202519271

(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 202519271 A

(43)公開日： 中華民國 114 (2025) 年 05 月 16 日

(21)申請案號：113128578 (22)申請日： 中華民國 108 (2019) 年 12 月 12 日

(51)Int. Cl.： *A61K47/68 (2017.01)* *A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2018/12/13 美國 62/779,400

2018/12/13 美國 62/779,406

2019/11/27 美國 62/941,220

(71)申請人：日商衛材Ｒ＆Ｄ企管股份有限公司 (日本) EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD. (JP)

日本

(72)發明人：費許金　納森 FISHKIN, NATHAN (US)；薩馬拉孔　茲瓦卡 SAMARAKOON, THIWANKA (LK)；帕拉西諾　詹姆士 PALACINO, JAMES (US)；荒井謙三 ARAI, KENZO (JP)；小竹佳彥 KOTAKE, YOSHIHIKO (JP)；大久保真也 OKUBO, SHINYA (JP)；村井則夫 MURAI, NORIO (JP)；宮野正行 MIYANO, MASAYUKI (JP)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有　申請專利範圍項數：10 項　圖式數：2　　共 523 頁

(54)名稱

荷伯希二烯(herboxidiene)剪接調節抗體-藥物結合物及其使用方法

(57)摘要

本發明揭示結合至人類腫瘤學目標之連接子-藥物化合物及抗體-藥物結合物。該等連接子-藥物化合物及抗體-藥物結合物包含荷伯希二烯剪接調節藥物部分。本發明進一步關於用於藉由投與本文所提供之該等抗體-藥物結合物來治療贅生性病症之方法及組合物。

Linker-drug compounds and antibody-drug conjugates that bind to human oncology targets are disclosed. The linker-drug compounds and antibody-drug conjugates comprise a herboxidiene splicing modulator drug moiety. The disclosure further relates to methods and compositions for use in the treatment of neoplastic disorders by administering the antibody-drug conjugates provided herein.

2025177
2024H0H7H
專利案號：113128578
原申請案號：108145609

【發明摘要】

【中文發明名稱】

荷伯希二烯(herboxidiene)剪接調節抗體-藥物結合物及其使用方法

【英文發明名稱】

HERBOXIDIENE SPLICING MODULATOR ANTIBODY-DRUG CONJUGATES AND METHODS OF USE

【中文】

本發明揭示結合至人類腫瘤學目標之連接子-藥物化合物及抗體-藥物結合物。該等連接子-藥物化合物及抗體-藥物結合物包含荷伯希二烯剪接調節藥物部分。本發明進一步關於用於藉由投與本文所提供之該等抗體-藥物結合物來治療贅生性病症之方法及組合物。

【英文】

Linker-drug compounds and antibody-drug conjugates that bind to human oncology targets are disclosed. The linker-drug compounds and antibody-drug conjugates comprise a herboxidiene splicing modulator drug moiety. The disclosure further relates to methods and compositions for use in the treatment of neoplastic disorders by administering the antibody-drug conjugates provided herein.

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

荷伯希二烯(herboxidiene)剪接調節抗體-藥物結合物及其使用方法

【英文發明名稱】

HERBOXIDIENE SPLICING MODULATOR ANTIBODY-DRUG CONJUGATES AND METHODS OF USE

【技術領域】

【0001】本發明係關於包含荷伯希二烯(herboxidiene)剪接調節子及抗體或其抗原結合片段之抗體-藥物結合物(ADC)，例如結合人類腫瘤學抗原目標之抗體-藥物結合物。本發明進一步關於可用於治療或診斷表現目標抗原且/或適合於藉由RNA剪接破壞進行之治療之癌症的方法及組合物，以及製造彼等組合物之方法。

【先前技術】

【0002】人類基因組中之大部分蛋白質編碼基因係由藉由內含子(非編碼區)間隔開之多個外顯子(編碼區)構成。基因表現產生單一前驅體信使RNA (pre-mRNA)。隨後，藉由稱為剪接之方法自pre-mRNA移除內含子序列，產生成熟信使RNA (mRNA)。藉由包括不同外顯子組合，交替剪接產生編碼獨特蛋白質同功異型物之mRNA。

【0003】RNA剪接係藉由剪接體催化，該剪接體為由五個小核RNA (snRNA U1、U2、U4、U5及U6)及相關蛋白質構成之動態多蛋白質-RNA複合物。剪接體在pre-mRNA上組裝以建立催化內含子之切除及外顯子之接合之多個RNA及蛋白質相互作用的動態級聯(Matera及Wang (2014) Nat Rev Mol Cell Biol. 15(2):108-21)。愈來愈多的證據將人類疾病與影響許

多基因之RNA剪接中之調節異常聯繫起來(Scotti及Swanson (2016) Nat Rev Genet. 17(1):19-32)。

【0004】剪接體為癌症生物學中之重要目標。數項研究現已記錄癌細胞之剪接概況以及自身剪接因素中之大量更改(Agrawal等人(2018) Curr Opin Genet Dev. 48:67-74)。交替剪接可引起差異性外顯子包括/排除、內含子滯留或隱藏剪接位點使用(Seiler等人(2018) Cell Rep. 23(1):282-296)。總而言之，此等事件造成可能促成腫瘤形成或耐療法性之功能改變(Siegfried及Karni (2018) Curr Opin Genet Dev. 48:16-21)。

【0005】某些天然產物可結合SF3b剪接體複合物。此等小分子藉由促進內含子滯留及/或外顯子跳躍來調節剪接(Teng等人(2017) Nat Commun. 8:15522)。舉例而言，已顯示作為自鏈黴菌屬(*Streptomyces* sp.) A7847分離之天然存在之聚酮之荷伯希二烯(Isaac等人(1992) J. Org. Chem. 57:7220-26)及其衍生物調節剪接。參見例如Imaizumi等人(2017) J. Antibiot. 70:675-79。所得轉錄本之相當大一部分含有早熟終止密碼子，觸發無意義介導mRNA衰變(NMD)。此外，因為典型剪接受損，故典型轉錄本大幅減少，此可能不利地影響細胞功能及活力。出於此原因，剪接調節子已變為一類用於治療癌症之有前景之藥物(Puthenveetil等人(2016) Bioconjugate Chem. 27:1880-8)。

【0006】原癌基因人類表皮生長因子受體2 (*HER2*)編碼屬於人類表皮生長因子受體(EGFR)家族之跨膜酪胺酸激酶受體(King等人(1985) Science 229:974-6)。HER2之過度表現使得能夠組成性活化諸如PI3K-AKT-mTOR路徑之生長因子信號傳導路徑，且由此充當包括約20%侵襲性乳癌之數種類型之癌症中之致癌驅動因子(Slamon等人(1989) Science

244:707-12；Gajria及Chandarlapaty (2011) Expert Rev Anticancer Ther. 11:263-75)。鑒於HER2放大介導經轉型之表現型且因為HER2表現很大程度上限於惡性細胞，故HER2為用於靶向某些癌症且/或遞送新穎癌症治療之有前景之抗原(Parakh等人(2017) Cancer Treat Rev. 59:1-21)。用於靶向遞送癌症療法之額外抗原包括但不限於CD138 (亦稱為多配體蛋白聚糖-1)及蝶素A型受體2 (EPHA2)。

【0007】CD138為維持細胞形態及與周圍微環境之相互作用所必需之細胞表面硫酸乙醯肝素蛋白聚醣(Akl等人(2015) Oncotarget 6(30):28693-715；Szatmári等人(2015) Dis Markers 2015:796052)。一般而言，癌細胞中之CD138表現之損失減少對胞外基質之細胞黏附且增強細胞運動性及侵襲性(Teng等人(2012) Matrix Biol. 31:3-16)。經增加之基質CD138表現亦更改纖維結合蛋白產生及胞外基質組織(Yang等人(2011) Am J Pathol. 178:325-35)。另外，基質纖維母細胞中之經增加之CD138表現係與血管生成及癌症發展相關聯(Maeda等人(2006) Oncogene 25:1408-12)。CD138表現在B細胞發育期間增加，且其存在為漿細胞之標誌(Ribatti (2017) Immunol Lett. 188:64-7)。CD138表現在作為漿細胞惡性病之多發性骨髓瘤中得以維持。因此，CD138為用於靶向治療數種癌症及其他血液惡性病之引人注目之抗原(Sherbenou等人(2015) Blood Rev. 29(2):81-91；Wijdenes等人(1996) Br J Haematol. 94(2):318-23)。

【0008】EPHA2為在數種惡性癌症源性細胞株中以及在晚期癌症形式中充分地過度表現之跨膜醣蛋白(Wykosky及Debinski (2008) Mol Cancer Ref. 6(12):1795-1806)。舉例而言，EPHA2在約61% GBM患者腫瘤(Wykosky等人(2008) Clin Cancer Res. 14:199-208)、76%卵巢癌

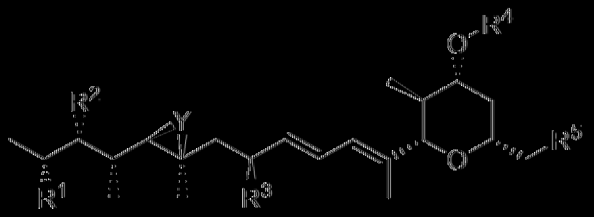
(Thaker等人(2004) Clin Cancer Res. 10:5145-50)及85%前列腺腺癌(Zeng等人(2003) Am J Pathol. 163:2271-6)中強烈地過度表現。EPHA2蛋白關於一定百分比之患者腫瘤及一定百分比之腫瘤內細胞而言高度地過度表現，且為可在配位體結合時內化之質膜定位受體(Walker-Daniels等人(2002) Mol Cancer Res. 1:79-87)。此外，EPHA2之表現與不良預後、轉移增加及存活率降低相關。因此，EPHA2因其表現模式、定位及癌症患者之結果中之功能重要性而為用於靶向遞送新穎抗癌療法的另一引人注目之抗原。

【發明內容】

【0009】在各種實施例中，本發明部分提供具有針對贅生性細胞之生物活性之新穎荷伯希二烯剪接調節子。荷伯希二烯剪接調節子可單獨或作為ADC之部分來使用以減緩、抑制及/或逆轉哺乳動物中之腫瘤生長，且可適用於治療人類癌症患者。在各種實施例中，本發明提供採用荷伯希二烯剪接調節子之新穎抗體-藥物結合物。

【0010】更具體言之，在各種實施例中，本發明係關於能夠結合且殺滅贅生性細胞之抗體-藥物結合物(ADC)化合物。在各種實施例中，本文所揭示之ADC化合物包含將荷伯希二烯剪接調節子連接至全長抗體或抗原結合片段之連接子。在各種實施例中，ADC化合物亦能夠在結合之後內化至目標細胞中。

【0011】在一些實施例中，抗體-藥物結合物為式(I)抗體-藥物結合物：Ab-(L-H)$_p$，其中Ab為靶向贅生性細胞之抗體或抗原結合片段；H為荷伯希二烯剪接調節子；L為將Ab共價連接至H之連接子；且p為1至15之整數。

[0012] 在一典實施例中，作為荷伯希二烯勞接調節子之II包含式(I)化合物：  (I)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

Y選自O、S、NR^6及CR^6R^7；

R^1、R^2及R^3各自獨立地選自氫、羥基、O-(C_1-C_6烷基)、O-C(=O)-(C_1-C_6烷基)、C(=O)-O-(C_1-C_6烷基)及C_1-C_6烷基；

R^4選自氫、C_1-C_6烷基、C(=O)-(C_1-C_6烷基)、C(=O)-(C_3-C_8碳環基)、C(=O)-(C_3-C_8雜環基)及C(=O)-NR^6R^7；

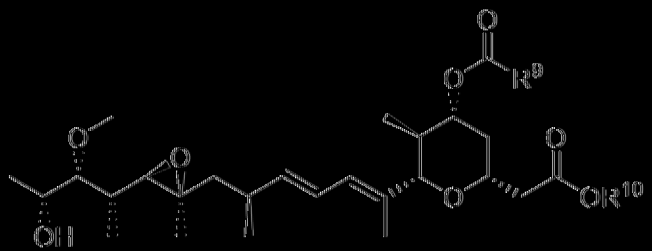
R^5選自氫、羥基、CH_2OH、CO_2H、C(=O)-O-(C_1-C_6烷基)、C(=O)-NR^6R^7、NR^6-C(=O)-R^8、O-C(=O)-NR^6R^7、NR^6-C(=O)-R^8及NR^6-C(=O)-NR^6R^7；

R^6及R^7各自獨立地選自氫、R^8、C(=O)-R^8及C(=O)-O-R^8；且

R^8選自C_1-C_6烷基、C_3-C_8碳環基及C_3-C_8雜環基，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7及R^8各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_6烷基、O-(C_1-C_6烷基)、CO_2H、C(=O)-(C_1-C_6烷基)、C(=O)-(C_3-C_8碳環基)、C(=O)-(C_3-C_8雜環基)、NR^6R^7、C_3-C_8碳環基、C_1-C_6烷基羥基、C_1-C_6烷基烷氧基、下基及C_3-C_8雜環基，其中之各者可獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、C_1-C_3鹵烷基、NH-C(=O)-(C_1-C_3烷基)及NH-C(=O)-O-(C_1-C_3烷基)，且

其中共價連接至L之原子之價數未超出。

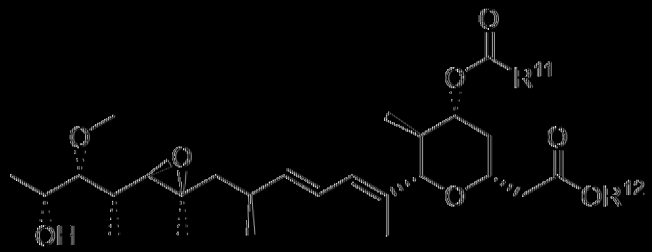
[0013] 在一典實施例中，作為荷伯希二烯勇接調節子之II包含式(Ia)化合物：  (Ia)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

