3QSGVPSRFSSGSGTX4FTLTISLQPEDSX5TYYCQQYWX6X7P
LTFGGGTKVEIK(SEQ ID NO:3 ;CDR 加有下划线)。

[0817] 在某些实施方案中,抗 IGF-1R 结合位点的 VL 结构域包含 SEQ ID NO:3 的共同序列,其中 SEQ ID NO:3 的氨基酸 X1-X7 各自独立地表示任何氨基酸。在其它实施方案中,SEQ ID NO:3 的氨基酸 X1-X7 各自独立地表示在图 2 的任何序列中的那些位置上所示的任何氨基酸。示例性 IGF-1R VL 序列阐述为 SEQ ID NO:32-34 和 36-133。

[0818] 在某些实施方案中,抗 ErbB3 结合位点包含含有以下共同序列的 VH 结构域 :X1VQL
VX2SGGGLVQPGX3SLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVX4GISWX5SGSX6GYADSVKGRFTISRDN
AKNSLYLQMNSLRX7EDTAX8YYCARDLGX9X10QWX11X12GFDYWGQGLTVTVSS(SEQ ID NO:4 ;CDR加有下
划线)。

[0819] 这个共同序列是通过比对 32 个高亲和力抗 IGF-1R 结合位点的 VH 序列而获得。比对示出于图 3 中。

[0820] 在某些实施方案中,SEQ ID NO:4 的氨基酸 X1-X12 各自独立地表示任何氨基酸。在其它实施方案中,SEQ ID NO:4 的氨基酸 X1-X12 各自独立地表示在图 3 的任何序列中的那些位置上所示的任何氨基酸。在一个所述实施方案中,X1 为 Q, X2 为 Q, X3 为 G, X4 为 A, X5 为 N, X6 为 I, X7 为 P, X8 为 V, X9 为 Y, X10 为 N, X11 为 V, 且 X12 为 E(C8 重链 16F ;SEQ ID NO:143)。示例性 ErbB3VH 序列阐述为 SEQ ID NO:134-165。

[0821] 在某些实施方案中,抗 ErbB3 结合位点的 VH 结构域包含 SEQ ID NO:4 的共同序列,条件为(即其中)所述序列不为 C8 重链 16F 的序列,例如有至少一个氨基酸不同。在某些

实施方案中,抗 ErbB3 结合位点的 VH 结构域包含 SEQ ID NO:4 的共同序列,条件为(即其中)氨基酸 X7 不为 P,或 X8 不为 V。当 X7 不为 P 和/或 X8 不为 V 时,X7 可为 A 和/或 X8 可为 L,如以下共同序列中所述:X1VQLVX2SGGGLVQPGX3SLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVX4GISWX5SGSX6GYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMSLRAEDTALYYCARDLGX7X8QWX9X10GFDYWGQGLTLVTVSS(SEQ ID NO:5;CDR 加有下划线)。

[0822] 在某些实施方案中,抗 ErbB3 结合位点的 VH 结构域包含 SEQ ID NO:5 的共同序列,其中 SEQ ID NO:5 的氨基酸 X1-X10 各自独立地表示任何氨基酸。在其它实施方案中,SEQ ID NO:5 的氨基酸 X1-X10 各自独立地表示在图 3 的任何序列中的那些位置上所示的任何氨基酸。示例性 ErbB3VH 序列阐述为 SEQ ID NO:134-142 和 144-165。

[0823] 在某些实施方案中,抗 ErbB3 结合位点包含含有以下共同序列的 VL 结构域: SX1ELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLIYGGKNNRPSGIPDRFSGSX2SGNX3ASLTITGAQAEDEADYYCX4SRDX5X6GX7X8WVFGGGTKVTX9G(SEQ ID NO:6;CDR 加有下划线)。

[0824] 这个共同序列是通过比对 35 个高亲和力抗 IGF-1R 结合位点的 VL 序列而获得。比对示出于图 4 中。

[0825] 在某些实施方案中,SEQ ID NO:6 的氨基酸 X1-X9 各自独立地表示任何氨基酸。在其它实施方案中,SEQ ID NO:6 的氨基酸 X1-X10 各自独立地表示在图 4 的任何序列中的那些位置上所示的任何氨基酸。在一个实施方案中,X1 为 Y,X2 为 T,X3 为 S,X4 为 N,X5 为 S,X6 为 S,X7 为 N,X8 为 H,且 X9 为 L(C8 λ 轻链 16F;SEQ ID NO:175)。示例性 ErbB3VL 序列阐述为 SEQ ID NO:166-200。

[0826] 在某些实施方案中,抗 ErbB3 结合位点的 VL 结构域包含 SEQ ID NO:6 的共同序列,条件为(即其中)所述序列不为 C8 λ 轻链 16F 的序列,例如有至少一个氨基酸不同。在某些实施方案中,抗 ErbB3 结合位点的 VL 结构域包含 SEQ ID NO:6 的共同序列,条件为(即其中)X6 不为 S。当 X6 不为 S 时,X6 可为 P,如以下共同序列中所述: SX1ELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLIYGGKNNRPSGIPDRFSGSX2SGNX3ASLTITGAQAEDEADYYCX4SRDX5PGX6X7WVFGGGTKVTX8G(SEQ ID NO:7;CDR 加有下划线)。

[0827] 在某些实施方案中,抗 ErbB3 结合位点的 VL 结构域包含 SEQ ID NO:7 的共同序列,SEQ ID NO:7 的氨基酸 X1-X8 各自独立地表示任何氨基酸。在其它实施方案中,SEQ ID NO:7 的氨基酸 X1-X8 各自独立地表示在图 4 的任何序列中的那些位置上所示的任何氨基酸。示例性 ErbB3VL 序列阐述为 SEQ ID NO:166-174 和 176-200。

[0828] 示例性抗 IGF-1R VH 结构域包括 M57VH 结构域(SEQ ID NO:8)、M78 VH 结构域(SEQ ID NO:9)、P4VH 结构域(SEQ ID NO:10)和 SF VH 结构域(SEQ ID NO:11)。示例性抗 IGF-1R VL 结构域包括 M57VL 结构域(SEQ ID NO:32)、M78VL 结构域(SEQ ID NO:33)、P4VL 结构域(SEQ ID NO:34)和 SF VL 结构域(SEQ ID NO:35)。

[0829] 示例性抗 ErbB3VH 结构域包括 B60VH 结构域(SEQ ID NO:134)、B72 VH 结构域(SEQ ID NO:135)、M27VH 结构域(SEQ ID NO:136)、M7VH 结构域(SEQ ID NO:137)、P1VH 结构域(SEQ ID NO:138)、M27VH 结构域(SEQ ID NO:139)、B69VH 结构域(SEQ ID NO:140)、P6VH 结构域(SEQ ID NO:141)、M1.3VH 结构域(SEQ ID NO:142)和 C8VH 结构域(SEQ ID NO:143)。示例性抗 ErbB3VL 结构域包括 B60VL 结构域(SEQ ID NO:166)、B72VL 结构域(SEQ ID NO:167)、M27VL 结构域(SEQ ID NO:168)、M7VL 结构域(SEQ ID NO:169)、P1VL 结构域

(SEQ ID NO:170)、M27VL 结构域 (SEQ ID NO:171)、B69VL 结构域 (SEQ ID NO:172)、P6VL 结构域 (SEQ ID NO:173)、M1.3VL 结构域 (SEQ ID NO:174) 和 C8VL 结构域 (SEQ ID NO:175)。

[0830] 结合位点可包含具有相同模块名称 (例如“M57”、“M78”和“P4”) 的 VH 和 VL 结构域,即其为其最初分离的结合位点的抗体的 VH 和 VL 结构域,或其可混合和匹配。举例来说,抗 IGF-1R 结合部分可包含:(i) 模块 M57 的 VH 结构域 (SEQ ID NO:8) 和模块 M57 的 VL 结构域 (SEQ ID NO:32);模块 M78 的 VH 结构域 (SEQ ID NO:9) 和模块 M78 的 VL 结构域 (SEQ ID NO:33);(iii) 模块 P4 的 VH 结构域 (SEQ ID NO:10) 和模块 P4 的 VL 结构域 (SEQ ID NO:34);(iv) 模块 SF 的 VH 结构域 (SEQ ID NO:11) 和模块 SF 的 VL 结构域 (SEQ ID NO:35)。抗 ErbB3 结合部分可包含:(i) 模块 B60 的 VH 结构域 (SEQ ID NO:134) 和模块 B60 的 VL 结构域 (SEQ ID NO:166);(ii) 模块 B72 的 VH 结构域 (SEQ ID NO:135) 和模块 B72 的 VL 结构域 (SEQ ID NO:167);(iii) 模块 M27 的 VH 结构域 (SEQ ID NO:136) 和模块 M27 的 VL 结构域 (SEQ ID NO:168);(iv) 模块 M7 的 VH 结构域 (SEQ ID NO:137) 和模块 M7 的 VL 结构域 (SEQ ID NO:169);(v) 模块 P1 的 VH 结构域 (SEQ ID NO:138) 和模块 P1 的 VL 结构域 (SEQ ID NO:170);(vi) 模块 M27 的 VH 结构域 (SEQ ID NO:139) 和模块 M27 的 VL 结构域 (SEQ ID NO:171);(vii) 模块 B69 的 VH 结构域 (SEQ ID NO:140) 和模块 B69 的 VL 结构域 (SEQ ID NO:172);(viii) 模块 P6 的 VH 结构域 (SEQ ID NO:141) 和模块 P6 的 VL 结构域 (SEQ ID NO:173);(ix) 模块 M1.3 的 VH 结构域 (SEQ ID NO:142) 和模块 M1.3 的 VL 结构域 (SEQ ID NO:174);和 (x) 模块 C8 的 VH 结构域 (SEQ ID NO:143) 和模块 C8 的 VL 结构域 (SEQ ID NO:175)。

[0831] PBA 的结合部分还可包含混合和匹配的 VH 和 VL 结构域,即结合部分可包含来自一个模块的 VH 结构域和来自另一模块的 VL 结构域。举例来说,抗 IGF-1R 结合部分可包含模块 M57 的 VH 结构域 (SEQ ID NO:8) 和模块 M78 的 VL 结构域 (SEQ ID NO:33) 或模块 P4 的 VH 结构域 (SEQ ID NO:10) 和模块 M57 的 VL 结构域 (SEQ ID NO:32)。抗 ErbB3 结合部分可包含模块 M27 的 VH 结构域 (SEQ ID NO:136) 和模块 M7 的 VL 结构域 (SEQ ID NO:169;参见例如实施例 7)。以高亲和力结合靶标的混合链结合部分为优选的。

[0832] PBA 还可包含属于本文所述的 IGF-1R VH (SEQ ID NO:1)、IGF-1R VL (SEQ ID NO:2)、ErbB3VH (SEQ ID NO:4) 和 ErbB3VL (SEQ ID NO:6) 共同序列中一种以上的氨基酸序列,条件为所述 PBA 特异性结合 IGF-1R 和 ErbB3。举例来说,PBA 可包含以下任一者:

[0833] - 包含 SEQ ID NO:1 的 IGF-1R VH 结构域和包含 SEQ ID NO:2 的 IGF-1R VL 结构域;

[0834] - 包含 SEQ ID NO:1 的 IGF-1R VH 结构域和包含 SEQ ID NO:4 的 ErbB3 VH 结构域;

[0835] - 包含 SEQ ID NO:1 的 IGF-1R VH 结构域和包含 SEQ ID NO:6 的 ErbB3 VL 结构域;

[0836] - 包含 SEQ ID NO:1 的 IGF-1R VH 结构域、包含 SEQ ID NO:2 的 IGF-1R VL 结构域和包含 SEQ ID NO:4 的 ErbB3VH 结构域;

[0837] - 包含 SEQ ID NO:1 的 IGF-1R VH 结构域、包含 SEQ ID NO:2 的 IGF-1R VL 结构域和包含 SEQ ID NO:6 的 ErbB3VL 结构域;

[0838] - 包含 SEQ ID NO:1 的 IGF-1R VH 结构域、包含 SEQ ID NO:2 的 IGF-1R VL 结构域

域、包含 SEQ ID NO:4 的 ErbB3VH 结构域和包含 SEQ ID NO:6 的 ErbB3VL 结构域；

[0839] - 包含 SEQ ID NO:2 的 IGF-1R VL 结构域和包含 SEQ ID NO:4 的 ErbB3 VH 结构域；

[0840] - 包含 SEQ ID NO:2 的 IGF-1R VL 结构域和包含 SEQ ID NO:6 的 ErbB3 VL 结构域；

[0841] - 包含 SEQ ID NO:2 的 IGF-1R VL 结构域、包含 SEQ ID NO:4 的 ErbB3 VH 结构域和包含 SEQ ID NO:6 的 ErbB3VL 结构域；或

[0842] - 包含 SEQ ID NO:4 的 ErbB3VH 结构域和包含 SEQ ID NO:6 的 ErbB3 VL 结构域；

[0843] 其中可变氨基酸独立地为任何氨基酸，或其中可变氨基酸独立地为图 1-4 的这些共同序列各自的相应位置上所示的任何氨基酸，条件为所述 PBA 特异性结合 IGF-1R 和 ErbB3。

[0844] PBA 还可包含属于本文所述的 IGF-1R VH(SEQ ID NO:1)、IGF-1R VL(SEQ ID NO:2)、ErbB3VH(SEQ ID NO:4) 和 ErbB3VL(SEQ ID NO:6) 共同序列中一种以上的氨基酸序列，条件为所述 PBA 特异性结合 IGF-1R 和 ErbB3，条件为（即其中）所述 PBA 不为 16F。举例来说，PBA 还可包含属于本文所述的 IGF-1R VH(SEQ ID NO:1)、IGF-1R VL(SEQ ID NO:3)、ErbB3 VH(SEQ ID NO:5) 和 ErbB3VL(SEQ ID NO:7) 共同序列中一种以上的氨基酸序列，条件为其特异性结合 IGF-1R 和 ErbB3。举例来说，PBA 可包含：

[0845] - 包含 SEQ ID NO:1 的 IGF-1R VH 结构域和包含 SEQ ID NO:3 的 IGF-1R VL 结构域；

[0846] - 包含 SEQ ID NO:1 的 IGF-1R VH 结构域和包含 SEQ ID NO:5 的 ErbB3 VH 结构域；

[0847] - 包含 SEQ ID NO:1 的 IGF-1R VH 结构域和包含 SEQ ID NO:7 的 ErbB3 VL 结构域；

[0848] - 包含 SEQ ID NO:1 的 IGF-1R VH 结构域、包含 SEQ ID NO:3 的 IGF-1R VL 结构域和包含 SEQ ID NO:5 的 ErbB3VH 结构域；

[0849] - 包含 SEQ ID NO:1 的 IGF-1R VH 结构域、包含 SEQ ID NO:3 的 IGF-1R VL 结构域和包含 SEQ ID NO:7 的 ErbB3VL 结构域；

[0850] - 包含 SEQ ID NO:1 的 IGF-1R VH 结构域、包含 SEQ ID NO:3 的 IGF-1R VL 结构域、包含 SEQ ID NO:5 的 ErbB3VH 结构域和包含 SEQ ID NO:7 的 ErbB3VL 结构域；

[0851] - 包含 SEQ ID NO:3 的 IGF-1R VL 结构域和包含 SEQ ID NO:5 的 ErbB3 VH 结构域；

[0852] - 包含 SEQ ID NO:3 的 IGF-1R VL 结构域和包含 SEQ ID NO:7 的 ErbB3 VL 结构域；

[0853] - 包含 SEQ ID NO:3 的 IGF-1R VL 结构域、包含 SEQ ID NO:5 的 ErbB3 VH 结构域和包含 SEQ ID NO:7 的 ErbB3VL 结构域；或

[0854] - 包含 SEQ ID NO:5 的 ErbB3VH 结构域和包含 SEQ ID NO:7 的 ErbB3 VL 结构域；

[0855] 其中可变氨基酸独立地为任何氨基酸，或其中可变氨基酸独立地为图 1-4 的这些共同序列各自的相应位置上所示的任何氨基酸，条件为所述 PBA 特异性结合 IGF-1R 和 ErbB3。

[0856] 示例性 PBA 包含含有包含图 1 中的氨基酸序列（例如 SEQ ID NO:8、9、10 和 11 中的一者的氨基酸序列）的 VH 结构域的抗 IGF-1R 结合实体。PBA 还可包含含有包含图 2 中的氨基酸序列（例如 SEQ ID NO:32、33、34 和 35 中的一者的氨基酸序列）的 VL 结构域的抗 IGF-1R 结合实体。在某些实施方案中，PBA 包含含有包含 SEQ ID NO:8、9、10 和 11 中的一者的氨基酸序列的 VH 结构域和包含 SEQ ID NO:32、33、34 和 35 中的一者的氨基酸序列的 VL 结构域的抗 IGF-1R 结合实体。在特定实施方案中，抗 IGF-1R 结合结构域包含含有 SEQ ID NO:8 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:32 的氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中，抗 IGF-1R 结合结构域包含含有 SEQ ID NO:9 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:33 的氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中，抗 IGF-1R 结合结构域包含含有 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:34 的氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中，抗 IGF-1R 结合结构域包含含有 SEQ ID NO:11 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:35 的氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中，抗 IGF-1R 结合结构域包含含有 SEQ ID NO:8 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:33 的氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中，抗 IGF-1R 结合结构域包含含有 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:32 的氨基酸序列的 VL 结构域。

[0857] 示例性 PBA 包含含有包含 SEQ ID NO:134-143 中的一者的氨基酸序列的 VH 结构域的抗 ErbB3 结合实体。PBA 还可包含含有包含 SEQ ID NO:166-175 中的一者的氨基酸序列的 VL 结构域的抗 ErbB3 结合实体。在某些实施方案中，PBA 包含含有包含 SEQ ID NO:134-143 中的一者的氨基酸序列的 VH 结构域和包含 SEQ ID NO:166-175 中的一者的氨基酸序列的 VL 结构域的抗 ErbB3 结合实体。在特定实施方案中，抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID NO:134 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:166 的氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中，抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID NO:135 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:167 的氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中，抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:168 的氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中，抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID NO:137 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中，抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID NO:138 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:170 的氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中，抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID NO:139 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:171 的氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中，抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID NO:140 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:172 的氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中，抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID NO:141 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:173 的氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中，抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID NO:142 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:174 的氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中，抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID NO:143 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:175 的氨基酸序列的 VL 结构域。在特定实施方案中，抗 ErbB3 结合结构域包含含有 SEQ ID NO:136 的氨基酸序列的 VH 结构域和含有 SEQ ID NO:169 的氨基酸序列的 VL 结构域。

[0858] 在一示例性实施方案中，PBA 包含含有免疫球蛋白 CR 的重链，所述免疫球蛋白 CR 包含以下、基本上由以下组成或由以下组成：IgG1 的 CH1 结构域、铰链、CH2 结构域和 CH3 结

构域(称为“IgG1CR”)。示例性PBA包含IgG1 CR和以下氨基酸序列中的一者或多者:包含SEQ ID NO:1的共同序列的IGF-1R VH结构域;包含SEQ ID NO:2的共同序列的IGF-1R VL结构域;包含SEQ ID NO:4的共同序列的ErbB3VH结构域;和包含SEQ ID NO:6的共同序列的ErbB3VL结构域,且包含含有图5A、5B、7A和7B的重链和轻链氨基酸序列的PBA。

[0859] 其它示例性PBA包含含有IgG1CR和以下氨基酸序列中的一者或多者的重链:包含SEQ ID NO:1的共同序列的IGF-1R VH结构域;包含SEQ ID NO:3的共同序列的IGF-1R VL结构域;包含SEQ ID NO:5的共同序列的ErbB3VH结构域;和包含SEQ ID NO:7的共同序列的ErbB3VL结构域,且包含含有图5A和5B的重链和轻链氨基酸序列但排除16个重链和轻链的PBA。

[0860] 包含本来以赖氨酸或精氨酸结尾的羧基端的PBA的羧基端氨基酸可能被羧肽酶修剪。为避免此现象,在所述羧基端上添加一个或多个氨基酸可为有益的。举例来说,当蛋白质本来在其羧基端上具有“VEIK”时,可向羧基端添加1、2、3、4、5个或5个以上氨基酸以防止赖氨酸移除。在某些实施方案中,这些附加的氨基酸可来源于CL结构域。因此,举例来说,在PBA结束于以“VEIK”结尾的抗IGF-1R VL序列的情况下,可在羧基端上添加氨基酸“RT”(参见例如P1-G1-P4;SEQ ID NO:268)。

[0861] 抗IGF-1R/ErbB3PBA可包含含有选自以下重链融合物(杂交体)组成的组的氨基酸序列的重链:SF-G1-C8(即16F;SEQ ID NO:210);SF-G1-P1(SEQ ID NO:212);SF-G1-M1.3(SEQ ID NO:214);SF-G1-M27(SEQ ID NO:216);SF-G1-P6(SEQ ID NO:218);SF-G1-B69(SEQ ID NO:220);P4-G1-C8(SEQ ID NO:222);P4-G1-P1(SEQ ID NO:224);P4-G1-M1.3(SEQ ID NO:226);P4-G1-M27(SEQ ID NO:228);P4-G1-P6(SEQ ID NO:230);P4-G1-B69(SEQ ID NO:232);M78-G1-C8(SEQ ID NO:234);M78-G1-P1(SEQ ID NO:236);M78-G1-M1.3(SEQ ID NO:238);M78-G1-M27(SEQ ID NO:240);M78-G1-P6(SEQ ID NO:242);M78-G1-B69(SEQ ID NO:244);M57-G1-C8(SEQ ID NO:246);M57-G1-P1(SEQ ID NO:248);M57-G1-M1.3(SEQ ID NO:250);M57-G1-M27(SEQ ID NO:252);M57-G1-P6(SEQ ID NO:254)和M57-G1-B69(SEQ ID NO:256)。抗IGF-1R/ErbB3PBA可包含含有选自以下κ轻链组成的组的氨基酸序列的轻链:SF(SEQ ID NO:202);P4(SEQ ID NO:204);M78(SEQ ID NO:206);和M57(SEQ ID NO:208)。

[0862] 抗ErbB3/IGF-1R PBA可包含含有选自以下重链融合物(杂交体)组成的组的氨基酸序列的重链:P1-G1-P4(SEQ ID NO:268);P1-G1-M57(SEQ ID NO:270);P1-G1-M78(SEQ ID NO:272);M27-G1-P4(SEQ ID NO:274);M27-G1-M57(SEQ ID NO:276);M27-G1-M78(SEQ ID NO:278);M7-G1-P4(SEQ ID NO:280);M7-G1-M57(SEQ ID NO:282);M7-G1-M78(SEQ ID NO:284);B72-G1-P4(SEQ ID NO:286);B72-G1-M57(SEQ ID NO:288);B72-G1-M78(SEQ ID NO:290);B60-G1-P4(SEQ ID NO:292);B60-G1-M57(SEQ ID NO:294);B60-G1-M78(SEQ ID NO:296);B60-G2-M78(SEQ ID NO:355)和M7-G2-M78(SEQ ID NO:357)。抗ErbB3/IGF-1R PBA可包含含有选自以下λ轻链组成的组的氨基酸序列的轻链:P1(SEQ ID NO:258);M27(SEQ ID NO:260);M7(SEQ ID NO:262);B72(SEQ ID NO:264)和B60(SEQ ID NO:266)。

[0863] 重链可与包含与重链的VH结构域相同的模块的VL结构域的轻链配对。然而,重链和轻链还可混合和匹配,条件为结合位点保留与其靶标的高亲和力结合。

[0864] 包含IgG1CR的示例性IGF-1R+ErbB3PBA

[0865] 38 个包含 IgG1CR 的示例性 IGF-1R+ErbB3PBA 的名称在此处下表 5 中阐明,所述名称各自之后接有(在括号中,按序)重链 SEQ ID NO 和轻链 SEQ ID NO。所述 IgG 样 PBA 包含两条基本上相同的重链和两条基本上相同的轻链。

[0866] 表 5- 包含 IgG1CR 的示例性 IGF-1R+ErbB3PBA

[0867]

SF-G1-P1(SEQ ID NO:212 和 SEQ ID NO:202)	SF-G1-M1.3(SEQ ID NO:214 和 SEQ ID NO:202)
---	---

[0868]

SF-G1-M27(SEQ ID NO:216 和 SEQ ID NO:202)	SF-G1-P6(SEQ ID NO:218 和 SEQ ID NO:202)
SF-G1-B69(SEQ ID NO:220 和 SEQ ID NO:202)	P4-G1-C8(SEQ ID NO:222 和 SEQ ID NO:204)
P4-G1-P1(SEQ ID NO:224 和 SEQ ID NO:204)	P4-G1-M1.3(SEQ ID NO:226 和 SEQ ID NO:204)
P4-G1-M27(SEQ ID NO:228 和 SEQ ID NO:204)	P4-G1-P6(SEQ ID NO:230 和 SEQ ID NO:204)
P4-G1-B69(SEQ ID NO:232 和 SEQ ID NO:204)	M78-G1-C8(SEQ ID NO:234 和 SEQ ID NO:206)
M78-G1-P1(SEQ ID NO:236 和 SEQ ID NO:206)	M78-G1-M1.3(SEQ ID NO:238 和 SEQ ID NO:206)
M78-G1-M27(SEQ ID NO:240 和 SEQ ID NO:206)	M78-G1-P6(SEQ ID NO:242 和 SEQ ID NO:206)
M78-G1-B69(SEQ ID NO:244 和 SEQ ID NO:206)	M57-G1-C8(SEQ ID NO:246 和 SEQ ID NO:208)
M57-G1-P1(SEQ ID NO:248 和 SEQ ID NO:208)	M57-G1-M1.3(SEQ ID NO:250 和 SEQ ID NO:208)
M57-G1-M27(SEQ ID NO:252 和 SEQ ID NO:208)	M57-G1-P6(SEQ ID NO:254 和 SEQ ID NO:208)
M57-G1-B69(SEQ ID NO:256 和 SEQ ID NO:208)	P1-G1-P4(SEQ ID NO:268 和 SEQ ID NO:258)
P1-G1-M57(SEQ ID NO:270 和 SEQ ID NO:258)	P1-G1-M78(SEQ ID NO:272 和 SEQ ID NO:258)
M27-G1-P4(SEQ ID NO:274 和 SEQ ID NO:260)	M27-G1-M57(SEQ ID NO:276 和 SEQ ID NO:260)
M27-G1-M78(SEQ ID NO:278 和 SEQ ID NO:260)	M7-G1-P4(SEQ ID NO:280 和 SEQ ID NO:262)
M7-G1-M57(SEQ ID NO:282 和 SEQ ID NO:262)	M7-G1-M78(SEQ ID NO:284 和 SEQ ID NO:262)
B72-G1-P4(SEQ ID NO:286 和 SEQ ID NO:264)	B72-G1-M57(SEQ ID NO:288 和 SEQ ID NO:264)
B72-G1-M78(SEQ ID NO:290 和 SEQ ID NO:264)	B60-G1-P4(SEQ ID NO:292 和 SEQ ID NO:266)
B60-G1-M57(SEQ ID NO:294 和 SEQ ID NO:266)	B60-G1-M78(SEQ ID NO:296 和 SEQ ID NO:266).
P4M-G1-M1.3(SEQ ID NO:376 和 SEQ ID NO:376)	P4M-G1-C8(SEQ ID NO:377 和 SEQ ID NO:377)

[0869]

NO:381)	NO:381)
P33M-G1-M1.3(SEQ ID NO:378 和 SEQ ID NO:380)	P33M-G1-C8(SEQ ID NO:379 和 SEQ ID NO:380)
P4M-G1-P6L(SEQ ID NO:389 和 SEQ ID NO:381)	P33M-G1-P6L(SEQ ID NO:390 和 SEQ ID NO:380)
P1-G1-M76(SEQ ID NO:391 和 SEQ ID NO:258)	

[0870] 在一示例性实施方案中,PBA 包含两条相同重链和两条相同轻链,其中各重链的序列包含 SEQ ID NO:210 或 300,基本上由 SEQ ID NO:210 或 300 组成或由 SEQ ID NO:210 或 300 组成,且其中各轻链的序列包含 SEQ ID NO:202 或 298,基本上由 SEQ ID NO:202 或 298 组成或由 SEQ ID NO:202 或 298 组成。PBA 还可包含含有分别恰好或至多有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、50、100、200 或 300 个氨基酸与 SEQ ID NO:202 或 298 或者 SEQ ID NO:210 或 300 不同的氨基酸序列的重链和 / 或轻链,条件为所述 PBA 具有所要生物特征,如本文进一步描述。在一个实施方案中,PBA 包含因在 CH3 结构域末端添加赖氨酸 (K),即产生序列...SLSLSPGKGGGGS... (SEQ ID NO:301),而与 SEQ ID NO:210 或 300 不同的氨基酸序列。PBA 还可包含因在 CH3 结构域中包含一个或多个以下氨基酸取代而与 SEQ ID NO:210 或 300 不同的氨基酸序列 :S239D、N297Q、S298A、T299A、T299C、T299K、A330L、I332E、E333A、K334A、E356D、M358L、N434A、N343K (EU 编号 ;参见图 7A)。

[0871] PBA 还可包含两条相同重链和两条相同轻链,其中各重链和各轻链的序列包含图 5A 或 5B 中所示的序列,基本上由其组成或由其组成 (即选自 SEQ ID NO:202-296 的任何偶数 SEQ ID 编号的序列)。PBA 还可包含含有分别恰好或至多有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、50、100、200 或 300 个氨基酸与图 5A 或 5B 中的序列不同的氨基酸序列的重链和 / 或轻链,条件为所述 PBA 具有所要生物特征,如本文进一步描述。氨基酸的差异可为氨基酸缺失、添加或取代 (例如保守性取代)。举例来说,PBA 可包含因在 CH3 结构域末端添加 (或缺失) 赖氨酸和 / 或因在 CH3 结构域中包含一个或多个以下氨基酸取代而与图 5A 或 5B 的氨基酸序列不同的氨基酸序列 :S239D、N297Q、S298A、T299A、T299C、T299K、A330L、I332E、E333A、K334A、E356D、M358L、N434A、N343K (参见图 7A)。一个或多个氨基酸差异可存在于两个 VH 结构域中的一者或两者中或两个 VL 结构域中的一者或两者中,例如一个或多个 CDR 中或一个或多个框架区 (FR) 中。一个或多个氨基酸差异还可存在于一个或多个免疫球蛋白 CR 结构域中,例如 CH1 结构域、CL 结构域、铰链、CH2 结构域和 / 或 CH3 结构域中。可对免疫球蛋白 CR 进行例如以改变免疫球蛋白的一种或多种特征的特定氨基酸变化在本文中进一步描述。氨基酸变化还可存在于连接 CH3 结构域的 C 端与 scFv 的 N 端的接头中和 / 或连接 scFv 的 VH 结构域的 C 端与 scFv 的 VL 结构域的 N 端的 scFv 接头中。可对连接型接头和 scFv 接头进行的示例性修饰在本文中进一步描述。

[0872] 还可使用以下 PBA :

[0873] - 包含重链和 / 或轻链的 PBA,所述重链和 / 或轻链包含与具有 SEQ ID NO:210 或 300 的重链结构域和 / 或具有 SEQ ID NO:202 或 298 (16F 的 SEQ ID NO) 的轻链结构域的氨基酸序列至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列,其

中所述 PBA 具有所要生物特征；

[0874] - 为两个重链结构域和两个轻链结构域组成的 PBA 的生物类似物或生物等同物的 PBA, 所述两个重链结构域各自由 SEQ ID NO:210 或 300 组成, 所述两个轻链结构域各自由 SEQ ID NO:202 或 298 组成；

[0875] - 包含一个或多个包含与 SEQ ID NO:202、210、298 或 300 中的相应结构域的氨基酸序列至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列的结构域的 PBA, 所述一个或多个结构域为例如 VH 结构域、VL 结构域、CDR 结构域、FR 结构域、CH1 结构域、CL 结构域、铰链、CH2 结构域、CH3 结构域、接头、scFv VH 结构域、scFv 接头和 scFv VL 结构域；

[0876] - 包含重链结构域和 / 或轻链结构域的 PBA, 所述重链结构域和 / 或轻链结构域包含与图 5A 或 5B 中所述的重链结构域和 / 或图 5A 或 5B 中所述的轻链结构域的氨基酸序列至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列, 其中所述 PBA 具有所要生物特征；

[0877] - 为两个重链结构域和两个轻链结构域组成的 PBA 的生物类似物或生物等同物的 PBA, 所述两个重链结构域各自包含图 5A 或 5B 的氨基酸序列, 所述两个轻链结构域各自包含图 5A 或 5B 的氨基酸序列；

[0878] - 包含一个或多个包含与图 5A 或 5B 的任一氨基酸序列中的相应结构域的氨基酸序列至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列的结构域的 PBA, 所述一个或多个结构域为例如 VH 结构域、VL 结构域、CDR 结构域、FR 结构域、CH1 结构域、CL 结构域、铰链、CH2 结构域、CH3 结构域、接头结构域、scFv VH 结构域、scFv 接头结构域和 scFv VL 结构域。

[0879] 在 PBA 包含与本文所述的氨基酸序列（如图 5 或 6 的氨基酸）不同的氨基酸序列的某些实施方案中, PBA 不为 16F（即, 不包含两条由 SEQ ID NO:210 组成的重链和两条由 SEQ ID NO:202 组成的轻链）。

[0880] 在某些实施方案中, PBA 包含两个彼此缔合的重链 - 轻链对, 其中各重链 - 轻链对包含抗 IGF-1R 结合位点和抗 ErbB3 结合位点, 且其中所述重链 - 轻链对彼此不同。重链 - 轻链对可有一个或多个氨基酸不同（例如有恰好或至多 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50 个或直至 100 个氨基酸不同）。举例来说, 第一重链 - 轻链对可包含重链 CR 且第二重链 - 轻链对可包含第二重链 CR, 其中第一和第二重链 CR 具有有利于其彼此缔合的氨基酸差异（例如“钮孔 (knobs and holes)”）。

[0881] 在某些实施方案中, 多价蛋白质包含四个以上结合位点。举例来说, 六价结合蛋白可包含 IgG-(scFv)₂, 即蛋白质包含两个作为 IgG 的一部分的结合位点, 一个 scFv 连接于 IgG 的各 CH3 结构域的 C 端, 且进一步包含例如经由接头连接于 IgG 蛋白的 N 端或各 scFv 的 C 端的另一 Fab 或 scFv。八价结合蛋白可包含与六价结合蛋白相同的结构, 进一步包含两个另外的结合位点。

[0882] 在某些实施方案中, PBA 可包含一个来源于所属领域中已知的结合蛋白或抗体的结合位点, 如本文进一步所述者。举例来说, PBA 可包含一个或多个来自选自以下组成的组的抗 IGF-1R 抗体的 CDR: CP-751, 871; IMC-A12; 抗 IGF-1R Ab#A; BIIB-G11; 和 C06, 其重链和轻链氨基酸序列阐明于图 37 中。举例来说, 用于 PBA 中的抗 IGF-1R 结合位点可包

含 SEQ ID NO:321-335 中任一者的 VHCDR3 和 / 或 VLCDR3 结构域和任选地存在的 VHCDR1、VLCDR1、VHCDR2 和 / 或 VLCDR2。在某些实施方案中, PBA 包含含有 1、2、3、4、5 或 6 个包含因 1、2 或 3 个氨基酸添加、缺失或取代而与 SEQ ID NO:321-335 中的一者中所述的相应 CDR 不同的氨基酸序列的 CDR 的抗 IGF-1R 结合位点, 条件为所述结合位点特异性结合其靶标(抗原)。在某些实施方案中, PBA 包含含有 1、2、3、4、5 或 6 个包含与 SEQ ID NO:321-335 中的一者的相应 CDR 至少 70%、80%、90% 或 95% 一致或类似的氨基酸序列的 CDR 的抗 IGF-1R 结合位点。在某些实施方案中, PBA 包含含有 SEQ ID NO:321-335 中的任一者的氨基酸序列的 VH 和 / 或 VL 链。在其它实施方案中, PBA 包含含有因至多 1、2、3、4、5、10、15、20、25 或 30 个氨基酸缺失、添加或取代而与 SEQ ID NO:321-335 中的任一者不同或与 SEQ ID NO:321-335 中的序列至少 70%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列的 VH 和 / 或 VL 链, 条件为结合位点特异性结合其靶标。在某些实施方案中, PBA 包含含有轻链和 / 或重链的结合位点, 所述重链和 / 或轻链包含 SEQ ID NO:321-335 的氨基酸序列或因至多 1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90 或 100 个氨基酸缺失、添加或取代而与其不同或与 SEQ ID NO:321-335 中的序列至少 70%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列, 条件为所述结合位点保留与其靶标的特异性结合。举例来说, PBA 可包含来自选自由 CP-751, 871 ; IMC-A12 ; 抗 IGF-1R Ab#A ; BIIB-G11 ; 和 C06 组成的抗体组的抗体的 (i) VH 结构域和 VL 结构域 ; (ii) 重链和轻链 ; 或 (iii) 包含 VH 和 VL 链的 scFv。这种 PBA 可包含本文所述的抗 ErbB3 结合位点。

[0883] PBA 可包含一个或多个来自抗 ErbB3 抗体的 CDR, 所述抗 ErbB3 抗体为例如抗 ErbB3Ab#A ; H3 (美国专利号 7, 332, 580), MM Ab#3 ; MM Ab#14 ; MM Ab#17 或 MM Ab#19, 其重链和轻链氨基酸序列阐明于图 38 中。举例来说, 用于 PBA 中的抗 ErbB3 结合位点可包含 SEQ ID NO:336-353 中任一者的 VHCDR3 和 / 或 VLCDR3 结构域和任选地存在的 VHCDR1、VLCDR1、VHCDR2 和 / 或 VLCDR2。在某些实施方案中, PBA 包含含有 1、2、3、4、5 或 6 个包含因 1、2 或 3 个氨基酸添加、缺失或取代而与 SEQ ID NO:336-353 中的一者的相应 CDR 不同的氨基酸序列的 CDR 的抗 ErbB3 结合位点, 条件为所述结合位点特异性结合其靶标。在某些实施方案中, PBA 包含含有 1、2、3、4、5 或 6 个包含与 SEQ ID NO:336-353 中的一者的相应 CDR 至少 70%、80%、90% 或 95% 一致或类似的氨基酸序列的 CDR 的抗 ErbB3 结合位点。在某些实施方案中, PBA 包含含有 SEQ ID NO:336-353 中的任一者的氨基酸序列的 VH 和 / 或 VL 链。在其它实施方案中, PBA 包含含有因至多 1、2、3、4、5、10、15、20、25 或 30 个氨基酸缺失、添加或取代而与 SEQ ID NO:336-353 中的任一者不同或与 SEQ ID NO:336-353 中的序列至少 70%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列的 VH 和 / 或 VL 链, 条件为结合位点保留与其靶标的特异性结合。在某些实施方案中, PBA 包含含有轻链和 / 或重链的结合位点, 所述重链和 / 或轻链包含 SEQ ID NO:336-353 的氨基酸序列或因至多 1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90 或 100 个氨基酸缺失、添加或取代而与其不同或与 SEQ ID NO:336-353 中的序列至少 70%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列, 条件为所述结合位点特异性结合其靶标。举例来说, PBA 可包含来自选自由抗 ErbB3Ab#A ; H3 (美国专利号 7, 332, 585), MM Ab#3 ; MM Ab#14 ; MM Ab#17 和 MM Ab#19 组成的抗体组的抗体的 (i) VH 结构域和 VL 结构域 ; (ii) 重链和轻链 ; 或 (iii) 包含 VH 和 VL 链的 scFv。可使用的其它抗 ErbB3 结合位点 (或其部分, 诸如 CDR、V 域或链) 为来自以下抗

ErbB3 抗体者:1B4C3(目录号 sc-23865,Santa Cruz Biotechnology) 和 2D1D12(U3Pharma AG),两者均描述于例如美国专利公布号 20040197332 中且由杂交瘤细胞系 DSM ACC 2527 或 DSM ACC 2517(保藏于 DSMZ)产生,AV-203(WO 2011/136911 中的 SEQ ID NO:190(重链)和 SEQ ID NO:206(轻链),Aveo Pharmaceuticals) 或 8B8(由 ATCC® 杂交瘤 #HB-12070™ 产生,且描述于 WO 1997/035885 中),美国专利号 7,846,440 中所述的抗体,单克隆抗体 Mab 205.10.2(美国专利公布号 20110171222 中的 SEQ ID NO:8(重链)和 SEQ ID NO:10(轻链),Roche Glycart),美国专利公布号 20100310557 中所述的鼠类抗 ErbB3 抗体 (Trellis Biosciences) 或双特异性抗 ErbB3/ 抗 EGFR 抗体(例如 SEQ ID NO:14(重链)和 SEQ ID NO:13(轻链),Genentech)。这种 PBA 可包含本文所述的抗 IGF-1R 结合位点。

[0884] PBA 还可包含与本文提供的结合部分结合人 IGF-1R 或人 ErbB3 上的相同表位的结合位点,例如,其可与具有如图 5A 和 5B 的序列的结合部分竞争。本文涵盖的结合部分还可与本文所述的结合部分竞争与抗原的结合,例如,其可与具有如图 5A 和 5B 的序列的结合部分竞争。包含与本文所述的结合部分竞争与靶抗原或表位的结合的结合部分的结合蛋白可为在本文所述的结合部分之前或之后添加至 ELISA 中时能够置换本文所述的结合部分的结合部分。

[0885] 在某些实施方案中,本文提供的 PBA 不包括 PCT/US2010/052712 中的 PBA,在其它实施方案中,本文提供的 PBA 不包括 PCT/US2010/052712 中的 PBA 的可变结构域。

[0886] 示例性免疫球蛋白 CR

[0887] 在某些实施方案中,PBA 包含两条重链,其中各自包含免疫球蛋白 CR。多价结合结构域还可包含两条轻链,其中各轻链包含 CL 结构域。免疫球蛋白 CR 可来自人 Ig,例如人 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4,或来自一种以上免疫球蛋白同型。举例来说,一个结构域可来自 IgG1,且其它结构域可来自其它 IgG 同型。在某些实施方案中,一个结构域的一部分是来自一种 IgG 同型且其它结构域是来自另一 IgG 同型。

[0888] 可包含 CH1 结构域、铰链、CH2 结构域、CH3 结构域和 CH4 结构域中的一者或多者的重链免疫球蛋白 CR 可包含与特定 IgG 同型(例如 IgG1)的天然存在的或野生型恒定结构域中的重链免疫球蛋白 CR 或本文所述氨基酸序列中一者的 CR 至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列或由其组成。CL 结构域还可包含与天然存在或野生型 κ 或 λ 轻链中的 CL 结构域或本文所述氨基酸序列中一者中的 CL 结构域至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列或由其组成。

[0889] 可包含 CH1 结构域、铰链、CH2 结构域、CH3 结构域和 CH4 结构域中的一者或多者的重链免疫球蛋白 CR 相对于特定 IgG 同型(例如 IgG1)的天然存在的或野生型恒定结构域中的相同重链免疫球蛋白 CR 或相对于本文(例如图 5-7 中)所述的重链免疫球蛋白 CR 可包含恰好或至多 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11-15、16-20、21-25、26-30、31-35、36-40、41-45、46-50、50-100 或 100 个以上氨基酸取代、添加和 / 或缺失。CL 结构域相对于天然存在或野生型 κ 或 λ 轻链中的 CL 结构域或本文所述的 CL 结构域可包含恰好或至多 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11-15、16-20、21-25、26-30、31-35、36-40、41-45、46-50、50-100 或 100 个以上氨基酸取代、添加和 / 或缺失。

[0890] CR 的各结构域(即 CH1 结构域、铰链、CH2 结构域、CH3 结构域和 CL 结构域)相对于特定 IgG 同型(例如 IgG1)的天然存在的或野生型恒定结构域或本文所述的恒定结构域

可包含一个或多个（例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或 10 个以上）氨基酸取代、添加和 / 或缺失。恒定区的各结构域（即 CH1 结构域、铰链、CH2 结构域、CH3 结构域和 CL 结构域）可包含与特定 IgG 同型（例如 IgG1）的天然存在的或野生型恒定结构域中的相同结构域或本文所述的结构域至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列。

[0891] 氨基酸取代、添加或缺失在空间上相对于彼此的定位可间隔至少 1 个氨基酸位置或 1 个以上，例如至少 2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个氨基酸位置或 10 个以上。在某些实施方案中，工程改造的氨基酸在空间上的定位彼此隔开至少 5、10、15、20 或 25 个氨基酸位置或 25 个以上的间隔。

[0892] 在某些实施方案中，PBA 包含含有本文所述的氨基酸序列的 CR，例如 Fc 区或其结构域。在某些实施方案中，PBA 包含含有其中 1 个或 1 个以上氨基酸已被缺失、添加或取代的本文所述氨基酸序列或含有与本文所述序列至少约 80%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列的 CR，例如 Fc 区或其结构域。举例来说，SEQ ID NO:300 或图 5 和 6 中任何其它氨基酸序列的 CH3 结构域中的氨基酸 356 和 358 可被取代，例如 E356D 和 M358L，以反映野生型 IgG1CH3 序列。本文还涵盖表示任何单倍体型的任何恒定结构域变异体。

[0893] 某些氨基酸变化对恒定结构域的影响可如本文所进一步描述或如所属领域中所已知进行测定。

[0894] 置换 Fc 部分中的氨基酸残基以改变抗体效应功能在所属领域中为已知的（美国专利号 5,648,260 和 5,624,821）。抗体的 Fc 部分介导若干重要效应功能，例如细胞因子诱导、ADCC、吞噬作用、补体依赖性细胞毒性（CDC）以及抗体和抗原 - 抗体复合物的半衰期 / 清除速率。取决于治疗靶标，在一些情况下，这些效应功能对于治疗性抗体为需要的，但在其它情况下可能不必要或甚至有害。某些人 IgG 同型（尤其 IgG1 和 IgG3）分别经由与 Fc γ R 和补体 C1q 结合而介导 ADCC 和 CDC。新生儿 Fc 受体（FcRn）为决定抗体的循环半衰期的关键组分。在另一实施方案中，抗体的 CR（例如抗体的 Fc 区）中的至少一个氨基酸残基被置换，以使得抗体的效应功能改变。免疫球蛋白的两个相同重链的二聚化由 CH3 结构域的二聚化介导且由铰链区内的二硫键稳定化。

[0895] 在一个实施方案中，PBA 保留以下属性中的一者或多者，且优选保留全部：在人中通过与活化型 Fc γ RI、Fc γ RIIa/c、Fc γ RIIIa 和抑制性 Fc γ RIIb 受体相互作用而测定的抗体依赖性细胞毒性（ADCC）和抗体依赖性细胞吞噬作用（ADCP）；由抗体结合于补体系统的组分而触发的补体依赖性细胞毒性（CDC）；和经由新生儿 Fc 受体（FcRn）的主动再循环而介导的长半衰期。所有这些功能均可调节以优化抗癌疗法的有效性且优选在 PBA 中得到保留。

[0896] 可对免疫球蛋白 CR 进行某些氨基酸修饰以降低或增加恒定结构域的天然生物活性，如上文所述者。因此，在某些实施方案中，恒定免疫球蛋白区在位于 Fc 的“15 埃接触区”内的氨基酸位置上包含氨基酸取代、缺失或添加。15 埃区包括位于全长野生型 Fc 部分的 EU 位置 243 至 261、275 至 280、282-293、302 至 319、336 至 348、367、369、372 至 389、391、393、408 和 424-440 的残基。

[0897] 在某些实施方案中，结合蛋白（例如 PBA、抗 IgG-1R 结合位点和抗 ErbB3 结合位点）在 Fc 结构域中包含改变结构域的一种或多种抗原独立性效应功能（例如包含所述结

构域的蛋白质的循环半衰期)的氨基酸变化(例如氨基酸取代、添加或缺失)。示例性抗体在与缺乏所述氨基酸变化的抗体比较时展现与 FcRn 的结合增加或减少,且因此分别具有增加或减少的血清半衰期。包含对 FcRn 的亲合力提高的 Fc 变异体的抗体预期具有较长血清半衰期,而包含 FcRn 结合亲合力降低的 Fc 变异体的抗体预期具有较短半衰期。在一个实施方案中, FcRn 结合改变的结合蛋白包含至少一个在 Fc 结构域的“FcRn 结合环”内具有一个或多个氨基酸变化的 Fc 结构域。FcRn 结合环由野生型全长 Fc 的氨基酸残基 280-299(EU) 构成。在其它实施方案中, FcRn 结合亲合力改变的结合蛋白包含至少一个在 15 Å FcRn “接触区”内具有一个或多个氨基酸取代的 Fc 结构域。术语 15 Å FcRn “接触区”包括野生型全长 Fc 结构域的以下位置上的残基:243-261、275-280、282-293、302-319、336-348、367、369、372-389、391、393、408、424、425-440(EU)。在某些实施方案中, FcRn 结合亲合力改变的结合蛋白包含至少一个在对应于任一以下 EU 位置的氨基酸位置上具有一个或多个氨基酸变化的 Fc 结构域(例如一个或两个 Fc 部分):256、277-281、283-288、303-309、313、338、342、376、381、384、385、387、434(例如 N434A 或 N434K) 和 438。改变 FcRn 结合活性的示例性氨基酸变化公开于国际 PCT 公布号 W005/047327 中。

[0898] 在一些实施方案中,结合蛋白包含含有例如与野生型 Fc 区相比时改变多肽的抗原依赖性效应功能(尤其 ADCC 或补体活化)的氨基酸变化的 Fc 变异体。在示例性实施方案中,所述抗体展现与 Fc γ 受体(例如 CD16)的结合改变。所述受体展现与野生型多肽相比时与 Fc γ R 的结合增加或减少,且因此分别介导增强或减弱的效应功能。对 Fc γ R 的亲合力提高的 Fc 变异体预期增强效应功能,且所述蛋白质可在希望破坏靶分子的治疗哺乳动物的方法中(例如在肿瘤疗法中)具有适用应用。相反, Fc γ R 结合亲合力降低的 Fc 变异体预期减弱效应功能。在一个实施方案中,结合蛋白包含至少一种与包含野生型 Fc 区的结合蛋白相比改变的选自由以下组成的组的抗原依赖性效应功能:调理作用、吞噬作用、补体依赖性细胞毒性、抗原依赖性细胞毒性(ADCC)或效应细胞调节。

[0899] 在一个实施方案中,结合蛋白展现与活化型 Fc γ R(例如 Fc γ RI、Fc γ RIIa 或 Fc γ RIIIa)的结合改变。在另一实施方案中,结合蛋白展现对抑制性 Fc γ R(例如 Fc γ RIIb)的结合亲合力改变。在其它实施方案中, Fc γ R 结合亲合力增加(例如 Fc γ RIIIa 结合亲合力增加)的结合蛋白包含至少一个在对应于一个或多个以下位置的氨基酸位置上具有氨基酸变化的 Fc 结构域:239、268、298、332、334 和 378(EU)。在某些实施方案中, Fc γ R 结合亲合力降低(例如 Fc γ RI、Fc γ RII 或 Fc γ RIIIa 结合亲合力降低)的结合蛋白包含至少一个在对应于一个或多个以下位置的氨基酸位置上具有氨基酸取代的 Fc 结构域:234、236、239、241、251、252、261、265、268、293、294、296、298、299、301、326、328、332、334、338、376、378 和 435(EU)。

[0900] 在某些实施方案中,补体结合亲合力增加(例如 C1q 结合亲合力增加)的结合蛋白包含在对应于一个或多个以下位置的氨基酸位置上具有氨基酸变化的 Fc 结构域:251、334、378 和 435(EU)。在某些实施方案中,补体结合亲合力降低(例如 C1q 结合亲合力降低)的结合蛋白包含在对应于一个或多个以下位置的氨基酸位置上具有氨基酸取代的 Fc 结构域:239、294、296、301、328、333 和 376(EU)。改变 Fc γ R 或补体结合活性的示例性氨基酸变化公开于国际 PCT 公布号 W005/063815 中。在某些实施方案中,结合蛋白可包含以下特定 Fc 区取代中的一者或多者:S239D、S239E、M252T、H268D、H268E、I332D、I332E、N434A

和 N434K(EU)。

[0901] 结合蛋白还可包含改变结合蛋白的糖基化的氨基酸取代。举例来说,结合蛋白的免疫球蛋白 CR 可包含具有导致糖基化(例如 N 连接型或 O 连接型糖基化)减少的突变的 Fc 结构域或可包含改变的野生型 Fc 结构域的糖型式(例如低海藻糖或无海藻糖聚糖)。“工程改造的糖型式”是指共价连接于 Fc 区的碳水化合物组成,其中所述碳水化合物组成在化学上不同于亲本 Fc 区的碳水化合物组成。工程改造的糖型式可适用于多种目的,包括(但不限于)增强或减弱效应功能。工程改造的糖型式可由所属领域中已知的多种方法产生(US 6,602,684;美国专利公布号 2010-0255013;美国专利公布号 20030003097;WO 00/61739A1;WO 01/29246A1;WO 02/31140A1;WO 02/30954A1);(Potelligent™技术(Biowa, Inc., Princeton, NJ);和 GlycoMAb™糖基化工程改造技术(Glycart Biotechnology AG, Zurich, Switzerland)。许多这些技术是基于通过以下方式控制共价连接于 Fc 区的海藻糖基化和/或对分寡糖的水平:例如在经过工程改造或以其它方式改造的各种生物体或细胞系(例如 Lec-13CHO 细胞或大鼠杂交瘤 YB2/O 细胞)中表达 Fc 多肽、调控糖基化路径中所涉及的酶(例如 FUT8[a1,6-海藻糖基转移酶]和/或 31-4-N-乙酰葡糖氨基转移酶 III[GnTIII])、或在表达了 Fc 多肽之后对碳水化合物进行修饰。

[0902] 在示例性实施方案中,氨基酸变化(例如氨基酸取代)产生通常在氨基酸位置 297(EU)上发现的 N 连接型聚糖的糖基化减少的 Fc 区。Fc 区还可在氨基酸位置 297(EU)包含低海藻糖或无海藻糖聚糖。在某些实施方案中,结合蛋白在糖基化基元(例如含有氨基酸序列 NXT 或 NXS 的 N 连接型糖基化基元)附近或之内具有氨基酸取代。在一特定实施方案中,结合蛋白在对应于 Fc 的 297 或 299(EU)的氨基酸位置上包含氨基酸取代。减少或改变糖基化的示例性氨基酸取代公开于国际 PCT 公布号 W005/018572 和美国专利公布号 20070111281 中。

[0903] 在其它实施方案中,结合蛋白包含至少一个具有一个或多个位于溶剂暴露表面的工程改造半胱氨酸残基或其类似物的 Fc 结构域。工程改造的半胱氨酸残基或其类似物优选不干扰结合蛋白的所要生物活性。举例来说,可能需要改变不干扰 Fc 结合 Fc 受体(例如 Fc γ RI、Fc γ RII 或 Fc γ RIII)或补体蛋白(例如 C1q)或者触发免疫效应功能(例如抗体依赖性细胞毒性(ADCC)、吞噬作用或补体依赖性细胞毒性(CDCC))的能力。在某些实施方案中,抗体包含含有至少一个实质上不含与第二半胱氨酸残基的二硫键键结的工程改造游离半胱氨酸残基或其类似物的 Fc 结构域。抗体可包含在 CH3 结构域中的一个或多个以下位置上具有工程改造半胱氨酸残基或其类似物的 Fc 结构域:349-371、390、392、394-423、441-446 和 446b(EU)。抗体可包含在任一以下位置上具有工程改造半胱氨酸残基或其类似物的 Fc 变体:350、355、359、360、361、389、413、415、418、422、441、443 和 EU 位置 446b。

[0904] 还可通过自特定免疫球蛋白类别或子类选择 Fc 或通过组合来自特定免疫球蛋白类别或子类(例如 IgG1、IgG2 等)的特定区获得所要效应功能。举例来说,因为 ADCC 和 CDC(分别经由 IgG 与 Fc γ R 和 C1q 的结合)是由位于铰链和 CH2 结构域中的残基介导,且因为 IgG4 基本上缺乏效应功能,所以可通过组合 IgG4 的铰链和 CH2 结构域与 IgG1 的 CH3 结构域来构建无效应 Fc。包含 IgG4 铰链的蛋白质中的 Fab 臂交换可通过所述铰链中的取代 S228P 而减少。

[0905] 还可例如在 CH3 结构域中进行所属领域中称为“钮-孔 (knobs-into-holes)”且描述于例如美国专利号 7, 183, 076 中的变化对免疫球蛋白 CR 进行修饰。在此策略中, 对两条重链的 Fc 部分进行工程改造以得到一个突出的“钮”和另一互补的“孔”, 由此有利于所述重链的缔合。

[0906] 示例性接头

[0907] 可使用接头来将两个结构域或区连接在一起, 例如可变结构域连接至恒定结构域、可变结构域连接至可变结构域和恒定结构域连接至恒定结构域。连接 scFv 的 VH 结构域与 scFv 的 VL 结构域的接头称为“scFv 接头”。连接 scFv 与恒定结构域 (例如 CH3 结构域) 的接头称为“连接型接头”。

[0908] 接头优选具有足够长度以允许所连接的结构域或区适当折叠。举例来说, 接头可为 1-10、10-20、20-30、30-40、40-50、50-60、60-70、70-80、80-90 或至少 90-100 个氨基酸长。

[0909] 在某些实施方案中, 接头为生物惰性的, 例如通常不能诱发生物反应, 例如免疫反应。

[0910] 多肽接头可包含 Gly-Ser 接头或由其组成。“Gly-Ser 接头”是指由甘氨酸和丝氨酸残基组成的肽。示例性 Gly-Ser 接头包含具有式 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_n$ (SEQ ID NO:395) 的氨基酸序列, 其中 n 为正整数 (例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20)。举例来说, 在某些实施方案中, 连接型接头包含以下或由以下组成: $(\text{Gly}_4\text{Ser})_3$ (SEQ ID NO:396) 或 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_4$ (SEQ ID NO:397) 或 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_5$ (SEQ ID NO:398)。在某些实施方案中, scFv 接头包含以下或由以下组成: $(\text{Gly}_4\text{Ser})_3$ 或 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_4$ (SEQ ID NO:397) 或 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_5$ (SEQ ID NO:398)。除 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_n$ 序列外, 接头还可包含一个或多个位于 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_n$ 序列的 N 端或 C 端的附加氨基酸。举例来说, scFv 接头可包含位于 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_n$ (SEQ ID NO:399) 序列的 N 端的 3 个氨基酸, 例如 AST (参见例如, 图 7 的 16F 的重链序列中和如 SEQ ID NO:300。在所述序列中, scFv 接头由氨基酸序列 AST $(\text{Gly}_4\text{Ser})_3$ (SEQ ID NO:400) 组成。

[0911] PBA 的示例性生物特征

[0912] 在某些实施方案中, PBA 在体外抑制肿瘤细胞的生长。如实施例 3(C) 和图 16 和 17 中所示, 抗 ErbB3/ 抗 IGF-1R IgG2(scFv)2PBA 抑制 2D 培养物中两种不同肿瘤细胞系的增殖, 而任一单独结合位点均不显著抑制其增殖。因此, 在某些实施方案中, PBA 在体外比任一单独结合位点更有效地抑制肿瘤细胞增殖 (例如, 如通过对 6 天培养物, 例如实施例 3(C) 中所述的培养物的抑制百分比所测量)。PBA 存在下的增殖相对于不存在 PBA 下细胞的增殖可抑制至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 或 90% 以上。

[0913] 在某些实施方案中, PBA 在体内抑制肿瘤细胞增殖。如实施例 3(D) 和图 18A 至 20B 所示, 抗 ErbB3/ 抗 IGF-1R IgG2(scFv)2PBA 抑制癌症小鼠模型中两种不同肿瘤细胞系的增殖的程度比个别结合位点的抑制程度高。因此, 在某些实施方案中, PBA 在体内比任一单独结合位点更有效地抑制肿瘤细胞增殖 (例如, 如通过比较实验 (例如实施例 3(D) 中所述的实验) 结束时的肿瘤尺寸所测量)。PBA 存在下的肿瘤生长相对于不存在 PBA 下的肿瘤生长可抑制至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 或 90% 以上。

[0914] “与任一单独结合位点相比”是指与 PBA 的一个或另一结合位点相比较, 此时所述

结合位点包含与 PBA 中结合位点的 VR 相同的可变区且例如呈抗体形式,例如 IgG1 抗体(例如如实施例中所示)。

[0915] 在某些实施方案中,PBA 抑制经由 IGF-1R 和 ErbB3 中的任一者或两者介导的信号转导。如实施例 3(B)、4 和 5(C) 中所示,各种 PBA 抑制经由 IGF-1R 和 ErbB3 进行信号转导,如通过对 IGF-1R、ErbB3 和 AKT 的磷酸化的抑制作用所测量。所述实施例展示 PBA 抑制信号转导的程度或范围相对于现有技术抗 IGF-1R 抗体(抗 IGF-1R Ab#A-SEQ ID NO:327(HC) 和 SEQ ID NO:328(LC))或抗 ErbB3 抗体(抗 ErbB3Ab#A-SEQ ID NO:336(HC) 和 337(LC))或其组合可类似或较高。在某些实施方案中,pIGF-1R、pErbB3 和 pAKT 中的任一者或其中两者或三者的组合的水平降低百分比与抗 IGF-1R Ab#A 或抗 ErbB3Ab#A 或其组合的水平降低百分比相比可类似(例如在 1%、5%或 10%以内)、较高(例如高 10%、20%、30%、40%或 50%)或较低(例如低 10%、20%、30%、40%、50%)。在一些实施方案中,实验(例如,如实施例所述)结束时磷酸化的抑制(例如抑制%)与现有技术抗 IGF-1R 或抗 ErbB3 抗体或其组合的磷酸化抑制相比可类似或较高或较低。在某些实施方案中,当在例如实验(例如,如实施例所述)结束时测定时,相对于不存在 PBA 下的磷酸化,PBA 使 IGF-1R、ErbB3 和 / 或 AKT 的磷酸化抑制至少 30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、98%、99%或 99%以上。例如通过 IGF-1R 和 ErbB3 磷酸化的抑制作用所测量,优选 PBA 抑制 IGF-1R 和 / 或 ErbB3 信号转导接近完全,例如至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 99.5%。

[0916] 分别对 a) 配体介导的 ErbB3 磷酸化和 b) IGF-1 或 IGF-2 介导的 IGF-1R 磷酸化的抑制作用可由 PBA 使 a) 由 ErbB 家族配体(例如异调蛋白)诱导的 ErbB3 磷酸化、b) 由 IGF-1R 配体(即 IGF-1 或 IGF-2)诱导的 IGF-1R 磷酸化或 c) 由 IGF-1R 配体或 ErbB3 配体诱导的 AKT 磷酸化的水平各自相对于不与 PBA 接触的对照细胞中的磷酸化可再现地降低的能力来证明。表达 ErbB3 和 / 或 IGF-1R 的细胞可为天然存在的细胞或细胞系的细胞,或可通过将编码 ErbB3 和 / 或 IGF-1R 的核酸引入宿主细胞中来重组产生。在一个实施方案中,PBA 使 ErbB 家族配体介导的 ErbB3 磷酸化抑制至少约 5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%或 99%以上,如例如通过蛋白质印迹接着如下文实施例中所述用抗磷酸酪氨酸抗体进行探测所测定。在另一实施方案中,PBA 使 IGF-1 或 IGF-2 介导的 IGF-1R 磷酸化抑制至少约 5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%或 99%以上,如例如通过蛋白质印迹接着如下文实施例中所述用抗磷酸酪氨酸抗体进行探测所测定。

[0917] PBA 可使细胞(例如癌细胞)中异调蛋白诱导的 pAKT 信号传导抑制至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%或 100%。PBA 可使细胞(例如癌细胞)中 IGF-1 诱导的 pAKT 信号传导抑制至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%或 100%。PBA 可使细胞(例如癌细胞)中胰岛素诱导的 pAKT 信号传导抑制至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%或 100%。PBA 可使细胞(例如癌细胞)中 IGF-2 诱导的 pAKT 信号传导抑制至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%或 100%。对 pAKT 信号传导的抑制可如本文

(例如实施例)所进一步描述进行测定。

[0918] PBA 可使配体诱导的 IGF-1R 磷酸化抑制至少 70% 或 80%，使配体诱导的 ErbB3 磷酸化抑制至少 70% 或 80%，且任选地使配体诱导的 AKT 磷酸化抑制至少 30% 或 40%。PBA 还可使配体诱导的 IGF-1R 磷酸化抑制至少 85%，使配体诱导的 ErbB3 磷酸化抑制至少 85%，且任选地使配体诱导的 AKT 磷酸化抑制至少 75%。在某些实施方案中，PBA 使配体诱导的 IGF-1R 磷酸化抑制至少 50% 且使配体诱导的 ErbB3 磷酸化抑制至少 90%，且任选地使配体诱导的 AKT 磷酸化抑制至少 30%、40%、50%、60%、70%、80% 或 90%。

[0919] PBA 还可由其抑制 IGF-1R、ErbB3 和 AKT 中一者或多者磷酸化的 EC₅₀ (即获得最大抑制的 50% 时 PBA 的浓度) 定义，所述 EC₅₀ 可如本文进一步所述测定。举例来说，本文公开的 PBA 抑制 IGF-1R 磷酸化的 EC₅₀ 可为 10⁻⁹M、10⁻¹⁰M 或 10⁻¹⁰M 以下。其抑制 ErbB3 磷酸化的 EC₅₀ 可为 10⁻⁹M、10⁻¹⁰M 或 10⁻¹⁰M 以下。其抑制 AKT 磷酸化的 EC₅₀ 可为 10⁻⁷M、10⁻⁸M、10⁻⁹M、10⁻¹⁰M 或 10⁻¹⁰M 以下。本文公开的一些 PBA 使 IGF-1R 磷酸化抑制至少 80% 或 85% 的 EC₅₀ 为 10⁻⁹M、10⁻¹⁰M 或 10⁻¹⁰M 以下；使 ErbB3 磷酸化抑制至少 80% 或 85% 的 EC₅₀ 为 10⁻⁹M、10⁻¹⁰M 或 10⁻¹⁰M 以下；且任选地使 AKT 磷酸化抑制至少 55% 或 65% 或 75% 的 EC₅₀ 为 10⁻⁷M、10⁻⁸M、10⁻⁹M、10⁻¹⁰M 或 10⁻¹⁰M 以下。在一些情况下，可用本文公开的 PBA 获得 IGF-1R 磷酸化和 ErbB3 磷酸化中任一者或两者的基本上完全阻断。

[0920] 在一些实施方案中，本文提供的 PBA 结合表达其靶标 (即由 PBA 结合的抗原) 中的一者或两者的细胞的 EC₅₀ 为约 0.02nM 或 0.02nM 以下至约 10nM，或 K_d 为约 10⁻⁸M、10⁻⁹M、10⁻¹⁰M、10⁻¹¹M 或 10⁻¹²M 或 10⁻¹²M 以下；各自如例如通过使用表达所述 PBA 的靶抗原中的一者或两者的所述细胞的流式细胞测量术所测量。在其它实施方案中，本文提供的 PBA 结合其靶标 (例如人 IGF-1R 和人 ErbB3 中的任一者或两者) 的 K_d 为约 10⁻⁶M、10⁻⁷M、10⁻⁸M、10⁻⁹M、10⁻¹⁰M、10⁻¹¹M 或 10⁻¹²M 或 10⁻¹²M 以下，如例如通过或通过使用 BIAcore 设备的表面等离子体共振所测量。举例来说，本文提供的抗 ErbB3/ 抗 IGF-1R IgG2(scfv)₂PBA 展示结合 ADRr 和 MCF7 细胞的 K_d 分别为 2.5 和 2.1nM (参见实施例 3A)。实施例 5(A) 展示若干其它 PBA 结合 BxPC-3 细胞的 EC₅₀ 为约 2-5nM。实施例 5(B) 展示若干 PBA 结合 ErbB3 的 EC₅₀ 为约 0.2-0.4nM。其它 PBA 结合 BxPC-3 细胞的 EC₅₀ 在 0.02nM (例如 P4-G1-P6) 至约 1nM 或至约 2nM 范围内。

[0921] 在某些实施方案中，PBA 结合抗原 (例如 ErbB3 或 IGF-1R) 的解离常数 (K_d) 为 50nM 或 50nM 以下 (即结合亲和力至少高达由 50nM 的 K_d 所指示的结合亲和力) (例如 K_d 为 40nM 或 30nM 或 20nM 或 10nM 或 1nM，或 100pM 或 10pM 或 1pM 或 1pM 以下)。在一特定实施方案中，PBA 结合抗原 (ErbB3 或 IGF-1R) 的 K_d 为 8nM 或更好 (例如 7nM、6nM、5nM、4nM、2nM、1.5nM、1.4nM、1.3nM、1nM、100pM、10pM 或 1pM 或 0.1pM 或 0.1pM 以下)。在其它实施方案中，结合蛋白、结合部分或结合位点结合抗原 (例如 ErbB3 或 IGF-1R) 的解离常数 (K_d) 低于约 10⁻⁷M，如低于约 10⁻⁸M、10⁻⁹M、10⁻¹⁰M、10⁻¹¹M 或 10⁻¹²M 或甚至更低，且结合所述抗原的亲和力比其对非特异性抗原 (例如 KLH、BSA 或酪蛋白) 的结合亲和力至少高一个数量级 (即 K_d 值为至多十分之一)。

[0922] PBA 可抑制配体与 IGF-1R 和 / 或 ErbB3 的结合。举例来说，PBA 可使配体与 IGF-1R 和 / 或 ErbB3 的结合抑制至少 70%、80%、90%、95%、97%、98% 或 99%，如例如在细胞上或体外所测量。某些 PBA 抑制在所述 PBA 之前或之后添加配体时所述配体与 IGF-1R 和 /

或 ErbB3 结合的水平。

[0923] 在某些实施方案中,包含浓度为 0.3、0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15mg/ml 或 15mg/ml 以上(或在任何所述两个数值之间的浓度范围)的 PBA 的溶液包含多于 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的呈未聚集形式的 PBA(在本文中称为单体),如例如在如下文所述的稳定性测试后例如通过尺寸排阻色谱(SEC)所测定。单体的百分比可在溶液中在一种以下稳定性测试之后测定:a) 在 4℃ 下孵育 1、2、3、4、5 或 6 天,或 1、2、3 周或 3 周以上;b) 在室温下孵育 1、2、3、4、5 或 6 天,或 1、2、3 周或 3 周以上;c) 在 37℃ 下孵育 1、2、3、4、5 或 6 天,或 1、2、3 周或 3 周以上;d) 1、2、3、4 或 5 个冷冻/解冻循环,和 e) 搅动,例如在室温下在轨道式振荡器上轻缓搅动例如 1、2、3、4、5 个小时或 5 个小时以上。

[0924] 在某些实施方案中,PBA 在 37℃ 下在血清中孵育 1、2、3、4 或 5 天后相对于其在第 0 天的稳定性展现至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的稳定性,其中蛋白质的稳定性通过例如测量孵育后其结合其一种或多种靶抗原的能力来测定,如例如通过 ELISA 所测定(参见例如实施例 7)。

[0925] 在某些实施方案中,PBA 具有如例如通过微差扫描荧光测定法(DSF)所测定至少 50℃、55℃、60℃、61℃、62℃、63℃、64℃、65℃、66℃、67℃、68℃、69℃ 或 70℃ 的熔融温度(T_m),如实施例所述。

[0926] 在某些实施方案中,PBA 有效抑制当配体以高浓度或低浓度存在时经由 IGF-1R 和/或 ErbB3 进行的信号转导。在某些实施方案中,PBA 抑制基本信号传导,例如抑制在配体诱导不存在下细胞中存在的 pAKT 的水平。PBA 还可使细胞表面上的 IGF-1R 和/或 ErbB3(例如磷酸化和/或非磷酸化受体)相对于未暴露于所述 PBA 的细胞下调例如至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 或 90% 以上。PBA 还可使细胞中的胰岛素信号传导相对于未暴露于所述 PBA 的细胞抑制例如至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 或 90% 以上。

[0927] PBA 在小鼠或人血清中可具有至少 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 天的稳定性。PBA 当以每公斤小鼠 5mg 或 25mg 注射时,在食蟹猕猴中可具有至少 10 小时、20 小时、30 小时、40 小时、45 小时、50 小时、60 小时、70 小时、80 小时、90 小时、100 小时、110 小时、115 小时或 115 小时以上的半衰期。在某些实施方案中,PBA 在为小鼠或食蟹猕猴的生物体体内具有比另一结合相同表位的多价双特异性抗体在相同生物体体内的半衰期在统计上显著较长(例如长至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、100%(即 2 倍)、150% 或 200%)的半衰期,其中抗原结合特异性的方向在 fab 与 scfv 之间相反。

[0928] 在某些实施方案中,相对于与 PBA 结合 IGF-1R 上的相同表位的单特异性抗 IGF-1R 抗体,PBA 使 mTOR 的蛋白质水平或磷酸化 mTOR 的水平抑制至或使 mTOR 活化降至或抑制至(即使 pmTOR 的水平降至)例如约 50%、1/2 倍、1/3 倍、1/4 倍、1/5 倍或 1/5 倍以下。

[0929] PBA 可具有本文所述的特征中的两种或两种以上的组合。举例来说,PBA 可使配体诱导的 IGF-1R 磷酸化抑制至少 80% 和使配体诱导的 ErbB3 磷酸化抑制至少 80%,并且还展现一种或多种以下特征:(i) 如通过 DSF 所测定至少 60℃ 或 65℃ 的 T_m ;(ii) 在 PBS 中在 10mg/mL 下在室温下 5 天后至少 80%、90% 或 95% 呈单体;(iii) 和在血清中在 37℃ 下孵育 5 天后具有至少 70%、80% 或 90% 的稳定性。在某些实施方案中,PBA 具有至少 60℃ 的

