



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I855012 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 09 月 11 日

(21)申請案號：108144775

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 12 月 06 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

A61K38/05 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

(30)優先權：2018/12/06 美國

62/776,409

2018/12/11 美國

62/778,062

(71)申請人：美商 C Y T O M X 生物製藥公司 (美國) CYTOMX THERAPEUTICS, INC. (US)
美國

(72)發明人：法西傑瓦 歐加 VASILJEVA, OLGA (SI) ; 溫特 麥可 WINTER, MICHAEL B. (US)

(74)代理人：林志剛

(56)參考文獻：

WO 2010/081173A2

WO 2016/210447A1

審查人員：陳婷妤

申請專利範圍項數：22 項 圖式數：9 共 414 頁

(54)名稱

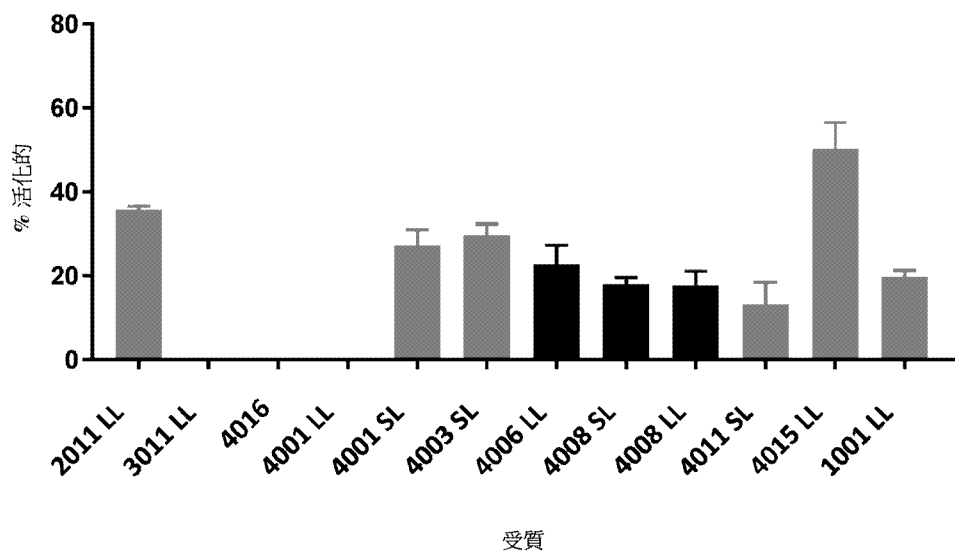
基質金屬蛋白酶可切割且絲胺酸蛋白酶或半胱胺酸蛋白酶可切割之受質和彼之使用方法

(57)摘要

本發明大抵關於包括至少一個第一可切割部分(CM1)和至少一個第二可切割部分(CM2)之多肽，該第一可切割部分(CM1)為至少一種基質金屬蛋白酶(MMP)之受質且該第二可切割部分(CM2)為至少一種絲胺酸蛋白酶(SP)或至少一種半胱胺酸蛋白酶(CP)之受質；本發明並關於包括該多肽之可活化之抗體和其他較大分子，該多肽包括至少一個 CM1 和至少一個 CM2，該 CM1 為至少一種 MMP 之受質且該 CM2 為至少一種 SP 或至少一種 CP 之受質；本發明亦關於製造和於多種治療、診斷和預防性適應症中使用該多肽之方法，該多肽包括至少一個 CM1 和至少一個 CM2，該 CM1 為至少一種 MMP 之受質且該 CM2 為至少一種 SP 或至少一種 CP 之受質。

The invention relates generally to polypeptides that include at least a first cleavable moiety (CM1) that is a substrate for at least one matrix metalloprotease (MMP) and at least a second cleavable moiety (CM2) that is a substrate for at least one serine protease (SP) or at least one cysteine protease (CP), to activatable antibodies and other larger molecules that include these polypeptides that include at least a CM1 that is a substrate for at least one MMP protease and at least a CM2 that is a substrate for at least one SP protease or at least one cysteine protease (CP), and to methods of making and using these polypeptides that include at least a CM1 that is a substrate for at least one MMP protease and at least a CM2 that is a substrate for at least one SP protease or at least one cysteine protease (CP) in a variety of therapeutic, diagnostic and prophylactic indications.

指定代表圖：



【第 1 圖】



I855012

【發明摘要】**【中文發明名稱】**

基質金屬蛋白酶可切割且絲胺酸蛋白酶或半胱胺酸蛋白酶可切割之受質和彼之使用方法

【英文發明名稱】

MATRIX METALLOPROTEASE-CLEAVABLE AND SERINE OR
CYSTEINE PROTEASE-CLEAVABLE SUBSTRATES AND
METHODS OF USE THEREOF

【中文】

本發明大抵關於包括至少一個第一可切割部分(CM1)和至少一個第二可切割部分(CM2)之多肽，該第一可切割部分(CM1)為至少一種基質金屬蛋白酶(MMP)之受質且該第二可切割部分(CM2)為至少一種絲胺酸蛋白酶(SP)或至少一種半胱胺酸蛋白酶(CP)之受質；本發明並關於包括該多肽之可活化之抗體和其他較大分子，該多肽包括至少一個CM1和至少一個CM2，該CM1為至少一種MMP之受質且該CM2為至少一種SP或至少一種CP之受質；本發明亦關於製造和於多種治療、診斷和預防性適應症中使用該多肽之方法，該多肽包括至少一個CM1和至少一個CM2，該CM1為至少一種MMP之受質且該CM2為至少一種SP或至少一種CP之受質。

【 英文 】

The invention relates generally to polypeptides that include at least a first cleavable moiety (CM1) that is a substrate for at least one matrix metalloprotease (MMP) and at least a second cleavable moiety (CM2) that is a substrate for at least one serine protease (SP) or at least one cysteine protease (CP), to activatable antibodies and other larger molecules that include these polypeptides that include at least a CM1 that is a substrate for at least one MMP protease and at least a CM2 that is a substrate for at least one SP protease or at least one cysteine protease (CP), and to methods of making and using these polypeptides that include at least a CM1 that is a substrate for at least one MMP protease and at least a CM2 that is a substrate for at least one SP protease or at least one cysteine protease (CP) in a variety of therapeutic, diagnostic and prophylactic indications.

【指定代表圖】第(1)圖。

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

基質金屬蛋白酶可切割且絲胺酸蛋白酶或半胱胺酸蛋白酶可切割之受質和彼之使用方法

【英文發明名稱】

MATRIX METALLOPROTEASE-CLEAVABLE AND SERINE OR
CYSTEINE PROTEASE-CLEAVABLE SUBSTRATES AND
METHODS OF USE THEREOF

【技術領域】

【0001】本發明大抵關於包括至少一個第一可切割部分(CM1)和至少一個第二可切割部分(CM2)之多肽，該第一可切割部分(CM1)為至少一種基質金屬蛋白酶(MMP)之受質且該第二可切割部分(CM2)為至少一種絲胺酸蛋白酶(SP)和/或至少一種半胱胺酸蛋白酶(CP)之受質；本發明並關於包括該多肽之可活化之抗體和其他較大分子，該多肽包括至少一個CM1和至少一個CM2，該CM1為至少一種MMP之受質，該CM2為至少一種SP和/或至少一種CP之受質；本發明亦關於製造和於多種治療、診斷和預防性適應症中使用該多肽之方法，該多肽包括至少一個CM1和至少一個CM2，該CM1為至少一種MMP之受質且該CM2為至少一種SP和/或至少一種CP之受質。

序列表之參考資料

【0002】根據 37 C.F.R.§1.821，與本文同時以電子可讀格式(CFR)經由 EFS-Web 電子提交之檔案名為“CYTX-058-PCT_ST25”的“序列表”以引用方式併入本文。該序列表之電子副本係創建於 2019 年 11 月 26 且該磁盤大小為 159 KB。

相關申請案之交叉引用

本申請案主張 2018 年 12 月 6 日提交之美國臨時申請案編號 62/776,409 和 2018 年 12 月 11 日提交之美國臨時申請案編號 62/778,062，其全部內容以引用方式併入本文。

【先前技術】

【0003】蛋白酶為藉由切割介於胺基酸殘基之間的肽鍵來降解蛋白質之酶。蛋白酶天然存在於所有生物中且參與從單純降解到被高度調控之途徑的多種生理反應。已知某些蛋白酶係基於蛋白質內所存有之特定胺基酸序列來打破特定之肽鍵。

【0004】因此，需要鑑定新的蛋白酶受質並將這些受質用於多種治療、診斷和預防性適應症中。

【發明內容】

【0005】於本發明之一態樣中，本文提供包含串聯之受質的經分離之多肽，其中該串聯之受質包括至少一個第

一可切割部分(CM1)和至少一個第二可切割部分(CM2)，該第一可切割部分為至少一種基質金屬蛋白酶(MMP)之受質，該第二可切割部分為至少一種絲胺酸蛋白酶(SP)或半胱胺酸蛋白酶(CP)之受質，其中CM1包含胺基酸序列AHGL或PRQV，且其中該串聯之受質之N端至C端的配置為CM1-CM2或CM2-CM1。於一些實施態樣中，該經分離之多肽的CM1包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：ALAHGLF(SEQ ID NO：1)、ALAHGL(SEQ ID NO：52)、LAHGLF(SEQ ID NO：50)、LAHGL(SEQ ID NO：53)和AHGLF(SEQ ID NO：51)。於一些實施態樣中，該經分離之多肽的CM1包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：HVPRQV(SEQ ID NO：8)和VPRQV(SEQ ID NO：60)。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含經由連接肽連接之CM1和CM2。於一些實施態樣中，該經分離之多肽的CM1和CM2彼此直接連接。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含CM2，該CM2包含CP之受質，且其中該CP為豆莢蛋白酶(*legumain*)。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含CM2，該CM2包含選自由下列所組成之群組的SP之受質：尿激酶(*urokinase*)、間質蛋白酶(*matriptase*)和嗜中性粒細胞彈性蛋白酶。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含CM2，該CM2包含SP之受質和CP之受質，該SP係選自由下列所組成之群組：尿激酶、間質蛋白酶和嗜中性粒細胞彈性蛋白酶；且其中該CP為豆莢蛋白酶。於一些實施

態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含CM1，該CM1包含係選自由下列所組成之群組的MMP 酶之受質：MMP2、MMP9或MMP14。

【0006】於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包括CM2，該CM2包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SGR、LSGR(SEQ ID NO：73)、ARG、PRS、TFVH (SEQ ID NO: 141)、AAN、SAN、和GPTN (SEQ ID NO: 152)。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包括CM2，該CM2包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SGR、LSGR(SEQ ID NO：73)、LSGRS(SEQ ID NO：72)、LSGRSD(SEQ ID NO：71)、LSGRSA(SEQ ID NO：110)、LSGRSDN(SEQ ID NO：70)、LSGRSAN(SEQ ID NO：109)、LSGRSDNH(SEQ ID NO：20)、LSGRSGNH (SEQ ID NO：78)、LSGRSDNP(SEQ ID NO：90)、LSGRSDNI (SEQ ID NO：84)、LSGRSANI(SEQ ID NO：108)、LSGRSANP(SEQ ID NO：114)、LSGRSDYH(SEQ ID NO：86)、LSGRSDTH(SEQ ID NO：92)、LSGRSDQH(SEQ ID NO：96)、LSGRSDIH(SEQ ID NO：100)和LSGRSDDH (SEQ ID NO：104)。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包括CM2，該CM2包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：ARGP(SEQ ID NO：128)、TARG(SEQ ID NO：125)和TARGP(SEQ ID NO：124)。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包括CM2，該CM2包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：APRS(SEQ ID

NO : 131)、APRSF(SEQ ID NO : 130)和 PRSF(SEQ ID NO : 132)。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包括CM2，該CM2包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：GLPTFVHL(SEQ ID NO : 135)、GLPTFVH(SEQ ID NO : 136)、GLPTFV(SEQ ID NO : 137)、LPTFVHL (SEQ ID NO : 138)、LPTFVH(SEQ ID NO : 139)和LPTFV (SEQ ID NO : 140)。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包括CM2，該CM2包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：AAN、SAN和GPTN (SEQ ID NO : 152)。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包括CM2，該CM2包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：AAN、SAN和GPTN (SEQ ID NO : 152)，以及選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SGR、LSGR (SEQ ID NO : 73)、LSGRS(SEQ ID NO : 72)、LSGRSD (SEQ ID NO : 71)、LSGRSA(SEQ ID NO : 110)、LSGRSDN(SEQ ID NO : 70)、LSGRSAN(SEQ ID NO : 109)、LSGRSDNH(SEQ ID NO : 20)、LSGRSGNH(SEQ ID NO : 78)、LSGRSDNP(SEQ ID NO : 90)、LSGRSDNI(SEQ ID NO : 84)、LSGRSANI(SEQ ID NO : 108)、LSGRSANP (SEQ ID NO : 114)、LSGRSDYH(SEQ ID NO : 86)、LSGRSDTH(SEQ ID NO : 92)、LSGRSDQH(SEQ ID NO : 96)、LSGRSDIH(SEQ ID NO : 100)和LSGRSDDH(SEQ ID NO : 104)。

【0007】於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之

多肽的串聯之受質從N端至C端之配置為CM1-CM2。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽的串聯之受質從N端至C端之配置為CM2-CM1。

【0008】於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽之第一可切割部分(CM1)被MMP9和MMP14切割的可切割性各為至少80%。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽的第一可切割部分(CM1)被MMP9和MMP14切割的可切割性各為至少85%。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽的第一可切割部分(CM1)被MMP9和MMP14切割的可切割性各為至少90%。

【0009】於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽的第一可切割部分(CM1)之活體內穩定性為少於30%活化。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽的第一可切割部分(CM1)之活體內穩定性為少於25%活化。

【0010】於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽的串聯之受質被MMP9和MMP14切割之可切割性各為至少30%。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽的串聯之受質被MMP9和MMP14切割的可切割性各為至少50%。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽的串聯之受質被MMP9和MMP14切割的可切割性各為至少70%。

【0011】於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽的串聯之受質被MMP9和MMP14切割的可切割性各為至少15%，且該串聯受質被間質蛋白酶切割的可切割性為

至少30%。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽的串聯之受質被MMP9和MMP14切割的可切割性各為至少30%，且該串聯之受質被間質蛋白酶切割的可切割性為至少30%。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽的串聯之受質被MMP9和MMP14切割的可切割性各為至少50%，且該串聯受質被間質蛋白酶切割的可切割性為至少50%。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽的串聯之受質被MMP9和MMP14切割的可切割性各為至少70%，且該串聯之受質被間質蛋白酶切割的可切割性為至少70%。

【0012】於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽的串聯之受質的活體內穩定性為少於40%活化。於一些實施態樣中，於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽的串聯受質之活體內穩定性為少於30%活化。於一些實施態樣中，於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽的串聯受質之活體內穩定性為少於25%活化。於一些實施態樣中，於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽的串聯之受質之活體內穩定性為少於20%活化。

【0013】於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含串聯的受質，該串聯的受質包含選自由SEQ ID NO：25至43所組成之群組的胺基酸序列。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含串聯的受質，該串聯的受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：25、26、29、31、32、34、36和37。於一些

實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含串聯的受質，該串聯的受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：27、28、30、33和35。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含串聯的受質，該串聯的受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：25、29、31、36和37。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含串聯的受質，該串聯的受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：26、32和34。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含串聯的受質，該串聯的受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：27、28和33。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含串聯的受質，該串聯的受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：30和35。

【0014】於一些實施態樣中，本文提供本揭示內容之經分離之多肽，該經分離之多肽包含：特異地結合標靶之抗體或其抗原結合片段(AB)；至少一個第一可切割部分(CM1)，該第一可切割部分為至少一種基質金屬蛋白酶(MMP)之受質；和至少一個第二可切割部分(CM2)，該第二可切割部分為至少一種絲胺酸蛋白酶(SP)或半胱胺酸蛋白酶(CP)之受質，其中CM1包含胺基酸序列AHGL或PRQV，且其中該串聯之受質的N端至C端之配置為CM1-CM2或CM2-CM。於一些實施態樣中，該MMP、CP和SP中至少一者與該標靶共定位在組織中。於一些實施態樣中，

本揭示內容之經分離之多肽包含選自由下列所組成之群組的抗原結合片段：Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、scAb、dAb、單結構域重鏈抗體和單結構域輕鏈抗體。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含與CM1連接之AB。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含與CM1直接連接之AB。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含經由連接肽與CM1連接之AB。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含與CM2連接之AB。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含與CM2直接連接之AB。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含經由連接肽與CM2連接之AB。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含AB，該AB包含抗體或其抗原結合片段之輕鏈可變區且其中該CM1或CM2係連接該AB之輕鏈可變區的N端。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含AB，該AB包含抗體或其抗原結合片段之重鏈可變區且其中該CM1或CM2係連接該AB之重鏈可變區的N端。

【0015】於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含掩蔽部分(MM)。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含MM，該MM與該AB結合之解離常數大於該AB與該標靶結合之解離常數。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含MM，該MM為長度不超過40個胺基酸之多肽。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含與CM1連接的MM，使得該呈未經

切割之狀態的經分離之多肽包含如下所示之從N端至C端的結構排列：MM-CM1-CM2-AB或AB-CM2-CM1-MM。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含介於該MM與該CM1之間的連接肽。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽在該CM2與該AB之間包含連接肽。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽在該MM與該CM1之間包含連接肽且在該CM2與該AB之間包含連接肽。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含與CM1連接之MM，使得該經分離之多肽包含如下所示之從N端至C端的呈未經切割之狀態的結構排列：MM-CM2-CM1-AB或AB-CM1-CM2-MM。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽在該MM與該CM2之間包含連接肽。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽在該CM1與該AB之間包含連接肽。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽在該MM與該CM2之間包含連接肽且在該CM1與該AB之間包含連接肽。

【0016】於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含第一連接肽(LP1)和第二連接肽(LP2)，且其中該經分離之多肽具有如下所示之從N端至C端的呈未經切割之狀態的結構排列：MM-LP1-CM1-CM2-LP2-AB、AB-LP2-CM2-CM1-LP1-MM、MM-LP1-CM2-CM1-LP2-AB或AB-LP2-CM1-CM2-LP1-MM。於一些實施態樣中，該二個連接肽彼此不同。於一些實施態樣中，該LP1和LP2各為長度約1至20個胺基酸之肽。於一些實施態樣中，該經分

離之多肽在該 CM1 與該 CM2 之間包含第三連接肽 (LP')。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含 AB，該 AB 包含抗體或其抗原結合片段之輕鏈可變區，且其中該 LP2 係連接該 AB 之輕鏈可變區的 N 端。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含 AB，該 AB 包含抗體或其抗原結合片段之重鏈可變區，且其中該 LP2 係連接 AB 之重鏈可變區的 N 端。

【0017】於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含 MM，其中該 MM 之胺基酸序列與該標靶之胺基酸序列不同，且與 AB 之天然結合伴的胺基酸序列具有不超過 10% 之同一性。於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含 MM，該 MM 不會干擾或與該 AB 競爭與呈經切割之狀態的標靶結合。

【0018】於一些實施態樣中，該經分離之多肽包含選自由 SEQ ID NO：450 至 462 所組成之群組的輕鏈胺基酸序列。於一些實施態樣中，該經分離之多肽包含選自由 SEQ ID NO：450 至 462 所組成之群組的輕鏈胺基酸序列，和包含 SEQ ID NO：400 之重鏈胺基酸序列。

【0019】於本發明之另一態樣中，本文提供在活化狀態下與標靶特異地結合的可活化之抗體，該可活化之抗體包含：與標靶特異地結合之抗體或其抗原結合片段 (AB)、與該 AB 偶聯之掩蔽部分 (MM) (其中當該可活化之抗體呈未經切割之狀態時，該 MM 抑制該 AB 與該標靶結合)；和包含串聯之受質的可切割之部分 (CM)，該串聯之受質包含根

據本文所提供之任一串聯的受質。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包括 MM，該 MM 與該 AB 結合之解離常數大於該 AB 與該標靶結合之解離常數。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包括 MM，該 MM 為長度不超過 40 個胺基酸之多肽。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包括選自由下列所組成之群組之其抗原結合片段：Fab 片段、F(ab')₂ 片段、scFv、scAb、dAb、單結構域重鏈抗體及單結構域輕鏈抗體。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包括 MM，該 MM 與該 AB 結合之解離常數大於該 AB 與該標靶結合之解離常數。

【0020】於一些實施態樣中，該可活化之抗體包括與 CM1 連接之 MM，使得該呈未經切割狀態的可活化之抗體包含如下所示之從 N 端至 C 端的結構排列：MM-CM1-CM2-AB 或 AB-CM2-CM1-MM。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含介於該 MM 與該 CM1 之間的連接肽。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含介於該 CM2 與該 AB 之間的連接肽。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含介於該 MM 與該 CM1 之間的連接肽且包含介於該 CM2 與該 AB 之間的連接肽。

【0021】於一些實施態樣中，該可活化之抗體包括與 CM1 連接之 MM，使得該呈未經切割狀態的可活化之抗體包含如下所示之從 N 端至 C 端的結構排列：MM-CM2-CM1-AB 或 AB-CM1-CM2-MM。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該 MM 與該 CM2 之間包含連接肽。於一些實

施態樣中，該可活化之抗體在該 CM1 與該 AB 之間包含連接肽。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該 MM 與該 CM2 之間包含連接肽且在該 CM1 與該 AB 之間包含連接肽。

【0022】於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含 AB，該 AB 包含抗體或其抗原結合片段之輕鏈可變區，且其中該 CM1 或 CM2 係連接該 AB 之輕鏈可變區的 N 端。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含 AB，該 AB 包含抗體或其抗原結合片段之重鏈可變區，且其中該 CM1 或 CM2 係連接該 AB 之重鏈可變區的 N 端。

【0023】於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含第一連接肽 (LP1) 和第二連接肽 (LP2)，且其中該呈未經切割狀態的可活化之抗體具有如下所示之從 N 端至 C 端的結構排列：MM-LP1-CM1-CM2-LP2-AB、AB-LP2-CM2-CM1-LP1-MM、MM-LP1-CM2-CM1-LP2-AB 或 AB-LP2-CM1-CM2-LP1-MM。於一些實施態樣中，該二個連接肽彼此不完全相同。於一些實施態樣中，該 LP1 和 LP2 各為長度約 1 至 20 個胺基酸之肽。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該 CM1 與該 CM2 之間包含第三連接肽 (LP')。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含 AB，該 AB 包含抗體或其抗原結合片段之輕鏈可變區，且其中該 LP2 係連接該 AB 之輕鏈可變區的 N 端。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含 AB，該 AB 包含抗體或其抗原結合片段之重鏈可變區，且其中該 LP2 係連接該 AB 之重鏈可變區的 N 端。

【0024】於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含選

自由SEQ ID NO：450至462所組成之群組的輕鏈胺基酸序列。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含選自由SEQ ID NO：450至462所組成之群組的輕鏈胺基酸序列和包含SEQ ID NO：400之重鏈胺基酸序列。

【0025】於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含與該標靶不同之MM，且與該AB之天然結合伴的胺基酸序列具有不超過10%之同一性。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含MM，該MM不會干擾或與該AB競爭與呈經切割之狀態的標靶結合。

【0026】於本發明之另一態樣中，本文提供經軛合之可活化之抗體，該經軛合之可活化之抗體包含與作用劑軛合之可活化之抗體。於一些實施態樣中，該作用劑係經由連接子與AB軛合。於一些實施態樣中，該作用劑經由可切割之連接子與AB軛合。於一些實施態樣中，該作用劑經由不可切割之連接子與AB軛合。

【0027】於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體包含為毒素或其片段之作用劑。於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體包含為微管抑制劑的作用劑。於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體包含為核酸損傷劑的作用劑。於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體包含作用劑，該作用劑為多拉司他汀(dolastatin)或其衍生物、澳瑞他汀(auristatin)或其衍生物、美登木素(maytansinoid)或其衍生物、倍癌黴素(duocarmycin)或其衍生物、加利車黴素(calicheamicin)或其衍生物、澳瑞他

汀E或其衍生物、單甲基澳瑞他汀E(MMAE)、單甲基澳瑞他汀D(MMAD)或選自由DM1和DM4所組成之群組的美登木素。於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體包含為可檢測部分或診斷劑之作用劑。

【0028】於本發明之另一態樣中，本文提供醫藥組成物，該醫藥組成物包含本揭示內容之經分離之多肽或本揭示內容之可活化之抗體或本揭示內容之經軛合之可活化之抗體；和載體。於一些實施態樣中，該醫藥組成物包含另外之作用劑。於一些實施態樣中，該醫藥組成物包含另外之作用劑，該另外之作用劑為治療劑。

【0029】於本發明之另一態樣中，本文提供經分離之核酸分子，該核酸分子編碼本揭示內容之經分離之多肽或本揭示內容之可活化之抗體。於一些實施態樣中，載體包含本揭示內容之經分離之核酸分子。

【0030】於本發明之另一態樣中，本文提供產生抗體或可活化之抗體的方法，該方法係藉由在導致表現本揭示內容之經分離之多肽或本揭示內容之可活化之抗體的條件下培養細胞。於本發明之另一態樣中，本文提供製造可活化之抗體的方法，該可活化之抗體在活化狀態下與標靶結合，該可活化之抗體的製造方法包含：培養包含編碼本揭示內容之可活化之抗體的核酸構建體之細胞，並回收該可活化之抗體。

【0031】於本發明之另一態樣中，本文提供治療病症或疾病、緩解該病症或疾病之症狀或延緩該病症或疾病之

進展之方法，該方法包含對有需要之個體投予治療有效量之本揭示內容之經分離之多肽或本揭示內容之可活化之抗體或本揭示內容之經軛合的可活化之抗體或本揭示內容之醫藥組成物。於一些實施態樣中，該病症或疾病為癌症。於一些實施態樣中，該方法包含對個體投予另外之作用劑。於一些實施態樣中，該方法包含對該個體投予另外之治療劑。

【圖式簡單說明】

【0032】[第1圖]之圖形顯示本揭示內容之指明的可活化之抗EGFR抗體在被投予至nu/nu小鼠後所觀察到之在體內被切割之示例性百分比結果。這些示例性結果顯示該測試之可活化之抗體有數種顯示出較其他可被多種酶切割之受質更高的穩定性。

【0033】[第2A和2B圖]之圖形顯示本揭示內容之指明的可活化之抗EGFR抗體在玻管內與EGFR結合的示例性結果。這些示例性結果顯示該MMP受質影響該可活化之抗體的前結構域之掩蔽效率。

【0034】[第3A和3B圖]之圖形顯示使用小鼠H292異種移植模型時，本揭示內容之指明的可活化之抗EGFR抗體的體內功效之示例性結果。這些示例性結果顯示本揭示內容之具有某些MMP受質的可活化之抗體在該異種移植模型中顯示出與未掩蔽之抗EGFR西妥昔單抗相當的功效。

【0035】[第4圖]之圖形顯示本揭示內容之指明的可

活化之抗 EGFR 抗體在投予至小鼠 H292 異種移植模型後，在腫瘤內組織內被活化的示例性百分比結果。

【0036】[第5圖]之圖形顯示本揭示內容之指明的具有單一 MMP 或串聯受質之可活化之抗 EGFR 抗體在被投予至 nu/nu 小鼠後所觀察到之在體內被切割的示例性百分比結果。這些示例性結果顯示所測試之具有串聯之受質的可活化之抗體中有數種顯示出較其他可被多種酶切割之受質具有較高之活體內穩定性。

【0037】[第6圖]之圖形顯示使用小鼠 H292 異種移植模型時，本揭示內容之指明的可活化之抗 EGFR 抗體的體內功效之示例性結果。這些示例性結果顯示本揭示內容之具有某些 MMP 受質之可活化之抗體在該異種移植模型中顯示出與未被掩蔽之抗 EGFR 西妥昔單抗抗體相當的功效。

【0038】[第7圖]之圖形顯示在投予至小鼠 H292 異種移植模型後，在腫瘤內組織內被活化的該指明之本揭示內容的可活化之抗 EGFR 抗體之示例性百分比結果。

【0039】[第8圖]之圖形顯示計算出之掩蔽功效的示例性結果，該掩蔽功效係從玻管內與 EGFR 結合之本揭示內容之指明的可活化之抗 EGFR 抗體計算出。這些示例性結果顯示該串聯之受質影響該可活化之抗體的前結構域之掩蔽功效。

【0040】[第9圖]之圖形顯示本揭示內容之指明的可活化之抗 EGFR 抗體在與人腫瘤組織培育後被活化的示例性百分比結果。

【實施方式】**發明之詳細描述**

【0041】 本揭示內容提供胺基酸序列，該胺基酸序列包括至少一個第一可切割部分(CM1)和至少一個第二可切割部分(CM2)，該第一可切割部分為至少一種基質金屬蛋白酶(MMP)之受質，該第二可切割部分為至少一種絲胺酸蛋白酶(SP)和/或至少一種半胱胺酸蛋白酶(CP)之受質。這些胺基酸序列在本文中統稱為“串聯之受質”。該術語並不意圖傳遞任何與第一可切割部分(CM1)和該至少一種第二可切割部分(CM2)之取向或其他結構配置有關的任何要求，該第一可切割部分為至少一種基質金屬蛋白酶(MMP)之受質，該第二可切割部分為至少一種絲胺酸蛋白酶(SP)和/或至少一種半胱胺酸蛋白酶(CP)之受質。因此，術語“串聯之受質”包含CM1-CM2受質，該CM1-CM2受質之N端至C端的結構排列如下：CM1-CM2或CM2-CM1。術語“串聯之受質”亦包含其中至少一部分之CM1序列與至少一部分之CM2序列重疊。

【0042】 於一些實施態樣中，CM2包括至少二種受質。於一些實施態樣中，CM2包括第一絲胺酸蛋白酶之受質和第二絲胺酸蛋白酶之受質。於一些實施態樣中，CM2包括絲胺酸蛋白酶之受質和半胱胺酸蛋白酶之受質。

【0043】 本文所描述之CM1-CM2受質可用於多種治療、診斷和預防性適應症中。例如，這些CM1-CM2受質

可用於包括抗體或其抗原結合片段(AB)的可活化之抗體，該抗體或其抗原結合片段(AB)包含前結構域。該前結構域包括至少一個與該AB之抗原或表位結合結構域連接的掩蔽部分(MM)，使得MM之耦合降低AB與其標靶結合之能力。

【0044】於一些實施態樣中，該可活化之抗體包括至少一個第一CM(CM1)和第二CM(CM2)。於一些實施態樣中，至少一部分之該CM1受質序列與至少一部分之該CM2序列重疊。於一些實施態樣中，該CM1受質序列與該CM2受質序列分享至少一個共同的胺基酸殘基。於一些實施態樣中，該CM1受質序列與該CM2受質序列分享至少二個共同的胺基酸殘基。於一些實施態樣中，該CM1受質序列與該CM2受質序列分享至少三個共同的胺基酸殘基。於一些實施態樣中，該CM1受質序列與該CM2受質序列分享三或更多個共同的胺基酸殘基。

【0045】於一些實施態樣中，CM1和CM2為可操作地連接在一起之分開的多肽。

【0046】於一些實施態樣中，CM1和CM2為直接連接在一起之分開的多肽，即，一種受質之N端直接與另一受質多肽之C端連接。於一些實施態樣中，該CM1之N端與該CM2之C端直接連接。於一些實施態樣中，該CM2之N端與該CM1之C端直接連接。

【0047】於一些實施態樣中，該CM1和CM2為經由至少一個連接部分可操作地連接在一起之分開的多肽。

【0048】於一些實施態樣中，該呈未經切割狀態之可活化抗體中的第一可切割部分CM1和第二可切割部分CM2具有如下所示之N端至C端的結構排列：MM-CM1-CM2-AB、AB-CM2-CM1-MM、MM-CM2-CM1-AB或AB-CM1-CM2-MM。

【0049】於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該CM1與該CM2之間包括一連接肽(LP')。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該掩蔽部分(MM)與該CM1之間包括一連接肽(LP'')。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該CM2與該AB之間包括一連接肽(LP''')。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該MM與該CM1之間包括一連接肽(LP'')且在該CM2與該AB之間包括一連接肽(LP''')。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該MM與該CM1之間包括一連接肽(LP'')且在該CM1與該CM2之間包括一連接肽(LP')。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該CM1與該CM2之間包括一連接肽(LP')且在該CM2與該AB之間包括一連接肽(LP''')。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該MM與該CM1之間包括一連接肽(LP'')、在該CM1與該CM2之間包括一連接肽(LP')且在該CM2與該AB之間包括一連接肽(LP''')。

【0050】於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該CM1與該CM2之間包括一連接肽(LP')。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該AB與該CM1之間包括一連接肽(LP'')。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該CM2與

該掩蔽部分(MM)之間包括一連接肽(LP'')。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該AB與該CM1之間包括一連接肽(LP'')且在該CM2與該MM之間包括一連接肽(LP'')。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該AB與該CM1之間包括一連接肽(LP'')且在該CM1與該CM2之間包括一連接肽(LP')。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該CM1與該CM2之間包括一連接肽(LP')且在該CM2與該MM之間包括一連接肽(LP'')。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該AB與該CM1之間包括一連接肽(LP'')、在該CM1與該CM2之間包括一連接肽(LP')且在該CM2與該MM之間包括一連接肽(LP'')。

【0051】於一些實施態樣中，LP'為GG。於一些實施態樣中，LP'為GGSGGS(SEQ ID NO：218)。

【0052】於一些實施態樣中，CM1為至少一種基質金屬蛋白酶(MMP)之受質。MMP之實例包括MMP1；MMP2；MMP3；MMP7；MMP8；MMP9；MMP10；MMP11；MMP12；MMP13；MMP14；MMP15；MMP16；MMP17；MMP19；MMP20；MMP23；MMP24；MMP26；和MMP27。

【0053】於一些實施態樣中，CM1為MMP2、MMP9、MMP14、MMP1、MMP3、MMP13、MMP17、MMP11和/或MMP19之受質。於一些實施態樣中，CM1為MMP2之受質。於一些實施態樣中，CM1為MMP9之受質。於一些實施態樣中，CM1為MMP14之受質。於一些實

施態樣中，CM1為二或更多種MMP之受質。於一些實施態樣中，CM1至少為MMP9和MMP14之受質。於一些實施態樣中，CM1至少為MMP2和MMP9之受質。於一些實施態樣中，CM1至少為MMP2和MMP14之受質。於一些實施態樣中，CM1為三或更多種MMP之受質。於一些實施態樣中，CM1至少為MMP2、MMP9和MMP14之受質。於一些實施態樣中，CM1包含二或更多種相同MMP之受質。於一些實施態樣中，CM1至少包含二或更多種MMP2之受質。於一些實施態樣中，CM1至少包含二或更多種MMP9之受質。於一些實施態樣中，CM1至少包含二或更多種MMP14之受質。

【0054】於一些實施態樣中，CM1為MMP之受質且至少包含序列ALAHGLF (SEQ ID NO：1)；DLAHPLL (SEQ ID NO：2)；AFRHLR (SEQ ID NO：3)；PHGFFQ (SEQ ID NO：4)；SVHHLI (SEQ ID NO：5)；RGPKLYW (SEQ ID NO：6)；RFPYGVW (SEQ ID NO：7)；HVPRQV (SEQ ID NO：8)；SNPFKY (SEQ ID NO：9)；RFPLKV (SEQ ID NO：10)；PFHLR (SEQ ID NO：11)；STVFHM (SEQ ID NO：12)；MGPWFM (SEQ ID NO：13)；RHLAKL (SEQ ID NO：14)；PLGVRGK (SEQ ID NO：15)；和QNQALRIA (SEQ ID NO：16)。

【0055】於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列ALAHGLF (SEQ ID NO：1)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列DLAHPLL (SEQ ID NO：2)。於一些實施

態樣中，該CM1包含胺基酸序列AFRHLR (SEQ ID NO：3)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列PHGFFQ (SEQ ID NO：4)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列SVHHLI (SEQ ID NO：5)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列RGPPLYW (SEQ ID NO：6)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列RFPYGVW (SEQ ID NO：7)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列HVPRQV (SEQ ID NO：8)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列SNPFKY (SEQ ID NO：9)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列RFPLKV (SEQ ID NO：10)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列PFHLRS (SEQ ID NO：11)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列STVFHM (SEQ ID NO：12)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列MGPWFM (SEQ ID NO：13)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列RHLAKL (SEQ ID NO：14)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列PLGVRGK (SEQ ID NO：15)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列QNQALRIA (SEQ ID NO：16)。

【0056】於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列LAHGLF (SEQ ID NO：50)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列AHGLF (SEQ ID NO：51)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列ALAHGL (SEQ ID NO：52)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列LAHGL (SEQ ID NO：53)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列

AHGL(SEQ ID NO : 54)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列ALAH G(SEQ ID NO : 55)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列LAHG (SEQ ID NO : 56)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列AHG。

【0057】於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列VPRQV (SEQ ID NO : 60)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列PRQV(SEQ ID NO : 61)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列HVPRQ(SEQ ID NO : 62)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列VPRQ(SEQ ID NO : 63)。於一些實施態樣中，該CM1包含胺基酸序列PRQ。

【0058】於一些實施態樣中，該CM2為至少一種絲胺酸蛋白酶(SP)之受質。於一些實施態樣中，該SP係選自u型纖溶酶原活化因子(uPA，亦稱為尿激酶)、間質蛋白酶(本文中亦稱為MT-SP1或MTSP1)、嗜中性粒細胞彈性蛋白酶(例如人嗜中性粒細胞彈性蛋白酶)及彼等之組合。可切割本文所描述之CM2的其他SP之實例的非限制性實例包括經活化之蛋白C；組織蛋白酶(Cathepsin)A；組織蛋白酶G；糜蛋白酶(Chymase)；凝血因子蛋白酶，諸如，例如FVIIa、FIXa、FXa、FXIa、FXIIa；彈性蛋白酶；顆粒酶B(Granzyme B)；胍基苯甲酸酶(Guanidinobenzoatase)；HtrA1；乳鐵蛋白；胰蛋白酶(Marapsin)；NS3/4A；PACE4；纖溶酶；PSA；tPA；凝血酶；類胰蛋白酶(Ttrypase)；第II型跨膜絲胺酸蛋白酶(TTSP)，諸如，例

如 DESC1、DPP-4、FAP、跨膜絲胺酸蛋白酶(Hepsin)、間質蛋白酶-2、TMPRSS2、TMPRSS3和/或TMPRSS4。

【0059】例如，合適之CM2係被至少一種絲胺酸蛋白酶切割且可包括至少一種選自下列胺基酸序列之序列：LSGRSDNH (SEQ ID NO：20)、LSGRSDN(SEQ ID NO：70)、LSGRSD(SEQ ID NO：71)、LSGRS(SEQ ID NO：72)、LSGR(SEQ ID NO：73)、SGRSDN(SEQ ID NO：74)、SGRSD(SEQ ID NO：75)、SGRS(SEQ ID NO：76)、SGR、LSGRSGNH(SEQ ID NO：78)、LSGRSGN(SEQ ID NO：79)、LSGRSG(SEQ ID NO：80)、SGRSGNH(SEQ ID NO：81)、SGRSGN(SEQ ID NO：82)、SGRSG(SEQ ID NO：83)、LSGRSDNI(SEQ ID NO：84)、SGRSDNI(SEQ ID NO：85)、LSGRSDYH(SEQ ID NO：86)、LSGRSDY (SEQ ID NO：87)、SGRSDYH(SEQ ID NO：88)、SGRSDY (SEQ ID NO：89)、LSGRSDNP(SEQ ID NO：90)、SGRSDNP(SEQ ID NO：91)、LSGRSDTH(SEQ ID NO：92)、LSGRSDT(SEQ ID NO：93)、SGRSDTH (SEQ ID NO：94)、SGRSDT(SEQ ID NO：95)、LSGRSDQH(SEQ ID NO：96)、LSGRSDQ(SEQ ID NO：97)、SGRSDQH(SEQ ID NO：98)、SGRSDQ(SEQ ID NO：99)、LSGRSDIH(SEQ ID NO：100)、LSGRSDI(SEQ ID NO：101)、SGRSDIH (SEQ ID NO：102)、SGRSDI(SEQ ID NO：103)、LSGRSDDH(SEQ ID NO：104)、LSGRSDD(SEQ ID NO：105)、SGRSDDH(SEQ ID NO：106)、SGRSDD(SEQ ID

NO : 107) 、LSGRSANI(SEQ ID NO : 108) 、LSGRSAN (SEQ ID NO : 109) 、LSGRSA(SEQ ID NO : 110) 、SGRSANI(SEQ ID NO : 111) 、SGRSAN(SEQ ID NO : 112) 、SGRSA(SEQ ID NO : 113) 、LSGRSANP(SEQ ID NO : NO : 114)和SGRSANP(SEQ ID NO : 115)。

【0060】於一些實施態樣中，合適之CM2被至少一種絲胺酸蛋白酶切割且可包括至少一種選自下列胺基酸序列之序列：TARGPSFK (SEQ ID NO : 120)、ARGPSFK (SEQ ID NO : 121)、TARGPSF (SEQ ID NO : 122)、TARGPS (SEQ ID NO : 123)、TARGP (SEQ ID NO : 124)、TARG (SEQ ID NO : 125)、ARGPSF (SEQ ID NO : 126)、ARGPS (SEQ ID NO : 127)、ARGP (SEQ ID NO : 128)和ARG。

【0061】於一些實施態樣中，合適之CM2被至少一種絲胺酸蛋白酶切割且可包括至少一種選自下列胺基酸序列之序列：APRSF (SEQ ID NO : 130)、APRS (SEQ ID NO : 131)和PRSF (SEQ ID NO : 132)。

【0062】於一些實施態樣中，合適之CM2被至少一種絲胺酸蛋白酶切割且可包括至少一種選自下列胺基酸序列之序列：GLPTFVHL(SEQ ID NO : 135)、GLPTFVH(SEQ ID NO : 136)、GLPTFV(SEQ ID NO : 137)、LPTFVHL (SEQ ID NO : 138)、LPTFVH(SEQ ID NO : 139)和LPTFV (SEQ ID NO : 140)。

【0063】於一些實施態樣中，CM2為至少一種半胱胺酸蛋白酶(CP)之受質。於一些實施態樣中，該CP為豆莢蛋

白酶。於一些實施態樣中，合適之CM2被至少一種半胱胺酸蛋白酶切割且可包括至少一種選自下列胺基酸序列之序列：AAN、SAN和GPTN(SEQ ID NO：152)。

【0064】於一些實施態樣中，該CM1-CM2受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：LSGRSALAHGLF (SEQ ID NO：25)、ALAHGLFSGRSAN (SEQ ID NO：26)、HVPRQVLSGRS (SEQ ID NO：27)、HVPRQVLSGRSAN (SEQ ID NO：28)、TARGPALAHGLF (SEQ ID NO：29)、TARGPVPRQV (SEQ ID NO：30)、APRSALAHGLF (SEQ ID NO：31)、ALAHGLFAPRSF (SEQ ID NO：32)、HVPRQVAPRSF (SEQ ID NO：33)、ALAHGLPTFVHL (SEQ ID NO：34)、GLPTFVHLPRQV (SEQ ID NO：35)、AANALAHGLF (SEQ ID NO：36)、GPTNALAHGLF (SEQ ID NO：37)、ISSGLLSGRSNI (SEQ ID NO：38)、AVGLLAPPGGLSGRSNI (SEQ ID NO：39)、ISSGLLSGRSNIGS (SEQ ID NO：40)、AVGLLAPPGGLSGRSNIGS (SEQ ID NO：41)、ISSGLLSGRSNIG (SEQ ID NO：42) 和 AVGLLAPPGGLSGRSNIG (SEQ ID NO：43)。

【0065】於一些實施態樣中，該呈未經切割之狀態的可活化之抗體具有如下所示之從N端至C端的結構排列：MM-CM1-CM2-AB、AB-CM2-CM1-MM、MM-CM2-CM1-AB或AB-CM1-CM2-MM。

【0066】於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含第

一連接肽(LP1)和第二連接肽(LP2)，且該呈未經切割狀態之抗體具有如下所示之從N端至C端的結構排列：MM1-LP1-CM1-CM2-LP2-AB、AB-LP2-CM2-CM1-LP1-MM、MM1-LP1-CM2-CM1-LP2-AB或AB-LP2-CM1-CM2-LP1-MM。於一些實施態樣中，該LP1和LP2各為長度為約1至20個胺基酸之肽。於一些實施態樣中，該二個連接肽不需要彼此相一致。

【0067】於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該CM1與該CM2之間包括一連接肽(LP')。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該掩蔽部分(MM)與該CM1之間包括一連接肽(LP1)。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該CM2與該AB之間包括一連接肽(LP2)。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該MM與該CM1之間包括一連接肽(LP1)且在該CM2與該AB之間包括一連接肽(LP2)。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該MM與該CM1之間包括一連接肽(LP1)且在該CM1與該CM2之間包括一連接肽(LP')。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該CM1與該CM2之間包括一連接肽(LP')且在該CM2與該AB之間包括一連接肽(LP2)。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該MM與該CM1之間包括一連接肽(LP1)、在該CM1與該CM2之間包括一連接肽(LP')且在該CM2與該AB之間包括一連接肽(LP2)。

【0068】於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該CM1與該CM2之間包括一連接肽(LP')。於一些實施態樣

中，該可活化之抗體在該 AB 與該 CM1 之間包括一連接肽 (LP1)。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該 CM2 與該掩蔽部分 (MM) 之間包括一連接肽 (LP2)。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該 AB 與該 CM1 之間包括一連接肽 (LP1) 且在該 CM2 與該 MM 之間包括一連接肽 (LP2)。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該 AB 與該 CM1 之間包括一連接肽 (LP1) 且在該 CM1 與該 CM2 之間包括一連接肽 (LP')。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該 CM1 與該 CM2 之間包括一連接肽 (LP') 且在該 CM2 與該 MM 之間包括一連接肽 (LP2)。於一些實施態樣中，該可活化之抗體在該 AB 與該 CM1 之間包括一連接肽 (LP1)、在該 CM1 與該 CM2 之間包括一連接肽 (LP') 且在該 CM2 與該 MM 之間包括一連接肽 (LP2)。

【0069】於一些實施態樣中，LP' 為 GG。於一些實施態樣中，LP' 為 GGSGGS (SEQ ID NO：218)。

【0070】於一些實施態樣中，LP1 或 LP2 中至少一者包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：(GS)_n、(GGS)_n、(GSGGS)_n (SEQ ID NO：200) 和 (GGGS)_n (SEQ ID NO：201)，其中 n 為至少一之整數。

【0071】於一些實施態樣中，LP1 或 LP2 中至少一者包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：GGSG (SEQ ID NO：202)、GGSGG (SEQ ID NO：203)、GSGSG (SEQ ID NO：204)、GSGGG (SEQ ID NO：205)、GGGSG (SEQ ID NO：206) 和 GSSSG (SEQ ID NO：207)。

【0072】於一些實施態樣中，LP1包含胺基酸序列 GSSGGSGGSGGSG(SEQ ID NO：208)、GSSGGSGGSGG (SEQ ID NO：209)、GSSGGSGGSGGGS(SEQ ID NO：210)、GSSGGSGGSGGSGGGS (SEQ ID NO：211)、GSSGGSGGSG (SEQ ID NO：212)或GSSGGSGGSGS(SEQ ID NO：213)、GGGSSGGS (SEQ ID NO：214)和 GSSGGSGGSGGSG (SEQ ID NO：215)。

【0073】於一些實施態樣中，LP2包含胺基酸序列 GSS、GGG、GGGS(SEQ ID NO：216)、GSSGT(SEQ ID NO：217)或GSSG(SEQ ID NO：218)。於一些實施態樣中，LP2包含胺基酸序列 GGS。於一些實施態樣中，LP2包含胺基酸序列 GGGG (SEQ ID NO：216)。

【0074】於一些實施態樣中，CM1為MMP之受質且至少包括序列 ALAHGLF (SEQ ID NO：1)；DLAHPLL (SEQ ID NO：2)；AFRHLR (SEQ ID NO：3)；PHGFFQ (SEQ ID NO：4)；SVHHLI (SEQ ID NO：5)；RGPKLYW (SEQ ID NO：6)；RFPYGVW (SEQ ID NO：7)；HVPRQV (SEQ ID NO：8)；SNPFKY (SEQ ID NO：9)；RFPLKV (SEQ ID NO：10)；PFHLR (SEQ ID NO：11)；STVFHM (SEQ ID NO：12)；MGPWFM (SEQ ID NO：13)；RHLAKL (SEQ ID NO：14)；PLGVRGK (SEQ ID NO：15)；和 QNQALRIA (SEQ ID NO：16)。

【0075】於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽或本揭示內容之可活化之抗體包含CM1-CM2受質和

LP2連接子，其中該CM1-CM2包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：LSGRSALAHGLF (SEQ ID NO：25)、ALAHGLFSGRSAN (SEQ ID NO：26)、HVPRQVLSGRS (SEQ ID NO：27)、HVPRQVLSGRSAN (SEQ ID NO：28)、TARGPALAHGLF (SEQ ID NO：29)、TARGPVPRQV (SEQ ID NO：30)、APRSALAHGLF (SEQ ID NO：31)、ALAHGLFAPRSF (SEQ ID NO：32)、HVPRQVAPRSF (SEQ ID NO：33)、ALAHGLPTFVHL (SEQ ID NO：34)、GLPTFVHLPRQV (SEQ ID NO：35)、AANALAHGLF (SEQ ID NO：36)、GPTNALAHGLF (SEQ ID NO：37)、ISSGLLSGRSNI (SEQ ID NO：38) 和 AVGLLAPPGGLSGRSNI (SEQ ID NO：39)且該LP2連接子包含GGGS(SEQ ID NO：216)。

【0076】於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽或本揭示內容之可活化之抗體包含CM1-CM2受質和LP2連接子，其中該CM1-CM2包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：LSGRSALAHGLF (SEQ ID NO：25)、ALAHGLFSGRSAN (SEQ ID NO：26)、HVPRQVLSGRS (SEQ ID NO：27)、HVPRQVLSGRSAN (SEQ ID NO：28)、TARGPALAHGLF (SEQ ID NO：29)、TARGPVPRQV (SEQ ID NO：30)、APRSALAHGLF (SEQ ID NO：31)、ALAHGLFAPRSF (SEQ ID NO：32)、HVPRQVAPRSF (SEQ ID NO：33)、ALAHGLPTFVHL (SEQ ID NO：34)、GLPTFVHLPRQV (SEQ ID NO：35)、AANALAHGLF(SEQ

ID NO : 36) 、 GPTNALAHGLF (SEQ ID NO : 37) 、
ISSGLLSGRSNI (SEQ ID NO : 38) 和
AVGLLAPPGGLSGRSNI (SEQ ID NO : 39)且該 LP2連接子
包含 GGS。

【0077】於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之
多肽或本揭示內容之可活化之抗體包含 CM1-CM2受質和
LP2連接子，其中該 CM1-CM2和 LP2包含選自由下列所組
成之群組的胺基酸序列：LSGRSALAHGLF GGGG(SSEQ ID
NO : 226)、 ALAHGLFSGRSAN GGGG (SEQ ID NO :
227)、 HVPRQVLSGRS GGGG(SSEQ ID NO : 228)、
HVPRQVLSGRSAN GGGG(SSEQ ID NO : 229)、
TARGPALAHGLF GGGG(SSEQ ID NO : 230)、
TARGPVPRQV GGGG(SSEQ ID NO : 231)、 APRSALAHGLF
GGGG(SSEQ ID NO : 232)、 ALAHGLFAPRSF GGGG(SSEQ ID
NO : 233)、 HVPRQVAPRSF GGGG(SSEQ ID NO : 234)、
ALAHGLPTFVHL GGGG(SSEQ ID NO : 235)、
GLPTFVHLPRQV GGGG(SSEQ ID NO : 236)、
AANALAHGLF GGGG(SSEQ ID NO : 237)、 GPTNALAHGLF
GGGG(SSEQ ID NO : 238)、 ISSGLLSGRSNI GGGG(SSEQ ID
NO : 239)和 AVGLLAPPGGLSGRSNI GGGG(SSEQ ID NO :
240)。

【0078】於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之
多肽或本揭示內容之可活化之抗體包含 CM1-CM2受質和
LP2連接子，其中該 CM1-CM2和 LP2包含選自由下列所組

成之群組的胺基酸序列：LSGRSALAHGLF GGS(SEQ ID NO：241)、ALAHGLFSGRSAN GGS(SEQ ID NO：242)、HVPRQVLSGRS GGS(SEQ ID NO：243)、HVPRQVLSGRSAN GGS(SEQ ID NO：244)、TARGPALAHGLF GGS(SEQ ID NO：245)、TARGPVPRQV GGS(SEQ ID NO：246)、APRSALAHGLF GGS(SEQ ID NO：247)、ALAHGLFAPRSF GGS(SEQ ID NO：248)、HVPRQVAPRSF GGS(SEQ ID NO：249)、ALAHGLPTFVHL GGS(SEQ ID NO：250)、GLPTFVHLPRQV GGS(SEQ ID NO：251)、AANALAHGLFGGS (SEQ ID NO：252)、GPTNALAHGLF GGS(SEQ ID NO：253)、ISSGLLSGRSNI GGS(SEQ ID NO：254)和 AVGLLAPPGGLSGRSNI GGS(SEQ ID NO：255)。

【0079】於一些實施態樣中，該AB與該標靶結合之解離常數為約100nM或更小。

【0080】於一些實施態樣中，該可活化之抗體包括與標靶特異地結合之抗體或其抗原結合片段(AB)。於一些實施態樣中，該AB為全長抗體。於一些實施態樣中，該AB為免疫活性片段。於一些實施態樣中，該AB為抗原結合片段。於一些實施態樣中，該AB為單株抗體、結構域抗體、單鏈、Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、scab、dAb、單結構域重鏈抗體或單結構域輕鏈抗體。於一些實施態樣中，該AB為小鼠、其他嚙齒動物、嵌合型、人化或完全

人單株抗體。

【0081】於一些實施態樣中，該 MMP 蛋白酶與該標靶共定位在組織中，且當該抗體暴露於該蛋白酶時，該 MMP 蛋白酶切割抗體中之 CM1。於一些實施態樣中，該 SP 與該標靶共定位在組織中，且當該抗體暴露於該蛋白酶時，該 SP 切割抗體中之 CM2 受質。於一些實施態樣中，該 CP 與該標靶共定位在組織中，且當該抗體暴露於該蛋白酶時，該 CP 切割該抗體中之 CM2 受質。於一些實施態樣中，該 MMP 和 / 或 SP 與該標靶共定位在組織中，且當該抗體暴露於該蛋白酶時，該 MMP 和 / 或 SP 切割該抗體中之 CM1-CM2 受質。於一些實施態樣中，該 MMP 和該 SP 與該標靶共定位在組織中，且當該抗體暴露於該蛋白酶時，該 MMP 和該 SP 中至少一者切割該抗體中之 CM1-CM2 受質。於一些實施態樣中，該 MMP 和 / 或該 CP 與該標靶共定位在組織中，且當該抗體暴露於該蛋白酶時，該 MMP 和 / 或 CP 切割該抗體中之 CM1-CM2 受質。於一些實施態樣中，該 MMP 和該 CP 與該標靶共定位在組織中，且當該抗體暴露於該蛋白酶時，該 MMP 和該 CP 中至少一者切割該抗體中之 CM1-CM2 受質。於一些實施態樣中，該 MMP 和 / 或 CP 和 / 或 SP 與該標靶共定位在組織中，且當該抗體暴露於該蛋白酶時，該 MMP 和 / 或 CP 和 / 或 SP 切割該抗體中之 CM1-CM2 受質。於一些實施態樣中，該 MMP 和該 CP 及該 SP 與該標靶共定位在組織中，且當該抗體暴露於該蛋白酶時，該 MMP、該 SP 和該 CP 中至少一者切割該抗體中之 CM1-CM2 受質。

【0082】於一些實施態樣中，該CM1-CM2受質之CM1受質序列和CM2受質序列各自獨立為長度高達15個胺基酸之多肽。

【0083】於一些實施態樣中，該CM1-CM2受質之CM1受質序列為至少一種MMP之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同MMP切割之多肽序列(例如任何動物多肽序列)基本上不一致。於一些實施態樣中，該CM1-CM2受質之CM1受質序列為至少一種MMP之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同MMP切割之哺乳動物多肽序列基本上不一致。於一些實施態樣中，該CM1-CM2受質之CM1受質序列為至少一種MMP之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同MMP切割之人多肽序列基本上不一致。於一些實施態樣中，該CM1-CM2受質之CM1受質序列為至少一種MMP之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同MMP切割之多肽序列，例如任何動物多肽序列的一致性不超過90%或更高。於一些實施態樣中，該CM1-CM2受質之CM1受質序列為至少一種MMP之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同MMP切割之哺乳動物多肽序列的一致性不超過90%或更高。於一些實施態樣中，該CM1-CM2受質之CM1受質序列為至少一種MMP之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同MMP切割之人多肽序列的一致性不超過90%或更高。

【0084】於一些實施態樣中，該CM1-CM2受質之CM2

受質序列為至少一種 **SP** 和 / 或至少一種 **CP** 之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同 **SP** 切割之多肽序列 (例如任何動物多肽序列) 基本上不一致。於一些實施態樣中，該 **CM1-CM2** 受質之 **CM2** 受質序列為至少一種 **SP** 和 / 或至少一種 **CP** 之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同 **SP** 和 / 或 **CP** 切割之哺乳動物多肽序列基本上不一致。於一些實施態樣中，該 **CM1-CM2** 受質之 **CM2** 受質序列為至少一種 **SP** 和 / 或至少一種 **CP** 之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同 **SP** 和 / 或 **CP** 切割之人多肽序列基本上不一致。於一些實施態樣中，該 **CM1-CM2** 受質之 **CM2** 受質序列為至少一種 **SP** 和 / 或至少一種 **CP** 之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同 **SP** 和 / 或 **CP** 切割之多肽序列 (例如任何動物多肽序列) 的一致性不超過 90% 或更高。於一些實施態樣中，該 **CM1-CM2** 受質之 **CM2** 受質序列為至少一種 **SP** 和 / 或至少一種 **CP** 之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同 **SP** 和 / 或 **CP** 切割之哺乳動物多肽序列的一致性不超過 90% 或更高。於一些實施態樣中，該 **CM1-CM2** 受質之 **CM2** 受質序列為至少一種 **SP** 和 / 或至少一種 **CP** 之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同 **SP** 和 / 或 **CP** 切割之人多肽序列的一致性不超過 90% 或更高。

【 0085 】 於一些實施態樣中，本揭示內容之 **CM1-CM2** 受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：
SEQ ID NO：25至43。於一些實施態樣中，本揭示內容之

CM1-CM2受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：25、26、29、31、32、34、36和37。於一些實施態樣中，本揭示內容之CM1-CM2受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：27、28、30、33和35。於一些實施態樣中，本揭示內容之CM1-CM2受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：25、29、31、36和37。於一些實施態樣中，本揭示內容之CM1-CM2受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：26、32和34。於一些實施態樣中，本揭示內容之CM1-CM2受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：27、28和33。於一些實施態樣中，本揭示內容之CM1-CM2受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：30和35。

【0086】於一些實施態樣中，本揭示內容之可活化之抗體包含CM1-CM2受質及與標靶結合之抗體或其抗原結合片段(AB)和掩蔽部分(MM)，該CM1-CM2受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：25至43，該掩蔽部分(MM)可降低該AB之抗原或表位結合結構域與其標靶結合之能力。於一些實施態樣中，本揭示內容之可活化之抗體包含CM1-CM2受質，以及與標靶結合之抗體或其抗原結合片段(AB)和掩蔽部分(MM)，該CM1-CM2受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：25、26、29、31、32、34、36和37，該掩蔽

部分(MM)可降低AB之抗原或表位結合結構域與其標靶結合之能力。於一些實施態樣中，本揭示內容之可活化之抗體包含CM1-CM2受質，以及與標靶結合之抗體或其抗原結合片段(AB)和掩蔽部分(MM)，該CM1-CM2受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：27、28、30、33和35，該掩蔽部分(MM)可降低AB之抗原或表位結合結構域與其標靶結合之能力。於一些實施態樣中，本揭示內容之可活化之抗體包含CM1-CM2受質，以及與標靶結合之抗體或其抗原結合片段(AB)和掩蔽部分(MM)，該CM1-CM2受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：25、29、31、36和37，該掩蔽部分(MM)可降低AB之抗原或表位結合結構域與其標靶結合之能力。於一些實施態樣中，本揭示內容之可活化之抗體包含CM1-CM2受質，以及與標靶結合之抗體或其抗原結合片段(AB)和掩蔽部分(MM)，該CM1-CM2受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：26、32和34，該掩蔽部分(MM)可降低AB之抗原或表位結合結構域與其標靶結合之能力。於一些實施態樣中，本揭示內容之可活化之抗體包含CM1-CM2受質，以及與標靶結合之抗體或其抗原結合片段(AB)和掩蔽部分(MM)，該CM1-CM2受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：27、28和33，該掩蔽部分(MM)可降低AB之抗原或表位結合結構域與其標靶結合之能力。於一些實施態樣中，本揭示內容之可活化之抗體包含CM1-CM2受

質，以及與標靶結合之抗體或其抗原結合片段(AB)和掩蔽部分(MM)，該CM1-CM2受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：30和35，該掩蔽部分(MM)可降低AB之抗原或表位結合結構域與其標靶結合之能力。

