202405007

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202405007 A

(43)公開日： 中華民國 113 (2024) 年 02 月 01 日

(21)申請案號：112114052 (22)申請日： 中華民國 112 (2023) 年 04 月 14 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/24 (2006.01)* *A61K47/61 (2017.01)*
A61P19/00 (2006.01) *A61P27/02 (2006.01)*

(30)優先權：2022/04/15 美國 63/331,534

(71)申請人：美商瓦利托爾有限公司 (美國) VALITOR, INC. (US)
美國

(72)發明人：傑克森 衛斯理 M JACKSON, WESLEY M. (US)；妥艾特 愛咪 A TWITE, AMY A. (US)；巴尼貝 亞當 BARNEBEY, ADAM (US)；布里兒 立維雅 W BRIER, LIVIA W. (US)；麥法蘭德 傑西 M MCFARLAND, JESSE M. (US)

(74)代理人：陳長文；張哲倫；李協書

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：47 項 圖式數：18 共 268 頁

(54)名稱

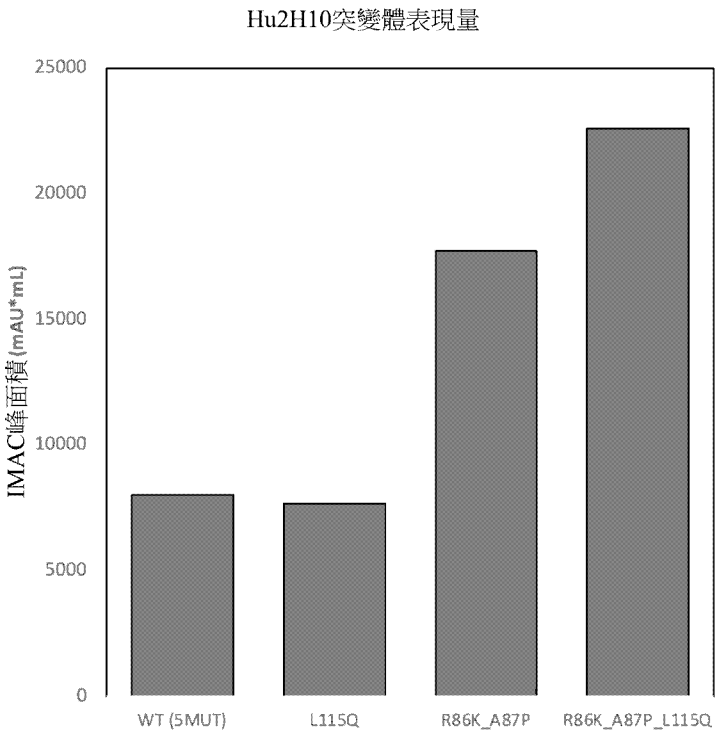
人類化多價蛋白質結合物

(57)摘要

本發明係關於肽序列，該等肽序列具有高度人源化及/或能夠在培養基(諸如在大腸桿菌)中以可觀之水平表現。該等肽可經由α螺旋肽連接子共價附接至聚合物主鏈。本發明進一步關於製備該等肽之方法、包含該等肽之聚合物結合物及其醫藥組合物。

The present invention relates to peptide sequences having a high degree of humanness and/or the ability to be expressed in appreciable levels in culture media, such as in E. coli. The peptides can be covalently attached via an alpha-helical peptide linker to a polymer backbone. The invention further relates to methods of preparing the peptides, polymer conjugates comprising the peptides, and pharmaceutical compostions thereof.

指定代表圖：



【圖3】

特徵化學式：

$$FR1\text{-}CDR1\text{-}FR2\text{-}CDR2\text{-}FR3\text{-}CDR3\text{-}FR4 \quad (I)$$

20240905007
專利案號：112114052
20240905007

【發明摘要】

【中文發明名稱】

人類化多價蛋白質結合物

【英文發明名稱】

HUMANIZED MULTIVALENT PROTEIN CONJUGATES

【中文】

本發明係關於肽序列，該等肽序列具有高度人源化及/或能夠在培養基(諸如在大腸桿菌)中以可觀之水平表現。該等肽可經由α螺旋肽連接子共價附接至聚合物主鏈。本發明進一步關於製備該等肽之方法、包含該等肽之聚合物結合物及其醫藥組合物。

【英文】

The present invention relates to peptide sequences having a high degree of humanness and/or the ability to be expressed in appreciable levels in culture media, such as in *E. coli*. The peptides can be covalently attached via an alpha-helical peptide linker to a polymer backbone. The invention further relates to methods of preparing the peptides, polymer conjugates comprising the peptides, and pharmaceutical compostions thereof.

【指定代表圖】

圖3

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (I)

【發明說明書】

【中文發明名稱】

人類化多價蛋白質結合物

【英文發明名稱】

HUMANIZED MULTIVALENT PROTEIN CONJUGATES

【技術領域】

【先前技術】

【0001】 使用生物聚合物來改變生物活性劑之特性為廣泛範圍之醫療及生物應用中之反覆出現的主題。可使用多種化學連接子將生物活性肽或蛋白質附接至生物聚合物以改變所得結合物之藥理學特性，以用作可提供對特定疾病之最佳治療的藥物。已採用包含與單一生物聚合物鏈結合之一或多種肽物種的多個複本的肽-聚合物結合物向肽之藥理學特性賦予特定改良，包括：(1)與生物目標之較高結合親和力；(2)通過目標組織之較慢擴散性；及(3)對可能使肽或蛋白質之生物活性去活化之蛋白酶的抑制。

【0002】 肽-聚合物結合物之此等經改良的藥理學特性尤其適用於直接遞送至患病組織中之強效藥物的遞送。直接遞送至組織中之劑量可低於在全身投與之後達成相同治療效果所需的劑量，因為藥物已局部投與至目標組織。亦有可能向組織投與藥物，不然該等藥物自血液中的輸送特性較差。常見直接藥物投與之組織的特定實例包括經由玻璃體內注射之眼後房及經由關節內注射之關節。

【0003】 然而，局部組織投與需要專業人員安全地提供所需注射，與全身投與相比，此需要使其投與更繁重且成本更高。當肽藥物作為肽-

聚合物結合物之一部分投與時，有可能實質上降低藥物投與頻率，藉此減少患者接受有效治療之負擔。此外，局部注射次數減少會降低局部組織損傷或對注射產生不良效應之風險。最後，對頻率較低之投與的需求可減少目標組織中之藥物濃度低於治療濃度的時間量，由此改良藥物之總體功效。基於此等優點，存在強烈動機來研發針對多種疾病之蛋白質-聚合物藥品。

【0004】 許多人類化單株抗體顯示出不良生物物理學特性，諸如低穩定性及聚集傾向。對於人類化抗體片段，此等不利趨勢甚至可能更明顯，此通常需要相當大程度之修飾。

【0005】 為了適當調配肽-聚合物結合物作為藥品，有必要達成足夠高之藥物濃度以使得能夠對患者適當給藥。亦有必要例如藉由能夠自製造日期至臨床使用日期在溶液中保持至多兩年，來製備展現高生物活性及貯藏穩定性之經純化的肽-聚合物結合物。肽-聚合物結合物之間的相互作用可能不利地影響完成此等藥物賦能特性中之任一者的能力。

【0006】 在與聚合物附接中使用之肽的人源化程度及肽連接子之二級結構可能對結合物之藥理學特性、結合物內相互作用以及結合物與結合物之間的相互作用產生實質性影響。因此，需要研發具有特定肽連接子之人類化肽-聚合物結合物，該等特定肽連接子將使得該等結合物能夠實現針對給定疾病之較佳藥理學特性以及能夠將該等結合物成功調配成藥品。本發明滿足此需求及其他需求。

【發明內容】

【0007】 在一些實施例中，本發明之肽為具有式(I)之肽：

CDR1、CDR2及CDR3各自獨立地為互補決定區；

FR1具有包含

$X^{10}VQLX^{11}EX^{12}GGGX^{13}X^{14}QX^{15}GX^{16}SLRLSCX^{17}X^{18}SG$ (SEQ ID NO: 1)之胺基酸序列，

其中

X^{10}為Q、E或D，

X^{11}為V、Q、A或E，

X^{12}為S或T，

X^{13}為L、S或V，

X^{14}為V或A，

X^{15}為P、A或T，

X^{16}為G、D或R，

X^{17}為A、V、T或E，且

X^{18}為A或V；

FR2具有包含$X^{20}X^{21}WX^{22}RQX^{23}PGKX^{24}X^{25}EX^{26}VX^{27}X^{28}I$ (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列，

其中

X^{20}為M、I、V或L，

X^{21}為G、S或A，

X^{22}為F、Y或V，

X^{23}為A、V、P或T，

X^{24}為E、G、A或Q，

X^{25}為R或L，

X^{26}為F、G、W或L，

X^{27}為A、G或S，且

X^{28}為A、S或G；

FR3具有包含

$YX^{30}DSVKGRFTISX^{31}DX^{32}X^{33}KX^{34}X^{35}VX^{36}LQMX^{37}X^{38}LRX^{39a}EDTAX^{39b}YYCAA$ (SEQ ID NO: 3)之胺基酸序列，

其中

X^{30}為A、G、S或T，

X^{31}為R或Q，

X^{32}為N、S或D，

X^{33}為S、A或D，

X^{34}為N或K，

X^{35}為T或M，

X^{36}為Y、D或S，

X^{37}為N或D，

X^{38}為S或N，

X^{39a}為P或A，且

X^{39b}為V、M、L或I；

且

FR4具有包含以下之胺基酸序列：

$YWGX^{40}GTX^{41}VTVSS$ (SEQ ID NO: 4)，

其中

X^{40}為Q或K，且

X^{41}為L或Q。

【0008】 在一些實施例中，製備本發明之肽的方法包含(a)在第一反應混合物中轉譯編碼細菌中之肽的基因序列；及(b)藉由自第一反應混合物及乙二胺四乙酸(EDTA)形成第二反應混合物來自第一反應混合物中移除內毒素；由此製備肽。

【0009】 在一些實施例中，本發明之結合物為式IIa之結合物：

$$(X^1\text{-}X^2\text{-}Y)_n\text{-}Z \quad (IIa)，$$

其中

各X^1獨立地為依本文所描述之肽；

各X^2獨立地為長度為3至100個胺基酸之肽連接子；

各Y獨立地為有機連接子；

Z為具有約0.1 MDa至約3 MDa之分子量的生物相容性聚合物；且

下標n為1至1500之整數。

【0010】 在一些實施例中，本發明之結合物為式IIb之結合物：

$$(X^1\text{-}X^{2A}\text{-}Y)_n\text{-}Z \quad (IIb)，$$

其中

各X^1獨立地為具有約5 kDa至約200 kDa之分子量的肽；

各X^{2A}獨立地為包含α螺旋之肽連接子；

各Y獨立地為有機連接子；

Z為具有約0.1 MDa至約3 MDa之分子量的生物相容性聚合物；且

下標n為1至1500之整數。

【0011】 在一些實施例中，結合物為式IIa之結合物：

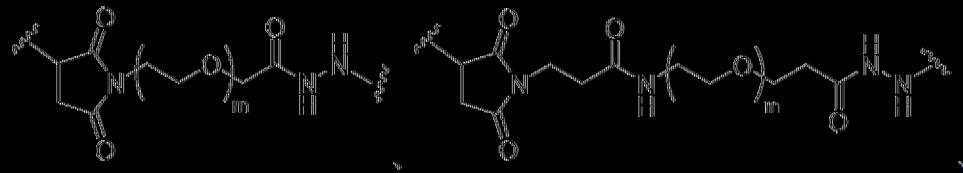
$$(X^1\text{-}X^2\text{-}Y)_n\text{-}Z \quad (IIa)，$$

其中

各X^1獨立地為依本文所描述之肽；

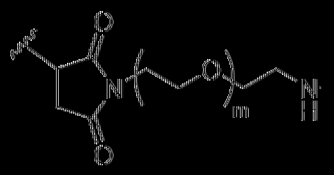
各X^2為具有包含AEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 21)之胺基酸序列的肽連接子；

各Y為具有以下結構之有機連接子：

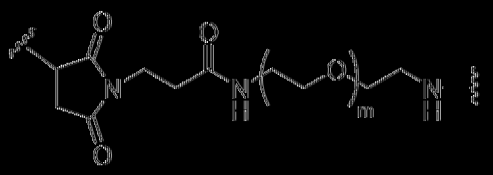


、

、



或



；

Z為生物相容性聚合物，其為具有約0.1 MDa至約3 MDa之分子量的玻尿酸；

下標m為1至300之整數；且

下標n為1至1500之整數。

[0012] 在一典實施例中，本發明之結合物為一種結合物，其為式IIIa之無規聚合物：

$$(X^1\text{-}X^2\text{-}Y\text{-}Z^1)_m\text{-}(Z^2)_p\text{-}(Z^3)_q \quad \text{(IIIa)},$$

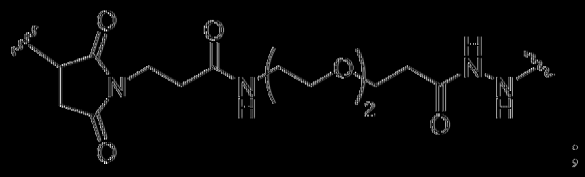
其具有約0.8 MDa之分子量；

其中

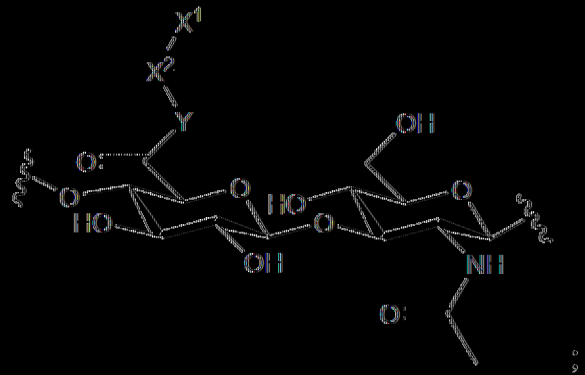
各X^1為具有包含SEQ ID NO: 67之抗VEGF胺基酸序列的肽；

各X^2為具有包含AEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 21)之胺基酸序列的肽連接子；

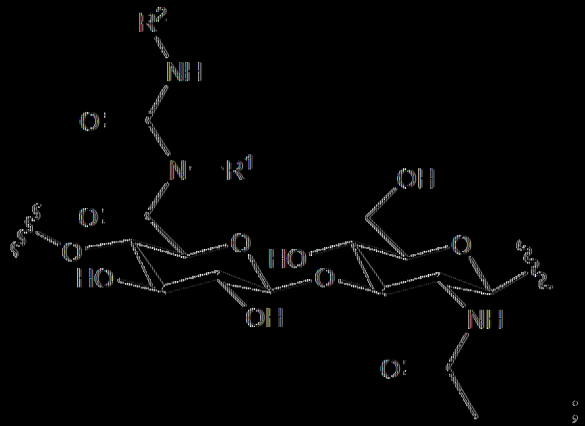
各Y為具有以下結構之有機連接子：



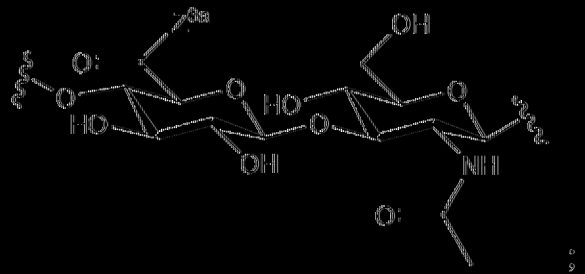
各X^1、X^2、Y、Z^1部分具有以下結構：



各Z^2具有以下結構：

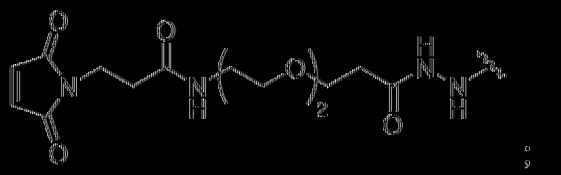


各Z^3獨立地具有以下結構：



各Z^{3a}獨立地為OH或Y'；

各Y'具有以下結構：



各R^1及R^2為乙基或-$(CH_2)_3$-NMe_2；

下標n為10至300之整數，且小於下標n、p及q總和的約10%；

下標p為1至15之整數，且小於下標n、p及q總和的約0.5%；且

下標q為1000至3000之整數。

【0013】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物包含依本文所描述之結合物及醫藥學上可接受之賦形劑。

【0014】 在一些實施例中，本發明之方法為一種治療有需要個體之眼部病症的方法，其包含向該個體投與依本文所描述之結合物。

【0015】 在一些實施例中，本發明之方法為一種治療有需要個體的關節疾病或病症的方法，其包含向該個體投與依本文所描述之結合物。

【圖式簡單說明】

【0016】 圖1A展示了表現開讀框(ORF)。圖1B展示了含有不同肽連接子之Hu2H10或2H10的可溶性表現(mAU*mL)。圖1C展示了藉由Hu2H10_5MUT (SEQ ID NO: 55)、Hu2H10_5MUT_CYS (SEQ ID NO: 141)或Hu2H10_5MUT_aH_CYS (SEQ ID NO: 142)之SDS-PAGE的蛋白質表現。圖1D展示了HuNb42_A88P (SEQ ID NO: 67)或HuNb42_A88P aH_CYS (SEQ ID NO: 145)之可溶性表現(製程產率倍數)。

【0017】 圖2展示了胺基酸序列2H10及點突變變異體。

【0018】 圖3展示了Hu2H10突變體之蛋白質表現。Y軸展示了固定化金屬親和層析(IMAC)峰面積(mAU*mL)。X軸描繪了以下之蛋白質表現：Hu2H10_5MUT（「WT (5MUT)」）(SEQ ID NO: 55)、Hu2H10_5MUT_R86K_A87P（「R86K_A87P」）(SEQ ID NO: 56)、Hu2H10_5MUT_L115Q（「L115Q」）(SEQ ID NO: 57)、

Hu2H10_5MUT_R86K_A87P_L115Q（「R86K_A87P_L115Q」）(SEQ ID NO: 58)。

【0019】 圖4展示了胺基酸序列Nb42及點突變變異體。

【0020】 圖5展示了表現HuNb42及點突變變異體之大腸桿菌(*E. coli*)細胞萃取物的考馬斯亮藍(CBB)染色。

【0021】 圖6展示了細胞質及周質中之HuNb42 (SEQ ID NO: 61)及HuNb42 A88P (SEQ ID NO: 67)點突變變異體之相對大腸桿菌細胞培養物產率。

【0022】 圖7展示了相比於卡帕珠單抗(caplacizumab)、貝伐單抗(bevacizumab)及蘭尼單抗(ranibizumab)，Nb42 (SEQ ID NO: 61)、HuNb42 (SEQ ID NO: 62)及HuNb42_A88P (SEQ ID NO: 67)之相對人源化。

【0023】 圖8展示了在室溫、50℃、60℃、70℃及80℃下表現aTNFaMu (SEQ ID NO: 71)或aTNFaMu_3MUT (SEQ ID NO: 72)之大腸桿菌細胞萃取物的考馬斯亮藍(CBB)染色。

【0024】 圖9展示了E1-1 (SEQ ID NO: 81)及點突變體E1-1 F11L (SEQ ID NO: 82)、E1-1 S49A (SEQ ID NO: 83)、E1-1 F11L/S49A (SEQ ID NO: 84)及E1-1 CDR (SEQ ID NO: 85)之相對蛋白質表現。

【0025】 圖10A展示了在18℃及37℃下誘導之經純化HuNb42蛋白(SEQ ID NO: 62)的考馬斯亮藍(CBB)染色。圖10B展示了在16℃、27℃、30℃及37℃下誘導之經純化Hu2H10_5MUT蛋白(SEQ ID NO: 55)。

【0026】 圖11A展示了HuNb42 A88P (SEQ ID NO: 67)在不使用EDTA處理(「220119」)及使用EDTA處理(「220204」)情況下的兩種製

劑。圖11B展示了在使用EDTA處理以及經由50kDa (「50kDa FT」)或100kDa (「100kDa FT」)聚醚碸膜過濾之前(「輸入」)及之後的TNFα 3MUT (SEQ ID NO:104)之回收率(左)，以及經由50kDa (「50kDa FT」)或100kDa (「100kDa FT」)聚醚碸膜過濾之前(「輸入」)及之後的內毒素水平(右)。圖11C展示了經純化aAng2_D4_aH_CYS (SEQ ID NO: 120)之SDS-PAGE凝膠。

【0027】 圖12展示了藉由方法1 (結合物5、結合物2)及方法5 (結合物3、結合物6、結合物7)製備之DARPin多價蛋白質(MVP)的R_h分佈。使用方法5製備之MVP展現較小MVP半徑。

【0028】 圖13A至圖13B展示了MVP之活性。圖13A展示了針對使用不同中間物及抗VEGF E1-1肽製得之抗VEGF MVP的生物膜層干涉術(BLI) VEGF締合及解離曲線。頂部：方法2結合物10 (K_D=0.123 nM)締合及解離曲線。底部：方法5結合物8 (K_D=0.184 nM)，顯示針對不同濃度之結合物8的基線、締合及解離曲線(x軸：時間(以秒計)，y軸：BLI信號)。兩種結合物均顯示類似的結合動力學曲線及經計算解離常數。圖13B展了示兩種肽相較於對應MVP之VEGF結合親和力(「KD」，nM)。第一個條：未結合之2H10_5MUT_aH_CYS (SEQ ID NO: 142)；第二個條：未結合之HuNb42_A88P_aH_CYS (SEQ ID NO: 145)；第三個條：含有2H10_5MUT_aH_CYS (SEQ ID NO: 142)之MVP；第四個條：含有HuNb42_A88P_aH_CYS (SEQ ID NO: 145)之MVP。

【0029】 圖14展示了在不同老化時間處MVP穩定性樣品之SEC跡線(x軸：滯留時間，y軸：在280 nm處之吸光度)。用使用方法5 (結合物1，頂部)或方法1 (結合物2，底部)合成之中間物製得，在37℃下儲存至多71

天的抗VEGF DARPin MVP之SEC滯留時間變化的實例。使用方法5合成之MVP(頂部)顯示半徑隨著老化之較大損失。

【0030】 圖15展示了使用方法1中間物(結合物2，上線)或方法5中間物(結合物3，下線)製得之DARPin MVP在37℃加速條件下老化28天及32天之後的迴轉半徑變化。

【0031】 圖16展示了使用方法1、方法2或方法5中間物製得之BI VHH抗VEGF MVP在37℃下老化之前及之後的VEGF結合常數(K_D)。截至穩定性研究之第4天，用方法5中間物合成之MVP不再結合VEGF。BLI偵測極限(LOD)為0.001 nM。圖中所列之具有此值的樣品的K_D低於BLI LOD。

【0032】 圖17展示了使用方法1中間物(結合物2，正方形，上線)或方法5中間物(結合物1，三角形，下線)製得的DARPin MVP在37℃加速條件下老化28天及32天之後的締合常數(K_{on})變化。在結合物1中觀測到較低K_{on}以及初始及老化情況下的較慢締合，此表明結合物2之低雜質聚合物正在穩定及增強K_{on}。

【0033】 圖18展示了用方法1中間物合成之VHH及MVP在兔玻璃體內注射後的活體內半衰期延長。結合物12抗TNFα VHH MVP(方法1中間物)在兔玻璃體內藥物動力學(IVT PK)的研究，與未結合物相比半衰期延長>2X。n=3雙眼睛/時間點。所有眼睛均接受50 μg之VHH。

【實施方式】

相關申請案之交叉引用

【0034】 本申請案主張2022年4月15日申請之美國臨時申請案第63/331,534號之優先權，其出於所有目的以全文併入本文中。

序列表

【0035】 隨附序列表中之材料以全文引用之方式特此併入。命名為2023-04-11 Sequence_Listing_ST26 052566-506001WO.xml之隨附檔案係在2023年4月11日創建，且其大小為187,778位元組。

I.綜述

【0036】 本發明提供多價肽-玻尿酸聚合物結合物，其使用肽連接子將各生物活性肽共價連接至聚合物，及該等結合物之製備方法。在一些實施例中，肽連接子為α螺旋。肽已經修飾以提高人源化程度，同時保留穩定性及以可接受水平表現於諸如大腸桿菌之細菌系統中之能力。預期相對應之結合物具有與其他人類化抗體相當的免疫原性。

II.定義

【0037】 除非另外特別指示，否則本文中所使用之所有技術及科學術語均具有與一般熟習本發明所屬技術者通常所理解的含義相同的含義。另外，類似或等效於本文中所描述之方法或材料的任何方法或材料可在實踐本發明時使用。出於本發明之目的，定義以下術語。

【0038】 當「約」在提及值時包括陳述值+/-陳述值之10%。舉例而言，約50%包括45%至55%之範圍，而約20莫耳當量包括18至22莫耳當量之範圍。因此，當提及範圍時，「約」係指該範圍各端之陳述值中之各者+/-該陳述值的10%。舉例而言，約1至約3之比率(重量/重量)包括0.9至3.3之範圍。

【0039】 「烷基」為直鏈或分支鏈飽和單價或二價烴。舉例而言，烷基可具有1至10個碳原子(亦即，C_{1-10}烷基)、或1至8個碳原子(亦即，C_{1-8}烷基)、或1至6個碳原子(亦即，C_{1-6}烷基)、或1至4個碳原子(亦即，

C_{1-4}烷基)。烷基之實例包括(但不限於)甲基(Me、-CH_3)、乙基(Et、-CH_2CH_3)、1-丙基(*n*-Pr、正丙基、-$CH_2CH_2CH_3$)、2-丙基(*i*-Pr、異丙基、-$CH(CH_3)_2$)、1-丁基(*n*-Bu、正丁基、-$CH_2CH_2CH_2CH_3$)、2-甲基-1-丙基(*i*-Bu、異丁基、-$CH_2CH(CH_3)_2$)、2-丁基(*s*-Bu、二級丁基、-$CH(CH_3)CH_2CH_3$)、2-甲基-2-丙基(*t*-Bu、三級丁基、-$C(CH_3)_3$)、1-戊基(正戊基、-$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$)、2-戊基(-$CH(CH_3)CH_2CH_2CH_3$)、3-戊基(-$CH(CH_2CH_3)_2$)、2-甲基-2-丁基(-$C(CH_3)_2CH_2CH_3$)、3-甲基-2-丁基(-$CH(CH_3)CH(CH_3)_2$)、3-甲基-1-丁基(-$CH_2CH_2CH(CH_3)_2$)、2-甲基-1-丁基(-$CH_2CH(CH_3)CH_2CH_3$)、1-己基(-$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$)、2-己基(-$CH(CH_3)CH_2CH_2CH_2CH_3$)、3-己基(-$CH(CH_2CH_3)(CH_2CH_2CH_3)$)、2-甲基-2-戊基(-$C(CH_3)_2CH_2CH_2CH_3$)、3-甲基-2-戊基(-$CH(CH_3)CH(CH_3)CH_2CH_3$)、4-甲基-2-戊基(-$CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)_2$)、3-甲基-3-戊基(-$C(CH_3)(CH_2CH_3)_2$)、2-甲基-3-戊基(-$CH(CH_2CH_3)CH(CH_3)_2$)、2,3-二甲基-2-丁基(-$C(CH_3)_2CH(CH_3)_2$)、3,3-二甲基-2-丁基(-$CH(CH_3)C(CH_3)_3$及辛基(-$(CH_2)_7CH_3$)。

【0040】「環烷基」係指具有3至20個環碳原子(亦即，C_{3-20}環烷基)、例如3至12個環原子、例如3至10個環原子、或3至8個環原子、或3至6個環原子、或3至5個環原子、或3至4個環原子之單飽和或部分不飽和全碳環。術語「環烷基」亦包括多重縮合、飽和及部分不飽和全碳環系統(例如包含2、3或4個碳環之環系統)。因此，環烷基包括多環碳環，諸如雙環碳環(例如，具有約6至12個環碳原子之雙環碳環，諸如雙環[3.1.0]己烷及雙環[2.1.1]己烷)及多環碳環(例如具有至多約20個環碳原子之三環及四環碳環)。多重縮合環系統之環在價數要求允許時可經由稠合、螺環及

橋聯鍵彼此連接。單環環烷基之非限制性實例包括環丙基、環丁基、環戊基、1-環戊-1-烯基、1-環戊-2-烯基、1-環戊-3-烯基、環己基、1-環己-1-烯基、1-環己-2-烯基及1-環己-3-烯基。

【0041】 依本文所用之「有機連接子」係指將肽直接地或間接地共價連接至聚合物之化學部分。適用於本發明之有機連接子可為約100 Da至500 Da。本發明之有機連接子的類型包括但不限於醯亞胺、醯胺、胺、酯、胺基甲酸酯、脲、硫醚、硫代胺基甲酸酯、硫代碳酸酯及硫脲。熟習此項技術者應瞭解，其他類型之有機連接子適用於本發明中。

【0042】 「硫醇」係指-SH官能基。

【0043】 「硫醇反應基」係指能夠與硫醇反應以形成鍵結至硫原子之共價鍵的基團。代表性硫醇反應基包括但不限於硫醇、TNB-硫醇、鹵乙醯基、氮丙啶、丙烯醯基、乙烯碸、APN (3-芳基丙炔腈)、順丁烯二醯亞胺及吡啶基二硫化物。硫醇反應基與硫醇之反應可形成二硫化物或硫醚。

【0044】 依本文所用，「偶合劑」係指實現羧酸(-(C=O)-OH)與胺($-NH_2$)基之間的反應以形成醯胺(-(C=O)-NH-)的試劑。

【0045】 「肽」、「多肽」及「蛋白質」在本文中可互換使用，且係指任何長度之天然存在及合成的胺基酸，以及以類似於天然存在之胺基酸的方式起作用之胺基酸類似物及胺基酸模擬物。術語「肽」包括融合蛋白，該等融合蛋白包括但不限於具有異源胺基酸序列之融合蛋白、具有異源及同源前導序列之融合物，無論其是否具有N端甲硫胺酸殘基；經免疫標記之蛋白質；及其類似物。肽進一步包括轉譯後修飾之肽。

【0046】 依本文所用，「VHH」係指單域重鏈抗體。

【0047】「DARPin」係指經設計之錨蛋白重複蛋白質，其為可展現高度特異性及高親和力目標蛋白結合之經基因工程改造的抗體模擬物蛋白質。

【0048】「α螺旋(alpha-helix/α-helix)」為蛋白質之二級結構中的常見模體且為右旋螺旋構形，其中每個主鏈N−H基團氫鍵結至沿蛋白質序列位於四個殘基之前的胺基酸之主鏈C=O基團。α螺旋亦稱為典型Pauling-Corey-Branson α螺旋，或3.6_{13}-螺旋，其指示每螺旋轉角殘基之平均數目(3.6)，其中13個原子參與由氫鍵形成之環。含有α螺旋之肽稱為α螺旋。此類肽可部分或完全為α螺旋。依此項技術中所理解，α螺旋具有至少四個胺基酸殘基。在一些實施例中，α螺旋具有4至40個胺基酸。

【0049】亦提供本文所描述之肽或結合物的醫藥學上可接受之鹽。「醫藥學上可接受」或「生理學上可接受」係指化合物、鹽、組合物、劑型及其他物質適用於製備適用於獸醫學或人類醫藥用途之醫藥組合物。

【0050】依本文所用，「醫藥組合物」係指包含規定量之規定成分的產物，以及直接或間接自規定量之規定成分之組合產生的任何產物。該醫藥組合物對於生物用途通常為安全的。

【0051】依本文所用，「醫藥學上可接受之賦形劑」係指有助於投與活性劑以被個體吸收的物質。適用於本發明的醫藥學上可接受之賦形劑包括但不限於黏合劑、填充劑、崩解劑、潤滑劑、包衣、甜味劑、調味劑及著色劑(color)。熟習此項技術者將認識到，其他醫藥學上可接受之賦形劑適用於本發明。

【0052】本文中所描述之結合物可製備及/或調配為醫藥學上可接受之鹽或在適當時製備及/或調配為游離鹼。醫藥學上可接受之鹽為具有游

離鹼之所需藥理學活性的化合物之游離鹼形式之無毒鹽。此等鹽可衍生自無機或有機酸或鹼。舉例而言，含有鹼性氮之結合物可藉由使化合物與無機酸或有機酸接觸來製備為醫藥學上可接受之鹽。醫藥學上可接受之鹽之非限制性實例包括硫酸鹽、焦硫酸鹽、硫酸氫鹽、亞硫酸鹽、亞硫酸氫鹽、磷酸鹽、磷酸單氫鹽、磷酸二氫鹽、偏磷酸鹽、焦磷酸鹽、氯化物、溴化物、碘化物、乙酸鹽、丙酸鹽、癸酸鹽、辛酸鹽、丙烯酸鹽、甲酸鹽、異丁酸鹽、己酸鹽、庚酸鹽、丙炔酸鹽、草酸鹽、丙二酸鹽、丁二酸鹽、辛二酸鹽、癸二酸鹽、反丁烯二酸鹽、順丁烯二酸鹽、丁炔-1,4-二酸鹽、己炔-1,6-二酸鹽、苯甲酸鹽、氯苯甲酸鹽、甲基苯甲酸鹽、二硝基苯甲酸鹽、羥基苯甲酸鹽、甲氧基苯甲酸鹽、鄰苯二甲酸鹽、磺酸鹽、甲基磺酸鹽、丙基磺酸鹽、苯磺酸鹽、二甲苯磺酸鹽、萘-1-磺酸鹽、萘-2-磺酸鹽、苯乙酸鹽、苯丙酸鹽、苯丁酸鹽、檸檬酸鹽、乳酸鹽、γ-羥丁酸鹽、乙醇酸鹽、酒石酸鹽及扁桃酸鹽。其他適合的醫藥學上可接受之鹽的清單見於Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第21版, Lippincott Wiliams and Wilkins, Philadelphia, Pa., 2006中。

【0053】 本文所揭示之結合物的「醫藥學上可接受之鹽」的實例亦包括衍生自適合之鹼，諸如鹼金屬(例如鈉、鉀)、鹼土金屬(例如鎂)、銨及NR_4^+ (其中R為C_1-C_4烷基)的鹽。亦包括諸如鈉鹽或鉀鹽之鹼加成鹽。

【0054】 依本文所用，「治療有效量」係指產生投與其所達成之治療作用的劑量。精確劑量將取決於治療之目的，且將可由熟習此項技術者使用已知技術來確定(參見例如Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (第1卷至第3卷, 1992)；Lloyd, *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding* (1999)；Pickar, *Dosage Calculations*

(1999)；及*Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 第20版, 2003, Gennaro編, Lippincott, Williams & Wilkins)。在敏化細胞中，治療有效劑量可小於用於非敏化細胞之習知治療有效劑量。

【0055】 依本文所用，「抑制(inhibition/inhibit)」及「抑制劑」係指禁止特定行為或功能之化合物或禁止特定行為或功能之方法。

【0056】 依本文所用，「治療(treatment/treat/treating)」係指用於獲得有益或所需結果的方法。出於本發明之目的，有益或所需結果包括但不限於症狀緩解及/或症狀程度減輕及/或預防與疾病或病狀相關之症狀的惡化。在一個實施例中，「治療」包括以下中之一或多者：a)抑制疾病或病狀(例如減少一或多種由疾病或病狀導致之症狀，及/或減弱疾病或病狀之程度)；b)減緩或遏制一或多種疾病或病狀相關症狀之發展(例如使疾病或病狀穩定，延緩疾病或病狀之惡化或進展)；及c)緩解疾病或病狀，例如使臨床症狀消退，改善疾病狀態，延緩疾病進展，提高生活品質及/或延長存活期。

【0057】 「預防」係指阻止或延遲罹患疾病之患者的臨床疾病之發展。

【0058】 本發明之「個體」為哺乳動物，其可為人類或非人類哺乳動物，例如伴侶動物，諸如狗、貓、大鼠或其類似者，或家畜，諸如馬、驢、騾、山羊、綿羊、豬或牛及其類似者。在一些實施例中，個體為人類。

【0059】 依本文所用，「關節」係指纖維或軟骨關節，其為其中兩個或更多個骨骼彼此連接之纖維或軟骨區域。

【0060】 依本文所用，「擴散半衰期」係指在給定體積或空間內結

合物之初始濃度減小一半所花費的時間，其中濃度的減小為濃度梯度的函數。

【0061】 依本文所用，「關節內半衰期」係指在特定關節內結合物之初始濃度減小一半所花費的時間，其中離開關節之輸送係經由對流進行。對流輸送係經由擴散輸送及經由平流輸送之組合，其中平流輸送為藉由整體運動輸送物質。

III.肽

【0062】 在一些實施例中，本發明之肽提供相對於此項技術中之比較肽的優勢，例如較高人源化程度、較大溶解性、較大穩定性、較低在溶液中聚集之傾向及/或在諸如大腸桿菌之可行系統中的較高表現量。

【0063】 在一些實施例中，肽為具有式(I)之肽：

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (I)，

CDR1、CDR2及CDR3各自獨立地為互補決定區；

FR1具有包含

X^{10}VQLX^{11}EX^{12}GGG$X^{13}X^{14}$QX^{15}GX^{16}SLRLSC$X^{17}X^{18}$SG (SEQ ID NO: 1)之胺基酸序列，

其中

X^{10}為Q、E或D，

X^{11}為V、Q、A或E，

X^{12}為S或T，

X^{13}為L、S或V，

X^{14}為V或A，

X^{15}為P、A或T，

X^{16}為G、D或R，

X^{17}為A、V、T或E，且

X^{18}為A或V；

FR2具有包含$X^{20}X^{21}WX^{22}RQX^{23}PGKX^{24}X^{25}EX^{26}VX^{27}X^{28}I$ (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列，

其中

X^{20}為M、I、V或L，

X^{21}為G、S或A，

X^{22}為F、Y或V，

X^{23}為A、V、P或T，

X^{24}為E、G、A或Q，

X^{25}為R或L，

X^{26}為F、G、W或L，

X^{27}為A、G或S，且

X^{28}為A、S或G；

FR3具有包含

$YX^{30}DSVKGRFTISX^{31}DX^{32}X^{33}KX^{34}X^{35}VX^{36}LQMX^{37}X^{38}LRX^{39a}EDTAX^{39b}YYCAA$ (SEQ ID NO: 3)之胺基酸序列，

其中

X^{30}為A、G、S或T，

X^{31}為R或Q，

X^{32}為N、S或D，

X^{33}為S、A或D，

X^{34}為N或K，

X^{35}為T或M，

X^{36}為Y、D或S，

X^{37}為N或D，

X^{38}為S或N，

X^{39a}為P或A，且

X^{39b}為V、M、L或I；且

FR4具有包含YWGX^{40}GTX^{41}VTVSS (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列，

其中

X^{40}為Q或K，且

X^{41}為L或Q。

【0064】在一些實施例中，X^{13}為L。

【0065】在一些實施例中，X^{27}為A。

【0066】在一些實施例中，X^{30}為A。

【0067】在一些實施例中，X^{39a}為P。

【0068】在一些實施例中，X^{40}為Q。

【0069】在一些實施例中，FR1具有包含QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列。

【0070】在一些實施例中，FR2具有包含MGWFRQAPGKEREFVAAI (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列。

【0071】在一些實施例中，FR3具有包含YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA (SEQ ID

NO: 7)之胺基酸序列。

【0072】在一些實施例中，FR4具有包含YWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列。

【0073】在一些實施例中，FR1具有包含QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；

FR2具有包含MGWFRQAPGKEREFVAAI (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列；

FR3具有包含

YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列；且

FR4具有包含YWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列。

【0074】在一些實施例中，CDR1、CDR2及CDR3各自為來自抗體或細胞介素之互補決定區。在一些實施例中，該抗體為單株IgG、IgG片段、單鏈scFv、單域重鏈VHH、阿德奈汀(adnectin)、親和抗體、安替克林(anticalin)、DARPin或經工程改造之Kunitz型抑制劑。在一些實施例中，該等互補決定區各自對以下具有特異性：血管內皮生長因子(VEGF)、腫瘤壞死因子-α (TNF-α)、程序性細胞死亡蛋白1 (PD-1)、程序性死亡配體-1 (PD-L1)、細胞毒性T淋巴球相關蛋白4 (CTLA4)、分化簇40 (CD40)、分化簇134 (CD134)、分化簇137 (CD137)、糖皮質素誘導之腫瘤壞死因子受體相關蛋白(GITR)、T細胞活化免疫球蛋白抑制因子V域(VISTA)、含T細胞免疫球蛋白及黏蛋白域之蛋白3 (TIM-3)、淋巴球活化3 (LAG3)、介白素-1-β (IL-1β)、介白素-6 (IL-6)、介白素-10 (IL-10)、介白素-12 (IL-12)或介白素-15 (IL-15)。在一些實施例中，該等互補決定

區各自對血管內皮生長因子(VEGF)具有特異性。

【0075】 在一些實施例中，肽由式I組成。

【0076】 在一些實施例中，肽具有以下中之一或多者：(a)長度為7個胺基酸之CDR1；(b)長度為7或8個胺基酸之CDR2；及/或(c)長度為9至16個胺基酸之CDR3。

【0077】 在肽之一些實施例中，(a) CDR1具有包含FAYSTYS (SEQ ID NO: 9),之胺基酸序列，CDR2具有包含NSGTFRLW (SEQ ID NO: 10)之胺基酸序列，且CDR3具有包含RAWSPYSSTVDAGDFR (SEQ ID NO: 11)之胺基酸序列；或

(b) CDR1具有包含RRFSIEA (SEQ ID NO: 12)之胺基酸序列，CDR2具有包含DSGGSTD (SEQ ID NO: 13)之胺基酸序列，且CDR3具有包含IGGSWYGRGLD (SEQ ID NO: 14)之胺基酸序列；或