T_m 和至少 90% 的血清稳定性。在其它实施方案中, PBA(i) 使肿瘤细胞的生长抑制例如至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90% 或 90% 以上; (ii) 使经由 IGF-1R 和 / 或 ErbB3 介导的信号转导抑制例如至少 70%、80%、90% 或 90% 以上, (iii) 为稳定的, 例如在 4℃、室温或 37℃ 下 1、2、3、4、5 天或 5 天以上后在溶液中至少 80% 为单体, 和 / 或 (iv) 具有如通过 DSF 所测定至少 50℃、55℃、60℃、65℃ 或 65℃ 以上的 T_m; 例如程度与结合实体单独或一起相比类似或更有效或效力更高。

[0930] 可使用标准测定来测定抗 IGF-1R+ 抗 ErbB3PBA 的生物活性和特征。用于以下测试的示例性测定提供于本文的实施例中: (a) 用于测定结合位点与其靶标的结合亲和力或 K_d 的测定; (b) 用于测定结合蛋白结合细胞的能力的测定; (c) 用于通过测量对 IGF-1R、ErbB3 或 AKT 磷酸化的抑制作用测定结合蛋白抑制信号转导的能力的测定; (d) 用于体外测定 PBA 抑制抑制细胞增殖的能力的测定; (e) 用于体内测定 PBA 对肿瘤细胞的影响的测定; 和 (f) 用于测定 PBA 的稳定性的测定。

[0931] 单价和二价单特异性抗体

[0932] 本文进一步提供单价和二价单特异性抗体, 其为 1) 二价 IgG 抗体, 其可通过共表达至少一种编码重链的核酸分子和至少一种可与编码所述重链的分子相同或不同的编码所述抗体的轻链的核酸分子来制备, 或 2) 单价单链 Fv (scFv) 抗体, 其可通过表达至少一种编码所述 scFv 的核酸分子来制备; 各自如本文所述在适合表达系统中表达, 所述表达系统包括市售表达系统和所属领域中熟知的其它表达系统。所述抗体可为单克隆抗体。

[0933] 抗 IGF-1R 抗体

[0934] 本文提供特异性结合人 IGF-1R 的抗 IGF-1R 抗体。在某些实施方案中, IGF-1R 结合蛋白包含重链和轻链, 所述重链和轻链彼此缔合形成结合部分, 例如抗体或其抗原结合结构域。本文提供的描述适用于抗 IGF-1R 抗体, 但也适用于 PBA 中包含的抗 IGF-1R 结合部分。反之, 抗 IGF-1R 结合部分的描述适用于抗 IGF-1R 抗体或其抗原结合位点。

[0935] 在某些实施方案中, 抗 IGF-1R 结合蛋白包含 1、2、3、4、5 或 6 个选自由以下组成的组的 CDR: SEQ ID NO:302 的共同序列中所涵盖的 VHCDR1 氨基酸序列、SEQ ID NO:303 的共同序列中所涵盖的 VHCDR2 氨基酸序列、SEQ ID NO:304 的共同序列中所涵盖的 VHCDR3 氨基酸序列、SEQ ID NO:305 的共同序列中所涵盖的 VLCDR1 氨基酸序列、SEQ ID NO:306 的共同序列中所涵盖的 VLCDR2 氨基酸序列和 SEQ ID NO:307 (或 308) 的共同序列中所涵盖的 VLCDR3 氨基酸序列。举例来说, 抗 IGF-1R 结合蛋白可包含 1、2、3、4、5 或 6 个选自由以下组成的组的 CDR: 图 1 的氨基酸序列中的一者 (例如 SEQ ID NO:8-31 中的任一者) 中的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列, 和图 2 的氨基酸序列中的一者 (例如 SEQ ID NO:32-133 中的一者) 中的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列。在一特定实施方案中, 抗 IGF-1R 结合蛋白包含含有 1、2 或 3、4、5 或 6 个选自由以下组成的组的 CDR 的 VH 结构域: SEQ ID NO:11 的 VHCDR1、VHCDR2 或 VHCDR3 氨基酸序列和 SEQ ID NO:35 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列 (16F 的 CDR)。在某些实施方案中, 抗 IGF-1R 结合蛋白包含含有 1、2、3、4、5 或 6 个选自由以下组成的组的 CDR 的 VH 结构域: 图 1 中的序列 (例如 SEQ ID NO:8-10 和 12-31) 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列, 和图 2 中的序列 (例如 SEQ ID NO:32-34 和 36-133) 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列。

[0936] 在某些实施方案中, 抗 IGF-1R 结合蛋白包含含有由 SEQ ID NO:1 的共同序列所涵

盖的氨基酸序列的 VH 结构域和 / 或含有由 SEQ ID NO:2 的共同序列所涵盖的氨基酸序列的 VL 结构域。示例性 VH 氨基酸序列为图 1 的序列,例如 SEQ ID NO:8-31。示例性 VL 氨基酸序列为图 2 的序列,例如 SEQ ID NO:32-133。在一个实施方案中,抗 IGF-1R 结合蛋白包含含有 SEQ ID NO:11 的 VH 氨基酸序列和 / 或含有 SEQ ID NO:35 的 VL 氨基酸序列 (16F 的可变结构域)。

[0937] 在某些实施方案中,抗 IGF-1R 结合蛋白包含含有由 SEQ ID NO:1 的共同序列所涵盖的氨基酸序列的 VH 结构域和 / 或含有由 SEQ ID NO:3 的共同序列所涵盖的氨基酸序列的 VL 结构域。示例性 VH 氨基酸序列为如 SEQ ID NO:8-10 和 12-31 所述的序列。示例性 VL 氨基酸序列为如 SEQ ID NO:32-34 和 36-133 所述的序列。

[0938] 本文还提供特异性结合 IGF-1R 的抗 IGF-1R 抗体,其中 VH 结构域包含与图 1 的 VH 氨基酸序列 (例如 SEQ ID NO:8-31) 的氨基酸序列至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列,和 / 或其中 VL 结构域包含与图 2 的 VL 氨基酸序列 (例如 SEQ ID NO:32-133) 的氨基酸序列至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,排除 SEQ ID NO:11 的 VH 序列和 / 或 SEQ ID NO:35 的 VL 序列。

[0939] 本文还提供特异性结合 IGF-1R 的抗 IGF-1R 抗体,其中 VH 结构域包含因 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 个或因 1-5、6-10、11-15、16-20、21-25、26-30、31-35、36-40、41-45、46-50 或 50-100 个氨基酸取代、添加或缺失而与图 1 的氨基酸序列 (例如 SEQ ID NO:8-31) 不同的氨基酸序列,且 VL 结构域包含因 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 个或因 1-5、6-10、11-15、16-20、21-25、26-30、31-35、36-40、41-45、46-50 或 50-100 个氨基酸的氨基酸取代、添加或缺失而与图 2 的氨基酸序列 (例如 SEQ ID NO:32-133) 不同的氨基酸序列。在某些实施方案中,排除 SEQ ID NO:11 的 VH 序列和 / 或 SEQ ID NO:35 的 VL 序列。

[0940] 抗 IGF-1R 抗体可具有抗体 (例如全长抗体) 或其抗原结合片段的结构。举例来说,抗 IGF-1R 结合蛋白可包含重链和轻链,其中所述重链按 N 端至 C 端顺序包含:VH 结构域、CH1 结构域、铰链、CH2 结构域、CH3 结构域和任选地存在的 CH4 结构域,且其中所述轻链按 N 端至 C 端顺序包含:VL 结构域和 CL 结构域。恒定结构域优选为人的且可来自 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 或其组合。恒定结构域可为天然存在的序列或突变型序列,其中已对天然存在的序列进行一个或多个氨基酸取代、添加或缺失。

[0941] 抗 IGF-1R 结合蛋白可包含含有选自由以下组成的组的氨基酸序列的重链:SF 重链 (SEQ ID NO:358);P4 重链 (SEQ ID NO:359);M78 重链 (SEQ ID NO:360) 和 M57 重链 (SEQ ID NO:361) (图 6A)。抗 IGF-1R 结合蛋白还可包含含有选自由以下组成的组的氨基酸序列的轻链:SF κ 轻链 (SEQ ID NO:202);P4 κ 轻链 (SEQ ID NO:204);M78 κ 轻链 (SEQ ID NO:206);和 M57 κ 轻链 (SEQ ID NO:208) (图 5A)。抗 IGF-1R 结合蛋白可包含含有选自由以下组成的组的氨基酸序列的重链:SF 重链 (SEQ ID NO:358);P4 重链 (SEQ ID NO:359);M78 重链 (SEQ ID NO:360) 和 M57 重链 (SEQ ID NO:361),和含有选自由以下组成的组的氨基酸序列的轻链:SF κ 轻链 (SEQ ID NO:202);P4 κ 轻链 (SEQ ID NO:204);M78 κ 轻链 (SEQ ID NO:206);和 M57 κ 轻链 (SEQ ID NO:208)。在特定实施方案中,IGF-1R 抗体包含具有名称相同的氨基酸序列的重链和轻链,例如 SF 重链与 SF 轻链、P4 重链与 P4 轻链、M78 重链与 M78 轻链和 M57 重链与 M57 轻链。然而,重链和轻链还可混合和匹配。举例来说,M57

重链可与 M7 轻链配对,且 P4 重链可与 M57 轻链配对。

[0942] 特别提供抗 IGF-1R IgG 抗体 SF(重链 SEQ ID NO:358,κ 轻链 SEQ ID NO:202); P4(重链 SEQ ID NO:359,κ 轻链 SEQ ID NO:204);M78(重链 SEQ ID NO:360,κ 轻链 SEQ ID NO:206) 和 M57(重链 SEQ ID NO:361,κ 轻链 SEQ ID NO:208);所有均为 IgG1 同型。

[0943] 在某些实施方案中,抗 IGF-1R 结合蛋白包含含有与 SEQ ID NO:358、359、360 和 361 的氨基酸序列至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%或 99%一致的氨基酸序列的重链和 / 或含有与 SEQ ID NO:202、204、206 和 208 的氨基酸序列至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%或 99%一致的氨基酸序列的轻链。

[0944] 在其它实施方案中,IGF-1R 结合蛋白包含含有因 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 个或因 1-5、6-10、11-15、16-20、21-25、26-30、31-35、36-40、41-45、46-50 或 50-100 个氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:358、359、360 和 361 的氨基酸序列不同的氨基酸序列的重链和 / 或含有因 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 个或因 1-5、6-10、11-15、16-20、21-25、26-30、31-35、36-40、41-45、46-50 或 50-100 个氨基酸取代、添加或缺失而与选自 SEQ ID NO:202、204、206 和 208 组成的组的氨基酸序列不同的氨基酸序列的轻链。

[0945] 抗 ErbB3 抗体的生物活性和特征可利用测定(例如本文关于 PBA 所述的测定)来测定。抗 ErbB3 蛋白可配体抑制 ErbB3 的磷酸化、肿瘤细胞的增殖和 / 或体内抑制肿瘤生长。

[0946] 抗 IGF-1R 结合部分可包含或连接于 1、2、3、4 个或 4 个以上可呈 Fab、scFv 形式或其它结合位点形式的其它结合位点。举例来说,抗 IGF-1R 结合蛋白可包含抗 ErbB3 结合位点,例如抗 ErbB3scFv。

[0947] 抗 ErbB3 抗体

[0948] 本文还提供特异性结合人 ErbB3 的抗 ErbB3 抗体。在某些实施方案中,ErbB3 结合蛋白包含重链和轻链,所述重链和轻链彼此缔合且形成结合蛋白,例如抗体或其抗原结合结构域。下文提供的描述适用于抗 ErbB3 抗体,但也适用于 PBA 中包含的抗 ErbB3 结合位点。反之,抗 ErbB3 结合位点的描述适用于抗 ErbB3 抗体或其抗原结合位点。

[0949] 在某些实施方案中,抗 ErbB3 结合蛋白包含 1、2、3、4、5 或 6 个选自以下组成的组的 CDR:SEQ ID NO:309 的 VHCDR1 氨基酸序列、SEQ ID NO:310 的共同序列中所涵盖的 VHCDR2 氨基酸序列、SEQ ID NO:311 的共同序列中所涵盖的 VHCDR3 氨基酸序列、SEQ ID NO:312 的 VLCDR1 氨基酸序列、SEQ ID NO:313 的 VLCDR2 氨基酸序列和 SEQ ID NO:314(或 315)的共同序列中所涵盖的 VLCDR3 氨基酸序列。举例来说,抗 ErbB3 结合蛋白可包含 1、2、3、4、5 或 6 个选自以下组成的组的 CDR:图 3 中的序列(例如 SEQ ID NO:134-165 中的任一者)的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列,和图 4 中的序列(例如 SEQ ID NO:166-200)的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列。在一特定实施方案中,抗 ErbB3 结合蛋白包含含有 1、2 或 3、4、5 或 6 个选自以下组成的组的 CDR 的 VH 结构域:SEQ ID NO:143 的 VHCDR1、VHCDR2 或 VHCDR3 氨基酸序列和 SEQ ID NO:175 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列(16F 的 CDR)。在某些实施方案中,抗 ErbB3 结合蛋白包含含有 1、2、3、4、5 或 6 个选自以下组成的组的 CDR 的 VH 结构域:图 3 的 VHCDR1、VHCDR2 或 VHCDR3 氨基酸序列(例如 SEQ ID NO:134-142 和 144-165 中的任一者),和图 4 的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列(例如 SEQ ID NO:166-174 和 176-200 中的任一者)。

[0950] 在某些实施方案中,抗 ErbB3 结合蛋白包含含有由 SEQ ID NO:4 的共同序列所涵盖的氨基酸序列的 VH 结构域和 / 或含有由 SEQ ID NO:6 的共同序列所涵盖的氨基酸序列的 VL 结构域。示例性 VH 氨基酸序列为图 3 的序列,例如 SEQ ID NO:134-165。示例性 VL 氨基酸序列为表 4 的序列,例如 SEQ ID NO:166-200。在一个实施方案中,抗 ErbB3 结合蛋白包含含有 SEQ ID NO:143 的 VH 氨基酸序列和 / 或含有 SEQ ID NO:175 的 VL 氨基酸序列 (16F 的可变结构域)。

[0951] 在某些实施方案中,抗 ErbB3 结合蛋白包含含有由 SEQ ID NO:5 的共同序列所涵盖的氨基酸序列的 VH 结构域和 / 或含有由 SEQ ID NO:7 的共同序列所涵盖的氨基酸序列的 VL 结构域。示例性 VH 氨基酸序列为如 SEQ ID NO:134-142 和 145-165 所述的序列。示例性 VL 氨基酸序列为如 SEQ ID NO:166-174 和 176-200 所述的序列。

[0952] 本文还提供特异性结合 ErbB3 的抗 ErbB3 抗体,其中 VH 结构域包含与图 3 的 VH 氨基酸序列 (例如 SEQ ID NO:134-165) 的氨基酸序列至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列,和 / 或其中 VL 结构域包含与图 4 的 VL 氨基酸序列 (例如 SEQ ID NO:166-200) 的氨基酸序列至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列。在某些实施方案中,排除 SEQ ID NO:143 的 VH 序列和 / 或 SEQ ID NO:175 的 VL 序列。

[0953] 本文还提供特异性结合 ErbB3 的抗 ErbB3 抗体,其中 VH 结构域包含因 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 个或少于 1-5、6-10、11-15、16-20、21-25、26-30、31-35、36-40、41-45、46-50 或 50-100 个氨基酸取代、添加或缺失而与图 3 的氨基酸序列 (例如 SEQ ID NO:134-165) 不同的氨基酸序列,且 VL 结构域包含因 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 个或少于 1-5、6-10、11-15、16-20、21-25、26-30、31-35、36-40、41-45、46-50 或 50-100 个氨基酸取代、添加或缺失而与图 4 的氨基酸序列 (例如 SEQ ID NO:166-200) 不同的氨基酸序列。在某些实施方案中,排除 SEQ ID NO:143 的 VH 序列和 / 或 SEQ ID NO:175 的 VL 序列。

[0954] 抗 ErbB3 抗体可具有抗体 (例如完全抗体 (全长抗体)) 或其抗原结合片段的结构。举例来说,抗 ErbB3 结合蛋白可包含重链和轻链,其中所述重链按 N 端至 C 端顺序包含: VH 结构域、CH1 结构域、铰链、CH2 结构域、CH3 结构域和任选地存在的 CH4 结构域,且其中所述轻链按 N 端至 C 端顺序包含: VL 结构域和 CL 结构域。恒定结构域优选为人的且可来自 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 或其组合。恒定结构域可为天然存在的序列或突变型序列,其中已对天然存在的序列进行一个或多个氨基酸取代、添加或缺失。

[0955] 抗 ErbB3 结合蛋白可包含含有选自由以下组成的组的氨基酸序列的重链: P1 重链 (SEQ ID NO:362); M27 重链 (SEQ ID NO:363); M7 重链 (SEQ ID NO:364); B72 重链 (SEQ ID NO:365) 和 B60 重链 (SEQ ID NO:366) (图 5B)。抗 ErbB3 结合蛋白还可包含含有选自由以下组成的组的氨基酸序列的轻链: P1 λ 轻链 (SEQ ID NO:258); M27 λ 轻链 (SEQ ID NO:260); M7 λ 轻链 (SEQ ID NO:262); B72 λ 轻链 (SEQ ID NO:264) 和 B60 λ 轻链 (SEQ ID NO:266) (图 5B)。抗 ErbB3 结合蛋白可包含含有选自由以下组成的组的氨基酸序列的重链: P1 重链 (SEQ ID NO:362); M27 重链 (SEQ ID NO:363); M7 重链 (SEQ ID NO:364); B72 重链 (SEQ ID NO:365) 和 B60 重链 (SEQ ID NO:366), 和含有选自由以下组成的组的氨基酸序列的轻链: P1 λ 轻链 (SEQ ID NO:258); M27 λ 轻链 (SEQ ID NO:260); M7 λ 轻链 (SEQ ID NO:262); B72 λ 轻链 (SEQ ID NO:264) 和 B60 λ 轻链 (SEQ ID NO:266)。在特定实施方

案中, IGF-1R 抗体包含具有名称相同的氨基酸序列的重链和轻链, 例如 P1 重链与 P1 轻链、M27 重链与 M27 轻链、M7 重链与 M7 轻链、B72 重链与 B72 轻链和 B60 重链与 B60 轻链。然而, 重链和轻链还可混合和匹配。举例来说, M57 重链可与 M7 轻链配对, 且 P4 重链可与 M57 轻链配对。

[0956] 还提供抗 ErbB3 抗体 P1 (重链 SEQ ID NO:362, λ 轻链 SEQ ID NO:258); M27 (重链 SEQ ID NO:363, λ 轻链 SEQ ID NO:260); M7 (重链 SEQ ID NO:364, λ 轻链 SEQ ID NO:262); B72 (重链 SEQ ID NO:365, λ 轻链 SEQ ID NO:264); 和 B60 (重链 SEQ ID NO:366, λ 轻链 SEQ ID NO:266); 所有均为 IgG1 同型。

[0957] 在某些实施方案中, 抗 ErbB3 结合蛋白包含含有与 SEQ ID NO:362、363、364、365 和 366 的氨基酸序列至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列的重链和 / 或含有与 SEQ ID NO:258、260、262、264 和 266 的氨基酸序列至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列的轻链。

[0958] 在其它实施方案中, ErbB3 结合蛋白包含含有因 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 个或因 1-5、6-10、11-15、16-20、21-25、26-30、31-35、36-40、41-45、46-50 或 50-100 个氨基酸取代、添加或缺失而与 SEQ ID NO:362、363、364、365 和 366 的氨基酸序列不同的氨基酸序列的重链和 / 或含有因 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 个或因 1-5、6-10、11-15、16-20、21-25、26-30、31-35、36-40、41-45、46-50 或 50-100 个氨基酸取代、添加或缺失而与选自 SEQ ID NO:258、260、262、264 和 266 组成的组的氨基酸序列不同的氨基酸序列的轻链。

[0959] 抗 ErbB3 抗体的生物活性和特征可利用测定 (例如本文关于 PBA 所述的测定) 来测定。抗 ErbB3 蛋白可配体抑制 ErbB3 的磷酸化、肿瘤细胞的增殖和 / 或体内抑制肿瘤生长。抗 ErbB3 结合部分可包含或连接于 1、2、3、4 个或 4 个以上可呈 Fab、scFv 形式或其它结合位点形式的其它结合位点。举例来说, 抗 ErbB3 结合蛋白可包含抗 IGF-1R 结合位点, 例如抗 IGF-1R scFv。

[0960] scFv 抗体

[0961] 还提供 scFv, 例如分离的单克隆 scFv。示例性 scFv 为抗 IGF-1R scFv 和抗 ErbB3scFv。示例性 scFv 为包含由 scFv 接头连接在一起的 VH 结构域和 VL 结构域的多肽。scFv 的 VH 和 VL 链由插入 VH 与 VL 链之间的 scFv 接头联结在一起。scFv 接头可由 10-30 个氨基酸 (如 15 至 20 个氨基酸) 的连续氨基酸序列组成。示例性 scFv 接头为 Gly-Ser 接头 (SEQ ID NO:399), 其可为 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_n$ (SEQ ID NO:401), 其中 n 为 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。优选 scFv 接头包含 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_3$ (SEQ ID NO:396) 或 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_4$ (SEQ ID NO:397)。其它优选 scFv 接头包含 1-5 个氨基酸附加于 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_3$ (SEQ ID NO:396) 或 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_4$ (SEQ ID NO:397), 例如 AST, 且可包含以下氨基酸序列: $\text{AST}(\text{Gly}_4\text{Ser})_3$ (SEQ ID NO:400) 或 $\text{AST}(\text{Gly}_4\text{Ser})_4$ (SEQ ID NO:402)。

[0962] 抗 IGF-1R scFv 抗体可包含含有一组三个包含 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 的 VHCDR 的 VH 结构域, 和含有一组三个包含 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 的 VLCDR 的 VL 结构域, 所述 CDR 分别包含 SEQ ID NO:302、303 或 304、305、306 或 307 (或 308) 的氨基酸序列, 且其中各 CDR 进一步包含氨基端和羧基端, 其中各组 CDR 的 CDR 在可变结构域中按 CDR1、CDR2 和 CDR3 的线性氨基至羧基顺序排列, 且其中 SEQ ID NO:302、304、305、306、307 (或 308) 中的 X 氨基酸表示可为位于图 1 (VH) 和图 2 (VL) 中相应位置中的任何氨基酸的可变氨基酸。抗 IGF-1R

scFv 可包含由图 1 中 VH 氨基酸序列的组的氨基酸序列组成（例如由 SEQ ID NO:8-31 组成）的 VH 结构域的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3, 和 / 或由图 2 中 VL 氨基酸序列的组的氨基酸序列组成（例如由 SEQ ID NO:32-133 组成）的 VL 结构域的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3。在某些实施方案中, 抗 IGF-1R scFv 不包含 16F 的全部六个 CDR 或不包含 16F 的 VH 结构域和 / 或 16F 的 VL 结构域。举例来说, scFv 包含有至少一个氨基酸与 16F 中的序列不同的 VH 和 VL 氨基酸序列。

[0963] 抗 IGF-1R scFv 抗体可包含含有 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列的 VH 结构域和 / 或含有 SEQ ID NO:2 (或 3) 的氨基酸序列的 VL 结构域, 其中 SEQ ID NO:1、2 和 3 中的 X 氨基酸为可为图 1 (VH 结构域) 和图 2 (VL 结构域) 中相应位置上的任何氨基酸的可变氨基酸。抗 IGF-1R scFv 抗体可包含含有图 1 (例如选自由 SEQ ID NO:8-31 组成的组) 的氨基酸序列的 VH 结构域和 / 或含有图 2 (例如选自由 SEQ ID NO:32-133 组成的组) 的氨基酸序列的 VL 结构域。

[0964] 示例性抗 IGF-1R scFv 包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域: 具有选自由 SEQ ID NO:8、9、10 和 11 组成的 VH 氨基酸序列组的氨基酸序列的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列 (这些 CDR 的位置示出于图 1 中)。抗 IGF-1R scFv 还可包含由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域: 具有选自由 SEQ ID NO:32、33、34 和 35 组成的 VL 氨基酸序列组的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列 (这些 CDR 的位置示出于图 2 中)。在某些实施方案中, 抗 IGF-1R scFv 包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域: 具有选自由 SEQ ID NO:8、9、10 和 11 组成的 VH 氨基酸序列组的氨基酸序列的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列, 和由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域: 具有选自由 SEQ ID NO:32、33、34 和 35 组成的 VL 氨基酸序列组的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列。在特定实施方案中, 抗 IGF-1R scFv 包含 VH 结构域, 所述 VH 结构域包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域: SEQ ID No:8 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列; 和由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域: 具有由 SEQ ID No:32 组成的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列 (M57 模块)。在特定实施方案中, 抗 IGF-1R scFv 包含 VH 结构域, 所述 VH 结构域包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域: SEQ ID No:9 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列; 和由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域: 具有由 SEQ ID No:33 组成的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列 (模块 M78)。在特定实施方案中, 抗 IGF-1R scFv 包含 VH 结构域, 所述 VH 结构域包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域: SEQ ID No:10 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列; 和由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域: 具有由 SEQ ID No:34 组成的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列 (模块 P4)。在特定实施方案中, 抗 IGF-1R scFv 包含 VH 结构域, 所述 VH 结构域包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域: SEQ ID No:8 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列; 和由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域: 具有由 SEQ ID No:33 组成的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列 (模块 M57/M78)。在特定实施方案中, 抗 IGF-1R scFv 包含 VH 结构域, 所述 VH 结构域包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域: SEQ ID No:10 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列; 和由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域: 具有由 SEQ ID No:32 组成的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列 (模块 P4/M57)。

[0965] 抗 ErbB3scFv 抗体可包含含有一组三个包含 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 的 VH 结构域,和含有一组三个包含 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 的 VL 结构域,所述 CDR 分别包含 SEQ ID NO:309、310 或 311、312、313 或 314(或 315)的氨基酸序列,且其中各 CDR 进一步包含氨基端和羧基端,其中各组 CDR 的 CDR 在可变结构域中按 CDR1、CDR2 和 CDR3 的线性氨基至羧基顺序排列,且其中 SEQ ID NO:309、310 或 311、312、313 或 314(或 315)中的 X 氨基酸表示可为位于图 1(VH)和图 2(VL)中相应位置中的任何氨基酸的可变氨基酸。抗 ErbB3scFv 可包含由图 3 中 VH 氨基酸序列的组的氨基酸序列组成(例如由 SEQ ID NO:134-165 组成)的 VH 结构域的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3,和/或由图 4 中 VL 氨基酸序列的组的氨基酸序列组成(例如由 SEQ ID NO:166-200 组成)的 VL 结构域的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3。在某些实施方案中,抗 ErbB3scFv 不包含 16F 的全部六个 CDR 或不包含 16F 的 VH 结构域和/或 16F 的 VL 结构域。举例来说,scFv 包含有至少一个氨基酸与 16F 中的序列不同的 VH 和 VL 氨基酸序列。

[0966] 抗 ErbB3scFv 抗体可包含含有 SEQ ID NO:4(或 5)的氨基酸序列的 VH 结构域和/或含有 SEQ ID NO:6(或 7)所示的氨基酸序列的 VL 结构域,其中 SEQ ID NO:4、5、6 和 7 中的 X 氨基酸为可为图 3(VH 结构域)和图 4(VL 结构域)中相应位置上的任何氨基酸的可变氨基酸。抗 ErbB3scFv 抗体可包含含有图 3 中(例如选自 SEQ ID NO:134-165 组成的组)的氨基酸序列的 VH 结构域和/或含有图 4 中(例如选自 SEQ ID NO:166-200 组成的组)的氨基酸序列的 VL 结构域。

[0967] 示例性抗 ErbB3scFv 包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域:具有选自 SEQ ID NO:134-143 组成的 VH 氨基酸序列组的氨基酸序列的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列(这些 CDR 的位置示出于图 3 中)。抗 ErbB3scFv 还可包含由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域:具有选自 SEQ ID NO:166-175 组成的 VL 氨基酸序列组的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列(这些 CDR 的位置示出于图 4 中)。在某些实施方案中,抗 ErbB3scFv 包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域:具有选自 SEQ ID NO:134-143 组成的 VH 氨基酸序列组的氨基酸序列的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列,和由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域:具有选自 SEQ ID NO:166-175 组成的 VL 氨基酸序列组的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列。在特定实施方案中,抗 ErbB3scFv 包含 VH 结构域,所述 VH 结构域包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域:SEQ ID No:134 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列;和由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域:具有由 SEQ ID No:166 组成的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列(模块 B60)。在特定实施方案中,抗 ErbB3scFv 包含 VH 结构域,所述 VH 结构域包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域:SEQ ID No:135 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列;和由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域:具有由 SEQ ID No:167 组成的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列(B72)。在特定实施方案中,抗 ErbB3scFv 包含 VH 结构域,所述 VH 结构域包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域:SEQ ID No:136 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列;和由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域:具有由 SEQ ID No:168 组成的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列(模块 M27)。在特定实施方案中,抗 ErbB3scFv 包含 VH 结构域,所述 VH 结构域包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域:SEQ ID No:137 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列;

和由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域 :具有由 SEQ ID No:169 组成的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列 (M7 模块)。在特定实施方案中,抗 ErbB3scFv 包含 VH 结构域,所述 VH 结构域包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域 :SEQ ID No:138 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列 ;和由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域 :具有由 SEQ ID No:170 组成的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列 (P1 模块)。在特定实施方案中,抗 ErbB3scFv 包含 VH 结构域,所述 VH 结构域包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域 :SEQ ID No:139 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列 ;和由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域 :具有由 SEQ ID No:171 组成的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列 (M27 模块)。在特定实施方案中,抗 ErbB3scFv 包含 VH 结构域,所述 VH 结构域包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域 :SEQ ID No:140 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列 ;和由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域 :具有由 SEQ ID No:172 组成的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列 (B69 模块)。在特定实施方案中,抗 ErbB3scFv 包含 VH 结构域,所述 VH 结构域包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域 :SEQ ID No:141 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列 ;和由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域 :具有由 SEQ ID No:173 组成的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列 (P6 模块)。在特定实施方案中,抗 ErbB3scFv 包含 VH 结构域,所述 VH 结构域包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域 :SEQ ID No:142 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列 ;和由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域 :具有由 SEQ ID No:174 组成的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列 (M1.3 模块)。在特定实施方案中,抗 ErbB3scFv 包含 VH 结构域,所述 VH 结构域包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域 :SEQ ID No:143 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列 ;和由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域 :具有由 SEQ ID No:175 组成的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列 (C8 模块)。在特定实施方案中,抗 ErbB3scFv 包含 VH 结构域,所述 VH 结构域包含由以下组成或至少包含以下的 VH 结构域 :SEQ ID No:136 的 VHCDR1、VHCDR2 和 VHCDR3 氨基酸序列 ;和由以下组成或至少包含以下的 VL 结构域 :具有由 SEQ ID No:169 组成的氨基酸序列的 VLCDR1、VLCDR2 和 VLCDR3 氨基酸序列 (M27/M7 模块)。

[0968] 示例性 scFv 为抗 IGF-1R scFv 抗体 P4(SEQ ID NO:367)、M57(SEQ ID NO:368)、M78(SEQ ID NO:369) 和 M76(SEQ ID NO:382) ;以及抗 ErbB3scFv 抗体 C8(SEQ ID NO:370)、P1(SEQ ID NO:371)、M1.3(SEQ ID NO:372)、M27(SEQ ID NO:373)、P6(SEQ ID NO:374)、B69(SEQ ID NO:375) 和 P6L(SEQ ID NO:383)。

[0969] scFv 还可包含因一个或多个氨基酸添加、缺失或取代而分别与本文所述的 CDR、可变结构域或全长 scFv 不同,同时仍保留其结合性质的 CDR、可变结构域或其全长氨基酸。举例来说,CDR 可有 1 或 2 个氨基酸与本文提供的 CDR 序列不同 ;可变结构域可有 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个氨基酸与本文提供的可变结构域序列不同 ;且 scFv 可有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40 或 50 个氨基酸分别与本文提供的 scFv 不同。scFv 还可包含与本文提供的 CDR、可变结构域或全长 scFv 序列至少 70%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的 CDR、可变结构域或其全长氨基酸序列。在一个实施方案中,scFv 包含与选自 SEQ ID NO:367、368、369、370、372、373、374 和 375 组成的 scFv 序列的组的氨基酸序列至少 70%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的氨基酸序列。

[0970] 在某些实施方案中, scFv 在 VL 结构域的氨基端或羧基端上包含 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个氨基酸。举例来说, 如果相关 scFv 的羧基端为可由酶(诸如羧肽酶)修剪掉的氨基酸(例如赖氨酸或精氨酸), 那么可添加一个或多个氨基酸以防止氨基酸被修剪。举例来说, 可将来自 CL 结构域的氨基酸“RT”添加至抗 IGF-1R scFv 中的羧基端“VEIK”, 如例如 SEQ ID NO:367-369 中所示。

[0971] 核酸、表达载体和宿主细胞

[0972] 本文提供编码本文所述的多肽的核酸, 例如 DNA 或 RNA。本文提供的示例性核苷酸序列为编码图 1-7 的氨基酸序列的核苷酸序列, 如附录的核苷酸序列, 或其部分, 如编码 1、2、3、4 或 5 个结构域的部分。还涵盖与编码本文所述的氨基酸序列的核苷酸序列(例如本文所述的核苷酸序列)至少 50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致的核苷酸序列。所述核苷酸序列可编码本文所述的蛋白质或可编码与本文所述的蛋白质或其部分(例如域)至少 70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98% 或 99% 一致或类似的蛋白质, 如图 1-7 中任一者的氨基酸序列。

[0973] 编码具有前导序列的 16F 的重链(氨基酸序列 SEQ ID NO:300)的核苷酸序列阐述为 SEQ ID NO:299。编码具有前导序列的 16F 的轻链(氨基酸序列 SEQ ID NO:298)的核苷酸序列阐述为 SEQ ID NO:297。

[0974] 在某些实施方案中, 核酸编码包含前导序列(或信号肽)的抗体的重链和/或轻链。示例性前导序列为图 7 中关于 16F 所示的前导序列。因此, 本文还提供连接于前导序列(如图 7 中所示者)的抗体(例如图 5 和 6 中所示者), 和编码所述抗体的核酸。

[0975] 在某些实施方案中, 核酸连接于增强或启动核苷酸序列在细胞中的表达以产生蛋白质的序列。所述核酸可涵盖于载体(例如表达载体)中。为表达作为跨膜蛋白的蛋白质, 优选还包括信号序列, 例如图 7A 的信号序列, 所述信号序列常删除以形成成熟蛋白质。

[0976] 本文还涵盖包含本文提供的核酸或载体的细胞, 例如宿主细胞。

[0977] 本文所述的抗体可通过重组方式产生。用于重组产生的方法在现有技术状态中广泛已知且包含在原核和真核细胞进行蛋白质表达, 并随后分离抗体且通常纯化至药理学上可接受的纯度。为在宿主细胞中表达抗体, 通过标准方法将编码各别多肽(例如轻链和重链)的核酸插入表达载体中。在适当原核或真核宿主细胞(如 CHO 细胞、NS0 细胞、SP2/0 细胞、HEK293 细胞、COS 细胞、PER.C6 细胞、酵母或大肠杆菌(E. coli)细胞)中进行表达, 且自细胞(溶解后的上清液或细胞)回收结合蛋白。用于重组产生抗体的一般方法在所属领域中为熟知的。

[0978] 抗体可通过常规免疫球蛋白纯化程序, 如蛋白质 A-琼脂糖、羟磷灰石色谱、凝胶电泳、透析或亲和色谱自培养基分离。编码抗体的 DNA 和 RNA 易于使用常规程序分离和测序。杂交瘤细胞可用作所述 DNA 和 RNA 的来源。分离后, 可将 DNA 插入表达载体中, 接着将所述表达载体转染至不以其它方式产生免疫球蛋白的宿主细胞(如 HEK 293 细胞、CHO 细胞或骨髓瘤细胞)中, 以在宿主细胞中获得重组抗体的合成。

[0979] 可通过将适当核苷酸变化引入抗体 DNA 中或通过核苷酸合成来制备抗体的氨基酸序列变异体(例如突变体)。

[0980] “宿主细胞”表示可工程改造以产生本文所述的抗体的任何种类的细胞系统。在一个实施方案中, 使用 HEK293 细胞和 CHO 细胞作为宿主细胞, 在另一实施方案中使用 CHO 或

NSO 细胞。

[0981] 适于原核生物的控制序列例如包括启动子,任选地包括操纵子序列,和核糖体结合位点。已知真核细胞利用启动子、强化子和聚腺苷酸化信号。

[0982] 当核酸与另一核酸序列处于功能性关系中时,所述核酸为“可操作地连接”的。举例来说,序列前体或分泌前导序列的 DNA 在其表达为参与多肽的分泌中的蛋白质前体的情况下可操作地连接于所述多肽的 DNA ;启动子或强化子在其影响编码序列的转录的情况下可操作地连接于所述编码序列;或核糖体结合位点在其位置促进翻译的情况下可操作地连接于编码序列。一般来说,“可操作地连接”意谓所连接的 DNA 序列为毗连的,且在分泌前导序列的情况下为毗连的且处于阅读框中。然而,强化子不必为毗连的。连接通过在适宜限制性位点进行连接来实现。如果所述位点不存在,那么根据常规实践使用合成寡核苷酸接头或接头。

[0983] 可通过标准技术进行抗体的纯化以消除细胞组分或其它污染物,例如其它细胞核酸或蛋白质,所述标准技术包括碱性 /SDS 处理、CsCl 分层、管柱色谱、琼脂糖凝胶电泳和所属领域中熟知的其它技术。不同方法已充分确立且广泛用于蛋白质纯化,如利用微生物蛋白质的亲和色谱(例如蛋白质 A 或蛋白质 G 亲和色谱)、离子交换色谱(例如阳离子交换(羧甲基树脂)、阴离子交换(氨基乙基树脂)和混合模式色谱)、亲疏吸附(例如利用 β -巯基乙醇和其它 SH 配体)、疏水性相互作用或芳香族吸附色谱(例如利用苯基-琼脂糖凝胶、亲氮杂芳烃树脂或间氨基苯基硼酸)、金属螯合亲和色谱(例如利用 Ni(II) 和 Cu(II) 亲和材料)、尺寸排阻色谱和电泳方法(如凝胶电泳、毛细管电泳)。

[0984] 使用本文提供的抗体的方法

[0985] 本文提供使用本文所述的抗体,例如抗 IGF-1R+ 抗 ErbB3PBA、抗 IGF-1R 抗体和抗 ErbB3 抗体用于治疗性应用的方法。本文公开的抗体可用于治疗与 ErbB3 和 / 或 IGF-1R 依赖性信号传导相关的疾病或病症,包括多种癌症。

[0986] 在一个实施方案中,提供用于抑制表达 IGF-1R 和 ErbB3 的肿瘤细胞的增殖的方法,其包括使肿瘤细胞与抗 IGF-1R+ 抗 ErbB3 双特异性(任选地为多价)抗体接触,以使得肿瘤细胞的增殖受到抑制、减缓或停止,或使得肿瘤细胞死亡。

[0987] 本文提供用于治疗与 ErbB3 和 / 或 IGF-1R 依赖性信号传导相关的疾病或病症的方法,其通过向患者施用有效治疗所述疾病或病症的量的本文公开的抗体来进行。适合疾病或病症包括例如多种癌症,包括(但不限于)乳癌和下文所述的癌症。在一个实施方案中,用于治疗患有增生性疾病(如癌症)的受试者的方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的一种或多种本文所述的抗体,如抗 IGF-1R+ 抗 ErbB3 双特异性抗体。

[0988] 还提供用于治疗患者的表达 IGF-1R 和 ErbB3 的肿瘤的方法(或双特异性抗体,例如在用于治疗所述肿瘤的药物中),所述方法包括施用有效量的如本文所述的抗体(例如有效使肿瘤生长减缓或停止,或使肿瘤收缩,或使肿瘤侵袭或肿瘤转移减缓或停止)。可治疗任何表达 IGF-1R 和 ErbB3 的肿瘤,包括以下癌症的肿瘤:肺癌、肉瘤、结肠直肠癌、胰腺癌、前列腺癌、肾细胞癌、头颈鳞状细胞癌(HNSCC)、黑素瘤和乳癌。所述肿瘤的特定实例包括:非小细胞肺癌、尤文氏肉瘤(Ewing's sarcoma)、他莫昔芬(tamoxifen)抗性雌激素受体阳性乳癌、曲妥珠单抗抗性或拉帕替尼(lapatinib)抗性 HER2 阳性转移性乳癌、吉非替尼(gefitinib)抗性或埃罗替尼(erlotinib)抗性肺癌、西妥昔单抗抗性或盘尼图单抗抗

性结肠直肠癌、西妥昔单抗抗性头颈鳞状细胞癌 (HNSCC) 和埃罗替尼抗性胰腺癌。

[0989] 还提供包含一种或多种本文公开的抗体的试剂盒。所述试剂盒可包括指示试剂盒内含物的预定用途且任选地包括使用所述试剂盒治疗与 ErbB3 和 / 或 IGF-1R 依赖性信号传导相关的疾病或病症 (例如治疗肿瘤) 的说明的标签。术语标签包括于试剂盒上或与试剂盒一起供应或以其它方式伴随试剂盒的任何书面、销售材料或记录材料。

[0990] 本文提供的治疗肿瘤的方法可进一步包括施用第二抗癌剂与所述抗体的组合。因此涵盖新颖药物组合物, 其包含本文公开的抗体, 连同第二抗癌剂 (通常为生物药剂) 一起, 连同至少一种药学上可接受的载剂或赋形剂一起。

[0991] 药物组合物

[0992] 在另一态样中, 提供用于治疗患者的肿瘤的组合物 (例如药物组合物) 以及使用各所述组合物治疗患者的肿瘤的方法。本文提供的组合物含有与药学上可接受的载剂配制于一起的一种或多种本文公开的抗体。如本文所用, “药学上可接受的载剂” 包括任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂、和其生理上相容的类似物。优选地, 载剂适于静脉内、肌肉内、皮下、肠胃外、脊柱或表皮施用 (例如通过注射或输注)。取决于施用途径, 抗体可包覆于物质中以保护其免遭酸或其它可能使蛋白质失活的自然条件的作用。

[0993] 药物组合物可单独施用或与疗法组合 (即与其它药剂组合) 施用。举例来说, 组合疗法可包括本发明的抗体与至少一种其它治疗剂, 如抗癌剂。药物组合物还可与另一抗癌治疗模态 (如放射疗法和 / 或手术) 结合施用。

[0994] 本发明的组合物可通过所属领域中已知的多种方法施用。如本领域的技术人员所了解, 施用的途径和 / 或模式将根据所要结果而变。

[0995] 为通过某些施用途径施用本文提供的组合物, 可能有必要或需要将抗体用防止其失活的物质涂布或将抗体与防止其失活的物质共同施用。举例来说, 抗体可于适当载剂中 (例如于脂质体或稀释剂中) 施用给患者。药学上可接受的稀释剂包括生理食盐水和水性缓冲溶液。脂质体包括水包油包水 CGF 乳液以及常规脂质体。

[0996] 药学上可接受的载剂包括无菌水性溶液或分散液以及用于临时制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末。所述介质和药剂用于药物活性物质的用途在所属领域中为已知的。除非任何赋形剂、稀释剂或药剂与活性化合物不相容, 否则涵盖其在本文提供的药物组合物中的使用。还可将补充性活性化合物 (例如其它抗癌剂) 并入组合物中。

[0997] 治疗性组合物通常必须无菌且在制造和储存条件下稳定。组合物可配制为溶液、微乳液、脂质体或适于高药物浓度的其它有序结构。载剂可为含有例如水、乙醇、多元醇 (例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等) 和其适合混合物的溶剂或分散介质。生理食盐水溶液和水性右旋糖和甘油溶液可用作液体载剂, 尤其用于可注射溶液。必要时, 组合物还可含有少量湿润剂或溶解度增强剂、稳定剂、防腐剂或 pH 缓冲剂。在许多情况下, 在组合物中包括等渗剂 (例如氯化钠)、糖、多元醇 (如甘露糖醇、山梨糖醇、甘油、丙二醇和液体聚乙二醇) 为适用的。可注射组合物的延长吸收可通过在组合物中包括延迟吸收的药剂 (例如单硬酯酸盐和明胶) 来达成。

实施例

[0998] 以下实施例不应解释为限制本发明的范围。

[0999] 材料和方法

[1000] 在实施例通篇中,除非另外说明,否则使用以下材料和方法。一般来说,除非另外指示,否则本发明技术的实施采用化学、分子生物学、重组 DNA 技术、免疫学(尤其例如抗体技术)、药理学、制药学的常规技术以及多肽制备中的标准技术。

[1001] 配体

[1002] 如这些实施例和图式中所用,“HRG”是指称为异调蛋白 1 β 1 的异调蛋白同种型(有时称为 HRG1-B、HRG- β 1、神经调节蛋白 1(neuregulin 1)、NRG1、神经调节蛋白 1 β 1、NRG1-b1 或 HRG ECD),例如 R&D Systems, 377-HB-050/CF。如这些实施例和图式中所用,IGF-1 是指胰岛素样生长因子 1,例如 R&D Systems, 291-GI-050/CF。

[1003] 细胞系

[1004] 下文所述的实施例中所用的所有人细胞系可如所述自美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection;ATCC, Manassas, VA) 或美国国家癌症研究院(US National Cancer Institute;NCI),例如自癌症治疗和诊断学分部(Division of Cancer Treatment and Diagnostics;DCTD) 获得。

[1005] • MCF7 - ATCC® 目录号 HTB-22™

[1006] • ADRr-NCI(登记为 NCI/ADR-RES)

[1007] • BxPC-3 - ATCC® 目录号 CRL-1687™

[1008] • DU145 - ATCC® 目录号 HTB-81™

[1009] • Caki-1- ATCC® 目录号 HTB-46™

[1010] • SK-ES-1 - ATCC® 目录号 HTB-86™

[1011] 使用小鼠抗人 IGF-1R 单克隆抗体 mAb391(IgG1, R&D Systems MAB391) 作为抗 IGF-1R IgG 抗体对照。

[1012] 实施例 1:靶向多种信号传导路径的抗体治疗剂的合理工程改造

[1013] ErbB 路径因 ErbB 受体在特定癌症类型中的高表达而长期受到癌症研究关注:HER2/ErbB2 为在一些乳癌中扩增的基因,且 EGFR/ErbB1 在结肠癌和 NSCLC 中高表达。对于所述路径的两个成员 EGFR/ErbB1 和 HER2/ErbB2,已批准单克隆抗体药剂(例如西妥昔单抗和曲妥珠单抗)和小分子酪氨酸激酶抑制剂(例如埃罗替尼、拉帕替尼)。这些治疗剂干扰细胞外刺激物活化下游细胞内信号传导网络的能力;然而,鉴于 ErbB 信号传导网络十分复杂(图 9A),因此难以确定何者代表最佳治疗策略。除 EGFR/ErbB1 和 HER2/ErbB2(缺乏配体结合活性)外,ErbB 路径还存在两个其它成员 -ErbB3(激酶死亡(kinase-dead))和 ErbB4。所有四种受体在配体活化后均可不同程度地彼此二聚化,促成细胞内信号传输所需要的必需步骤。二聚化后,受体可内化且以取决于二聚体类型以及下游信号传导路径(诸如 PI3K 路径)的活化状态的速率再循环。

[1014] ErbB 网络的复杂性与测量关键组分的丰度和活化状态的能力组合使得所述网络适合进行计算模拟。通过使用计算模拟,多种生物现象可得到充分描述,如受体转运的二聚化依赖性、信号扩增经由反馈环路的控制和信号传播的配体依赖性。举例来说,为确定抑制 ErbB 路径的最佳策略,建立网络模型来描述 PI3K/AKT 路径响应于配体乙胞素和异调蛋白

的活化,所述配体分别选择性活化 EGFR/ErbB1 或 ErbB3 异二聚体。所述机械模型表示以下过程:配体结合;受体二聚化;受体转运和信号传播,以及由质量作用动力学定义的一系列反应。为作出可靠预测,须首先使用捕捉关键动态事件,具体来说 ErbB 受体和 PI3K/AKT 途径的活化的时间和剂量依赖性实验对机械模型进行训练。通过敏感性分析鉴别具有最大影响的网络组分,在所述敏感性分析中精细干扰网络的各组分且评定对下游输出的相对贡献(图 9B)。

[1015] 使用这些方法,产生 ErbB 网络的计算模型,其鉴别出激酶死亡 ErbB3 为 PI3K/AKT 途径的最强活化因子。实际上,尽管在异调蛋白或乙胞素存在下 ErbB3 的表达水平低,但 ErbB3 仍提供对模型中 PI3K/AKT 途径活化的最强贡献。值得注意的是,此计算机(in silico)观测甚至适用于表达相对低水平的 ErbB3 和水平高达 10 倍的 EGFR/ErbB1 或 HER2/ErbB2 的细胞系。

[1016] 除鉴别最佳靶标外,机械模拟还可用于确定最佳治疗设计特征。在靶向激酶死亡 ErbB3 的情况下,治疗性单克隆抗体的优化模拟利用若干设计特征,如与 ErbB3 的结合、阻止异调蛋白结合和阻断二聚化,其中特别关注阻断配体诱导的 EGFR/ErbB3 二聚化。模拟用于经由模拟一定解离速率常数范围内的抑制剂确定达成 AKT 磷酸化的最大抑制所需的亲和力。根据此模拟,预测 1 纳摩尔浓度的亲和力足以达成最大抑制剂效力,而更高亲和力抑制剂仅显示有限提高(图 9C 和图 9D)。

[1017] 双特异性药剂与生物系统相互作用的复杂性增加产生甚至更大的利用机械模拟来指导工程改造努力的机会。所有双特异性蛋白质以与对各靶标的亲和力、亲合性增强的交联能力和各靶标的相对丰度相关的方式结合其靶标。设计针对有效抑制优化的双特异性剂还需要关于竞争性配体和二聚化搭配物(如果其存在)的亲和力以及活化共同下游信号传导级联中各靶标的相对强度和后续细胞生长和存活机制的知识。合意表观 K_d 可经由多轮亲和力和亲合性改良达成,且模拟模型可指导工程改造努力朝向最适合分子格式和流线优化途径发展。模拟可用于探究双特异性蛋白质构想用于转换靶标亲和力、亲合性和靶标表达水平的性能。

[1018] 旨在以针对各靶标的单一结合部分抑制两种细胞表面生长因子受体(IGF-1R、ERBB3)的双特异性抗体

[1019] 所有双特异性蛋白质以与对各靶标的亲和力、亲合性增强的交联能力和各靶标的相对丰度相关的方式结合其靶标;双特异性剂与生物系统相互作用的复杂性增加产生甚至更大的利用机械模拟来指导工程改造努力的机会。设计针对有效抑制优化的双特异性剂还需要关于竞争性配体和二聚化搭配物(如果其存在)的亲和力以及活化共同下游信号传导级联中各靶标的相对强度和后续细胞生长和存活机制的知识。合意表观 K_d 可经由多轮亲和力和亲合性改良达成,且模拟模型可指导工程改造努力朝向最适合分子格式和流线优化途径发展。模拟可用于探究双特异性蛋白质构想用于转换靶标亲和力、亲合性和靶标表达水平的性能。

[1020] 在所述系统中模拟旨在以针对各靶标的单一结合部分抑制两种细胞表面生长因子受体(IGF-1R 和 ErbB3)的双特异性抗体的剂量反应行为揭示出当 ErbB3 表达较高时 IGF-1R 受到更有效抑制,且当 ErbB3 表达较低时抑制效力较低(图 10A)。因此,双特异性抗体抑制 IGF-1R 的能力取决于其有效结合。此现象对靶标的相对表达和双特异性抗体针

对靶标的相对亲和力具特异性：IGF-1R 的表达对 ErbB3 抑制影响较小，因为双特异性抗体模拟成结合 ErbB3 的亲和力比 IGF-1R 高（图 10B）。对于双特异性抑制剂，此受体水平依赖性行为可严重限制总体功效，如对两种路径所共有的下游细胞内读数 AKT 的模拟影响所示：预测当 ErbB3 表达不足时对 pAKT 的抑制作用不好，因为 IGF-1R 未受到充分抑制（图 10C）。此模型系统的模拟揭示出针对各靶标的双特异性抑制剂的性能可高度取决于两种靶标的相对表达；所述信息可用于治疗性设计。

[1021] 受体水平依赖性对双特异性剂效力的影响可经由模拟多种假定癌细胞来广泛研究，其中各靶标的表达水平在临床上相关的范围内变化且计算各靶标和下游读数的 IC50 并在反应表面上绘图。IC50 反应表面的形状取决于潜在路径相互作用。ErbB3 为下游信号传导的较强活化因子，且界定双特异性抑制剂将最有效的区域。模拟具有针对各靶标的单一结合部分的双特异性剂揭示出对下游靶标的最有效抑制作用集中于具有相等靶标表达的区域。实际上，当任一靶标过度表达少至 5 倍时，IC50 值可增加多达 100 倍，效力产生实质性损失。

[1022] 将肿瘤细胞系或临床样品中的实际靶标水平定位于 IC50 反应表面上可用于通过揭示出最有效抑制作用区域是否与相关患者群体重叠来指导治疗性改良努力。可首先经由模拟研究变换所预测最佳效力的区域以治疗不同或更广泛患者群体的策略。IgG 样双特异性抗体具有两个针对各靶标的结合部分且因此除交叉靶标亲合性外还展现相同靶标亲合性，从而提高对各靶标的有效结合亲和力。模拟具有等于二价双特异性蛋白质的单价结合亲和力的 IgG 样双特异性抗体展示此格式关于性能对交叉靶标亲合性的依赖性较低：最佳效力的区域比单价双特异性广。因此，如果目的在于治疗广泛的患者群体，那么模型预测将可使用 IgG 样双特异性设计。

[1023] 在改良最佳效力区域时对抗体功能进行亲和力成熟的效益还可经由模拟来检验。模拟非最佳四价双特异性剂在受体空间范围内的下游靶标抑制鉴别出不良抑制的区域，尤其在 IGF-1R 表达较高时。经由降低解离速率使双特异性剂针对 IGF-1R 的单价结合亲和力增加至 10 倍预测亲和力成熟将达成的提高。在 IGF-1R 表达较高和 ErbB3 表达较高的两种情况下下游靶标均受到显著更有效地抑制，表明针对一个靶标的亲和力成熟经由交叉靶标亲合性增强针对第二靶标的效力。

[1024] 将这些考虑因素设定为概念验证 IgG 样双特异性治疗性蛋白质的优化方案的准则，所述治疗性蛋白质显示有效抑制生长因子诱导的信号传导和在异种移植模型中抑制肿瘤，从而确认所述设计准则。此蛋白质包含针对 IGF-1R 的 IgG 抗体框架和针对 ErbB3 的两个 C 端融合 scFv 模块，但不适于下游开发，因为其含有不具有足够固有稳定性的不稳定 scFv 模块。此现象已充分了解且已描述使用多种技术针对稳定性对 scFv 模块进行工程改造，所述技术包括接头优化、二硫键工程改造、靶向诱变、共变异分析、稳定框架上的环移植、结构指导的设计、聚焦设计和噬菌体展示。

[1025] 为将 scFv 模块亲和力和稳定性的优化组合于单个方案内，使用结构指导的设计、酵母表面展示和微小规模生物物理学表征的组合。设计结构指导的 scFv 变异体，其中引入稳定性增强突变，对赋予潜在 CMC 不利作用的基元进行突变，移除或置换非典型框架氨基酸，且在 CDR 的低多样性部分中引入变异。因为酵母细胞具有真核生物翻译后修饰和多肽输出机构，因此监测表面表达水平，所述表达水平据报导预测热稳定性和可溶性分泌效率。

除热激发外,还开发“烧煮结合 (cook-and-bind)”方案。在此实验中,不稳定 scFv 模块伸展,而稳定的高亲和力蛋白质保持结合于抗原且因此富集(图 11A)。分离个别克隆后,对融合于酵母表面的 scFv 进行激发且基于通过流式细胞测量术测量的残余亲和力选择克隆(图 11B)。酵母表面上展示 Kd 提高 10 倍的热稳定性 scFv 模块产生为可溶性蛋白质且选择显示抗原结合改良、抑制生长因子信号传导和可接受的稳定性的蛋白质。使这些优化 scFv 模块以 C 端融合于 IGF-1R 抗体。在瞬时表达系统中表达所得 IgG 样蛋白质,使用蛋白质 A 色谱进行纯化,且使用生物物理学、生物活性和细胞信号传导测定进行概况分析。在多种适用生物物理学技术中,发现微差扫描荧光和热失活测定在 1 至 5 微克规模下提供最多信息。由微差扫描荧光概况分析和热失活测定构成的微小规模筛分允许选择具有提高的血清和聚集稳定性的双特异性剂。微差扫描荧光概况分析和热失活测定得到关于稳定性最低蛋白质结构域的伸展速率和聚集速率的互补信息。这些数据定性预测 IgG 样双特异性抗体的血清和聚集稳定性(图 12)。具有稳固敏感性微小规模测定的重要性难以高估,因为其直接转变成在单个设计方案内审查较大数量的不同候选物的能力。使用正常规模测定:与表达两种靶标的 BxPC-3 细胞的结合来确认经过工程改造的 IgG 样双特异性蛋白质的改良的效力和稳定性(图 13)。这表明,特征在于对多功能性蛋白质的模块进行平行聚焦工程改造,接着进行高通量制备和表征的方法通常适用于在一个治疗性设计循环的情形中提高靶标双特异性抗体样蛋白质的效力和可制造性。

[1026] 实施例 2 :IgG 四价双特异性蛋白质的制备、表达和纯化

[1027] 基本上如下制备用于实施例 3 中所述的实验中的三种抗 ErbB3-抗 IGF-1R IgG2 四价双特异性蛋白质 (“ELI-7”、“ILE-10”和“ILE-12”)和其它对照蛋白质。ELI-7、ILE-10 和 ILE-12 具有结构 IgG2(scFv)₂。

[1028] ELI-7 为包含抗 ErbB3IgG2 抗体的抗 ErbB3/抗 IGF-1R IgG2 四价双特异性蛋白质,其中抗 IGF-1R scFv 连接于 IgG2 蛋白质的重链的各 C 端。

[1029] ILE-10 和 ILE-12 为包含抗 IGF-1R IgG2 抗体的抗 IGF-1R/抗 ErbB3IgG2 四价双特异性蛋白质,其中抗 ErbB3scFv 连接于 IgG2 蛋白质的重链的各 C 端。

[1030] ELI-7、ILE-10 和 ILE-12 的结构和关系阐明于表 6 中。简单地说,其均包含相同抗 IGF-1R VH 序列 (“模块 5-7”)。ILE-10 与 ILE-12 仅在 ErbB3scFv 的序列上不同。ILE-10 与 ELI-7 包含相同抗 IGF-1R 和抗 ErbB3VH 序列,且不同之处在于 ILE-10 具有 IGF-1R Fab 和 ErbB3scFv (“ILE”)且 ELI-7 具有相反构型 (“ELI”)。对照抗体为单特异性且各自包含与双特异性抗体中所存在的结合位点同源的结合位点。

[1031] 表 6 :实施例 2 和 3 中所用的蛋白质的描述

[1032]

	抗 IGF-1R 模块	抗 ErbB3 模块	方向
ELI-7	5-7	2-3	ErbB3 - IGF-1R
ILE-10	5-7	2-3	IGF-1R - ErbB3
ILE-12	5-7	2-21	IGF-1R - ErbB3
抗 IGF-1R Ab 模块 5-7	5-7	-	-
抗 ErbB3 Ab 模块 2-3	-	2-3	-
抗 ErbB3 Ab 模块 2-21	-	2-21	-

[1033] 本文实施例 2-3 的许多公开内容（包括 ELI-7、ILE-10 和 ILE-12）可见于 PCT 申请 PCT/US2010/052712 中。

[1034] 各蛋白质的轻链和重链的氨基酸序列如下：ELI-7 的重链：SEQ ID NO:316。ELI-7 的轻链：SEQ ID NO:317。ILE-10 的重链：SEQ ID NO:318。ILE-12 的重链：SEQ ID NO:319。ILE-10 和 ILE-12 的轻链：SEQ ID NO:320。

[1035] 使用标准重组 DNA 技术将编码所述蛋白质（称为“融合蛋白”）的核酸作为单一蛋白质克隆到表达质粒中。所用表达载体为 pMP 10K (SELEXIS)。将表达质粒线性化，使用 QIAquick® 纯化试剂盒 (QIAGEN) 纯化，且使用 Lipofectamine™ LTX (Invitrogen) 共转染至 CHO 细胞中。转染的细胞在无选择压力下利用含有 10% FBS 的 F12Hams 培养基恢复 2 天，接着在选择压力下恢复 4 天。4 天后，在选择压力下将其更换至含有谷氨酰胺的无血清培养基 (Hyclone) 中。一周后，检查细胞的表达且放大至所要体积。使用三个色谱步骤的组合纯化所有蛋白质：蛋白质 A 亲和色谱、阳离子交换色谱和阴离子交换色谱。各自根据制造商的说明进行。蛋白质 A 亲和色谱步骤用于将融合蛋白自收集的细胞培养物流体 (HCCF) 中选择性地且有效地结合出来。此步骤在单一步骤中以高产率和高通量移除 >95% 的产物杂质。此步骤后融合蛋白的所要分子形式的部分在百分之 60 至 98 范围内。使用来自 GE 的 MABSELECT 作为蛋白质 A 亲和树脂。在第二色谱步骤中使用来自 GE 的 SPFF (磺丙基速流 (sulphopropyl fast flow)) (一种基于琼脂糖的树脂) 作为阳离子交换树脂。此步骤后融合蛋白的所要分子形式的部分在百分之 90 至 99 范围内。在第三和最终色谱步骤中使用来自 GE 的 QSFF (季胺琼脂糖凝胶速流 (Quaternary-amine sepharose fast flow)) (一种基于琼脂糖的阴离子交换树脂)。将经过纯化的物质浓缩且透析至 PBS 中。此步骤后融合蛋白的最终产率在 20mg-100mg/L 的范围内。

[1036] 实施例 3：抗 ErbB3+ 抗 IGF-1R IgG 四价双特异性蛋白质的结合和生物活性

[1037] 此实施例展示抗 IGF-1R+ 抗 ErbB3 IgG 四价双特异性蛋白质 (ELI-7) 以高亲和力结合 IGF-1R 和 ErbB3 (也如对于两种类似蛋白质 ILE-10 和 ILE-12 所示)，有效抑制 1) 自 IGF-1R 和 ErbB3 受体开始的信号转导，2) AKT 磷酸化，和 3) 体外和体内的肿瘤细胞增殖。基本上如下获得结果。

[1038] A) ELI-7、ILE-10 和 ILE-12 与 IGF-1R 和 ErbB3 的结合

[1039] 将 1×10^5 个 MCF7 细胞或 1×10^5 个 ADRr 细胞在室温下与 2uM 的 ELI-7、ILE-10 和

ILE-12(两种抗 ErbB3 抗体和一种抗 IGF-1R 抗体)各自一起孵育 2 小时,接着进行 12 次后续 3 倍稀释。接着使用山羊抗 HSA-Alexa647 结合的抗体作为检测抗体,将细胞在冰上孵育 40 分钟。通过 FACS 评定抗体对 MCF7 和 ADRr 细胞的细胞结合解离常数(结合亲和力的量度)且测定各蛋白质的表观解离常数。获得以下结果(还参见图 14A 和 14B)。

[1040] 表 7 :双特异性蛋白质的结合 Kd

[1041]

抑制剂	Kd(nM)	
	ADRR(n=3)	MCF7(n=1)

[1042]

ELI-7	2.5	2.1
ILE-10	7.1	4.5
ILE-12	0.3	0.6
抗 ErbB3 IgG(模块 2-21)	0.4	0.04
抗 ErbB3 Ig(模块 2-3)	1.2	0.9
抗 IGF-1R Ig(模块 5-7)	5.1	5.6

[1043] 结果展示 IgG 双特异性剂(即 ELI-7、ILE-10、ILE-12)结合于两种细胞类型,在一些情况下在低浓度下具有较强结合,表明有效结合和能够结合各受体。IgG 双特异性剂对于等同的单克隆抗体组分具有类似 Kd。

[1044] B)ELI-7 和 ILE-7 对 IGF-1R、ErbB3 和 Akt 的信号抑制作用

[1045] ELI-7 和 ILE-7 拮抗 IGF-1R 和 ErbB3 以及抑制下游组分 IGF-1R、ErbB3 和 Akt 活化(磷酸化)的能力;检查磷酸化。将 3.5×10^4 个 BxPC-3 细胞与 0.3 μ M 的抗体一起预孵育 1 小时,接着进行 9 次后续 3 倍稀释以得到 10 点曲线。细胞用 80ng/ml 的 IGF-1 和 20ng/ml 的异调蛋白处理 15 分钟。通过 ELISA(R&D Systems;目录号 DYC1770)测量产生磷酸化 IGF-1R(pIGF-1R)的 IGF-1R 磷酸化,以评估药剂抑制 pIGF-1R 形成的能力。通过 ELISA(R&D Systems;目录号 DYC1769)测量 ErbB3 的磷酸化,以评估药剂抑制 pErbB3 形成的能力。使用以下抗体通过 ELISA 测量 AKT 的磷酸化:抗 AKT,克隆 SKB1(Millipore,目录号 05-591);生物素化抗磷酸化 AKT(Ser⁴⁷³特异性;Cell Signaling Technology 目录号 5102)。ILE-7 为具有与 ELI-7 相同的结合位点的三价蛋白质且描述于 PCT/US2010/052712 中。图 15A-15C 示出基本上如上文关于 ILE-7 和 ELI-7 所述获得的结果。所获得的结果也概述于下表中。

[1046] 表 8 :ELI-7 对 ErbB3、IGF-1R 和 AKT 磷酸化的抑制作用

[1047]

	Ki(nM)	
	ELI-7	ILE-7
pAKT	6.3	1.3
pErbB3	1.3	0.6
pIGF-1R	14.1	0.8

[1048] 结果表明 ELI-7 抑制 ErbB3、IGF-1R 和 Akt 的磷酸化,即使在使用 IGF-1 和 HRG 同时刺激时也是如此。

[1049] C) 在二维培养物中 ELI-7 的细胞生长抑制作用

[1050] 使用 CTG 测定体外检查 ELI-7 对肿瘤细胞增殖的作用,所述测定为基于荧光的测定,其测量所存在的细胞 ATP 的量 (Promega ;目录号 PR-G7572),如相对光单位 (RLU) 所指示。将每孔 500 个细胞的 DU145 细胞在具有 80ng/ml IGF-1 和 20ng/ml HRG 且含有始于 2 μ M 的 3 倍抑制剂稀释液的培养基中孵育 6 天。对照由在无生长因子或抗体存在下孵育的 DU145 细胞组成。

[1051] 基本上如上文所述获得的结果表明,ELI-7 抑制 DU145 细胞的生长 ($K_i = 12$ nM,参见图 16),而 IGF-1R 或 ErbB3 的抑制剂对细胞生长无影响。

[1052] 对另一细胞系进行类似实验。每孔 2000 个 BxPC-3 细胞在含有始于 1 μ M 的 3 倍抑制剂稀释液的培养基中孵育 6 天。对照由来自人骨髓瘤浆的 IgG2 κ (Sigma Aldrich 目录号 I5405) 组成。

[1053] 基本上如上文所述获得的结果表明,ELI-7 使 BxPC-3 生长抑制 46% ($p < 0.001$, 学生 T 测试 (Student's T-test)) (图 17)。

[1054] D) 癌症的人异种移植物小鼠模型中双特异性蛋白质的肿瘤生长抑制作用

[1055] 本实施例展示 ELI-7 在癌症的小鼠模型中在两个不同模型中抑制肿瘤生长。

[1056] 首先计算各双特异性蛋白质在小鼠体内的药物动力学性质。将 600 μ g ELI-7 或 500 μ g 各连接 HSA 的三价对照蛋白质 (ILE-3、ILE-7 和 ILE-9 ;描述于 PCT/US2010/052712 中) 经由尾静脉注射至各小鼠体内 (每个抑制剂和时间点 4 只小鼠)。此后在不同时间点抽取血液 (首先处死小鼠且接着通过心脏穿刺抽取血液)。ELI-7 的时间点为 :0.5、4、24、72、120、168 和 240 小时。三价对照蛋白质的时间点为 :0.5、4、8、24、28、72 和 120 小时。对于 ELI-7,使用抗人 IgG ELISA 试剂盒 (Bethyl labs 目录号 E80-104) 根据制造商的说明测量血液浓度。对于三价蛋白质,使用特异性检测 IGF-1R 和 ErbB3 结合的 ELISA 试剂盒测量血液中的浓度,将盘用以 His 标签标记的人 IGF-1R 涂布,与三价蛋白质或 ELI-7 一起孵育,接着用人 ErbB3-Fc (R&D Systems) 和抗 Fc-HRP 检测试剂进行检测。使用单隔室模型计算各蛋白质的药物动力学性质 (半衰期和 C_{max})。获得以下结果 :

[1057] 表 9 :小鼠血液中 ELI-7 的半衰期和 C_{max}

[1058]

抗体	半衰期 (小时)	Cmax ($\mu\text{g/ml}$)
ELI-7	48	612
ILE-3	15	410
ILE-7	14	516
ILE-9	17	447
抗 IGF-1R IgG(模块 5-7)	124	517
抗 ErbB3 IgG(模块 2-3)	58	645

[1059] 模拟药物特异性半衰期导致预测以下剂量将产生相等暴露量（或在 ILE-7 的情况下 50% 相当暴露量）：

[1060] 表 10：相等暴露量的预测剂量

[1061]

表 10	剂量(μg)
ELI-7	600
ILE-7	800
抗 IGF-1R IgG(模块 5-7)	300
抗 ErbB3 IgG(模块 2-3)	500

[1062] 接着通过向各小鼠侧腹的皮下空间中注射 5×10^6 个 BxPC-3 细胞（悬浮于 PBS 与减去生长因子的基质胶的 1:1 混合物中；BD Biosciences 目录号 354230）来评定 ELI-7 对小鼠模型中人胰腺癌异种移植肿瘤生长的影响。允许肿瘤发展 7-10 天（直至其达到约 $100\text{--}200\text{mm}^3$ 的体积），且接着测量各小鼠的肿瘤尺寸（ $\pi/6 \times \text{长度} \times \text{宽度}^2$ ，其中宽度为最小测量值）。接着对小鼠进行尺寸匹配且随后随机分配至治疗组中。接着每 3 天注射 ELI-7、三价对照蛋白质（ILE-7）、抗 ErbB3 抗体、抗 IGF-1R 抗体或 PBS 对照直至研究完成。

[1063] 结果（图 18 和 19）显示与 PBS 对照相比，ELI-7 显著抑制 BxPC-3 肿瘤的异种移植肿瘤生长：用 ELI-7 治疗的肿瘤与 PBS 对照相比最终肿瘤体积小 77%（p 值通过学生 T 测试测定）。第 0 天是指给药第一天。

[1064] 通过向各小鼠侧腹的皮下空间中注射 5×10^6 个 DU145 细胞（悬浮于 PBS 与减去生长因子的基质胶的 1:1 混合物中；BD Biosciences 目录号 354230）来评定 ELI-7 对小鼠模型中人前列腺癌异种移植肿瘤生长的影响。允许肿瘤发展 7-10 天（直至各自达到约 $100\text{--}200\text{mm}^3$ 的体积），且接着测量各小鼠的肿瘤尺寸（ $\pi/6 \times \text{长度} \times \text{宽度}^2$ ，其中宽度为最小测量值）。接着对小鼠进行肿瘤尺寸匹配且随后随机分配至治疗组中。接着每 3 天注射 ELI-7、三价对照蛋白质（ILE-7）、抗 ErbB3 抗体、抗 IGF-1R 抗体或 PBS 对照直至研究完成。

[1065] 结果（图 20A 和 20B）显示 ELI-7 显著抑制 DU145 细胞的异种移植肿瘤生长，而对照抗 IGF-1R 和抗 ErbB3 抗体不能：用 ELI-7 治疗的肿瘤与 PBS 对照相比最终肿瘤体积小

50% (p 值通过学生 T 测试测定)。第 0 天是指给药第一天。

[1066] E)ELI-7 在宽泛的 ErbB3 和 IGF-1R 受体水平范围内抑制信号传导

[1067] 为确定 ELI-7 是否可在宽泛的 ErbB3 和 IGF-1R 受体水平范围内抑制下游信号传导,进行以下实验:

[1068] 通过使用 pLK0.1PURO 载体 (Sigma) 在 BxPC-3 细胞中进行 shRNA 介导的 IGF-1R 或 ErbB3 基因表达阻断 (knockdown) 来改变 BxPC-3 细胞受体水平。shRNA 序列提供于 PCT/US2010/052712 中。接着通过定量 FACS 测量 ErbB3 和 IGF-1R 水平且自所得分布计算平均受体水平 (参见表 11 的相对表达水平)。为确定 ELI-7 的效力,对细胞进行血清饥饿且用 ELI-7 在 37°C 下预处理 1 小时,接着用 20ng/ml HRG+80ng/ml IGF1 刺激 15 分钟。通过针对 pAKT 的 ELISA 评定信号抑制。