【0087】於一些實施態樣中，可活化之抗體包含CM1-CM2受質和抗EGFR抗體，該CM1-CM2受質包含選自由SEQ ID NO：25至43所組成之群組的胺基酸序列，該抗EGFR抗體包含本文所揭示之抗EGFR抗體的胺基酸序列。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含CM1-CM2受質和抗體，該CM1-CM2受質包含選自由SEQ ID NO：25至43所組成之群組的胺基酸序列，該抗體具有包含胺基酸序列SEQ ID NO：401之輕鏈和包含胺基酸序列SEQ ID NO：400之重鏈。

【0088】於一些實施態樣中，該CM1-CM2係包含在可活化之抗體中，該可活化之抗體具有輕鏈胺基酸序列和重鏈胺基酸序列，該輕鏈胺基酸序列係選自由SEQ ID NO：450至462所組成之群組，該重鏈胺基酸序列為SEQ ID NO：400所示之胺基酸序列。

【0089】於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含CM1受質並包含多肽序列，該CM1受質為至少一種MMP之受質，該多肽序列與任一天然被該相同MMP切割之多肽序列(例如任何動物多肽序列)基本上不一致。於一些實施態樣中，該CM1受質序列為至少一種MMP之受質

並包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同MMP切割之哺乳動物多肽序列基本上不一致。於一些實施態樣中，該CM1受質序列為至少一種MMP之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同MMP切割之人多肽序列基本上不一致。於一些實施態樣中，該CM1受質序列為至少一種MMP之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同MMP切割之多肽序列(例如任何動物多肽序列)的一致性不超過90%或更高。於一些實施態樣中，該CM1受質序列為至少一種MMP之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同MMP切割之哺乳動物多肽序列的一致性不超過90%或更高。於一些實施態樣中，該CM1受質序列為至少一種MMP之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同MMP切割之人多肽序列的一致性不超過90%或更高。於一些實施態樣中，該CM1受質序列為至少一種MMP之受質且包含選自由下列所組成之群組的多肽序列：ALAHGLF(SEQ ID NO：1)、DLAHPLL(SEQ ID NO：2)、RGPKLYW(SEQ ID NO：6)、RFPYGVW(SEQ ID NO：7)和QNQALRIA (SEQ ID NO：16)。

【0090】於一些實施態樣中，本揭示內容之可活化之抗體包含CM1受質，以及與標靶結合之抗體或其抗原結合片段(AB)和掩蔽部分(MM)，該CM1受質包含選自由下列所組成之群組的多肽序列：ALAHGLF(SEQ ID NO：1)、DLAHPLL(SEQ ID NO：2)、RGPKLYW(SEQ ID NO：6)、RFPYGVW(SEQ ID NO：7)和QNQALRIA (SEQ ID NO：

16)，該掩蔽部分(MM)可降低AB之抗原或表位結合結構域與其標靶結合之能力。

【0091】於一些實施態樣中，本揭示內容之經分離之多肽包含CM2受質，該CM2受質為至少一種SP之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同SP切割之多肽序列(例如任何動物多肽序列)基本上不一致。於一些實施態樣中，該CM2受質序列為至少一種SP之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同SP切割之哺乳動物多肽序列基本上不一致。於一些實施態樣中，該CM2受質序列為至少一種SP之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同SP切割之人多肽序列基本上不一致。於一些實施態樣中，該CM2受質序列為至少一種SP之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同SP切割之多肽序列(例如任何動物多肽序列)的一致性不超過90%或更高。於一些實施態樣中，該CM2受質序列為至少一種SP之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同SP切割之哺乳動物多肽序列的一致性不超過90%或更高。於一些實施態樣中，該CM2受質序列為至少一種SP之受質且包含多肽序列，該多肽序列與任一天然被該相同SP切割之人多肽序列的一致性不超過90%或更高。於一些實施態樣中，該CM2受質序列為至少一種SP之受質且包含多肽序列，該多肽序列係選自由下列所組成之群組：APRSF(SEQ ID NO：130)和GLPTFVHL(SEQ ID NO：135)。

【0092】於一些實施態樣中，本揭示內容之可活化之抗體包含CM2受質，以及與標靶結合之抗體或其抗原結合片段(AB)和掩蔽部分(MM)，該CM2受質包含選自由APRSF(SEQ ID NO：130)和GLPTFVHL(SEQ ID NO：135)所組成之群組的胺基酸序列，該掩蔽部分(MM)可降低AB之抗原或表位結合結構域與其標靶結合之能力。

【0093】於一些實施態樣中，本揭示內容之可活化之抗體包含受質，以及與標靶結合之抗體或其抗原結合片段(AB)和掩蔽部分(MM)，該受質包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：1至16，該掩蔽部分(MM)可降低AB之抗原或表位結合結構域與其標靶結合之能力。

【0094】於一些實施態樣中，該CM1-CM2、CM1或CM2受質亦為至少一種另外之蛋白酶的受質。

【0095】於一些實施態樣中，該至少一種另外之蛋白酶為與該切割CM1之MMP不同的MMP。於一些實施態樣中，該至少一種另外之蛋白酶為選自由下列所組成之群組的MMP：MMP1；MMP2；MMP3；MMP7；MMP8；MMP9；MMP10；MMP11；MMP12；MMP13；MMP14；MMP15；MMP16；MMP17；MMP19；MMP20；MMP23；MMP24；MMP26；和MMP27。

【0096】於一些實施態樣中，該至少一種另外之蛋白酶為與該切割CM2之SP不同的SP。於一些實施態樣中，該至少一種另外之SP係選自由下列所組成之群組：uPA；間

質蛋白酶；活化之蛋白C；組織蛋白酶A；組織蛋白酶G；糜蛋白酶；凝血因子蛋白酶，諸如，例如FVIIa、FIXa、FXa、FXIa、FXIIa；彈性蛋白酶；顆粒酶B；胍基苯甲酸酶；HtrA1；人嗜中性粒細胞彈性蛋白酶；乳鐵蛋白；馬拉普星 (Marapsin)；NS3/4A；PACE4；纖溶酶；PSA；tPA；凝血酶；類胰蛋白酶；第II型跨膜絲胺酸蛋白酶 (TTSP)，諸如，例如DESC1、DPP-4、FAP、絲胺酸蛋白酶 (Hepsin)、間質蛋白酶-2、TMPRSS2、TMPRSS3和TMPRSS4。

【0097】於一些實施態樣中，該至少一種另外之蛋白酶係選自由表6中所示者組成之群組。

表 6：示例性蛋白酶和/或酶

ADAMS, ADAMTS, 例如 ADAM8 ADAM9 ADAM10 ADAM12 ADAM15 ADAM17/TACE ADAMDEC1 ADAMTS1 ADAMTS4 ADAMTS5	凋亡蛋白酶, 例如, 凋亡蛋白酶 1 凋亡蛋白酶 2 凋亡蛋白酶 3 凋亡蛋白酶 4 凋亡蛋白酶 5 凋亡蛋白酶 6 凋亡蛋白酶 7 凋亡蛋白酶 8 凋亡蛋白酶 9 凋亡蛋白酶 10 凋亡蛋白酶 14	半胱胺酸蛋白酶類, 例如, 克魯茲蛋白酶 豆莢蛋白酶 輻射松半胱胺酸蛋白酶-2
天門冬胺酸蛋白酶, 例如, BACE 腎素	半胱胺酸組織蛋白酶, 例如, 組織蛋白酶 B 組織蛋白酶 C 組織蛋白酶 K 組織蛋白酶 L 組織蛋白酶 S 組織蛋白酶 V/L2 組織蛋白酶 X/Z/P	KLKs, 例如, KLK4 KLK5 KLK6 KLK7 KLK8 KLK10 KLK11 KLK13 KLK14
天門冬胺酸組織蛋白酶, 例如, 組織蛋白酶 D 組織蛋白酶 E		金屬蛋白酶, 例如, 美普林 腦啡肽酶 PSMA BMP-1

【0098】本揭示內容亦提供包括至少一個第一CM1和第二CM2且與作用劑軛合之抗體。於一些實施態樣中，該第一CM1和第二CM2各為長度不超過15個胺基酸之多肽。於一些實施態樣中，該可活化之抗體為經軛合之可活化之抗體，該呈未經切割之狀態之抗體從N端至C端的結構排列如下：MM-CM1-CM2-AB-作用劑、作用劑-AB-CM2-CM1-MM、MM-CM2-CM1-AB-作用劑或作用劑-AB-CM1-CM2-MM。於一些實施態樣中，該可活化之抗體為經軛合之可活化之抗體，該呈未經切割之狀態的抗體從N端至C端的結構排列如下：作用劑-MM-CM1-CM2-AB、AB-CM2-CM1-MM-作用劑、作用劑-MM-CM2-CM1-AB或AB-CM1-CM2-MM-作用劑。於一些實施態樣中，該可活化之抗體為經軛合之可活化之抗體，該呈未經切割之狀態的抗體從N端至C端的結構排列如下：作用劑-MM-CM1-CM2-AB-作用劑、作用劑-AB-CM2-CM1-MM-作用劑、作用劑-MM-CM2-CM1-AB-作用劑或作用劑-AB-CM1-CM2-MM-作用劑。

【0099】於一些實施態樣中，該可活化之抗體為經軛合之可活化之抗體，其包含掩蔽部分(MM)、第一連接肽(LP1)和第二連接肽(LP2)，且該呈未經切割之狀態的抗體從N端至C端的結構排列如下：MM1-LP1-CM1-CM2-LP2-AB-作用劑、作用劑-AB-LP2-CM2-CM1-LP1-MM、MM1-LP1-CM2-CM1-LP2-AB-作用劑或作用劑-AB-LP2-CM1-CM2-LP1-MM。於一些實施態樣中，該LP1和LP2各為長度

約1至20個胺基酸之肽。於一些實施態樣中，該二個連接肽不需要彼此完全相同。

【0100】於一些實施態樣中，該可活化之抗體為經軛合之可活化之抗體，該經軛合之可活化之抗體包含掩蔽部分(MM)、第一連接肽(LP1)和第二連接肽(LP2)，且該呈未經切割之狀態的抗體從N端至C端的結構排列如下：作用劑-MM1-LP1-CM1-CM2-LP2-AB、AB-LP2-CM2-CM1-LP1-MM-作用劑、作用劑-MM1-LP1-CM2-CM1-LP2-AB或AB-LP2-CM1-CM2-LP1-MM-作用劑。於一些實施態樣中，該LP1和LP2各為長度約1至20個胺基酸之肽。於一些實施態樣中，該二個連接肽不需要彼此完全相同。

【0101】於一些實施態樣中，該可活化之抗體為經軛合之可活化之抗體，該經軛合之可活化之抗體包含掩蔽部分(MM)、第一連接肽(LP1)和第二連接肽(LP2)，該呈未經切割之狀態之抗體從N端至C端的結構排列如下：作用劑-MM1-LP1-CM1-CM2-LP2-AB-作用劑、作用劑-AB-LP2-CM2-CM1-LP1-MM-作用劑、作用劑-MM1-LP1-CM2-CM1-LP2-AB-作用劑或作用劑-AB-LP2-CM1-CM2-LP1-MM-作用劑。於一些實施態樣中，該LP1和LP2各為長度約1至20個胺基酸之肽。於一些實施態樣中，該二個連接肽不需要彼此完全相同。

【0102】於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體在該CM1與該CM2之間包括一連接肽(LP')。於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體在該掩蔽部分(MM)與

該 CM1 之間包括一連接肽 (LP1)。於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體在該 CM2 與該 AB 之間包括一連接肽 (LP2)。於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體在該 MM 與該 CM1 之間包括一連接肽 (LP1) 且在該 CM2 與該 AB 之間包括一連接肽 (LP2)。於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體在該 MM 與該 CM1 之間包括一連接肽 (LP1) 且在該 CM1 與該 CM2 之間包括一連接肽 (LP')。於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體在該 CM1 與該 CM2 之間包括一連接肽 (LP') 且在該 CM2 與該 AB 之間包括一連接肽 (LP2)。於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體在該 MM 與該 CM1 之間包括一連接肽 (LP1)、在該 CM1 與該 CM2 之間包括一連接肽 (LP') 且在該 CM2 與該 AB 之間包括一連接肽 (LP2)。

【0103】於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體在該 CM1 與該 CM2 之間包括一連接肽 (LP')。於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體在該 AB 與該 CM1 之間包括一連接肽 (LP1)。於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體在該 CM2 與該掩蔽部分 (MM) 之間包括一連接肽 (LP2)。於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體在該 AB 與該 CM1 之間包括一連接肽 (LP1) 且在該 CM2 與該 MM 之間包括一連接肽 (LP2)。於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體在該 AB 與該 CM1 之間包括一連接肽 (LP1) 且在該 CM1 與該 CM2 之間包括一連接肽 (LP')。於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體在該 CM1 與該

CM2之間包括一連接肽(LP')且在該CM2與該MM之間包括一連接肽(LP2)。於一些實施態樣中，該經軛合之可活化之抗體在該AB與該CM1之間包括一連接肽(LP1)、在該CM1與該CM2之間包括一連接肽(LP')且在該CM2與該MM之間包括一連接肽(LP2)。

【0104】於一些實施態樣中，該LP'為GG。於一些實施態樣中，該LP'為GGSGGS(SEQ ID NO：218)。

【0105】於一些實施態樣中，該LP1或LP2中至少一者包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列： $(GS)_n$ 、 $(GGS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ (SEQ ID NO：381)和 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO：382)，其中n為至少一之整數。

【0106】於一些實施態樣中，該LP1或LP2中至少一者包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：GGSG(SEQ ID NO：202)、GGSGG(SEQ ID NO：203)、GSGSG(SEQ ID NO：204)、GSGGG(SEQ ID NO：205)、GGGSG(SEQ ID NO：206)和GSSSG(SEQ ID NO：207)。

【0107】於一些實施態樣中，該LP1包含胺基酸序列GSSGGSGGSGGSGG(SEQ ID NO：208)、GSSGGSGGSGG(SEQ ID NO：209)、GSSGGSGGSGGGS(SEQ ID NO：210)、GSSGGSGGSGGSGGGS(SEQ ID NO：211)、GSSGGSGGSGG(SEQ ID NO：212)或GSSGGSGGSGGS(SEQ ID NO：213)和GGGSSGGS (SEQ ID NO：214)。

【0108】於一些實施態樣中，該LP2包含胺基酸序列GSS、GGS、GGGS(SEQ ID NO：215)、GSSGT(SEQ ID

NO：216)或GSSG(SEQ ID NO：217)。

【0109】於一些實施態樣中，該CM1-CM2受質係連接或以其他方式附接至抗體。例如使用CM1-CM2將一或多種作用劑連接至與指定標靶結合之抗體或其抗原結合片段(AB)，使得該CM1-CM2在暴露於MMP和/或SP和/或CP時被切割，再從AB中釋出作用劑。示例性標靶包括，但不限於表1中所示之標靶。示例性AB包括，但不限於表2中所示之抗體。

【0110】於一些實施態樣中，該AB與該標靶結合之解離常數為約100 nM或更小。

【0111】於一些實施態樣中，該抗體包括與標靶特異地結合之抗體或其抗原結合片段。於一些實施態樣中，該與標靶結合之抗體或其免疫活性片段為單株抗體、結構域抗體、單鏈、Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、scab、dAb、單結構域重鏈抗體或單結構域輕鏈抗體。於一些實施態樣中，該與標靶結合之抗體或其免疫活性片段為小鼠、其他嚙齒動物、嵌合型、人化或全人單株抗體。

【0112】於一些實施態樣中，該MM與該AB結合之解離常數不超過該AB與該標靶結合之解離常數。

【0113】於一些實施態樣中，該呈經切割之狀態的MM不會干擾或與該AB競爭與標靶結合

【0114】於一些實施態樣中，該MM為長度約2至40個胺基酸之多肽。例如，該MM為長度高達約40個胺基酸之多肽。

【0115】於一些實施態樣中，該MM多肽序列與該AB之任一天然結合伴的序列不同。於一些實施態樣中，該MM多肽序列與該AB之任何天然結合伴的胺基酸序列之同一性不超過50%。於一些實施態樣中，該MM多肽序列與該AB之任何天然結合伴的胺基酸序列之同一性不超過40%、30%、25%、20%、15%或10%。

【0116】於一些實施態樣中，該與AB或可活化之抗體的AB軛合的作用劑為治療劑。於一些實施態樣中，該作用劑為抗腫瘤藥。於一些實施態樣中，該作用劑為毒素或其片段。如本文所使用者，毒素之片段為保留毒性活性之片段。於一些實施態樣中，該作用劑係經由可切割之連接子與AB軛合。於一些實施態樣中，該作用劑係經由包括至少一個CM1-CM2受質序列之連接子與AB軛合。於一些實施態樣中，該作用劑係經由不可切割之連接子與該AB軛合。於一些實施態樣中，該作用劑為微管抑制劑。於一些實施態樣中，該作用劑為核酸破壞劑，諸如DNA烷化劑或DNA嵌入劑或其他DNA破壞劑。於一些實施態樣中，該作用劑為選自表3中所列之群組的作用劑。於一些實施態樣中，該作用劑為多拉司他汀。於一些實施態樣中，該作用劑為澳瑞他汀或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為澳瑞他汀E或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為單甲基澳瑞他汀E(MMAE)。於一些實施態樣中，該作用劑為單甲基澳瑞他汀D(MMAD)。於一些實施態樣中，該作用劑為美登木素或美登木素衍生物。於一

些實施態樣中，該作用劑為DM1或DM4。於一些實施態樣中，該作用劑為倍癌黴素或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為加利車黴素或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為吡咯並苯並二氮雜草。於一些實施態樣中，該作用劑為吡咯並苯並二氮雜草二聚體。

【0117】於一些實施態樣中，該作用劑為抗炎劑。

【0118】於一些實施態樣中，該抗體和/或可活化之抗體亦包括可檢測部分。於一些實施態樣中，該可檢測部分為診斷劑。

【0119】於一些實施態樣中，該經軛合之抗體和/或經軛合之可活化之抗體包括可檢測之示蹤劑。於一些實施態樣中，該可檢測之示蹤劑包括成像劑、造影劑、酶、螢光示蹤劑、發色團、染料、一或多種金屬離子或基於配體之示蹤劑。於一些實施態樣中，該成像劑包含放射性同位素。於一些實施態樣中，該放射性同位素為銨或鎳。於一些實施態樣中，該造影劑包含碘、釷或氧化鐵。於一些實施態樣中，該酶包含辣根過氧化物酶、鹼性磷酸酶或 β -半乳糖苷酶。於一些實施態樣中，該螢光示蹤劑包含黃色螢光蛋白(YFP)、青色螢光蛋白(CFP)、綠色螢光蛋白(GFP)、經修飾之紅色螢光蛋白(mRFP)、紅色螢光蛋白tdimer2(RFP tdimer2)、HCRED或鎔衍生物。於一些實施態樣中，該發光示蹤劑包含N-甲基吡啶鎘衍生物。於一些實施態樣中，該示蹤劑包含Alexa Fluor[®]示蹤劑，諸如Alexa Fluor[®] 680或Alexa Fluor[®] 750。於一些實施態樣中，

該基於配體之示蹤劑包含生物素、抗生物素蛋白、鏈黴親和素或一或多個半抗原。

【0120】於一些實施態樣中，該可活化之抗體的抗體和/或AB天然含有一或多個二硫鍵。於一些實施態樣中，該AB可經工程處理以包括一或多個二硫鍵。

【0121】於一些實施態樣中，該抗體和/或經軛合之抗體為單特異性的。於一些實施態樣中，該抗體和/或經軛合之抗體為多特異性的，本文中稱為多特異性抗體和/或經軛合之多特異性抗體。於一些實施態樣中，該多特異性抗體和/或經軛合之多特異性抗體為雙特異性或三官能性。於一些實施態樣中，該抗體和/或經軛合之抗體被配製成前雙特異性T細胞接合器(前BITE)分子的一部分。於一些實施態樣中，該抗體和/或經軛合之抗體被配製成前嵌合型抗原受體(前CAR)修飾之T細胞或其他經工程處理之受體或其他免疫效應細胞，諸如CAR修飾之NK細胞的一部分。於一些實施態樣中，該可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體被配製成前嵌合型抗原受體(CAR)修飾之T細胞的一部分。於一些實施態樣中，該可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體被配製成前嵌合型抗原受體(CAR)修飾之NK細胞的一部分。

【0122】於一些實施態樣中，該可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體為單特異性的。於一些實施態樣中，該可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體為多特異性的，本文中稱為多特異性可活化之抗體和/或經軛合

之多特異性可活化之抗體。除非另有說明，如本文所使用之術語，諸如“可活化之抗體”及其所有語法變體意圖涵蓋，但不限於其中該可活化之抗體為本揭示內容之多特異性可活化之抗體的實施態樣。除非另有說明，如本文所使用之術語，諸如“經軛合之可活化之抗體”及其所有語法變體意圖涵蓋，但不限於其中該經軛合之可活化之抗體為本揭示內容之經軛合之多特異性可活化的抗體之實施態樣。於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體和/或經軛合之多特異性可活化之抗體為雙特異性或三官能性的。於一些實施態樣中，該可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體被配製成前雙特異性T細胞接合器(前BITE)分子的一部分。於一些實施態樣中，該可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體被配製成前嵌合型抗原受體(前CAR)修飾之T細胞或其他經工程處理之受體的一部分。

【0123】於一些實施態樣中，本文所描述之抗體、抗體軛合物、可活化之抗體、經軛合之可活化之抗體、多特異性之可活化之抗體和/或經軛合之多特異性可活化的抗體係與一或多種另外之作用劑或另外之作用劑的組合結合使用。合適之另外的作用劑包括用於預期應用(諸如，例如癌症)的當前藥物和/或外科療法。例如，該可活化之抗體、經軛合之可活化之抗體、多特異性之可活化之抗體和/或經軛合之多特異性可活化的抗體可與另外之化療劑或抗腫瘤劑結合使用。

【0124】於一些實施態樣中，該可活化之抗體為多特

異性可活化之抗體。本文提供之多特異性可活化之抗體為可識別二或更多種不同抗原或表位，且包括至少一個掩蔽部分(MM)之多特異性抗體，該至少一個掩蔽部分(MM)與該多特異性抗體的至少一個抗原或表位結合結構域連接，使得偶聯之MM降低該抗原或表位結合結構域與其標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該MM經由CM1-CM2受質(其作為至少一種MMP和至少一種SP之受質)與該多特異性抗體的抗原或表位結合結構域偶聯。本文提供之可活化的多特異性抗體在循環中穩定，在治療和/或診斷的預期部位被活化，但在正常(即，健康)組織中不穩定，且當被活化時，顯現出至少與該對應的、未經修飾的多特異性抗體相當之與標靶之結合。

【0125】於一些實施態樣中，本文提供之可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體(包括，但不限於本揭示內容之多特異性可活化之抗體和/或經軛合之多特異性可活化的抗體)至少包括與表皮生長因子受體(EGFR)特異地結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，且含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列之組合，其中VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列中至少一者係選自：至少包含胺基酸序列NYGVH(SEQ ID NO：220)之VH CDR1序列；至少包含胺基酸序列VIWSGGNTDYNTPTFTS(SEQ ID NO：221)之VH CDR2序列；至少包含胺基酸序列ALTYDYEFAY(SEQ ID NO：222)之VH CDR3序列；及彼等之組合。

【0126】於一些實施態樣中，本文提供之可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體(包括，但不限於本揭示內容之多特異性可活化之抗體和/或經軛合之多特異性可活化的抗體)至少包括與EGFR特異地結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，且含有VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列之組合，其中VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列中至少一者係選自：至少包含胺基酸序列RASQSIGTNIH(SEQ ID NO：223)之VL CDR1序列；至少包含胺基酸序列KYASESIS(SEQ ID NO：224)之VL CDR2序列；至少包含胺基酸序列QQNNNWPTT(SEQ ID NO：225)之VL CDR3序列，以及彼等之組合。

【0127】於一些實施態樣中，本文提供之可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體(包括，但不限於本揭示內容之多特異性可活化之抗體和/或經軛合之多特異性可活化的抗體)至少包括與EGFR特異地結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，且含有VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列之組合，其中VH CDR1序列、VH CDR2序列和VH CDR3序列中至少一者係選自：包含與胺基酸序列NYGVH(SEQ ID NO：220)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高之同一性的序列之VH CDR1序列；包含與胺基酸序列VIWSGGNTDYNTPTTS (SEQ ID NO：221)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高之同一性的序列之VH CDR2序列；包含與胺基酸序列

ALTYDYEFAY (SEQ ID NO : 222)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高之同一性的序列之VH CDR3序列；及彼等之組合。

【0128】於一些實施態樣中，本文提供之可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體(包括，但不限於本揭示內容之多特異性可活化之抗體和/或經軛合之多特異性可活化的抗體)至少包括與EGFR特異地結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，且含有VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列之組合，其中VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列中至少一者係選自：包含與胺基酸序列RASQSIGTNIH(SEQ ID NO : 223)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高之同一性的序列之VL CDR1序列；包含與胺基酸序列KYASESIS(SEQ ID NO : 224)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高之同一性的序列之VL CDR2序列；包含與胺基酸序列QQNNNWPTT(SEQ ID NO : 225)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高之同一性的VL CDR3序列，以及彼等之組合。

【0129】於一些實施態樣中，本文提供之可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體(包括，但不限於本揭示內容之多特異性可活化之抗體和/或經軛合之多特異性可活化的抗體)至少包括與EGFR特異地結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，且含有VH CDR1序列、VH CDR2序

列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列之組合，其中該VH CDR1序列至少包含胺基酸序列NYGVH(SEQ ID NO：220)；該VH CDR 2序列至少包含胺基酸序列VIWSGGNTDYNTPTFS(SEQ ID NO：221)；該VH CDR3序列至少包含胺基酸序列ALTYDYEFAY(SEQ ID NO：222)；該VL CDR1序列至少包含胺基酸序列RASQSIGTNIH(SEQ ID NO：223)；該VL CDR2序列至少包含胺基酸序列KYASESIS(SEQ ID NO：224)；且該VL CDR3序列至少包含胺基酸序列QQNNNWPTT(SEQ ID NO：225)。

【0130】於一些實施態樣中，本文提供之可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體(包括，但不限於本揭示內容之多特異性可活化之抗體和/或經軛合之多特異性可活化的抗體)至少包括與EGFR特異地結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，且含有VH CDR1序列、VH CDR2序列、VH CDR3序列、VL CDR1序列、VL CDR2序列和VL CDR3序列之組合，其中該VH CDR1序列包含與胺基酸序列NYGVH(SEQ ID NO：220)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高之同一性的序列；該VH CDR2序列包含與胺基酸序列VIWSGGNTDYNTPTFS (SEQ ID NO：221)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高之同一性的序列；該VH CDR3序列包含與胺基酸序列ALTYDYEFAY (SEQ ID NO：222)具有至少90%、91%、

92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高之同一性的序列；該 VL CDR1 序列包含與胺基酸序列 RASQSIGTNIH(SEQ ID NO：223)具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高之同一性的序列；該 VL CDR2 序列包含與胺基酸序列 KYASESIS(SEQ ID NO：224)具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高之同一性的序列；且該 VL CDR3 序列包含與胺基酸序列 QQNNNWPTT(SEQ ID NO：225)具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高之同一性的序列。

【0131】於一些實施態樣中，本文提供之可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體(包括，但不限於本揭示內容之多特異性可活化之抗體和/或經軛合之多特異性可活化的抗體)包含 CM1-CM2 受質和抗 Jagged 抗體，該 CM1-CM2 受質包含選自由 SEQ ID NO：25 至 43 所組成之群組的胺基酸序列，該抗 Jagged 抗體包含本文所揭示之抗 Jagged 抗體的胺基酸序列。於一些實施態樣中，本文所提供之可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體(包括，但不限於本揭示內容之多特異性可活化之抗體和/或經軛合之多特異性可活化的抗體)包含 CM1-CM2 受質和抗體，該 CM1-CM2 受質包含選自由 SEQ ID NO：25 至 43 所組成之群組的胺基酸序列，該抗體具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO：401 之輕鏈和包含胺基酸序列 SEQ ID NO：400 之重鏈。

【0132】於一些實施態樣中，本文提供之可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體(包括，但不限於本揭示內容之多特異性可活化之抗體和/或經軛合之多特異性可活化的抗體)至少包括SEQ ID NO：400之重鏈胺基酸序列和選自由SEQ ID NO：403至423和450至462所組成之群組的輕鏈胺基酸序列。

【0133】於一些實施態樣中，該可活化之抗體亦包括與AB軛合之作用劑。於一些實施態樣中，該作用劑為治療劑。於一些實施態樣中，該作用劑為抗腫瘤藥。於一些實施態樣中，該作用劑為毒素或其片段。於一些實施態樣中，該作用劑經由連接子與AB軛合。於一些實施態樣中，該連接子為可切割之連接子。於一些實施態樣中，該作用劑為微管抑制劑。於一些實施態樣中，該作用劑為核酸破壞劑，諸如DNA烷化劑或DNA嵌入劑或其他DNA破壞劑。於一些實施態樣中，該連接子為可切割之連接子。於一些實施態樣中，該作用劑經由包括至少一個CM1-CM2受質序列之連接子與AB軛合。於一些實施態樣中，該作用劑為選自表3中所列之群組的作用劑。於一些實施態樣中，該作用劑為多拉司他汀。於一些實施態樣中，該作用劑為澳瑞他汀或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為澳瑞他汀E或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為單甲基澳瑞他汀E(MMAE)。於一些實施態樣中，該作用劑為單甲基澳瑞他汀D(MMAD)。於一些實施態樣中，該作用劑為美登木素或美登木素衍生物。於一些實施態樣

中，該作用劑為DM1或DM4。於一些實施態樣中，該作用劑為倍癌黴素或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為加利車黴素或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為吡咯並苯並二氮雜草。於一些實施態樣中，該作用劑為吡咯並苯並二氮雜草二聚體。

【0134】於一些實施態樣中，該作用劑為抗炎劑。

【0135】於一些實施態樣中，該可活化之抗體亦包括可檢測部分。於一些實施態樣中，該可檢測部分為診斷劑。

【0136】於一些實施態樣中，該經軛合之抗體包括可檢測之示蹤劑。於一些實施態樣中，該可檢測之示蹤劑包括成像劑、造影劑、酶、螢光示蹤劑、發色團、染料、一或多種金屬離子或基於配體之示蹤劑。於一些實施態樣中，該成像劑包含放射性同位素。於一些實施態樣中，該放射性同位素為銻或鎔。於一些實施態樣中，該造影劑包含碘、釷或氧化鐵。於一些實施態樣中，該酶包含辣根過氧化物酶、鹼性磷酸酶或 β -半乳糖苷酶。於一些實施態樣中，該螢光示蹤劑包含黃色螢光蛋白(YFP)、青色螢光蛋白(CFP)、綠色螢光蛋白(GFP)、經修飾之紅色螢光蛋白(mRFP)、紅色螢光蛋白tdimer2(RFP tdimer2)、HCRED或鎔衍生物。於一些實施態樣中，該發光示蹤劑包含N-甲基吡啶鎢衍生物。於一些實施態樣中，該示蹤劑包含Alexa Fluor[®]示蹤劑，諸如Alexa Fluor[®] 680或Alexa Fluor[®] 750。於一些實施態樣中，該基於配體之示蹤劑包含生物素、抗

生物素蛋白、鏈黴親和素或一或多個半抗原。

【0137】於一些實施態樣中，該可活化之抗體亦包括信號肽。於一些實施態樣中，該信號肽經由間隔子與該可活化之抗體軛合。於一些實施態樣中，該間隔子在無信號肽存在之情況下與該可活化之抗體軛合。於一些實施態樣中，該間隔子係直接連接至該可活化之抗體的MM。於一些實施態樣中，該間隔子係直接連接至該可活化之抗體的MM，從N端至C端之結構配置為間隔子-MM-CM1-CM2受質-AB。與該可活化之抗體的MM之N-端直接連接的間隔子實例為選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：QGQSGQ(SEQ ID NO：153)、GQSGQ(SEQ ID NO：154)、QSGQ(SEQ ID NO：155)、SGQ、GQ和Q。於一些實施態樣中，該間隔子至少包括胺基酸序列QGQSGQ(SEQ ID NO：153)。於一些實施態樣中，該間隔子至少包括胺基酸序列GQSGQ(SEQ ID NO：154)。於一些實施態樣中，該間隔子至少包括胺基酸序列QSGQ(SEQ ID NO：155)。於一些實施態樣中，該間隔子至少包括胺基酸序列SGQ。於一些實施態樣中，該間隔子至少包括胺基酸序列GQ。於一些實施態樣中，該間隔子至少包括胺基酸序列Q。

【0138】於一些實施態樣中，該可活化之抗體的AB天然含有一或多個二硫鍵。於一些實施態樣中，該AB可經工程處理以包括一或多個二硫鍵。

【0139】於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期較該對應抗體之血清半衰期長；例如，該可活化之

抗體的 pK 較該對應抗體之 pK 長。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期類似於該對應抗體之血清半衰期。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少15天。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少12天。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少11天。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少10天。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少9天。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少8天。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少7天。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少6天。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少5天。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少4天。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少3天。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少2天。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少24小時。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少20小時。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少18小時。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清

半衰期在投予至生物時為至少16小時。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少14小時。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少12小時。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少10小時。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少8小時。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少6小時。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少4小時。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期在投予至生物時為至少3小時。

【0140】本揭示內容亦提供包括可活化之抗體的組成物和方法，該可活化之抗體特異地結合指定標靶之抗體或抗體片段(AB)，其中該AB與掩蔽部分(MM)偶聯，該掩蔽部分(MM)降低AB與其標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該可活化之抗體進一步包括CM1-CM2受質，該CM1-CM2受質為至少一種MMP和至少一種SP之受質。本文提供之組成物和方法使一或多種作用劑能夠附接在AB中之一或多個半胱胺酸殘基而不損害該可活化之抗體的活性(例如掩蔽、活化或結合活性)。於一些實施態樣中，本文提供之組成物和方法使一或多種作用劑能夠附接在AB中之一或多個半胱胺酸殘基而不會降低或擾亂MM中之一或多個二硫鍵。本文提供之組成物和方法產生與一或多種作用劑(例如多種治療劑、診斷劑和/或預防劑中之任一者)軋合

之可活化之抗體，例如，於一些實施態樣中，無任一作用劑與該可活化之抗體的**MM**軛合。本文提供之組成物和方法產生經軛合之可活化之抗體，其中該**MM**保留能有效且有效率地掩蔽該呈未經切割狀態之可活化抗體的**AB**之能力。本文提供之組成物和方法產生經軛合之可活化之抗體，其中在可切割該**CM1-CM2**受質之**MMP**的存在下，該可活化之抗體仍被活化，即，被切割。

【0141】該可活化之抗體具有至少一個用於作用劑之軛合點，但在本文提供之方法和組成物中可用於與作用劑軛合的點少於所有可能軛合的點。於一些實施態樣中，該一或多個軛合點為參與二硫鍵之硫原子。於一些實施態樣中，該一或多個軛合點為參與鏈間二硫鍵之硫原子。於一些實施態樣中，該一或多個軛合點為參與鏈間硫鍵之硫原子，而非參與鏈內二硫鍵之硫原子。於一些實施態樣中，該一或多個軛合點為半胱氨酸或其他含有硫原子之胺基酸殘基的硫原子。該殘基可天然出現在抗體結構中或可藉由定點誘變、化學轉化或錯誤納入非天然胺基酸而併入抗體中。

【0142】本文亦提供製備可活化之抗體的軛合物之方法，該可活化之抗體的軛合物在**AB**中具有一或多個鏈間二硫鍵且在**MM**中具有一或多個鏈內二硫鍵，並提供與游離硫醇反應之藥物。該方法通常包括使用還原劑(諸如，例如**TCEP**)部分還原該可活化之抗體中的鏈間二硫鍵；及將該與游離硫醇反應之藥物與該經部分還原之可活化之抗

體軛合。如本文所使用者，術語部分還原係指其中可活化之抗體與還原劑接觸且被還原的二硫鍵較全部二硫鍵少(例如少於所有可能之軛合位點)的情況。於一些實施態樣中，被還原之軛合位點少於所有可能之軛合位點的99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或少於5%。

【0143】於一些實施態樣中，提供方法來還原可活化之抗體和將作用劑(例如藥物)與可活化之抗體軛合，而導致可選擇性放置作用劑。該方法大抵包括使用還原劑部分還原該可活化之抗體，使得該可活化之抗體的掩蔽部分或其他非AB部分中之任何軛合位點未被還原，並將該作用劑與AB中之鏈間硫醇軛合。選擇軛合位點以允許作用劑被理想放置，從而允許在理想位點發生軛合。該還原劑為，例如TCEP。該還原反應條件，諸如，例如還原劑對可活化之抗體的比例、培育時間、培育過程中之溫度、還原反應溶液之pH，等係藉由鑑別產生經軛合之可活化之抗體(其中該MM保留有效且有效率地掩蔽該呈未經切割狀態之可活化抗體的AB之能力)的條件來測定。還原劑對可活化之抗體的比率根據該可活化之抗體而改變。於一些實施態樣中，該還原劑對可活化之抗體的比例為約20：1至1：1、約10：1至1：1、約9：1至1：1、約8：1至1：1、約7：1至1：1、約6：1至1：1、約5：1至1：1、約4：1至1：1、約3：1至1：1、約2：1至1：1、約20：1至1：

1.5、約 10 : 1 至 1 : 1.5、約 9 : 1 至 1 : 1.5、約 8 : 1 至 1 : 1.5、約 7 : 1 至 1 : 1.5、約 6 : 1 至 1 : 1.5、約 5 : 1 至 1 : 1.5、約 4 : 1 至 1 : 1.5、約 3 : 1 至 1 : 1.5、約 2 : 1 至 1 : 1.5、約 1.5 : 1 至 1 : 1.5 或約 1 : 1 至 1 : 1.5。於一些實施態樣中，該比率係在約 5 : 1 至 1 : 1 之範圍內。於一些實施態樣中，該比率係在約 5 : 1 至 1.5 : 1 之範圍內。於一些實施態樣中，該比率係在約 4 : 1 至 1 : 1 之範圍內。於一些實施態樣中，該比率係在約 4 : 1 至 1.5 : 1 之範圍內。於一些實施態樣中，該比率係在約 8 : 1 至約 1 : 1 之範圍內。於一些實施態樣中，該比率係在約 2.5 : 1 至 1 : 1 之範圍內。

【0144】於一些實施態樣中，提供還原該可活化之抗體的 AB 中之鏈間二硫鍵並將作用劑(例如含硫醇之作用劑，諸如藥物)與所產生之鏈間硫醇軛合以將作用劑選擇性地定位之方法。該方法大抵包括使用還原劑部分還原該 AB 以形成至少二個鏈間硫醇而不在該可活化之抗體中形成所有可能之鏈間硫醇；並將該作用劑與該部分還原之 AB 的鏈間硫醇軛合。例如，以理想比例之還原劑：可活化之抗體將該可活化之抗體的 AB 在約 37°C 下部分還原約 1 小時。於一些實施態樣中，該還原劑與可活化之抗體的比例為約 20 : 1 至 1 : 1、約 10 : 1 至 1 : 1、約 9 : 1 至 1 : 1、約 8 : 1 至 1 : 1、約 7 : 1 至 1 : 1、約 6 : 1 至 1 : 1、約 5 : 1 至 1 : 1、約 4 : 1 至 1 : 1、約 3 : 1 至 1 : 1、約 2 : 1 至 1 : 1、約 20 : 1 至 1 : 1.5、約 10 : 1 至 1 : 1.5、約 9 : 1 至 1 : 1.5、約 8 : 1 至 1 : 1.5、約 7 : 1 至 1 : 1.5、約 6 : 1 至 1 : 1.5、約 5 :

1至1：1.5、約4：1至1：1.5、約3：1至1：1.5、約2：1至1：1.5、約1.5：1至1：1.5或約1：1至1：1.5。於一些實施態樣中，該比率為約5：1至1：1。於一些實施態樣中，該比率為約5：1至1.5：1。於一些實施態樣中，該比率為約4：1至1：1。於一些實施態樣中，該比率為約4：1至1.5：1。於一些實施態樣中，該比率為約8：1至約1：1。於一些實施態樣中，該比率為約2.5：1至1：1。

【0145】該含硫醇之作用劑可為，例如半胱胺酸或N-乙醯基半胱胺酸。該還原劑可為，例如TCEP。於一些實施態樣中，可在軛合之前使用例如柱色譜法、透析或滲濾來純化該經還原之可活化之抗體。於一些實施態樣中，該經還原之抗體在部分還原之後和軛合之前未被純化。

【0146】本揭示內容亦提供部分還原之可活化之抗體，該可活化之抗體中至少一個鏈間二硫鍵已被使用還原劑還原，而未干擾該可活化之抗體中之任何鏈內二硫鍵，其中該可活化之抗體包括與該標靶特異地結合之抗體或其抗原結合片段(AB)、抑制該呈未經切割狀態的可活化之抗體的AB與標靶結合之掩蔽部分(MM)和與該AB偶聯之CM1-CM2受質，其中該CM1-CM2受質為作為至少一種MMP和一種SP之受質的多肽。於一些實施態樣中，該MM經由該CM1-CM2受質與AB偶聯。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的一或多個鏈內二硫鍵未被該還原劑干擾。於一些實施態樣中，該可活化之抗體內之MM的一或多個鏈內二硫鍵未被該還原劑干擾。於一些實施態樣中，該呈

未經切割狀態的可活化之抗體從N端至C端之結構配置如下：MM-CM1-CM2受質-AB或AB-CM1-CM2受質-MM。於一些實施態樣中，該還原劑為TCEP。

【0147】本揭示內容亦提供經部分還原之可活化之抗體，包括，但不限於本揭示內容之多特異性可活化之抗體，該可活化之抗體中至少一個鏈間二硫鍵已使用還原劑還原，而未干擾或以其他方式損害該可活化之抗體的活性和/或效力，其中該可活化之抗體包括與該標靶特異地結合之抗體或其抗原結合片段(AB)、抑制該呈未經切割之狀態的可活化之抗體的AB與標靶結合之掩蔽部分(MM)和與該AB偶聯之CM1-CM2受質，且該CM1-CM2受質為作為蛋白酶受質之多肽。該可活化之抗體的活性和/或效力的非限制性實例為掩蔽活性、該可活化之抗體活化和/或該可活化之抗體的結合活性。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的一或多個鏈內二硫鍵不會被該還原劑干擾。於一些實施態樣中，該可活化之抗體內的MM之一或多個鏈內二硫鍵不會被還原劑干擾。於一些實施態樣中，該呈未經切割之狀態的可活化之抗體從N端至C端之結構佈置如下：MM-CM1-CM2受質-AB或AB-CM1-CM2受質-MM。於一些實施態樣中，該還原劑為TCEP。

【0148】本揭示內容亦提供經軛合之可活化之抗體，其包括與單甲基溴瑞他汀D(MMAD)有效載荷連接之可活化之抗體，其中該可活化之抗體包括與標靶特異地結合之抗體或其抗原結合片段(AB)、抑制該呈未經切割之狀態的

可活化之抗體的AB與標靶結合之掩蔽部分(MM)和與該AB偶聯之CM1-CM2受質，其中該CM1-CM2受質為作為至少一種MMP和一種SP之受質的多肽。

【0149】於一些實施態樣中，該與MMAD軛合之可活化之抗體可利用數種用於將作用劑連接至AB之方法的其中任一者來軛合：(a) 附接至該AB之碳水化合物部分或(b) 附接至該AB之巰基或(c) 附接至該AB之胺基或(d) 附接至該AB之羧基。

【0150】於一些實施態樣中，該MMAD有效載荷係經由連接子與該AB軛合。於一些實施態樣中，該MMAD有效載荷係經由連接子與該AB中之半胱胺酸軛合。於一些實施態樣中，該MMAD有效載荷係經由連接子與該AB中之離胺酸軛合。於一些實施態樣中，該MMAD有效載荷係經由連接子與該AB中之另一殘基軛合，諸如本文所揭示之那些殘基。於一些實施態樣中，該連接子為含硫醇之連接子。於一些實施態樣中，該連接子為可切割之連接子。於一些實施態樣中，該連接子為不可切割之連接子。於一些實施態樣中，該連接子係選自由表5和6中所示之連接子所組成的群組。於一些實施態樣中，該可活化之抗體和MMAD有效載荷係經由馬來醯亞胺己醯基-纈胺酸-瓜胺酸連接子連接。於一些實施態樣中，該可活化之抗體和MMAD有效載荷係經由馬來醯亞胺PEG-纈胺酸-瓜胺酸連接子連接。於一些實施態樣中，該可活化之抗體和MMAD有效載荷係經由馬來醯亞胺己醯基-纈胺酸-瓜胺酸-對胺基

苄氧羰基連接子連接。於一些實施態樣中，該可活化之抗體和MMAD有效載荷係經由馬來醯亞胺PEG-纈胺酸-瓜胺酸-對胺基苄氧羰基連接子連接。於一些實施態樣中，該MMAD有效載荷係使用本文所揭示之部分還原和軛合技術與AB軛合。

【0151】本揭示內容亦提供包括本文呈現之一或多個CM1-CM2受質序列的多肽和其他較大之分子。作為非限制性實例，本文呈現之CM1-CM2受質序列可用於前藥組成物及彼之使用方法中。本文呈現之這些CM1-CM2受質序列亦可用於探針和其他檢測劑及彼之使用方法。例如，本文呈現之CM1-CM2受質序列可與螢光劑和其他淬滅劑結合使用以產生檢測劑，諸如成像劑和/或其他診斷劑。本技藝之一般技術人員將理解，本文呈現之CM1-CM2受質序列可用於本技藝中將使用可被至少一種MMP和至少一種SP切割之受質的任何組成物和/或方法中。

【0152】本揭示內容亦提供編碼本文所描述之抗體和/或可活化之抗體的經分離之核酸分子，以及包括這些經分離之核酸分子序列的載體。本揭示內容提供藉由在導致該抗體和/或可活化之抗體表現的條件下培養細胞來產生該抗體和/或可活化之抗體的方法，其中該細胞包含該載體。

【0153】本揭示內容提供製造本揭示內容之經軛合的抗體之方法，該經軛合之抗體與指定標靶結合，該方法係藉由下列步驟進行：(a)在導致抗體表現之條件下培養包含

編碼該抗體之核酸構建體的細胞，(i)其中該抗體包括CM1-CM2受質，且(ii)其中該CM1-CM2受質為多肽，該多肽係作為基質金屬蛋白酶和絲胺酸蛋白酶之受質；(b)回收該抗體；及(c)將該回收之抗體與一或多種另外之作用劑軛合。

【0154】本揭示內容亦提供製造本揭示內容之可活化之抗體之方法，該可活化之抗體係與指定之標靶結合，該方法藉由下列步驟進行：(a)在可導致該可活化之抗體表現的條件下培養包含編碼該可活化之抗體之核酸構建體的細胞，其中該可活化之抗體包含掩蔽部分(MM)、CM1-CM2受質和與該標靶特異地結合之抗體或其抗原結合片段(AB)，(i)其中該CM1-CM2受質為多肽，該多肽係作為MMP和SP之受質；且(ii)其中該CM1-CM2受質在該可活化之抗體中的定位使得呈未經切割狀態時，該MM干擾該AB與該標靶之特異結合，而呈切割狀態時，該MM不會干擾或與該AB競爭與該標靶特異結合；和(b)回收該可活化之抗體。

【0155】本發明亦提供製造本揭示內容之經軛合的可活化之抗體之方法，該抗體在活化狀態下與指定之標靶結合，該方法包含：(a)在可導致該可活化之抗體表現的條件下培養包含編碼該可活化之抗體之核酸構建體的細胞，其中該可活化之抗體包含掩蔽部分(MM)、CM1-CM2受質和與該標靶特異地結合之抗體或其抗原結合片段(AB)，(i)其中該CM1-CM2受質為多肽，該多肽作為MMP和SP和/或CP

之受質；且(ii)其中該CM1-CM2受質在該可活化之抗體中的定位使得呈未經切割狀態時，該MM干擾該AB與該標靶之特異結合，而呈切割狀態時，該MM不會干擾或與該AB競爭與該標靶特異結合；和(b)回收該可活化之抗體；及(c)將該回收之抗體與一或多種另外之作用劑軛合。

【0156】本揭示內容提供藉由投予有此需要之個體治療上有效量之如本文所描述的經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體來預防、延緩進展、治療、減輕症狀或以其他方式改善個體中與標靶相關之疾病的方法。

【0157】本揭示內容提供藉由投予有此需要之個體治療上有效量之如本文所描述之經軛合的抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體來預防、延緩進展、治療、減輕症狀或以其他方式改善個體中之發炎和/或發炎性疾病的方法。本揭示內容提供藉由投予有此需要之個體治療上有效量之如本文所描述之經軛合的抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體來預防、延緩進展、治療、減輕症狀或以其他方式改善個體中之癌症的方法。本揭示內容亦提供藉由投予有此需要之個體治療上有效量之如本文所描述之經軛合的抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體來預防、延緩進展、治療、減輕症狀或以其他方式改善個體中之自體免疫疾病的方法。

【0158】這些方法和用途之任一實施態樣中所使用之經軛合的抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗

體可在該疾病之任何階段投予。例如，可對罹患任何階段(從早期到轉移)之癌症的患者投予該經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體。本文中術語個體和患者可互換使用。

【0159】於一些實施態樣中，該個體為哺乳動物，諸如人、非人靈長類動物、伴侶動物(例如貓、狗、馬)、農場動物、工作動物或動物園動物。於一些實施態樣中，該個體為嚙齒動物。於一些實施態樣中，該個體為人。於一些實施態樣中，該個體為伴侶動物。於一些實施態樣中，該個體為接受獸醫護理之動物。

【0160】對罹患或易感受與異常標靶表現和/或活性相關之疾病或病症的個體投予經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體及其治療性配製劑。使用本技藝已知之多種方法的任一者鑑定罹患或易感受與異常之標靶表現和/或活性相關之疾病或病症的個體。例如使用多種用於評估健康狀況之臨床和/或實驗室測試(諸如身體檢查及血液、尿液和/或糞便分析)的任一者來鑑定罹患癌症或其他腫瘤性疾病之個體。例如，使用多種用於評估健康狀況之臨床和/或實驗室測試(諸如身體檢查和/或體液分析，例如血液、尿液和/或糞便分析)的任一者來鑑定罹患發炎和/或發炎性疾病之個體。

【0161】若達到多種實驗室或臨床目標中之任一者，則認為對罹患與異常標靶表現和/或活性相關之疾病或病症的個體投予經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合

之可活化之抗體是成功的。例如，若與該疾病或病症相關之一或多種症狀減輕、減少、抑制或未進展至進一步(即，惡化)狀態，則認為對罹患與異常標靶表現和/或活性相關之疾病或病症的個體投予經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體是成功的。若該疾病或病症緩解或未進展至進一步(即，惡化)狀態，則認為對罹患與異常標靶表現和/或活性相關之疾病或病症的個體投予經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體是成功的。

【0162】於一些實施態樣中，本文所描述之抗體、經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體係與一或多種另外之作用劑或另外之作用劑組合結合使用。合適之另外的作用劑包括用於所欲應用(諸如，例如癌症)的當前藥學和/或外科療法。例如，抗體、經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體可與另外之化學治療劑或抗腫瘤劑結合使用。

【0163】於一些實施態樣中，該另外之藥劑為化學治療劑，諸如選自由下列所組成之群組的化學治療劑：多西紫杉醇、太平洋紫杉醇、阿布沙星(abraxane)(即，與白蛋白軛合之太平洋紫杉醇)、阿黴素、奧沙利鉑(oxaliplatin)、卡鉑、順鉑、伊立替康和吉西他濱。

【0164】於一些實施態樣中，該另外之作用劑為檢查點抑制劑、激酶抑制劑、靶向腫瘤微環境中之抑制劑的作用劑和/或T細胞或NK激動劑。於一些實施態樣中，該另

外之作用劑為放射療法，其係單獨或與另一額外之作用劑(諸如化學治療劑或抗腫瘤劑)組合使用。於一些實施態樣中，該另外之作用劑為疫苗、致癌病毒(oncovirus)和/或DC活化劑，諸如(非限制性實例)類鐸受體(toll like receptor) (TLR)激動劑和/或 α -CD40。於一些實施態樣中，該另外之作用劑為靶向腫瘤之抗體，該靶向腫瘤之抗體係經過設計以經由ADCC或經由與毒素(例如抗體藥物軛合物(ADC))直接軛合來殺死該腫瘤。

【0165】於一些實施態樣中，該檢查點抑制劑為選自由下列所組成之群組的標靶之抑制劑：CTLA-4、LAG-3、PD-1、PD-1、TIGIT、TIM-3、B7H4、BTLA和Vista。於一些實施態樣中，該激酶抑制劑係選自由下列所組成之群組：B-RAFi、MEKi和Btk抑制劑，諸如依魯替尼(ibrutinib)。於一些實施態樣中，該激酶抑制劑為克唑替尼(crizotinib)。於一些實施態樣中，該腫瘤微環境抑制劑係選自由下列所組成之群組：IDO抑制劑、 α -CSF1R抑制劑、 α -CCR4抑制劑、TGF- β 、髓源抑制細胞或T調節細胞。於一些實施態樣中，該激動劑係選自由下列所組成之群組：Ox40、GITR、CD137、ICOS、CD27和HVEM。

【0166】於一些實施態樣中，該抑制劑為CTLA-4抑制劑。於一些實施態樣中，該抑制劑為LAG-3抑制劑。於一些實施態樣中，該抑制劑為PD-1抑制劑。於一些實施態樣中，該抑制劑為PD-1抑制劑。於一些實施態樣中，該抑制劑為TIGIT抑制劑。於一些實施態樣中，該抑制劑為

TIM-3抑制劑。於一些實施態樣中，該抑制劑為B7H4抑制劑。於一些實施態樣中，該抑制劑為Vista抑制劑。於一些實施態樣中，該抑制劑為B-RAFi抑制劑。於一些實施態樣中，該抑制劑為MEKi抑制劑。於一些實施態樣中，該抑制劑為Btk抑制劑。於一些實施態樣中，該抑制劑為依魯替尼。於一些實施態樣中，該抑制劑為克唑替尼。於一些實施態樣中，該抑制劑為IDO抑制劑。於一些實施態樣中，該抑制劑為 α -CSF1R抑制劑。於一些實施態樣中，該抑制劑為 α -CCR4抑制劑。於一些實施態樣中，該抑制劑為TGF- β 。於一些實施態樣中，該抑制劑為髓源抑制細胞。於一些實施態樣中，該抑制劑為T調節細胞。

【0167】於一些實施態樣中，該激動劑為Ox40。於一些實施態樣中，該激動劑為GITR。於一些實施態樣中，該激動劑為CD137。於一些實施態樣中，該激動劑為ICOS。於一些實施態樣中，該激動劑為CD27。於一些實施態樣中，該激動劑為HVEM。

【0168】於一些實施態樣中，該抗體、經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體係在治療期間和/或治療之後與一或多種另外之作用劑(諸如，例如化學治療劑、抗-發炎劑和/或免疫抑制劑)聯合投予。於一些實施態樣中，該抗體、經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體及該另外之作用劑係配製成單一治療性組成物，且該抗體、經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體及另外之作用劑係同時投

予。或者，該抗體、經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體及該另外之作用劑係彼此分開，例如各自配製成分開之治療組成物，且該抗體、經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體，以及該另外之作用劑係在治療方案期間在不同時間投予。例如，該抗體、經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體係在投予該另外之作用劑之前投予，該抗體、經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體係接續在該另外投予的作用劑之後投予，或者該抗體、經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體，以及該另外之作用劑係以交替方式投予。如本文所描述者，該抗體、經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體，以及該另外之作用劑係以單劑量或多劑量投予。

【0169】於一些實施態樣中，該抗體、經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體，以及該另外之作用劑係同時投予。例如，可將該抗體、經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體，以及該另外之作用劑配製成單一組成物或以二或更多個單獨之組成物型式投予。於一些實施態樣中，該抗體、經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體，以及該另外之作用劑係依次投予，或者該抗體、經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體，以及該另外之作用劑係在治療方案期間之不同時間投予。

【0170】於一些實施態樣中，該經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體係在治療期間和/或之後與一或多種另外之作用劑(非限制性實例為，諸如抗發炎劑、免疫抑制劑、化學治療劑(諸如烷化劑)、抗代謝藥、抗微管劑、拓撲異構酶抑制劑、細胞毒性抗生素和/或任何其他核酸破壞劑)聯合投予。於一些實施態樣中，該另外之作用劑為紫杉烷，諸如太平洋紫杉醇(例如阿布沙星(Abraxane®))。於一些實施態樣中，該另外之作用劑為抗代謝物，諸如吉西他濱(gemcitabine)。於一些實施態樣中，該另外之作用劑為烷化劑，諸如基於鉑之化學療法，諸如卡鉑或順鉑。於一些實施態樣中，該另外之作用劑為靶向劑，諸如激酶抑制劑，例如索拉非尼(sorafenib)或厄洛替尼(erlotinib)。於一些實施態樣中，該另外之作用劑為靶向劑，諸如另一抗體，例如單株抗體(例如貝伐單抗(bevacizumab))、雙特異性抗體或多特異性抗體。於一些實施態樣中，該另外之作用劑為蛋白體抑制劑，諸如硼替佐米(bortezomib)或卡非佐米(carfilzomib)。於一些實施態樣中，該另外之作用劑為免疫調節劑，諸如來那度胺(lenalidomide)或IL-2。於一些實施態樣中，該另外之作用劑為放射照射。於一些實施態樣中，該另外之作用劑為本技藝之技術熟習人士視為護理標準的作用劑。於一些實施態樣中，該另外之作用劑為本技藝之技術熟習人士所熟知的化學治療劑。

【0171】於一些實施態樣中，該另外之作用劑為抗

體、另一經軛合之抗體、另一可活化之抗體和/或另一經軛合之可活化之抗體。於一些實施態樣中，該另外之作用劑為抗體、另一經軛合之抗體、另一可活化之抗體和/或另一經軛合之可活化之抗體，其針對與該第一經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體相同之標靶。於一些實施態樣中，該另外之作用劑為抗體、另一經軛合之抗體、另一可活化之抗體和/或另一經軛合之可活化之抗體，其針對與該第一經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體不同之標靶。

【0172】於一些實施態樣中，該經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體係同時投予。例如，該經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體，以及該另外之作用劑可配製成單一組成物或以二或更多個單獨之組成物型式投予。於一些實施態樣中，該經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體，以及該另外之作用劑係依序投予，或者該抗體和/或經軛合之抗體，以及該另外之作用劑係在治療方案期間之不同時間投予。例如，該抗體和/或經軛合之抗體係在投予該另外之作用劑之前投予、該抗體和/或經軛合之抗體係在投予該另外之作用劑之後投予，或者該抗體和/或經軛合之抗體，以及該另外之作用劑係以交替方式投予。如本文所描述者，該抗體和/或經軛合之抗體，以及該另外之作用劑係在單一劑量或多個劑量中。

【0173】本揭示內容亦提供在多種診斷和/或預防性

適應症中使用該經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體的方法和套組。

【0174】根據本揭示內容之醫藥組成物可包括本揭示內容之抗體、經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體及載體。這些醫藥組成物可包含在套組中，諸如，例如診斷套組。

【0175】該經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體包括特異地結合標靶之抗體或其抗原結合片段(AB)。AB之標靶之示例性類別包括，但不必然限於細胞表面受體和分泌出之結合蛋白(例如生長因子)、可溶性酶、結構蛋白(例如膠原蛋白、纖連蛋白)等。於一些實施態樣中，該經軛合之抗體和/或可活化之抗體具有與細胞外標靶(通常為細胞外蛋白標靶)結合之AB。於一些實施態樣中，該經軛合之抗體和/或可活化之抗體係經過設計以供細胞攝取並可在細胞內切換。

【0176】該AB為表1中所列之為非限制性實例的任何標靶之結合併。

表 1：示例性標靶

1-92-LFA-3	CD52	DL44	HVEM	LIF-R	STEAP1
α -4 整合素	CD56	DLK1	透明質酸酶	Lewis X	STEAP2
α -V 整合素	CD64	DLL4	ICOS	LIGHT	TAG-72
α 4 β 1 整合素	CD70	DPP-4	IFN α	LRP4	TAPA1
α 4 β 7 整合素	CD71	DSG1	IFN β	LRRC26	TGF β
AGR2	CD74	EGFR	IFN γ	MCSP	TIGIT
抗-Lewis-Y		EGFRviii	IgE	間皮素	TIM-3
Apelin J 受體	CD80	內皮素 B 受體 (ETBR)	IgE 受體 (Fc ϵ RI)	MRP4	TLR2
APRIL	CD81	ENPP3	IGF	MUC1	TLR4
B7-H4	CD86	EpCAM	IGF1R	黏蛋白-16 (MUC16, CA-125)	TLR6
BAFF	CD95	EPHA2	IL1B	Na/K ATP 酶	TLR7
BTLA	CD117	EPHB2	IL1R	中性粒細胞彈性蛋白酯	TLR8
C5 補體	CD125	ERBB3	IL2	NGF	TLR9
C-242	CD132 (IL-2RG)	RSV 之 F 蛋白	IL11	納卡斯蛋白	TMEM31
CA9	CD133	FAP	IL12	Notch 受體	TNF α
CA19-9 (Lewis a)	CD137	FGF-2	IL12p40	Notch 1	TNFR
碳酸酐酶 9	CD138	FGF8	IL-12R, IL-12R β 1	Notch 2	TNFRS12 A
CD2	CD166	FGFR1	IL13	Notch 3	TRAIL-R1
CD3	CD172A	FGFR2	IL13R	Notch 4	TRAIL-R2
CD6	CD248	FGFR3	IL15	NOV	轉鐵蛋白
CD9	CDH6	FGFR4	IL17	OSM-R	轉鐵蛋白受體
CD11a	CEACAM5 (CEA)	葉酸受體	IL18	OX-40	TRK-A
CD19	CEACAM6 (NCA-90)	GAL3ST1	IL21	PAR2	TRK-B
CD20	CLAUDIN-3	G-CSF	IL23	PDGF-AA	uPAR
CD22	CLAUDIN-4	G-CSFR	IL23R	PDGF-BB	VAP1
CD24	cMet	GD2	IL27/IL27R (wsx1)	PDGFR α	VCAM-1
CD25	膠原蛋白	GITR	IL29	PDGFR β	VEGF
CD27	Cripto	GLUT1	IL-31R	PD-1	VEGF-A
CD28	CSFR	GLUT4	IL31/IL31R	PD-L1	VEGF-B
CD30	CSFR-1	GM-CSF	IL2R	PD-L2	VEGF-C