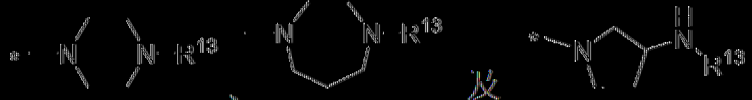
R^9選自C_3-C_8雜環基；

R^{10}選自II及C_1-C_6烷基，

其中R^9及R^{10}各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、$-NH_2$、$-NH$-(C_1-C_3烷基)及$-N$-(C_1-C_3烷基)$_2$，且

其中共價連接至L之原子之價數未超出。

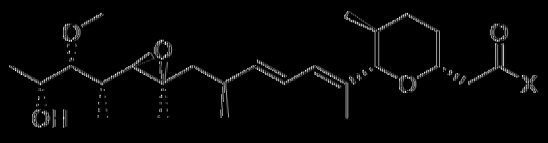
[0014] 在一典實施例中，作為荷伯希二烯勇接調節子之II包含式(Ib)化合物：  (Ib)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

R^{11}選自  ，其中*指示R^{11}與該化合物之其餘部分之連接點；

R^{12}及R^{13}各自獨立地選自II及甲基；且

其中共價連接至L之原子之價數未超出。

[0015] 在一典實施例中，作為荷伯希二烯勇接調節子之II包含式

(II)化合物：  (II)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

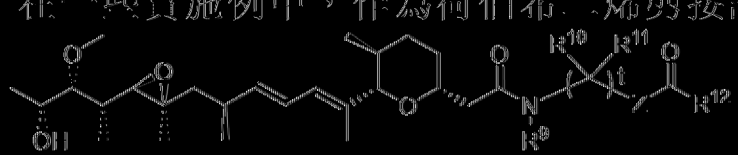
X為羥基或NR^6R^7；

R^6及R^7各自獨立地選自氫、R^8、$C(=O)R^8$、$C(=O)OR^8$、$(C_1$-C_6烷基$)OC(=O)R^8$及$(C_1$-C_6烷基$)NHC(=O)R^8$；且

R^8選自C_1-C_6烷基、C_3-C_8碳環基及C_3-C_8雜環基，

其中R^6、R^7及R^8各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_6烷基、$O(C_1$-C_6烷基$)$、CO_2H、$C(=O)O(C_1$-C_6烷基$)$、$C(=O)(C_1$-C_6烷基$)$、$C(=O)(C_3$-C_8碳環基$)$、$C(=O)(C_3$-C_8雜環基$)$、NR^6R^7、C_3-C_8碳環基、C_1-C_6烷基羥基、C_1-C_6烷基烷氧基、下基及C_3-C_8雜環基，其中之各者可獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、C_1-C_3鹵烷基、$NHC(=O)(C_1$-C_3烷基$)$及$NHC(=O)O(C_1$-C_3烷基$)$，且

其中共價連接至L之原子之價數未超出。

[0016] 在一典實施例中，作為荷伯希二烯勇接調節子之II包含式(IIa)化合物：  (IIa)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

Z選自NR^9及O；

R^9選自氫及C_1-C_6烷基；

R^{10}及R^{11}各自獨立地選自氫、鹵素、羥基、C_1-C_6烷基、$O(C_1$-C_6烷基$)$、CO_2H、$C(=O)O(C_1$-C_6烷　基$)$、$C(=O)(C_1$-C_6烷　基$)$、$C(=O)$

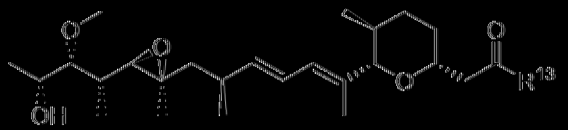
(C3-C8碳環基)、-C(=O)-(C3-C8雜環基)、C3-C8碳環基、C1-C6烷基羥基、C1-C6烷基烷氧基、羥基及C3-C8雜環基；

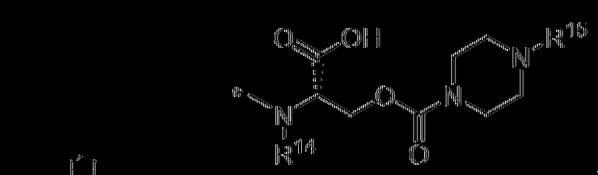
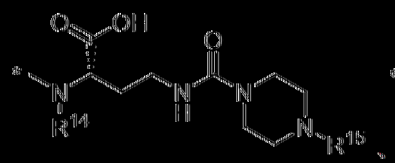
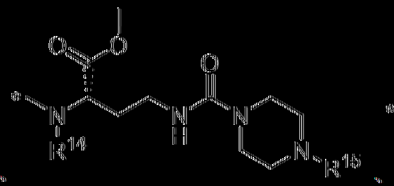
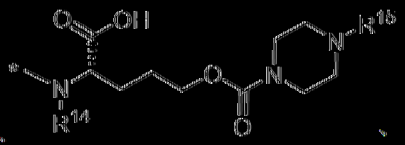
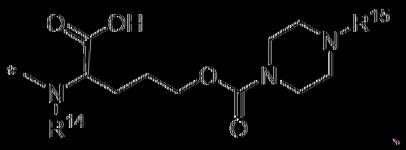
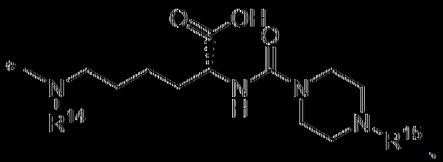
R^{12}選自C1-C6烷基、C3-C8碳環基、C3-C8雜環基，

其中R^{9}、R^{10}、R^{11}及R^{12}各自獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C1-C3烷基、C1-C3烷氧基及C1-C3鹵烷基；

t為選自1、2、3、4、5及6之整數；且

其中共價連接至L之原子之價數未超出。

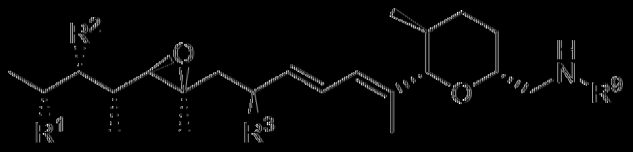
[0017] 在一典型實施例中，作為荷伯希二烯剪接調節子之II包含式(IIb)化合物：  (IIb)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

R^{13}選自  、  、  、  、  、  、  、  、  及  ，其中*指示R^{13}與

該化合物之其餘部分之連接點；

R^{14}及R^{15}各自獨立地選自氫及甲基；且

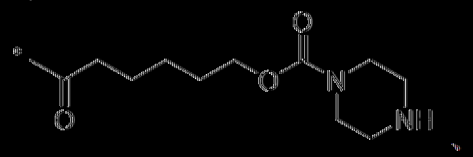
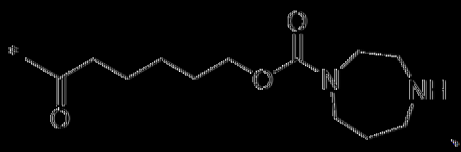
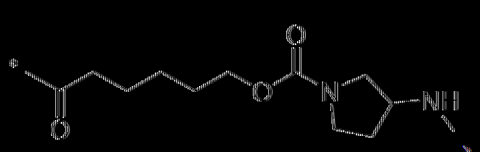
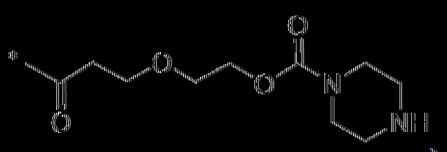
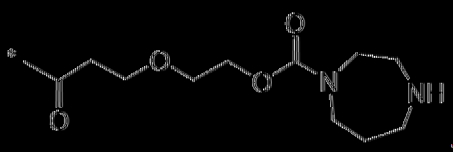
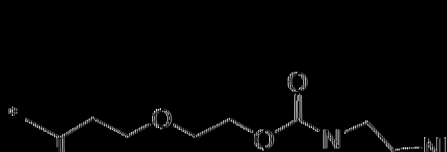
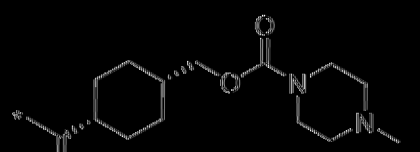
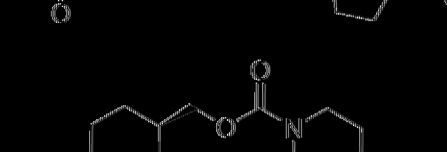
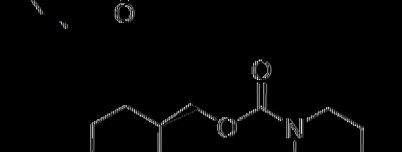
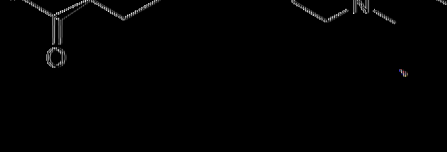
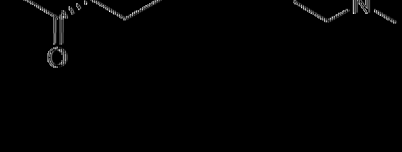
其中共價連接至L之原子之價數未超出。

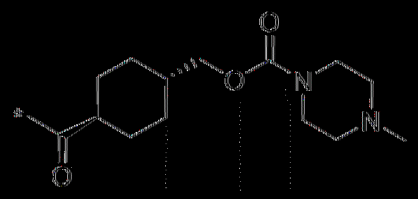
[0018] 在一典實施例中，作為荷伯希二烯剪接調節子之雜包含式(III)化合物：  (III)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

R^1、R^2及R^3各自獨立地選自氫、羥基、-O-(C_1-C_6烷基)、-O-C(=O)-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-O-(C_1-C_6烷基)及C_1-C_6烷基；

R^6及R^7各自獨立地選自氫、R^8、-C(=O)-R^8及-C(=O)-O-R^8；

R^8選自C_1-C_6烷基、C_3-C_8碳環基及C_3-C_8雜環基；且

R^9選自  、  、  、  、  、  、  、  、  及  、  及



；

其中R^1、R^2、R^3、R^6、R^7及R^8各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_6烷基、-O-(C_1-C_6烷基)、$-CO_2H$、-C(=O)-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-(C_3-C_8碳環基)、-C(=O)-(C_3-C_8雜環基)、$-NR^6R^7$、C_3-C_8碳環基、C_1-C_6烷基羥基、C_1-C_6烷基烷氧基、苄基及C_3-C_8雜環基，其中之各者可獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、C_1-C_3鹵烷基、-NH-C(=O)(C_1-C_3烷基)及-NH-C(=O)-O-(C_1-C_3烷基)，

其中共價連接至L之原子之價數未超出；且

其中*指示R^9與該化合物之其餘部分之連接點。

[0019] 在一些實施例中，連接子包含可裂解肽部分。在一些實施例中，可裂解肽部分可藉由酶裂解。在一些實施例中，可裂解肽部分或連接子包含胺基酸單元。在一些實施例中，胺基酸單元包含纈胺酸-瓜胺酸(「Val-Cit」或「VC」)。在一些其他實施例中，胺基酸單元包含纈胺酸-丙胺酸(「Val-Ala」或「VA」)。在一些其他實施例中，胺基酸單元包含麩胺酸-纈胺酸-瓜胺酸(「Glu-Val-Cit」或「EVC」)。在一些其他實施例中，胺基酸單元包含丙胺酸-丙胺酸-天冬醯胺酸(「Ala-Ala-Asn」或「AAN」)。

[0020] 在一些實施例中，連接子包含可裂解葡萄糖醛酸部分。在一些實施例中，可裂解葡萄糖醛酸部分可藉由酶裂解。在一些實施例中，可裂解葡萄糖醛酸部分可藉由葡萄糖醛酸酶裂解。在一些實施例中，可裂解葡萄糖醛酸部分可藉由β-葡萄糖醛酸酶裂解。

【0021】在一些實施例中，連接子包含至少一個間隔子單元。在一些實施例中，間隔子單元或連接子包含聚乙二醇(PEG)部分。在一些實施例中，PEG部分包含-$(PEG)_m$-且m為1至10之整數。在一些實施例中，m為2。在一些其他實施例中，間隔子單元或連接子包含烷基部分。在一些實施例中，烷基部分包含-$(CH_2)_n$-且n為1至10之整數。在一些實施例中，n為2。在一些實施例中，n為5。在一些實施例中，n為6。

【0022】在一些實施例中，間隔子單元經由順丁烯二醯亞胺(Mal)部分(「Mal-間隔子單元」)連接至抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，Mal-間隔子單元可與抗體或抗原結合片段上之半胱胺酸殘基反應。在一些實施例中，Mal-間隔子單元經由抗體或抗原結合片段上之半胱胺酸殘基接合至抗體或抗原結合片段。

【0023】在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元及可裂解肽部分。在一些實施例中，可裂解肽部分包含胺基酸單元。在一些實施例中，可裂解肽部分或胺基酸單元包含Val-Cit。在一些實施例中，可裂解肽部分或胺基酸單元包含Val-Ala。在一些實施例中，可裂解肽部分或胺基酸單元包含Glu-Val-Cit。在一些實施例中，可裂解肽部分或胺基酸單元包含Ala-Ala-Asn。在一些實施例中，Mal-間隔子單元包含烷基部分。在一些實施例中，Mal-間隔子單元包含PEG部分。在一些實施例中，Mal-間隔子單元包含順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)。