[1069] 结果指示 ELI-7 对于具有改变的受体水平的 BxPC-3 细胞系具有类似效力,如通过其 IC50 值和重叠信赖区间所指示 (参见表 11),表明 ELI-7 具有针对一系列受体概况的宽泛活性 (图 21)。

[1070] 表 11:四种 BxPC-3 细胞系的相对受体水平和 pAkt IC50 值:

[1071]

经过工程改造的 BxPC-3细胞系	对照受体水平 的%	pAkt IC50	95%信 赖区间	Sigma-Aldrich目录号
BxPC-3非靶向对照	IGF-1R和ErbB3	3.6 nM	0.9 - 14.7 nM	SHC002V

[1072]

	水平不变			
BxPC-3-IGF-1R-mod. d.1	IGF-1R水平降低 37%	6.4 nM	2.9 - 14.1 nM	SHCLNV-NM_000875- TRCN0000039673
BxPC-3-ErbB3-mod. 1	ErbB3水平降低 48%	3.3 nM	1.4 - 8.0 nM	SHCLNV-NM_001982- TRCN0000230091
BxPC-3-ErbB3-mod. 2	ErbB3水平降低 88%	7.6 nM	1.2 - 50.0 nM	SHCLNV-NM_001982- TRCN0000018327

[1073] 实施例 4:相对于 ELI-7 具有增强的活性的抗 IGF-1R/ 抗 ErbB3 四价双特异性蛋白质 (16F) 的生物活性

[1074] 进一步改良实施例 2 和 3 中所述的概念验证蛋白质 (ELI-7) 以增加其对 IGF-1R 和 ErbB3 的结合亲和力、生物活性、稳定性和溶解度;如实施例 1 中所述。进行以下改变:(i) 将方向由抗 ErbB3 作为 IgG 组分转换为抗 IGF-1R 作为 IgG 组分;(ii) 使用结合不同表位的抗 ErbB3 结合部分;(iii) 对其 CDR3VH 区进行亲和力成熟;(iv) 对抗 IGF-1R IgG 组分进行突变以使其稳定 (稳定化突变);和 (v) 将其骨架由 IgG2 转换为 IgG1。所得蛋白质为 16F,其氨基酸序列阐明于图 7 中。

[1075] 如实施例 3 中所述,测量作为 IGF-1R 磷酸化抑制作用的函数,16F 相对于 ELI-7 的

抗 IGF-1R 效力的增加。基本上如上文所述获得的结果 (图 22) 指示经过再工程改造的蛋白质为 IGF-1R 信号转导的显著更有效抑制剂。

[1076] 基本上如实施例 3 所述测量 16F、ELI-7 和抗 IGF-1R Ab#A (加尼图单抗; SEQ ID 327+SEQ ID 328) 与抗 ErbB3Ab#A (SEQ ID 336+SEQ ID 337) 的组合经由 ErbB3 和经由抑制 AKT 磷酸化抑制信号转导的效力。这些测量在 BxPC-3 细胞中在 HRG 和 IGF1 存在下进行。基本上如上文所述获得的结果 (表 12) 指示与 ELI-7 相比, 16F 在抑制信号转导方面具有改良的功效, 所述功效与临床级抑制剂抗 IGF-1R Ab#A+ 抗 ErbB3Ab#A 的组合的功效相当。

[1077] 表 12: 16F 与 ELI-7 和临床级抑制剂的比较

[1078]

抑制剂	pErbB3 IC50(nM)	pIGF-1R IC50(nM)	pAKT IC50(nM)
ELI-7	3.7	10	9.4

[1079]

16F	0.5	1.1	2.5
抗 IGF-1R Ab# A(加尼图单抗; SEQ ID NO:327+SEQ ID NO:328) + 抗 ErbB3 Ab# A(SEQ ID NO:336+SEQ ID NO:337)	0.8	0.9	2.2

[1080] 如实施例 1 所述, 还显示经过再工程改造的双特异性剂 (即 16F) 的热稳定性和血清稳定性比 ELI-7 高。此外, 16F 的聚集倾向较低: (i) 16F 在 19mg/ml 下在 PBS 中在 4℃ 下稳定, 在 33 天内仅有约 2% 聚集; (ii) 3 次冷冻解冻循环后未观测到单体 % 发生显著变化; (iii) 在 4℃ 下振荡一天后未观测到单体 % 发生显著变化; 和 (iv) 在 37℃ 下孵育 6 天时未观测到单体 % 发生显著变化。

[1081] 由下文所述的其它比较实验得到的结果还显示 16F 在抑制信号转导方面至少与市售抗 IGF-1R 与抗 ErbB3 的组合一样有效。

[1082] 在第一组实验中, 在两个不同细胞系 (BxPC-3 和 DU145) 中比较在抑制 IGF-1R、ErbB3 或 AKT 磷酸化方面 16F (SF-G1-C8) 与抗 IGF-1R Ab#B (西妥木单抗; SEQ ID 324+SEQ ID 325)、抗 ErbB3Ab#A (SEQ ID 336+SEQ ID 337) 或抗 IGF-1R Ab#B+ 抗 ErbB3Ab#A 的有效性。

[1083] BxPC-3 和 DU145 细胞维持于补充有 10% 胎牛血清、青霉素 / 链霉素和 L- 谷氨酰胺的 RPMI-1640 培养基中。对于信号传导实验, 将 3.5×10^4 个细胞于完全培养基中接种于 96 孔组织培养盘中。第二天, 将完全培养基置换为无血清培养基且细胞在 37℃ 下孵育过夜。细胞用指定剂量的抗体预处理 1 小时, 并接着用 100ng/ml IGF-1 (Calbiochem) 和 30ng/ml HRG (R&D Systems) 刺激 15 分钟。将细胞用 PBS 洗涤并在补充有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 MPer 缓冲液中溶解。

[1084] 根据制造商的方案 (R&D Systems) 进行磷酸化 IGF-1R (pIGF-1R) 和磷酸化

ErbB3(pErbB3) 的 ELISA。用以下试剂进行磷酸化 AKT(pAKT) 的 ELISA: 抗 AKT 捕捉抗体 (Millipore)、抗 pAKT(Ser473) 检测抗体 (Cell Signaling) 和抗生蛋白链菌素 -HRP (R&D Systems)。添加 SUPERSIGNAL ELISA PICO 化学发光底物 (Pierce) 并在 PerkinElmer En Vision® 盘读取器上读取各盘。将发光值绘图且使用 Graphpad Prism 5 软件计算 IC50 值。

[1085] 基本上如上文所述获得且示出于图 23(BxPC-3 细胞) 和图 24(DU145 细胞) 和表 13 中的结果指示与抗 IGF-1R Ab#B 与抗 ErbB3Ab#A 的组合相比, 16F 显示显著更有效地抑制经由 pErbB3 和 pAKT 的双重路径信号传导。

[1086] 表 13: 图 23 中呈现的抑制剂处理的 IC50 值。

[1087]

		pIGF-1R	pErbB3	pAKT
细胞系	抑制剂	IC50	IC50	IC50
BxPC-3	16F(SF-G1-C8)	7.7E-10	2.4E-10	2.3E-09
BxPC-3	抗 IGF-1R Ab# B (西妥木单抗; SEQ ID NO:324+SEQ ID NO:325)	2.4E-09	ND	1.4E-08
BxPC-3	抗 ErbB3 Ab# A(SEQ ID NO:336+SEQ ID NO:337)	ND	5.1E-11	3.9E-10
BxPC-3	抗 IGF-1R Ab# B+抗 ErbB3 Ab# A	1.9E-09	3.2E-10	3.2E-09
DU145	16F(SF-G1-C8)	1.1E-09	2.0E-10	5.1E-10
DU145	抗 IGF-1R Ab# B(西妥木单抗; SEQ ID NO:324+SEQ ID NO:325)	9.1E-10	ND	9.8E-09
DU145	抗 ErbB3 Ab# A(SEQ ID NO:336+SEQ ID NO:337)	ND	8.2E-11	2.8E-10
DU145	抗 IGF-1R Ab# B+抗 ErbB3 Ab# A	1.0E-09	3.2E-10	9.3E-10

[1088] 在第二组实验中, 在 BxPC-3 细胞中比较在抑制 IGF-1R、ErbB3 或 AKT 磷酸化方面 16F(SF-G1-C8) 与抗 IGF-1R 抗体抗 IGF-1R Ab#A、抗 ErbB3 抗体抗 ErbB3Ab#A 或后两种抗体的组合的有效性。

[1089] 基本上如上文所述获得且示出于图 24 和表 14 中的结果指示与抗 IGF-1R Ab#A 与抗 ErbB3Ab#A 的组合相比, 16F 显著更有效抑制经由 pErbB3 和 pIGF-1R 的双重路径信号传导。

[1090] 表 14: 图 24 中呈现的抑制剂处理的 IC50 值。

[1091]

	pErbB3	pIGF-1R	pAKT
抑制剂	IC50	IC50	IC50
16F(SF-G1-C8)	5.0E-10	1.1E-09	2.5E-09
抗 IGF-1R Ab# A	ND	1.5E-10	2.6E-10

[1092]

(加尼图单抗; SEQ ID NO:327+SEQ ID NO:328)			
抗 ErbB3 Ab# A(SEQ ID NO:336+SEQ ID NO:337)	4.3E-10	ND	5.7E-09
抗 IGF-1R Ab# A+抗 ErbB3 Ab# A	8.2E-10	9.3E-10	2.2E-09

[1093] 实施例 5 :包含 SF 模块的其它抗 IGF-1R/ 抗 ErbB3IgG 四价双特异性抗体的结合和生物活性

[1094] 构建其它抗 IGF-1R+ 抗 ErbB3IgG 四价双特异性抗体。基本上如图 8 中所示通过组合三个模块来组装这些 PBA 中的每一者。各 PBA 包含一对重链融合多肽(各自包含所述三个模块各自的至少一部分),所述重链对的各成员彼此结合且各自进一步结合于一对轻链中的一者。组装成各 PBA 的三个模块为:

[1095] 1. 包含两条(基本上相同的)轻链和两条重链的 N 端的 N 端(氨基端)Fab 可变结构域模块;

[1096] 2. scFv 模块;和

[1097] 3. 插入 N 端 Fab 可变结构域模块与 scFv 模块之间的 HC IgG CR 模块。

[1098] 作为融合多肽的重链包含 N 端 Fab 模块的重链部分、IgG CR 模块和 C 端 scFv 模块。

[1099] 新的抗 IGF-1R+ 抗 ErbB3 抗体由表 15 的抗 IGF-1R 和抗 ErbB3 部分组装成按不同方向排列的模块的组合构成。对于表 15 和 16 中的每一者,所建立的各 PBA 包含含有一对基本上相同的重链多肽的融合蛋白,所述重链多肽各自包含按 N 端至 C 端(氨基至羧基)顺序左栏中命名的具有 IgG1CR(G1)的各 Fab 模块与同一表的右栏中命名的任一 scFv 模块的组合。所述其它 PBA 的重链和轻链的氨基酸序列阐明于图 5A(抗 IGF-1R+ 抗 ErbB3)和图 5B(抗 ErbB3 和抗 IGF-1R)中。

[1100] 表 15 :抗 IGF-1R- 抗 ErbB3 蛋白

[1101]

抗 IGF-1R Fab	抗 ErbB3 scFv
SF	C8

[1102]

P4	P1
M78	M1.3
M57	M27
	P6
	B69

[1103] 表 16 :抗 ErbB3- 抗 IGF-1R 蛋白

[1104]

抗 ErbB3 Fab	抗 IGF-1R scFv
P1	P4
M27	M78
M7	
B72	
B60	

[1105] 本实施例展示包含 N 端“SF”模块的抗体结合 BxPC-3 细胞, 结合 ErbB3, 抑制 IGF-1R、ErbB3 和 AKT 磷酸化, 且为稳定的。利用其它蛋白质获得的结果阐述于实施例 6 中。

[1106] A) BxPC-3 细胞结合数据

[1107] 基本上如下测量 SF-G1-P1、SF-G1-P6、SF-G1-M27、SF-G1-B69、SF-G1-M1.3 和 SF-G1-C8(16F) 与 BxPC-3 的结合。

[1108] BxPC-3 细胞维持于补充有 10% 胎牛血清、青霉素 / 链霉素和 L- 谷氨酰胺的 RPMI-1640 培养基中。移除培养基且用 PBS 洗涤 BxPC-3 细胞。添加胰蛋白酶直至细胞自培养盘脱离, 并接着用培养基 +10% 血清中和。短暂离心细胞且再悬浮于 FACS 缓冲液 (1×PBS+2% 血清 +0.1% 叠氮化物) 中。通过上下抽吸和推挤细胞穿过细胞过滤器使聚集体拆散成单细胞。短暂离心细胞且以 2×10^6 个细胞 / 毫升的密度再悬浮于 FACS 缓冲液中。在 96 孔锥形底盘中, 每孔等分 50 μ l 细胞悬浮液以得到 10^5 个细胞 / 孔。

[1109] 将抗体在 FACS 缓冲液中稀释至 1 μ M, 且进行 10 次 3 倍稀释, 其中最后的孔仅由 FACS 缓冲液组成 (无一次抗体)。将 50 μ l 抗体添加至 50 μ l 细胞中使得第一孔中的最高最终抗体浓度为 500nM。在轻缓搅拌下将细胞与抗体在室温下孵育 2 小时。将盘在 1,500RPM 下旋转 5 分钟, 且移除上清液。离心块在 FACS 缓冲液中洗涤三次。最后一次洗涤后, 移除 FACS 缓冲液, 且添加 50 μ l 在 FACS 缓冲液中按 1:100 稀释的抗 Fc-DyLight 649 二次抗体 (Abcam)。将细胞在冷室中在黑暗中在轻缓搅拌下孵育 1 小时, 再洗涤三次且再悬浮于 100 μ l 固定缓冲液 (含 1% 三聚甲醛、2% FBS 的 PBS) 中。将样品转移至 96 孔 U 形底 FACS 盘 (Becton Dickinson) 中且在 4 度下保持在黑暗中直至使用。使用 FACSCalibur (Becton Dickinson) 读取样品且使用 FlowJo 确定中值荧光强度 (MFI)。利用 GraphPad PRISM 使用对数 (促效剂) 相对于反应 (三参数) 非线性回归曲线拟合进行分析。

[1110] 结果 (图 25 和表 17 中) 指示所述双特异性抗体显示与 BxPC-3 细胞的强结合。

[1111] 表 17 :图 25 中呈示的双特异性抗体结合的 EC50 值。

[1112]

双特异性抗体	EC50 (nM)
SF-G1-C8	3.1
SF-G1-P1	4.9
SF-G1-P6	2.9
SF-G1-M27	2.7
SF-G1-B69	2.1
SF-G1-M1.3	3.5

[1113] B)ErbB3 结合数据

[1114] 基本上如下测量 SF-G1-P1、SF-G1-P6、SF-G1-M27、SF-G1-B69、SF-G1-M1.3 和 SF-G1-C8(16F) 与重组 ErbB3 的结合。

[1115] 将 96 孔 REACTI-BIND 盘 (Pierce) 用 50 μ l ErbB3-His(具有 C 端六聚组氨酸标签的 ErbB3- 于 PBS 中 2 μ g/ml)(如 SEQ ID NO:403 中所公开的“六聚组氨酸”)涂布且在 4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜。第二天,将盘用 PBS+0.05% Tween-20(PBS-T)洗涤且在室温下用 100 μ l 无蛋白质阻断缓冲液 (Pierce) 阻断 1 小时。将盘用 PBS-T 洗涤且添加 50 μ l 各双特异性抗体重复两份。浓度始于 500nM(于 PBS-T 中)且包括十份另外的两倍稀释液和一份空白(仅 PBS-T)。将盘在室温下孵育两小时且接着用 PBS-T 洗涤。添加 50 μ l 于 PBS-T 中按 1:40,000 稀释的抗 Fc-HRP(Jackson Labs),且将盘在黑暗中在室温下孵育 1 小时。盘再次用 PBS-T 洗涤且添加 100 μ l TMB 底物 (Thermo Scientific,以 1:1 混合的 TMB 与过氧化物溶液)。将盘在室温下孵育 5-15 分钟直至出现蓝色,且用 100 μ l 停止溶液 (Cell Signaling Technology) 使反应停止。在 PerkinElmer Envision 盘读取器上读取 450nm 下的吸光度,且利用 GraphPad PRISM 使用对数(促效剂)相对于反应(三参数)非线性回归曲线拟合产生结合曲线。

[1116] 结果(图 26 和表 18)指示所述双特异性抗体显示与重组 ErbB3 蛋白的强结合。

[1117] 表 18 :图 26 中呈示的双特异性抗体结合的 EC50 值。

[1118]

双特异性抗体	EC50 (nM)
SF-G1-C8	0.3
SF-G1-P1	0.4
SF-G1-P6	0.3

SF-G1-M27	0.4
SF-G1-B69	0.4
SF-G1-M1.3	0.2

[1119] C) 对信号转导的抑制作用

[1120] 基本上如下测量 SF-G1-P1、SF-G1-P6、SF-G1-M27、SF-G1-B69、SF-G1-M1.3 和 SF-G1-C8(16F) 对信号转导的抑制作用。

[1121] BxPC-3 细胞维持于补充有 10% 胎牛血清、青霉素 / 链霉素和 L- 谷氨酰胺的 RPMI-1640 培养基中。将 3.5×10^4 个细胞于完全培养基中接种于 96 孔组织培养盘中。第二天, 将完全培养基置换为无血清培养基且细胞在 37℃ 下孵育过夜。细胞用指定剂量的药物预处理 1 小时, 并接着用 100ng/ml IGF1(Calbiochem) 和 30ng/ml HRG(R&D Systems) 刺激 15 分钟。将细胞用 PBS 洗涤并在补充有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 MPer 缓冲液 (“哺乳动物蛋白质提取试剂” Pierce Thermo Scientific) 中溶解。

[1122] 如上文实施例 4 中所述进行磷酸化 IGF1R(pIGF1R)、磷酸化 ErbB3(pErbB3) 和磷酸化 AKT(pAKT) 的 ELISA。将相对发光单位 (RLU) 绘图且使用 Graphpad Prism 5 软件计算 IC50 值。

[1123] 结果 (图 27 和表 19) 指示所述双特异性蛋白质强烈抑制双重路径信号传导。

[1124] 表 19 : 图 27 中所示的抑制剂处理的 IC50 值和抑制百分比值。

[1125]

	pIGF1R	pIGF1R
抑制剂	IC50	抑制%
SF-G1-P6	8.2E-10	91.2
SF-G1-M1.3	8.0E-10	87.9
SF-G1-B69	1.2E-09	91.1
SF-G1-P1	9.2E-10	91.3
SF-G1-M27	6.0E-10	90.7
SF-G1-C8	9.5E-10	93.0

[1126]

	pErbB3	pErbB3
抑制剂	IC50	抑制%
SF-G1-P6	2.9E-10	96.6

SF-G1-M1.3	2.5E-10	97.0
SF-G1-B69	5.2E-10	97.8
SF-G1-P1	6.9E-10	95.3
SF-G1-M27	2.5E-10	98.1
SF-G1-C8	2.4E-10	94.9

[1127]

	pAKT	pAKT
抑制剂	IC50	抑制%
SF-G1-P6	1.9E-09	75.6
SF-G1-M1.3	1.2E-09	77.4
SF-G1-B69	2.7E-09	72.7
SF-G1-P1	2.4E-09	71.7
SF-G1-M27	1.4E-09	73.8
SF-G1-C8	1.5E-09	72.3

[1128] D) 双特异性蛋白质的稳定性

[1129] 已进行各种稳定性研究且其显示 SF-G1-P1、SF-G1-P6、SF-G1-M27、SF-G1-B69、SF-G1-M1.3 在血清中为稳定的,具热稳定性且在低 pH 下为稳定的。

[1130] 为测定血清稳定性,将蛋白质在小鼠血清 (Sigma) 中以 $2.5\mu\text{M}$ 的最终浓度在 37°C 下孵育 0 小时或 72 小时。接着使用上文所述的比色 ELISA 结合测定分析样品,且用 GraphPad Prism 产生结合曲线。针对 0 小时各曲线的拐点将吸光度值校正以确定血清中 37°C 下 72 小时后保留的结合百分比。

[1131] 基本上如上文所述获得的结果 (图 28) 指示所测试的各 PBA 在 72 小时后具有至少 70% 的 (校正) 血清稳定性。某些 PBA 具有约 100% 的稳定性。

[1132] 为测定热稳定性,使用在上文所述的 ELISA 结合实验中产生的结合曲线计算各 PBA 的 EC90 值。各 PBA 于 PBS 中制备为其 EC90 值的 5 倍且以每孔 $50\mu\text{l}$ 转移至 PCR 盘 (Bio-Rad) 中。短暂离心各盘且置于 ICYCLER IQ 梯度 PCR 机 (Biorad) 中以历时 1 小时将抗体自 47°C 加热至 72°C 。各抗体的等份试样还在 25°C 和 37°C 下保持 1 小时。接着将各盘在 2,000RPM 下离心 5 分钟且将上清液在 PBS-T 中稀释五倍至其 EC90 浓度。接着使用上文所述的比色 ELISA 结合测定分析样品,且针对 25°C 校正吸光度。用 GraphPad Prism 产生结合曲线以确定 T_{50} 值。

[1133] 基本上如上所述获得的结果 (表 20) 指示 T_{50} 值在 46.7°C 至 62.6°C 间变化。

[1134] 表 20 :在 25-72℃下孵育 1 小时的各双特异性抗体的 T_{50} 值

[1135]

双特异性抗体	T_{50}
SF-G1-C8	62.1℃
SF-G1-P1	46.7℃
SF-G1-P6	62.4℃
SF-G1-M27	56℃
SF-G1-B69	62.6℃
SF-G1-M1.3	46.7℃

[1136] 通过微差扫描荧光测定法 (DSF) 测定 PBA 伸展时的温度。在 IQ5 实时检测系统 (Bio-Rad) 中进行 DSF 分析。将 20 μ l 的 15 μ M 双特异性抗体、1 \times Sypro Orange (Invitrogen Life Technologies) 和 1 \times PBS 的溶液添加至 96 孔盘的孔中。以 1℃/min 的加热速率将盘自 20℃加热至 90℃。将数据转移至 GraphPad Prism 进行分析。

[1137] 基本上如上所述获得的结果 (表 21) 指示蛋白质在不同温度下伸展。

[1138] 表 21 :如通过 DSF 所测定,各双特异性抗体的 T_m 值

[1139]

双特异性抗体	T_m
SF-G1-C8	69℃
SF-G1-P1	54℃
SF-G1-P6	61℃
SF-G1-M27	55℃
SF-G1-B69	61℃
SF-G1-M1.3	64℃

[1140] 为测定 pH3 稳定性,将 SF-G1-C8 储备溶液稀释至 0.1M 乙酸 (pH 3.0) 中且孵育 1 小时。接着用 1M Tris 碱中和溶液,以 PBS 透析且浓缩。针对蛋白质 A 纯化后立即中和的 SF-G1-C8 的样品通过 SEC (尺寸排阻色谱) 和比色 ELISA 测试透析物。使用 Agilent 1100 系列 HPLC 系统进行 SEC。将 50 μ g SF-G1-C8 注射至 TSK Super SW3000 凝胶管柱 (Tosoh Biosciences, P/N 18675) 上。使用 PBS 作为操作和平衡缓冲液,流动速率为 0.35ml/min。如上所述,用重组 IGF1R-His 或 ErbB3-His 涂布盘来执行 ELISA。

[1141] 基本上如上所述获得的结果指示 SF-G1-C8 在低 pH 孵育 (pH 3) 1 小时后为稳定

的,与 IGF1R 和 ErbB3-His 的结合实质上未受影响。

[1142] 为测定 SF-G1-C8 在 4℃ 下长时间的稳定性,将 SF-G1-C8 (19mg/ml) 于 PBS 中在 4℃ 下孵育 1、6 或 33 天且进行 SEC。如上所述通过 SEC 测定单体百分比。结果指示 SF-G1-C8 在 4℃ 下 33 天后显示 98% 的稳定性。

[1143] 实施例 6 :其它抗 IGF-1R/ErbB3 和抗 ErbB3/IGF-1R PBA 的表征

[1144] A) 与 BxPC-3 细胞的结合

[1145] 如下测定 PBA 与 BxPC-3 细胞的结合。BxPC-3 细胞维持于补充有 10% 胎牛血清、青霉素 / 链霉素和 L- 谷氨酰胺的 RPMI-1640 培养基中。移除培养基且用 PBS 洗涤 BxPC-3 细胞。添加胰蛋白酶直至细胞自培养盘脱离,并接着用培养基 +10% 血清中和。短暂离心细胞且再悬浮于 FACS 缓冲液 (1×PBS+2% 血清 +0.1% 叠氮化物) 中。通过上下抽吸和推挤细胞穿过细胞过滤器使聚集物拆散成单细胞。短暂离心细胞且以 1×10^6 个细胞 / 毫升的密度再悬浮于 FACS 缓冲液中。在 96 孔锥形底盘中,每孔等分 50 μ l 细胞悬浮液以得到 5×10^4 个细胞 / 孔。

[1146] 将 PBA 在 FACS 缓冲液中稀释至 2 μ M, 且进行 10 次 3 倍稀释,其中最后的孔仅由 FACS 缓冲液组成 (无一次抗体)。将 50 μ l 连续稀释的抗体添加至 50 μ l 细胞中以使得第一孔中的最高最终抗体浓度为 1 μ M。在轻缓搅拌下将细胞与抗体在室温下孵育 2 小时。将盘在 1,500RPM 下旋转 5 分钟,且移除上清液。离心块在 FACS 缓冲液中洗涤三次。最后一次洗涤后,移除 FACS 缓冲液,且添加 50 μ l 在 FACS 缓冲液中按 1:100 稀释的抗 Fc-DyLight 649 二次抗体 (Abcam)。将细胞在冷室中在黑暗中在轻缓搅拌下孵育 1 小时,再洗涤三次且再悬浮于 100 μ l 固定缓冲液 (含 1% 三聚甲醛、2% FBS 的 PBS) 中。将样品转移至 96 孔 U 形底 FACS 盘 (Becton Dickinson) 中且在 4 度下保持在黑暗中直至使用。使用 FACS Calibur (Becton Dickinson) 读取样品且使用 FlowJo 确定中值荧光强度 (MFI)。使用单位点 - 总结合 (One Site-Total Binding) 利用 GraphPad PRISM 来确定 EC50 值。

[1147] 基本上如上所述获得且示出于图 29(A-C) 和下表 22 中的结果指示所述 PBA 显示与 BxPC-3 细胞的强结合。图 29(D) 和下表 22 显示使用单位点 - 总结合曲线拟合分析的结合数据。

[1148] 表 22 :自图 29A-D 各自中呈现的各别结合实验获得的 EC50 值

[1149]

双特异性抗体	EC50(nM)
图 29A	
SF-G1-C8(16F)	0.6
M27-G1-P4	1.2
M27-G1-M57	1

[1150]

M27-G1-M78	2.1
B60-G1-P4	0.5
B60-G1-M57	0.3
B60-G1-M78	0.3
M27/M7-G1-P4	2.2
M27/M7-G1-M57	2
M27/M7-G1-M78	1.7
图 29B	
SF-G1-C8(16F)	0.3
M57-G1-M1.3	0.2
M57-G1-P6	0.2
M57-G1-V8	0.1
M78-G1-M1.3	0.2
M78-G1-P6	0.4
M78-G1-V8	0.3
图 29C	
SF-G1-C8(16F)	0.3
P4-G1-M1.3	0.03
P4-G1-P6	0.02
P4-G1-V8	0.1
M7-G1-M57	0.6
M7-G1-M78	1
M7-G1-P4	2.8
图 29D	
SF-G1-C8	1.2
SF-G1-P1	2
SF-G1-P6	1.1
SF-G1-M27	1.5
SF-G1-B69	1.1
SF-G1-M1.3	1.4

[1151] B) 对细胞信号传导的抑制作用

[1152] 基本上如下测定 PBA 对细胞信号传导的抑制作用。BxPC-3 细胞维持于补充有

10%胎牛血清、青霉素 / 链霉素和 L- 谷氨酰胺的 RPMI-1640 培养基中。将 3.5×10^4 个细胞于完全培养基中接种于 96 孔组织培养盘中。第二天, 将完全培养基置换为无血清培养基且细胞在 37℃ 下孵育过夜。细胞用指定剂量的药物预处理 1 小时, 并接着用 100ng/ml IGF1 (Calbiochem) 和 30ng/ml HRG (R&D Systems) 刺激 15 分钟。将细胞用 PBS 洗涤并在补充有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 MPer 缓冲液中溶解。

[1153] 如上文实施例 4 中所述进行磷酸化 IGF1R (pIGF1R)、磷酸化 ErbB3 (pErbB3) 和磷酸化 AKT (pAKT) 的 ELISA。

[1154] 使用 ILE-10 (14F 或 14f) 和 ELI-7 (5F 或 5f) (两者均于上文描述) 作为参考蛋白质。

[1155] 基本上如上所述获得且示出于图 30 (pIGF-1R)、图 31 (pErbB3) 和图 32 (pAKT) 以及下表 23 中的结果指示所述 PBA 显示对双重路径信号传导的强抑制作用。

[1156] 表 23 : 图 30、31 和 32 中所示的抑制剂处理的 IC₅₀ 值和抑制百分比值。

[1157]

ErbB3 IgG-IGF1R scFv	IC ₅₀	抑制%	IC ₅₀	抑制%	IC ₅₀	抑制%
	pIGF1R	pIGF1R	pErbB3	pErbB3	pAKT	pAKT
B60-G1-P4	4.4E-09	88	4.0E-11	99	5.5E-10	86
B60-G1-M57	1.0E-08	85	1.2E-09	162	7.3E-10	83
B60-G1-M78	3.5E-09	86	8.0E-11	115	6.4E-10	78
M27-G1-P4	3.0E-09	88	1.0E-10	106	5.7E-10	90
M27-G1-M57	8.1E-09	83	3.1E-10	88	1.3E-09	84
M27-G1-M78	1.4E-09	87	1.2E-10	107	6.6E-10	92
M27/M7-G1-P4	1.3E-08	99	4.0E-11	111	2.5E-10	92
M27/M7-G1-M57	7.5E-09	91	1.5E-10	179	5.3E-10	91
M27/M7-G1-M78	1.0E-09	91	1.1E-10	140	3.5E-10	92
M7-G1-M57	2.10E-08	82	5.2E-11	124	2.8E-10	88
M7-G1-M78	1.30E-09	88	2.6E-11	111	3.7E-10	95

[1158]

M7-G1-P4	2.40E-09	93	2.4E-11	109	1.8E-10	95
----------	----------	----	---------	-----	---------	----

[1159]

IGF1R IgG - ErbB3 scFv	IC50	抑制%	IC50	抑制%	IC50	抑制%
	pIGF1R	pIGF1R	pErbB3	pErbB3	pAKT	pAKT
M57-G1-M1.3	4.1E-10	94	1.4E-10	99	2.3E-09	85
M57-G1-P6	2.5E-10	92	7.9E-11	98	2.1E-09	79
M57-G1-C8	2.5E-10	93	6.5E-11	98	2.0E-09	80
M78-G1-M1.3	5.0E-10	97	1.4E-10	99	2.2E-09	92
M78-G1-P6	4.2E-10	95	1.4E-10	100	2.1E-09	86
M78-G1-C8	6.8E-10	96	2.3E-10	98	4.1E-09	84
P4-G1-M1.3	1.8E-10	92	5.5E-11	94	1.1E-09	86
P4-G1-P6	1.6E-10	91	3.9E-11	95	1.2E-09	82
P4-G1-C8	1.3E-10	91	3.6E-11	94	1.2E-09	78
SF-G1-C8	5.2E-10	91	1.9E-10	98	3.9E-09	71

[1160] 在另一组实验中,将PBA对配体诱导的信号转导的抑制水平与用现有技术抗IGF-1R(抗ErbB3Ab#A-SEQ ID NO:336(HC)和337(LC))和现有技术抗ErbB3(抗IGF-1R Ab#A-SEQ ID NO:327(HC)和SEQ ID NO:328(LC))抗获得的抑制水平进行比较。基本上如本实施例中紧接的上文所述进行实验。

[1161] 结果(图33、34和35以及表24)指示所述PBA显示相对于抗IGF-1R Ab#A与抗ErbB3Ab#A的组合,对双重路径信号传导的抑制水平特别高。

[1162] 表24:图33、34和35中呈现的抑制剂处理的IC50值。

[1163]

		pIGF1R	pErbB3	pAKT
细胞系	抑制剂	IC50	IC50	IC50
BxPC-3	B60-G1-M57	4.4E-09	2.3E-11	6.5E-10
BxPC-3	B60-G1-M78	1.4E-09	1.0E-11	3.4E-10
BxPC-3	B60-G1-P4	2.2E-08	~ 2.4e-14	1.1E-10
BxPC-3	M7-G1-M57	2.1E-08	5.2E-11	2.8E-10
BxPC-3	M7-G1-M78	1.3E-09	2.6E-11	3.7E-10
BxPC-3	M7-G1-P4	2.4E-09	2.4E-11	1.8E-10

[1164]

BxPC-3	P4-G1-M1.3	1.1E-09	5.3E-11	3.4E-10
BxPC-3	P4-G1-C8	1.3E-09	5.8E-07	3.1E-10
BxPC-3	SF-G1-C8	2.6E-09	2.1E-10	6.5E-10
BxPC-3	抗 IGF-1R Ab# A(加尼图单抗; SEQ ID 327+SEQ ID 328)	1.6E-09	4.3E-09	8.0E-11
BxPC-3	抗 ErbB3 Ab# A(SEQ ID 336+SEQ ID 337)	2.3E-10	9.2E-11	3.5E-10
BxPC-3	抗 IGF-1R Ab# A+抗 ErbB3 Ab# A	1.5E-09	9.4E-11	4.3E-10

[1165] C) 双特异性蛋白质的稳定性

[1166] 基本上如上文实施例 5D 中所述进行各种稳定性研究,且其结果显示所测试的 PBA 在血清中为稳定的且具有热稳定性。

[1167] 血清稳定性结果(图 36)指示所述 PBA 显示血清稳定性存在一些差异。最低稳定性为约 65%且最高稳定性为约 100%。具有约 1(或 1 以上)的数值的 PBA 视为具有约 100%稳定性。

[1168] 熔融温度结果阐明于表 25 中。所述结果指示所述 PBA 在不同温度下伸展。

[1169] 表 25:如通过 DSF 所测定,各双特异性抗体的 T_m 值。M27/M7 是指具有 M27 重链和 M7 轻链的结合位点。

[1170]

双特异性抗体	$T_m(^{\circ}\text{C})$
B60-G1-P4	66.5
B60-G1-M57	67.8
B60-G1-M78	67.5
M27-G1-P4	66.5
M27-G1-M57	67.2
M27-G1-M78	66.8
M27/M7-G1-P4	66.5
M27/M7-G1-M57	68.5
M27/M7-G1-M78	67.5

双特异性抗体	$T_m(^{\circ}\text{C})$
M57-G1-M1.3	64.5
M57-G1-P6	65.5
M57-G1-C8	66.5
M78-G1-M1.3	68.5
M78-G1-P6	66.5
M78-G1-C8	-
P4-G1-M1.3	62.5
P4-G1-P6	63.5
P4-G1-C8	66.5
M7-G1-M57	70.5

[1171]

M7-G1-M78	67.5
M7-G1-P4	66.5

[1172] SEC 稳定性结果示出于表 26 中,且指示所述 PBA 大部分为单体。

[1173] 表 26 :通过 SEC 所测定的各双特异性抗体的单体百分比

[1174]

双特异性抗体	单体百分比	双特异性抗体	单体百分比
B60-G1-P4	91	M57-G1-M1.3	79
B60-G1-M57	92	M57-G1-P6	77
B60-G1-M78	87	M57-G1-C8	77
M27-G1-P4	84	M78-G1-M1.3	79
M27-G1-M57	87	M78-G1-P6	80
M27-G1-M78	83	M78-G1-C8	77
M27/M7-G1-P4	90	P4-G1-M1.3	92
M27/M7-G1-M57	93	P4-G1-P6	86
M27/M7-G1-M78	78	P4-G1-C8	95
M7-G1-P4	82.4		
M7-G1-M57	87.4		
M7-G1-M78	82		

[1175] 实施例 8 :其它高亲和力抗 IGF-1R 和抗 ErbB3 结合结构域的鉴别

[1176] 经由噬菌体筛选分离许多更多高亲和力抗 IGF-1R 和抗 ErbB3 结合结构域。这些蛋白质的重链和轻链的序列阐明于图 1-4 中的 16F 序列下方。抗 IGF-1R 结合位点的序列始于“5-7”且抗 ErbB3 结合位点的序列始于“E3B”。

[1177] 实施例 9 :抗 EGF1R+ 抗 ErbB3BPA 对双重 IGF1 和 HRG 刺激的信号传导的有效抑制

[1178] 此实施例展示抗 EGF1R+ 抗 ErbB3BPA 为 DU145 和 BxPC-3 细胞中双重 IGF1 和 HRG 刺激的信号转导的有效抑制剂。

[1179] 基本上如下获得结果。将 35,000 个 BxPC-3 细胞于 10% 血清中在 37℃ 下接种过夜。第二天,使细胞在含有 0.5% 血清的培养基中饥饿处理且在 37℃ 下孵育过夜。将细胞用指定浓度的 Ab 预处理一小时并接着用 30ng/ml HRG1b1-ECD+100ng/ml IGF1 刺激 15 分钟。在本实施例中且在实施例 10-13 和 21 中,对照抗 IGF1R 和抗 ErbB3mAb 分别为抗 IGF-1R Ab#A 和抗 ErbB3 Ab#A。将细胞在 M-Per 缓冲液(+蛋白酶/磷酸酶抑制剂)中溶解且进行关于 pAKT 的 ELISA。对于 pAKT ELISA 测定,将盘用抗 AKT(Millipore)涂布,用 PBS+2% BSA 阻断,与溶解产物和标准物一起孵育,且用生物素化抗 pAKT(Ser473)和抗生物素化 HRP 检测。添加 ELISA pico 化学发光底物且在 Perkin-Elmer Envision 盘读取器上读取各盘。在 Graphpad Prism 中产生所有 IC50 曲线和计算值。

[1180] 结果(图 39)指示如通过测量磷酸化 AKT(pAKT)所测定,PBA M7-G1-M78、P4-G1-M1.3、P4-G1-C8 和 SF-G1-C8 在 DU145 和 BxPC-3 细胞中均有效抑制由 IGF-1 和 HRG 诱导的信号转导。

[1181] 实施例 10 :抗 IGF1R+ 抗 ErbB3BPA 效力在宽泛的受体概况范围内维持

[1182] 此实施例展示抗 IGF1R+ 抗 ErbB3PBA 为具有各种水平的 IGF1R 或 ErbB3 的细胞中双重 IGF1 和 HRG 刺激的信号转导的有效抑制剂。

[1183] 基本上如下获得结果。将 BxPC-3 细胞用表达对照发夹的慢病毒或用对 IGF1R 或 ErbB3 具特异性的 shRNA(Sigma)(其使所述蛋白质的表达降低约 50%)感染。通过 FACS 和蛋白质印迹分析确认阻断基因表达。接种细胞且如实施例 9 中所述进行处理。如实施例 9 中所述测定 pAKT 的水平。

[1184] 结果(图 40 和表 27)指示如通过测量磷酸化 AKT(pAKT)所测定,PBA M7-G1-M78、P4-G1-M1.3、P4-G1-C8 和 SF-G1-C8 在具有高或较低水平(水平降低 50%)的 IGF1R 或 ErbB3 的 BxPC-3 细胞中均有效抑制由 IGF-1 和 HRG 诱导的信号转导。

[1185] 表 27 :图 40 中所示的结果的 PBA IC50(以 M 计)和抑制百分比

[1186]

		pAKT	pAKT
细胞系	抑制剂	抑制%	IC50
BxPC-3 (载体对照)	M7-M78	89.8	1.1E-09
BxPC-3 (载体对照)	P4-M1.3	87.9	7.1E-10
BxPC-3 (载体对照)	P4-C8	78.3	1.4E-09
BxPC-3 (载体对照)	SF-C8	68.8	3.5E-09

[1187]

BxPC-3 (载体对照)	抗 IGF-1R Ab# A (加尼图单抗; SEQ ID 327 + SEQ ID 328)	38.2	2.1E-08
BxPC-3 (载体对照)	抗 ErbB3 Ab# A (SEQ ID 336 + SEQ ID 337)	47.2	2.5E-09
BxPC-3 (载体对照)	抗 IGF-1R Ab# A + 抗 ErbB3 Ab# A	90.6	3.3E-09
BxPC-3 (50% IGF 1R KD)	M7-M78	90.9	3.4E-10
BxPC-3 (50% IGF 1R KD)	P4-M1.3	91.1	3.8E-10
BxPC-3 (50% IGF 1R KD)	P4-C8	80.4	7.6E-10
BxPC-3 (50% IGF 1R KD)	SF-C8	74.5	6.3E-09
BxPC-3 (50% IGF 1R KD)	抗 IGF-1R Ab# A (加尼图单抗; SEQ ID 327 + SEQ ID 328)	51	4.0E-08
BxPC-3 (50% IGF 1R KD)	抗 ErbB3 Ab# A (SEQ ID 336 + SEQ ID 337)	58.2	1.6E-09
BxPC-3 (50% IGF 1R KD)	抗 IGF-1 R Ab# A + 抗 ErbB3 Ab# A	89.8	1.3E-09
BxPC-3 (50% ErbB3 KD)	M7-M78	91.2	4.0E-10
BxPC-3 (50% ErbB3 KD)	P4-M1.3	90.7	3.2E-10
BxPC-3 (50% ErbB3 KD)	P4-C8	90.9	3.3E-10
BxPC-3 (50% ErbB3 KD)	SF-C8	82.7	2.1E-09
BxPC-3 (50% ErbB3 KD)	抗 IGF-1R Ab# A (加尼图单抗; SEQ ID 327 + SEQ ID 328)	47.7	1.3E-07
BxPC-3 (50% ErbB3 KD)	抗 ErbB3 Ab# A (SEQ ID 336 + SEQ ID 337)	59.7	2.8E-10
BxPC-3 (50% ErbB3 KD)	抗 IGF-1 R Ab# A + 抗 ErbB3 Ab# A	92.8	6.0E-10

[1188] BPA 在表 27 指定具有“G1”。举例来说,“M7-M78”是指“M7-G1-M78”。实施例 11 : 抗 IGF1R+ 抗 ErbB3PBA 为低剂量或高剂量 IGF1 或 HRG 诱导的信号传导的有效抑制剂

[1189] 此实施例展示抗 IGF1R+ 抗 ErbB3PBA 为回应于高或低配体 (IGF1 或 HRG) 浓度的双重 IGF1 和 HRG 刺激的信号转导的有效抑制剂。

[1190] 基本上如下获得结果。将 35,000 个 BxPC-3 细胞于 10% 血清中在 37℃ 下接种过夜。第二天,使细胞在含有 0.5% 血清的培养基中饥饿处理且在 37℃ 下孵育过夜。细胞用指定浓度的 PBA 预处理一小时且接着用低 (40ng/ml) 或高 (400ng/ml) IGF1, 或低 (20ng/ml) 或高 (200ng/ml) HRG1b1-ECD 刺激 15 分钟。pErbB3、pIGF1R 和 tIGF1R 的 ELISA 是来自商业来源 (R&D Systems)。对于 pAKT ELISA 测定,将盘用抗 AKT (Millipore) 涂布,用 PBS+2% BSA 阻断,与溶解产物和标准物一起孵育,且用生物素化抗 pAKT (Ser473) 和抗生物素链霉素检测。添加 ELISA pico 化学发光底物且在 Perkin-Elmer Envision 盘读取器上读取各盘。在 Graphpad Prism 中产生所有 IC50 曲线和计算值。

[1191] 结果 (图 41、42 和表 28) 指示如通过测量 pAKT (pAKT)、pIGF-1R 和 pErbB3 水平所测定, PBA M7-G1-M78、P4-G1-M1.3、P4-G1-C8 和 SF-G1-C8 在 BxPC-3 细胞中有效抑制由较高或较低水平的 IGF-1 和 HRG 诱导的信号转导。

[1192] 表 28: 图 41 和 42 中所示的结果的 PBA IC50 (以 M 计) 和抑制百分比

[1193]

配体	配体浓度	读数	抗 IGF-1R Ab# A(加尼图单抗; SEQ ID NO:327+SEQ ID NO:328)	M7-G1-M78	P4-G1-C8	P4-G1-M1.3	SF-G1-C8
IGF1	40 ng/ml	pIGF1R	7.80E-10	1.00E-09	1.10E-10	1.20E-10	5.10E-10
IGF1	400 ng/ml	pIGF1R	2.50E-10	2.40E-09	8.80E-11	9.90E-11	4.40E-10
IGF1	40 ng/ml	pAKT	7.40E-09	3.80E-10	3.80E-10	1.40E-10	1.30E-09
IGF1	400 ng/ml	pAKT	9.10E-09	6.40E-10	3.40E-10	2.10E-10	5.90E-10
配体	配体浓度	读数	抗 ErbB3 Ab# A(SEQ ID NO:336+SEQ ID NO:337)	M7-G1-M78	P4-G1-C8	P4-G1-M1.3	SF-G1-C8
HRG	20 ng/ml	pErbB3	2.41E-10	6.16E-11	6.76E-11	3.12E-11	2.69E-10
HRG	200 ng/ml	pErbB3	1.98E-10	6.53E-11	5.70E-11	2.72E-11	2.66E-10
HRG	20 ng/ml	pAKT	3.06E-10	7.12E-11	1.06E-10	3.97E-11	4.32E-10
HRG	200 ng/ml	pAKT	3.26E-10	6.46E-11	1.01E-10	4.09E-11	5.50E-10

[1194] 实施例 12 : 抗 IGF1R+ 抗 ErbB3PBA 抑制基本信号传导

[1195] 此实施例展示抗 IGF1R+ 抗 ErbB3PBA 抑制基本水平的信号转导。

[1196] 基本上如下获得结果。将 35,000 个 BxPC-3 细胞于 10% 血清中在 37°C 下接种过夜。第二天, 使细胞在含有 0.5% 血清的培养基中饥饿处理且在 37°C 下孵育过夜。细胞在存在指定浓度的 Ab 但不存在配体刺激的情况下预处理 15 分钟或 24 小时。将细胞在 M-Per 缓冲液 (+ 蛋白酶 / 磷酸酶抑制剂) 中溶解且进行关于 pAKT 的 ELISA, 如实施例 9 中所述。

[1197] 结果 (图 43) 指示 PBA M7-G1-M78、P4-G1-M1.3 和 P4-G1-C8 抑制 pAKT 的基本水平。

[1198] 实施例 13 : 抗 IGF1R+ 抗 ErbB3PBA 有效下调 IGF1R

[1199] 此实施例展示抗 IGF1R+ 抗 ErbB3PBA 下调 IGF1R。

[1200] 基本上如下获得结果。将 35,000 个 BxPC-3 细胞于 10% 血清中在 37°C 下接种过夜。第二天, 使细胞在含有 0.5% 血清的培养基中饥饿处理且在 37°C 下孵育过夜。接着将细胞在含有 0.5% 血清和指定浓度的抗体 (始于 5E-07M 的高剂量, 随后为 3 倍稀释液) 的培养基中孵育 24 小时。使细胞溶解且通过 ELISA 使用来自 R&D Systems 的市售试剂盒测

量总 IGF1R。自 Prism 使用下式计算下调百分比： $100 \times (\text{拟合最大值} - \text{观测最小值}) / (\text{拟合最大值} - \text{无刺激})$ 。

[1201] 结果 (图 44 和表 29) 指示 PBA M7-G1-M78、P4-G1-M1.3 和 P4-G1-C8 使 A549 和 BxPC-3 细胞中的 IGF1R 水平降低。

[1202] 表 29 :PBA 对 IGF1R 的有效下调作用

[1203]

细胞系	分子	IGF1R 下调%
A549	M7-G1-M78	48
A549	P4-G1-C8	70
A549	P4-G1-M1.3	72
A549	抗 IGF-1R Ab# A (加尼图单抗; SEQ ID 327 + SEQ ID 328)	57
BxPC-3	M7-G1-M78	53
BxPC-3	P4-G1-C8	67
BxPC-3	P4-G1-M1.3	71
BxPC-3	抗 IGF-1R Ab# A (加尼图单抗; SEQ ID 327 + SEQ ID 328)	51

[1204] 实施例 14 :抗 IGF1R+ 抗 ErbB3BPA 抑制 IGF1 和 IGF2 介导的信号传导

[1205] 此实施例展示抗 IGF1R+ 抗 ErbB3BPA 抑制由 IGF1 和 IGF2 诱导的信号传导。

[1206] 基本上如下获得结果。在 12 孔培养盘中于 10% 血清中每孔接种 500,000 个 DU145 和 Mia PaCa-2 细胞过夜。第 2 天使细胞血清饥饿过夜。第 3 天进行抗体预孵育 1 小时 (250nM P4-G1-M1.3 或 P4-G1-C8) 且添加生长因子 (100ng/ml 的 IGF1 或 IGF2), 15 分钟后溶解。将所有细胞用 PBS 洗涤并在 100 μ l 补充有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 MPer 缓冲液中溶解。在 4-12% Bis-Tris 凝胶上操作样品前, 添加含有 β -巯基乙醇 (β -ME) 的加载缓冲液且将溶解产物在 95°C 下煮沸 5 分钟。凝胶在 150 恒定电压下电泳约 90 分钟且使用 iBlot (Invitrogen) 转移系统 8 分钟转移程序转移至硝化纤维素膜上。将膜于 Odyssey 阻断缓冲液 (Licor Biosciences) 中在室温下阻断 1 小时, 且接着与一次抗体一起在 4°C 下于含 5% BSA 的 TBS-T 中孵育过夜。所用抗体为 pAkt、pIGF1R、 β 肌动蛋白 (全部来自 Cell Signaling Technologies)。B-肌动蛋白以 1:5,000 使用, 磷酸化 Akt 以 1:2,000 使用, 且所有其它抗体以 1:1,000 使用。第二天, 将膜用 TBS-T 洗涤 3 次每次 5 分钟, 且接着与在含 5% 牛奶的 TBS-T 中以 1:15,000 稀释的抗兔 IgG-DyLight800 (Cell Signaling) 在室温下一起孵育 1 小时。接着将膜用 TBS-T 洗涤 3 次每次 5 分钟, 且使用 Licor Odyssey 系统 (Licor Biosciences) 进行扫描。计算积分强度且针对 β -肌动蛋白水平进行校正。

[1207] 结果 (图 45) 展示 BPA P4-G1-M1.3 和 P4-G1-C8 抑制由 IGF1 或 IGF2 诱导的 AKT 磷酸化。

[1208] 实施例 15 :抗 IGF1R+ 抗 ErbB3BPA 部分抑制胰岛素信号传导

[1209] 此实施例展示抗 IGF1R+ 抗 ErbB3BPA 部分抑制 DU145 细胞中的胰岛素信号传导。

[1210] 基本上如下获得结果。在 12 孔培养盘中于 10% 血清中每孔接种 500,000 个 DU145 细胞过夜。第 2 天使细胞血清饥饿过夜。第 3 天进行 Ab 预孵育 1 小时 (500nM P4-G1-M1.3) 且添加生长因子 (100ng/ml 的 IGF1 或 5 μ g/ml 的胰岛素), 15 分钟后溶解。如实施例 14 中所述制备溶解产物和蛋白质印迹。

[1211] 结果 (图 46) 指示 BPA P4-G1-M1.3 部分抑制由胰岛素诱导的信号转导, 如通过 pAKT 水平所测量。

[1212] 实施例 16 : 抗 IGF1R+ 抗 ErbB3BPA 下调 ErbB3 和 IGF1R 的总受体水平

[1213] 此实施例展示抗 IGF1R+ 抗 ErbB3BPA 下调由 IGF1 和 HRG 诱导或未诱导的细胞上的 ErbB3 和 IGF1R 水平。

[1214] 基本上如下获得结果。在 12 孔培养盘中于 10% 血清中每孔接种 500,000 个 BxPC-3 细胞过夜。第 2 天使细胞血清饥饿过夜。第 3 天进行抗体预孵育 6 小时 (250nM M7-G1-M78 或 P4-G1-C8)。还向一半样品中添加生长因子 (100ng/ml 的 IGF1 和 30ng/ml 的 HRG), 15 分钟后溶解。如实施例 14 中所述制备溶解产物和蛋白质印迹。IGF1R、ErbB3 和 pErbB3 还来自 Cell Signaling Technologies。

[1215] 结果 (图 47) 指示 BPA M7-G1-M78 和 P4-G1-C8 使 ErbB3 和 IGF1R 的总水平 (磷酸化和非磷酸化) 降低。

[1216] 实施例 17 : 抗 IGF1R+ 抗 ErbB3BPA 在人、小鼠和猴血清中显示稳定性

[1217] 此实施例展示抗 IGF1R+ 抗 ErbB3BPA 在人、小鼠和猴血清中为稳定的。

[1218] 基本上如下获得结果。将 PBA 在汇集的人血清 (Innovative Research)、小鼠血清 (Sigma) 或食蟹猴血清 (Innovative Research) 中以 2.5 μ M 的最终浓度在 37°C 下孵育 0 天或 5 天。接着使用比色 ELISA 结合测定对样品进行分析。将 96 孔 Reacti-bind 盘 (Pierce, Fisher 目录号 PI-15041) 用 50 μ l 对应于抗体 scFv 的蛋白质 (于 PBS 中 2 μ g/ml 的 ErbB3-His 或 IGF1R-His (R&D Systems, 目录号分别为 348-RB 和 305-GR)) 涂布且在 4°C 下孵育过夜。第二天, 将盘用 PBS+0.05% Tween-20 (PBS-T) 洗涤且在室温下用 100 μ l 无蛋白质阻断缓冲液 (Pierce) 阻断 1 小时。将盘用 PBS-T 洗涤且添加 50 μ l 各 BPA 重复两份。浓度始于于 PBS-T 中 500nM (2.5 μ M bsAb 于血清中 1:5 稀释) 且包括十份另外的两倍稀释液 (于 PBS-T+20% 血清中) 和一份空白 (仅 PBS-T+ 血清)。将盘在室温下孵育两小时且接着用 PBS-T 洗涤。添加 50 μ l 于 PBS-T 中按 1:40,000 稀释的抗 Fc-HRP (Jackson Labs), 且将盘在黑暗中在室温下孵育 1 小时。盘再次用 PBS-T 洗涤且添加 100 μ l TMB 底物 (Thermo Scientific, 以 1:1 混合的 TMB 与过氧化物溶液)。将盘在室温下孵育 5-15 分钟直至出现蓝色, 且用 100 μ l 停止溶液 (Cell Signaling Technology) 使反应停止。在 PerkinElmer Envision 盘读取器上读取 450nm 下的吸光度且用 GraphPad Prism 产生结合曲线。

[1219] 结果 (图 48) 展示 BPA M7-G1-M78、P4-G1-M1.3 和 P4-G1-C8 在小鼠和猕猴血清中稳定至少 5 天且 P4-G1-M1.3 在人血清中稳定至少 6 天。

[1220] 实施例 18 : 抗 IGF1R+ 抗 ErbB3BPA 与人、小鼠、大鼠和猴 IGF1R 和 ErbB3 显示交叉反应性

[1221] 此实施例展示抗 IGF1R+ 抗 ErbB3BPA 可与人、小鼠、大鼠和猴 IGF1R 和 ErbB3 交叉反应。

[1222] 基本上如下获得结果。将 96 孔 **Reacti-bind®** 盘 (Pierce, Fisher 目录号 PI-15041) 用 50 μ l 于 PBS 中 2 μ g/ml 的物种特异性 ErbB3-His 或 IGF-1R-His (R&D Systems, 目录号分别为 348-RB 和 305-GR) 涂布且在 4°C 下孵育过夜。第二天, 将盘用 PBS+0.05% Tween-20 (PBS-T) 洗涤且在室温下用 100 μ l 无蛋白质阻断缓冲液 (Pierce) 阻断 1 小时。将盘用 PBS-T 洗涤且添加 50 μ l 各 PBA 重复两份。浓度始于 500nM (于 PBS-T 中) 且包括十份另外的两倍稀释液和一份空白 (仅 PBS-T)。将盘在室温下孵育两小时且接着用 PBS-T 洗涤。添加 50 μ l 于 PBS-T 中按 1:40,000 稀释的抗 Fc-HRP (Jackson Labs), 且将盘在黑暗中在室温下孵育 1 小时。盘再次用 PBS-T 洗涤且添加 100 μ l TMB 底物 (Thermo Scientific, 以 1:1 混合的 TMB 与过氧化物溶液)。将盘在室温下孵育 5-15 分钟直至出现蓝色, 且用 100 μ l 停止溶液 (Cell Signaling Technology) 使反应停止。在 PerkinElmer Envision 盘读取器上读取 450nm 下的吸光度且使用 GraphPad Prism 产生结合曲线。

[1223] 结果 (图 49) 展示 BPA P4-G1-C8、P4-G1-M1.3 和 M7-G1-M78 有效结合人、小鼠、大鼠和猴 IGF1R 和 ErbB3。

[1224] 实施例 19: 抗 IGF1R+ 抗 ErbB3BPA 阻断 IGF1 和 IGF2 与其受体 IGF1R 的结合

[1225] 此实施例展示抗 IGF1R+ 抗 ErbB3BPA 阻断 IGF1 与 IGF2 两者与的 IGF1R 结合。

[1226] 基本上如下获得结果。将 ELISA 盘用 IGF1R-His 涂布且如实施例 18 中所述阻断。阻断步骤后, 洗涤各盘且与 IGF1 (100ng/ml) 或 IGF2 (100ng/ml) (EMD Chemicals) 一起在室温下孵育 1 小时。将盘用 PBS-T 洗涤且添加 100 μ l 各 Ab 重复两份。浓度始于 500nM (于 PBS-T 中) 且包括十份另外的两倍稀释液和一份空白 (仅 PBS-T)。将盘在室温下孵育 1 小时且接着用 PBS-T 洗涤。添加 50 μ l 在 PBS-T 中以 1:1,000 稀释的兔抗人 IGF1 (Thermo Scientific) 或兔抗人 IGF2 (Abcam) 在室温下 1 小时。再次洗涤各盘且在 PBS-T 于中以 1:1,000 稀释的抗兔 HRP (Cell Signaling) 中在室温下孵育 1 小时。如上文所述将各盘显色、读取和分析。

[1227] 结果 (图 50) 指示 P4-G1-M1.3 抑制 IGF1 与 IGF2 两者与 IGF1R 的结合。实施例 20: 抗 IGF1R+ 抗 ErbB3BPA 在小鼠体内显示剂量依赖性和不同的半衰期且在食蟹猕猴体内显示长半衰期

[1228] 此实施例提供抗 IGF1R+ 抗 ErbB3BPA 在小鼠和食蟹猕猴体内的药物动力学性质。

[1229] 基本上如下获得结果。给药和样品收集: 通过静脉内快速注射向小鼠给予每只小鼠 100 μ g 或每只小鼠 500 μ g 的 P4-G1-M1.3 或 M7-G1-M78, 且在 0.25、1、4、8、24、48、72、96 和 168 小时时取血。每个时间点对四只小鼠放血。对食蟹猕猴 (WIL Research Laboratories) 静脉内输注 P4-C8 和 P4-M1.3。各组中的两只猴给予 5mg/kg 或 25mg/kg 且在 0.08、1、4、8、24、48、72、96 和 168 小时时放血。ELISA 结合测定和模拟分析: 将 **Reacti-bind®** 96 孔盘 (Pierce, Fisher 目录号 PI-15041) 用 50 μ l 于 PBS 中 2 μ g/ml 的 IGF1R (无标签) 涂布且在 4°C 下孵育过夜。将盘用 PBS-0.05% Tween-20 (PBS-T) 洗涤且在室温下用 100 μ l 的 Pierce 无蛋白质阻断缓冲液阻断 1 小时。再次用 PBS-T 洗涤各盘。将 100 μ l 样品和标准物添加至盘中且在室温下孵育 2 小时。对于标准曲线, 将抗体于 PBS-T 中稀释至 12 μ g/ml, 接着为 10 次另外的 3 倍稀释, 最后的孔为空白。将血清样品于 PBS-T 中以 1:50 稀释, 附加 10 次另外的 3 倍稀释, 且最后的孔为空白。将盘用 PBS-T 洗涤且添加 100 μ l 于 PBS-T 中 1 μ g/ml 的 ErbB3-His 在室温下 1 小时。洗涤各盘且添加 100 μ l 于

PBS-T 中以 1:10,000 稀释的抗 His-HRP (Abcam) 且在室温下孵育 (覆盖) 1 小时。盘再次用 PBS-T 洗涤且添加 100 μ l TMB 底物 (Thermo Scientific, 以 1:1 混合的 TMB 与过氧化物溶液)。将盘在室温下孵育 5-15 分钟直至出现蓝色, 且用 100 μ l 停止溶液 (Cell Signaling Technology) 使反应停止。在 PerkinElmer Envision 盘读取器上读取 450nm 下的吸光度, 且使用 MATLAB (Mathworks-www.mathworks.com) 和 WinNonLin (Pharsight-www.pharsight.com) 根据标准方案进行数据分析。

[1230] 小鼠中的结果 (表 30) 指示 BPA M7-G1-M78 和 P4-G1-M1.3 在小鼠体内具有平均 3.33 至 41.90 小时范围内的半衰期, 取决于 BPA 和施用小鼠的 BPA 的浓度。食蟹猕猴中的结果 (表 31) 指示 P4-G1-C8 和 P4-G1-M1.3 的半衰期在 5mg/kg 时分别为 51 和 61 小时, 且在 25mg/kg PBA 时分别为 115 和 78 小时。因此, 具有方向抗 IGF1R- 抗 ErbB3 的 PBA (即其中抗 IGF1R 部分为全长 Ab 且抗 ErbB3 部分由两个 scFv 构成) 比具有相反构形的 PBA (即其中抗 ErbB3 为全长 Ab 且抗 IGF1R 部分由两个 scFv 构成) 更稳定。

[1231] 表 30 : 小鼠体内 BPA 的半衰期 (以小时计)

[1232]

分子	剂量 (微克/小鼠)	T1/2 (hr)		
		平均值	95%信赖区间	
M7-G1-M78	100	3.33	2.43	5.32
	500	11.16	9.40	13.75
P4-G1-M1.3	100	10.91	8.24	16.11
	500	41.90	28.79	76.98

[1233] 表 31 : 食蟹猕猴体内 BPA 的半衰期 (以小时计)

[1234]

MATLAB

WinNonLin

[1235]

分子	剂量 (mg/kg)	终末 T1/2 (hrs)	95% CI	终末 T1/2 (hrs)	Rsqr
P4-C8	5	51	39-73	46.8529	0.9998
	25	115	83-189	93.5036	0.959
P4-M1.3	5	61	39-140	62.1732	0.9901
	25	78	57-123	80.8655	0.9934

[1236] 实施例 21 : P4-G1-M1.3 显示在体外随时间抑制配体诱导的受体活化和 Akt/mTOR/ERK 信号传导。

[1237] 此实施例展示 P4-G1-M1.3 随时间抑制 BxPC-3 培养细胞中配体诱导的 IGF-1R 和 ErbB3 以及下游蛋白质 Akt、Erk、mTOR 和 S6 的磷酸化。

[1238] 方法

[1239] BxPC-3 细胞维持于补充有 10% 胎牛血清、青霉素 / 链霉素和 L- 谷氨酰胺的 RPMI-1640 培养基中。将 3.5×10^4 个细胞于完全培养基中接种于 96 孔组织培养盘中。第二天, 将完全培养基置换为无血清培养基且细胞在 37℃ 下孵育过夜。将细胞用 1 μ M P4-G1-M1.3 预处理 1 小时且保持于无抑制剂的无血清培养基中, 且接着将所有细胞用 100ng/ml IGF1 (Calbiochem) 和 70ng/ml HRG (R&D Systems) 刺激 5、15、30、60 或 120 分钟。将细胞用 PBS 洗涤并在补充有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 MPer 缓冲液中溶解。

[1240] 如上文实施例 4 中所述进行磷酸化 IGF1R (pIGF1R)、磷酸化 ErbB3 (pErbB3) 和磷酸化 AKT (pAKT) 的 ELISA。根据制造商的说明进行磷酸化 ERK (pERK, Cell Signaling Technology 目录号 7246)、磷酸化 S6 (pS6, R&D Systems 目录号 DYC3918) 和磷酸化 mTOR (pmTOR, R&D Systems 目录号 DYC1665) 的 ELISA。各磷酸化蛋白质的所得浓度针对使用 BCA 方法测得的总蛋白质水平进行校正。

[1241] 结果 (图 51) 指示 P4-G1-M1.3 能够在 IGF-1 和 HRG 存在下显著阻断配体诱导的磷酸化 IGF-1R (51A)、磷酸化 ErbB3 (51B)、磷酸化 Akt (51C)、磷酸化 ERK (p44/p42 ; 51D)、磷酸化 mTOR (Ser2448, 51E) 和磷酸化 S6 (Ser235/236 ; 51F) 产生。

[1242] 实施例 22 : 抗 IGF1R+ 抗 ErbB3PBA 阻断由 IGF1R- 胰岛素受体异二聚体介导的信号传导

[1243] 此实施例展示由抗 IGF1R+ 抗 ErbB3PBA 对胰岛素和 IGF2 信号传导的抑制作用是由 IGF1R- 胰岛素受体异二聚体介导。

[1244] 基本上如下获得结果。在 12 孔培养盘中于 10% 血清中每孔接种 500,000 个 BxPC-3 和 A673 细胞过夜。第 2 天使细胞血清饥饿过夜。第 3 天进行抗体预孵育 1 小时 (500nM P4-G1-M1.3) 且添加生长因子 (100ng/ml 的 IGF1、IGF2 或 5 μ g/ml 的胰岛素), 15 分钟后溶解。

[1245] 结果 (图 52) 指示 P4-G1-M1.3 能够在表达高水平胰岛素受体 (IR) 的 A673 细胞中显著阻断 IGF2 和胰岛素信号传导。此抑制水平未见于表达低 IR 水平的 BxPC-3 细胞中。

[1246] 实施例 23 : PBA P4-G1-M1.3 显示优于抗 IGF-1R mAb 的降低 mTOR 活化和 mTOR 蛋白水平的作用

[1247] 此实施例展示在研究结束 BxPC-3 肿瘤中, P4-G1-M1.3 显示优于抗 IGF-1R mAb 的控制 mTOR 活化的作用。

[1248] 基本上如下进行来自 BxPC-3 异种移植物研究的肿瘤的概况分析。制备具有人肿瘤细胞系异种移植物的鼠且基本上如上文实施例 3D 中所述施用各种处理。自 PBS 对照组收集五个研究结束肿瘤, 基本上如下制备 P4-G1-M1.3 的最高剂量组 (每只小鼠 500 μ g, q3d) 和抗 IGF1R Ab#A (加尼图单抗 ; SEQ ID 327+SEQ ID 328) 的最高剂量组 (每只小鼠 368 μ g, q3d)。通过组织粉碎和于 TER1 缓冲液 (Invitrogen) 中溶解产生溶解产物。通过 BCA 方法定量总蛋白质, 且将相等总蛋白质在 4-12% SDS-PAGE 凝胶上电泳。使用标准方法将凝胶转移至硝化纤维素上。使用以下进行蛋白质印迹 : 抗 mTOR 和抗磷酸化 mTOR (Ser2448) 一次抗体 (所有均来自 Cell Signaling Technology)。所用二次抗体为抗兔 IgG-DyeLight800 (Cell Signaling Technology)。使用 Li-Cor Odyssey 系统使印迹显色。通过将靶标条带的强度除以其相关 β -肌动蛋白对照条带来进行针对 β -肌动蛋白的校正。

[1249] 结果 (图 53A 和 53B 以及表 32) 指示来自经过 PBA P4-G1-M1.3 处理的小鼠的肿瘤中的 mTOR 和磷酸化 mTOR (Ser2448) 水平显著低于经抗 IGF-1R Ab#A 处理的小鼠。

[1250] 表 32. 在研究结束 BxPC-3 肿瘤中, P4-G1-M1.3 显示优于抗 IGF-1R Ab#A 的控制 mTOR 活性的作用。

[1251]

样品	相对于缓冲液对照的 mTOR 水平	相对于缓冲液对照的磷酸化 mTOR 水平
缓冲液对照	1.0	1.0
P4-G1-M1.3	2.4	1.1
抗 IGF-1R Ab# A(加尼图单抗; SEQ ID NO:327+SEQ ID	10.5	2.3

[1252]

NO:328)		
---------	--	--

[1253] 实施例 24 :P4-G1-M1.3 在 Caki-1 和 BxPC-3 异种移植物模型中下调受体且抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号传导

[1254] 此实施例展示在 Caki-1 人肾透明细胞癌和 BxPC-3 人胰腺腺癌异种移植物模型的研究结束肿瘤中, P4-G1-M1.3 下调受体且抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号传导。

[1255] 基本上如下进行来自 Caki-1 异种移植物研究的肿瘤的概况分析。制备具有人肿瘤细胞系异种移植物的老鼠且基本上如上文实施例 3D 中所述施用各种处理。对于 Caki-1 异种移植物研究, 建立 3 个组, 各自含有 5 只老鼠。所述组包括对照组、P4-G1-M1.3 组 (600 μg) 和抗 IGF-1R Ab#A 组 (291 μg 剂量 1, 320 μg 剂量 2)。抗体以三日时间间隔腹膜内给予两次。依维莫司每日口服给予一次。第二次抗体剂量 24 小时后收集肿瘤。

[1256] 基本上如实施例 23 中所述进行来自 BxPC-3 异种移植物研究的肿瘤的概况分析。

[1257] 最初对肿瘤称重且在 CryoPrep 组织粉碎机 (CP-02 型, Covaris) 中进行粉碎。将含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的组织提取试剂 1 (TER1, Life Technologies™) 以每 100mg 组织 1ml TER1 的比率添加至肿瘤中。样品在冰上孵育 30 分钟以使组织溶解且根据制造商的方案推挤穿过 QIAshredder™管柱 (Qiagen)。根据制造商的方案进行 BCA 分析 (Pierce) 以测定蛋白质浓度。

[1258] 通过蛋白质印迹分析样品。添加含有 β-巯基乙醇 (β-ME) 的加载缓冲液且将溶解产物在 95℃ 下煮沸 5 分钟。在 18 孔凝胶 (BioRad) 的各孔上电泳约 40 μg 蛋白质和两份梯形标记 (Invitrogen)。凝胶在 150 恒定电压下电泳约 90 分钟且使用 iBlot® (Invitrogen) 转移系统 8 分钟转移程序转移至硝化纤维素膜上。将膜于 Odyssey®阻断缓冲液 (Licor® Biosciences) 中在室温下阻断 1 小时, 且接着与一次抗体一起在 4℃ 下于含 5% BSA 的 TBS-T 中孵育过夜。所有抗体均购自 Cell Signaling 且以推荐稀释度使用。第二天, 将膜用 TBS-T 洗涤 3 次每次 5 分钟, 且接着与在含 5% 牛奶的 TBS-T 中以

1:10,000–15,000 稀释的抗兔 IgG–DyLight® 800 (Cell Signaling) 或抗兔 IRDye® 800 (Licor® Biosciences) 在室温下一起孵育 1 小时。接着将膜用 TBS-T 洗涤 3 次每次 5 分钟,且使用 Licor® Odyssey® 系统 (Licor® Biosciences) 进行扫描。使用 Image Studio 2.0 定量条带强度且针对 β -肌动蛋白水平进行校正。在 Caki-1 异种移植物中,将对照肿瘤与经过 P4-G1-M1.3、抗 IGF-1R Ab#A+ 抗 ErbB3Ab#A 或依维莫司处理的肿瘤进行比较。

[1259] Caki-1 概况分析研究的结果 (图 54A–F) 指示 IGF-1R、胰岛素受体、ErbB3、EGFR、pAKT (Ser473 或 Thr308)、pFoxO1 (Thr24)/FoxO3a (Thr32) 和磷酸化 mTOR (Ser2448 或 Ser2481) 的水平均与对照小鼠中的水平类似,或在来自经过 P4-G1-M1.3 处理的小鼠的肿瘤中比经过抗 IGF-1R Ab#A+ 抗 ErbB3Ab#A 组合或 mTOR 抑制剂依维莫司处理的小鼠低。

[1260] BxPC-3 概况分析研究的结果 (图 55A–C) 指示 IGF-1R、ErbB3、pEGFR、pmTOR (S2448) 和 pS6 (S235/236) 均在来自经过 P4-G1-M1.3 处理的小鼠的肿瘤中比经过抗 IGF-1R Ab#A 或仅 PBS 处理的小鼠低。