CD33	CTLA-4	GM-CSFR	IL4	磷脂醯基絲胺酸	VEGF-D
CD38	CTGF	GP IIb/IIIa 受體	IL4R	P1GF	VEGFR1
CD40	CXCL10	Gp130	IL6, IL6R	PSCA	VEGFR2
CD40L	CXCL13	GPIIB/IIIA	胰島素受體	PSMA	VEGFR3
CD41	CXCR1	GPNMB	Jagged 配體	RAAG12	VISTA
CD44	CXCR2	GRP78	Jagged 1	RAGE	WISP-1
CD44v6		HER2/neu	Jagged 2	SLC44A4	WISP-2
CD47	CXCR4	HGF	LAG-3	磷酸鞘氨醇 1	WISP-3
CD51	CYR61	hGH			

【 0177 】 該 AB 為表 2 中所列之作為非限制性實例之抗體或係源自表 2 中所列之抗體。

表 2：Ab之示例性來源

抗體商標名 (抗體名稱)	靶的
Avastin™ (貝伐單抗)	VEGF
Lucentis™ (雷珠單抗)	VEGF
Erbix™ (西妥昔單抗)	EGFR
Vectibix™ (帕尼單抗)	EGFR
Remicade™ (英夫利單抗)	TNF α
Humira™ (阿達禾單抗)	TNF α
Tysabri™ (那他珠單抗)	整合素 $\alpha 4$
Simulect™ (巴斯利昔單抗)	IL2R
Soliris™ (伊庫麗單抗)	補體 C5
Raptiva™ (依法珠單抗)	CD11a
Bexxar™ (托西莫單抗)	CD20
Zevalin™ (替伊莫單抗)	CD20
Rituxan™ (利妥昔單抗)	CD20
奧曲利珠單抗	CD20
Arzerra™ (歐法木單抗)	CD20
Gazyva™ (阿妥珠單抗)	CD20
Zenapax™ (達克珠單抗)	CD25
Adcetris™ (布崙妥昔單抗)	CD30
Myelotarg™ (吉妥珠單抗)	CD33
Mylotarg™ (奧吉妥珠單抗)	CD33
Campath™ (阿來組單抗)	CD52
ReoPro™ (阿比西單抗)	糖蛋白受體 IIb/IIIa
Xolair™ (奧馬珠單抗)	IgE
Herceptin™ (曲妥珠單抗)	Her2
Kadcyla™ (曲妥珠單抗胺丹寧)	Her2
Synagis™ (帕利珠單抗)	RSV之F蛋白
(伊匹木單抗)	CTLA-4
(曲妥單抗)	CTLA-4
Hu5c8	CD40L
(帕妥珠單抗)	Her2-neu
(厄妥索單抗)	CD3/Her2-neu
恩瑞舒™ (阿巴西普)	CTLA-4
(他尼珠單抗)	NGF
(巴維單抗)	磷脂醯絲胺酸
(扎魯單抗)	EGFR
(馬帕木單抗)	EGFR
(馬妥珠單抗)	EGFR
(尼莫妥單抗)	EGFR

ICR62	EGFR
mAb 528	EGFR
CH806	EGFR
MDX-447	EGFR/CD64
(伊決洛單抗)	EpCAM
RAV12	RAAG12
huJ591	PSMA
Enbrel™ (伊那西普)	TNF-R
Amevive™ (阿法賽特)	1-92-LFA-3
Antril™, Kineret™ (阿那白滯素)	IL-1Ra
GC1008	TGFβ
	Notch, 例如, Notch 1
	Jagged 1或Jagged 2
(阿德卡單抗)	EpCAM
(菲吉木單抗)	IGF1R
(托珠單抗)	IL-6 受體
Stelara™ (優斯它單抗)	IL-12/IL-23
Prolia™ (狄諾塞單抗)	RANKL

【0178】 本文提供之可活化之抗體和可活化之抗體組成物包含至少一種與標靶(例如人標靶)特異地結合之抗體或其抗體片段(本揭示內容全文中統稱為AB)，其中該AB係藉由掩蔽部分(MM)修飾。

【0179】 於一些實施態樣中，選擇與特異性抗體或抗體片段一起使用之掩蔽部分。例如，與結合EGFR之抗體一起使用之合適的掩蔽部分包括包含序列CISPRG(SEQ ID NO：165)之MM。MM之非限制性實例可包括諸如下列序列：CISPRGC(SEQ ID NO：166)；CISPRGCG(SEQ ID NO：167)；CISPRGCPDGPYVMY(SEQ ID NO：168)；CISPRGCPDGPYVM(SEQ ID NO：169)；CISPRGCEPGTYVPT(SEQ ID NO：170)和CISPRGCPGQIWHPP(SEQ ID NO：171)。其他合適之掩蔽

部分包括 PCT 刊物編號 WO 2010/081173 中揭示之任一 EGFR 特異性掩蔽部分，諸如下列非限制性實例：

GSHCLIPINMGAPSC (SEQ ID NO: 172);
 CISPRGCGGSSASQSGQSHCLIPINMGAPSC (SEQ ID NO: 173);
 CNHHYFYTCGCISPRGCPG (SEQ ID NO: 174); ADHVFWGSYGCISPRGCPG (SEQ ID NO: 175); CHHVYWGHC GCISPRGCPG (SEQ ID NO: 176); CPHFTTTSCGCISPRGCPG (SEQ ID NO: 177); CNHHYHYTCGCISPRGCPG (SEQ ID NO: 178);
 CPHVSFGSCGCISPRGCPG (SEQ ID NO: 179); CPYYTLSYGCISPRGCPG (SEQ ID NO: 180); CNHVYFGTCGCISPRGCPG (SEQ ID NO: 181); CNHFTLTTCGCISPRGCPG (SEQ ID NO: 182); CHHFTLTTCGCISPRGCPG (SEQ ID NO: 183);
 YNPCATPMCCISPRGCPG (SEQ ID NO: 184); CNHHYFYTCGCISPRGCG (SEQ ID NO: 185); CNHHYHYTCGCISPRGCG (SEQ ID NO: 186); CNHVYFGTCGCISPRGCG (SEQ ID NO: 187); CHHVYWGHC GCISPRGCG (SEQ ID NO: 188); CPHFTTTSCGCISPRGCG (SEQ ID NO: 189); CNHFTLTTCGCISPRGCG (SEQ ID NO: 190);
 CHHFTLTTCGCISPRGCG (SEQ ID NO: 191); CPYYTLSYGCISPRGCG (SEQ ID NO: 192); CPHVSFGSCGCISPRGCG (SEQ ID NO: 193); ADHVFWGSYGCISPRGCG (SEQ ID NO: 194); YNPCATPMCCISPRGCG (SEQ ID NO: 195); CHHVYWGHC GCISPRGCG (SEQ ID NO: 196); C(N/P)H(H/V/F)(Y/T)(F/W/T/L)(Y/G/T/S)(T/S/Y/H)CGCISPRGCG (SEQ ID NO: 197); CISPRGCGQPIPSVK (SEQ ID NO: 198); CISPRGCTQPYHVSR (SEQ ID NO: 199); 和/或 CISPRGCNAVSGGLGS (SEQ ID NO: 164)。

【0180】與未使用 MM 修飾之 AB 與標靶之特異性結合相比較，或與親本 AB 與標靶之特異性結合相比較，當使用 MM 修飾 AB 且在標靶之存在下時，AB 與其標靶之特異性結合減少或受抑制。

【0181】使用 MM 修飾之 AB 與標靶結合之 K_d 值較未使用 MM 修飾之 AB 與標靶結合之 K_d 值或親本 AB 與標靶結合之 K_d 值高出至少 5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000

倍或更多倍，或高出5至10、10至100、10至1,000、10至10,000、10至100,000、10至1,000,000、10至10,000,000、100至1,000、100至10,000、100至100,000、100至1,000,000、100至10,000,000、1000至10000、1000至100,000、1,000至1,000,000、1000至10,000,000、10,000至100,000、10,000至1,000,000、10,000至10,000,000、100,000至1,000,000或100,000至10,000,000倍。相反地，使用MM修飾之AB與標靶結合之結合親和力較未使用MM修飾之AB與標靶結合之結合親和力或親本AB與標靶結合之結合親和力低至少2、3、4、5、10、20、25、40、50、100、250、500、1000、2500、5000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000或更多倍，或低於5至10、10至100、10至1,000、10至10,000、10至100,000、10至1,000,000、10至10,000,000、100至1,000、100至10,000、100至100,000、100至1,000,000、100至10,000,000、1,000至10,000、1,000至100,000、1,000至1,000,000、1000至10,000,000、10,000至100,000、10,000至1,000,000、10,000至10,000,000、100,000至1,000,000或100,000至10,000,000倍。

【0182】該MM對該AB之解離常數(K_d)通常較該AB對標靶之 K_d 高。該MM對該AB之 K_d 可較該AB對標靶之 K_d 高至少5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、100,000、1,000,000或甚至10,000,000倍。相反地，該MM對該AB之結合親和力通常低於AB對標靶

之結合親和力。該 MM 對該 AB 之結合親和力可較 AB 對標靶之結合親和力低至少 5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、100,000、1,000,000 或甚至 10,000,000 倍。

【0183】與未使用 MM 修飾之 AB 與標靶之特異性結合相比較或親本 AB 與標靶之特異性結合相比較，當使用 MM 修飾該 AB 且存有標靶時，該 AB 與其標靶之特異性結合減少或受抑制。當在體內或玻管內分析中測量時，與未使用 MM 修飾之 AB 與標靶之結合相比較或親本 AB 與標靶之結合相比較，當使用 MM 修飾時，該 AB 與該標靶結合之能力可被降低至少 50%、60%、70%、80%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%，甚至 100%，持續至少 2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84 或 96 小時或 5、10、15、30、45、60、90、120、150 或 180 天或 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 或 12 個月或更久的時間。

【0184】該 MM 抑制 AB 與標靶結合。該 MM 與 AB 之抗原結合結構域結合並抑制 AB 與標靶結合。該 MM 可空間上抑制 AB 與該標靶結合。MM 可異位抑制該 AB 與其標靶結合。在該等實施態樣中，當在體內或玻管內分析中測量時，當使用 MM 修飾或與 MM 偶聯之 AB 且存有標靶時，AB 不與該標靶結合或基本上不與該標靶結合，或 AB 與該標靶之結合不超過未使用 MM 修飾之 AB、親本 AB 或未與 MM 偶聯之 AB 與該標靶之結合的 0.001%、0.01%、0.1%、

1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%或50%，且持續至少2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84或96小時或5、10、15、30、45、60、90、120、150或180天或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12個月或更久之時間。

【0185】當AB與MM偶聯或使用MM修飾時，該MM“掩蔽”或減少或以其他方式抑制AB與標靶之特異性結合。當AB與MM偶聯或使用MM修飾時，該偶聯或修飾可引起結構改變而減少或抑制AB與其標靶特異地結合之能力。

【0186】與MM偶聯或使用MM修飾之AB可藉由下式表示(從胺基(N)端區到羧基(C)端區之順序)：

(MM)-(AB)

(AB)-(MM)

(MM)-L-(AB)

(AB)-L-(MM)

其中MM為掩蔽部分，AB為抗體或其抗體片段，而L為連接子。於許多實施態樣中，在該組成物中插入一或多個連接子，例如彈性連接子以提供彈性可能是理想的。

【0187】於某些實施態樣中，該MM並非該AB之天然結伴。於一些實施態樣中，該MM與該AB之任何天然結伴不含有或基本上不含有同源性。於一些實施態樣中，該MM與該AB之任何天然結伴的相似性不超過5%、

10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70、75%或80%。於一些實施態樣中，該 MM與該 AB之任何天然結合伴的同一性不超過5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%。於一些實施態樣中，該 MM與該 AB之任何天然結合伴的同一性不超過25%。於一些實施態樣中，該 MM與該 AB之任何天然結合伴的同一性不超過50%。於一些實施態樣中，該 MM與該 AB之任何天然結合伴的同一性不超過20%。於一些實施態樣中，該 MM與該 AB之任何天然結合伴的同一性不超過10%。

【0188】於一些實施態樣中，該可活化之抗體包括藉由MM修飾之AB且亦包括至少一個可切割部分(CM1)和至少一個第二可切割部分(CM2)，該至少一個可切割部分(CM1)為至少一種基質金屬蛋白酶(MMP)之受質，該至少一個第二可切割部分(CM2)為至少一種絲胺酸蛋白酶(SP)之受質。該可活化之抗體表現出與AB之標靶可活化/可切換之結合。可活化之抗體通常包括抗體或抗體片段(AB)(其係藉由掩蔽部分(MM)修飾或與掩蔽部分(MM)偶聯)及CM1-CM2受質。

【0189】該可活化之抗體的元件係佈置成使該MM和CM1- CM2受質被定位成當呈經切割(或相對活性)狀態且存有標靶時，該AB與該標靶結合，而當呈未經切割(或相對失活)狀態且存有標靶時，該AB與其標靶之特異性結合

減少或受抑制。由於該 AB 與其標靶特異結合之能力被 MM 抑制或掩蔽，該 AB 與其標靶之特異性結合減少。

【0190】使用 MM 和 CM1-CM2 受質修飾之 AB 對該標靶之 K_d 較未使用 MM 和 CM1-CM2 受質修飾之 AB 對該標靶之 K_d 或親本 AB 對該標靶之 K_d 高至少 5、10、20、25、40、50、100、250、500、1000、2500、5000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000 倍或更高，或高出 5 至 10、10 至 100、10 至 1,000、10 至 10,000、10 至 100,000、10 至 1,000,000、10 至 10,000,000、100 至 1,000、100 至 10,000、100 至 100,000、100 至 1,000,000、100 至 10,000,000、1,000 至 10,000、1,000 至 100,000、1,000 至 1,000,000、1000 至 10,000,000、10,000 至 100,000、10,000 至 1,000,000、10,000 至 10,000,000、100,000 至 1,000,000 或 100,000 至 10,000,000 倍。相反地，使用 MM 和 CM1-CM2 受質修飾之 AB 對該標靶之結合親和力較未使用 MM 和 CM1-CM2 受質修飾之 AB 對該標靶之結合親和力或親本 AB 對該標靶之結合親和力低至少 2、3、4、5、10、20、25、40、50、100、250、500、1000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000 倍或更低，或低 5 至 10、10 至 100、10 至 1,000、10 至 10,000、10 至 100,000、10 至 1,000,000、10 至 10,000,000、100 至 1,000、100 至 10,000、100 至 100,000、100 至 1,000,000、100 至 10,000,000、1,000 至 10,000、1,000 至 100,000、1,000 至

1,000,000、1000至10,000,000、10,000至100,000、10,000至1,000,000、10,000至10,000,000、100,000至1,000,000或100,000至10,000,000倍。

【0191】與未使用MM和CM1-CM2受質修飾之AB或親本AB與其標靶之特異性結合相比較，當使用MM和CM1-CM2受質修飾AB且存有標靶，但不存有修飾劑(例如MMP和SP)時，AB與其標靶之特異性結合減少或受抑制。當在體內或在玻管內分析中測量時，與親本AB與其標靶之結合或未使用MM和CM1-CM2受質修飾之AB與其標靶之結合相比較，當使用MM和CM1-CM2受質修飾時，AB與其標靶結合之能力可減少至少50%、60%、70%、80%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%，甚至100%，且持續至少2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84或96小時或5、10、15、30、45、60、90、120、150或180天或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12個月或更久。

【0192】如本文所使用者，術語經切割之狀態係指該可活化之抗體在修飾後，即，藉由至少一種基質金屬蛋白酶和/或至少一種絲胺酸蛋白酶切割CM1-CM2受質後之狀況。如本文所使用之術語未經切割之狀態或完全未經切割係指無MMP和/或SP切割CM1-CM2受質時，該可活化之抗體的狀態。如上文所討論者，本文所使用之術語“可活化之抗體”係同時指呈未經切割(天然)狀態和呈經切割狀態之可活化之抗體。本文中，呈經切割狀態之可活化之抗體亦

稱為經活化之抗體和/或經活化之可活化之抗體。一般技術人士將清楚明白的是，於一些實施態樣中，由於CM1-CM2受質被蛋白酶切割，導致至少釋出該MM，該經切割之可活化之抗體可能缺乏MM。

【0193】可活化的或可切換的係指該可活化之抗體在受抑制、掩蔽或未經切割之狀態(即，第一構形)時顯現出第一標靶結合水準，而在未受抑制、未被掩蔽和/或經切割之狀態(即，第二構形)時顯現出第二標靶結合水準，其中該第二標靶結合水準高於第一標靶結合水準。通常，與不存在該切割劑的情況相比較，當存有能夠切割該CM1-CM2受質之切割劑時，標靶更能接近該可活化之抗體的AB。因此，當該可活化之抗體呈未經切割之狀態時，該AB與該標靶之結合受抑制，且可被掩蔽而無法與該標靶結合(即，第一構形之AB無法與標靶結合)，而在經切割之狀態下，該AB與該標靶之結合未被抑制或未被掩蔽。

【0194】選擇該可活化之抗體的CM1-CM2受質和AB，使得該AB代表指定標靶之結合部分，且該CM1-CM2受質代表MMP和SP之受質，其中該MMP和/或SP與該標靶被共定位在個體之治療部位或診斷部位。當，例如治療部位或診斷部位之含標靶組織中之MMP和SP(其各自能夠切割CM1-CM2受質中的一個部位)含量相對高於在非治療部位之組織(例如健康組織)中的MMP和SP含量時，本文所揭示之可活化之抗體特別有用。

【0195】於一些實施態樣中，可活化之抗體提供降低

之毒性和/或不利的副作用，該毒性和/或不利的副作用可由若該 **AB** 未被掩蔽或未以其他方式被抑制與標靶結合而使 **AB** 在非治療位點結合所導致。

【0196】一般而言，可藉由選擇所欲之 **AB** 來設計可活化之抗體並構建該可活化之抗體的其餘部分，從而在構象受限時，**MM** 可掩蔽該 **AB** 或減少 **AB** 與其標靶結合。結構設計標準可納入考量以提供此功能。

【0197】提供顯現出相對於未受抑制之構象，在受抑制之構象中具有理想之與標靶結合之動力學範圍的可切換表型之可活化之抗體。動力學範圍通常係指 (a) 在第一組條件下之最大參數檢測值對 (b) 在第二組條件下之最小參數檢測值的比率。例如，在可活化之抗體的背景，該動力學範圍係指 (a) 在能夠切割該可活化之抗體之 **CM1-CM2** 受質的 **MMP** 和 **SP** 之存在下，與可活化之抗體結合之靶蛋白的最大檢測量對 (b) 在無蛋白酶之存在下，與可活化之抗體結合之靶蛋白的最小檢測量之比例。該可活化抗體之動力學範圍的計算法為可活化抗體之切割劑 (例如酶) 治療的解離常數對該可活化抗體之切割劑治療的解離常數的比例。該可活化之抗體的動力學範圍越大，該可活化之抗體的可切換表型越佳。具有相對較高之動力範圍數值 (例如大於 1) 之可活化之抗體表現出更理想之可切換的表型，從而在存有能夠切割該可活化之抗體之 **CM1-CM2** 受質的切割劑 (例如酶) 時，該可活化之抗體與靶蛋白之結合程度較無切割劑存在時更大 (例如主要發生在有切割劑存在時)。

【0198】可活化之抗體可以多種結構構型提供。可活化之抗體的示例性分子式提供於下文中。特別考慮的是，該 AB、MM 和 CM1-CM2 受質在可活化之抗體中從 N 端至 C 端的順序可以反轉。亦特別考慮的是，該 CM 和 MM 在胺基酸序列中可以重疊，例如，使得該 CM1-CM2 受質至少部分包含在 MM 內。

【0199】例如，可活化之抗體可藉由下式表示(從胺基(N)端區至羧基(C)端區之順序：

(MM)-(CM1-CM2受質)-(AB)

(AB)-(CM1-CM2受質)-(MM)

其中 MM 為掩蔽部分，該 CM1-CM2 受質為可切割部分，且 AB 為抗體或其片段。如上述，術語“CM1-CM2 受質”並非意圖傳遞與該第一切割部分(CM1)(其為至少一種基質金屬蛋白酶(MMP)之受質)及至少一個第二可切割部分(CM2)(其為至少一種絲胺酸蛋白酶(SP)之受質)之取向或其他結構配置相關的任何要求。因此，術語“CM1-CM2 受質”涵蓋具有如下所示之 N 端至 C 端之結構配置的 CM1-CM2 受質：CM1-CM2 或 CM2-CM1。術語“CM1-CM2 受質”亦涵蓋其中至少一部分 CM1 序列與至少一部分 CM2 序列重疊之受質。亦應注意的是，儘管 MM 和 CM1-CM2 受質在上述分子式中被指明為不同組分，在本文所揭示之所有示例性實施態樣(包括分子式)中考慮該 MM 和 CM1-CM2 受質之胺基酸序列可以重疊，例如，使得該 CM1-CM2 受質被完全或部分包含在 MM 內。此外，上述分子式提供可位於該

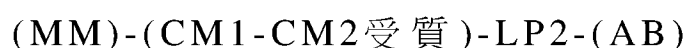
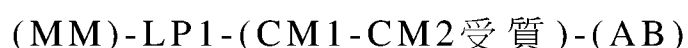
可活化之抗體元件之N-端或C-端的另外之胺基酸序列。

【0200】於某些實施態樣中，該MM不是AB之天然結伴。於一些實施態樣中，該MM與AB之任何天然結伴不具有或基本上不具有同源性。於一些實施態樣中，該MM與AB之任何天然結伴的相似性不超過5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%。於一些實施態樣中，該MM與AB之任何天然結伴的同一性不超過5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%。於一些實施態樣中，該MM與AB之任何天然結伴的同一性不超過50%。於一些實施態樣中，該MM與AB之任何天然結伴的同一性不超過25%。於一些實施態樣中，該MM與AB之任何天然結伴的同一性不超過20%。於一些實施態樣中，該MM與AB之任何天然結伴的同一性不超過10%。

【0201】於許多實施態樣中，在該可活化之抗體構建體中插入一或多個連接子，例如彈性連接子，以在一或多個MM-CM1-CM2受質接合處、CM1-CM2受質-AB接合處或該二處提供彈性可能是理想的。例如，AB、MM和/或CM1-CM2受質可能不含有足夠數量之殘基(例如Gly、Ser、Asp、Asn，特別是Gly和Ser，特別是Gly)以提供所需之彈性。如此，該可活化之抗體構建體的可轉換表型可能受益於引入一或多個胺基酸以提供彈性連接子。此外，如下述，當該可活化之抗體係以構象受限之構建體型式提

供時，可將彈性連接子以可操作之方式插入以促進形成和維持該未經切割之可活化之抗體中的環狀結構。

【0202】例如，於某些實施態樣中，可活化之抗體包含下列分子式其中一者(其中下列分子式代表方向為N至C端或C至N端的胺基酸序列)：



其中MM、CM1-CM2基體和AB之定義如上；其中LP1和LP2各自獨立且視需要地存在或不存在、為包含至少1個彈性胺基酸(例如Gly)之相同或不同的彈性連接子。另外，上述分子式提供可位於該可活化之抗體元件之N端或C端的其他胺基酸序列。實例包括，但不限於靶向部分(例如存在於標靶組織中之細胞受體的配體)和血清半衰期延長部分(例如與血清蛋白結合之多肽，諸如免疫球蛋白(例如IgG)或血清白蛋白(例如人血清白蛋白(HAS)))。

【0203】CM1-CM2受質被至少一種MMP特異切割，切割速率為約 0.001 至 $1500 \times 10^4 M^{-1} S^{-1}$ 或至少 0.001 、 0.005 、 0.01 、 0.05 、 0.1 、 0.5 、 1 、 2.5 、 5 、 7.5 、 10 、 15 、 20 、 25 、 50 、 75 、 100 、 125 、 150 、 200 、 250 、 500 、 750 、 1000 、 1250 或 $1500 \times 10^4 M^{-1} S^{-1}$ 且被至少一種SP特異切割，切割速率為約 0.001 至 $1500 \times 10^4 M^{-1} S^{-1}$ 或至少 0.001 、 0.005 、 0.01 、 0.05 、 0.1 、 0.5 、 1 、 2.5 、 5 、 7.5 、 10 、 15 、 20 、 25 、 50 、 75 、 100 、 125 、 150 、 200 、 250 、

500、750、1000、1250或1500 x 10⁴M⁻¹S⁻¹。

【0204】為了被酶特異切割，令酶和CM1-CM2受質接觸。當該包含與MM偶聯之AB和CM1-CM2受質之可活化之抗體在標靶之存在下且具有足夠之酶活性時，該CM1-CM2受質可被切割。足夠之酶活性可指該酶與CM1-CM2受質接觸並實現切割之能力。可輕易預見的是，酶可在該CM1-CM2受質附近，但由於其他細胞因子或該酶之蛋白質修飾而無法切割。

【0205】適合用於本文所描述之組成物中的連接子通常為提供該經修飾之AB或該可活化之抗體彈性，以促進抑制AB與標靶結合的連接子。該連接子通常稱為彈性連接子。合適之連接子可輕易地選出，且可具有任何合適之不同長度，諸如從1個胺基酸(例如Gly)至20個胺基酸、從2個胺基酸至15個胺基酸、從3個胺基酸至12個胺基酸，包括4個胺基酸至10個胺基酸、5個胺基酸至9個胺基酸、6個胺基酸至8個胺基酸或7個胺基酸至8個胺基酸，且長度可為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20個胺基酸。

【0206】示例性彈性連接子包括甘胺酸聚合物(G)_n，甘胺酸-絲胺酸聚合物(包括，例如(GS)_n、(GSGGS)_n(SEQ ID NO：381)和(GGGGS)_n(SEQ ID NO：382)，其中n為至少一之整數)、甘胺酸-丙胺酸聚合物、丙胺酸-絲胺酸聚合物和本技藝已知之其他彈性連接子。甘胺酸和甘胺酸-絲胺酸聚合物為相對非結構化的，因此，可作為組分之間的中

性繫鏈。甘胺酸甚至較丙胺酸更明顯接近 ϕ - ψ 空間，且較具有較長側鏈之殘基更不受限制(參見 Scheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142 (1992))。示例性彈性連接子包括，但不限於 Gly-Gly-Ser-Gly (SEQ ID NO: 202)、Gly-Gly-Ser-Gly-Gly (SEQ ID NO: 203)、Gly-Ser-Gly-Ser-Gly (SEQ ID NO: 204)、Gly-Ser-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO: 205)、Gly-Gly-Gly-Ser-Gly (SEQ ID NO: 206)、Gly-Ser-Ser-Ser-Gly (SEQ ID NO: 207) 等。一般技術熟習人士將認知該可活化之抗體的設計可包括全部或部分彈性之連接子，使得該連接子可包括彈性連接子及一或多個賦予較差彈性結構之部分以提供所需之可活化之抗體結構。

【0207】於一些實施態樣中，本文描述之可活化之抗體亦包括與該可活化之抗體軛合的作用劑。於一些實施態樣中，該經軛合之作用劑為治療劑，諸如抗發炎劑和/或抗腫瘤劑。於該實施態樣中，該作用劑係與該可活化之抗體的碳水化合物部分軛合，例如，於一些實施態樣中，其中該碳水化合物部分係位於該抗體或該可活化之抗體中的抗原結合片段之抗原結合區外。於一些實施態樣中，該作用劑係與該抗體或該可活化之抗體的抗原結合片段之巰基軛合。

【0208】於一些實施態樣中，該作用劑為細胞毒性劑，諸如毒素(例如細菌、真菌、植物或動物來源之酶促活性毒素或其片段)或放射性同位素(即，放射性軛合物)。

【0209】於一些實施態樣中，該作用劑為可檢測之部

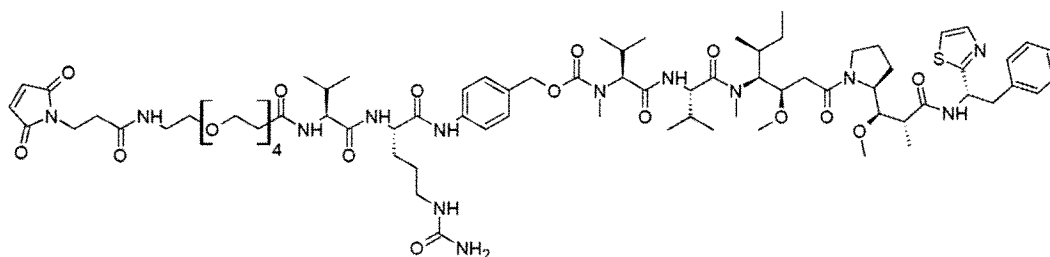
分，諸如，例如示蹤劑或其他標記。例如，該作用劑為或包括經放射性標示之胺基酸、可藉由經標記之抗生物素蛋白(例如含有可藉由光學或量熱學方法檢測之螢光標記或酶促活性的鏈親和素)檢測之一或多個生物素部分、一或多種放射性同位素或放射性核素、一或多種螢光標記、一或多種酶標記和/或一或多種化學發光劑。於一些實施態樣中，該可檢測之部分係藉由間隔分子連接。

【0210】 本揭示內容亦關於免疫軛合物，該免疫軛合物包含與細胞毒性劑，諸如毒素(例如細菌、真菌、植物或動物來源之酶促活性毒素，或其片段)或放射性同位素(即，放射性軛合物)軛合之抗體。合適之細胞毒性劑包括，例如多拉司他汀(dolastatin)及其衍生物(例如澳瑞他汀E、AFP、MMAF、MMAE、MMAD、DMAF、DMAE)。例如，該作用劑為單甲基澳瑞他汀E(MMAE)或單甲基澳瑞他汀D(MMAD)。於一些實施態樣中，該作用劑為選自表3中所列之群組的作用劑。於一些實施態樣中，該作用劑為多拉司他汀。於一些實施態樣中，該作用劑為澳瑞他汀或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為澳瑞他汀E或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為單甲基澳瑞他汀E(MMAE)。於一些實施態樣中，該作用劑為單甲基澳瑞他汀D(MMAD)。於一些實施態樣中，該作用劑為美登木素或美登木素衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為DM1或DM4。於一些實施態樣中，該作用劑為倍癌黴素或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為加利車黴素或

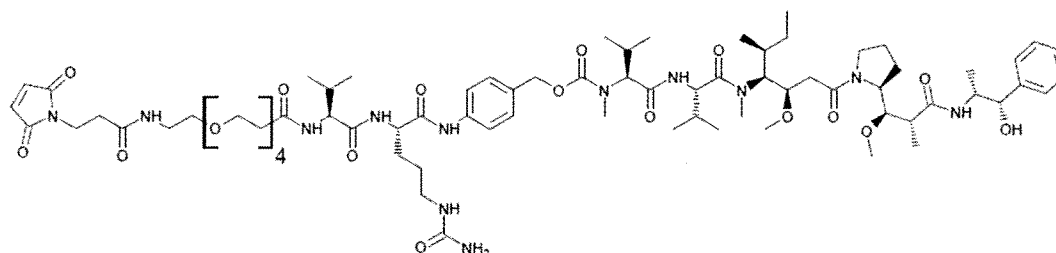
其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為吡咯並苯並二氮雜萘。於一些實施態樣中，該作用劑為吡咯並苯並二氮雜萘二聚體。

【0211】於一些實施態樣中，該作用劑係利用馬來醯亞胺己醯基-纈胺酸-瓜胺酸連接子或馬來醯亞胺PEG-纈胺酸-瓜胺酸連接子與AB連接。於一些實施態樣中，該作用劑係利用馬來醯亞胺己醯基-纈胺酸-瓜胺酸連接子與AB連接。於一些實施態樣中，該作用劑係利用馬來醯亞胺PEG-纈胺酸-瓜胺酸連接子與AB連接。於一些實施態樣中，該作用劑為單甲基澳瑞他汀D(MMAD)，其利用馬來醯亞胺PEG-纈胺酸-瓜胺酸-對胺基苄氧羰基連接子與AB連接，而該連接子有效載荷構建體在本文中稱為“vc-MMAD”。於一些實施態樣中，該作用劑為單甲基澳瑞他汀E(MMAE)，其利用馬來醯亞胺PEG-纈胺酸-瓜胺酸-對胺基苄氧羰基連接子與AB連接，且該連接子有效載荷構建體在本文中稱為“vc-MMAE”。vc-MMAD和vc-MMAE之結構顯示於下：

vc-MMAD:



vc-MMAE:



【0212】可使用之酶促活性毒素及其片段包括白喉A鏈、白喉毒素之非結合活性片段、外毒素A鏈(來自銅綠假單胞菌)、蓖麻毒蛋白A鏈、阿布林A鏈、葫蘆根毒素(modeccin)A鏈、 α -帚曲毒蛋白(α -sarcin)、擬南芥(*Aleurites fordii*)蛋白質、石竹黃質(dianthin)蛋白質、美洲植物蛋白質(PAPI、PAPII和PAP-S)、苦瓜屬(*Momordica charantia*)抑制劑、瀉果素(curcin)、巴豆毒素(croton)、肥皂草(*Saponaire officinalis*)抑制劑、白樹毒素(gelonin)、分裂素源(mitogellin)、侷限曲菌素(restrictocin)、酚黴素(phenomycin)、依諾黴素(enomycin)和新月毒素(tricothecene)。多種放射性核素可用於產生放射性軛合之抗體。實例包括 ^{212}Bi 、 ^{131}I 、 ^{131}In 、 ^{90}Y 和 ^{186}Re 。

【0213】抗體和細胞毒性劑之軛合物係使用多種雙官能蛋白質-偶聯劑製造，諸如N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫醇)丙酸酯(SPDP)、亞胺基硫烷(IT)、亞胺酸酯之雙官能衍生物(諸如己二酸二甲酯HCL)、活性酯類(諸如二琥珀醯亞胺辛二酸酯)、醛類(諸如戊二醛)、雙-疊氮基化合物(諸如雙(對-疊氮基苯甲醯基)己二胺)、雙-重氮衍生物(諸如雙-(對-重氮基苯甲醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(諸如甲

苯 2,6-二異氰酸酯)和雙-活性氟化合物(諸如 1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。例如，可依 Vitetta et al., Science 238: 1098 (1987)中之描述製備蓖麻毒蛋白免疫毒素。經碳-14-標示之 1-異硫氰苄基-3-甲基二仲乙基三胺五醋酸(MX-DTPA)為用於將放射性核苷酸與抗體軛合之示例性螯合劑。(參見 WO94/11026)。

【0214】表 3 列出可用於本文所描述之揭示內容中的一些示例性藥劑，但絕不意味其為詳盡之清單。

表 3：用於軛合之示例性藥劑

細胞毒性劑	
澳瑞他汀	透他汀(Turbostatin)
澳瑞他汀E	苯他汀(Phenstatin)
單甲基澳瑞他汀D(MMAD)	羥苯他汀(Hydroxyphenstatin)
單甲基澳瑞他汀E(MMAE)	海綿素5(Spongistatin 5)
去甲基澳瑞他汀E(DMAE)	海綿素7(Spongistatin 7)
澳瑞他汀F	哈利他汀1(Halistatin 1)
單甲基澳瑞他汀F(MMAF)	哈利他汀2(Halistatin 2)
去甲基澳瑞他汀F(DMAF)	哈利他汀3(Halistatin 3)
澳瑞他汀衍生物，例如其鹽胺類	經修飾之苔蘚抑素(Bryostatin)
澳瑞他汀酪胺	鹵代他汀(Halocomstatin)
澳瑞他汀喹啉	吡咯並苯並咪唑(PBI)
多拉司他汀	環他汀6(Cibrostatin6)
多拉司他汀衍生物	Doxaliform
多拉司他汀16 DmJ	蔥環類似物
多拉司他汀16 Dpv	
美登木素，例如DM-1；DM-4	
美登木素衍生物	西馬多汀(Cemadotin)類似物(CemCH2-SH)
倍癌黴素	假單胞菌毒素A(PE38)變體
倍癌黴素衍生物	假單胞菌毒素A(ZZ-PE38)變體
α-阿馬尼汀(Amanitin)	ZJ-101
蔥環類	OSW-1
阿黴素(Doxorubicin)	O6-苄基鳥嘌呤之4-硝基苄氧羰基衍生物
柔紅黴素	拓撲異構酶抑制劑
溴他汀類藥物(Bryostatin)	哈米特林(Hemiasterlin)
喜樹鹼	頭孢菌素
喜樹鹼衍生物	高三尖杉酯鹼(Homoharringtonine)
7-取代之喜樹鹼	吡咯並苯二氮卓(PBD)
10,11-二氟仲甲基二氧基喜樹鹼	吡咯並苯並二氮雜草(PBD)二聚體
康布雷他汀(Combrestatin)	官能化之吡咯並苯並二氮雜草
褐藻毒素(Debromoaplysiatoxin)	官能化之吡咯並苯並二氮雜草二聚體
卡哈拉利德-F(Kahalalide-F)	加利車黴素(Calicheamicin)
盤皮海綿內酯 (Discodermolide)	鬼臼毒素(Podophyllotoxin)

海鞘素(Ecteinascidin)

抗病毒劑

阿昔洛韋(Acyclovir)

維拉A(Vira A)

鹽酸金剛烷胺(Symmetrel)

抗真菌劑

耐絲菌素

其他抗腫瘤藥

阿黴素(Adriamycin)

頭孢呋啶(Cerubidine)

博來黴素(Bleomycin)

阿爾克蘭(Alkeran)

長春花鹼(Velban)

安可平(Oncovin)

氟尿嘧啶

甲胺喋呤(Methotrexate)

噻替派(Thiotepa)

比桑烯(Bisantrene)

能滅瘤(Novantrone)

硫鳥嘌呤(Thioguanine)

丙卡巴肼(Procarabizine)

阿糖胞苷(Cytarabine)

抗細菌劑

胺基糖苷

鏈黴素

新黴素

卡那黴素

阿米卡星

慶大黴素

妥布黴素

紫杉烷類

長春花生物鹼

可軛合之檢測劑

螢光素及其衍生物

異硫氰酸螢光素(FITC)

放射性藥物

¹²⁵I

¹³¹I

⁸⁹Zr

¹¹¹In

¹²³I

¹³¹In

^{99m}Tc

²⁰¹Tl

¹³³Xe

¹¹C

⁶²Cu

¹⁸F

⁶⁸Ga

¹³N

¹⁵O

³⁸K

⁸²Rb

^{99m}Tc (鎢)

重金屬

鋇

金

鉑

抗血漿

泰樂菌素(Tylosine)

鏈黴素B
大觀黴素
胺苄青黴素
磺胺
多黏菌素
氯黴素

大觀黴素

【0215】本技藝一般技術人士將察知許多種可能之部分均可與本揭示內容所產生之抗體偶聯。(參見，例如“Conjugate Vaccines”, Contributions to Microbiology and Immunology, J. M. Cruse and R. E. Lewis, Jr (eds), Carger Press, New York, (1989)，其全部內容以引用方式併入本文)。

【0216】偶聯可藉由任何能將二個分子結合之化學反應完成，只要該抗體和另一部分保留其各自之活性即可。該連接可包括許多化學機制，例如共價結合、親和力結合、嵌入、配位結合和複合。然而，於一些實施態樣中，該結合為共價結合。共價結合可藉由將現存之側鏈直接縮合或藉由併入外部橋聯分子來實現。許多二價或多價連接劑可用於將蛋白質分子(諸如本揭示內容之抗體)與其他分子偶聯。例如，代表性偶聯劑可包括有機化合物，諸如硫酯、碳二亞胺、琥珀醯亞胺酯、二異氰酸酯、戊二醛、重氮苯和六伸甲基二胺。該列表並不意圖窮盡本技藝中已知之多種偶聯劑類別，而是較常見之偶聯劑的示例。(參見 Killen and Lindstrom, Jour. Immun. 133:1335-2549 (1984)； Jansen et al., Immunological Reviews 62:185-216 (1982)；

和 Vitetta et al., Science 238:1098 (1987))。

【0217】於一些實施態樣中，除了本文提供之組成物和方法外，該經軛合之可活化之抗體亦可對位點特異性軛合進行修飾，該修飾係透過插入該可活化之抗體序列中或包含在該可活化之抗體序列中的經修飾之胺基酸序列進行。這些經修飾之胺基酸序列係經過設計以允許將該軛合劑以受控方式放置在經軛合之可活化之抗體內和/或控制在該經軛合之可活化之抗體內之軛合劑的劑量。例如，該可活化之抗體可經工程處理以在提供反應性硫醇基團之輕鏈和重鏈上的位置處包括半胱胺酸取代，且不會負面影響蛋白質折疊和組裝，亦不會改變抗原結合。於一些實施態樣中，該可活化之抗體可經工程處理以在該可活化之抗體內包括或以其他方式引入一或多個非天然胺基酸殘基，以提供用於軛合之合適位點。於一些實施態樣中，該可活化之抗體可經工程處理以在該可活化之抗體序列內包括或以其他方式引入可酶促活化之肽序列。

【0218】合適之連接子描述於文獻中。(參見，例如 Ramakrishnan, S. et al., Cancer Res. 44:201-208 (1984)描述 MBS(M-馬來醯亞胺苯甲醯基-N-羥基琥珀醯亞胺酯)之用途。亦參見美國專利案編號 5,030,719，其描述藉由寡肽連接子與抗體偶聯之鹵化乙醯基醯肼衍生物之用途。於一些實施態樣中，合適之連接子包括：(i)EDC(1-乙基-3-(3-二甲胺基-丙基)碳二亞胺鹽酸鹽；(ii)SMPT(4-琥珀醯亞胺基氧羰基- α -甲基- α -(2-吡啶基-二硫基)-甲苯(皮爾斯化學公

司，目錄編號 21558G)；(iii)SPDP(琥珀醯亞胺基-6[3-(2-吡啶基二硫基)丙醯胺基]己酸酯(皮爾斯化學公司，目錄編號 21651G)；(iv)磺基-LC-SPDP(磺基琥珀醯亞胺基 6[3-(2-吡啶基二硫基)-丙醯胺]己酸酯(皮爾斯化學公司，目錄編號 2165-G)；及(v)與 EDC 偶聯之磺基-NHS(N-羥磺基-琥珀醯亞胺：皮爾斯化學公司，目錄編號 24510)。另外之連接子包括，但不限於 SMCC、磺基-SMCC、SPDB 或磺基-SPDB。

【0219】上述之連接子包含具有不同屬性之組分，從而導致具有不同生理-化學性質之軛合物。例如，烷基羧酸酯之磺基-NHS 酯較芳香族羧酸酯之磺基-NHS 酯更穩定。含 NHS-酯之連接子較磺基-NHS 酯不易溶解。此外，連接子 SMPT 含有空間上受阻之二硫鍵且可形成穩定性增加之軛合物。通常，二硫鍵較其他鍵聯不穩定，因為該二硫鍵係在玻管內被切割，導致可用之軛合物較少。尤其是，磺基-NHS 可增強碳二亞胺偶聯之穩定性。當與磺基-NHS 一起使用時，碳二亞胺偶聯(諸如 EDC)形成較對單獨之碳二亞胺偶聯反應而言對水解更有抗性之酯類。

【0220】於一些實施態樣中，該連接子為可切割的。於一些實施態樣中，該連接子為不可切割的。於一些實施態樣中，存有二或更多個連接子。該二或更多個連接子均相同，即，為可切割的或不可切割的，或者該二或更多個連接子不相同，即，至少一個可切割的和至少一個不可切割的。

【0221】本揭示內容利用幾種方法將作用劑附接至AB：(a)附接至該AB之碳水化合物部分，或(b)附接至該AB之巰基，或(c)附接至該AB之胺基，或(d)附接至該AB之羧酸酯基。根據本揭示內容，AB可透過具有至少二個反應基之中間連接子共價附接至作用劑，該反應基之一與AB反應，且有一個反應基與該作用劑反應。該連接子(其可包括任何相容性有機化合物)可經過選擇，使得與AB(或作用劑)反應時不會不利地影響AB反應性和選擇性。此外，該連接子附接至作用劑可能不會破壞該作用劑之活性。用於與氧化之抗體或氧化之抗體片段反應的合適連接子包括那些含有選自由下列所組成之群組的胺：一級胺、二級胺、胍、醯胍、羥胺、苯基胍、胺基脲和硫代胺基脲基團。該反應性官能基可以該連接子結構之一部分存在，或可藉由將不包含該基團之連接子進行適當之化學修飾來引入。

【0222】根據本揭示內容，用於附接至還原之AB的合適連接子包括那些具有某些能夠與還原之抗體或片段的巰基反應之反應基的連接子。該反應基包括，但不限於：反應性鹵烷基(包括，例如鹵乙醯基)、對-汞基苯甲酸酯基團和能夠進行邁克爾(Michael)型加成反應之基團(包括，例如馬來醯亞胺，和 Mitra and Lawton, 1979, J. Amer. Chem. Soc. 101: 3097-31所描述之類型的基團)。

【0223】根據本揭示內容，既不會附接至氧化之Ab也不會附接至還原之Ab的合適連接子包括那些具有某些能

夠與存在於該 **Ab** 中之未經修飾之離胺酸殘基中的一級胺基反應的官能基之連接子。該反應基包括，但不限於 **NHS** 羧酸或碳酸酯、磺基-**NHS** 羧酸酯或碳酸酯、4-硝苯基羧酸酯或碳酸酯、五氟苯基羧酸酯或碳酸酯、醯基咪唑、異氰酸酯和異硫氰酸酯。

【0224】根據本揭示內容，既不會附接至氧化之 **Ab** 也不會附接至還原之 **Ab** 的合適連接子包括那些具有某些能夠與存在於該 **Ab** 中之天門冬胺酸或麩胺酸殘基中之羧酸基團反應的官能基之連接子，其已被合適之作用劑活化。合適之活化劑包括具有或不具有添加之 **NHS** 或磺基-**NHS** 的 **EDC**，以及用於形成羧醯胺的其他脫水劑。在這些情況下，存在於合適之連接子中的官能基將包括一級胺和二級胺、胍、羥胺和醯胍。

【0225】該作用劑可在連接子附接至 **AB** 之前或之後，附接至該連接子。在某些應用中，先產生 **AB**-連接子中間體可能是理想的，其中該連接子不含聯結之作用劑。根據特定應用，可再將特定作用劑共價附接至該連接子。於一些實施態樣中，該 **AB** 先附接至 **MM**、**CM1-CM2** 受質和聯結之連接子，然後再附接至用於軛合目的之連接子。

【0226】*分支型連接子*：於特定之實施態樣中，利用具有多個用於附接作用劑之位點的分支型連接子。在多位點連接子方面，與 **AB** 單一共價連接將導致能夠在多個位點結合作用劑之 **AB** 連接子中間體。該位點可為醛或巰基基團，或任何可用於連接作用劑之化學位點。

【0227】於一些實施態樣中，藉由將單位點連接子附接在該 AB 之多個位點可取得較高之比活性(或較高之作用劑對 AB 的比例)。該多個位點可藉由二種方法其中任一者引入該 AB 中。首先，可在同一個 AB 中產生多個醛基和/或巯基。接著，可將具有多個官能位點之“分支型連接子”連接至 AB 之醛或巯基，以供隨後附接至連接子。該分支型連接子或多位點連接子之官能位點可為醛或巯基，或可為連接子可附接之任何化學位點。藉由結合該二種方法，即，將多位點連接子附接在該 AB 上之多個位點可獲得更高之比活性。

【0228】*可切割之連接子*：本揭示內容之一實施態樣中可使用對補體系統之酶(諸如，但不限於尿激酶、組織纖溶酶原活化子、胰蛋白酶、纖溶酶或另一具有蛋白水解活性之酶)切割易感的肽連接子。根據本揭示內容之一種方法，作用劑係經由易於被補體切割之連接子連接。該抗體係選自可活化補體之類別。因此，該抗體-作用劑軛合物活化補體級聯並將作用劑釋放在該標靶位點。根據本揭示內容之另一方法，作用劑係經由易於被具有蛋白水解活性之酶(諸如尿激酶、組織纖溶酶原活化劑、纖溶酶或胰蛋白酶)切割的連接子附接。這些可切割之連接子可用於包括細胞外毒素之經軛合的可活化之抗體，例如，作為非限制性實例之表3中所示的任何細胞外毒素。

【0229】可切割之連接子序列的非限制性實例提供於表4。

表 4：用於軛合之示例性連接子序列

可切割序列之類型	胺基酸序列
<u>纖維溶酶可切割序列</u>	
尿激酶原	PRFKIIGG (SEQ ID NO: 319) PRFRIIGG (SEQ ID NO: 320)
TGFβ	SSRHRRALD (SEQ ID NO: 321)
纖維溶酶原	RKSSIIIRMRDVVL (SEQ ID NO: 322)
葡萄糖激酶	SSSFDKGKYKKGDDA (SEQ ID NO: 323) SSSFDKGKYKRGDDA (SEQ ID NO: 324)
<u>Xa因子可切割序列</u>	
	IEGR (SEQ ID NO: 325) IDGR (SEQ ID NO: 326) GGSIDGR (SEQ ID NO: 327)
<u>MMP可切割序列</u>	
明膠酶A	PLGLWA (SEQ ID NO: 328)
<u>膠原蛋白酶可切割序列</u>	
小牛皮膚膠原蛋白(α1(I)鏈)	GPQGIAGQ (SEQ ID NO: 329)
小牛皮膚膠原蛋白(α2(I)鏈)	GPQGLLGA (SEQ ID NO: 330)
牛軟骨膠原蛋白(α1(II)鏈)	GIAGQ (SEQ ID NO: 331)
人肝膠原蛋白(α1(III)鏈)	GPLGIAGI (SEQ ID NO: 332)
人 α ₂ M	GPEGLRVG (SEQ ID NO: 333)
人 PZP	YGAGLGVV (SEQ ID NO: 334) AGLGVVER (SEQ ID NO: 335) AGLGISST (SEQ ID NO: 336)
大鼠 α ₁ M	EPQALAMS (SEQ ID NO: 337) QALAMSAI (SEQ ID NO: 338)
大鼠 α ₂ M	AAYHLVSQ (SEQ ID NO: 339) MDAFLESS (SEQ ID NO: 340)
大鼠 α ₁ I ₃ (2J)	ESLPVVAV (SEQ ID NO: 341)
大鼠 α ₁ I ₃ (27J)	SAPAVESE (SEQ ID NO: 342)
人成纖維細胞膠原蛋白酶 (自溶性切割)	DVAQFVLT (SEQ ID NO: 343) VAQFVLTE (SEQ ID NO: 344) AQFVLTEG (SEQ ID NO: 345) PVQPIGPQ (SEQ ID NO: 346)

【0230】此外，作用劑可經由二硫鍵(例如在半胱胺酸分子上之二硫鍵)附接至該AB。由於許多腫瘤天然釋出大量麩胱甘肽(一種還原劑)，其可還原二硫鍵，隨後在傳遞位點釋出該作用劑。於某些特定之實施態樣中，該可修飾CM1-CM2受質之還原劑亦將修飾該經軛合之可活化之

抗體的連接子。

【0231】*間隔子和可切割之元件*：於一些實施態樣中，以能夠優化介於該作用劑與該可活化之抗體之AB之間的間隔之方式來構建該連接子可能是必要的。此可藉由使用具有下列一般結構之連接子來完成：



其中

W為--NH--CH₂-或--CH₂--；

Q為胺基酸、肽；且

n為0至20之整數。

【0232】於一些實施態樣中，該連接子可包含間隔子元件和可切割之元件。該間隔子元件係用於將該可切割之元件定位在遠離AB之核心，使得該負責切割之酶更容易接近該可切割之元件。上述之某些分支型連接子可作為間隔子元件。

【0233】在本篇討論之全文中，應理解的是，連接子與作用劑連接(或間隔元件與可切割元件連接，或可切割元件與作用劑連接)不必是特定之連接或反應模式。提供具有適當之穩定性和生物相容性之產物的任何反應均可被接受。

【0234】*血清補體和連接子之選擇*：根據本揭示內容之一種方法，當需要釋出作用劑時，使用為可活化補體之抗體類別的AB。所產生之軛合物同時保留與抗原結合及活化補體級聯反應之能力。因此，根據本揭示內容之該實

施態樣，作用劑係連接該可切割之連接子或可切割之元件的一端，且該連接子基團之另一端係連接該 AB 上之特定位點。例如，若該作用劑具有羥基或胺基，其可分別經由酯或醯胺鍵附接至肽、胺基酸或其他經適當選擇之連接子的羧基端。例如，該作用劑可經由碳二亞胺反應附接至該連接子肽。若該作用劑包含會干擾與連接子連接之官能團，則這些干擾官能基可在連接之前被阻斷，並在製造產物軛合物或中間體後解封。然後，直接使用或在進一步修飾後使用該連接子之相反端或胺基端與能夠活化補體之 AB 結合。

【0235】連接子(或連接子之間隔子元件)可具有任何期望之長度，其一端可共價附接至該可活化之抗體的 AB 上之特定位點。該連接子或間隔子元件之另一端可附接至胺基酸或肽連接子。

【0236】因此，當這些軛合物在補體之存在下與抗原軛合時，連接該作用劑與該連接子之醯胺或酯鍵將會被切割，而導致該作用劑以其活性形式釋出。當投予個體時，這些軛合物將可達成將該作用劑遞送至標靶位點並釋出，且在用於體內遞送如表 3 中呈現之藥劑、抗生素、抗代謝物、抗增殖劑等(但不限於此)特別有效。

【0237】用於在無補體活化之情況下釋出之連接子：於靶向遞送之另一種應用中，由於補體級聯反應活化最終將會溶解該靶細胞，所以在沒有補體活化之情況下釋出作用劑是理想的。因此，當該作用劑之遞送和釋出應該在不

殺死靶細胞之情況下完成時，此方法很有用。此為當需要將細胞介質(諸如激素、酶、皮質類固醇、神經遞質、基因或酶)遞送至靶細胞時的目標。這些軛合物可藉由將作用劑附接於不能活化補體之AB來製備，該附接係經由對血清蛋白酶之切割略微易感的連接子進行。當將該軛合物投予個體時，將快速形成抗原-抗體複合物，而該作用劑之切割將緩慢發生，從而導致該化合物在標靶部位釋出。

【0238】生化交聯劑：於一些實施態樣中，該可活化之抗體可使用某些生化交聯劑與一種或多種治療劑軛合。交聯劑形成分子橋，該分子橋可將二個不同分子之官能基綁在一起。為了逐步連接二個不同的蛋白質，可使用雜雙官能交聯劑，該雜雙官能交聯劑可消除不需要之均聚物形成。

【0239】可被溶酶體蛋白酶切割之肽基連接子亦有助益，例如Val-Cit、Val-Ala或其他二肽。另外，可使用可在溶酶體之低pH環境中切割的酸不穩定之連接子，例如：雙唾液酸酐。其他合適之連接子包括組織蛋白酶(cathepsin)不穩定之受質，特別是那些在酸性pH下顯示最佳功能者。

【0240】表5中示例性異雙官能性交聯劑。

表 5：示例性異雙官能性交聯劑

異雙官能性交聯劑			交聯後之間隔 子臂長度(Å)
連接子	反應朝向	優點和應用	
SMPT	一級胺 巯基	較高之穩定性	11.2Å
SPDP	一級胺 巯基	硫醇化 可切割之交聯	6.8Å
LC-SPDP	一級胺 巯基	延伸之間隔子臂	15.6Å
磺基-LC-SPDP	一級胺 巯基	延伸之間隔子臂 水溶性	15.6Å
SMCC	一級胺 巯基	穩定之馬來醯亞胺反應基 酶-抗體軛合 半抗原-載體蛋白質軛合	11.6Å
磺基-SMCC	一級胺 巯基	穩定之馬來醯亞胺反應基 水溶性 酶-抗體軛合	11.6Å
MBS	一級胺 巯基	酶-抗體軛合 半抗原-載體蛋白質軛合	9.9Å
磺基-MBS	一級胺 巯基	水溶性	9.9Å
SIAB	一級胺 巯基	酶-抗體軛合	10.6Å
磺基-SIAB	一級胺 巯基	水溶性	10.6Å
SMPB	一級胺 巯基	延長之間隔子臂 酶-抗體軛合	14.5Å
磺基-SMPB	一級胺 巯基	延長之間隔子臂 水溶性	14.5Å
EDE/磺基-NHS	一級胺 羧基	半抗原-載體軛合	0
ABH	碳水化合物 非選擇性	與糖基反應	11.9Å

【0241】不可切割之連接子或直接附接：於本揭示內容之一些實施態樣中，該軛合物可經過設計，使得該作用劑被遞送至標靶但未被釋出。此可藉由將作用劑直接附接或經由不可切割之連接子附接來實現。

【0242】這些不可切割之連接子可包括胺基酸、肽、D-胺基酸或其他有機化合物，其可經修飾以包含可隨後藉由本文所描述之方法附接至AB的官能基。該有機連接子之通用分子式可為



其中

W為--NH--CH₂--或--CH₂--；

Q為胺基酸、肽；且

n為0至20之整數。

【0243】不可切割之軛合物：於一些實施態樣中，化合物可附接至不會活化補體之AB。當使用不能活化補體之AB時，該連接可使用對由活化之補體切割易感的連接子來完成或使用對由活化之補體切割不敏感的連接子來完成。

【0244】本揭示內容之抗體亦可配製成免疫脂質體。含有該抗體之脂質體係藉由本技藝已知之方法製備，諸如下列文獻中所揭示者：Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985)；Hwang et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980)；和美國專利案第4,485,045號和第4,544,545號。具有增長之循環時間的脂質體揭示於美國專

利案第5,013,556號中。

【0245】特別有用之脂質體可使用包含磷脂醯膽鹼、膽固醇和PEG衍生之磷脂醯乙醇胺(PEG-PE)的脂質組成物，藉由逆相蒸發法產生。脂質體通過具有限定孔徑之過濾器擠出，以產生具有所需直徑之脂質體。本揭示內容之抗體的Fab'片段可依Martin et al., J. Biol. Chem., 257: 286-288 (1982)中之描述經由二硫鍵-交換反應與該脂質體軛合。

定義：

【0246】除非另有定義，相關於本揭示內容使用之科學和技術術語應具有本技藝之一般技術人士所通常理解的含義。術語“一個(a或an)”實體係指一或多個該實體。例如，一個化合物係指一或多個化合物。因此，術語“一個(a或an)”、“一或多個”和“至少一個”可互換使用。此外，除非上下文另有要求，否則單數術語應包括複數且複數術語應包括單數。一般而言，與本文所描述之細胞和組織培養、分子生物學及蛋白質和寡-或多核苷酸化學和雜交之技術相關的命名法為本技藝所熟知且常用者。標準技術可用於重組DNA、寡核苷酸合成及組織培養和轉化(例如電穿孔、脂質轉染)。酶促反應和純化技術係根據製造商之說明書或依本技藝之常用方式或依本文所描述者進行。前述技術和程序通常根據本技藝熟知之常規方法，及依本專利說明書通篇所引用和討論之多種一般性和更具體的參考

文獻執行。參見，例如 Sambrook *et al.* *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989))。本文描述之分析化學、合成有機化學及藥物化學和製藥化學的實驗室程序和技術所相關使用之命名法為本技藝所熟知且常用者。標準技術可用於化學合成、化學分析、藥物製備、配製和遞送，以及治療患者。

【0247】除非另外指出，否則根據本揭示內容所使用之下列術語應被理解為具有下列含義：

【0248】如本文所使用之術語“抗體”係指免疫球蛋白分子和免疫球蛋白(Ig)分子之免疫學活性部分，即，含有與抗原特異地結合(與抗原免疫反應)之抗原結合部位的分分子。“特異地結合”或“與...免疫反應”或“免疫特異地結合”意指該抗體與所欲抗原之一或多個抗原決定簇反應，且不會或以低得多之親合力與其他多肽反應($K_d > 10^{-6}$)。抗體包括，但不限於多株抗體、單株抗體、嵌合抗體、結構域抗體、單鏈抗體、Fab和F(ab')₂片段、scFv和Fab表現庫。

【0249】已知基本抗體結構單元包含四聚體。每一四聚體係由二對完全相同之多肽鏈組成，每對具有一條“輕”鏈(約25kDa)和一條“重”鏈(約50至70 kDa)。每條鏈之胺基端部分包括具有約100至110或更多個胺基酸之可變區，該可變區主要負責識別抗原。每條鏈之羧基端部分定義主要負責效應子功能之恆定區。一般而言，從人類取得之抗體分子係與IgG、IgM、IgA、IgE和IgD中之任一類別有關，

這些類別彼此之間的差異在於存在於分子中之重鏈性質。某些類別亦具有亞類，諸如 IgG₁、IgG₂等。此外，在人類中，該輕鏈可為κ鏈或λ鏈。

【0250】如本文所使用之術語“單株抗體”(mAb)或“單株抗體組成物”係指僅包含一種抗體分子之分子物種的抗體分子群，該抗體分子係由獨特之輕鏈基因產物和獨特之重鏈基因產物所組成。特別是，該群體之所有分子中之單株抗體的互補決定區(CDR)相一致。MAb含有能夠與抗原之特定表位免疫反應之抗原結合部位，該抗原之特定表位的特徵在於對該MAb之抗原結合部位具有獨特之結合親和力。

【0251】術語“抗原-結合部位”或“結合部分”係指參與抗原結合之免疫球蛋白分子的部分。該抗原結合部位係由該重(“H”)鏈和輕(“L”)鏈之N端可變(“V”)區之胺基酸殘基形成。在重鏈和輕鏈之V區內的三個高度分歧延伸片段(稱為“高變區”)係穿插在較保守之側翼延伸片段(稱為“框架區”或“FR”)之間。因此，術語“FR”係指在免疫球蛋白之高變區之間或鄰近高變區所天然發現的胺基酸序列。在抗體分子中，該輕鏈之三個高變區和重鏈之三個高變區係相對於彼此配置在三維空間中以形成抗原-結合表面。該抗原-結合表面與經結合之抗原的三維表面互補，且每一條重鏈和輕鏈的三個高變區被稱為“互補決定區”或“CDR”。每一結構域之胺基酸係根據 Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health,

Bethesda, Md. (1987和1991))或 Chothia & Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987), Chothia *et al.* Nature 342:878-883 (1989)之定義命名。

【0252】如本文所使用之術語“表位”包括任何能與免疫球蛋白、scFv或T細胞受體特異地結合之蛋白質決定簇。術語“表位”包括任何能與免疫球蛋白或T細胞受體特異地結合之蛋白質決定簇。抗原決定簇通常由分子之化學活性表面基團(諸如胺基酸或糖側鏈)組成且通常具有特定之三維結構特徵和特定之電荷特徵。例如，抗體可針對多肽之N-端或C-端肽產生。當該解離常數 $\leq 1 \mu\text{M}$ 時(於一些實施態樣中，該解離常數 $\leq 100 \text{ nM}$ ，於一些實施態樣中，該解離常數 $\leq 10 \text{ nM}$)，抗體被說是與抗原特異地結合。

【0253】如本文所使用之術語“特異地結合”、“免疫結合”和“免疫結合性質”係指發生在免疫球蛋白分子與該免疫球蛋白所特異結合之抗原之間的非共價交互作用類型。免疫結合交互作用之強度或親和力可就該交互作用之解離常數(K_d)表示，其中較小之 K_d 代表較大之親和力。所選擇之多肽的免疫結合性質可使用本技藝所熟知之方法定量。一種該方法需要測量抗原-結合部位/抗原複合物形成和解離之速率，其中那些速率係取決於該複合物伴侶之濃度、交互作用之親和力及雙向上均等影響速率之幾何參數。因此，“結合速率常數”(K_{on})和“解離速率常數”(K_{off})均可藉由計算結合及解離之濃度和實際速率來測定。(參見Nature 361:186-87 (1993))。 K_{off}/K_{on} 之比率能夠消除所

有與親和力無關之參數，且等於解離常數 K_d 。(一般參見 Davies et al. (1990) Annual Rev Biochem 59:439-473)。藉由諸如放射性配體結合分析或本技藝之技術熟習人士已知之類似分析測量時，當該解離常數 (K_d) $\leq 1 \mu\text{M}$ 時(於一些實施態樣中， $\leq 100 \text{ nM}$ ，於一些實施態樣中， $\leq 10 \text{ nM}$ ，且於一些實施態樣中，為 $\leq 100 \text{ pM}$ 至約 1 pM)，本揭示內容之抗體被說是與抗原特異地結合。

【0254】如本文所使用之術語“經分離之多核苷酸”應指基因組、cDNA或合成來源或彼等之某些組合的多核苷酸，鑑於其起源，該“經分離之多核苷酸”(1)不與其中天然發現此“經分離之多核苷酸”的全部或部分多核苷酸聯結，(2)與在自然界中不與其連接之多核苷酸可操作地連接，或(3)不會以較大序列之一部分的形式出現在自然界中。根據本揭示內容之多核苷酸包括編碼本文所示之重鏈免疫球蛋白分子的核酸分子，以及編碼本文所示之輕鏈免疫球蛋白分子的核酸分子。

【0255】本文所提及之術語“經分離之蛋白質”係指 cDNA、重組 RNA 或合成來源或彼等之某些組合的蛋白質，鑑於其起源，該“經分離之蛋白質”(1)不與自然界中發現之蛋白質聯結，(2)不含來自同一來源的其他蛋白質，例如不含鼠類蛋白質，(3)由來自不同物種之細胞表現，或(4)不存在於自然界中。

【0256】本文中所使用之術語“多肽”係作為稱呼具多肽序列之天然蛋白質、片段或類似物的通用術語。因此，

天然蛋白質片段和類似物為多肽屬之物種。根據本揭示內容之多肽包含本文所顯示之重鏈免疫球蛋白分子和本文所顯示之輕鏈免疫球蛋白分子，以及由包含該重鏈免疫球蛋白分子與輕鏈免疫球蛋白分子(諸如κ輕鏈免疫球蛋白分子)之組合所形成的抗體分子(反之亦然)，及其片段和類似物。

【0257】如本文所使用之術語“天然存在的”當應用於實物時係指該實物可在自然界中找到之事實。例如，存在於可從天然來源分離出之生物體(包括病毒)且未曾由人類刻意在實驗室中或以其他方式修飾之多肽或多核苷酸序列為天然存在的。

【0258】如本文所使用之術語“可操作地連接”係指如此描述之組分的位置係處於允許它們以其預期方式作用的關係中。“可操作地連接”至編碼序列之控制序列與該編碼序列的連接方式為使該編碼序列能夠在與該控制序列相容之條件下表現。

【0259】如本文所使用之術語“控制序列”係指多核苷酸序列，該多核苷酸序列對與它們接合之編碼序列的表現和加工的生效而言是必要的。該控制序列之性質根據宿主生物而有差異，在原核生物中該控制序列通常包括啟動子、核醣體結合部位和轉錄終止序列，在真核生物中該控制序列通常包括啟動子和轉錄終止序列。術語“控制序列”意圖至少包括對於表現和加工而言必不可少的所有組分，且亦可包括其存在是有利的其他組分，例如前導序列和融

合伴侶序列。本文所使用之術語“多核苷酸”意指長度為至少10個鹼基之核苷酸(為核糖核苷酸或脫氧核苷酸或任一核苷酸類型之修飾形式)。該術語包括DNA之單股和雙股形式。

【0260】本文所提及之術語寡核苷酸包括藉由天然存在和非天然存在之寡核苷酸鍵聯連接在一起之天然存在及經修飾的核苷酸。寡核苷酸為多核苷酸亞組，其長度通常包含200個或更少之鹼基。於一些實施態樣中，寡核苷酸之長度為10至60個鹼基，且於一些實施態樣中，該長度為12、13、14、15、16、17、18、19或20至40個鹼基。寡核苷酸通常為單股的(例如用於探針)，儘管寡核苷酸可為雙股的(例如用於構建基因突變體)。本揭示內容之寡核苷酸為有義或反義寡核苷酸。

【0261】本文提及之術語“天然存在之核苷酸”包括脫氧核糖核苷酸和核糖核苷酸。本文所提及之術語“經修飾之核苷酸”包括具有經修飾或經取代之糖基，等的核苷酸。本文所提及之術語“寡核苷酸鍵聯”包括諸如下列群組之寡核苷酸鍵聯：硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硒代磷酸酯、二硒代磷酸酯、苯胺基硫代磷酸酯、苯胺磷酸酯、胺基磷酸酯等。參見，例如LaPlanche *et al.* Nucl. Acids Res. 14:9081 (1986)；Stec *et al.* J. Am. Chem. Soc. 106:6077 (1984)，Stein *et al.* Nucl. Acids Res. 16:3209 (1988)、Zon *et al.* Anti Cancer Drug Design 6:539 (1991)；Zon *et al.* Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, pp.