【0024】在一些實施例中，Mal-間隔子單元將抗體或抗原結合片段連接至連接子中之可裂解部分。在一些實施例中，連接子中之可裂解部分包含可裂解肽部分。在一些實施例中，可裂解肽部分包含胺基酸單元。在一些實施例中，可裂解肽部分或胺基酸單元包含Val-Cit、Val-Ala、Glu-

Val-Cit或Ala-Ala-Asn。在一些實施例中，連接子包含MC-Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含MC-Val-Ala。在一些實施例中，連接子包含MC-Glu-Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含MC-Ala-Ala-Asn。在一些實施例中，Mal-間隔子單元包含烷基部分。在一些實施例中，Mal-間隔子單元包含PEG部分。在一些實施例中，Mal-間隔子單元包含順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)。

【0025】在一些實施例中，連接子中之可裂解部分直接地接合至荷伯希二烯剪接調節子，或間隔子單元將連接子中之可裂解部分連接至荷伯希二烯剪接調節子。在一些實施例中，結合物之裂解自抗體或抗原結合片段及連接子釋放荷伯希二烯剪接調節子。在一些實施例中，將連接子中之可裂解部分連接至荷伯希二烯剪接調節子之間隔子單元為自我分解型間隔子單元。

【0026】在一些實施例中，將連接子中之可裂解部分連接至荷伯希二烯剪接調節子之間隔子單元包含對胺基苯甲氧基羰基(pABC)。在一些實施例中，pABC將連接子中之可裂解部分連接至荷伯希二烯剪接調節子。在一些實施例中，連接子中之可裂解部分包含可裂解肽部分。在一些實施例中，可裂解肽部分包含胺基酸單元。在一些實施例中，可裂解肽部分或胺基酸單元包含Val-Cit、Val-Ala、Glu-Val-Cit或Ala-Ala-Asn。在一些實施例中，連接子包含Val-Cit-pABC。在一些其他實施例中，連接子包含Val-Ala-pABC。在一些實施例中，連接子包含Glu-Val-Cit-pABC。在一些實施例中，連接子包含Ala-Ala-Asn-pABC。

【0027】在一些實施例中，將連接子中之可裂解部分連接至荷伯希二烯剪接調節子之間隔子單元包含對胺基苯甲基(pAB)。在一些實施例

中，pAB將連接子中之可裂解部分連接至荷伯希二烯剪接調節子。在一些實施例中，連接子中之可裂解部分包含可裂解肽部分。在一些實施例中，可裂解肽部分包含胺基酸單元。在一些實施例中，可裂解肽部分或胺基酸單元包含Val-Cit、Val-Ala、Glu-Val-Cit或Ala-Ala-Asn。在一些實施例中，連接子包含Val-Cit-pAB。在一些其他實施例中，連接子包含Val-Ala-pAB。在一些其他實施例中，連接子包含Glu-Val-Cit-pAB。在一些其他實施例中，連接子包含Ala-Ala-Asn-pAB。

【0028】在各種實施例中，連接子為不可裂解連接子。在一些實施例中，ADC之荷伯希二烯剪接調節子係藉由降解抗體或抗原結合片段來釋放。在一些實施例中，在藉由目標細胞內化且在目標細胞內降解後，連接子與抗體及藥物之至少一個胺基酸保持共價締合。

【0029】在一些實施例中，連接子為包含至少一個間隔子單元之不可裂解連接子。在一些實施例中，間隔子單元或連接子包含聚乙二醇(PEG)部分。在一些實施例中，PEG部分包含-$(PEG)_m$-且m為1至10之整數。在一些實施例中，m為2。在一些其他實施例中，間隔子單元或連接子包含烷基部分。在一些實施例中，烷基部分包含-$(CH_2)_n$-或-$(CH_2)_n$-O-$(CH_2)_n$且n為1至10之整數。在一些實施例中，n為2。在一些實施例中，n為5。在一些實施例中，n為6。

【0030】在一些實施例中，不可裂解連接子中之間隔子單元經由順丁烯二醯亞胺(Mal)部分(「Mal-間隔子單元」)連接至抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，Mal-間隔子單元可與抗體或抗原結合片段上之半胱胺酸殘基反應。在一些實施例中，Mal-間隔子單元經由抗體或抗原結合片段上之半胱胺酸殘基接合至抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，Mal-

間隔子單元包含烷基部分。在一些實施例中，Mal-間隔子單元包含PEG部分。在一些實施例中，連接子或Mal-間隔子單元包含順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)。在一些實施例中，連接子或Mal-間隔子單元包含順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)及至少一個額外間隔子單元。在一些實施例中，連接子或Mal-間隔子單元包含MC-$(PEG)_2$。在一些實施例中，連接子或Mal-間隔子單元包含MC-$(PEG)_2$及至少一個額外間隔子單元。在一些實施例中，連接子或Mal-間隔子單元包含Mal-Hex。在一些實施例中，連接子或Mal-間隔子單元包含Mal-Hex及至少一個額外間隔子單元。在一些實施例中，連接子或Mal-間隔子單元包含Mal-Et。在一些實施例中，連接子或Mal-間隔子單元包含Mal-Et及至少一個額外間隔子單元。在一些實施例中，連接子或Mal-間隔子單元包含Mal-Et-O-Et。在一些實施例中，連接子或Mal-間隔子單元包含Mal-Et-O-Et及至少一個額外間隔子單元。在一些實施例中，Mal-間隔子單元將抗體或抗原結合片段連接至荷伯希二烯剪接調節子。

【0031】在一些實施例中，Ab選自本文所揭示之抗體或結合域序列中之任一個。在一些實施例中，Ab為靶向表現HER2及/或HER2之贅生性細胞之抗體或結合域序列。在一些實施例中，Ab為靶向表現CD138及/或CD138之贅生性細胞之抗體或結合域序列。在一些實施例中，Ab為靶向表現EPHA2及/或EPHA2之贅生性細胞之抗體或結合域序列。在一些實施例中，Ab為靶向表現MSLN及/或MSLN之贅生性細胞之抗體或結合域序列。在一些實施例中，Ab為靶向表現FOLH1及/或FOLH1之贅生性細胞之抗體或結合域序列。在一些實施例中，Ab為靶向表現CDH6及/或CDH6之贅生性細胞之抗體或結合域序列。在一些實施例中，Ab為靶向表現

CEACAM5及/或CEACAM5之贅生性細胞之抗體或結合域序列。在一些實施例中，Ab為靶向表現CFC1B及/或CFC1B之贅生性細胞之抗體或結合域序列。在一些實施例中，Ab為靶向表現ENPP3及/或ENPP3之贅生性細胞之抗體或結合域序列。在一些實施例中，Ab為靶向表現FOLR1及/或FOLR1之贅生性細胞之抗體或結合域序列。在一些實施例中，Ab為靶向表現HAVCR1及/或HAVCR1之贅生性細胞之抗體或結合域序列。在一些實施例中，Ab為靶向表現KIT及/或KIT之贅生性細胞之抗體或結合域序列。在一些實施例中，Ab為靶向表現MET及/或MET之贅生性細胞之抗體或結合域序列。在一些實施例中，Ab為靶向表現MUC16及/或MUC16之贅生性細胞之抗體或結合域序列。在一些實施例中，Ab為靶向表現SLC39A6及/或SLC39A6之贅生性細胞之抗體或結合域序列。在一些實施例中，Ab為靶向表現SLC44A4及/或SLC44A4之贅生性細胞之抗體或結合域序列。在一些實施例中，Ab為靶向表現STEAP1及/或STEAP1之贅生性細胞之抗體或結合域序列。在一些實施例中，Ab為靶向另一癌症抗原之抗體或結合域序列。

【0032】在一些實施例中，L選自本文所揭示之連接子中之任一種或本文所揭示之連接子組分之任何組合。在一些實施例中，L為包含MC-Val-Cit-pABC、Mal-$(PEG)_2$-CO、MC-Val-Ala-pAB、MC-Val-Ala-pABC、MC-Val-Cit-pAB、Mal-Hex、Mal-Et或Mal-Et-O-Et之連接子。在一些實施例中，連接子亦可包含一或多個額外間隔子單元。在一些實施例中，L為ADL1、ADL2、ADL5、ADL6、ADL7、ADL10、ADL12、ADL13、ADL14、ADL15、ADL21、ADL22或ADL23連接子。在一些實施例中，L為ADL1、ADL2、ADL5、ADL6、ADL7、ADL12、

ADL13、ADL14、ADL15、ADL21或ADL23連接子。在一些實施例中，L為ADL12、ADL14或ADL15連接子。在一些實施例中，ADL1、ADL2、ADL5、ADL6、ADL7、ADL12、ADL13、ADL14、ADL15、ADL21或ADL23連接子亦可包含一或多個額外間隔子單元。在一些實施例中，L為ADL1連接子且可視情況包含一或多個額外間隔子單元。在一些實施例中，L為ADL2連接子且可視情況包含一或多個額外間隔子單元。在一些實施例中，L為ADL5連接子且可視情況包含一或多個額外間隔子單元。在一些實施例中，L為ADL6連接子且可視情況包含一或多個額外間隔子單元。在一些實施例中，L為ADL7連接子且可視情況包含一或多個額外間隔子單元。在一些實施例中，L為ADL12連接子且可視情況包含一或多個額外間隔子單元。在一些實施例中，L為ADL14連接子且可視情況包含一或多個額外間隔子單元。在一些實施例中，L為ADL15連接子且可視情況包含一或多個額外間隔子單元。在本文所描述之ADC之各種實施例中，*p*為1至10。在各種實施例中，*p*為2至8。在各種實施例中，*p*為4至8。在一些實施例中，*p*為4。在一些實施例中，*p*為8。

【0033】在一些實施例中，提供一組ADC，由此發生隨機結合，且該組中之平均*p*介於約2與約8之間。在一些實施例中，提供一組ADC，由此發生隨機結合，且該組中之平均*p*介於約4與約8之間。在一些實施例中，提供一組ADC，由此發生隨機結合，且該組中之平均*p*為約4。在一些實施例中，提供一組ADC，由此發生隨機結合，且該組中之平均*p*為約8。本文提供包含所描述之ADC中之任一種之多個複本之組合物(例如醫藥組合物)，其中組合物中之ADC之平均藥物負載(平均*p*)為約3.5至約5.5(例如約4)或約7至約9 (例如約8)。

【0034】在一些實施例中，ADC之抗體或抗原結合片段(Ab)靶向來源於血液惡性病或實體腫瘤之贅生性細胞。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段靶向來源於血液惡性病之贅生性細胞。在一些實施例中，血液惡性病選自B細胞惡性病、白血病(例如急性骨髓性白血病)、淋巴瘤及骨髓瘤(例如多發性骨髓瘤)。在一些實施例中，血液惡性病選自急性骨髓性白血病及多發性骨髓瘤。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段靶向來源於實體腫瘤之贅生性細胞。在一些實施例中，實體腫瘤選自乳癌(例如HER2陽性乳癌)、胃癌(例如胃腺癌)、前列腺癌、卵巢癌、肺癌(例如肺腺癌)、子宮癌(例如子宮漿液性子宮內膜癌)、唾腺管癌、黑色素瘤、大腸癌、子宮頸癌、胰臟癌、腎癌、大腸直腸癌及食道癌。在一些實施例中，實體腫瘤選自HER2陽性乳癌、胃腺癌、前列腺癌及骨肉瘤。

【0035】在各種實施例中，ADC之抗體或抗原結合片段(Ab)為抗HER2抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段結合至HER2且靶向表現HER2之贅生性細胞(亦即ADC靶向表現HER2之贅生性細胞)。在一些實施例中，ADC之抗體或抗原結合片段為內化性抗HER2抗體或其內化性抗原結合片段。

【0036】在一些實施例中，抗HER2抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:1 (HCDR1)、SEQ ID NO:2 (HCDR2)及SEQ ID NO:3 (HCDR3)之胺基酸序列之三個重鏈互補決定區(HCDR1、HCDR2及HCDR3)；及包含SEQ ID NO:4 (LCDR1)、SEQ ID NO:5 (LCDR2)及SEQ ID NO:6 (LCDR3)之胺基酸序列之三個輕鏈互補決定區(LCDR1、LCDR2及LCDR3)。在一些實施例中，抗HER2抗體或抗原結合片段為內化性抗體或內化性抗原結合片段。在一些實施例中，抗HER2抗體或抗原

結合片段包含人類構架序列。在一些實施例中，抗HER2抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:19之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:20之胺基酸序列之輕鏈可變區。在一些實施例中，抗HER2抗體或抗原結合片段包含人類IgG重鏈恆定區。在一些實施例中，抗HER2抗體或抗原結合片段包含人類IgG1重鏈恆定區。在一些實施例中，抗HER2抗體或抗原結合片段包含人類Ig κ或λ輕鏈恆定區。在一些實施例中，抗HER2抗體或抗原結合片段與包含SEQ ID NO:19之重鏈可變域及SEQ ID NO:20之輕鏈可變域之抗體競爭結合相同抗原決定基及/或結合相同抗原決定基。

【0037】在各種實施例中，ADC之抗體或抗原結合片段(Ab)為抗CD138抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段結合至CD138且靶向表現CD138之贅生性細胞(亦即ADC靶向表現CD138之贅生性細胞)。在一些實施例中，ADC之抗體或抗原結合片段為內化性抗CD138抗體或其內化性抗原結合片段。

【0038】在一些實施例中，抗CD138抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:7 (HCDR1)、SEQ ID NO:8 (HCDR2)及SEQ ID NO:9 (HCDR3)之胺基酸序列之三個重鏈互補決定區(HCDR1、HCDR2及HCDR3)；及包含SEQ ID NO:10 (LCDR1)、SEQ ID NO:11 (LCDR2)及SEQ ID NO:12 (LCDR3)之胺基酸序列之三個輕鏈互補決定區(LCDR1、LCDR2及LCDR3)。在一些實施例中，抗CD138抗體或抗原結合片段為內化性抗體或內化性抗原結合片段。在一些實施例中，抗CD138抗體或抗原結合片段包含人類構架序列。在一些實施例中，抗CD138抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:21之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID

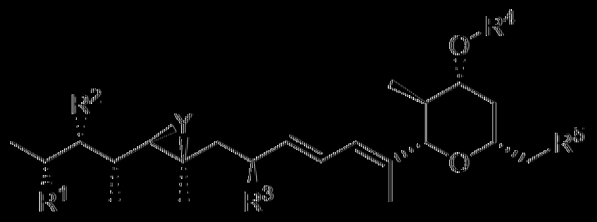
NO:22之胺基酸序列之輕鏈可變區。在一些實施例中，抗CD138抗體或抗原結合片段包含鼠IgG2a重鏈恆定區。在一些實施例中，抗CD138抗體或抗原結合片段包含鼠Ig κ輕鏈恆定區。在一些實施例中，抗CD138抗體或抗原結合片段包含人類IgG重鏈恆定區。在一些實施例中，抗CD138抗體或抗原結合片段包含人類IgG2a重鏈恆定區。在一些實施例中，抗CD138抗體或抗原結合片段包含人類Ig κ或λ輕鏈恆定區。在一些實施例中，抗CD138抗體或抗原結合片段與包含SEQ ID NO:21之重鏈可變域及SEQ ID NO:22之輕鏈可變域之抗體競爭結合相同抗原決定基及/或結合相同抗原決定基。

【0039】在各種實施例中，ADC之抗體或抗原結合片段(Ab)為抗EPHA2抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段結合至EPHA2且靶向表現EPHA2之贅生性細胞(亦即ADC靶向表現EPHA2之贅生性細胞)。在一些實施例中，ADC之抗體或抗原結合片段為內化性抗EPHA2抗體或其內化性抗原結合片段。

【0040】在一些實施例中，抗EPHA2抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:13 (HCDR1)、SEQ ID NO:14 (HCDR2)及SEQ ID NO:15 (HCDR3)之胺基酸序列之三個重鏈互補決定區(HCDR1、HCDR2及HCDR3)；及包含SEQ ID NO:16 (LCDR1)、SEQ ID NO:17 (LCDR2)及SEQ ID NO:18 (LCDR3)之胺基酸序列之三個輕鏈互補決定區(LCDR1、LCDR2及LCDR3)。在一些實施例中，抗EPHA2抗體或抗原結合片段為內化性抗體或內化性抗原結合片段。在一些實施例中，抗EPHA2抗體或抗原結合片段包含人類構架序列。在一些實施例中，抗EPHA2抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:23之胺基酸序列之重鏈可變區及包含

SEQ ID NO:24之胺基酸序列之輕鏈可變區。在一典實施例中，抗EPHA2抗體或抗原結合片段包含人類IgG重鏈恆定區。在一典實施例中，抗EPHA2抗體或抗原結合片段包含人類IgG1重鏈恆定區。在一典實施例中，抗EPHA2抗體或抗原結合片段包含人類Ig κ或λ輕鏈恆定區。在一典實施例中，抗EPHA2抗體或抗原結合片段與包含SEQ ID NO:23之重鏈可變域及SEQ ID NO:24之輕鏈可變域之抗體競爭結合相同抗原決定基及/或結合相同抗原決定基。

[0041] 在一典實施例中，本文揭示式(I)化合物：



(I)，或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

Y選自O、S、NR^6及CR^6R^7；

R^1、R^2及R^3各自獨立地選自氫、羥基、O-(C1-C6烷基)、O-C(=O)-(C1-C6烷基)、C(=O)-O-(C1-C6烷基)及C1-C6烷基；

R^4選自氫、C1-C6烷基、C(=O)-(C1-C6烷基)、C(=O)-(C3-C8碳環基)、C(=O)-(C3-C8雜環基)及C(=O)-NR^6R^7；

R^5選自氫、羥基、CH_2OH、CO_2H、C(=O)-O-(C1-C6烷基)、C(=O)-NR^6R^7、NR^6-C(=O)-R^8、O-C(=O)-NR^6R^7、NR^6-C(=O)-R^8及NR^6-C(=O)-NR^6R^7；

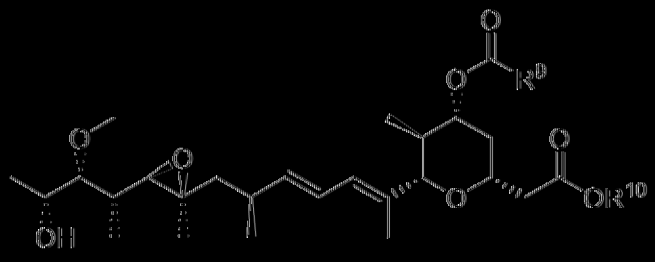
R^6及R^7各自獨立地選自氫、R^8、C(=O)-R^8及C(=O)-O-R^8；且

R^8選自C1-C6烷基、C3-C8碳環基及C3-C8雜環基，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7及R^8各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C1-C6烷基、O-(C1-C6烷基)、

CO_2H、C(=O)(C_1-C_6烷基)、C(=O)(C_3-C_8碳環基)、C(=O)(C_3-C_8雜環基)、NR^6R^7、C_3-C_8碳環基、C_1-C_6烷基羥基、C_1-C_6烷基烷氧基、苄基及C_3-C_8雜環基，其中之各者可獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、C_1-C_3鹵烷基、NHC(=O)(C_1-C_3烷基)及NHC(=O)O(C_1-C_3烷基)。

[0042] 在一典實施例中，本文提供式(Ia)化合物：



(Ia)，或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

R^9選自C_3-C_8雜環基；且

R^{10}選自H及C_1-C_6烷基，

其中R^9及R^{10}各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、NH_2、NH(C_1-C_3烷基)及N(C_1-C_3烷基)$_2$。

[0043] 在一典實施例中，本文提供式(Ib)化合物：

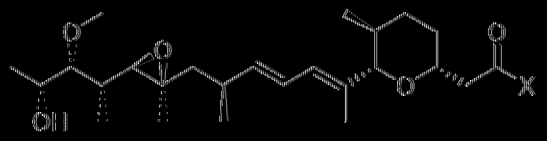


(Ib)，或其醫藥學上可接受之鹽，其中

R^{11}選自  、  及  ，其中*指示R^{11}與該化合物之其餘部分之連接點；且

R^{12}及R^{13}各自獨立地選自H及甲基。

[0044] 在一典實施例中，本文提供式(II)化合物：



(II)，或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

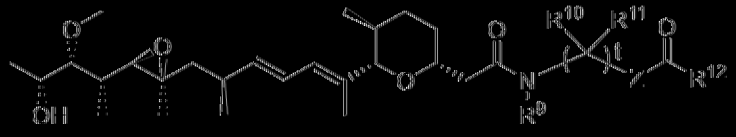
X為NR^6R^7；

R^6及R^7各自獨立地選自氫、R^8、C(=O)R^8、C(=O)OR^8、(C_1-C_6烷基)-O-C(=O)-R^8及(C_1-C_6烷基)-NH-C(=O)-R^8；且

R^8選自C_1-C_6烷基、C_3-C_8碳環基及C_3-C_8雜環基，

其中R^6、R^7及R^8各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_6烷基、O-(C_1-C_6烷基)、CO_2H、C(=O)-(C_1-C_6烷基)、C(=O)-(C_3-C_8碳環基)、C(=O)-(C_3-C_8雜環基)、NR^6R^7、C_3-C_8碳環基、C_1-C_6烷基羥基、C_1-C_6烷基烷氧基、苄基及C_3-C_8雜環基，其中之各者可獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、C_1-C_3鹵烷基、NH-C(=O)(C_1-C_3烷基)及NH-C(=O)O-(C_1-C_3烷基)。

[0045] 在一典實施例中，本文提供式(IIa)化合物：



(IIa)，或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

Z選自NR^9及O；

R^9選自氫及C_1-C_6烷基；

R^{10}及R^{11}各自獨立地選自氫、鹵素、羥基、C_1-C_6烷基、O-(C_1-C_6烷基)、CO_2H、C(=O)O-(C_1-C_6烷基)、C(=O)-(C_1-C_6烷基)、C(=O)-

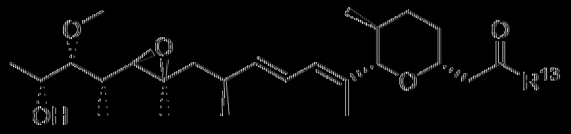
(C3-C8碳環基)、-C(=O)-(C3-C8雜環基)、C3-C8碳環基、C1-C6烷基胺基、C1-C6烷基烷氧基、下基及C3-C8雜環基；

R12選自C1-C6烷基、C3-C8碳環基、C3-C8雜環基，

其中R9、R10、R11及R12各自獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C1-C3烷基、C1-C3烷氧基及C1-C3鹵烷基；且

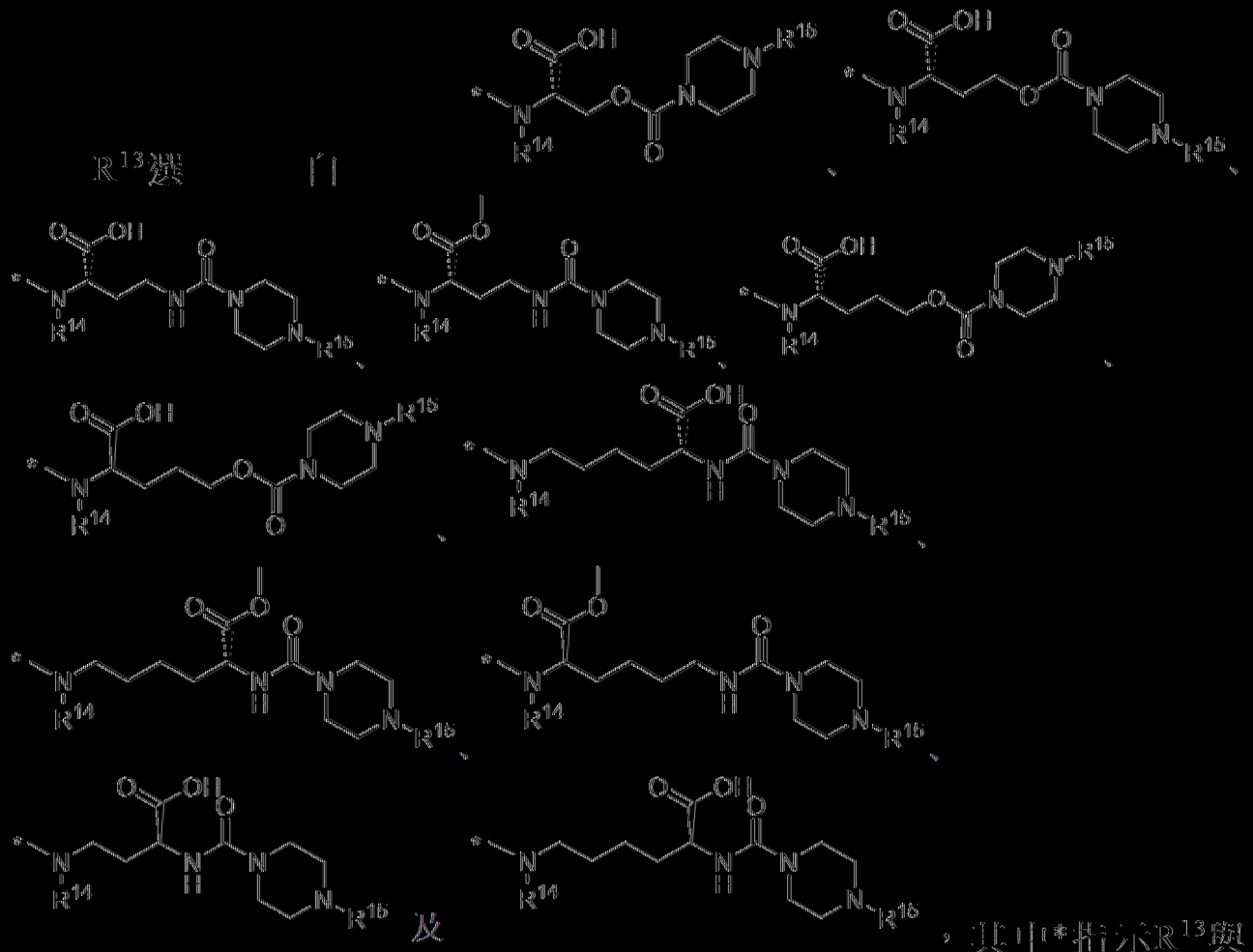
t為選自1、2、3、4、5及6之整數。

[0046] 在一些實施例中，本文提供式(IIb)化合物：



(IIb)，或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

R13選自

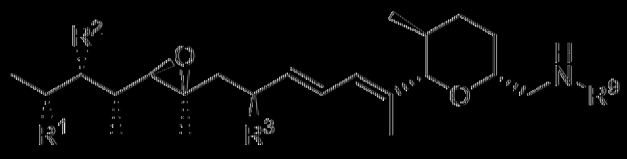


及

，其中*指示R13與該化合物之其餘部分之連接點；且

R14及R15各自獨立地選自氫及甲基。

[0047] 在一典型實施例中，本文提供式(III)化合物：



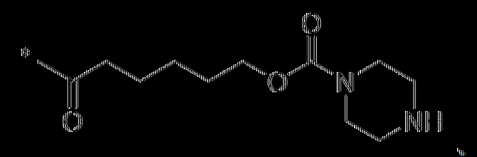
(III)，或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