[1261] 实施例 25 :P4-G1-M1.3 阻断 IGF-1 和 IGF-2 与受体的结合

[1262] 此实施例借助于 ELISA 测定展示 P4-G1-M1.3 有效阻断 IGF-1 和 IGF-2 与 IGF-1R 的结合。

[1263] 将 96 孔 Reacti-bind® 盘 (Pierce) 用 50 μ l IGF-1R-His (R&D Systems 目录号 305-GR; 于 PBS 中 2 μ g/ml) 涂布且在 4°C 下孵育过夜。第二天,将盘用 PBS+0.05% Tween-20 (PBS-T) 洗涤且在室温下用 100 μ l 无蛋白质阻断缓冲液 (Pierce) 阻断 1 小时。将盘用 PBS-T 洗涤且添加 100 μ l P4-G1-M1.3, 重复两份。抗体浓度始于 500nM (于 PBS-T 中) 且包括十份另外的两倍稀释液和一份空白 (仅 PBS-T)。将盘在室温下孵育两小时且接着用 PBS-T 洗涤。以 100ng/ml 添加 100 μ l IGF-1 或 IGF-2 (EMD Chemicals) 且在室温下孵育一小时。洗涤后,添加 100 μ l 兔抗 IGF-1 或兔抗 IGF-2 (均为 Abcam, 5 μ g/ml) 至盘中且在室温下孵育一小时。接着洗涤盘且与 100 μ l 抗兔 HRP (Cell Signaling) 一起在室温下孵育 1 小时,再次洗涤且添加 100 μ l TMB 底物 (Cell Signaling)。将盘在室温下孵育 5–15 分钟直至出现蓝色,且用 100 μ l 停止溶液 (Cell Signaling Technology) 使反应停止。在 PerkinElmer Envision 盘读取器上读取 450nm 下的吸光度且使用 GraphPad Prism® 产生结合曲线。

[1264] ELISA 测定的结果 (图 56) 展示 P4-G1-M1.3 以剂量依赖性方式阻断 IGF-1 与 IGF-2 两者与 IGF-1R 的结合。

[1265] 实施例 26 :DU145、BxPC-3、SK-ES-1 和 Caki-1 肿瘤异种移植物模型中的 P4-G1-M1.3 和 P4-G1-C8

[1266] 对于以下各研究 A–D,将细胞用 PBS: 减去生长因子的基质胶 1:1 再悬浮且皮下注射至 Nu/Nu 小鼠体内。允许肿瘤发展 8 天。抗体以每只小鼠指定剂量每 3 天一次 (q3d) 腹膜内注射。每周两次通过卡尺手动测量肿瘤长度和宽度,且使用下式计算肿瘤体积: $\pi/6 (L \times W^2)$ 。研究的各组含有 10 只动物。

[1267] A. P4-G1-C8 和 P4-G1-M1.3 在体内抑制 DU145 前列腺癌细胞的肿瘤生长。

[1268] 对于此 DU145 异种移植物研究,制备 8×10^6 个 DU145 细胞且如上所述使用。

[1269] 结果 (图 57A) 展示 P4-G1-C8 与 P4-G1-M.3 均在体内抑制前列腺癌细胞的生长。

[1270] B. P4-G1-C8 和 P4-G1-M1.3 比抗 IGF-1R IgG 更好地在体内抑制 BxPC-3 胰腺癌细胞的肿瘤生长。

[1271] 对于此异种移植物研究,制备 5×10^6 个 BxPC-3 细胞且如上所述使用。

[1272] 结果 (图 57B) 展示 P4-G1-C8 和 P4-G1-M1.3 在体内抑制 BxPC-3 胰腺癌细胞的肿瘤生长且在抑制肿瘤细胞生长方面均优于抗 IGF-1R Ab#A。

[1273] C. P4-G1-M1.3 在体内抑制 SK-ES-1 尤文氏肉瘤癌细胞的肿瘤生长

[1274] 对于此异种移植物研究,制备 10×10^6 个 SK-ES-1 细胞且如上所述使用。

[1275] 结果 (图 57C) 展示 P4-G1-M1.3 以剂量依赖性方式抑制肿瘤细胞生长。

[1276] D. P4-G1-M1.3 在体内抑制 Caki-1 肾细胞癌的癌细胞的生长且显示抑制优于抗 IGF-1R IgG 与抗 ErbB3IgG 的组合。

[1277] 对于此研究,制备 8×10^6 个 Caki-1 细胞且如上所述使用。

[1278] 结果 (图 57D) 展示 P4-G1-M1.3 以剂量依赖性方式抑制肿瘤细胞生长且在抑制肿瘤细胞生长方面比抗 IGF-1R Ab#A (加尼图单抗;SEQ ID 327+SEQ ID 328) 与抗 ErbB3Ab#A (SEQ ID 336+SEQ ID 337) 抗体的组合更有效,其中这些抗体以相等暴露量或以等摩尔浓度剂量给予。

[1279] 实施例 27:用于设计小鼠中的 PD/ 功效研究的 PK 数据的计算分析

[1280] 此实施例描述用于拟合数学模拟与实验数据以估算 M1.3-G1-P4 的药物动力学 (PK) 参数的计算方法。

[1281] 拟合数学模拟与 PK 数据

[1282] 经由实施静脉内 (IV) 快速注射靶标介导的药物配置 (TMDD) 模型来推断 M1.3-G1-P4 的 PK 参数。IV TMDD 为结构化为一组 4 个相关微分方程的 2 隔室 PK 模型,如下:

$$[1283] \quad \frac{d[Dc]}{dt} = -C_{ld}[Dc] + C_{ld}[Dp] \frac{V_p}{V_c} - C_l[Dc] - k_{on}[R][Dc] + k_{off}[D:R] \quad (1A)$$

$$[1284] \quad \frac{d[Dp]}{dt} = C_{ld}[Dc] \frac{V_c}{V_p} - C_{ld}[Dp] \quad (1B)$$

$$[1285] \quad \frac{d[R]}{dt} = k_{in} - k_{out}[R] - k_{on}[R][Dc] + k_{off}[D:R] \quad (1C)$$

$$[1286] \quad \frac{d[D:R]}{dt} = k_{on}[R][Dc] - k_{off}[D:R] - k_{el}[D:R] \quad (1D)$$

[1287] 在方程 1A-1D 中, Dc 和 Dp 为中心和周边隔室中药物的浓度, Vc 和 Vp 为中心和周边隔室的体积, 而 R 和 D:R 表示中心隔室中游离靶受体和药物-受体复合物的浓度。此外, C_{ld} 、 C_l 、 k_{in} 、 k_{out} 、 k_{on} 、 k_{off} 和 k_{el} 分别表示转运穿过隔室的速率常数、药物自中心隔室的清除率、受体合成、受体降解、药物-受体缔合、药物-受体解离和药物-受体自中心隔室的清除率。IV TMDD 模型描述当相关药物直接注射于中心隔室 (血液) 中时, 中心隔室中药物与靶受体结合和药物清除的动态过程以及药物自中心隔室转运至周边隔室的过程。拟合 TMDD 模型与自小鼠血液获得的实验数据使得能够估算 M1.3-G1-P4 的 PK 性质。

[1288] 图 58 示出 TMDD 模型与实验数据的拟合 (实线=静脉内给予每只小鼠 500 μ g 剂

量的拟合,点线=静脉内给予每只小鼠 100 μ g 剂量的拟合)。M1.3-G1-P4 PK 参数列于下表 24 中。

[1289] 表 24. 自拟合 IV TMDD 模拟与自小鼠血液获得的 PK 数据推断出的 M1.3-G1-P4 的 PK 参数

[1290]

	C_{ld}	C_l	k_{in}	k_{out}	k_{on}	k_{off}	k_{el}	V_c	V_t
	(h^{-1})	(h^{-1})	$(ng\ mL^{-1}\ h^{-1})$	(h^{-1})	$(ng\ h^{-1})$	(h^{-1})	(h^{-1})	mL	mL
<i>M1.3-G1-P4</i>	0.203	0.030	1020.44	0.0415	0.006	0.01	0.0001	1.386	51.745

[1291] 等同物

[1292] 本领域的技术人员将认识到,或能够仅使用常规实验即可确认和实施本文所述特定实施方案的许多等同物。所述等同物意欲由以下权利要求书涵盖。附属权利要求中公开的实施方案的任何组合预期在本发明的范围内。

[1293] 以引用的方式并入

[1294] 本文提及的每一美国和外国专利和申请中的专利申请和公布各自的公开内容明确以引用的方式整体并入本文。

	10	20	30[S.302]	40	50[S.303]	60	70	
IGF-1R 重链共同序列	
M57 重链	EVQLQSGGGLVQPGGSLRLS	CAASGEFSSXYPMHVVRQAP	QKGLWYSSISXKGGATAYADSV	KGRFTI	SEQ ID NO: 1			
M78 重链	SEQ ID NO: 8
F4 重链	SEQ ID NO: 9
SF 重链	SEQ ID NO: 10
5-7lib6PR3-2-54-app8F2	SEQ ID NO: 11
5-7lib6PR3-2-13-app8F2	SEQ ID NO: 12
5-7lib6pr3p19	SEQ ID NO: 13
5-7lib6pr3p23	SEQ ID NO: 14
5-7lib6pr3p4	SEQ ID NO: 15
5-7lib6pr3p43	
5-7-11b6-14	
5-7-11b6-25	
5-7-11b6-27	
5-7-11b6-57	SEQ ID NO: 20
5-7-11b6-65	
5-7-11b6-66	
5-7-11b6-67	
5-7-11b6-77	SEQ ID NO: 25
5-7-11b6-78	
5-7-11b6-80	
5-7-11b6-86	
5-7-11b6-93	
5-7-11b6-48	SEQ ID NO: 30
5-7-11b6-76	SEQ ID NO: 31
F4M	SEQ ID NO: 384
F33M	SEQ ID NO: 385

图 1A

	10	2018.3051	30	40	5.306150	60	70	
IGF-1R 轻链非同序列	DIQXIQSPSLSASKGDRTVITTCRASQGISSYLANWYQOKPGKPKLLIYAKSTKQSGVPSMFSOGSGGTX							SEQ ID NO: 2
IGF-1R 轻链非同序列	DIQXIQSPSLSASKGDRTVITTCRASQGISSYLANWYQOKPGKPKLLIYAKSTKQSGVPSMFSOGSGGTX							SEQ ID NO: 3
M57 K轻链	L				R	R		E
M78 K轻链	M				S	R		D
M4 K轻链	M				K	L		D
SF K轻链	M				A	L		D
5-711b6PR3-2-30-app8f2	L				C	C		D
5-711b6PR3-2-43-app8f2	M				K	R		D
5-711b6PR3-2-34-app8f2	L				A	R		E
5-711b6PR3-2-7-app8f2	M				S	T		E
5-711b6PR3-2-13-app8f2	M				G	E		E
5-711b6PR3-2-24-app8f2	L				K	R		D
5-711b6PR3-2-31-app8f2	L				C	G		D
5-711b6PR3-2-26-app8f2	M				S	P		E
5-711b6PR3-2-56-app8f2	L				A	P		D
5-711b6PR3-2-21-app8f2	L				A	P		D
5-711b6PR3-2-67-app8f2	L				A	P		D
5-711b6PR3-2-10-app8f2	M				S	P		E
5-711b6PR3-2-49-app8f2	M				S	T		E
5-711b6PR3-2-23-app8f2	M				S	T		E
5-711b6PR3-2-29-app8f2	L				S	L		E
5-711b6PR3-2-87-app8f2	L				S	L		E
5-711b6PR3-2-36-app8f2	M				S	P		E
5-711b6PR3-2-41-app8f2	M				S	P		E
5-711b6PR3-2-39-app8f2	M				S	P		E
5-711b6PR3-2-48-app8f2	M				S	P		E
5-711b6PR3-2-61-app8f2	M				S	P		E
5-711b6PR3-2-62-app8f2	M				S	P		E
5-711b6PR3-2-58-app8f2	M				S	P		E
5-711b6PR3-2-66-app8f2	M				S	P		E
5-711b6PR3-2-73-app8f2	M				S	P		E
5-711b6PR3-2-2-app8f2	M				S	P		E
5-711b6PR3-2-46-app8f2	M				S	P		E
5-711b6PR3-2-27-app8f2	M				S	P		E
5-711b6PR3-2-28-app8f2	M				S	P		E
5-711b6PR3-2-92-app8f2	M				S	P		E
5-711b6PR3-2-53-app8f2	M				A	T		D
5-711b6PR3-2-71-app8f2	M				A	T		D
5-711b6PR3-2-55-app8f2	L				A	P		D
5-711b6PR3-2-93-app8f2	M				S	T		E
5-711b6PR3-2-96-app8f2	M				S	T		E
5-711b6PR3-2-94-app8f2	L				A	P		D

图 2A

S-7-11b6-55	L	S	S	D	SEQ ID NO: 193
S-7-11b6-57	L	S	S	D	SEQ ID NO: 196
S-7-11b6-62	M	S	S	D	SEQ ID NO: 307
S-7-11b6-64	M	S	S	D	
S-7-11b6-65	L	S	S	D	
S-7-11b6-67	L	S	S	D	
S-7-11b6-68	L	S	S	D	
S-7-11b6-69	M	S	S	D	
S-7-11b6-70	M	S	S	D	
S-7-11b6-72	M	S	S	D	
S-7-11b6-77	M	S	S	D	
S-7-11b6-78	M	S	S	D	
S-7-11b6-79	M	S	S	D	
S-7-11b6-86	L	S	S	D	
S-7-11b6-90	L	S	S	D	
S-7-11b6-91	L	S	S	D	
S-7-11b6-92	L	S	S	D	
S-7-11b6-98	M	S	S	D	
S-7-11b6-76	L	S	S	D	
P4M K轻链	L	S	S	D	
P33M K轻链	M	S	S	D	

IGF-1R 轻链共同序列	80	90	100
IGF-1R 轻链共同序列
M57 K轻链
M7R K轻链
P4 K轻链
SF K轻链
S-711b6PR3-2-30-APP8F2
S-711b6PR3-2-43-APP8F2
S-711b6PR3-2-34-APP8F2
S-711b6PR3-2-7-APP8F2
S-711b6PR3-2-13-APP8F2
S-711b6PR3-2-24-APP8F2
S-711b6PR3-2-31-APP8F2
S-711b6PR3-2-26-APP8F2
S-711b6PR3-2-56-APP8F2
S-711b6PR3-2-21-APP8F2
S-711b6PR3-2-67-APP8F2
S-711b6PR3-2-10-APP8F2
S-711b6PR3-2-49-APP8F2

图 2C

5-7lib6PR3-2-23-app8F2	A	TF
5-7lib6PR3-2-29-app8F2	A	MF
5-7lib6PR3-2-87-app8F2	A	MF
5-7lib6PR3-2-36-app8F2	A	MF
5-7lib6PR3-2-41-app8F2	A	MF
5-7lib6PR3-2-39-app8F2	A	MF
5-7lib6PR3-2-48-app8F2	A	MF
5-7lib6PR3-2-61-app8F2	A	MF
5-7lib6PR3-2-62-app8F2	A	MF
5-7lib6PR3-2-58-app8F2	A	MF
5-7lib6PR3-2-66-app8F2	A	MF
5-7lib6PR3-2-73-app8F2	A	MF
5-7lib6PR3-2-2-app8F2	A	MF
5-7lib6PR3-2-46-app8F2	A	MF
5-7lib6PR3-2-27-app8F2	A	MF
5-7lib6PR3-2-28-app8F2	A	MF
5-7lib6PR3-2-92-app8F2	A	MF
5-7lib6PR3-2-53-app8F2	G	TF
5-7lib6PR3-2-71-app8F2	G	TF
5-7lib6PR3-2-55-app8F2	G	TW
5-7lib6PR3-2-93-app8F2	A	TF
5-7lib6PR3-2-96-app8F2	A	TF
5-7lib6PR3-2-94-app8F2	G	TW
5-7lib6PR3-2-86-app8F2	G	TW
5-7lib6PR3-2-57-app8F2	A	TW
5-7lib6PR3-2-59-app8F2	A	TF
5-7lib6PR3-2-63-app8F2	A	TF
5-7lib6PR3-2-64-app8F2	G	TW
5-7lib6PR3-2-72-app8F2	G	WW
5-7lib6PR3-2-76-app8F2	A	TF
5-7lib6PR3-2-77-app8F2	G	TW
5-7lib6PR3-2-78-app8F2	G	SE
5-7lib6PR3-2-81-app8F2	A	TF
5-7lib6PR3-2-25-app8F2	A	WW
5-7lib6PR3-2-35-app8F2	G	WW
5-7lib6PR3-2-85-app8F2	G	WW
5-7lib6 PR4p17	A	MF
5-7lib6 PR4p21	G	WW
5-7lib6pr3p20	G	TW
5-7lib6pr3p23	G	SE
5-7lib6pr3p33	A	RW
5-7lib6pr3p4	A	TF
5-7-lib6-1	G	SW
5-7-lib6-15	A	RE

图 2D

S-7-11b6-16	A	TF	SEQ ID NO: 133
S-7-11b6-17	C	TW	SEQ ID NO: 386
S-7-11b6-18	A	SW	SEQ ID NO: 387
S-7-11b6-19	G	RF	
S-7-11b6-20	A	TF	
S-7-11b6-21	A	TF	
S-7-11b6-22	A	RW	
S-7-11b6-23	A	WW	
S-7-11b6-24	A	TF	
S-7-11b6-25	A	RW	
S-7-11b6-26	A	RF	
S-7-11b6-27	A	TF	
S-7-11b6-30	G	RW	
S-7-11b6-32	G	RF	
S-7-11b6-39	G	MF	
S-7-11b6-40	G	SF	
S-7-11b6-42	A	MF	
S-7-11b6-43	G	SF	
S-7-11b6-45	G	TW	
S-7-11b6-47	G	SF	
S-7-11b6-51	A	RF	
S-7-11b6-52	C	RW	
S-7-11b6-55	A	QF	
S-7-11b6-57	A	TW	
S-7-11b6-62	G	SF	
S-7-11b6-64	A	FW	
S-7-11b6-65	A	LF	
S-7-11b6-67	A	WF	
S-7-11b6-68	G	MF	
S-7-11b6-69	G	RW	
S-7-11b6-70	A	TF	
S-7-11b6-72	A	LF	
S-7-11b6-77	G	FF	
S-7-11b6-78	G	AF	
S-7-11b6-79	C	TF	
S-7-11b6-86	A	VW	
S-7-11b6-90	A	TW	
S-7-11b6-91	C	TW	
S-7-11b6-92	C	TF	
S-7-11b6-48	A	TF	
S-7-11b6-76	C	TW	
P4M K最低	FA	TF	
P33M K最低	FA	RW	

图 2E

Erbb3 重链共同序列	10	20 [S_309]30	40	50 [S_310]60	70
Erbb3 重链	XVQLVXS	CGGLVQPCXSLRLSCAASGFTFDDYANHWVRQAPGKGL	EWYGLISWXS	SGSYGYADSVKGRFTI	SEQ ID NO: 4
B60 重链	E	E	E	E	SEQ ID NO: 5
B72 重链	E	E	E	E	SEQ ID NO: 134
M27 重链	E	E	E	E	SEQ ID NO: 135
N7 重链	E	E	E	E	SEQ ID NO: 136
P1 重链	E	E	E	E	SEQ ID NO: 137
M27 重链	E	E	E	E	SEQ ID NO: 138
B69 重链	E	E	E	E	SEQ ID NO: 139
P6 重链	E	E	E	E	SEQ ID NO: 140
M1.3 重链	Q	Q	Q	Q	SEQ ID NO: 141
C8 重链	Q	Q	Q	Q	SEQ ID NO: 142
E3B-M20	E	E	E	E	SEQ ID NO: 143
E3B-M73	E	E	E	E	
E3B-B40	E	E	E	E	
E3B-M64	E	E	E	E	
E3B-M11	E	E	E	E	
E3B-B10	E	E	E	E	
E3B-M89	E	E	E	E	
E3B-B68	E	E	E	E	
E3B-B63	E	E	E	E	
E3B-M35	E	E	E	E	
E3B-B4	E	E	E	E	
E3B-B53	E	E	E	E	
E3B-B85	E	E	E	E	
E3B-B84	E	E	E	E	
E3B-B67	E	E	E	E	
E3B-M45	E	E	E	E	
E3B-B58	E	E	E	E	
E3B-M7	E	E	E	E	
E3B-M54	E	E	E	E	
E3B-B70	E	E	E	E	
E3B-B36	E	E	E	E	
E3B-F28	E	E	E	E	
P6L	E	E	E	E	
					SEQ ID NO: 165
					SEQ ID NO: 388

图 3A

	80	90	100(S.311J110	120
Erbb3 重链共同序列	SRDNAKNSLYLQMN	SLFXEDTAKYICARD	LGXXQWXXGFD	TWGGGTLVTSS
Erbb3 重链共同序列	SRDNAKNSLYLQMN	SLRAEDTALYICARD	LGXXQWXXGFD	TWGGGTLVTSS
B60 重链	AY	EE		SEQ ID NO: 4
B72 重链	FN	EE		SEQ ID NO: 5
M27 重链	FN	VD		SEQ ID NO: 134
M7 重链	YN	WE		SEQ ID NO: 135
P1 重链	AY	VE		SEQ ID NO: 136
M27 重链	FN	VD		SEQ ID NO: 137
B69 重链	YN	LE		SEQ ID NO: 138
P6 重链	YN	LE		SEQ ID NO: 139
M1.3 重链	AY	VE		SEQ ID NO: 140
C8 重链	YN	VE		SEQ ID NO: 141
E3B-M20	AK	LE		SEQ ID NO: 142
E3B-M73	AF	EE		SEQ ID NO: 143
E3B-B40	AF	QE		
E3B-M64	AM	VE		
E3B-M11	FN	NE		
E3B-B10	FN	NE		
E3B-M89	FN	NE		
E3B-B68	FN	LE		
E3B-B63	FM	VD		
E3B-M35	YN	VE		
E3B-B4	YN	LE		
E3B-B53	YN	LD		
E3B-B85	YN	LE		
E3B-B84	YN	LE		
E3B-B67	YN	LE		
E3B-M45	YN	LE		
E3B-B58	YN	QE		
E3B-M7	YN	WE		
E3B-M54	YS	VE		
E3B-B70	AY	EE		
E3B-B36	FN	VE		
E3B-P28	FM	VD		
P6L	YN	LE		
	SEQ ID NO: 165			
	SEQ ID NO: 388			

图 3B

Sequence	80	90	[S.314]	100	Seq ID	NO
SLTITGAQAEDEADYYCXS	RDXXG	XXWVFGG	G	TKVTVXG	SEQ	6
SLTITGAQAEDEADYYCXS	RDXXG	XXWVFGG	G	TKVTVXG	SEQ	7
SLTITGAQAEDEADYYCXS	RDXXG	XXWVFGG	G	TKVTVXG	SEQ	166
SLTITGAQAEDEADYYCXS	RDXXG	XXWVFGG	G	TKVTVXG	SEQ	167
SLTITGAQAEDEADYYCXS	RDXXG	XXWVFGG	G	TKVTVXG	SEQ	168
SLTITGAQAEDEADYYCXS	RDXXG	XXWVFGG	G	TKVTVXG	SEQ	169
SLTITGAQAEDEADYYCXS	RDXXG	XXWVFGG	G	TKVTVXG	SEQ	170
SLTITGAQAEDEADYYCXS	RDXXG	XXWVFGG	G	TKVTVXG	SEQ	171
SLTITGAQAEDEADYYCXS	RDXXG	XXWVFGG	G	TKVTVXG	SEQ	172
SLTITGAQAEDEADYYCXS	RDXXG	XXWVFGG	G	TKVTVXG	SEQ	173
SLTITGAQAEDEADYYCXS	RDXXG	XXWVFGG	G	TKVTVXG	SEQ	174
SLTITGAQAEDEADYYCXS	RDXXG	XXWVFGG	G	TKVTVXG	SEQ	175

图 4B

抗IGF-1R-IgG1/抗ErbB3双特异性剂**轻链****SF κ轻链**

DIQMTQSPSSLSASTGDRVTTTCRASQGISSYLAWYQOKPGKAPKLLIYAAS**TLOS**
 GVPSRFSGSGSGTDFTLTIS**SLQPEDFATYYCQQYETEP**LTFGGGTKVEIKRTVAA
 PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP**REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ**
 DSKDSTYLS**SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC**
 (SEQ ID NO: 202)

P4 κ轻链

DIQMTQSPSSLSASLGDRVTTTCRASQGISSYLAWYQOKPGKAPKLLIYA**KSTLOS**
 GVPSRFSGSGSGTDFTLTIS**SLQPEDSATYYCQQYWTEP**LTFGGGTKVEIKRTVAA
 PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP**REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ**
 DSKDSTYLS**SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC**
 (SEQ ID NO: 204)

M78 κ轻链

DIQMTQSPSSLSASLGDRVTTTCRASQGISSYLAWYQOKPGKAPKLLIYA**SSTROS**
 GVPSRFSGSGSGTDFTLTIS**SLQPEDSGTYYCQQYWAEP**LTFGGGTKVEIKRTVA
 APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP**REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE**
 QDSKDSTYLS**SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC**
 (SEQ ID NO: 206)

M57 κ轻链

DIQLTQSPSSLSASLGDRVTTTCRASQGISSYLAWYQOKPGKAPKLLIYA**RSTROS**
 GVPSRFSGSGSGTEFTLTIS**SLQPEDSATYYCQQYWTWEP**LTFGGGTKVEIKRTVA
 APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP**REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE**
 QDSKDSTYLS**SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC**
 (SEQ ID NO: 208)

重链**SF-G1-C8**

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLS**CAASGETESVYPMHWVRQAPGKGLEWVSSISSSGGATR**
 YADSVKGRFTISRDN**SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDFYDILTGN**AFDIWGQGT**TV**
 TVSSASTKGPSVFPLAPSSK**STSGGTAALGCLVKDYFPEPVT**SVWNSGALTSGVHTFPAV
 LQSSGLYSLSSV**TV**PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV**DKKVEPKSCDK**THCTCP**CPAPEL**

图 5A

LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNKGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOVYTLP
PSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFELYSKLTV
DKSRWOOGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSG
GGLVQPGGSLRLSCAASGFTEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVAGISWNSGSGIGYADSVK
GRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRPEDTAVYYCARDLGYNQWVEGFYWGQGTLLTVSS
ASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQDPAVSVALGQTVRITCOGDSLRSYYASWY
QKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSTSGNSASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGN
HWVFGGGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 210)

SF-G1-P1

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSVYPMHWVRQAPGKGLEWVSSISSSGGATR
YADSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDFYDILTGNAFDIWGQGTTV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNKGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOVYTLP
PSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFELYSKLTV
DKSRWOOGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGEVQLVESG
GGLVQPGGSLRLSCAASGFTEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGSTGYADSVK
GRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWVEGFYWGQGTLLTVSS
ASTGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCOGDSLRSYYASWYQKPG
QAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCESRDSPGNQWVFG
GGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 212)

SF-G1-M1.3

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSVYPMHWVRQAPGKGLEWVSSISSSGGATR
YADSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDFYDILTGNAFDIWGQGTTV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNKGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOVYTLP
PSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFELYSKLTV
DKSRWOOGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSG
GGLVQPGGSLRLSCAASGFTEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVAGISWDSGSTGYADSVK
GRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWVEGFYWGQGTLLTVSS
ASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQDPAVSVALGQTVRITCOGDSLRSYYASWY
QKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSTSGNSASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSPGN
QWVFGGGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 214)

图 5A(续)

SF-G1-M27

EVQLQLSGGGLVQPGGSLRLSCAASGETFSVYPMHWVRQAPGKGLEWVSSISSSGGATR
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDEYDILTGNAEDIWGQGTIV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDYSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVTLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOVYTL
PSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESG
GGLVQPGRLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSTGYADSVK
GRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGFNQWVDGEDYWGQGTIVTVSS
ASTGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRYYASWYQQKPG
QAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDADYYCNSRDTPGDQWVFG
GGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 216)

SF-G1-P6

EVQLQLSGGGLVQPGGSLRLSCAASGETFSVYPMHWVRQAPGKGLEWVSSISSSGGATR
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDEYDILTGNAEDIWGQGTIV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDYSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVTLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOVYTL
PSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESG
GGLVQPGRLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSTGYADSVK
GRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGFNQWLEGEDYWGQGTIVTVSSA
STGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRYYASWYQQKPGQ
APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDADYYCMSRDHPGNQWVFG
GGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 218)

SF-G1-B69

EVQLQLSGGGLVQPGGSLRLSCAASGETFSVYPMHWVRQAPGKGLEWVSSISSSGGATR
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDEYDILTGNAEDIWGQGTIV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDYSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVTLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOVYTL
PSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESG
GGLVQPGRLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSVGYADSVK
GRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGFNQWLEGEDYWGQGTIVTVSSA
STGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRYYASWYQQKPGQ
APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDADYYCMSRDSPGNQWVFG
GGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 220)

图 5A(续)

P4-G1-C8

EVQLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFMESRYPMHWVRQAPGKGLEWVGSISGSGGAT
PYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDFEYQILTGNAEDYWGQGT
TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNQKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPREPOVY
TLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWOOGNVFSCSVMEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGVQLV
QSGGGLVQPGGSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVAGISWNSGSGYADS
YKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRPEDTAVYYCARDLGYNQWVEGEDYWGQGTLTVT
SSASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYAS
WYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSTSGNSASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS
GNHWYFGGGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 222)

P4-G1-P1

EVQLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFMESRYPMHWVRQAPGKGLEWVGSISGSGGAT
PYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDFEYQILTGNAEDYWGQGT
TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNQKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPREPOVY
TLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWOOGNVFSCSVMEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLV
SGGGLVQPGSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGSTGYADSV
KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWVEGEDYWGQGTLTVS
SASTGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQK
PGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCESRDSPGNOWVF
GGGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 224)

P4-G1-M1.3

EVQLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFMESRYPMHWVRQAPGKGLEWVGSISGSGGAT
PYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDFEYQILTGNAEDYWGQGT
TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNQKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPREPOVY
TLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWOOGNVFSCSVMEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGVQLV
QSGGGLVQPGGSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVAGISWDSGSTGYAD
SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWVEGEDYWGQGTLT
VSSASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYAS
WYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSTSGNSASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSE
GNQWYFGGGTKVTVLG

图 5A(续)

(SEQ ID NO: 226)

P4-G1-M27

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGEMFSRYPMHWVRQAPGKGLEWVGSISGSGGAT
PYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDFEYQILTGNAEDYWGQGT
TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHODWLNNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPOVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQOGN VFSCSVMEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVE
SGGGLVQPGRSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSTGYADSV
KGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGYNQWVLEGEDYWGQGT LTVTS
SASTGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKP
QAPVLVIYQKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDTPGDQWVF
GGGKVTVLG

(SEQ ID NO: 228)

P4-G1-P6

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGEMFSRYPMHWVRQAPGKGLEWVGSISGSGGAT
PYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDFEYQILTGNAEDYWGQGT
TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHODWLNNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPOVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQOGN VFSCSVMEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVE
SGGGLVQPGRSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSTGYADSV
KGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGYNQWLEGEDYWGQGT LTVSS
ASTGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPG
QAPVLVIYQKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCMSRDHPGNQWYF
GGGKVTVLG

(SEQ ID NO: 230)

P4-G1-B69

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGEMFSRYPMHWVRQAPGKGLEWVGSISGSGGAT
PYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDFEYQILTGNAEDYWGQGT
TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHODWLNNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPOVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQOGN VFSCSVMEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVE
SGGGLVQPGRSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSVGYADS
YKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGYNQWLEGEDYWGQGT LTV
SSASTGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKP

图 5A(续)

GQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCMSRDSPGNQWVF
GGGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 232)

M78-G1-C8

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGEDESSYPMHWVRQAPGKGLEWVGSISSSGGATP
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKDFYTLTGNAEDMWGQGTS
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPOVYT
LPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQOGNVFSCSYMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGQVQLVQ
SGGGLVQPGGSLRLSCAASGEDESSYPMHWVRQAPGKGLEWVAGISWNSGSIYADSV
KGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRPEDTAVYYCARDLGYNQWVEGEDYWGQGTLVTVS
SASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASW
YQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSTSGNSASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSG
NHWYFGGGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 234)

M78-G1-P1

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGEDESSYPMHWVRQAPGKGLEWVGSISSSGGATP
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKDFYTLTGNAEDMWGQGTS
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPOVYT
LPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQOGNVFSCSYMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGEVQLVES
GGGLVQPGSLRLSCAASGEDESSYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGSTGYADSV
KGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWVEGEDYWGQGTLVTVS
SASTGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQK
GQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCESRDSPGNQWVF
GGGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 236)

M78-G1-M1.3

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGEDESSYPMHWVRQAPGKGLEWVGSISSSGGATP
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKDFYTLTGNAEDMWGQGTS
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPOVYT
LPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQOGNVFSCSYMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGQVQLVQ
SGGGLVQPGGSLRLSCAASGEDESSYPMHWVRQAPGKGLEWVAGISWDSGSTGYADS

图 5A(续)

VKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWVEGFDYWGQGTLVTV
SSASTGGGGSGGGSGGGSGGGSSYELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYAS
WYQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSTSGNSASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSP
GNQWVFGGGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 238)

M78-G1-M27

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGEDESSYPMHWVRQAPGKGLEWVGSISSSGGATP
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKDFYTILTGNAEDMWGQGT
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTSVWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHODWLNNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOVYT
LPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWOOGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGSGGGSGGGGSEVQLVES
GGGLVQPGSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSTGYADSV
KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGENQWVDFGFDYWGQGTLVTVS
SASTGGGGSGGGSGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQKPG
QAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDTPGDQWVF
GGGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 240)

M78-G1-P6

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGEDESSYPMHWVRQAPGKGLEWVGSISSSGGATP
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKDFYTILTGNAEDMWGQGT
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTSVWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHODWLNNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOVYT
LPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWOOGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGSGGGSGGGGSEVQLVES
GGGLVQPGSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSTGYADSV
KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGYNQWLEGEFDYWGQGTLVTVSS
ASTGGGGSGGGSGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQKPG
QAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCMSRDHPGNQWVF
GGGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 242)

M78-G1-B69

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGEDESSYPMHWVRQAPGKGLEWVGSISSSGGATP
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKDFYTILTGNAEDMWGQGT
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTSVWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKP

图 5A(续)

REEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOVYT
LPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWOOGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVES
GGGLVQGRSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSVGYADSV
KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGYNQWLEGEFDYWGQGLTVTVSS
ASTGGGSGGGGSGGGGSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPG
QAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCMSRDSPGNQWVFG
GGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 244)

M57-G1-C8

EVQLLSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFEFSKYPMHWVRQAPGKGLEWVSSISSDGGATV
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDEYTWLTGNAFDSWGQGT
SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVTSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLNISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKP
REEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOVYT
LPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWOOGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQ
SGGGLVQPGGSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVAGISWNSGSIGYADSV
KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRPEDTAVYYCARDLGYNQWVEGEFDYWGQGLTVTVS
SASTGGGSGGGGSGGGGSSYELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASW
YQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSTSGNSASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSG
NHWYFGGGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 246)

M57-G1-P1

EVQLLSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFEFSKYPMHWVRQAPGKGLEWVSSISSDGGATV
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDEYTWLTGNAFDSWGQGT
SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVTSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLNISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKP
REEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOVYT
LPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWOOGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVES
GGGLVQGRSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGSTGYADSV
KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWVEGEFDYWGQGLTVTVS
SASTGGGSGGGGSGGGGSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQK
PGAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCESRDSPGNQWVFG
GGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 248)

M57-G1-M1.3

EVQLLSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFEFSKYPMHWVRQAPGKGLEWVSSISSDGGATV
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDEYTWLTGNAFDSWGQGT

图 5A(续)

VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOVYT
LPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWOOGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQ
SGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVAGISWDSGSTGYADS
VKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWVEGFEDYWGQGLTVTV
SSASTGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQDPAVSVALGQTVRITCOGDSLRSYYAS
WYQQKPGQAPVLIYVKNNRPSGIPDRFSGSTSGNSASLTITGAQAEDADYYCNSRDSP
GNQWVYFGGGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 250)

M57-G1-M27

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFEESKYPMHWVRQAPGKGLEWVSSISDGGATV
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDFYTWLTGNAFDSWGQGT
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOVYT
LPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWOOGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVES
GGGLVQPGSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSTGYADSV
KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGYNQWVDFEDYWGQGLTVTVS
SASTGGGGSGGGGSGGGGSSSEL TQDPAVSVALGQTVRITCOGDSLRSYYASWYQQK
QAPVLIYVKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDADYYCNSRDTPGDQWVY
GGGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 252)

M57-G1-P6

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFEESKYPMHWVRQAPGKGLEWVSSISDGGATV
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDFYTWLTGNAFDSWGQGT
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOVYT
LPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWOOGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVES
GGGLVQPGSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSTGYADSV
KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGYNQWLEGFEDYWGQGLTVTVSS
ASTGGGGSGGGGSGGGGSSSEL TQDPAVSVALGQTVRITCOGDSLRSYYASWYQQKPG
QAPVLIYVKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDADYYCMSRDHPGNQWVY
GGGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 254)

图 5A(续)

M57-G1-B69

EVQLQLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFFFSKYPMHWVRQAPGKGLEWVSSISSDGGATV
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDFYTWLTGNAFDSWGQGTS
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOVYT
LPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQOGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVES
GGGLVQPGRSLRLSCAASGETFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSVGYADSV
KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGYNQWLLEGEDYWGQGTLVTVSS
ASTGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSLSYYASWYQQKPG
QAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCMSTRDSPGNQWVFG
GGTKVTVLG
(SEQ ID NO: 256)

图 5A(续)

抗ErbB3-IgG1/抗IGF1R双特异性剂轻链P1 λ轻链

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLR~~SY~~YASWYQOKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDR
FSGSSSGNTASLTITGAQAED~~EADYYCES~~RDSPGNQWVFGGGTKVTVLGQPKAAPSVTL
FPSSEELQANKATLVCLVSDFYPGAVTVAWKADGSPVKVGVETTKPSKQSNNKYAASS
YLSLTPEQWKSHRSYSCRVTHEGSTVEKTVAPAECs
(SEQ ID NO: 258)

M27 λ轻链

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLR~~SY~~YASWYQOKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDR
FSGSSSGNTASLTITGAQAED~~EADYYCNSRD~~TPGDQWVFGGGTKVTVLGQPKAAPSVTL
FPSSEELQANKATLVCLVSDFYPGAVTVAWKADGSPVKVGVETTKPSKQSNNKYAASS
YLSLTPEQWKSHRSYSCRVTHEGSTVEKTVAPAECs
(SEQ ID NO: 260)

M7 λ轻链

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLR~~SY~~YASWYQOKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDR
FSGSSSGNTASLTITGAQAED~~EADYYCNSRD~~TPGNKWVFGGGTKVTVLGQPKAAPSVTL
FPSSEELQANKATLVCLVSDFYPGAVTVAWKADGSPVKVGVETTKPSKQSNNKYAASS
YLSLTPEQWKSHRSYSCRVTHEGSTVEKTVAPAECs
(SEQ ID NO: 262)

B72 λ轻链

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLR~~SY~~YASWYQOKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDR
FSGSSSGNTASLTITGAQAED~~EADYYCNSRD~~VPGDQWVFGGGTKVTVLGQPKAAPSVTL
FPSSEELQANKATLVCLVSDFYPGAVTVAWKADGSPVKVGVETTKPSKQSNNKYAASS
YLSLTPEQWKSHRSYSCRVTHEGSTVEKTVAPAECs
(SEQ ID NO: 264)

B60 λ轻链

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLR~~SY~~YASWYQOKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDR
FSGSSSGNTASLTITGAQAED~~EADYYCNSRD~~WPGNQWVFGGGTKVTVLGQPKAAPSVT
LFPSSEELQANKATLVCLVSDFYPGAVTVAWKADGSPVKVGVETTKPSKQSNNKYAAS
SYLSLTPEQWKSHRSYSCRVTHEGSTVEKTVAPAECs
(SEQ ID NO: 266)

图 5B

重链**P1-G1-P4**

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGST
GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWVEGFEDYWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPREPOV
YTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWOOGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGGSGGGGGSGGGGGSEVQLL
QSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFMFSRYPMHWRQAPGKGLEWVGSISGSGGATPYADS
VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDEYQILTGNAFDYWGQGTSTVTS
SASTGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSDIQMTQSPSSLSASLGDRVITITCRASQGISSYLAWY
QOKPGKAPKLLIYAKSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDSATYYCOQYWTPELT
FGGGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 268)

P1-G1-M57

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGST
GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWVEGFEDYWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPREPOV
YTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWOOGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGGSGGGGGSGGGGGSEVQLL
QSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFFESKYPMHWRQAPGKGLEWVSSISSDGGATVYADS
VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDEXTWLTGNAEDSWGQGTSTVTS
SASTGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSDIQLTQSPSSLSASLGDRVITITCRASQGISSYLAWY
QOKPGKAPKLLIYARSTROSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDSATYYCOQYWTWPL
TFGGGKVEIKRT
(SEQ ID NO: 270)

P1-G1-M78

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGST
GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWVEGFEDYWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPREPOV
YTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWOOGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGGSGGGGGSGGGGGSEVQLL
QSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFEDESSYPMHWRQAPGKGLEWVGSISSSGGATPYADSV
KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKDFYTLTGNAEDMWGQGTSTVTVSSA

图 5B(续)

STGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQGISSYLAWYQ
QKPGKAPKLLIYASSTRQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDSGTYYCQOYWAFPLTF
GGGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 272)

M27-G1-P4

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGETFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGST
GYADSVKGRFTISRDNNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGENQWVDGFEDYWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKT
KPREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPREPOV
YTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGEYPSDIAVEWESNGOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWOOGNVFSCSVMEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLL
QSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFEMFSRYPMHVVRQAPGKGLEWVSGISGSGGATPYADS
VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDEYQILTGNAFDYWGQGTITVTVS
SASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQGISSYLAWY
QKPGKAPKLLIYAKSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDSATYYCQOYWTEPLT
FGGGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 274)

M27-G1-M57

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGETFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGST
GYADSVKGRFTISRDNNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGENQWVDGFEDYWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKT
KPREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPREPOV
YTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGEYPSDIAVEWESNGOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWOOGNVFSCSVMEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLL
QSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFEEKYPMHWVRQAPGKGLEWVSSISDGGATVYADS
VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDEXTWLTGNAEDSWGQTSVTVS
SASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGSDIQLTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQGISSYLAWY
QKPGKAPKLLIYARSTRQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDSATYYCQOYWTWPL
TFGGGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 276)

M27-G1-M78

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGETFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGST
GYADSVKGRFTISRDNNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGENQWVDGFEDYWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKENWYVDGVEVHNAKT
KPREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPREPOV

图 5B(续)

YTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWOOGNVFSCSYMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLL
QSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDESSYPMHVVRQAPGKGLEWVSGISSGGATPYADSV
KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKDFYTLTGNAFDMWGQTSVTVSSA
STGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQGISSYLAWYQ
QKPGKAPKLLIYASSTRQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDSGTYYCQQYWAEPITF
GGGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 278)

M7-G1-P4

EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFETDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGSV
GYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGYNOWWEGEDYWGQ
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOV
YTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWOOGNVFSCSYMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLL
QSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFMEFERYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISGSGGATPYADS
YKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDFYQILTGNAEDYWGQTTTVTS
SASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQGISSYLAWY
QKPGKAPKLLIYAKSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDSATYYCQQYWTPEIT
FGGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 280)

M7-G1-M57

EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFETDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGSV
GYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGYNOWWEGEDYWGQ
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOV
YTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWOOGNVFSCSYMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLL
QSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFEESKYPMHVVRQAPGKGLEWVSSISSDGGATVYADS
YKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDFYTWLTGNAFDSWGQTSVTVS
SASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQGISSYLAWY
QKPGKAPKLLIYARSTRQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDSATYYCQQYWTWPL
TFGGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 282)

M7-G1-M78

EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFETDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGSV
GYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGYNOWWEGEDYWGQ

图 5B(续)

GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOV
YTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLL
QSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDSSYPMHVWRQAPGKGLEWVGSISSSGGATPYADSV
KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKDFYTLTGNAEDMWGQTSVTVSSA
STGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQGISSYLAWYQ
QKPGKAPKLLIYASSTROSGVPSRFSSGSGSGTDFTLTISSLQPEDSGTYYCQOYWAFPLTF
GGGKVEIKRT
(SEQ ID NO: 284)

B72-G1-P4

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSR
GYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGFNQWEEGF~~FDY~~WGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOV
YTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLL
QSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFMFSRYPMHWVRQAPGKGLEWVGSISGSGGATPYADS
VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDFYQILTGNAEDYWGQTTVTVS
SASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQGISSYLAWY
QKPGKAPKLLIYAKSTLQSGVPSRFSSGSGSGTDFTLTISSLQPEDSATYYCQOYWTEPLT
FGGKVEIKRT
(SEQ ID NO: 286)

B72-G1-M57

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSR
GYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGFNQWEEGF~~FDY~~WGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOV
YTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLL
QSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFEFSKYPMHWVRQAPGKGLEWVSSISSDGGATVYADS
VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDFYTWLTGNAEDSWGQTSVTVS
SASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQGISSYLAWY
QKPGKAPKLLIYARSTROSGVPSRFSSGSGSGTEFTLTISSLQPEDSATYYCQOYWTWPL
TFGGGKVEIKRT
(SEQ ID NO: 288)

图 5B(续)

B72-G1-M78

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSR
GYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGFNQWEEGEDYWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APPELLGGPSVLEFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPREPOV
YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLL
QSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDSSYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISSGGATPYADSV
KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKDEYTLIGNAFDMWGQGTSTVTVSSA
STGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQGISSYLAWYQ
QKPGKAPKLLIYASSTRQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDSGTYYCQYWAEPITF
GGGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 290)

B60-G1-P4

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGSV
GYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWEEGEDYWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APPELLGGPSVLEFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPREPOV
YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLL
QSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFEMFSRYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISGSGGATPYADS
VYKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDEYQILIGNAFDYWGQGTSTVTVS
SASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQGISSYLAWY
QKPGKAPKLLIYAKSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDSATYYCQYWTETLT
FGGGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 292)

B60-G1-M57

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGSV
GYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWEEGEDYWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APPELLGGPSVLEFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNGLKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPREPOV
YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLL
QSGGGLVQPGGSLRLSCAASGEFFSKYPMHWVRQAPGKGLEWVSSISSDGGATVYADS
VYKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDEYTWLTGNAFDSWGQGTSTVTVS
SASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQGISSYLAWY

图 5B(续)

QKPGKAPKLLIYARSTRQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDSATYYCQOYWWTWPL
TFGGGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 294)

B60-G1-M78

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGETFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGSV
GYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWEEGFDYWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGOPREPOV
YTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWOOGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLL
QSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDSSYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISSSGGATPYADSV
KGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKDFEYTLTGNAEDMWGGGTSVTVSSA
STGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASLGDRVTTTCRASQGISSYLAWYQ
QKPGKAPKLLIYASSTRQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDSGTYYCQOYWAFLTF
GGGTKVEIKRT
(SEQ ID NO: 296)

B60-G2-M78 (IgG2 骨架)

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGETFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGSV
GYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWEEGFDYWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVRKCCVECPPCAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVOFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QFNSTFRVSVLTVVHODWLNKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGOPREPOVYTLPPS
REEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWOOGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLQSGG
GLVQPGGSLRLSCAASGFDSSYPMHWVRQAPGKGLEWVSGISSSGGATPYADSVKGRF
TISRDNANKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKDFEYTLTGNAEDMWGGGTSVTVSSASTGG
GGSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASLGDRVTTTCRASQGISSYLAWYQKPGK
KAPKLLIYASSTRQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDSGTYYCQOYWAFLTFGGGT
KVEIKRT
(SEQ ID NO: 355)

M7-G2-M78 (IgG2 骨架)

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGETFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGSV
GYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGYNQWVEGFDYWGQ
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVRKCCVECPPCAPP
PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVOFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEFNSTFRVSVLTVVHODWLNKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGOPREPOVYTLP
PSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTV

图 5B(续)

DKSRWQGNVFSCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSEVQLQSG
GGLVQPGGSLRLSCAASGEDESSYPMHVVRQAPGKGLEWVGSISSSGGATPYADSVKG
RFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKDEYTLTGNAFDMWGQTSVTVSSAST
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASLGDRVITCRASQGISSYLAWYQOK
PGKAPKLLIYASSTRQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDSGTYYCQQYWAEPLIFGG
GTKVEIKRT (SEQ ID NO: 357)

图 5B(续)

抗IGF-1R-IgG1重链**SF IgG1**

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSVYPMHWVRQAPGKGLEWVSSISSSGGATR
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDFYDILTGNAFDIWGQGT
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
V LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELGGPSVLEFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLT VLVHODWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPOVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQOGNVFSCSV MHEALHNHYTOKSLSLSPG

(SEQ ID NO: 358)

P4 IgG1

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGEMESRYFMHWVRQAPGKGLEWVGSISGSGGAT
EXADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDFYQILTGNAFDYWGQGT
TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
A V LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVLEFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PRLEEYNSTYRVVSVLT VLVHODWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPOVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQOGNVFSCSV MHEALHNHYTOKSLSLSPG

(SEQ ID NO:359)

M78 IgG1

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGEDESSYPMHWVRQAPGKGLEWVGSISSSGGATP
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKDEYTLITGNAFDMWGQGTS
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
V LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVLEFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLT VLVHODWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPOVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQOGNVFSCSV MHEALHNHYTOKSLSLSPG

(SEQ ID NO:360)

M57 IgG1

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGEFFSKYPMHWVRQAPGKGLEWVSSISSDGGATV
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDEYTWLTGNAFDSWGQGTS
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
V LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVLEFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLT VLVHODWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPOVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQOGNVFSCSV MHEALHNHYTOKSLSLSPG

(SEQ ID NO:361)

图 6A

抗ErbB3-IgG重链P1

EVQLVESGGGLVQPGRSRLRLSCAASGETFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGST
 GYADSVYKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWVEGEDYWGQG
 TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTF
 PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHODWLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPREPOV
YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTOKSLSLSPG
 (SEQ ID NO:362)

M27

EVQLVESGGGLVQPGRSRLRLSCAASGETFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGST
 GYADSVYKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGYNQWVEGEDYWGQG
 TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTF
 PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHODWLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPREPOV
YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTOKSLSLSPG
 (SEQ ID NO:363)

M7

EVQLVESGGGLVQPGRSRLRLSCAASGETFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGSV
 GYADSVYKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGYNQWVEGEDYWGQ
 GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHT
 FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHODWLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPREPOV
YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTOKSLSLSPG
 (SEQ ID NO:364)

B72

EVQLVESGGGLVQPGRSRLRLSCAASGETFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSR
 GYADSVYKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGYNQWVEGEDYWGQG
 TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTF
 PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHODWLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPREPOV

图 6B

YTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQGNVFESCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPG
(SEQ ID NO:365)

B60
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGSV
GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWEEGEDYWGQG
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTYSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKENWYYVDGVEVHNAKT
KPREEOYNSTYRVVSVLTVLHODWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGPREPOV
YTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQGNVFESCSVMHEALHNHYTOKSLSLSPG
(SEQ ID NO:366)

图 6B(续)

抗IGF-1R scFv**P4**

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGEMFSRYPMHWVRQAPGKGLEWVGSISGSGGAT
PYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDEYQILTGNAFDYWGQGT
TVTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQISS
YLAWYQQKPGKAPKLLIYAKSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDSATYYCQOY
WTFPLTFGGGTKVEIKRT
(SEQ ID NO:367)

M57

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFEFSKYPMHWVRQAPGKGLEWVSSISSDGGATV
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDEYTWLIGNAFDSWGQGT
VTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQISSYL
AWYQQKPGKAPKLLIYARSTRQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDSATYYCQOYWT
WPLTFGGGTKVEIKRT
(SEQ ID NO:368)

M78

EVQLLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDESSYPMHWVRQAPGKGLEWVGSISSSGGATP
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAKDEYITLTGNAFDMWGQGT
VTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQISSY
LAWYQQKPGKAPKLLIYASSTRQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDSGTYYCQOYW
AEPLTFGGGTKVEIKRT
(SEQ ID NO:369)

图 6C

抗ErbB3 scFv**C8**

QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVAGISWNSGSI
GYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRPEDTAVYYCARDLGYNQWVEGEDYWGQG
TLVTVSSASTGGGGSGGGSGGGSGGGSSSYELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRS
YYASWYQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSTSGNSASLTITGAQAEDEADYYCN
SRDSSGNIHWVFGGGTKVTVLG
(SEQ ID NO:370)

P1

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWDSGSI
GYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWVEGEDYWGQG
TLVTVSSASTGGGGSGGGSGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSYYASW
YQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCESRDSPG
NQWVFGGGTKVTVLG
(SEQ ID NO:371)

M13

QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVAGISWDSGSI
GYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGAYQWVEGEDYWGQ
GTLVTVSSASTGGGGSGGGSGGGSGGGSSSYELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSR
SYYASWYQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSTSGNSASLTITGAQAEDEADYYC
NSRDSPGNQWVFGGGTKVTVLG
(SEQ ID NO:372)

M27

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSI
GYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGFNQWVDGFDYWGQG
TLVTVSSASTGGGGSGGGSGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSYYASW
YQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDTPG
DQWVFGGGTKVTVLG
(SEQ ID NO:373)

P6

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSI
GYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDLGYNQWLEGFEDYWGQG
TLVTVSSASTGGGGSGGGSGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSYYASW
YQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCMSRDHPG
NQWVFGGGTKVTVLG
(SEQ ID NO:374)

图 6D

B69

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGETEDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSV
GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDIGYNOWLEGEDYWGQG
TLVTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSYYASW
YQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCMSTRDSPG
NOWVFGGGTKVTVLG
(SEQ ID NO:375)

图 6D(续)

16F重链序列:

前导序列

VHCDR1

MGFGLSWFLVAILKGVQCEVQLQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGETFSYYPMHWVRQAPGKGLE
VHCDR2

WVSSISSSGGATRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYQMNSLRAEDTAVYCAKDEYDILIGNAEFIWGOG
IgG1 CH1

TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
IgG1 铰链

YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPK
IgG1 CH3

DTLMISRTPEVTCVWVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHQDWLNG
IgG1 CH3

KEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
连接

PENNYKTTTPVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

接头

GGSGGGGSQVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGETFDYAMHWVRQAPGKGLEWVAGISWNSGS
VHCDR1

接头

GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYQMNSLRPEDTAVYCARDLGYNQWYFEGEDYWGQGTLVTVSSASTG
ScFv 接头

GGSGGGGSGGSGGGGSSYELTQDPAVSVALGQTVRITCQGQSLRSSYYASWYQQKPGQAPVLVIY
VHCDR2

QKNNRPSGIPDRFSGTSGNSASLITGACAEADYYCNSRDSSGNHWVFGGGGTKVTVLG
VHCDR3

(SEQ ID NO: 300)

图 7A

16F轻链序列:

前导序列

VL CDR1
MGTPAQLLFLLLLWLPDTTGDIQMTQSPSSLSASTGDRVTITCRASQGISSY

VLCDR2

LAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSCGSGTDFTLTISSLQPEDFAT

VLCDR3

CL

YYCQQYFTFPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN

FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH

KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

图 7B

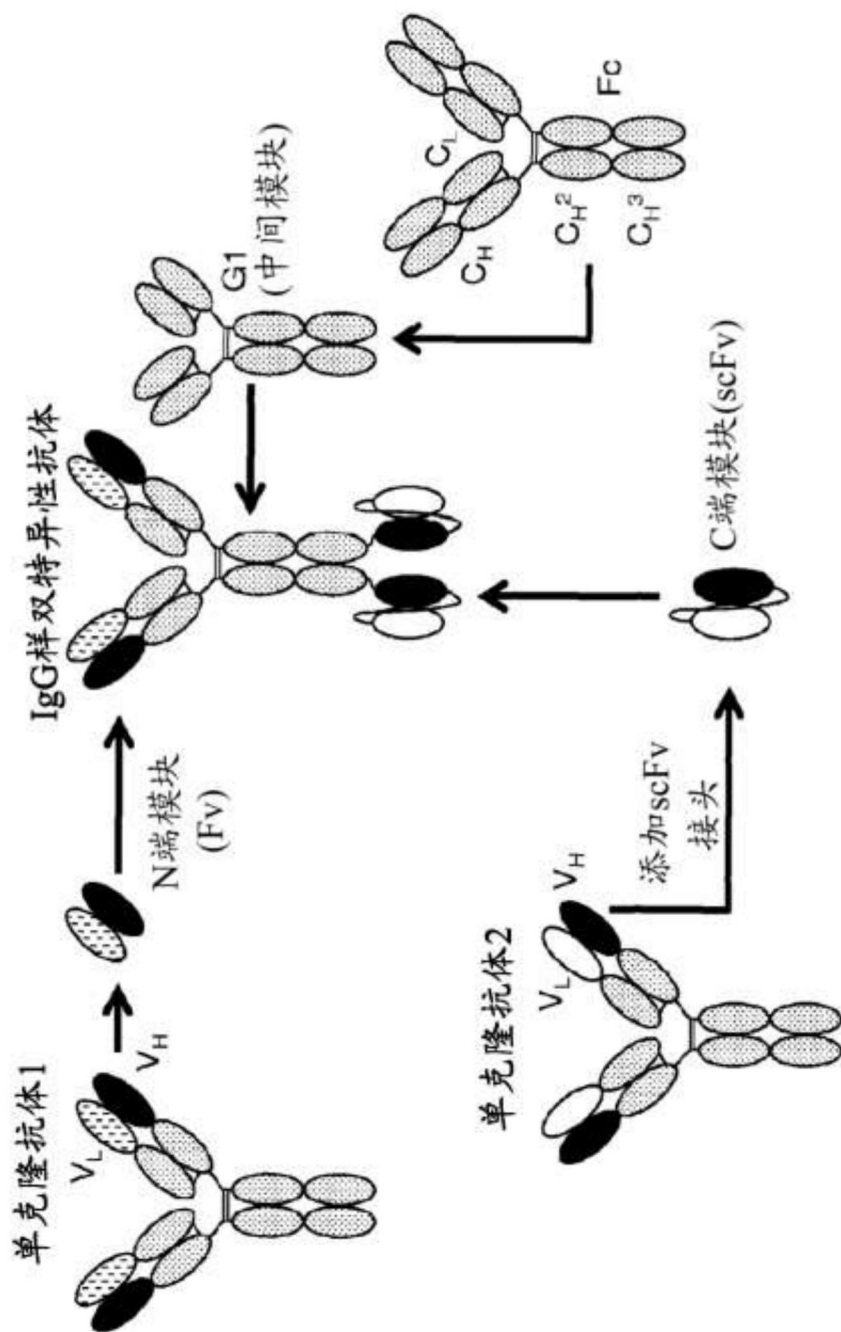


图 8

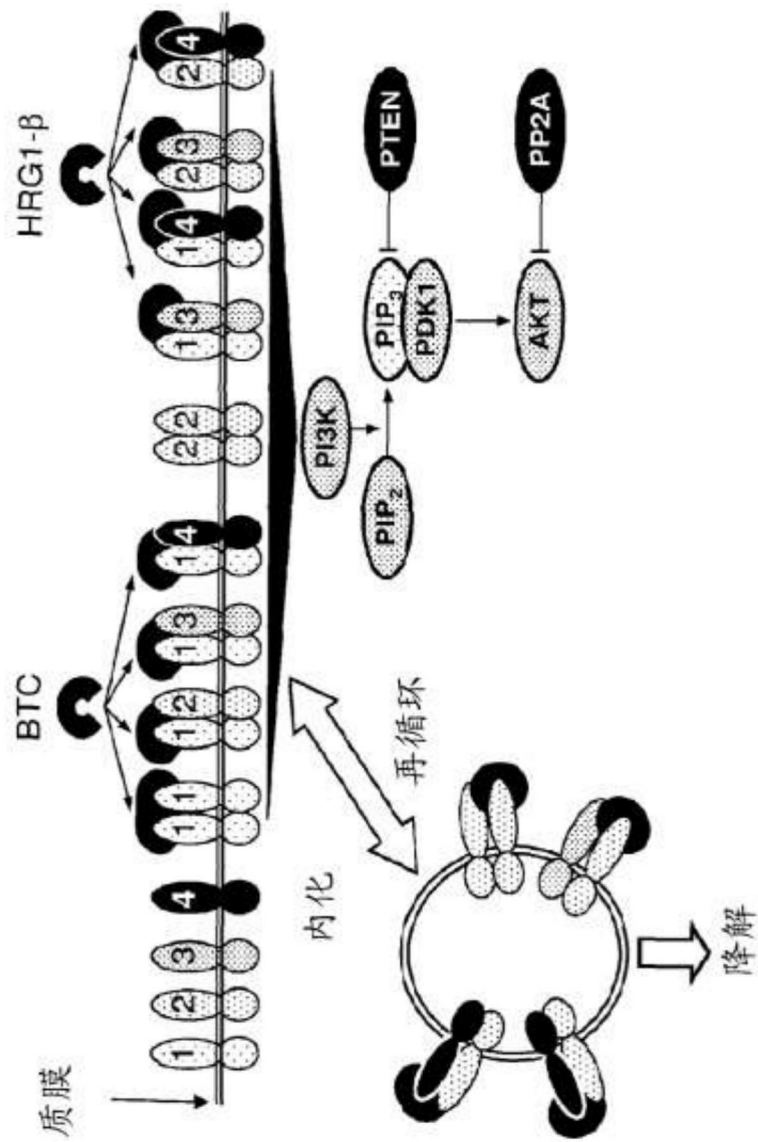


图 9A

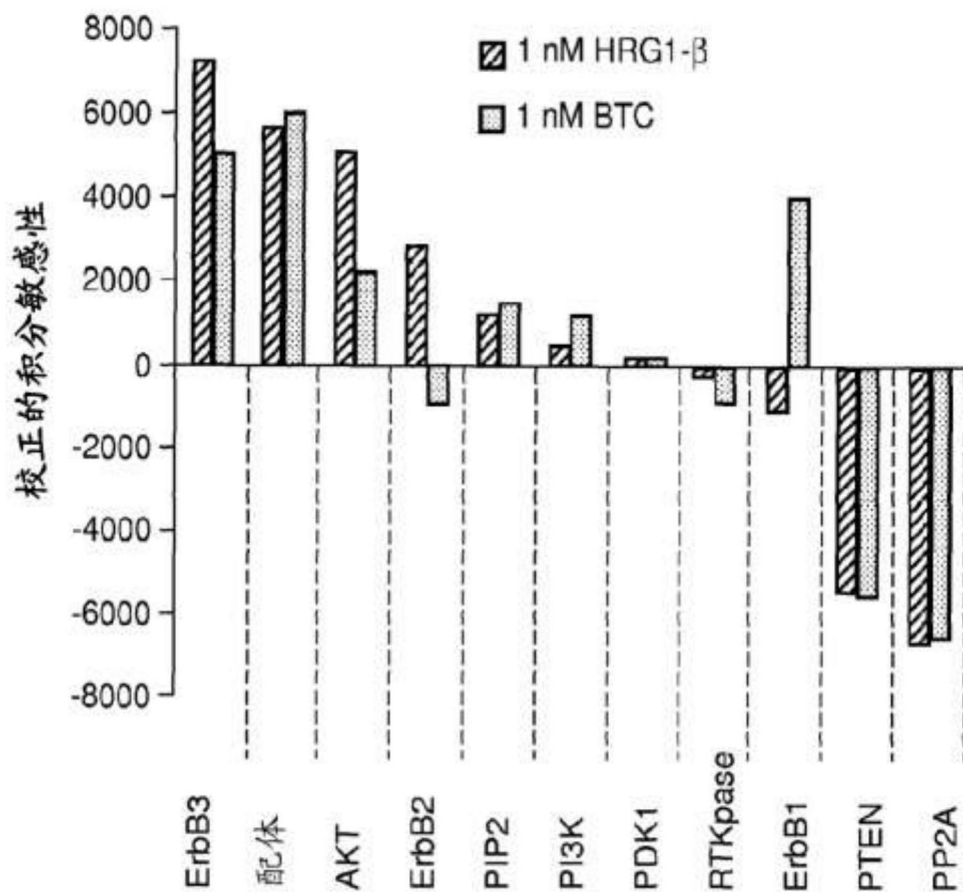


图 9B

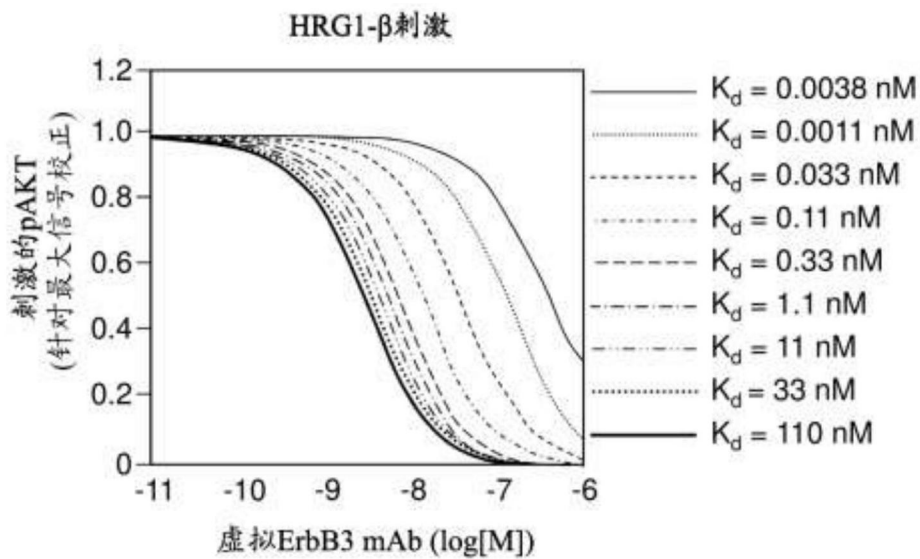


图 9C

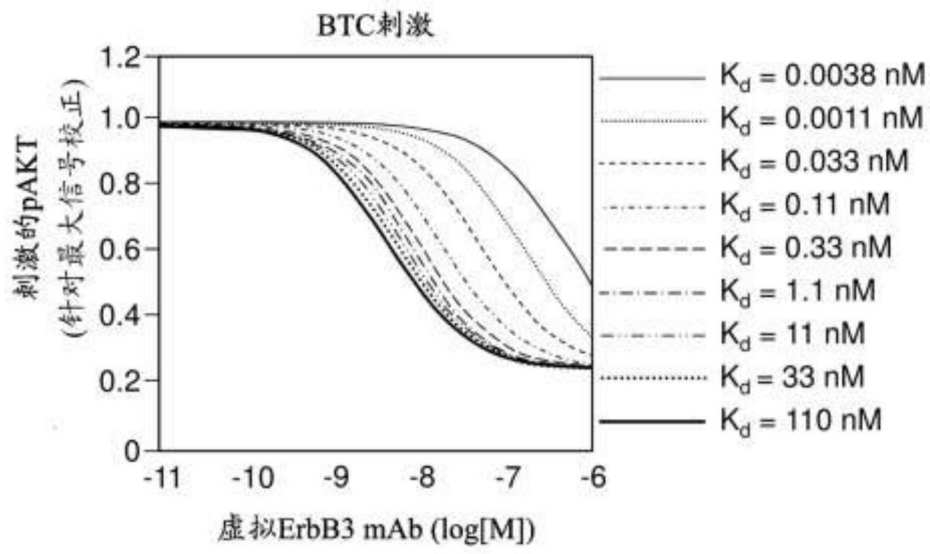


图 9D

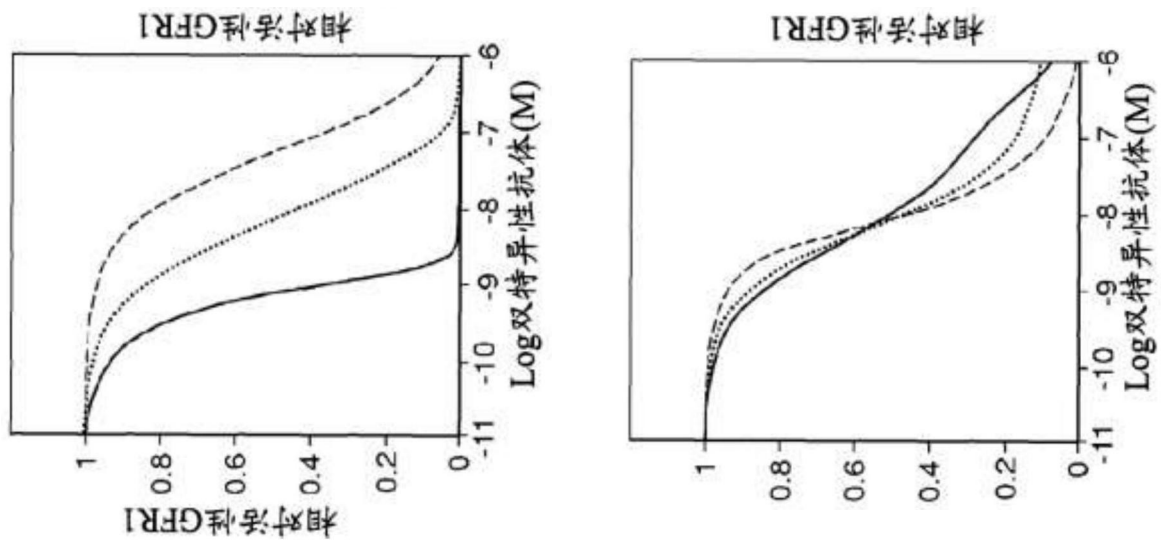


图 10A

图 10B

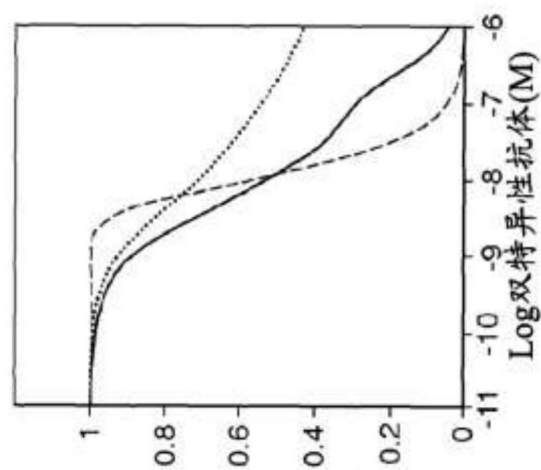


图 10C

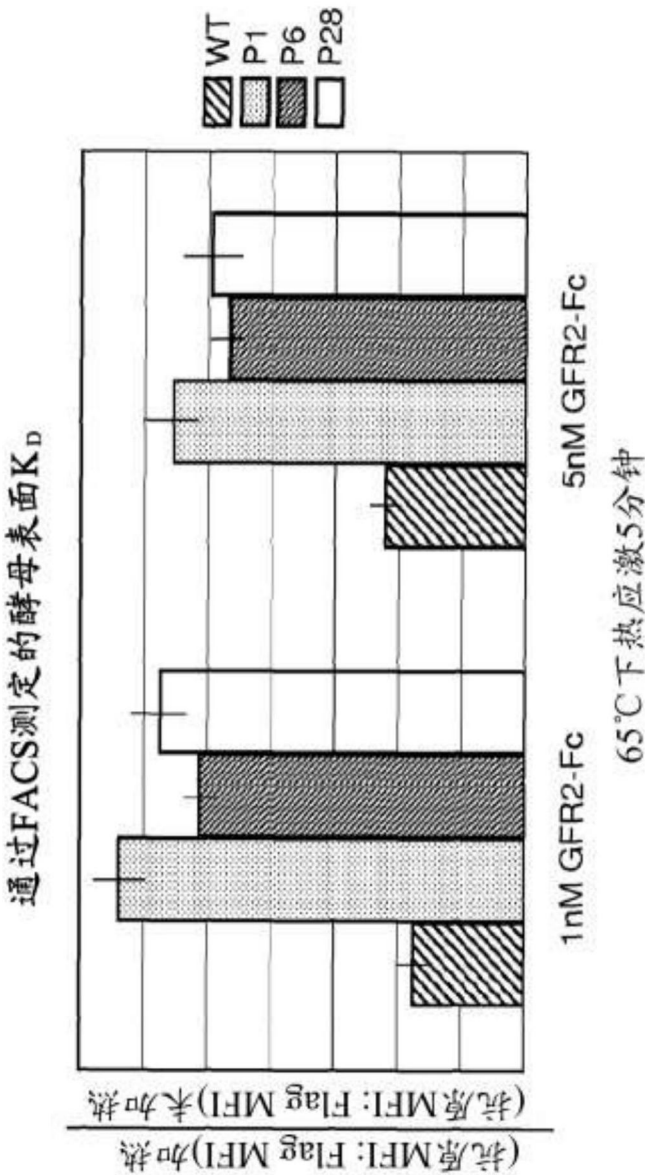


图 11A

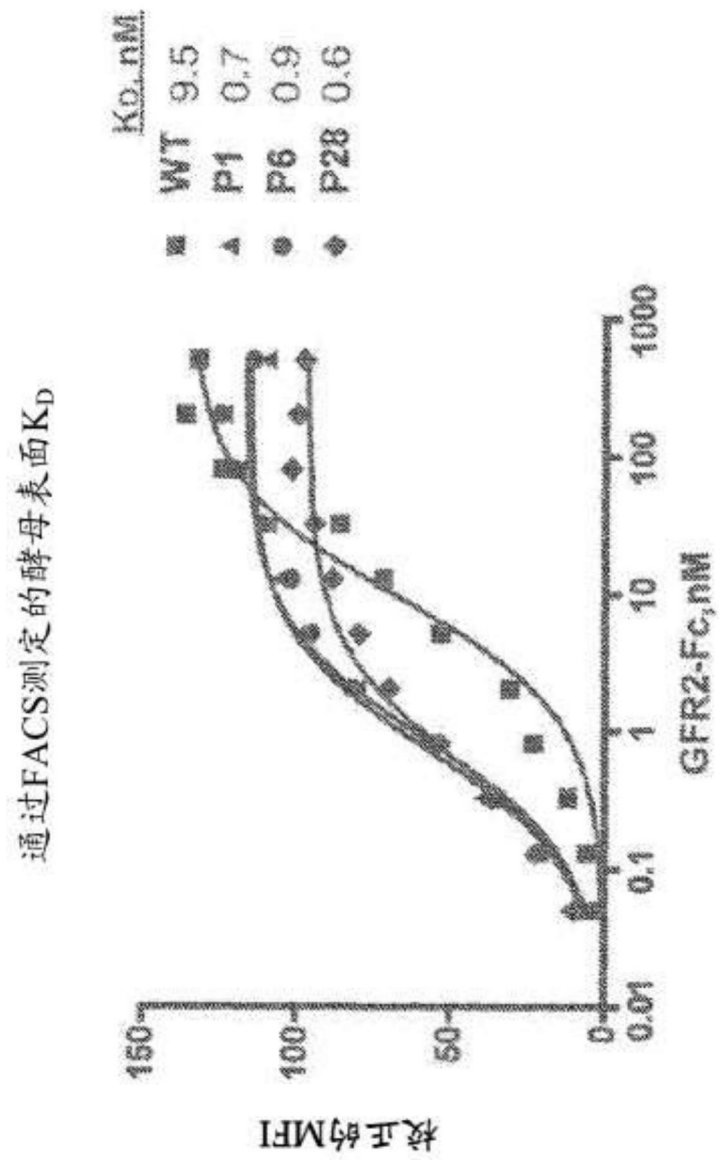


图 11B

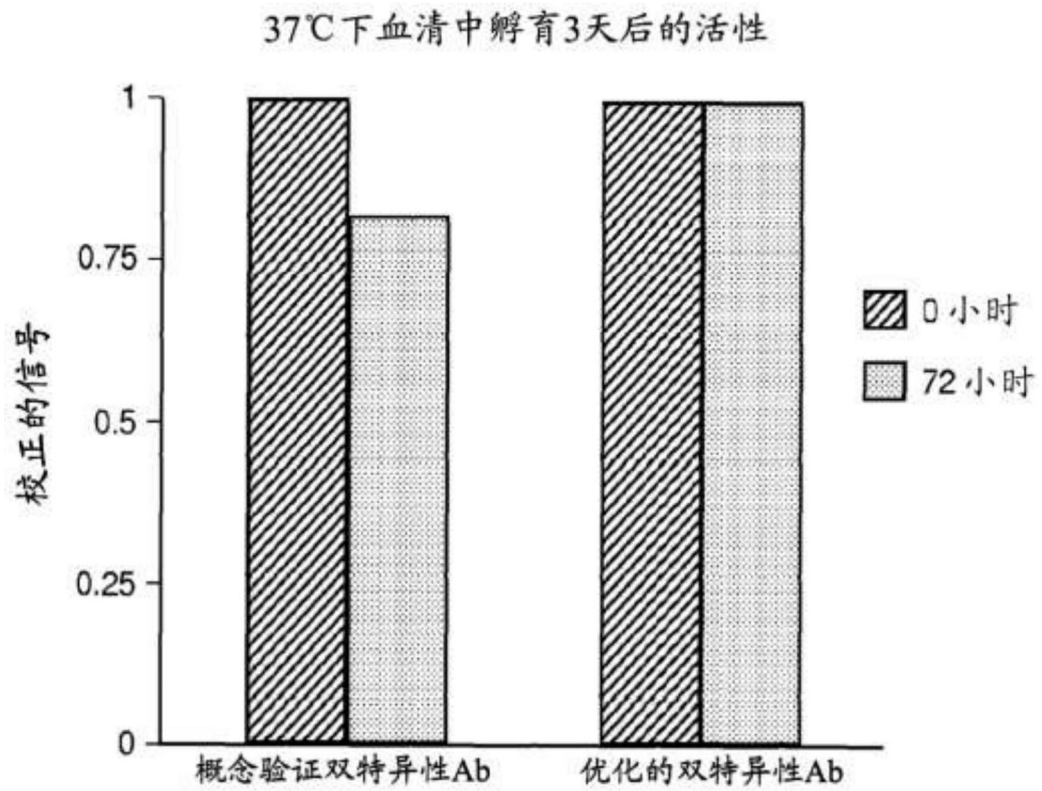


图 12A

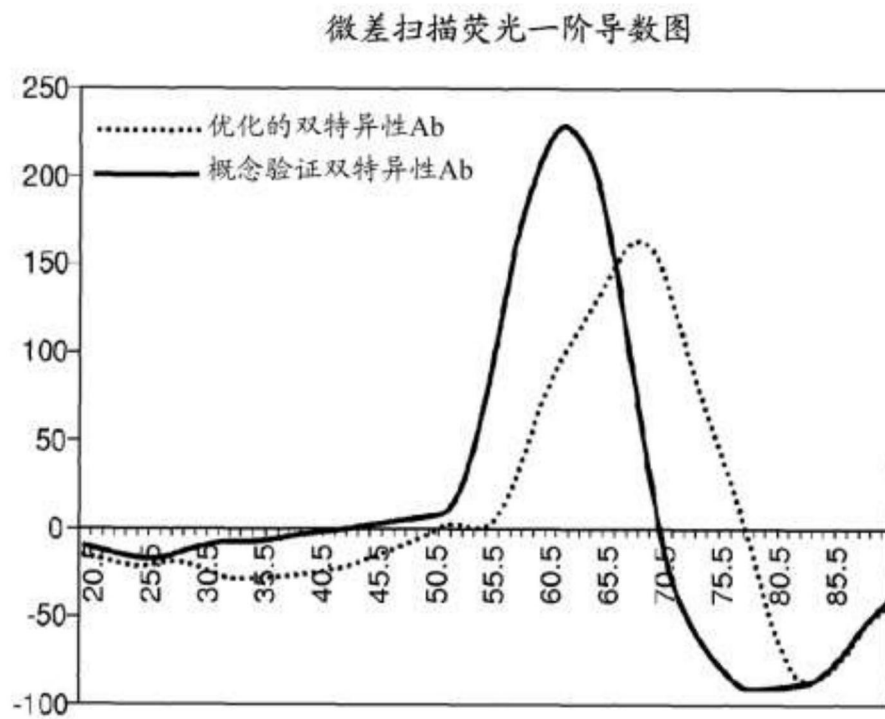


图 12B

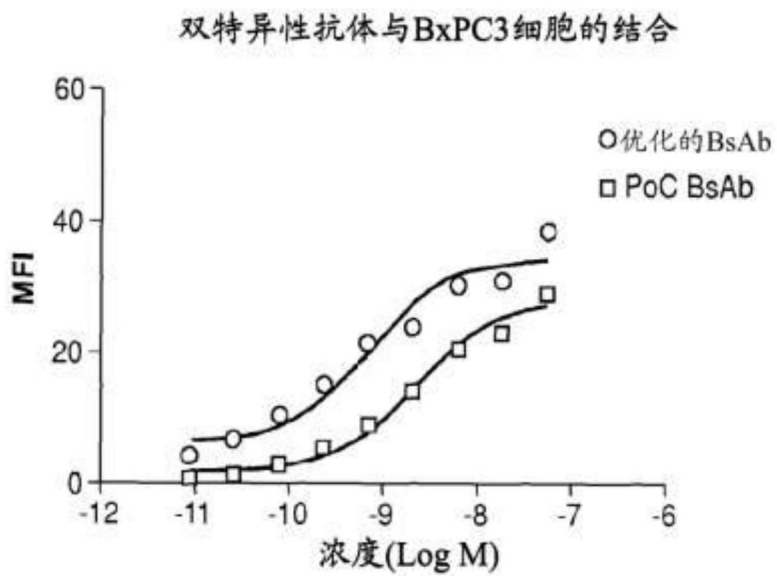


图 13

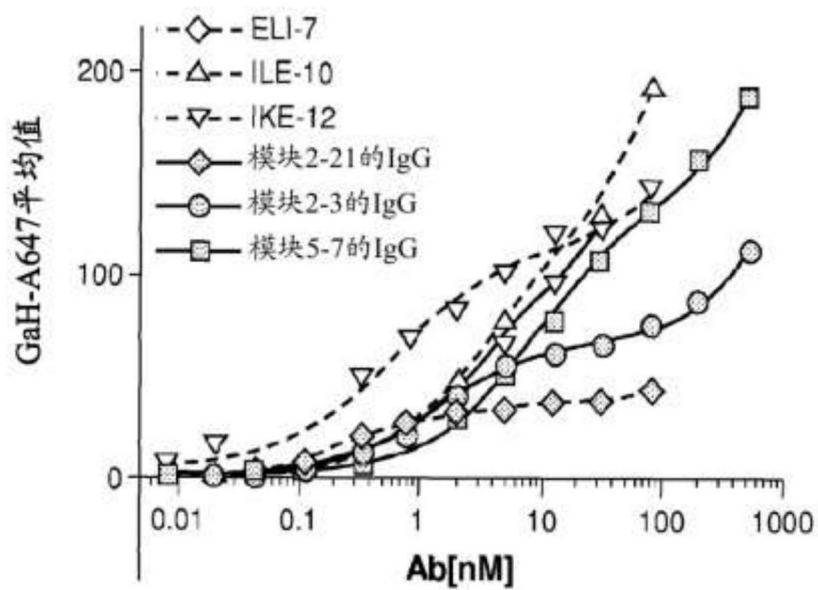


图 14A

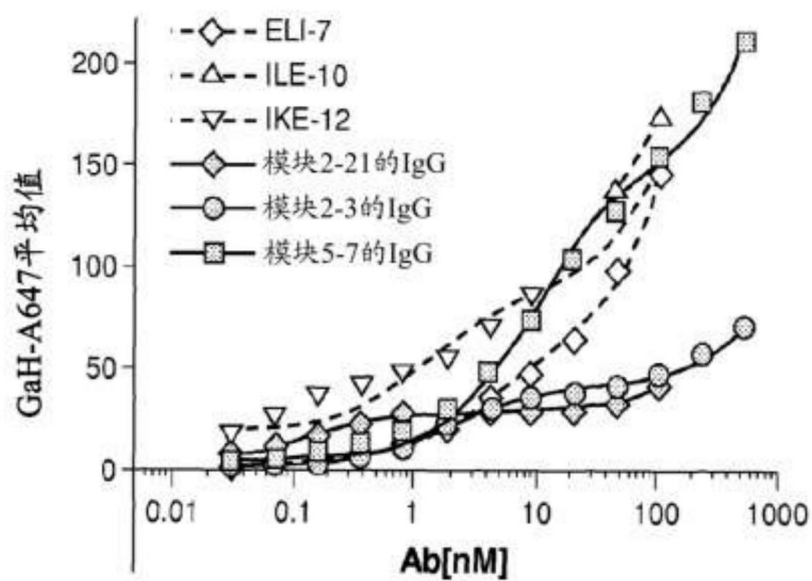


图 14B

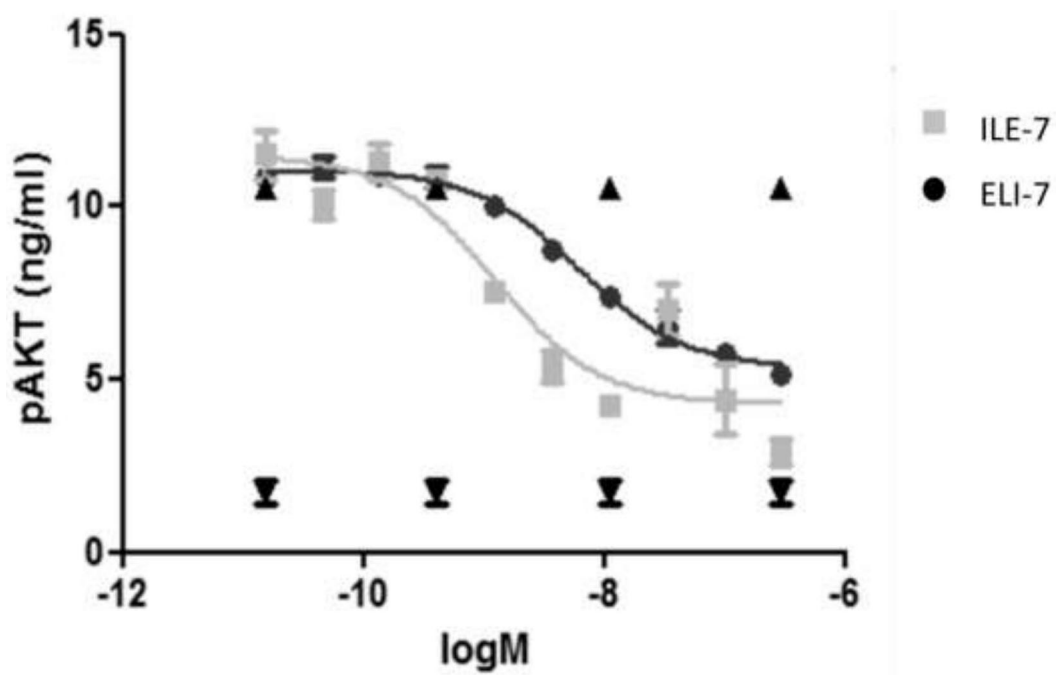


图 15

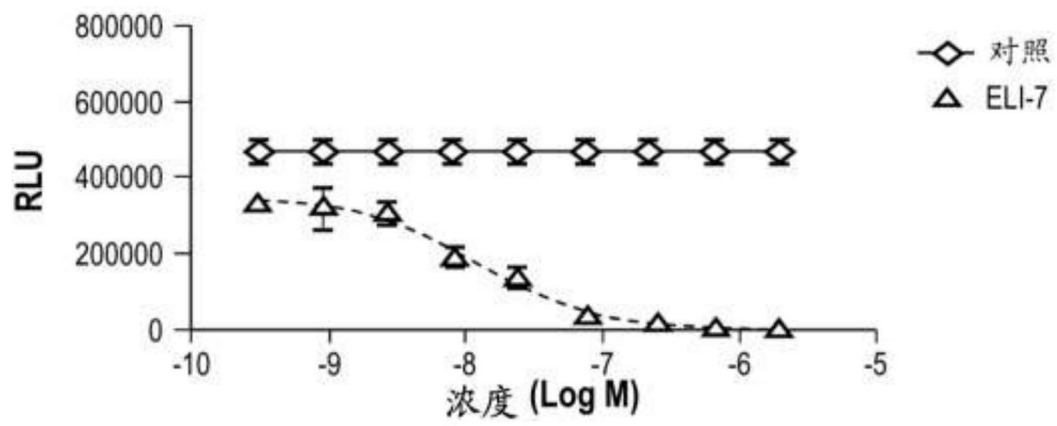


图 16

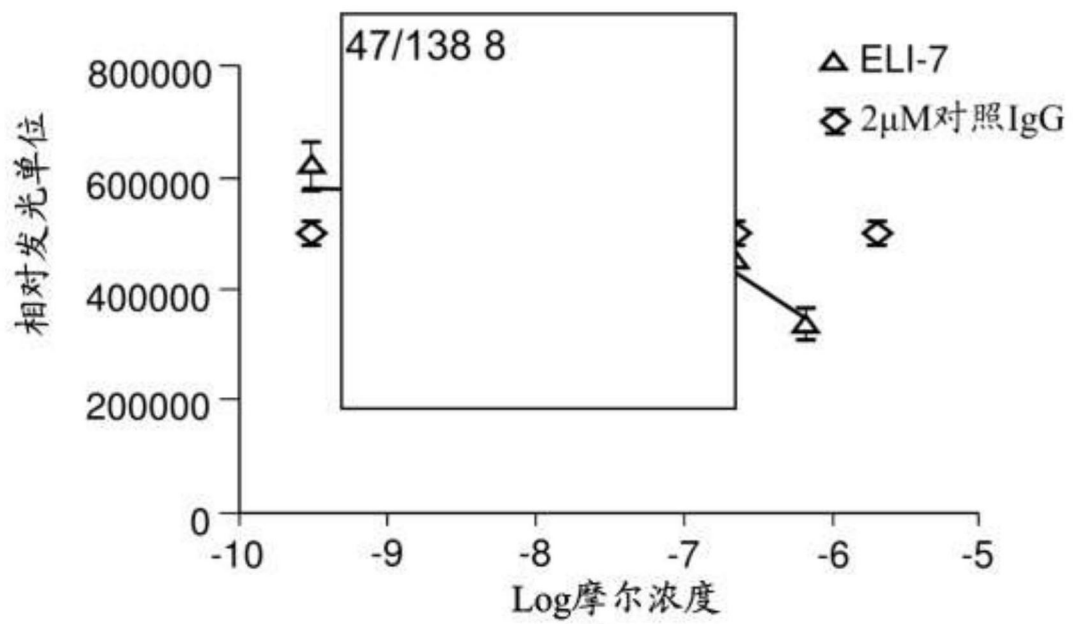


图 17

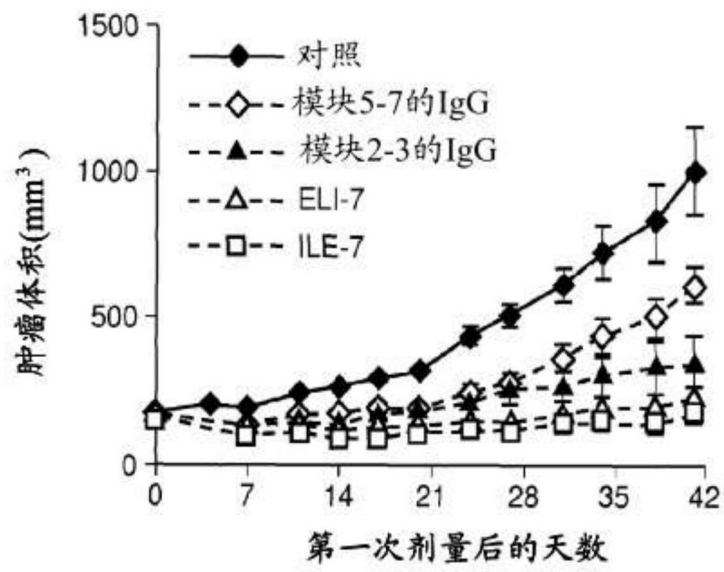


图 18

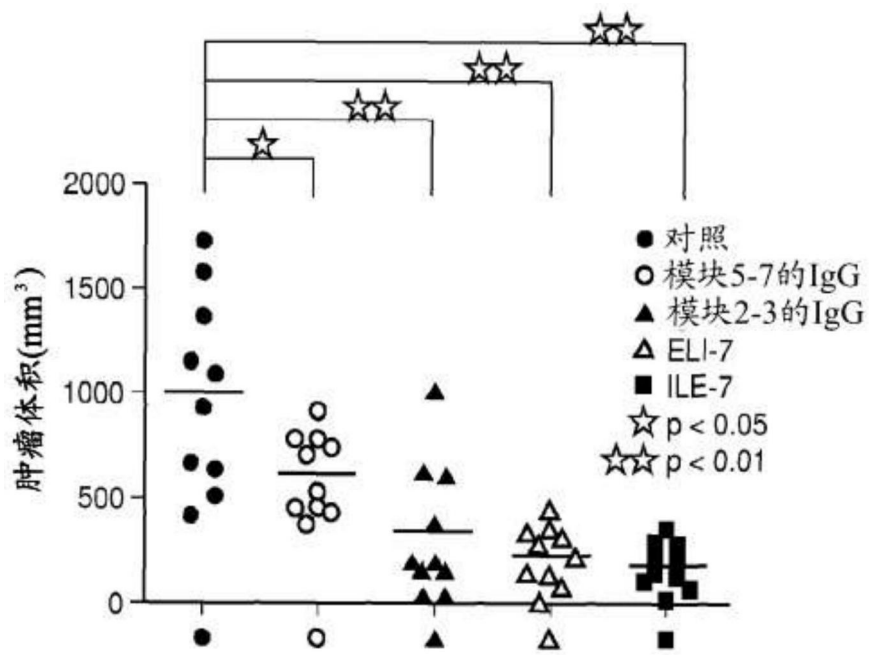


图 19

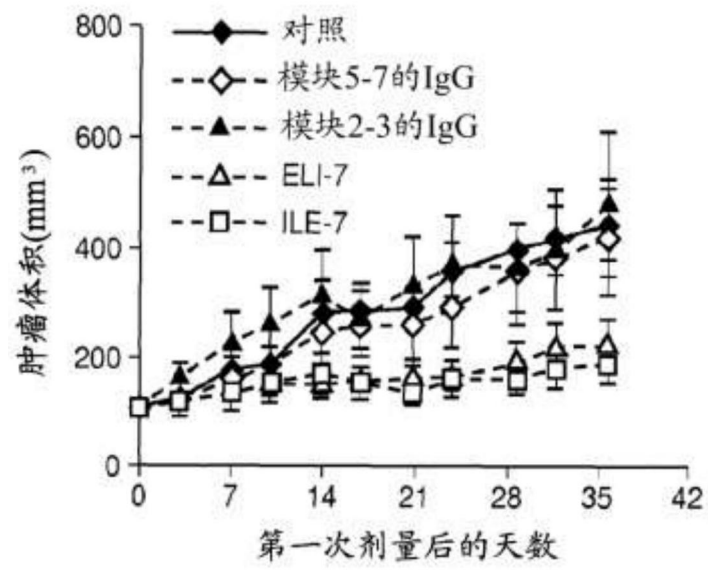


图 20A

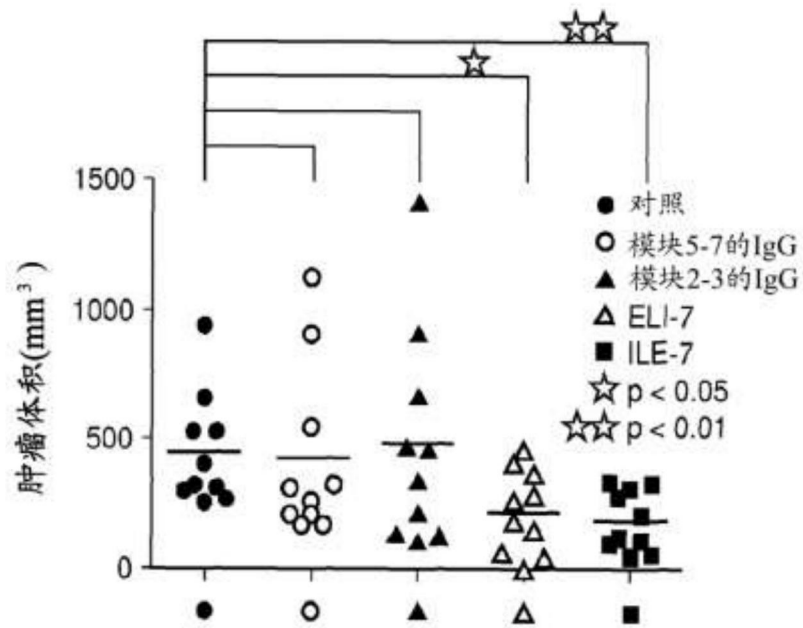


图 20B

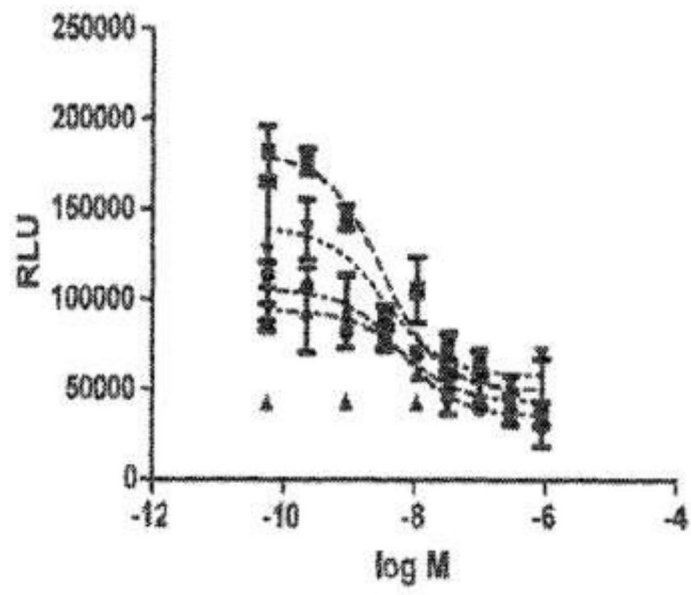


图 21

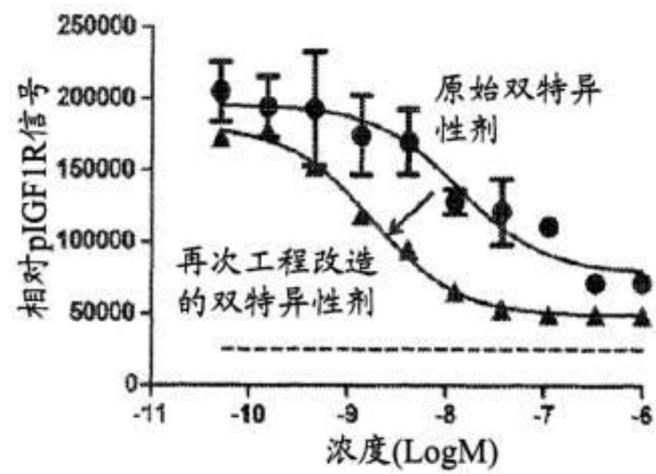


图 22

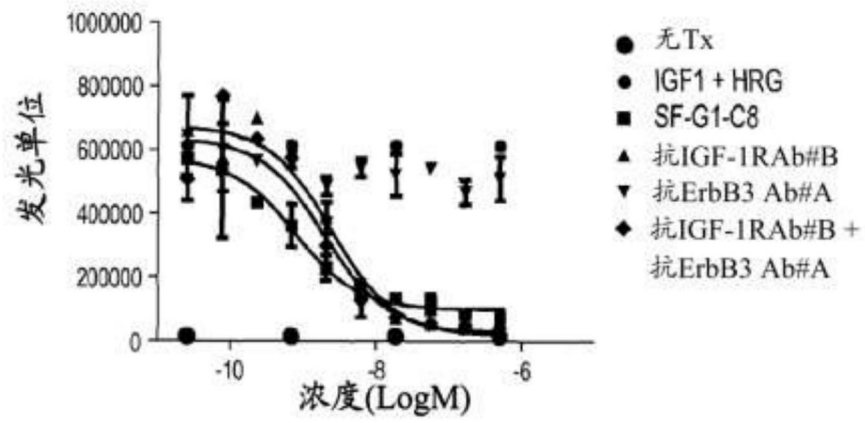


图 23A

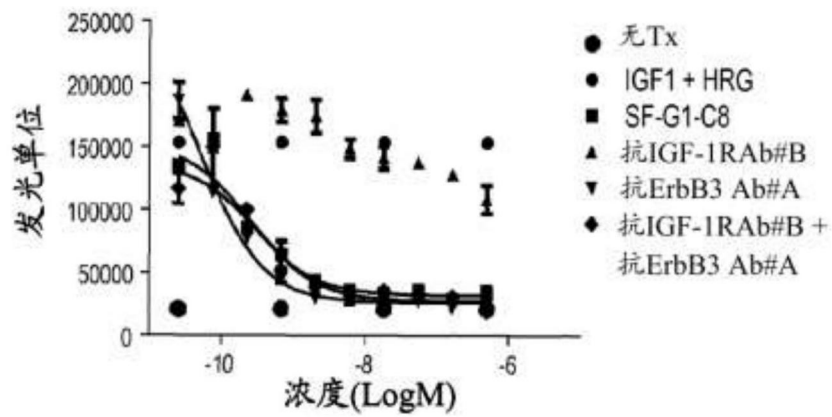


图 23B

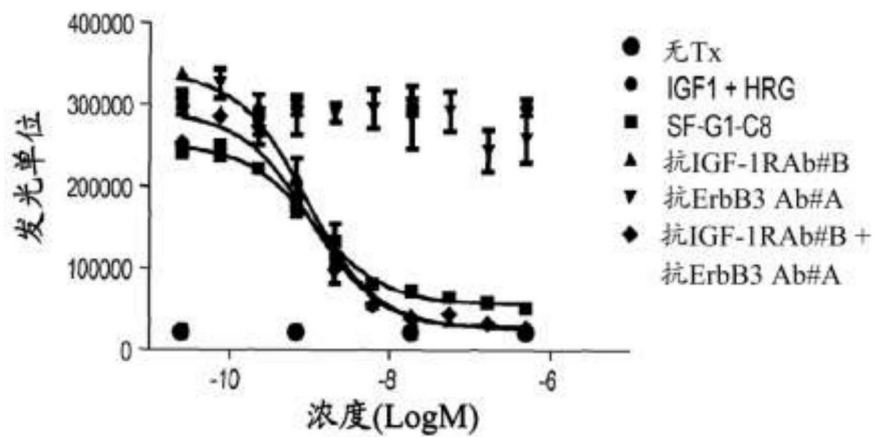


图 23C

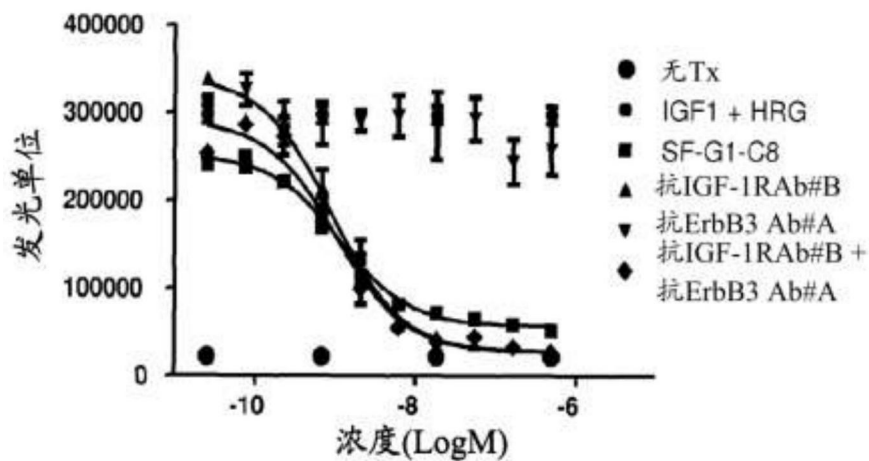


图 23D

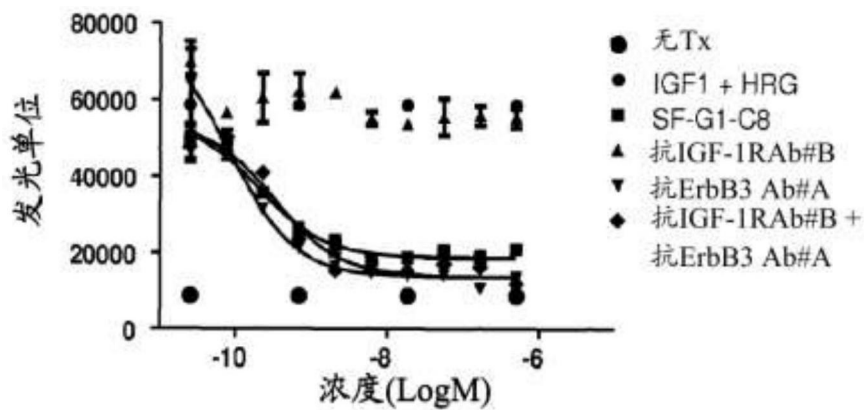


图 23E

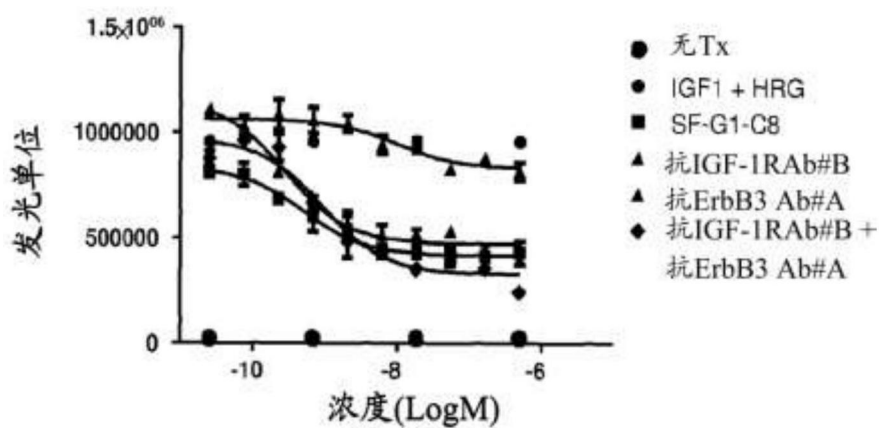


图 23F

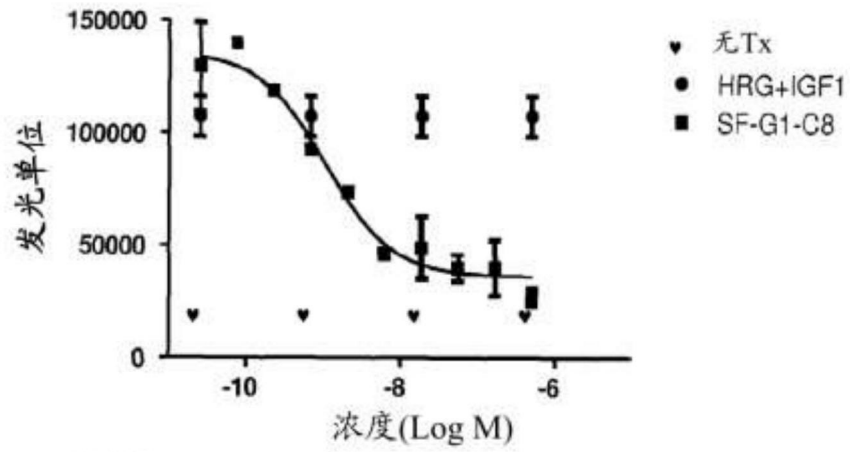


图 24A

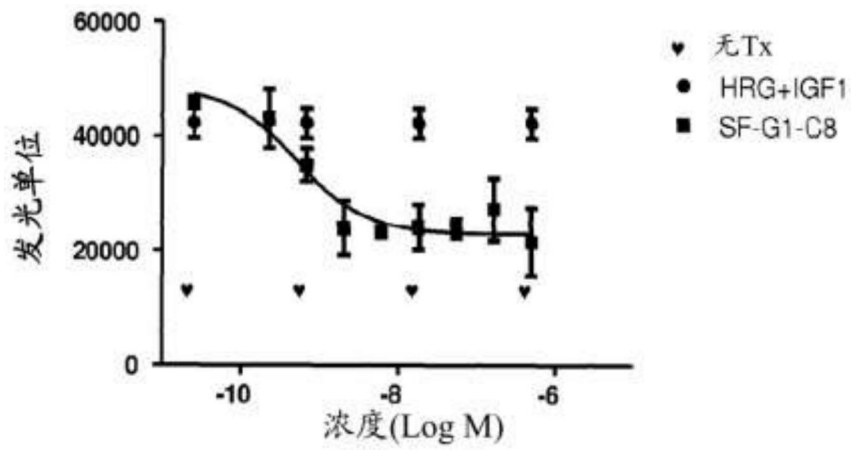


图 24B

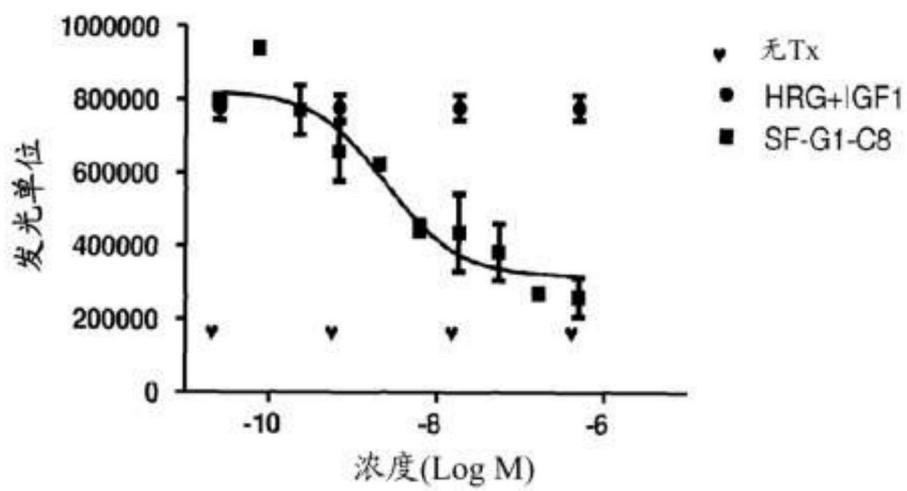


图 24C

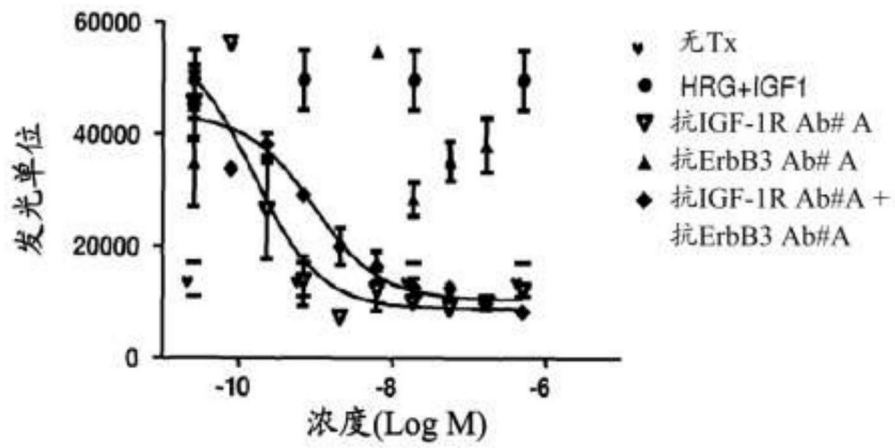


图 24D

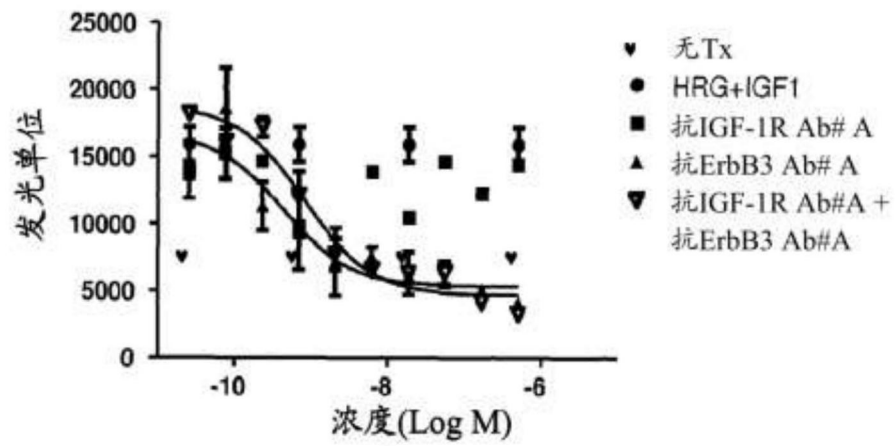


图 24E

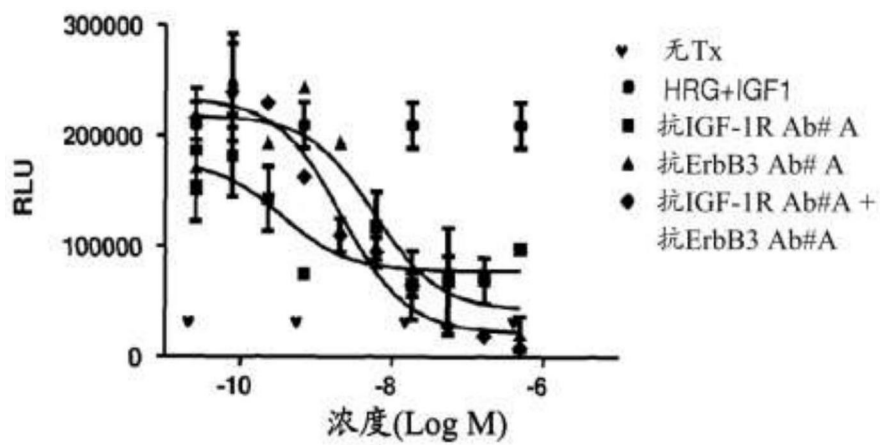


图 24F

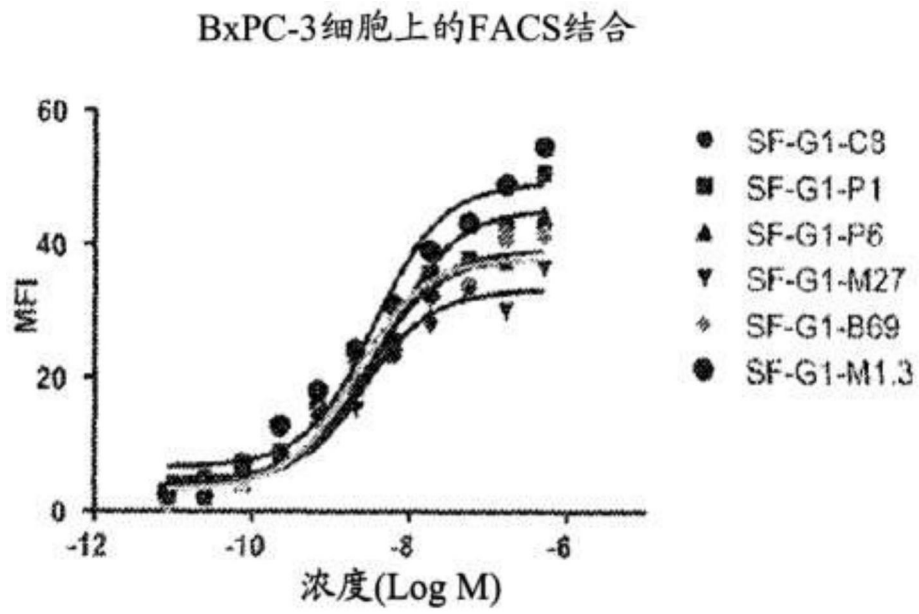


图 25

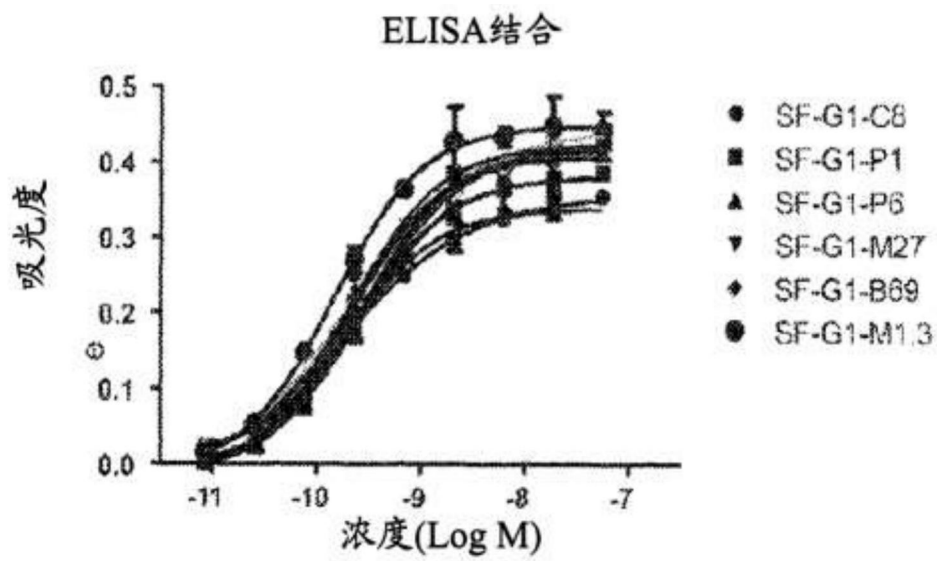


图 26

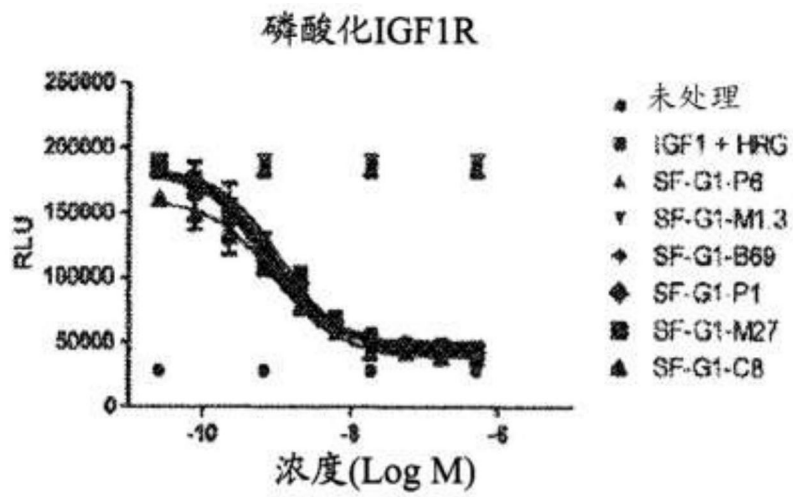


图 27A

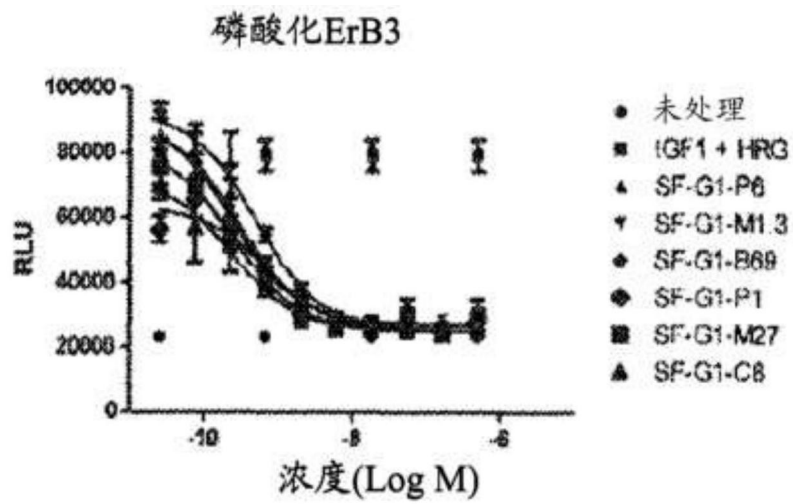


图 27B

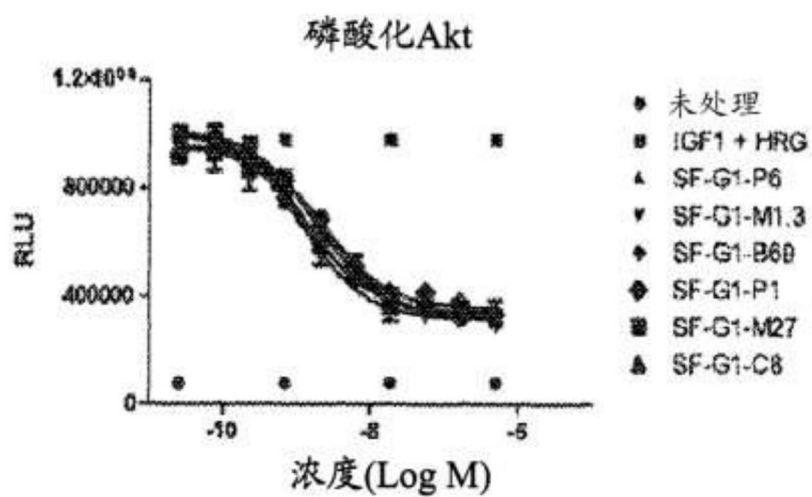


图 27C

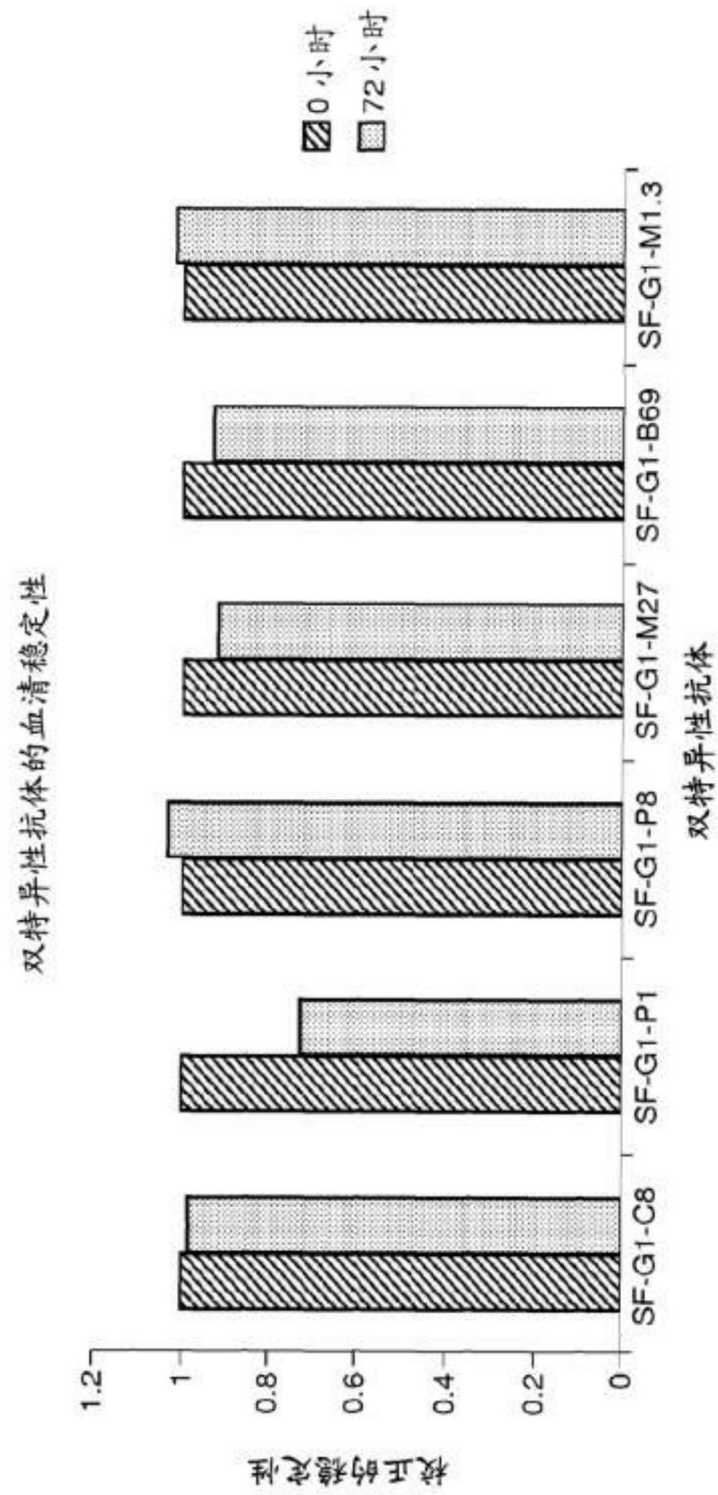


图 28

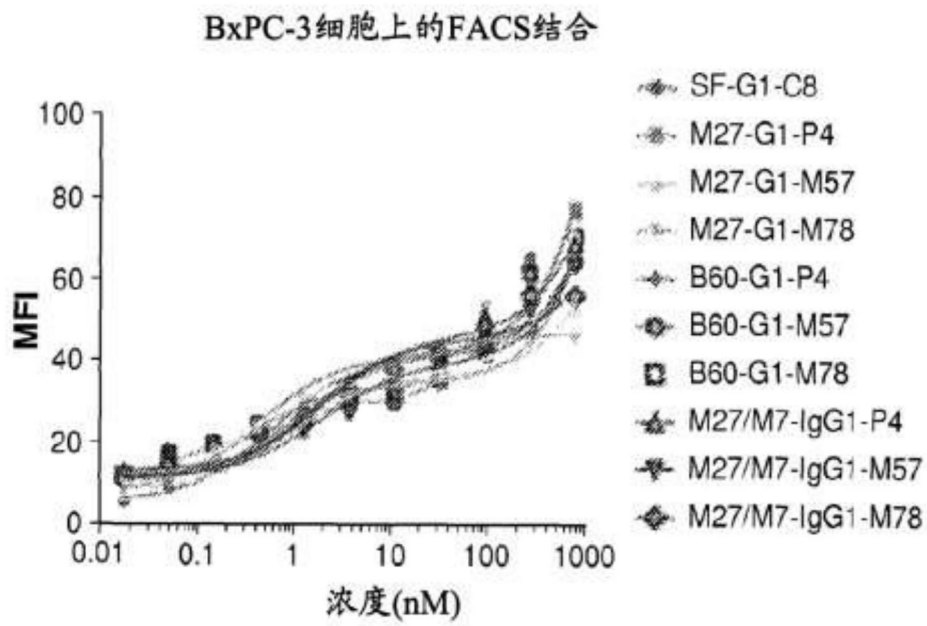


图 29A

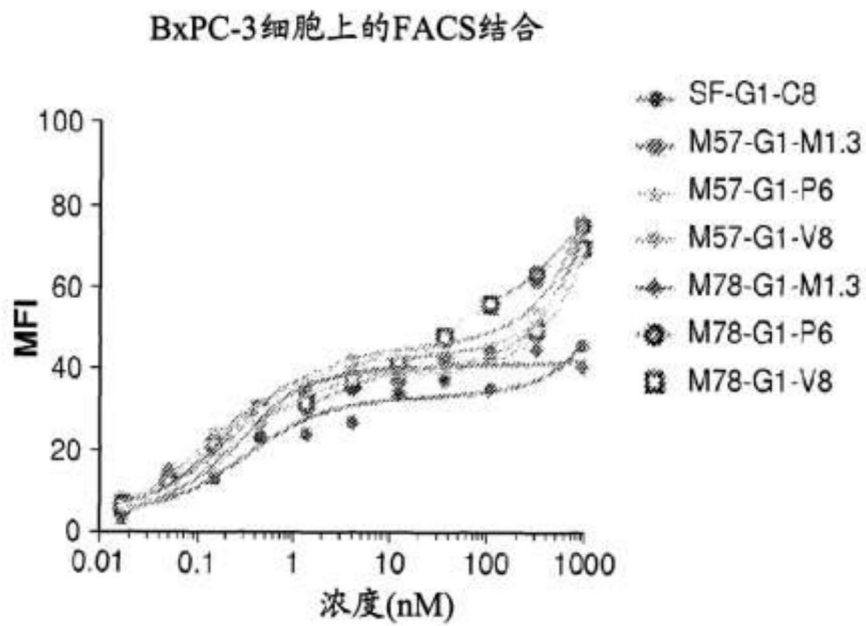


图 29B

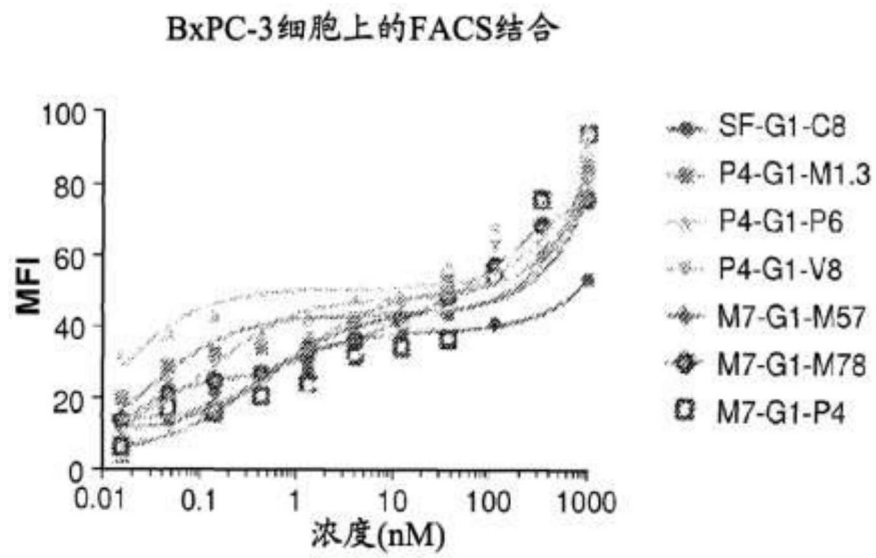


图 29C

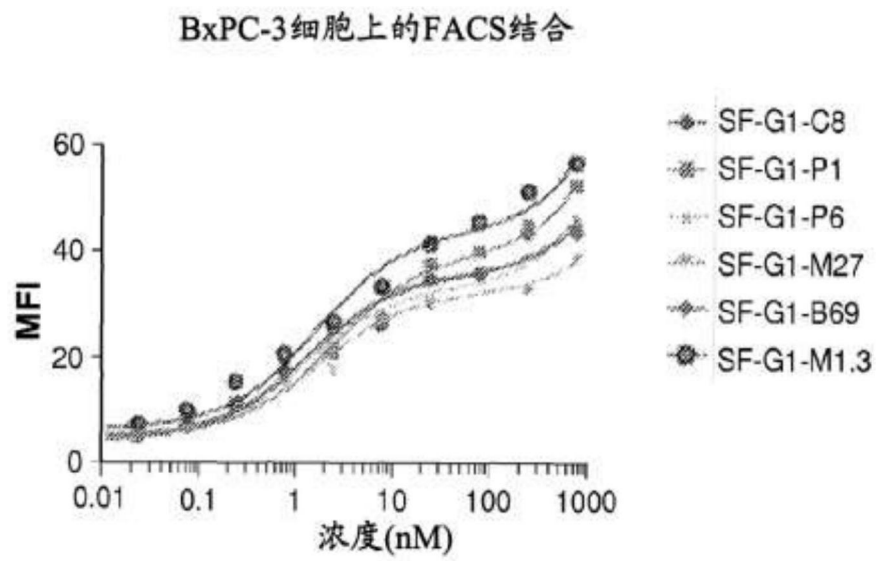


图 29D

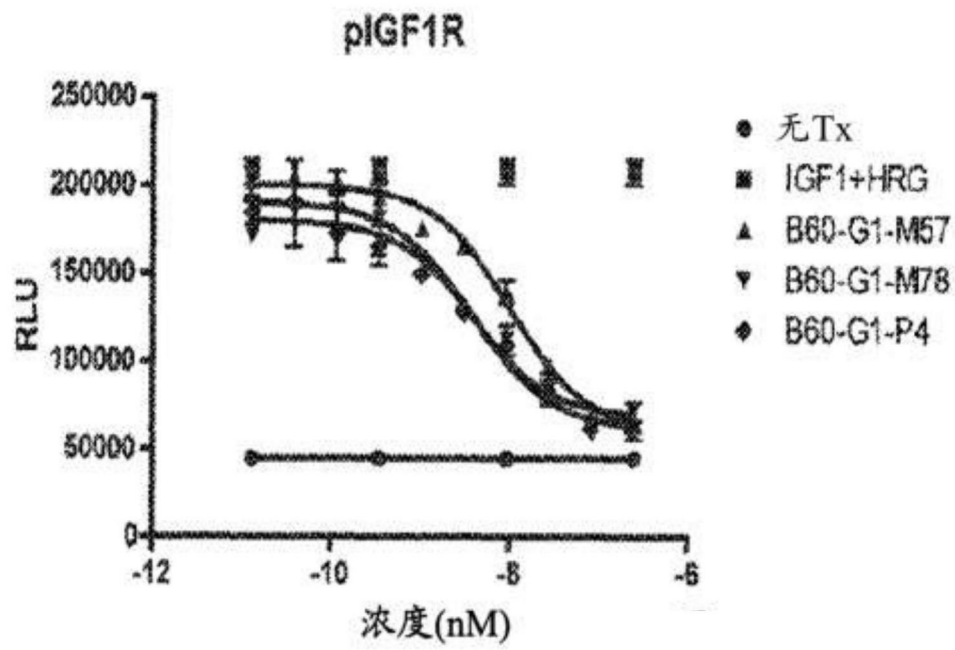


图 30A

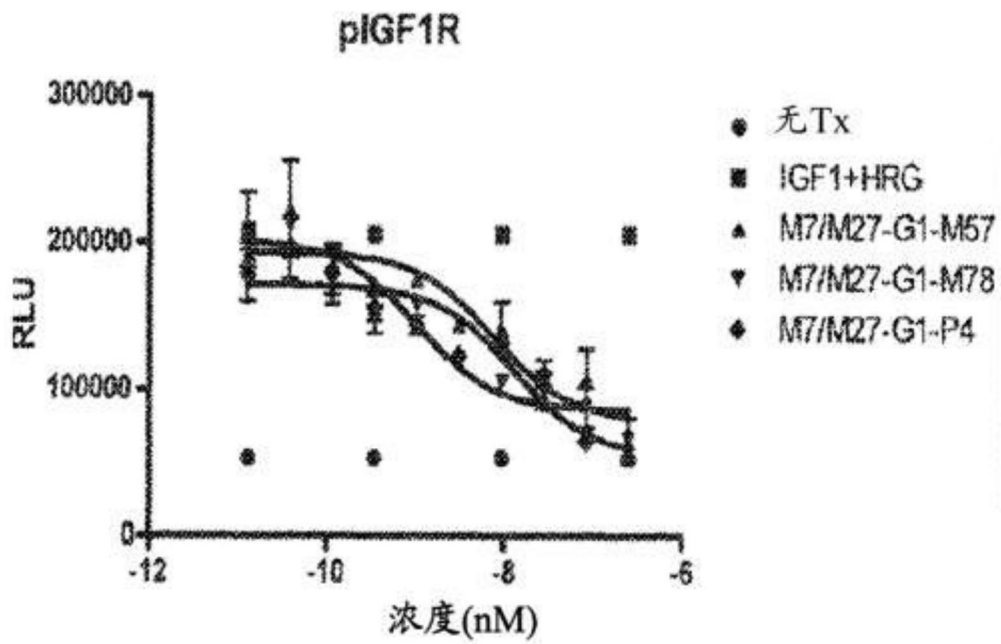


图 30B

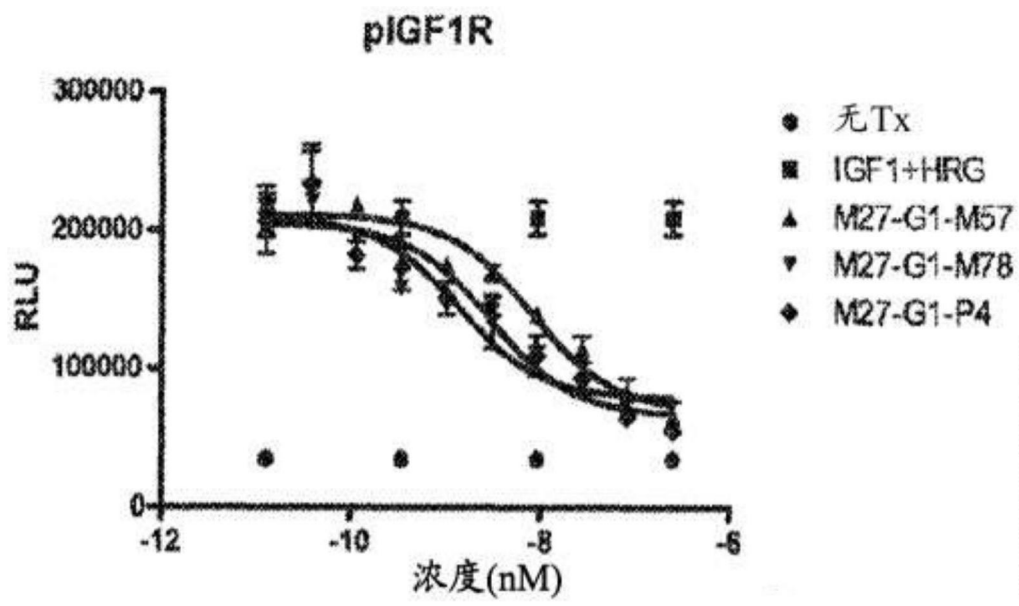


图 30C

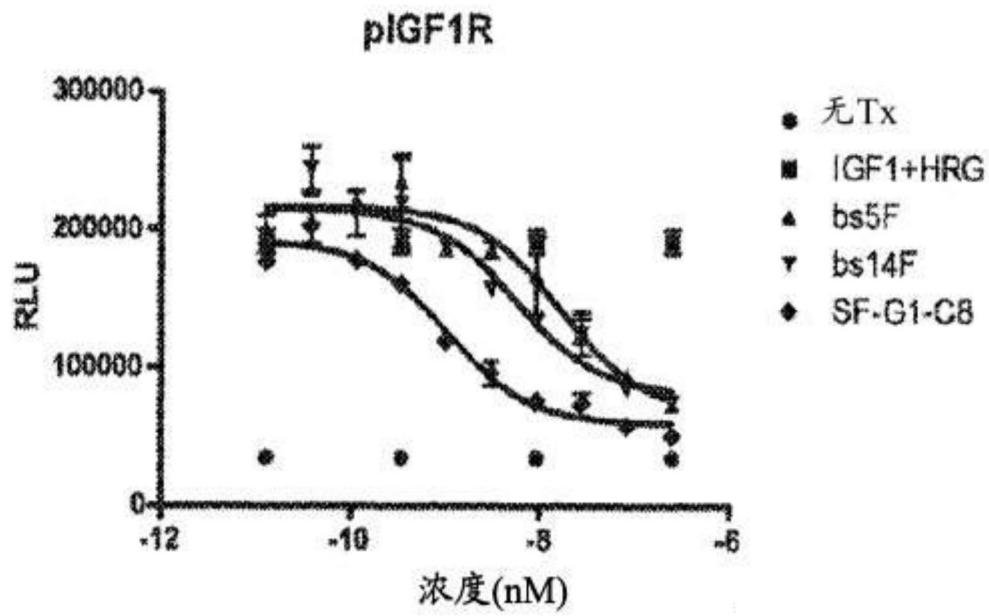


图 30D

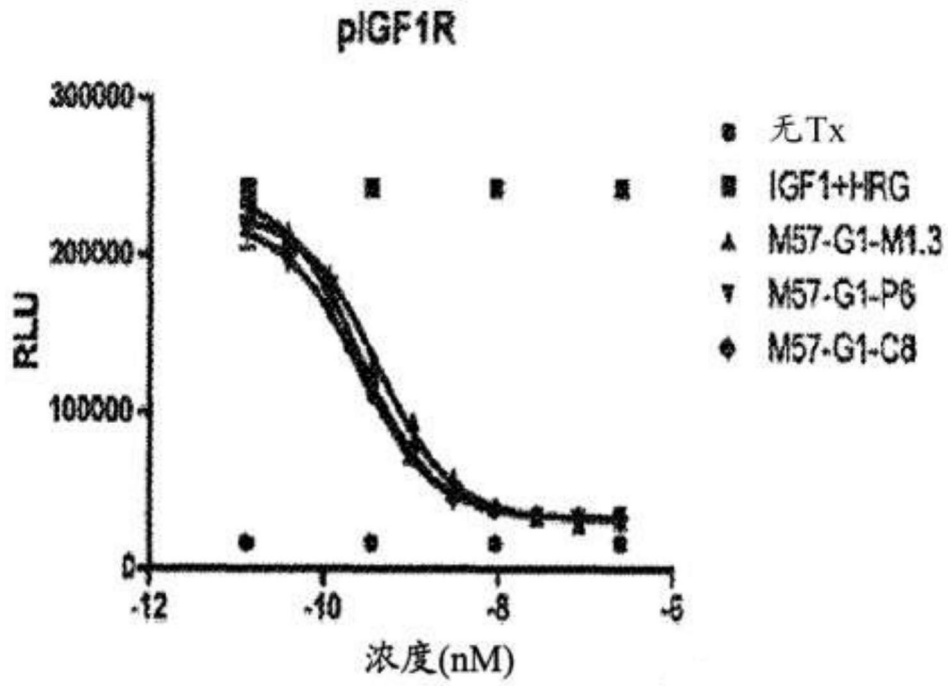


图 30E

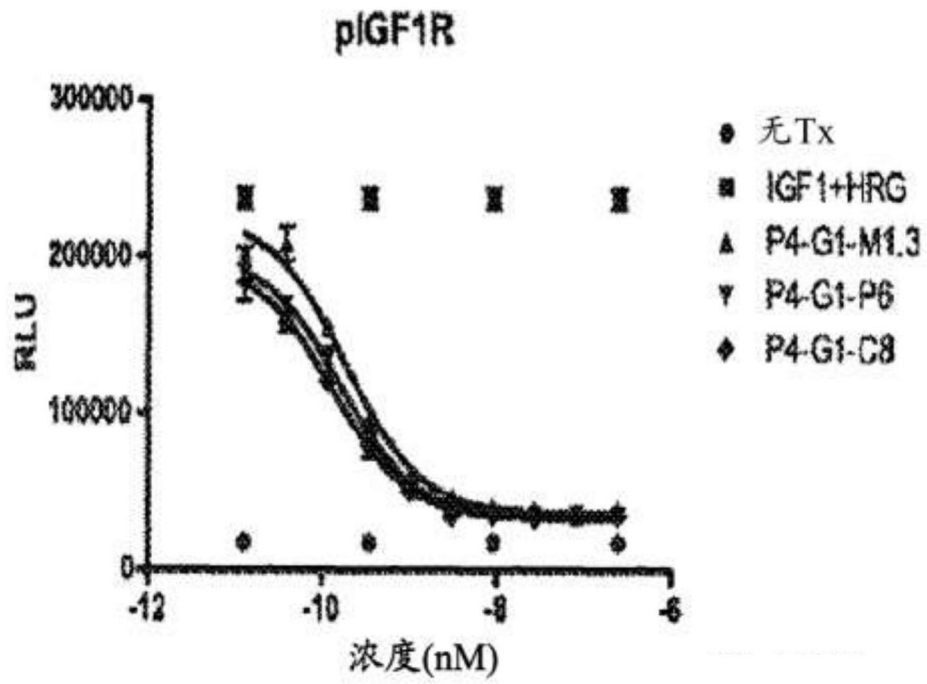


图 30F

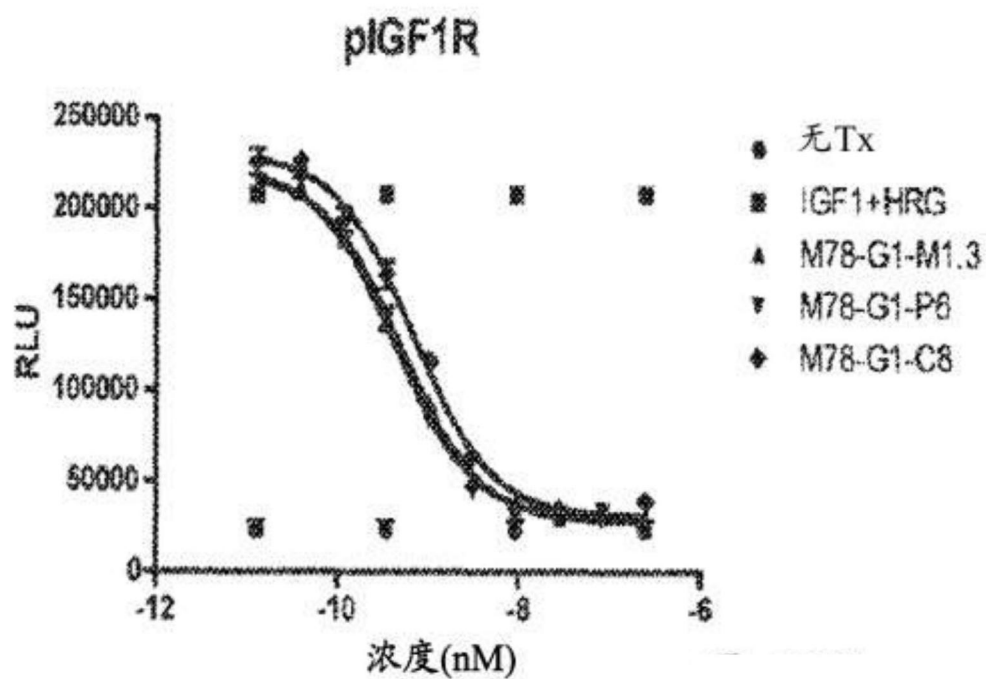


图 30G

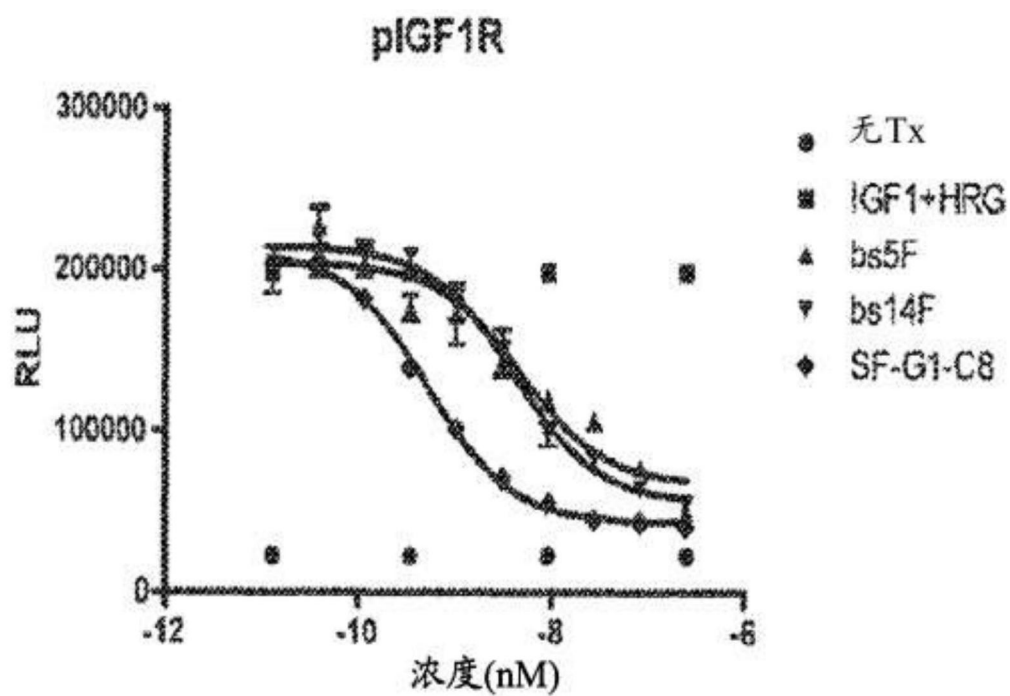


图 30H

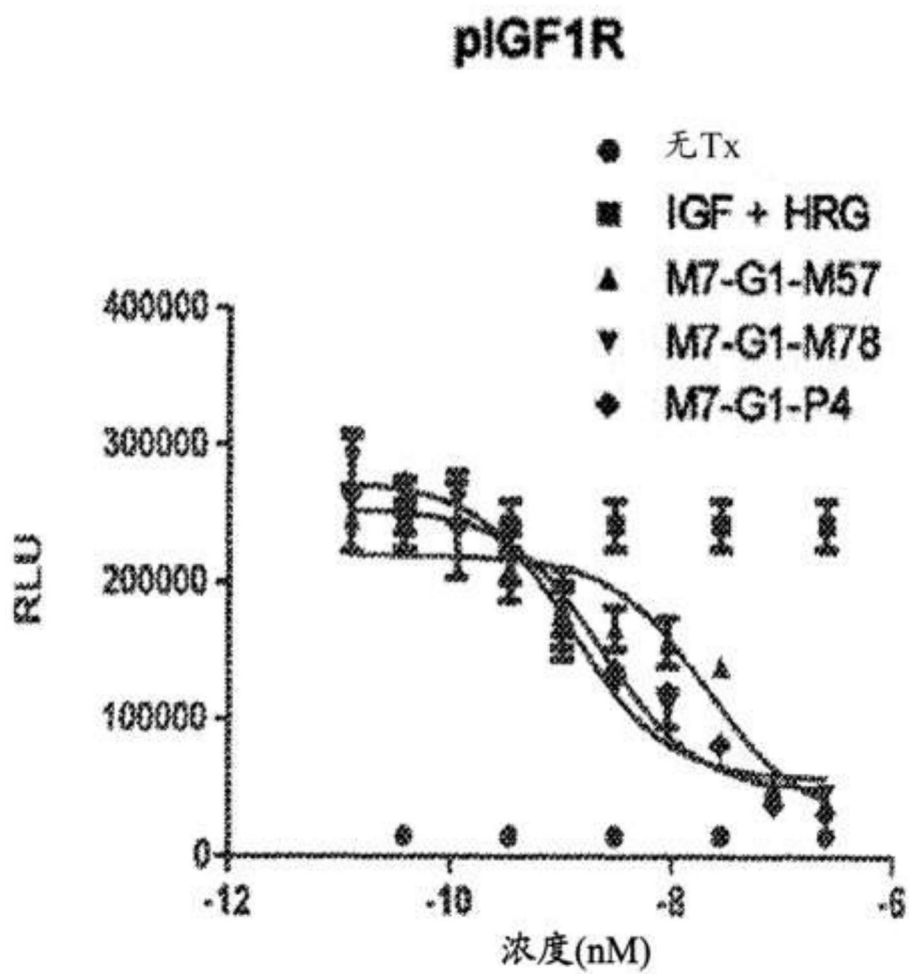


图 30I

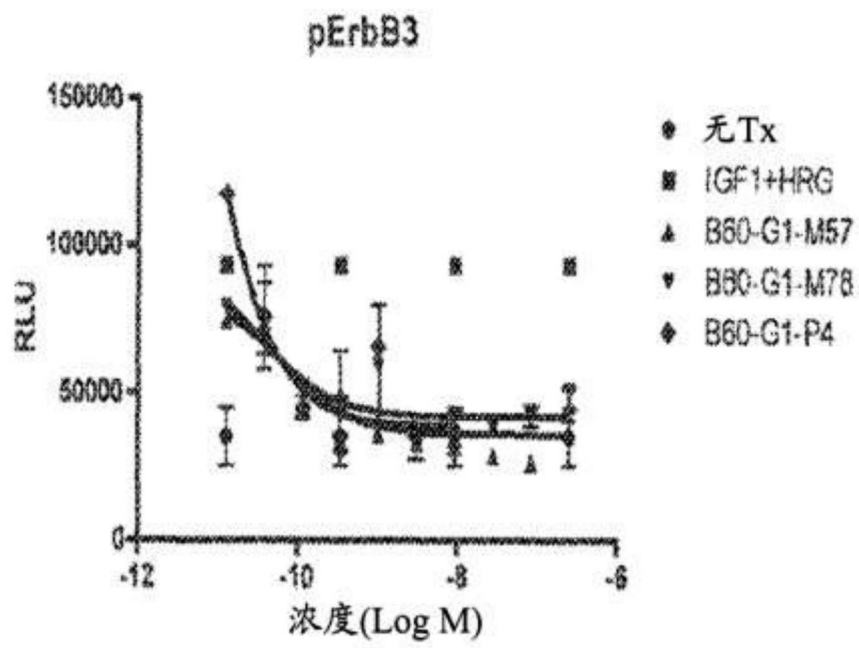


图 31A

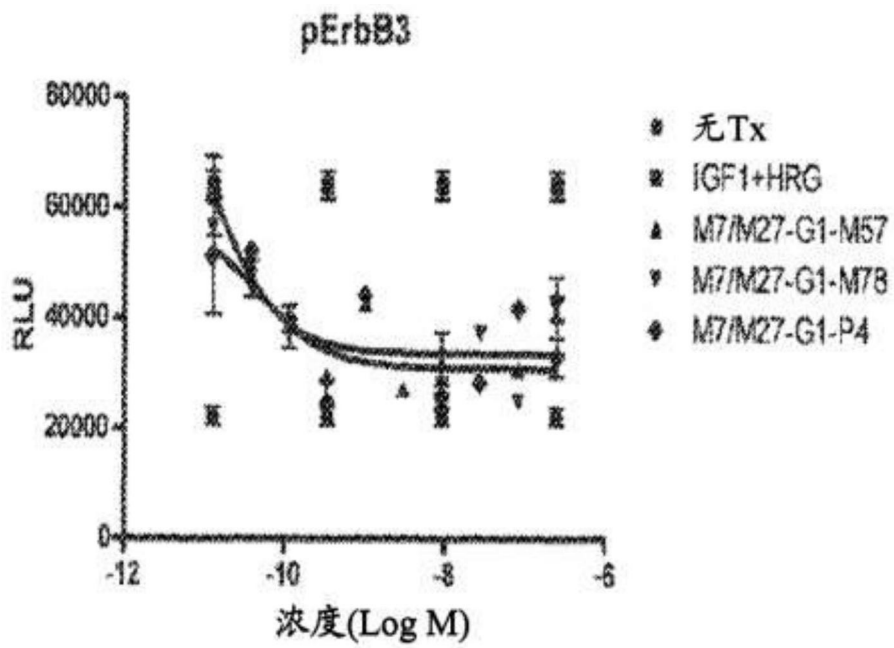


图 31B

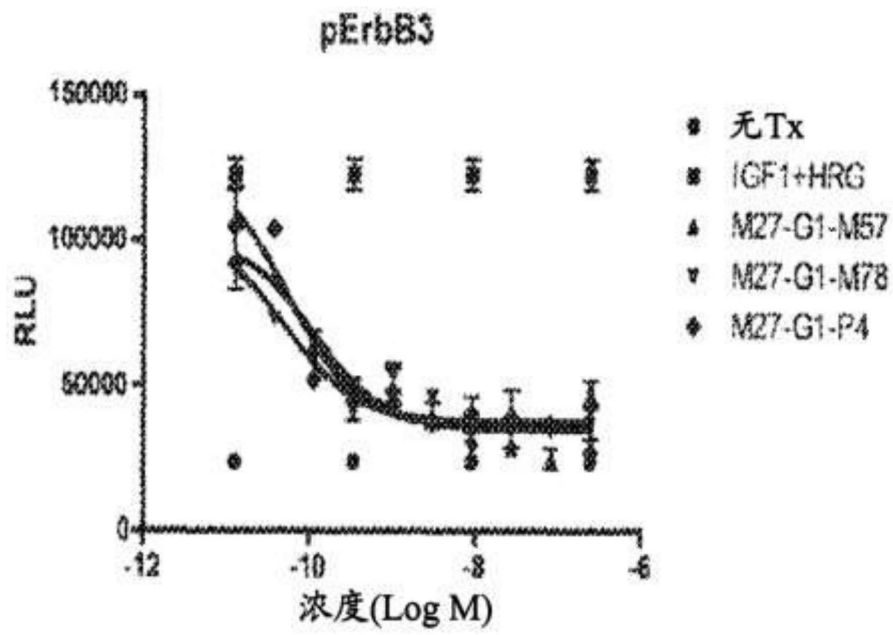


图 31C

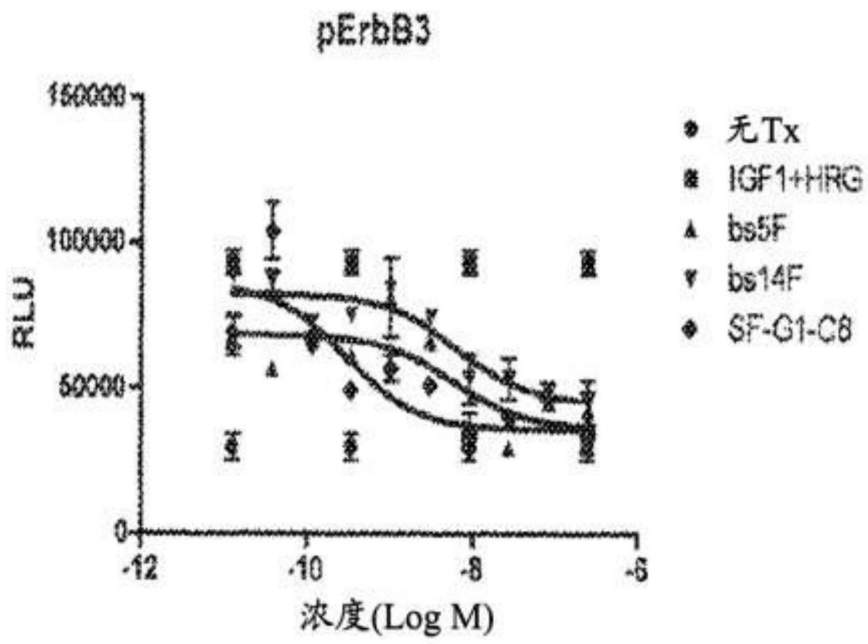


图 31D

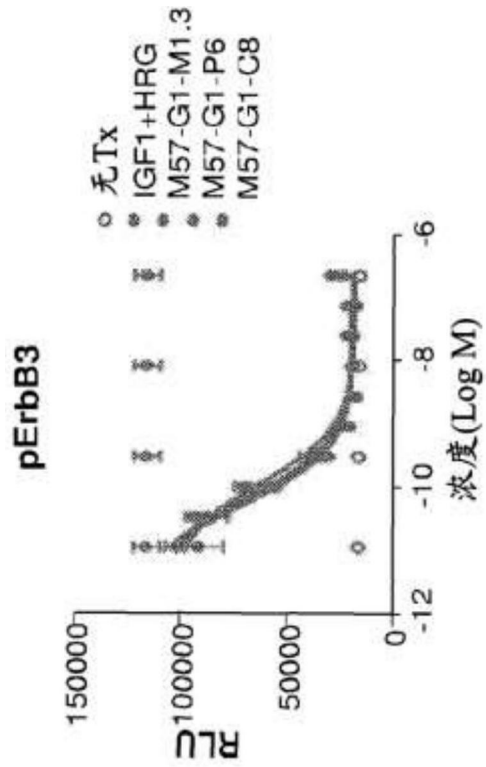


图 31E

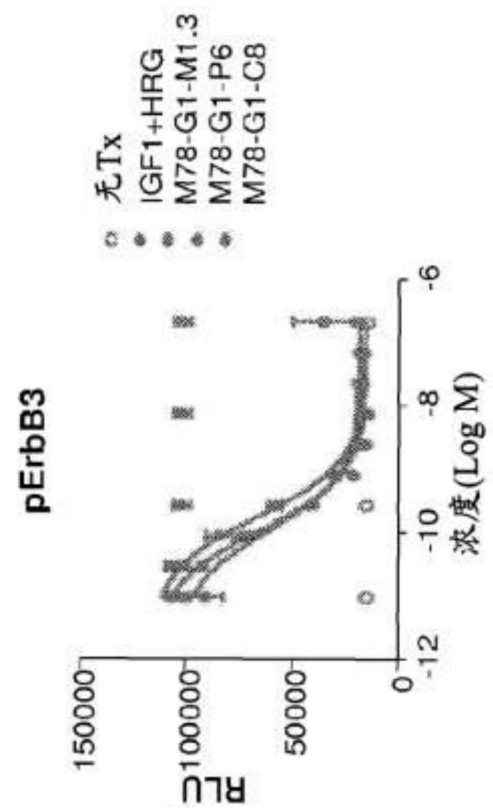


图 31F

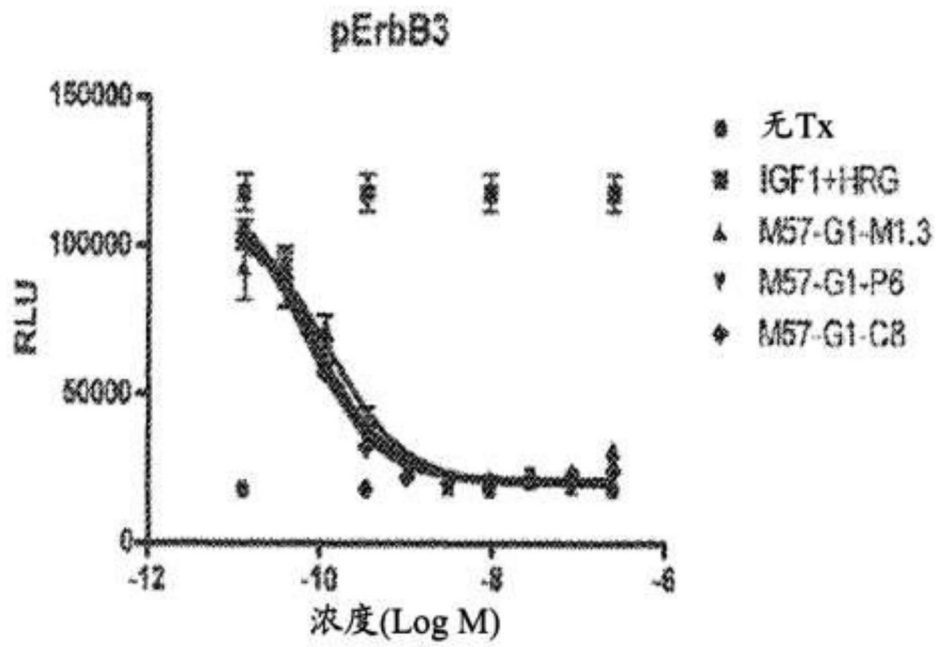


图 31G

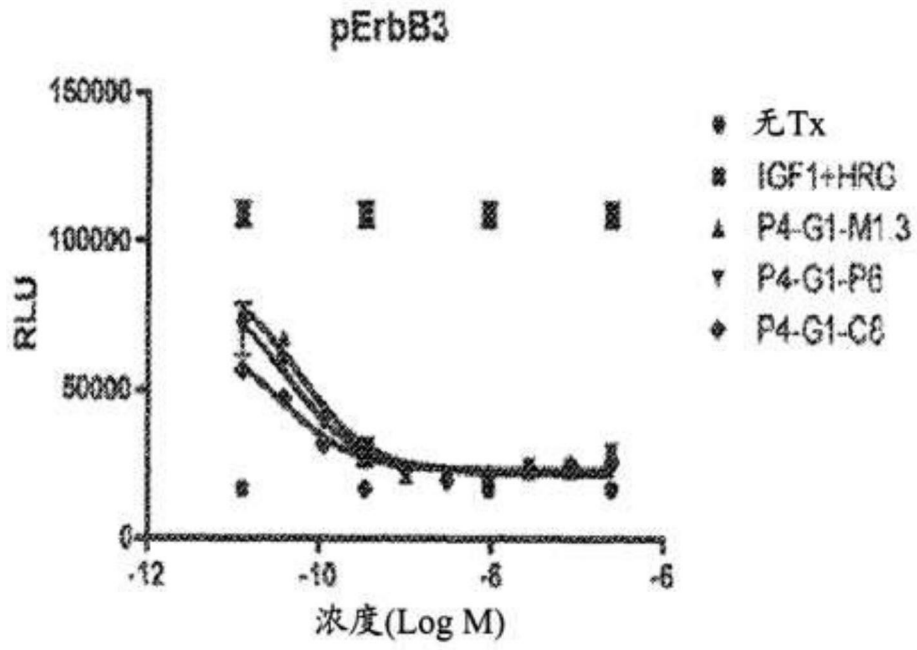


图 31H

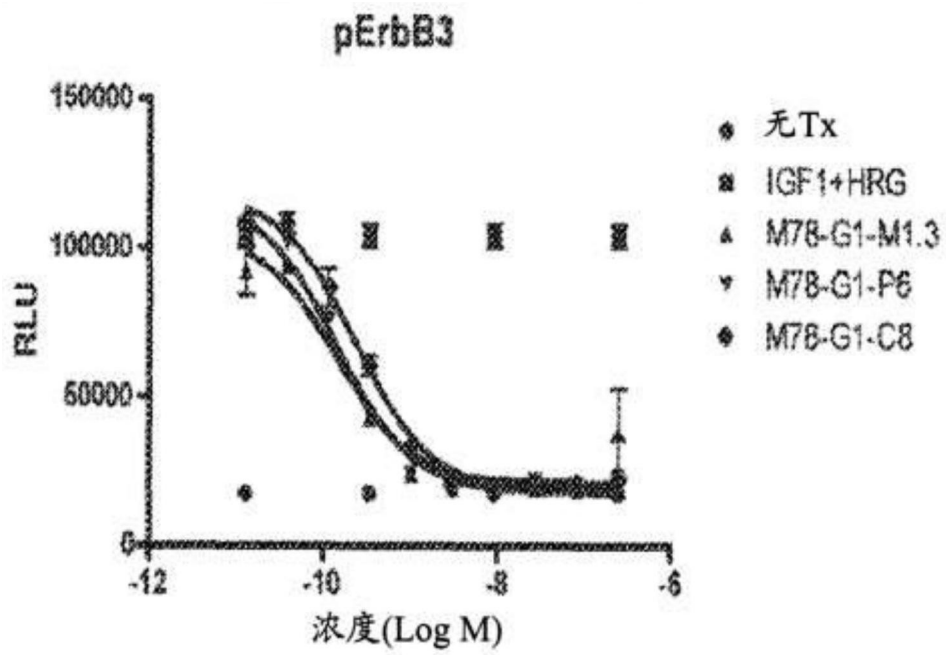


图 31I

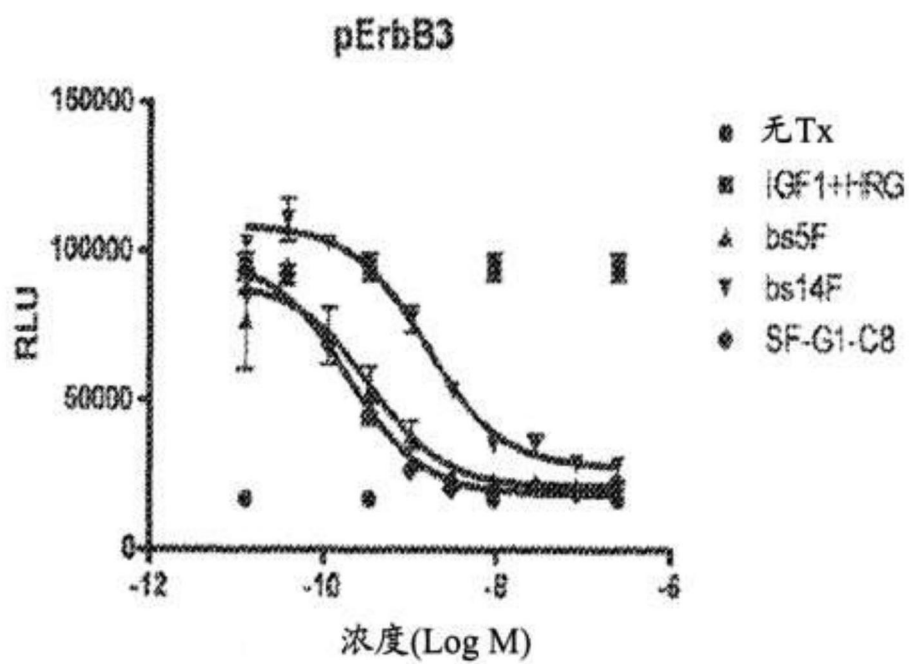


图 31J

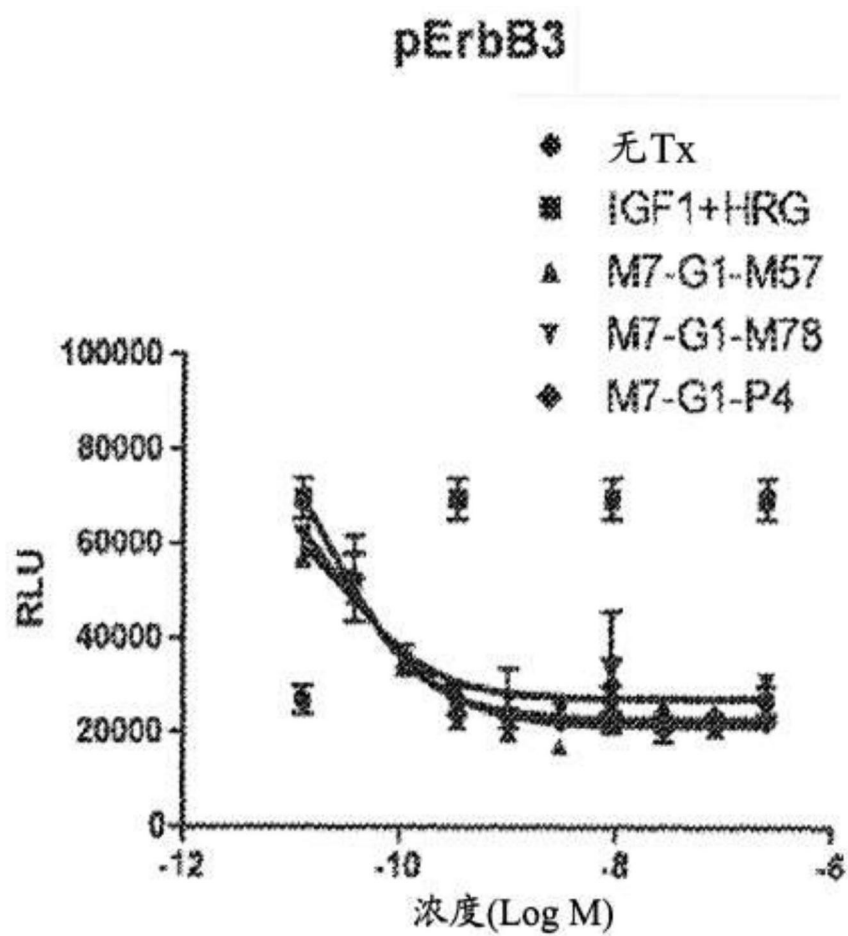


图 31K

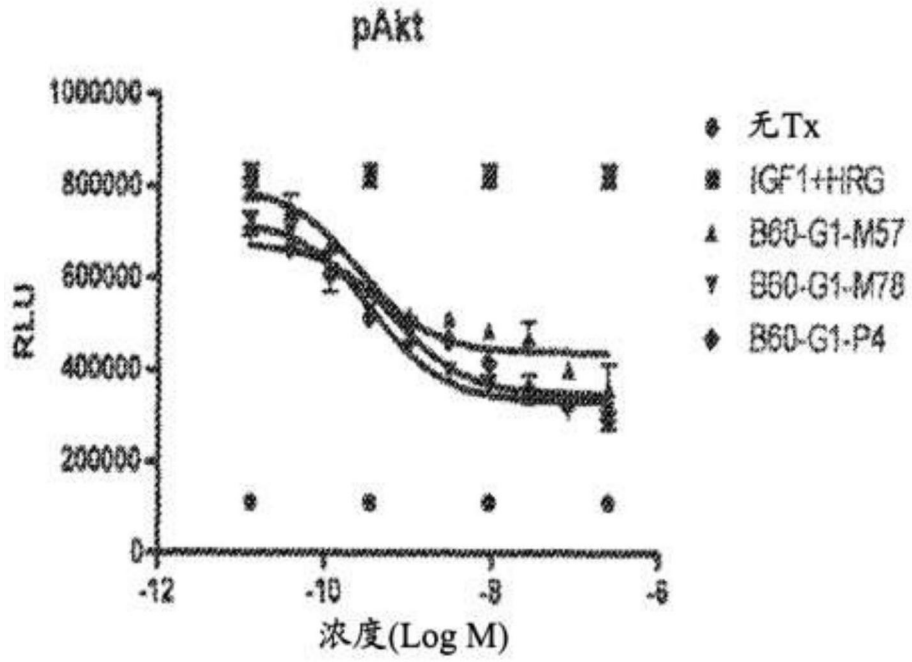


图 32A

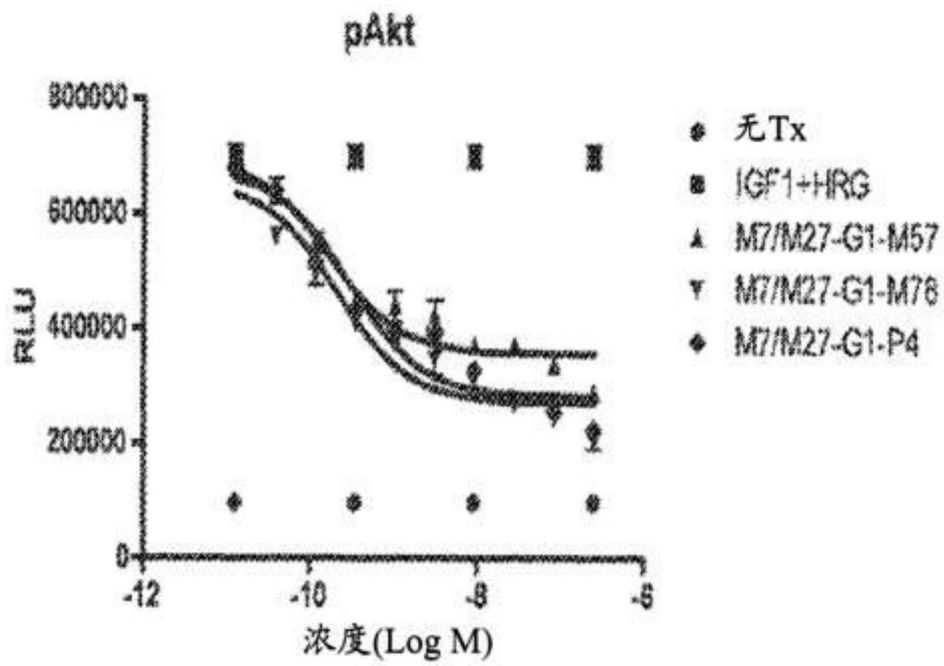


图 32B

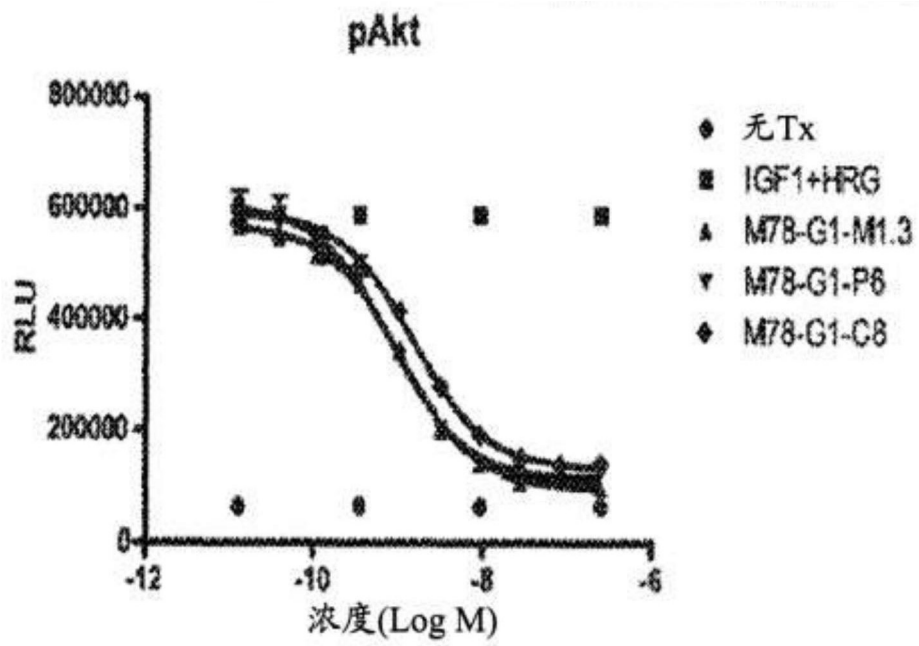


图 32C

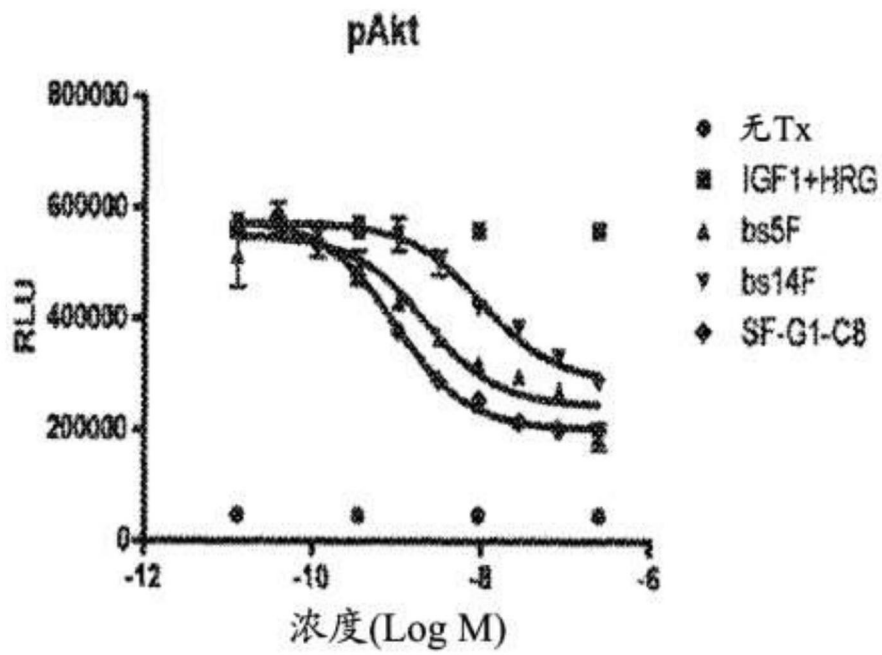


图 32D

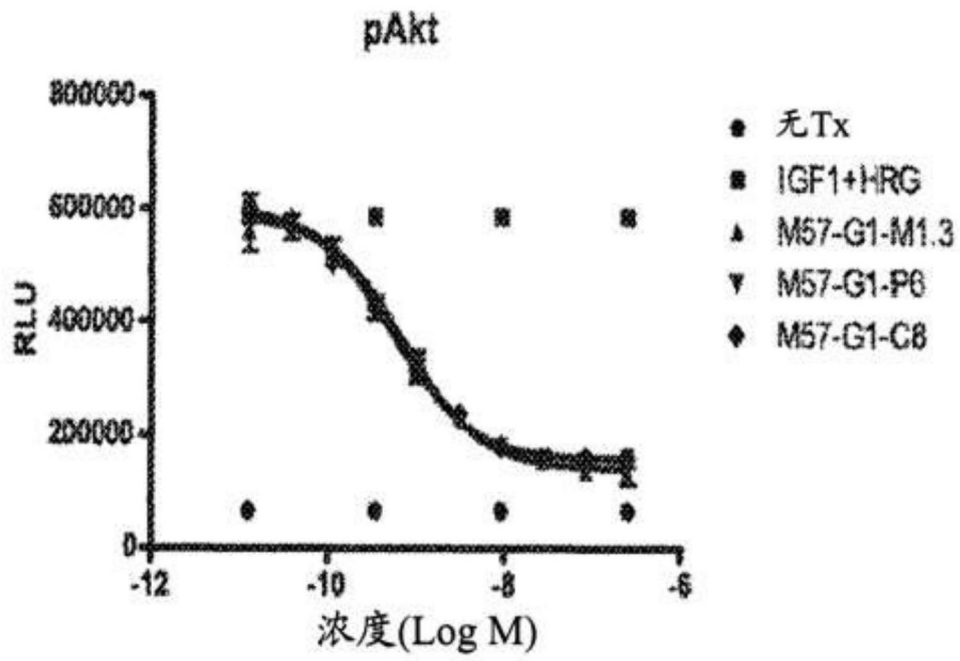


图 32E

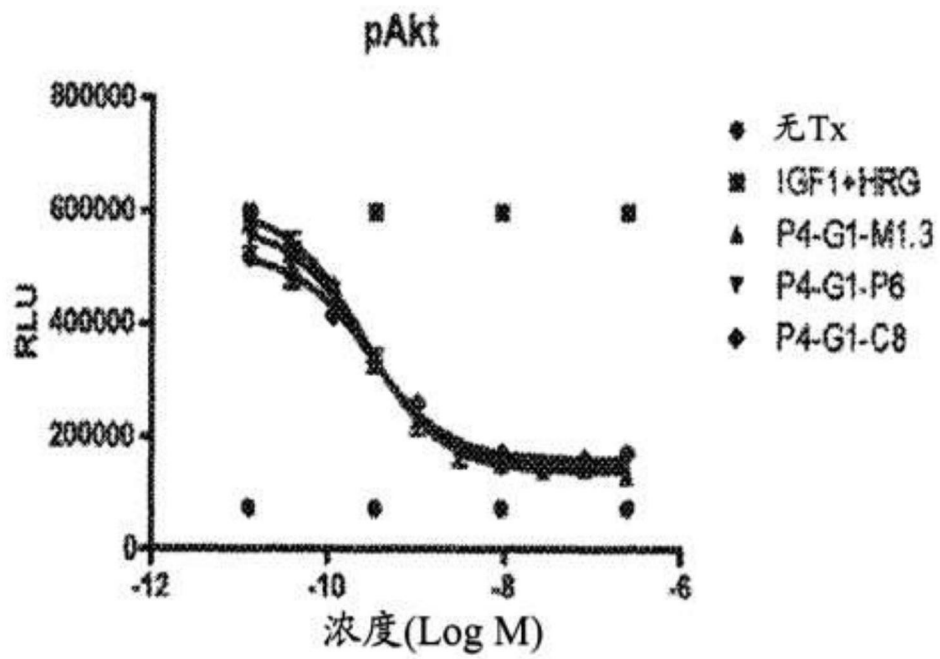


图 32F

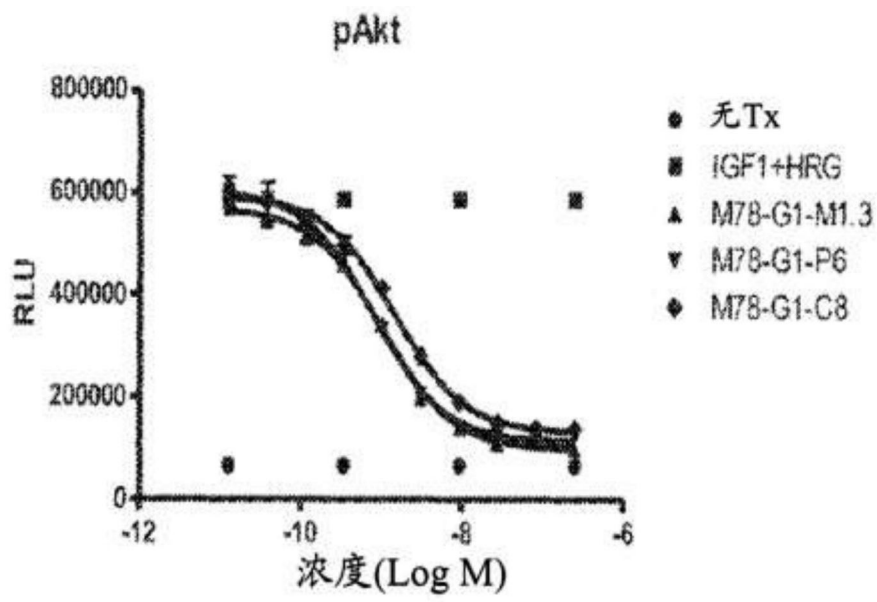


图 32G

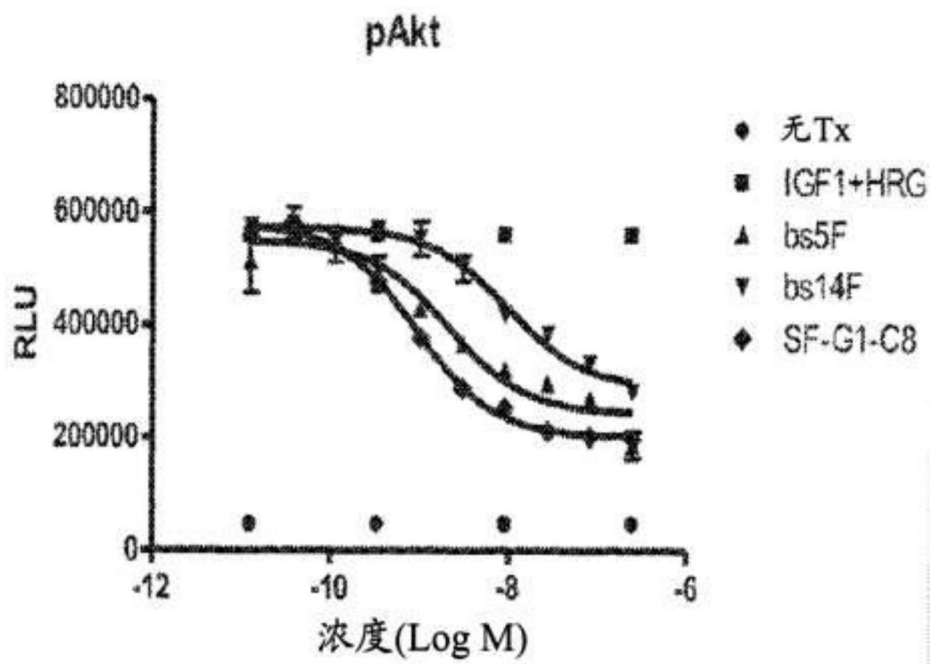


图 32H

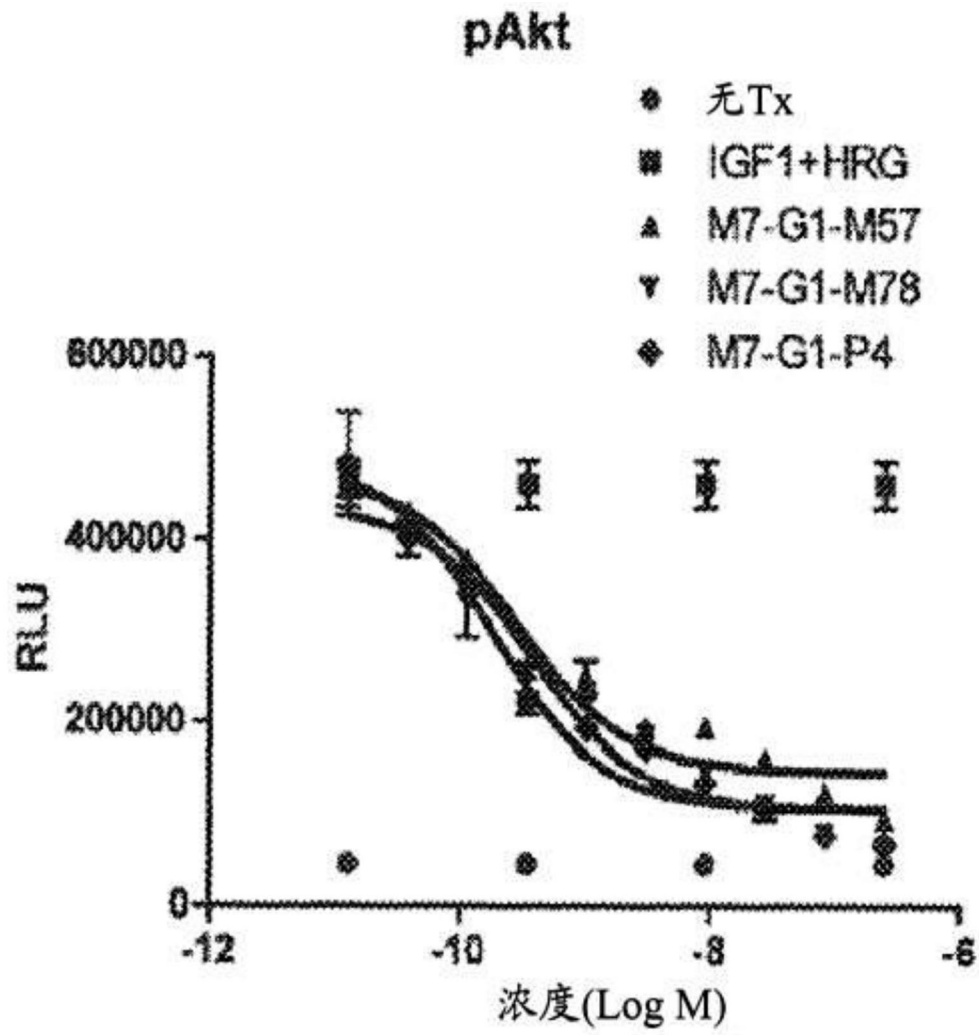


图 32I

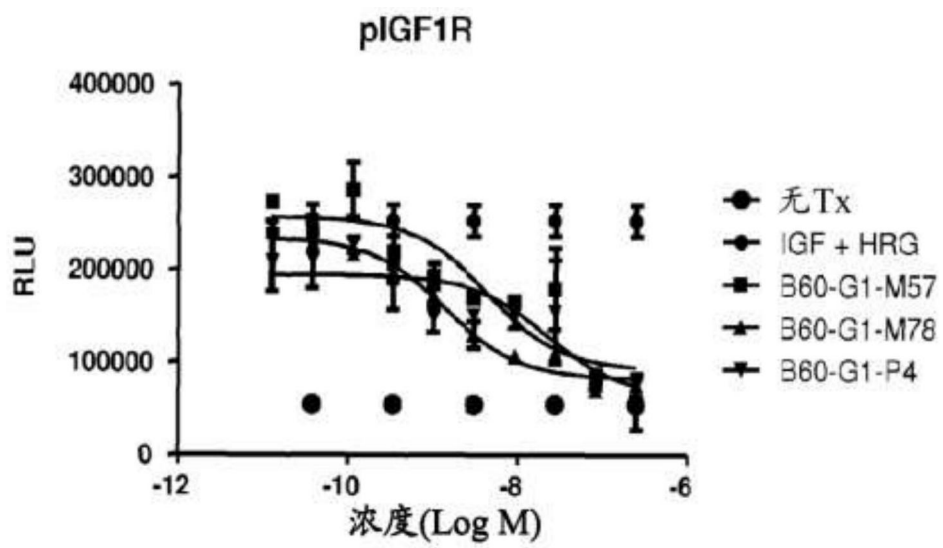


图 33A

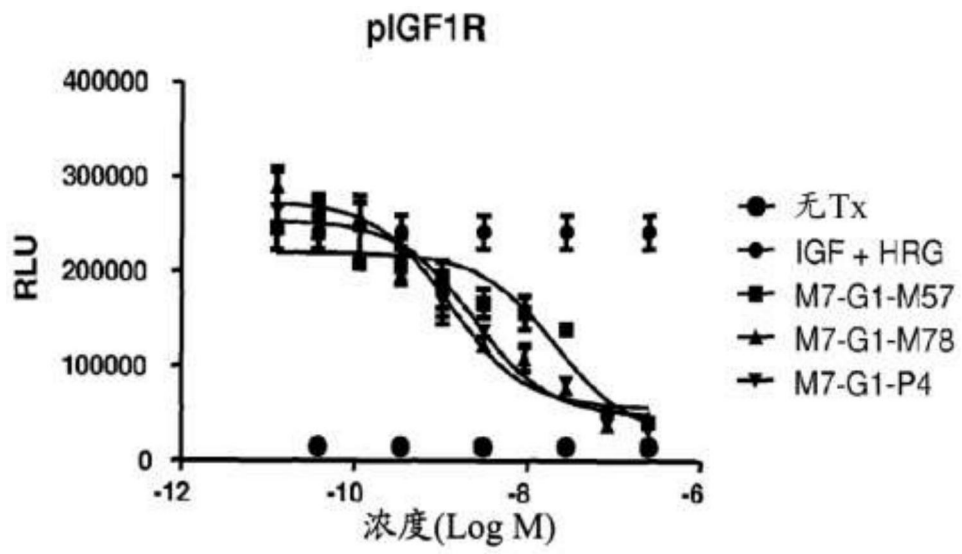


图 33B

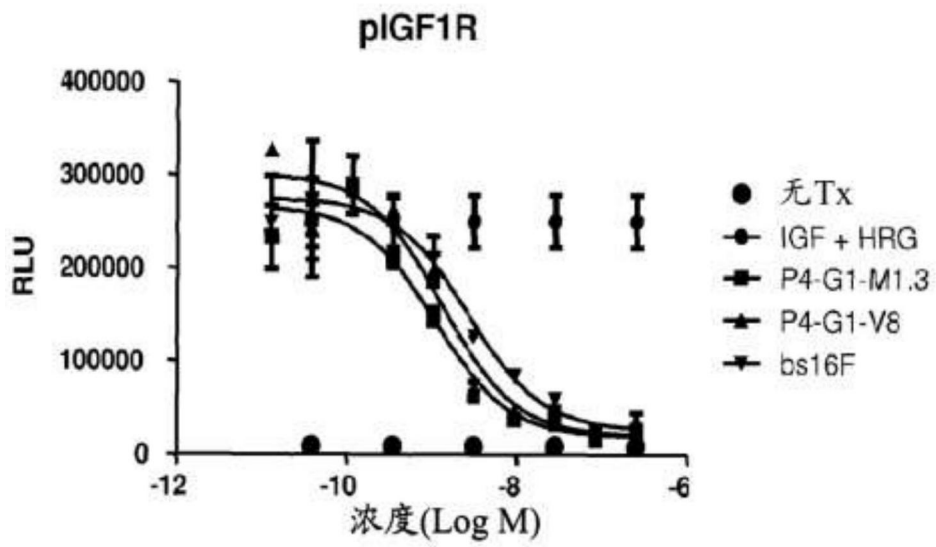


图 33C

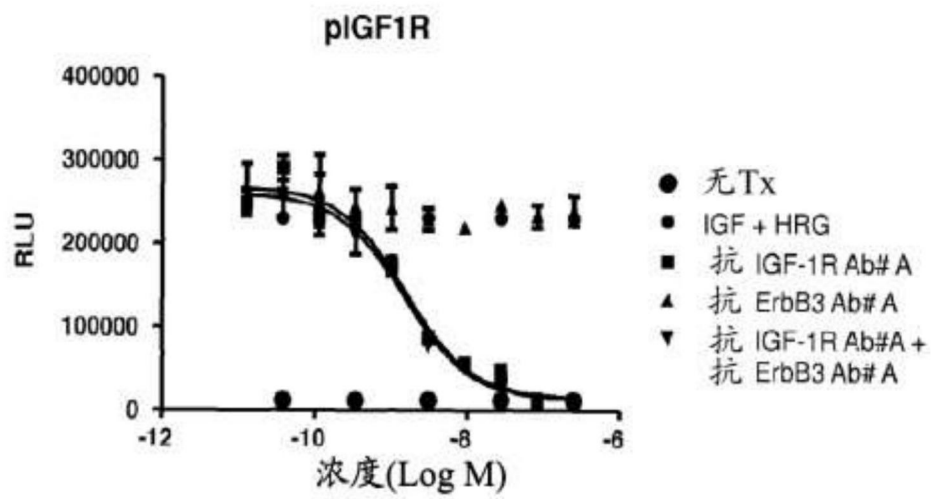


图 33D

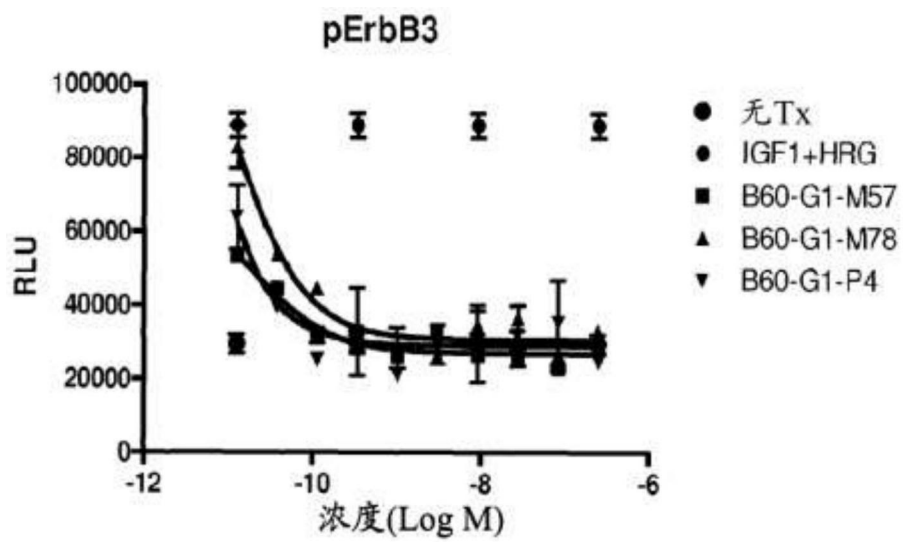


图 34A

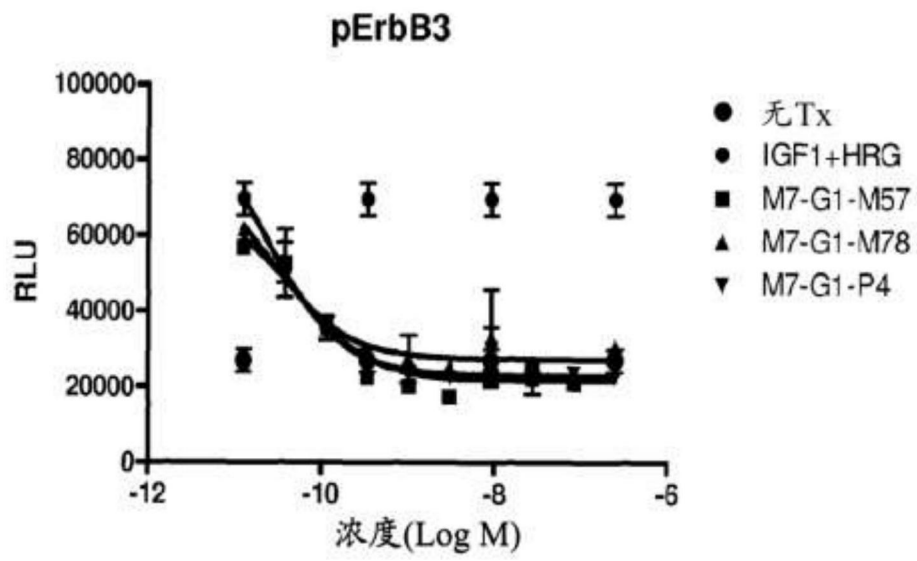


图 34B

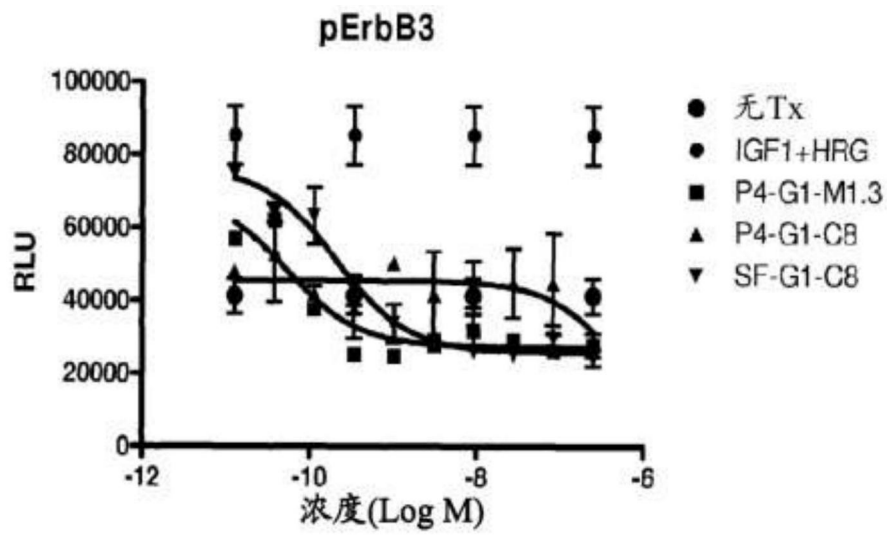


图 34C

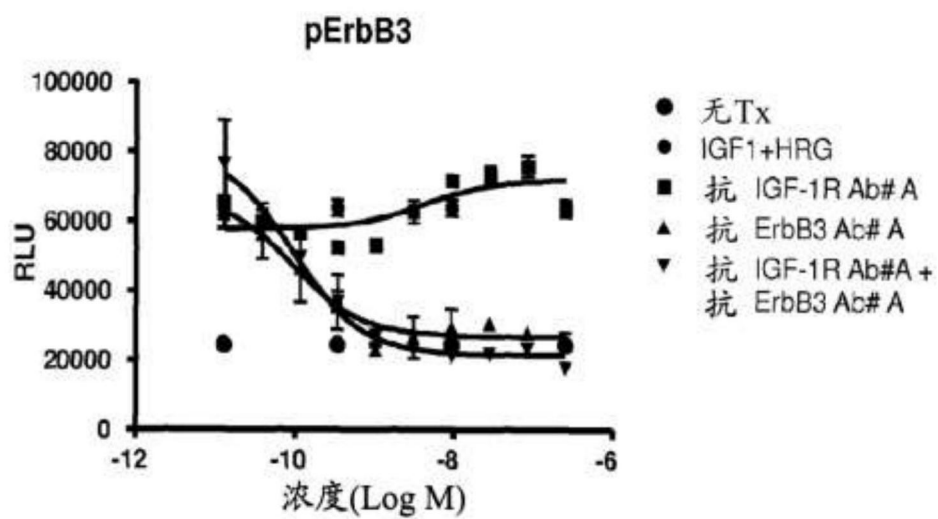


图 34D

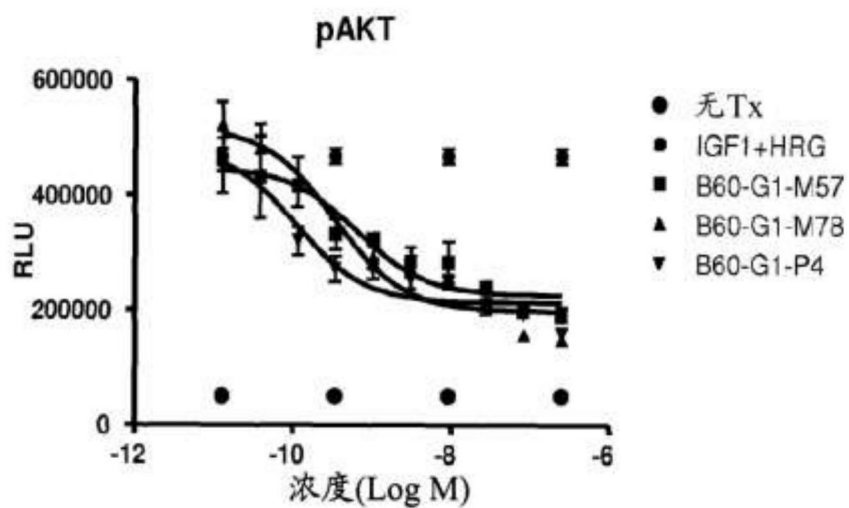


图 35A

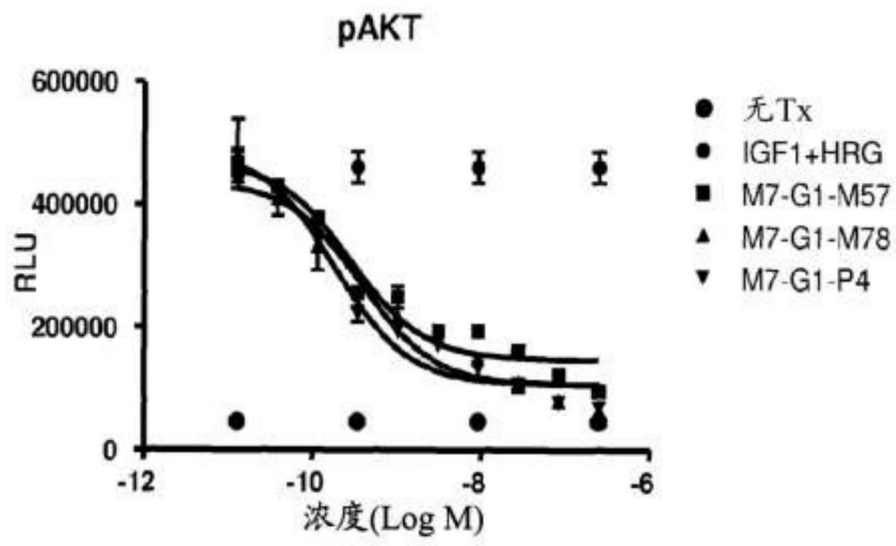


图 35B

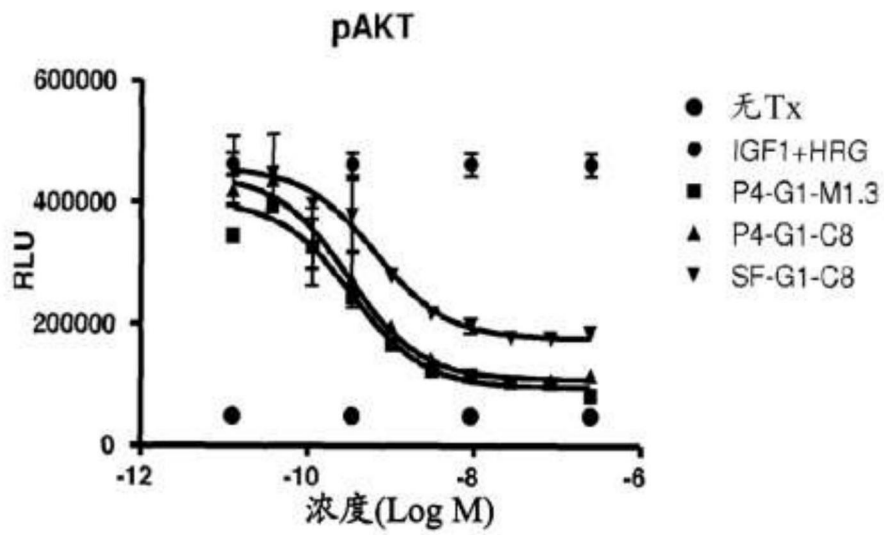


图 35C

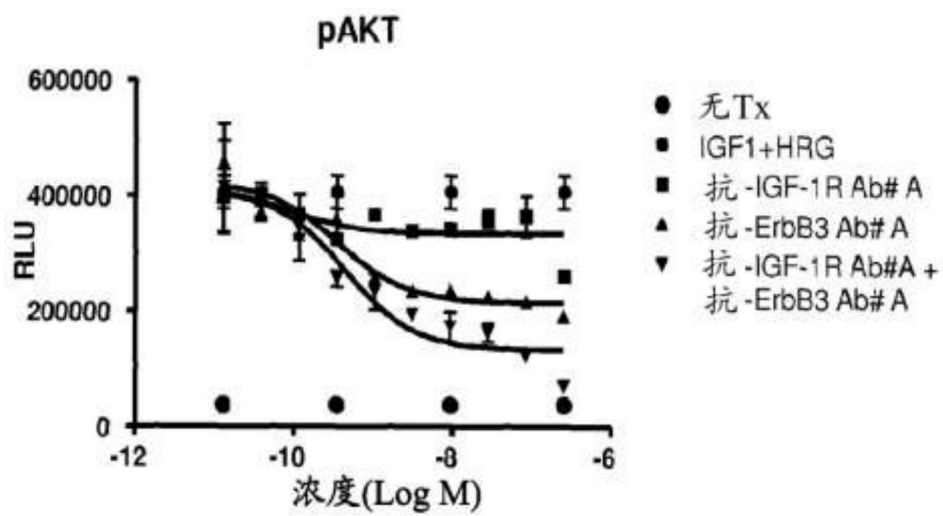


图 35D

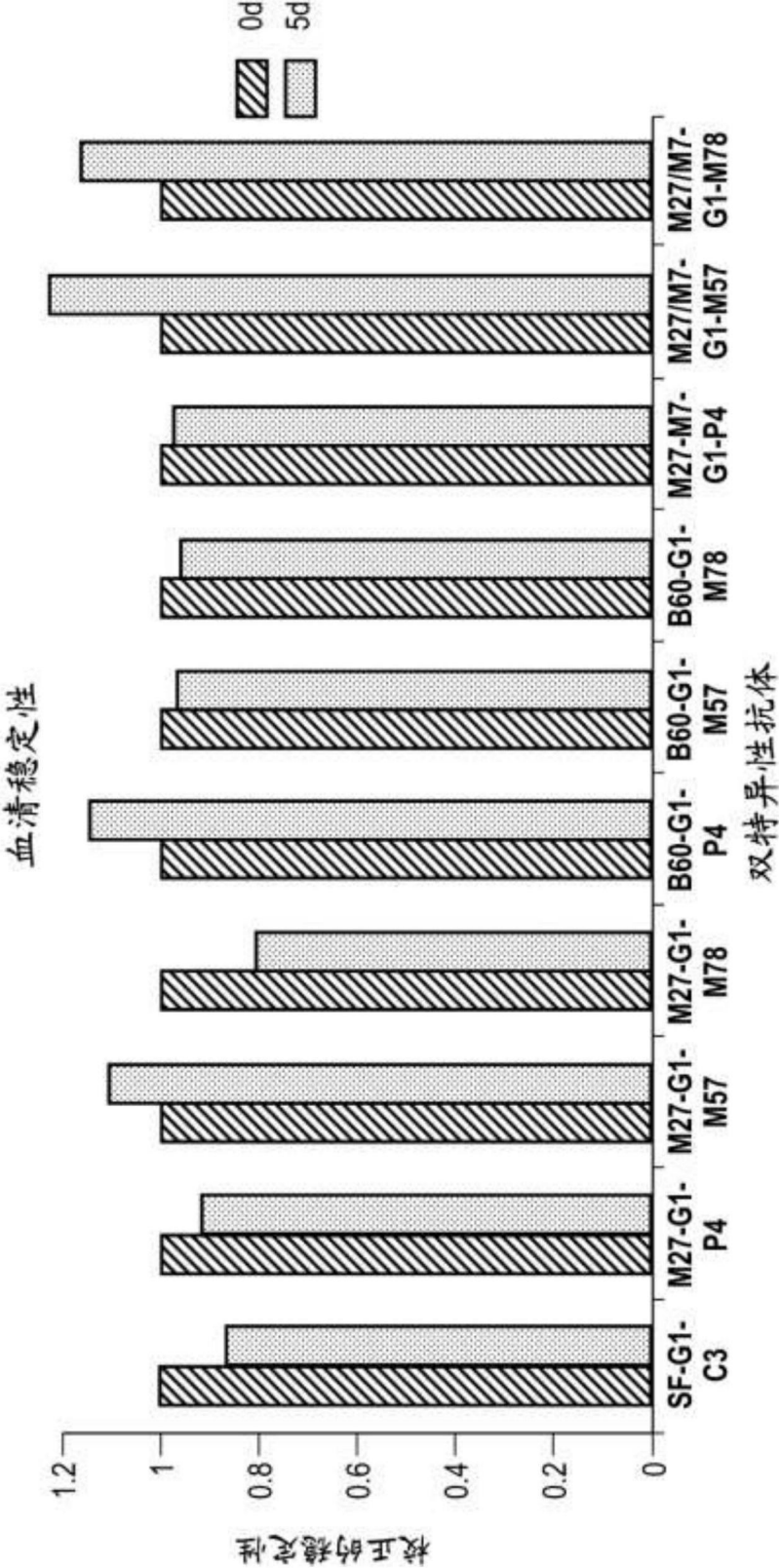


图 36A

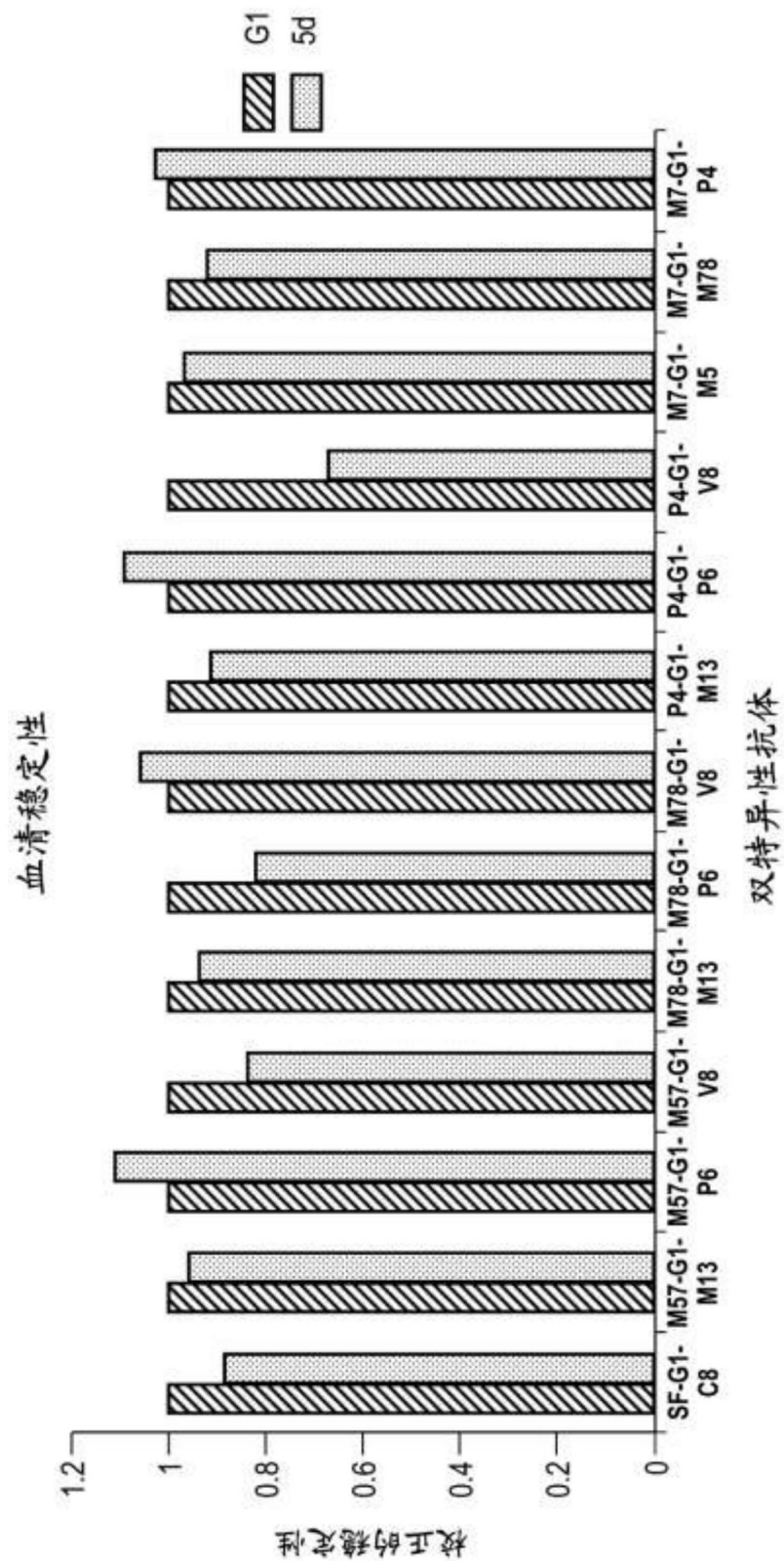


图 36B

抗IGF1R部分**CP-751,871 Fab****Fab-HC**

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEWVSA
ISGSGGTTFFYADSVKGRFTISRDNSTTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDL
GWSDSYYYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK
VDKKV (SEQ ID NO: 321)

LC

DIQMTQFPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASRLHRGVPS
RFGSGSGTFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPCSFQGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLS
KADYEEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 322)

CP-751,871 scFv

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEWVSA
ISGSGGTTFFYADSVKGRFTISRDNSTTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDL
GWSDSYYYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQFPS
SLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASRLHRGVPSRFGSGSGT
EFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPCSFQGGTKLEIKRT (SEQ ID NO: 323)

IMC-A12 Fab**Fab-HC**

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG
IIPFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDYAVYYCARAP
LRFLEWSTQDHYYYYYMDVWGKGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
PSNTKVDKKV (SEQ ID NO: 324)

LC

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSYYATWYQQKPGQAPILVIYGENKRPSGIPDR
FSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCKSRDGSQHLVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLF
PPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKNYAASSY
LSLTPEQWKSRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAEC(S(EQ ID NO: 325)

IMC-A12 scFV

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG
IIPFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDYAVYYCARAP
LRFLEWSTQDHYYYYYMDVWGKGTITVTVSSASTGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSSEL
TQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSYYATWYQQKPGQAPILVIYGENKRPSGIPDRFSGS
SSGNTASLTITGAQAEDEADYYCKSRDGSQHLVFGGGTKLTVLG (SEQ ID NO:
326)

AMG-479 Fab

图 37A

Fab-HC

QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIYHSGSTNY
NPSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARWTGRTDAFDIWGQGMVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV (SEQ ID NO: 327)

LC

DVVMTQSPSLPVTTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 328)

AMG-479 scFv

QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIYHSGSTNY
NPSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARWTGRTDAFDIWGQGMVTVSS
ASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPSLPVTTPGEPASISCRSSQSLLSNGY
YLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ
GTHWPLTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 329)

BIIB-G11 FabFab-HC

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYPMYWVRQAPGKGLEWVSRISSSGGRTV
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRWSRSAAEYGLGGYWGQ
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV (SEQ ID NO:
330)

LC

DIQMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYLA STR
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTWTFGQGTKVEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 331)

BIIB-G11 scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYPMYWVRQAPGKGLEWVSRISSSGGRTV
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRWSRSAAEYGLGGYWGQ
GTLVTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQS
VLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYLASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAED
VAVYYCQQYYSTWTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 332)

图 37B

BIIB-C06 Fab**Fab-HC**

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYRMQWVRQAPGKGLEWVSGISPSGGTTW
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWSGGSGYAFDIWGQGT MV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKV (SEQ ID NO: 333)

LC

DIQMTQSPLSLSASVGD RVTITCQASRDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASSLQTGVPS
RFGGSGSGTDF SFTIGSLQPEDIATYYCQQFDSLPH TFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTL
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 334)

BIIB-C06 scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYRMQWVRQAPGKGLEWVSGISPSGGTTW
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWSGGSGYAFDIWGQGT MV
TVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLSASVGD RVTITCQASRDIRNYL
NWYQQKPGKAPKLLIYDASSLQTGVPSRFGGSGSGTDF SFTIGSLQPEDIATYYCQQFDSL
PH TFGQGTKLEIKRT (SEQ ID NO: 335)

图 37C

抗ErbB3部分**AMG-888 (U3) Fab****Fab-HC**

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHS
GSTNYPNPSLKSRVTISVETSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFDLW
GRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
(SEQ ID NO: 336)

LC

DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSNRNYLAWYQQNPQGPPKLLIY
WASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFGQGTKV
EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO: 337)

AMG-888 (U3 Pharma) scFv

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHS
GSTNYPNPSLKSRVTISVETSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFDLW
GRGTLVTVSSASTGGGGSGGGSGGGSGGGGSDIEMTQSPDSLAVSLGERATI
NCRSSQSVLYSSSNRNYLAWYQQNPQGPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGT
DFTLTISLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFGQGTKVEIKRT (SEQ ID NO: 338)

H3(美国专利号7,332,580)Fab**Fab-HC**

QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANINR
DGSASYVDSVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGVGYFD
LWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
(SEQ ID NO: 339)

LC

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWYQQHPGKAPKLMYDVSD
RPSGVSDRFSGSKSGNTASLIISGLQADDEADYCYSSYGSSSTHVIFGGGKVTVL
GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVET
TTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAEC
(SEQ ID NO: 340)

图 38A

H3(美国专利号7,332,580)scFv

QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANINR
DGSASYVDSVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGVGYFD
LWGRGTLTVSSASTGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSQALTQPASVSGSPGQSITI
SCTGTSSDVGGYNFVSWYQHPGKAPKLMYDVSDRPSGVSDRFSGSKSGNTAS
LIISGLQADDEADYYCSSYGSSTHVIFGGGTKVTVLG (SEQ ID NO: 341)

MM AB#3 FabFab-HC

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYNMRWVRQAPGKGLEWVSVIYPS
GGATRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYYYYYGM
VWGQGT LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK
V (SEQ ID NO: 342)