(c) CDR1具有包含GTFSSII (SEQ ID NO: 15)之胺基酸序列，CDR2具有包含SWSGGTTV (SEQ ID NO: 16)之胺基酸序列，且CDR3具有包含RPYQKYNWASASYNV (SEQ ID NO: 17)之胺基酸序列；或

(d) CDR1具有包含GGSDAGT (SEQ ID NO: 18)之胺基酸序列，CDR2具有包含SWAGTAWR (SEQ ID NO: 19)之胺基酸序列，且CDR3具有包含LGSYEMDHH (SEQ ID NO: 20)之胺基酸序列。

【0078】 在一些實施例中，胺基酸序列包含SEQ ID NO: 51-58、61-73、81-85、91-98、101-109、111-131及141-170中之任一者。在一些實施例中，肽具有包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列。在一些實施例中，肽具有包含SEQ ID NO: 67之胺基酸序列。在一些實施例中，肽具有包含SEQ ID NO: 142之胺基酸序列。在一些實施例中，肽具有包含SEQ

ID NO: 145之胺基酸序列。

【0079】 在一些實施例中，胺基酸序列包含SEQ ID NO: 51-58、61-73、81-85、91-95、101-106及111-118中之任一者。在一些實施例中，肽具有包含SEQ ID NO: 73、81、91及92中之任一者的胺基酸序列。在一些實施例中，肽具有包含SEQ ID NO: 101-106中之任一者的胺基酸序列。在一些實施例中，肽具有包含SEQ ID NO: 67之胺基酸序列。

IV.結合物

【0080】 在一些實施例中，結合物為式IIa之結合物：

$$(X^1\text{-}X^2\text{-}Y)_n\text{-}Z \text{ (IIa)}，$$

其中

各X^1獨立地為依本文所描述之肽；

各X^2獨立地為長度為3至100個胺基酸之肽連接子；

各Y獨立地為有機連接子；

Z為具有約0.1 MDa至約3 MDa之分子量的生物相容性聚合物；且

下標n為1至1500之整數。

【0081】 在一些實施例中，結合物為式IIb之結合物：

$$(X^1\text{-}X^{2A}\text{-}Y)_n\text{-}Z \text{ (IIb)}，$$

其中

各X^1獨立地為具有約5 kDa至約200 kDa之分子量的肽；

各X^{2A}獨立地為包含α螺旋之肽連接子；

各Y獨立地為有機連接子；

Z為具有約0.1 MDa至約3 MDa之分子量的生物相容性聚合物；且

下標n為1至1500之整數。

【0082】 在一些實施例中，各X^1獨立地為本發明之肽。

【0083】 在一些實施例中，各肽連接子之長度獨立地為7至100個胺基酸。在一些實施例中，各肽連接子之長度獨立地為10至30個胺基酸。

【0084】 在一些實施例中，各肽連接子獨立地具有包含以下之胺基酸序列：

AEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 21)，

AEEEKRKAEEEKRKAEEEAGC (SEQ ID NO: 22)，

AEEEKRKAEEEKRKAEEEKRKAEEEAGC (SEQ ID NO: 23)，

AEEEEKKKKEEEEKKKKAGC (SEQ ID NO: 24)，

AEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 25)，

PSRLEEELRRRLTEGC (SEQ ID NO: 26)或

AEEEEKKKQQEEEAERLRRIQEEMEKERKRREEDEERRRKEEEERRRMKLEMEAKRKQEEEERKKREDDEKRKKKAGC (SEQ ID NO: 27)。

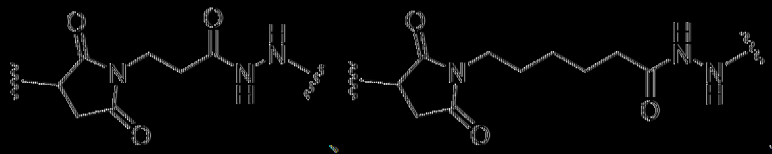
【0085】 在一些實施例中，各肽連接子具有包含AEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 21)之胺基酸序列。

【0086】 各肽可藉由此項技術中通常已知之用於形成抗體-藥物結合物的多種有機連接子連接至生物相容性聚合物，諸如由San Diego, CA之Conju-Probe或BroadPharm，或NY, Shirley之Creative Biolabs提供之彼等連接子。形成生物結合物鍵之方法描述於Bioconjugate Techniques, 第3版, Greg T.Hermanson中。有機連接子可與胺、羰基、羧基及活化酯反應，可經由點擊化學(Click-chemistry)(使用或不使用銅)進行反應，或可與硫醇反應。

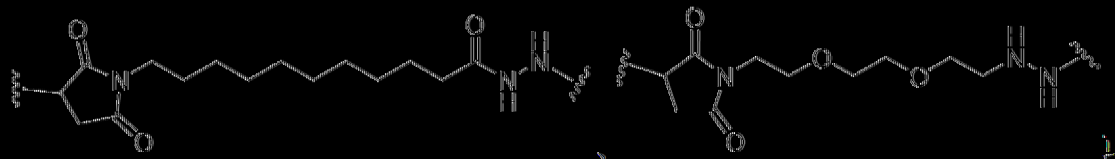
【0087】 代表性有機連接子包括醯胺或二硫鍵，或由反應基形成，

該反應基諸如丁二酸酐、丁二醯亞胺、N-羥基丁二醯亞胺、N-氯代丁二醯亞胺、N-溴代丁二醯亞胺、順丁烯二酸酐、順丁烯二醯亞胺、乙內醯脲、鄰苯二甲醯亞胺及其他反應基。適用於本發明之有機連接子較小且一般具有約100 Da至約500 Da之分子量，含有兩個由順丁烯二醯亞胺及胺或醯肼組成之官能基。在一典實施例中，肽經由硫鍵及具有約100 Da至約500 Da之分子量的有機連接子共價連接至聚合物。在一典實施例中，有機連接子具有約100 Da至約300 Da之分子量。在一典實施例中，有機連接子包含丁二醯亞胺。在一典實施例中，有機連接子係使用以下形成：N-β-順丁烯二醯亞胺基丙酸醯肼(BMPH)、N-ε-順丁烯二醯亞胺基己酸醯肼(EMCH)、N-胺基乙基順丁烯二醯亞胺、N-κ-順丁烯二醯亞胺基十一酸醯肼(KUMH)、醯肼-PEG2-順丁烯二醯亞胺、胺-PEG2-順丁烯二醯亞胺、醯肼-PEG3-順丁烯二醯亞胺或胺-PEG3-順丁烯二醯亞胺。

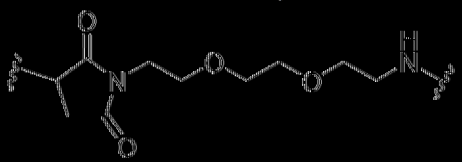
[0088] 代表性有機連接子包括但不限於，



、



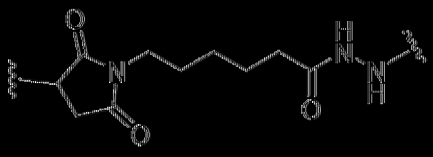
、



或

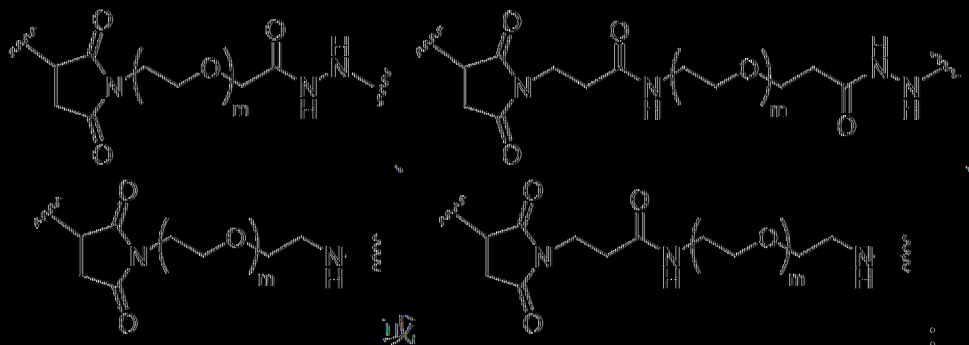
。

[0089] 在一典實施例中，有機連接子可為N-ε-順丁烯二醯亞胺基己酸醯肼(EMCH)：



。

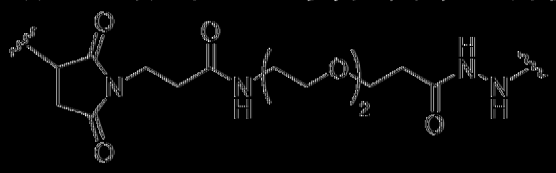
[0090] 在一些實施例中，有機連接子具有以下結構：



或

其中下標m為1至300之整數。

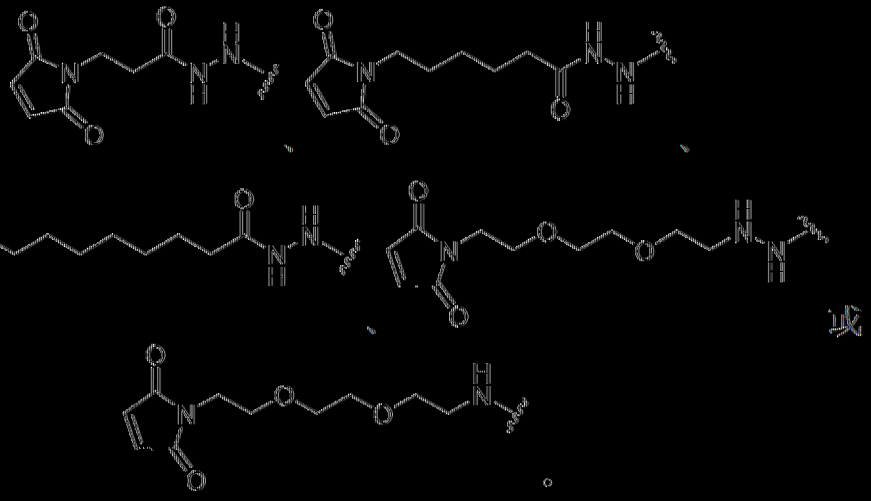
[0091] 在一些實施例中，有機連接子具有以下結構：



。

[0092] 在一些實施例中，製備本發明之結合物包含將有機連接子共價附接至生物相容性聚合物且隨後將肽共價附接至有機連接子。在一些實施例中，在製備本發明之結合物後，在生物相容性聚合物上存在未反應之有機連接子。未反應之有機連接子的結構取決於有機連接子且將為熟習此項技術者所瞭解。

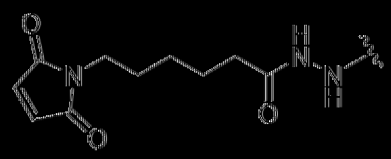
[0093] 代表性未反應之有機連接子包括但不限於，



或

。

[0094] 在一些實施例中，未反應之有機連接子具有以下結構：



。

[0095] 在一典實施例中，未反應之有機連接子具有以下結構：



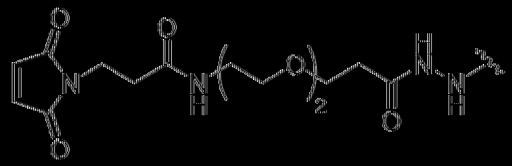
或



；

其中下標m為1至300之整數。在一典實施例中，下標m為1至100之整數。

[0096] 在一典實施例中，未反應之有機連接子具有以下結構：



。

[0097] 在一典實施例中，生物相容性聚合物為多醣。

[0098] 在一典實施例中，生物相容性聚合物為醣胺聚醣。

[0099] 在一典實施例中，生物相容性聚合物為玻尿酸。

[0100] 在一典實施例中，生物相容性聚合物具有約0.4 MDa至約2 MDa之分子量。在一典實施例中，生物相容性聚合物具有約0.7 MDa至約1.5 MDa之分子量。在一典實施例中，生物相容性聚合物具有約0.8 MDa之分子量。

[0101] 在一典實施例中，下標n為1至1500之整數。在一典實施例中，下標n為5至1000之整數。在一典實施例中，下標n為10至400之整數。在一典實施例中，下標n為10至100之整數。

[0102] 在一典實施例中，結合物為式IIa之結合物：

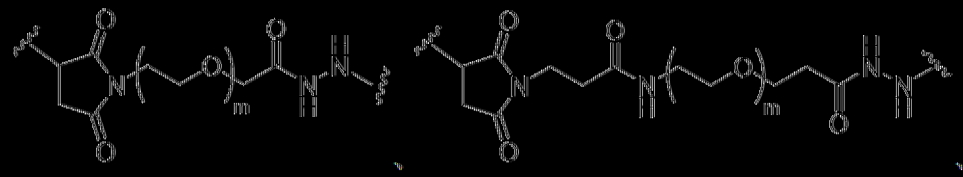
$$(X^1\text{-}X^2\text{-}Y)_m\text{-}Z \quad (IIa)，$$

其中

各X^1獨立地為依本文所描述之肽；

各X^2為具有包含AEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 21)之胺基酸序列的肽連接子；

各Y為具有以下結構之有機連接子：



或



；

Z為生物相容性聚合物，其為具有約0.1 MDa至約3 MDa之分子量的玻尿酸；

下標m為1至300之整數；且

下標n為1至1500之整數。

[0103] 在一典實施例中，本發明之結合物為一種結合物，其為式III之無規聚合物：

$$(X\text{-}Y\text{-}Z^1)_m\text{-}(Z^2)_p\text{-}(Z^3)_q \quad (III)，$$

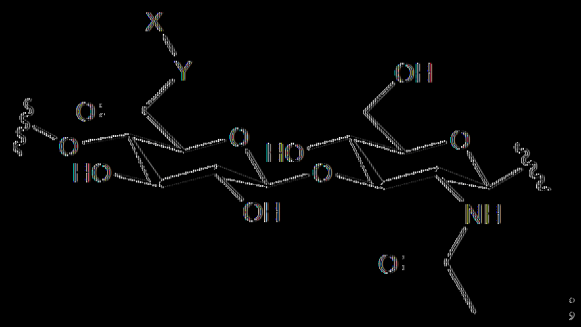
其具有約0.1 MDa至約3 MDa之分子量；

其中

各X獨立地為具有約5 kDa至約200 kDa之分子量的肽；

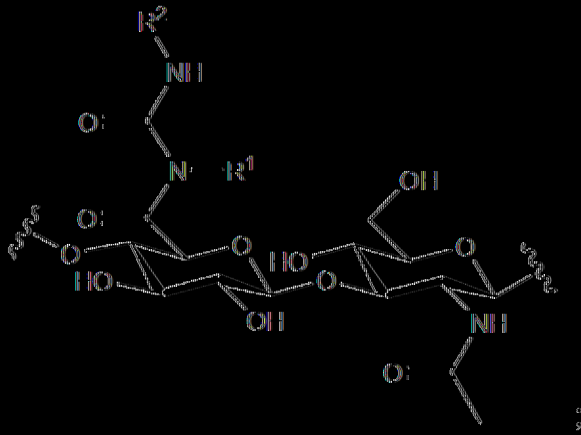
各Y為有機連接子；

各$X\text{-}Y\text{-}Z^1$部分具有以下結構：



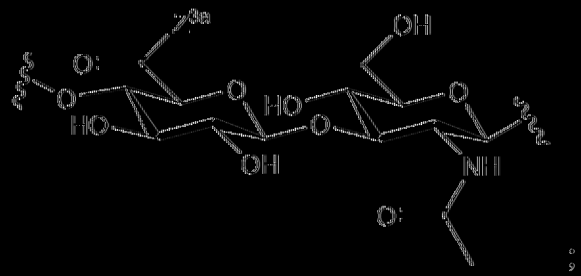
；

各Z^2具有以下結構：



；

各Z^3獨立地具有以下結構：



；

各R^1及R^2獨立地為C_1-C_6烷基、-(C_1-C_6烷基)-NR^3R^4或C_5-C_8環烷基；

各R^3及R^4獨立地為H或C_1-C_6烷基；

各Z^{3a}獨立地為OH或Y'；

各Y'為未反應之有機連接子；

下標n為1至1500之整數且小於下標n、p及q總和的約15%；

下標p為0至1000之整數且小於下標n、p及q總和的約10%；且

下標q為100至10000之整數。

【0104】 在一些實施例中，各X為具有包含SEQ ID NO: 51-58、61-73、81-85、91-98、101-109、111-131及141-170中之任一者的胺基酸序列之肽。在一些實施例中，各X為具有包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列的肽。在一些實施例中，各X為具有包含SEQ ID NO: 67之胺基酸序列的肽。在一些實施例中，各X為具有包含SEQ ID NO: 142之胺基酸序列的肽。在一些實施例中，各X為具有包含SEQ ID NO: 145之胺基酸序列的肽。

【0105】 在一些實施例中，各X為具有包含SEQ ID NO: 51-58、61-73、81-85、91-95、101-106及111-118中之任一者的胺基酸序列之肽。

【0106】 在一些實施例中，結合物具有式IIIa之結構：

$$(X^1\text{-}X^2\text{-}Y\text{-}Z^1)_n\text{-}(Z^2)_p\text{-}(Z^3)_q \quad (IIIa)，$$

其中

各X^1獨立地為具有約5 kDa至約200 kDa之分子量的肽；且

各X^2為包含α螺旋之肽連接子。

【0107】 在一些實施例中，各X^1包含式I之肽：

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (I)，

CDR1、CDR2及CDR3各自獨立地為互補決定區；

FR1具有包含

X^{10}VQLX^{11}EX^{12}GGG$X^{13}X^{14}$QX^{15}GX^{16}SLRLSC$X^{17}X^{18}$SG (SEQ ID NO: 1)之胺基酸序列，

其中

X^{10}為Q、E或D，

X^{11}為V、Q、A或E，

X^{12}為S或T，

X^{13}為L、S或V，

X^{14}為V或A，

X^{15}為P、A或T，

X^{16}為G、D或R，

X^{17}為A、V、T或E，且

X^{18}為A或V；

FR2具有包含$X^{20}X^{21}WX^{22}RQX^{23}PGKX^{24}X^{25}EX^{26}VX^{27}X^{28}I$ (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列，

其中

X^{20}為M、I、V或L，

X^{21}為G、S或A，

X^{22}為F、Y或V，

X^{23}為A、V、P或T，

X^{24}為E、G、A或Q，

X^{25}為R或L，

X^{26}為F、G、W或L，

X^{27}為A、G或S，且

X^{28}為A、S或G；

FR3具有包含

$YX^{30}DSVKGRFTISX^{31}DX^{32}X^{33}KX^{34}X^{35}VX^{36}LQMX^{37}X^{38}LRX^{39a}EDTAX^{39b}YYCAA$ (SEQ ID NO: 3)之胺基酸序列，

其中

X^{30}為A、G、S或T，

X^{31}為R或Q，

X^{32}為N、S或D，

X^{33}為S、A或D，

X^{34}為N或K，

X^{35}為T或M，

X^{36}為Y、D或S，

X^{37}為N或D，

X^{38}為S或N，

X^{39a}為P或A，且

X^{39b}為V、M、L或I；且

FR4具有包含YWGX^{40}GTX^{41}VTVSS (SEQ ID NO: 4)之胺基酸序列，

其中

X^{40}為Q或K，且

X^{41}為L或Q。

【0108】 在式I之肽的一些實施例中，X^{13}為L。

【0109】 在式I之肽的一些實施例中，X^{27}為A。

【0110】 在式I之肽的一些實施例中，X^{30}為A。

【0111】 在式I之肽的一些實施例中，X^{39a}為P。

【0112】 在式I之肽的一些實施例中，X^{40}為Q。

【0113】 在式I之肽的一些實施例中，FR1具有包含QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列。

【0114】在式I之肽的一些實施例中，FR2具有包含MGWFRQAPGKEREFVAAI (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列。

【0115】在式I之肽的一些實施例中，FR3具有包含YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列。

【0116】在式I之肽的一些實施例中，FR4具有包含YWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列。

【0117】在式I之肽的一些實施例中，FR1具有包含QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列；

FR2具有包含MGWFRQAPGKEREFVAAI (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列；

FR3具有包含

YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列；且

FR4具有包含YWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列。

【0118】在式I之肽的一些實施例中，CDR1、CDR2及CDR3各自為來自抗體或細胞介素之互補決定區。

【0119】在式I之肽的一些實施例中，該抗體為單株IgG、IgG片段、單鏈scFv、單域重鏈VHH、阿德奈汀、親和抗體、安替克林、DARPin或經工程改造之Kunitz型抑制劑。在一些實施例中，抗體為單株IgG。在一些實施例中，抗體為IgG片段。在一些實施例中，抗體為單域重鏈VHH。在一些實施例中，抗體為DARPin。

【0120】在式I之肽的一些實施例中，互補決定區各自對以下具有特

異性：血管內皮生長因子(VEGF)、腫瘤壞死因子-α (TNF-α)、程序性細胞死亡蛋白1 (PD-1)、程序性死亡配體-1 (PD-L1)、細胞毒性T淋巴球相關蛋白4 (CTLA4)、分化簇40 (CD40)、分化簇134 (CD134)、分化簇137 (CD137)、糖皮質素誘導之腫瘤壞死因子受體相關蛋白(GITR)、T細胞活化免疫球蛋白抑制因子V域(VISTA)、含T細胞免疫球蛋白及黏蛋白域之蛋白3 (TIM-3)、淋巴球活化3 (LAG3)、介白素-1-β (IL-1β)、介白素-6 (IL-6)、介白素-10 (IL-10)、介白素-12 (IL-12)或介白素-15 (IL-15)。在一些實施例中，該互補決定區各自對血管內皮生長因子(VEGF)具有特異性。在一些實施例中，互補決定區各自對腫瘤壞死因子-α (TNF-α)具有特異性。在一些實施例中，互補決定區各自對介白素-1-β (IL-1β)具有特異性。

【0121】 在一些實施例中，肽由式I組成。

【0122】 在一些實施例中，肽具有以下中之一或多者：(a)長度為7個胺基酸之CDR1；(b)長度為7或8個胺基酸之CDR2；及/或(c)長度為9至16個胺基酸之CDR3。

【0123】 在肽之一些實施例中，

(a) CDR1具有包含FAYSTYS (SEQ ID NO: 9)之胺基酸序列，

CDR2具有包含NSGTFRLW (SEQ ID NO: 10)之胺基酸序列，且

CDR3具有包含RAWSPYSSTVDAGDFR (SEQ ID NO: 11)之胺基酸序列；或

(b) CDR1具有包含RRFSIEA (SEQ ID NO: 12)之胺基酸序列，

CDR2具有包含DSGGSTD (SEQ ID NO: 13)之胺基酸序列，且

CDR3具有包含IGGSWYGRGLD (SEQ ID NO: 14)之胺基酸序列；

或

(c) CDR1具有包含GTFSSII (SEQ ID NO: 15)之胺基酸序列，

CDR2具有包含SWSGGTTV (SEQ ID NO: 16)之胺基酸序列，且

CDR3具有包含RPYQKYNWASASYNV (SEQ ID NO: 17)之胺基酸序列；或

(d) CDR1具有包含GGSDAGT (SEQ ID NO: 18)之胺基酸序列，

CDR2具有包含SWAGTAWR (SEQ ID NO: 19)之胺基酸序列，且

CDR3具有包含LGSYEMDHH (SEQ ID NO: 20)之胺基酸序列。

【0124】在一些實施例中，各X^1為具有包含SEQ ID NO: 51-58、61-73、81-85、91-95、101-106及111-118中之任一者的胺基酸序列之肽。在一些實施例中，各X^1為具有包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列的肽。在一些實施例中，各X^1為具有包含SEQ ID NO: 67之胺基酸序列的肽。在一些實施例中，各X^1為具有包含SEQ ID NO: 73之胺基酸序列的肽。在一些實施例中，各X^1為具有包含SEQ ID NO: 91之胺基酸序列的肽。

【0125】在一些實施例中，各X^2為具有包含以下之胺基酸序列的肽連接子：AEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 21)，

AEEEKRKAEEEKRKAEEEAGC (SEQ ID NO: 22)，

AEEEKRKAEEEKRKAEEEKRKAEEEAGC (SEQ ID NO: 23)，

AEEEEKKKKEEEEKKKKAGC (SEQ ID NO: 24)，

AEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 25)，

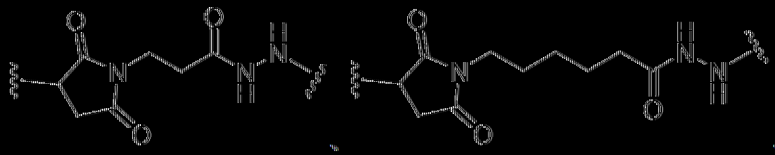
PSRLEEELRRRLTEGC (SEQ ID NO: 26)或

AEEEEKKKQQEEEAERLRRIQEEMEKERKRREEDEERRRKEEEE

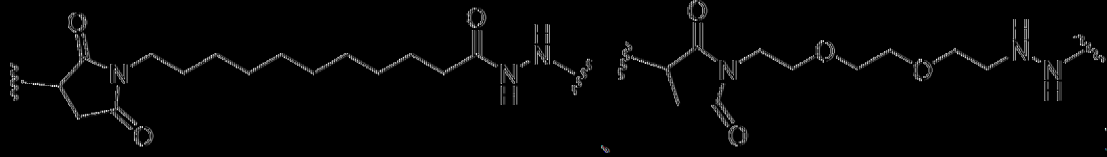
RRMKLEMEAKRKQEEEERKKREDDEKRKKKAGC (SEQ ID NO: 27)。

[0126] 在一些實施例中，各X^2為具有包含AEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 21)之胺基酸序列的肽連接子。

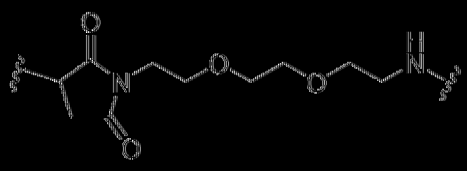
[0127] 在一些實施例中，有機連接子具有以下結構：



、



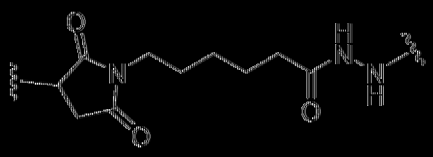
、



或

。

[0128] 在一些實施例中，有機連接子可為N-ε-順丁烯二醯亞胺基己酸醯肼(EMCH)：

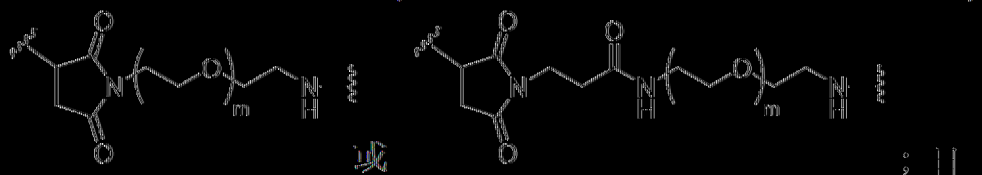


。

[0129] 在一些實施例中，有機連接子具有以下結構：



、

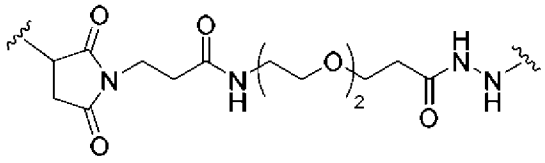


或

；其

下標m為1至300之整數。在一些實施例中，下標m為1至100之整數。

[0130] 在一些實施例中，有機連接子具有以下結構：



。

具有以上結構之有機連接子稱為MP2H。

【0131】 在一些實施例中，式III之無規聚合物具有約0.4 MDa至約2 MDa之分子量。在一些實施例中，式III之無規聚合物具有約0.7 MDa至約1.5 MDa之分子量。在一些實施例中，式III之無規聚合物具有約0.8 MDa之分子量。

【0132】 在一些實施例中，各R^1及R^2獨立地為C_1-C_3烷基或-(C_1-C_3烷基)-NR^3R^4。在一些實施例中，各R^1及R^2為乙基或-$(CH_2)_3$-NMe_2。在一些實施例中，各R^1為乙基；且各R^2為-$(CH_2)_3$-NMe_2。在一些實施例中，各R^1為-$(CH_2)_3$-NMe_2；且各R^2為乙基。

【0133】 在一些實施例中，各R^3及R^4獨立地為C_1-C_3烷基。在一些實施例中，各R^3及R^4為甲基。

【0134】 在一些實施例中，下標n為1至1500之整數且小於下標n、p及q之總和的約15%；下標p為1至1000之整數且小於下標n、p及q之總和的約10%；且下標q為100至10000之整數。在一些實施例中，下標n為1至1000之整數且小於下標n、p及q之總和的約10%；下標p為1至800之整數且小於下標n、p及q之總和的約8%；且下標q為100至10000之整數。在一些實施例中，下標n為10至450之整數且小於下標n、p及q之總和的約15%；下標p為1至300之整數且小於下標n、p及q之總和的約10%；且下標q為1000至3000之整數。在一些實施例中，下標n為10至300之整數且小於下標n、p及q之總和的約10%；下標p為1至240之整數且小於下標n、p及q之總和的約8%；且下標q為1000至3000之整數。在一些實施例中，下標n

為10至300之整數且小於下標n、p及q之總和的約10%；下標p為1至60之整數且小於下標n、p及q之總和的約2%；且下標q為1000至3000之整數。在一些實施例中，下標n為10至300之整數且小於下標n、p及q之總和的約10%；下標p為1至30之整數且小於下標n、p及q之總和的約1%；且下標q為1000至3000之整數。在一些實施例中，下標n為10至300之整數且小於下標n、p及q之總和的約10%；下標p為1至15之整數且小於下標n、p及q之總和的約0.5%；且下標q為1000至3000之整數。

【0135】 在一些實施例中，本發明之結合物為一種結合物，其為式III之無規聚合物：

$$(X\text{-}Y\text{-}Z^1)_n\text{-}(Z^2)_p\text{-}(Z^3)_q \quad (III)，$$

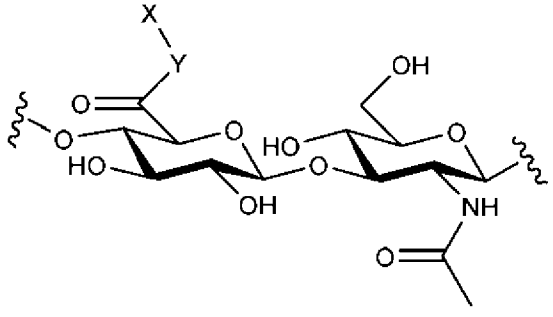
其具有約0.1 MDa至約3 MDa之分子量；

其中

各X獨立地為具有約5 kDa至約200 kDa之分子量的肽；

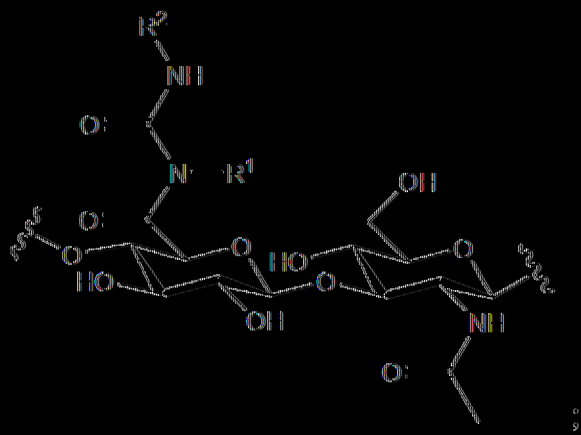
各Y為有機連接子；

各 $X\text{-}Y\text{-}Z^1$部分具有以下結構：

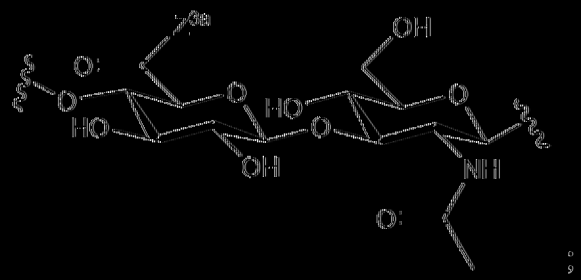


；

各Z^2具有以下結構：



各Y^3獨立地具有以下結構：



各R^1及R^2獨立地為C_1-C_6烷基、-(C_1-C_6烷基)-NR^3R^4或C_5-C_8環烷基；

各R^3及R^4獨立地為H或C_1-C_6烷基；

各Y^{3a}獨立地為OH或Y'；

各Y'為末反應之有機連接子；

下標n為1至1500之整數且小於下標n、p及q總和的約15%；

下標p為0至1000之整數且小於下標n、p及q總和的約10%；且

下標q為100至10000之整數。

[0136] 在一典實施例中，各X為具有包含SEQ ID NO: 51-58、61-73、81-85、91-98、101-109、111-131及141-170中之任一者的胺基酸序列之肽。在一典實施例中，各X為具有包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列的肽。在一典實施例中，各X為具有包含SEQ ID NO: 67之胺基酸序列的肽。在一典實施例中，各X為具有包含SEQ ID NO: 142之胺基酸序列的

肽。在一典實施例中，各X為具有包含SEQ ID NO: 145之胺基酸序列的肽。

[0137] 在一典實施例中，本發明之結合物為一種結合物，其為式III之無規聚合物：

$$(X\text{-}Y\text{-}Z^1)_m\text{-}(Z^2)_p\text{-}(Z^3)_q \quad (III)，$$

其具有約0.1 MDa至約3 MDa之分子量；

其中

各X獨立地為抗TNF-α或抗IL-1β肽，其包含：
QVQLQES GGGLVQPGGS LRLSCAASGR TFSDDSGYTY TGWFRQAPG KEREFVARIY WSSGNTYYAD SVKGRFAISR DIAKNTVDLT MNNLEPEDTA VYYCAARDGI PTSRSVESYN YWGQGTQVTV SSPSTPPTPS PSTPPGGCDD DDK (SEQ ID NO: 101)，

QVQLQES GGGLVQPGGS LRLSCAASGR TFSDDSGYTY TGWFRQAPG KEREFVARIY WSSGNTYYAD SVKGRFAISR DIAKNTVDLT MNNLEPEDTA VYYCAARDGI PTSRSVESYN YWGQGTQVTV SSAEAAAKEA AAKEAAAKAG C (SEQ ID NO: 102)，

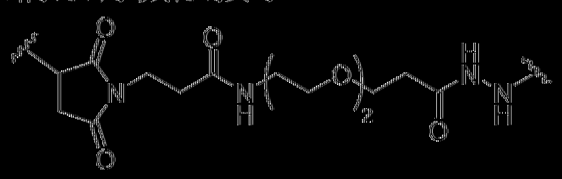
QVQLQDS GGGLVQAGGS LRLSCAASGG TFSSDMAWF RQAPGKEREF VGAVSWSGGT TVYADSVLGR FEISRDSARK SVYLQMNSLK PEDTAVYYCA ARPYQKYNWA SASYNVWGQG TQVTVSSAEA AAKEAAAKEA AAKAGC (SEQ ID NO: 103)，

QVQLQES GGGLVQAGGS LRLSCAASGG TFSSDMAWF RQAPGKEREF VGAVSWSGGT TVYADSVKGR FTISRDSARK SVYLQMNSLK PEDTAVYYCA ARPYQKYNWA SASYNVWGQG TQVTVSSAEA AAKEAAAKEA AAKAGC (SEQ ID NO: 104)，

CGGGVDNKFN KEVGWAFGEI GALPNLNALQ KRAFISLWD DPSQSANLLA EAKKLNDAQA PK (SEQ ID NO: 105)，或

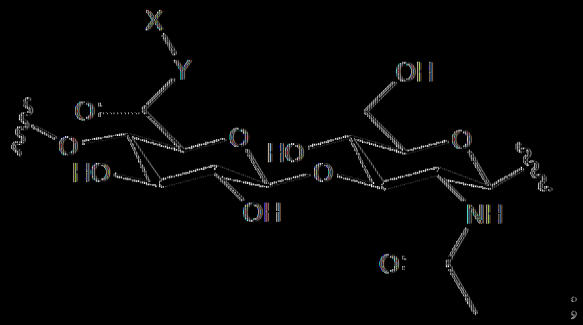
EIVMTQS PSTLSASVGD RVITFCQASQ SIDNWLSWYQ QKPGKAPKLL IYRASTLASG VPSRFSGSGS GAEFTLTISS LQPDDFATYY CQNTGGGVSI AFGQGTKLTV LGGGGGSGGG GSGGGGSGGG GSEVQLVESG GGLVQPGGSL RLSCTASGFS LSSAAMAWVR QAPGKGLEWV GDIYDSASTY YASWAKGRFT ISRDTSKNTV YLQMNSLRAE DTAVYYCARE RAIFSGDFVL WGQGTLVTVS SSPSTPPTPS PSTPPGGC (SEQ ID NO: 106)；

各Y為具有以下結構之有機連接子：



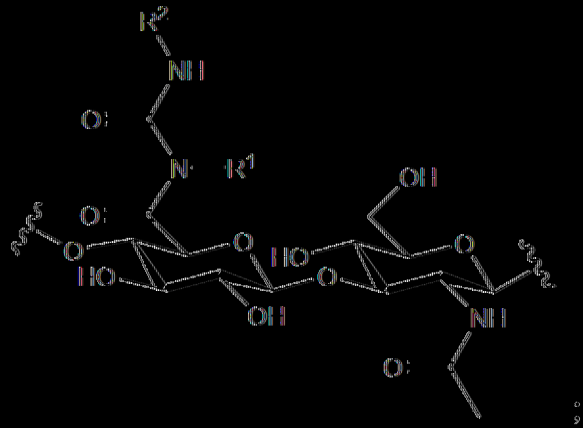
；

各X-Y-Z^1部分具有以下結構：



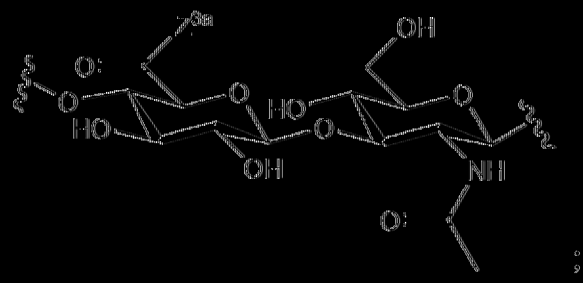
；

各Z^2具有以下結構：



；

各Z^3獨立地具有以下結構：



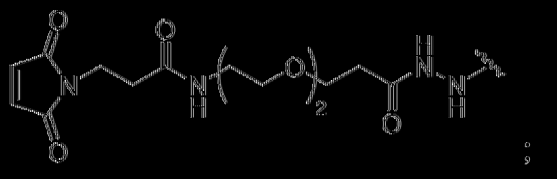
；

各R^1及R^2獨立地為C_1-C_6烷基、-(C_1-C_6烷基)-NR^3R^4或C_5-C_8環烷基；

各R^3及R^4獨立地為H或C_1-C_6烷基；

各Z^{3a}獨立地為OH或Y'；

各Y'具有以下結構



；

下標n為1至1500之整數且小於下標n、p及q總和的約15%；

下標p為0至1000之整數且小於下標n、p及q總和的約10%；且

下標q為100至10000之整數。

[0138] 在一些實施例中，結合物為一種結合物，其為式IIIa之無規聚合物：

$$(X^1\text{-}X^2\text{-}Y\text{-}Z^1)_n\text{-}(Z^2)_p\text{-}(Z^3)_q \quad \text{(IIIa)},$$

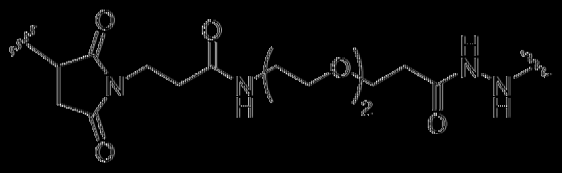
其具有約0.8 MDa之分子量；

其中

各X^1為具有包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列的肽；

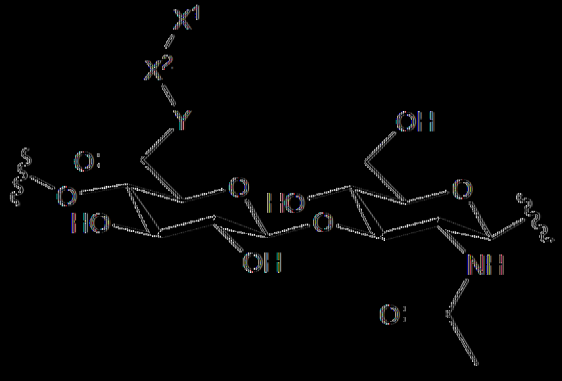
各X^2為具有包含AEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 21)之胺基酸序列的肽連接子；