R^1、R^2及R^3各自獨立地選自氫、鹵素、-O-(C_1-C_6烷基)、-O-C(=O)-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-O-(C_1-C_6烷基)及C_1-C_6烷基；

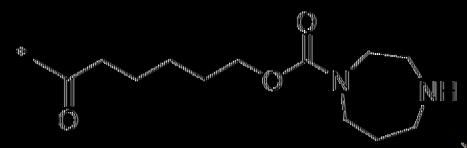
R^6及R^7各自獨立地選自氫、R^8、-C(=O)-R^8及-C(=O)-O-R^8；

R^8選自C_1-C_6烷基、C_3-C_8碳環及C_3-C_8雜環；且

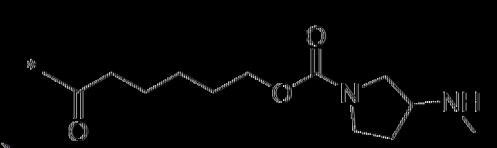
R^9選自



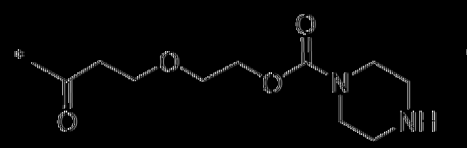
、



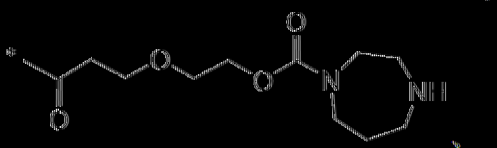
、



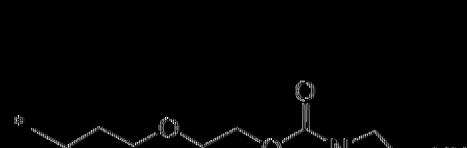
、



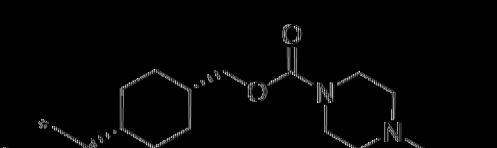
、



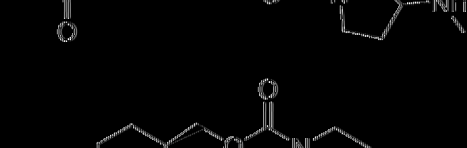
、



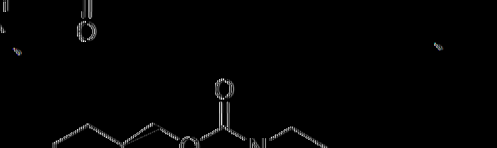
、



、



、



及



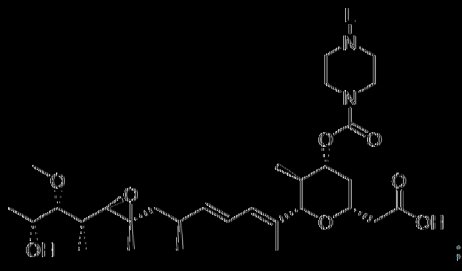
；

其中R^1、R^2、R^3、R^6、R^7及R^8各自獨立地經0至3個獨立地選自以下

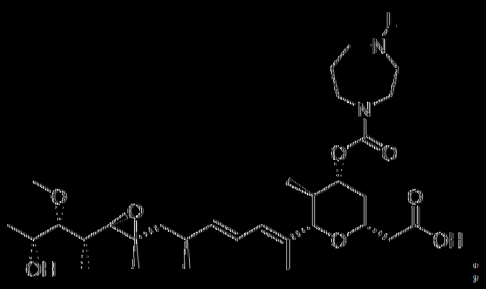
之其團取代：鹵素、羥其、C_1-C_6烷其、O-(C_1-C_6烷其)、CO_2H、C(=O)-(C_1-C_6烷其)、C(=O)-(C_3-C_8碳環其)、C(=O)-(C_3-C_8雜環其)、NR^6R^7、C_3-C_8碳環其、C_1-C_6烷其羥其、C_1-C_6烷其烷氧其、下其及C_3-C_8雜環其，其中之各者可獨立地經0或1個選自以下之其團取代：鹵素、羥其、C_1-C_3烷其、C_1-C_3烷氧其、C_1-C_3鹵烷其、NH-C(=O)(C_1-C_3烷其)及NH-C(=O)-O-(C_1-C_3烷其)；且

其中*指示R^9與該化合物之其餘部分之連接點。

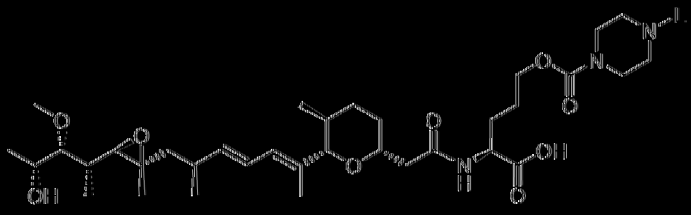
[0048] 在一典實施例中，本文提供選自以下之化合物：

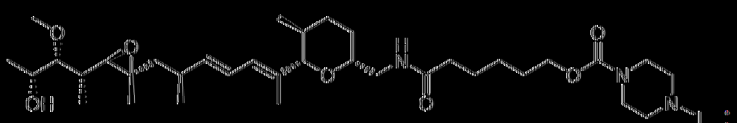


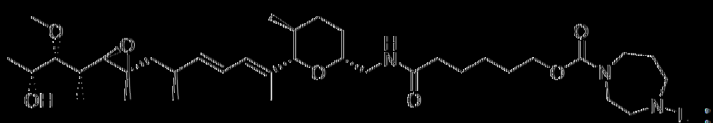
；

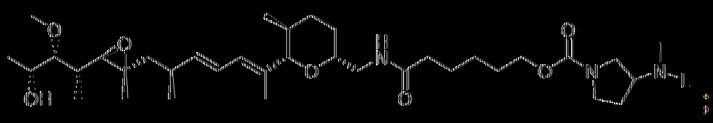


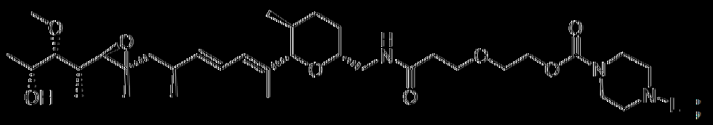


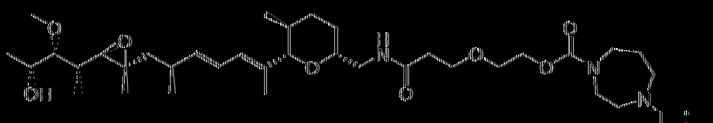


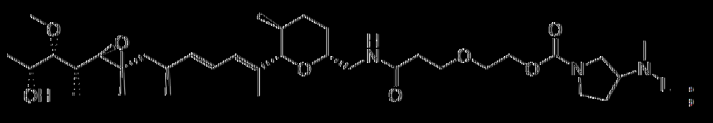


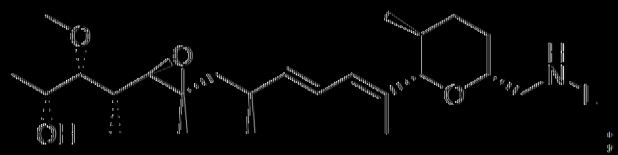




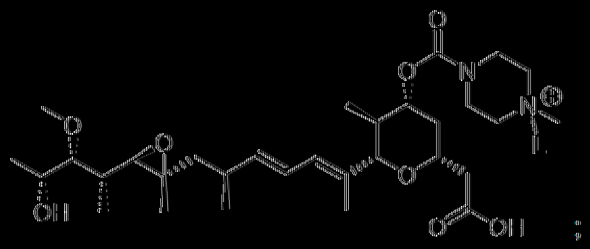




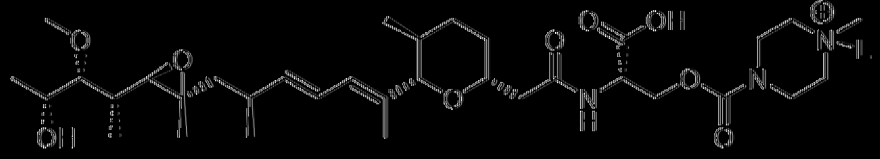




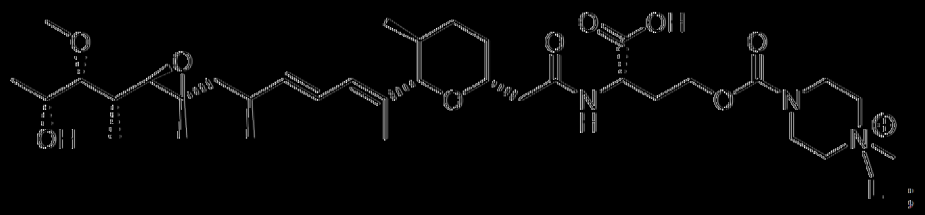
;



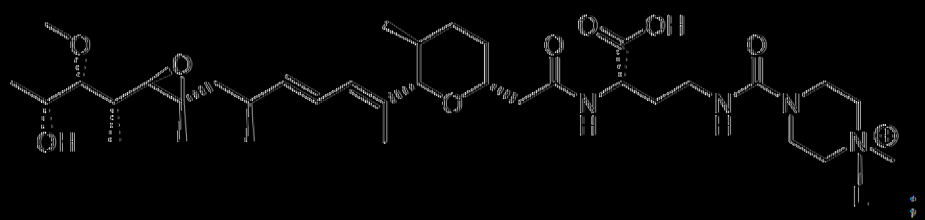
;



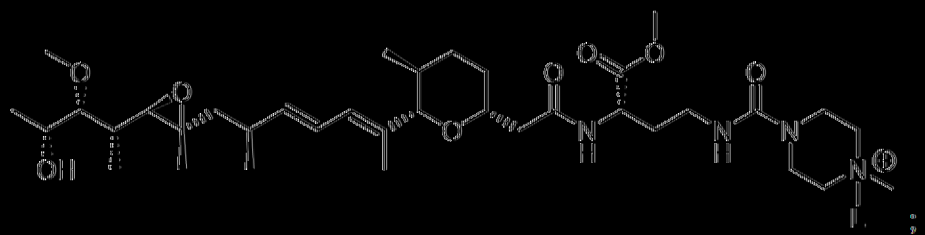
;



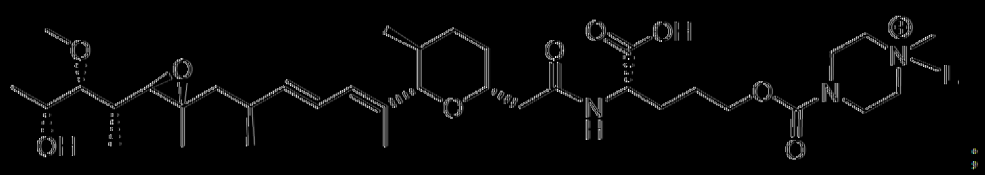
;



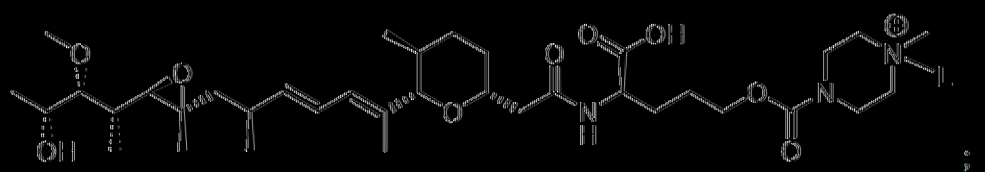
;



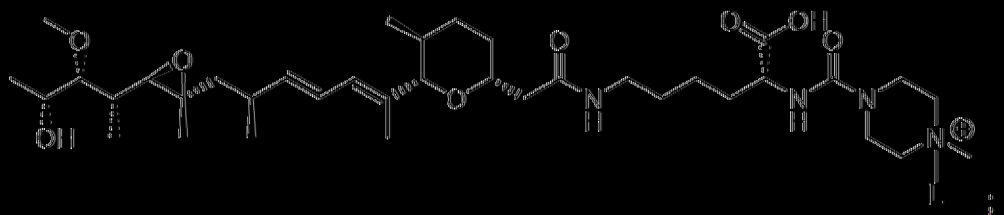
;



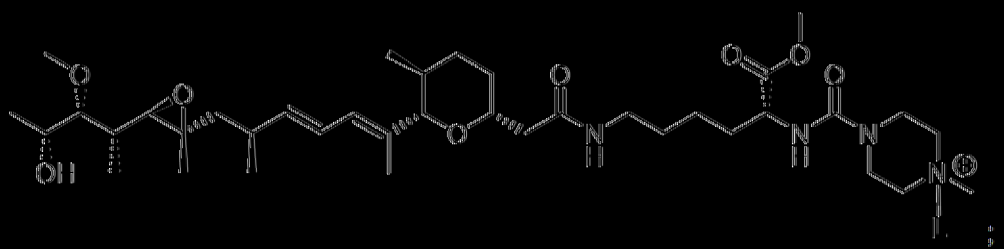
;



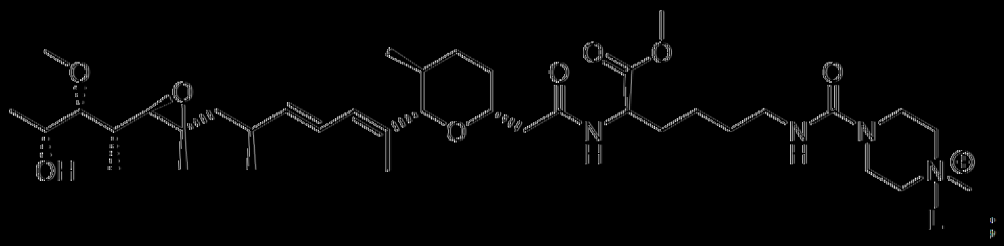
;