87-108 (F. Eckstein, Ed., Oxford University Press, Oxford England (1991)); Stec *et al.* 美國專利案編號 5,151,510; Uhlmann and Peyman *Chemical Reviews* 90:543 (1990)。若需要時，寡核苷酸可包括用於檢測之標記。

【0262】如本文所使用之二十種習知胺基酸及其縮寫係遵循常規用法。參見 *Immunology-A Synthesis* (2nd Edition, E.S. Golub and D.R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland 7 Mass. (1991))。該二十種習知胺基酸之立體異構體(例如 D-胺基酸)、非天然胺基酸，諸如 α,α -二取代之胺基酸、N-烷基胺基酸、乳酸和其他非習知胺基酸亦可為用於本揭示內容之多肽的合適組分。非習知胺基酸之實例包括：4-羥脯胺酸、 γ -羧基麩胺酸、 ϵ -N,N,N-三甲基離胺酸、 ϵ -N-乙醯離胺酸、O-磷酸絲胺酸、N-乙醯絲胺酸、N-甲醯甲硫胺酸、3-甲基組胺酸、5-羥基離胺酸、 σ -N-甲基精胺酸和其他類似之胺基酸和亞胺基酸(例如 4-羥基脯胺酸)。在本文所使用之多肽符號中，根據標準用法和慣例，左-手方向為胺基端方向，右-手方向為羧基-端方向。

【0263】類似地，除非另有說明，單股多核苷酸序列之左手端為 5'端，雙股多核苷酸序列之左手方向被稱為 5'方向。從 5'至 3'添加新生 RNA 轉錄子之方向稱為轉錄方向，在具有與 RNA 相同序列之 DNA 股上且其 5'端相對於 RNA 轉錄子之 5'端的序列區被稱為“上游序列”，在具有與 RNA 相同之序列的 DNA 股上且其 3'端相對於 RNA 轉錄子之 3'端的序列區被稱為“下游序列”。

【0264】當應用於多肽時，術語“基本上一致”意指當將二個肽序列做最佳比對(例如使用默認缺口權重，藉由程式GAP或BESTFIT比對)時具有至少80%之序列同一性，於某些實施態樣中，具有至少90%之序列同一性，於某些實施態樣中，具有至少95%之序列同一性，且於某些實施態樣中，具有至少99%之序列同一性。

【0265】於一些實施態樣中，該不一致之殘基位置的差異在於保守性胺基酸取代。

【0266】如本文所討論者，本揭示內容考慮涵蓋抗體或免疫球蛋白分子之胺基酸序列中的微小變化，惟其該胺基酸序列中之變化保持至少75%，於某些實施態樣中，保持至少80%、90%、95%，於某些實施態樣中，保持99%。特別是，考慮保守性胺基酸替代。保守性替代為發生在其側鏈具有相關性之胺基酸族群中者。經遺傳編碼之胺基酸通常分為下列族群：(1)酸性胺基酸為天門冬胺酸、麩胺酸；(2)鹼性胺基酸為離胺酸、精胺酸、組胺酸；(3)非-極性胺基酸為丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸、色胺酸，和(4)不帶電荷之極性胺基酸為甘胺酸、天門冬醯胺、麩胺醯胺、半胱胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸。親水性胺基酸包括精胺酸、天門冬醯胺、天門冬胺酸、麩胺醯胺、麩胺酸、組胺酸、離胺酸、絲胺酸和蘇胺酸。疏水性胺基酸包括丙胺酸、半胱胺酸、異白胺酸、白胺酸、蛋胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、色胺酸、酪胺酸和纈胺酸。其他胺基酸族群包括(i)絲胺酸

和蘇胺酸，其為脂族-羥基族群；(ii)天門冬醯胺和麩胺醯胺，其為含有醯胺之族群；(iii)丙胺酸、纈胺酸、白胺酸和異白胺酸，其為脂族族群；及(iv)苯丙胺酸、色胺酸和酪胺酸，其為芳香族。例如，可以合理地預期，以異白胺酸或纈胺酸替代白胺酸、以麩胺酸替代天門冬胺酸、以絲胺酸替代蘇胺酸或以結構相關之胺基酸進行類似之胺基酸替代將不會對所產生之分子的結合或性質產生重大影響，尤其是若該替代不涉及框架部位內之胺基酸。胺基酸改變是否導致功能性肽可輕易地藉由分析該多肽衍生物之比活性測定。本文中詳細描述該分析。抗體或免疫球蛋白分子之片段或類似物可由本技藝之一般技術人員很容易地製備。合適之片段或類似物的胺基和羧基端係出現在功能結構域邊界附近。構造和功能結構域可藉由將核苷酸和/或胺基酸序列數據與公共或專有序列數據庫進行比較來鑑定。於一些實施態樣中，使用電腦化之比較方法來鑑定出現在具有已知結構和/或功能之其他蛋白質中的序列基序或預測之蛋白質構象結構域。現已知可用於鑑定折疊成已知之三維結構的蛋白實序列之方法。Bowie *et al.* *Science* 253:164 (1991)。因此，前述實例證明本技藝之技術熟習人士可識別可用於定義根據本揭示內容之構造和功能結構域之序列基序和結構構象。

【0267】合適之胺基酸取代為下列群組：(1)降低對蛋白水解之易感性，(2)降低對氧化之易感性，(3)改變形成蛋白質複合物之結合親和力，(4)改變結合親和力，和

(5)賦予或修改該類似物之其他物理化學或功能特性。類似物可包括除了天然存在之肽序列之多種序列的突變蛋白。例如，可在天然存在之序列(例如在形成分子間接觸之結構域外的多肽部分)中製造單一或多個胺基酸取代(例如保守性胺基酸取代)。保守性胺基酸取代不應該實質上改變該親本序列之結構特徵(例如替代胺基酸不應傾向破壞存在於親本序列中之螺旋，或破壞其他類型之表徵該親本序列的二級結構)。本技藝識別之多肽二級和三級結構之實例描述於 *Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984))； *Introduction to Protein Structure* (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991))；和 Thornton et al. *Nature* 354:105 (1991)。

【0268】如本文所使用之術語“多肽片段”係指具有胺基端和/或羧基端缺失和/或一或多個內部缺失之多肽，但該多肽中之其餘胺基酸序列與，例如從全長cDNA序列推導之天然存在的序列中之對應位置相一致。片段長度通常為至少5、6、8或10個胺基酸，於一些實施態樣中，片段長度為至少14個胺基酸，於一些實施態樣中，片段長度為至少20個胺基酸，片段長度通常為至少50個胺基酸，且於一些實施態樣中，片段長度為至少70個胺基酸長。如本文所使用之術語“類似物”係指由具有至少25個胺基酸之節段所組成的多肽，該節段與推導之胺基酸序列的一部分基本上相一致且在合適之結合條件下與標靶特異結合。通

常，多肽類似物包含相對於該天然存在之序列的保守性胺基酸取代(或添加或缺失)。類似物通常為至少20個胺基酸長，於一些實施態樣中，為至少50個胺基酸長或更長，且通常可與天然存在之全長多肽等長。

【0269】本文所使用之術語“作用劑”係指化學化合物、化學化合物之混合物、生物大分子或從生物材料製成之萃取物。

【0270】如本文所使用之術語“示蹤劑”或“經標示的”係指納入可檢測之標記，例如將經放射標示之胺基酸納入或附接於生物素部分之多肽，該生物素部分之多肽可藉由經標記之親和素檢測(例如含有可藉由光學或量熱法檢測之螢光標記或酶促活性的鏈黴親和素)。在某些情況下，該示蹤劑或標記亦可為治療性。本技藝已知且可使用標記多肽和糖蛋白的多種方法。用於多肽之示蹤劑的實例包括，但不限於：放射性同位素或放射性核素(例如 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I)、螢光示蹤劑(例如FITC、羅丹明、鐳系磷光體)、酶示蹤劑(例如辣根過氧化物酶、對-半乳糖苷酶、螢光素酶、鹼性磷酸酶)、化學發光劑、生物素基團、可被二級報告子識別之預定的多肽表位(例如白胺酸拉鏈對序列、二級抗體之結合部位、金屬結合結構域、表位標籤)。於一些實施態樣中，該示蹤劑係藉由多種長度之間隔子臂附接以減少可能之空間位阻。如本文所使用之術語“藥劑或藥物”係指當適當地投予患者時能夠誘導期望之治療效果的化合物或組成

物。

【0271】本文中之其他化學術語係根據本技藝之常規用法使用，如例示於 The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (Parker, S., Ed., McGraw-Hill, San Francisco (1985))中者。

【0272】如本文所使用之“基本上純質的”意指物種為主要存在物種(即，按莫耳計，其較該組成物中之任何其他個別物種更豐富)，且於一些實施態樣中，基本上純化之餾分為其中該目標物種佔所有存在之大分子物種的約50%(按莫耳計)的組成物。

【0273】一般而言，基本上純質之組成物將包含多於約80%之存在於該組成物中的所有大分子物種，於一些實施態樣中，多於約85%、90%、95%和99%。於一些實施態樣中，該目標物種係經純化至基本上均質(藉由常規檢測方法無法檢測到該組成物中之污染物)，其中該組成物基本上係由單一大分子物種所組成。

【0274】術語患者包括人類和獸醫對象。

【0275】本揭示內容之可活化之抗體與指定標靶(例如人標靶蛋白)特異地結合。本揭示內容亦包括可活化之抗體，其可與本文所描述之可活化抗體所結合之相同表位結合。

【0276】本技藝之技術熟習人士將認知無需過多之實驗即可能測定單株抗體(例如鼠類單株抗體或人化抗體)是否具有與本文所描述之方法中所使用之單株抗體相同的特

異性，此係藉由確認前者是否阻止後者與標靶結合來進行。若該測試之單株抗體與本揭示內容之單株抗體競爭(由本揭示內容之單株抗體的結合減少證明)，則該二種單株抗體與相同或密切相關之表位結合。用於測定單株抗體是否具有本揭示內容之單株抗體之特異性的方法為將本揭示內容之單株抗體與該標靶預先培育，然後添加接受測試之單株抗體，以測定所測試之單株抗體與標靶結合之能力是否受抑制。若所測試之單株抗體被抑制，則其極有可能具有與本揭示內容之單株抗體相同或功能上等效之表位特異性。

多特異性可活化之抗體

【0277】本揭示內容亦提供多特異性可活化之抗體。本文提供之多特異性可活化之抗體為可識別二或更多種不同抗原或表位之多特異性抗體，且包括至少一個掩蔽部分(MM)，該掩蔽部分(MM)與至少一個該多特異性抗體之抗原或表位結合結構域連接，使得MM之偶聯可降低該抗原或表位結合結構域與其標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該MM經由CM1-CM2受質與該多特異性抗體之抗原或表位結合結構域偶聯，該CM1-CM2受質係作為至少一種MMP和至少一種SP之受質。本文所提供之可活化的多特異性抗體在循環中穩定，在預期之治療和/或診斷部位被活化，但在正常(即，健康)組織中則不，且當被活化時，顯示出與至少與該對應之未經修飾的多特異性抗體相當之

標靶結合。

【0278】於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體被設計成與免疫效應細胞接合，本文中亦稱為免疫效應細胞接合之多特異性可活化抗體。於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體被設計成與白血球接合，本文中亦稱為白血球接合之多特異性可活化抗體。於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體被設計成與T細胞接合，本文中亦稱為T細胞接合之多特異性可活化抗體。於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體與白血球(諸如T細胞、天然殺傷(NK)細胞、髓樣單核細胞、巨噬細胞和/或另一種免疫效應細胞)上之表面抗原接合。於一些實施態樣中，該免疫效應細胞為白血球。於一些實施態樣中，該免疫效應細胞為T細胞。於一些實施態樣中，該免疫效應細胞為NK細胞。於一些實施態樣中，該免疫效應細胞為單核細胞，諸如髓樣單核細胞。於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體被設計成與一個以上之標靶和/或一個以上之表位結合或交互作用，本文中亦稱為多抗原靶向之可活化抗體。如本文所使用之術語“標靶”和“抗原”可互換使用。

【0279】於一些實施態樣中，本揭示內容之免疫效應細胞接合之多特異性可活化之抗體包括靶向抗體或其抗原結合片段和免疫效應細胞接合之抗體或其抗原結合部分，其中該靶向抗體或其抗原結合片段和/或免疫效應細胞接合之抗體或其抗原結合部分中至少一者被掩蔽。於一些實

施態樣中，該免疫效應細胞接合之抗體或其抗原結合片段包括與第一免疫效應細胞接合之標靶結合的第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，其中該AB1附接至掩蔽部分(MM1)，使得與MM1偶聯可降低該AB1與第一標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該靶向抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段(包括與第二標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2))，其中該AB2附接至掩蔽部分(MM2)，使得與MM2偶聯可降低該AB2與第二標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該免疫效應細胞接合之抗體或其抗原結合片段包括與第一免疫效應細胞接合之標靶結合的第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，其中該AB1附接至掩蔽部分(MM1)，使得與MM1偶聯可降低該AB1與第一標靶結合之能力，且該靶向抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段(其包括與第二標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2))，其中該AB2附接至掩蔽部分(MM2)，使得與MM2偶聯可降低AB2與第二標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該非免疫效應細胞接合之抗體為癌症靶向抗體。於一些實施態樣中，該非免疫細胞效應抗體為IgG。於一些實施態樣中，該免疫效應細胞接合之抗體為scFv。於一些實施態樣中，該靶向抗體(例如非免疫細胞效應抗體)為IgG且該免疫效應細胞接合之抗體為scFv。於一些實施態樣中，該免疫效應細胞為白血球。於一些實施態樣中，該免疫效應細胞為T細胞。於一些實施態樣中，該免疫效應細胞為NK細胞。於一些實施態樣中，該免疫效應細胞為

髓樣單核細胞。

【0280】於一些實施態樣中，本揭示內容之T細胞接合之多特異性可活化的抗體包括靶向抗體或其抗原結合片段和T細胞接合之抗體或其抗原結合部分，其中該靶向抗體或其抗原結合片段和/或T細胞接合之抗體或其抗原結合部分中至少一者被掩蔽。於一些實施態樣中，該T細胞接合之抗體或其抗原結合片段包括與第一T細胞接合之標靶結合的第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，其中該AB1附接於掩蔽部分(MM1)，使得與MM1偶聯可降低該AB1與第一標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該靶向抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2)，其中該AB2附接於掩蔽部分(MM2)，使得與MM2偶聯可降低AB2與第二標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該T細胞接合之抗體或其抗原結合片段包括與第一T細胞接合之標靶結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，其中該AB1附接於掩蔽部分(MM1)，使得與MM1偶聯可降低該AB1與第一標靶結合之能力，且該靶向抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2)，其中該AB2附接於掩蔽部分(MM2)，使得與MM2偶聯可降低AB2與第二標靶結合之能力。

【0281】於一些實施態樣中，該T細胞接合之多特異性可活化之抗體包括癌症靶向抗體或其抗原結合片段和T

細胞接合之抗體或其抗原結合部分，其中該癌症靶向抗體或其抗原結合片段和/或T細胞接合之抗體或其抗原結合部分中至少一者被掩蔽。於一些實施態樣中，該T細胞接合之抗體或其抗原結合片段包括與第一T細胞接合之標靶結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，其中該AB1附接於掩蔽部分(MM1)，使得與MM1偶聯可降低該AB1與第一標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該癌症靶向抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二癌症相關標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2)，其中該AB2附接於掩蔽部分(MM2)，使得與MM2偶聯可降低AB2與第二癌症相關標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該T細胞接合之抗體或其抗原結合片段包括與第一T細胞接合之標靶結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，其中該AB1附接於掩蔽部分(MM1)，使得與MM1偶聯可降低該AB1與第一標靶結合之能力，且該癌症靶向抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二癌症相關之標靶結合的第二抗體或其抗原結合片段(AB2)，其中該AB2附接於掩蔽部分(MM2)，使得與MM2偶聯可降低AB2與第二癌症相關之標靶結合的能力。

【0282】於一些實施態樣中，該T細胞接合之多特異性可活化之抗體包括癌症靶向IgG抗體或其抗原結合片段和T細胞接合之scFv，其中該癌症靶向IgG抗體或其抗原結合片段和/或T細胞接合之抗體或其抗原結合部分中至少一

者被掩蔽。於一些實施態樣中，該 T 細胞接合之抗體或其抗原結合部分包括與第一 T 細胞接合之標靶結合的第一抗體或其抗原結合片段 (AB1)，其中該 AB1 附接於掩蔽部分 (MM1)，使得與 MM1 偶聯可降低該 AB1 與第一標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該癌症靶向 IgG 抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二癌症相關標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段 (AB2)，其中該 AB2 附接於掩蔽部分 (MM2)，使得與 MM2 偶聯可降低 AB2 與第二癌症相關標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該 T 細胞接合之抗體或其抗原結合片段包括與第一 T 細胞接合之標靶結合之第一抗體或其抗原結合片段 (AB1)，其中該 AB1 附接於掩蔽部分 (MM1)，使得與 MM1 偶聯可降低該 AB1 與第一標靶結合之能力，且該癌症靶向 IgG 抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二癌症相關標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段 (AB2)，其中該 AB2 附接於掩蔽部分 (MM2)，使得與 MM2 偶聯可降低 AB2 與第二癌症相關標靶結合之能力。

【0283】於免疫效應細胞接合之多特異性可活化之抗體的一些實施態樣中，通常一種抗原為存在於腫瘤細胞或其他與疾病相關之細胞類型之表面上的抗原，諸如，但不限於列於表 1 中之任何標靶，諸如，但不限於 EGFR、erbB2、EpCAM、Jaggd、PD-L1、B7H3 或 CD71 (轉鐵蛋白受體)，而另一種抗原通常為存在於 T-細胞、天然殺手

(NK)細胞、髓樣單核細胞、巨噬細胞和/或其他免疫效應細胞表面上之刺激性或抑制性受體，諸如，但不限於B7-H4、BTLA、CD3、CD4、CD8、CD16a、CD25、CD27、CD28、CD32、CD56、CD137、CTLA-4、GITR、HVEM、ICOS、LAG3、NKG2D、OX40、PD-1、TIGIT、TIM3或VISTA。於一些實施態樣中，該抗原為存在於T細胞或NK細胞表面上之刺激性受體；該刺激性受體之實例包括，但不限於CD3、CD27、CD28、CD137(亦稱為4-1BB)、GITR、HVEM、ICOS、NKG2D和OX40。於一些實施態樣中，該抗原為存在於T細胞表面上之抑制性受體。該抑制性受體之實例包括，但不限於BTLA、CTLA-4、LAG3、PD-1、TIGIT、TIM3和NK表現之KIR。賦予對該T細胞表面抗原之特異性的抗體結構域亦可被與T細胞受體、NK細胞受體、巨噬細胞受體和/或其他免疫效應細胞受體(諸如，但不限於B7-1、B7-2、B7H3、PD-L1、PD-L2或TNFSF9)結合之配體或配體結構域取代。

【0284】本揭示內容之一種實施態樣為可在癌症微環境中活化之多特異性可活化之抗體，其包括針對腫瘤標靶之抗體，例如IgG或scFv，和針對表現在經活化之T細胞或NK細胞之表面上的共刺激受體之激動劑抗體，例如IgG或scFv，其中該癌症標靶抗體和/或激動劑抗體中至少一者被掩蔽。共刺激受體之實例包括，但不限於CD27、CD137、GITR、HVEM、NKG2D和OX40。於該實施態樣中，該多特異性可活化之抗體一旦被腫瘤相關之蛋白酶活

化時將以腫瘤依賴性方式有效地交聯並活化T細胞或NK細胞表現之共刺激受體來增強T細胞之活性，該T細胞經由其內源性T細胞抗原或NK活化受體對任一腫瘤抗原反應。這些T細胞或NK細胞共刺激受體之活化依賴性性質將使該經活化之多特異性可活化之抗體的活性集中在腫瘤特異性T細胞，而不活化所有與其抗原特異性無關之T細胞。於一實施態樣中，該多特異性可活化之抗體中至少該共刺激性受體抗體被掩蔽以防止自體反應性T細胞活化，該自體反應性T細胞可能存在於亦表現可被該多特異性可活化之抗體中針對腫瘤標靶之抗體識別的抗原之組織中，但其活性因缺乏共受體接合而受到限制。

【0285】本揭示內容之一實施態樣為可在疾病或發炎性疾病微環境中活化之多特異性可活化的抗體，該疾病之特徵為T細胞過度刺激，諸如，但不限於自體免疫性疾病。該多特異性可活化之抗體包括針對包含表面抗原(其表現在自體免疫或炎性疾病中被T細胞靶向之組織)之標靶之抗體(例如IgG或scFv)，及針對表現在T細胞或NK細胞表面之抑制性受體的抗體(例如IgG或scFv)，其中該疾病組織標靶抗體和/或T細胞抑制性受體抗體中至少一者被掩蔽。抑制性受體之實例包括，但不限於BTLA、CTLA-4、LAG3、PD-1、TIGIT、TIM3和NK表現之KIR。在自體免疫性疾病中被T細胞靶向之組織抗原的實例包括，但不限於表現在多發性硬化症中之髓鞘或神經細胞上的表面抗原或表現在第1型糖尿病中之胰島細胞上的表面抗原。於該

實施態樣中，當位於受到自體免疫攻擊或發炎之組織中時，該多特異性可活化之抗體被活化並與T細胞或NK細胞抑制受體共同接合，以抑制該自體反應性T細胞之活性，該自體反應性T細胞係經由其內源性TCR或活化受體而對任何被靶向之疾病組織抗原反應。於一實施態樣中，至少一或多個抗體被掩蔽以防止其中亦表現該靶抗原之非疾病組織中的T細胞反應受抑制。

【0286】於一些實施態樣中，該T細胞接合之多特異性可活化之抗體包括抗CD3 ϵ (CD3 ϵ ，本文中亦稱為CD3e和CD3)scFv和靶向抗體或其抗原結合片段，其中該抗CD3 ϵ scFv和/或靶向抗體或其抗原結合部分至少一者被掩蔽。於一些實施態樣中，該CD3 ϵ scFv包括與CD3 ϵ 結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，其中該AB1附接於掩蔽部分(MM1)，使得與MM1偶聯可降低該AB1與CD3 ϵ 結合之能力。於一些實施態樣中，該靶向抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2)，其中該AB2附接於掩蔽部分(MM2)，使得與MM2偶聯可降低AB2與第二標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該CD3 ϵ scFv包括與CD3 ϵ 結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，其中該AB1附接於掩蔽部分(MM1)，使得與MM1偶聯可降低該AB1與CD3 ϵ 結合之能力，且該靶向抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2)，其中該

AB2附接於掩蔽部分(MM2)，使得與MM2偶聯可降低AB2與第二標靶結合之能力。

【0287】於一些實施態樣中，該T細胞接合之多特異性可活化之抗體包括抗CD3 ϵ scFv和癌症靶向抗體或其抗原結合片段，其中該抗CD3 ϵ scFv和/或該癌症靶向抗體或其抗原結合部分中至少一者被掩蔽。於一些實施態樣中，該CD3 ϵ scFv包括與CD3 ϵ 結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，其中該AB1附接於掩蔽部分(MM1)，使得與MM1偶聯可降低該AB1與CD3 ϵ 結合之能力。於一些實施態樣中，該癌症靶向抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二癌症相關標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2)，其中該AB2附接於掩蔽部分(MM2)，使得與MM2偶聯可降低AB2與第二癌症相關標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該CD3 ϵ scFv包括與CD3 ϵ 結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，其中該AB1附接於掩蔽部分(MM1)，使得與MM1偶聯可降低該AB1與CD3 ϵ 結合之能力，而該癌症靶向抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二癌症相關標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2)，其中該AB2附接於掩蔽部分(MM2)，使得與MM2偶聯可降低AB2與第二癌症相關標靶結合之能力。

【0288】於一些實施態樣中，該T細胞接合之多特異性可活化之抗體包括抗CD3 ϵ scFv和癌症靶向IgG抗體或其抗原結合片段，其中該抗CD3 ϵ scFv和/或癌症靶向IgG抗體

或其抗原結合部分中至少一者被掩蔽。於一些實施態樣中，該 $CD3\epsilon scFv$ 包括與 $CD3\epsilon$ 結合之第一抗體或其抗原結合片段 (AB1)，其中該 AB1 附接於掩蔽部分 (MM1)，使得與 MM1 偶聯可降低該 AB1 與 $CD3\epsilon$ 結合之能力。於一些實施態樣中，該癌症靶向 IgG 抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二癌症相關標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段 (AB2)，其中該 AB2 附接於掩蔽部分 (MM2)，使得與 MM2 偶聯可降低 AB2 與第二癌症相關標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該 $CD3\epsilon scFv$ 包括與 $CD3\epsilon$ 結合之第一抗體或其抗原結合片段 (AB1)，其中該 AB1 附接於掩蔽部分 (MM1)，使得與 MM1 偶聯可降低該 AB1 與 $CD3\epsilon$ 結合之能力，而該癌症靶向 IgG 抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二癌症相關標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段 (AB2)，其中該 AB2 附接於掩蔽部分 (MM2)，使得與 MM2 偶聯可降低 AB2 與第二癌症相關標靶結合之能力。

【0289】於一些實施態樣中，該 T 細胞接合之多特異性可活化之抗體包括衍生自 OKT3 之抗 $CD3\epsilon scFv$ ，其中該靶向抗體或其抗原結合片段和/或該 OKT3 scFv 或衍生自 OKT3 之 scFv 中至少一者被掩蔽。於一些實施態樣中，該 OKT3 scFv 或衍生自 OKT3 之 scFv 包括與 $CD3\epsilon$ 結合之第一抗體或其抗原結合片段 (AB1)，其中該 AB1 附接於掩蔽部分 (MM1)，使得與 MM1 偶聯可降低該 AB1 與 $CD3\epsilon$ 結合之能

力。於一些實施態樣中，該靶向抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2)，其中該AB2附接於掩蔽部分(MM2)，使得與MM2偶聯可降低AB2與第二標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該OKT3 scFv或衍生自OKT3之scFv包括與CD3 ϵ 結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，其中該AB1附接於掩蔽部分(MM1)，使得與MM1偶聯可降低該AB1與CD3 ϵ 結合之能力，而該靶向抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2)，其中該AB2附接於掩蔽部分(MM2)，使得與MM2偶聯可降低AB2與第二標靶結合之能力。

【0290】於一些實施態樣中，該T細胞接合之多特異性可活化之抗體包括OKT3 scFv或衍生自OKT3之scFv和癌症靶向抗體或其抗原結合片段，其中該OKT3 scFv或衍生自OKT3之scFv和/或該癌症靶向抗體或其抗原結合部分中至少一者被掩蔽。於一些實施態樣中，該OKT3 scFv或衍生自OKT3之scFv包括與CD3 ϵ 結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，其中該AB1附接於掩蔽部分(MM1)，使得與MM1偶聯可降低該AB1與CD3 ϵ 結合之能力。於一些實施態樣中，該癌症靶向抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二癌症相關標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2)，其中該AB2附接於掩蔽部分(MM2)，使得與MM2偶聯可降低AB2與第二癌

症相關標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該 OKT3 scFv 或衍生自 OKT3 之 scFv 包括與 CD3 ϵ 結合之第一抗體或其抗原結合片段 (AB1)，其中該 AB1 附接於掩蔽部分 (MM1)，使得與 MM1 偶聯可降低該 AB1 與 CD3 ϵ 結合之能力，而該癌症靶向抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二癌症相關標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段 (AB2)，其中該 AB2 附接於掩蔽部分 (MM2)，使得與 MM2 偶聯可降低 AB2 與第二癌症相關標靶結合之能力。

【0291】於一些實施態樣中，該 T 細胞接合之多特異性可活化之抗體包括 OKT3 scFv 或衍生自 OKT3 之 scFv 和癌症靶向 IgG 抗體或其抗原結合片段，其中該 OKT3 scFv 或衍生自 OKT3 之 scFv 和 / 或該癌症靶向 IgG 抗體或其抗原結合部分中至少一者被掩蔽。於一些實施態樣中，該 OKT3 scFv 或衍生自 OKT3 之 scFv 包括與 CD3 ϵ 結合之第一抗體或其抗原結合片段 (AB1)，其中該 AB1 附接於掩蔽部分 (MM1)，使得與 MM1 偶聯可降低該 AB1 與 CD3 ϵ 結合之能力。於一些實施態樣中，該癌症靶向 IgG 抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二癌症相關標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段 (AB2)，其中該 AB2 附接於掩蔽部分 (MM2)，使得與 MM2 偶聯可降低 AB2 與第二癌症相關標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該 OKT3 scFv 或衍生自 OKT3 之 scFv 包括與 CD3 ϵ 結合之第一抗體或其抗原結合片段 (AB1)，其中該

AB1附接於掩蔽部分(MM1)，使得與MM1偶聯可降低該AB1與CD3 ϵ 結合之能力，而該癌症靶向抗體IgG或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二癌症相關標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2)，其中該AB2附接於掩蔽部分(MM2)，使得與MM2偶聯可降低AB2與第二癌症相關標靶結合之能力。

【0292】於一些實施態樣中，該T細胞接合之多特異性可活化之抗體包括抗CTLA-4 scFv，其中該靶向抗體或其抗原結合片段和/或抗CTLA-4 scFv中至少一者被掩蔽。於一些實施態樣中，該抗CTLA-4 scFv包括與CTLA-4結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，其中該AB1附接於掩蔽部分(MM1)，使得與MM1偶聯可降低該AB1與CTLA-4結合之能力。於一些實施態樣中，該靶向抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2)，其中該AB2附接於掩蔽部分(MM2)，使得與MM2偶聯可降低AB2與第二標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該抗CTLA-4 scFv包括與CTLA-4結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，其中該AB1附接於掩蔽部分(MM1)，使得與MM1偶聯可降低該AB1與CTLA-4結合之能力，而該靶向抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2)，其中該AB2附接於掩蔽部分(MM2)，使得與MM2偶聯可降低AB2與第二標靶結合之能力。

【0293】於一些實施態樣中，該T細胞接合之多特異性可活化之抗體包括抗CTLA-4 scFv和靶向IgG抗體或其抗原結合片段，其中該抗CTLA-4 scFv和/或靶向IgG抗體或其抗原結合部分中至少一者被掩蔽。於一些實施態樣中，該抗CTLA-4 scFv包括與CTLA-4結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，其中該AB1附接於掩蔽部分(MM1)，使得與MM1偶聯可降低該AB1與CTLA-4結合之能力。於一些實施態樣中，該靶向IgG抗體或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2)，其中該AB2附接於掩蔽部分(MM2)，使得與MM2偶聯可降低AB2與第二標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該抗CTLA-4 scFv包括與CTLA-4結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，其中該AB1附接於掩蔽部分(MM1)，使得與MM1偶聯可降低該AB1與CTLA-4結合之能力，而該靶向抗體IgG或其抗原結合片段包括第二抗體或其片段，該第二抗體或其片段包括與第二標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2)，其中該AB2附接於掩蔽部分(MM2)，使得與MM2偶聯可降低AB2與第二標靶結合之能力。

【0294】於一些實施態樣中，該多抗原靶向抗體和/或多抗原靶向可活化之抗體至少包括與第一標靶和/或第一表位結合之第一抗體或其抗原結合片段，和與第二標靶和/或第二表位結合之第二抗體或其抗原結合片段。於一些實施態樣中，該多抗原靶向抗體和/或多抗原靶向可活

化之抗體與二或更多個不同標靶結合。於一些實施態樣中，該多抗原靶向抗體和/或多抗原靶向可活化之抗體與同一標靶上之二或更多個不同表位結合。於一些實施態樣中，該多抗原靶向抗體和/或多抗原靶向可活化之抗體與同一標靶上之二或更多個不同標靶及二或更多個不同表位結合。

【0295】於一些實施態樣中，包含IgG之多特異性可活化之抗體具有被掩蔽之IgG可變結構域。於一些實施態樣中，包含scFv之多特異性可活化之抗體具有被掩蔽之scFv結構域。於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體同時具有IgG可變結構域和scFv結構域二者，其中至少一個IgG可變結構域與掩蔽部分偶聯。於一些實施態樣中，多特異性可活化之抗體同時具有IgG可變結構域和scFv結構域二者，其中至少一個scFv結構域與掩蔽部分偶聯。於一些實施態樣中，多特異性可活化之抗體同時具有IgG可變結構域和scFv結構域二者，其中至少一個IgG可變結構域與掩蔽部分偶聯且至少一個scFv結構域與掩蔽部分偶聯。於一些實施態樣中，多特異性可活化之抗體同時具有IgG可變結構域和scFv結構域二者，其中每一IgG可變結構域和scFv結構域均與其擁有之掩蔽部分偶聯。於一些實施態樣中，多特異性可活化之抗體的一個抗體結構域對靶抗原具有特異性，而另一抗體結構域對T細胞表面抗原具有特異性。於一些實施態樣中，多特異性可活化之抗體的一個抗體結構域對靶抗原具有特異性，而另一抗體結構域

對另一靶抗原具有特異性。於一些實施態樣中，多特異性可活化之抗體的一個抗體結構域對靶抗原之表位具有特異性，而另一抗體結構域對該靶抗原之另一表位具有特異性。

【0296】在多特異性可活化之抗體中，scFv可與IgG可活化之抗體的重鏈之羧基端融合、可與IgG可活化之抗體的輕鏈之羧基端融合或可與IgG可活化之抗體的重鏈和輕鏈二者的羧基端融合。在多特異性可活化之抗體中，scFv可與IgG可活化之抗體的重鏈之胺基端融合、可與IgG可活化之抗體的輕鏈之胺基端融合或可與IgG可活化之抗體的重鏈和輕鏈二者的胺基端融合。在多特異性可活化之抗體中，scFv可與IgG可活化之抗體的一或多個羧基端和一或多個胺基端的任何組合融合。於一些實施態樣中，該與CM1-CM2受質連接之掩蔽部分(MM)附接於並掩蔽該IgG之抗原結合結構域。於一些實施態樣中，與CM1-CM2受質連接之掩蔽部分(MM)連接並掩蔽至少一個scFv之抗原結合結構域。於一些實施態樣中，一與CM1-CM2受質連接之掩蔽部分(MM)附接於並掩蔽IgG之抗原結合結構域，且一與CM1-CM2受質連接之掩蔽部分(MM)附接於並掩蔽至少一個scFv之抗原結合結構域。

【0297】本揭示內容提供多特異性可活化之抗體結構的實例，其包括，但不限於下列者：(VL-CL)₂：(VH-CH1-CH2-CH3-L4-VH*-L3-VL*-LP2-CM1-CM2受質-LP1-MM)₂；(VL-CL)₂：(VH-CH1-CH2-CH3-L4-VL*-L3-VH*-

$LP2-CM1-CM2$ 受質 - $LP1-MM$)₂ ; ($MM-LP1-CM1-CM2$ 受質 - $LP2-VL-CL$)₂ ; ($VH-CH1-CH2-CH3-L4-VH^*-L3-VL^*$)₂ ; ($MM-LP1-CM1-CM2$ 受質 - $LP2-VL-CL$)₂ ; ($VH-CH1-CH2-CH3-L4-VL^*-L3-VH^*$)₂ ; ($VL-CL$)₂ ; ($MM-LP1-CM1-CM2$ 受質 - $LP2-VL^*-L3-VH^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3$)₂ ; ($VL-CL$)₂ ; ($MM-LP1-CM1-CM2$ 受質 - $LP2-VH^*-L3-VL^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3$)₂ ; ($MM-LP1-CM1-CM2$ 受質 - $LP2-VL-CL$)₂ ; ($VL^*-L3-VH^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3$)₂ ; ($MM-LP1-CM1-CM2$ 受質 - $LP2-VL-CL$)₂ ; ($VH^*-L3-VL^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3$)₂ ; ($VL-CL-L4-VH^*-L3-VL^*-LP2-CM1-CM2$ 受質 - $LP1-MM$)₂ ; ($VH-CH1-CH2-CH3$)₂ ; ($VL-CL-L4-VL^*-L3-VH^*-LP2-CM1-CM2$ 受質 - $LP1-MM$)₂ ; ($VH-CH1-CH2-CH3$)₂ ; ($MM-LP1-CM1-CM2$ 受質 - $LP2-VL^*-L3-VH^*-L4-VL-CL$)₂ ; ($VH-CH1-CH2-CH3$)₂ ; ($MM-LP1-CM1-CM2$ 受質 - $LP2-VH^*-L3-VL^*-L4-VL-CL$)₂ ; ($VH-CH1-CH2-CH3$)₂ ; ($VL-CL-L4-VH^*-L3-VL^*-LP2-CM1-CM2$ 受質 - $LP1-MM$)₂ ; ($MM-LP1-CM1-CM2$ 受質 - $LP2-VL^*-L3-VH^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3$)₂ ; ($VL-CL-L4-VH^*-L3-VL^*-LP2-CM1-CM2$ 受質 - $LP1-MM$)₂ ; ($MM-LP1-CM1-CM2$ 受質 - $LP2-VH^*-L3-VL^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3$)₂ ; ($VL-CL-L4-VL^*-L3-VH^*-LP2-CM1-CM2$ 受質 - $LP1-MM$)₂ ; ($MM-LP1-CM1-CM2$ 受質 - $LP2-VL^*-L3-VH^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3$)₂ ; ($VL-CL-L4-VL^*-L3-VH^*-LP2-CM1-CM2$ 受質 - $LP1-MM$)₂ ; ($MM-LP1-CM1-CM2$ 受質 - $LP2-VH^*-L3-VL^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3$)₂ ; ($VL-$

$(CL-L4-VH^*-L3-VL^*)_2$: $(MM-LP1-CM1-CM2 \text{ 受質 } -LP2-VL^*-L3-VH^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VH^*-L3-VL^*)_2$: $(MM-LP1-CM1-CM2 \text{ 受質 } -LP2-VH^*-L3-VL^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VL^*-L3-VH^*)_2$: $(MM-LP1-CM1-CM2 \text{ 受質 } -LP2-VL^*-L3-VH^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VL^*-L3-VH^*)_2$: $(MM-LP1-CM1-CM2 \text{ 受質 } -LP2-VH^*-L3-VL^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VL^*-L3-VH^*)_2$: $(MM-LP1-CM1-CM2 \text{ 受質 } -LP2-VH^*-L3-VL^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VH^*-L3-VL^*-LP2-CM1-CM2 \text{ 受質 } -LP1-MM)_2$: $(VL^*-L3-VH^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VH^*-L3-VL^*-LP2-CM1-CM2 \text{ 受質 } -LP1-MM)_2$: $(VH^*-L3-VL^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; $(VL-CL-L4-VL^*-L3-VH^*-LP2-CM1-CM2 \text{ 受質 } -LP1-MM)_2$: $(VL^*-L3-VH^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$; 或 $(VL-CL-L4-VL^*-L3-VH^*-LP2-CM1-CM2 \text{ 受質 } -LP1-MM)_2$: $(VH^*-L3-VL^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2$, 其中 : VL 和 VH 代表包含在 IgG 中之具有第一特異性的輕和重鏈可變結構域 ; VL* 和 VH* 代表包含在 scFv 中之具有第二特異性的可變結構域 ; LP1 為連接該掩蔽部分 (MM) 和 CM1-CM2 受質之連接子肽 ; LP2 為連接該 CM1-CM2 受質和抗體之連接子肽 ; L3 為連接該 scFv 之可變結構域的連接子肽 ; L4 為連接該具有第一特異性之抗體和具有第二特異性之抗體的連接子肽 ; CL 為輕鏈恆定結構域 ; 且 CH1、CH2、CH3 為重鏈恆定結構域。該第一和第二特異性可針對任何抗原或表位。

【0298】於 T 細胞接合之多特異性可活化之抗體的一

些實施態樣中，一種抗原通常為存在於腫瘤細胞或與疾病相關之其他細胞類型上的抗原，諸如，但不限於表1中所列之任何標靶，諸如，但不限於EGFR、erbB2、EpCAM、Jagged、PD-L1、B7H3或CD71(轉鐵蛋白受體)，而另一種抗原通常為存在於T細胞、天然殺手(NK)細胞、髓樣單核細胞、巨噬細胞和/或其他免疫效應細胞之表面上的刺激性(本文中亦稱為活化)或抑制性受體，諸如，但不限於B7-H4、BTLA、CD3、CD4、CD8、CD16a、CD25、CD27、CD28、CD32、CD56、CD137(亦稱為TNFRSF9)、CTLA-4、GITR、HVEM、ICOS、LAG3、NKG2D、OX40、PD-1、TIGIT、TIM3或VISTA。賦予T細胞表面抗原特異性之抗體結構域亦可被與T細胞受體、NK細胞受體、巨噬細胞受體和/或其他免疫效應細胞受體結合之配體或配體結構域取代，諸如，但不限於B7-1、B7-2、B7H3、PD-L1、PD-L2或TNFSF9。於多抗原靶向之可活化抗體的一些實施態樣中，一種抗原係選自表1中所列之標靶群組，而另一種抗原係選自表1中所列之標靶群組。

【0299】於一些實施態樣中，該靶向抗體為抗EGFR抗體。於一些實施態樣中，該靶向抗體為C225v5，其與EGFR特異地結合。於一些實施態樣中，該靶向抗體為C225，其與EGFR特異地結合。於一些實施態樣中，該靶向抗體為C225v4，其與EGFR特異地結合。於一些實施態樣中，該靶向抗體為C225v6，其與EGFR特異地結合。於一些實施態樣中，該靶向抗體為抗Jagged抗體。於一些實

施態樣中，該靶向抗體為4D11，其與人和小鼠Jagged 1和Jagged 2特異地結合。於一些實施態樣中，該靶向抗體為4D11v2，其與人和小鼠Jagged 1和Jagged 2特異地結合。

【0300】於一些實施態樣中，該靶向抗體可為可活化之抗體的形式。於一些實施態樣中，該scFv可為Pro-scFv之形式(參見，例如WO 2009/025846、WO 2010/081173)。

【0301】於一些實施態樣中，該scFv與CD3 ϵ 特異地結合，且為或衍生自與CD3 ϵ 結合之抗體或其片段，例如CH2527、FN18、H2C、OKT3、2C11、UCHT1或V9。於一些實施態樣中，該scFv與CTLA-4(本文中亦稱為CTLA和CTLA4)特異地結合。

【0302】於一些實施態樣中，該抗CTLA-4 scFv包括下列胺基酸序列：

```
GGGSGGGSGSGGGSGGGSGGGGEIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKP
GQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGGTKV
EIKRSGGSTITSYNVYYTKLSSSGTQVQLVQTTGGGVVQPGRLRLSCAASGSTFSSYAMSWVRQ
APGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATNSLYW
YFDLWGRGTLVTVSSAS (SEQ ID NO: 347)
```

【0303】於一些實施態樣中，該抗CTLA-4 scFv包含與SEQ ID NO: 347之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高之同一性的胺基酸序列。

【0304】於一些實施態樣中，該抗CD3 ϵ scFv包含下列胺基酸序列：

GGSGGGGSGSGGGSGGGSGGGQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRP
GQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTDDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYC
LDYWGGQTTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSQIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWY
QQKSGTSPKRWIYDTSKLGASGVPAPFRGSGSGTSYSLTISGMEAEDAATYYCQWSSNPFTFGS
GTKLEINR (SEQ ID NO: 349)

【0305】於一些實施態樣中，該抗CD3 ϵ scFv包含與SEQ ID NO: 349之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高之同一性的胺基酸序列。

【0306】於一些實施態樣中，該scFv與一或多個T細胞、一或多個NK細胞和/或一或多個巨噬細胞特異地結合。於一些實施態樣中，該scFv與選自由下列所組成之群組的標靶特異地結合：B7-H4、BTLA、CD3、CD4、CD8、CD16a、CD25、CD27、CD28、CD32、CD56、CD137、CTLA-4、GITR、HVEM、ICOS、LAG3、NKG2D、OX40、PD-1、TIGIT、TIM3或VISTA。

【0307】於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體亦包括與該AB軛合之作用劑。於一些實施態樣中，該作用劑為治療劑。於一些實施態樣中，該作用劑為抗腫瘤藥。於一些實施態樣中，該作用劑為毒素或其片段。於一些實施態樣中，該作用劑經由連接子與該多特異性可活化之抗體軛合。於一些實施態樣中，該作用劑經由可切割之連接子與AB軛合。於一些實施態樣中，該作用劑經由包括至少一CM1-CM2受質序列之連接子與AB軛合。於一些實施態樣中，該連接子為不可切割之連接子。於一些實施

態樣中，該作用劑為微管抑制劑。於一些實施態樣中，該作用劑為核酸破壞劑，諸如DNA烷基化劑或DNA嵌入劑，或其他DNA破壞劑。於一些實施態樣中，該連接子為可切割之連接子。於一些實施態樣中，該作用劑為選自表4中所列之群組的作用劑。於一些實施態樣中，該作用劑為多拉司他汀。於一些實施態樣中，該作用劑為澳瑞他汀或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為澳瑞他汀E或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為單甲基澳他汀E(MMAE)。於一些實施態樣中，該作用劑為單甲基澳他汀D(MMAD)。於一些實施態樣中，該作用劑為美登木素或美登木素衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為DM1或DM4。於一些實施態樣中，該作用劑為倍癌黴素或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為加利車黴素或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為吡咯並苯並二氮雜草。於一些實施態樣中，該作用劑為吡咯並苯並二氮雜草二聚體。

【0308】於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體亦包括可檢測部分。於一些實施態樣中，該可檢測部分為診斷劑。

【0309】於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體天然含有一或多個二硫鍵。於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體可經工程處理以包括一或多個二硫鍵。

【0310】本揭示內容亦提供編碼本文所描述之多特異性可活化之抗體的經分離之核酸分子，以及包含這些經分

離之核酸序列的載體。本揭示內容提供藉由在能導致該可活化之抗體表現的條件下培養細胞來產生多特異性可活化之抗體的方法，其中該細胞包含該核酸分子。於一些實施態樣中，該細胞包含該載體。

【0311】本揭示內容亦提供藉由下列步驟製造本揭示內容之多特異性可活化之抗體的方法：(a)在導致該多特異性可活化之抗體表現的條件下培養包含編碼該多特異性可活化之抗體的核酸構建體之細胞，和(b)回收該多特異性可活化之抗體。

【0312】本揭示內容亦提供多特異性可活化之抗體和/或多特異性可活化之抗體組成物，該抗體組成物至少包括與第一標靶或第一表位特異地結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)和與第二標靶或第二表位結合的第二抗體或其抗原結合片段(AB2)，其中至少AB1與掩蔽部分(MM1)偶聯或以其他方式附接，使得與MM1偶聯可降低AB1與其標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該MM1經由用於MMP和SP之CM1-CM2受質與AB1偶聯，其中MMP和SP中至少一者與AB1之標靶共定位在個體中之治療部位或診斷部位。本文提供之多特異性可活化之抗體在循環中穩定，在治療和/或診斷之預期部位被活化，但在正常組織(即，健康組織)中不穩定，且當活化時，顯現出與AB1之標靶結合，該AB1至少與該對應之未經修飾的多特異性抗體相當。

【0313】於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗

體在該 MM1與該 CM1-CM2受質之間包含連接肽。

【0314】於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體在該 CM1-CM2受質與該 AB1之間包含連接肽。

【0315】於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含第一連接肽(LP1)和第二連接肽(LP2)，且該呈未經切割狀態之多特異性可活化抗體中至少一部分從N端至C端之結構配置如下：MM1-LP1-CM1-CM2受質-LP2-AB1或AB1-LP2-CM1-CM2受質-LP1-MM1。於一些實施態樣中，該二個連接肽不需要彼此相一致。

【0316】於一些實施態樣中，LP1或LP2中至少一者包括選自由下列所組成之群組的胺基酸序列： $(GS)_n$ 、 $(GGS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ (SEQ ID NO：381)和 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO：382)，其中n為至少一之整數。於一些實施態樣中，LP1或LP2中至少一者包括選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：GGSG(SEQ ID NO：383)、GGSGG(SEQ ID NO：384)、GSGSG(SEQ ID NO：385)、GSGGG(SEQ ID NO：386)、GGGSG(SEQ ID NO：387)和GSSSG(SEQ ID NO：388)。

【0317】於一些實施態樣中，該可活化之抗體包括介於該 CM1與該 CM2之間的連接肽(LP')。

【0318】於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含第一連接肽(LP1)、第二連接肽(LP2)和介於該 CM1與該 CM2之間的連接肽(LP')，且該呈未經切割狀態之多特異性可活化抗體中至少一部分具有如下所示之從N端至C端的結構

排列：MM1-LP1-CM1-CM2受質-LP2-AB1或AB1-LP2-CM1-CM2受質-LP1-MM1。於一些實施態樣中，該連接肽不必彼此相一致。

【0319】於一些實施態樣中，LP'為GG。於一些實施態樣中，LP'為GGSGGS(SEQ ID NO：218)。

【0320】於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體至少包括與第一標靶或第一表位特異地結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)和與第二標靶或第二表位特異地結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2)。於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體中的每一AB係獨立選自由下列所組成之群組：單株抗體、結構域抗體、單鏈、Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、scAb、dAb、單結構域重鏈抗體和單結構域輕鏈抗體。於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體中之每一AB為嚙齒動物(例如小鼠或大鼠)、嵌合性、人化或全人單株抗體。

【0321】於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體中之每一AB與其對應之標靶或表位結合之解離常數為約100nM或更小。

【0322】於一些實施態樣中，MM1與其對應之AB結合之解離常數大於AB與其對應之標靶或表位結合之解離常數。

【0323】於一些實施態樣中，MM1與其對應之AB結合的解離常數不超過該AB與其對應之標靶或表位結合的解離常數。

【0324】於一些實施態樣中，當該多特異性可活化之抗體呈切割狀態時，該MM1不會干擾或與其對應之AB競爭與其對應之標靶或表位結合。

【0325】於一些實施態樣中，MM1為長度約2至40個胺基酸之多肽。於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體中的每一MM為長度不超過40個胺基酸之多肽。

【0326】於一些實施態樣中，MM1具有與該對應之AB之標靶所具者不同的多肽序列。

【0327】於一些實施態樣中，MM1具有多肽序列，該多肽序列與對應之AB的任何天然結合伴的同一性不超過50%。於一些實施態樣中，MM1具有多肽序列，該多肽序列與對應之AB的任何天然結合伴的同一性不超過25%。於一些實施態樣中，MM1具有多肽序列，該多肽序列與對應之AB的任何天然結合伴的同一性不超過10%。

【0328】於一些實施態樣中，與MM1偶聯可降低該對應之AB與其標靶或表位結合之能力，從而當AB與MM1偶聯時，該AB與其對應之標靶或表位結合之解離常數(K_d)至少較未與MM1偶聯之AB與其對應之標靶或表位結合的 K_d 高20倍。

【0329】於一些實施態樣中，與MM1偶聯可降低該對應之AB與其標靶或表位結合之能力，從而當AB與MM1偶聯時，該AB與其對應之標靶或表位結合之解離常數(K_d)至少較未與MM1偶聯之AB與其對應之標靶或表位結合的 K_d 高40倍。

【0330】於一些實施態樣中，與MM1偶聯可降低該對應之AB與其標靶或表位結合之能力，從而當AB與MM1偶聯時，該AB與其對應之標靶或表位結合之解離常數(K_d)至少較未與MM1偶聯之AB與其對應之標靶或表位結合的 K_d 高100倍。

【0331】於一些實施態樣中，與MM1偶聯可降低該對應之AB與其標靶或表位結合之能力，從而當AB與MM1偶聯時，該AB與其對應之標靶或表位結合之解離常數(K_d)至少較未與MM1偶聯之AB與其對應之標靶或表位結合的 K_d 高1000倍。

【0332】於一些實施態樣中，與MM1偶聯可降低該對應之AB與其標靶或表位結合之能力，從而當AB與MM1偶聯時，該AB與其對應之標靶或表位結合之解離常數(K_d)至少較未與MM1偶聯之AB與其對應之標靶或表位結合的 K_d 高10,000倍。

【0333】於一些實施態樣中，MM1為選自本文所揭示之MM的胺基酸序列。

【0334】於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體至少包括第二掩蔽部分(MM2)及與該AB2偶聯之額外的可切割部分(CM')，當該多特異性可活化之抗體呈未經切割之狀態時，該第二掩蔽部分(MM2)會抑制該AB2與其標靶結合，且其中該CM'為CM1-CM2受質或作為第二蛋白酶之受質的多肽。於一些實施態樣中，CM'為長度不超過15個胺基酸之多肽。於一些實施態樣中，CM'為CM1-CM2受

質，其中CM1-CM2受質中之各CM1和CM2的長度係獨立為不超過15個胺基酸。

【0335】於一些實施態樣中，該MMP、SP和/或第二蛋白酶係與第二標靶或表位共定位在組織中，且其中當該多特異性可活化之抗體接觸到MMP、SP和/或第二蛋白酶時，該MMP、SP和/或第二蛋白酶切割該多特異性可活化之抗體中的CM'。於一些實施態樣中，該MMP、SP和/或第二蛋白酶係與第一標靶或表位及第二標靶或表位共定位在組織中。於一些實施態樣中，該MMP、SP和/或第二蛋白酶為相同之MMP和相同之SP。於一些實施態樣中，該MMP、SP和/或第二蛋白酶並非相同之MMP，且並非相同之SP。於一些實施態樣中，該CM1-CM2受質和CM'對於相同之MMP蛋白酶和相同之SP而言為不同的受質。於一些實施態樣中，該切割CM'之蛋白酶係選自由表6中所示之蛋白酶所組成的群組。