各Y為具有以下結構之有機連接子：



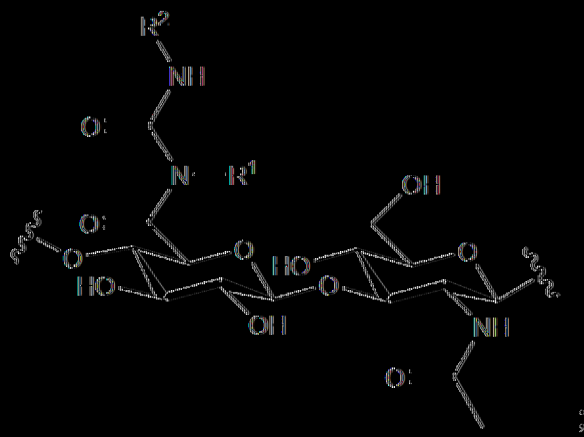
；

各X^1-X^2-Y-Z^1部分具有以下結構：



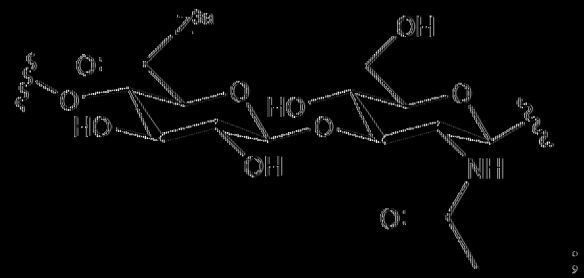
；

各Z^2具有以下結構：



；

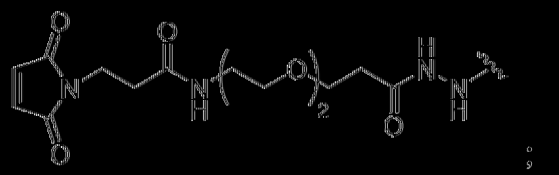
各Z^3獨立地具有以下結構：



；

各Z^{3a}獨立地為OH或Y'；

各Y'具有以下結構：



；

各R^1及R^2為乙基或$(CH_2)_3NMe_2$；

下標n為10至300之整數且小於下標n、p及q總和的約10%；

下標p為1至15之整數且小於下標n、p及q總和的約0.5%；且

下標q為1000至3000之整數。

[0139] 在一典實施例中，結合物為一種結合物，其為式IIIa之無規聚合物：

$$(X^1\text{-}X^2\text{-}Y\text{-}Z^1)_n\text{-}(Z^2)_p\text{-}(Z^3)_q \quad (IIIa)，$$

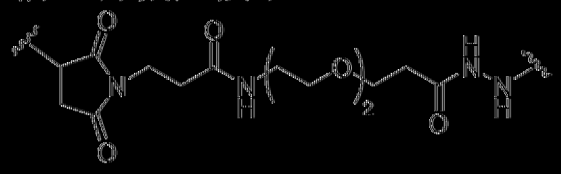
其具有約0.8 MDa之分子量；

其中

各X^1為具有包含SEQ ID NO: 67之抗VEGF胺基酸序列的肽；

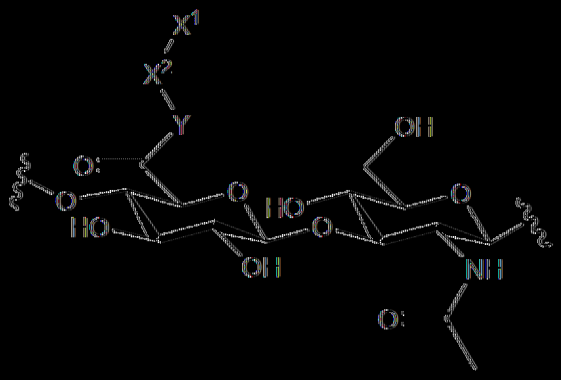
各X^2為具有包含AEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 21)之胺基酸序列的肽連接子；

各Y為具有以下結構之有機連接子：



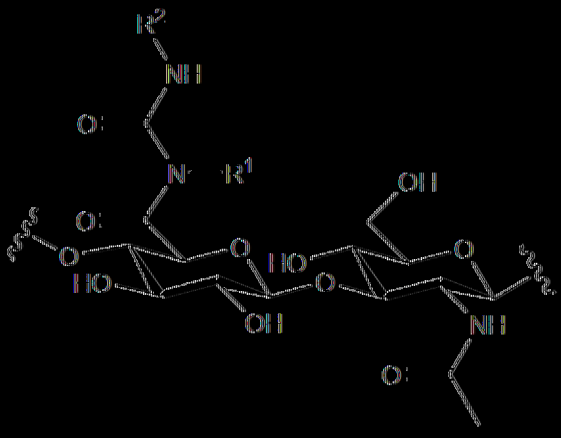
；

各X^1、X^2、Y、Z^1部分具有以下結構：



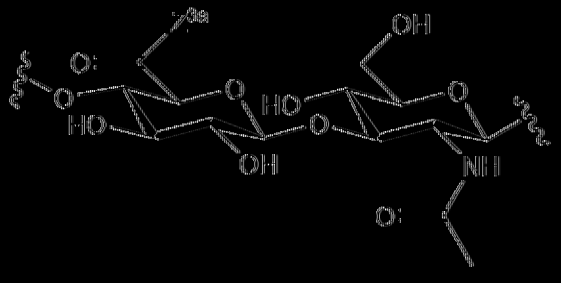
；

各Z^2具有以下結構：



；

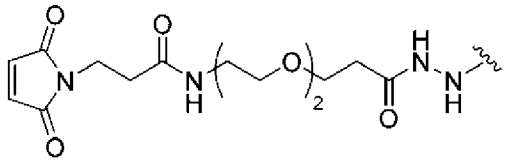
各Z^3獨立地具有以下結構：



；

各Z^{3a}獨立地為OH或Y'；

各Y'具有以下結構：



；

各R^1及R^2為乙基或$-(CH_2)_3-NMe_2$；

下標n為10至300之整數且小於下標n、p及q總和的約10%；

下標p為1至15之整數且小於下標n、p及q總和的約0.5%；且

下標q為1000至3000之整數。

【0140】 在一些實施例中，本發明之結合物表現出約12小時至約24小時、約1天至約3天、約3天至約7天、一週至約2週、約2週至約4週或約1個月至約6個月之活體內半衰期。

【0141】 在一些實施例中，本發明之結合物表現出約12小時至約24小時、約1天至約3天、約3天至約7天、一週至約2週、約2週至約4週、約1個月至約3個月或約3個月至約6個月之活體內治療有效滯留時間。

【0142】 例如相較於不與聚合物結合之肽的活性，結合物之生物活性相對於呈可溶性形式之相對應肽的活性增強。在一些實施例中，結合物之生物活性為呈可溶性(非結合)形式之肽的生物活性的至少約25%、至少約50%、至少約75%、至少約2倍、至少約5倍、至少約10倍、至少約15倍、至少約20倍、至少約25倍、至少約30倍、至少約40倍、至少約50倍、至少約75倍、至少約100倍、至少約200倍、至少約500倍、或至少約1000倍或超過1000倍。

V.組合物

【0143】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物為包含依本文所描

述之結合物及醫藥學上可接受之賦形劑的醫藥組合物。

A.調配物

【0144】 為了自本發明結合物製備醫藥組合物，醫藥學上可接受之載劑可為固體或液體。固體形式製劑包括散劑、扁囊劑及可分散顆粒。固體載劑可為一或多種物質，其亦可充當稀釋劑、黏合劑、防腐劑、崩解劑或囊封材料。關於調配及投與之技術的細節充分描述於科學及專利文獻中，參見例如最新版Remington's Pharmaceutical Sciences, Maack Publishing Co, Easton PA (「Remington's」)。

【0145】 在散劑中，載劑為與細粉狀活性組分混合之細粉狀固體。在錠劑中，活性組分以合適比例與具有必需黏合特性之載劑混合且壓緊為所需形狀及大小。散劑及錠劑較佳含有5%或10%至70%的本發明之結合物。

【0146】 液體形式製劑包括溶液、懸浮液及乳液，例如水或水/丙二醇溶液。對於非經腸注射，液體製劑可以於聚乙二醇水溶液中之溶液形式來調配。

【0147】 適用於經口使用之水性溶液可藉由將本發明之結合物溶解於水中且視需要添加適合的著色劑、調味劑、穩定劑及增稠劑來製備。適合於經口使用之水性懸浮液可藉由將細粉狀活性組分分散於含黏性材料及分散劑或潤濕劑之水中來製備，該黏性材料諸如天然或合成膠、樹脂、甲基纖維素、羧甲基纖維素鈉、羥丙基甲基纖維素、褐藻酸鈉、聚乙烯吡咯啶酮、黃蓍膠及阿拉伯膠，該分散劑或潤濕劑諸如天然存在之磷脂(例如卵磷脂)、環氧烷與脂肪酸之縮合產物(例如聚氧乙烯硬脂酸酯)、環氧乙烷與長鏈脂族醇之縮合產物(例如十七伸乙基氧基十六醇)、環氧乙烷與衍

生自脂肪酸及己糖醇之偏酯的縮合產物(例如聚氧乙烯山梨糖醇單油酸酯)或環氧乙烷與衍生自脂肪酸及己糖醇酐之偏酯的縮合產物(例如聚氧乙烯脫水山梨糖醇單油酸酯)。水性懸浮液亦可含有一或多種防腐劑，諸如對羥基苯甲酸乙酯或對羥基苯甲酸正丙酯；一或多種著色劑；一或多種調味劑及一或多種甜味劑，諸如蔗糖、阿斯巴甜糖(aspartame)或糖精。可針對重量莫耳滲透濃度調節調配物。

【0148】 亦包括欲在即將使用前轉化成液體形式製劑以供經口投與的固體形式製劑。此類液體形式包括溶液、懸浮液及乳液。除活性組分外，此等製劑可含有著色劑、調味劑、穩定劑、緩衝劑、人工及天然甜味劑、分散劑、增稠劑、增溶劑及其類似物。

【0149】 油性懸浮液可藉由使本發明之結合物懸浮於植物油，諸如花生油、橄欖油、芝麻油或椰子油中，或礦物油，諸如液體石蠟中；或此等之混合物中來調配。油性懸浮液可含有增稠劑，諸如蜂蠟、硬石蠟或十六醇。可添加甜味劑以提供適口的口服製劑，諸如甘油、山梨糖醇或蔗糖。此等調配物可藉由添加抗氧化劑(諸如抗壞血酸)來保存。作為可注射油媒劑之實例，參見Minto, J. Pharmacol. Exp. Ther. 281 :93-102, 1997。本發明之醫藥調配物亦可呈水包油乳化液形式。油相可為上文所描述之植物油或礦物油，或此等物質之混合物。合適乳化劑包括天然存在之膠，諸如阿拉伯膠及黃蓍膠；天然存在之磷脂，諸如大豆卵磷脂；來源於脂肪酸及己糖醇酐之酯或偏酯，諸如脫水山梨糖醇單油酸酯；及此等偏酯與環氧乙烷之縮合產物，諸如聚氧乙烯脫水山梨糖醇單油酸酯。乳液亦可含有甜味劑及調味劑，如在調配糖漿及酏劑時。此類調配物亦可含有緩和劑、防腐劑或著色劑。

【0150】本發明之組合物亦可以微球體形式遞送以在體內緩慢釋放。舉例而言，微球體可調配為用於經由皮內注射在皮下緩慢釋放之含藥物微球體來投與(參見Rao, J. Biomater Sci. Polym. Ed. 7:623-645, 1995)；以可生物降解及可注射凝膠調配物形式投與(參見例如Gao Pharm. Res. 12:857-863, 1995)；或以供經口投與之微球體形式投與(參見例如Eyles, J. Pharm. Pharmacol. 49:669-674, 1997)。經皮及皮內途徑提供數週或數月之持續遞送。

【0151】在另一實施例中，本發明之組合物可經調配以用於非經腸投與至體腔中，諸如瘤內投與、玻璃體內投與至眼睛中或關節之關節內空間。用於投與之調配物通常將包含本發明之組合物溶解於醫藥學上可接受之載劑中的溶液。在可接受之媒劑及溶劑當中，可採用水及林格氏溶液(Ringer's solution)、等張氯化鈉。此外，習知地可使用無菌不揮發性油作為溶劑或懸浮介質。出於此目的，可使用任何溫和的不揮發性油，包括合成單酸甘油酯或二酸甘油酯。另外，諸如油酸之脂肪酸同樣可用於製備可注射劑。此等溶液為無菌的且通常不含非所需物質。此等調配物可藉由習知、熟知滅菌技術滅菌。調配物可視需要含有醫藥學上可接受之輔助物質以接近生理條件，諸如pH調節劑及緩衝劑；毒性調節劑，例如乙酸鈉、氯化鈉、氯化鉀、氯化鈣、乳酸鈉及其類似物。此等調配物中本發明組合物的濃度可極大變化，且將主要基於流體體積、黏度、體重及類似因素，根據選定的特定投與模式及患者之需求選擇。對於IV、瘤內或玻璃體內投與，調配物可為無菌可注射製劑，諸如無菌可注射水性或油性懸浮液。此懸浮液可根據已知技術，使用適合的分散劑或濕潤劑及懸浮劑來調配。無菌可注射製劑亦可為於腸胃外可接受之無毒稀釋劑或溶劑中之無菌可注射

溶液或懸浮液，諸如1,3-丁二醇之溶液。

【0152】 在另一實施例中，本發明之組合物的調配物可藉由使用與細胞膜融合或內吞之脂質體遞送，亦即，藉由採用附接至脂質體或直接附接至寡核苷酸之配體遞送，該等配體結合至細胞之表面膜蛋白受體從而產生內吞作用。藉由使用脂質體，特別是在脂質體表面攜帶對目標細胞具有特異性之配體或以其他方式優先導引至特定器官的情況下，吾人可集中於將本發明之組合物活體內遞送至目標細胞中。(參見例如，Al-Muhammed, J. Microencapsul. 13:293-306, 1996；Chonn, Curr. Opin. Biotechnol. 6:698-708, 1995；Ostro, Am. J. Hosp. Pharm. 46: 1576-1587, 1989)。

【0153】 基於脂質之藥物遞送系統包括脂質溶液、脂質乳液、脂質分散液、自乳化藥物遞送系統(SEDDS)及自微乳化藥物遞送系統(SMEDDS)。特定言之，SEDDS及SMEDDS為可自發分散於水性介質中且形成精細乳液(SEDDS)或微乳液(SMEDDS)的脂質、界面活性劑及共界面活性劑之各向同性混合物。適用於本發明之調配物中的脂質包括任何天然或合成脂質，包括但不限於芝麻籽油、橄欖油、蓖麻油、花生油、脂肪酸酯、甘油酯、Labrafil®、Labrasol®、Cremophor®、Solutol®、Tween®、Capryol®、Capmul®、Captex®及Peceol®。

B.投與

【0154】 本發明之結合物及組合物可藉由任何適合手段(包括經口、非經腸及局部方法)遞送。在一些實施例中，遞送方法為關節內。在一些實施例中，遞送方法為玻璃體內。在一些實施例中，遞送方法為瘤內。

【0155】 醫藥製劑較佳呈單位劑型。在此類形式中，製劑再分成含

有適當量之本發明之結合物及組合物的單位劑量。單位劑型可為封裝製劑，該封裝含有離散量之製劑，諸如封裝錠劑、膠囊及小瓶或安瓿裝散劑。

【0156】 本發明之結合物及組合物可與其他藥劑共同投與。共同投與包括在其他藥劑之0.5、1、2、4、6、8、10、12、16、20或24小時內投與本發明之結合物或組合物。共同投與亦包括同時投與、近似同時投與(例如，在彼此投與之約1分鐘、5分鐘、10分鐘、15分鐘、20分鐘或30分鐘內)或按任何次序依序投與。此外，本發明之結合物及組合物可各自一日一次或每日兩次、三次或更多次投與，以提供較佳之劑量濃度/天。

【0157】 在一些實施例中，共同投與可藉由共同調配物，亦即製備包括本發明之結合物及組合物及任何其他藥劑的單一醫藥組合物實現。替代地，可分開地調配各種組分。

【0158】 本發明之結合物及組合物以及任何其他藥劑可以任何適合之量存在，且可取決於各種因素，包括但不限於個體之體重及年齡、疾病之狀態等。適合的劑量範圍包括約0.1 mg至約10,000 mg、或約1 mg至約1000 mg、或約10 mg至約750 mg、或約25 mg至約500 mg或約50 mg至約250 mg。適合劑量亦包括約1 mg、5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、200、300、400、500、600、700、800、900或1000 mg。組合物亦可含有其他相容的治療劑。本文所描述之結合物可彼此、與已知適用於調節糖皮質素受體的其他活性劑或與可能並非單獨有效但可有助於活性劑之功效的佐劑組合使用。

VI.治療方法

【0159】 在一些實施例中，本發明係關於一種方法及/或用途，其包

含依本文所描述之結合物或組合物以用於治療有需要個體的疾病或病症。

【0160】 在一些實施例中，方法包含多次投與結合物。在一些實施例中，方法包含每天、每隔一天、每三天或每週投與結合物。在一些實施例中，方法包含每週、每2週、每3週或每月投與結合物。在一些實施例中，方法包含每月、每兩個月或每三個月投與結合物。在一些實施例中，方法包含每年兩次或三次投與結合物。在一些實施例中，方法包含每年投與結合物。

A.眼部病症

【0161】 在一些實施例中，本發明之方法為一種治療有需要個體之眼部病症的方法，其包含向該個體投與依本文所描述之結合物。

【0162】 在一些實施例中，該方法包含玻璃體內投與結合物。

【0163】 在一些實施例中，該方法包含每月、每兩個月或每三個月投與結合物。

【0164】 在一些實施例中，結合物之玻璃體半衰期比未結合之肽的該半衰期長至少2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、20倍、50倍或至少100倍。在一些實施例中，結合物之玻璃體半衰期比未結合之肽的該半衰期長至少5倍。

【0165】 可使用本發明之方法治療的眼部病症包括但不限於眼色素層炎、黃斑退化(亦稱為年齡相關黃斑退化(AMD))、脈絡膜新生血管、視網膜新生血管、增生性玻璃體視網膜病變、青光眼及眼部發炎。在一些實施例中，黃斑退化為濕性黃斑退化。在一些實施例中，黃斑退化為乾性黃斑退化。

【0166】 可使用本發明之方法治療的眼部疾病包括但不限於：急性

黃斑視神經視網膜病變；白塞氏病(Behcet's disease)；脈絡膜新生血管；糖尿病性眼色素層炎；組織漿菌病；黃斑退化，諸如急性黃斑退化、非滲出性年齡相關黃斑退化及滲出性年齡相關黃斑退化；水腫，諸如黃斑水腫、囊樣黃斑水腫及糖尿病性黃斑水腫；多灶性脈絡膜炎；影響眼後部位或位置之眼部損傷；眼部腫瘤；視網膜病症，諸如視網膜中央靜脈阻塞、糖尿病性視網膜病變(包括增生性糖尿病性視網膜病變)、增生性玻璃體視網膜病變(PVR)、視網膜動脈阻塞性疾病、視網膜脫落、眼色素層炎性視網膜病；交感性眼炎；沃格特小柳-原田(VKH)氏症候群(Vogt Koyanagi-Harada (VKH) syndrome)；葡萄膜擴散；由眼部雷射治療引起或受眼部雷射治療影響之眼後部病狀；由光動力學療法引起或受光動力學療法影響之眼後部病狀；光凝，放射性視網膜病；視網膜前膜病症；視網膜分支靜脈阻塞；前部缺血性視神經病變；非視網膜病變糖尿病性視網膜功能障礙；視網膜劈裂症；色素性視網膜炎；青光眼；尤塞氏症候群(Usher syndrome)；視錐-視桿細胞營養不良；斯特格氏病(Stargardt disease)(眼底黃色斑點症)；遺傳性黃斑退化；視網膜脈絡膜退化；雷伯氏先天性黑矇(Leber congenital amaurosis)；先天性靜止性夜盲；無脈絡膜畸型；巴-比二氏症候群(syndrome)；黃斑毛細管擴張；雷伯氏遺傳性視神經病變(Leber's hereditary optic neuropathy)；早產兒視網膜病；及色覺病症，包括全色盲、紅色盲、綠色盲及黃藍色盲。

【0167】 在一些情況下，眼部疾病為青光眼、色素性視網膜炎、黃斑退化、視網膜劈裂症、雷伯氏先天性黑矇、糖尿病性視網膜病變、全色盲或色盲。

【0168】 在一些情況下，包含結合物之組合物藉由玻璃體內、經鞏

膜、眼周、經結膜(conjunctival)、結膜下(subtenon)、前房內、視網膜下、結膜下(subconjunctival)、眼球後或小管內之投與途徑投與。在一些情況下，包含結合物之組合物係經玻璃體內投與。在一些情況下，組合物係經玻璃體內遞送或非常接近於眼部後段。在一些情況下，藉由注射經玻璃體內投與組合物。在一些情況下，藉由眼內注射投與包含結合物之組合物。

B.關節疾病

【0169】 在一些實施例中，本發明之方法為一種治療有需要個體的關節疾病或病症的方法，其包含向該個體投與依本文所描述之結合物。

【0170】 在一些實施例中，該方法包含關節內投與結合物。

【0171】 在一些實施例中，結合物之關節內半衰期比未結合之肽的該半衰期長至少2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、20倍、50倍或至少100倍。在一些實施例中，結合物之關節內半衰期比未結合之肽的該半衰期長至少5倍。

【0172】 本發明亦提供使用本發明之結合物治療關節組織之疾病及病症的方法。關節組織之疾病及病症的實例包括但不限於類風濕性關節炎、磨損相關之骨關節炎、年齡相關之骨關節炎、創傷後骨關節炎、牛皮癬性關節炎及無菌植入物鬆脫(aseptic implant loosening)、關節積液、僵直性脊椎炎、滑囊炎、痛風、反應性關節炎、滑膜炎或缺血性壞死。在一些實施例中，該疾病或病症為類風濕性關節炎、磨損相關之骨關節炎、年齡相關之骨關節炎、創傷後骨關節炎、牛皮癬性關節炎及無菌植入物鬆脫、關節積液、僵直性脊椎炎、滑囊炎、痛風、反應性關節炎、滑膜炎或缺血性壞死。

【0173】 許多多肽用作減弱免疫細胞功能之藥物，其在治療許多關節病症方面具有實質性效用。關節組織尤其對損傷及疾病敏感，因為對此等攻擊之典型細胞反應，亦即發炎介質之上調，亦為促進關節軟骨之分解代謝及下層骨組織之再吸收的信號。關節表面之退化促進關節組織損害之惡化及發炎介質之進一步上調。隨時間推移，此等機制產生前饋環，其對關節組織產生累積損害。

【0174】 人類或動物身體之任何關節均可使用本發明之方法及結合物治療。代表性關節包括但不限於纖維關節、軟骨關節、滑膜關節、小面關節、不動關節、微動關節及可動關節。該等關節可為具有兩個關節面之單關節、具有三個或更多個關節面之複關節或具有兩個或更多個關節面及膝關節或半月板之複雜關節。可使用本發明之結合物及方法治療的解剖學關節包括但不限於手關節(包括手指)、肘關節、腕關節、肩關節、胸骨及鎖骨之關節、椎關節、頜骨及顱骨關節、骨盆及髖關節、膝關節、踝關節及足關節(包括趾部)。關節亦可分類為平面關節、球窩關節、鉸鏈關節、樞軸關節、髁狀關節及鞍狀關節。本發明之結合物及方法可用於治療關節之組織，包括但不限於結締組織、軟骨、關節面、滑膜腔、半月板及其他組織。

【0175】 經設計以減弱免疫細胞功能之藥物的實例包括可干擾腫瘤壞死因子-α及IL-1β、IL-6或干擾素-γ之抗體。其他實例包括T細胞及B細胞功能之選擇性抗體抑制劑。此等抗體可為單株IgG抗體、IgG抗體片段、單鏈scFv抗體、單域重鏈VHH抗體、或經工程改造之抗體樣骨架，諸如阿德奈汀、親和抗體、安替克林、DARPin及經工程改造之Kunitz型抑制劑。其他實例亦包括免疫調節細胞介素之受體誘餌，諸如腫瘤壞死因

子-α及IL-1β、IL-6或干擾素-γ。

【0176】 使用消炎藥(諸如上文所列之彼等消炎藥)之一個常見副作用為感染風險較高。因為該等消炎藥會減弱人體之免疫反應，所以免疫系統對抗細菌、病毒及寄生蟲之能力減弱。因此，需要仔細權衡全身使用此等藥物之益處與全身免疫抑制相關之風險。在全身受高免疫病症(諸如類風濕性關節炎)影響之疾病的情況下，免疫減弱藥物之全身性使用可能為合理的。然而，對於僅影響一個或有限數目個關節之病狀，受影響之全身風險通常不能證明此等藥物之全身使用為合理的。

【0177】 作為替代方案，已提出免疫調節藥物之關節內(IA)投與以預防或抑制與骨關節炎相關之發炎的長期效應。然而，此等藥物在IA投與之後會被迅速清除出關節間隙且不會提供足夠的療法持續時間。在IA注射之後，抗炎性蛋白在滑膜中之半衰期較短(<1.5小時)。此自臨床研究中顯而易見，在該等臨床研究中，發炎抑制劑(包括英利昔單抗(infliximab)及依那西普(etanercept))已藉由IA注射在人類中投與以用於各種關節病症。此等研究中之一些報告了關節發炎顯著減少，但承認需要頻繁(例如每週)投與才能取得成功的結果。因此，使用現有藥物之IA消炎療法將受限於高成本及頻繁IA給藥之不便。顯然，需要延長滑液內之消炎藥物生物活性的方法以使得此治療方法能夠治療關節病症。

【0178】 與關節病症相關之主要症狀為疼痛、積液、活動範圍受限及關節解剖結構之病理性重塑。治療關節病症之治療功效可包括依藉由一般性評定(諸如視覺評定評分)所量測之疼痛的減輕。功效亦可使用特定於特定關節病症之系統，諸如骨關節炎之WOMAC評分、類風濕性關節炎之ACR20、牛皮癬性關節炎之牛皮癬性關節炎生活品質或僵直性脊椎炎之

SASSS基於改善之評分來確定。功效亦可使用功能性輸出，諸如無疼痛行走距離之增加或關節活動範圍之增加來量測。功效亦可基於展示正常關節解剖結構之復原的放射照相證據來量測。

【0179】 結合物可以依上文所論述之任何適合的頻率或量投與。在一些實施例中，將結合物以每月不超過約一次注射至關節中。在一些實施例中，將結合物以每月約一次至每6個月一次注射至關節中。在一些實施例中，將結合物以每2個月一次或每3個月一次注射至關節中。

1.骨關節炎

【0180】 2015年，估計有775萬美國人出現了可能與已知關節損傷相關之骨關節炎(OA)症狀。創傷後OA (PTOA)占所有OA病例之至少15%，儘管假定許多其他OA診斷亦可能與先前關節創傷有關。由於缺乏疾病改善療法，所以關節置換手術通常為消除相關不適及恢復活動性之唯一治療選擇。然而，PTOA常常在年輕患者中被診斷出來，對該等患者而言關節置換並非一種可行的選擇。總體而言，治療此等PTOA患者之成本在每年的健康照護成本方面超過$4B。

【0181】 損傷相關發炎之短期抑制將限制PTOA之長期症狀。許多類型之關節損傷都與PTOA相關，包括脫位、韌帶撕裂、半月板損傷及關節內斷裂。儘管初始損傷可能為急性的，但該損傷足以引發發炎介質之級聯。由此產生之慢性全關節發炎會促進關節軟骨之分解代謝，導致進一步之組織損傷，該組織損傷隨時間推移而累積且呈現為PTOA。TNFα及IL-1β在介導關節發炎中具有熟知作用。此等細胞介素相互作用以促進軟骨之破壞，其係藉由下調軟骨基質組分之表現和上調基質金屬蛋白酶(MMP)之表現而發生的。TNFα亦刺激破骨細胞募集，且在發炎性環境中誘導成

骨細胞凋亡，此促使對關節軟骨組織之侵蝕。TNFα及IL-1β為用於減輕對於關節損傷之發炎反應的引人注目的目標。已提議在關節環境中抑制此等關鍵急性發炎性細胞介素以用於早期干預以暫緩PTOA之進展。

2.歸因於對關節內微粒之免疫反應的發炎

【0182】 關節之關節面之間發生的磨損可能產生呈微米標度的驅動關節發炎及骨質溶解之粒子。磨損粒子可能由於內源面之間的磨損而產生，諸如骨化軟骨病變、骨贅(骨刺)或暴露之軟骨下骨病變。此類型之磨損粒子的產生在OA之後期經常發生，從而導致嚴重的關節疼痛及不能活動。此額外的發炎反應加速了OA中關節組織退化之速率。

【0183】 磨損粒子亦可形成於人造關節之表面之間。2015年，超過700萬美國人依靠植入人工關節而生活。此等個體中有近250,000個個體將由於裝置周圍骨骼之骨質溶解，最終導致裝置鬆動及失效，而最終需要進行翻修手術。

【0184】 磨損相關之發炎源於異物對另外自關節面脫落之惰性微粒的反應。滑膜內層內部之巨噬細胞很容易將磨損之微粒識別為異物，釋放將其他活性免疫細胞募集到滑膜之促炎因子，且刺激破骨細胞擴張，同時抑制骨形成。因此，持續發炎會觸發前饋循環，其中軟骨退化及骨質溶解導致關節面之間的更多磨損以及更多的運動及物理應力，進而產生更多粒子。

【0185】 在一些實施例中，肽調節免疫細胞功能之活性。在一些實施例中，肽抑制腫瘤壞死因子-α、介白素-1β、介白素-6或干擾素-γ。在一些實施例中，肽抑制腫瘤壞死因子-α。

【0186】 腫瘤壞死因子(TNFα)為用於控制異物反應之引人注目的目

標。TNFα在介導關節發炎中具有熟知作用。TNFα亦刺激破骨細胞募集，且誘導發炎環境中成骨細胞之細胞凋亡，從而導致軟骨下骨之骨質溶解。使用全身投與之受體拮抗劑(依那西普)抑制TNFα已被證明可以減少小鼠中磨損粒子誘發之骨骼再吸收，但與全身抗TNFα相關之風險通常不被認為對於局部病狀而言可接受。作為替代方案，已提出IA抗TNFα療法來預防或抑制對關節內磨損粒子的溶骨反應。

【0187】 在一些實施例中，本發明之用途為依本文所描述之結合物的用途，其用於製備供治療個體之疾病或病症的方法用之藥物。

【0188】 在一些實施例中，個體為人類。

【0189】 在一些實施例中，本發明之用途為包含依本文所描述之結合物或醫藥組合物以用於治療疾病或病症之用途。

【0190】 在一些實施例中，本發明之醫藥組合物為用於治療疾病或病症之醫藥組合物，其包含依本文所描述之結合物。

【0191】 在一些實施例中，本發明之結合物為用於治療依本文所描述之疾病或病症的結合物。

VII. 製備方法

【0192】 在一些實施例中，該方法為製備本發明之肽的方法，其包含(a)在第一反應混合物中轉譯編碼細菌中之肽的基因序列；及(b)藉由自第一反應混合物及乙二胺四乙酸(EDTA)形成第二反應混合物來自第一反應混合物中移除內毒素；由此製備肽。

【0193】 在一些實施例中，該方法為製備本發明之肽的方法，其包含(a)在第一反應混合物中轉譯編碼細菌中之肽的基因序列；(b)自第一反應混合物及乙二胺四乙酸(EDTA)形成第二反應混合物；及(c)過濾該第二

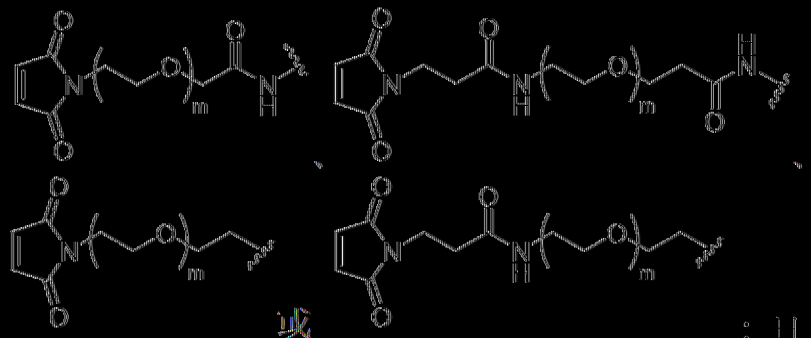
反應混合物；由此製備肽。在一典實施例中，第二反應混合物進一步包含氯化鈉。在一典實施例中，第二反應混合物進一步包含檸檬酸鈉。在一典實施例中，第二反應混合物進一步包含檸檬酸鈉pH 5.5。

[0194] 在一典實施例中，細菌為大腸桿菌。

[0195] 在一典實施例中，第二反應混合物包含約0.1 mM至約5 mM EDTA。在一典實施例中，第二反應混合物包含約0.2 mM至約1 mM EDTA。

[0196] 過濾第二反應混合物可藉由此項技術中已知之任何方法來實現。在一典實施例中，過濾第二反應混合物包含過濾膜。在一典實施例中，過濾膜包含聚醚碸(PES)或再生纖維素。舉例而言，過濾膜可包含50kDa或100kDa PES膜。

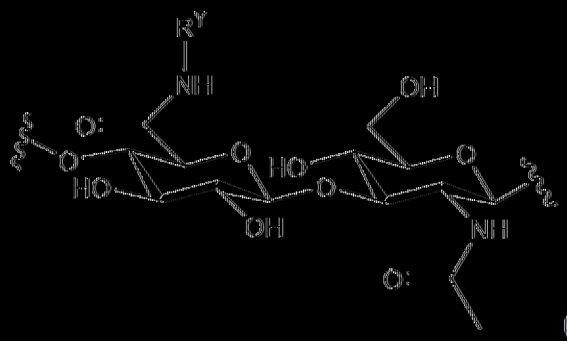
[0197] 在一典實施例中，製備本發明之結合物的方法包含：(a)形成第一反應混合物，其包含具有約0.1 MDa至約3 MDa之分子量的玻尿酸聚合物、每個玻尿酸單體約0.1至約2當量之偶合劑及式$H_2N\text{-}R^Y$之有機連接劑，其中R^Y為



或

；且

下標m為1至300之整數；由此形成具有複數個式IV單體之中間物聚合物：



(IV)；且

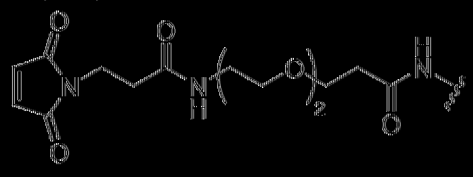
(b)形成包含該中間物紫合物及具有約5 kDa至約200 kDa之分子量之肽的第二反應混合物，其中該肽包含一或多個SH；由此製備該結合物。

[0198] 在一些實施例中，玻尿酸紫合物具有約0.4 MDa至約2 MDa之分子量。在一些實施例中，玻尿酸紫合物具有約0.7 MDa至約1.5 MDa之分子量。在一些實施例中，玻尿酸紫合物具有約0.8 MDa之分子量。

[0199] 在一些實施例中，第一反應混合物包含約0.2至約1.5當量之每玻尿酸單體的偶合劑。在一些實施例中，第一反應混合物包含約0.2至約1當量之每玻尿酸單體的偶合劑。

[0200] 在一些實施例中，偶合劑包含碳化二亞胺。在一些實施例中，偶合劑為1-乙基-3-(3-二甲胺基丙基)碳化二亞胺、1,3-二異丙基碳化二亞胺或二環己基碳化二亞胺或其鹽。在一些實施例中，偶合劑為1-乙基-3-(3-二甲胺基丙基)碳化二亞胺或其鹽。

[0201] 在一些實施例中，R^Y為



。

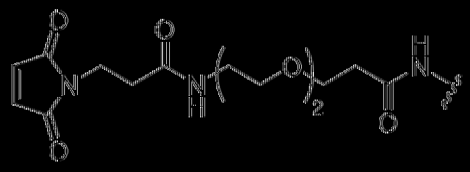
[0202] 在一些實施例中，第一反應混合物包含約0.2至約6當量之每玻尿酸單體的有機連接劑。

[0203] 在一些實施例中，第一反應混合物包含催化劑。在一些實

施例中，催化劑為2-氰基-2-(羥亞胺基)乙酸乙酯(Oxyma)、羥基苯并三唑、N-羥基丁二醯亞胺(NHS)、N-羥基磺基丁二醯亞胺(磺基-NHS)或1-羥基-7-氮雜苯并三唑或其鹽。在一典實施例中，催化劑為羥基苯并三唑。

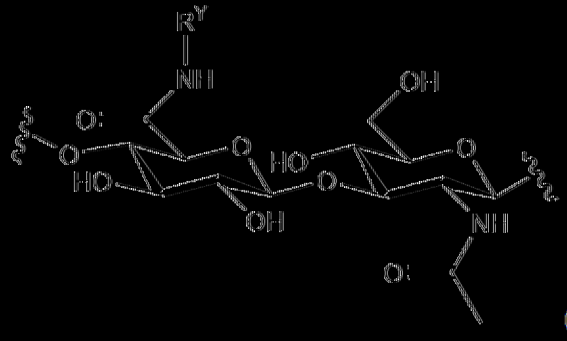
[0204] 在一典實施例中，第二反應混合物包含約0.5至約1.5當量之每有機連接子的肽。

[0205] 在一典實施例中，製備本發明之結合物的方法包含：(a)形成第一反應混合物，其包含具有約0.8 MDa之分子量的玻尿酸聚合物、約0.2至約1當量之每玻尿酸單體的偶合劑及式H_2N-R^Y之有機連接劑，其中R^Y為



；

從而形成具有複數個式IV單體之中間物聚合物：



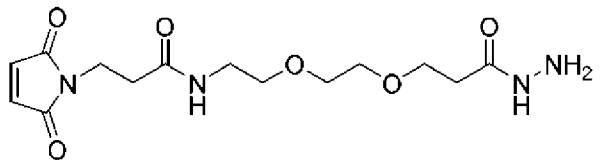
(IV)；

偶合劑為1-乙基-3-(3-二甲胺基丙基)碳化二亞胺或其鹽；且

第一反應混合物包含約0.2至約6當量之每玻尿酸單體的有機連接劑；且

(b)形成包含該中間物聚合物及具有約5 kDa至約200 kDa之分子量之肽的第二反應混合物，其中該肽包含一或多個-SH；由此製備該結合物。

[0206] 有機連接劑具有以下結構：



，

且已知為3-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-(2-(2-(3-肼基-3-側氧基丙氧基)乙氧基)乙基)丙醯胺，亦以縮寫MP2H為人所知。提及「MP2H」作為依本文所用之有機連接劑或有機連接子在其使用之上下文中為熟習此項技術者所理解。

VIII.實例

【0207】使用某些縮寫及頭字語描述實驗細節。儘管大部分縮寫及頭字語為熟習此項技術者理解，但下表含有許多此等縮寫及頭字語之清單。

表1.縮寫及頭字語之清單。

縮寫	含義
aH	α螺旋
BLI	生物膜層干涉術
CBB	考馬斯亮藍
Da	道爾頓
DMSO	二甲亞碸
DMTMM	4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三吩-2-基)-4-甲基嗎福啉鎓氯化物
DPBS	杜爾貝寇氏磷酸鹽緩衝鹽水(Dulbecco's Phosphate Buffered Saline)
DTT	二硫蘇糖醇
EDC	1-乙基-3-(3-二甲胺基丙基)碳化二亞胺
EDTA	乙二胺四乙酸
ELISA	酶聯結免疫吸附劑分析法
FPLC	快速蛋白質液相層析
HA	玻尿酸
IL	介白素
IMAC	固定化金屬親和層析
IPTG	異丙基硫代半乳糖苷
ITV	玻璃體內
kDa	千道爾頓
MDa	兆道爾頓
MES	2-(N-嗎啉基)乙烷磺酸
MVP	多價蛋白質
MW	分子量

縮寫	含義
MWCO	分子量截止值
NHS	N-羥基丁二醯亞胺
ORF	開讀框
PBS	磷酸鹽緩衝鹽水
RPM	轉/分鐘
RT	室溫
sdAb	單域抗體
SDS-PAGE	十二烷基硫酸鈉聚丙烯醯胺凝膠電泳
SEC	尺寸排阻層析
SEC MALS	尺寸排阻層析多角度光散射
TB	TB培養基(Terrific Broth)
TCEP	參(2-羧乙基)膦

【0208】 通用方法用於以下實例中。

添加用於蛋白質/結合物穩定性之肽連接子

【0209】 治療性蛋白及C端肽連接子之間的框內融合經由兩種方法實現。將編碼肽連接子的大腸桿菌密碼子最佳化核苷酸添加至治療性ORF(以用於MVP結合之單個C端半胱胺酸殘基完成)且排序為線性Geneblock(來自IDT或類似產品)，其中懸垂物適用於直接選殖至蛋白質表現質體中。替代地，將與含有編碼肽連接子之密碼子最佳化序列的治療性ORF互補的寡核苷酸引子在PCR反應中延伸及擴增，從而產生直接選殖至蛋白質表現質體中之線性擴增子。對所有分離之質體進行桑格定序(Sanger sequencing)，以確保含有融合至肽連接子之治療劑的ORF之正確安置及完整性。所有ORF均在商業T7相容性大腸桿菌菌株內經由IPTG誘導型T7啟動子表現。

大腸桿菌中之細胞質表現

【0210】 為測定在大腸桿菌中表現之可溶蛋白的數量，將蛋白質置於IPTG誘導性T7啟動子(NEB Shuffle T7 Express)之控制下，在TB培養基中生長至0.6之OD_{600nm}且允許在37℃下用0.5 mM IPTG誘導四小時時間

段。培養物大小視需要及目的而變化，但在10 mL至1 L之間。

大腸桿菌周質中之表現

【0211】 為了在大腸桿菌周質內表現，將大腸桿菌MalE之周質靶向序列添加至ORF之N端。所有後續表現及下游純化技術保持不變。

IMAC及親和標籤移除

【0212】 將來自1L培養物之大腸桿菌集結粒經由音波處理裂解於25 mM HEPES、20 mM咪唑、400 mM氯化鈉、0.5 mM EDTA、5%甘油、0.01% Tween 20 (pH 7.5)中，以20k*g澄清，且施加於GE Ni-NTA HisTrap™管柱。將非特異性蛋白在以上含有額外40 mM咪唑之緩衝液中洗掉。隨後使用FPLC以260 mM咪唑之梯度溶離所關注之蛋白質。經由SDS-PAGE檢查純度，且將藉由AKTA Unicorn軟體鑑別之溶離峰面積用作培養物產率比較指標。在一些情況下，蛋白質在N端用TEV可裂解IMAC親和標籤來表現，該標籤在IMAC純化後被移除。