;



;



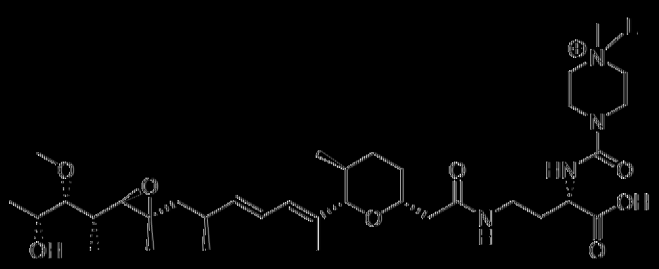
;



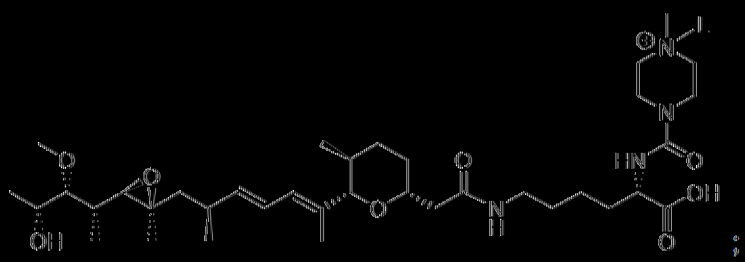
;



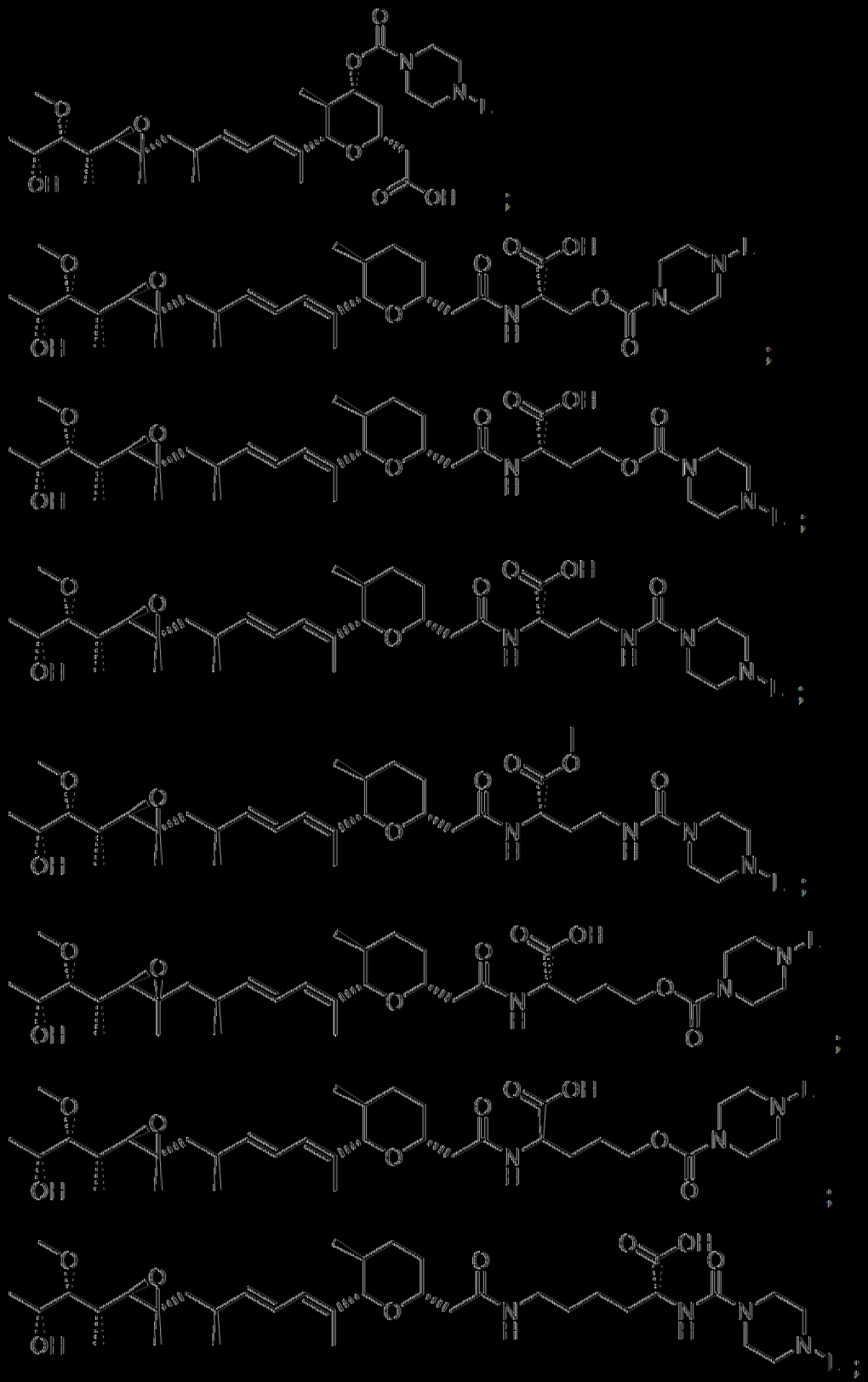
;

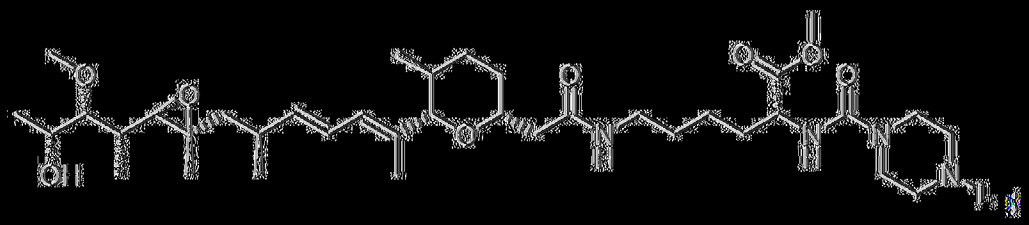


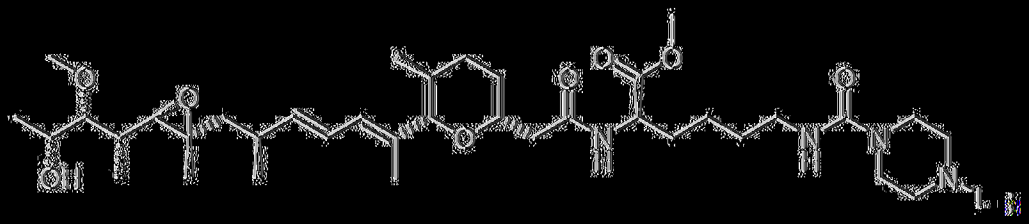
;

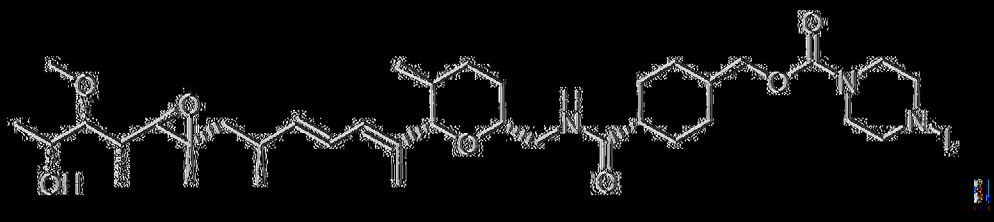


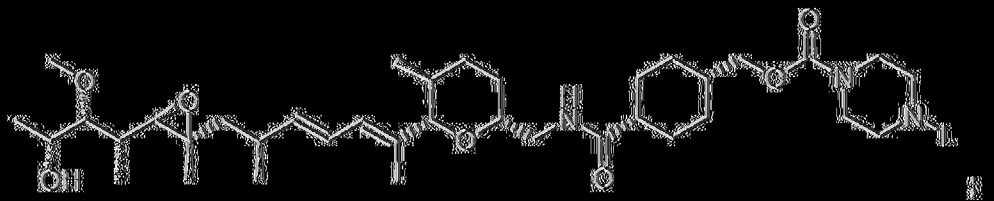
;

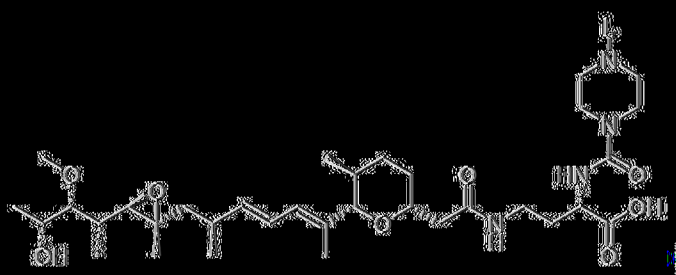


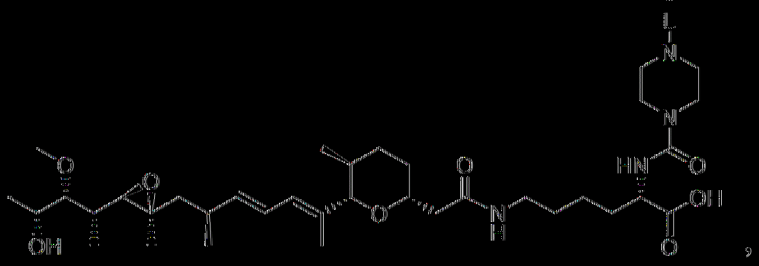












，

及其醫藥學上可接受之鹽，

其中L為共價連接至抗體之連接子。

[0049] 此外，在各種實施例中，本文提供所描述之ADC化合物、荷伯希二烯化合物及組合物例如在治療例如癌症之資生性病症中之治療性用途。在某些態樣中，本發明提供治療資生性病症之方法，該資生性病症

例如表現由ADC之抗體或抗原結合片段靶向之抗原的癌症，該抗原諸如HER2、CD138、EPHA2、MSLN、FOLH1、CDH6、CEACAM5、CFC1B、ENPP3、FOLR1、HAVCR1、KIT、MET、MUC16、SLC39A6、SLC44A4或STEAP1。

【0050】在某些態樣中，本發明提供治療患有或疑似患有贅生性病症之個體之方法，其係藉由向個體投與治療有效量及/或治療有效方案之所描述之ADC或組合物中之任一種來進行。在一些實施例中，贅生性病症為血液惡性病或實體腫瘤。在一些實施例中，贅生性病症為血液惡性病。在一些實施例中，血液惡性病選自B細胞惡性病、白血病、淋巴瘤及骨髓瘤。在一些實施例中，血液惡性病選自急性骨髓性白血病及多發性骨髓瘤。在一些實施例中，贅生性病症為實體腫瘤。在一些實施例中，實體腫瘤選自乳癌(例如HER2陽性乳癌)、胃癌(例如胃腺癌)、前列腺癌、卵巢癌、肺癌(例如肺腺癌)、子宮癌(例如子宮漿液性子宮內膜癌)、唾腺管癌、黑色素瘤、大腸癌、子宮頸癌、胰臟癌、腎癌、大腸直腸癌及食道癌。在一些實施例中，實體腫瘤選自HER2陽性乳癌、胃腺癌、前列腺癌及骨肉瘤。

【0051】在一些實施例中，用抗體-藥物結合物或組合物進行之治療誘導對不表現目標抗原但鄰近於表現目標抗原之贅生性細胞之贅生性細胞的旁觀者殺滅(bystander killing)。在一些實施例中，個體具有表現目標抗原之一或多個贅生性細胞。

【0052】在一些實施例中，目標抗原為HER2。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞處於HER2表現性乳癌、卵巢癌、胃癌、肺癌(例如肺腺癌)、子宮癌(例如子宮漿液性子宮內膜癌)、骨肉瘤或唾腺管癌中。在一

些實施例中，個體對用(a)單獨投與時之抗HER2抗體及/或(b)單獨投與時之荷伯希二烯剪接調節子進行之治療無反應或反應不良。在一些實施例中，個體對用單獨投與時之荷伯希二烯剪接調節子進行之治療不耐受、無反應或反應不良。

【0053】在一些實施例中，目標抗原為CD138。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞處於CD138表現性多發性骨髓瘤中。在一些實施例中，個體對用(a)單獨投與時之抗CD138抗體及/或(b)單獨投與時之荷伯希二烯剪接調節子進行之治療無反應或反應不良。在一些實施例中，個體對用單獨投與時之荷伯希二烯剪接調節子進行之治療不耐受、無反應或反應不良。

【0054】在一些實施例中，目標抗原為EPHA2。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞處於EPHA2表現性乳癌、前列腺癌、卵巢癌、肺癌、黑色素瘤、大腸癌或食道癌中。在一些實施例中，個體對用(a)單獨投與時之抗EPHA2抗體及/或(b)單獨投與時之荷伯希二烯剪接調節子進行之治療無反應或反應不良。在一些實施例中，個體對用單獨投與時之荷伯希二烯剪接調節子進行之治療不耐受、無反應或反應不良。

【0055】在一些實施例中，目標抗原為MSLN。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞處於MSLN表現性卵巢癌、子宮頸癌、胰臟癌或肺癌(例如肺腺癌)中。在一些實施例中，個體對用(a)單獨投與時之抗MSLN抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療無反應或反應不良。在一些實施例中，個體對用單獨投與時之剪接調節子進行之治療不耐受、無反應或反應不良。

【0056】在一些實施例中，目標抗原為FOLH1。在一些實施例中，

一或多個贅生性細胞處於FOLH1表現性前列腺癌中。在一些實施例中，個體對用(a)單獨投與時之抗FOLH1抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療無反應或反應不良。在一些實施例中，個體對用單獨投與時之剪接調節子進行之治療不耐受、無反應或反應不良。