LC

QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSDSNIGRNYIYWYQQFPGTAPKLLIYRNNQRP
SGVPDRISGSKSGTSASLAISGLRSEDEAEYHCGTWDDSLSGPVFGGGTKLTVLG
QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETT
TPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAEC
(SEQ ID NO: 343)

MM AB#3 scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYNMRWVRQAPGKGLEWVSVIYPS
GGATRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYYYYYGM
VWGQGT LTVSSASTGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSQSVLTQPPSASGTPGQRV
TISCSDSNIGRNYIYWYQQFPGTAPKLLIYRNNQRP SGVPDRISGSKSGTSASL
AISGLRSEDEAEYHCGTWDDSLSGPVFGGGTKLTVLG (SEQ ID NO: 344)

MM AB#14 FabFab-HC

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYGMGWVRQAPGKGLEWVSYISPS
GGHTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLETGLLVD
AFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD
KKV (SEQ ID NO: 345)

图 38B

LC

QYELTQPPSVSVYPGQTASITCSGDQLGSKFVSWYQQRPGQSPVLV MYKDKRRP
SEIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAIDEADYYCQAWDSSTYVFGTGTKVTVLGQP
KAAPSVTLFPSPSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTP
SKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAEC (SEQ
ID NO: 346)

MM AB#14 scFv

EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSAYGMGWVRQAPGKGLEWVSYISP
GGHTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVLETGLLD
AFDIWGQGTMTVTVSSASTGGGGSGGGSGGGSGGGGSQYELTQPPSVSVYPG
QTASITCSGDQLGSKFVSWYQQRPGQSPVLV MYKDKRRPSEIPERFSGSNSGNTA
TLTISGTQAIDEADYYCQAWDSSTYVFGTGTKVTVLG (SEQ ID NO: 347)

MM AB#17 FabFab-HC

EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSWYGMGWVRQAPGKGLEWVSYISP
SGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLNYYYGLD
VWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK
V (SEQ ID NO: 348)

LC

DIQMTQSPSSLSASVGDRITITCQASQDIGDSL N WYQQKPGKAPRLLIYDASNLET
GVPPRFSGSGSGTDFTFTFRSLQPEDIA TYFCQQSANAPFTFGPGTKVDIKRTVAA
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ
ID NO: 349)

MM AB#17 scFv

EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSWYGMGWVRQAPGKGLEWVSYISP
SGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLNYYYGLD
VWGQGTMTVTVSSASTGGGGSGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR I
TITCQASQDIGDSL N WYQQKPGKAPRLLIYDASNLETGVPPRFSGSGSGTDFTFTF
RSLQPEDIA TYFCQQSANAPFTFGPGTKVDIKRT (SEQ ID NO: 350)

图 38C

MM AB#19 FabFab-HC

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYGMWWVRQAPGKGLEWVSYIGS
SGGPTYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGRGTPYYF
DSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK
KV (SEQ ID NO: 351)

LC

QYELTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIGRWNIVSWYQQHPGKAPKLMYDVSN
RPSGVSNRFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTWVFGGGTKLTVL
GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVET
TTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAEC
(SEQ ID NO: 352)

MM AB#19 scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYGMWWVRQAPGKGLEWVSYIGS
SGGPTYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGRGTPYYF
DSWGQGTLVTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQYELTQPASVSGSPGQSI
TISCTGTSSDIGRWNIVSWYQQHPGKAPKLMYDVSNRPSGVSNRFGSGSKSGNTA
SLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTWVFGGGTKLTVLG (SEQ ID NO: 353)