蛋白質A純化

【0213】 在不使用聚組胺酸親和標籤之情況下，使用蛋白質A樹脂(JSR Life Sciences，Amsphere A3)自於20 mM Tris、25 mM氯化鈉、0.5 mM EDTA (pH 8.5)中之澄清大腸桿菌裂解物中捕獲sdAb。將經固定的sdAb隨後在新鮮裂解物緩衝液中洗滌，且隨後用50 mM檸檬酸鈉pH 5、25 mM NaCl、1 mM EDTA溶離。

層析拋光

【0214】 為進一步純化蛋白質，將彙集之IMAC溶離液用奈米純水稀釋5倍，且施加於用20 mM Tris、25 mM氯化鈉、0.5 mM EDTA (pH 8.5)預平衡之GE HiTrap Q HP管柱。此等條件足以自親和層析溶離液池中

移除污染性大腸桿菌蛋白，其中目標蛋白質留在管柱流過物中。將Q管柱流過物進一步用奈米純水稀釋兩倍，用乙酸將pH調至5，且施加於用10 mM檸檬酸鈉、0.25 mM EDTA (pH 5.0)預平衡之GE HiTrap SP HP管柱。將純化蛋白質以25 mM檸檬酸鈉、0.5 M氯化鈉、1 mM EDTA (pH 5.5)之梯度溶離。經由SDS-PAGE確認純度，且將藉由AKTA Unicorn軟體鑑別之溶離峰面積用作蛋白質產率比較指標。

內毒素移除及蛋白質精整

【0215】 彙集純SP溶離級份，且使材料穿過100 kDa再生纖維素旋轉濃縮器兩次以移除內毒素。將100 kDa旋轉濃縮器流過物蛋白質溶液隨後在3 kDa再生纖維素旋轉濃縮器上濃縮至蛋白質濃度>175 mg/mL。隨後將無菌甘油添加至10% C_F (v/v)中，且隨後快速冷凍且儲存在-80℃下。

【0216】 替代地，在Q陰離子交換層析之後，用陽離子交換層析進行最終濃縮/純化步驟。使蛋白質在pH 5下結合，且經溶液A (10 mM檸檬酸鈉pH 5，0.25 mM EDTA)至溶液B (25 mM檸檬酸鈉pH 5.5，1 M NaCl，1 mM EDTA)之梯度溶離，通常在10%與25% B之間溶離。隨後彙集峰級份，且隨後使此等彙集之蛋白質溶液以3000*g穿過100kDa過濾膜(PES或再生纖維素)。隨後在10kDa過濾膜上進一步濃縮純蛋白質。

游離半胱胺酸凝膠分析

【0217】 為確保單一游離半胱胺酸可供用於結合至生物聚合物，將約20當量之1.2 kDa PEG-順丁烯二醯亞胺部分在42℃下培育45分鐘，且在4%至20% SDS-PAGE上操作，以證實遷移率藉由單一1.2 kDa凝膠遷移率變動來變動。

額外蛋白質/結合物穩定突變

【0218】 經由針對PDB資料庫之BLAST查詢來擷取蛋白質序列。用Jalview程式進行MSA操縱，該程式包括使用Clustal Omega進行序列比對、人工管理來自比對中之序列以僅包括具有所需拓樸之sdAb，且移除序列冗餘使得僅約100個序列保留在MSA內。MSA內含有九或以上之保守性分數的位置被認為係一致的，且併入在ORF與結合半胱胺酸之間含有c端α螺旋連接肽的sdAb序列中。

定點突變誘發

【0219】 含有所需密碼子最佳化之胺基酸取代突變的互補寡核苷酸對係根據Agilent QuikChange定點突變誘發套組方案中公佈之指南設計的，且購自IDT。根據製造商之方案，在約10 ng之質體DNA上進行SDM PCR反應。對新分離之質體進行桑格定序以確認適當胺基酸取代。

可溶性裂解物蛋白質之熱沈澱

【0220】 將25x體積之裂解緩衝液25 mM HEPES、20 mM咪唑、400 mM氯化鈉、0.5 mM EDTA、5%甘油、0.01% Tween 20 (pH 7.5)添加至自25mL TB培養物中收穫之大腸桿菌集結粒中，且使用探針超音波發生器以40%之輸出在冰上音波處理5x。一旦裂解，將全細胞萃取物以10K*g澄清，且將100 uL上清液等分，且在50℃、60℃、70℃及80℃下進行培育15分鐘，接著在冰上培育十分鐘。以10K*g移除熱沈澱之蛋白質五分鐘，且將可溶性萃取物級份與勒姆利樣品緩衝液(Laemmli sample buffer)直接合併，變性，且在4%至20% SDS-PAGE上操作以評估產率及穩定性。

實例1.肽連接子評估

【0221】 在附接至聚合物之前，基於圖1A中之表現開讀框(ORF)，

在大腸桿菌中表現含有附接至肽連接子的所關注之生物活性肽的肽。評估了將生物活性肽連接至聚合物之各種肽連接子(表2)。

表2.肽連接子

連接子名稱	連接子類型	連接子序列
aH	α螺旋	AEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 21)
AE3K2R(2)	α螺旋	AEEEKRKAEEEKRKAEEEAGC (SEQ ID NO: 22)
AE3K2R(3)	α螺旋	AEEEKRKAEEEKRKAEEEKRKAEEEAGC (SEQ ID NO: 23)
E4K4(2)	α螺旋	AEEEEKKKKEEEEKKKKAGC (SEQ ID NO: 24)
EA3K(2)	α螺旋	AEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 25)
α	α螺旋	PSRLEEELRRRLTEGC (SEQ ID NO: 26)
肌凝蛋白VI	α螺旋	AEEEEKKKQQEEEAERLRRIQEEMEKERKRREEDEERRRKEEEERRMKLEMEAKRKQEEEERKKREDDEKRKKKAGC (SEQ ID NO: 27)
Spot	非結構化	PDRVRAVSHWSSC (SEQ ID NO: 28)
GT9	非結構化	GTGTGTGTGTGTGTGTGTGC (SEQ ID NO: 29)
經修飾剛性	剛性	TPTTPPTPTPGTPPGGC (SEQ ID NO: 30)

【0222】 圖1B展示了大腸桿菌中例示性蛋白質2H10之可溶性表現。在含有α螺旋肽連接子之2H10變異體的情況下觀測到可溶性級份的產率提高。當反應性半胱胺酸存在於蛋白質之C端處時，α螺旋肽連接子之存在改良了表現。

【0223】 圖1C展示了可溶性表現之增加在可比肽之SDS-PAGE分析中顯而易見。將含有自體誘導培養基及卡本西林(carbenicillin)之培養物(5 mL)在37℃下隔夜生長至飽和。藉由離心收集飽和培養物，用1 mL PBS洗滌且藉由重複離心收集。抽吸上清液且將培養物在-80℃下冷凍。將細胞經由探針超音波發生器在冰上裂解，用離心清除，標準化至蛋白質含量且在4%至20% SDS-PAGE上操作。由約15 kDa之條帶證明的Hu2H10_5MUT (SEQ ID NO: 55)及Hu2H10_5MUT_CYS (SEQ ID NO: 141)之蛋白質表現低於在C端處含有SEQ ID NO: 21之α螺旋肽連接子的Hu2H10_5MUT_aH_CYS (SEQ ID NO: 142)的蛋白質表現(約17 kDa之條帶)。

【0224】 增強之可溶性表現不限於以上蛋白質。抗VEGF蛋白HuNb42亦顯示藉由添加C端α螺旋肽使可溶性表現增加。圖1D展示了HuNb42_A88P (SEQ ID NO: 67)(「剔除式」)相較於HuNb42_A88P aH_CYS (SEQ ID NO: 145)(「+ aH_CYS」)之可溶性表現。具有α螺旋連接子之每公升培養基的總製程產率比不具有C端α螺旋肽之對應蛋白質的總製程產率高約四倍。

實例2.可溶性表現之人源化效應

【0225】 治療性肽及蛋白質需要較高程度之人源化以降低免疫原性之風險。然而，單域抗體內之某些殘基影響人源化，同時降低穩定性。因此，對與人源化及穩定性相關之構架區中之特定點突變進行系統性評估。

【0226】 使用來自Abysis抗體分析儀及T20評分分析儀(來自LakePharma)之計算資源進行序列人類化。對於靶向人類蛋白質之sdAb，共有序列內之某些胺基酸改變，使得達成85或更大之僅T20構架評分。

【0227】 圖2展示了針對在大腸桿菌中之表現進行測試之2H10及點突變變異體的胺基酸序列。依圖3A所繪示，變異體Hu2H10 R86K A87P (SEQ ID NO: 56)及Hu2H10 R86K A87P L115Q (SEQ ID NO: 58)具有比Hu2H10 5MUT (SEQ ID NO: 55)或Hu2H10 L115Q (SEQ ID NO: 57)更高的蛋白質表現。

【0228】 圖4展示了針對在大腸桿菌中之表現進行測試之Nb42及點突變變異體的胺基酸序列。圖5展示了HuNb42 A88P變異體(SEQ ID NO: 67)展現增加之可溶性表現。圖6展示了較高相對表現並不取決於細胞區室，因為細胞質及周質區室均顯示較高相對程度之可溶性表現。

【0229】 圖7展示了相比於卡帕珠單抗、貝伐單抗及蘭尼單抗，

Nb42 (SEQ ID NO: 61)、HuNb42 (SEQ ID NO: 62)及HuNb42_A88P (SEQ ID NO: 67)之人源化。就人源化而言，依由Z-評分或T20評分所量測，HuNb42 (SEQ ID NO: 62)及HuNb42 A88P變異體(SEQ ID NO: 67)各自與文獻人類化抗體相當。

【0230】 圖8展示了在室溫、50℃、60℃、70℃及80℃下表現aTNFaMu (SEQ ID NO: 71)或aTNFaMu_3MUT (SEQ ID NO: 72)之大腸桿菌細胞萃取物的考馬斯亮藍(CBB)染色。該染色表明aTNFaMu內的三個點突變增加了蛋白質之產率及熱穩定性(至多約70℃)。

【0231】 圖9展示了E1-1中之特定點突變對蛋白質表現量之影響。E1-1 S49A (SEQ ID NO: 83)、E1-1 F11L S49A (SEQ ID NO: 84)及E1-1 CDR (SEQ ID NO: 85)顯示與E1-1 (SEQ ID NO: 81)或E1-1 F11L (SEQ ID NO: 82)相比約10倍或更大之相對蛋白質表現。

【0232】 圖10展示了當在較高溫度下進行蛋白質合成時，與最終蛋白質製劑中較少反應性半胱胺酸一致之凝膠遷移分析(上圖)。較少之反應性半胱胺酸表明天然存在之二硫橋鍵在抗體內形成，從而產生了更穩定的產物。類似之凝膠遷移(下圖)顯示當蛋白質合成溫度升高時的二硫橋鍵形成之自低至高的梯度。

實例3.內毒素移除

【0233】 蛋白質製劑中不需要內毒素，因為該內毒素會帶至藥物結合步驟，且為動物測試中之污染源(內毒素會引起免疫反應)。

【0234】 內毒素移除取決於緩衝液中EDTA之存在情況，EDTA之存在使內毒素聚集以達特定尺寸且變得可過濾，同時使過濾期間之蛋白質損失降至最低。圖11A至圖11B展示了內毒素移除製程移除了樣品中

>99.5%之內毒素。

【0235】 圖11B展示了用50及100kDa過濾器移除內毒素以及恢復其抗TNFα 3MUT VHH (小鼠)-aH (SEQ ID NO:104)含量。方法：使於25mM檸檬酸鈉(pH 5.5)、100mM NaCl、1mM EDTA中的約15mg/mL蛋白質溶液在室溫下通過50及100kDa聚醚碸膜(PES)過濾器，以15K*g持續10分鐘。使用A280分光光度計(nanodrop)量測蛋白質濃度，且使用Charles River Endoseafe LAL筒量測內毒素。

方法：

【0236】 將5mL培養物在TB自體誘導培養基+抗生素中在37℃下生長至飽和。經由在4℃下以4000RPM離心10'來收集細胞。將集結粒用1mL PBS洗滌且轉移到埃彭道夫管(Eppendorf tube)中。在14000RPM、2.5' 4℃下將細胞集結，且抽取上清液且冷凍。將冷凍之細胞集結粒在冰上解凍，且在裂解緩衝液(50mM HEPES pH 7.5、20 mM咪唑、400 mM NaCl、5%甘油、0.01% tween-20及0.5mM EDTA)中，使用小尖端超音波發生器，在40%輸出下5''脈衝開啟，5''脈衝關閉，持續總共60''的條件下，在冰上進行音波處理。使用Nanodrop A280將細胞裂解物標準化至總蛋白質含量，且在變性及還原條件下在4%至20% SDS-PAGE上操作。將凝膠在InstaBlue蛋白質染色劑中進行染色，且在水中充分脫色。使用ImageJ軟體計算密度測定信號%，且在整個凝膠泳道上進行標準化。當>10%之總泳道蛋白質信號係歸因於大致預測分子量之條帶時，達成過度表現，而未見於未誘導之樣品對照中。說明性SDS-PAGE凝膠在圖11C中展示。

【0237】 針對本發明之某些肽的表現密度測定法量測的概述顯示於

下表3中。

表3.表現密度測定法值

名稱	序列[§]	總計%
aVegF_VHH	SEQ ID NO: 91	21.3
aVegF_VHH_3MUT	SEQ ID NO: 96	21.9
aVegF_VHH_5MUT	SEQ ID NO: 97	20.9
aVegF_VHH_6MUT	SEQ ID NO: 98	18.3
aTNFaHu	SEQ ID NO: 102*	28.3
aTNFaMu_3MUT	SEQ ID NO: 104*	16.9
aTNFaHu_7MUT	SEQ ID NO: 107	25.0
Hu_aTNFaMu_3MUT	SEQ ID NO: 108	12.8
Hu_aTNFaMu_5MUT	SEQ ID NO: 109	17.8
Hu_aEGFR_5MUT	SEQ ID NO: 119	11.8
aAng2_D4	SEQ ID NO: 120	30.0
Hu_aAng2_D4_3MUT	SEQ ID NO: 121	23.7
aAn2_H4	SEQ ID NO: 122	25.5
Hu_aAng2_H4_6MUT	SEQ ID NO: 123	10.7
aAng2_0027	SEQ ID NO: 124	34.9
Hu_aAng2_0027_2MUT	SEQ ID NO: 125	19.8
aEpCam_Nb4	SEQ ID NO: 126	15.4
Hu_aEpCAM_Nb4_4MUT	SEQ ID NO: 127	16.1
aEpCam_Nb5	SEQ ID NO: 128	15.2
Hu_aEpCAM_Nb5_11MUT	SEQ ID NO: 129	17.9
aEpCAM_Nb22	SEQ ID NO: 130	11.9
Hu_aEpCAM_Nb22_6MUT	SEQ ID NO: 131	14.9
aPDL1_Nb1	SEQ ID NO: 155	28.6
Hu_aPDL1_Nb1_4MUT	SEQ ID NO: 156	19.9
aPDL1_Nb104E10	SEQ ID NO: 157	25.0
Hu_aPDL1_Nb104E10_1MUT	SEQ ID NO: 158	23.4
aPDL1_NbG5	SEQ ID NO: 159	19.6
Hu_aPDL1_NbG5_4MUT	SEQ ID NO: 160	27.5
aPDL2_103E4	SEQ ID NO: 161	25.8
Hu_aPDL2_103E4_2MUT	SEQ ID NO: 162	23.4
aPDL2_103E5	SEQ ID NO: 163	16.2
Hu_aPDL2_103E5_4MUT	SEQ ID NO: 164	18.7
aPDL2_Nb103F10	SEQ ID NO: 165	17.8
Hu_aPDL2_Nb103F10_5MUT	SEQ ID NO: 166	22.2
Hu_aPD1_102C3_3MUT	SEQ ID NO: 113	28.4
Hu_aPD1_102C12_3MUT	SEQ ID NO: 114	22.2
Hu_aPD1_102E2_3MUT	SEQ ID NO: 115	23.3
Hu_aPD1_102E8_3MUT	SEQ ID NO: 116	29.1
Hu_aPD1_102H12_4MUT	SEQ ID NO: 117	22.6
Hu_aIL-1B_5C_5MUT	SEQ ID NO: 167	17.4
Hu_aIL-1B_6C_3MUT	SEQ ID NO: 168	20.7
Hu_aIL-1B_11H_3MUT	SEQ ID NO: 169	13.3
Hu_aIL-1B_12D_2MUT	SEQ ID NO: 170	23.3

[§]所列之各序列共價附接至SEQ ID NO: 21之C端α螺旋肽，除了在以星號

(「*」)指示的情況下。

實例4.用於單域抗體之蛋白質表現的共有序列

【0238】 基於以上實例中所呈現之資料，以下構架序列允許單域抗體更穩定地被表現及/或更擬似人類。表4及表5展示具有容許胺基酸取代之例示性構架區。

表4.構架區

區	長度	序列
構架1	26	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG (SEQ ID NO:5)
CDR1	可變，例如7個胺基酸	
構架2	18	MGWFRQAPGKEREFVAAI (SEQ ID NO:6)
CDR2	可變，例如8個胺基酸	
構架3	39	YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA (SEQ ID NO:7)
CDR3	可變，例如18個胺基酸	
構架4	12	YWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:8)

表5.例示性肽上之容許取代

位置	共有胺基酸	容許取代
1	Q	E、D
2	V	-
3	Q	-
4	L	-
5	V	Q、A、E
6	E	-
7	S	T
8	G	-
9	G	-
10	G	-
11	L	S、V
12	V	A
13	Q	-
14	P	A、T
15	G	-
16	G	D、R
17	S	-
18	L	-
19	R	-
20	L	-
21	S	-
22	C	-
23	A	V、T、E
24	A	V
25	S	-
26	G	-
27-33	CDR1 (XXXXXXX)	
34	M	I、V、L
35	G	S、A
36	W	-
37	F	Y、V
38	R	-
39	Q	-

40	A	V、P、T
41	P	-
42	G	-
43	K	-
44	E	G、A、Q
45	R	L
46	E	-
47	F	G、W、L
48	V	-
49	A	G、S
50	A	S、G
51	I	-
52-59	CDR2 (XXXXXXXX)	
60	Y	-
61	A	G、S、T
62	D	-
63	S	-
64	V	-
65	K	-
66	G	-
67	R	-
68	F	-
69	T	-
70	I	-
71	S	-
72	R	Q
73	D	-
74	N	S、D
75	S	A、D
76	K	-
77	N	K
78	T	M
79	V	
80	Y	D、S
81	L	-
82	Q	-
83	M	-
84	N	D
85	S	N
86	L	-
87	R	-
88	P	A
89	E	-
90	D	-
91	T	-
92	A	-
93	V	M、L、I
94	Y	-

95	Y	-
96	C	-
97	A	
98	A	
99-116	CDR3 (XXXXXXXXXXXXXXXXX)	
117	Y	
118	W	-
119	G	-
120	Q	K
121	G	-
122	T	-
123	L	Q
124	V	-
125	T	-
126	V	-
127	S	-
128	S	-

實例5.製備經純化之硫醇反應性玻尿酸結合物中間物

【0239】藉由在室溫下平緩旋轉或以盤旋混合隔夜，將玻尿酸鈉(HA，830 kDa)以4mg/mL懸浮於水或0.1M 2-(N-嗎啉基)乙磺酸緩衝液(pH 5.7)中。向3 mg (3.6 nmol，量將根據聚合物組成及MW而變化) HA於溶液中，添加羥基苯并三唑(HOBt)水合物作為於DMSO中的約5至100 mg/mL儲備溶液，於10%至100% DMSO中之硫醇反應性連接劑(例如，醯肼-X-硫醇-反應性基團，諸如MP2H)(10至100 mg/mL儲備液)及於0.1 M MES緩衝液(pH 5.7)中之偶合劑(1-乙基-3-(3-二甲胺基丙基)碳二亞胺鹽酸鹽(EDC))。對於進行反應之不同方法，每莫耳HA及每羧酸酯之各反應物的莫耳當量以及示例性方法描述於下表6及表7中：

表6.方法中之偶合劑、催化劑及連接子之相對比率

反應物	方法1	方法2	方法5*
偶合劑(EDC)	500-750	1000-1500	9500-12000
HOBt	3000	2000	50
連接劑MP2H	3000	1500	500-1000

使用每莫耳830 kDa HA之莫耳當量進行EDC範圍反應設置。
*在指示時，在特定中間物中使用EMCH替代MP2H。

表7.方法中每聚合物羧酸酯之偶合劑、催化劑及連接子的比率

反應物	**方法1**	**方法2**	**方法5***
偶合劑(EDC)	0.25-0.375	0.5-0.75	4.75-6
催化劑(HOBt)	1.5	1	0.025
連接劑MP2H	1.5	0.75	0.25-0.5

每HA單體之反應物當量(每830 kDa HA約2000羧酸酯)。
*在指示時，在特定中間物中使用EMCH替代MP2H。

【0240】 在各次試劑添加之間藉由平緩移液將溶液混合，且用緩衝液使最終反應體積升高至1 mL。允許最終混合物在室溫下利用盤旋混合器進行反應45分鐘至2小時，視方法而定。在反應之後，使用經10% v/v甘油(視情況選用) pH 6.5 DPBS及0.01% v/v聚山梨醇酯20 (視情況選用)平衡、裝載有20%體積樹脂的粗反應物之7 kDa MWCO 5至10 mL Zeba脫鹽自旋管柱來純化硫醇反應性生物聚合物。使用離心機在室溫下將所需中間物溶離至乾淨錐形管中，溶離時間為約25至60分鐘。使中間物立即用於與硫醇反應或等分且在乾冰上快速冷凍。使用UV吸光度、NMR或經修改之埃爾曼氏(Ellman's)反應分析來確定每聚合物之順丁烯二醯亞胺濃度及修飾數目。

【0241】 替代地，醯肼連接子、催化劑及偶合劑(EDC)之反應pH或當量改變得更高或更低，以增加或減少每生物聚合物共價連接之硫醇反應性小分子連接子的數目(價數)。

【0242】 可使用替代偶合劑代替EDC及HOBt，諸如DMTMM或oxyma。亦可使用尺寸排阻層析法、其他脫鹽管柱、切向流過濾、離子交換層析法、透析或醇/丙酮沈澱自反應物中純化出活化生物聚合物中間物。

【0243】 純化後，使用Take3微點盤在BioTek Synergy盤讀取器上獲取使用不同方法製備之中間物的UV光譜(200-324 nm)。順丁烯二醯亞

胺濃度可藉由230 nm下之吸光度或藉由將光譜與參考標準中間物進行比較來確定。

【0244】 在佐治亞大學(University of Georgia)之複雜碳水化合物研究中心(Complex Carbohydrate Research Center，CCRC)處，在25℃下在裝備有5 mm低溫探針之Bruker Advance III光譜儀(^{1}H，600.13 MHz)上進行結合物之NMR分析。在使用方法1及方法5以6 mL標度標準製備中間物之後，使用脫鹽樹脂將中間物純化成HPLC級水，且在濕冰上運送至CCRC。將樣品在4℃下靜置數週，引起在NMR光譜中觀測到之部分順丁烯二醯亞胺水解。對於NMR樣品製備，將0.7 ml中間物儲備溶液(2.9 mg/ml)移液至7-ml螺帽管中。將1.3 ml D_2O (99.9%)添加至各樣品中且藉由渦旋充分混合。隨後使用SpeedVac真空濃縮器在室溫下將樣品乾燥。將經乾燥之樣品隨後再溶解於700 μL D_2O (99.98%)中以用於NMR分析。

【0245】 示例性反應產物之化學分析描述於下表8中。

表8.使用上文所描述之方法製備的例示性中間物

方法	中間物編號	順丁烯二醯亞胺價數(NMR)	順丁烯二醯亞胺價數* (埃爾曼氏)	N-醯基脲取代(藉由^{1}H NMR量測，莫耳%)
1	1-1	203	128	不可偵測
2	2-4	ND	128	ND
5	5-1	118	123	8.2%

ND=未確定，*=CCRC收到樣品的當天所確定

【0246】 使用三種不同方法合成之中間物的表格表示，以及其所得順丁烯二醯亞胺濃度、價數及基於HA單體之反應效率，展示於下表9、表10及表11中。

表9.方法1中間物

中間物#	催化劑(HOBt)當量	連接子(MP2H)當量	偶合劑(EDC)當量	[順丁烯二醯亞胺](μM)	假定無HA損失之順丁烯二醯亞胺價數	基於HA-COOH之反應效率
1-1	3000	3000	500	483.9	128	6.2%
1-2	3000	3000	500	350.14	124	6.0%
1-3	3000	3000	500	422.26	141	6.8%
1-4	3000	3000	500	393.05	139	6.7%
1-5	3000	3000	500	397.97	136	6.6%
1-6	3000	3000	500	334.1	115	5.6%
1-7	3000	3000	750	429.11	145	7.0%
1-8	3000	3000	500	361.2	136	6.6%
1-9	2000	3000	500	306	97	4.7%
1-10	1000	2000	500	104	34	1.6%
1-11	1000	2500	500	150	47	2.3%
1-12	1500	3000	750	355	112	5.4%
1-13	3000	3000	500	484	137	6.6%
1-14	3000	3000	500	305	103	5.0%

表10.方法2中間物

中間物#	催化劑(HOBt)當量	連接子(MP2H)當量	偶合劑(EDC)當量	[順丁烯二醯亞胺] (μM)	假定無HA損失之順丁烯二醯亞胺價數	基於HA-COOH之反應效率
2-1	2000	1500	1500	371.2	111	5.4%
2-2	2000	1500	1500	333.1	101	4.9%
2-3	2000	1500	1500	371.2	113	5.5%
2-4	2000	1500	1500	428.2	128	6.2%
2-5	2000	1500	1500	338	107	5.2%
2-6	3000	3000	1500	570.6	155	7.5%
2-7	2000	3000	1000	392.5	121	5.9%
2-8	2000	3000	1000	482.6	162	7.8%

表11.方法5中間物

中間物#	連接子	催化劑(HOBt)當量	連接子當量	偶合劑(EDC)當量	[順丁烯二醯亞胺] (μM)	假定無HA損失之順丁烯二醯亞胺價數	基於HA-COOH之反應效率
5-1	MP2H	50	750	9500	415.3	123	5.9%
5-2	MP2H	50	1000	9500	399.64	138	6.7%
5-3	MP2H	50	1000	9500	476	137	6.6%
5-4*	MP2H	50	500	9500	826	171	8.3%
5-5*	MP2H	59	593	11263	707	227	11.0%
5-6	MP2H	50	1000	9500	296.43	95	4.6%
5-7	MP2H	50	500	9500	234.1	70	3.4%
5-8	MP2H	50	500	9500	349	90	4.4%
5-9	MP2H	50	500	9500	227	83	4.0%
5-10	EMCH	50	250	9500	417.9	122	5.9%

*順丁烯二醯亞胺濃度及價數係使用UV吸光度來定量。

【0247】 替代地，藉由在室溫下平緩旋轉或以盤旋混合隔夜，將玻尿酸鈉(HA，830 kDa)以10 mg/mL懸浮於水或以4 mg/mL懸浮於0.1 M 2-(N-嗎啉基)乙磺酸(MES)緩衝液(pH 5.7)中。在反應之前，使用水及約1 M MES (pH 5.7)製得於0.1 M MES中之4 mg/mL HA儲備液，且在室溫下使用盤旋將其混合。向3 mg (3.6 nmol，量將根據聚合物組成及MW而變化) HA於溶液中，添加羥基苯并三唑(HOBt)水合物作為於DMSO中的約5至100 mg/mL儲備溶液，於1%至10% DMSO中之硫醇反應性連接劑(例如，醯肼-X-硫醇-反應性基團，諸如MP2H)(10至100 mg/mL儲備液)及於0.1 M MES緩衝液(pH 5.7)中之偶合劑(1-乙基-3-(3-二甲胺基丙基)碳二亞胺鹽酸鹽(EDC))。對於進行反應之不同方法，每莫耳HA及每羧酸酯之各反應物的莫耳當量以及示例性方法描述於下表12中：

表12.中間物製備方法

反應物	**方法A**	**方法B**	**方法C**	**方法D**	**方法E**
偶合劑(EDC)	9500	500	1500	3000	6000
催化劑 (HOBt)	50	3000	2000	1000	750
連接劑(MP2H)	500-1000	3000	1500	1250	750

每HA單體之反應物當量(每830 kDa HA約2000羧酸酯)。

【0248】 在各次試劑添加之間藉由平緩移液將溶液混合，且用緩衝液使最終反應體積升高至1 mL。允許最終混合物在室溫下利用盤旋混合器進行反應45分鐘至1.5小時，視方法而定。在反應之後，使用經10% v/v甘油(視情況選用) pH 6.5 DPBS平衡、裝載有20%體積樹脂的粗反應物之7 kDa MWCO 5至10 mL Zeba脫鹽自旋管柱來純化硫醇反應性生物聚合物。對於NMR樣品，將Zeba管柱在氘化水中平衡，且將中間物在氘化水中溶離且不加以冷凍。使用離心機在室溫下將所需中間物溶離至乾淨錐形管中，溶離時間為約25至60分鐘。使中間物立即用於與硫醇反應或等分

且在乾冰上或-80℃下快速冷凍。使用UV吸光度、NMR或經修改之間接埃爾曼氏反應分析來確定每聚合物之順丁烯二醯亞胺濃度及修飾數目。

【0249】 各反應方法之順丁烯二醯亞胺濃度/價數提供於下表13中。

表13.用於間接埃爾曼氏法之順丁烯二醯亞胺取代量測

方法	順丁烯二醯亞胺價數*
A	290
B	185
C	227
D	223
E	180

*使用埃爾曼氏反應分析來確定藉由NMR分析之中間物的反應性順丁烯二醯亞胺濃度及近似價數。

【0250】 在佐治亞大學之複雜碳水化合物研究中心(CCRC)處，在25℃下在裝備有5 mm低溫探針之Bruker Advance III光譜儀(^{1}H，600.13 MHz)上進行結合物之NMR分析。在使用方法A至E以3至6 mL標度標準製備中間物之後，使用脫鹽樹脂將中間物純化成氘化水，且在濕冰上運送至CCRC。

【0251】 基於^{1}H NMR光譜之分析，所有樣品均含有對應於HA、MP2H、游離乙基二甲胺基丙基脲(EDU)(在純化期間未移除之EDC水解副產物)之信號。藉由計算來自特徵峰之信號的積分，相對於HA (重複聚合物單元)確定MP2H、結合之正醯基脲加合物及游離EDU之豐度。基於積分值，計算HA、MP2H、游離EDU及結合之正醯基脲(conjug. EDU)之原始豐度。MP2H、結合之正醯基脲加合物及游離EDU相對於HA之豐度展示於表14中。

表14.方法A至方法E之MP2H、游離EDU及正醯基脲加合物相對於HA(100%)之相對莫耳豐度

	MP2H	游離EDU	正醯基脲加合物
方法A	21.7	11.7	15.2
方法B	23.0	1.6	n.d.
方法C	25.9	6.4	n.d
方法D	26.8	8.0	n.q
方法E	20.7	18.2	5.0

n.d.：未偵測到之物種

n.q.：歸因於低信號，存在但不可定量之物種

實例6.製備經純化的肽-聚合物結合物

【0252】 為了獲得經純化的肽-聚合物結合物，將1.1至2當量之每順丁烯二醯亞胺的肽與藉由實例1之方法製備的中間物合併且使其在4℃或環境溫度下在旋轉或盤旋混合的情況下反應至少2小時至隔夜(大部分反應在室溫下發生以改良溶解度)。視情況，添加1 M pH 7之HEPES以至0.1 M之最終濃度，從而調節反應pH。在一些情況下，在結合反應之前，每蛋白質當量添加10至100當量之還原劑(諸如DTT或TCEP HCl)以減少肽之間的任何二硫橋鍵反應。此還原劑在藉由脫鹽管柱或緩衝液交換進行結合之前自肽溶液中移除，或直接以固定於聚合物珠粒上之TCEP形式添加至結合反應中。在結合反應期間，添加以下中之一或多者來改善反應效率：0.5至10 mM EDTA，以使游離硫醇氧化減至最少；tween 20、碳水化合物、額外緩衝液或甘油，以使蛋白質穩定及/或幫助減少蛋白質與活化生物聚合物之間的非特異性相互作用；增加或降低鹽濃度，以使蛋白質穩定及/或幫助減少蛋白質與活化生物聚合物之間的非特異性相互作用。藉由以下方法中之一或多者自肽-聚合物結合物中移除未反應之肽：用50至1000 kDa MWCO針對適當緩衝液(pH應高於或低於肽之pI >1個單位)進行透析(1:100至1:1000)至少兩次，各次4小時，且一次為在4℃至室溫下至少4小

時。針對檸檬酸鹽緩衝液、DPBS pH 6-8或50 mM tris 150 mM NaCl pH 8-8.5與EDTA及tween或其他添加劑如海藻糖(取決於肽)進行切向流過濾，使用尺寸排阻管柱進行FPLC拋光，使用經設計以與結合物之聚合物組分結合的親和層析管柱進行FPLC拋光，或對結合物進行選擇性沈澱亦可用於自未反應之肽中純化結合物。若反應效率足夠高(亦即存在<5%未反應之蛋白質)，則不需要純化。

【0253】 替代地，向實例1之中間物的各溶液中，以適合之肽:聚合物莫耳進料比添加肽，且添加Tween-20，以使最終濃度達至0.03% (視情況)。使溶液反應2小時至隔夜，同時在環境溫度下藉由旋轉(約5 RPM)或盤旋進行攪拌。藉由使用50至1000 kDa MWCO膜針對以下緩衝溶液中之各者依序進行透析來移除未反應之肽：第一，磷酸鹽緩衝鹽水或等效檸檬酸鹽或丁二酸鹽緩衝鹽水(pH及所使用之緩衝鹽視肽而定)與0.01% Tween-20 (視情況選用)，持續至少4小時；第二，磷酸鹽緩衝鹽水與0.01% Tween-20，隔夜；及磷酸鹽緩衝鹽水與0.01% Tween-20，在4℃或室溫下持續4小時，以及視情況選用之第四透析步驟。視情況，添加如tween 20、EDTA及碳水化合物之添加劑以增強蛋白質穩定性。

【0254】 在MVP純化之後，使用穩定性研究部分中所描述之方法分析結合物之蛋白質濃度、蛋白質價數、MVP半徑及結合親和力。使用不同中間物合成之MVP的表格表示以及其所得蛋白質濃度、價數、藉由生物膜層干涉術(BLI)量測之解離常數及半徑(若經測定)展示如下。

【0255】 相較於使用方法5合成之MVP，經方法1及方法2合成之MVP具有類似或改善之用於MVP治療劑之特徵(最終蛋白質濃度、蛋白質價數、半徑、結合動力學)(表15)。用方法1或方法5中間物合成之DARPin

MVP的流體動力學半徑比較之實例展示於圖12中。使用方法1或方法5中間物合成之抗VEGF MVP之VEGF結合曲線BLI資料比較之實例展示於圖13A中。

表15.結合物

結合物#	肽SEQ ID NO:	連接子 SEQ ID NO:	中間物#	肽濃度 (mg/mL)	肽價數	t=0下之K_D (nM)*	t=0下之R_g (rz)或R_h (nm)
1	92	-	5-4	1.325	68	0.001	51.5
2	92	-	1-7	2.712	117	0.001	78.2
3	92	-	5-5	1.77	67	0.001	44.3
4**	92	-	5-6	0.52	45	-	-
5	92	-	1-7	2.923	114	-	73.98
6	92	-	5-5	1.8	116	-	36.11
7	92	-	5-6	2.726	78	-	37.4
8	81	21	5-7	0.82	94	0.184	-
9	81	21	5-9	0.46	51	0.678	-
10	81	21	2-4	3.24	136	0.123	-
11	81	21	5-2	0.33	47	1.038	-
12	73	21	1-6	2.46	120	-	-
13	91	31	5-8	0.38	72	0.011	-
14	91	31	5-3	1.04	68	0.203	-
15	91	21	5-10	0.52	59	0.001	-
16	91	21	2-6	3.04	101	0.001	-
17	91	-	1-7	1.59	90	0.004	-
18	91	-	1-7	1.43	88	0.001	-
19	91	-	2-6	2.3	108	0.001	-
20	91	-	2-8	1.724	91	0.001	-
21	91	21	1-9	1.63	51	0.001	-
22	91	21	1-10	0.636	18	0.001	-
23	91	21	1-11	1.319	33	0.001	-
24	67	21	1-13	4.591	100	-	103
25	72	21	1-13	4.77	51	0.1	77
26	73	21	1-14	1.96	104		88

* BLI偵測極限為0.001 nM。上表中所列之具有此值的樣品的K_D低於BLI LOD。**經Cy7螢光團標記之肽

【0256】 替代地，為獲得經純化的肽-聚合物結合物，將1.1至2當量之每順丁烯二醯亞胺的肽與藉由表16中所示之方法製備的HA結合基質合併。允許結合反應在環境溫度下在旋轉或在盤旋混合的情況下反應至少2小時至隔夜。添加1 M pH 7之HEPES以至0.1 M之最終濃度，從而調節反

應pH。在一些情況下，藉由以下自肽-聚合物結合物中移除未反應之肽：用50至1000 kDa MWCO針對適當緩衝液(pH應高於或低於肽之pI >1個單位)進行透析(1:400至1:1000)至少三次，各次在4℃至室溫下4小時。

表16.肽-聚合物結合物之反應條件

結合物#	結合基質方法	結合基質(nmol)	肽	其他肽連接子	肽(nmol)
27	方法A	0.58	抗VEGF VHH (SEQ ID NO: 145)	-	141
28	方法B	0.60	抗VEGF VHH (SEQ ID NO: 145)	-	134
29	方法A	0.31	抗TNFα VHH (SEQ ID NO: 102)	-	75.5
30	方法B	0.32	抗TNFα VHH (SEQ ID NO: 102)	-	71.4
31	方法B	0.19	抗VEGF VHH (SEQ ID NO: 91)	SEQ ID NO: 21	58
32	方法B	0.29	抗PD1-1 VHH (SEQ ID NO: 114)	SEQ ID NO: 21	88
33	方法B	0.25	抗VEGF DARPin (SEQ ID NO: 92)	-	76
34	方法B	0.25	抗TNFα DARPin (SEQ ID NO: 154)	-	74
35	方法B	0.17	抗TNFα親和抗體 (SEQ ID NO: 105)	-	54
36	方法B	0.054	抗IL-1β scFv (SEQ ID NO: 106)	-	5
37	方法B	0.054	IL-2 (SEQ ID NO: 152)	-	18
38	方法B	0.098	IL-15 (SEQ ID NO: 153)	-	30

【0257】 為確認成功結合，藉由SDS-PAGE及DLS分析結合反應之產物。SDS-PAGE用於量測藉由遷移至凝膠中而分離的未反應之肽的百分率，其與其分子量一致。在結合反應之後，相當大百分率之肽在積層凝膠之頂部處以高分子量結合物形式存在，其由於其尺寸(>300 kDa)而無法遷移至凝膠中。DLS用於量測反應產物中存在之流體動力學半徑。在結合反應之後，最高強度峰值與符合結合基質之R_h一致，指示肽結合至玻尿酸基

質。結合物之資料展示於表17中。藉由以下確定未反應之蛋白質百分比：針對未結合之蛋白質進行SDS-PAGE條帶的密度計分析，其參考已知質量之BSA標準物，且接著除以裝載至各孔中之總質量。使用動態光散射(DLS)在Wyatt DynaPro盤讀取器III (25℃，5至10次採集，以5 s，n=3個樣品/結合物)下量測流體動力學半徑。藉由Jupyter筆記型電腦資料分析程式進行資料分析以提取具有足夠品質之資料且基於最高強度峰進行分析。

表17.各肽-聚合物結合物之特性

結合物#	結合基質	肽	其他肽連接子	未結合之肽百分比	R_h (nm)
27	方法A	抗VEGF VHH (SEQ ID NO: 145)	-	聚集	
28	方法B	抗VEGF VHH (SEQ ID NO: 145)	-	24	85
29	方法A	抗TNFα VHH (SEQ ID NO: 102)	-	聚集	
30	方法B	抗TNFα VHH (SEQ ID NO: 102)	-	54	88
31	方法B	抗VEGF VHH (SEQ ID NO: 91)	SEQ ID NO: 21	49	58
32	方法B	抗PD1-1 VHH (SEQ ID NO: 114)	SEQ ID NO: 21	-	82
33	方法B	抗VEGF DARPin (SEQ ID NO: 92)	-	49	
34	方法B	抗TNFα DARPin (SEQ ID NO: 154)	-	27	92
35	方法B	抗TNFα親和抗體 (SEQ ID NO: 105)	-	-	144
36	方法B	抗IL-1β scFv (SEQ ID NO: 106)	-	-	170
37	方法B	IL-2 (SEQ ID NO: 152)	-	-	77
38	方法B	IL-15 (SEQ ID NO: 153)	-	-	113

【0258】 為達成治療臨限值、最大化治療劑持久性及/或最小化劑量體積，通常需要實現高濃度之醫藥調配物。然而，在較高濃度下，治療肽可能聚集。對於聚合物-肽結合，存在額外問題，亦即與聚合物基質之相