【0057】在一些實施例中，目標抗原為CDH6。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞處於CDH6表現性腎癌中。在一些實施例中，個體對用(a)單獨投與時之抗CDH6抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療無反應或反應不良。在一些實施例中，個體對用單獨投與時之剪接調節子進行之治療不耐受、無反應或反應不良。

【0058】在一些實施例中，目標抗原為CEACAM5。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞處於CEACAM5表現性大腸直腸癌中。在一些實施例中，個體對用(a)單獨投與時之抗CEACAM5抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療無反應或反應不良。在一些實施例中，個體對用單獨投與時之剪接調節子進行之治療不耐受、無反應或反應不良。

【0059】在一些實施例中，目標抗原為CFC1B。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞處於CFC1B表現性胰臟癌中。在一些實施例中，個體對用(a)單獨投與時之抗CFC1B抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療無反應或反應不良。在一些實施例中，個體對用單獨投與時之剪接調節子進行之治療不耐受、無反應或反應不良。

【0060】在一些實施例中，目標抗原為ENPP3。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞處於ENPP3表現性腎癌中。在一些實施例中，個體對用(a)單獨投與時之抗ENPP3抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療無反應或反應不良。在一些實施例中，個體對用單獨投與時之剪接調

節子進行之治療不耐受、無反應或反應不良。

【0061】在一些實施例中，目標抗原為FOLR1。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞處於FOLR1表現性卵巢癌中。在一些實施例中，個體對用(a)單獨投與時之抗FOLR1抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療無反應或反應不良。在一些實施例中，個體對用單獨投與時之剪接調節子進行之治療不耐受、無反應或反應不良。

【0062】在一些實施例中，目標抗原為HAVCR1。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞處於HAVCR1表現性腎癌或食道癌中。在一些實施例中，個體對用(a)單獨投與時之抗HAVCR1抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療無反應或反應不良。在一些實施例中，個體對用單獨投與時之剪接調節子進行之治療不耐受、無反應或反應不良。

【0063】在一些實施例中，目標抗原為KIT。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞處於KIT表現性腎癌中。在一些實施例中，個體對用(a)單獨投與時之抗KIT抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療無反應或反應不良。在一些實施例中，個體對用單獨投與時之剪接調節子進行之治療不耐受、無反應或反應不良。

【0064】在一些實施例中，目標抗原為MET。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞處於MET表現性腎癌或食道癌中。在一些實施例中，個體對用(a)單獨投與時之抗MET抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療無反應或反應不良。在一些實施例中，個體對用單獨投與時之剪接調節子進行之治療不耐受、無反應或反應不良。

【0065】在一些實施例中，目標抗原為MUC16。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞處於MUC16表現性卵巢癌、子宮頸癌或乳癌中。在

一些實施例中，個體對用(a)單獨投與時之抗MUC16抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療無反應或反應不良。在一些實施例中，個體對用單獨投與時之剪接調節子進行之治療不耐受、無反應或反應不良。

【0066】在一些實施例中，目標抗原為SLC39A6。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞處於SLC39A6表現性乳癌或前列腺癌中。在一些實施例中，個體對用(a)單獨投與時之抗SLC39A6抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療無反應或反應不良。在一些實施例中，個體對用單獨投與時之剪接調節子進行之治療不耐受、無反應或反應不良。

【0067】在一些實施例中，目標抗原為SLC44A4。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞處於SLC44A4表現性前列腺癌中。在一些實施例中，個體對用(a)單獨投與時之抗SLC44A4抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療無反應或反應不良。在一些實施例中，個體對用單獨投與時之剪接調節子進行之治療不耐受、無反應或反應不良。

【0068】在一些實施例中，目標抗原為STEAP1。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞處於STEAP1表現性前列腺癌中。在一些實施例中，個體對用(a)單獨投與時之抗STEAP1抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療無反應或反應不良。在一些實施例中，個體對用單獨投與時之剪接調節子進行之治療不耐受、無反應或反應不良。

【0069】在某些其他態樣中，本發明提供減少或抑制患有或疑似患有贅生性病症之個體中之腫瘤生長之方法，其係藉由向個體投與治療有效量及/或治療有效方案之所描述之ADC或組合物中之任一種來進行。

【0070】在一些實施例中，用抗體-藥物結合物或組合物進行之治療誘導對不表現目標抗原但鄰近於表現目標抗原之贅生性腫瘤細胞之贅生性

腫瘤細胞的旁觀者殺滅。在一些實施例中，腫瘤包含表現目標抗原之一或多個贅生性細胞。

【0071】在一些實施例中，目標抗原為HER2。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於HER2表現性乳癌、卵巢癌、胃癌、肺癌(例如肺腺癌)、子宮癌(例如子宮漿液性子宮內膜癌)、骨肉瘤或唾腺管癌。在一些實施例中，腫瘤對用(a)單獨投與時之抗HER2抗體及/或(b)單獨投與時之荷伯希二烯剪接調節子進行之治療具有抗性或頑抗性。

【0072】在一些實施例中，目標抗原為CD138。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於CD138表現性多發性骨髓瘤中。在一些實施例中，腫瘤對用(a)單獨投與時之抗CD138抗體及/或(b)單獨投與時之荷伯希二烯剪接調節子進行之治療具有抗性或頑抗性。

【0073】在一些實施例中，目標抗原為EPHA2。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於EPHA2表現性乳癌、前列腺癌、卵巢癌、肺癌、黑色素瘤、大腸癌或食道癌。在一些實施例中，腫瘤對用(a)單獨投與時之抗EPHA2抗體及/或(b)單獨投與時之荷伯希二烯剪接調節子進行之治療具有抗性或頑抗性。

【0074】在一些實施例中，目標抗原為MSLN。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於MSLN表現性卵巢癌、子宮頸癌、胰臟癌或肺癌(例如肺腺癌)。在一些實施例中，腫瘤對用(a)單獨投與時之抗MSLN抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療具有抗性或頑抗性。

【0075】在一些實施例中，目標抗原為FOLH1。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於FOLH1表現性前列腺癌。在一些實施例中，腫瘤對用(a)單獨投與時之抗FOLH1抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子

進行之治療具有抗性或頑抗性。

【0076】在一些實施例中，目標抗原為CDH6。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於CDH6表現性腎癌。在一些實施例中，腫瘤對用(a)單獨投與時之抗CDH6抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療具有抗性或頑抗性。

【0077】在一些實施例中，目標抗原為CEACAM5。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於CEACAM5表現性大腸直腸癌。在一些實施例中，腫瘤對用(a)單獨投與時之抗CEACAM5抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療具有抗性或頑抗性。

【0078】在一些實施例中，目標抗原為CFC1B。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於CFC1B表現性胰臟癌。在一些實施例中，腫瘤對用(a)單獨投與時之抗CFC1B抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療具有抗性或頑抗性。

【0079】在一些實施例中，目標抗原為ENPP3。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於ENPP3表現性腎癌。在一些實施例中，腫瘤對用(a)單獨投與時之抗ENPP3抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療具有抗性或頑抗性。

【0080】在一些實施例中，目標抗原為FOLR1。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於FOLR1表現性卵巢癌。在一些實施例中，腫瘤對用(a)單獨投與時之抗FOLR1抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療具有抗性或頑抗性。

【0081】在一些實施例中，目標抗原為HAVCR1。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於HAVCR1表現性腎癌或食道癌。在一些實

施例中，腫瘤對用(a)單獨投與時之抗HAVCR1抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療具有抗性或頑抗性。

【0082】在一些實施例中，目標抗原為KIT。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於KIT表現性腎癌。在一些實施例中，腫瘤對用(a)單獨投與時之抗KIT抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療具有抗性或頑抗性。

【0083】在一些實施例中，目標抗原為MET。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於MET表現性腎癌或食道癌。在一些實施例中，腫瘤對用(a)單獨投與時之抗MET抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療具有抗性或頑抗性。

【0084】在一些實施例中，目標抗原為MUC16。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於MUC16表現性卵巢癌、子宮頸癌或乳癌。在一些實施例中，腫瘤對用(a)單獨投與時之抗MUC16抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療具有抗性或頑抗性。

【0085】在一些實施例中，目標抗原為SLC39A6。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於SLC39A6表現性乳癌或前列腺癌。在一些實施例中，腫瘤對用(a)單獨投與時之抗SLC39A6抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療具有抗性或頑抗性。

【0086】在一些實施例中，目標抗原為SLC44A4。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於SLC44A4表現性前列腺癌。在一些實施例中，腫瘤對用(a)單獨投與時之抗SLC44A4抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療具有抗性或頑抗性。

【0087】在一些實施例中，目標抗原為STEAP1。在一些實施例中，

一或多個贅生性細胞來源於STEAP1表現性前列腺癌。在一些實施例中，腫瘤對用(a)單獨投與時之抗STEAP1抗體及/或(b)單獨投與時之剪接調節子進行之治療具有抗性或頑抗性。

【0088】在又其他態樣中，本發明提供確定患有或疑似患有贅生性病症之個體是否對用所描述之ADC或組合物中之任一種進行之治療起反應的方法，其係藉由提供來自個體之生物樣品且使生物樣品與ADC或組合物接觸來進行。在一些實施例中，生物樣品為腫瘤樣品。在一些實施例中，腫瘤樣品為腫瘤生檢或血液樣品。在一些實施例中，血液樣品選自血液、血液部分或自血液或血液部分獲得之細胞。在一些實施例中，個體具有表現目標抗原之一或多個贅生性細胞。在一些實施例中，目標抗原為HER2。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於HER2表現性乳癌、卵巢癌、胃癌、肺癌(例如肺腺癌)、子宮癌(例如子宮漿液性子宮內膜癌)、骨肉瘤或唾腺管癌。在一些實施例中，目標抗原為CD138。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於CD138表現性多發性骨髓瘤。在一些實施例中，目標抗原為EPHA2。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於EPHA2表現性乳癌、前列腺癌、卵巢癌、肺癌、黑色素瘤、大腸癌或食道癌。在一些實施例中，目標抗原為MSLN。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於MSLN表現性卵巢癌、子宮頸癌、胰臟癌或肺癌(例如肺腺癌)。在一些實施例中，目標抗原為FOLH1。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於FOLH1表現性前列腺癌。在一些實施例中，目標抗原為CDH6。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於CDH6表現性腎癌。在一些實施例中，目標抗原為CEACAM5。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於CEACAM5表現性大腸直腸癌。在一

些實施例中，目標抗原為CFC1B。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於CFC1B表現性胰臟癌。在一些實施例中，目標抗原為ENPP3。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於ENPP3表現性腎癌。在一些實施例中，目標抗原為FOLR1。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於FOLR1表現性卵巢癌。在一些實施例中，目標抗原為HAVCR1。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於HAVCR1表現性腎癌或食道癌。在一些實施例中，目標抗原為KIT。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於KIT表現性腎癌。在一些實施例中，目標抗原為MET。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於MET表現性腎癌或食道癌。在一些實施例中，目標抗原為MUC16。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於MUC16表現性卵巢癌、子宮頸癌或乳癌。在一些實施例中，目標抗原為SLC39A6。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於SLC39A6表現性乳癌或前列腺癌。在一些實施例中，目標抗原為SLC44A4。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於SLC44A4表現性前列腺癌。在一些實施例中，目標抗原為STEAP1。在一些實施例中，一或多個贅生性細胞來源於STEAP1表現性前列腺癌。

【0089】在各種實施例中，本文進一步提供包含ADC及醫藥學上可接受之稀釋劑、載劑及/或賦形劑之醫藥組合物。亦揭示產生所描述之ADC化合物及組合物之方法。

【圖式簡單說明】

【0090】**圖1A-1D**顯示經HER2放大之乳癌細胞(HCC1954)及胃癌細胞(NCI-N87)中之例示性有效負載化合物之活力劑量反應。將細胞與化合物一起培育72小時(3天)或144小時(6天)，且在CellTiter-Glo® 2.0試劑中

讀取活力。**圖1A**顯示在72小時培育之後HCC1954細胞中之活力劑量反應。**圖1B**顯示在72小時培育之後NCI-N87細胞中之活力劑量反應。**圖1C**顯示在144小時培育之後HCC1954細胞中之活力劑量反應。**圖1D**顯示在144小時培育之後NCI-N87細胞中之活力劑量反應。資料表示為平均值± SD。

【0091】**圖2A**及**圖2B**顯示經HER2放大之乳癌細胞(HCC1954) (**圖2A**)及胃癌細胞(NCI-N87) (**圖2B**)中之SLC25A19剪接分析之結果。將細胞與化合物一起培育6小時，且在即時qPCR反應中用特定Taqman引子-探針集量測SLC25A19轉錄本之剪接。y軸代表相對於DMSO對照(0.1%)之反應百分比(%)。資料表示為平均值± SD。

【實施方式】

【0092】本發明主張2018年12月13日申請之美國臨時專利申請案第62/779,400號、2018年12月13日申請之美國臨時申請案第62/779,406號及2019年11月27日申請之美國臨時申請案第62/941,220號之優先權。所有前述申請案均以全文引用之方式併入本文中。

【0093】所揭示之組合物及方法可參照以下詳細描述來更容易地理解。

【0094】在本文通篇，描述涉及組合物及使用該等組合物之方法。當本發明描述或主張與組合物相關聯之特點或實施例時，此類特點或實施例同等地適用於使用該組合物之方法。同樣，當本發明描述或主張與使用該組合物之方法相關聯之特點或實施例時，此類特點或實施例同等地適用於該組合物。