【0336】於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體中的各MM(例如MM1和至少MM2)與其對應之AB結合的解離常數較該AB與其對應之標靶或表位結合的解離常數更大。

【0337】於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體中的各MM與其對應之AB結合的解離常數不超過該AB與其對應之標靶或表位結合的解離常數。

【0338】於一些實施態樣中，當該多特異性可活化之抗體呈切割狀態時，該多特異性可活化之抗體中的各MM

不會干擾或與其對應之 AB 競爭與對應之標靶或表位結合。

【0339】於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體中的各個 MM 為長度約 2 至 40 個胺基酸之多肽。於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體中的各個 MM 為長度不超過 40 個胺基酸之多肽。

【0340】於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體中的各個 MM 具有多肽序列，該多肽序列與該對應之 AB 的標靶不同。

【0341】於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體中的各 MM 之多肽序列與該對應之 AB 的任何天然結伴之同一性不超過 50%。於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體中的各 MM 之多肽序列與該對應之 AB 的任何天然結伴之同一性不超過 25%。於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體中的各 MM 之多肽序列與該對應之 AB 的任何天然結伴之同一性不超過 10%。

【0342】於一些實施態樣中，與各 MM 偶聯可降低該對應之 AB 與其標靶或表位結合之能力，從而當 AB 與 MM 偶聯時，該 AB 與其對應之標靶或表位結合之解離常數 (K_d) 至少較該未與 MM 偶聯之 AB 與其對應之標靶或表位結合的 K_d 高 20 倍。

【0343】於一些實施態樣中，與各 MM 偶聯可降低該對應之 AB 與其標靶或表位結合之能力，從而當 AB 與 MM 偶聯時，該 AB 與其對應之標靶或表位結合之解離常數 (K_d)

至少較該未與MM偶聯之AB與其對應之標靶或表位結合的 K_d 高40倍。

【0344】於一些實施態樣中，與各MM偶聯可降低該對應之AB與其標靶或表位結合之能力，從而當AB與MM偶聯時，該AB與其對應之標靶或表位結合之解離常數(K_d)至少較該未與MM偶聯之AB與其對應之標靶或表位結合的 K_d 高100倍。

【0345】於一些實施態樣中，與各MM偶聯可降低該對應之AB與其標靶或表位結合之能力，從而當AB與MM偶聯時，該AB與其對應之標靶或表位結合之解離常數(K_d)至少較該未與MM偶聯之AB與其對應之標靶或表位結合的 K_d 高1000倍。

【0346】於一些實施態樣中，與各MM偶聯可降低該對應之AB與其標靶或表位結合之能力，從而當AB與MM偶聯時，該AB與其對應之標靶或表位結合之解離常數(K_d)至少較該未與MM偶聯之AB與其對應之標靶或表位結合的 K_d 高10,000倍。

【0347】於一些實施態樣中，各MM為選自本文所揭示之MM的胺基酸序列。

【0348】於一些實施態樣中，該切割CM1-CM2受質序列之蛋白酶係與該多特異性可活化之抗體中的AB1之標靶共定位在組織中，且當該多特異性可活化之抗體暴露於該蛋白酶時，該MMP和/或SP，即，該MMP和SP中至少一者切割該多特異性可活化之抗體中的CM1-CM2受質。

【0349】於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體包括一個以上之CM1-CM2受質序列，且該切割至少一個CM1-CM2受質序列之MMP蛋白酶和/或SP係與該多特異性可活化之抗體中至少一個AB區之標靶共定位在組織中，且當該多特異性可活化之抗體暴露於該蛋白酶時，該MMP和/或SP切割該多特異性可活化之抗體中之CM1-CM2受質。

【0350】於一些實施態樣中，各CM1-CM2受質在該多特異性可活化之抗體中之定位使得該呈未經切割之狀態的多特異性可活化之抗體與AB區其中之一的標靶之結合減少，其解離常數較未經修飾之AB與其標靶結合之解離常數高至少二倍，且呈切割狀態時，該AB與其標靶結合。

【0351】於一些實施態樣中，各CM1-CM2受質在該多特異性可活化之抗體中之定位使得該呈未經切割之狀態的多特異性可活化之抗體與AB區其中之一的標靶之結合減少，其解離常數較未經修飾之AB與其標靶結合之解離常數高至少3倍，且在切割狀態下，該AB與其標靶結合。

【0352】於一些實施態樣中，各CM1-CM2受質在該多特異性可活化之抗體中之定位使得該呈未經切割之狀態的多特異性可活化之抗體與AB區其中之一的標靶之結合減少，其解離常數較未經修飾之AB與其標靶結合之解離常數高至少4倍，且在切割狀態下，該AB與其標靶結合。

【0353】於一些實施態樣中，各CM1-CM2受質在該

多特異性可活化之抗體中之定位使得該呈未經切割之狀態的多特異性可活化之抗體與AB區其中之一的標靶之結合減少，其解離常數較未經修飾之AB與其標靶結合之解離常數高至少5倍，且在切割狀態下，該AB與其標靶結合。

【0354】於一些實施態樣中，各CM1-CM2受質在該多特異性可活化之抗體中之定位使得該呈未經切割之狀態的多特異性可活化之抗體與AB區其中之一的標靶之結合減少，其解離常數較未經修飾之AB與其標靶結合之解離常數高至少10倍，且在切割狀態下，該AB與其標靶結合。

【0355】於一些實施態樣中，各CM1-CM2受質在該多特異性可活化之抗體中之定位使得該呈未經切割之狀態的多特異性可活化之抗體與AB區其中之一的標靶之結合減少，其解離常數較未經修飾之AB與其標靶結合之解離常數高至少20倍，且在切割狀態下，該AB與其標靶結合。

【0356】於一些實施態樣中，各CM1-CM2受質在該多特異性可活化之抗體中之定位使得該呈未經切割之狀態的多特異性可活化之抗體與AB區其中之一的標靶之結合減少，其解離常數較未經修飾之AB與其標靶結合之解離常數高至少40倍，且在切割狀態下，該AB與其標靶結合。

【0357】於一些實施態樣中，各CM1-CM2受質在該多特異性可活化之抗體中之定位使得該呈未經切割之狀態

的多特異性可活化之抗體與AB區其中之一的標靶之結合減少，其解離常數較未經修飾之AB與其標靶結合之解離常數高至少50倍，且在切割狀態下，該AB與其標靶結合。

【0358】於一些實施態樣中，各CM1-CM2受質在該多特異性可活化之抗體中之定位使得該呈未經切割之狀態的多特異性可活化之抗體與AB區其中之一的標靶之結合減少，其解離常數較未經修飾之AB與其標靶結合之解離常數高至少100倍，且在切割狀態下，該AB與其標靶結合。

【0359】於一些實施態樣中，各CM1-CM2受質在該多特異性可活化之抗體中之定位使得該呈未經切割之狀態的多特異性可活化之抗體與AB區其中之一的標靶之結合減少，其解離常數較未經修飾之AB與其標靶結合之解離常數高至少200倍，且在切割狀態下，該AB與其標靶結合。

【0360】本揭示內容亦提供包括多特異性可活化之抗體的組成物和方法，該多特異性可活化之抗體至少包括與標靶特異地結合之第一抗體或抗體片段(AB1)和第二抗體或抗體片段(AB2)，其中至少該多特異性可活化之抗體中的第一AB與可降低AB1與其標靶結合之能力的掩蔽部分(MM1)偶聯。於一些實施態樣中，各AB與MM偶聯，該MM降低其對應AB與各標靶結合之能力。例如，在雙特異性可活化之抗體的實施態樣中，AB1與第一掩蔽部分

(MM1)偶聯，該第一掩蔽部分(MM1)可降低AB1與其標靶結合之能力，且AB2與第二掩蔽部分(MM2)偶聯，該第二掩蔽部分(MM2)可降低AB2與其標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體包含二個以上之AB區；於該實施態樣中，AB1與第一掩蔽部分(MM1)偶聯，該第一掩蔽部分(MM1)可降低AB1與其標靶結合之能力，且AB2與第二掩蔽部分(MM2)偶聯，該第二掩蔽部分(MM2)可降低AB2與其標靶結合之能力，AB3與第三掩蔽部分(MM3)偶聯，該第三掩蔽部分(MM3)可降低AB3與其標靶結合之能力，依此推衍至該多特異性可活化之抗體中的各個AB。

【0361】於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體進一步包括至少一種為MMP和SP受質之CM1-CM2受質，其中該CM1-CM2受質將MM與AB連接。例如，於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體至少包括與標靶特異地結合之第一抗體或抗體片段(AB1)和第二抗體或抗體片段(AB2)，其中在該多特異性可活化之抗體中至少該第一AB經由第一CM1-CM2受質與掩蔽部分(MM1)偶聯，從而降低AB1與其標靶結合之能力。於一些雙特異性可活化之抗體的實施態樣中，AB1經由第一CM1-CM2受質與MM1偶聯，且AB2經由第二CM1-CM2受質與第二掩蔽部分(MM2)偶聯，從而降低AB2與其標靶結合之能力。於一些實施態樣中，該多特異性可活化之抗體包含二個以上之AB區；於某些該等實施態樣中，AB1經由第一CM1-CM2

受質與第一掩蔽部分(MM1)偶聯，AB2經由第二CM1-CM2受質與第二掩蔽部分(MM2)偶聯，AB3經由第三CM1-CM2受質與第三掩蔽部分(MM3)偶聯，從而降低AB3與其標靶結合之能力，依此推衍至該多特異性可活化之抗體中的各個AB。

具有非結合型立體部分或用於非結合型立體部分之結合併之可活化之抗體

【0362】本揭示內容亦提供包括非結合型立體部分(NB)或用於非結合型立體部分之結合併(BP)之可活化之抗體，其中該BP募集或以其他方式將NB吸引至該可活化之抗體。本文提供之可活化之抗體包括，例如包含非結合型立體部分(NB)、CM1-CM2受質和與標靶結合之抗體或抗體片段(AB)之可活化之抗體；包括用於非結合型立體部分之結合併(BP)、CM1-CM2受質和AB之可活化之抗體；及包括已募集NB之BP、CM1-CM2受質和與標靶結合之AB的可活化之抗體。本文中，其中該NB與該可活化之抗體中的CM1-CM2受質和AB共價連接之可活化之抗體，或藉由與BP(其與該可活化之抗體的CM1-CM2受質和AB共價連接)交互作用聯結之可活化之抗體亦稱為“含有NB之可活化的抗體”。可活化或可轉換意指當該可活化之抗體處於受抑制、被掩蔽或呈未經切割之狀態(即，第一構象)時，該可活化之抗體顯示第一標靶結合水準，而當該可活化之抗體處於未被抑制、未經掩蔽和/或經切割之狀態(即，第二

構象，即，活化之抗體)時，該可活化之抗體顯示第二標靶結合水準，其中第二標靶結合水準高於第一標靶結合水準。與習知之抗體治療劑相比較，該可活化之抗體組成物顯示出提高之生物利用度和更有利之生物分佈。

【0363】於一些實施態樣中，可活化之抗體提供降低之毒性和/或不利之副作用，若該AB未被掩蔽或以其他方式抑制與該部位結合時，該毒性和/或不利之副作用可能由在非治療部位和/或非診斷部位之結合所導致。

【0364】於一實施態樣中，該可活化之抗體包括非結合型立體部分(NB)；CM1-CM2受質；與標靶特異地結合之抗體或抗體片段(AB)，其中該NB為不會與該AB特異地結合之多肽；該CM1-CM2受質為包括酶之受質(S)的多肽；該CM1-CM2受質之定位使得呈未經切割之狀態時，該NB干擾該AB與該標靶結合，而呈經切割之狀態時，該NB不會干擾該AB與該標靶結合；且該NB不會抑制酶切割CM1-CM2受質。如本文和全文中所使用者，術語多肽係指包括至少二個胺基酸殘基之任何多肽，包括較大之多肽、全長蛋白質及其片段，且術語多肽不限於單鏈多肽並可包括多單元，例如多鏈多肽。本文中，在其中該多肽之長度較短(例如總共少於50個胺基酸)的情況下，術語肽和多肽可互換使用，且本文中，在其中該多肽之長度較長(例如50個胺基酸或更多)的情況下，術語多肽和蛋白質可互換使用。

【0365】於一實施態樣中，該可活化之抗體包括非結

合型立體部分(NB)；CM1-CM2受質；及與標靶特異地結合之抗體或抗體片段(AB)，其中(i) 該NB包括不與該AB特異地結合之多肽；(ii) CM1-CM2受質為包括酶之受質(S)之長度至多為50個胺基酸之多肽；(iii) 該CM1-CM2受質之定位使得呈未經切割之狀態時，該NB干擾該AB與該標靶結合，而呈切割之狀態下，該NB不會干擾該AB與該標靶結合；和(iv) 該NB不會抑制酶切割CM1-CM2受質。例如，在CM1-CM2受質中之CM1受質序列和CM2受質序列之長度各自獨立為至多15個胺基酸。

【0366】於一實施態樣中，該可活化之抗體包括非合型立體部分(NB)；CM1-CM2受質；及與標靶特異地結合之抗體或抗體片段(AB)，其中(i) 該NB包括不與AB特異地結合之多肽；(ii) 該CM1-CM2受質為包括酶之受質(S)的多肽；(iii) 該CM1-CM2受質之定位使該呈未經切割之狀態之NB可干擾該AB與該標靶結合，而呈切割狀態時，該NB不會干擾該AB與該標靶結合；(iv) 該NB不會抑制酶切割CM1-CM2受質；(v) 該呈未經切割狀態之可活化之抗體從N端至C端的結構排列如下：NB- CM1-CM2受質-AB或AB-CM1-CM2受質-NB。

【0367】於一實施態樣中，該可活化之抗體包括非合型立體部分(NB)；CM1-CM2受質；及與標靶特異地結合之抗體或抗體片段(AB)，其中(i) 該NB包括不與AB特異地結合之多肽；(ii) 該CM1-CM2受質為包括酶之受質(S)的多肽；(iii) 該CM1-CM2受質之定位使得該呈未經切

割之狀態的NB可干擾該AB與該標靶結合，而呈切割狀態時，該NB不會干擾該AB與該標靶結合，且與該經切割之AB與標靶之結合相比較，其中在該未經切割之可活化之抗體中的NB可降低該AB與該標靶結合之能力至少50%，例如至少60%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、至少100%；及(iv) 該NB不會抑制酶切割CM1-CM2受質。AB與其標靶結合之能力降低的情況係使用，例如本文所描述之分析或體外標靶置換分析測定，諸如，例如PCT刊物編號WO 2009/025846和WO 2010/081173中描述之分析。

【0368】於一實施態樣中，該可活化之抗體包括用於非結合型立體部分(NB)之結合伴(BP)；CM1-CM2受質；及與該標靶特異地結合之抗體或抗體片段(AB)，其中該BP為多肽，當接觸NB時會與NB結合；該NB不與AB特異地結合；該CM1-CM2受質為包括酶之受質(S)的多肽；該CM1-CM2受質之定位使得呈未經切割之狀態時，在NB之存在下，該NB會干擾該AB與該標靶結合，而呈切割狀態時，該NB不會干擾該AB與該標靶結合，且該BP不會干擾該AB與該標靶結合；且該NB和該BP不會抑制酶切割CM1-CM2受質。於該實施態樣之一些實例中，該可活化之抗體之BP可選擇地與該NB結合。於一實施態樣中，該可活化之抗體之BP可在體內募集該NB。

【0369】於任一該可活化之抗體的實施態樣之一些實

例中，該可活化之抗體係配製或組成物。於該實施態樣之一些實例中，該組成物亦包括NB，其中該NB與包括BP、CM1-CM2受質和AB之可活化之抗體共同配製。於該實施態樣之一些實例中，該BP係選自由下列所組成之群組中：白蛋白結合肽、纖維蛋白原結合肽、纖維蛋白結合肽、血紅蛋白結合肽、轉鐵蛋白結合肽、免疫球蛋白結構域結合肽和其他血清蛋白結合肽。

【0370】於任一該可活化之抗體的實施態樣的一些實例中，該NB為可溶性球狀蛋白。於任一該可活化之抗體的實施態樣的一些實例中，該NB為在血流中循環之蛋白質。於任一該可活化之抗體的實施態樣的一些實例中，該NB係選自由下列所組成之群組中：白蛋白、纖維蛋白原、纖維蛋白、血紅蛋白、轉鐵蛋白、免疫球蛋白結構域和其他血清蛋白。

【0371】於任一該可活化之抗體的實施態樣的一些實例中，該CM1-CM2受質為包括蛋白酶受質(S)之多肽。於任一該可活化之抗體的實施態樣之一些實例中，該蛋白酶係共定位在組織，且當該可活化之抗體接觸該蛋白酶時，該蛋白酶切割該可活化之抗體中的CM1-CM2受質。於任一該可活化之抗體的實施態樣之一些實例中，該CM1-CM2受質為長度至多為50個胺基酸之多肽。於任一該可活化之抗體的實施態樣的一些實例中，該CM1-CM2受質為包括長度為至多15個胺基酸(例如長度為3個胺基酸、長度為4個胺基酸、長度為5個胺基酸、長度為6個胺基

酸、長度為7個胺基酸、8個胺基酸、長度為9個胺基酸、長度為10個胺基酸、長度為11個胺基酸、長度為12個胺基酸、長度為13個胺基酸、長度為14個胺基酸或長度為15個胺基酸長)之受質(S)的多肽。

【0372】於任一該可活化之抗體的實施態樣的一些實例中，該呈未經切割狀態之可活化之抗體從N端至C端的結構排列如下：NB-CM1-CM2受質-AB、AB-CM1-CM2受質-NB、BP-CM1-CM2受質-AB或AB-CM1-CM2受質-BP。於其中該可活化之抗體包括BP且該可活化之抗體係在該對應NB之存在下的實施態樣中，該呈未經切割狀態之可活化之抗體從N端至C端的結構排列如下：NB：BP-CM1-CM2-AB、NB：BP-CM2-CM1-AB、AB-CM1-CM2-BP：NB或AB-CM2-CM1-BP：NB，其中“：”表示交互作用，例如NB和BP之間的結合。

【0373】於任一該可活化之抗體的實施態樣的一些實例中，該可活化之抗體包括特異地結合指定標靶之抗體或其抗原結合片段且其為單株抗體、結構域抗體、單鏈、Fab片段、F(ab')₂片段、scFv、scab、dAb、單結構域重鏈抗體或單結構域輕鏈抗體。於一些實施態樣中，該與標靶結合之抗體或其免疫活性片段為小鼠、其他嚙齒動物、嵌合型、人化或全人單株抗體。

【0374】於任一該可活化之抗體的實施態樣的一些實例中，該可活化之抗體包括可變重鏈區和可變輕鏈區之組合，該可變重鏈區包含本文所呈現之胺基酸序列，且該可

變輕鏈區包含本文所呈現之胺基酸序列。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包括可變重鏈區和可變輕鏈區之組合，該可變重鏈區包含與本文所呈現之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高之同一性的胺基酸序列，且該可變輕鏈區包含與本文所呈現之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高之同一性的胺基酸序列。

【0375】於任一該可活化之抗體的實施態樣的一些實例中，該可活化之抗體亦包括與該 AB 軛合之作用劑。於一些實施態樣中，該作用劑為治療劑。於一些實施態樣中，該作用劑為抗腫瘤藥。於一些實施態樣中，該作用劑為毒素或其片段。於一些實施態樣中，該作用劑係經由連接子與 AB 軛合。於一些實施態樣中，該連接子為可切割之連接子。於一些實施態樣中，該作用劑係經由不可切割之連接子與 AB 軛合。於一些實施態樣中，該作用劑為選自表 3 中所列之群組的作用劑。於一些實施態樣中，該作用劑為微管抑制劑。於一些實施態樣中，該作用劑為核酸破壞劑，諸如 DNA 烷化劑或 DNA 嵌入劑或其他 DNA 破壞劑。於一些實施態樣中，該作用劑為多拉司汀。於一些實施態樣中，該作用劑為澳瑞他汀或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為澳瑞他汀 E 或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為單甲基澳瑞他汀 E (MMAE)。於一些實施態樣中，該作用劑為單甲基澳瑞他汀 D (MMAD)。於一

些實施態樣中，該作用劑為美登木素或美登木素衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為DM1或DM4。於一些實施態樣中，該作用劑為倍癌黴素或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為加利車黴素或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為吡咯並苯並二氮雜草。於一些實施態樣中，該作用劑為吡咯並苯並二氮雜草二聚體。

【0376】於任一該可活化之抗體的實施態樣的一些實例中，該可活化之抗體亦包括可檢測部分。於一些實施態樣中，該可檢測部分為診斷劑。

【0377】於任一該可活化，之抗體的實施態樣的一些實例中，該可活化之抗體亦包括間隔子。於任一該可活化之抗體的實施態樣的一些實例中，該可活化之抗體亦包括信號肽。於一些實施態樣中，該信號肽經由間隔子與該可活化之抗體軛合。於任一該可活化之抗體的實施態樣的一些實例中，該間隔子係直接連接該可活化之抗體的MM。

【0378】於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期較該對應抗體之血清半衰期長；例如，該可活化之抗體的pK較該對應抗體之pK長。於一些實施態樣中，該可活化之抗體的血清半衰期類似於該對應抗體之血清半衰期。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少15天。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少12天。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少11天。於一些實施態樣中，當投予生物體

時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少 10 天。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少 9 天。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少 8 天。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少 7 天。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少 6 天。於任一該可活化之抗體的實施態樣的一些實例中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少 5 天。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少 4 天。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少 3 天。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少 2 天。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少 24 小時。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少 20 小時。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少 18 小時。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少 16 小時。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少 14 小時。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少 12 小時。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少 10 小時。於一些實施態樣中，當投予生物體

時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少8小時。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少6小時。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少4小時。於一些實施態樣中，當投予生物體時，該可活化之抗體的血清半衰期為至少3小時。

【0379】本揭示內容亦提供編碼任一該可活化之抗體的經分離之核酸分子，以及包括這些經分離之核酸序列的載體。本揭示內容提供藉由在能導致該可活化之抗體表現的條件下培養細胞來產生可活化之抗體的方法，其中該細胞包含該核酸序列。於一些實施態樣中，該細胞包含該載體。

【0380】當未與NB或NB：BP聯結時，該含有NB之可活化之抗體對標靶之解離常數(K_d)較該AB對標靶之 K_d 大。該含有NB之可活化之抗體對標靶之解離常數(K_d)較該親本AB對標靶之 K_d 大。例如，該含有NB之可活化之抗體對標靶之 K_d 至少較未與NB或NB：BP聯結時該AB對標靶之 K_d 或該親本AB對標靶之 K_d 高至少5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000倍或更多倍，或高出5至10、10至100、10至1,000、10至10,000、10至100,000、10至1,000,000、10至10,000,000、100至1,000、100至10,000、100至100,000、100至1,000,000、100至10,000,000、1,000至10,000、1,000至

100,000、1,000至1,000,000、1000至10,000,000、10,000至100,000、10,000至1,000,000、10,000至10,000,000、100,000至1,000,000或100,000至10,000,000倍。相反地，該含有NB之可活化之抗體對標靶之結合親和力較未與NB或NB：BP聯結時該AB對標靶之結合親和力低或較該親本AB對標靶之結合親和力低。例如，該含有NB之可活化之抗體對標靶之結合親和力較未與NB或NB：BP聯結時該AB對標靶之結合親和力低或較該親本AB對標靶之結合親和力低至少5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000或更多倍，或低於5至10、10至100、10至1,000、10至10,000、10至100,000、10至1,000,000、10至10,000,000、100至1,000、100至10,000、100至100,000、100至1,000,000、100至10,000,000、1,000至10,000、1,000至100,000、1,000至1,000,000、1000至10,000,000、10,000至100,000、10,000至1,000,000、10,000至10,000,000、100,000至1,000,000或100,000至10,000,000倍。

【0381】當該含有NB之可活化之抗體在標靶之存在下，該AB與標靶之特異性結合較未與NB或NB：BP聯結時，該AB與標靶之特異性結合減少或受抑制。當該含有NB之可活化之抗體在標靶之存在下，該AB與標靶之特異性結合較該親本AB與標靶之特異性結合減少或受抑制。當與未與NB或NB：BP聯結時，該AB與標靶之結合或該親

本 AB 與標靶之結合相比較，該含有 NB 之可活化之抗體與標靶結合之能力降低，例如當在玻管內和 / 或體內測量時，降低至少 50%、60%、70%、80%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或甚至 100% 並持續至少 2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84 或 96 小時，或 5、10、15、30、45、60、90、120、150 或 180 天，或 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 或 12 個月或更久。

【0382】當該含有 NB 之可活化之抗體在標靶之存在下，但無修飾劑(例如蛋白酶或其他酶)存在時，該 AB 與標靶之特異性結合較未與 NB 或 NB：BP 聯結時 AB 與標靶之特異性結合減少或受抑制。當該含有 NB 之可活化之抗體在標靶之存在下，但無修飾劑(例如蛋白酶、其他酶、還原劑或光)存在時，該 AB 與標靶之特異性結合較親本 AB 與標靶之特異性結合減少或受抑制。當與未與 NB 或 NB：BP 聯結時，該 AB 與標靶之結合或該親本 AB 與標靶之結合相比較，該含有 NB 之可活化之抗體與標靶結合之能力降低，例如當在玻管內和 / 或體內測量時，降低至少 50%、60%、70%、80%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或甚至 100% 並持續至少 2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84 或 96 小時，或 5、10、15、30、45、60、90、120、150 或 180 天，或 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 或 12 個月或更久。

【0383】於任一該可活化之抗體的實施態樣的一些實

例中，該可活化之抗體包括與該 **AB** 軛合以產生可活化之抗體軛合物之作用劑。於可活化之抗體軛合物的一些實施態樣中，該作用劑為治療劑。於一些實施態樣中，該作用劑為診斷劑。於一些實施態樣中，該作用劑為可檢測之標記。於該可活化之抗體軛合物的一些實施態樣中，該作用劑為抗腫瘤劑。於該可活化之抗體軛合物的一些實施態樣中，該作用劑為毒素或其片段。於該可活化之抗體軛合物的一些實施態樣中，該作用劑係經由連接子與 **AB** 軛合。於該可活化之抗體軛合物的一些實施態樣中，該連接子為可切割之連接子。於一些實施態樣中，該作用劑係經由不可切割之連接子與 **AB** 軛合。於一些實施態樣中，該作用劑為微管抑制劑。於一些實施態樣中，該作用劑為核酸破壞劑，諸如 **DNA** 烷基化劑或 **DNA** 嵌入劑或其他 **DNA** 破壞劑。於一些實施態樣中，該作用劑為選自表 3 中所列之群組的作用劑。於一些實施態樣中，該作用劑為多拉司汀。於一些實施態樣中，該作用劑為澳瑞他汀或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為澳瑞他汀 **E** 或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為單甲基澳瑞他汀 **E** (**MMAE**)。於一些實施態樣中，該作用劑為單甲基澳瑞他汀 **D** (**MMAD**)。於一些實施態樣中，該作用劑為美登木素或美登木素衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為 **DM1** 或 **DM4**。於一些實施態樣中，該作用劑為倍癌黴素或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為加利車黴素或其衍生物。於一些實施態樣中，該作用劑為吡咯並苯並二氮雜

草。於一些實施態樣中，該作用劑為吡咯並苯並二氮雜草二聚體。

【0384】於任一該可活化之抗體的實施態樣的一些實例中，該可活化之抗體為雙重標靶結合之可活化之抗體。該雙重靶結合之可活化之抗體含有二種可結合相同或不同標靶之抗體。於特定之實施態樣中，雙重靶向之可活化之抗體含有雙特異性抗體或抗體片段。

【0385】雙重標靶結合之可活化之抗體係經設計成具有可被切割劑切割之CM1-CM2受質，該CM1-CM2受質與一或二種能夠與該可活化之抗體的AB結合之標靶共定位在標靶組織中。具有一個以上之AB以與相同或不同標靶結合之雙重標靶結合之可活化之抗體可經過設計以具有一種以上之CM1-CM2受質，其中該第一CM1-CM2受質可被第一標靶組織中之切割劑切割且其中該第二CM1-CM2受質可被第二標靶組織中之切割劑切割，該一或多個標靶與該可活化之抗體的AB結合。於一實施態樣中，該第一標靶組織和第二標靶組織為空間上分開的，例如在生物體中之不同部位。於一實施態樣中，該第一標靶組織和第二標靶組織為在時間上分開之相同組織，例如在二個不同時間點之相同組織，例如第一時間點為當該組織為早期腫瘤時，第二時間點為當該組織為末期腫瘤時。

【0386】本揭示內容亦提供編碼本文所描述之可活化之抗體的核酸分子。本揭示內容亦提供包括這些核酸之載體。本文所描述之可活化之抗體係藉由在導致表現該可活

化之抗體表現的條件下培養細胞，其中該細胞包含這些核酸分子或載體。

【0387】本揭示內容亦提供製造可活化之抗體的方法。於一實施態樣中，該方法包括(a)和(b)之步驟：(a)在導致表現該可活化之抗體的條件下培養細胞，該細胞包含編碼該可活化之抗體的核酸構建體，其中該可活化之抗體包括(i)非結合型立體部分(NB)；(ii)CM1-CM2受質；和(iii)與標靶特異結合之抗體或其抗原結合片段(AB)，其中(1)該NB不會與AB特異結合；(2)該CM1-CM2受質為包括酶之受質(S)的多肽；(3)CM1-CM2受質之定位使得呈未經切割之狀態時，該NB干擾該AB與該標靶結合，而呈切割狀態時，該NB不會干擾該AB與該標靶結合；和(4)NB不會抑制酶切割CM1-CM2受質；及(b)回收該可活化之抗體。

【0388】於一些實施態樣中，該方法包括(a)和(b)之步驟：(a)在可導致該可活化之抗體表現的條件下培養包含編碼該可活化之抗體的核酸構建體之細胞，其中該可活化之抗體包括(i)用於非結合型立體部分(NB)之結合併(BP)；(ii)CM1-CM2受質；和(iii)與標靶特異結合之抗體或其抗原結合片段(AB)，其中(1)該NB不會與AB特異結合；(2)該CM1-CM2受質為包括酶之受質(S)的多肽；(3)CM1-CM2受質之定位使得在NB之存在下，呈未經切割狀態時，該NB干擾該AB與該標靶結合，而呈切割狀態時，該NB不會干擾該AB與該標靶結合，且該BP不會干擾AB與

標靶結合；和(4) 該NB和該BP不會抑制酶切割CM1-CM2受質；及(b)回收該可活化之抗體。於該實施態樣之一些實例中，該可活化之抗體的BP與該NB結合。

可活化之抗體和經軛合之可活化之抗體之用途

【0389】應理解的是，根據本揭示內容之治療實體之投予將與被摻入配製劑中以改善轉移、遞送、耐受性，等的合適載體、賦形劑和其他作用劑一起投予。多種合適之配製劑可在所有製藥化學家已知之配方中找到：Remington's Pharmaceutical Sciences (15th ed, Mack Publishing Company, Easton, PA (1975))，尤其是其中由Seymour、Blaug編寫的第87章。這些配製劑包括，例如粉劑、糊劑、軟膏、凝膠劑、蠟、油、脂質、含有囊泡之脂質(陽離子或陰離子)(諸如Lipofectin™)、DNA軛合物、無水吸收糊劑、水包油和油包水乳劑、乳劑碳蠟(多種分子量之聚乙二醇)、半固體凝膠和含有碳蠟之半固體混合物。前述任一混合物均可適合用於根據本揭示內容之治療和療法中，惟其該配製劑中之活性成分不會被該配製劑去活化，且該配製劑與該投予途徑為生理上相容且為可耐受的。亦參見 Baldrick P. “Pharmaceutical excipient development: the need for preclinical guidance.” Regul. Toxicol Pharmacol. 32(2):210-8 (2000)、Wang W. “Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals.” Int. J. Pharm. 203(1-2):1-60 (2000)、

Charman WN “Lipids, lipophilic drugs, and oral drug delivery-some emerging concepts.” J Pharm Sci.89(8):967-78 (2000)、Powell *et al.* “Compendium of excipients for parenteral formulations” PDA J Pharm Sci Technol. 52:238-311 (1998)及其中引用之與製藥化學家所周知之配製劑、賦形劑和載體有關的附加信息。

【0390】本揭示內容之治療配製劑(其包括經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體)可用於預防、治療或緩解與異常標靶表現和/或活性相關之疾病或病症。例如，本揭示內容之治療配製劑(其包括經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體)可用於治療或緩解發炎、炎性病症、自體免疫性疾病和/或癌症或其他腫瘤性病況。於一些實施態樣中，該癌症為其中表現該標靶之實體瘤或血液系統惡性腫瘤。於一些實施態樣中，該癌症為其中表現該標靶之實體瘤。於一些實施態樣中，該癌症為其中表現該標靶之血液系統惡性腫瘤。於一些實施態樣中，該標靶係表現在薄壁組織上(例如在癌症中，該經常執行器官或組織之功能的器官或組織部分)。於一些實施態樣中，該標靶係表現在細胞、組織或器官上。於一些實施態樣中，該標靶係表現在基質(即，細胞、組織或器官之結締支撐框架)上。於一些實施態樣中，該標靶係表現在成骨細胞上。於一些實施態樣中，該標靶係表現在內皮(脈管系統)上。於一些實施態樣中，該標靶係表現在癌幹細胞上。於一些實施態樣中，與該可活

化之抗體軛合之作用劑為微管抑制劑。於一些實施態樣中，與該可活化之抗體軛合之作用劑為核酸損傷劑。

【0391】預防、緩解或治療之有效性係聯結用於診斷或治療與標靶表現和/或活性(諸如，例如異常標靶表現和/或活性)相關之疾病或病症的任何已知方法測定。個體存活延長或個體中與標靶表現和/或活性(例如異常標靶表現和/或活性)相關之疾病或病症進展延遲表示該經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體可賦予臨床益處。

【0392】經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體可以醫藥組成物之形式投予。製備該組成物所涉及之原理和考量，以及選擇組分之指南提供於，例如 Remington: The Science And Practice Of Pharmacy 19th ed. (Alfonso R. Gennaro, et al., editors) Mack Pub. Co., Easton, Pa.: 1995 ; Drug Absorption Enhancement: Concepts, Possibilities, Limitations, And Trends, Harwood Academic Publishers, Langhorne, Pa., 1994 ; 和 Peptide And Protein Drug Delivery (Advances In Parenteral Sciences, Vol. 4), 1991, M. Dekker, New York 中。

【0393】於其中使用抗體片段之一些實施態樣中，選擇該與靶蛋白之結合結構域特異地結合的最小片段。例如，基於抗體之可變區序列可將肽分子設計成保留與靶蛋白序列結合之能力。該肽可經化學合成和/或藉由重組 DNA 技術產生。(參見，例如 Marasco et al., Proc. Natl.

Acad. Sci. USA, 90: 7889-7893 (1993))。於一些實施態樣中，該配製劑亦可依需要含有一種以上用於接受治療之特定適應症的活性化合物，例如，於一些實施態樣中，具有不會不利地影響彼此之互補活性者。於一些實施態樣中，或另外地，該組成物可包含增強其功能之作用劑，諸如，例如細胞毒性劑、細胞因子、化療劑或生長抑制劑。該分子在組合中之合適存在量為用於該預期目的之有效量。

【0394】該活性成分亦可包封在，例如藉由凝聚技術或藉由界面聚合化製備之微膠囊中，例如分別在膠體藥物遞送系統(例如脂質體、白蛋白微球、微乳劑、奈米-顆粒和奈米膠囊)或微乳劑中之羥甲基纖維素或明膠-微膠囊和聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊。

【0395】用於體內投予之配製劑必須是無菌的。此可藉由通過無菌過濾膜過濾輕易地實現。

【0396】可製備持續釋出之製劑。持續釋出之製劑的合適實例包括含有該抗體之固體疏水性聚合物的半滲透性基質，該基質為成形物品之形式，例如薄膜或微膠囊。持續釋出之基質的實例包括聚酯、水凝膠(例如聚(2-羥乙基-甲基丙烯酸酯)或聚(乙烯醇))、聚交酯(美國專利案編號 3,773,919)、L-麩胺酸和 γ 乙基-L-麩胺酸酯之共聚物、非可降解之乙烯-醋酸乙烯酯、可降解之乳酸-乙醇酸共聚物，諸如 LUPRON DEPOT™(由乳酸-乙醇酸共聚物和醋酸亮丙瑞林(leuprolide)所組成之可注射微球)和聚-D-(-)-3-羥基丁酸。雖然諸如乙烯-醋酸乙烯酯和乳酸-乙醇酸之類的

聚合物可釋出分子超過100天，但某些水凝膠釋出蛋白質之時間較短。

【0397】於一些實施態樣中，該經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體包含可檢測之示蹤劑。使用完整抗體或其片段(例如Fab、scFv或F(ab)₂)。關於探針或抗體之術語“經標示的”意圖涵蓋藉由將可檢測之物質與探針或抗體偶聯(即，物理連接)來直接標示探針或抗體，及藉由與另一被直接標示之作用劑發生反應來間接標示探針或抗體。間接標示之實例包括使用經螢光標示之第二抗體偵測一級抗體和以生物素端-標示DNA探針，從而可藉由經螢光標示之鏈黴親和素來檢測。術語“生物樣品”意圖包括從個體分離出之組織、細胞和生物流體，以及存在於個體內之組織、細胞和流體。因此，使用術語“生物樣品”時係包括血液和血液之一部分或組分(包括血清、血漿或淋巴液)。亦即，本揭示內容之檢測方法可用於在玻管內及體內檢測生物樣品中之分析物mRNA、蛋白質或基因組DNA。例如，用於檢測分析物mRNA之玻管內技術包括北方雜交和原位雜交。用於檢測分析物蛋白質之玻管內技術包括酶聯免疫吸附分析(ELISA)、西方點墨、免疫沉澱法、免疫化學染色和免疫螢光。用於檢測分析物基因組DNA之玻管內技術包括南方雜交。用於進行免疫分析之程序描述於，例如“ELISA: Theory and Practice: Methods in Molecular Biology”, Vol. 42, J. R. Crowther (Ed.) Human Press, Totowa, NJ, 1995；“Immunoassay”, E.

Diamandis and T. Christopoulos, Academic Press, Inc., San Diego, CA, 1996 ; 和 “Practice and Theory of Enzyme Immunoassays”, P. Tijssen, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1985中。此外，用於檢測分析物蛋白質之體內技術包括將經標示之抗-分析物蛋白抗體引入個體中。例如，可以放射活性標記來標示抗體，該放射活性標記在個體中之存在和定位可藉由標準成像技術檢測。

【0398】 本揭示內容之經軛合的抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體亦可用於多種診斷和預防性配製劑中。於一實施態樣中，經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體係投予至處於發展出一或多種上述病症之風險中的患者。患者或器官對一或多種上述疾病之易感性可使用基因型、血清學或生化標記測定。

【0399】 於一些實施態樣中，經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體係投予至經診斷為具與一或多種上述病症相關之臨床適應症的人類個體。診斷時，投予經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體以減輕或逆轉該臨床適應症之作用。

【0400】 本揭示內容之經軛合的抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體亦可用於檢測患者樣品中之標靶，且因此可作為診斷劑。例如，本揭示內容之抗體和/或可活化之抗體和其軛合體可用於玻管內分析(例如ELISA)中以檢測患者樣品中之標靶量。

【0401】 於一實施態樣中，本揭示內容之經軛合的抗

體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體被固定在固相支持物上(例如微量滴定盤之孔)。該經固定之經軛合的抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體可作為用於可能存在於測試樣品中的任何標靶之捕獲抗體。在令該固定之抗體與患者樣品接觸之前，沖洗該固相支持物並以封閉劑(諸如乳蛋白或白蛋白)處理之以防止該分析物之非特異性吸附。

【0402】隨後，以懷疑含有該抗原之測試樣品或含有標準量之抗原的溶液處理該孔。該樣品為，例如來自個體之血清樣品，該血清樣品被懷疑具有被認為是病理學診斷劑之循環抗原量。沖洗掉該測試樣品或標準溶液後，以經可檢測地標示之第二抗體處理該固相支持物。該經標示之第二抗體係作為檢測抗體。測量該可檢測之示蹤劑的量，並藉由與從標準樣品發展出之標準曲線相比較來測定該測試樣品中之靶抗原的濃度。

【0403】將可理解的是根據在體外診斷分析中使用本揭示內容之抗體和/或可活化之抗體和其軛合體所獲得之結果能夠基於該靶抗原之表現水準來測定個體疾病之期別。在指定之疾病方面，從被診斷為處於疾病進展之各個階段和/或在疾病之治療性處理中各個點的個體中採集血液樣本。使用能提供進展或療法之各個階段的統計學上有意義之結果的樣本群體可指定可被視為各個階段之特徵的抗原濃度範圍。

【0404】經軛合的抗體、可活化之抗體和/或經軛合

之可活化之抗體亦可用於診斷和/或成像方法。於一些實施態樣中，該方法為玻管內方法。於一些實施態樣中，該方法為體內方法。於一些實施態樣中，該方法為原位方法。於一些實施態樣中，該方法為離體方法。例如，具有可經酶切割之CM1-CM2受質的可活化之抗體可用於檢測是否存有能夠切割CM1-CM2受質之酶。該可活化之抗體可用於診斷中，該診斷可包括體內檢測(例如定性或定量)酶活性(或者，於一些實施態樣中，具有增加之還原電位的環境，諸如可提供二硫化物鍵還原之環境)，該檢測係透過測量指定之宿主生物中的指定細胞或組織中所累積之活化的抗體(即，從切割可活化之抗體所產生者)進行。該經活化之抗體的累積不僅表明組織表現酶活性(或根據CM1-CM2受質之性質增加的還原電位)，亦表明組織表現該經活化抗體結合的標靶。

【0405】例如，該CM1-CM2受質可選定為在腫瘤部位、生物學上限定之部位處(例如，諸如在膿腫、器官等中)的病毒或細菌感染部位所發現的基質金屬蛋白酶(MMP)和絲胺酸蛋白酶(SP)之受質。AB可為與靶抗原結合之AB。使用諸如本文所揭示之方法，或者當合適時，使用本技藝之技術熟習人士熟悉之方法可將可檢測之示蹤劑(例如螢光標記或放射活性示蹤劑或放射性示踪劑)與AB或抗體和/或可活化之抗體的其他區軛合。合適之可檢測的示蹤劑討論於上述篩選方法之上下文中，並在下文中提供另外之具體實例。使用特異於該疾病狀態之蛋白質或肽的

AB，連同在該感興趣之疾病組織中活性被提升之MMP，可活化之抗體將顯示出相對於其中不存在可檢測量之CM1-CM2受質特異性酶或其中該CM1-CM2受質特異性酶之存在量低於疾病組織中之量或其中該CM1-CM2受質特異性酶無活性(例如為酶原形式或與抑制劑複合)的組織，該可活化之抗體與疾病組織之結合率增加。由於腎臟過濾系統會將小蛋白質和多肽迅速從血液中清除，且由於該特異於CM1-CM2受質之酶的存在量未達可檢測之水準(或在非疾病組織中之量較低或以非活性構型存在)，該疾病組織中所累積之經活化之抗體高於在非疾病組織中所累積者。

【0406】於另一實例中，可活化之抗體可用於檢測樣品中是否存有切割劑。例如，在該可活化之抗體包含易於被酶切割之CM1-CM2受質的情況中，該可活化之抗體可用於檢測(定性或定量)樣品中是否存有酶。於另一實例中，在該可活化之抗體包含易於被還原劑切割之CM1-CM2受質的情況中，該可活化之抗體可用於檢測(定性或定量)樣品中是否存有還原條件。為了促進在這些方法中進行分析，該可活化之抗體可經可檢測地標示且可與支撐物(例如固體支持物，諸如載玻片或珠子)結合。該可檢測之示蹤劑可位於該可活化之抗體被切割後沒有被釋出的部分上，例如該可檢測之示蹤劑可為淬滅之螢光示蹤劑或直到切割發生後才可檢測到之其他示蹤劑。例如，該分析可藉由令該固定之經可檢測地標示的可活化之抗體與被懷疑

含有酶和/或還原劑之樣品接觸一段足以發生切割的時間，然後洗滌之以去除過量樣品和污染物來進行。然後，藉由該可活化之抗體在與該樣品接觸之前的可檢測信號之變化(例如由於該樣品中之切割劑切割該可活化之抗體而導致可檢測之信號存在/或增加)評估該樣品中是否存有切割劑(例如酶或還原劑)。

【0407】 該檢測方法可經改造以亦用於檢測是否存有能在切割時與該可活化之抗體的AB結合之標靶。因此，該分析可經改造以評估是否存有切割劑和是否存有所欲標靶。是否存有該切割劑可藉由如上述之可活化抗體之可檢測之示蹤劑的存在和/或增加來檢測，且是否存有該標靶可，例如藉由使用經可檢測地標示之抗標靶抗體檢測標靶-AB複合體來檢測。

【0408】 可活化之抗體亦可用於原位成像中以用於驗證可活化之抗體活化，例如藉由蛋白酶切割和與特定標靶結合。原位成像為能夠定位生物樣本(諸如細胞培養物或組織切片)中之蛋白水解活性和標靶之技術。使用此技術，可基於可檢測之示蹤劑(例如螢光示蹤劑)的存在來確認與指定標靶之結合和蛋白水解活性。

【0409】 這些技術可用於源自疾病部位(例如腫瘤組織)或健康組織之任何冷凍細胞或組織。這些技術亦可用於新鮮細胞或組織樣品。

【0410】 在這些技術中係使用可檢測之示蹤劑來標示可活化之抗體。該可檢測之示蹤劑可為螢光染料(例如螢

光團、異硫氰酸螢光素 (FITC)、異硫氰酸羅丹明 (TRITC)、Alexa Fluor® 示蹤劑)、近紅外線 (NIR) 染料 (例如 Qdot® 奈米晶體)、膠體金屬、半抗原、放射活性標記、生物素和擴增劑 (諸如鏈黴親和素) 或酶 (例如辣根過氧化物酶或鹼性磷酸酶)。

【0411】已與經標示之可活化抗體一起培育的樣品中檢測到示蹤劑表示該樣品含有該標靶且含有特異於該可活化之抗體的 CM1-CM2 受質的基質金屬蛋白酶 (MMP) 和一絲胺酸蛋白酶 (SP)。於一些實施態樣中，可使用廣譜蛋白酶抑制劑 (諸如本文所描述者) 和/或使用特異於該蛋白酶之作用劑，例如抗體 (諸如 A11，其對間質蛋白酶 (MT-SP1) 具有特異並抑制間質蛋白酶之蛋白水解活性的) 來確認 MMP 之存在；參見，例如發表於 2010 年 11 月 11 日之國際刊物編號 WO 2010/129609。使用廣譜蛋白酶抑制劑 (諸如本文所描述者) 和/或藉由使用更具選擇性之抑制劑的相同方法可用於鑑定特異於該可活化之抗體的 CM1-CM2 受質的 MMP 和 SP。於一些實施態樣中，該標靶之存在可使用特異於該標靶之作用劑 (例如另一抗體) 來確認，或者該可檢測之示蹤劑可與未標示之標靶競爭。於一些實施態樣中，可使用未標示之可活化之抗體，藉由經標示之第二抗體或更複雜之檢測系統進行檢測。

【0412】類似之技術亦可用於體內成像，其中在個體 (例如，哺乳動物，包括人) 中檢測到螢光信號表明該疾病部位包含標靶且包含對該可活化之抗體的 CM1-CM2 受質

具有特異性之MMP和SP。

【0413】這些技術亦可用於套組中和/或作為作用劑以基於該可活化之抗體中之蛋白酶特異性CM1-CM2受質來檢測、鑑定或表徵在多種細胞、組織和生物體中之蛋白酶活性。

【0414】本揭示內容提供在多種診斷和/或預防性適應症中使用該抗體和/或可活化之抗體的方法。例如，本揭示內容提供藉由下述步驟檢測個體或樣品中是否存在切割劑和所欲標靶之方法：(i) 令個體或樣品與可活化之抗體接觸，其中該可活化之抗體包含掩蔽部分(MM)、被切割劑切割之CM1-CM2受質及與所欲標靶特異地結合之抗原結合結構域或其片段(AB)，其中該呈未經切割之非活化狀態的可活化抗體包含如下所示之N端至C端的結構排列：MM-CM1-CM2受質-AB或AB-CM1-CM2受質-MM；(a) 其中該MM為抑制該AB與該標靶結合之肽，其中該MM不具有該AB之天然存在的結合伴之胺基酸序列且非為該AB之天然結合伴的修飾形式；和(b)其中該呈未經切割，未活化狀態之MM會干擾AB與該標靶特異結合，而該呈經切割，活化狀態之MM不會干擾或與該AB競爭與標靶特異結合；和(ii)測量個體或樣品中之經活化之可活化抗體的量，其中在該個體或樣本中具有可檢測量之經活化的可活化之抗體表示該個體或樣品中存有切割劑和標靶，而其中在個體或樣本中不具有可檢測量之經活化的可活化之抗體表明該個體或樣品中不存在該切割劑、標靶或切割劑和標

靶二者和/或存在量不足。於一些實施態樣中，該可活化之抗體為與治療劑軛合之可活化之抗體。於一些實施態樣中，該可活化之抗體未與作用劑軛合。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含可檢測之示蹤劑。於一些實施態樣中，該可檢測之示蹤劑位於AB上。於一些實施態樣中，該個體或樣品中之可活化抗體的量係使用與該活化之抗體特異地結合的第二試劑測量，其中該試劑包含可檢測之示蹤劑。於一些實施態樣中，該第二試劑為包含可檢測之示蹤劑的抗體。

【0415】本揭示內容亦提供藉由下述步驟檢測個體或樣品中是否存有切割劑之方法：(i) 在所欲標靶(例如該標靶)之存在下令個體或樣品與可活化之抗體接觸，其中該可活化之抗體包含掩蔽部分(MM)、被該切割劑切割之CM1-CM2受質及與所欲標靶特異地結合之抗原結合結構域或其片段(AB)，其中該為未切割之非活化狀態的可活化之抗體包含如下所示之N端至C端的結構排列：MM-CM1-CM2受質-AB或AB-CM1-CM2受質-MM；(a)其中該MM為抑制該AB與該標靶結合之肽，且其中該MM不具有該AB之天然存在的結合伴之胺基酸序列且非為該AB之天然結合伴的修飾形式；和(b)其中該呈未經切割，未活化狀態的MM會干擾該AB與標靶特異地結合，而該呈經切割，活化狀態之MM不會干擾或與該AB競爭與標靶特異結合；和(ii)測量個體或樣品中之經活化之可活化之抗體之量，其中在個體或樣本中具有可檢測量之活化的可活化之抗體表

明該個體或樣品中存有切割劑，而其中在個體或樣本中不具有可檢測量之活化的可活化之抗體表明該個體或樣品中不存在該切割劑和/或存在量不足。於一些實施態樣中，該可活化之抗體為與治療劑軛合之可活化之抗體。於一些實施態樣中，該可活化之抗體未與作用劑軛合。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含可檢測之示蹤劑。於一些實施態樣中，該可檢測之示蹤劑位於AB上。於一些實施態樣中，該個體或樣品中之可活化抗體的量係使用與該活化之抗體特異地結合的第二試劑測量，其中該試劑包含可檢測之示蹤劑。於一些實施態樣中，該第二試劑為包含可檢測之示蹤劑的抗體。

【0416】本揭示內容亦提供用於檢測個體或樣品中是否存在切割劑和標靶之方法中的套組，其中該套組至少包括可活化之抗體，該可活化之抗體包含掩蔽部分(MM)、被切割劑切割之CM1-CM2受質及與所欲標靶特異地結合之抗原結合結構域或其片段(AB)，其中該為未切割之非活化狀態的可活化抗體包含如下所示之N端至C端的結構排列：MM-CM1-CM2受質-AB或AB-CM1-CM2受質-MM；(a)其中該MM為抑制該AB與該標靶結合之肽，且其中該MM不具有該AB之天然存在的結合併之胺基酸序列且非為該AB之天然結合併的修飾形式；和(b)其中該呈未經切割，非活化狀態的MM干擾AB與該標靶特異地結合，而呈經切割，活化狀態之MM不會干擾或與該AB競爭與標靶特異地結合；和(ii)測量個體或樣品中之經活化之可活化之抗體

之量，其中在個體或樣本中之可檢測量的活化之可活化抗體表明該個體或樣品中存有切割劑，而其中在個體或樣本中不具有可檢測量之活化的可活化抗體表明該個體或樣品中不存在該切割劑和/或存在量不足。於一些實施態樣中，該可活化之抗體為與治療劑軛合之可活化之抗體。於一些實施態樣中，該可活化之抗體未與作用劑軛合。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含可檢測之示蹤劑。於一些實施態樣中，該可檢測之示蹤劑位於AB上。於一些實施態樣中，該個體或樣品中之可活化抗體的量係使用與該活化之抗體特異地結合的第二試劑測量，其中該試劑包含可檢測之示蹤劑。於一些實施態樣中，該第二試劑為包含可檢測之示蹤劑的抗體。

【0417】 本揭示內容亦提供藉由下述步驟檢測個體或樣品中是否存有切割劑之方法：(i) 令個體或樣品與可活化之抗體接觸，其中該可活化之抗體包含掩蔽部分(MM)、被切割劑切割之CM1-CM2受質、與標靶特異地結合之抗原結合結構域(AB)及可檢測之示蹤劑，其中該呈未經切割之非活化狀態的可活化抗體包含如下所示之N端至C端的結構排列：MM-CM1-CM2受質-AB或AB-CM1-CM2受質-MM；其中該MM為抑制該AB與該標靶結合之肽，且其中該MM不具有該AB之天然存在的結合伴之胺基酸序列且非為該AB之天然結合伴的修飾形式；其中該呈未經切割，未活化狀態的MM干擾AB與該標靶特異結合，而該呈未經切割，活化狀態之MM不會干擾或與該AB競爭與標靶特

異地結合；且其中該可檢測之示蹤劑係位在該 CM1-CM2 受質被切割後釋出之可活化抗體的一部分上；和 (ii) 測量個體或樣品中之可檢測之示蹤劑的量，其中在個體或樣本中具有可檢測量之可檢測的示蹤劑表明該個體或樣品中不存在切割劑和/或存在量不足，而其中在個體或樣本中不具有可檢測量之可檢測的示蹤劑表明該個體或樣品中存有該切割劑。於一些實施態樣中，該可活化之抗體為與治療劑軛合之可活化之抗體。於一些實施態樣中，該可活化之抗體未與作用劑軛合。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含可檢測之示蹤劑。於一些實施態樣中，該可檢測之示蹤劑位於 AB 上。於一些實施態樣中，該個體或樣品中之可活化之抗體的量係使用與該活化之抗體特異結合之第二試劑測量，其中該試劑包含可檢測之示蹤劑。於一些實施態樣中，該第二試劑為包含可檢測之示蹤劑的抗體。

【0418】本揭示內容亦提供用於檢測個體或樣品中是否存有切割劑和標靶之方法中的套組，其中該套組至少包括用於與個體或生物樣品接觸之本文所描述之可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體(例如與治療劑軛合之可活化之抗體)及用於檢測個體或生物樣品中活化之可活化抗體和/或經軛合之可活化抗體之量的方法，其中在個體或樣本中具有可檢測量之活化的可活化之抗體表明該個體或生物樣品中存有切割劑和標靶，而其中在個體或生物樣本中不具有可檢測量之活化的可活化之抗體表明該個體或生物樣品中不存在該切割劑、標靶或切割劑和標靶二者和/

或存在量不足，從而在該個體或生物樣品中無法檢測到該可活化之抗體與標靶結合和/或蛋白酶切割該可活化之抗體。

【0419】本揭示內容亦提供藉由下述步驟檢測個體或樣品中是否存有切割劑之方法：(i)在標靶之存在下將個體或樣品與可活化之抗體接觸，和(ii)測量個體或生物樣品中活化之可活化之抗體的量，其中在個體或生物樣品中之活化的可活化之抗體的量表明該個體或生物樣品中存有切割劑，而其中在個體或生物樣品中無可檢測量之活化的可活化之抗體表明該個體或樣品中不存在切割劑和/或存在量不到可檢測量，從而在該個體或生物樣品中無法檢測到蛋白酶切割該可活化之抗體。該可活化之抗體包括掩蔽部分(MM)、被切割劑切割之CM1-CM2受質、以及與標靶特異地結合之抗原結合結構域或其片段(AB)，其中該為未切割(即，未活化的)狀態的可活化之抗體包含如下所示之N端至C端的結構排列：MM-CM1-CM2受質-AB或AB-CM1-CM2受質-MM；(a) 其中該MM為抑制該AB與該標靶結合之肽，且其中該MM不具有該AB之天然存在的結合伴之胺基酸序列；及(b) 其中該呈未經切割狀態之可活化之抗體之MM干擾AB與該標靶特異結合，而其中該呈經切割(即，活化的)狀態之可活化之抗體的MM不會干擾或與該AB競爭與標靶特異結合。於一些實施態樣中，該可活化之抗體為與治療劑軛合之可活化之抗體。於一些實施態樣中，該可活化之抗體未與作用劑軛合。於一些實施態樣

中，該可檢測之示蹤劑附接於該掩蔽部分。於一些實施態樣中，該可檢測之示蹤劑附接於該蛋白酶切割部位N-端之可切割部分。於一些實施態樣中，該AB之單一抗原結合部位被掩蔽。於其中本揭示內容之抗體具有至少二個抗原結合部位的一些實施態樣中，至少一個抗原結合部位被掩蔽且至少一個抗原結合部位未被掩蔽。於一些實施態樣中，所有抗原結合部位被掩蔽。於一些實施態樣中，該測量步驟包括使用包含可檢測之示蹤劑的第二試劑。

【0420】本揭示內容亦提供用於檢測個體或樣品中是否存有切割劑和標靶之方法中的套組，其中該套組至少包括本文所描述之可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體以用於在標靶之存在下令個體或生物樣品與可活化之抗體接觸，並測量該個體或生物樣品中之活化的可活化之抗體的量，其中在該個體或生物樣品中具有可檢測量之活化的可活化之抗體表明該個體或樣品中存有該切割劑，而其中在該個體或生物樣品中不具有可檢測量之活化的可活化之抗體表明該個體或生物樣品中不存在該切割劑和/或該切割劑之存在量不到可檢測之量，因而在該個體或生物樣品中無法檢測到蛋白酶切割該可活化之抗體。該可活化之抗體包括掩蔽部分(MM)、被切割劑切割之CM1-CM2受質和與該標靶特異地結合之抗原結合結構域或其片段(AB)，其中該呈未經切割(即，未活化的)狀態的可活化之抗體包含如下所示之N端至C端的結構排列：MM-CM1-CM2受質-AB或AB-CM1-CM2受質-MM；(a) 其中該MM為抑制該AB

與該標靶結合之肽，且其中該 **MM** 不具有該 **AB** 之天然存在的結合伴之胺基酸序列；及 (b) 其中該呈未經切割狀態之可活化之抗體的 **MM** 干擾該 **AB** 與該標靶特異結合且其中該為切割 (即，活化的) 狀態之可活化之抗體的 **MM** 不會干擾或與該 **AB** 競爭與標靶特異結合。於一些實施態樣中，該可活化之抗體為與治療劑軛合之可活化之抗體。於一些實施態樣中，該可活化之抗體未與作用劑軛合。於一些實施態樣中，該可檢測之示蹤劑附接於該掩蔽部分。於一些實施態樣中，該可檢測之示蹤劑附接於該蛋白酶切割部位之 N-端的可切割部分。於一些實施態樣中，該 **AB** 之單一抗原結合部位被掩蔽。於其中本揭示內容之抗體具有至少二個抗原結合部位的一些實施態樣中，至少一個抗原結合部位被掩蔽且至少一個抗原結合部位未被掩蔽。於一些實施態樣中，所有抗原結合部位被掩蔽。於一些實施態樣中，該測量步驟包括使用包含可檢測之示蹤劑的第二試劑。

【0421】本揭示內容亦提供用於檢測個體或樣品中是否存有切割劑之方法中的套組 (其中該套組至少包括本文所描述之可活化之抗體和 / 或經軛合之可活化之抗體以用於與個體或生物樣品接觸) 及用於檢測該個體或生物樣品中之活化的可活化之抗體和 / 或經軛合之可活化之抗體之量的裝置，其中該可活化之抗體包括可檢測之示蹤劑，該可檢測之示蹤劑係位於該 **CM1-CM2** 受質被切割後釋出之可活化抗體的一部分上，其中在該個體或生物樣品中具有可檢測量之活化的可活化之抗體表明該個體或生物樣品中

不存在該切割劑和/或存在量不足，而，使得在該個體或生物樣品中無法檢測到該與標靶結合之可活化之抗體和/或蛋白酶切割該可活化之抗體，且其中在該個體或生物樣品中不具有可檢測量之活化的可活化之抗體表明該個體或生物樣品中存有可檢測量之切割劑。