互作用可能促成聚集或引起在無結合聚合物情況下將出現之較低肽濃度下之聚集。使用方法B製得之HA結合基質提供不具有所量測之聚集的聚合物-肽結合物。

【0259】 為使用方法B合成經純化的結合物#28：將174 µL之來自方法B之經純化的結合中間物與3 µL之2% v/v Tween20及26 µL之80 mg/mL N42抗VEGF VHH (SEQ ID NO: 145)針對1.1當量之每順丁烯二醯亞胺的肽在2 mL v底微量離心管中混合。藉由添加20 µL之1 M pH 7之HEPES將反應物pH調節至pH 7，最終濃度為0.1 M。使反應在室溫下隔夜進行16小時，以盤旋混合。藉由以下自肽-聚合物結合物中去移除未反應之肽：在室溫下在攪拌的情況下用100 kDa MWCO 200 µL microFloat-A-Lyzer透析盒(Repligen)針對pH 5.5 25 mM檸檬酸鹽、100 mM NaCl、0.03% tween20進行透析(基於初始反應體積為1:1000)。進行總共四個透析步驟，各自在4小時之後交換緩衝液三次且在16小時隔夜透析之後交換一次。

【0260】 為使用方法B合成經純化的結合物#30：將186 µL之來自方法B之經純化的結合中間物與3.3 µL之2% v/v Tween20及14.4 µL之80 mg/mL抗TNFα VHH (SEQ ID NO: 102)針對1.1當量之每順丁烯二醯亞胺的肽在2 mL v底微量離心管中進行混合。藉由添加20 µL之1 M pH 7 HEPES將反應物pH調節至pH 7 ，添加前者以使最終濃度為0.1 M。使反應在室溫下隔夜進行16小時，以盤旋混合。藉由以下自肽-聚合物結合物中去移除未反應之肽：在室溫下在攪拌的情況下用100 kDa MWCO 200 µL microFloat-A-Lyzer透析盒(Repligen)針對pH 5.5 25 mM檸檬酸鹽、100 mM NaCl、0.03% tween20進行透析(基於初始反應體積為1:1000)。

進行總共四個透析步驟，各自在4小時之後交換緩衝液三次且在16小時隔夜透析之後交換一次。

【0261】 在第四透析步驟完成之後，自透析盒中取出經純化的結合物且將其儲存在4℃下。依本文實例中所描述，反應產物藉由以下表徵：目視檢查、用以量測經純化蛋白質結合的UV可見吸光度、用以量測R_h之DLS、用以測定未結合蛋白質之百分比的SDS-PAGE以及用以量測結合親和力的生物膜層干涉術。

表18.由方法B中間物製備之結合物#28及#30的表徵

結合物	肽 (SEQ ID NO:)	經純化產物肽濃度 (平均值±COV)	未結合肽百分比	價數	R_h (nm)	K_d (pM)
28	145	4.956 ± 1.182%	9	129	85	1.07
30	102	2.784 ± 0.772%	3	137	88	<1

實例7.經純化的蛋白質-聚合物結合物之穩定性分析

【0262】 藉由將MVP維持在37℃、pH 7.3玻璃體模擬緩衝液(表19)或pH 7.4 PBS 0.01% tween 20中治療濃度的5至10倍來建立長期加速活體內穩定性來評定MVP穩定性。在不同時間之後，對取出之樣品使用SEC MALS或SEC、DLS及/或BLI分析來評定MVP穩定性。

表19.玻璃體模擬緩衝液組成

組分	mg/mL
NaCl	7.14
KCl	0.38
$CaCl_2$ $2H_2O$	0.154
$MgCl_2$ $6H_2O$	0.2
磷酸二鈉(NaH_2PO_4)	0.42
$NaHCO_3$	2.1
右旋糖	0.92
乳酸	0.358
$CuSO_4$	8.28×10^{-5}
$ZnSO_4$七水合物	0.000561
$FeCl_2$四水合物	0.000618

運鐵蛋白(2個Fe結合位點)	0.0878
還原麩胱甘肽(GSH)	0.0154

【0263】 建立了長期37℃穩定性研究，以評定組合物對MVP穩定性之影響。將MVP在無菌條件下合成且在無菌過濾之人類玻璃體模擬緩衝液中稀釋至約0.4 mg/mL。此濃度為吾等預測之臨床劑量之玻璃體內治療濃度的5倍。樣品在使用之前使用無菌0.2或5 μm自旋過濾器來過濾或與作為抗微生物劑之0.01%疊氮化鈉混合。隨後，將各樣品之若干個100 μL等分試樣添加至無菌96孔盤之孔中，其中在4℃下保留一個第0天等分試樣。將其餘孔用無菌過濾之人類玻璃體緩衝液+ 0.01%疊氮化鈉填充以使蒸發減至最少。將盤在標準組織培養物培育箱中在37℃與5% CO_2下培育。在離散時間點處，在無菌條件下自盤中取出各樣品之一個等分試樣且進行分析。首先，以10 nm步長自200至600 nm獲取樣品之UV-VIS光譜以監測樣品組成之任何顯著變化。接著，量測蛋白質濃度以針對可能已出現之任何體積差異進行調整。使用BLI來量測結合親和力。使用K_{on} (締合常數)或K_D隨時間推移之變化來評定相對穩定性。為了監測半徑隨時間推移之變化，將樣品以5000 g自旋5分鐘以移除任何大聚集體或粉塵粒子，且在無任何樣品稀釋的情況下使用DLS量測R_h。

【0264】 使用HPLC尺寸排阻層析法(SEC)分析穩定性研究樣品。此方法亦用於分析純化之後MVP形成及未反應蛋白質百分比。為經由SEC評定穩定性，過濾MVP以移除粒子且使用具有DPBS或適當溶劑作為移動相之Shodex 1 MDa Ohpak LB-804、Shodex KW-404或405、或Phenomenex PolySep6000管柱進行分析，以得到280 nm、230 nm等處之基線跡線。在各種時間點之後，取出樣品且使用相同SEC方法分析。滯留時間及峰寬相對於基線樣品之增加指示降解。另外，MVP峰面積減小及/

或單體及二聚體蛋白質物種峰面積增加亦指示MVP降解。藉由比較峰面積差異與時間來定量結合物損失百分比。在未來，SEC穩定性分析將與MALS結合以定量結合物在不同溫度下隨老化時間而變之分子量及價數變化。方法5或方法1中間物DARPin MVP樣品在37℃下老化至多71天的代表性SEC資料依圖14所示。由於其尺寸較大，因此可能無法在用於分析此資料中之結合物1的同一管柱上分析結合物2。

【0265】 亦藉由使SEC與MALS分析結合來分析穩定性研究樣品，以用於測定MVP在37℃下老化之後不同時間點之迴轉半徑($R_{g,z}$)及分子量。為此，將結合物穩定性樣品裝載至嵌套在2 mL HPLC小瓶中且加蓋之玻璃小瓶插入物(250 µL容量)中。對於HPLC分析，使用Shodex KW-405-4F (4.6×300 mm，0.35 mL/min流速)或LB-804或806 (8×300 mm，0.4 mL/分鐘流速，用於分析未結合之VHH峰)及其各自之保護管柱，在1260 Infinity Agilent HPLC系統上注射5至20 µg MVP (基於蛋白質)，該系統具有等度泵、自動進樣器、恆溫管柱區室及設置為在280 nm下監測之可變波長偵測器(或等效儀器)。為了進行分析，使用等度法將管柱區室保持在30℃，使用0.1 µm過濾之pH 7.4 DPBS、200 mM KCl、100 mM脲、50 mM磷酸鈉(pH 6)以及0.025%疊氮化鈉，或0.1 µm過濾之300 mM NaCl、10 mM磷酸納、0.025% SDS、0.025%疊氮化鈉(pH 6.0)流動相(用HPLC級水製得)，允許至少2個管柱體積之流動相在樣品注射後溶離或總共60分鐘運行時間。Dawn Heleos II MALS儀器及Optilab T-rEX差示折射率偵測器(Wyatt Technology)或等效儀器與UV偵測器下游之HPLC處於線內。表20中列出了使用Astra軟體(Wyatt Technology)進行蛋白質-聚合物結合物分析之MALS及dRI偵測器參數。在分析之前，確定系統之系統特定校準

數值、標準化係數、延遲體積及條帶變寬項。對於EDC範圍之MVP穩定性樣品的代表性SEC跡線展示於圖14中。滯留時間之增加指示MVP隨著老化的尺寸/收縮/降解之損失。在圖14中，高EDC結合物(結合物1)顯示與低EDC MVP (結合物2)相比，滯留時間及半徑收縮的增加大得多。峰增寬亦表明，隨著老化，樣品之多分散性增加，可能指示樣品分解。在圖15所示之加速老化研究中，藉由MALS進一步驗證了樣品之半徑損失。

表20.用於SEC MALS分析之MALS及dRI儀器參數

溶劑	
名稱	PBS，水溶液
溫度	25℃
在664 nm下計算之RI	1.3308
模型	Cauchy
黏度	0.8902 cP
模型	Kestin
熱膨脹	2.58E-04
模型	多項式
樣品	
蛋白質dn/dc	0.185
聚合物dn/dc*	0.159
蛋白質消光係數*	2.171 mL/(mg*cm)
聚合物消光係數*	0.022 mL/(mg*cm)
MALS	
樣品池	熔融矽石
收集間隔	0.5 s
波長	664 nm
溫度	25℃
dRI	
波長	658 nm
溫度	25℃
LS分析	蛋白質-聚合物結合物
模型	Debye
擬合度	2
擬合R平方	>0.99

【0266】亦使用DLS基於大分子尺寸(例如R_h)之變化評定穩定性。對於使用DLS基於在37℃下老化之半徑變化的穩定性分析，根據37℃穩定

性研究條件取出樣品以在不同時間點進行分析。所有樣品及緩衝液均為室溫。將溶液在無聚山梨醇酯20之無菌0.1 μm過濾調配物緩衝液中稀釋至100 μL中100 nM之最終濃度(通常1:10稀釋度)，且在1.5 mL離心管中藉由平緩研磨混合。大聚集體及粉塵粒子可藉由在離心機中以5000 g使管自旋5分鐘來移除。對於NanoStar中之單個比色管量測，將樣品溶液中之40 μL樣品裝載至帶蓋之Wyatt Technology拋棄式微型比色管(Wyatt目錄號WNDMC)中，輕彈以移除氣泡，且置放於儀器中進行分析。為了使用盤讀取器進行多次讀取，將25至35 μL之樣品添加至透明底黑色孔384孔盤(Corning目錄號P8802-384或類似者)中。樣品中之氣泡藉由在離心機中用盤轉接器(plate adaptor)短暫自旋來移除，隨後用移液管尖端或藉由來自噴瓶中之70% EtOH蒸汽平緩吹掃來移除。此文件中藉由DLS進行的此樣品分析及其他樣品分析的儀器設定呈現於表21中。大於1000 nm之任何峰應具有<6%強度。DLS採集參數展示於下表21中。

表21.DLS採集參數

儀器	
雷射波長	664 nm
雷射功率	100%
自動衰減	On
溫度	25℃
採集時間(s)	5-10
採集#	5
固定參數	
關聯函數低截止值	1.5 μs
關聯函數高截止值(μs)	103000 μs
峰值半徑低截止值	0 nm
峰值半徑高截止值	$1x10^6$ nm
分析類型	Dynals
量測時間限制因素	5
自動衰減時間限制	60
樣品	
Mw-R模型	球形蛋白質
溶劑	PBS

dn/dc	0.185
Rg模型	球形

【0267】 下表22展示使用不同方法合成之MVP樣品在加速37℃老化情況下之MVP半徑變化。在t=0時及在37℃下老化後之不同時間點時藉由DLS或MALS測定流體動力學半徑或迴轉半徑。在此等實例中，基於半徑隨著老化之較小收縮/變化，用低EDC (方法1)合成之MVP具有改善之37℃穩定性。此表明，N-醯基脲加合物之存在使藉由使用較高量之EDC的方法製備之結合物去穩定。

表22.隨時間推移而變化之MVP半徑

結合物#	穩定性研究之前的R_g (rz)或R_h (nm)	在37℃下老化天數，樣品1	樣品1 R_g (rz)或R_h (nm)	半徑變化	在37℃下老化天數，樣品2	樣品2 R_g (rz)或R_h (nm)	半徑變化
1	51.5	2	34.5	-33%			
2	78.2	14	71.4	-9%	71	61.4	-21%
3	44.3	4	28.4	-36%	28	21.4	-52%

【0268】 亦使用生物膜層干涉術(BLI)測定結合親和力隨時間推移之變化。為了進行BLI實驗，根據37℃穩定性研究條件取出樣品以用於在不同時間點進行分析。在使用之前使所有試劑平衡至室溫至少30分鐘。在Gator Bio Max盤中使每樣品兩個探針(一個用於動力學分析且一個用於無配體之對照)在250 µL BLI緩衝液(PBS pH 7.4，0.2% Tween及0.2% BSA，以0.2 µm過濾)中平衡最少10分鐘。在BLI緩衝液中基於中試反應中的表現將配體稀釋至25至100 nM之固定濃度。在BLI緩衝液中以中試反應中所測定之最高濃度製備分析物且使用BLI緩衝液以1:3再連續稀釋兩次至五次。向黑色平底無塗層96孔盤(Greiner Bio One目錄號655209或類似物)逐行裝載200 µL配體、分析物稀釋液及用於每行配體及分析物的一行BLI緩衝液。各行分析物中之一個孔應為BLI緩衝液以用作參考減除之空白組。孔中不存在氣泡且用移液管尖端或藉由用來自噴瓶之70% EtOH蒸

汽平緩吹掃來移除氣泡。將盤置於設定成25℃之傾斜平台上之Gator中。使用雙參考及表24中所示之步驟時間設定Gator K分析裝載及動力學步驟。裝載配體直至信號達到0.4與0.6 nm之間，隨後返回至緩衝液管柱中進行60 s之基線量測。使用表24中之步驟參數開始動力學讀取。當使用裝載有配體之探針完成動力學讀取時，使用未裝載有配體之新探針運行無配體之對照。使用相同動力學分析時序及用裝載配體之探針分析之相同樣品孔。此資料用於校正樣品與探針之間的任何非特異性相互作用。高(方法5)及低(方法1) EDC MVP樣品在37℃加速老化前後的代表性BLI資料依圖16 (K_D)及圖17 (K_{on})所示。

【0269】 當動力學分析完成時，在Gator軟體之結果及分析部分中分析資料。原始資料經校正以包括1秒至180秒後之締合時間。使Y軸與締合步驟之開始對準且開啟步驟間校正。使用Savitzky-Goaly過濾資料。藉由在軟體中指示哪些探針及孔為緩衝液參考來針對雙重參考對樣品進行設定。隨後，針對各分析編輯參考減除公式，使得對於各分析，其為具有(動力學分析孔-無配體之分析孔)-(動力學分析緩衝液參考孔-無配體之分析緩衝液孔)之等式的雙重參考。相同MVP之所有滴定藉由顏色分組且參數經調整成1:1結合模型，該結合模型包括與全局Rmax非連接擬合(unlinked fitting)之締合及解離兩者。移動所關注視窗以僅包括100秒之解離。擬合且檢查結合曲線，殘差距實際曲線之變化不大於10%，完整R^2 >0.98且完整X^2 <3.0。計算動力學，且記錄K_D、K_{on}及反應。當不同樣品具有相同K_D結果時，使用締合常數K_{on}區分不同構築體之間的結合親和力(亦即圖17)，其中較高締合常數指示較快結合動力學。

表23. BLI配體及分析物配對

BLI配體	標籤	分析物	供應商	目錄號

人類TNFα	Avi、His	抗TNFα	Acro Biosystems	TNA-H82E3
人類VEGF 165	Avi	抗VEGF	R&D Systems	AVI-293-050

表24.動力學定量之BLI方法參數及結果規格

參數	所使用之孔	步驟時間(s)或資訊
探針平衡	Max Plate中之緩衝液	>600
基本參數		5 Hz，30 s平衡，1000 rpm振盪
緩衝液		PBS pH 7、0.2% Tween及0.2% BSA，以0.2 μm過濾
BLI實驗參數		
基線	緩衝液行1	60
配體裝載	100-25 nM配體	當裝載信號在0.4至0.6時
基線	緩衝液行1	90
締合	MVP樣品	180
解離	緩衝液行2	300
無配體之對照(具有空白探針)		
基線	緩衝液行2	90
締合	MVP樣品	180
解離	緩衝液行2	300

【0270】在下文展示使用不同方法合成之MVP樣品在加速37℃老化後的結合動力學之表格表示。在37℃下老化之後的不同時間點藉由BLI測定樣品之解離常數。在此等實例中，基於治療目標結合力及類似或較小的老化解離常數變化，用方法1及方法2合成之MVP具有類似或改善之37℃穩定性。用中間物方法5合成之抗VEGF VHH肽MVP在短暫老化之後失去所有結合能力，而用方法1或2合成之實例在整個研究中展現出目標結合力，表明N-醯基脲加合物之存在使治療劑去穩定。

表25.結合物隨時間推移而變化之結合

結合物#	t=0時之K_D (nM)	在37℃下老化天數，樣品1	在老化天數時之K_D (nM)	相對於t=0之K_D變化	在37℃下老化天數，樣品2	在老化天數時之K_D (nM)，樣品2	相對於t=0之K_D變化，樣品2
1	0.001	11	0.001	1	32	0.075	75
2	0.001	14	0.001	1	28	0.017	17
8	0.184	3	0.557	3	5	未觀測到結合	結合損失
11	1.038	3	6.755	7	5	21.89	21
14	0.203	4	未觀測到結合	結合損失	-	-	-
15	0.001	4	未觀測到結合	結合損失	-	-	-
16	0.001	4	0.654	654	11	0.648	648
17	0.004	4	0.713	178	14	0.911	228
18	0.001	4	0.001	1	14	3.67	3670
19	0.001	4	0.185	185	-	-	-
20	0.001	4	0.001	1	14	1.44	1440
21	0.001	4	3.299	3299	14	1.137	1137
22	0.001	4	5.87	5870	14	0.1419	142
23	0.001	4	6.964	6964	14	1.949	1949

實例8.經純化的肽-聚合物結合物之活體內半衰期

【0271】在完善之藥物動力學模型中顯示結合物之延長玻璃體內滯留時間。根據重量將紐西蘭白兔(New Zealand White rabbits)(n=9)隨機化分成3組。使用31 G胰島素注射器使所有動物在左眼接受hu_抗TNFα_aHMVP (SEQ ID NO: 102)+HyA (850 kDa)(「抗TNFα MVP」)且在右眼接受未結合之VHH (SEQ ID NO: 102)(「抗TNFα」)之50-μL ITV注射。雙眼均接受等效莫耳劑量之抗體。在注射後1小時、5天及10天，處死一組三隻兔子，且摘除其眼睛以分析玻璃體內VHH。將雙眼急驟冷凍，且自冷凍眼睛分離玻璃體、視網膜及水狀液。隨後將各組織樣品用珠粒磨碎器均質化。均質化之後，使用ELISA或藉由使用胰蛋白酶消化肽且使樣品經歷LC/質譜法或類似方法來定量VHH濃度。生物結合後兔眼中之延長的玻璃體內半衰期之代表性結果顯示於圖18中。

【0272】 此研究之肽的螢光標記方法如下。使用用於評估蛋白質自實體腫瘤中之清除速率的小鼠腫瘤模型來量測使腫瘤滯留之參數最大化的MVP之瘤內(IT)半衰期。吾等使用了藉由以下方法使用胺反應性磺基-Cy7 NHS酯(Broadpharm目錄號BP-22541)或Alexa Fluor 750近紅外螢光團標記之抗體，該方法在無菌條件下進行。首先，使染料以10 mg/mL濃度溶解於DMSO中。隨後，將呈5.0至10.0 mg/mL濃度之蛋白質與0.1 M碳酸氫鈉以3:2 體積比混合。最後，螢光團以1:2蛋白質:螢光團莫耳比添加，充分混合，且在室溫下在藉由用箔片覆蓋而避光之盤旋器上培育一小時。NHS酯藉由添加1.5 M Tris緩衝液pH 8.5在10%反應體積下來淬滅，且在盤旋器上再混合10分鐘。使用經PBS pH 7.0 + 0.01% Tween-20平衡之NAP-10脫鹽管柱(illustra目錄號17-0854-01)根據製造商之說明，自未反應之螢光團中純化經標記之蛋白質。藉由在280及750 nm下之吸光度來確定蛋白質濃度及Cy7標記程度。遵循上文所描述之方案，將儲存在冰上且在磺基-Cy7標記3小時內之蛋白質用於MVP合成。在各情況下，隨後將最終產物進行無菌過濾，且在4℃下避光儲存直至其用於動物研究中。

【0273】 儘管出於清楚地理解之目的已藉助於說明及實例相當詳細地描述前述發明，但熟習此項技術者應瞭解，可在所附申請專利範圍之範疇內實踐某些改變及修改。此外，本文中所提供之各參考文獻係以全文引用的方式併入本文中，其併入程度如同與各參考文獻單獨地以引用的方式併入之程度相同。當本申請案與本文所提供之參考文獻之間存在衝突時，應以本申請案為準。

表26.序列

名稱	序列
構架區1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG (SEQ ID NO: 5)
構架區2	MGWFRQAPGKEREFVAAI (SEQ ID NO: 6)
構架區3	YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA (SEQ ID NO: 7)
構架區4	YWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 8)
Nb42 CDR1	FAYSTYS (SEQ ID NO: 9)
Nb42 CDR2	NSGTFRLW (SEQ ID NO: 10)
Nb42 CDR3	RAWSPYSSTVDAGDFR (SEQ ID NO: 11)
2H10 CDR1	RRFSIEA (SEQ ID NO: 12)
2H10 CDR2	DSGGSTD (SEQ ID NO: 13)
2H10 CDR3	IGSSWYGRGLD (SEQ ID NO: 14)
aTNFa-mu CDR1	GTFSSII (SEQ ID NO: 15)
aTNFa-mu CDR2	SWSGGTTV (SEQ ID NO: 16)
aTNFa-mu CDR3	RPYQKYNWASASYNV (SEQ ID NO: 17)
E1-1 CDR1	GGSDAGT (SEQ ID NO: 18)
E1-1 CDR2	SWAGTAWR (SEQ ID NO: 19)
E1-1 CDR3	LGSYEMDHH (SEQ ID NO: 20)
aH連接子	AEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 21)
AE3K2R(2)連接子	AEEEKRKAEEEKRKAEEEAGC (SEQ ID NO: 22)
AE3K2R(3)連接子	AEEEKRKAEEEKRKAEEEKRKAEEEAGC (SEQ ID NO: 23)
E4K4(2)連接子	AEEEEKKKKEEEEKKKKAGC (SEQ ID NO: 24)
EA3K(2)連接子	AEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 25)
α連接子	PSRLEEELRRRLTEGC (SEQ ID NO: 26)
肌凝蛋白VI連接子	AEEEEKKKQQEEEAERLRRIQEEMEKERKRREEDEERRRKEEEERRMKLEMEAKRKQEEEERKKREDDEKRKKKAGC (SEQ ID NO: 27)
Spot連接子	PDRVRAVSHWSSC (SEQ ID NO: 28)
GT9連接子	GTGTGTGTGTGTGTGTGTGC (SEQ ID NO: 29)
經修飾之剛性連接子	TPTTPPTPTPGTPPGGC (SEQ ID NO: 30)
剛性	SPSTPPTPSPSTPPGGC (SEQ ID NO: 31)

名稱	序列
空白	SEQ ID NO: 32-50
2H10	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQREL VAIIDSGGSTDYVDSAKGRFTISRDNRKNTVDLQMNSLKDEDTGVYYC NVIGSSWYGRGLDYWGNGTQVTVSS (SEQ ID NO: 51)
2H10 N112Q	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQREL VAIIDSGGSTDYVDSAKGRFTISRDNRKNTVDLQMNSLKDEDTGVYYC NVIGSSWYGRGLDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 52)
2H10 5MUT	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQREL VAIIDSGGSTDYVDSAKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYC NVIGSSWYGRGLDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 53)
2H10 6MUT	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQREL VAIIDSGGSTDYADSAKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYC NVIGSSWYGRGLDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 54)
Hu2H10 5MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELV AIIDSGGSTDYVDSAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCN VIGSSWYGRGLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 55)
Hu2H10 5MUT R86K A87P	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELV AIIDSGGSTDYVDSAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCN VIGSSWYGRGLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 56)
Hu2H10 5MUT L115Q	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELV AIIDSGGSTDYVDSAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCN VIGSSWYGRGLDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 57)
Hu2H10 5MUT R86K A87P L115Q	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELV AIIDSGGSTDYVDSAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCN VIGSSWYGRGLDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 58)
空白	SEQ ID NO: 59-60
Nb42	QVQLQESGGGSLQAGASLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQVSGKEREG VATINSGTFRLWYTDSVKGSFTISRDNAKNMLYLQMNSLKPEDTAIYY CAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 61)
HuNb42	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREA VATINSGTFRLWYTDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 62)
HuNb42 P14A	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREA VATINSGTFRLWYTDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 63)
HuNb42 T61A	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREA VATINSGTFRLWYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 64)
HuNb42 S75A	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREA VATINSGTFRLWYTDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 65)
HuNb42 L79V	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREA VATINSGTFRLWYTDSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYY CAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 66)
HuNb42 A88P	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREA VATINSGTFRLWYTDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYY

名稱	序列
	CAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 67)
HuNb42 L121Q	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREA VATINSGTFRLWYTDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 68)
HuNb42 T61A A88P	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREA VATINSGTFRLWYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYY CAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 69)
HuNb42 A88P L115Q	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREA VATINSGTFRLWYTDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYY CAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 70)
aTNF-a mu	QVQLQDSGGGLVQAGGSLRLSCAASGGTFSSIIMAWFRQAPGKEREFV GAVSWSGGTTVYADSVLGRFEISRDSARKSVYLQMNSLKPEDTAVYYC AARPYQKYNWASASYNVWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 71)
aTNF-a mu 3MUT	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGGTFSSIIMAWFRQAPGKEREFV GAVSWSGGTTVYADSVKGRFTISRDSARKSVYLQMNSLKPEDTAVYY CAARPYQKYNWASASYNVWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 72)
aTNF-a VHH	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSDHSGYTYTIGWFRQAPGK EREFVARIYWSSGNTYYADSVKGRFAISRDIAKNTVDLTMNNLEPEDT AVYYCAARDGIPTSRSVESYNYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 73)
空白	SEQ ID NO: 74-80
E1-1	EVQLQASGGGFVQPGGSLRLSCAASGGGSDAGTMGWFRQAPGKEREF VSAISWAGTAWRYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAT YYCALGSYEMDHHYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 81)
E1-1 F11L	EVQLQASGGGLVQPGGSLRLSCAASGGGSDAGTMGWFRQAPGKEREF VSAISWAGTAWRYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAT YYCALGSYEMDHHYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 82)
E1-1 S49A	EVQLQASGGGFVQPGGSLRLSCAASGGGSDAGTMGWFRQAPGKEREF VAAISWAGTAWRYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAT YYCALGSYEMDHHYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 83)
E1-1 F11L S49A	EVQLQASGGGLVQPGGSLRLSCAASGGGSDAGTMGWFRQAPGKEREF VAAISWAGTAWRYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAT YYCALGSYEMDHHYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 84)
E1-1 CDR	EVQLQASGGGFVQPGGSLRLSCAASGRRFSIEAMGWFRQAPGKEREFV SAIDSGGSTDYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTATYYCA VIGSSWYGRGLDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 85)
空白	SEQ ID NO: 86-90
抗VEGF VHH	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFV VAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCAS SRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 91)
抗VEGF DARPIN	GSDLDKKLLEAARAGQDDEVRILMANGADVNARDSTGWTPLHLAAP WGHPEIVEVLLKNGADVNAADFQGWTPLHLAAAVGHLEIVEVLLKYG ADVNAQDKFGKTAFDISIDNGNEDLAEILQKAAGGGSGGGS (SEQ ID NO: 92)
抗VEGF HuNb22 2MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYAYDTYYMGWFRQAPGKEREG VAGITSLVSGVAYYKYYTDSVKGRFTISRDNSKNTVDLQMNSLRAEDT AVYYCAASRSGLRARLLRPELYEYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 93)
抗VEGF HuNb23 3MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDTYSSACMGWFRQAPGKEREG VATICTSTSMRTRYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAV YYCATGHTVGSSWRDPGAWRYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 94)

名稱	序列
抗VEGF HuNb35 4MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGLSYRPGYMGWFRQAPGKEREG VAIITTGGVTHYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYC ALANWVQFPLRVDGYKYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 95)
Hu_aVEGF _VHH_3MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFV AAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCA SSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 96)
Hu_aVEGF _VHH_5MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFV AAISKGGYKYDAVSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCA SSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 97)
Hu_aVEGF _VHH_6MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFV AAISKGGYKYYAVSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCA SSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 98)
空白	SEQ ID NO: 99-100
抗TNFα VHH (人類) -剛性	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSDHSGYTYTIGWFRQAPGK EREFVARIYWSSGNTYYADSVKGRFAISRDIAKNTVDLTMNNLEPEDT AVYYCAARDGIPTSRSVESYNYWGQGTQVTVSSPSTPPTPSPSTPPGGC DDDDK (SEQ ID NO: 101)
抗TNFα VHH (人類)- aH	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSDHSGYTYTIGWFRQAPGK EREFVARIYWSSGNTYYADSVKGRFAISRDIAKNTVDLTMNNLEPEDT AVYYCAARDGIPTSRSVESYNYWGQGTQVTVSSAEAAAKEAAAKEAA AKAGC (SEQ ID NO: 102)
抗TNFα VHH (小鼠)- aH	QVQLQDSGGGLVQAGGSLRLSCAASGGTFSSIIMAWFRQAPGKEREFV GAVSWSGGTTVYADSVLGRFEISRDSARKSVYLQMNSLKFPEDTAVYY CAARPYQKYNWASASYNVWGQGTQVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAK AGC (SEQ ID NO: 103)
抗TNFα 3MUT VHH (小鼠)- aH	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGGTFSSIIMAWFRQAPGKEREFV GAVSWSGGTTVYADSVKGRFTISRDSARKSVYLQMNSLKPEDTAVYY CAARPYQKYNWASASYNVWGQGTQVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAK AGC (SEQ ID NO: 104)
抗TNFα親和抗體	CGGGVDNKFNKEVGWAFGEIGALPNLNALQFRAFIISLWDDPSQSANL LAEAKKLNDAQAPK (SEQ ID NO: 105)
抗IL-1β scFv-剛性	EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASQSIDNWLSWYQQKPGKAPKLLIYR ASTLASGVPSRFSGSGSGAEFTLTISSLQPDDFATYYCQNTGGGVSIAFG QGTKLTVLGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCTASGFSLSSAAMAWVRQAPGKGLEWVGIIYDSASTYYASWAKG RFTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARERAIFSGDFVLWGQGT LVTVSSSPSTPPTPSPSTPPGGC (SEQ ID NO: 106)
Hu_aTNFα Mu_3MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFSSIIMAWFRQAPGKEREFVG AVSWSGGTTVYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYC AARPYQKYNWASASYNVWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 107)
Hu_aTNFα Mu_5MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFSSIIMAWFRQAPGKEREFVA AISWSGGTTVYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCA ARPYQKYNWASASYNVWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 108)
Hu_aTNFα Hu_7MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSDHSGYTYTMGWFRQAPG KEREFVARIYWSSGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPED TAVYYCAARDGIPTSRSVESYNYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 109)
空白	SEQ ID NO: 110
Hu_aEGFR _3MUT	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFV AGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTVDLQMNSLRPEDTAVYYC

名稱	序列
	AAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 111)
Hu_aHer2_3MUT	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFMRYAMGWYRQAPGKQREMVASINSGGTTNYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCNARWVKPQFIDNNYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 112)
Hu_aPD1_102C3 3MUT	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSIHAMGWFRQAPGKEREFVAAITWSGGITYYEDSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAADRAESSWYDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 113)
Hu_aPD1_102C12 3MUT	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAGDKHQSSWYDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 114)
Hu_aPD1_102E2 3MUT	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSISSIHAMGWFRQAPGKEREFVAAITWSGGITYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAADRAQSSWYDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 115)
Hu_aPD1_102E8 3MUT	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINAMAWFRQAPGKEREFVALISWSGGSTYYEDSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAADRVDSNWYDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 116)
Hu_aPD1_102H12 4MUT	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRAFSSGTMGWFRQAPGKEREFVASIPWSGGRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAVKERSTGWDFAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 117)
Hu aCaffeine 3MUT	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTGTIYSMAWFRQAPGKEREFLATIGWSSGITYYMDSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAATRAYSVGYDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 118)
Hu_aEGFR_5MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVAGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 119)
aAng2_D4	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRIFTNTAMGWYRQAPGKWRELVATIYSGGSTKYIDSVKGRFIISRDNTRNTVHLQMNSLKPEDTAVYYCNTVGAGSYWGQGAQVTVSS (SEQ ID NO: 120)
Hu_aAng2_D4_3MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFTNTAMGWYRQAPGKWRELVATIYSGGSTKYIDSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCATVGAGSYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 121)
aAn2_H4	EVQLVESGGDLVQAGGSLRLSCAASGFTFGDFTIGWFRQAPGKEREGVSCINTGDGSTNYAESVKGRFTISSDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCALDQAPMWSSWSAPYEYDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 122)
Hu_aAng2_H4_6MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGDFTMGWFRQAPGKEREGVAAINTGDGSTNYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCALDQAPMWSSWSAPYEYDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 123)
aAng2_BI0027	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 124)
Hu_aAng2_0027_2MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDDYAMGWFRQAPGKEREGVASIRDNDGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 125)
aEpCam_Nb4	QVQLVQSGGGSVQGGASLRLSCAASGGERNNYCVAWFRQAPGKEREVAAISRAASGAQTTTKYYVDSVKGRFTISQDTKNTATVYLQMNSHKPEDTAYCTAKAKIYPPQCTGISRTIDYRGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 126)
Hu_aEpCAM_Nb4_4MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGERNNYCMGWFRQAPGKEREVAAISRAASGAQTTTKYYVDSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAYCAAKAKIYPPQCTGISRTIDYRGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 127)
aEpCam_N	QVQLVQSGGGLVQGGASLRLSCAASSGRAGLIHVAWFRAKNTLYRQV

名稱	序列
b4	AAISSDDTGFATLYYAVDSVKGRFTISQDTESTKYSYLQMNSLKPEDTI YCTAKLFSKTSYQKFIYKFNYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 128)
Hu_aEpCA M_Nb5_11 MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGRAGLIHMGWFRQAPGKYREV AAISSDDTGFATLYYAVDSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTA YCTAKLFSKTSYQKFIYKFNYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 129)
aEpCAM_ Nb22	QVQQVQSGGGSVQAGASLRLSCAASSGLQQAIYVAWFRQAVGKEREV AAIGYWYWYHIQVYKYYVDSVKDRFTISGDTKSTKTYLQMNSLKNED TAYYCAKIHHLPRQRQEHGIFDYRGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 130)
Hu_aEpCA M_Nb22_6 MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGLQQAIYMGWFRQAPGKEREV AAIGYWYWYHIQVYKYYVDSVKDRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPED TAYYCAKIHHLPRQRQEHGIFDYRGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 131)
空白	SEQ ID NO: 132-140
Hu2H10 5MUT CYS	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELV AIIDSGGSTDYVDSAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCN VIGSSWYGRGLDYWGQGTLVTVSSC (SEQ ID NO: 141)
Hu2H10 5MUT aH_CYS	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELV AIIDSGGSTDYVDSAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCN VIGSSWYGRGLDYWGQGTLVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 142)
Hu2H10 5MUT R86K A87P aH_CYS	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELV AIIDSGGSTDYVDSAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCN VIGSSWYGRGLDYWGQGTLVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 143)
Hu2H10 5MUT L115Q aH_CYS	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELV AIIDSGGSTDYVDSAKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCN VIGSSWYGRGLDYWGQGTQVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 144)
HuNb42 A88P aH_CYS	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREA VATINSGTFRLWYTDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYY CAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTLVTVSSAEAAAKEAAAKEAAA KAGC (SEQ ID NO: 145)
HuNb42 T61A A88P aH_CYS	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREA VATINSGTFRLWYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYY CAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTLVTVSSAEAAAKEAAAKEAAA KAGC (SEQ ID NO: 146)
HuNb42 A88P L115Q aH_CYS	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREA VATINSGTFRLWYTDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYY CAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTQVTVSSAEAAAKEAAAKEAAA KAGC (SEQ ID NO: 147)
抗TNFα親和抗體Gly	CGGGVDNKFNKEVGWAFGEIGALPNLNALQFRAFIISLWDDPSQSANL LAEAKKLNDAQAPKGGG (SEQ ID NO: 148)
Hu_aTNFα Mu_3MUT aH_CYS	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFSSIIMAWFRQAPGKEREFVG AVSWSGGTTVYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYC AARPYQKYNWASASYNVWGQGTLVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAKA GC (SEQ ID NO: 149)
Hu_aTNFα Mu_5MUT aH_CYS	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFSSIIMAWFRQAPGKEREFVA AISWSGGTTVYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCA ARPYQKYNWASASYNVWGQGTLVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAKAGC

名稱	序列
	(SEQ ID NO: 150)
Hu_aTNFα Hu_7MUT aH_CYS	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSDHSGYTYTMGWFRQAPG KEREFVARIYWSSGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPED TAVYYCAARDGIPTSRSVESYNYWGQGTLVTVSSAEAAAKEAAAKEA AAKAGC (SEQ ID NO: 151)
IL-2_C125S aH_CYS	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKK ATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGS ETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTAEAAAKEAAAKEAAAK AGC (SEQ ID NO: 152)
IL-15_5MUT aH_CYS	NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMQCFLSELQV ISLESGDASIHDTVENLTILANNSLSSNGYVTESGCKECEELEAKNIKEFL QSFVHIVQMFINTSAEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 153)
aTNFa_DARPin G3S_CYS	DLGKKLLEVARAGQDDEVRILMANGADVNAADHQSFTPLHLYAIFGH LEIVEVLLKNGADVNASDWHGNTPLHLAAWIGHLEIVEVLLKYGADV NATDHSGSTPLHLAATLGHLEIVEVLLKYGADVNAQDKFGKTAFDISID NGNEDLAEILQKAAGGGSGGGSC (SEQ ID NO: 154)
aPDL1_Nb1	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCATSGSIFSIISMGWYRQAPGKQRELVA LVFRGGSTVYADSVKGRFTISGDIAKNTVYLQMDSLKPEDTAVYYCNV KSIGTAQYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 155)
Hu_aPDL1_Nb1_4MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSIISMGWYRQAPGKQRELVA LIFRGGSTVYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAV KSIGTAQYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 156)
aPDL1_Nb104E10	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGVDASNSAMGWYRQAPGKQRE WVARITGGGLIAYTDSVKGRFTISRDNAKSTVYLQMNSLEPEDTAVYY CNTINSRDWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 157)
Hu_aPDL1_Nb104E10_1MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGVDASNSAMGWYRQAPGKQRE WVARITGGGLIAYTDSVKGRFTISRDNSKSTVYLQMNSLRPEDTAVYY CATINSRDWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 158)
aPDL1_NbG5	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSFFRTYIVSWYRQAPGKRREAV AVMSNSGNTNYADSVKGRFTISRDNAVNTVYLQMNSLKPEDTAVYYC NLLKVTVVPPANYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 159)
Hu_aPDL1_NbG5_4MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSFFRTYIMGWYRQAPGKRREAV AVISNSGNTNYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCA LLKVTVVPPANYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 160)
aPDL2_103E4	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTFSNYVSNYAMGWGRQAPGT QRELVASISNGDTTNYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTA VYYCFEHQVAGLTWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 161)
Hu_aPDL2_103E4_2MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTFSNYVSNYAMGWGRQAPGK QRELVASISNGDTTNYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTA VYYCAEHQVAGLTWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 162)
aPDL2_103E5	EVQLVESGGGLVQTGGSLRLSCAASGFTLDYYGIGWFRQAPGKEREGV SFISGSDGSTYYAESVKGRFTISRDKAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCA ADPWGPPSIATMTSYEYKHWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 163)
Hu_aPDL2_103E5_4MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDYYGMGWFRQAPGKEREG VAFISGSDGSTYYAESVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYC AADPWGPPSIATMTSYEYKHWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 164)
aPDL2_Nb103F10	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSGTMGWFRRAPGKEREFV ASIPWSGGRTYYADSVKDRFTISRDNAQNTVFLQMNSLKPEDTAVYYC AFKERSTGWDFASWGQGIQVTVSS (SEQ ID NO: 165)
Hu_aPDL2	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSGTMGWFRQAPGKEREFV

名稱	序列
_Nb103F10_5MUT	ASIPWSGGRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAFKERSTGWDFASWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 166)
Hu_aIL-1B_5C_5MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGYYYSSFYWGWFRQAPGQGLEAVATIPYYYTYYTDSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCASYNIHNFWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 167)
Hu_aIL-1B_6C_3MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSYSYSYSWGWFRQAPGQGLEAVAAIVYYYTYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCASYAPFPFWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 168)
Hu_aIL-1B_11H_3MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGYSYYSWGWFRQAPGQGLEAVASIAYYYTYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAYSDIISYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 169)
Hu_aIL-1B_12D_2MUT	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSYYSSSYGGWFRQAPGQGLEAVATIPYYTSYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCASFFPFFYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 170)