图 38D

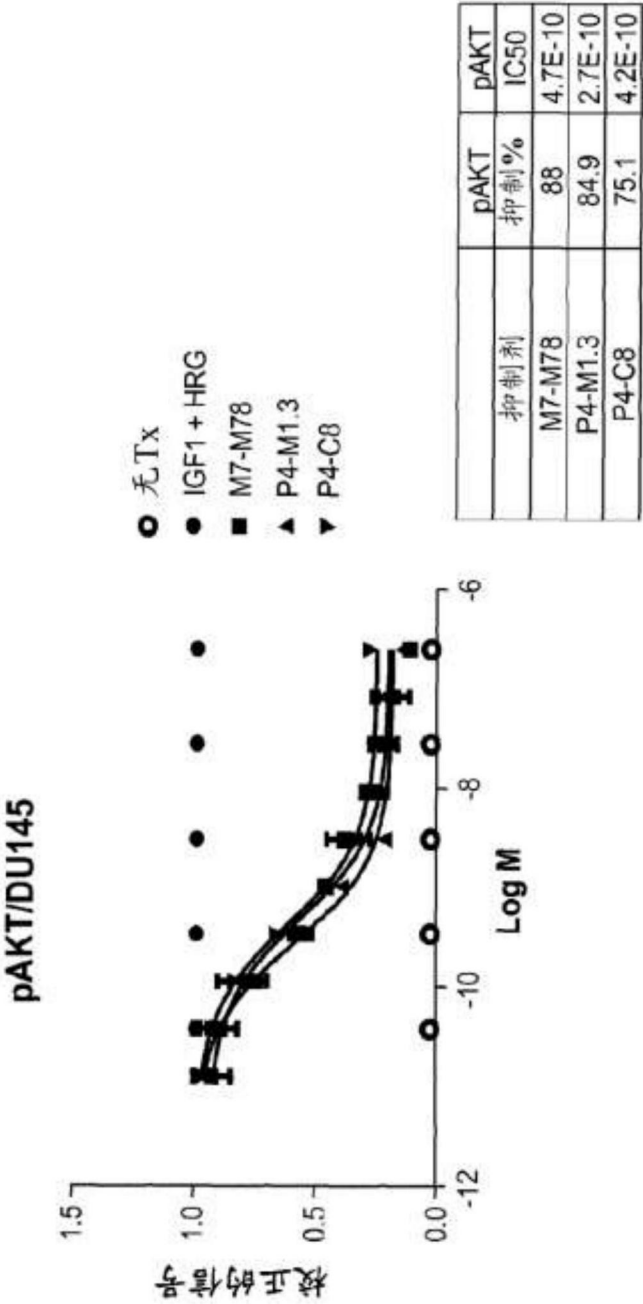


图 39A

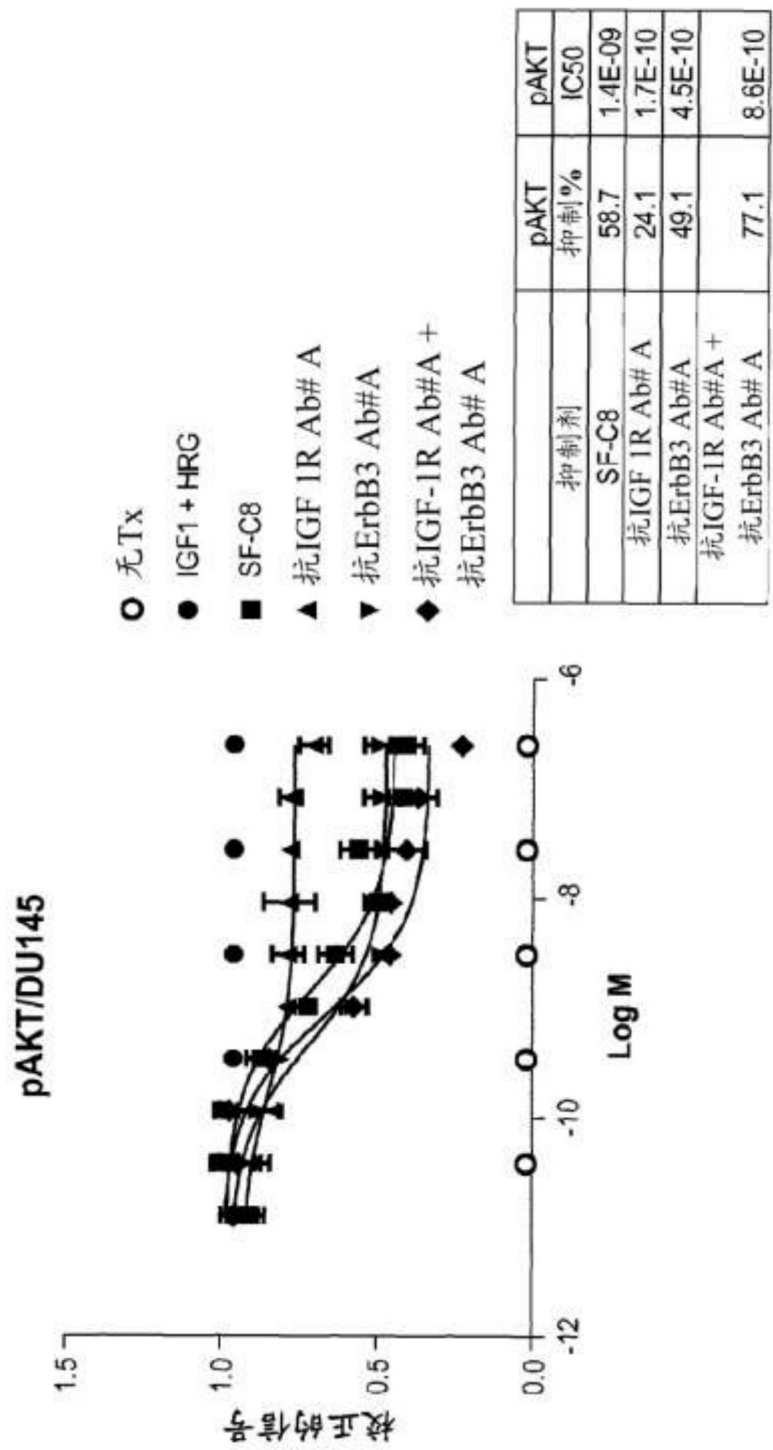


图 39B

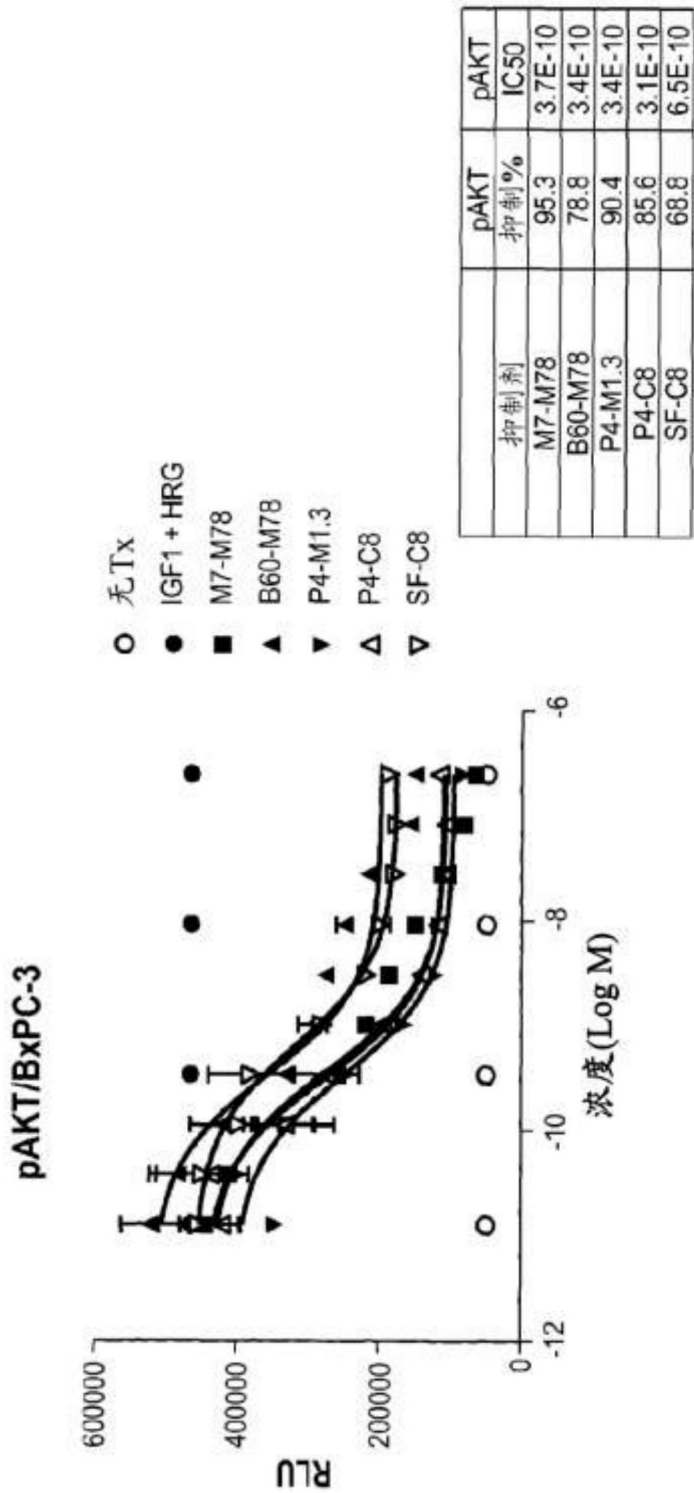


图 39C

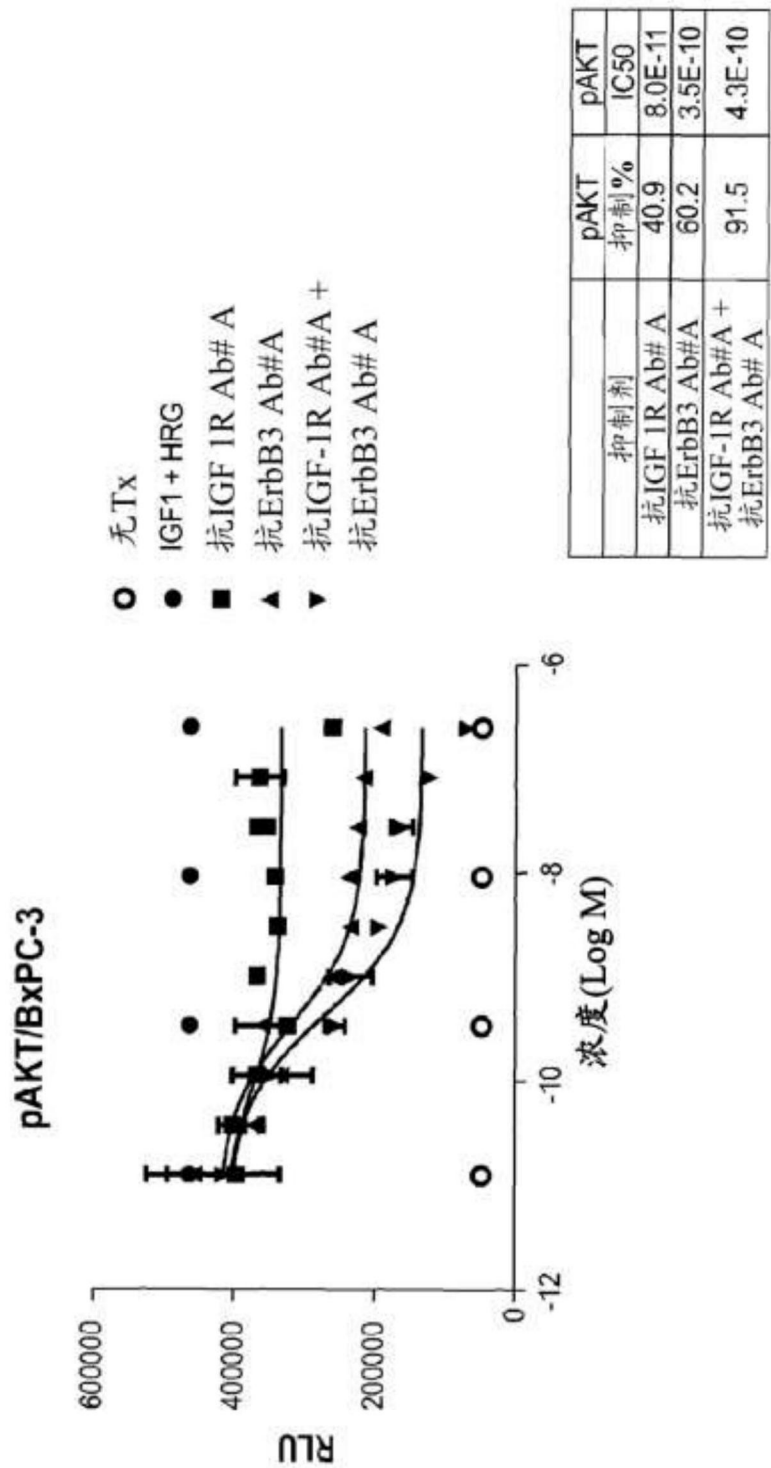


图 39D

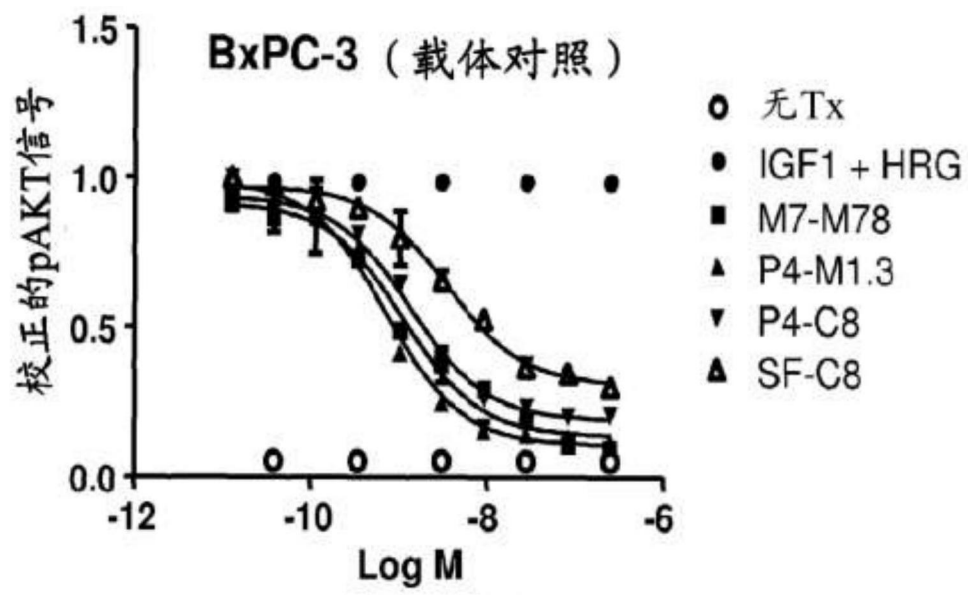


图 40A

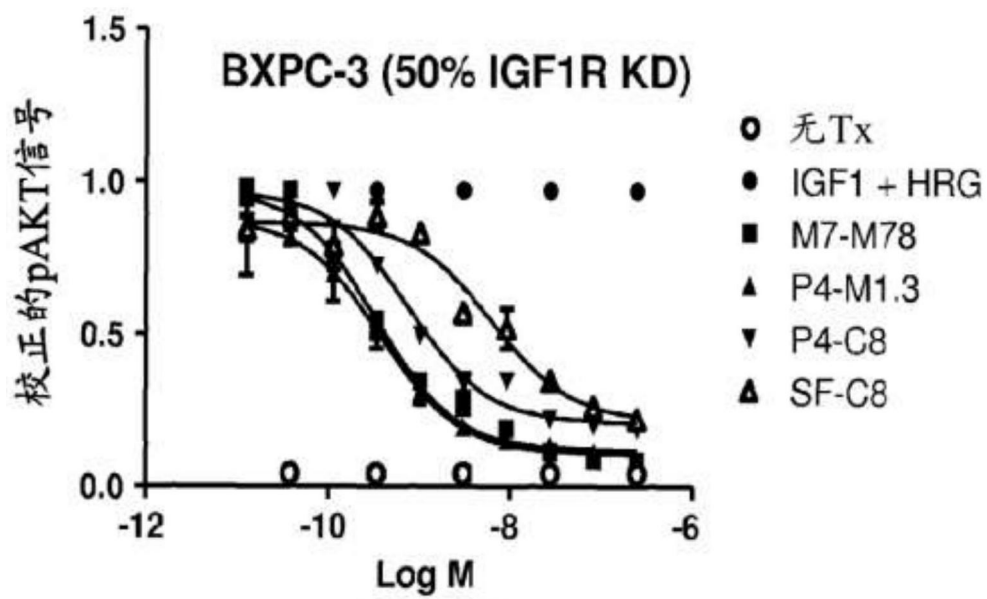


图 40B

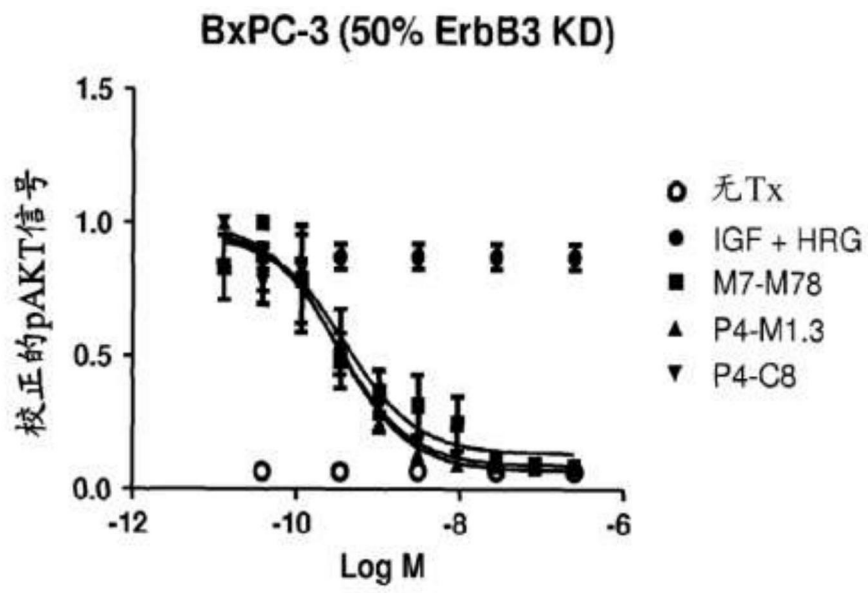


图 40C

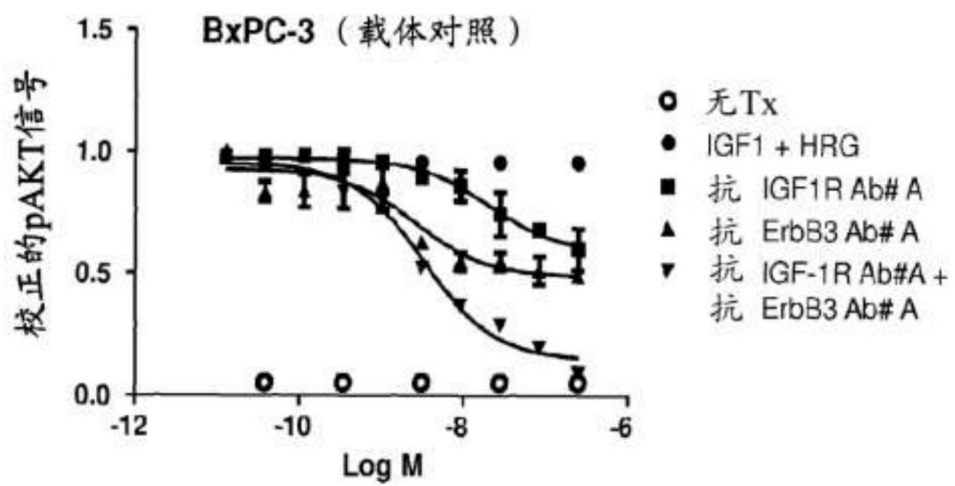


图 40D

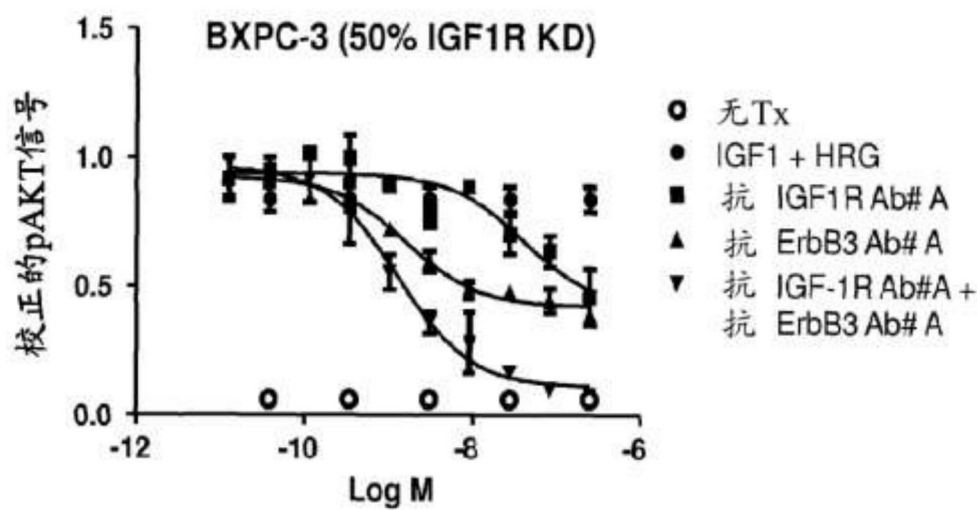


图 40E

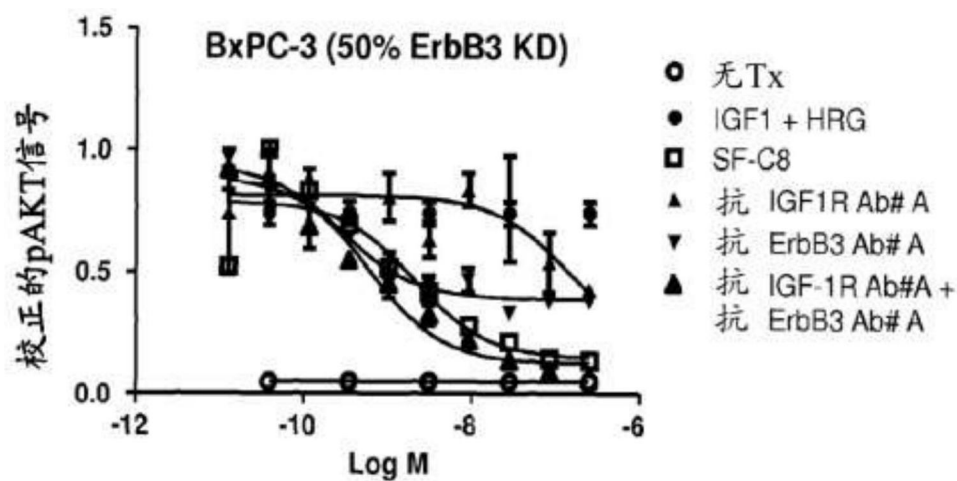


图 40F

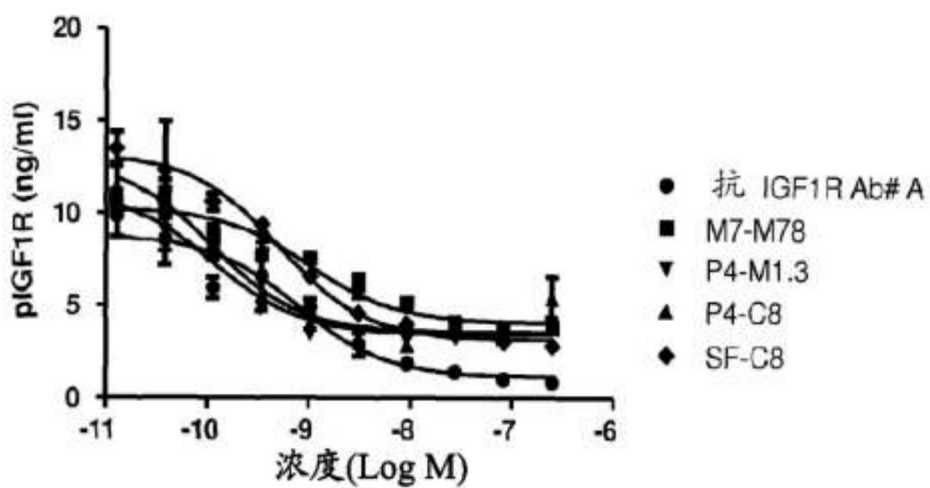


图 41A

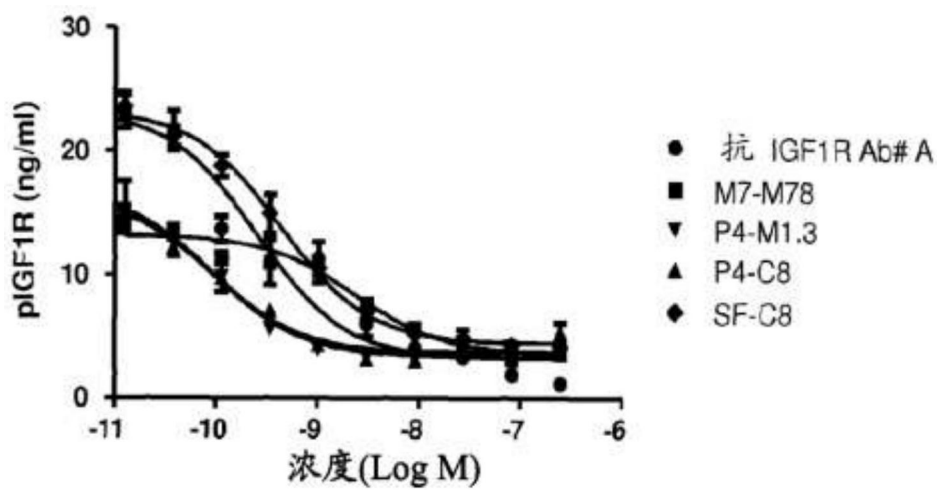


图 41B

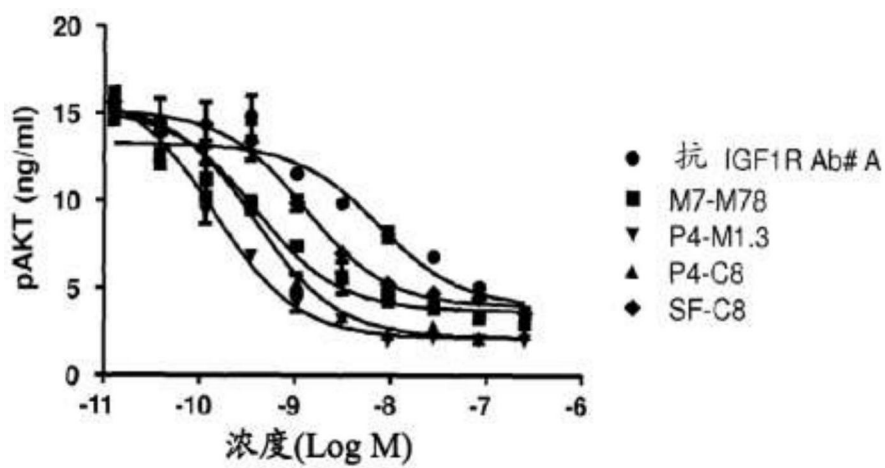


图 41C

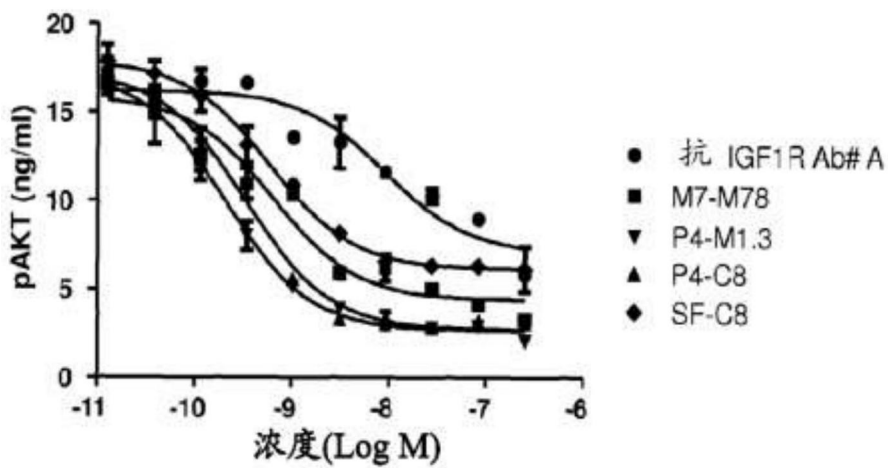


图 41D

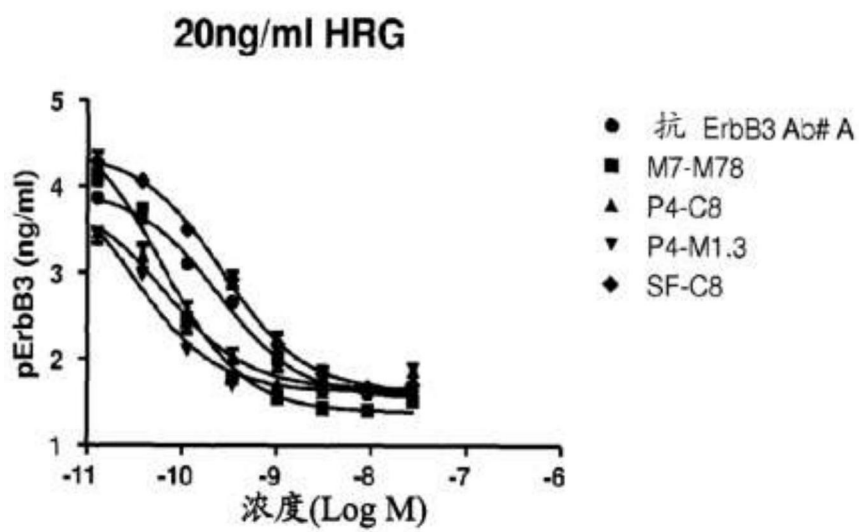


图 42A

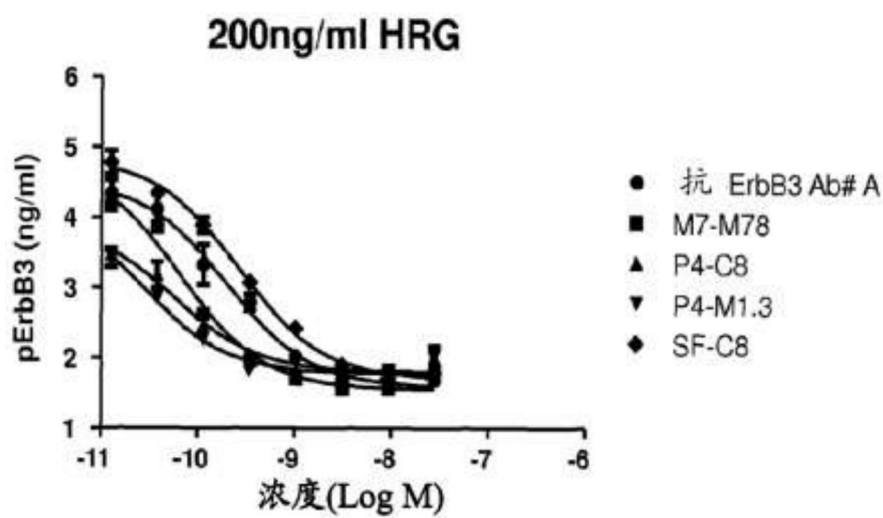


图 42B

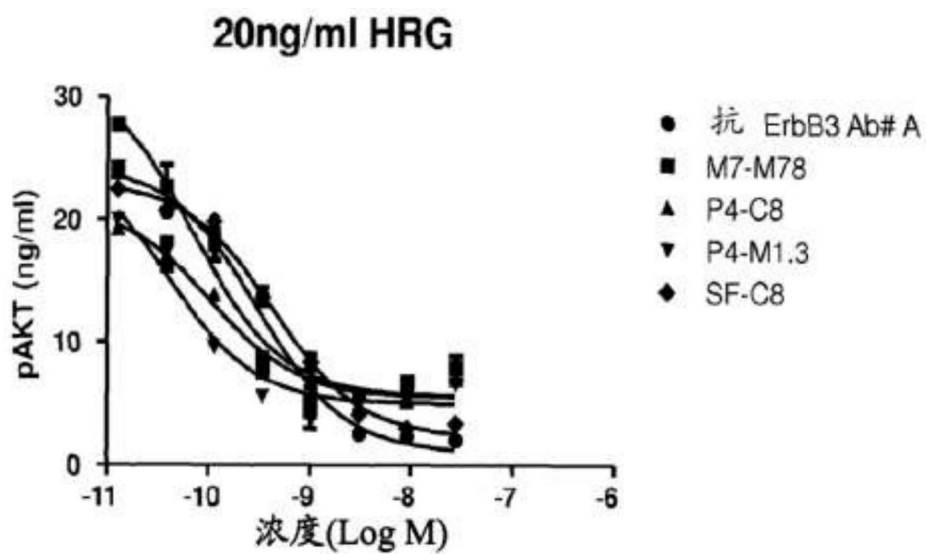


图 42C

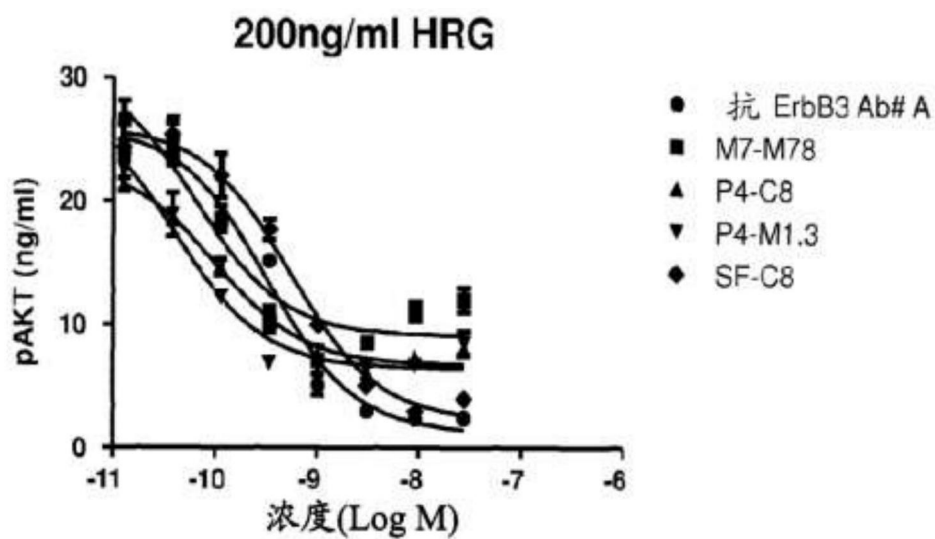


图 42D

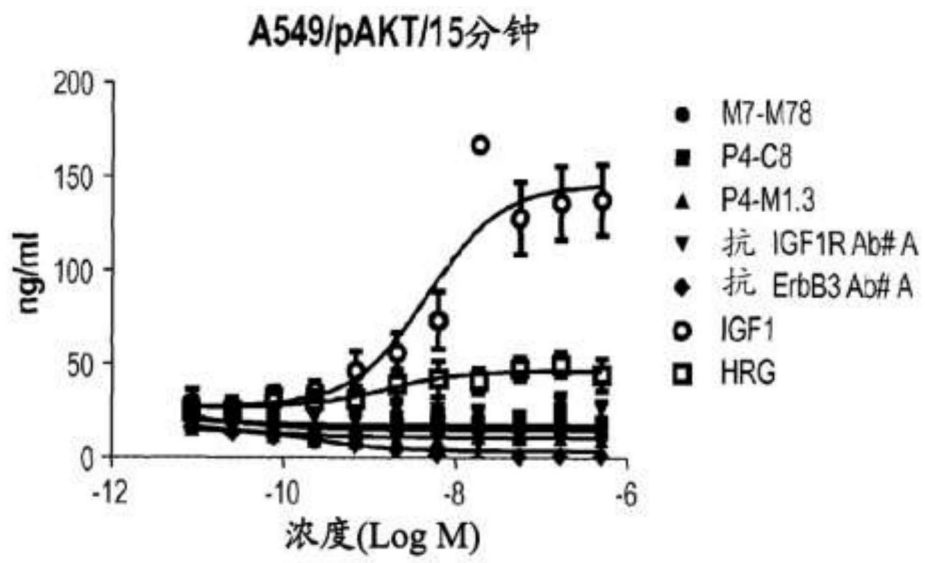


图 43A

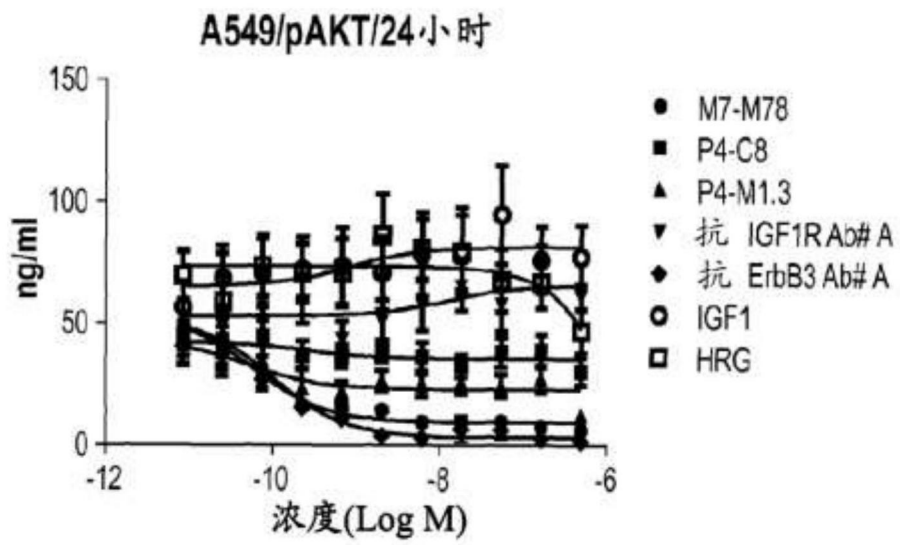


图 43B

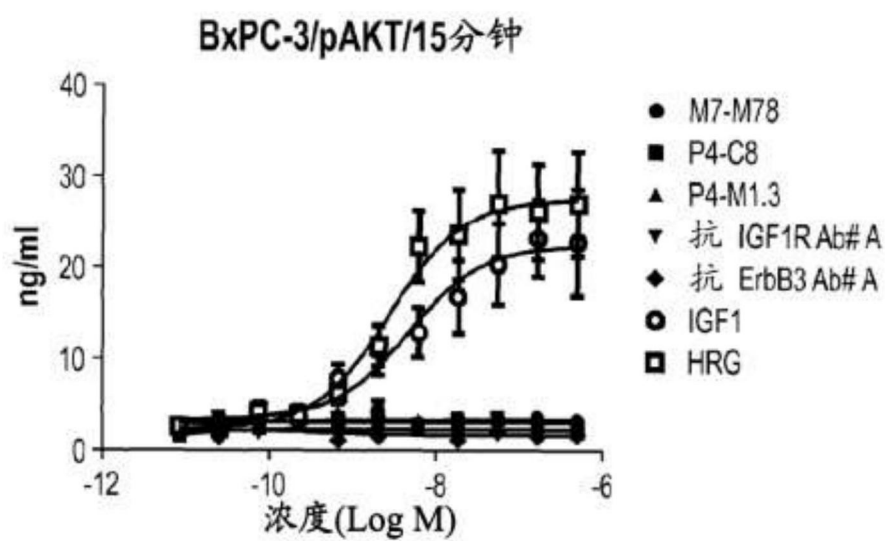


图 43C

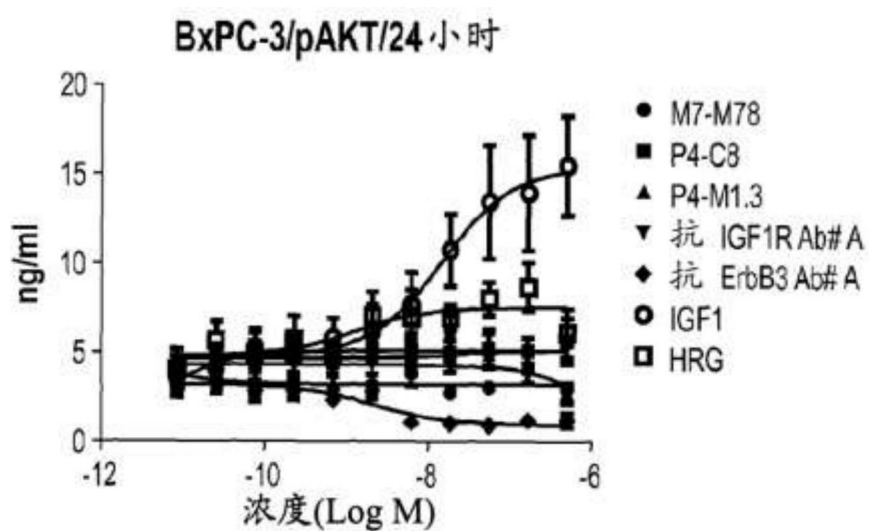


图 43D

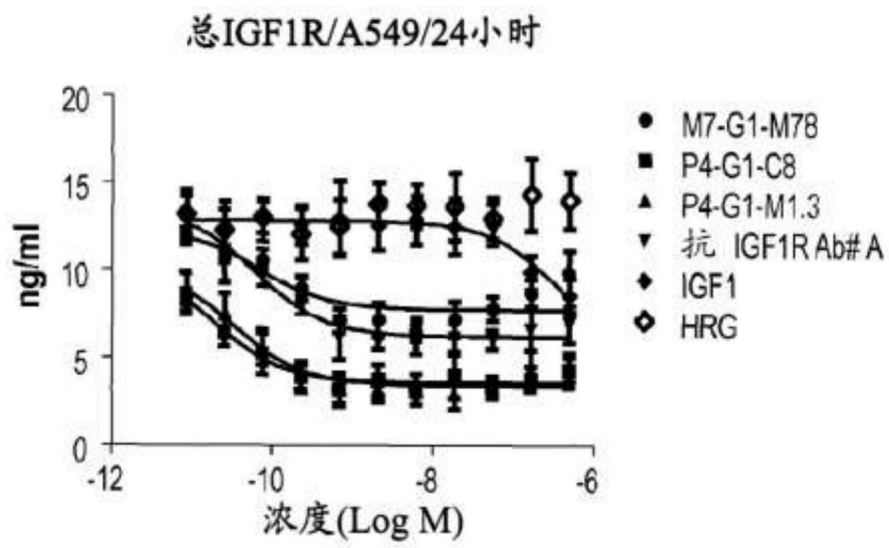


图 44A

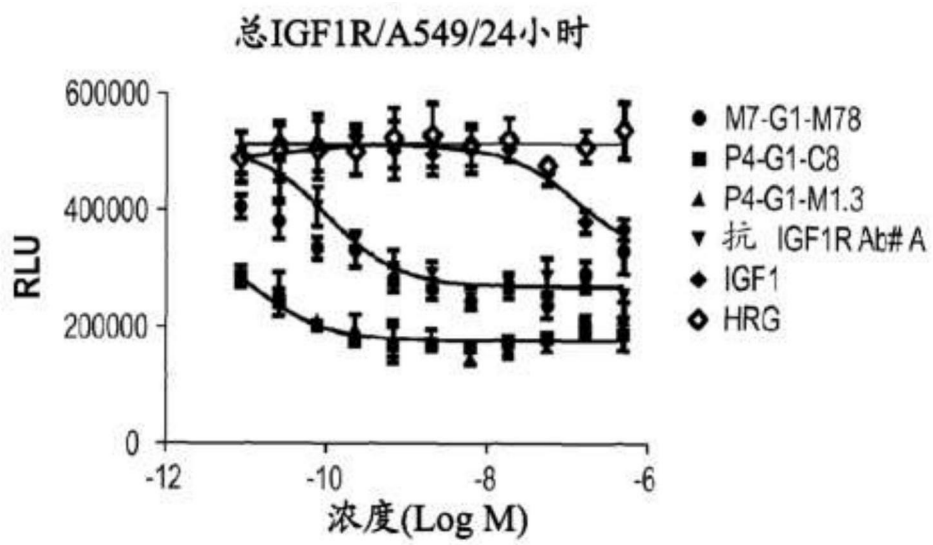


图 44B

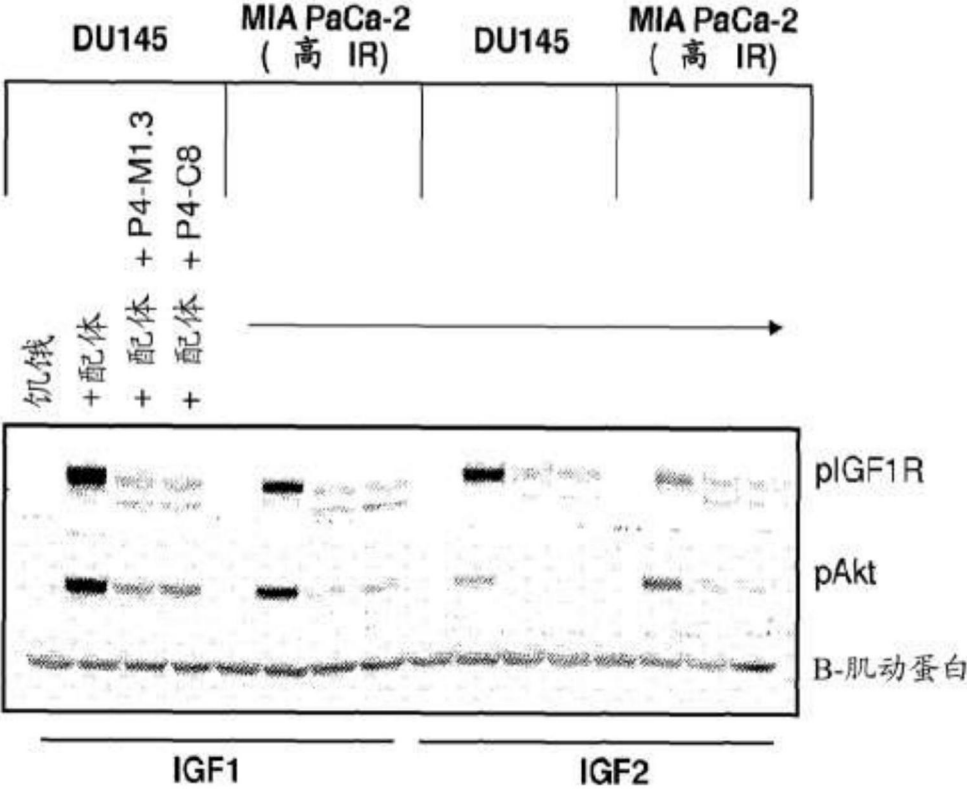


图 45

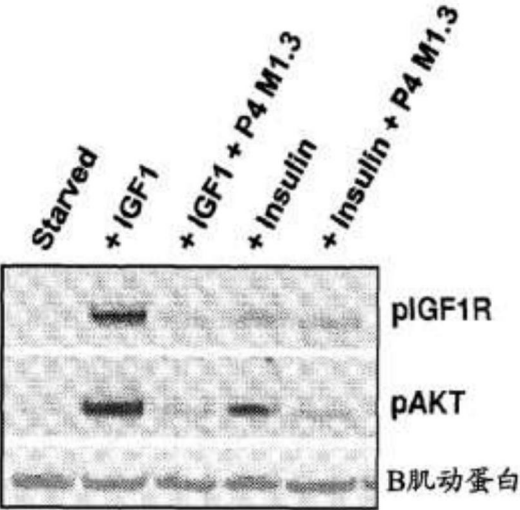


图 46

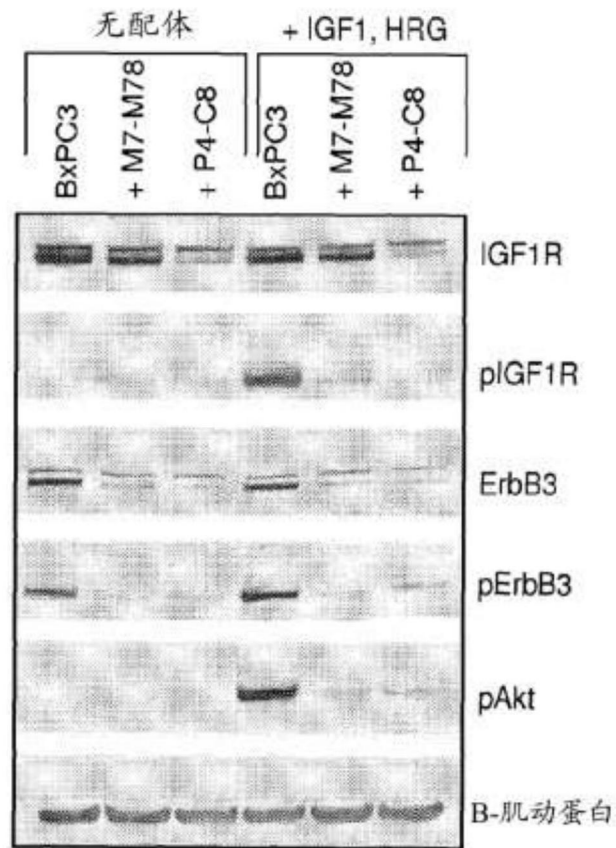


图 47

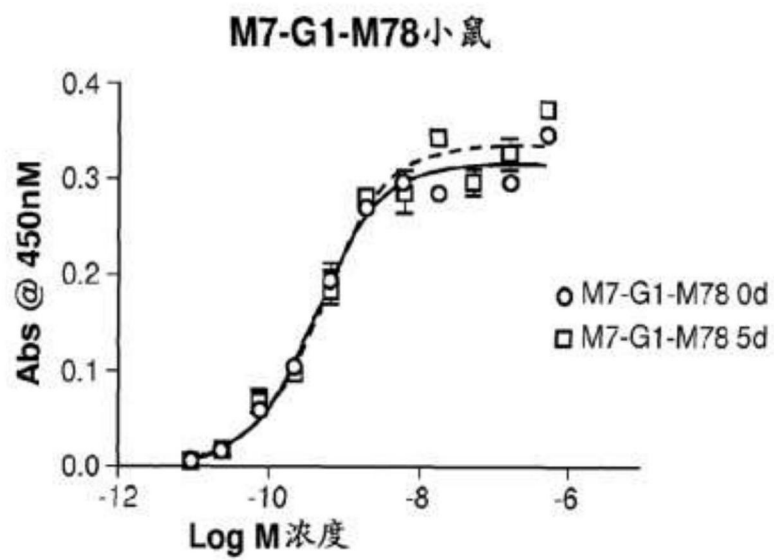


图 48A

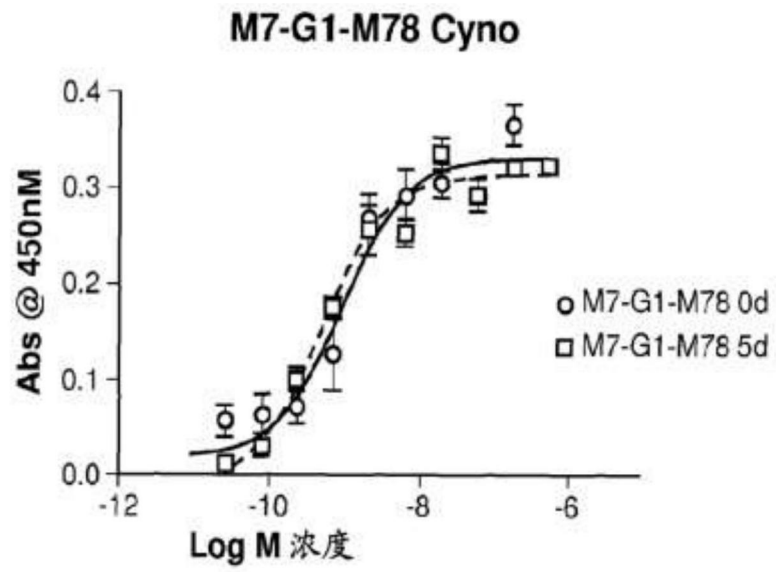


图 48B

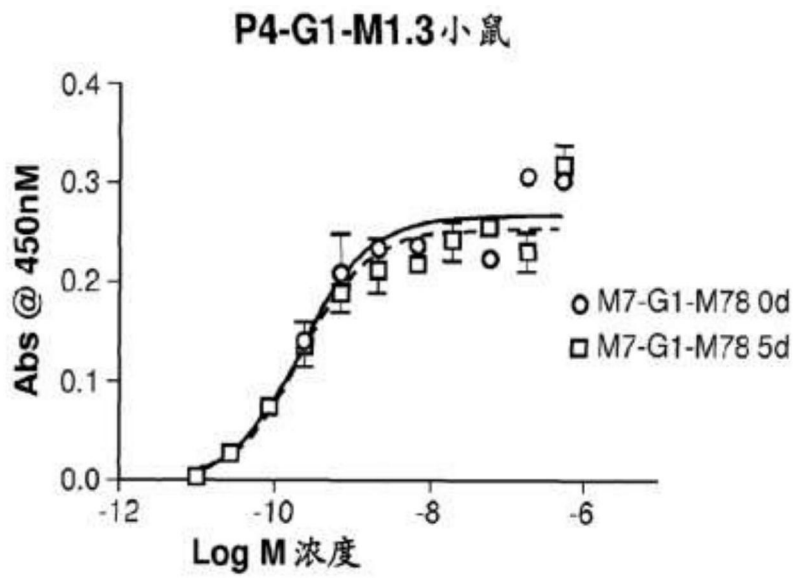


图 48C

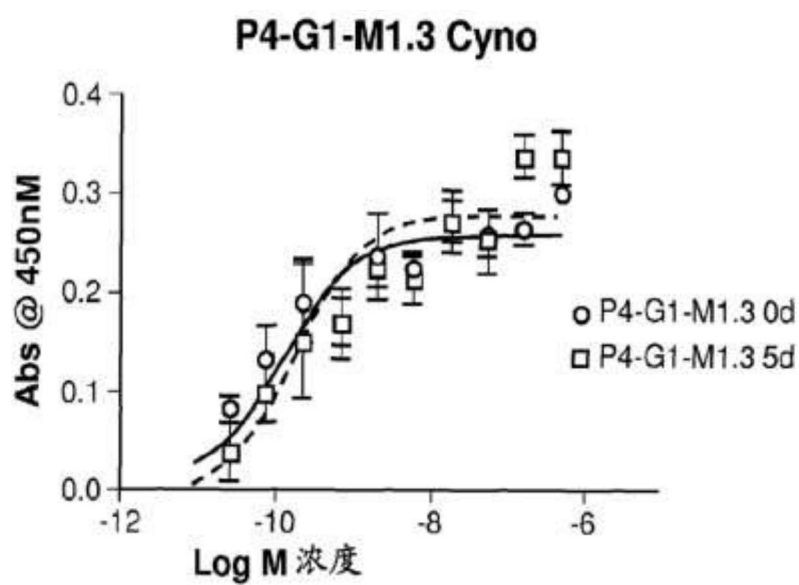


图 48D

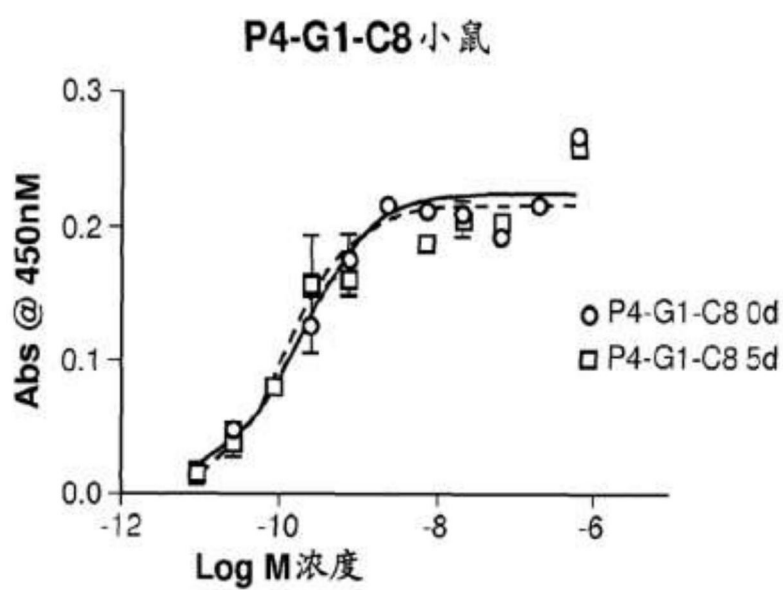


图 48E

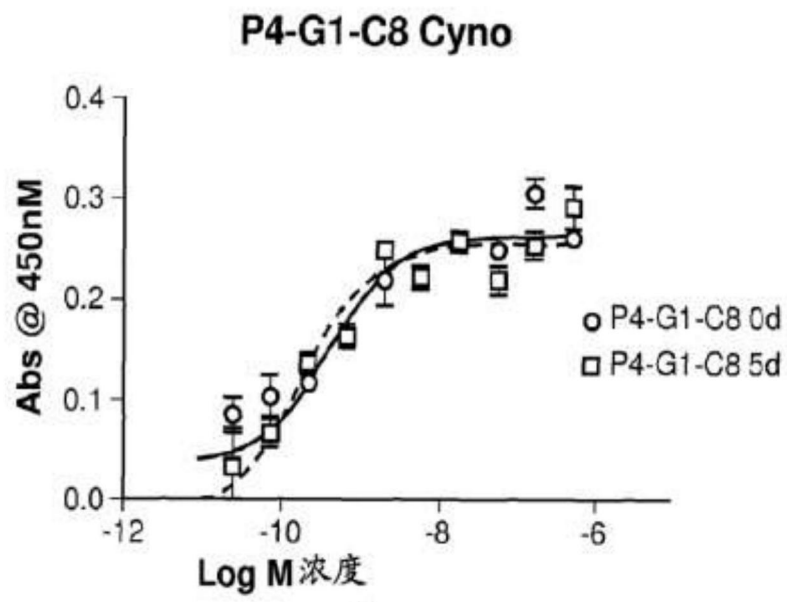


图 48F

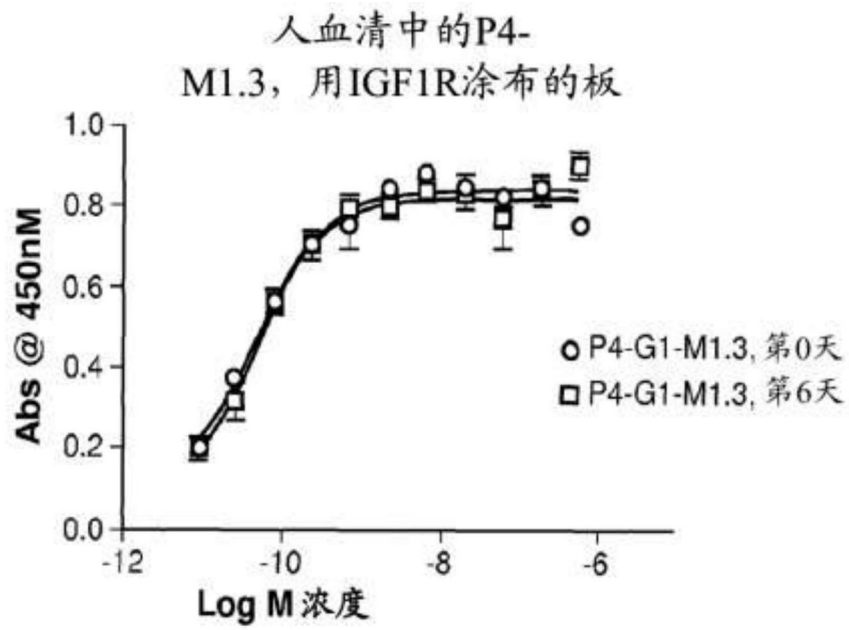


图 48G

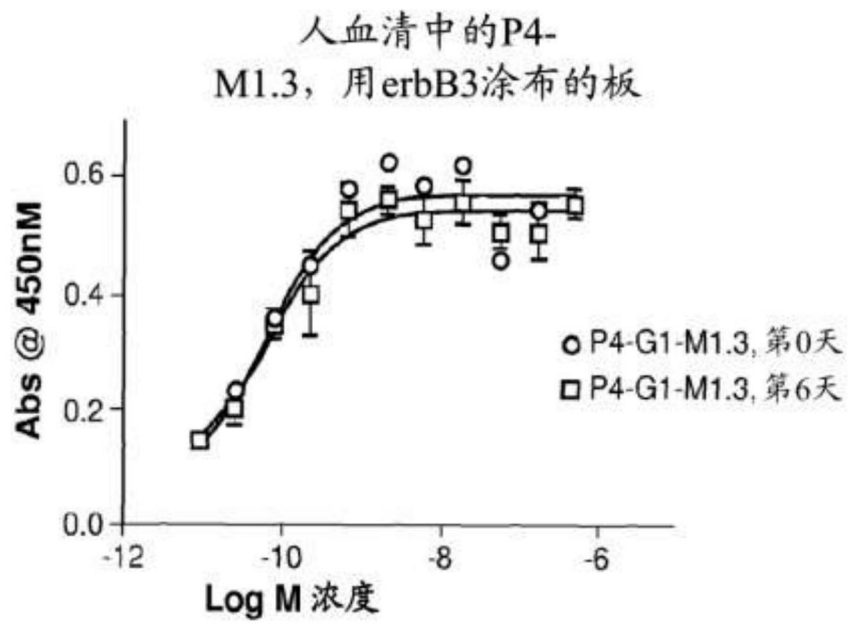


图 48H

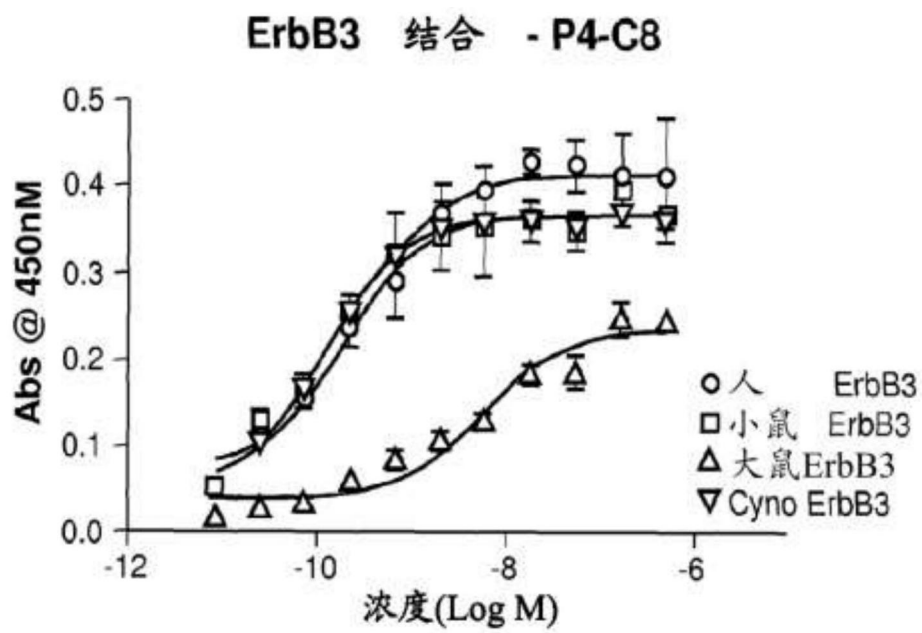


图 49A

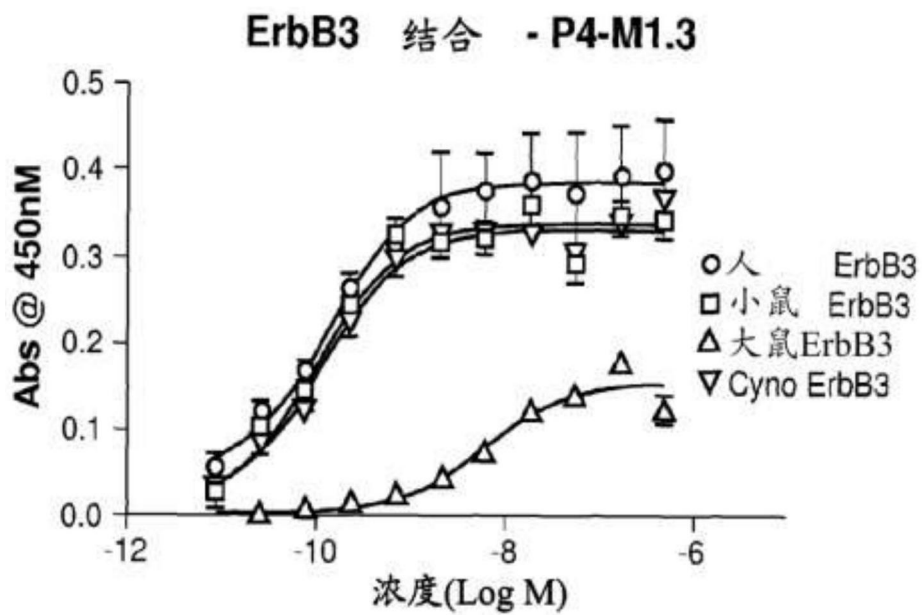


图 49B

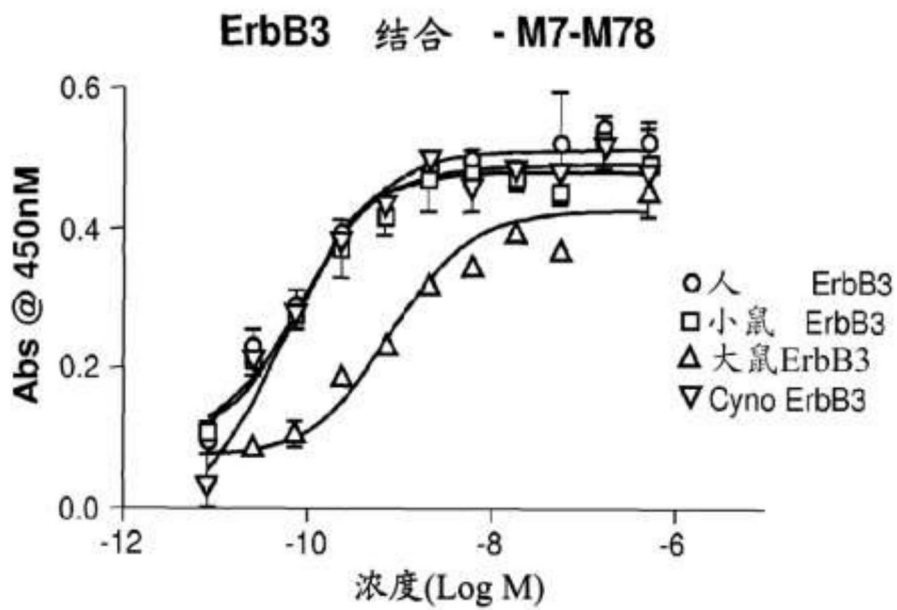


图 49C

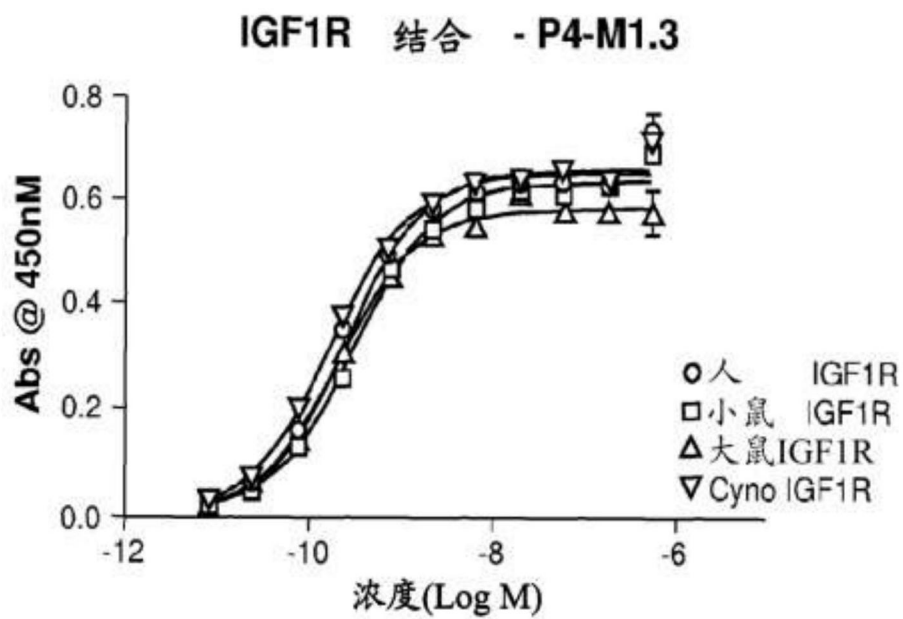


图 49D

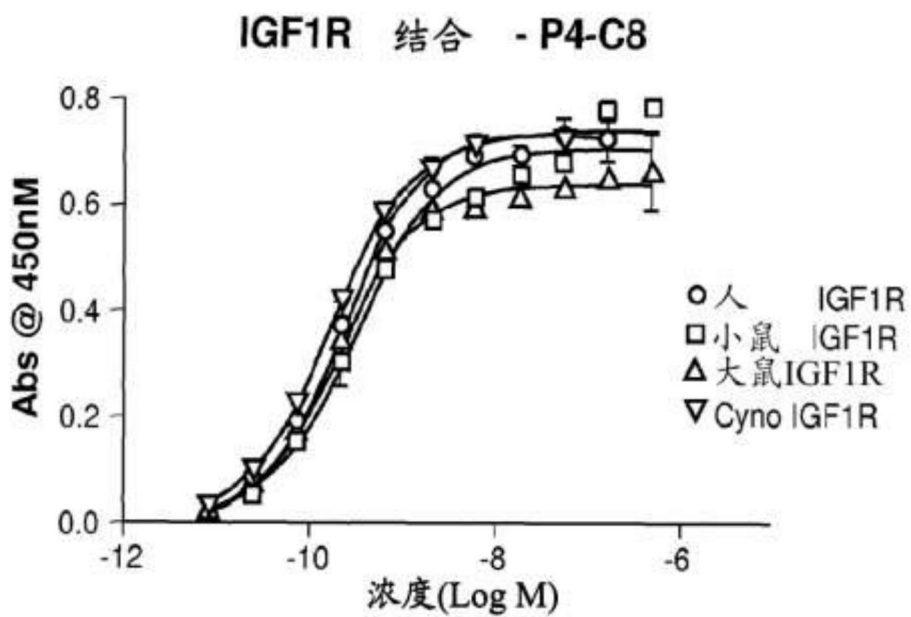


图 49E

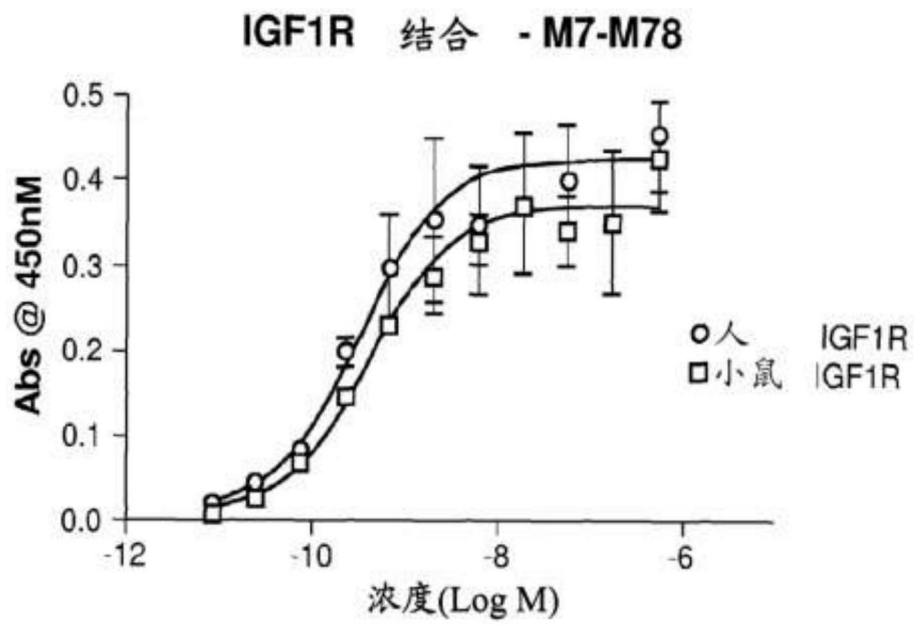


图 49F

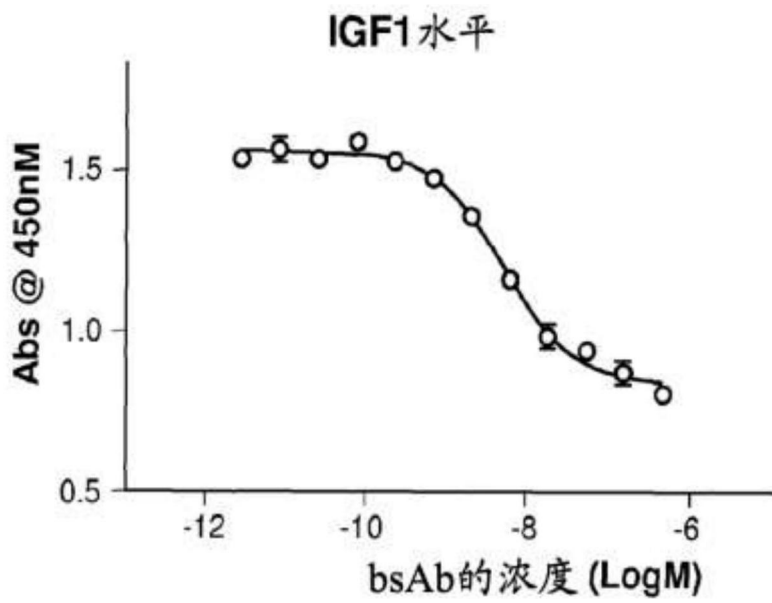


图 50A

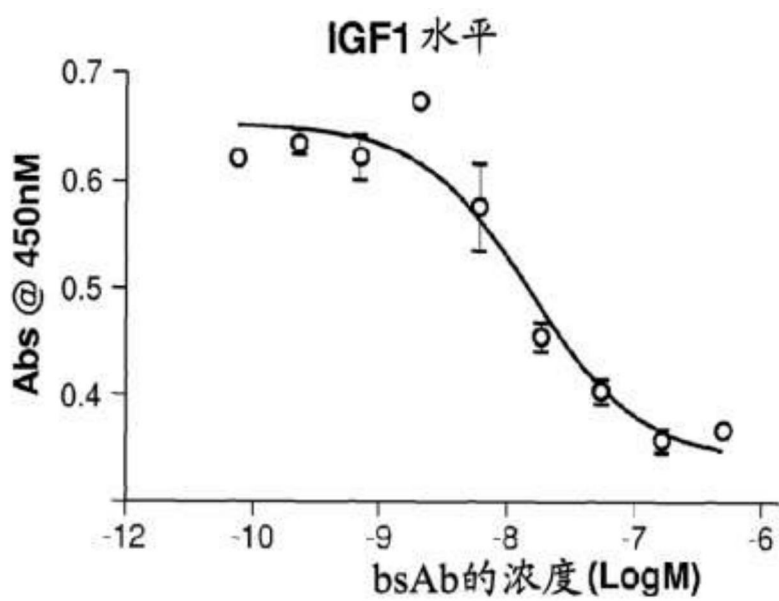


图 50B

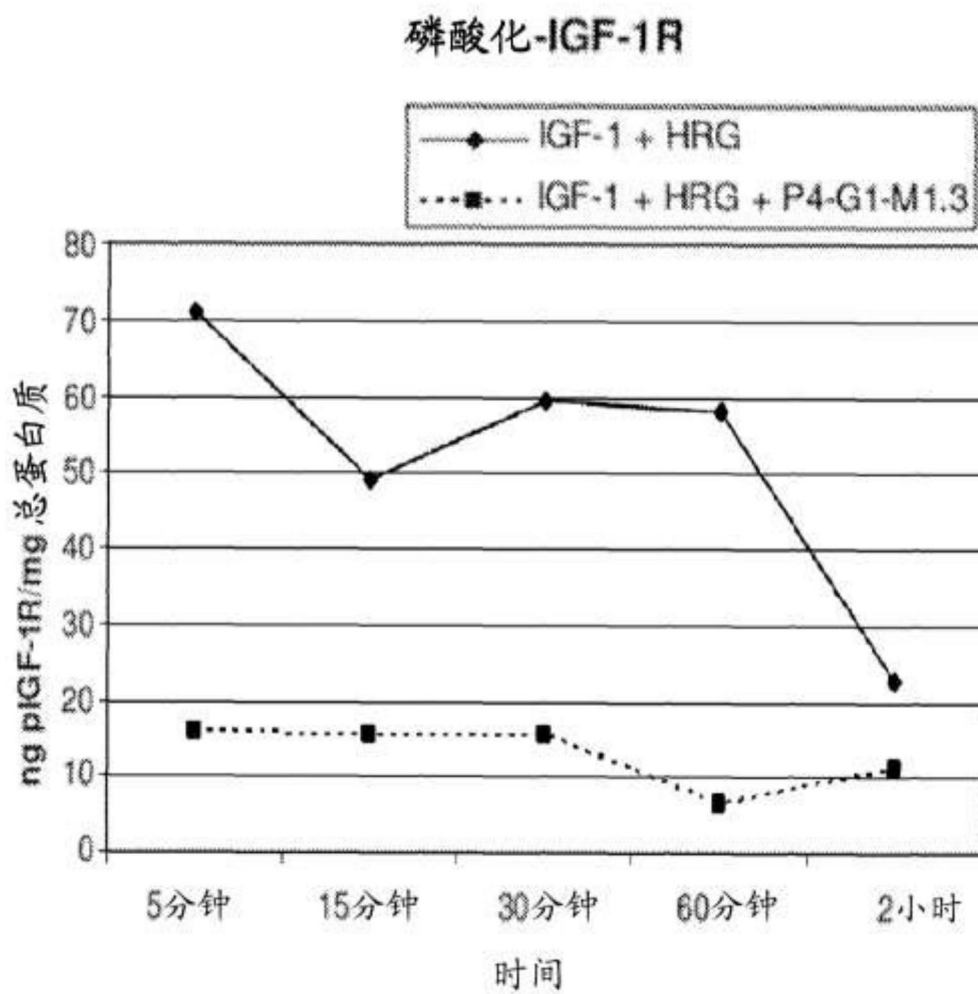


图 51A

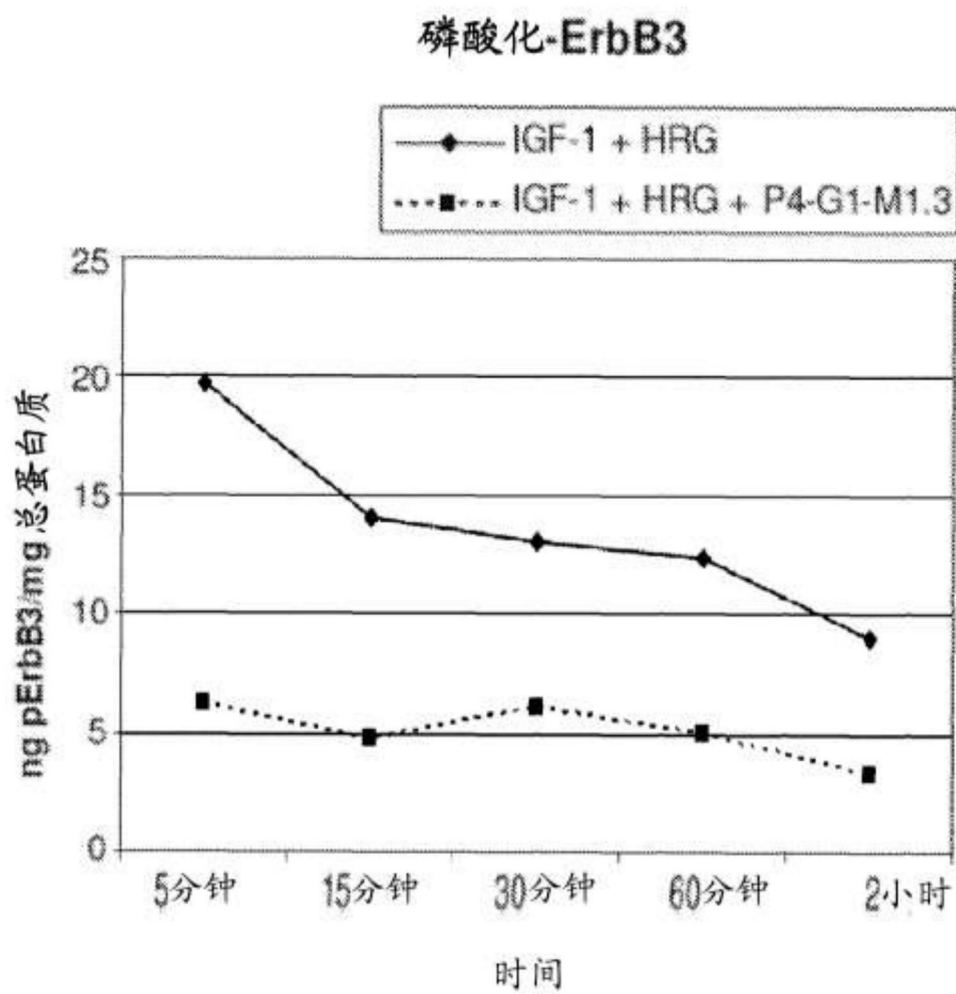


图 51B

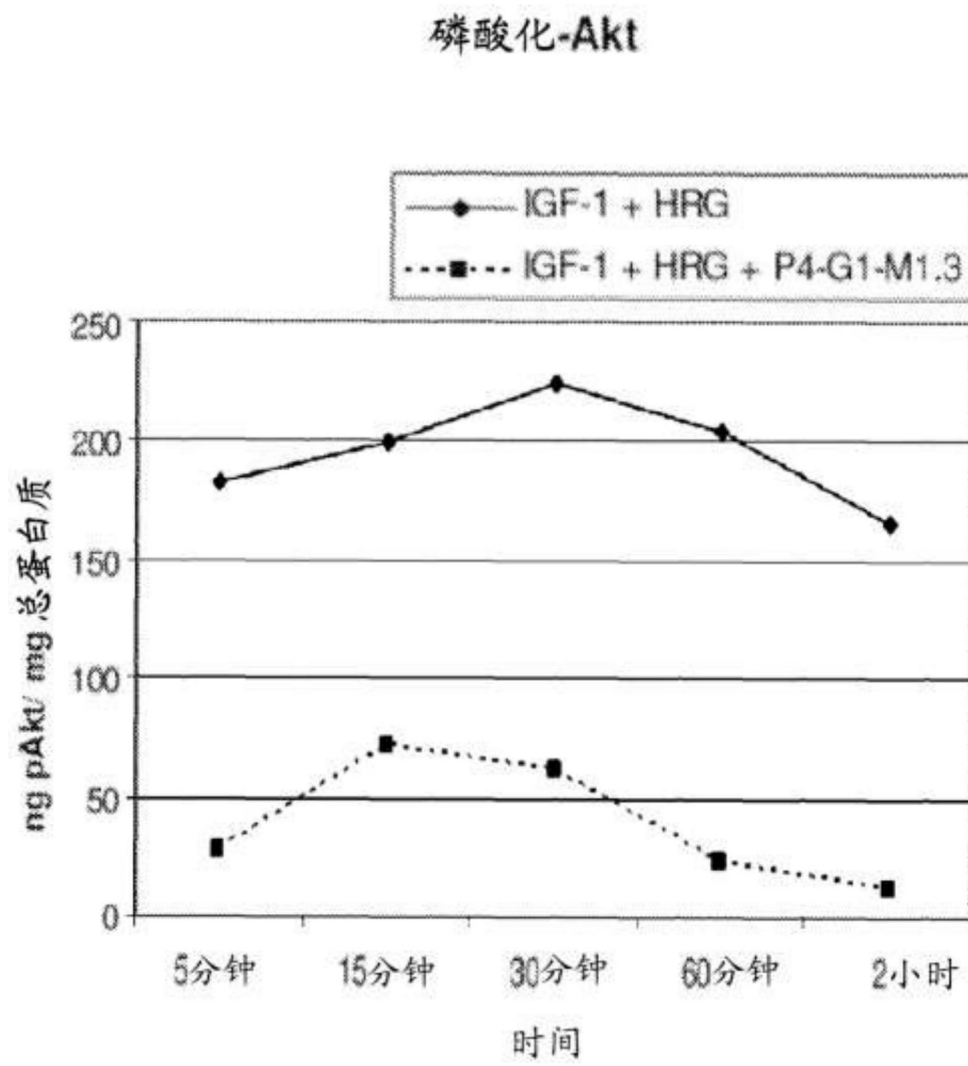


图 51C

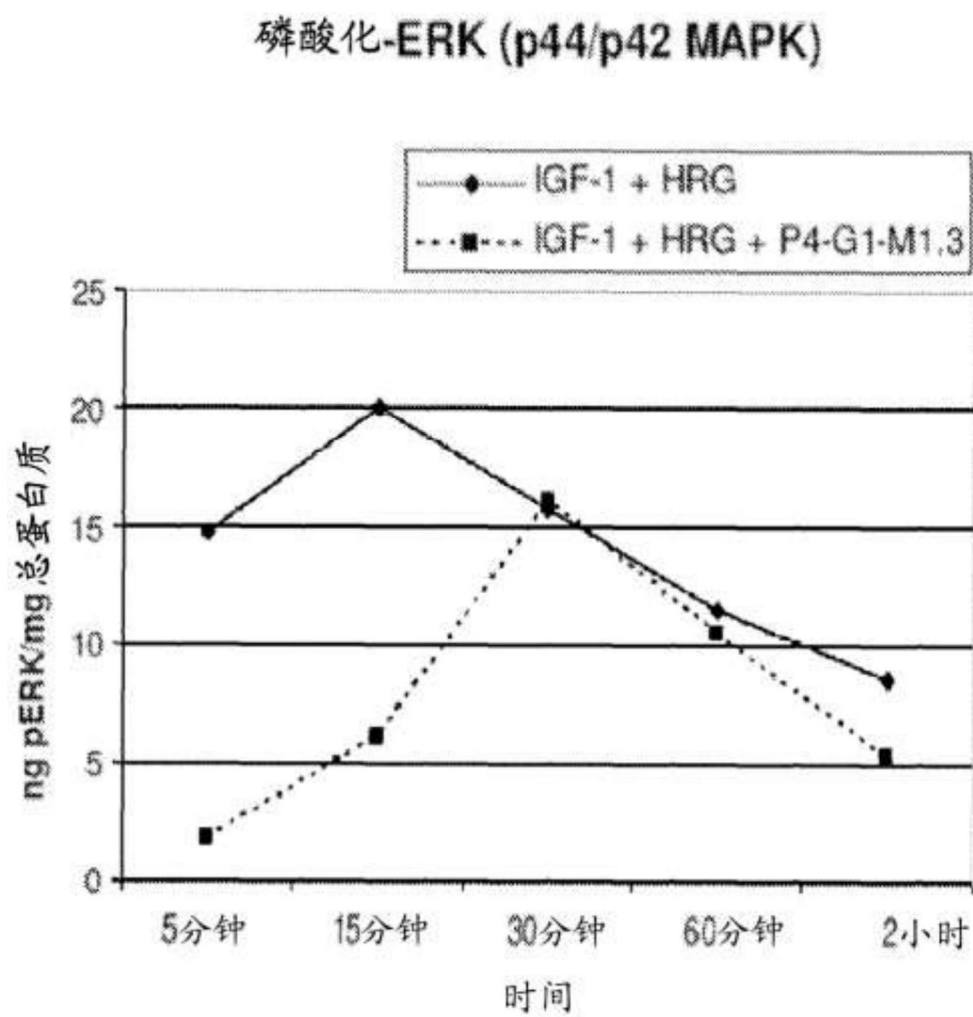


图 51D

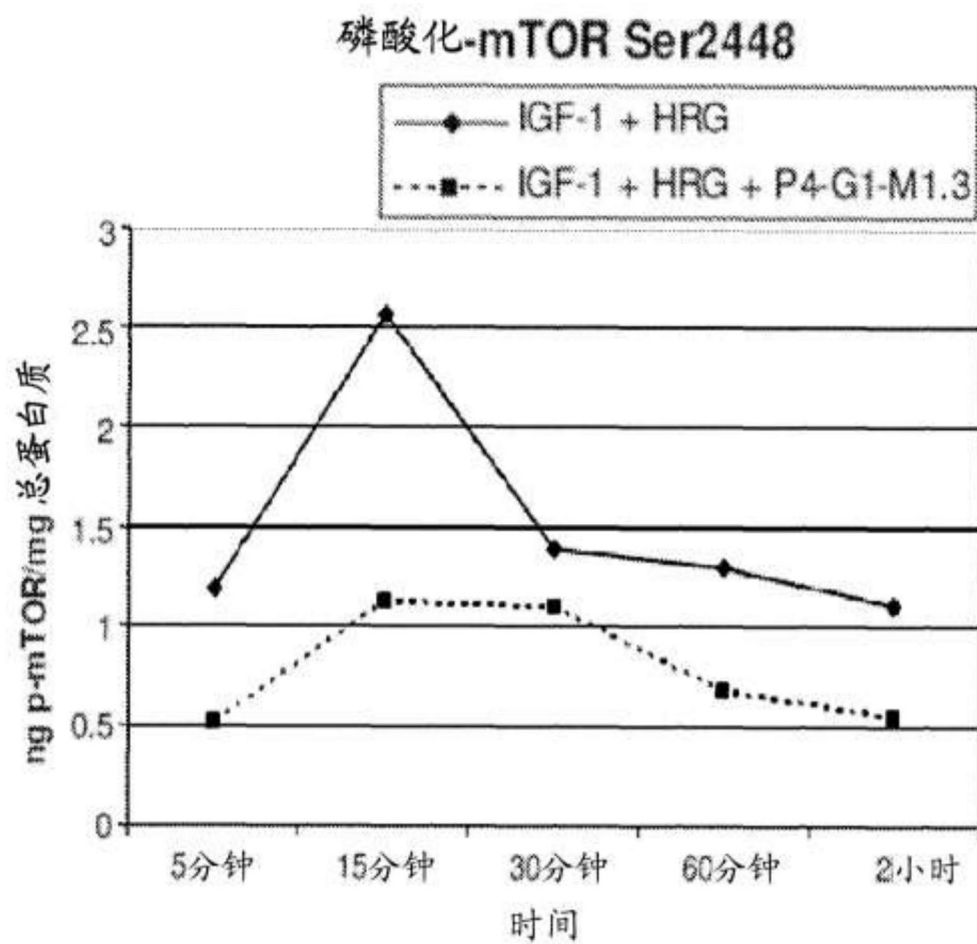


图 51E

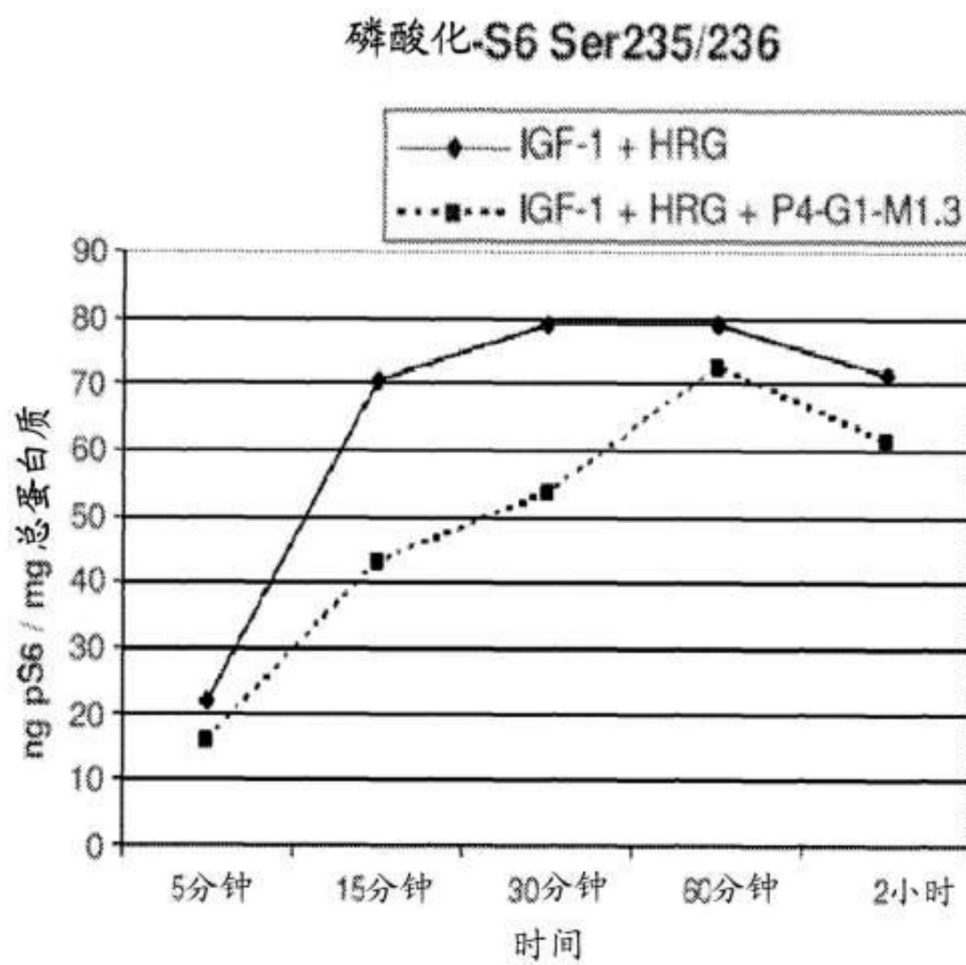


图 51F

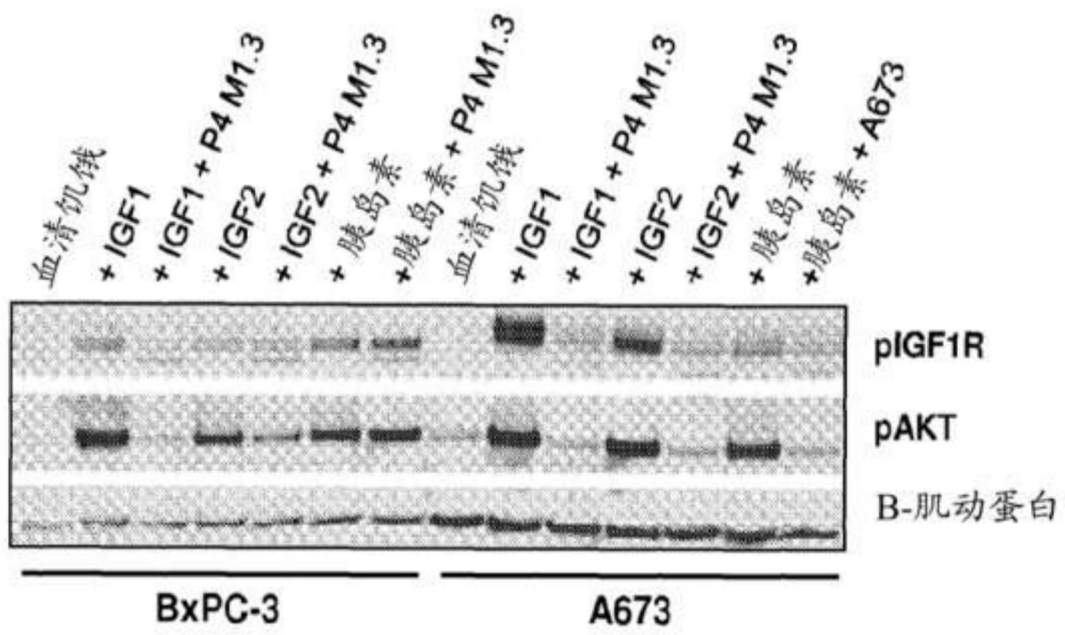


图 52

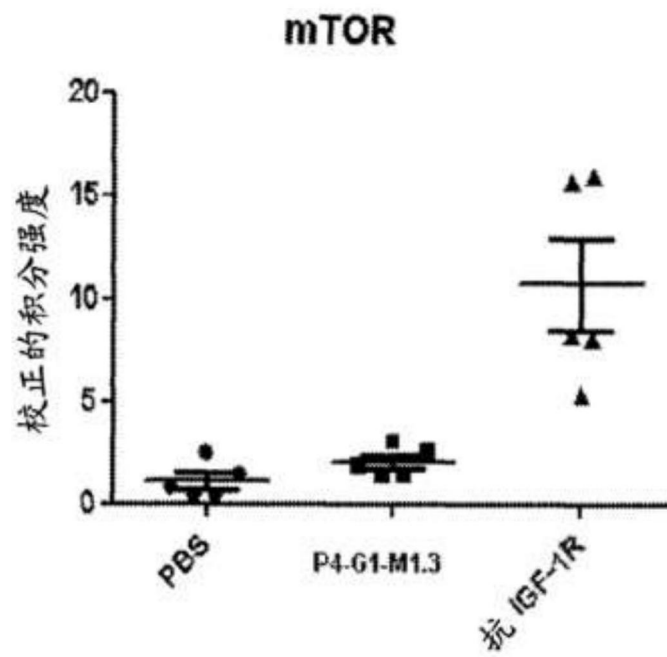


图 53A

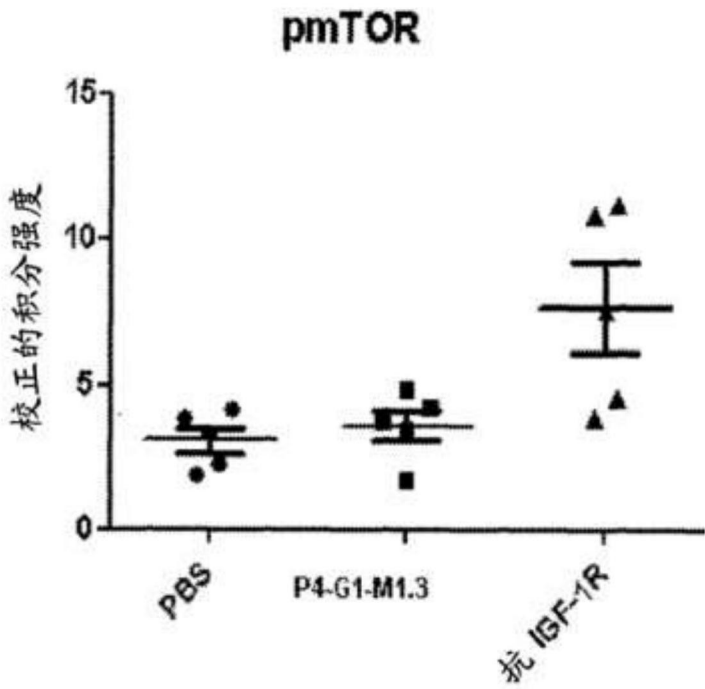


图 53B

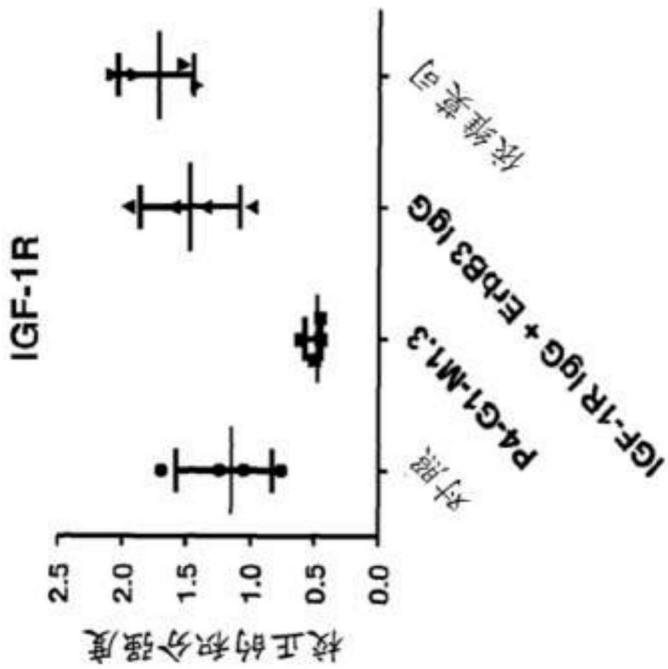


图 54A

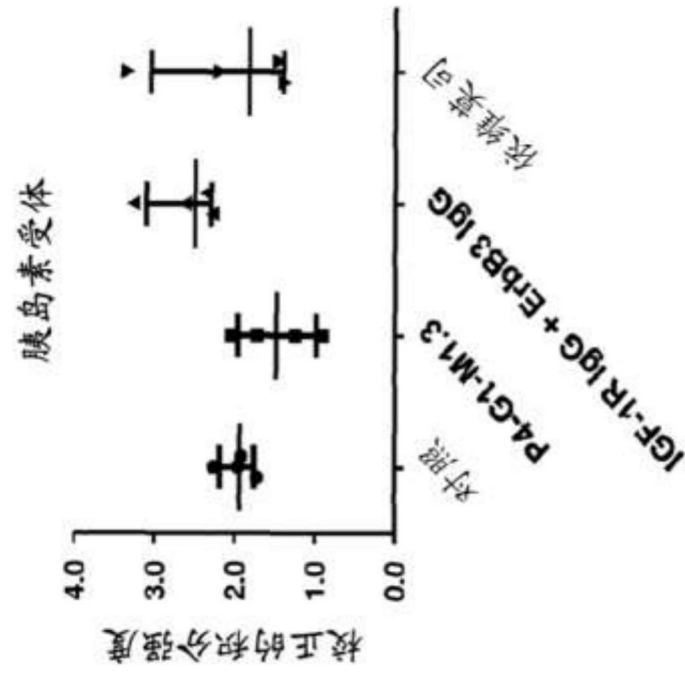


图 54B

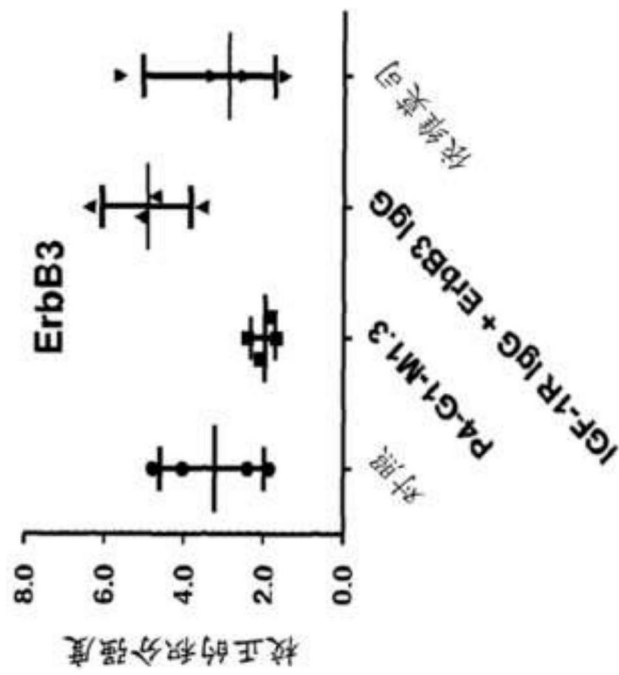


图 54C

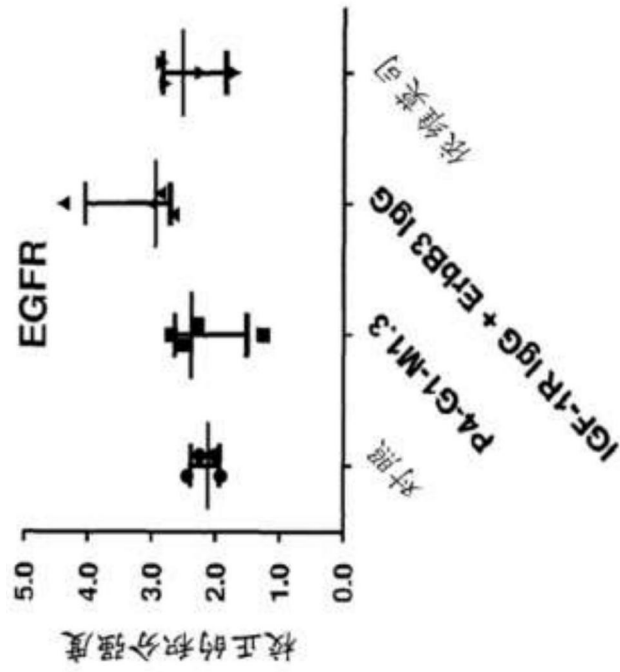


图 54D

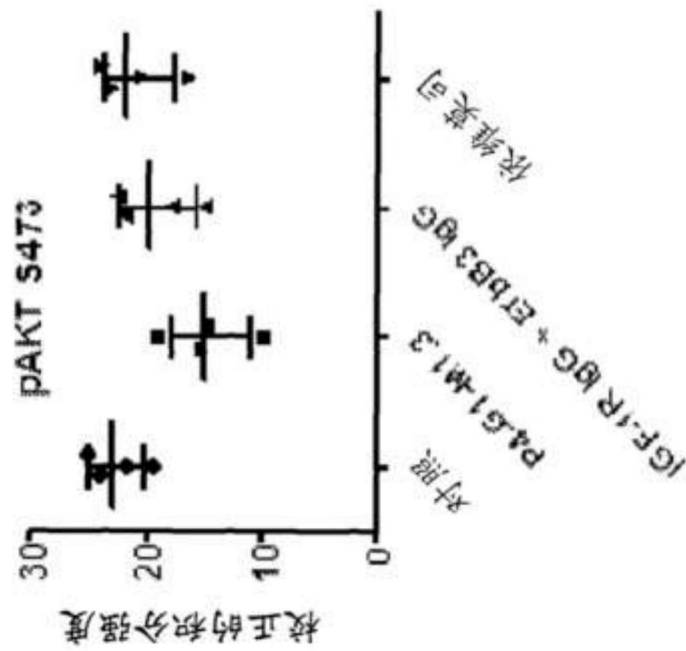


图 54E

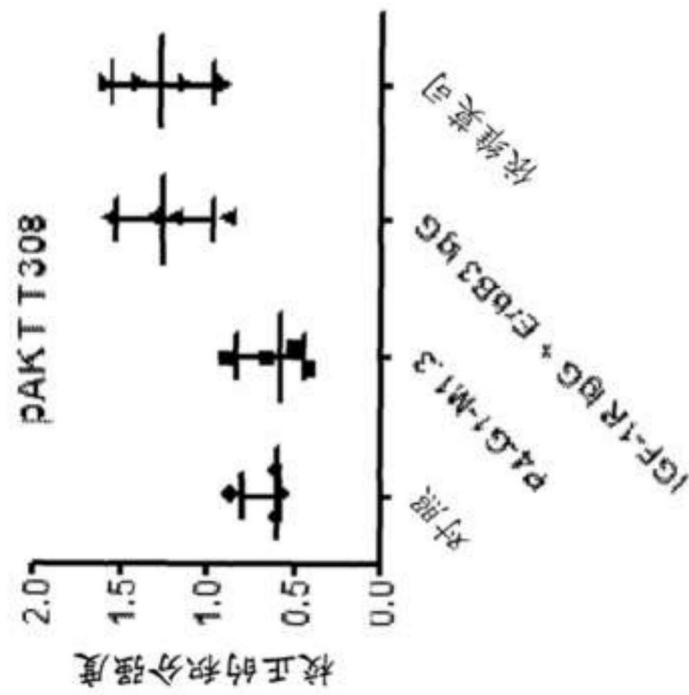


图 54F

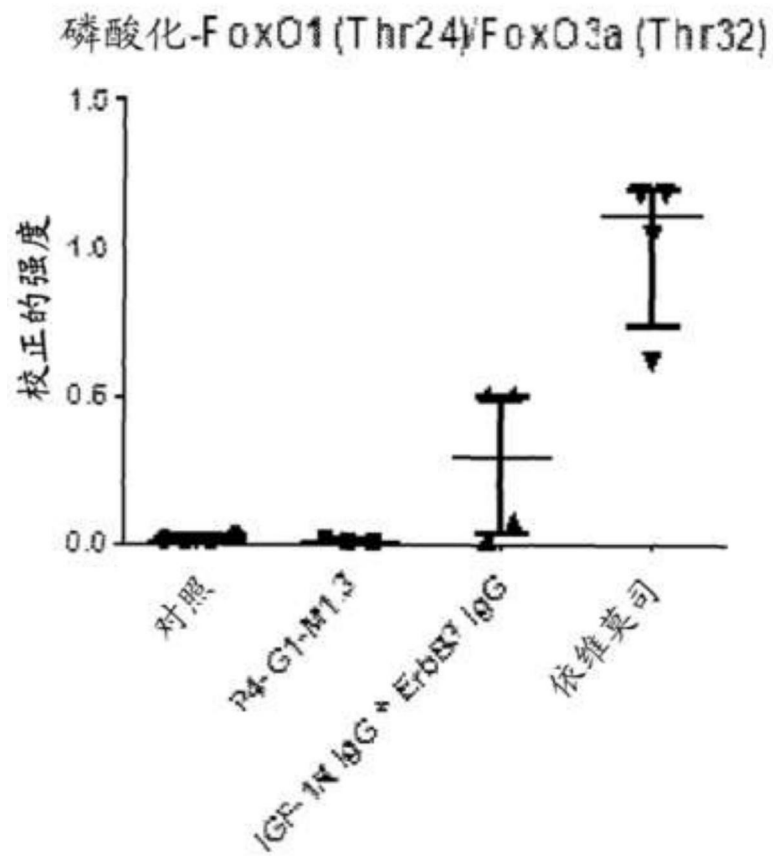


图 54G

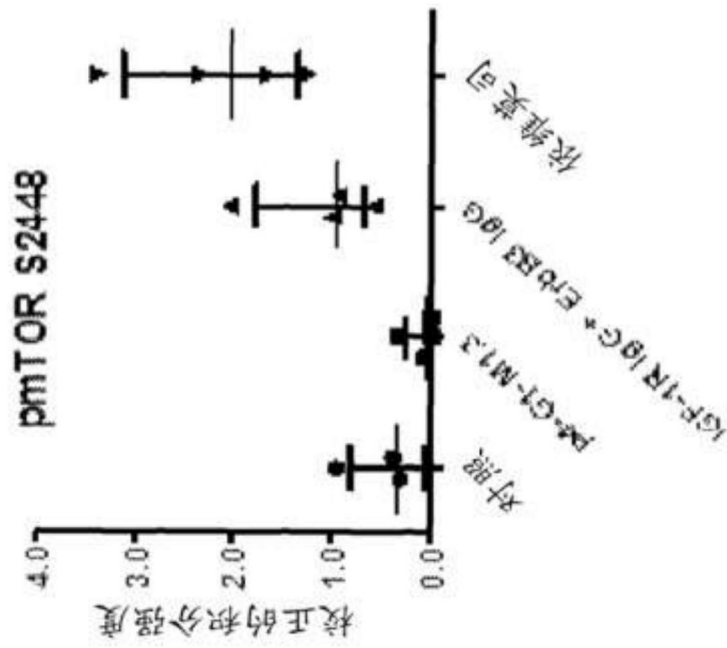


图 54H

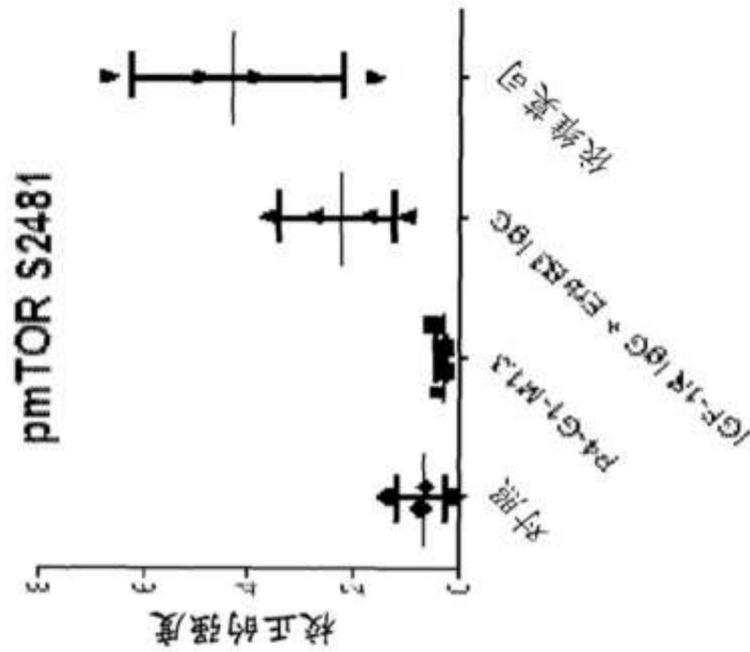


图 54I

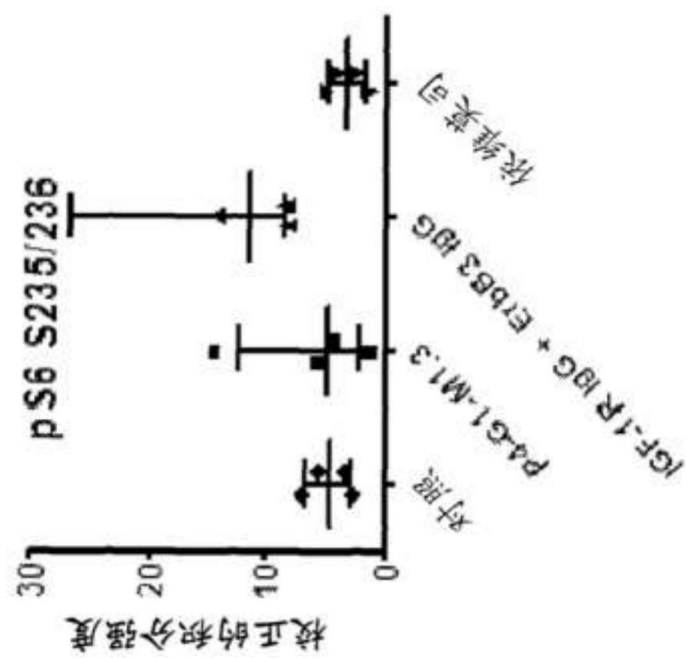


图 54J

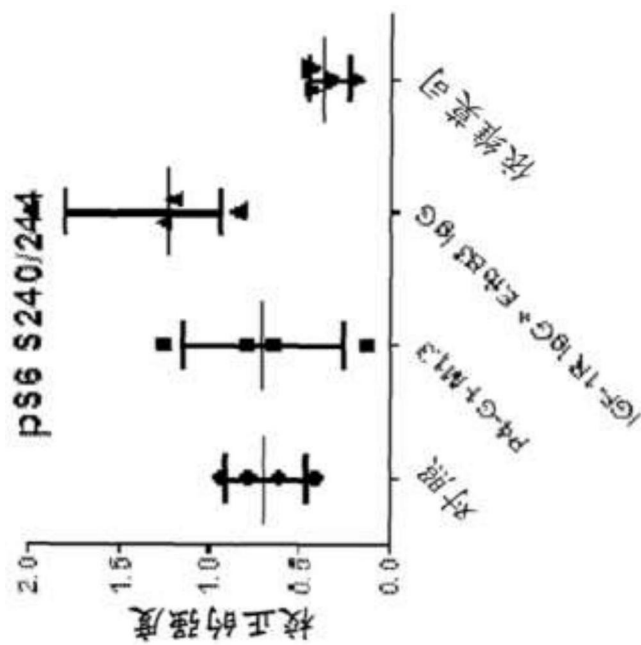


图 54K

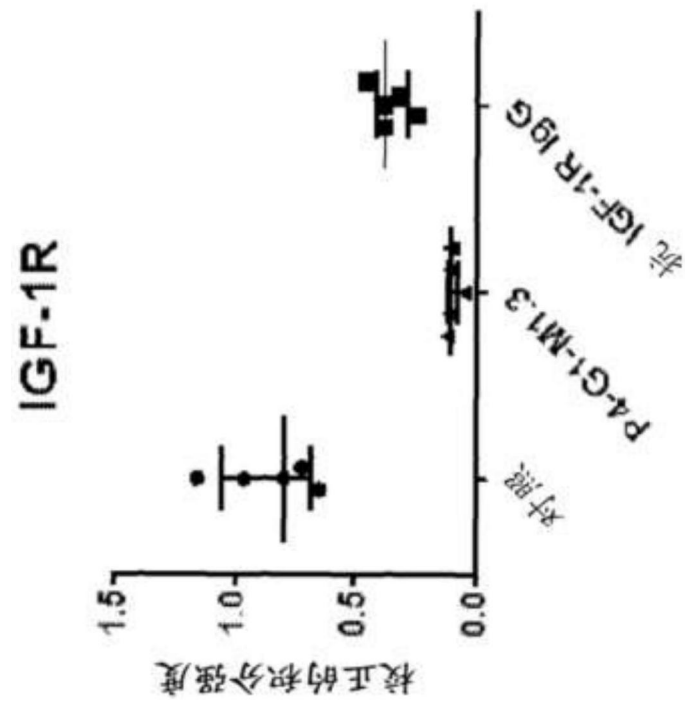


图 55A

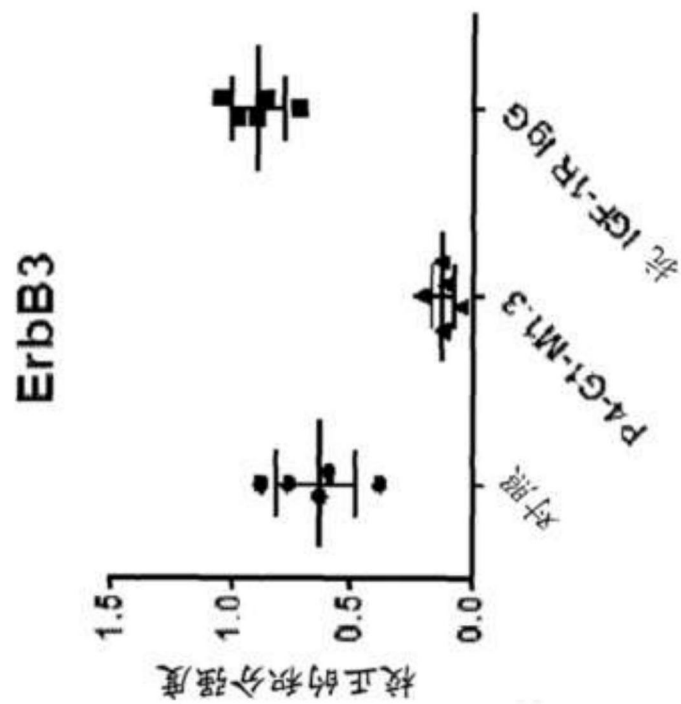


图 55B

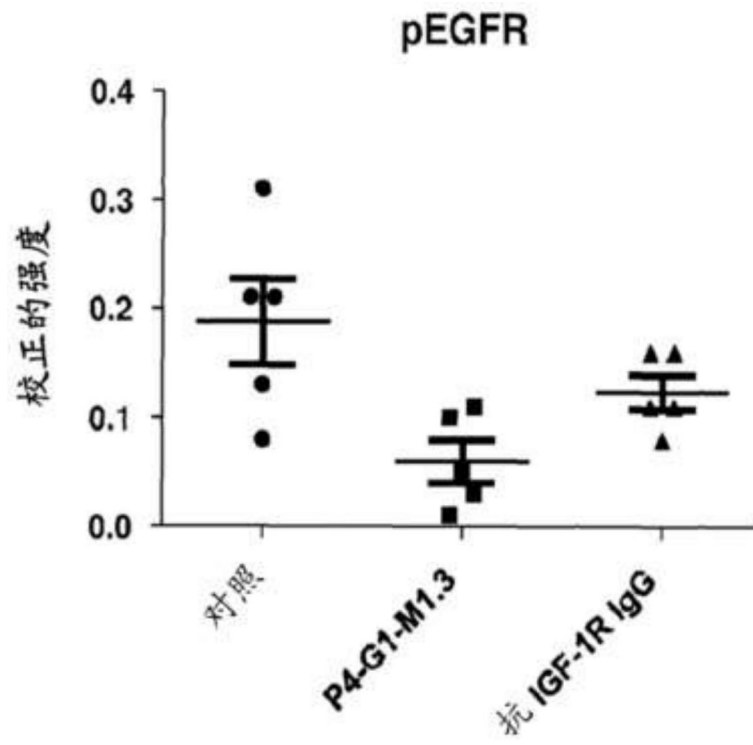


图 55C

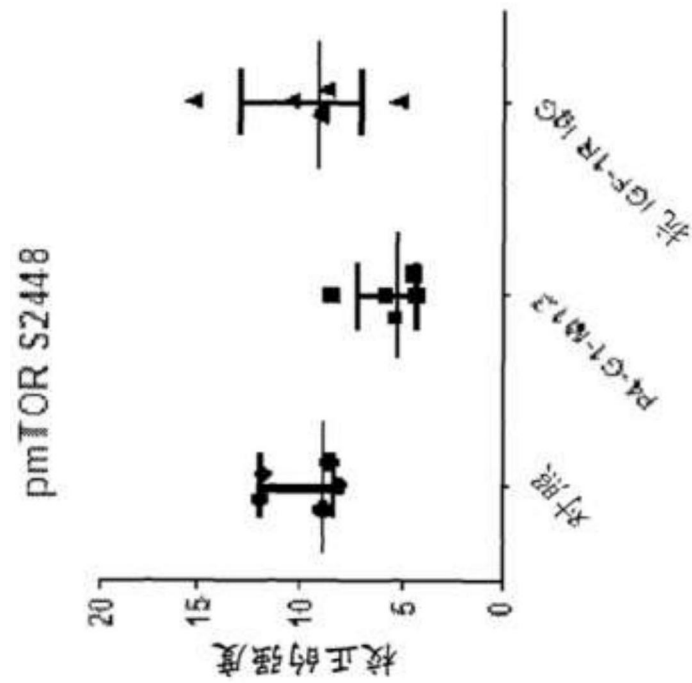


图 55D

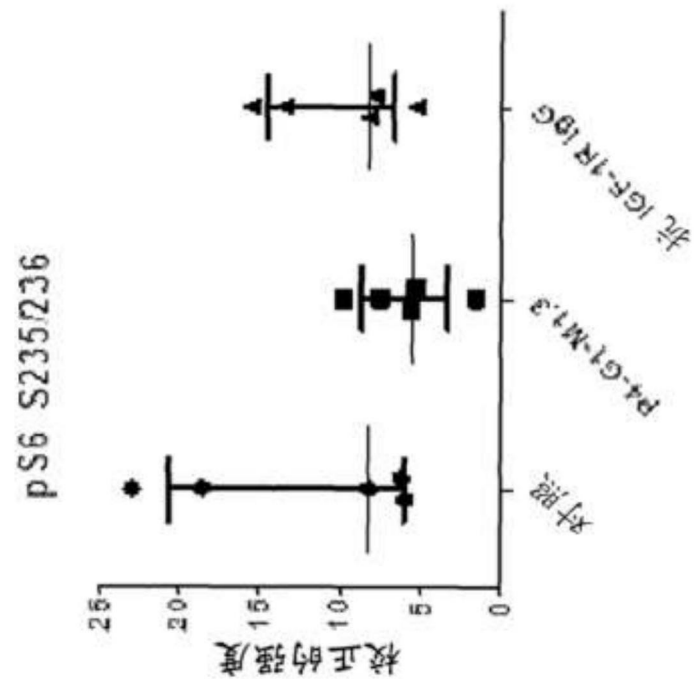


图 55E

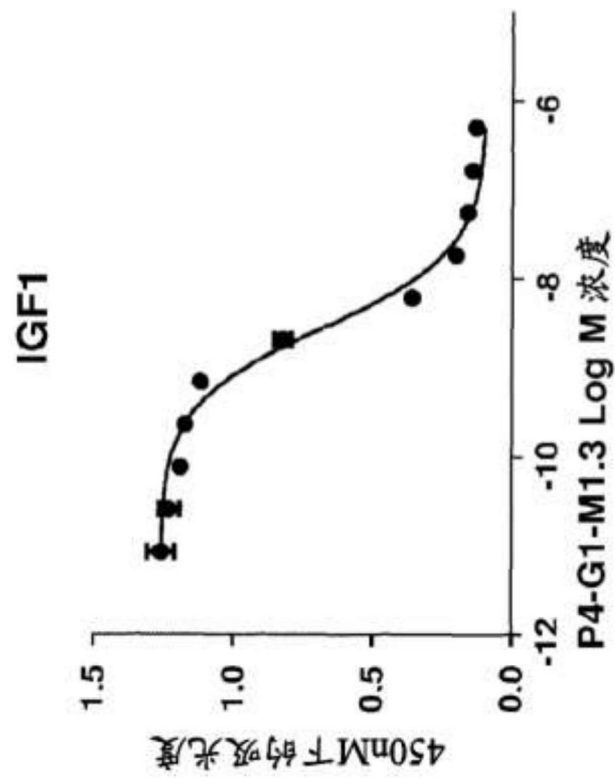


图 56A

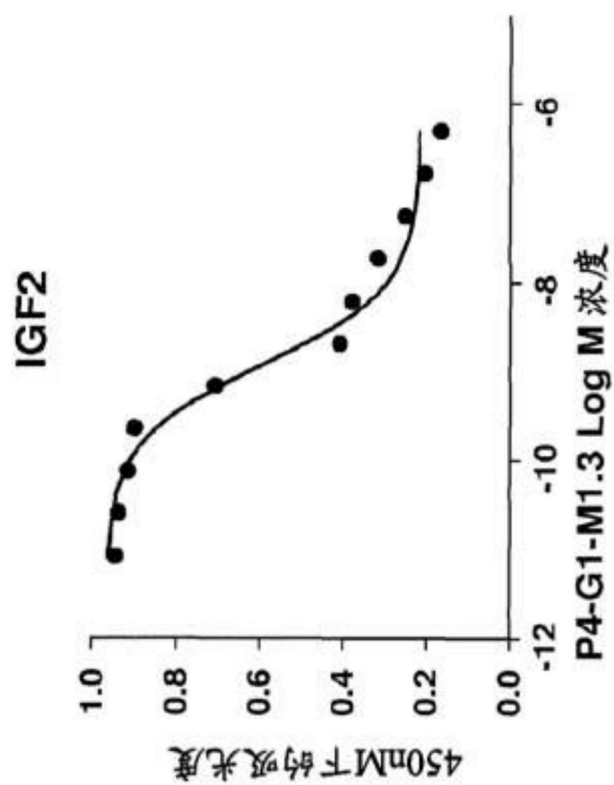


图 56B

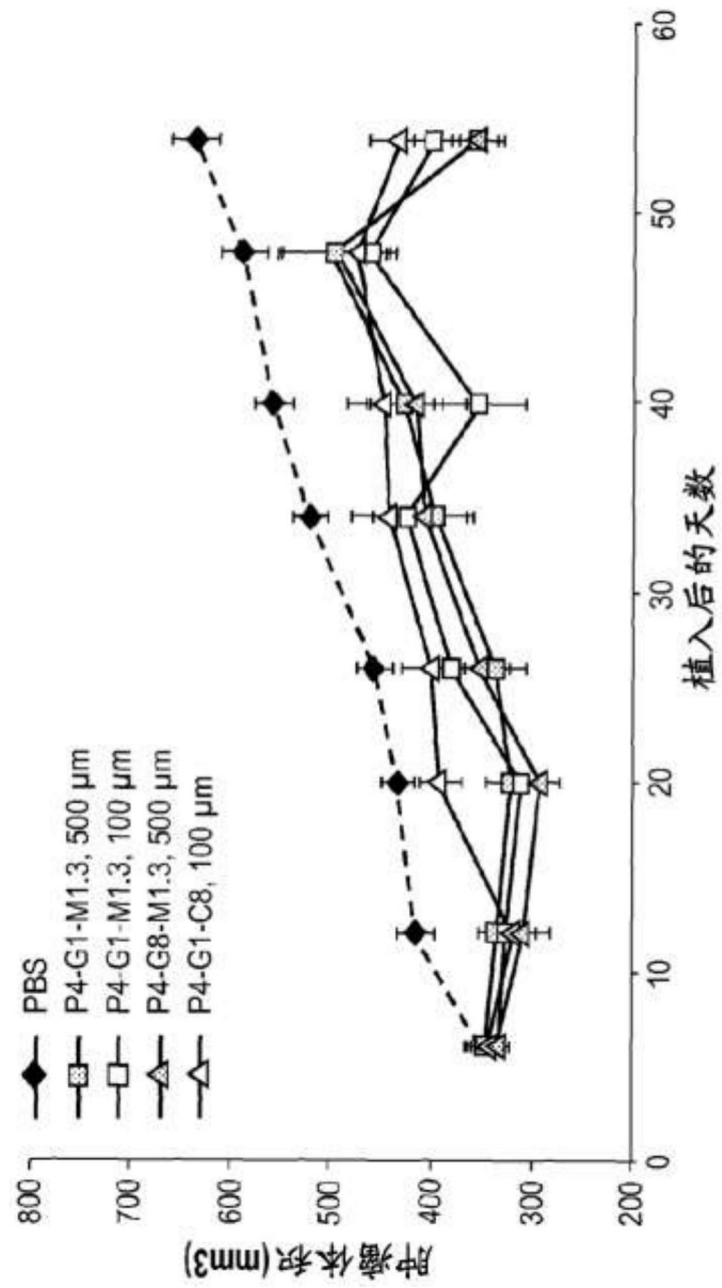


图 57A

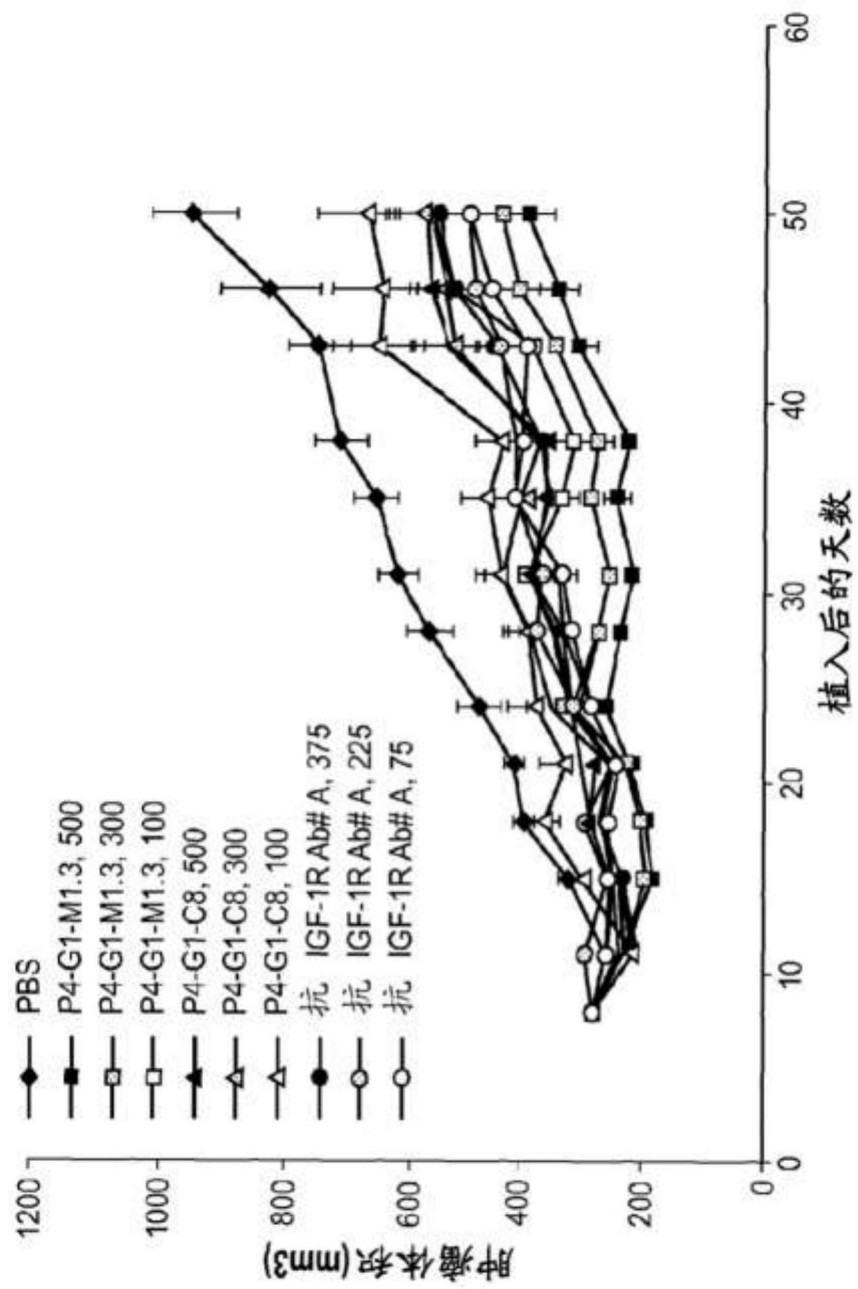


图 57B

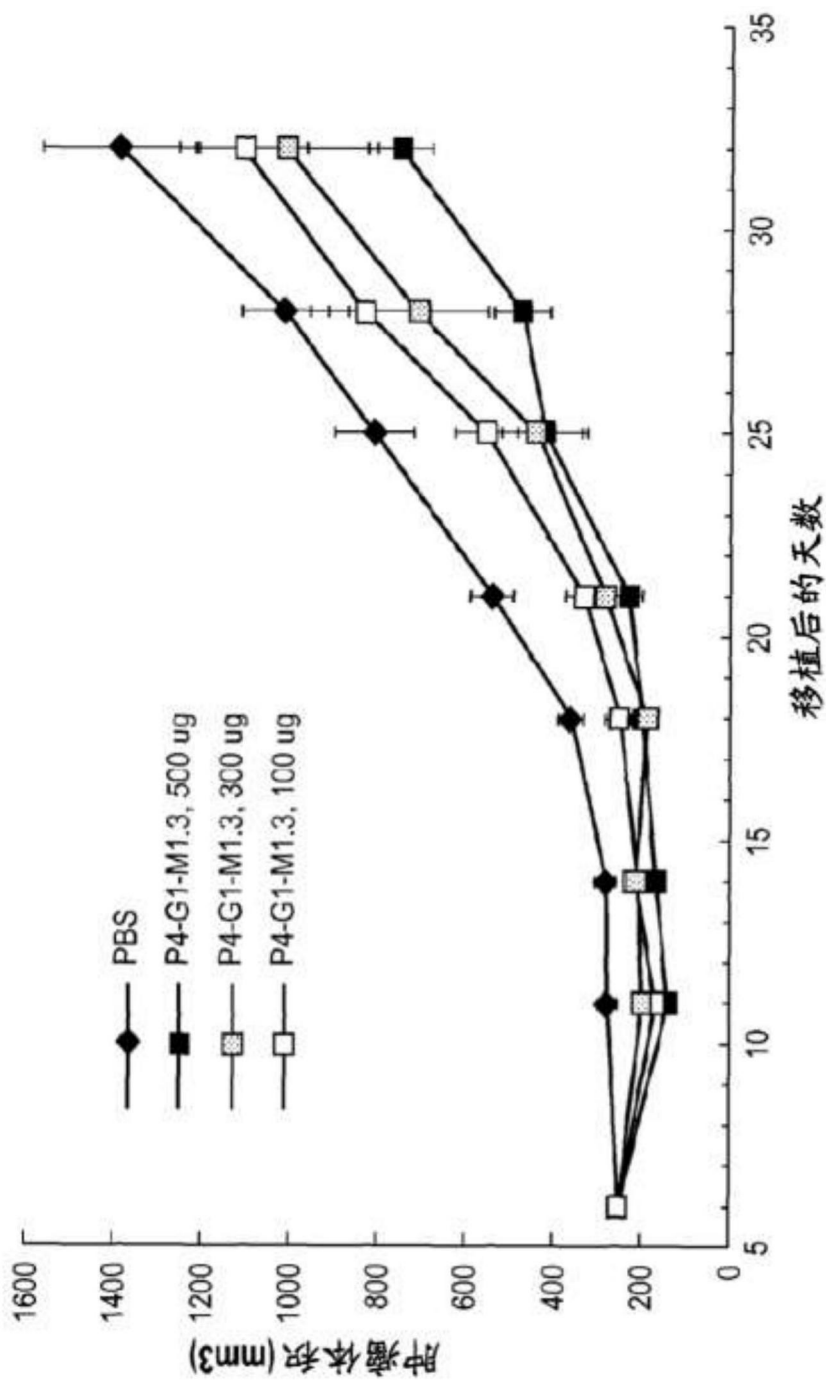


图 57C

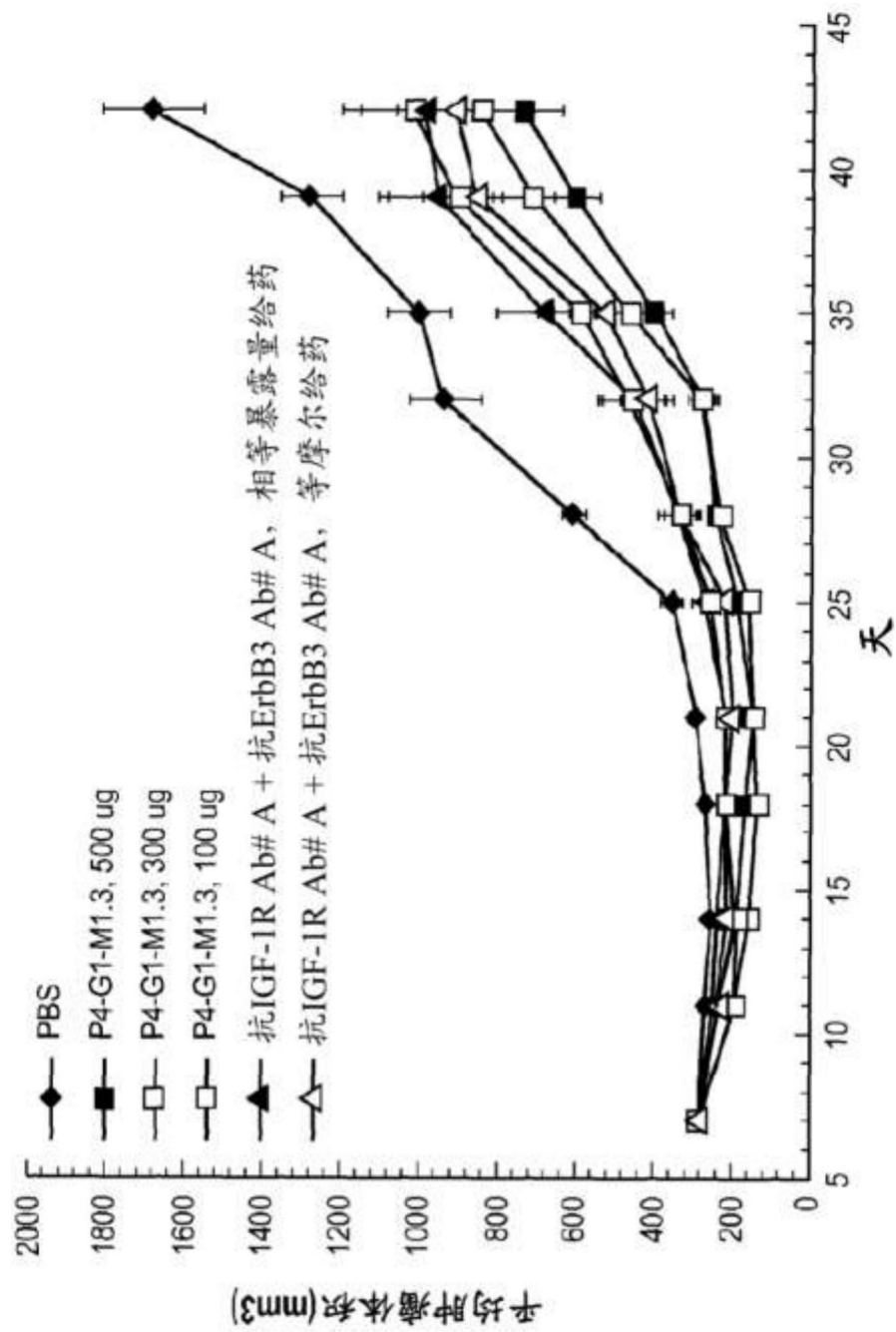


图 57D

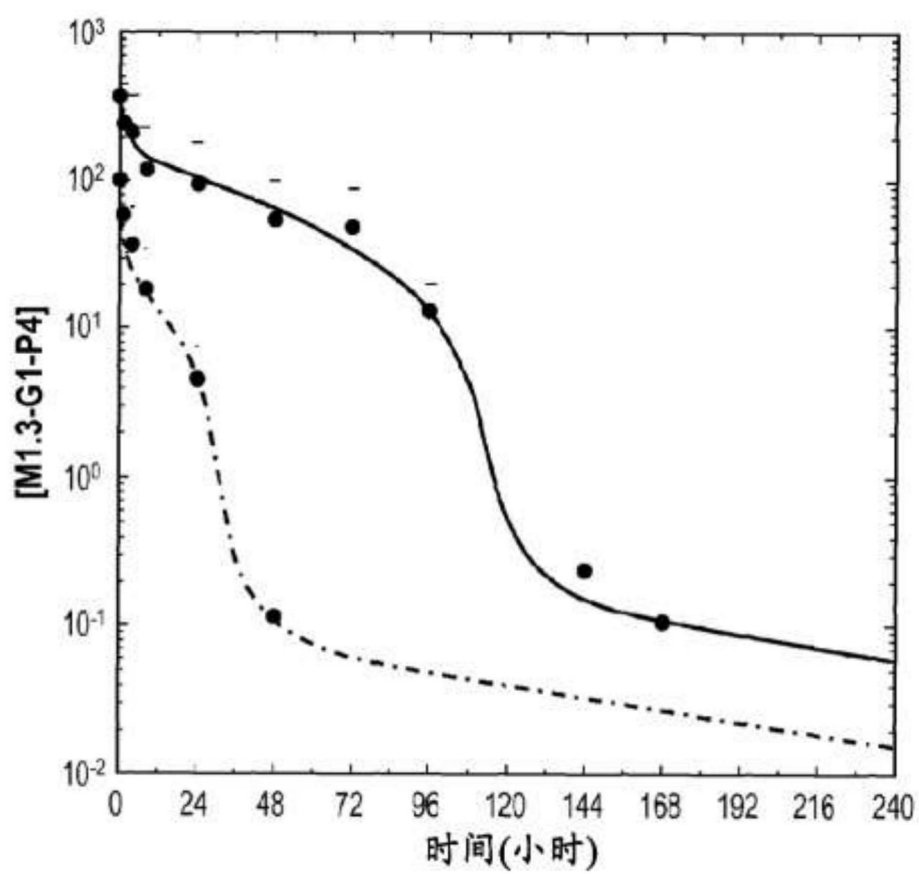


图 58

Abstract

Provided herein are novel monospecific and bispecific antibodies that are useful as anti neoplastic agents and that bind specifically to human IGF-1R and human ErbB3. Exemplary antibodies inhibit signal transduction through either or both of IGF-1R and ErbB3. Exemplary polyvalent proteins comprise at least one anti-IGF-1R binding site and at least one anti-ErbB3 binding site. In certain embodiments the binding sites may be linked through an immunoglobulin constant region. Novel antiErbB3 and anti-IGF-1R antibodies (e.g., monoclonal antibodies) are also provided.