【0422】本揭示內容提供藉由下述步驟檢測個體或樣品中是否存有切割劑和標靶之方法：(i) 令個體或生物樣品與可活化之抗體接觸，其中該可活化之抗體包括可檢測之示蹤劑，該可檢測之示蹤劑係位於該 CM1-CM2 受質被切割後釋出之可活化之抗體的一部分上，和(ii)測量個體或生物樣品中之活化之可活化之抗體之量，其中在個體或生物樣本中具有可檢測量之活化的可活化之抗體表明該個體或生物樣品中不存在切割劑、標靶或切割劑和標靶二者和/或存在量不足，因而在該個體或生物樣品中無法檢測到該可活化之抗體與標靶結合和/或蛋白酶切割該可活化之抗體，且其中該個體或生物樣品中該活化的可活化之抗體的檢測量降低表明該個體或生物樣品中存有切割劑和標靶。可檢測之示蹤劑的降低量為，例如降低約 5%、約 10%、約 15%、約 20%、約 25%、約 30%、約 35%、約 40%、約 45%、約 50%、約 55%、約 60%、約 65%、約 70%、約 75%、約 80%、約 85%、約 90%、約 95% 和/或約 100%。該可活化之抗體包括掩蔽部分(MM)、被切割劑切割之 CM1-CM2 受質和與標靶特異地結合之抗原結合結構域或其片段(AB)，其中該呈未經切割(即，未活化的)狀態

的可活化之抗體包含如下所示之 N 端至 C 端的結構排列：
MM-CM1-CM2 受質 -AB 或 AB-CM1-CM2 受質 -MM；(a) 其中該 MM 為抑制該 AB 與該標靶結合之肽，且其中該 MM 不具有該 AB 之天然存在的結合伴之胺基酸序列；及 (b) 其中該呈未經切割狀態之可活化之抗體的 MM 干擾 AB 與該標靶特異結合且其中該呈切割 (即，活化的) 狀態之可活化之抗體的 MM 不會干擾或與該 AB 競爭與標靶特異結合。於一些實施態樣中，該可活化之抗體為與治療劑軛合之可活化之抗體。於一些實施態樣中，該可活化之抗體未與作用劑軛合。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含可檢測之示蹤劑。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含可檢測之示蹤劑。於一些實施態樣中，該可檢測之示蹤劑位於 AB 上。於一些實施態樣中，該個體或樣品中之可活化之抗體的量係使用與該活化之抗體特異地結合的第二試劑測量，其中該試劑包含可檢測之示蹤劑。於一些實施態樣中，該第二試劑為包含可檢測之示蹤劑的抗體。

【0423】本揭示內容亦提供用於檢測個體或樣品中是否存有切割劑和標靶之方法中的套組，其中該套組至少包括本文所描述之用於與個體或生物樣品接觸之可活化之抗體和 / 或經軛合之可活化之抗體以及用於檢測該個體或生物樣品中之活化的可活化之抗體和 / 或經軛合之可活化之抗體之量的裝置，其中該個體或生物樣品中具有可檢測量之活化的可活化之抗體表明該個體或生物樣品中不存在該切割劑、標靶或該切割劑和標靶二者和 / 或存在量不足，

因而在該個體或生物樣品中無法檢測到該可活化之抗體與標靶結合和/或蛋白酶切割該可活化之抗體，且其中在該個體或生物樣品中之活化的可活化之抗體的可檢測量降低表明該個體或生物樣品中存在該切割劑和標靶。可檢測之示蹤劑的降低量為，例如降低約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%和/或約100%。

【0424】本揭示內容亦提供藉由下述步驟檢測個體或樣品中是否存有切割劑之方法：(i) 令個體或生物樣品與可活化之抗體接觸，其中該可活化之抗體包括可檢測的示蹤劑，該可檢測之示蹤劑位於該CM1-CM2受質被切割後釋出之可活化之抗體的一部分上，和(ii)測量該個體或生物樣品中之可檢測的示蹤劑之量，其中在該個體或生物樣本中具有可檢測量之可檢測的示蹤劑表明該個體或生物樣品中不存在該切割劑和/或存在量不足，因而在該個體或生物樣品中無法檢測到蛋白酶切割該可活化之抗體，且其中該個體或生物樣品中該可檢測的示蹤劑之可檢測量降低表明該個體或生物樣品中存有切割劑。可檢測之示蹤劑的降低量為，例如降低約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%和/或約100%。該可活化之抗體包括掩蔽部分(MM)、被切割劑切割之CM1-CM2受質和與該標

靶特異地結合之抗原結合結構域或其片段(AB)，其中該為未切割(即，未活化的)狀態的可活化之抗體包含如下所示之N端至C端的結構排列：MM-CM1-CM2受質-AB或AB-CM1-CM2受質-MM；(a) 其中該MM為抑制該AB與該標靶結合之肽，且其中該MM不具有該AB之天然存在的結伴之胺基酸序列；及(b) 其中該呈未經切割狀態之可活化抗體之MM干擾AB與該標靶特異結合，且其中該呈經切割(即，活化的)狀態之可活化之抗體的MM不會干擾或與該AB競爭與標靶特異地結合。於一些實施態樣中，該可活化之抗體為與治療劑軛合之可活化之抗體。於一些實施態樣中，該可活化之抗體未與作用劑軛合。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含可檢測之示蹤劑。於一些實施態樣中，該可檢測之示蹤劑位於AB上。於一些實施態樣中，該個體或樣品中之可活化之抗體的量係使用與該活化之抗體特異地結合的第二試劑測量，其中該試劑包含可檢測之示蹤劑。於一些實施態樣中，該第二試劑為包含可檢測之示蹤劑的抗體。

【0425】本揭示內容亦提供用於檢測個體或樣品中是否存有所欲切割劑之方法中的套組(其中該套組至少包括本文所描述之用於與個體或生物樣品接觸之可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體)及用於檢測該個體或生物樣品中之活化的可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體之量的裝置，其中該可活化之抗體包括可檢測的示蹤劑，該可檢測之示蹤劑位於該CM1-CM2受質被切割後釋出之

可活化之抗體的一部分上，其中在該個體或生物樣品中具有可檢測量之可檢測的示蹤劑表明該個體或生物樣品中不存在該切割劑、標靶或該切割劑和標靶二者和/或存在量不足，因而在該個體或生物樣品中無法檢測到該可活化之抗體與標靶結合和/或蛋白酶切割該可活化之抗體，且其中該個體或生物樣品中該可檢測之示蹤劑的檢測量降低表明該個體或生物樣品中存有切割劑和標靶。可檢測之示蹤劑的降低量為，例如降低約 5%、約 10%、約 15%、約 20%、約 25%、約 30%、約 35%、約 40%、約 45%、約 50%、約 55%、約 60%、約 65%、約 70%、約 75%、約 80%、約 85%、約 90%、約 95%和/或約 100%。

【0426】於一些該方法和套組之實施態樣中，該可活化之抗體包括可檢測之示蹤劑。於一些該方法和套組之實施態樣中，該可檢測之示蹤劑包括成像劑、造影劑、酶、螢光示蹤劑、發色團、染料、一或多種金屬離子或基於配體之示蹤劑。於一些該方法和套組之實施態樣中，該成像劑包含放射性同位素。於一些該方法和套組之實施態樣中，該放射性同位素為銨或鎘。於一些該方法和套組之實施態樣中，該造影劑包含碘、釷或氧化鐵。於一些該方法和套組之實施態樣中，該酶包含辣根過氧化物酶、鹼性磷酸酶或 β -半乳糖苷酶。於一些該方法和套組之實施態樣中，該螢光示蹤劑包含黃色螢光蛋白(YFP)、青色螢光蛋白(CFP)、綠色螢光蛋白(GFP)、經修飾之紅色螢光蛋白(mRFP)、紅色螢光蛋白tdimer2(RFP tdimer2)、HCRED或

鎗衍生物。於一些該方法和套組之實施態樣中，該發光示蹤劑包含N-甲基吡啶衍生物。於一些該方法和套組之實施態樣中，該示蹤劑包含Alex Fluor[®]示蹤劑，諸如Alex Fluor[®] 680或Alex Fluor[®] 750。於一些該方法和套組之實施態樣中，該基於配體之示蹤劑包含生物素、抗生物素蛋白、鏈黴親和素或一或多個半抗原。

【0427】於一些該方法和套組之實施態樣中，該個體為哺乳動物。於一些該方法和套組之實施態樣中，該個體為人。於一些實施態樣中，該個體為非人類哺乳動物，諸如非人類靈長類動物、伴侶動物(例如貓、狗、馬)、農場動物、工作動物或動物園動物。於一些實施態樣中，該個體為嚙齒動物。

【0428】於一些該方法之實施態樣中，該方法為體內方法。於一些該方法之實施態樣中，該方法為原位方法。於一些該方法之實施態樣中，該方法為離體方法。於一些該方法之實施態樣中，該方法為玻管內方法。

【0429】於一些實施態樣中，原位成像和/或體內成像可用於鑑別待治療之患者的方法中。例如，於原位成像中，該可活化之抗體係用於篩選患者樣品以鑑別那些在適當位置(例如在腫瘤部位)具有適當蛋白酶和標靶之患者。

【0430】於一些實施態樣中，使用原位成像來鑑定或以其他方式細化適合使用本揭示內容之可活化之抗體治療的患者群體。例如，在標靶(例如，該標靶)測試和蛋白酶(其切割該接受測試之可活化抗體，例如在疾病部位積聚

之活化抗體的CM1-CM2受質中之受質)測試二者中均呈陽性的患者被鑑定為適合使用該包含該CM1-CM2受質之可活化抗體治療的候選者。同樣地，在使用這些方法之標靶(例如，該標靶)測試或蛋白酶(其切割該接受測試之可活化抗體的CM1-CM2受質中之受質)測試或二種測試中呈陰性之患者可被鑑定為是適合另一治療形式的候選者。於一些實施態樣中，該在第一可活化抗體方面之測試為陰性的患者可使用其他包含不同CM1-CM2受質之可活化抗體測試，直至鑑定出適合用於治療之可活化之抗體(例如包含在該疾病部位被患者切割之CM1-CM2受質的可活化之抗體)。於一些實施態樣中，再對其測試呈陽性之患者投予治療有效量之經軛合的可活化之抗體。

【0431】於一些實施態樣中，使用體內成像來鑑定或以其他方式細化適合使用本揭示內容之可活化之抗體治療的患者群體。例如，在標靶(例如，該標靶)測試和蛋白酶(其切割該接受測試之可活化抗體，例如在疾病部位積聚之活化抗體的CM1-CM2受質中之受質)測試二者中均呈陽性的患者被鑑定為適合使用該包含該CM1-CM2受質之可活化抗體治療的候選者。同樣地，在測試中呈陰性之患者可被鑑定為是適合另一治療形式的候選者。於一些實施態樣中，該在第一可活化抗體方面之測試為陰性的患者可使用其他包含不同CM1-CM2受質之可活化抗體測試，直至鑑定出適合用於治療之可活化之抗體(例如包含在該疾病部位被患者切割之CM1-CM2受質的可活化之抗體)。於一

些實施態樣中，再對其測試呈陽性之患者投予治療有效量之經軛合的可活化之抗體。

【0432】於該方法和套組之一些實施態樣中，使用該方法和套組來鑑定或以其他方式細化適合使用本揭示內容之可活化之抗體治療的患者群體。例如，在使用這些方法之標靶(例如，該標靶)測試和蛋白酶(其切割該接受測試之可活化抗體的CM1-CM2受質中之受質)測試二者中均呈陽性之患者可被鑑定為適合使用該包含該CM1-CM2受質之可活化抗體治療的候選者。同樣地，在使用這些方法之標靶(例如，該標靶)測試和蛋白酶(其切割該接受測試之可活化抗體的CM1-CM2受質中之受質)測試中均呈陰性之患者可被鑑定為是適合另一治療形式的候選者。於一些實施態樣中，可使用其他可活化之抗體測試該患者直至鑑定出適合用於治療之可活化之抗體(例如包含在該疾病部位被患者切割之CM1-CM2受質的可活化之抗體)。於一些實施態樣中，任一標靶(例如，該標靶)測試呈陰性之患者被鑑定為適合使用包含該CM1-CM2受質之該可活化之抗體治療的候選者。於一些實施態樣中，任一標靶(例如，該標靶)測試呈陰性之患者被鑑定為並非使用包含該CM1-CM2受質之該可活化之抗體治療的合適候選者。於一些實施態樣中，可使用其他可活化之抗體測試該患者，直至鑑定出合適之用於治療之可活化之抗體(例如包含在該疾病部位被患者切割之CM1-CM2受質的可活化之抗體)。於一些實施態樣中，該可活化之抗體為與治療劑軛合之可活化之抗

體。於一些實施態樣中，該可活化之抗體未與作用劑軛合。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含可檢測之示蹤劑。於一些實施態樣中，該可活化之抗體包含可檢測之示蹤劑。於一些實施態樣中，該可檢測之示蹤劑位於 AB 上。於一些實施態樣中，該個體或樣品中之可活化之抗體的量係使用與該活化之抗體特異結合的第二試劑測量，其中該試劑包含可檢測之示蹤劑。於一些實施態樣中，該第二試劑為包含可檢測之示蹤劑的抗體。

【0433】於一些實施態樣中，使用該方法和套組來鑑定或以其他方式細化適合使用本揭示內容之抗該標靶之可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體(例如，與治療劑軛合之可活化之抗體)治療的患者群體，再藉由對有需要之個體投予可活化的抗體和/或經軛合之可活化之抗體治療。例如，在使用這些方法之標靶(例如，該標靶)測試和蛋白酶(其切割該接受測試之可活化抗體和/或經軛合之可活化之抗體之 CM1-CM2 受質)測試二者中均呈陽性的患者被鑑定為適合使用包含該 CM1-CM2 受質之該抗體和/或經軛合之可活化之抗體治療的候選者，再對該患者投予治療有效量之經測試的可活化的抗體和/或經軛合之可活化之抗體。同樣地，在使用這些方法之標靶(例如，該標靶)測試或蛋白酶(其切割該接受測試之可活化抗體的 CM1-CM2 受質中之受質)測試或此二種測試中均呈陰性之患者可被鑑定為是適合另一治療形式的候選者。於一些實施態樣中，可使用其他抗體和/或經軛合之可活化之抗體測試該

患者，直至鑑定出合適之用於治療之抗體和/或經軛合之可活化之抗體(例如包含在該疾病部位被患者切割之CM1-CM2受質的可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體)。於一些實施態樣中，再對其測試呈陽性之患者投予治療有效量之可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體。

【0434】於一些該方法和套組之實施態樣中，該MM為長度約4至40個胺基酸之肽。於一些該方法和套組之實施態樣中，該可活化之抗體包含連接子肽，其中該連接子肽係位於該MM與該CM1-CM2受質之間。於一些該方法和套組之實施態樣中，該可活化之抗體包含連接子肽，其中該連接子肽係位於該AB與該CM1-CM2受質之間。於一些該方法和套組之實施態樣中，該可活化之抗體包含第一連接子肽(LP1)和第二連接子肽(LP2)，其中該第一連接子肽係位於該MM與該CM1-CM2受質之間，而該第二連接子肽係位於該AB與該CM1-CM2受質之間。於一些該方法和套組之實施態樣中，LP1和LP2各為長度約1至20個胺基酸之肽，且其中各LP1和LP2不需要為相同之連接子。於一些該方法和套組之實施態樣中，LP1和LP2之一或二者包含甘胺酸-絲胺酸聚合物。於一些該方法和套組之實施態樣中，LP1和LP2中至少一者包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：(GS) n 、(GSGGS) n (SEQ ID NO：381)和(GGGS) n (SEQ ID NO：382)，其中 n 為至少一之整數。於一些該方法和套組之實施態樣中，LP1和LP2中至少一者包含具有式(GGS) n 之胺基酸序列，其中 n 為至少一之整數。

於一些該方法和套組之實施態樣中，LP1和LP2中至少一者包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：Gly-Gly-Ser-Gly (SEQ ID NO：383)、Gly-Gly-Ser-Gly-Gly (SEQ ID NO：384)、Gly-Ser-Gly-Ser-Gly (SEQ ID NO：385)、Gly-Ser-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO：386)、Gly-Gly-Gly-Ser-Gly (SEQ ID NO：387)和Gly-Ser-Ser-Ser-Gly (SEQ ID NO：388)。

【0435】於一些該方法和套組之實施態樣中，該AB包含選自本文呈現之交叉反應性抗體序列中之抗體或抗體片段序列。於一些該方法和套組之實施態樣中，該AB包含Fab片段、scFv或單鏈抗體(scAb)。

【0436】於一些該方法和套組之實施態樣中，該切割劑為與標靶共定位在個體或樣品中之蛋白酶，且該CM1-CM2受質為作為蛋白酶受質之多肽，其中當該可活化之抗體暴露於蛋白酶時，該蛋白酶切割在該可活化之抗體中之CM1-CM2受質。於一些該方法和套組之實施態樣中，在該CM1-CM2受質中之各CM1受質序列和CM2受質序列係獨立為至多15個胺基酸長的多肽。於一些該方法和套組之實施態樣中，該CM1-CM2受質與AB之N端偶聯。於一些該方法和套組之實施態樣中，該CM1-CM2受質與AB之C端偶聯。於一些該方法和套組之實施態樣中，該CM1-CM2受質與AB之VL鏈的N端偶聯。

【0437】本揭示內容之可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體?用於診斷和預防性配製劑中。於一實施態

樣中，對處於發展出一或多種上述之發炎、發炎性疾病、癌症或其他病症之風險中的患者投予抗體。

【0438】患者或器官對一或多種上述病症之易感性可使用基因型、血清學或生化標記來測定。

【0439】於一些實施態樣中，對被診斷具有與一或多種上述病症相關之臨床適應症的人類個體投予可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體。一旦診斷時，投予可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體以減輕或逆轉該臨床適應症之影響。

【0440】本揭示內容之可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體亦可用於檢測患者樣品中之標靶，且因此可作為診斷劑。例如，本揭示內容之可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體可用於玻管內分析(例如ELISA)中以檢測患者樣品中之標靶量。

【0441】於一實施態樣中，本揭示內容之可活化之抗體係固定在固體支持物(例如微量滴定盤之孔)上。該經固定之可活化之抗體係作為可能存在於測試樣品中的任何標靶之捕捉抗體。在令該經固定之抗體與患者樣品接觸之前，沖洗該固體支持物並使用封閉劑(諸如牛奶蛋白或白蛋白)處理，以防止分析物之非特異性吸附。

【0442】隨後使用懷疑含有該抗原之測試樣品或含有標準量之抗原的溶液處理該孔。該樣品為，例如來自個體之血清樣品，該個體被懷疑具有被認為是病理學診斷劑的循環抗原量。沖洗掉該測試樣品或標準液後，使用經可檢

測標示之第二抗體處理該固相支持物。該經標示之第二抗體係作為檢測抗體。測量該可檢測之示蹤劑之量，並藉由與標準曲線相比較來測定該測試樣品中之靶抗原的濃度，該標準曲線係從標準樣品發展而來。

【0443】可理解的是，基於在玻管內診斷分析中使用本揭示內容之抗體所獲得的結果，根據該靶抗原之表現水準將個體之疾病分階段是可能的。在指定之疾病方面，從被診斷為處於疾病進展之多種階段和/或處於該疾病之治療性治療中之各個點的個體中採集血液樣本。使用可提供在進展或治療之各階段的統計學上有意義之結果的樣本群體可指定被視為表徵各階段之抗原的濃度範圍。

【0444】可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體亦可用於診斷和/或成像方法中。於一些實施態樣中，該方法為玻管內方法。於一些實施態樣中，該方法為體內方法。於一些實施態樣中，該方法為原位方法。於一些實施態樣中，該方法為離體方法。例如，具有可酶切割之CM1-CM2受質的可活化之抗體可用於檢測是否存有能夠切割該CM1-CM2受質之酶。該可活化之抗體可用於診斷中，該診斷可包括透過測量指定之宿主生物的指定細胞或組織中所累積之活化的抗體(即，從切割可活化之抗體所產生的抗體)在體內檢測(例如定性或定量)酶活性(或者，於一些實施態樣中，具有增加之還原電位的環境，諸如可還原二硫化物鍵之環境)。該可活化之抗體的累積不僅表明該組織表現酶活性(或者根據CM1-CM2受質之性質為增

加之還原電位)，且亦表明該組織表現與該活化之抗體結合之標靶。

【0445】例如，該CM1-CM2受質可被選定為在腫瘤部位、在生物限定部位處之病毒或細菌感染部位(例如，諸如膿腫中、器官中，等)，等所發現之蛋白酶的蛋白酶受質。該AB可為與靶抗原結合之AB。使用本技藝之技術熟習人士熟悉之方法可將可檢測之示蹤劑(例如螢光示蹤劑或放射性示蹤劑或放射性追蹤劑)與可活化之抗體的AB或其他區域軛合。合適之可檢測示蹤劑討論於上述篩選方法之上下文中，另外之具體實例提供於下文中。使用特異於該疾病狀態之蛋白質或肽的AB，連同在所感興趣之疾病組織中活性提升的蛋白酶，可活化之抗體將顯示出相對於其中該CM1-CM2受質特異性酶無可檢測到之存在量或存在量低於在疾病組織中之量或無活性(例如為酶原形式或與抑制劑複合)的組織，該可活化之抗體與疾病組織的結合率增加。由於小蛋白質和肽類可藉由腎臟過濾系統迅速從血液中清除，且由於特異於CM1-CM2受質之酶無可檢測到之存在量(或在非疾病組織中之量較少或以非活性構型存在)，該疾病組織中所累積之活化的抗體較累積在非疾病組織中者增加。

【0446】於另一實施態樣中，可活化之抗體可用於檢測樣品中是否存有切割劑。例如，其中該可活化之抗體含有易於被酶切割之CM1-CM2受質時，該可活化之抗體可用於檢測(定性或定量)該樣品中是否存有酶。於另一實例

中，其中該可活化之抗體含有易於被還原劑切割之 **CM1-CM2** 受質時，該可活化之抗體可用於檢測(定性或定量)該樣品中是否存有還原條件。為了促進以這些方法分析，該可活化之抗體可經可檢測地標記，且可與支持物(例如固體支持物，諸如載玻片或小珠)結合。該可檢測之示蹤劑可位於在切割後沒有被釋出之可活化抗體的一部分上，例如該可檢測之示蹤劑可為淬滅之螢光示蹤劑或在切割發生之前無法檢測的其他示蹤劑。例如，該分析可藉由下述步驟進行：令該經固定之可檢測地標記的可活化之抗體與被懷疑含有酶和/或還原劑之樣品接觸一段足以發生切割的時間，然後洗滌之以去除過量的之樣品和污染物。然後，藉由與樣品接觸之前該可活化之抗體中的可檢測信號之變化來評估該樣品中是否存有切割劑(例如，酶或還原劑)，例如，由於該樣品中之切割劑切割該可活化之抗體而存有和/或增加該可檢測之信號。

【0447】該檢測方法可經改造以亦用於檢測是否存在可在該可活化之抗體被切割時與其 **AB** 結合之標靶。因此，該分析可經改造以評估是否存在切割劑及是否存在所感興趣之標靶。該切割劑存在與否可經由依上述檢測該可活化之抗體中的可檢測之示蹤劑是否存在和/或增加來檢測，而該標靶存在與否可經由檢測標靶-**AB** 複合物來檢測，例如藉由使用經可檢測地標記之抗標靶抗體來檢測。

【0448】可活化之抗體亦可用於原位成像中，例如藉由蛋白酶切割和與特定標靶結合來驗證可活化之抗體的活

化。原位成像為能夠定位在生物樣本(諸如細胞培養物或組織切片)中之蛋白水解活性和標靶之技術。使用該技術以基於可檢測之示蹤劑(例如螢光標記)的存在來確認與指定標靶之結合和蛋白水解活性是可能的。

【0449】該技術可用於源自疾病部位(例如腫瘤組織)或健康組織之任何冷凍細胞或組織。該技術亦可用於新鮮細胞或組織樣品。

【0450】於該技術中，可活化之抗體係使用可檢測之示蹤劑標記。該可檢測之示蹤劑可為螢光染料(例如異硫氰酸螢光素(FITC)、異硫氰酸羅丹明(TRITC)、近紅外光(NIR)染料(例如 Qdot® 奈米晶體)、膠體金屬、半抗原、放射活性標記、生物素和擴增劑，例如鏈黴親和素或酶(例如辣根過氧化物酶或鹼性磷酸酶)。

【0451】在已經與該經標記之可活化之抗體一起培育之樣品中檢測到示蹤劑表明該樣品含有標靶且含有特異於該可活化之抗體的 CM1-CM2 受質的蛋白酶。於一些實施態樣中，該蛋白酶之存在可使用廣譜蛋白酶抑制劑(諸如本文所描述者)和/或藉由使用特異於該蛋白酶之作用劑(例如抗體，諸如 A11，其對間質蛋白酶(MT-SP1)具有特異性且抑制間質蛋白酶之蛋白水解活性)來確認；參見，例如 2010 年 11 月 11 日發表之國際刊物編號 WO 2010/129609。該使用廣譜蛋白酶抑制劑(諸如本文所描述者)和/或使用更具選擇性之抑制劑的相同方法可用來鑑定特異於該可活化之抗體的 CM1-CM2 受質之蛋白酶或蛋白酶類別。於一些實

施態樣中，該標靶之存在可使用特異於該標靶之作用劑，例如另一抗體來確認，或者該可檢測之示蹤劑可與未經標記之標靶競爭。於一些實施態樣中，可使用未經標記之可活化之抗體，藉由經標記之第二抗體或更複雜之檢測系統進行檢測。

【0452】類似的技術也可用於體內成像，其中在個體(例如哺乳動物，包括人)內檢測到螢光信號表明該疾病部位含有標靶且含有特異於CM1-CM2受質之蛋白酶。

【0453】這些技術亦可用於套組中和/或作為作用劑以基於該可活化之抗體中該蛋白酶特異性CM1-CM2受質來檢測、鑑定或表徵多種細胞、組織和生物體中之蛋白酶活性。

【0454】於一些實施態樣中，原位成像和/或體內成像可用於鑑定待治療之患者的方法中。例如，在原位成像中，該可活化之抗體可用於篩選患者樣品以鑑定那些在適當位置(例如在腫瘤部位)具有適當蛋白酶和標靶之患者。

【0455】於一些實施態樣中，原位成像可用於鑑定或以其他方式細化適合使用本揭示內容之可活化之抗體治療的患者群體。例如，在標靶和蛋白酶(其可切割該測試之可活化抗體(例如累積在疾病部位之活化的抗體)之可切割部分中的受質(CM1-CM2受質))測試中均呈陽性之患者被鑑定為適合使用該包含CM1-CM2受質之可活化抗體治療的候選者。同樣地，在使用這些方法測試之標靶和蛋白酶(其可切割該測試之可活化抗體中之CM1-CM2受質中的受

質)測試中均呈陰性之患者被鑑定為適合使用另一種療法的候選者(即，不適合使用正在測試之可活化之抗體進行治療)。於一些實施態樣中，該在第一可活化抗體方面測試陰性的患者可使用其他包含不同CM之可活化之抗體測試，直至鑑定出合適用於治療之可活化之抗體(例如，包含可在患者之疾病部位被切割之CM1-CM2受質的可活化之抗體)。

【0456】於一些實施態樣中，使用體內成像來鑑定或以其他方式細化適合使用本揭示內容之可活化抗體治療的患者群體。例如，在標靶和蛋白酶(其可切割該測試之可活化抗體(例如在該疾病部位累積之活化的抗體)的可切割部分中之受質(CM1-CM2受質))測試中均呈陽性之患者被鑑定為適合使用該包含諸如CM1-CM2受質之可活化抗體治療的候選者。同樣地，測試陰性之患者被鑑定為適合使用另一種療法的候選者(即，不適合使用所測試之可活化抗體進行治療)。於一些實施態樣中，該在第一可活化抗體方面測試陰性的患者可使用其他包含不同CM之可活化之抗體測試，直至鑑定出適合用於治療之可活化之抗體(例如，包含可在患者疾病部位被切割之CM1-CM2受質的可活化之抗體)。

醫藥組成物

【0457】本揭示內容之經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體(本文亦稱為“活性化合物”)及

其衍生物、片段、類似物和同系物可被納入適合用於投予之醫藥組成物。該組成物通常包含經軛合之抗體、可活化之抗體和/或經軛合之可活化之抗體和醫藥上可接受之載體。如本文所使用之術語“醫藥上可接受之載體”旨在包括與藥物投予相容之任何和所有溶劑、分散介質、塗覆層、抗菌劑和抗真菌劑、等滲劑和吸收延遲劑等。合適之載體描述於最新版之 **Remington's Pharmaceutical Sciences**(該領域中之標準參考文獻，其以引用併入本文)中。該載體或稀釋劑之合適實例包括，但不限於水、生理鹽水、林格氏液、右旋糖溶液和5%人血清白蛋白。亦可使用脂質體和非水性載劑(諸如非揮發性油)。該介質和作用劑於醫藥上活性之物質的用途為本技藝所熟知。除了與活性化合物不相容外，任何常規介質或作用劑均可考慮用於組成物中。亦可將補充性活性化合物納入該組成物中。

【0458】 本揭示內容之醫藥組成物係配製成與其預期之投予途徑相容。投予途徑之實例包括經由腸胃道外(例如經由靜脈內)、皮內、皮下、口服(例如吸入)、經皮(即、局部)、透黏膜和直腸途徑投予。用於經由腸胃道外，皮內或皮下施用之溶液或懸浮液可包括下列組分：無菌稀釋劑，諸如注射用水、生理鹽水溶液、非揮發性油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他合成之溶劑；抗菌劑，諸如苯甲醇或對羥基苯甲酸甲酯；抗氧化劑，諸如抗壞血酸或亞硫酸氫鈉；螯合劑，諸如乙二胺四醋酸(EDTA)；緩衝劑，諸如醋酸鹽、檸檬酸鹽或磷酸鹽，以及用於調節張

力之作用劑，諸如氯化鈉或右旋糖。該pH值可使用酸或鹼，諸如鹽酸或氫氧化鈉調節。該腸胃道外配製劑可包封在玻璃或塑料製成之安瓿瓶、一次性注射器或多劑量小瓶中。

【0459】適合用於注射用途之醫藥組成物包括無菌水溶液(其中水可溶)或分散液及用於臨時製備無菌注射溶液或分散液之無菌粉末。在靜脈內投予方面，合適之載體包括生理鹽水、抑菌水、Cremophor ELTM(BASF，紐澤西州帕西帕尼)或磷酸鹽緩衝之生理鹽水(PBS)。在所有情況下，該組成物必須為無菌且應為具有一定程度之流動性以易於注射的溶液。其必須在生產和儲存條件下保持穩定，且必須經防腐處理以防止微生物(諸如細菌和真菌)之污染。該載體可為含有，例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇和液體聚乙二醇等)及彼等之合適混合物的溶劑或分散介質。適當之流動性可藉由，例如使用塗覆層(諸如卵磷脂)、在分散液之情況下藉由維持所需之粒徑及藉由使用表面活性劑來維持。微生物之作用可藉由多種抗細菌劑和抗真菌劑，例如對羥基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、抗壞血酸、硫柳汞等來防止。於一些實施態樣中，在該組成物中包括等滲劑，例如糖、多元醇(諸如甘露醇、山梨糖醇、氯化鈉)是理想的。延長注射組成物之吸收可藉由在組成物中包含延遲吸收之作用劑，例如單硬脂酸鋁和明膠來實現。

【0460】無菌注射溶液可藉由將所需量之活性化合物

依需要與上述列舉之一種成分或成分之組合一起併入合適的溶劑中，再藉由過濾滅菌來製備。通常，分散液係藉由將活性化合物併入含有基礎分散介質和上述列舉之其他必須成分的無菌載體中來製備。在用於製備無菌注射溶液之無菌粉末的情況中，製備方法為真空乾燥和冷凍-乾燥法，該方法可從先前之含有活性成分加上任何另外所需成分的無菌過濾溶液產生該活性成分和任何另外之所需成分的粉末。

【0461】 口服組成物通常包括惰性稀釋劑或可食用之載體。其可被包封在明膠膠囊中或壓成片劑。為了投予口服治療劑，可將該活性化合物與賦形劑合併，並以片劑、錠劑或膠囊之形式使用。口服組成物亦可使用流體載體製備以作為漱口水，其中在該流體載體中之化合物係口服施用，並漱口及吐出或吞嚥。醫藥上相容之結合劑和/或佐劑物質可以組成物之一部分的形式包含在該組成物內。該片劑、丸劑、膠囊劑、錠劑等可含有任一下列成分或具有類似性質之化合物：結合劑，諸如微晶纖維素、黃耆膠或明膠；賦形劑，諸如澱粉或乳糖、崩散劑，諸如藻酸、Primogel或玉米澱粉；潤滑劑，諸如硬脂酸鎂或Sterotes；助流劑，諸如膠體二氧化矽；甜味劑，諸如蔗糖或糖精；或調味劑，諸如薄荷、水楊酸甲酯或橙色調味劑。

【0462】 在藉由吸入投予方面，該化合物係以氣溶膠噴霧之形式從含有合適推進劑(例如氣體，諸如二氧化碳)之加壓容器或分配器，或噴霧器遞送。

【0463】全身投予亦可藉由透黏膜或經皮方式進行。在透黏膜或經皮投予方面，配製劑中使用適合該欲滲透之屏障的滲透劑。該滲透劑為本技藝中一般所知且包括，例如用於透黏膜投予之清潔劑、膽汁鹽和夫西地酸(fusidic acid)衍生物。透黏膜投予可透過使用鼻噴霧劑或栓劑完成。在經皮投予方面，該活性化合物係配製成如本技藝中一般所知之軟膏、油膏、凝膠或乳劑。

【0464】該化合物亦可製備成栓劑之形式(例如，使用常規之栓劑基質，諸如可可脂和其他甘油酯)或用於直腸投遞之保留灌腸劑。

【0465】於一實施態樣中，該活性化合物係與載體一起製備，該載體將保護化合物免於從體內快速消除，諸如控釋配製劑，包括植入物和微包囊遞送系統。可使用可生物降解之生物相容性聚合物，諸如乙烯醋酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯和聚乳酸。用於配製該配製劑之方法為本技藝之技術熟習人士所清楚明白。該材料亦可從Alza Corporation和Nova Pharmaceuticals公司商購獲得。脂質體懸浮液(包括以對抗病毒抗原之單株抗體靶向感染細胞的脂質體)亦可作為醫藥上可接受之載體。這些可根據本技藝之技術熟習人士已知的方法製備，例如，如美國專利案編號4,522,811中之描述。

【0466】配製易於投予且劑量均勻之為劑量單位形式的口服或腸胃道外組成物特別有利。如本文所使用之劑量單位形式係指適合作為待治療個體之單位劑量的物理上離

散的單位；各單位含有經計算之預定量的活性化合物，以聯合所需之藥物載體來產生期望之治療效果。本揭示內容之劑量單位形式的規格係由該活性化合物之獨特特徵，和欲達成之特定治療效果及合成該用於治療個體之活性化合物的技藝中固有的限制決定且直接取決於此。

【0467】該醫藥組成物可與用於投予之說明書一起包含在容器、包裝或分配器中。

【0468】本發明將進一步描述於下列實施例中，該實施例並不限制申請專利範圍中所描述之本發明的範圍。

實施例

實施例 1：可活化之抗體和基質金屬蛋白酶(MMP)可切割之受質

【0469】本文提供之研究描述本揭示內容之示例性基質金屬蛋白酶(MMP)受質和本揭示內容之包括MMP受質的示例性可活化之抗體。

【0470】構建示例性可活化之抗體，使得每一可活化之抗體包括表1中所列之MMP受質其中一者。本揭示內容之示例性可活化之抗體(其序列列於表2中)包括與表皮生長因子受體(EGFR)特異地結合之基於小鼠/人嵌合型單株抗體的抗體或其抗原結合片段(AB)。該示例性可活化之抗體亦包括與AB之輕鏈的N端偶聯之前結構域。每一前結構域包括掩蔽部分(MM)和可切割部分(CM)，且該CM包括至少一個表1之MMP受質序列。

表 1：基質金屬蛋白酶(MMP)受質

名稱	序列	SEQ ID NO:
4001	ALAHGLF	1
4002	DLAHPLL	2
4003	AFRHLR	3
4004	PHGFFQ	4
4005	SVHHLI	5
4006	RGPKLYW	6
4007	RFPYGVW	7
4008	HVPRQV	8
4009	SNPFKY	9
4010	RFPLKV	10
4011	PFHLSR	11
4012	STVFHM	12
4013	MGPWFM	13
4014	RHLAKL	14
4015	PLGVRGK	15
4016	QNQALRIA	16

表 2：可活化之抗體序列

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5) 重鏈 (胺基酸序列) (SEQ ID NO：400)

QVQLKQSGPGLVQPSSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPF
SRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSQDTAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLTVTSAASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP
SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
K

抗 EGFR 可活化之抗體輕鏈 (胺基酸序列) (SEQ ID NO：399)

DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSG
SGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVY
ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體輕鏈(胺基酸序列)(SEQ ID NO：401)

QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSG
SGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVY
ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-NSUB)輕鏈(胺基酸序列)(SEQ ID NO：402)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGSSGGSGGGSGGGSGGGSGGSDILLTQSPVILSVSPGERVS
FSCRASQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDI
ADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPREAKVQW
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4001SL)輕鏈(胺基酸序列)(SEQ ID NO：403)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGSSGGSSALAHGLFGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCR
ASQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYC
QQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4001LL)輕鏈(胺基酸序列)(SEQ ID NO：404)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGSSGGSGGSGGSGALAHGLFGGGSQILLTQSPVILSVSPGERV
SFSCRASQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDI
ADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ
WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4002SL) 輕鏈 (胺基酸
序列)(SEQ ID NO : 405)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGSSGGSDLAHPLLGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCR
ASQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYC
QQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4003SL) 輕鏈 (胺基酸
序列)(SEQ ID NO : 406)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGSSGGSAFRHLRGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRA
SQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQ
QNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4004LL) 輕鏈 (胺基酸
序列)(SEQ ID NO : 407)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGSSGGSGGSGSGGSGPHGFFQGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVS
FSCRASQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDI
DYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4005SL) 輕鏈 (胺基酸

序列)(SEQ ID NO：408)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSSVHHLIGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRA
SQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQ
QNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4006SL)輕鏈 (胺基酸
序列)(SEQ ID NO：409)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSRGPKLYWGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCR
ASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYC
QNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4006LL)輕鏈 (胺基酸
序列)(SEQ ID NO：410)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGSSGGSGSGSGSRGPKLYWGGGSQILLTQSPVILSVSPGERV
SFSCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDI
ADYYCQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPREAKVQ
WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4007SL)輕鏈 (胺基酸
序列)(SEQ ID NO：411)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSRFPYGVWGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCR
ASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYC
QNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4008SL)輕鏈 (胺基酸

序列)(SEQ ID NO : 412)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSHVPRQVGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRA
SQSIGTNIHWYQQR TNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQ
QNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4008LL)輕鏈 (胺基酸
序列)(SEQ ID NO : 413)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSGSGSGSHVPRQVGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVS
FSCRASQSIGTNIHWYQQR TNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIAD
DYYCQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4009SL)輕鏈 (胺基酸
序列)(SEQ ID NO : 414)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSSNPFKYGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRA
SQSIGTNIHWYQQR TNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQ
QNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4010SL)輕鏈 (胺基酸
序列)(SEQ ID NO : 415)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSRFPLKVGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRA
SQSIGTNIHWYQQR TNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQ
QNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4011SL)輕鏈 (胺基酸

序列)(SEQ ID NO：416)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSPFHLSRGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRA
SQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQ
QNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4012SL)輕鏈 (胺基酸
序列)(SEQ ID NO：417)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSSTVFHMGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRA
SQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQ
QNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4013SL)輕鏈 (胺基酸
序列)(SEQ ID NO：418)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSMGPWFMGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRA
SQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQ
QNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4013LL)輕鏈 (胺基酸
序列)(SEQ ID NO：419)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGSSGGSGSGSGMGPWFMGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVS
FSCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDI
ADYYCQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4014SL)輕鏈 (胺基酸

序列)(SEQ ID NO：420)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSRLAKLGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRA
SQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQ
QNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4015SL)輕鏈 (胺基酸
序列)(SEQ ID NO：421)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSPLGVRGKGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCR
ASQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYC
QNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-4015LL)輕鏈 (胺基酸
序列)(SEQ ID NO：422)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGSSGGSGSGSGPLGVRGKGGGSQILLTQSPVILSVSPGERV
SFSCRASQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDI
ADYYCQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ
WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-401 6)輕鏈 (胺基酸序
列)(SEQ ID NO：423)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGSSGGSGSGSQNQALRIAGGGSQILLTQSPVILSVSPGER
VSFSCRASQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESED
IADYYCQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954- 2011LL)輕 鏈 (胺 基 酸 序 列)(SEQ ID NO： 480)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGSSGGSGGSGSGGISSGLLSGRSDNPGGGSQILLTQSPVILSV
SPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINS
VESEDIADYYCQONNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYF
REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV
TKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-3011LL)輕 鏈 (胺 基 酸 序 列)(SEQ ID NO： 481)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGSSGGSGGSGSGGAVGLLAPPGGLSGRSDNPGGGSQILLTQSP
VILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFT
LSINSVESEDIADYYCQONNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTGSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-1001 S L)輕 鏈 (胺 基 酸 序 列)(SEQ ID NO： 482)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSISSGLLSSGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSC
RASQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYY
CQONNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTGSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-1001LL)輕 鏈 (胺 基 酸 序 列)(SEQ ID NO： 483)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGSSGGSGGSGSGGISSGLLSSGGGSQILLTQSPVILSVSPGER
VSFSCRASQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESED
IADYYCQONNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTGSFN
RGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-1004 S L)輕鏈(胺基酸
序列)(SEQ ID NO：484)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSAVGLLAPPGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSC
RASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYY
CQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-1004LL)輕鏈(胺基酸
序列)(SEQ ID NO：485)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGSSGGSGSGSGSPAVGLLAPPGGGSQILLTQSPVILSVSPGE
RVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESE
DIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK
VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF
NRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-1005SL)輕鏈(胺基酸
序列)(SEQ ID NO：486)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSGPSHLVLTGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSC
RASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYY
CQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD
NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-1005LL)輕鏈(胺基酸
序列)(SEQ ID NO：487)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGSSGGSGGSGGSGGSPSHLVLTTGGGSQILLTQSPVILSVSPGER
VSFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESED
IADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC

實施例 2：具有 MMP-可切割受質之可活化之抗體的玻管內穩定性

【0471】 本文提供之研究評估本揭示內容之含有基質金屬蛋白酶(MMP)受質的可活化抗體之玻管內穩定性。

【0472】 在重組 MMP9或重組 MMP14基質金屬蛋白酶之存在下測量本揭示內容之可活化抗體的穩定性。將各可活化之抗體(100 μg/mL)與 50 mM之該指明的重組蛋白酶在 37°C 下培育 24小時，並藉由毛細管電泳測量被各蛋白酶切割之可活化抗體的部分。表 3中總結該玻管內研究之示例性結果。

【0473】 該示例性結果表明本揭示內容之受質顯示出可被 MMP9或 MMP14 酶切割之範圍。這些示例性結果亦顯示一組其中該 MMP9和 MMP14可切割性均為至少 85%的受質。於一些實施態樣中，該受質可包括包含 ALAHGLF (SEQ ID NO：1)、DLAHPLL(SEQ ID NO：2)或 RGPKLYW (SEQ ID NO：6)之胺基酸序列的經分離之多肽。

【0474】 這些示例性結果亦顯示一組其中該 MMP9和 MMP14可切割性均為至少 90%的受質。於一些實施態樣中，該受質可包括包含 ALAGHGF(SEQ ID NO：1)之胺基

酸序列的經分離之多肽。

表 3：MMP可切割之可活化之抗體之玻管內活化

可切割之抗體 中的受質	受質	受質 SEQ ID NO.	MMP14 可切割性 (%)	MMP9 可切割性 (%)
c225v5-3954-4001-SL	ALAHGLF	1	96.5	94.5
c225v5-3954-4001-LL	ALAHGLF	1	100	100.0
c225v5-3954-4002-SL	DLAHPLL	2	85.9	87.5
c225v5-3954-4003-SL	AFRHLR	3	53.1	6.0
c225v5-3954-4004-LL	PHGFFQ	4	46.2	29.8
c225v5-3954-4005-SL	SVHHLI	5	24.4	70.5
c225v5-3954-4006-LL	RGPKLYW	6	84.2	90.8
c225v5-3954-4006-SL	RGPKLYW	6	85.7	92.9
c225v5-3954-4007-SL	RFPYGVW	7	0.0	69.5
c225v5-3954-4008-LL	HVPRQV	8	0.0	55.2
c225v5-3954-4009-SL	SNPFKY	9	0.0	22.1
c225v5-3954-4010-SL	RFPLKV	10	0.0	18.0
c225v5-3954-4011-SL	PFHLSR	11	9.9	78.8
c225v5-3954-4012-SL	STVFHM	12	0.0	56.5
c225v5-3954-4014-SL	RHLAKL	14	30.5	0.0
c225v5-3954-4015-LL	PLGVRGK	15	0.0	90.0

實施例 3：具有 MMP-可切割受質之可活化抗體的活體內穩定性

【0475】 本文提供之研究評估本揭示內容之含有基質金屬蛋白酶(MMP)受質之可活化抗體的活體內穩定性。

【0476】 這些示例性研究藉由對小鼠投予可活化之抗體的劑量，再藉由西方點墨測量所觀察到之血漿中被切割之可活化抗體的部分來測量本揭示內容之含有 MMP 受質的可活化抗體之穩定性。將該穩定性與其他已知之具有下列受質的可活化抗體相比較：例如包括至少一種 MMP 受質和至少一種絲胺酸蛋白酶受質之受質 2011 (ISSGLLSGRSDNP

， SEQ ID NO： 21)和受質3011 (AVGLLAPPGGLSGRSDNP， SEQ ID NO： 22)， 或包括至少一種 MMP受質之受質1001 (ISSGLLSS， SEQ ID NO： 17)。

【0477】 於該研究中，經由腹膜內途徑對約7至8週齡之 nu/nu 小鼠投予劑量為 12.5mg/kg 之指明的測試物品。投予7天後，藉由心臟穿刺收集末梢血，並在收集後1小時內處理成血漿。將收集之樣品在磷酸鹽緩衝之生理鹽水溶液中稀釋 1:100 倍和變性，並使用 A110UK 山羊抗人 IgG 抗體(美國 Qualex)和抗山羊二級抗體 (Jackson ImmunoResearch)，利用 WES 西方點墨方案 (Protein Simple) 進行分析。藉由定量該相對於已切割之可活化抗體而言具有較高遷移率之多肽的級分來測定經切割之可活化抗體的級分。這些示例性分析的結果總結於表 4 和第 1 圖中。

表 4. 可活化之抗體的活體內穩定性

測試物	7 天後之 % 活化
C225v5-3954-2011 LL	35.80
C225v5-3954-3011 LL	62.85
C225v5-3954-4016	20.30
C225v5-3954-4001 LL	22.37
C225v5-3954-4001 SL	27.23
C225v5-3954-4003 SL	29.70
C225v5-3954-4006 LL	22.70
C225v5-3954-4008 SL	17.93
C225v5-3954-4008 LL	17.77
C225v5-3954-4012 SL	13.20
C225v5-3954-4015 LL	50.43
C225v5-3954-1001 LL	19.77

【0478】 該示例性結果證明相較於同時具有絲胺酸蛋

白酶和 MMP 受質之可活化抗體，本揭示內容之某些包括 MMP 受質的可活化抗體顯示出較高之活體內穩定性。

【0479】該示例性結果亦顯示一組其中活體內穩定性小於 30% 活化的受質。於一些實施態樣中，該受質可包括包含 ALAHGLF (SEQ ID NO：1) 或 RGPKLYW (SEQ ID NO：6) 之胺基酸序列的經分離之多肽。

【0480】該示例性結果亦顯示一組其中活體內穩定性小於 25% 活化的受質。於一些實施態樣中，該受質可包括包含 ALAHGLF (SEQ ID NO：1) 或 RGPKLYW (SEQ ID NO：6) 之胺基酸序列的經分離之多肽。

實施例 4：具有 MMP 可切割之受質的可活化之抗體的掩蔽效率

【0481】本文提供之研究評估本揭示內容之包括基質金屬蛋白酶 (MMP) 受質的可活化抗體之玻管內掩蔽效率。

【0482】在該研究中，使用固相結合分析 (ELISA) 來證明本揭示內容之包括 MMP 受質的抗 EGFR 可活化抗體與重組 EGFR 之結合親和力。如第 2A 和 2B 圖所示，測量本揭示內容之具有指明的受質之可活化抗體與 EGFR 之結合親和力，並將其與 c225v5 親本抗體相比較。將掩蔽效率與具有下列已知受質之其他可活化抗體相比較：例如包括至少一種 MMP 受質和至少絲胺酸蛋白酶受質之 2001 (ISSGLLSGRSDNH，SEQ ID NO：23) 或包括至少一種 MMP 受質之受質 1001 (ISSGLLSS，SEQ ID NO：17)、1004

(AVGLLAPP，SEQ ID NO：18)和1005(GPSHLVLT，SEQ ID NO：19)。這些示例性結果之總結顯示於表5和第2A和2B圖。

【0483】這些示例性結果表明該MMP受質對該可活化之抗體中之掩蔽部分的掩蔽效率有影響，在某些情況下，增加該可活化抗體之前結構域中的掩蔽部分之表觀掩蔽效率。

【0484】這些示例性結果亦表明一組其中該掩蔽效率大於70之受質。於一些實施態樣中，該受質可包括包含 ALAHGLF(SEQ ID NO：1)、RGPKLYW(SEQ ID NO：6)或 RFPYGVW(SEQ ID NO：7)之胺基酸序列的經分離之多肽。

【0485】這些示例性結果亦表明一組其中該掩蔽效率大於160之受質。這些示例性結果亦表明一組其中該掩蔽效率為160至350的受質。於一些實施態樣中，該受質可包括包含 ALAHGLF(SEQ ID NO：1)或 RFPYGVW(SEQ ID NO：7)之胺基酸序列的經分離之多肽。

表 5. 可活化之抗體的玻管內結合活性和掩蔽效率

測試品	K _{Da} (nM)	掩蔽效率
C225v5 親本抗體 (第2A圖)	0.094	1
C225v5-3954-2001 (第2A圖)	3.71	39.5
C225v5-3954-1004-LL	1.51	16.1
C225v5-3954-1001-LL	3.83	40.7
C225v5-3954-4001-LL	15.8	168
C225v5-3954-4001-SL	32.9	350
C225v5 親本抗體 (第2B圖)	0.082	1
C225v5-3954-2001 (第2B圖)	3.23	39.4
C225v5-3954-4006-LL	6.12	74.6
C225v5-3954-4008-SL	22.2	271
C225v5-3954-4007-SL	22.6	276
C225v5-3954-1005-LL	36.6	446

實施例 5：抗 EGFR 可活化之抗體的體內效力

【0486】 本文提供之研究使用小鼠 H292(人肺癌細胞株)異種移植模型評估本揭示內容之包括基質金屬蛋白酶(MMP)受質的可活化抗體之體內效力。

【0487】 在這些研究中，令 H292 (源自人肺癌之細胞株)皮下異種移植腫瘤在 6 至 8 週齡之雌性 nu/nu 小鼠中生長至平均體積為 180 至 260 mm³。該 H292 細胞株對抗 EGFR 抗體西妥昔單抗有反應。然後，將小鼠隨機分成每組各 7 隻小鼠並在第 1 天經由腹膜內途徑對每一組投予 10mg/kg 之指明的測試物品。如第 3A 圖所示，繪製投予測試物品之後每個時間點的平均腫瘤體積±SEM。第 3B 圖顯示使用具有指明之受質的可活化抗體，或使用西妥昔單抗或免疫球蛋白 (IVIG) 對照組治療之每隻小鼠在第 28 天時之絕對腫瘤體積分佈。使用具有已知受質(例如包括至少一種 MMP 受質的 1001(ISSGLLSS)、1004(AVGLLAPP)和 1005(GPSHLVLT))

，或具有不可切割之甘胺酸-絲胺酸連接子(NSUB)之可活化之抗體測定效力。

【0488】如第3A和3B圖所示，某些本揭示內容之具有MMP受質的可活化抗體表現出與西妥昔單抗(其缺乏前結構域)相當之體內效力。

實施例6：體內腫瘤內活化抗EGFR可活化之抗體

【0489】本文提供之研究評估在對小鼠H292(人肺癌細胞株)異種移植模型投予本揭示內容之包括基質金屬蛋白酶(MMP)受質的可活化抗體後該可活化之抗體在體內腫瘤內活化的情況。

【0490】在這些研究中，令H292(源自人肺癌之細胞株)皮下異種移植腫瘤在6至8週齡之雌性nu/nu小鼠中生長至平均體積為180至260 mm³。該H292細胞株對抗EGFR抗體西妥昔單抗有反應。然後，將小鼠隨機分成每組各7隻小鼠並在第1天經由腹膜內途徑對每一組投予10mg/kg之指明的測試物品。使用具有該指明之受質的可活化抗體或西妥昔單抗或免疫球蛋白(IVIG)對照組治療每隻小鼠。該效力係使用具有已知受質之可活化之抗體測定，該已知受質為，例如包括至少一種MMP受質或帶有不可切割之甘胺酸-絲胺酸連接子(NSUB)之1001(ISSGLLSS，SEQ ID NO：17)、1004(AVGLLAPP，SEQ ID NO：18)和1005(GPSHLVLT，SEQ ID NO：19)。

【0491】在給藥後4天從小鼠收集腫瘤和血漿。使用

含有HALT蛋白酶抑制劑混合物(Thermo Fisher)和EDTA之免疫沉澱緩衝液(Pierce)溶解該腫瘤組織，及使用Barocycler(Pressure Bioscience)溶解該腫瘤組織。使用WES西方點墨方案(Protein Simple)，利用A110UK山羊抗人IgG抗體(美國Qualex)和抗山羊二級抗體(Jackson ImmunoResearch)分析該樣品。藉由定量該對應於已切割之可活化抗體的具有較高遷移率之多肽的級分來測定該經切割之可活化抗體的級分。這些示例性分析的結果總結於表6和第4圖中。

【0492】表6中顯示本揭示內容之某些具有MMP受質的可活化之抗體之性質的概述。比較表4中呈現之來自實施例3之指明的測試物品的活體內穩定性。這些示例性結果表明該MMP受質4001顯示出期望之性質，包括可被MMP9和MMP14切割之可切割性。某些受質亦顯示出較其他參考MMP受質(1001和1004)更高之相對穩定性。

【0493】這些示例性結果亦顯示一組其中該體內非腫瘤和/或腫瘤內穩定性小於30%活化之受質。這些示例性結果亦顯示一組其中該體內非腫瘤和/或腫瘤內穩定性在20%至30%活化之間的受質。這些示例性結果亦顯示一組其中該體內非腫瘤和/或腫瘤內穩定性在22%至27%活化之間的受質。於一些實施態樣中，該受質可包括經分離之多肽，該經分離之多肽包括ALAHGLF(SEQ ID NO：1)、RGPKLYW (SEQ ID NO：6)或RFPYGVW(SEQ ID NO：7)之胺基酸序列。

表 6. MMP受質特徵之總結

受質	受質 序列	受質 SEQ ID NO	體內 穩定性 (非腫 瘤)	體內 穩定性 (腫瘤內)
2001	ISSGLLSGRSDNH	23	30%	未測試
4001-LL	ALAHGLF	1	22%	27%
4001-SL	ALAHGLF	1	27%	25%
4007-SL	RFPYGVW	7	N/A	22%
4006-LL	RGPKLYW	6	23%	26%
4008-SL	HVPRQV	8	18%	14%
1005-LL	GPSHLVLT	19	11%	16%
1001-LL	ISSGLLSS	17	20%	20%
1004-LL	AVGLLAPP	18	未測定	37%

實施例 7：可活化之抗體和串聯之可切割的受質

【0494】 本文提供之研究描述本揭示內容之示例性串聯受質，該串聯受質包括至少一種本揭示內容之可被基質金屬蛋白酶(MMP)切割的受質和至少一種可被絲胺酸蛋白酶切割之受質。

【0495】 構建示例性之可活化抗體，使得每一可活化之抗體包括表 7 中所列之串聯受質的其中一者。本揭示內容之示例性可活化之抗體(其序列列於表 7 中)包括與表皮生長因子受體(EGFR)特異結合之基於小鼠/人嵌合單株抗體的抗體或其抗原結合片段(AB)。示例性可活化之抗體亦

包括與 AB 之輕鏈的 N-端偶聯的前結構域。各前結構域包括掩蔽部分 (MM) 和可切割部分 (CM)，且該 CM 包括至少一個表 7 中之串聯受質序列。

表 7：串聯之 MMP/絲胺酸蛋白酶受質

名稱	序列	SEQ ID NO:
5001	LSGRSALAHGLF	25
5002	ALAHGLFSGRSAN	26
5003	HVPRQVLSGRS	27
5004	HVPRQVLSGRSAN	28
5005	TARGPALAHGLF	29
5006	TARGPVPRQV	30
5007	APRSALAHGLF	31
5008	ALAHGLFAPRSF	32
5009	HVPRQVAPRSF	33
5010	ALAHGLPTFVHL	34
5011	GLPTFVHLPRQV	35
5012	AANALAHGLF	36
5013	GPTNALAHGLF	37
5014	ISSGLLSGRSNI	38
5015	AVGLLAPPGGLSGRSNI	39
5016	ISSGLLSGRSNIGS	40
5017	AVGLLAPPGGLSGRSNIGS	41
5018	ISSGLLSGRSNIG	42
5019	AVGLLAPPGGLSGRSNIG	43

表 7：可活化之抗體序列

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-5001) 輕鏈 (胺基酸序列) (SEQ ID NO：450)

QQQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGSLSGRSALAHGLFGGGSQILLTQSPVILSVSPGERV
SFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDI
ADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ
WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-5002)輕鏈(胺基酸序列)(SEQ ID NO：451)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSALAHGLFSGRSANGGGSQILLTQSPVILSVSPGER
VSFSCRASQSIGTNIHWYQQR TNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESED
IADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-5003)輕鏈(胺基酸序列)(SEQ ID NO：452)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSQILLTQSPVILSVSPGERVS
FSCRASQSIGTNIHWYQQR TNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVEEDIA
DYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-5004)輕鏈(胺基酸序列)(SEQ ID NO：453)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSQILLTQSPVILSVSPGER
VSFSCRASQSIGTNIHWYQQR TNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESED
IADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-5005)輕鏈(胺基酸序列)(SEQ ID NO：454)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSTARGPALAHGLFGGGSQILLTQSPVILSVSPGERV
SFSCRASQSIGTNIHWYQQRRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDI
ADYYCQQNNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ
WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
R
GEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-5006) 輕鏈 (胺基酸序
列)(SEQ ID NO : 455)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSTARGPVPRQVGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSF
SCRASQSIGTNIHWYQQRRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIAD
YYCQQNNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK
VDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
R
GEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-5007) 輕鏈 (胺基酸序
列)(SEQ ID NO : 456)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSSAPRSALAHGLFGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVS
FSCRASQSIGTNIHWYQQRRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDI
ADYYCQQNNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
R
GEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-5008) 輕鏈 (胺基酸序
列)(SEQ ID NO : 457)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSSALAHGLFAPRSFGGGSQILLTQSPVILSVSPGERV
SFSCRASQSIGTNIHWYQQRRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDI
ADYYCQQNNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ
WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
R
GEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-5009)輕鏈(胺基酸序列)(SEQ ID NO：458)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSHVPRQVAPRSFGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVS
FSCRASQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESE
DIA
DYCYCQNNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
PREAKVQW
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPV
TKSFNR
EC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-5010)輕鏈(胺基酸序列)(SEQ ID NO：459)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSSALAHGLPTFVHLGGGSQILLTQSPVILSVSPGERV
SFSCRASQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESE
DI
ADYYCQNNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
PREAKVQ
WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPV
TKSFNR
GEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-5011)輕鏈(胺基酸序列)(SEQ ID NO：460)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSGLPFVHLPRQVGGGSQILLTQSPVILSVSPGERV
SFSCRASQSIGTNIHWYQORTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESE
DI
ADYYCQNNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
PREAKVQ
WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPV
TKSFNR
GEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-5012)輕鏈(胺基酸序列)(SEQ ID NO：461)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSAANALAHGLFGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSF
SCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIAD
YYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK
VDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE
C

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-5013)輕鏈(胺基酸序
列)(SEQ ID NO：462)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSGPTNALAHGLFGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVS
FSCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIA
DYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW
KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-2001)輕鏈(胺基酸序
列)(SEQ ID NO：488)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGSSGTQILLTQSPVILSVSPGE
RVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESE
DIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK
VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF
NRGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-2001TT)輕鏈(胺基酸
序列)(SEQ ID NO：489)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSQILLTQSPVILSVSPGER
VSFSCRASQSIGTNIHWYQQRNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESED
IADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC

抗 EGFR 可活化之抗體 (c225v5-3954-3001)輕鏈(胺基酸序列)(SEQ ID NO：490)

QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGS AVGLLAPPGGLSGRSDNHGGGSQILLTQSPVILSV
SPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQR TNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDF TLSINS
VESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP
REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPV
TKSFNRGEC