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing  dtdVersion="V1_3" fileName="C255364SEQA.xml"
softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.3.0" productionDate="2023-07-
27">
 <ApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>WO</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText></ApplicationNumberText>
  <FilingDate></FilingDate>
 </ApplicationIdentification>
 <ApplicantFileReference>052566-506001WO</ApplicantFileReference>
 <EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>63/331,534</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2022-04-15</FilingDate>
 </EarliestPriorityApplicationIdentification>
 <ApplicantName languageCode="zh">美商瓦利托爾有限公司[VALITOR,
INC.]</ApplicantName>
 <ApplicantNameLatin>VALITOR, INC.</ApplicantNameLatin>
 <InventionTitle languageCode="zh">人類化多價蛋白質結合物</InventionTitle>
 <SequenceTotalQuantity>170</SequenceTotalQuantity>
 <SequenceData sequenceIDNumber="1">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>26</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..26</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q2">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>1..26</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q153">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>FR1</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>1</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q154">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>X is Q, E, or D</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>5</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q155">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>X is V, Q, A, or E</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>7</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q156">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```
    <INSDQualifier_value>X is S or T</INSDQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>11</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier id="q157">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>X is L, S, or V</INSDQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>12</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier id="q158">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>X is V or A</INSDQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>14</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier id="q159">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>X is P, A, or T</INSDQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>16</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier id="q160">
```

```
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>X is G, D, or R</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>23</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q161">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>X is A, V, T, or E</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>24</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q162">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>X is A or V</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>XVQLXEXGGGXXQXGXSLRLSCXXSG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="2">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
```

```
    <INSDQualifier>
     <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
     <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q163">
     <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
     <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
   </INSDFeature_quals>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
   <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
   <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
   <INSDFeature_quals>
    <INSDQualifier id="q164">
     <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
     <INSDQualifier_value>FR2</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
   </INSDFeature_quals>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
   <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
   <INSDFeature_location>1</INSDFeature_location>
   <INSDFeature_quals>
    <INSDQualifier id="q165">
     <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
     <INSDQualifier_value>X is M, I, V, or L</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
   </INSDFeature_quals>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
   <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
   <INSDFeature_location>2</INSDFeature_location>
   <INSDFeature_quals>
    <INSDQualifier id="q166">
     <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
     <INSDQualifier_value>X is G, S, or A</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
   </INSDFeature_quals>
```

```
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>4</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q167">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>X is F, Y, or V</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>7</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q168">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>X is A, V, P, or T</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>11</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q169">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>X is E, G, A, or Q</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>12</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q170">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>X is R or L</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
```

```
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>14</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q171">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>X is F, G, W, or L</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>16</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q172">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>X is A, G, or S</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q173">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>X is A, S, or G</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>XXWXRQXPGKXXEXVXXI</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>39</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..39</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
   </INSDQualifier>
   <INSDQualifier id="q174">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..39</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier id="q175">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>FR3</INSDQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>2</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_quals>
   <INSDQualifier id="q176">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>X is A, G, S, or T</INSDQualifier_value>
   </INSDQualifier>
  </INSDFeature_quals>
 </INSDFeature>
 <INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
```

```
 <INSDFeature_location>13</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q177">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>X is R or Q</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>15</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q178">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>X is N, S, or D</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>16</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q179">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>X is S, A, or D</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>18</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q180">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>X is N or K</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
```

```
 <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>19</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q181">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>X is T or M</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>21</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q182">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>X is Y, D, or S</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>25</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q183">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>X is N or D</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
 <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
 <INSDFeature_location>26</INSDFeature_location>
 <INSDFeature_quals>
  <INSDQualifier id="q184">
   <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
   <INSDQualifier_value>X is S or N</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
 </INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>29</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q185">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>X is P or A</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>YXDSVKGRFTISXDXXKXXVXLQMXXLRXEDTAXYYCAA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q186">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q187">
```

```
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>FR4</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q188">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>X is Q or K</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>7</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q189">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>X is L or Q</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>YWGXGTXVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="5">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>26</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..26</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q190">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..26</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q191">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>framework region 1</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="6">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q192">
```

```
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q193">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>framework region 2</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>MGWFRQAPGKEREFVAAI</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>39</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..39</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q194">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..39</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q195">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>framework region 3</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q196">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q197">
```

```
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>framework region 4</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>YWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q198">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q199">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Nb42 CDR1</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
```

```
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>FAYSTYS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q200">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q201">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Nb42 CDR2</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>NSGTFRLW</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
```

```
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q202">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q203">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Nb42 CDR3</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>RAWSPYSSTVDAGDFR</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="12">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q204">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q205">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>2H10 CDR1</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>RRFSIEA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
```

```
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q206">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q207">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>2H10 CDR2</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DSGGSTD</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="14">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q208">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q209">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>2H10 CDR3</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>IGSSWYGRGLD</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q210">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q211">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>aTNFa-mu CDR1</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GTFSSII</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="16">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q212">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q213">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>aTNFa-mu CDR2</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SWSGGTTV</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q214">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q215">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>aTNFa-mu CDR3</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
```

```
  <INSDSeq_sequence>RPYQKYNWASASYNV</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q216">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q217">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>E1-1 CDR1</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGSDAGT</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
 <INSDSeq>
```

```
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q218">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q219">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>E1-1 CDR2</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SWAGTAWR</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="20">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q220">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q221">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>E1-1 CDR3</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>LGSYEMDHH</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="21">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q222">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q223">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>aH linker</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AEAAAKEAAAKEAAAKAGC</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="22">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q224">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q225">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>AE3K2R(2) linker</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>AEEEKRKAEEEKRKAEEEAGC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="23">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>28</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..28</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q226">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
```

```
    <INSDFeature_location>1..28</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q227">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>AE3K2R(3) linker</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AEEEKRKAEEEKRKAEEEKRKAEEEAGC</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="24">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q228">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q229">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>E4K4(2) linker</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>AEEEEKKKKEEEEKKKKAGC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="25">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q230">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q231">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>EA3K(2) linker</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>AEAAAKEAAAKAGC</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="26">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q232">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q233">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Alfa linker</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>PSRLEEELRRRLTEGC</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="27">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>77</INSDSeq_length>
```

```
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..77</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q234">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..77</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q235">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>MyosinVI linker</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>AEEEEKKKQQEEEAERLRRIQEEMEKERKRREEDEERRRKEEEERRMKLEMEAKRKQEEEER
KKREDDEKRKKKAGC</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="28">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q236">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q237">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Spot linker</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>PDRVRAVSHWSSC</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="29">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q238">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q239">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>GT9 linker</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GTGTGTGTGTGTGTGTGTGC</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="30">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q240">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q241">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Modified Rigid linker</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>TPTTPPTPTPGTPPGGC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="31">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q242">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
```

```
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q243">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Rigid</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SPSTPPTPSPSTPPGGC</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="32">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="33">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="34">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="35">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
```

```
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="36">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="37">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="38">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="39">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="40">
 <INSDSeq>
```

```
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="41">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="42">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="43">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="44">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="45">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="46">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="47">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="48">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="49">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="50">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="51">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q244">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q245">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>2H10</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELVAIIDSGGSTDYVDS
AKGRFTISRDNRKNTVDLQMNSLKDEDTGVYYCNVIGSSWYGRGLDYWGNGTQVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="52">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q246">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q247">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>2H10 N112Q</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELVAIIDSGGSTDYVDS
AKGRFTISRDNRKNTVDLQMNSLKDEDTGVYYCNVIGSSWYGRGLDYWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
```

```
 <SequenceData sequenceIDNumber="53">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q248">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q249">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>2H10 5MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELVAIIDSGGSTDYVDS
AKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCNVIGSSWYGRGLDYWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="54">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q250">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q251">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>2H10 6MUT</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELVAIIDSGGSTDYADS
AKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCNVIGSSWYGRGLDYWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="55">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q252">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q253">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu2H10 5MUT</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELVAIIDSGGSTDYVDS
AKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCNVIGSSWYGRGLDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="56">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q254">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q255">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu2H10 5MUT R86K A87P</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELVAIIDSGGSTDYVDS
AKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCNVIGSSWYGRGLDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="57">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q256">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q257">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu2H10 5MUT L115Q</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELVAIIDSGGSTDYVDS
AKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCNVIGSSWYGRGLDYWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="58">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q258">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q259">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu2H10 5MUT R86K A87P L115Q</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELVAIIDSGGSTDYVDS
AKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCNVIGSSWYGRGLDYWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="59">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
   <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="60">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
   <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="61">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>126</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q260">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q261">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Nb42</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQESGGGSLQAGASLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQVSGKEREGVATINSGTFRLWYTD
SVKGSFTISRDNAKNMLYLQMNSLKPEDTAIYYCAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequen
ce>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="62">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>126</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
```

```
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q262">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q263">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>HuNb42</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREAVATINSGTFRLWYTD
SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequen
ce>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="63">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>126</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q264">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q265">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>HuNb42 P14A</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREAVATINSGTFRLWYTD
SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequen
ce>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="64">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>126</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q266">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q267">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>HuNb42 T61A</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREAVATINSGTFRLWYAD
SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequen
ce>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="65">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>126</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q268">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q269">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>HuNb42 S75A</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREAVATINSGTFRLWYTD
SVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequen
ce>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="66">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>126</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q270">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q271">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>HuNb42 L79V</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREAVATINSGTFRLWYTD
SVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequen
ce>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="67">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>126</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q272">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q273">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>HuNb42 A88P</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREAVATINSGTFRLWYTD
SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequen
ce>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="68">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>126</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q274">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q275">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>HuNb42 L121Q</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREAVATINSGTFRLWYTD
SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequen
ce>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="69">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>126</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q276">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q277">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>HuNb42 T61A A88P</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREAVATINSGTFRLWYAD
SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequen
```

```
ce>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="70">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>126</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q278">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q279">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>HuNb42 A88P L115Q</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREAVATINSGTFRLWYTD
SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequen
ce>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="71">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>124</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..124</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q280">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..124</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q281">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>aTNF-a mu</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQDSGGGLVQAGGSLRLSCAASGGTFSSIIMAWFRQAPGKEREFVGAVSWSGGTTVYAD
SVLGRFEISRDSARKSVYLQMNSLKPEDTAVYYCAARPYQKYNWASASYNVWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequence
>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="72">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>124</INSDSeq_length>

```
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..124</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q282">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..124</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q283">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>aTNF-a mu 3MUT</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGGTFSSIIMAWFRQAPGKEREFVGAVSWSGGTTVYAD
SVKGRFTISRDSARKSVYLQMNSLKPEDTAVYYCAARPYQKYNWASASYNVWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequence
>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="73">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>129</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..129</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q284">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..129</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q285">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>aTNF-a VHH</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSDHSGYTYTIGWFRQAPGKEREFVARIYWSSGN
TYYADSVKGRFAISRDIAKNTVDLTMNNLEPEDTAVYYCAARDGIPTSRSVESYNYWGQGTQVTVSS</INSDSeq_seq
uence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="74">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
   <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="75">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="76">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="77">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="78">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="79">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="80">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="81">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q286">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q287">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>E1-1</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
```

<INSDSeq_sequence>EVQLQASGGGFVQPGGSLRLSCAASGGGSDAGTMGWFRQAPGKEREFVSAISWAGTAWRYYA
DSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTATYYCALGSYEMDHHYWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="82">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q288">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q289">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>E1-1 F11L</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLQASGGGLVQPGGSLRLSCAASGGGSDAGTMGWFRQAPGKEREFVSAISWAGTAWRYYA
DSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTATYYCALGSYEMDHHYWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>

```
 <SequenceData sequenceIDNumber="83">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q290">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q291">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>E1-1 S49A</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLQASGGGFVQPGGSLRLSCAASGGGSDAGTMGWFRQAPGKEREFVAAISWAGTAWRYYA
DSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTATYYCALGSYEMDHHYWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="84">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q292">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q293">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>E1-1 F11L S49A</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLQASGGGLVQPGGSLRLSCAASGGGSDAGTMGWFRQAPGKEREFVAAISWAGTAWRYYA
DSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTATYYCALGSYEMDHHYWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="85">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q294">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q295">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>E1-1 CDR</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLQASGGGFVQPGGSLRLSCAASGRRFSIEAMGWFRQAPGKEREFVSAIDSGGSTDYADS
VKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTATYYCAVIGSSWYGRGLDYWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="86">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="87">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
```

```
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="88">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="89">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="90">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="91">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>125</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..125</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
```

```
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q296">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..125</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q297">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>anti-VEGF VHH</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKGGYKYDAVS
LEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequenc
e>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="92">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>134</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..134</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q298">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..134</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q299">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>anti-VEGF DARPIN</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GSDLDKKLLEAARAGQDDEVRILMANGADVNARDSTGWTPLHLAAPWGHPEIVEVLLKNGAD
VNAADFQGWTPLHLAAAVGHLEIVEVLLKYGADVNAQDKFGKTAFDISIDNGNEDLAEILQKAAGGGSGGGS</INSDSe
q_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="93">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>130</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..130</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q300">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..130</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q301">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>anti-VEGF HuNb22 2MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYAYDTYYMGWFRQAPGKEREGVAGITSLVSGVAYYK
YYTDSVKGRFTISRDNSKNTVDLQMNSLRAEDTAVYYCAASRSGLRARLLRPELYEYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_se
quence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="94">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>127</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..127</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q302">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..127</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q303">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>anti-VEGF HuNb23 3MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDTYSSACMGWFRQAPGKEREGVATICTSTSMRTRYY
ADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCATGHTVGSSWRDPGAWRYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_seque
nce>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="95">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>123</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..123</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q304">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..123</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q305">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>anti-VEGF HuNb35 4MUT</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGLSYRPGYMGWFRQAPGKEREGVAIITTGGVTHYADS
VKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCALANWVQFPLRVDGYKYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="96">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>125</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..125</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q335">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..125</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q342">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu_aVEGF_VHH_3MUT</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVAAISKGGYKYDAVS
LEGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequenc
e>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="97">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>125</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..125</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q343">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..125</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q344">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu_aVEGF_VHH_5MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
```

```
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVAAISKGGYKYDAVS
VKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequenc
e>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="98">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>125</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..125</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q345">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..125</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q346">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu_aVEGF_VHH_6MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVAAISKGGYKYYAVS
VKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequenc
e>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="99">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="100">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="101">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>150</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..150</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q347">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..150</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q348">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>anti-TNFalpha VHH (human) -
rigid</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSDHSGYTYTIGWFRQAPGKEREFVARIYWSSGN
TYYADSVKGRFAISRDIAKNTVDLTMNNLEPEDTAVYYCAARDGIPTSRSVESYNYWGQGTQVTVSSPSTPPTPSPSTPP
GGCDDDDK</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="102">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>148</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..148</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q349">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..148</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q350">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>anti-TNFalpha VHH (human)- aH</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSDHSGYTYTIGWFRQAPGKEREFVARIYWSSGN
TYYADSVKGRFAISRDIAKNTVDLTMNNLEPEDTAVYYCAARDGIPTSRSVESYNYWGQGTQVTVSSAEAAAKEAAAKEA
AAKAGC</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="103">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>144</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..144</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q351">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..144</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q352">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>anti-TNFalpha VHH (mouse)- aH</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQDSGGGLVQAGGSLRLSCAASGGTFSSIIMAWFRQAPGKEREFVGAVSWSGGTTVYAD
SVLGRFEISRDSARKSVYLQMNSLKFPEDTAVYYCAARPYQKYNWASASYNVWGQGTQVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAKA
GC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="104">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>143</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..143</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q353">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..143</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q354">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>anti-TNFalpha 3MUT VHH (mouse)-
aH</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGGTFSSIIMAWFRQAPGKEREFVGAVSWSGGTTVYAD
SVKGRFTISRDSARKSVYLQMNSLKPEDTAVYYCAARPYQKYNWASASYNVWGQGTQVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAKAG
C</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="105">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>62</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..62</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q355">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..62</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q356">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>anti-TNFalpha affibody</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

<INSDSeq_sequence>CGGGVDNKFNKEVGWAFGEIGALPNLNALQFRAFIISLWDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK
</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="106">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>265</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..265</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q357">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..265</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q358">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>anti-IL-1beta scFv-rigid</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EIVMTQSPSTLSASVGDRVIITCQASQSIDNWLSWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPSRF
SGSGSGAEFTLTISSLQPDDFATYYCQNTGGGVSIAFGQGTKLTVLGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQ
PGGSLRLSCTASGFSLSSAAMAWVRQAPGKGLEWVGIIYDSASTYYASWAKGRFTISRDTSKNTVYLQMNSLRAEDTAVY
YCARERAIFSGDFVLWGQGTLVTVSSSPSTPPTPSPSTPPGGC</INSDSeq_sequence>

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="107">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>124</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..124</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q359">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..124</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q360">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu_aTNFaMu_3MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFSSIIMAWFRQAPGKEREFVGAVSWSGGTTVYAD
SVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAARPYQKYNWASASYNVWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence
>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="108">
```

```
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>124</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..124</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q361">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..124</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q362">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu_aTNFaMu_5MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFSSIIMAWFRQAPGKEREFVAAISWSGGTTVYAD
SVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAARPYQKYNWASASYNVWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence
>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="109">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>129</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..129</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q363">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..129</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q364">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu_aTNFaHu_7MUT</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSDHSGYTYTMGWFRQAPGKEREFVARIYWSSGN
TYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAARDGIPTSRSVESYNYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_seq
uence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="110">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
```

```
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="111">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>124</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..124</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q365">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..124</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q366">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu_aEGFR_3MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVAGISWRGDSTGYAD
SVKGRFTISRDNSKNTVDLQMNSLRPEDTAVYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence
>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="112">
  <INSDSeq>
```

```
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q367">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q368">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu_aHer2_3MUT</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFMRYAMGWYRQAPGKQREMVASINSGGTTNYADS
VKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCNARWVKPQFIDNNYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="113">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q369">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q370">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu_aPD1_102C3 3MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSIHAMGWFRQAPGKEREFVAAITWSGGITYYED
SVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAADRAESSWYDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="114">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q371">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q372">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu_aPD1_102C12 3MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIASIHAMGWFRQAPGKEREFVAVITWSGGITYYAD
SVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAGDKHQSSWYDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="115">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q373">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q374">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu_aPD1_102E2 3MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSISSIHAMGWFRQAPGKEREFVAAITWSGGITYYAD
SVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAADRAQSSWYDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="116">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q375">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q376">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu_aPD1_102E8 3MUT</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINAMAWFRQAPGKEREFVALISWSGGSTYYED
SVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAADRVDSNWYDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="117">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q377">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q378">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu_aPD1_102H12 4MUT</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRAFSSGTMGWFRQAPGKEREFVASIPWSGGRTYYAD
SVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAVKERSTGWDFAWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="118">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q379">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q380">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>Hu aCaffeine 3MUT</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTGTIYSMAWFRQAPGKEREFLATIGWSSGITYYMD
SVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAATRAYSVGYDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="119">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>124</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..124</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q381">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..124</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q382">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu_aEGFR_5MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
```

```
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVAGISWRGDSTGYAD
SVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence
>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="120">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>114</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..114</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q383">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..114</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q384">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>aAng2_D4</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRIFTNTAMGWYRQAPGKWRELVATIYSGGSTKYIDS
VKGRFIISRDNTRNTVHLQMNSLKPEDTAVYYCNTVGAGSYWGQGAQVTVSS</INSDSeq_sequence>
```

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="121">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>114</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..114</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q385">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..114</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q386">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu_aAng2_D4_3MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFTNTAMGWYRQAPGKWRELVATIYSGGSTKYIDS
VKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCATVGAGSYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="122">
  <INSDSeq>
```

```
    <INSDSeq_length>126</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q387">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q388">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>aAn2_H4</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGDLVQAGGSLRLSCAASGFTFGDFTIGWFRQAPGKEREGVSCINTGDGSTNYAE
SVKGRFTISSDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCALDQAPMWSSWSAPYEYDYWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequen
ce>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="123">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>126</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q389">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..126</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q390">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu_aAng2_H4_6MUT</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGDFTMGWFRQAPGKEREGVAAINTGDGSTNYAD
SVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCALDQAPMWSSWSAPYEYDYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequen
ce>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="124">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>129</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..129</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q391">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..129</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q392">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>aAng2_BI0027</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYAD
SVKGRFTISSDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTLVTVSS</INSDSeq_seq
uence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="125">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>129</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..129</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
```

```
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q393">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..129</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q394">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu_aAng2_0027_2MUT</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDDYAMGWFRQAPGKEREGVASIRDNDGSTYYAD
SVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTLVTVSS</INSDSeq_seq
uence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="126">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>130</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..130</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q395">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..130</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q396">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>aEpCam_Nb4</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGGGSVQGGASLRLSCAASGGERNNYCVAWFRQAPGKEREVAAISRAASGAQTTTK
YYVDSVKGRFTISQDTKNTATVYLQMNSHKPEDTAYCTAKAKIYPPQCTGISRTIDYRGQGTQVTVSS</INSDSeq_se
quence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="127">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>129</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..129</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q397">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..129</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q398">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu_aEpCAM_Nb4_4MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGERNNYCMGWFRQAPGKEREVAAISRAASGAQTTTK
YYVDSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAYCAAKAKIYPPQCTGISRTIDYRGQGTLVTVSS</INSDSeq_seq
uence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="128">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>128</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..128</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q399">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..128</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q400">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>aEpCam_Nb4</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGGGLVQGGASLRLSCAASSGRAGLIHVAWFRAKNTLYRQVAAISSDDTGFATLYY
AVDSVKGRFTISQDTESTKYSYLQMNSLKPEDTIYCTAKLFSKTSYQKFIYKFNYWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequ
ence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="129">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>127</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..127</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q401">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..127</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q402">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu_aEpCAM_Nb5_11MUT</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGRAGLIHMGWFRQAPGKYREVAAISSDDTGFATLYY
AVDSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAYCTAKLFSKTSYQKFIYKFNYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_seque
nce>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="130">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>128</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..128</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q403">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..128</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q404">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>aEpCAM_Nb22</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQQVQSGGGSVQAGASLRLSCAASSGLQQAIYVAWFRQAVGKEREVAAIGYWYWYHIQVYK
YYVDSVKDRFTISGDTKSTKTYLQMNSLKNEDTAYYCAKIHHLPRQRQEHGIFDYRGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequ
ence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="131">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>128</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..128</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q405">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..128</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q406">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu_aEpCAM_Nb22_6MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGLQQAIYMGWFRQAPGKEREVAAIGYWYWYHIQVYK
YYVDSVKDRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAYYCAKIHHLPRQRQEHGIFDYRGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequ
ence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="132">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
   <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="133">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
   <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="134">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
   <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="135">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
   <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="136">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="137">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="138">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="139">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="140">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
```

```
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="141">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>121</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..121</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q407">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..121</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q408">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu2H10 5MUT CYS</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELVAIIDSGGSTDYVDS
AKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCNVIGSSWYGRGLDYWGQGTLVTVSSC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="142">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>139</INSDSeq_length>
```

```
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..139</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q409">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..139</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q410">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu2H10 5MUT aH_CYS</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELVAIIDSGGSTDYVDS
AKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCNVIGSSWYGRGLDYWGQGTLVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAKAGC</I
NSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="143">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>139</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..139</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q411">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..139</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q412">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu2H10 5MUT R86K A87P aH_CYS</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELVAIIDSGGSTDYVDS
AKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCNVIGSSWYGRGLDYWGQGTLVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAKAGC</I
NSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="144">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>139</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..139</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q413">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..139</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q414">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu2H10 5MUT L115Q aH_CYS</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLASGRRFSIEAMGWYRQAPGKQRELVAIIDSGGSTDYVDS
AKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCNVIGSSWYGRGLDYWGQGTQVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAKAGC</I
NSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="145">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>145</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..145</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q415">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..145</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q416">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>HuNb42 A88P aH_CYS</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREAVATINSGTFRLWYTD
SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTLVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAK
AGC</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="146">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>145</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..145</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q417">
```

```
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..145</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q418">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>HuNb42 T61A A88P aH_CYS</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREAVATINSGTFRLWYAD
SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTLVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAK
AGC</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="147">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>145</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..145</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q419">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..145</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q420">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>HuNb42 A88P L115Q aH_CYS</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAYSTYSMGWFRQAPGKEREAVATINSGTFRLWYTD
SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCAARAWSPYSSTVDAGDFRYWGQGTQVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAK
AGC</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="148">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>65</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..65</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q421">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..65</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q422">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>anti-TNFalpha affibody Gly</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>CGGGVDNKFNKEVGWAFGEIGALPNLNALQFRAFIISLWDDPSQSANLLAEAKKLNDAQAPK
GGG</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="149">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>143</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..143</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q423">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..143</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q424">
```

```
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu_aTNFalphaMu_3MUT aH_CYS</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFSSIIMAWFRQAPGKEREFVGAVSWSGGTTVYAD
SVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAARPYQKYNWASASYNVWGQGTLVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAKAG
C</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="150">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>143</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..143</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q425">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..143</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q426">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu_aTNFalphaMu_5MUT aH_CYS</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFSSIIMAWFRQAPGKEREFVAAISWSGGTTVYAD
SVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAARPYQKYNWASASYNVWGQGTLVTVSSAEAAAKEAAAKEAAAKAG
C</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="151">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>148</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..148</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q427">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..148</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q428">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu_aTNFalphaHu_7MUT aH_CYS</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSDHSGYTYTMGWFRQAPGKEREFVARIYWSSGN
TYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAARDGIPTSRSVESYNYWGQGTLVTVSSAEAAAKEAAAKEA
AAKAGC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="152">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>152</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..152</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q429">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..152</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q430">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>IL-2_C125S aH_CYS</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEE
LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFSQSIISTLTAEAAAKEAA
AKEAAAKAGC</INSDSeq_sequence>

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="153">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>133</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..133</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q431">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..133</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q432">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>IL-15_5MUT aH_CYS</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMQCFLSELQVISLESGDASIHDT
VENLTILANNSLSSNGYVTESGCKECEELEAKNIKEFLQSFVHIVQMFINTSAEAAAKEAAAKEAAAKAGC</INSDSeq
_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="154">
```

```
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>166</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..166</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q433">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..166</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q434">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>aTNFa_DARPin G3S_CYS</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DLGKKLLEVARAGQDDEVRILMANGADVNAADHQSFTPLHLYAIFGHLEIVEVLLKNGADVN
ASDWHGNTPLHLAAWIGHLEIVEVLLKYGADVNATDHSGSTPLHLAATLGHLEIVEVLLKYGADVNAQDKFGKTAFDISI
DNGNEDLAEILQKAAGGGSGGGSC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="155">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q436">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q437">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>aPDL1_Nb1</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCATSGSIFSIISMGWYRQAPGKQRELVALVFRGGSTVYADS
VKGRFTISGDIAKNTVYLQMDSLKPEDTAVYYCNVKSIGTAQYWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="156">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>116</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q439">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..116</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q440">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu_aPDL1_Nb1_4MUT</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSIISMGWYRQAPGKQRELVALIFRGGSTVYADS
VKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAVKSIGTAQYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="157">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>113</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..113</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q442">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..113</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q443">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>aPDL1_Nb104E10</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGVDASNSAMGWYRQAPGKQREWVARITGGGLIAYTDS
VKGRFTISRDNAKSTVYLQMNSLEPEDTAVYYCNTINSRDWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="158">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>113</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..113</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q445">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..113</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q446">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu_aPDL1_Nb104E10_1MUT</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGVDASNSAMGWYRQAPGKQREWVARITGGGLIAYTDS
VKGRFTISRDNSKSTVYLQMNSLRPEDTAVYYCATINSRDWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="159">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q448">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q449">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>aPDL1_NbG5</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSFFRTYIVSWYRQAPGKRREAVAVMSNSGNTNYADS
VKGRFTISRDNAVNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCNLLKVTVVPPANYWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="160">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q451">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier id="q452">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu_aPDL1_NbG5_4MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSFFRTYIMGWYRQAPGKRREAVAVISNSGNTNYADS
VKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCALLKVTVVPPANYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="161">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q454">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q455">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>aPDL2_103E4</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTFSNYVSNYAMGWGRQAPGTQRELVASISNGDTTN
YADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCFEHQVAGLTWGQGTQVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="162">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q457">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q458">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu_aPDL2_103E4_2MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTFSNYVSNYAMGWGRQAPGKQRELVASISNGDTTN
YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAEHQVAGLTWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
```

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="163">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>127</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..127</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q460">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..127</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q461">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>aPDL2_103E5</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQTGGSLRLSCAASGFTLDYYGIGWFRQAPGKEREGVSFISGSDGSTYYAE
SVKGRFTISRDKAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPWGPPSIATMTSYEYKHWGQGTQVTVSS</INSDSeq_seque
nce>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="164">
```

```
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>127</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..127</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q463">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..127</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q464">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu_aPDL2_103E5_4MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDYYGMGWFRQAPGKEREGVAFISGSDGSTYYAE
SVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAADPWGPPSIATMTSYEYKHWGQGTLVTVSS</INSDSeq_seque
nce>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="165">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q466">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q467">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>aPDL2_Nb103F10</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSGTMGWFRRAPGKEREFVASIPWSGGRTYYAD
SVKDRFTISRDNAQNTVFLQMNSLKPEDTAVYYCAFKERSTGWDFASWGQGIQVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="166">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q469">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q470">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu_aPDL2_Nb103F10_5MUT</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSGTMGWFRQAPGKEREFVASIPWSGGRTYYAD
SVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAFKERSTGWDFASWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="167">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>114</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..114</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q472">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..114</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q473">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu_aIL-1B_5C_5MUT</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGYYYSSFYWGWFRQAPGQGLEAVATIPYYYTYYTDS
VKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCASYNIHNFWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="168">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>113</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..113</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q475">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..113</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q476">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Hu_aIL-1B_6C_3MUT</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSYSYSYSWGWFRQAPGQGLEAVAAIVYYYTYYADSV
KGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCASYAPFPFWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="169">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q478">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q479">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu_aIL-1B_11H_3MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGYSYYSWGWFRQAPGQGLEAVASIAYYYTYYADSVK
GRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAYSDIISYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="170">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q481">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier id="q482">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Hu_aIL-1B_12D_2MUT</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSYYSSSYGGWFRQAPGQGLEAVATIPYYTSYADSVK
GRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCASFFPFFYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種具有式(I)之肽：

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 (I)，

CDR1、CDR2及CDR3各自獨立地為互補決定區；

FR1具有包含

X^{10}VQLX^{11}EX^{12}GGG$X^{13}X^{14}$QX^{15}GX^{16}SLRLSC$X^{17}X^{18}$SG (SEQ ID NO: 1)之胺基酸序列，

其中

X^{10}為Q、E或D，

X^{11}為V、Q、A或E，

X^{12}為S或T，

X^{13}為L、S或V，

X^{14}為V或A，

X^{15}為P、A或T，

X^{16}為G、D或R，

X^{17}為A、V、T或E，且

X^{18}為A或V；

FR2具有包含$X^{20}X^{21}$WX^{22}RQX^{23}PGK$X^{24}X^{25}$EX^{26}V$X^{27}X^{28}$I (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列，

其中

X^{20}為M、I、V或L，

X^{21}為G、S或A，

X^{22}為F、Y或V，

X^{23}為A、V、P或T，

X^{24}為E、G、A或Q，

X^{25}為R或L，

X^{26}為F、G、W或L，

X^{27}為A、G或S，且

X^{28}為A、S或G；

FR3具有包含

$YX^{30}DSVKGRFTISX^{31}DX^{32}X^{33}KX^{34}X^{35}VX^{36}LQMX^{37}X^{38}LRX^{39a}EDTAX^{39b}$YYCAA (SEQ ID NO: 3)之胺基酸序列，

其中

X^{30}為A、G、S或T，

X^{31}為R或Q，

X^{32}為N、S或D，

X^{33}為S、A或D，

X^{34}為N或K，

X^{35}為T或M，

X^{36}為Y、D或S，

X^{37}為N或D，

X^{38}為S或N，

X^{39a}為P或A，且

X^{39b}為V、M、L或I；

且

FR4具有包含以下之胺基酸序列

$YWGX^{40}GTX^{41}VTVSS$ (SEQ ID NO: 4)，

其中

X^{40}為Q或K，且

X^{41}為L或Q。

【請求項2】

如請求項1之肽，其中X^{27}為A。

【請求項3】

如請求項1至2中任一項之肽，其中X^{39a}為P。