實施例 8：具有串聯之受質之可活化抗體的玻管內穩定性

【0496】 本文提供之研究評估本揭示內容之含有示例性串聯受質之可活化抗體的玻管內穩定性，該可活化抗體包括至少一種可被基質金屬蛋白酶(MMP)切割之受質和至少一種可被絲胺酸蛋白酶切割的受質。

【0497】 在所指明之重組蛋白酶(間質蛋白酶、豆莢蛋白酶、中性白血球彈性蛋白酶、MMP2、MMP9和MMP14)之存在下測量本揭示內容之可活化抗體的穩定性。將每一可活化之抗體(250 nM/38.5 μg/mL)與10 mM所指明之蛋白酶在37℃下一起培育24小時，然後藉由毛細管電泳測量被各蛋白酶切割之可活化抗體的級分。使用A110UK山羊抗人IgG抗體(美國Qualex)和抗山羊二級抗體(Jackson ImmunoResearch)，利用WES西方點墨方案(Protein Simple)分析該樣品。藉由定量該對應於已切割之可活化抗體的具有較高遷移率之多肽的級分來測定該經切割之可活化抗體的級分。該玻管內研究之示例性結果總結於表8A中。

【0498】另外，使用該指明之蛋白酶來進行測定本揭示內容之指明受質的可切割性動力學(即， $K_{cat}/K_m(M^{-1}s^{-1})$)之示例性研究。該玻管內研究之示例性結果總結於表8A中。

【0499】這些示例性結果表明使用該指明之蛋白酶時本揭示內容之受質之可切割性範圍。

【0500】這些示例性結果表明使用間質蛋白酶、MMP9、MMP14、豆莢蛋白酶和/或嗜中性粒細胞彈性蛋白酶時本揭示內容之串聯受質之可切割性的範圍。這些示例性結果亦顯示一組其中MMP9和MMP14可切割性均為至少30%之受質。於一些實施態樣中，該受質可包括經分離之多肽，該經分離之多肽包括LSGRSALAHGLF (SEQ ID NO：25)、ALAHGLFSGRSAN(SEQ ID NO：26)、TARGAPALAHGLF(SEQ ID NO：29)、APRSALAHGLF (SEQ ID NO：31)、ALAHGLFAPRSF(SEQ ID NO：32)、AANALAHGLF (SEQ ID NO：36)或GPTNALAHGLF(SEQ ID NO：37)之胺基酸序列。

【0501】該示例性結果亦顯示一組其中MMP9和MMP14可切割性均為至少50%之受質。於一些實施態樣中，該受質可包括經分離之多肽，該經分離之多肽包括LSGRSALAHGLF (SEQ ID NO：25)、APRSALAHGLF(SEQ ID NO：31)、ALAHGLFAPRSF(SEQ ID NO：32)、AANALAHGLF(SEQ ID NO：36)或GPTNALAHGLF(SEQ ID NO：37)的胺基酸序列。

【 0502 】 該 示 例 性 結 果 亦 顯 示 一 組 其 中 MMP9 和 MMP14 可 切 割 性 均 為 至 少 70% 之 受 質 。 於 一 些 實 施 態 樣 中 ， 該 受 質 可 包 括 經 分 離 之 多 肽 ， 該 經 分 離 之 多 肽 包 括 LSGRSALAHGLF (SEQ ID NO： 25) 或 APRSALAHGLF (SEQ ID NO： 31) 之 胺 基 酸 序 列 。

【 0503 】 該 示 例 性 結 果 亦 顯 示 一 組 其 中 MMP9 和 MMP14 可 切 割 性 均 為 至 少 15% 且 間 質 蛋 白 酶 可 切 割 性 為 至 少 50% 之 受 質 。 於 一 些 實 施 態 樣 中 ， 該 受 質 可 包 括 經 分 離 之 多 肽 ， 該 經 分 離 之 多 肽 包 括 LSGRSALAHGLF (SEQ ID NO： 25) 、 ALAHGLFSGRSAN (SEQ ID NO： 26) 、 HVPRQVLSGRS (SEQ ID NO： 27) 、 HVPRQVLSGRSAN (SEQ ID NO： 28) 、 APRSALAHGLF (SEQ ID NO： 31) 或 ALAHGLFAPRSF (SEQ ID NO： 32) 之 胺 基 酸 序 列 。

【 0504 】 該 示 例 性 結 果 亦 顯 示 一 組 其 中 MMP9 和 MMP14 可 切 割 性 均 為 至 少 15% 且 該 嗜 中 性 粒 細 胞 彈 性 蛋 白 酶 可 切 割 性 為 至 少 30% 之 受 質 。 於 一 些 實 施 態 樣 中 ， 該 受 質 可 包 括 經 分 離 之 多 肽 ， 該 經 分 離 之 多 肽 包 括 LSGRSALAHGLF (SEQ ID NO： 25) 、 ALAHGLFSGRSAN (SEQ ID NO： 26) 、 HVPRQVLSGRS (SEQ ID NO： 27) 、 HVPRQVLSGRSAN (SEQ ID NO： 28) 、 TARP GPALAHGLF (SEQ ID NO： 29) 、 APRSALAHGLF (SEQ ID NO： 31) 、 ALAHGLFAPRSF (SEQ ID NO： 32) 、 AANALAHGFLF (SEQ ID NO： 36) 或 GPTNALAHGLF (SEQ ID NO： 37) 之 胺 基 酸 序 列 。

【 0505 】 該 示 例 性 結 果 亦 顯 示 一 組 其 中 MMP9 和 MMP14 可 切 割 性 均 為 至 少 30% 且 該 嗜 中 性 粒 細 胞 彈 性 蛋 白 酶 可 切 割 性 為 至 少 30% 之 受 質 。 於 一 些 實 施 態 樣 中 ， 該 受 質 可 包 括 經 分 離 之 多 肽 ， 該 經 分 離 之 多 肽 包 括 LSGRSALAHGLF (SEQ ID NO : 25)、 ALAHGLFSGRSAN (SEQ ID NO : 26)、 TARGPALAHGLF(SEQ ID NO : 29)、 APRSALAHGLF (SEQ ID NO : 31)、 ALAHGLFAPRSF(SEQ ID NO : 32)、 AANALAHGLF(SEQ ID NO : 36) 或 GPTNALAHGLF (SEQ ID NO : 37)之胺基酸序列。

【 0506 】 該 示 例 性 結 果 亦 顯 示 一 組 其 中 MMP9 和 MMP14 可 切 割 性 均 為 至 少 50% 且 該 嗜 中 性 粒 細 胞 彈 性 蛋 白 酶 可 切 割 性 為 至 少 50% 之 受 質 。 於 一 些 實 施 態 樣 中 ， 該 受 質 可 包 括 經 分 離 之 多 肽 ， 該 經 分 離 之 多 肽 包 括 LSGRSALAHGLF (SEQ ID NO : 25)、 APRSALAHGLF(SEQ ID NO : 31)、 ALAHGLFAPRSF(SEQ ID NO : 32)、 AANALAHGLF(SEQ ID NO : 36)或 GPTNALAHGLF(SEQ ID NO : 37)的胺基酸序列。

【 0507 】 該 示 例 性 結 果 亦 顯 示 一 組 其 中 MMP9 和 MMP14 可 切 割 性 均 為 至 少 70% 且 該 嗜 中 性 粒 細 胞 彈 性 蛋 白 酶 可 切 割 性 為 至 少 70% 之 受 質 。 於 一 些 實 施 態 樣 中 ， 該 受 質 可 包 括 經 分 離 之 多 肽 ， 該 經 分 離 之 多 肽 包 括 LSGRSALAHGLF (SEQ ID NO : 25)或 APRSALAHGLF(SEQ ID NO : 31)之胺基酸序列。

表 8A：具有串聯受質之可活化抗體的玻管內活化

可活化之 抗體的 受質	受質 (SEQ ID NO)	可切割性 (%)				
		間質 蛋白酶	MMP14	MMP9	豆莢 蛋白酶	嗜中性粒細胞 彈性蛋白酶
2001	ISSGLSGRSDNH (23)	53	58	22	5	18
3001	AVGLLAPPGGLSGRSDNH (24)	NT	NT	NT	0	52
4001	ALAHGLF (1)	0	77	100	0	37
4008	HVPRQV (8)	40	6	100	0	28
5001	LSGRSALAHGLF (25)	100	76	76	0	88
5002	ALAHGLFSGRSAN (26)	100	58	37	21	67
5003	HVPRQVLSGRS (27)	99	20	100	0	77
5004	HVPRQVLSGRSAN (28)	75	19	86	27	84
5005	TARGPALAHGLF (29)	6	34	72	0	81
5006	TARGPVPRQV (30)	100	6	81	0	30
5007	APRSALAHGLF (31)	100	90	77	0	74
5008	ALAHGLFAPRSF (32)	98	55	100	0	66
5009	HVPRQVAPRSF (33)	100	9	78	0	31
5010	ALAHGLPTFVHL (34)	0	11	0	0	100
5011	GLPTFVHLPRQV (35)	80	7	55	0	100
5012	AANALAHGLF (36)	0	72	52	7	55
5013	GPTNALAHGLF (37)	0	78	62	9	56

NT = 未測試

表 8B：具有串聯受質之可活化抗體的玻管內活化

可活化之 抗體的 受質	受質 (SEQ ID NO)	Kcat / Km (M ⁻¹ s ⁻¹)				
		間質 蛋白酶	MMP14	MMP9	MMP2	嗜中性粒細胞 彈性蛋白酶
2001	ISSGLSGRSDNH (23)	2.55 E+03	6.33 E+03	3.94 E+02	1.32 E+04	3.17 E+03
3001	AVGLLAPPGGLSGRSDNH (24)	5.35 E+03	1.70 E+04	5.05 E+04	3.10 E+05	1.91 E+04
4001	ALAHGLF (1)	0.00 E+00	6.01 E+03	8.84 E+03	5.76 E+04	N/D
5007	APRSALAHGLF (31)	2.72 E+04	9.25 E+03	2.53 E+04	9.83 E+04	2.42 E+04
5013	GPTNALAHGLF (37)	0.00	7.77 E+03	1.04 E+04	7.65 E+04	N/D
4008	HVPRQV (8)	4.76 E+02	2.30 E+02	1.87 E+04	1.30 E+04	N/D
5006	TARGPVPRQV (30)	5.37 E+03	5.64 E+02	3.39 E+04	3.69 E+04	N/D
5011	GLPTFVHLPRQV (35)	1.43 E+03	4.44 E+02	4.18 E+03	3.38 E+03	6.65 E+05

N/D = 未測定

實施例 9：具有串聯受質之抗 EGFR 可活化抗體的體內效力

【0508】 本文提供之研究使用小鼠 H292(人肺癌細胞株)異種移植模型評估本揭示內容之包括基質金屬蛋白酶(MMP)受質和至少一種絲胺酸蛋白酶受質的可活化抗體之體內效力。

【0509】 在該研究中，令 H292 (源自人肺癌之細胞株) 皮下異種移植腫瘤在約 6 至 8 週齡之雌性 nu/nu 小鼠中生長至平均體積 180 至 260 mm³。該 H292 細胞株對抗 EGFR 抗體西妥昔單抗有反應。然後將小鼠隨機分成每組各 7 隻小鼠且在第 1 天經由腹膜內途徑投予每組 12.5 mg/kg 之指明的測試物品。如第 6 圖所示，在投予測試物品後繪製每個時間點之平均腫瘤體積 ± SEM。使用具有指明受質之可活化之

抗體或西妥昔單抗或免疫球蛋白(IVIG)對照組治療每隻小鼠。該效力係使用具有已知受質，例如 2001(ISSGLLSGRSDNH) 和 3001(AVGLLAPPGGLSGRSDNH) 之可活化抗體測定。

【0510】除了活體內穩定性分析外，依第7圖所示使用該指明之可活化抗體進行腫瘤內分析。給藥後4天從小鼠收集腫瘤和血漿。該腫瘤組織係使用含有HALT蛋白酶抑制劑混合物(Thermo Fisher)和EDTA之免疫沉澱緩衝液(Pierce)溶解及使用Barocycler(Pressure Bioscience)溶解。使用A110UK山羊抗人IgG抗體(美國Qualex)和抗山羊二級抗體(Jackson ImmunoResearch)，利用WES西方點墨方案(Protein Simple)分析該樣品。藉由定量該相對於已切割之可活化抗體而言具有較高遷移率之多肽的級分來測定經切割之可活化抗體的級分。這些示例性分析的結果總結於第7圖中。

【0511】如第6圖所示，某些本揭示內容之具有串聯之MMP和絲胺酸蛋白酶受質之可活化抗體顯示出與西妥昔單抗(其缺乏前結構域)相當之體內效力。

實施例 10：具有串聯之受質的可活化之抗體的掩蔽效力

【0512】本文提供之研究評估本揭示內容之可活化抗體的玻管內掩蔽效力，該可活化之抗體包括串聯之基質金屬蛋白酶(MMP)和絲胺酸蛋白酶受質。

【0513】於該研究中，使用固相結合分析(ELISA)來

證明本揭示內容之包括MMP受質的抗EGFR可活化之抗體與重組EGFR的結合親和力。測量本揭示內容之具有指明之受質的可活化抗體與EGFR的結合親和力並將其與c225v5親本抗體相比較。該示例性結果之摘要顯示於表9和第8圖中。

【0514】該示例性結果表明該串聯之受質藉由增加該可活化之抗體中的掩蔽部分之表觀掩蔽效力來產生效果。

表9. 可活化之抗體的玻管內結合活性和掩蔽效力

測試品	K _{Da} in nM (Std. Err)	掩蔽效率
C225v5 親本抗體	0.1585 (0.01978)	1
C225v5-3954-2001	5.062 (0.8141)	32
C225v5-3954-3001	9.095 (1.598)	57
C225v5-3954-4008	32.11 (6.39)	203
C225v5-3954-5007	26.61 (3.946)	168
C225v5-3954-5006	19.08 (3.15)	120
C225v5-3954-5013	29.85 (4.287)	188
C225v5-3954-5010	34.26 (4.212)	216
C225v5-3954-5011	29.03 (2.524)	183
C225v5-3954-5001	17.13 (2.538)	108

實施例11：具有串聯之受質之可活化抗體之活體內穩定性

【0515】本文提供之研究評估本揭示內容之含有示例性串聯之受質的可活化抗體之活體內穩定性，該可活化之抗體包括至少一種可被基質金屬蛋白酶(MMP)切割之受質和至少一種可被絲胺酸和/或半胱胺酸蛋白酶切割之受質。

【0516】這些示例性研究測量本揭示內容之包含MMP受質的可活化之抗體之穩定性，該研究係藉由對小鼠投予一定劑量之可活化之抗體，然後利用西方點墨測量所觀察

到之血漿中經切割的可活化抗體之級分來進行。將該穩定性與其他已知之具有受質，例如包括至少一種MMP受質和至少絲胺酸蛋白酶受質之2001(ISSGLLSGRSDNH)和3001(AVGLLAPPGGLSGRSDNH)的可活化抗體相比較。

【0517】在本研究中，經由腹膜內途徑對約7至8週齡之nu/nu小鼠投予劑量為12.5 mg/kg之指明的測試物品。投予後7天後，藉由心臟穿刺收集末梢血並在收集後1小時內處理成血漿。將收集之樣品在磷酸鹽緩衝之生理鹽水溶液中稀釋1：100和變性，並使用A110UK山羊抗人IgG抗體(美國Qualex)和抗山羊二級抗體(Jackson ImmunoResearch)，利用WES西方點墨方案(Protein Simple)進行分析。藉由定量該相對於已切割之可活化抗體而言具有較高遷移率之多肽的級分來測定經切割之可活化抗體的級分。這些示例性分析的結果總結於表10中。

【0518】這些示例性結果表明某些本揭示內容之包括串聯之受質的可活化抗體顯示出較同時具有絲胺酸蛋白酶受質和MMP受質之可活化之抗體具有更高的活體內穩定性。

表 10：具有串聯之受質之可活化抗體在體內的穩定性

可活化之抗體	受質	受質 SEQ ID NO	%經切割的
c225v5-3954-2001	ISSGLLSGRSDNH	23	36% (DNP)
c225v5-3954-4001	ALAHGLF	1	27%
c225v5-3954-4008	HVPRQV	8	18%
c225v5-3954-5001	LSGRSALAHGLF	25	54%
c225v5-3954-5002	ALAHGLFSGRSAN	26	70%
c225v5-3954-5003	HVPRQVLSGRS	27	55%
c225v5-3954-5004	HVPRQVLSGRSAN	28	65%
c225v5-3954-5005	TARGPALAHGLF	29	40%
c225v5-3954-5006	TARGPVPRQV	30	36%
c225v5-3954-5007	APRSALAHGLF	31	37%
c225v5-3954-5008	ALAHGLFAPRSF	32	70%
c225v5-3954-5009	HVPRQVAPRSF	33	55%
c225v5-3954-5010	ALAHGLPTFVHL	34	12%
c225v5-3954-5011	GLPTFVHLPRQV	35	21%
c225v5-3954-5012	AANALAHGLF	36	24%
c225v5-3954-5013	GPTNALAHGLF	37	21%

實施例 12：抗 EGFR 可活化之抗體在體內腫瘤組織中活化

【0519】 本文提供之研究藉由人腫瘤溶解物在玻管內評估本揭示內容之包括串聯受質的可活化抗體之活化。

【0520】 在這些研究中，將人腫瘤組織(頭頸癌或胰腺癌)與具有如第 9 圖中所指明之受質的抗 EGFR 可活化之抗體一起培育。該示例性結果表明具有 5007 受質 (APRSALAHGLF；SEQ ID NO：31)之可活化之抗體顯示出較具有串聯之受質 2001(ISSGLLSGRSDNH；SEQ ID NO：23)或 3001(AVGLLAPPGGLSGRSDNH；SEQ ID NO：24)的可活化抗體更高的活化水準。

【0521】 於進一步之研究中，以選自加拉丁(galardin)、EDTA、抑肽酶(aprotinin)或西樂司他(sivelestat)之分類特異性蛋白酶抑制劑，使用頭頸腫瘤組織或胰腺腫瘤組織

進行本發明之具有5007串聯之受質(APRSALAHGLF；SEQ ID NO：31)的可活化抗體之類似活化研究。該研究表明抑肽酶(其為廣譜絲胺酸蛋白酶抑制劑)可將活化之量降低至 $\leq 5\%$ 。相比之下，使用其他三種抑制劑之治療顯示出與非抑制劑對照研究相當之活化水準。這些示例性結果表明該活化不受MMP(加拉丁，EDTA)或嗜中性粒細胞彈性蛋白酶(西樂司他)抑制劑之抑制。

其他實施態樣

【0522】雖然本發明已結合其詳細說明描述，但前文之描述旨在說明，而非限制本揭示內容之範圍，本揭示內容之範圍係由所附之申請專利範圍限定。其他態樣、優點和修改係在下列範圍內。

【序列表】

<110> 美商 CYTOMX 生物製藥公司(CYTOMX THERAPEUTICS, INC.)

<120> 基質金屬蛋白酶可切割且絲胺酸蛋白酶或半胱胺酸蛋白酶可切割之受質和彼之使用方法

<140> TW 108144775

<141> 2019-12-06

<150> US 62/776,409

<151> 2018-12-06

<150> US 62/778,062

<151> 2018-12-11

<160> 490

<170> PatentIn 3.5 版

<210> 1

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的

<400> 1

Ala Leu Ala His Gly Leu Phe
1 5

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 2

Asp Leu Ala His Pro Leu Leu
1 5

<210> 3

<211> 6

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 3

Ala Phe Arg His Leu Arg
1 5

<210> 4
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 4

Pro His Gly Phe Phe Gln
1 5

<210> 5
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 5

Ser Val His His Leu Ile
1 5

<210> 6
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 6

Arg Gly Pro Lys Leu Tyr Trp
1 5

<210> 7
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 7

Arg Phe Pro Tyr Gly Val Trp
1 5

<210> 8
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 8

His Val Pro Arg Gln Val
1 5

<210> 9
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 9

Ser Asn Pro Phe Lys Tyr
1 5

<210> 10
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 10

Arg Phe Pro Leu Lys Val
1 5

<210> 11
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 11

Pro Phe His Leu Ser Arg
1 5

<210> 12
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 12

Ser Thr Val Phe His Met
1 5

<210> 13
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 13

Met Gly Pro Trp Phe Met
1 5

<210> 14
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 14

Arg His Leu Ala Lys Leu
1 5

<210> 15
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 15

Pro Leu Gly Val Arg Gly Lys
1 5

<210> 16
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 16

Gln Asn Gln Ala Leu Arg Ile Ala
1 5

<210> 17
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 17

Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Ser
1 5

<210> 18
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 18

Ala Val Gly Leu Leu Ala Pro Pro
1 5

<210> 19
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 19

Gly Pro Ser His Leu Val Leu Thr
1 5

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 20

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His
1 5

<210> 21
<211> 13
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 21

Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn Pro
1 5 10

<210> 22
<211> 18
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 22

Ala Val Gly Leu Leu Ala Pro Pro Gly Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asp
1 5 10 15

Asn Pro

<210> 23
<211> 13
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 23

Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His
1 5 10

<210> 24
<211> 18
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 24

Ala Val Gly Leu Leu Ala Pro Pro Gly Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asp
1 5 10 15

Asn His

<210> 25
<211> 12
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 25

Leu Ser Gly Arg Ser Ala Leu Ala His Gly Leu Phe
1 5 10

<210> 26
<211> 13
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 26

Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Ser Gly Arg Ser Ala Asn
1 5 10

<210> 27
<211> 11
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 27

His Val Pro Arg Gln Val Leu Ser Gly Arg Ser
1 5 10

<210> 28
<211> 13
<212> PRT

<213> 合成的

<400> 28

His Val Pro Arg Gln Val Leu Ser Gly Arg Ser Ala Asn
1 5 10

<210> 29

<211> 12

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 29

Thr Ala Arg Gly Pro Ala Leu Ala His Gly Leu Phe
1 5 10

<210> 30

<211> 10

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 30

Thr Ala Arg Gly Pro Val Pro Arg Gln Val
1 5 10

<210> 31

<211> 11

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 31

Ala Pro Arg Ser Ala Leu Ala His Gly Leu Phe
1 5 10

<210> 32

<211> 12

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 32

Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Ala Pro Arg Ser Phe
1 5 10

<210> 33

<211> 11

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 33

His Val Pro Arg Gln Val Ala Pro Arg Ser Phe
1 5 10

<210> 34

<211> 12

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 34

Ala Leu Ala His Gly Leu Pro Thr Phe Val His Leu
1 5 10

<210> 35

<211> 12

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 35

Gly Leu Pro Thr Phe Val His Leu Pro Arg Gln Val
1 5 10

<210> 36

<211> 10

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 36

Ala Ala Asn Ala Leu Ala His Gly Leu Phe
1 5 10

<210> 37

<211> 11

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 37

Gly Pro Thr Asn Ala Leu Ala His Gly Leu Phe
1 5 10

<210> 38

<211> 12

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 38

Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ile
1 5 10

<210> 39

<211> 17

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 39

Ala Val Gly Leu Leu Ala Pro Pro Gly Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asn
1 5 10 15

Ile

<210> 40

<211> 14

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 40

Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser
1 5 10

<210> 41

<211> 19

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 41

Ala Val Gly Leu Leu Ala Pro Pro Gly Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asn
1 5 10 15

Ile Gly Ser

<210> 42

<211> 13

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 42

Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ile Gly
1 5 10

<210> 43
<211> 18
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 43

Ala Val Gly Leu Leu Ala Pro Pro Gly Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asn
1 5 10 15

Ile Gly

<210> 44

<400> 44
000

<210> 45

<400> 45
000

<210> 46

<400> 46
000

<210> 47

<400> 47
000

<210> 48

<400> 48
000

<210> 49

<400> 49
000

<210> 50
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 50

Leu Ala His Gly Leu Phe
1 5

<210> 51
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 51

Ala His Gly Leu Phe
1 5

<210> 52
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 52

Ala Leu Ala His Gly Leu
1 5

<210> 53
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 53

Leu Ala His Gly Leu
1 5

<210> 54
<211> 4
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 54

Ala His Gly Leu
1

<210> 55
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 55

Ala Leu Ala His Gly
1 5

<210> 56

<211> 4

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 56

Leu Ala His Gly
1

<210> 57

<400> 57
000

<210> 58

<400> 58
000

<210> 59

<400> 59
000

<210> 60

<211> 5

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 60

Val Pro Arg Gln Val
1 5

<210> 61

<211> 4

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 61

Pro Arg Gln Val
1

<210> 62

<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 62

His Val Pro Arg Gln
1 5

<210> 63
<211> 4
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 63

Val Pro Arg Gln
1

<210> 64

<400> 64
000

<210> 65

<400> 65
000

<210> 66

<400> 66
000

<210> 67

<400> 67
000

<210> 68

<400> 68
000

<210> 69

<400> 69
000

<210> 70
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 70

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn
1 5

<210> 71
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 71

Leu Ser Gly Arg Ser Asp
1 5

<210> 72
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 72

Leu Ser Gly Arg Ser
1 5

<210> 73
<211> 4
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 73

Leu Ser Gly Arg
1

<210> 74
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 74

Ser Gly Arg Ser Asp Asn
1 5

<210> 75
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 75

Ser Gly Arg Ser Asp
1 5

<210> 76

<211> 4

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 76

Ser Gly Arg Ser
1

<210> 77

<400> 77

000

<210> 78

<211> 8

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 78

Leu Ser Gly Arg Ser Gly Asn His
1 5

<210> 79

<211> 7

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 79

Leu Ser Gly Arg Ser Gly Asn
1 5

<210> 80

<211> 6

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 80

Leu Ser Gly Arg Ser Gly
1 5

<210> 81
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 81

Ser Gly Arg Ser Gly Asn His
1 5

<210> 82
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 82

Ser Gly Arg Ser Gly Asn
1 5

<210> 83
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 83

Ser Gly Arg Ser Gly
1 5

<210> 84
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 84

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn Ile
1 5

<210> 85
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 85

Ser Gly Arg Ser Asp Asn Ile
1 5

<210> 86
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 86

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Tyr His
1 5

<210> 87
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 87

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Tyr
1 5

<210> 88
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 88

Ser Gly Arg Ser Asp Tyr His
1 5

<210> 89
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 89

Ser Gly Arg Ser Asp Tyr
1 5

<210> 90
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 90

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn Pro
1 5

<210> 91
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 91

Ser Gly Arg Ser Asp Asn Pro
1 5

<210> 92
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 92

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Thr His
1 5

<210> 93
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 93

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Thr
1 5

<210> 94
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 94

Ser Gly Arg Ser Asp Thr His
1 5

<210> 95
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 95

Ser Gly Arg Ser Asp Thr
1 5

<210> 96
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 96

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Gln His
1 5

<210> 97
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 97

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Gln
1 5

<210> 98
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 98

Ser Gly Arg Ser Asp Gln His
1 5

<210> 99
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 99

Ser Gly Arg Ser Asp Gln
1 5

<210> 100
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 100

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Ile His
1 5

<210> 101
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 101

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Ile
1 5

<210> 102
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 102

Ser Gly Arg Ser Asp Ile His
1 5

<210> 103
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 103

Ser Gly Arg Ser Asp Ile
1 5

<210> 104
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 104

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asp His
1 5

<210> 105
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 105

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asp
1 5

<210> 106
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 106

Ser Gly Arg Ser Asp Asp His
1 5

<210> 107
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 107

Ser Gly Arg Ser Asp Asp
1 5

<210> 108
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 108

Leu Ser Gly Arg Ser Ala Asn Ile
1 5

<210> 109
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 109

Leu Ser Gly Arg Ser Ala Asn
1 5

<210> 110
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 110

Leu Ser Gly Arg Ser Ala
1 5

<210> 111
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 111

Ser Gly Arg Ser Ala Asn Ile
1 5

<210> 112
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 112

Ser Gly Arg Ser Ala Asn
1 5

<210> 113
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 113

Ser Gly Arg Ser Ala
1 5

<210> 114
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 114

Leu Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro
1 5

<210> 115
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 115

Ser Gly Arg Ser Ala Asn Pro
1 5

<210> 116

<400> 116
000

<210> 117

<400> 117
000

<210> 118

<400> 118
000

<210> 119

<400> 119
000

<210> 120
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 120

Thr Ala Arg Gly Pro Ser Phe Lys
1 5

<210> 121
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 121

Ala Arg Gly Pro Ser Phe Lys
1 5

<210> 122
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 122

Thr Ala Arg Gly Pro Ser Phe
1 5

<210> 123

<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 123

Thr Ala Arg Gly Pro Ser
1 5

<210> 124
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 124

Thr Ala Arg Gly Pro
1 5

<210> 125
<211> 4
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 125

Thr Ala Arg Gly
1

<210> 126
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 126

Ala Arg Gly Pro Ser Phe
1 5

<210> 127
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 127

Ala Arg Gly Pro Ser
1 5

<210> 128

<211> 4
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 128

Ala Arg Gly Pro
1

<210> 129

<400> 129
000

<210> 130
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 130

Ala Pro Arg Ser Phe
1 5

<210> 131
<211> 4
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 131

Ala Pro Arg Ser
1

<210> 132
<211> 4
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 132

Pro Arg Ser Phe
1

<210> 133

<400> 133
000

<210> 134

<400> 134
000

<210> 135
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 135

Gly Leu Pro Thr Phe Val His Leu
1 5

<210> 136
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 136

Gly Leu Pro Thr Phe Val His
1 5

<210> 137
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 137

Gly Leu Pro Thr Phe Val
1 5

<210> 138
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 138

Leu Pro Thr Phe Val His Leu
1 5

<210> 139
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 139

Leu Pro Thr Phe Val His

1 5

<210> 140
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 140

Leu Pro Thr Phe Val
1 5

<210> 141
<211> 4
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 141

Thr Phe Val His
1

<210> 142

<400> 142
000

<210> 143

<400> 143
000

<210> 144

<400> 144
000

<210> 145

<400> 145
000

<210> 146

<400> 146
000

<210> 147

<400> 147
000

<210> 148

<400> 148
000

<210> 149

<400> 149
000

<210> 150

<400> 150
000

<210> 151

<400> 151
000

<210> 152
<211> 4
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 152

Gly Pro Thr Asn
1

<210> 153
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 153

Gln Gly Gln Ser Gly Gln
1 5

<210> 154
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 154

Gly Gln Ser Gly Gln
1 5

<210> 155
<211> 4

<212> PRT
<213> 合成的

<400> 155

Gln Ser Gly Gln
1

<210> 156

<400> 156
000

<210> 157

<400> 157
000

<210> 158

<400> 158
000

<210> 159

<400> 159
000

<210> 160

<400> 160
000

<210> 161

<400> 161
000

<210> 162

<400> 162
000

<210> 163

<400> 163
000

<210> 164

<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 164

Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Asn Ala Val Ser Gly Leu Gly Ser
1 5 10 15

<210> 165
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 165

Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5

<210> 166
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 166

Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys
1 5

<210> 167
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 167

Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Gly
1 5

<210> 168
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 168

Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly Pro Tyr Val Met Tyr
1 5 10 15

<210> 169
<211> 14
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 169

Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly Pro Tyr Val Met
1 5 10

<210> 170
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 170

Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Glu Pro Gly Thr Tyr Val Pro Thr
1 5 10 15

<210> 171
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 171

Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Gly Gln Ile Trp His Pro Pro
1 5 10 15

<210> 172
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 172

Gly Ser His Cys Leu Ile Pro Ile Asn Met Gly Ala Pro Ser Cys
1 5 10 15

<210> 173
<211> 32
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 173

Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Gly Gly Ser Ser Ala Ser Gln Ser Gly
1 5 10 15

Gln Gly Ser His Cys Leu Ile Pro Ile Asn Met Gly Ala Pro Ser Cys
20 25 30

<210> 174
<211> 19

<212> PRT
<213> 合成的

<400> 174

Cys Asn His His Tyr Phe Tyr Thr Cys Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Pro Gly

<210> 175
<211> 19
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 175

Ala Asp His Val Phe Trp Gly Ser Tyr Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Pro Gly

<210> 176
<211> 19
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 176

Cys His His Val Tyr Trp Gly His Cys Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Pro Gly

<210> 177
<211> 19
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 177

Cys Pro His Phe Thr Thr Thr Ser Cys Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Pro Gly

<210> 178
<211> 19
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 178

Cys Asn His His Tyr His Tyr Tyr Cys Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Pro Gly

<210> 179
<211> 19
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 179

Cys Pro His Val Ser Phe Gly Ser Cys Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Pro Gly

<210> 180
<211> 19
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 180

Cys Pro Tyr Tyr Thr Leu Ser Tyr Cys Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Pro Gly

<210> 181
<211> 19
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 181

Cys Asn His Val Tyr Phe Gly Thr Cys Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Pro Gly

<210> 182
<211> 19
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 182

Cys Asn His Phe Thr Leu Thr Thr Cys Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Pro Gly

<210> 183
<211> 19
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 183

Cys His His Phe Thr Leu Thr Thr Cys Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Pro Gly

<210> 184
<211> 18
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 184

Tyr Asn Pro Cys Ala Thr Pro Met Cys Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys
1 5 10 15

Pro Gly

<210> 185
<211> 18

<212> PRT
<213> 合成的

<400> 185

Cys Asn His His Tyr Phe Tyr Thr Cys Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Gly

<210> 186
<211> 18
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 186

Cys Asn His His Tyr His Tyr Tyr Cys Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Gly

<210> 187
<211> 18
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 187

Cys Asn His Val Tyr Phe Gly Thr Cys Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Gly

<210> 188
<211> 18
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 188

Cys His His Val Tyr Trp Gly His Cys Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Gly

<210> 189
<211> 18
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 189

Cys	Pro	His	Phe	Thr	Thr	Thr	Ser	Cys	Gly	Cys	Ile	Ser	Pro	Arg	Gly
1				5					10					15	

Cys Gly

<210> 190
<211> 18
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 190

Cys	Asn	His	Phe	Thr	Leu	Thr	Thr	Cys	Gly	Cys	Ile	Ser	Pro	Arg	Gly
1				5					10					15	

Cys Gly

<210> 191
<211> 18
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 191

Cys	His	His	Phe	Thr	Leu	Thr	Thr	Cys	Gly	Cys	Ile	Ser	Pro	Arg	Gly
1				5					10					15	

Cys Gly

<210> 192
<211> 18
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 192

Cys Pro Tyr Tyr Thr Leu Ser Tyr Cys Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Gly

<210> 193
<211> 18
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 193

Cys Pro His Val Ser Phe Gly Ser Cys Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Gly

<210> 194
<211> 18
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 194

Ala Asp His Val Phe Trp Gly Ser Tyr Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Gly

<210> 195
<211> 17
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 195

Tyr Asn Pro Cys Ala Thr Pro Met Cys Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys
1 5 10 15

Gly

<210> 196
<211> 18

<212> PRT
<213> 合成的

<400> 196

Cys His His Val Tyr Trp Gly His Cys Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Gly

<210> 197
<211> 18
<212> PRT
<213> 合成的

<220>
<221> MISC_特性
<222> (2)..(2)
<223> Xaa=Asn 或 Pro

<220>
<221> MISC_特性
<222> (4)..(4)
<223> Xaa=His 或 Val 或 Phe

<220>
<221> MISC_特性
<222> (5)..(5)
<223> Xaa=Tyr 或 Thr

<220>
<221> MISC_特性
<222> (6)..(6)
<223> Xaa=Phe 或 Trp 或 Thr 或 Leu

<220>
<221> MISC_特性
<222> (7)..(7)
<223> Xaa=Tyr 或 Gly 或 Thr 或 Ser

<220>
<221> MISC_特性
<222> (8)..(8)
<223> Xaa=Thr 或 Ser 或 Tyr 或 His

<400> 197

Cys Xaa His Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Gly Cys Ile Ser Pro Arg Gly
1 5 10 15

Cys Gly

<210> 198
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 198

Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Gly Gln Pro Ile Pro Ser Val Lys
1 5 10 15

<210> 199
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 199

Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Thr Gln Pro Tyr His Val Ser Arg
1 5 10 15

<210> 200
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 200

Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 201
<211> 4
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 201

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 202
<211> 4
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 202

Gly Gly Ser Gly
1

- <210> 203
- <211> 5
- <212> PRT
- <213> 合成的

<400> 203

Gly Gly Ser Gly Gly
1 5

- <210> 204
- <211> 5
- <212> PRT
- <213> 合成的

<400> 204

Gly Ser Gly Ser Gly
1 5

- <210> 205
- <211> 5
- <212> PRT
- <213> 合成的

<400> 205

Gly Ser Gly Gly Gly
1 5

- <210> 206
- <211> 5
- <212> PRT
- <213> 合成的

<400> 206

Gly Gly Gly Ser Gly
1 5

- <210> 207
- <211> 5
- <212> PRT
- <213> 合成的

<400> 207

Gly Ser Ser Ser Gly
1 5

- <210> 208
- <211> 13
- <212> PRT
- <213> 合成的

<400> 208

Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
1 5 10

- <210> 209
- <211> 11
- <212> PRT
- <213> 合成的

<400> 209

Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
1 5 10

- <210> 210
- <211> 12
- <212> PRT
- <213> 合成的

<400> 210

Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
1 5 10

- <210> 211
- <211> 16
- <212> PRT
- <213> 合成的

<400> 211

Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

- <210> 212
- <211> 10
- <212> PRT
- <213> 合成的

<400> 212

Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
1 5 10

- <210> 213
- <211> 11
- <212> PRT
- <213> 合成的

<400> 213

Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser
1 5 10

- <210> 214
- <211> 8
- <212> PRT
- <213> 合成的

<400> 214

Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser
1 5

- <210> 215
- <211> 4
- <212> PRT
- <213> 合成的

<400> 215

Gly Gly Gly Ser
1

- <210> 216
- <211> 5
- <212> PRT
- <213> 合成的

<400> 216

Gly Ser Ser Gly Thr
1 5

- <210> 217
- <211> 4
- <212> PRT
- <213> 合成的

<400> 217

Gly Ser Ser Gly
1

<210> 218
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 218

Gly Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 219

<400> 219
000

<210> 220
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 220

Asn Tyr Gly Val His
1 5

<210> 221
<211> 16
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 221

Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr Ser
1 5 10 15

<210> 222
<211> 11
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 222

Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 223
<211> 11

<212> PRT
<213> 合成的

<400> 223

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His
1 5 10

<210> 224
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 224

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser
1 5

<210> 225
<211> 9
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 225

Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr
1 5

<210> 226
<211> 16
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 226

Leu Ser Gly Arg Ser Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 227
<211> 17
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 227

Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Ser Gly Arg Ser Ala Asn Gly Gly Gly
1 5 10 15

Ser

<210> 228
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 228

His Val Pro Arg Gln Val Leu Ser Gly Arg Ser Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 229
<211> 17
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 229

His Val Pro Arg Gln Val Leu Ser Gly Arg Ser Ala Asn Gly Gly Gly
1 5 10 15

Ser

<210> 230
<211> 16
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 230

Thr Ala Arg Gly Pro Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 231
<211> 14
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 231

Thr Ala Arg Gly Pro Val Pro Arg Gln Val Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 232
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 232

Ala Pro Arg Ser Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 233
<211> 16
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 233

Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Ala Pro Arg Ser Phe Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 234
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 234

His Val Pro Arg Gln Val Ala Pro Arg Ser Phe Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 235
<211> 16
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 235

Ala Leu Ala His Gly Leu Pro Thr Phe Val His Leu Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 236
<211> 16
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 236

Gly Leu Pro Thr Phe Val His Leu Pro Arg Gln Val Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 237
<211> 14
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 237

Ala Ala Asn Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 238
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 238

Gly Pro Thr Asn Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 239
<211> 16
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 239

Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ile Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 240
<211> 21
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 240

Ala Val Gly Leu Leu Ala Pro Pro Gly Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asn
1 5 10 15

Ile Gly Gly Gly Ser
20

<210> 241
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 241

Leu Ser Gly Arg Ser Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 242

<211> 16
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 242

Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Ser Gly Arg Ser Ala Asn Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 243
<211> 14
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 243

His Val Pro Arg Gln Val Leu Ser Gly Arg Ser Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 244
<211> 16
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 244

His Val Pro Arg Gln Val Leu Ser Gly Arg Ser Ala Asn Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 245
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 245

Thr Ala Arg Gly Pro Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 246
<211> 13
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 246

Thr Ala Arg Gly Pro Val Pro Arg Gln Val Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 247

<211> 14
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 247

Ala Pro Arg Ser Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 248
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 248

Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Ala Pro Arg Ser Phe Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 249
<211> 14
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 249

His Val Pro Arg Gln Val Ala Pro Arg Ser Phe Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 250
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 250

Ala Leu Ala His Gly Leu Pro Thr Phe Val His Leu Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 251
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 251

Gly Leu Pro Thr Phe Val His Leu Pro Arg Gln Val Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 252

<211> 13
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 252

Ala Ala Asn Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 253
<211> 14
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 253

Gly Pro Thr Asn Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 254
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 254

Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asn Ile Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 255
<211> 20
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 255

Ala Val Gly Leu Leu Ala Pro Pro Gly Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asn
1 5 10 15

Ile Gly Gly Ser
20

<210> 256

<400> 256
000

<210> 257

<400> 257

000	
<210>	258
<400>	258
000	
<210>	259
<400>	259
000	
<210>	260
<400>	260
000	
<210>	261
<400>	261
000	
<210>	262
<400>	262
000	
<210>	263
<400>	263
000	
<210>	264
<400>	264
000	
<210>	265
<400>	265
000	
<210>	266
<400>	266
000	
<210>	267
<400>	267
000	
<210>	268
<400>	268

000	
<210>	269
<400>	269
000	
<210>	270
<400>	270
000	
<210>	271
<400>	271
000	
<210>	272
<400>	272
000	
<210>	273
<400>	273
000	
<210>	274
<400>	274
000	
<210>	275
<400>	275
000	
<210>	276
<400>	276
000	
<210>	277
<400>	277
000	
<210>	278
<400>	278
000	
<210>	279
<400>	279

000	
<210>	280
<400>	280
000	
<210>	281
<400>	281
000	
<210>	282
<400>	282
000	
<210>	283
<400>	283
000	
<210>	284
<400>	284
000	
<210>	285
<400>	285
000	
<210>	286
<400>	286
000	
<210>	287
<400>	287
000	
<210>	288
<400>	288
000	
<210>	289
<400>	289
000	
<210>	290
<400>	290

000	
<210>	291
<400>	291
000	
<210>	292
<400>	292
000	
<210>	293
<400>	293
000	
<210>	294
<400>	294
000	
<210>	295
<400>	295
000	
<210>	296
<400>	296
000	
<210>	297
<400>	297
000	
<210>	298
<400>	298
000	
<210>	299
<400>	299
000	
<210>	300
<400>	300
000	
<210>	301
<400>	301

000	
<210>	302
<400>	302
000	
<210>	303
<400>	303
000	
<210>	304
<400>	304
000	
<210>	305
<400>	305
000	
<210>	306
<400>	306
000	
<210>	307
<400>	307
000	
<210>	308
<400>	308
000	
<210>	309
<400>	309
000	
<210>	310
<400>	310
000	
<210>	311
<400>	311
000	
<210>	312
<400>	312

000

<210> 313

<400> 313

000

<210> 314

<400> 314

000

<210> 315

<400> 315

000

<210> 316

<400> 316

000

<210> 317

<400> 317

000

<210> 318

<400> 318

000

<210> 319

<211> 8

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 319

Pro Arg Phe Lys Ile Ile Gly Gly

1 5

<210> 320

<211> 8

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 320

Pro Arg Phe Arg Ile Ile Gly Gly

1 5

<210> 321

<211> 9
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 321

Ser Ser Arg His Arg Arg Ala Leu Asp
1 5

<210> 322
<211> 14
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 322

Arg Lys Ser Ser Ile Ile Ile Arg Met Arg Asp Val Val Leu
1 5 10

<210> 323
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 323

Ser Ser Ser Phe Asp Lys Gly Lys Tyr Lys Lys Gly Asp Asp Ala
1 5 10 15

<210> 324
<211> 15
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 324

Ser Ser Ser Phe Asp Lys Gly Lys Tyr Lys Arg Gly Asp Asp Ala
1 5 10 15

<210> 325
<211> 4
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 325

Ile Glu Gly Arg
1

<210> 326

<211> 4
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 326

Ile Asp Gly Arg
1

<210> 327
<211> 7
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 327

Gly Gly Ser Ile Asp Gly Arg
1 5

<210> 328
<211> 6
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 328

Pro Leu Gly Leu Trp Ala
1 5

<210> 329
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 329

Gly Pro Gln Gly Ile Ala Gly Gln
1 5

<210> 330
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 330

Gly Pro Gln Gly Leu Leu Gly Ala
1 5

<210> 331

<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 331

Gly Ile Ala Gly Gln
1 5

<210> 332
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 332

Gly Pro Leu Gly Ile Ala Gly Ile
1 5

<210> 333
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 333

Gly Pro Glu Gly Leu Arg Val Gly
1 5

<210> 334
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 334

Tyr Gly Ala Gly Leu Gly Val Val
1 5

<210> 335
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 335

Ala Gly Leu Gly Val Val Glu Arg
1 5

<210> 336

<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 336

Ala Gly Leu Gly Ile Ser Ser Thr
1 5

<210> 337
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 337

Glu Pro Gln Ala Leu Ala Met Ser
1 5

<210> 338
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 338

Gln Ala Leu Ala Met Ser Ala Ile
1 5

<210> 339
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 339

Ala Ala Tyr His Leu Val Ser Gln
1 5

<210> 340
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 340

Met Asp Ala Phe Leu Glu Ser Ser
1 5

<210> 341

<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 341

Glu Ser Leu Pro Val Val Ala Val
1 5

<210> 342
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 342

Ser Ala Pro Ala Val Glu Ser Glu
1 5

<210> 343
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 343

Asp Val Ala Gln Phe Val Leu Thr
1 5

<210> 344
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 344

Val Ala Gln Phe Val Leu Thr Glu
1 5

<210> 345
<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 345

Ala Gln Phe Val Leu Thr Glu Gly
1 5

<210> 346

<211> 8
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 346

Pro Val Gln Pro Ile Gly Pro Gln
1 5

<210> 347
<211> 273
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 347

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly
20 25 30

Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala
35 40 45

Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
50 55 60

Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
65 70 75 80

Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
85 90 95

Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
100 105 110

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
115 120 125

Glu Ile Lys Arg Ser Gly Gly Ser Thr Ile Thr Ser Tyr Asn Val Tyr
130 135 140

Tyr Thr Lys Leu Ser Ser Ser Gly Thr Gln Val Gln Leu Val Gln Thr
145 150 155 160

Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
165 170 175

Ala Ser Gly Ser Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln
180 185 190

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
210 215 220

Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
225 230 235 240

Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Asn Ser Leu Tyr Trp
245 250 255

Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
260 265 270

Ser

<210> 348

<400> 348
000

<210> 349
<211> 264
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 349

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala
20 25 30

Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser

35					40					45					
Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Arg	Tyr	Thr	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro
50						55					60				
Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Tyr	Ile	Asn	Pro	Ser	Arg	Gly	Tyr
65					70					75					80
Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	Lys	Asp	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Thr	Asp
				85					90					95	
Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu
			100					105					110		
Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Tyr	Tyr	Asp	Asp	His	Tyr	Cys
		115					120					125			
Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly
130						135					140				
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ile	Val
145					150					155					160
Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Ile	Met	Ser	Ala	Ser	Pro	Gly	Glu	Lys	Val
				165					170					175	
Thr	Met	Thr	Cys	Ser	Ala	Ser	Ser	Ser	Val	Ser	Tyr	Met	Asn	Trp	Tyr
			180					185					190		
Gln	Gln	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Pro	Lys	Arg	Trp	Ile	Tyr	Asp	Thr	Ser
		195					200					205			
Lys	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ala	His	Phe	Arg	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly
210						215					220				
Thr	Ser	Tyr	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Met	Glu	Ala	Glu	Asp	Ala	Ala
225					230					235					240
Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Trp	Ser	Ser	Asn	Pro	Phe	Thr	Phe	Gly	Ser
				245					250					255	

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn Arg
260

- <210> 350
- <400> 350
000
- <210> 351
- <400> 351
000
- <210> 352
- <400> 352
000
- <210> 353
- <400> 353
000
- <210> 354
- <400> 354
000
- <210> 355
- <400> 355
000
- <210> 356
- <400> 356
000
- <210> 357
- <400> 357
000
- <210> 358
- <400> 358
000
- <210> 359
- <400> 359
000
- <210> 360

<400> 000	360
<210>	361
<400> 000	361
<210>	362
<400> 000	362
<210>	363
<400> 000	363
<210>	364
<400> 000	364
<210>	365
<400> 000	365
<210>	366
<400> 000	366
<210>	367
<400> 000	367
<210>	368
<400> 000	368
<210>	369
<400> 000	369
<210>	370
<400> 000	370
<210>	371

<400> 000	371
<210>	372
<400> 000	372
<210>	373
<400> 000	373
<210>	374
<400> 000	374
<210>	375
<400> 000	375
<210>	376
<400> 000	376
<210>	377
<400> 000	377
<210>	378
<400> 000	378
<210>	379
<400> 000	379
<210>	380
<400> 000	380
<210>	381
<211>	5
<212>	PRT
<213>	合成的
<400>	381

Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 382
<211> 4
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 382

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 383
<211> 4
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 383

Gly Gly Ser Gly
1

<210> 384
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 384

Gly Gly Ser Gly Gly
1 5

<210> 385
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 385

Gly Ser Gly Ser Gly
1 5

<210> 386
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 386

Gly Ser Gly Gly Gly
1 5

<210> 387
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 387

Gly Gly Gly Ser Gly
1 5

<210> 388
<211> 5
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 388

Gly Ser Ser Ser Gly
1 5

<210> 389

<400> 389
000

<210> 390

<400> 390
000

<210> 391

<400> 391
000

<210> 392

<400> 392
000

<210> 393

<400> 393
000

<210> 394

<400> 394

000

<210> 395

<400> 395

000

<210> 396

<400> 396

000

<210> 397

<400> 397

000

<210> 398

<400> 398

000

<210> 399

<211> 214

<212> PRT

<213> 合成的

<400> 399

Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 400
<211> 449
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 400

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe
65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Ser Gln Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290

295

300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305310315320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325330335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340345350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355360365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370375380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385390395400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405410415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420425430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

435440445

Lys

<210> 401
<211> 214
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 401

Gln Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly

151015

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn

20

25

30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile

354045

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly

505560

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser

65707580

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr

859095

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala

100105110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115120125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130135140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145150155160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165170175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180185190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195200205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 402
<211> 258
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 402

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Leu Leu
35 40 45

Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser
50 55 60

Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr
65 70 75 80

Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser
85 90 95

Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
100 105 110

Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala
115 120 125

Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala
130 135 140

Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
145 150 155 160

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val
165 170 175

Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp
180 185 190

Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr
195 200 205

Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr
210 215 220

Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val
225 230 235 240

Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly
245 250 255

Glu Cys

<210> 403
<211> 254
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 403

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ala Leu Ala
20 25 30

His Gly Leu Phe Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro
35 40 45

Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg
50 55 60

Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr
65 70 75 80

Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser
85 90 95

Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
100 105 110

Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys
115 120 125

Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
130 135 140

Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
145 150 155 160

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
165 170 175

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
180 185 190

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
195 200 205

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
210 215 220

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
225 230 235 240

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
245 250

<210> 404
<211> 259
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 404

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Ser Gly Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu
35 40 45

Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val
50 55 60

Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp
65 70 75 80

Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala
85 90 95

Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
100 105 110

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile
115 120 125

Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly
130 135 140

Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val
145 150 155 160

Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
165 170 175

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln
180 185 190

Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val
195 200 205

Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu
210 215 220

Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu
225 230 235 240

Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg
245 250 255

Gly Glu Cys

<210> 405
<211> 254
<212> PRT

<213> 合成的

<400> 405

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Asp Leu Ala
20 25 30

His Pro Leu Leu Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro
35 40 45

Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg
50 55 60

Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr
65 70 75 80

Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser
85 90 95

Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
100 105 110

Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys
115 120 125

Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
130 135 140

Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
145 150 155 160

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
165 170 175

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
180 185 190

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
195 200 205

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
210 215 220

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
225 230 235 240

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
245 250

<210> 406
<211> 253
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 406

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ala Phe Arg
20 25 30

His Leu Arg Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val
35 40 45

Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala
50 55 60

Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn
65 70 75 80

Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly
85 90 95

Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
100 105 110

Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln
115 120 125

Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu
130 135 140

Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser
145 150 155 160

Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn
165 170 175

Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
180 185 190

Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
195 200 205

Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
210 215 220

Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
225 230 235 240

Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
245 250

<210> 407
<211> 258
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 407

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Ser Gly Pro His Gly Phe Phe Gln Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu
35 40 45

Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser
50 55 60

Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr
65 70 75 80

Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser
85 90 95

Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
100 105 110

Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala
115 120 125

Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala
130 135 140

Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
145 150 155 160

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val
165 170 175

Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp
180 185 190

Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr
195 200 205

Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr
210 215 220

Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val
225 230 235 240

Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly
245 250 255

Glu Cys

- <210> 408
- <211> 253
- <212> PRT
- <213> 合成的
- <400> 408

Gln	Gly	Gln	Ser	Gly	Gln	Cys	Ile	Ser	Pro	Arg	Gly	Cys	Pro	Asp	Gly	
1				5					10					15		
Pro	Tyr	Val	Met	Tyr	Gly	Gly	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Ser	Val	His	
			20					25					30			
His	Leu	Ile	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ile	Leu	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Val	
		35					40					45				
Ile	Leu	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Glu	Arg	Val	Ser	Phe	Ser	Cys	Arg	Ala	
	50					55					60					
Ser	Gln	Ser	Ile	Gly	Thr	Asn	Ile	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg	Thr	Asn	
65				70					75						80	
Gly	Ser	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Lys	Tyr	Ala	Ser	Glu	Ser	Ile	Ser	Gly	
				85					90					95		
Ile	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	
			100					105					110			
Ser	Ile	Asn	Ser	Val	Glu	Ser	Glu	Asp	Ile	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	
		115					120					125				
Gln	Asn	Asn	Asn	Trp	Pro	Thr	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	
	130					135					140					
Leu	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	
145					150					155					160	
Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	
				165					170					175		
Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	
			180					185					190			
Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	
		195					200					205				
Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	
	210					215					220					

Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
225 230 235 240

Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
245 250

<210> 409
<211> 254
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 409

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Arg Gly Pro
20 25 30

Lys Leu Tyr Trp Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro
35 40 45

Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg
50 55 60

Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr
65 70 75 80

Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser
85 90 95

Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
100 105 110

Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys
115 120 125

Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
130 135 140

Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
145 150 155 160

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
165 170 175

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
180 185 190

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
195 200 205

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
210 215 220

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
225 230 235 240

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
245 250

<210> 410
<211> 259
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 410

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Ser Gly Arg Gly Pro Lys Leu Tyr Trp Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu
35 40 45

Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val
50 55 60

Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp
65 70 75 80

Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala
85 90 95

Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
100 105 110

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile
115 120 125

Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly
130 135 140

Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val
145 150 155 160

Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
165 170 175

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln
180 185 190

Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val
195 200 205

Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu
210 215 220

Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu
225 230 235 240

Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg
245 250 255

Gly Glu Cys

- <210> 411
- <211> 254
- <212> PRT
- <213> 合成的

<400> 411

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Arg Phe Pro
20 25 30

Tyr Gly Val Trp Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro
35 40 45

Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg
50 55 60

Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr
65 70 75 80

Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser
85 90 95

Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
100 105 110

Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys
115 120 125

Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
130 135 140

Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
145 150 155 160

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
165 170 175

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
180 185 190

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
195 200 205

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
210 215 220

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly

225					230						235					240
Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys			
				245					250							
<210>	412															
<211>	253															
<212>	PRT															
<213>	合成的															
<400>	412															
Gln	Gly	Gln	Ser	Gly	Gln	Cys	Ile	Ser	Pro	Arg	Gly	Cys	Pro	Asp	Gly	
1				5					10					15		
Pro	Tyr	Val	Met	Tyr	Gly	Gly	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	His	Val	Pro	
			20					25					30			
Arg	Gln	Val	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ile	Leu	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Val	
		35					40					45				
Ile	Leu	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Glu	Arg	Val	Ser	Phe	Ser	Cys	Arg	Ala	
	50					55					60					
Ser	Gln	Ser	Ile	Gly	Thr	Asn	Ile	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg	Thr	Asn	
65				70					75					80		
Gly	Ser	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Lys	Tyr	Ala	Ser	Glu	Ser	Ile	Ser	Gly	
				85					90					95		
Ile	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	
			100					105					110			
Ser	Ile	Asn	Ser	Val	Glu	Ser	Glu	Asp	Ile	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	
		115					120					125				
Gln	Asn	Asn	Asn	Trp	Pro	Thr	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	
	130					135					140					
Leu	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	
145					150					155					160	
Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	

					165					170						175
Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	
			180					185					190			
Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	
		195					200					205				
Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	
	210					215					220					
Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	
225					230					235					240	
Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys				
				245					250							
<210>	413															
<211>	258															
<212>	PRT															
<213>	合成的															
<400>	413															
Gln	Gly	Gln	Ser	Gly	Gln	Cys	Ile	Ser	Pro	Arg	Gly	Cys	Pro	Asp	Gly	
1				5					10					15		
Pro	Tyr	Val	Met	Tyr	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	
			20					25					30			
Ser	Gly	His	Val	Pro	Arg	Gln	Val	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ile	Leu	Leu	
		35					40					45				
Thr	Gln	Ser	Pro	Val	Ile	Leu	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Glu	Arg	Val	Ser	
	50					55					60					
Phe	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Gly	Thr	Asn	Ile	His	Trp	Tyr	
65					70					75					80	
Gln	Gln	Arg	Thr	Asn	Gly	Ser	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Lys	Tyr	Ala	Ser	
				85					90					95		
Glu	Ser	Ile	Ser	Gly	Ile	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	

100105110

Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala
115120125

Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala
130135140

Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
145150155160

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val
165170175

Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp
180185190

Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr
195200205

Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr
210215220

Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val
225230235240

Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly
245250255

Glu Cys

<210> 414
<211> 253
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 414

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
151015

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser Asn Pro

				20				25				30			
Phe	Lys	Tyr	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ile	Leu	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Val
		35					40					45			
Ile	Leu	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Glu	Arg	Val	Ser	Phe	Ser	Cys	Arg	Ala
50						55					60				
Ser	Gln	Ser	Ile	Gly	Thr	Asn	Ile	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg	Thr	Asn
65					70					75					80
Gly	Ser	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Lys	Tyr	Ala	Ser	Glu	Ser	Ile	Ser	Gly
				85					90					95	
Ile	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu
		100						105					110		
Ser	Ile	Asn	Ser	Val	Glu	Ser	Glu	Asp	Ile	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln
		115					120					125			
Gln	Asn	Asn	Asn	Trp	Pro	Thr	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu
130						135					140				
Leu	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser
145					150					155					160
Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn
				165					170					175	
Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala
		180						185					190		
Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys
		195					200					205			
Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp
210						215					220				
Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu
225					230					235					240

Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
245 250

<210> 415
<211> 253
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 415

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Arg Phe Pro
20 25 30

Leu Lys Val Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val
35 40 45

Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala
50 55 60

Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn
65 70 75 80

Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly
85 90 95

Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
100 105 110

Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln
115 120 125

Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu
130 135 140

Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser
145 150 155 160

Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn
165 170 175

Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
180 185 190

Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
195 200 205

Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
210 215 220

Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
225 230 235 240

Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
245 250

<210> 416
<211> 253
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 416

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Pro Phe His
20 25 30

Leu Ser Arg Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val
35 40 45

Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala
50 55 60

Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn
65 70 75 80

Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly
85 90 95

Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
100 105 110

Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln
115 120 125

Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu
130 135 140

Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser
145 150 155 160

Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn
165 170 175

Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
180 185 190

Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
195 200 205

Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
210 215 220

Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
225 230 235 240

Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
245 250

<210> 417
<211> 253
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 417

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser Thr Val
20 25 30

Phe His Met Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val
35 40 45

Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala
50 55 60

Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn
65 70 75 80

Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly
85 90 95

Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
100 105 110

Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln
115 120 125

Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu
130 135 140

Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser
145 150 155 160

Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn
165 170 175

Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
180 185 190

Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
195 200 205

Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
210 215 220

Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
225 230 235 240

Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
245 250

<210> 418
<211> 253
<212> PRT

<213> 合成的

<400> 418

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Met Gly Pro
20 25 30

Trp Phe Met Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val
35 40 45

Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala
50 55 60

Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn
65 70 75 80

Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly
85 90 95

Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
100 105 110

Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln
115 120 125

Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu
130 135 140

Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser
145 150 155 160

Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn
165 170 175

Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
180 185 190

Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
195 200 205

Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
210 215 220

Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
225 230 235 240

Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
245 250

<210> 419
<211> 258
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 419

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Ser Gly Met Gly Pro Trp Phe Met Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu
35 40 45

Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser
50 55 60

Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr
65 70 75 80

Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser
85 90 95

Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
100 105 110

Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala
115 120 125

Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala
130 135 140

Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
145 150 155 160

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val
165 170 175

Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp
180 185 190

Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr
195 200 205

Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr
210 215 220

Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val
225 230 235 240

Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly
245 250 255

Glu Cys

<210> 420
<211> 253
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 420

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Arg His Leu
20 25 30

Ala Lys Leu Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val
35 40 45

Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala
50 55 60

Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn
65 70 75 80

Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly
85 90 95

Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
100 105 110

Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln
115 120 125

Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu
130 135 140

Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser
145 150 155 160

Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn
165 170 175

Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
180 185 190

Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
195 200 205

Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
210 215 220

Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
225 230 235 240

Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
245 250

<210> 421
<211> 254
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 421

Gln	Gly	Gln	Ser	Gly	Gln	Cys	Ile	Ser	Pro	Arg	Gly	Cys	Pro	Asp	Gly	
1				5					10					15		
Pro	Tyr	Val	Met	Tyr	Gly	Gly	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Pro	Leu	Gly	
			20					25					30			
Val	Arg	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ile	Leu	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	
		35					40					45				
Val	Ile	Leu	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Glu	Arg	Val	Ser	Phe	Ser	Cys	Arg	
	50					55					60					
Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Gly	Thr	Asn	Ile	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg	Thr	
65					70					75					80	
Asn	Gly	Ser	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Lys	Tyr	Ala	Ser	Glu	Ser	Ile	Ser	
				85					90					95		
Gly	Ile	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	
		100						105					110			
Leu	Ser	Ile	Asn	Ser	Val	Glu	Ser	Glu	Asp	Ile	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	
		115					120					125				
Gln	Gln	Asn	Asn	Asn	Trp	Pro	Thr	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	
	130					135					140					
Glu	Leu	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	
145					150					155					160	
Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	
				165					170					175		
Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	
			180					185					190			
Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	
		195					200					205				
Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	
	210					215					220					

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
225 230 235 240

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
245 250

<210> 422
<211> 259
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 422

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Ser Gly Pro Leu Gly Val Arg Gly Lys Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu
35 40 45

Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val
50 55 60

Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp
65 70 75 80

Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala
85 90 95

Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
100 105 110

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile
115 120 125

Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly
130 135 140

Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val
145 150 155 160

Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
165 170 175

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln
180 185 190

Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val
195 200 205

Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu
210 215 220

Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu
225 230 235 240

Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg
245 250 255

Gly Glu Cys

<210> 423
<211> 260
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 423

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Ser Gly Gln Asn Gln Ala Leu Arg Ile Ala Gly Gly Gly Ser Gln Ile
35 40 45

Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg
50 55 60

Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His
65 70 75 80

Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr
85 90 95

Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
100 105 110

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp
115 120 125

Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe
130 135 140

Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser
145 150 155 160

Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala
165 170 175

Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
180 185 190

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser
195 200 205

Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr
210 215 220

Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys
225 230 235 240

Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn
245 250 255

Arg Gly Glu Cys
260

<210> 424

<400> 424
000

<210>	425
<400> 000	425
<210>	426
<400> 000	426
<210>	427
<400> 000	427
<210>	428
<400> 000	428
<210>	429
<400> 000	429
<210>	430
<400> 000	430
<210>	431
<400> 000	431
<210>	432
<400> 000	432
<210>	433
<400> 000	433
<210>	434
<400> 000	434
<210>	435
<400> 000	435

<210>	436
<400> 000	436
<210>	437
<400> 000	437
<210>	438
<400> 000	438
<210>	439
<400> 000	439
<210>	440
<400> 000	440
<210>	441
<400> 000	441
<210>	442
<400> 000	442
<210>	443
<400> 000	443
<210>	444
<400> 000	444
<210>	445
<400> 000	445
<210>	446
<400> 000	446

<210> 447

<400> 447
000

<210> 448

<400> 448
000

<210> 449

<400> 449
000

<210> 450
<211> 259
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 450

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Leu Ser Gly
20 25 30

Arg Ser Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu
35 40 45

Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val
50 55 60

Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp
65 70 75 80

Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala
85 90 95

Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
100 105 110

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile
115 120 125

Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly

[illegible]

Gly Glu Cys

$\langle 210 \rangle$	451
$\langle 211 \rangle$	260
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	合成的

<400> 451

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ala Leu Ala
20 25 30

His Gly Leu Phe Ser Gly Arg Ser Ala Asn Gly Gly Gly Ser Gln Ile
35 40 45

Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg

50					55					60					
Val 65	Ser	Phe	Ser	Cys	Arg 70	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile 75	Gly	Thr	Asn	Ile	His 80
Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg 85	Thr	Asn	Gly	Ser	Pro 90	Arg	Leu	Leu	Ile	Lys 95	Tyr
Ala	Ser	Glu	Ser 100	Ile	Ser	Gly	Ile	Pro 105	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly 110	Ser	Gly
Ser	Gly	Thr 115	Asp	Phe	Thr	Leu	Ser 120	Ile	Asn	Ser	Val	Glu 125	Ser	Glu	Asp
Ile	Ala 130	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln 135	Gln	Asn	Asn	Asn	Trp 140	Pro	Thr	Thr	Phe
Gly 145	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu 150	Glu	Leu	Lys	Arg	Thr 155	Val	Ala	Ala	Pro	Ser 160
Val	Phe	Ile	Phe	Pro 165	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln 170	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr 175	Ala
Ser	Val	Val	Cys 180	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe 185	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala 190	Lys	Val
Gln	Trp	Lys 195	Val	Asp	Asn	Ala	Leu 200	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser 205	Gln	Glu	Ser
Val 210	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys 215	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser 220	Leu	Ser	Ser	Thr
Leu 225	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala 230	Asp	Tyr	Glu	Lys	His 235	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys 240
Glu	Val	Thr	His	Gln 245	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro 250	Val	Thr	Lys	Ser	Phe 255	Asn
Arg	Gly	Glu	Cys 260												

<210> 452
<211> 258
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 452

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser His Val Pro
20 25 30

Arg Gln Val Leu Ser Gly Arg Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu
35 40 45

Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser
50 55 60

Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr
65 70 75 80

Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser
85 90 95

Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
100 105 110

Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala
115 120 125

Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala
130 135 140

Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
145 150 155 160

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val
165 170 175

Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp
180 185 190

Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr
195 200 205

Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr
210 215 220

Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val
225 230 235 240

Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly
245 250 255

Glu Cys

<210> 453
<211> 260
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 453

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser His Val Pro
20 25 30

Arg Gln Val Leu Ser Gly Arg Ser Ala Asn Gly Gly Gly Ser Gln Ile
35 40 45

Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg
50 55 60

Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His
65 70 75 80

Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr
85 90 95

Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
100 105 110

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp
115 120 125

Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe
130 135 140

Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser
145 150 155 160

Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala
165 170 175

Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
180 185 190

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser
195 200 205

Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr
210 215 220

Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys
225 230 235 240

Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn
245 250 255

Arg Gly Glu Cys
260

<210> 454
<211> 259
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 454

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ala Arg
20 25 30

Gly Pro Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu
35 40 45

Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val
50 55 60

Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp
65 70 75 80

Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala
85 90 95

Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
100 105 110

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile
115 120 125

Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly
130 135 140

Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val
145 150 155 160

Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
165 170 175

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln
180 185 190

Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val
195 200 205

Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu
210 215 220

Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu
225 230 235 240

Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg
245 250 255

Gly Glu Cys

<210> 455
<211> 257
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 455

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15
Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Thr Ala Arg
20 25 30
Gly Pro Val Pro Arg Gln Val Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu Thr
35 40 45
Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe
50 55 60
Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln
65 70 75 80
Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu
85 90 95
Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
100 105 110
Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp
115 120 125
Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly
130 135 140
Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile
145 150 155 160
Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val
165 170 175

Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys
180 185 190

Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu
195 200 205

Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu
210 215 220

Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr
225 230 235 240

His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
245 250 255

Cys

- <210> 456
- <211> 258
- <212> PRT
- <213> 合成的
- <400> 456

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ala Pro Arg
20 25 30

Ser Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu
35 40 45

Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser
50 55 60

Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr
65 70 75 80

Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser
85 90 95

Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
100 105 110

Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala
115 120 125

Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala
130 135 140

Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
145 150 155 160

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val
165 170 175

Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp
180 185 190

Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr
195 200 205

Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr
210 215 220

Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val
225 230 235 240

Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly
245 250 255

Glu Cys

<210> 457
<211> 259
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 457

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ala Leu Ala
20 25 30

His Gly Leu Phe Ala Pro Arg Ser Phe Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu
35 40 45

Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val
50 55 60

Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp
65 70 75 80

Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala
85 90 95

Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
100 105 110

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile
115 120 125

Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly
130 135 140

Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val
145 150 155 160

Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
165 170 175

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln
180 185 190

Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val
195 200 205

Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu
210 215 220

Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu
225 230 235 240

Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg
245 250 255

Gly Glu Cys

<210> 458
<211> 258
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 458

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser His Val Pro
20 25 30

Arg Gln Val Ala Pro Arg Ser Phe Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu
35 40 45

Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser
50 55 60

Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr
65 70 75 80

Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser
85 90 95

Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
100 105 110

Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala
115 120 125

Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala
130 135 140

Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe
145 150 155 160

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val
165 170 175

Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp
180 185 190

Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr
195 200 205

Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr
210 215 220

Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val
225 230 235 240

Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly
245 250 255

Glu Cys

<210> 459
<211> 259
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 459

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ala Leu Ala
20 25 30

His Gly Leu Pro Thr Phe Val His Leu Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu
35 40 45

Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val
50 55 60

Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp
65 70 75 80

Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala
85 90 95

Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
100 105 110

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile
115 120 125

Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly
130 135 140

Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val
145 150 155 160

Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
165 170 175

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln
180 185 190

Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val
195 200 205

Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu
210 215 220

Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu
225 230 235 240

Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg
245 250 255

Gly Glu Cys

- <210> 460
- <211> 259
- <212> PRT
- <213> 合成的

<400> 460

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Leu Pro
20 25 30

Thr Phe Val His Leu Pro Arg Gln Val Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu
35 40 45

Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val
50 55 60

Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp
65 70 75 80

Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala
85 90 95

Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
100 105 110

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile
115 120 125

Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly
130 135 140

Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val
145 150 155 160

Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
165 170 175

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln
180 185 190

Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val
195 200 205

Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu

210					215					220					
Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu
225					230					235					240
Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg
				245					250					255	
Gly Glu Cys															
<210> 461															
<211> 257															
<212> PRT															
<213> 合成的															
<400> 461															
Gln	Gly	Gln	Ser	Gly	Gln	Cys	Ile	Ser	Pro	Arg	Gly	Cys	Pro	Asp	Gly
1				5					10					15	
Pro	Tyr	Val	Met	Tyr	Gly	Gly	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Ala	Ala	Asn
			20					25					30		
Ala	Leu	Ala	His	Gly	Leu	Phe	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ile	Leu	Leu	Thr
		35					40					45			
Gln	Ser	Pro	Val	Ile	Leu	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Glu	Arg	Val	Ser	Phe
	50					55					60				
Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Gly	Thr	Asn	Ile	His	Trp	Tyr	Gln
65					70					75					80
Gln	Arg	Thr	Asn	Gly	Ser	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Lys	Tyr	Ala	Ser	Glu
				85					90					95	
Ser	Ile	Ser	Gly	Ile	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr
			100					105					110		
Asp	Phe	Thr	Leu	Ser	Ile	Asn	Ser	Val	Glu	Ser	Glu	Asp	Ile	Ala	Asp
		115					120					125			
Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Asn	Asn	Asn	Trp	Pro	Thr	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly

130

135

140

Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile
145150155160

Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val
165170175

Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys
180185190

Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu
195200205

Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu
210215220

Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr
225230235240

His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
245250255

Cys

<210> 462
<211> 258
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 462

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
151015

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Pro Thr
202530

Asn Ala Leu Ala His Gly Leu Phe Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu
354045

Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser

50					55					60					
Phe	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Gly	Thr	Asn	Ile	His	Trp	Tyr
65					70					75					80
Gln	Gln	Arg	Thr	Asn	Gly	Ser	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Lys	Tyr	Ala	Ser
				85					90					95	
Glu	Ser	Ile	Ser	Gly	Ile	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly
			100					105					110		
Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Ser	Ile	Asn	Ser	Val	Glu	Ser	Glu	Asp	Ile	Ala
		115					120					125			
Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Asn	Asn	Asn	Trp	Pro	Thr	Thr	Phe	Gly	Ala
	130					135					140				
Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe
145					150					155					160
Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val
				165					170					175	
Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp
			180					185					190		
Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr
		195					200					205			
Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr
	210					215					220				
Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val
225					230					235					240
Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly
				245					250					255	
Glu	Cys														

<210>	463
<400> 000	463
<210>	464
<400> 000	464
<210>	465
<400> 000	465
<210>	466
<400> 000	466
<210>	467
<400> 000	467
<210>	468
<400> 000	468
<210>	469
<400> 000	469
<210>	470
<400> 000	470
<210>	471
<400> 000	471
<210>	472
<400> 000	472
<210>	473
<400> 000	473

<210> 474

<400> 474
000

<210> 475

<400> 475
000

<210> 476

<400> 476
000

<210> 477

<400> 477
000

<210> 478

<400> 478
000

<210> 479

<400> 479
000

<210> 480
<211> 265
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 480

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Ser Gly Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn Pro Gly
35 40 45

Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val
50 55 60

Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg
85 90 95

Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg
100 105 110

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser
115 120 125

Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn
130 135 140

Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr
145 150 155 160

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
165 170 175

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
180 185 190

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
195 200 205

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
210 215 220

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
225 230 235 240

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
245 250 255

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
260 265

<210> 481
<211> 270
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 481

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Ser Gly Ala Val Gly Leu Leu Ala Pro Pro Gly Gly Leu Ser Gly Arg
35 40 45

Ser Asp Asn Pro Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro
50 55 60

Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg
65 70 75 80

Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr
85 90 95

Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser
100 105 110

Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
115 120 125

Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys
130 135 140

Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
145 150 155 160

Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
165 170 175

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
180 185 190

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
195 200 205

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser

210					215					220					
Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala
225					230					235					240
Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly
				245					250					255	
Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys		
			260					265					270		
<210>	482														
<211>	255														
<212>	PRT														
<213>	合成的														
<400>	482														
Gln	Gly	Gln	Ser	Gly	Gln	Cys	Ile	Ser	Pro	Arg	Gly	Cys	Pro	Asp	Gly
1				5					10					15	
Pro	Tyr	Val	Met	Tyr	Gly	Gly	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Ile	Ser	Ser
			20					25					30		
Gly	Leu	Leu	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ile	Leu	Leu	Thr	Gln	Ser
		35					40					45			
Pro	Val	Ile	Leu	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Glu	Arg	Val	Ser	Phe	Ser	Cys
	50					55					60				
Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Gly	Thr	Asn	Ile	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg
65					70					75					80
Thr	Asn	Gly	Ser	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Lys	Tyr	Ala	Ser	Glu	Ser	Ile
				85					90					95	
Ser	Gly	Ile	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe
			100					105					110		
Thr	Leu	Ser	Ile	Asn	Ser	Val	Glu	Ser	Glu	Asp	Ile	Ala	Asp	Tyr	Tyr
		115					120					125			
Cys	Gln	Gln	Asn	Asn	Asn	Trp	Pro	Thr	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys

130	135	140
Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro		
145	150	155160
Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu		
	165	170175
Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp		
	180	185190
Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp		
	195	200205
Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys		
	210	215220
Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln		
225	230	235240
Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
	245	250255
<210> 483		
<211> 260		
<212> PRT		
<213> 合成的		
<400> 483		
Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly		
1	5	1015
Pro Tyr Val Met Tyr Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly		
	20	2530
Ser Gly Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ile		
	35	4045
Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg		
50	55	60
Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His		

[illegible]

<400> 484

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ala Val Gly
20 25 30

Leu Leu Ala Pro Pro Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu Thr Gln Ser
35 40 45

Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys
50 55 60

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg
65 70 75 80

Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile
85 90 95

Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
100 105 110

Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr
115 120 125

Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys
130 135 140

Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
145 150 155 160

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
165 170 175

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
180 185 190

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
195 200 205

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
210 215 220

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
225 230 235 240

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
245 250 255

<210> 485
<211> 261
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 485

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Ser Gly Pro Ala Val Gly Leu Leu Ala Pro Pro Gly Gly Gly Ser Gln
35 40 45

Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu
50 55 60

Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile
65 70 75 80

His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys
85 90 95

Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
100 105 110

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu
115 120 125

Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr
130 135 140

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
145 150 155 160

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
165 170 175

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
180 185 190

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
195 200 205

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
210 215 220

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
225 230 235 240

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
245 250 255

Asn Arg Gly Glu Cys
260

<210> 486
<211> 255
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 486

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Pro Ser
20 25 30

His Leu Val Leu Thr Gly Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu Thr Gln Ser
35 40 45

Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys
50 55 60

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg
65 70 75 80

Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile
85 90 95

Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
100 105 110

Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr
115 120 125

Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys
130 135 140

Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
145 150 155 160

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
165 170 175

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
180 185 190

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
195 200 205

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
210 215 220

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
225 230 235 240

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
245 250 255

<210> 487
<211> 260
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 487

Gln	Gly	Gln	Ser	Gly	Gln	Cys	Ile	Ser	Pro	Arg	Gly	Cys	Pro	Asp	Gly	
1				5					10					15		
Pro	Tyr	Val	Met	Tyr	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	
			20					25					30			
Ser	Gly	Gly	Pro	Ser	His	Leu	Val	Leu	Thr	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ile	
		35					40					45				
Leu	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Val	Ile	Leu	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Glu	Arg	
	50					55					60					
Val	Ser	Phe	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Gly	Thr	Asn	Ile	His	
65					70					75					80	
Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg	Thr	Asn	Gly	Ser	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Lys	Tyr	
				85					90					95		
Ala	Ser	Glu	Ser	Ile	Ser	Gly	Ile	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	
			100					105					110			
Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Ser	Ile	Asn	Ser	Val	Glu	Ser	Glu	Asp	
		115					120					125				
Ile	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Asn	Asn	Asn	Trp	Pro	Thr	Thr	Phe	
	130					135					140					
Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	
145					150				155						160	
Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	
				165					170					175		
Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	
			180					185					190			
Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	
		195					200					205				
Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	
	210					215					220					

Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys
225 230 235 240

Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn
245 250 255

Arg Gly Glu Cys
260

<210> 488
<211> 261
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 488

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser
20 25 30

Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His Gly Ser Ser Gly Thr Gln
35 40 45

Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu
50 55 60

Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile
65 70 75 80

His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys
85 90 95

Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
100 105 110

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu
115 120 125

Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr
130 135 140

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
145 150 155 160

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
165 170 175

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
180 185 190

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
195 200 205

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
210 215 220

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
225 230 235 240

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
245 250 255

Asn Arg Gly Glu Cys
260

<210> 489
<211> 260
<212> PRT
<213> 合成的

<400> 489

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15

Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser
20 25 30

Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His Gly Gly Gly Ser Gln Ile
35 40 45

Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly Glu Arg
50 55 60

Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His
65 70 75 80

Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile Lys Tyr
85 90 95

Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
100 105 110

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp
115 120 125

Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr Phe
130 135 140

Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser
145 150 155 160

Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala
165 170 175

Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
180 185 190

Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser
195 200 205

Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr
210 215 220

Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys
225 230 235 240

Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn
245 250 255

Arg Gly Glu Cys
260

<210> 490
<211> 265

<212> PRT
<213> 合成的

<400> 490

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Cys Ile Ser Pro Arg Gly Cys Pro Asp Gly
1 5 10 15
Pro Tyr Val Met Tyr Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ala Val Gly
20 25 30
Leu Leu Ala Pro Pro Gly Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His Gly
35 40 45
Gly Gly Ser Gln Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val
50 55 60
Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80
Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg
85 90 95
Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg
100 105 110
Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser
115 120 125
Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn
130 135 140
Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr
145 150 155 160
Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
165 170 175
Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
180 185 190
Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
195 200 205

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
210 215 220

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
225 230 235 240

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
245 250 255

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
260 265

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】一種經分離之多肽，其包含串聯之受質，該串聯之受質包含至少一個第一可切割部分(CM1)和至少一個第二可切割部分(CM2)，該第一可切割部分(CM1)為至少一種基質金屬蛋白酶(MMP)之受質，且該第二可切割部分(CM2)為至少一種絲胺酸蛋白酶(SP)或半胱胺酸蛋白酶(CP)之受質，

其中該 CM1 包含胺基酸序列 ALAHGLF(SEQ ID NO：1)；且

其中該 CM2 包含胺基酸序列 AAN 或 SEQ ID NO：72、112、124、125、128、130、131、132、135 至 140 及 152 中任一者之胺基酸序列，

其中該串聯之受質的 N 端至 C 端之配置為 CM1-CM2 或 CM2-CM1。

【請求項 2】如請求項 1 之經分離之多肽，其中該串聯之受質包含 SEQ ID NO：25、26、29、31、32、36 及 37 中任一者。

【請求項 3】如請求項 1 或 2 之經分離之多肽，其中該串聯之受質包含 SEQ ID NO：31。

【請求項 4】如請求項 1 之經分離之多肽，其中該 CM1 和該 CM2 係經由連接肽連接，或該 CM1 和該 CM2 係彼此直接連接。

【請求項 5】如請求項 1 之經分離之多肽，其中該經分離之多肽包含該串聯之受質和 LP2 連接子，其中該串聯之

受質和 LP2 包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：
SEQ ID NO：226、227、230、232、233、237、238、
241、242、245、247、248、252 及 253。

【請求項 6】如請求項 1 之經分離之多肽，其中該經分離之多肽包含特異地結合標靶之抗體或其抗原結合片段 (AB)。

【請求項 7】如請求項 6 之經分離之多肽，其中：

(a) 該抗原結合片段係選自由下列所組成之群組：Fab 片段、F(ab')₂ 片段、scFv、scAb、dAb、單結構域重鏈抗體和單結構域輕鏈抗體；

(b) 該 AB 係連接：

(1) 該 CM1；或

(2) 該 CM2；和 / 或

(c) 該 AB 包含：

(1) 抗體或其抗原結合片段之輕鏈可變區，其中該 CM1 或該 CM2 係連接該 AB 之輕鏈可變區的 N 端；或

(2) 抗體或其抗原結合片段之重鏈可變區，其中該 CM1 或該 CM2 係連接該 AB 之重鏈可變區的 N 端。

【請求項 8】一種經軛合之多肽，其包含與作用劑軛合之如請求項 1 至 7 中任一項之經分離之多肽。

【請求項 9】一種可活化之抗體，其在活化狀態下與標靶特異地結合，該可活化之抗體包含：

與該標靶特異地結合之抗體或其抗原結合片段(AB)；

與該 AB 偶聯之掩蔽部分(MM)，其中當該可活化之抗體呈未經切割之狀態時，該 MM 抑制該 AB 與該標靶結合；和

可切割之部分，其包含如請求項 1 至 7 中任一項所述之受質。

【請求項 10】如請求項 9 之可活化之抗體，其中：

(a)該 MM 與該 AB 結合之解離常數大於該 AB 與該標靶結合之解離常數；

(b)該 MM 為長度不超過 40 個胺基酸之多肽；和/或

(c)該抗原結合片段係選自由下列所組成之群組：Fab 片段、F(ab')₂ 片段、scFv、scAb、dAb、單結構域重鏈抗體和單結構域輕鏈抗體。

【請求項 11】如請求項 9 至 10 中任一項之可活化之抗體，其中該 MM 連接：

(a)該 CM1，使得該呈未經切割狀態的可活化之抗體包含如下所示之從 N 端至 C 端的結構排列：MM-CM1-CM2-AB 或 AB-CM2-CM1-MM，或其中

(1)該可活化之抗體在該 MM 與該 CM1 之間或在該 CM2 與該 AB 之間包含連接肽；或

(2)該可活化之抗體在該 MM 與該 CM1 之間包含連接肽且在該 CM2 與該 AB 之間包含連接肽；或

(b)該 CM2，使得該呈未經切割之狀態的可活化之抗體

包含如下所示之從 N 端至 C 端的結構排列：MM-CM2-CM1-AB 或 AB-CM1-CM2-MM，或其中

(1) 該可活化之抗體在該 MM 與該 CM2 之間或在該 CM1 與該 AB 之間包含連接肽；或

(2) 該可活化之抗體在該 MM 與該 CM2 之間包含連接肽且在該 CM1 與該 AB 之間包含連接肽；

或其中

(1) 該 AB 包含抗體或其抗原結合片段之輕鏈可變區，其中該 CM1 或該 CM2 係連接該 AB 之輕鏈可變區的 N 端；或

(2) 該 AB 包含抗體或其抗原結合片段之重鏈可變區，其中該 CM1 或該 CM2 係連接該 AB 之重鏈可變區的 N 端。

【請求項 12】如請求項 9 至 10 中任一項之可活化之抗體，其中該可活化之抗體包含第一連接肽(LP1)和第二連接肽(LP2)，且其中該可活化之抗體具有如下所示之從 N 端至 C 端的呈未經切割之狀態的結構排列：MM-LP1-CM1-CM2-LP2-AB、AB-LP2-CM2-CM1-LP1-MM、MM-LP1-CM2-CM1-LP2-AB 或 AB-LP2-CM1-CM2-LP1-MM。

【請求項 13】如請求項 12 之可活化之抗體，其中

(a) 該二個連接肽彼此不同；

(b) 該 LP1 和該 LP2 各為長度約 1 至 20 個胺基酸之肽；

(c) 該可活化之抗體在該 CM1 與該 CM2 之間包含第三連接肽(LP')；

(d) 該 LP1 或該 LP2 包含胺基酸序列 GGSG(SEQ ID NO：202)、GGSGG(SEQ ID NO：203)、GSGSG(SEQ ID NO：

204)、GSGGG(SEQ ID NO : 205)、GGGSG(SEQ ID NO : 206)或GSSSG(SEQ ID NO : 207) ;

(e)該 LP1 包含胺基酸序列 GSSGGSGGSGGSG(SEQ ID NO : 208)、GSSGGSGGSGG(SEQ ID NO : 209)、GSSGGSGGSGGS(SEQ ID NO : 210)、GSSGGSGGSGGSGGSGG(SEQ ID NO : 211)、GSSGGSGGSG(SEQ ID NO : 212)、GSSGGSGGSGS(SEQ ID NO : 213)、GGGSSGGS(SEQ ID NO : 214)或 GSSGGSGGSGGSG(SEQ ID NO : 215) ;

(f)該 LP2 包含胺基酸序列 GSS、GGS、GGGS(SEQ ID NO : 216)、GSSGT(SEQ ID NO : 217)或 GSSG(SEQ ID NO : 218) ;

(g)該 LP1 包含胺基酸序列 GSSGGSGGSGGSG(SEQ ID NO : 208)或 GGGSSGGS(SEQ ID NO : 214)，且該 LP2 包含胺基酸序列 GGS或 GGGS(SEQ ID NO : 216) ;

(h)該 AB 包含抗體或其抗原結合片段之輕鏈可變區，其中該 LP2 係連接該 AB 之輕鏈可變區的 N 端；和 / 或

(i)該 AB 包含抗體或其抗原結合片段之重鏈可變區，其中該 LP2 係連接該 AB 之重鏈可變區的 N 端。

【請求項 14】如請求項 9 至 10 中任一項之可活化之抗體，其中

(a)該 MM 之胺基酸序列與該標靶之胺基酸序列不同，且與該 AB 之天然結合伴的胺基酸序列具有不超過 10% 之同一性；

(b)該 MM 不會干擾或與該 AB 競爭與呈經切割之狀態的該標靶結合；和/或

(c)該可活化之抗體包含選自由 SEQ ID NO：450、451、454、456、457、461及462所組成之群組的輕鏈胺基酸序列且包含 SEQ ID NO：400之重鏈胺基酸序列。

【請求項 15】一種經軛合之可活化之抗體，其包含與作用劑軛合之如請求項 9 至 14 中任一項之可活化之抗體。

【請求項 16】如請求項 15 之經軛合之可活化之抗體，其中

(a)該作用劑經由連接子與該 AB 軛合；

(b)該連接子為可切割之連接子；

(c)該連接子為不可切割之連接子；或

(d)該作用劑為：

(1)毒素或其片段；

(2)微管抑制劑；

(3)核酸損傷劑；

(4)選自由下列所組成之群組：多拉司他汀 (dolastatin) 或其衍生物、澳瑞他汀 (auristatin) 或其衍生物、美登木素 (maytansinoid) 或其衍生物、倍癌黴素 (duocarmycin) 或其衍生物和加利車黴素 (calicheamicin) 或其衍生物；

(5)澳瑞他汀 E 或其衍生物；

(6)單甲基澳瑞他汀 E (MMAE)；

(7)單甲基澳瑞他汀D(MMAD)；

(8)選自由下列所組成之群組的美登木素：DM1
和DM4；或

(9)可檢測之部分，其中該可檢測之部分為示蹤
劑、標記或診斷劑。

【請求項17】一種醫藥組成物，其包含

如請求項1至7中任一項之經分離之多肽、如請求項8
之經軛合之多肽、如請求項9至14中任一項之可活化之抗
體或如請求項15至16中任一項之經軛合之可活化之抗體；
和

載體。

【請求項18】一種經分離之核酸分子，其編碼如請求
項1至6中任一項之經分離之多肽或如請求項9至14中任一
項之可活化之抗體。

【請求項19】一種載體，其包含如請求項18之經分離
之核酸分子。

【請求項20】一種(a)產生抗體或可活化之抗體或(b)
製造可活化之抗體之方法，於該(a)中藉由在導致表現如請
求項1至7中任一項之經分離之多肽或如請求項9至14中任
一項之可活化之抗體的條件下培養細胞，其中該細胞包含
如請求項18之核酸分子，且於該(b)中該可活化之抗體在
活化狀態下與標靶結合，該方法包含：

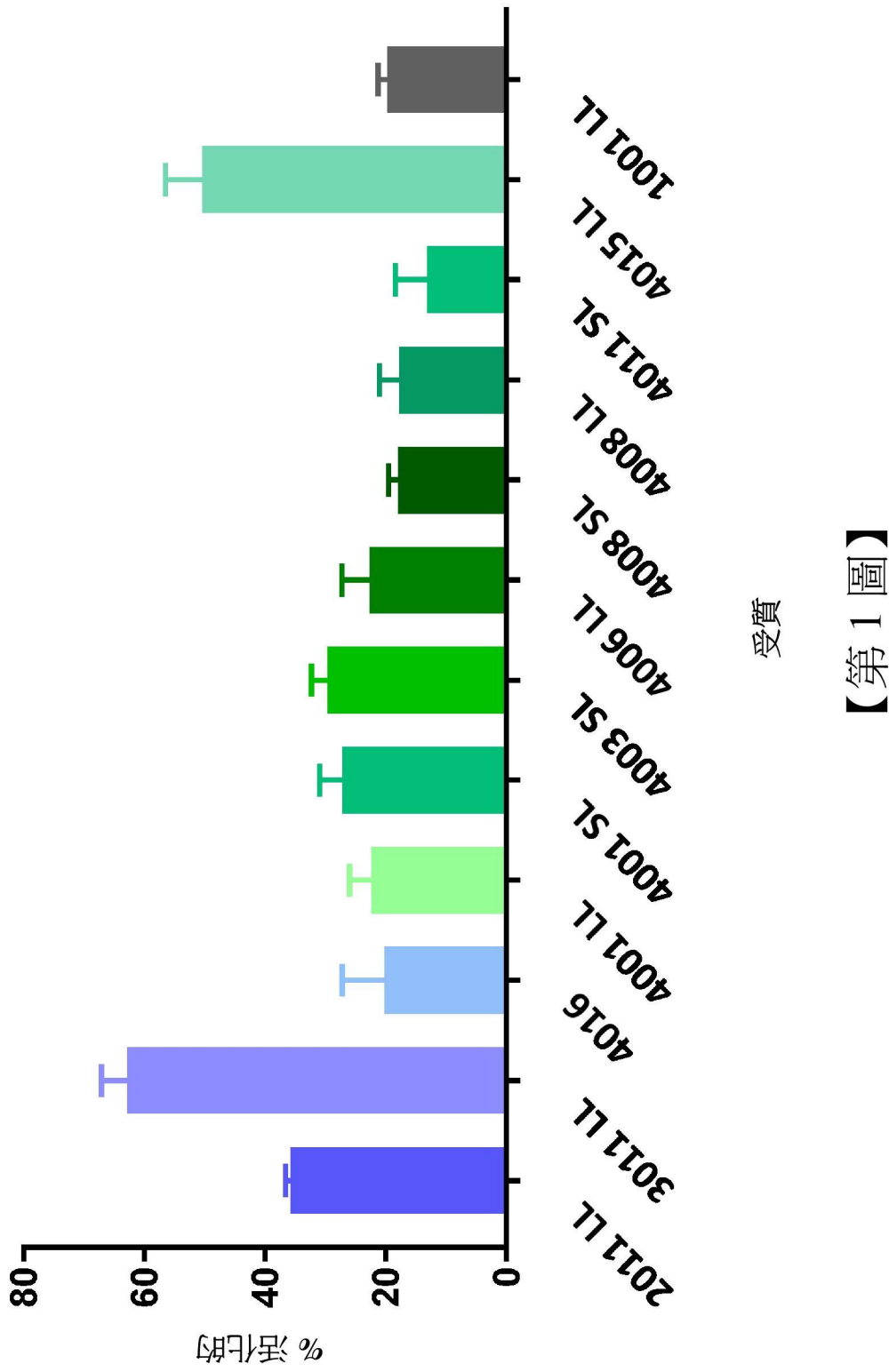
(1)培養包含核酸構建體之細胞，該核酸構建體編碼
如請求項9至14中任一項之可活化之抗體；和

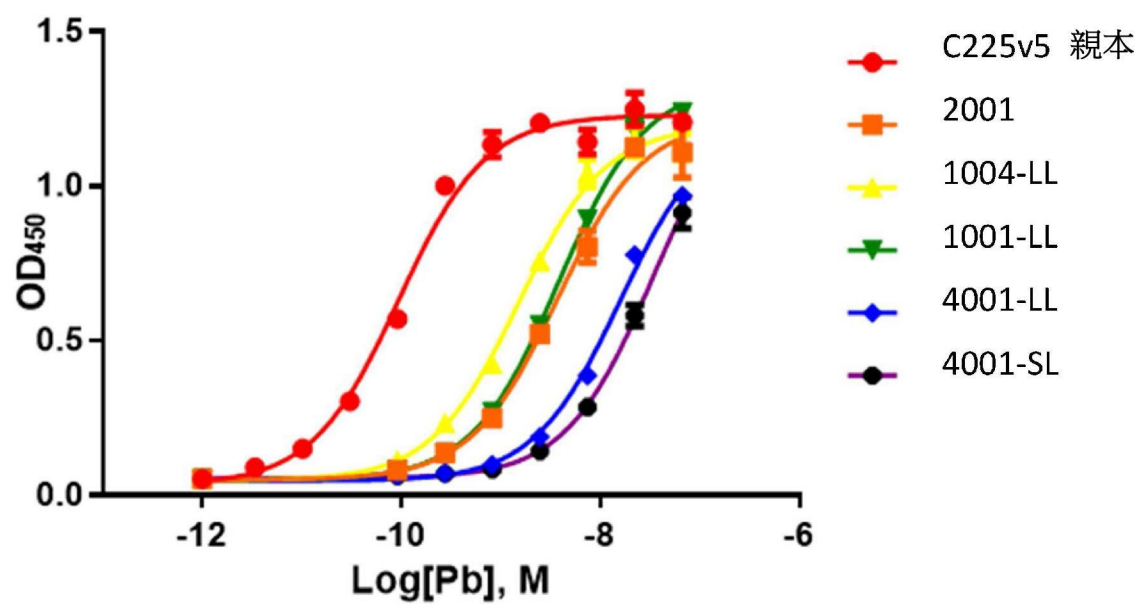
(2)回收該可活化之抗體。

【請求項21】一種如請求項1至7中任一項之經分離之多肽、如請求項8之經軛合之多肽、如請求項9至14中任一項之可活化之抗體、如請求項15至16中任一項之經軛合之可活化之抗體或如請求項17之醫藥組成物於製造藥物之用途，該藥物係用於治療病症或疾病、緩解該病症或疾病之症狀或延緩該病症或疾病之進展，其中該病症或疾病為發炎性疾病、自體免疫疾病或癌症。

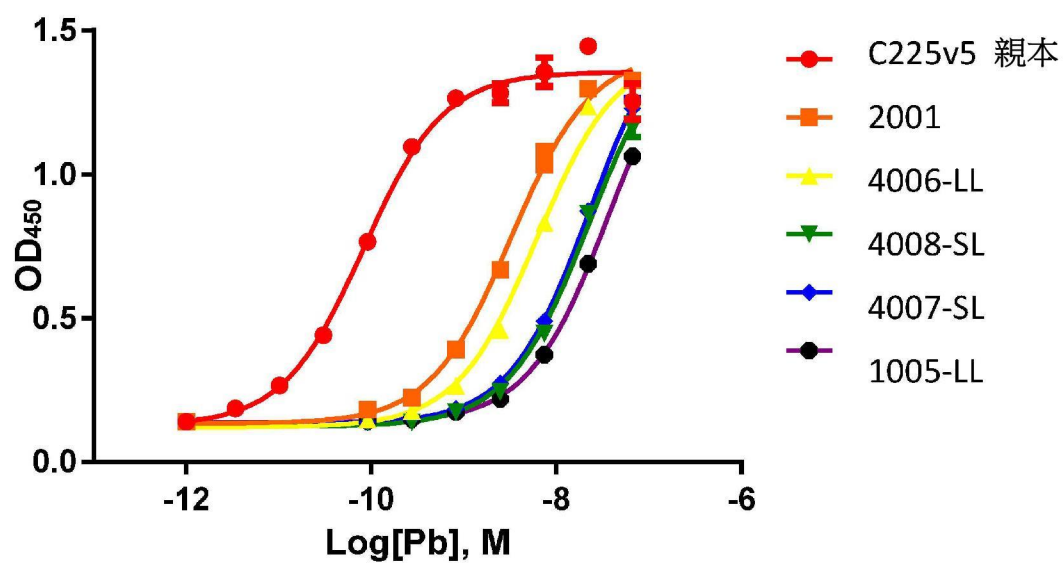
【請求項22】如請求項21之用途，其包含(a)如請求項1至7中任一項之經分離之多肽、如請求項8之經軛合之多肽、如請求項9至14中任一項之可活化之抗體、如請求項15至16中任一項之經軛合之可活化之抗體或如請求項17之醫藥組成物和(b)另外之作用劑於製造藥物之用途。

【發明圖式】

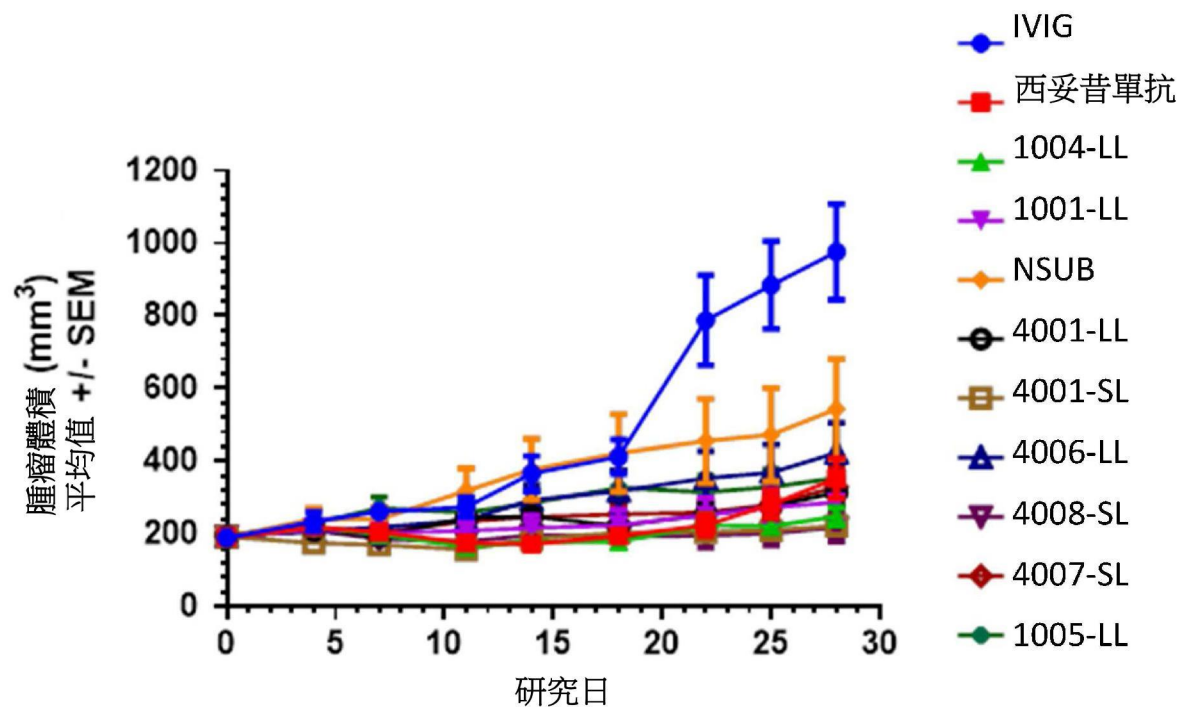




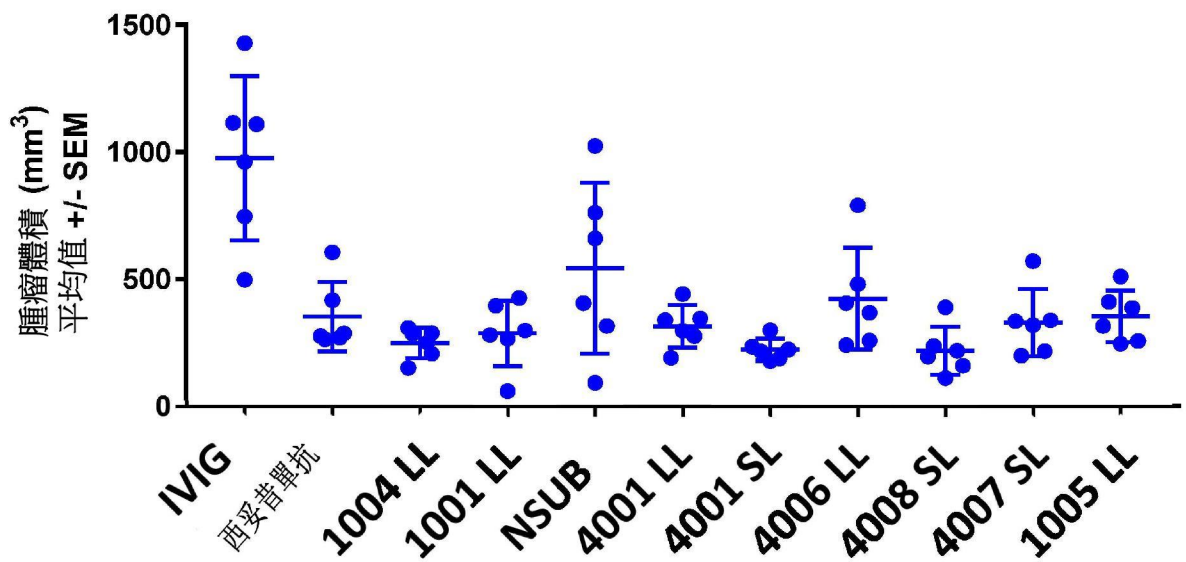
【第 2A 圖】



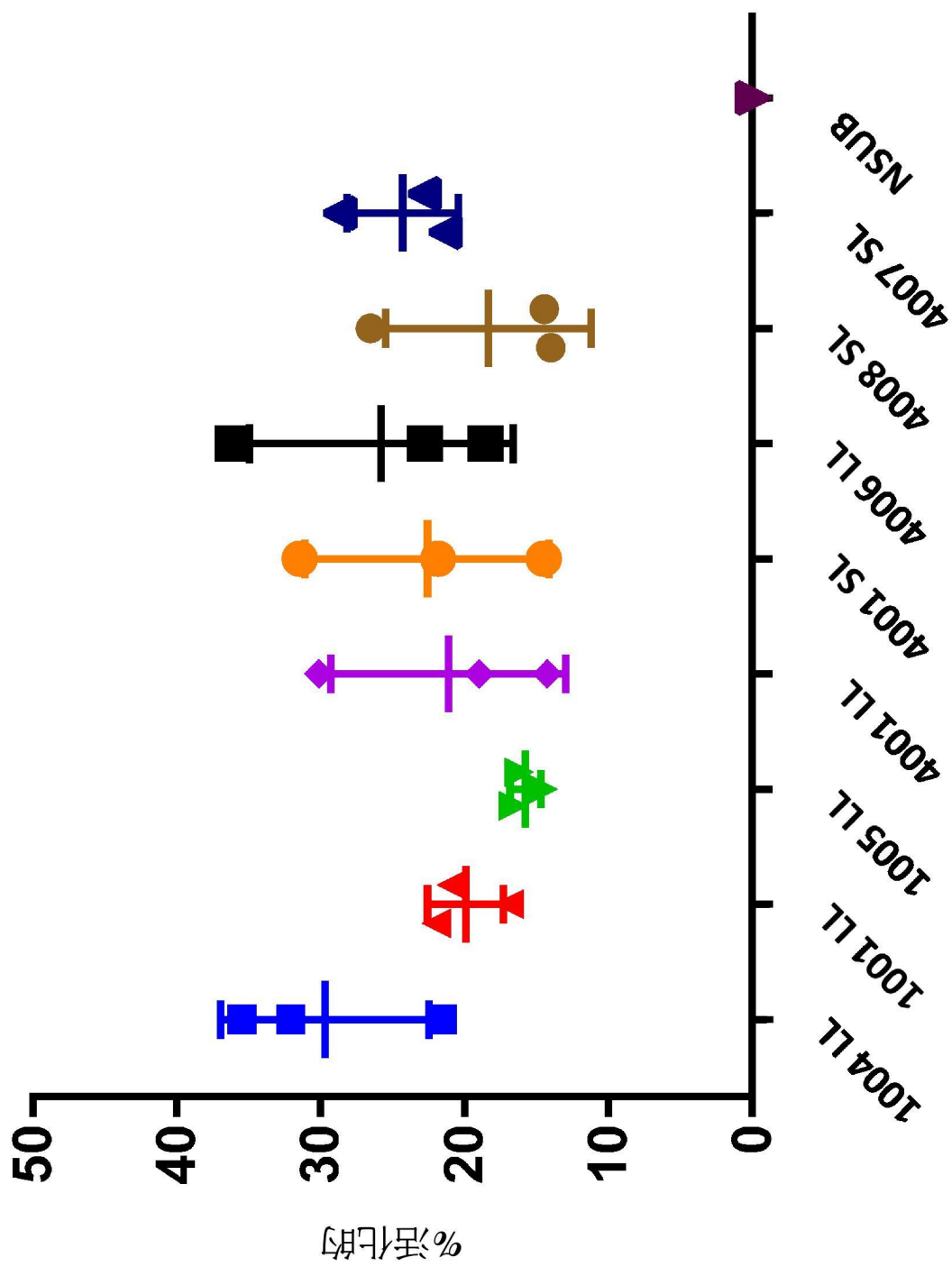
【第 2B 圖】



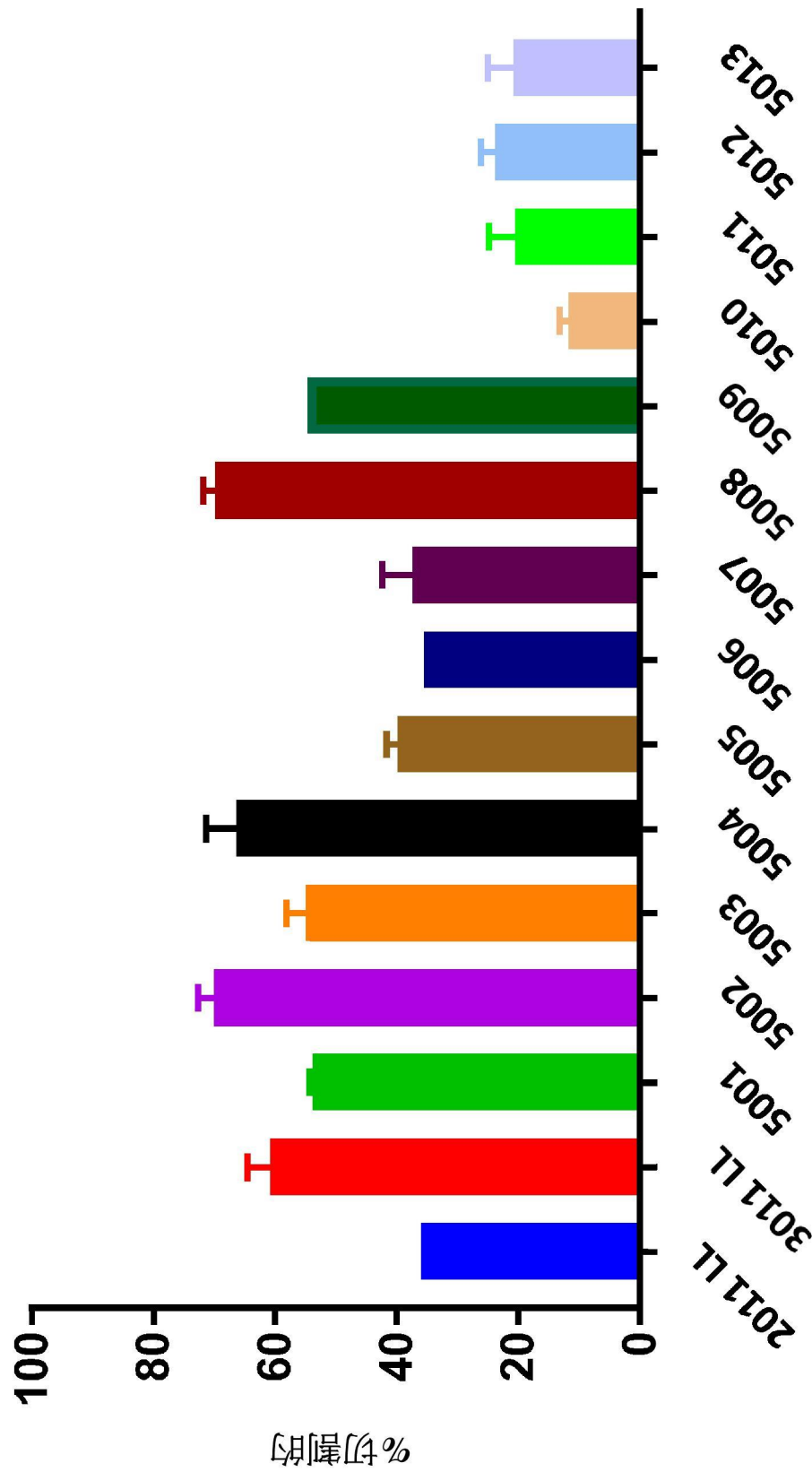
【第 3A 圖】



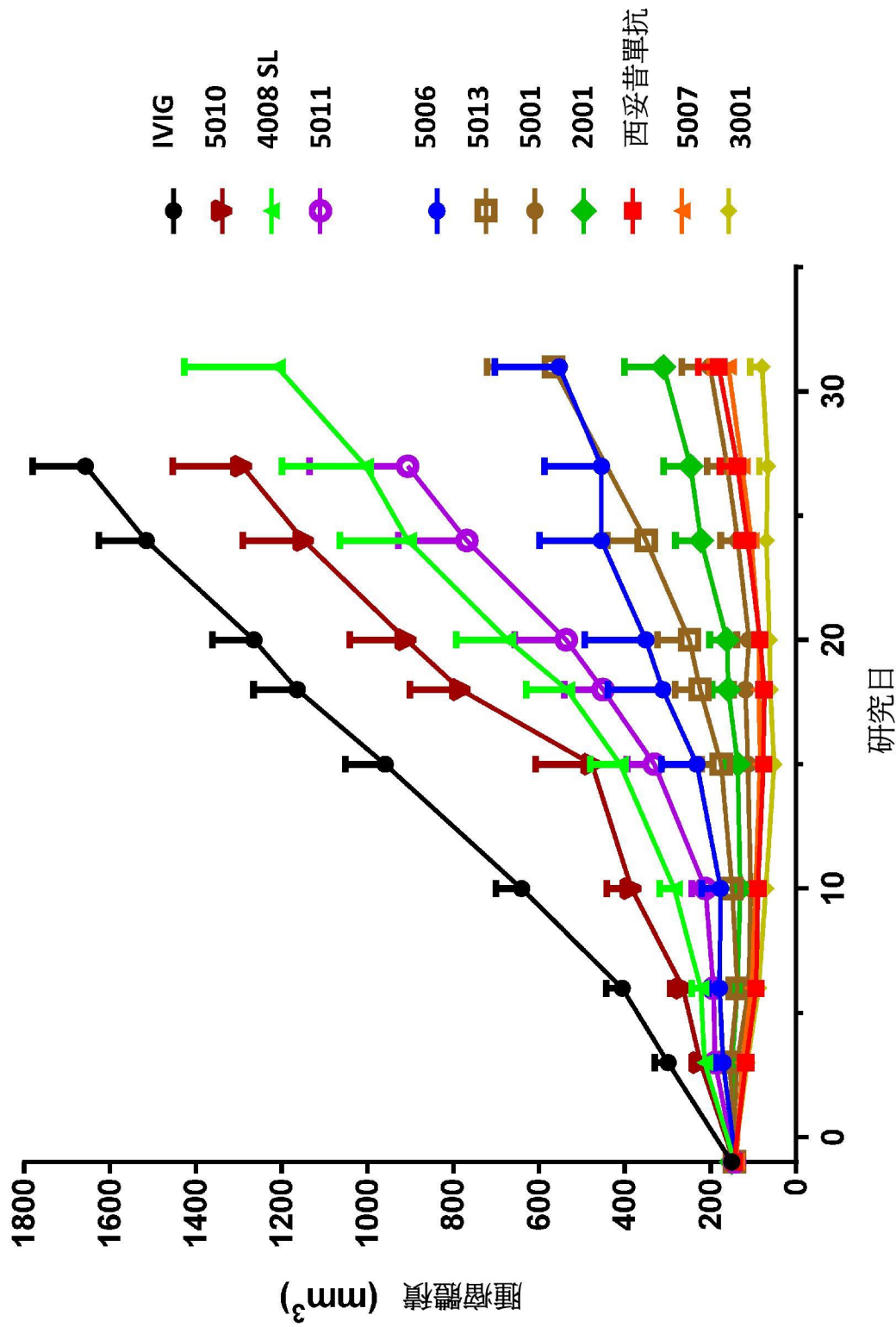
【第 3B 圖】



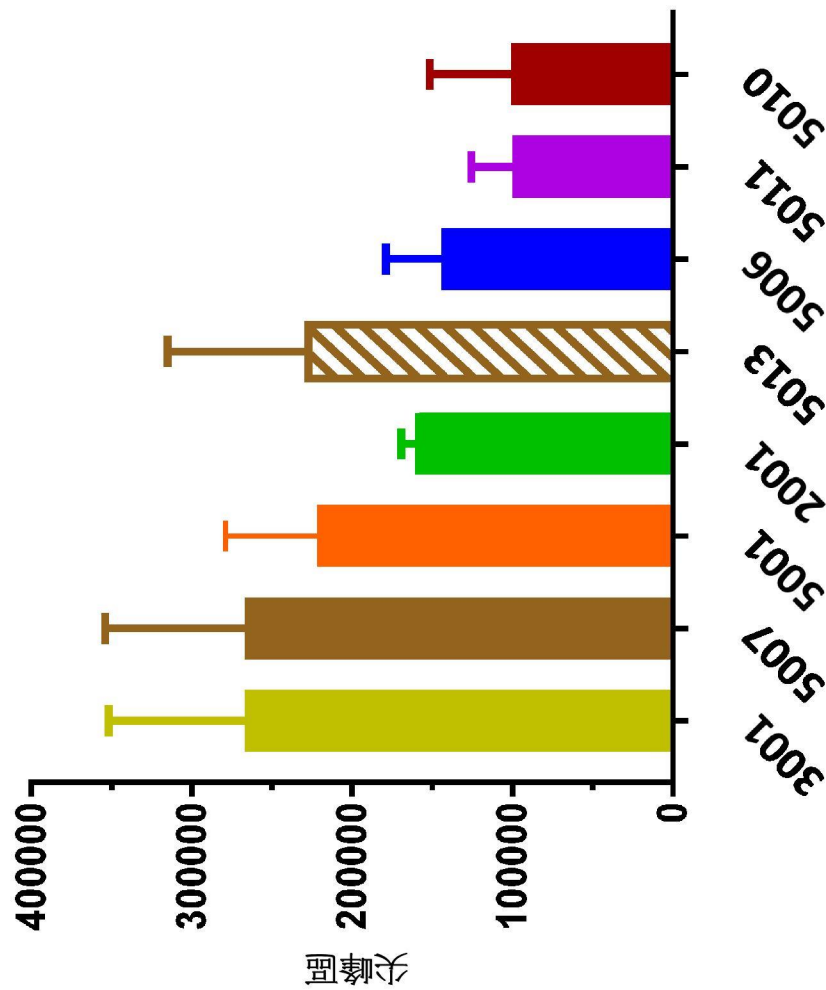
【第4圖】



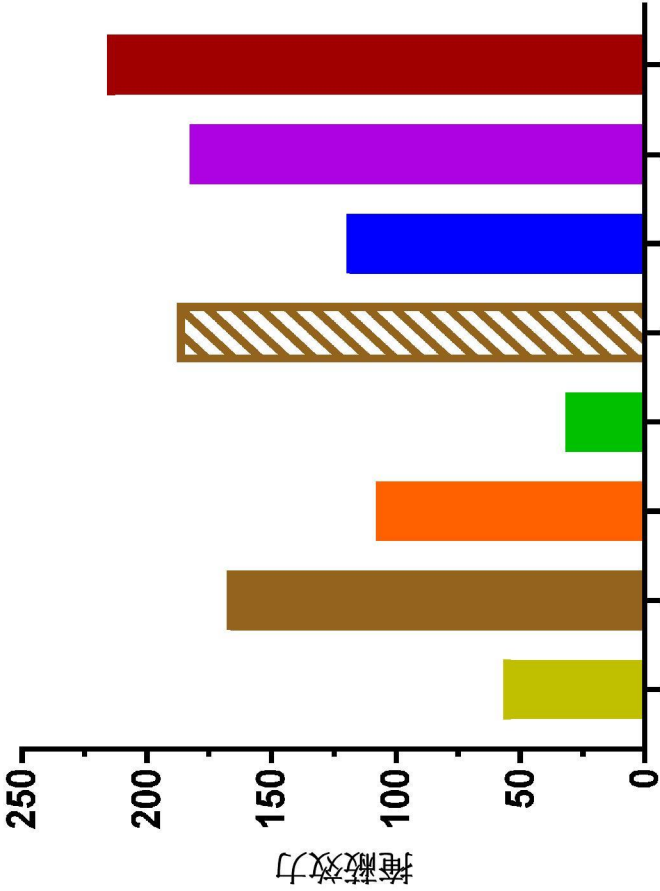
【第 5 圖】



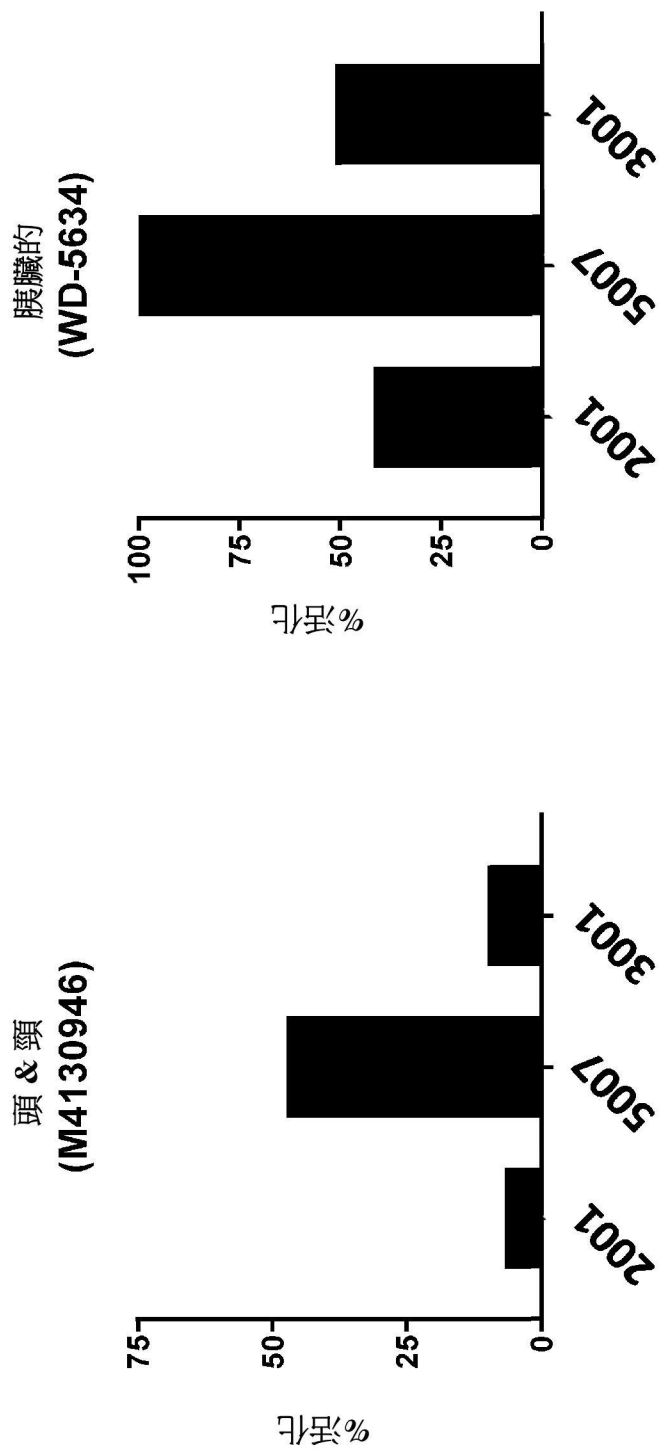
【第6圖】



【第 7 圖】



【第 8 圖】



【第 9 圖】