【請求項4】

如請求項1至3中任一項之肽，其中

FR1具有包含QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG (SEQ ID NO: 5)之胺基酸序列。

【請求項5】

如請求項1至4中任一項之肽，其中

FR2具有包含MGWFRQAPGKEREFVAAI (SEQ ID NO: 6)之胺基酸序列。

【請求項6】

如請求項1至5中任一項之肽，其中

FR3具有包含

YADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA (SEQ ID NO: 7)之胺基酸序列。

【請求項7】

如請求項1至6中任一項之肽，其中

FR4具有包含YWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 8)之胺基酸序列。

【請求項8】

如請求項1至7中任一項之肽，其中CDR1、CDR2及CDR3各自為來自抗體或細胞介素之互補決定區。

【請求項9】

如請求項8之肽，其中該抗體為單株IgG、IgG片段、單鏈scFv、單域重鏈VHH、阿德奈汀(adnectin)、親和抗體、安替克林(anticalin)、DARPin或經工程改造之Kunitz型抑制劑。

【請求項10】

如請求項8或9之肽，其中該等互補決定區各自對以下具有特異性：血管內皮生長因子(VEGF)、腫瘤壞死因子-α (TNF-α)、程序性細胞死亡蛋白1 (PD-1)、程序性死亡配體-1 (PD-L1)、細胞毒性T淋巴球相關蛋白4 (CTLA4)、分化簇40 (CD40)、分化簇134 (CD134)、分化簇137 (CD137)、糖皮質素誘導之腫瘤壞死因子受體相關蛋白(GITR)、T細胞活化免疫球蛋白抑制因子V域(VISTA)、含T細胞免疫球蛋白及黏蛋白域之蛋白3 (TIM-3)、淋巴球活化3 (LAG3)、介白素-1-β (IL-1β)、介白素-6 (IL-6)、介白素-10 (IL-10)、介白素-12 (IL-12)或介白素-15 (IL-15)。

【請求項11】

如請求項8或9之肽，其中該等互補決定區各自對血管內皮生長因子(VEGF)具有特異性。

【請求項12】

如請求項1至11中任一項之肽，其中該肽係由式I組成。

【請求項13】

如請求項1至12中任一項之肽，其具有以下中之一或多者：

(a)長度為7個胺基酸之CDR1；

(b)長度為7或8個胺基酸之CDR2；及/或

(c)長度為9至16個胺基酸之CDR3。

【請求項14】

如請求項1至13中任一項之肽，其中：

(a) CDR1具有包含FAYSTYS (SEQ ID NO: 9)之胺基酸序列，

CDR2具有包含NSGTFRLW (SEQ ID NO: 10)之胺基酸序列，且

CDR3具有包含RAWSPYSSTVDAGDFR (SEQ ID NO: 11)之胺基酸序列；或

(b) CDR1具有包含RRFSIEA (SEQ ID NO: 12)之胺基酸序列，

CDR2具有包含DSGGSTD (SEQ ID NO: 13)之胺基酸序列，且

CDR3具有包含IGGSWYGRGLD (SEQ ID NO: 14)之胺基酸序列；或

(c) CDR1具有包含GTFSSII (SEQ ID NO: 15)之胺基酸序列，

CDR2具有包含SWSGGTTV (SEQ ID NO: 16)之胺基酸序列，且

CDR3具有包含RPYQKYNWASASYNV (SEQ ID NO: 17)之胺基酸序列；或

(d) CDR1具有包含GGSDAGT (SEQ ID NO: 18)之胺基酸序列，

CDR2具有包含SWAGTAWR (SEQ ID NO: 19)之胺基酸序列，且

CDR3具有包含LGSYEMDHH (SEQ ID NO: 20)之胺基酸序列。

【請求項15】

如請求項1至14中任一項之肽，其具有包含SEQ ID NO: 51-58、61-73、81-85、91-98、101-109、111-131及141-170中之任一者的胺基酸序列。

【請求項16】

一種製備如請求項1至15中任一項之肽的方法，其包含：

(a)在第一反應混合物中轉譯編碼細菌中之該肽的基因序列；

(b)自該第一反應混合物及乙二胺四乙酸(EDTA)形成第二反應混合物；及

(c)過濾該第二反應混合物；

由此製備該肽。

【請求項17】

一種式IIa結合物：

$$(X^1\text{-}X^2\text{-}Y)_n\text{-}Z \quad (IIa)，$$

其中

各X^1獨立地為如請求項1至15中任一項之肽；

各X^2獨立地為長度為3至100個胺基酸之肽連接子；

各Y獨立地為有機連接子；

Z為具有約0.1 MDa至約3 MDa之分子量的生物相容性聚合物；且

下標n為1至1500之整數。

【請求項18】

一種式IIb結合物：

$$(X^1\text{-}X^{2A}\text{-}Y)_n\text{-}Z \quad (IIb)，$$

其中

各X^1獨立地為具有約5 kDa至約200 kDa之分子量的肽；

各X^{2A}獨立地為包含α螺旋之肽連接子；

各Y獨立地為有機連接子；

Z為具有約0.1 MDa至約3 MDa之分子量的生物相容性聚合物；且

下標n為1至1500之整數。

【請求項19】

如請求項18之結合物，其中各X^1獨立地為如請求項1至15中任一項之肽。

【請求項20】

如請求項17至19中任一項之結合物，其中各肽連接子之長度獨立地為7至100個胺基酸。

【請求項21】

如請求項17至20中任一項之結合物，其中各肽連接子之長度獨立地為10至30個胺基酸。

【請求項22】

如請求項17至21中任一項之結合物，其中各肽連接子獨立地具有包含以下之胺基酸序列：

AEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 21)，

AEEEKRKAEEEKRKAEEEAGC (SEQ ID NO: 22)，

AEEEKRKAEEEKRKAEEEKRKAEEEAGC (SEQ ID NO: 23)，

AEEEEKKKKEEEEKKKKAGC (SEQ ID NO: 24)，

AEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 25)，

PSRLEEELRRRLTEGC (SEQ ID NO: 26)或

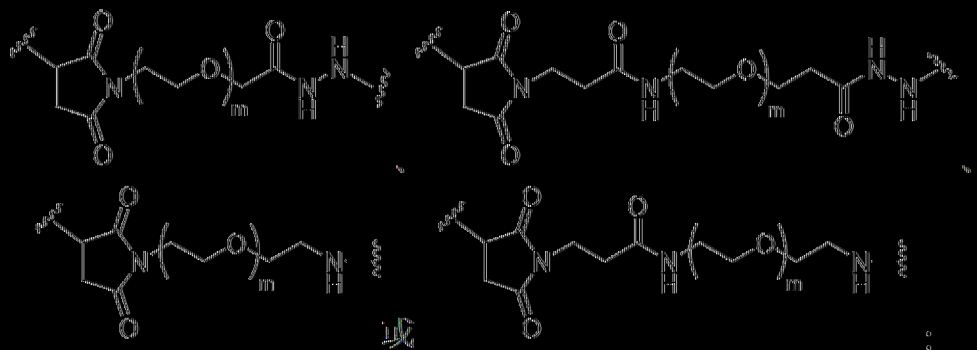
AEEEEEKKKQQEEEAERLRRIQEEMEKERKRREEDEERRRKEEEE
RRMKLEMEAKRKQEEEERKKREDDEKRKKKAGC (SEQ ID NO: 27)。

【請求項23】

如請求項17至22中任一項之結合物，其中各肽連接子具有包含AEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 21)之胺基酸序列。

【請求項24】

如請求項17至23中任一項之結合物，其中該有機連接子具有以下結構：



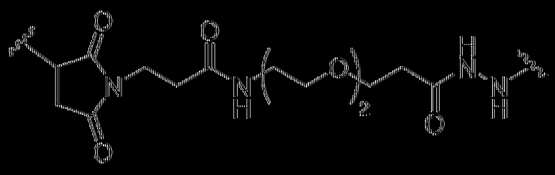
或

；

其中下標m為1至300之整數。

【請求項25】

如請求項17至24中任一項之結合物，其中該有機連接子具有以下結構：



。

【請求項26】

如請求項17至25中任一項之結合物，其中該生物相容性聚合物為多醣。

【請求項27】

如請求項17至25中任一項之結合物，其中該生物相容性聚合物為醣

胺聚醣。

【請求項28】

如請求項17至25中任一項之結合物，其中該生物相容性聚合物為玻尿酸。

【請求項29】

如請求項17至28中任一項之結合物，其中該生物相容性聚合物具有約0.4 MDa至約2 MDa之分子量。

【請求項30】

如請求項17至29中任一項之結合物，其中該生物相容性聚合物具有約0.7 MDa至約1.5 MDa之分子量。

【請求項31】

如請求項17至30中任一項之結合物，其中該生物相容性聚合物具有約0.8 MDa之分子量。

【請求項32】

如請求項17至31中任一項之結合物，其中下標n為10至400之整數。

【請求項33】

如請求項17至32中任一項之結合物，其中下標n為10至100之整數。

【請求項34】

一種式IIa結合物：

$$(X^1\text{-}X^2\text{-}Y)_n\text{-}Z \quad (IIa)，$$

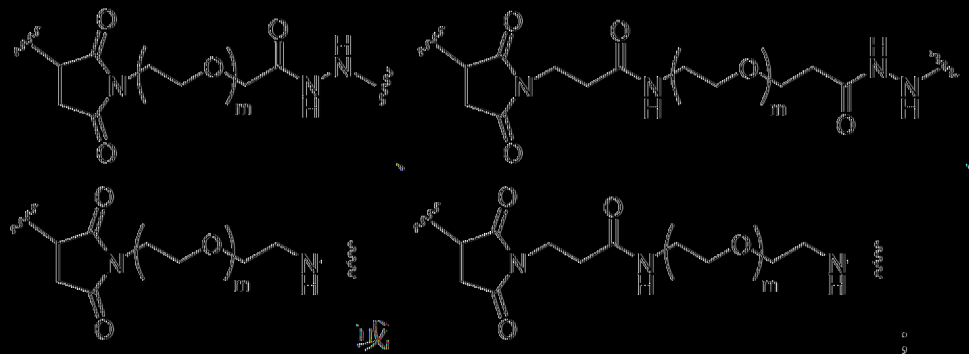
其中

各X^1獨立地為如請求項1至15中任一項之肽；

各X^2為具有包含AEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 21)

之胺基酸序列的肽連接子；

各Y為具有以下結構之有機連接子：



或

；

Z為生物相容性聚合物，其為具有約0.1 MDa至約3 MDa之分子量的玻尿酸；

下標m為1至300之整數；且

下標n為1至1500之整數。

[請求項35]

一種結合物，其為式IIIa之無規聚合物：

$$(X^1\text{-}X^2\text{-}Y\text{-}Z^1)_n\text{-}(Z^2)_p\text{-}(Z^3)_q \quad \text{(IIIa)},$$

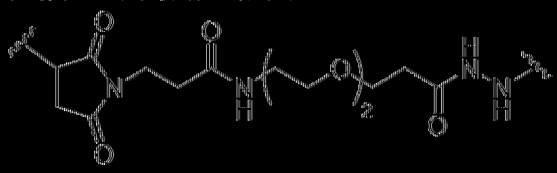
其具有約0.8 MDa之分子量；

其中

各X^1為具有包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列的肽；

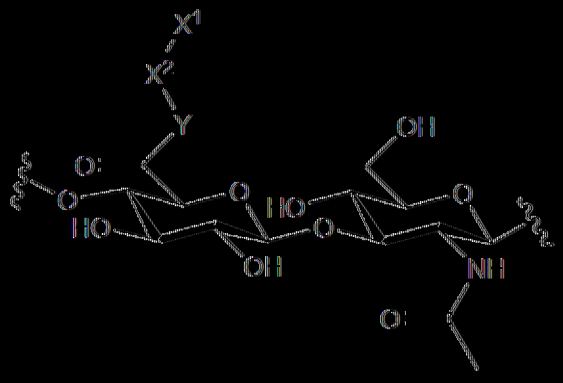
各X^2為具有包含AEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 21)之胺基酸序列的肽連接子；

各Y為具有以下結構之有機連接子：

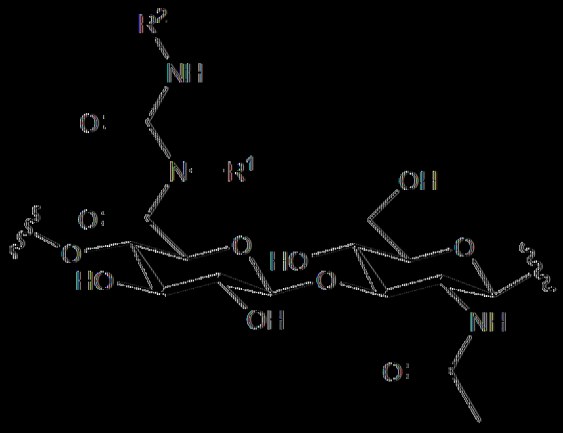


；

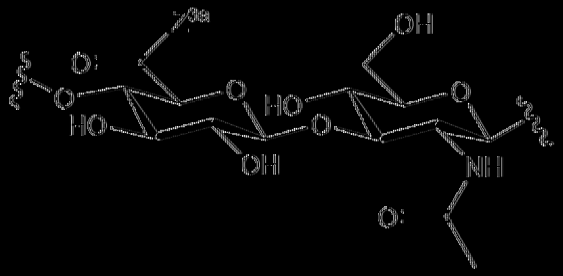
各X^1-X^2-Y-Z^1部分具有以下結構：



各Z^2具有以下結構：

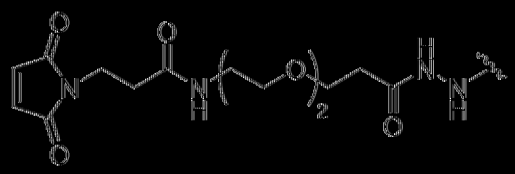


各Z^3獨立地具有以下結構：



各Z^{3a}獨立地為OH或Y'；

各Y'具有以下結構：



各R^1及R^2為乙基或$-(CH_2)_3-NMe_2$；

下標n為10至300之整數且小於下標n、p及q總和的約10%；

下標p為1至15之整數且小於下標n、p及q總和的約0.5%；且

下標q為1000至3000之整數。

[請求項36]

一種結合物，其為式IIIa之無規共聚物：

$$(X^1\text{-}X^2\text{-}Y\text{-}Z^1)_n\text{-}(Z^2)_p\text{-}(Z^3)_q \quad \text{(IIIa)},$$

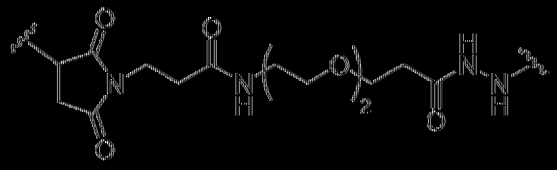
其具有約0.8 MDa之分子量；

其中

各X^1為具有包含SEQ ID NO: 67之抗VEGF胺基酸序列的肽；

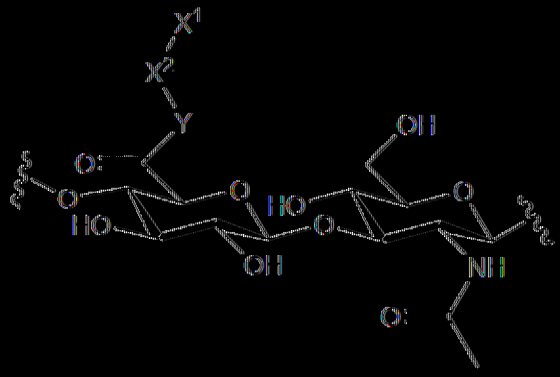
各X^2為具有包含AEAAAKEAAAKEAAAKAGC (SEQ ID NO: 21)之胺基酸序列的肽連接子；

各Y為具有以下結構之有機連接子：



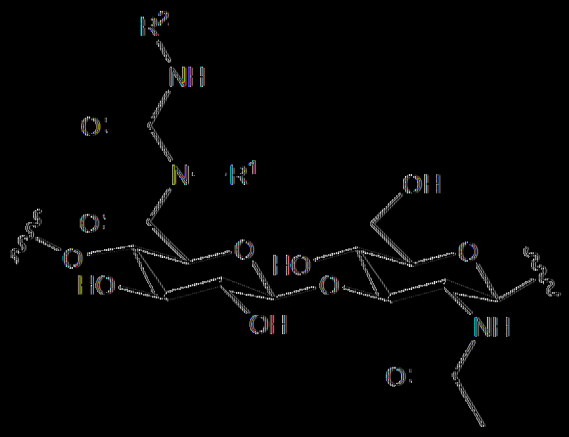
；

各$X^1\text{-}X^2\text{-}Y\text{-}Z^1$部分具有以下結構：



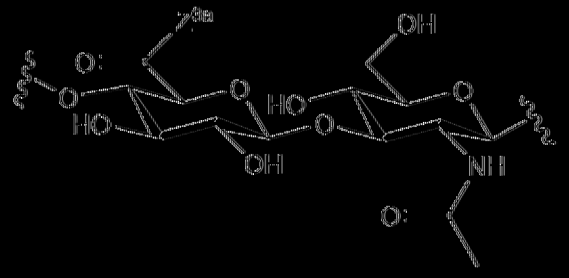
；

各Z^2具有以下結構：



；

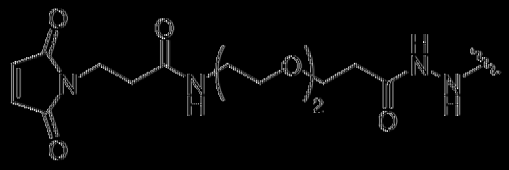
各Z^3獨立地具有以下結構：



；

各Z^{3a}獨立地為OH或Y'；

各Y'具有以下結構：



；

各R^1及R^2為乙基或$-(CH_2)_3-NMe_2$；

下標n為10至300之整數且小於下標n、p及q總和的約10%；

下標p為1至15之整數且小於下標n、p及q總和的約0.5%；且

下標q為1000至3000之整數。

[請求項37]

一種醫藥組合物，其包含如請求項17至36中任一項之結合物及醫藥學上可接受之賦形劑。

[請求項38]

一種治療有需要個體之眼部病症的方法，其包含向該個體投與如請

求項17至36中任一項之結合物。

【請求項39】

如請求項38之方法，其包含經玻璃體內投與該結合物。

【請求項40】

如請求項38或39之方法，其包含每月、每兩個月或每三個月投與該結合物。

【請求項41】

如請求項38至40中任一項之方法，其中該結合物之玻璃體半衰期比未結合之肽的該半衰期長至少5倍。

【請求項42】

如請求項38至41中任一項之方法，其中該眼部病症為眼色素層炎、黃斑退化、脈絡膜新生血管、視網膜新生血管、增生性玻璃體視網膜病變、青光眼或眼部發炎。

【請求項43】

一種治療有需要個體的關節疾病或病症之方法，其包含向該個體投與如請求項17至36中任一項之結合物。

【請求項44】

如請求項43之方法，其包含經關節內投與該結合物。

【請求項45】

如請求項43或44之方法，其包含每月、每兩個月或每三個月投與該結合物。

【請求項46】

如請求項43至45中任一項之方法，其中該結合物之關節內半衰期比

未結合之肽之該半衰期長至少5倍。

【請求項47】

如請求項43至46中任一項之方法，其中該疾病或病症為類風濕性關節炎、磨損相關之骨關節炎、年齡相關之骨關節炎、創傷後骨關節炎、牛皮癬性關節炎及無菌植入物鬆脫(aseptic implant loosening)、關節積液、僵直性脊椎炎、滑囊炎、痛風、反應性關節炎、滑膜炎或缺血性壞死。

[發明圖式]

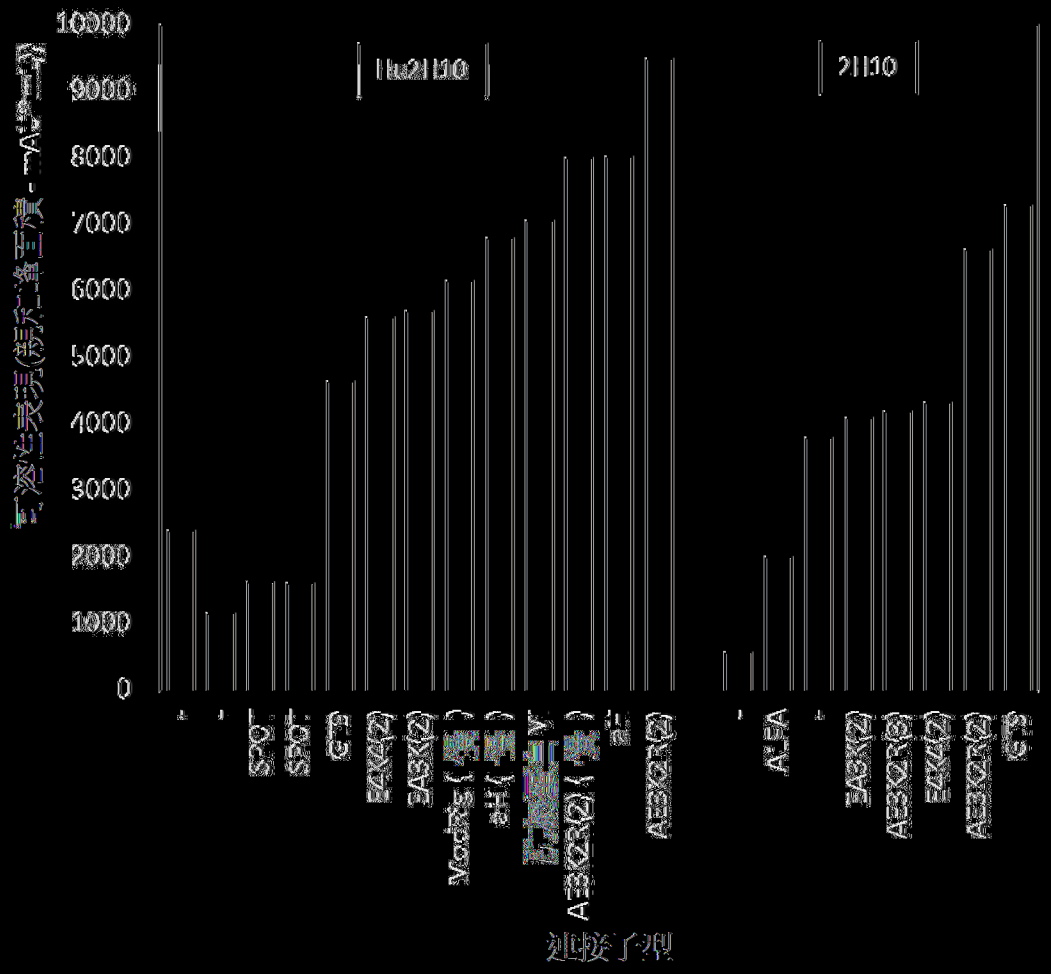
表現ORF



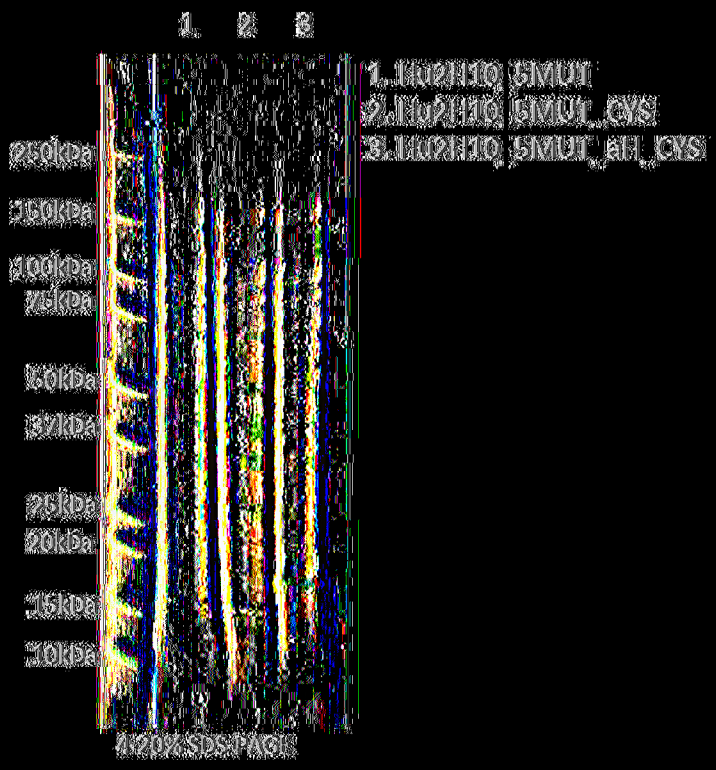
親和標籤 切割位點	聚組胺酸、FLAG、MYC、STREP、MBP等 TEV、Precs等
API	
肽連接子	all、剛性、非結構化等

[圖1A]

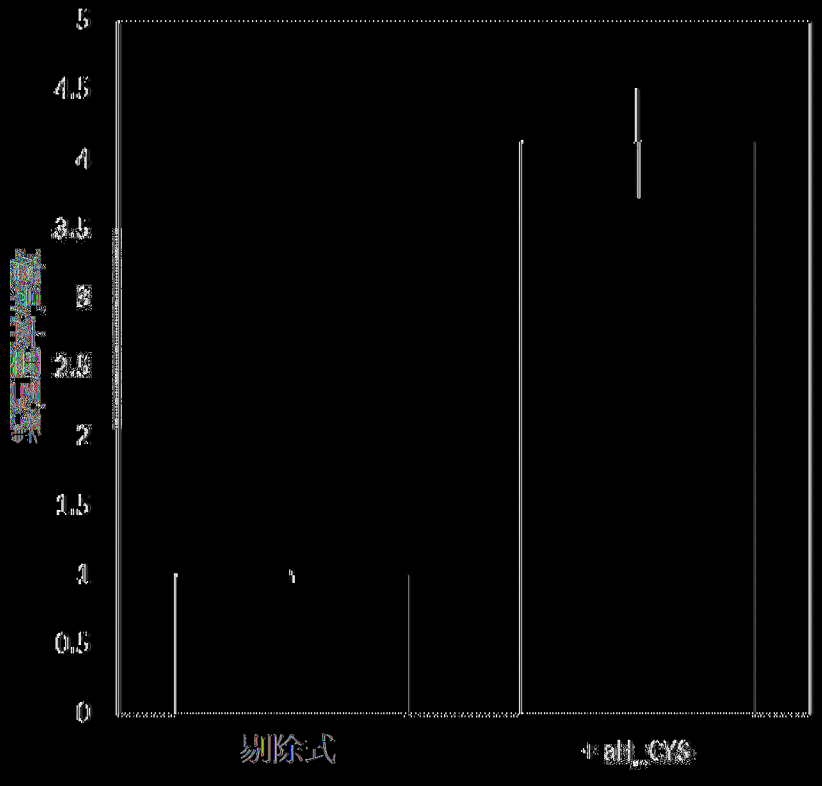
表現與連接子



[圖1B]

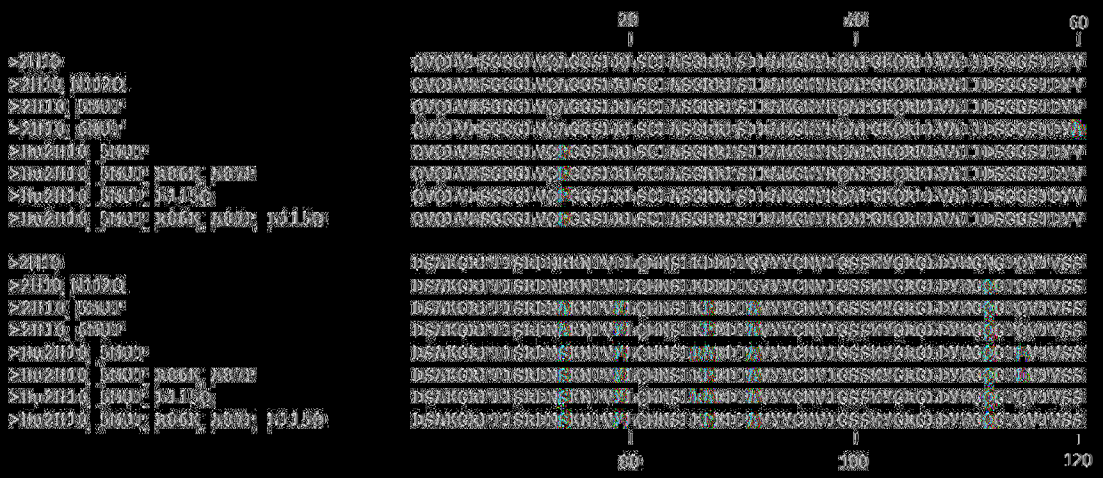

1
2
3
1. Hu2110_SMUT
2. Hu2110_SMUT_CYS
3. Hu2110_SMUT_alt_CYS
250kDa
150kDa
100kDa
75kDa
50kDa
37kDa
25kDa
20kDa
15kDa
10kDa
4/20% SDS-PAGE

(圖1C)

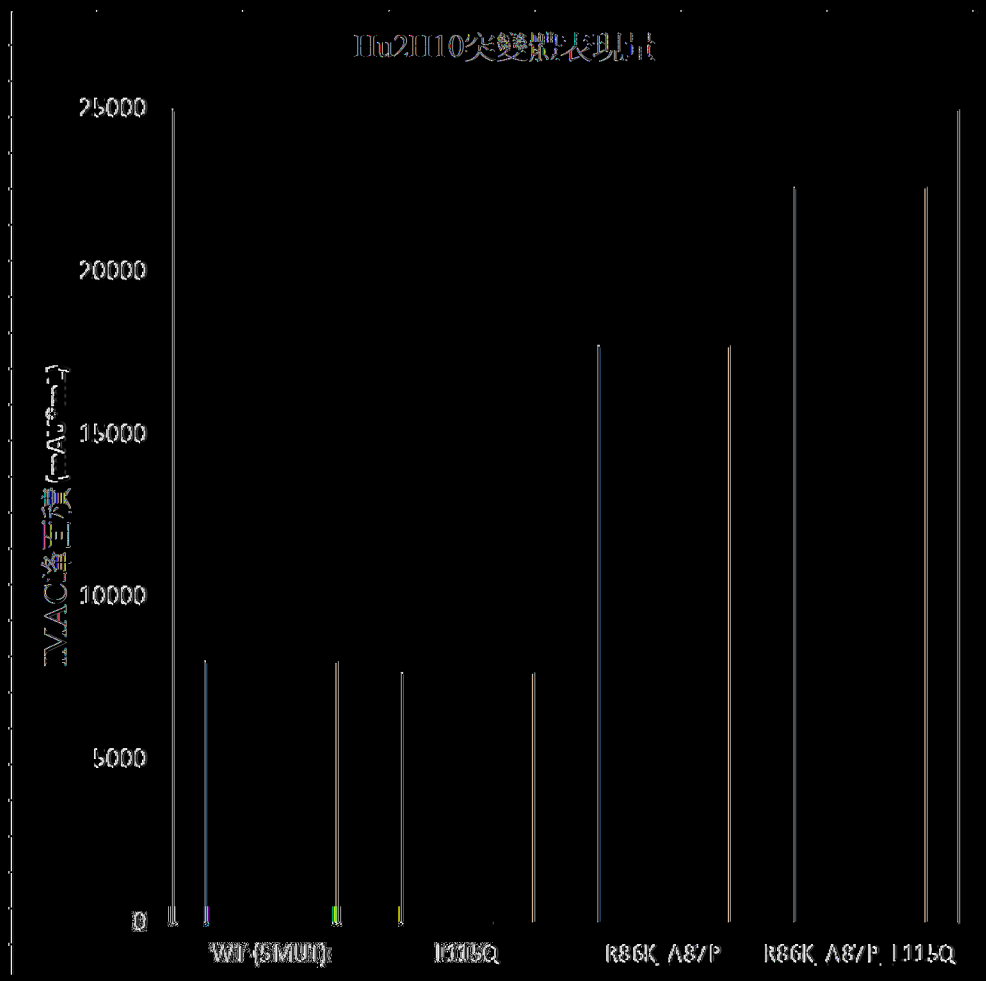

5
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
切除式
alt_CYS

(圖1D)

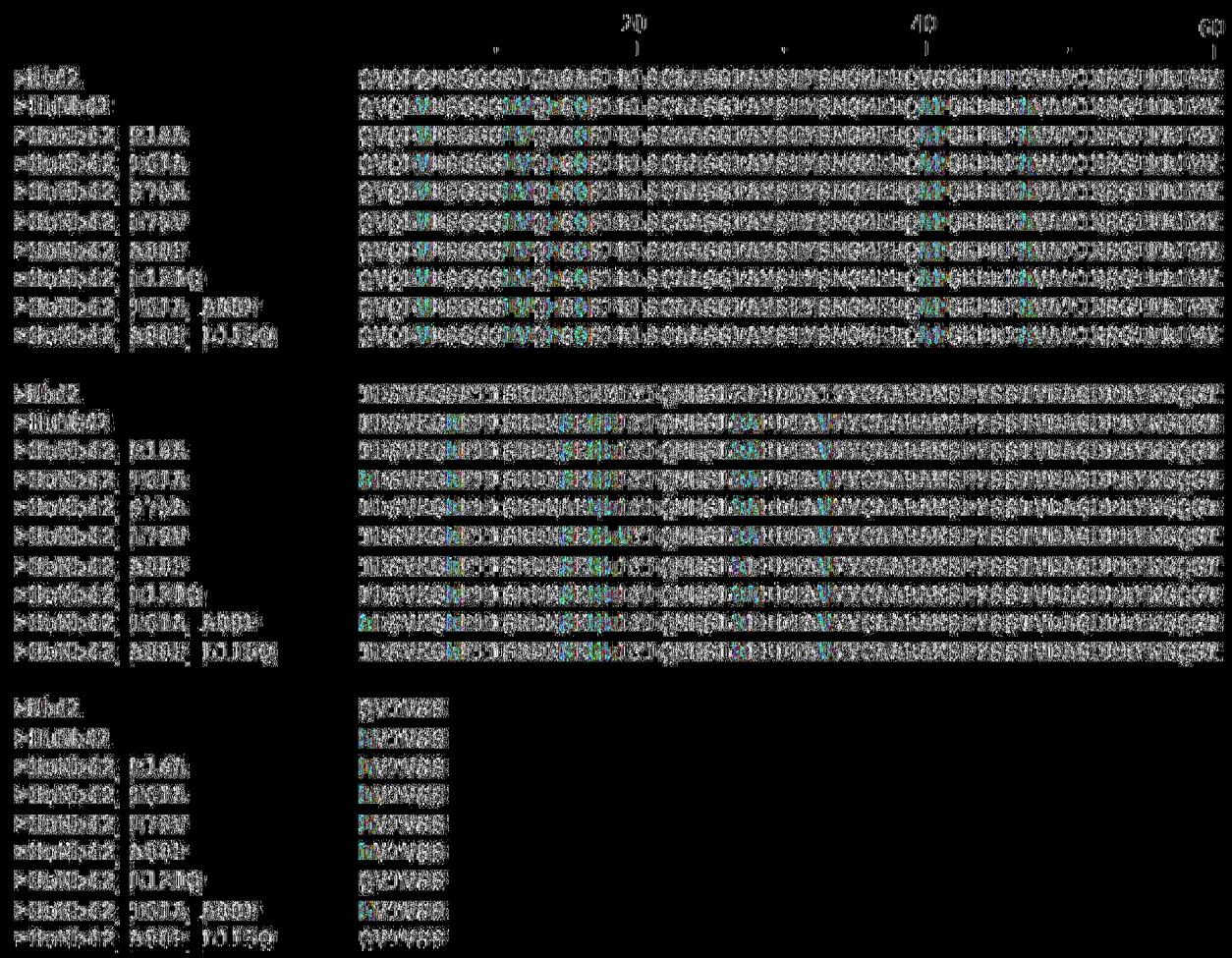
2D10 一級序列演化:



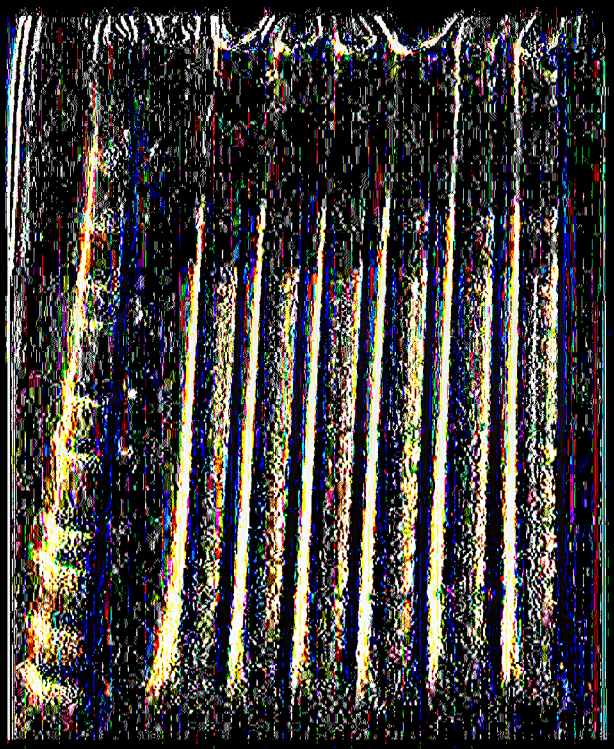
（圖2）



（圖3）

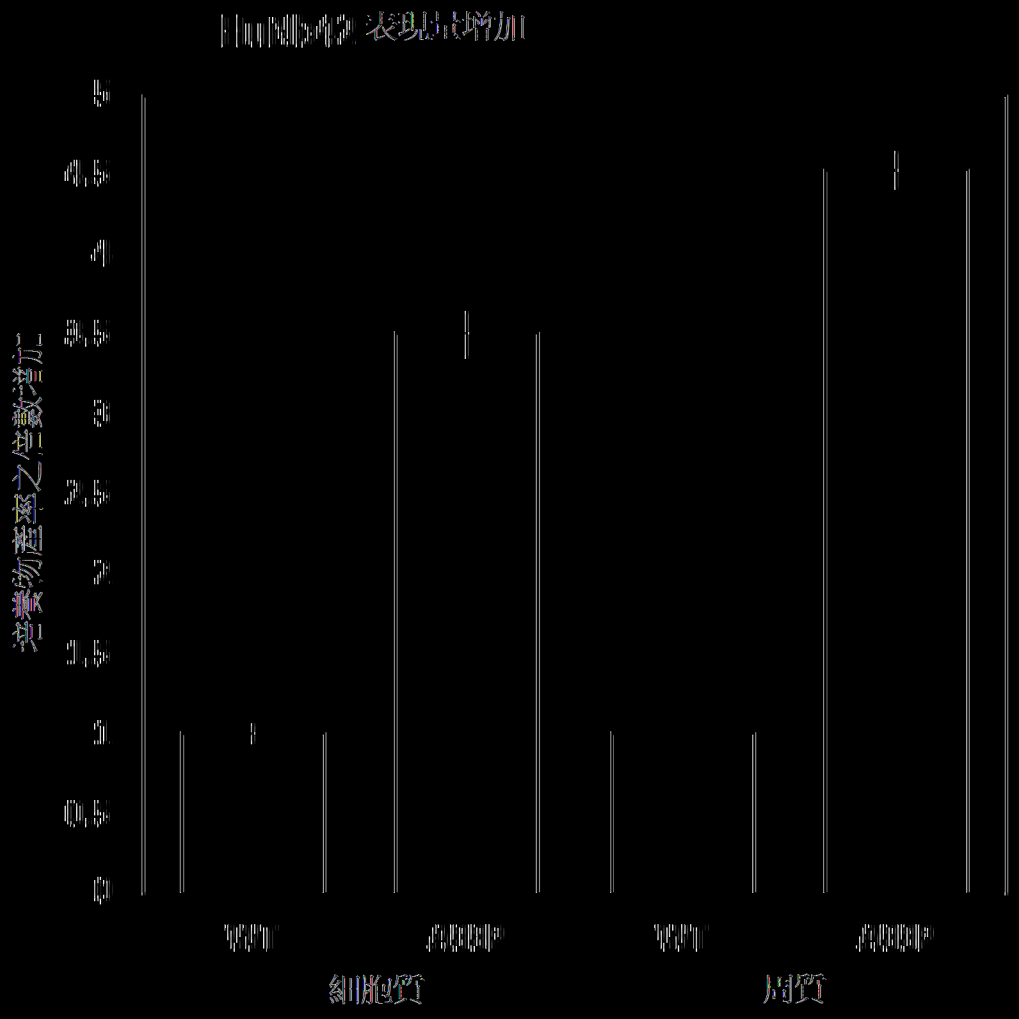


(圖4)



裝載：
1：MW儲存
2：MT
3：WCL_2B1_HuNb42(reopt)_all_CYS
4：WCL_2B1_HuNb42(reopt)_T61A_all_CYS
5：WCL_2B1_HuNb42(reopt)_S75A_all_CYS
6：WCL_2B1_HuNb42(reopt)_S75A_I79V_all_CYS
7：WCL_2B1_HuNb42(reopt)_A88P_all_CYS
8：WCL_2B1_HuNb42(reopt)_I121Q_all_CYS

(圖5)


Hmdh2 表現量增加
相對於 WT 細胞質之倍數
0
0.5
1
1.5
2
2.5
3
3.5
4
4.5
5
WT
ΔHDP
WT
ΔHDP
細胞質
周質

（圖6）

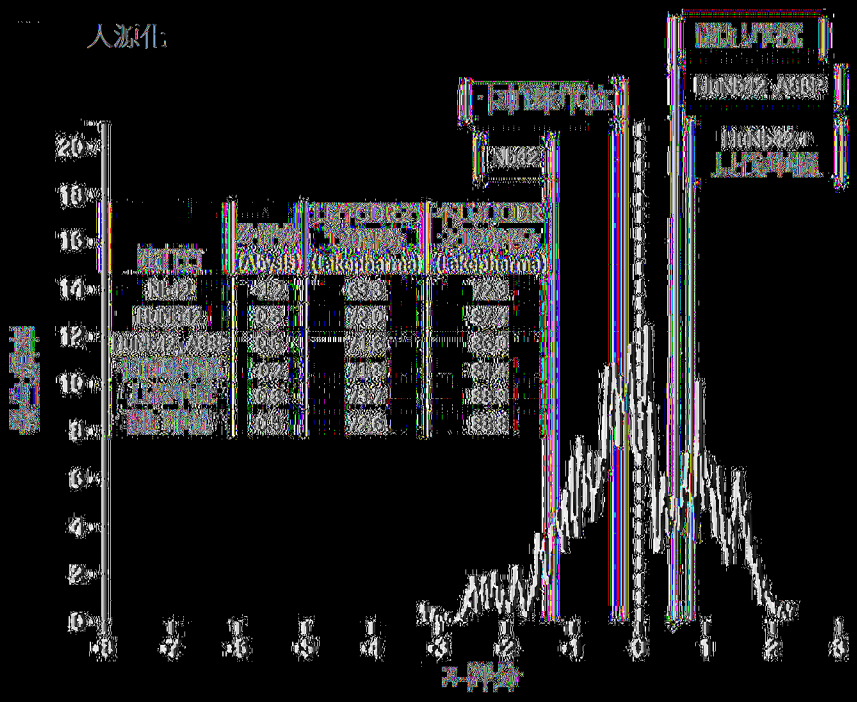


圖7

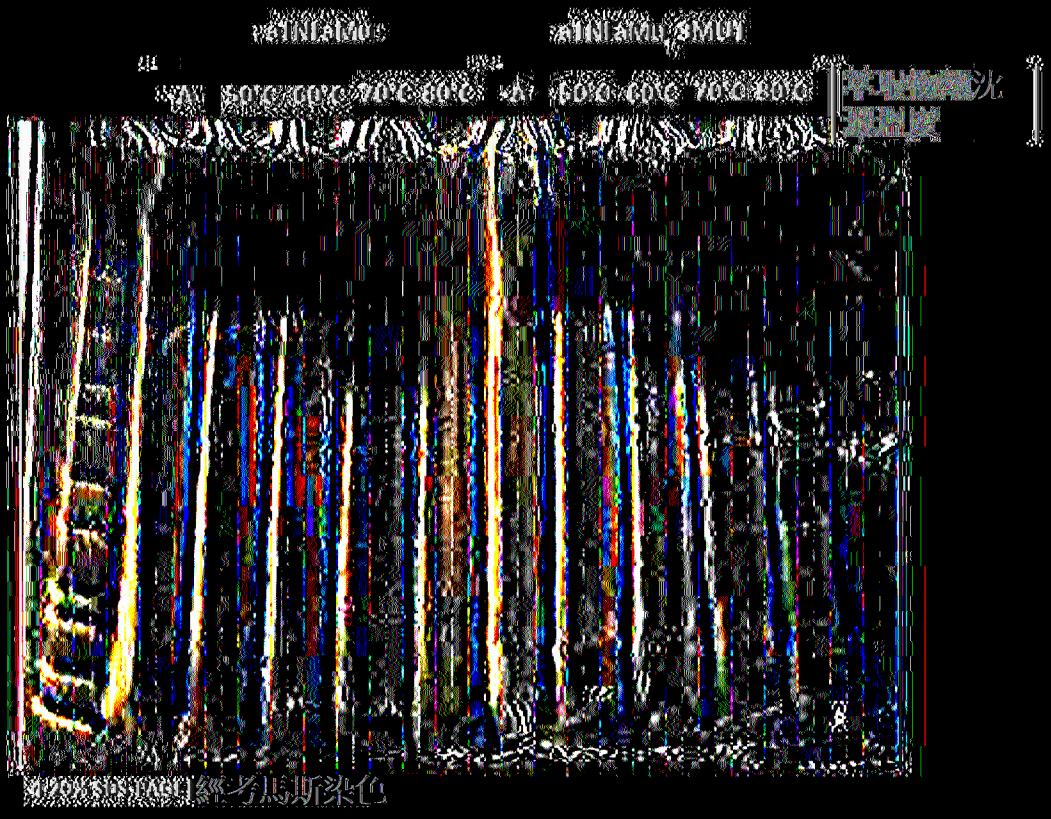
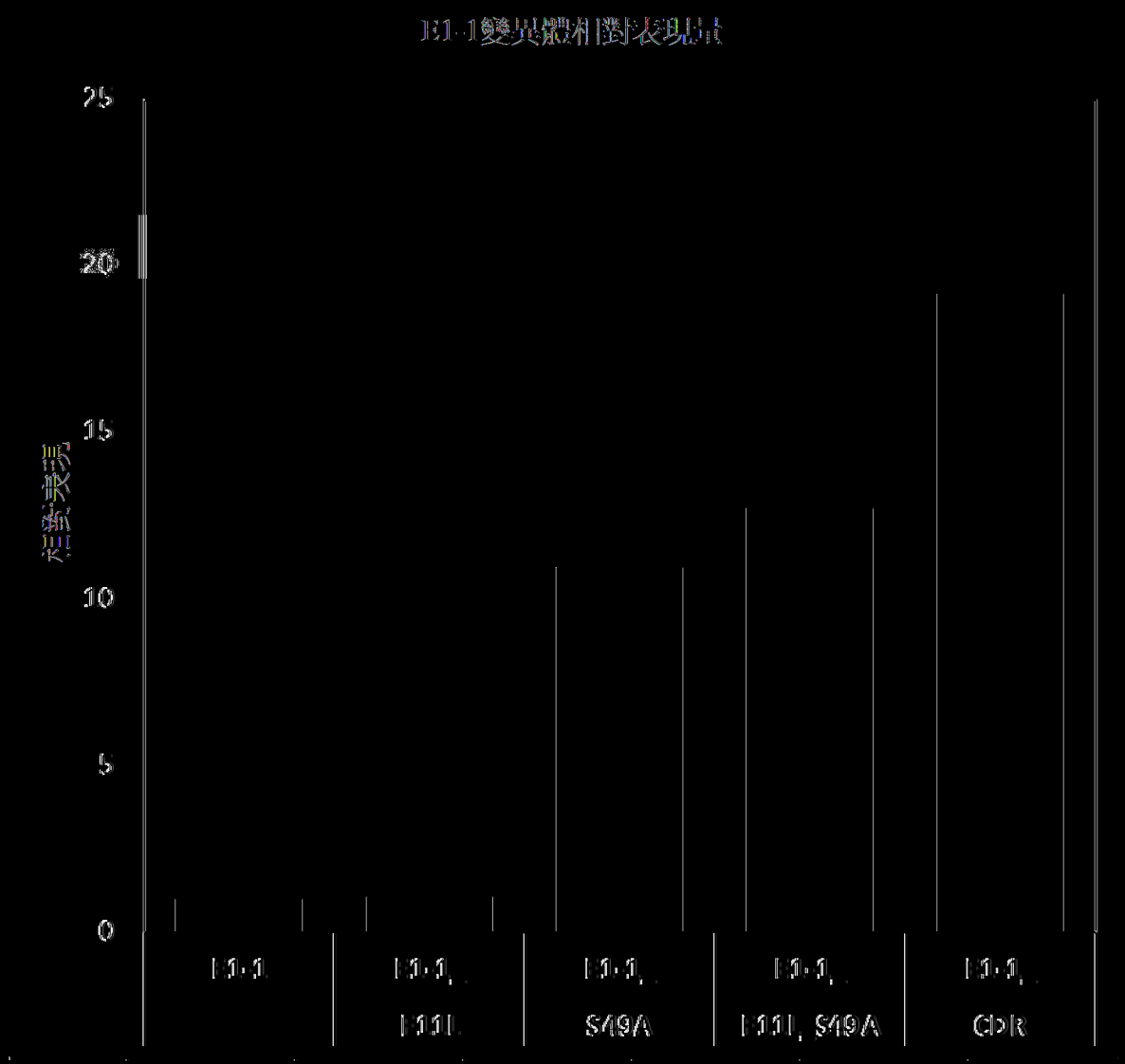
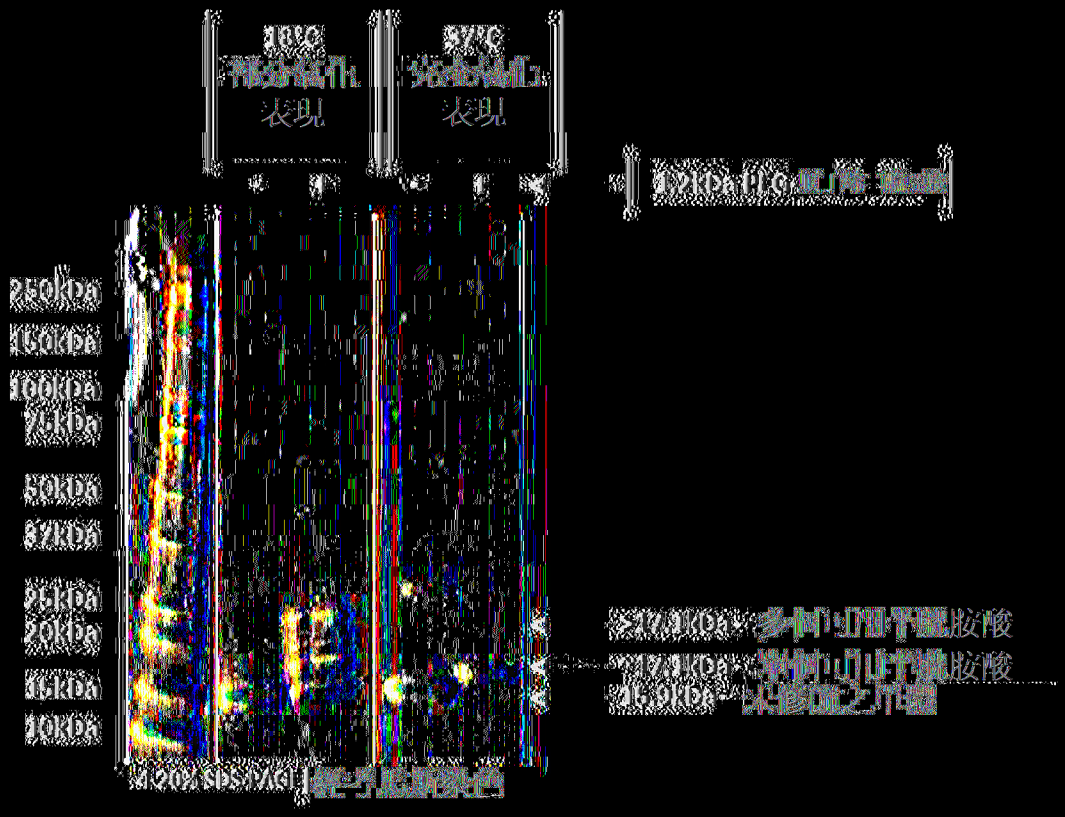


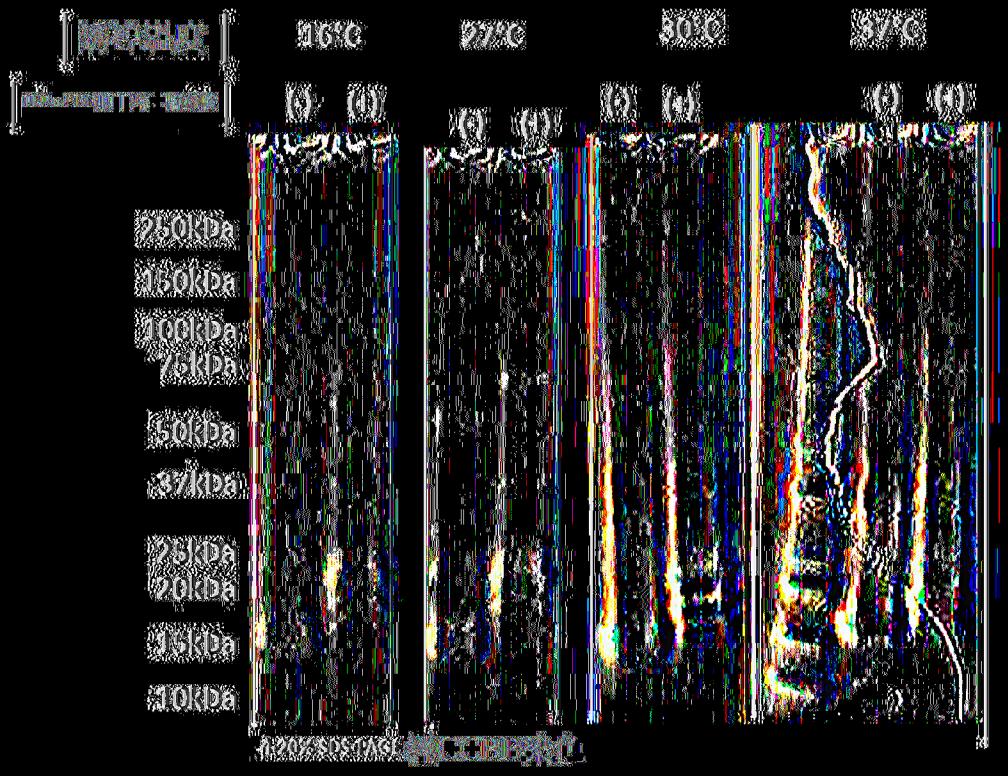
圖8


E1-1變異體相對表現量
25
20
15
10
5
0
相對表現量
E1-1
E1-1_ I111L
E1-1_ S49A
E1-1_ I111L, S49A
E1-1_ CDR

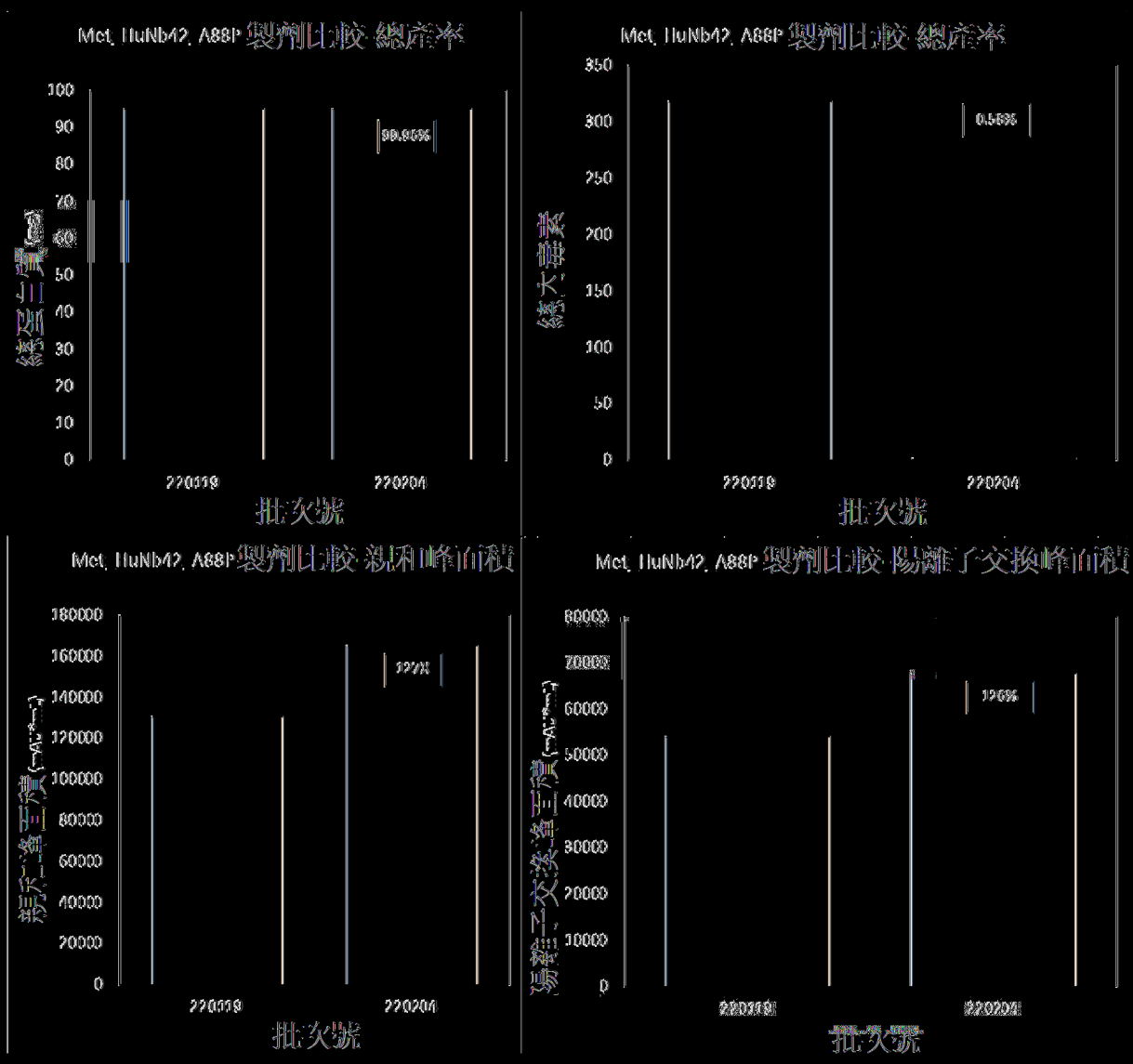
|(圖9)|


16°C
37°C
250kDa
150kDa
100kDa
75kDa
50kDa
37kDa
25kDa
20kDa
15kDa
10kDa

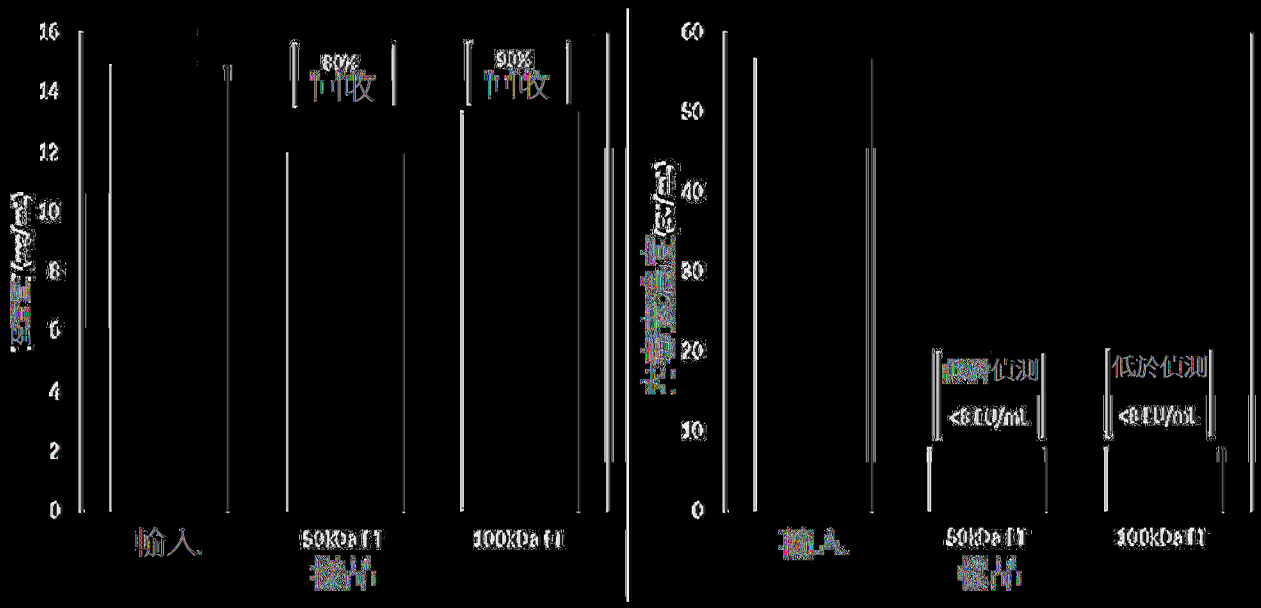
[圖10A]


16°C
27°C
30°C
37°C
250kDa
150kDa
100kDa
75kDa
50kDa
37kDa
25kDa
20kDa
15kDa
10kDa

[圖10B]

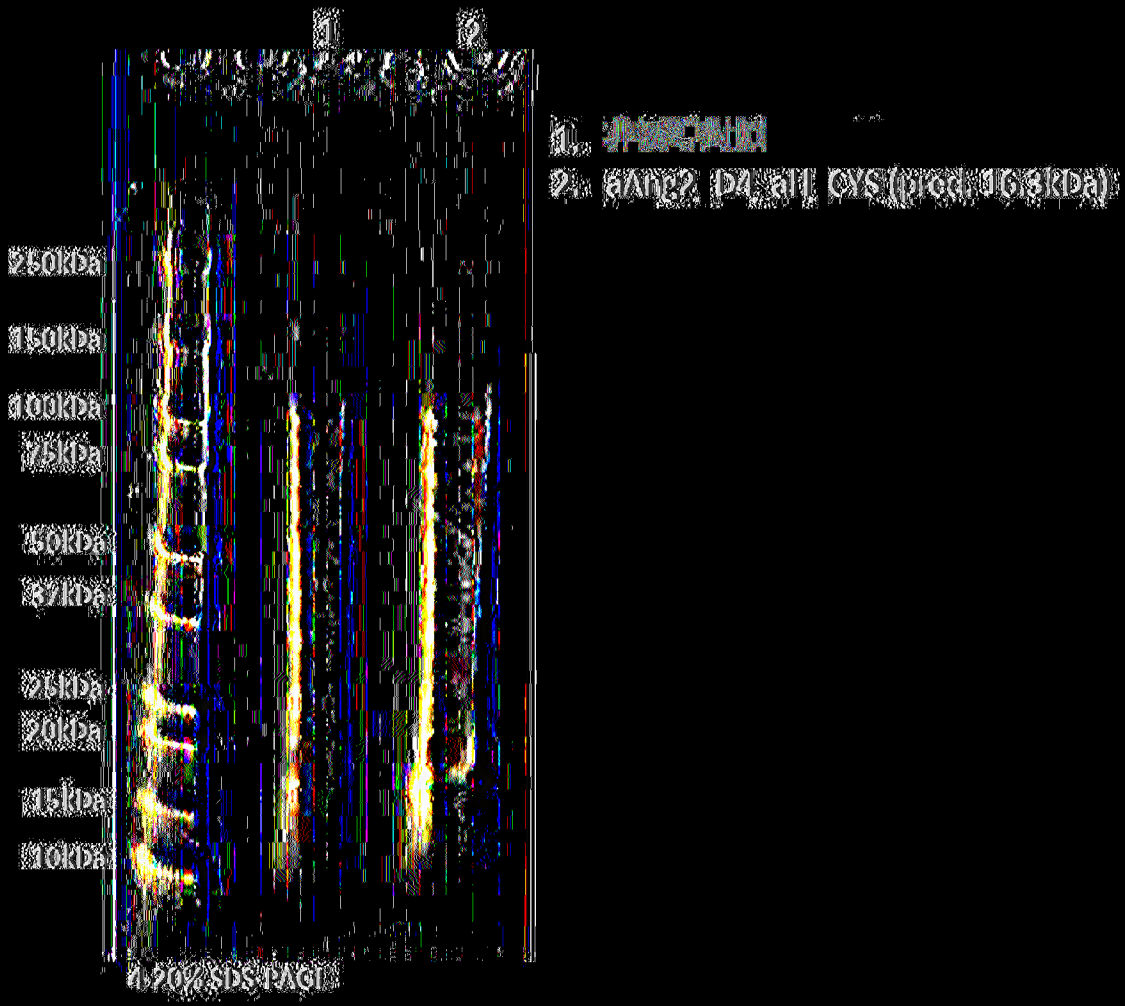

Mct_HuNb42_A88P製劑比較 總產率
總產率 (%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
98.88%
220319
220204
批次號
Mct_HuNb42_A88P製劑比較 總產率
聚體大小
350
300
250
200
150
100
50
0
0.58%
220319
220204
批次號
Mct_HuNb42_A88P製劑比較 親和峰面積
親和峰面積 (mAU*s)
180000
160000
140000
120000
100000
80000
60000
40000
20000
0
122%
220319
220204
批次號
Mct_HuNb42_A88P製劑比較 陽離子交換峰面積
陽離子交換峰面積 (mAU*s)
80000
70000
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
126%
220319
220204
批次號

(圖11A)

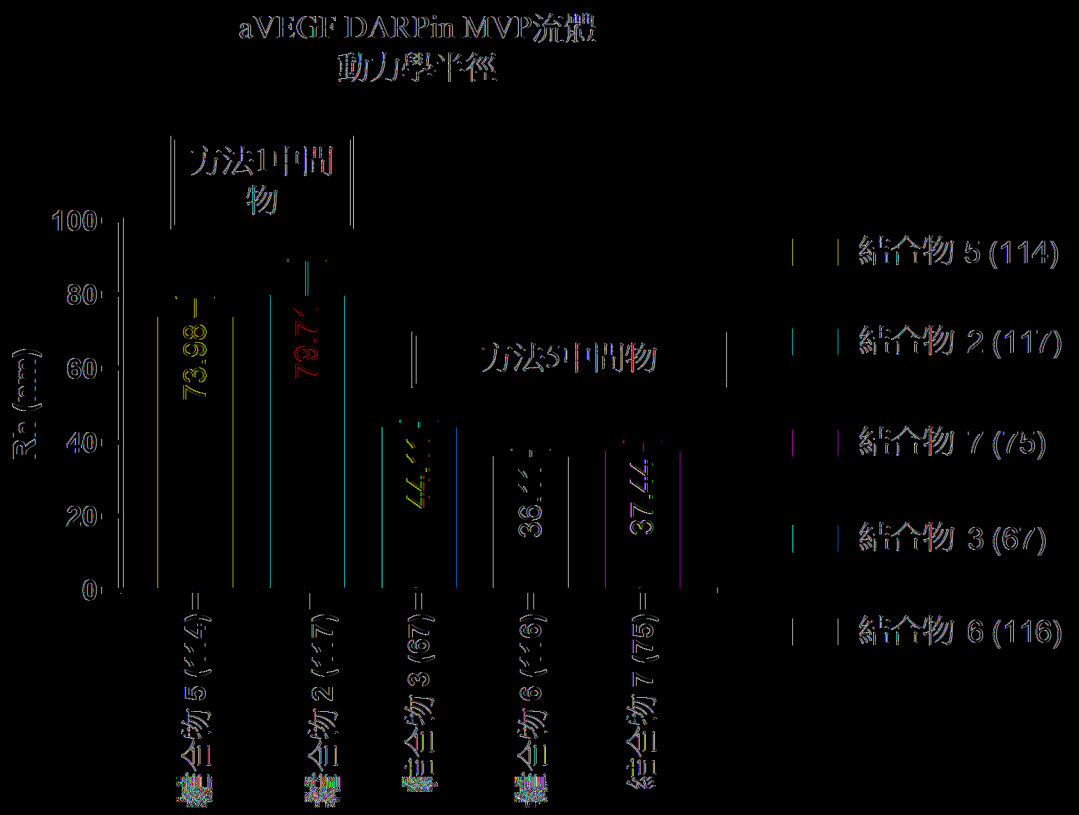


(圖11B)

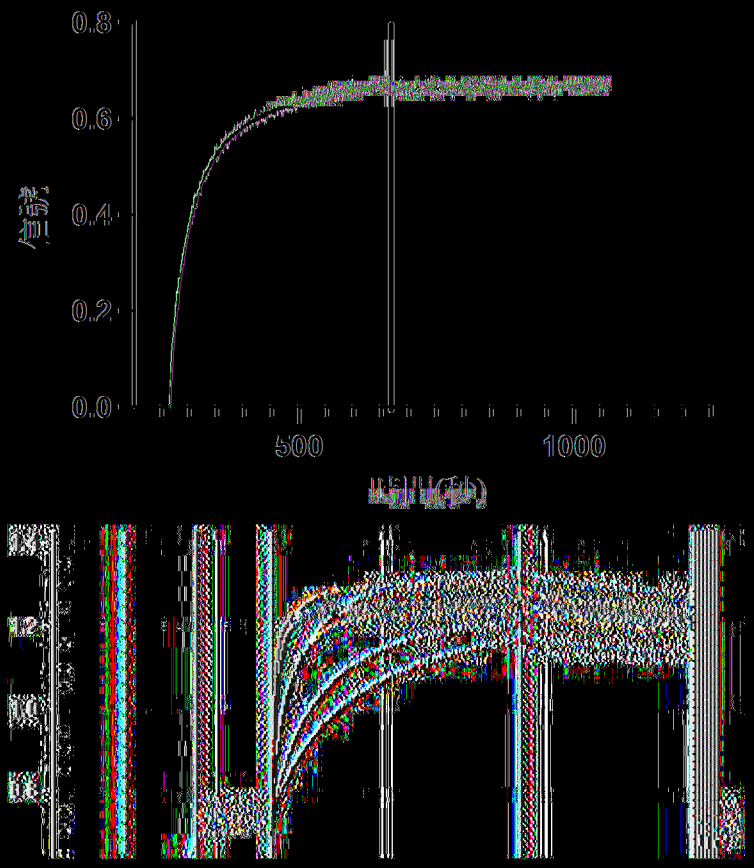
4.8% 30.0% 溶度測定值



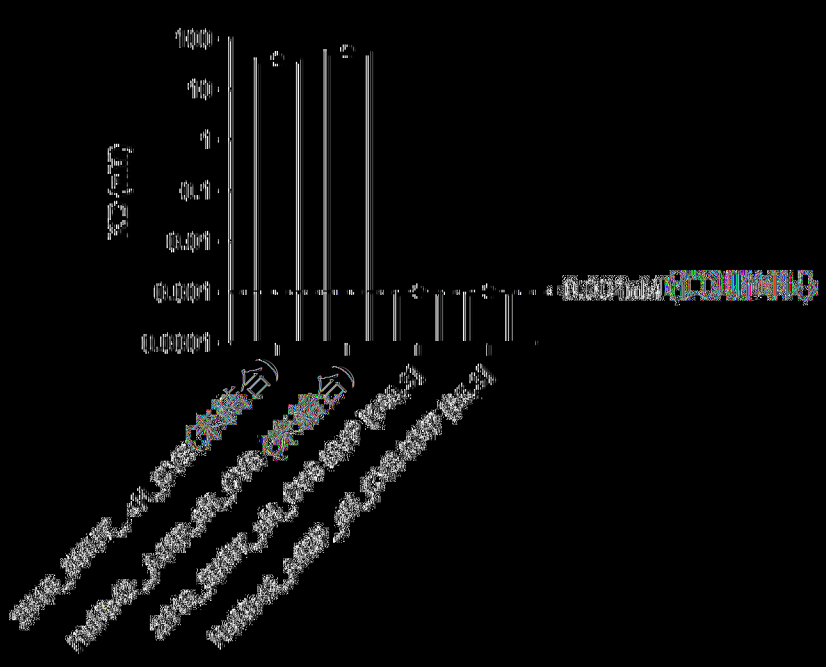
(圖11C)


aVEGF DARPin MVP流體
動力學半徑
方法1中間物
方法5中間物
Rh (nm)
0
20
40
60
80
100
7.38
7.87
4.77
3.91
3.74
結合物 5 (114)
結合物 2 (117)
結合物 7 (75)
結合物 3 (67)
結合物 6 (116)

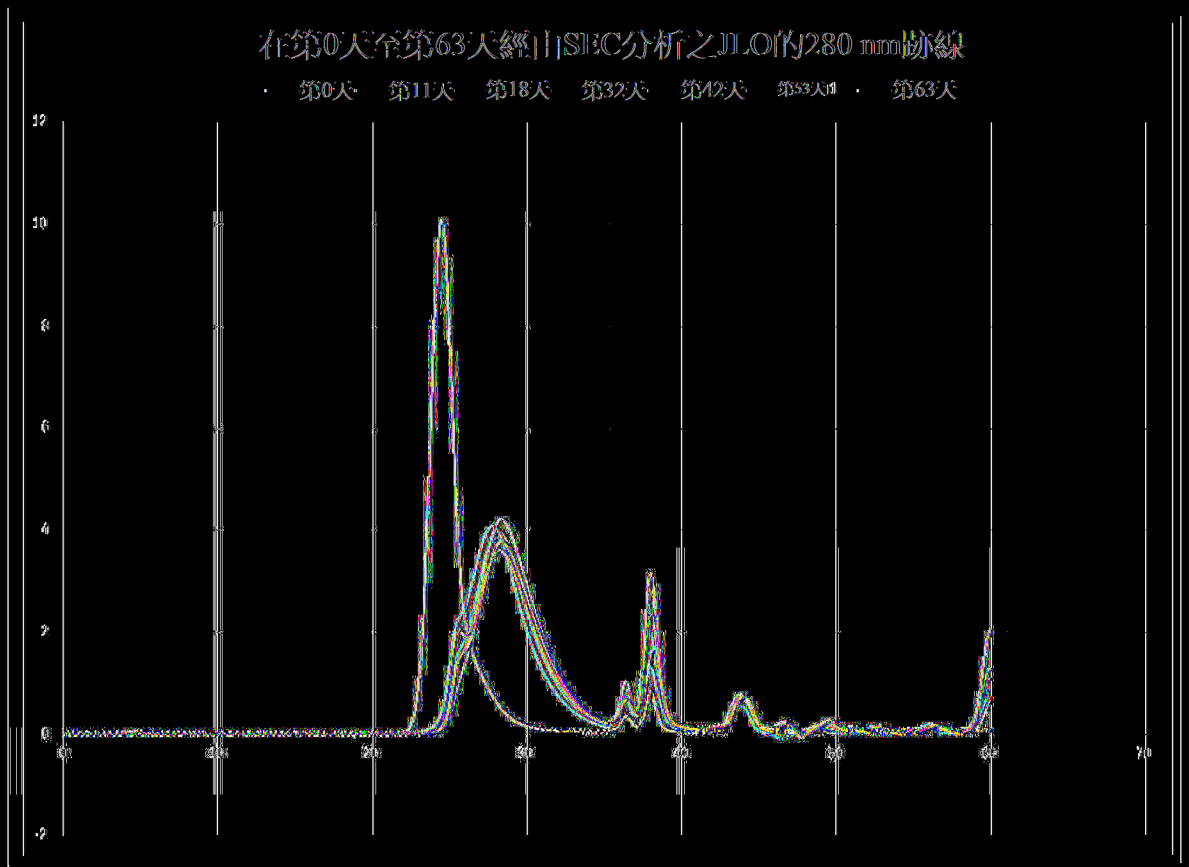
[圖12]

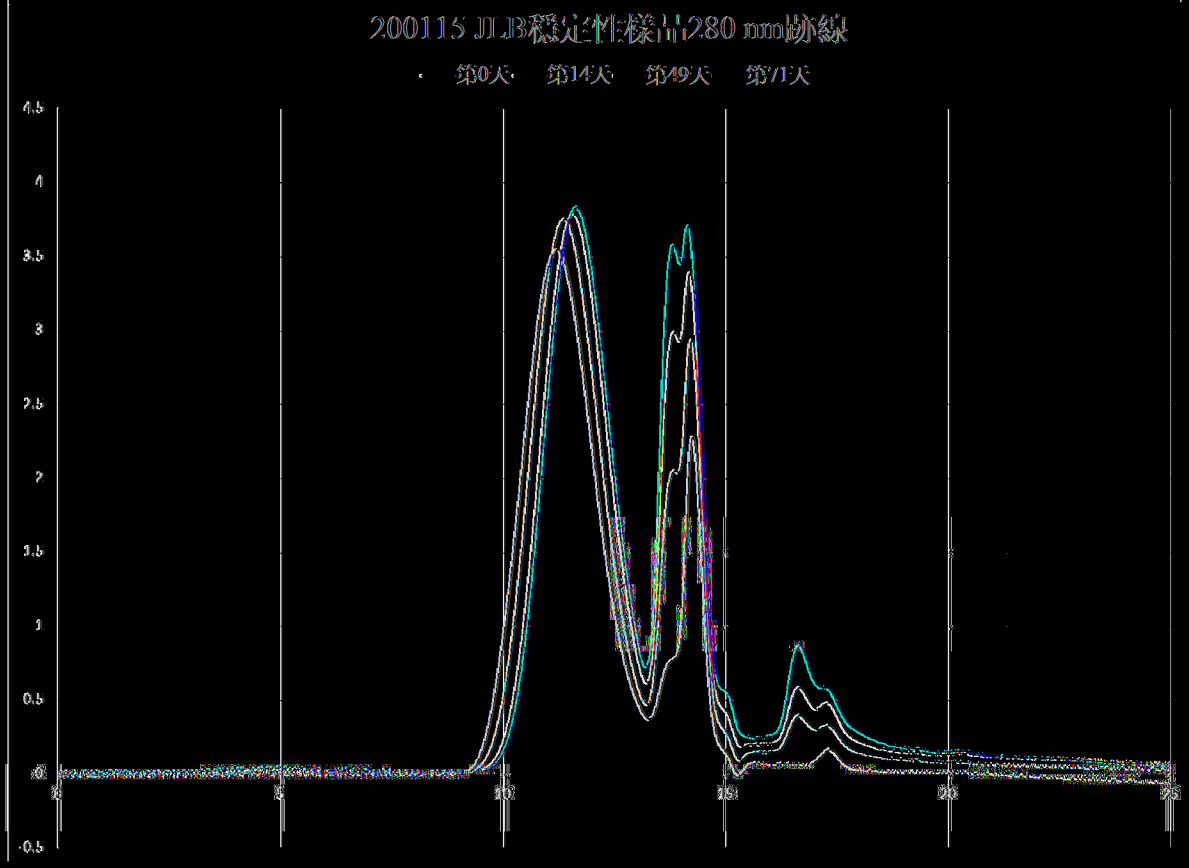


（圖13A）

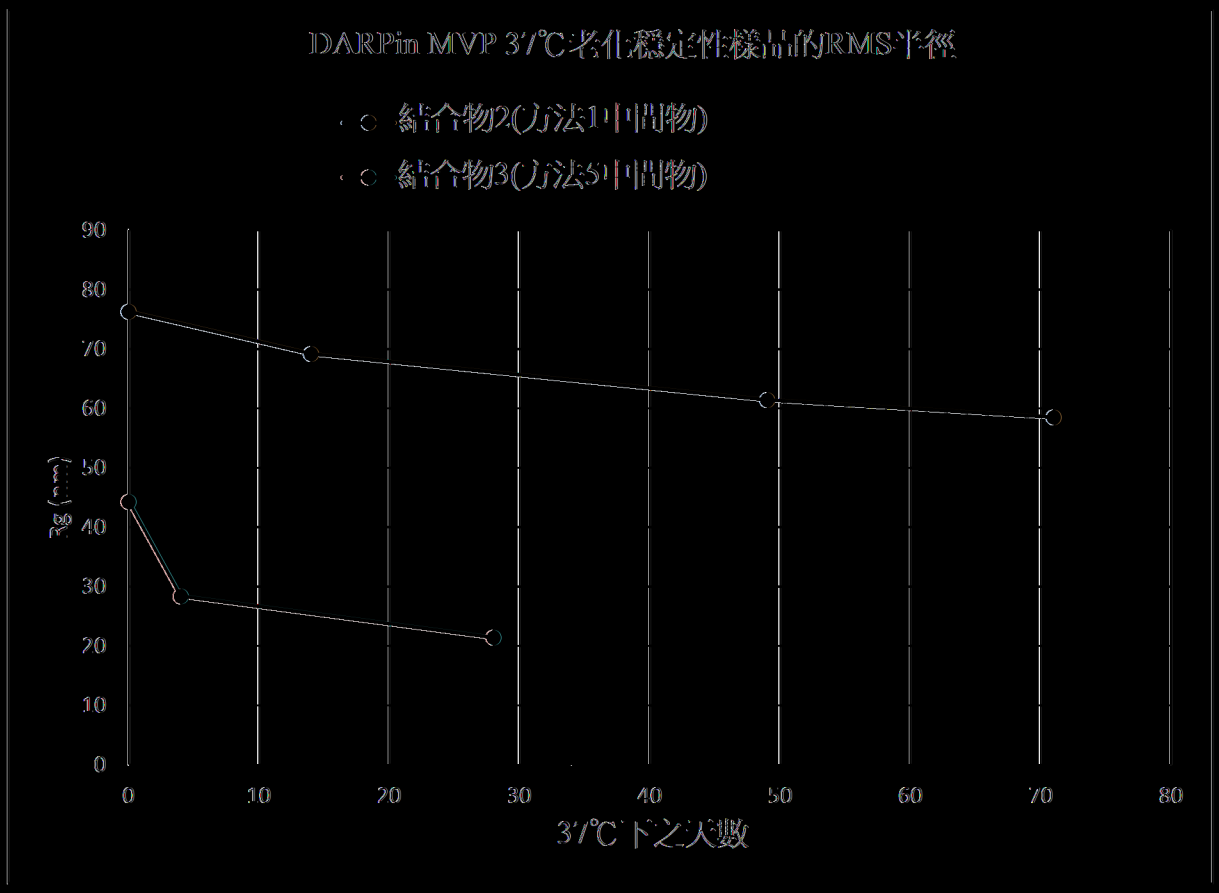


（圖13B）

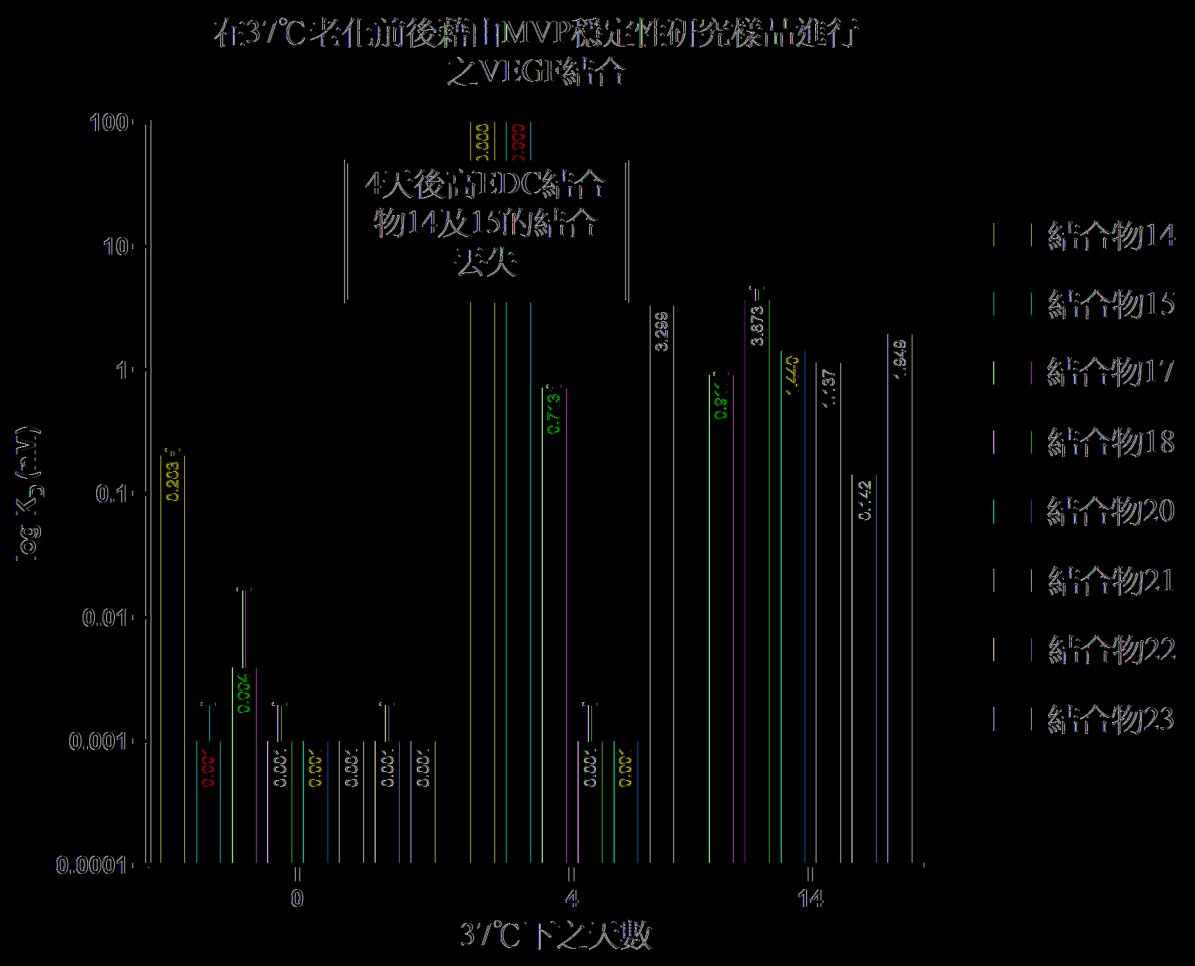

在第0天至第63天經由SEC分析之JLO的280 nm跡線
第0天
第11天
第18天
第32天
第42天
第53天
第63天
12
10
8
6
4
2
0
-2
0
10
20
30
40
50
60
70


200115 JLB穩定性樣品280 nm跡線
第0天
第14天
第49天
第71天
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
-0.5
0
5
10
15
20
25

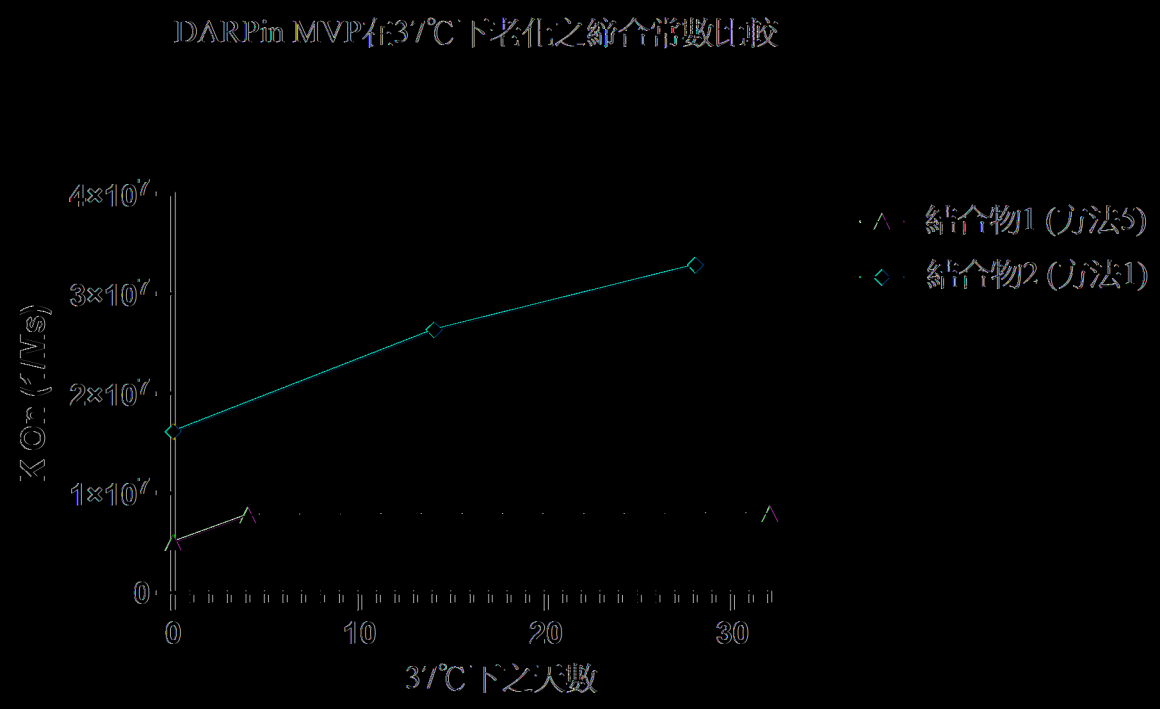
(圖14)


DARPin MVP 37℃老化穩定性樣品的RMS半徑
結合物2(方法1中間物)
結合物3(方法5中間物)
RMS (Å)
37℃下之天數
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90

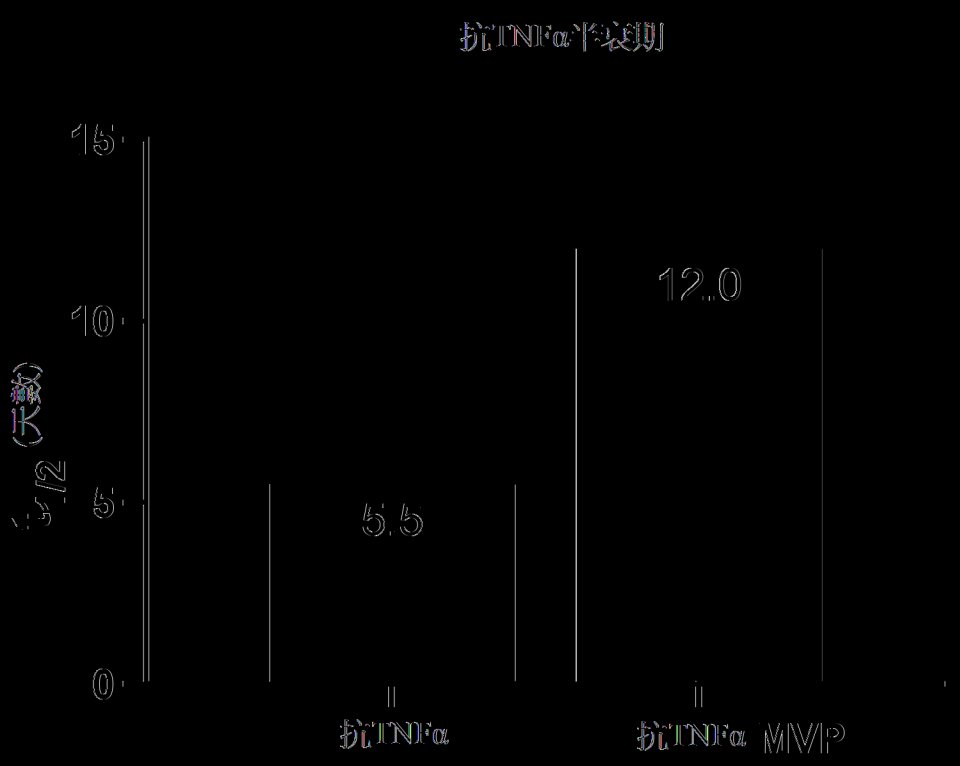
(圖15)


在37℃老化前後藉由MVP穩定性研究樣品進行之VEGF結合
4天後藉EDC結合物14及15的結合丟失
100
10
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
0
4
14
37℃下之天數
結合物14
結合物15
結合物17
結合物18
結合物20
結合物21
結合物22
結合物23

|(圖16)|


DARPin MVP在37℃下老化之締合常數比較
4×10^7
3×10^7
2×10^7
1×10^7
0
Ka (1/Ms)
0
10
20
30
37℃下之天數
結合物1 (方法5)
結合物2 (方法1)

|(圖17)|


抗TNFα半衰期
15
10
5
0
t 1/2 (小時)
5.5
12.0
抗TNFα
抗TNFα MVP

|(圖18)|