【0095】當值之範圍得以表示時，其包括使用該範圍內之任何特定

值之實施例。此外，對按範圍陳述之值之提及包括彼範圍內之每一值。所有範圍均包括其端點且可組合。當藉由在前面使用「約」，以近似值表示值時，應理解特定值形成另一實施例。除非上下文另外明確地指示，否則對特定數值之提及至少包括彼特定值。除非另外指示其具體使用情形，否則「或」之使用意謂「及/或」。

【0096】應瞭解，出於清楚起見在單獨實施例之情形下描述於本文中之所揭示之組合物及方法的某些特點亦可以單個實施例之組合形式提供。相反地，出於簡便起見在單個實施例之情形下描述之所揭示之組合物及方法的各種特點亦可單獨地或以任何子組合形式提供。

【0097】本文所引用之所有參考文獻均出於任何目的以引用之方式併入。在參考文獻與本說明書矛盾之情況下，以本說明書為準。

定義

【0098】在本說明書及申請專利範圍通篇使用與描述之態樣相關之各種術語。除非另外指示，否則將給與該等術語以其在此項技術中之普通含義。其他經特定定義之術語係以與本文所提供之定義一致之方式來解釋。

【0099】除非上下文另外明確地指示，否則如本文所使用之單數形式「一(a/an)」及「該/該等(the)」包括複數形式。

【0100】如熟習此項技術者自本文所含之教示內容顯而易知，在數值及範圍之情形下，術語「約」或「近似地」係指近似或接近所敍述值或範圍以使得實施例可根據預期執行，諸如在反應混合物中具有所需量之核酸或多肽的值或範圍。在一些實施例中，約意謂數字量± 10%。

【0101】術語「抗體-藥物結合物」、「抗體結合物」、「結合物」、「免

疫結合物」及「ADC」可互換使用，且係指連接至一或多個抗體或抗原結合片段之一或多種治療性化合物(例如荷伯希二烯剪接調節子)，且由通式界定：Ab-(L-H)$_p$ (式I)，其中Ab =抗體或抗原結合片段，L =連接子部分，H =荷伯希二烯剪接調節子(例如荷伯希二烯或其衍生物)，且p =每個抗體或抗原結合片段之藥物部分之數目。包含荷伯希二烯剪接調節子之ADC亦可在本文中更具體地稱為「負載荷伯希二烯剪接調節子之抗體」或「SMLA」。在包含荷伯希二烯剪接調節子之ADC中，「p」係指連接至抗體或抗原結合片段之荷伯希二烯剪接調節子之數目。在一些實施例中，連接子L可包括介於抗體或抗原結合片段與荷伯希二烯剪接調節子之間之可裂解部分。在一些實施例中，連接子L可包括可藉由間隔子單元連接至抗體或抗原結合片段及荷伯希二烯剪接調節子中之任一者或兩者之可裂解部分。在一些實施例中，當間隔子單元將可裂解部分連接至荷伯希二烯剪接調節子時，其為自我分解型間隔子單元。在其他實施例中，連接子L不包括可裂解部分且為不可裂解連接子。在一些實施例中，連接子L可包括可直接地連接至抗體或抗原結合片段及荷伯希二烯剪接調節子之至少一個間隔子單元。例示性可裂解連接子及不可裂解連接子描述且例示於本文中。

【0102】術語「抗體」在最廣泛意義上用於指經由免疫球蛋白分子之可變區內之至少一個抗原辨識位點辨識且特異性結合至諸如蛋白質、多肽、碳水化合物、聚核苷酸、脂質或前述物質之組合之目標的免疫球蛋白分子。抗體之重鏈由重鏈可變域(V_H)及重鏈恆定區(C_H)構成。輕鏈由輕鏈可變域(V_L)及輕鏈恆定域(C_L)構成。出於本申請案之目的，成熟重鏈可變域及輕鏈可變域各自包含自N端至C端排列之四個構架區(FR1、FR2、

FR3及FR4)內之三個互補決定區(CDR1、CDR2及CDR3)：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及FR4。「抗體」可為天然存在的或人造的，諸如藉由習知融合瘤技術產生之單株抗體。術語「抗體」包括全長單株抗體及全長多株抗體以及諸如Fab、Fab'、$F(ab')_2$、Fv之抗體片段及單鏈抗體。抗體可為五個主要類別之免疫球蛋白IgA、IgD、IgE、IgG及IgM或其子類(例如同型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)中之任一種。該術語進一步涵蓋人類抗體、嵌合抗體、人類化抗體及含有抗原辨識位點之任何經修飾之免疫球蛋白分子，只要其展現所需生物活性(例如結合目標抗原、於表現目標抗原之細胞內內化)即可。

【0103】如本文所使用之術語「單株抗體」係指自實質上均質之抗體群體獲得之抗體，亦即除可能少量存在之可能性天然存在之突變以外，構成該群體之個別抗體為相同的。單株抗體針對單一抗原性抗原決定基具有高度特異性。相比之下，習知(多株)抗體製劑通常包括針對不同抗原決定基(或對不同抗原決定基具有特異性)之多種抗體。修飾語「單株」指示抗體係自實質上均質之抗體群體獲得之特徵，且不應解釋為需要藉由任何特定方法產生該抗體。舉例而言，根據本發明使用之單株抗體可藉由首先由Kohler等人(1975) Nature 256:495描述之融合瘤方法來製造，或可藉由重組DNA方法(參見例如美國專利第4,816,567號)來製造。「單株抗體」亦可使用例如Clackson等人(1991) Nature 352:624-8及Marks等人(1991) J Mol Biol. 222:581-97中所描述之技術自噬菌體抗體文庫分離。

【0104】本文所描述之單株抗體具體地包括「嵌合」抗體，其中重鏈及/或輕鏈之一部分與來源於特定物種或屬於特定抗體類別或子類別之抗體中之對應序列相同或同源，而鏈之其餘部分與來源於另一物種或屬於

另一抗體類別或子類別之抗體中之對應序列相同或同源；以及該等抗體之片段，只要其特異性結合目標抗原且/或展現所需生物活性即可。

【0105】如本文所使用之術語「人類抗體」係指由人類產生之抗體或具有由人類產生之抗體之胺基酸序列之抗體。

【0106】如本文所使用之術語「嵌合抗體」係指其中免疫球蛋白分子之胺基酸序列來源於兩個或更多個物種之抗體。在一些情況下，重鏈及輕鏈兩者之可變區對應於來源於具有所需特異性、親和力及活性之一個物種之抗體的可變區，而恆定區與來源於另一物種(例如人類)之抗體同源以使後一物種中之免疫反應減至最少。

【0107】如本文所使用之術語「人類化抗體」係指含有來自非人類(例如鼠)抗體以及人類抗體之序列之抗體形式。該等抗體為含有來源於非人類免疫球蛋白之最小序列之嵌合抗體。一般而言，人類化抗體包含實質上所有至少一個且通常兩個可變域，其中所有或實質上所有高變環對應於非人類免疫球蛋白之可變域且所有或實質上所有構架(FR)區為人類免疫球蛋白序列之可變域。人類化抗體視情況亦包含免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分，通常人類免疫球蛋白之恆定區之至少一部分。人類化抗體可藉由Fv構架區中及/或經置換之非人類殘基內之殘基之取代而經進一步修飾以改進且最佳化抗體特異性、親和力及/或活性。

【0108】如本文所使用之術語抗體之「抗原結合片段」或「抗原結合部分」係指保持特異性結合至抗原(例如HER2、CD138、EPHA2、MSLN、FOLH1、CDH6、CEACAM5、CFC1B、ENPP3、FOLR1、HAVCR1、KIT、MET、MUC16、SLC39A6、SLC44A4或STEAP1)之能力之抗體或蛋白質的一或多個片段。抗原結合片段亦可保持內化至表現抗

原之細胞中之能力。在一些實施例中，抗原結合片段亦保持免疫效應子活性。經顯示，全長抗體之片段可執行全長抗體之抗原結合功能。術語抗體之「抗原結合片段」或「抗原結合部分」內所涵蓋之結合片段之實例包括(i) Fab片段，亦即由V_L域、V_H域、C_L域及C_{H1}域組成之單價片段；(ii) $F(ab')_2$片段，亦即包含藉由鉸鏈區處之二硫橋鍵連接之兩個Fab片段的二價片段；(iii)由V_H域及C_{H1}域組成之Fd片段；(iv)由具有抗體之單個臂之V_L域及V_H域組成之Fv片段；(v) 包含例如V_H域之單個可變域之dAb片段(參見例如Ward等人(1989) Nature 341:544-6；及國際公開案第WO 1990/005144號)；及(vi)經分離之互補決定區(CDR)。此外，儘管Fv片段之兩個結構域V_L及V_H由單獨基因編碼，但其可使用重組方法藉由使其能夠以單一蛋白鏈形式製造之合成連接子來接合，其中V_L區及V_H區配對以形成單價分子(稱為單鏈Fv (scFv))。參見例如Bird等人(1988) Science 242:423-6；及Huston等人(1988) Proc Natl Acad Sci. USA 85:5879-83。該等單鏈抗體亦意欲涵蓋在術語抗體之「抗原結合片段」或「抗原結合部分」內，且在此項技術中稱為例示性類型之可在結合後內化至細胞中之結合片段(參見例如Zhu等人(2010) 9:2131-41；He等人(2010) J Nucl Med. 51:427-32；及Fitting等人(2015) MAbs 7:390-402)。在某些實施例中，scFv分子可併入融合蛋白中。亦涵蓋諸如雙功能抗體之單鏈抗體之其他形式。雙功能抗體為二價雙特異性抗體，其中V_H域及V_L域在單個多肽鏈上、但使用過短而不允許相同鏈上之兩個結構域之間進行配對之連接子進行表現，由此迫使結構域與另一鏈之互補域配對且產生兩個抗原結合位點(參見例如Holliger等人(1993) Proc Natl Acad Sci. USA 90:6444-8；及Poljak等人(1994) Structure 2:1121-3)。抗原結合片段係使用熟習此項技

術者已知之習知技術獲得，且結合片段係以與完整抗體相同之方式進行效用(例如結合親和力、內化)篩檢。抗原結合片段可藉由裂解完整蛋白，例如藉由蛋白酶或化學裂解來製備。

【0109】如本文關於抗體或抗原結合片段所使用之「內化性」係指抗體或抗原結合片段在結合至細胞後能夠吸收透過細胞之脂質雙層膜進入內部隔室(亦即「經內化」)，較佳地進入細胞中之降解隔室中。舉例而言，內化性抗HER2抗體為在結合至細胞膜上之HER2之後能夠吸收至細胞中之抗體。在一些實施例中，本文所揭示之ADC中所使用之抗體或抗原結合片段靶向細胞表面抗原(例如HER2)且為內化性抗體或內化性抗原結合片段(亦即ADC在抗原結合之後轉移透過細胞膜)。在一些實施例中，內化性抗體或抗原結合片段結合細胞表面上之受體。靶向細胞膜上之受體之內化性抗體或內化性抗原結合片段可誘導受體介導之胞吞作用。在一些實施例中，內化性抗體或內化性抗原結合片段經由受體介導之胞吞作用吸收至細胞中。

【0110】如本文關於抗體或抗原結合片段所使用之「非內化性」係指抗體或抗原結合片段在結合至細胞後保留在細胞表面處。在一些實施例中，本文所揭示之ADC中所使用之抗體或抗原結合片段靶向細胞表面抗原且為非內化性抗體或非內化性抗原結合片段(亦即ADC在抗原結合之後保留在細胞表面處且不轉移透過細胞膜)。在一些實施例中，非內化性抗體或抗原結合片段結合非內化性受體或其他細胞表面抗原。例示性非內化性細胞表面抗原包括但不限於CA125及CEA，且結合至非內化性抗原目標之抗體亦為此項技術中已知的(參見例如Bast等人(1981) J Clin Invest. 68(5):1331-7；Scholler及Urban (2007) Biomark Med. 1(4):513-23；及

Boudousq等人(2013) PLoS One 8(7):e69613)。

【0111】如本文所使用之術語「人類表皮生長因子受體2」、「HER2」或「HER2/NEU」係指任何天然形式之人類HER2。該術語涵蓋全長HER2 (例如UniProt參考序列：P04626；SEQ ID NO:31)以及可由細胞加工得到之任何形式之人類HER2。該術語亦涵蓋人類HER2之功能變異體或片段，包括但不限於保持人類HER2之一或多種生物功能之剪接變異體、對偶基因變異體及同功異型物(亦即除非上下文指示該術語僅用於指野生型蛋白質，否則涵蓋變異體及片段)。HER2可自人類分離，或可以重組方式或藉由合成方法產生。

【0112】術語「抗HER2抗體」或「結合至HER2之抗體」係指結合(例如特異性結合)至HER2之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等生物功能抗體片段結合(例如特異性結合)至HER2即可。美國專利第5,821,337號提供例示性HER2結合序列，包括例示性抗HER2抗體序列，且該案以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，本文所揭示之ADC中所使用之抗HER2抗體為內化性抗體或內化性抗體片段。曲妥珠單抗(trastuzumab)(美國專利第5,821,337號；Molina等人(2001) Cancer Res. 61(12):4744-9)為例示性抗人類HER2抗體。

【0113】如本文所使用之術語「多配體蛋白聚糖-1」、「SDC1」或「CD138」係指任何天然形式之人類CD138。該術語涵蓋全長CD138 (例如UniProt參考序列：P18827；SEQ ID NO:32)以及可由細胞加工得到之任何形式之人類CD138。該術語亦涵蓋人類CD138之功能變異體或片段，包括但不限於保持人類CD138之一或多種生物功能之剪接變異體、對偶基

因變異體及同功異型物(亦即除非上下文指示該術語僅用於指野生型蛋白質，否則涵蓋變異體及片段)。CD138可自人類分離，或可以重組方式或藉由合成方法產生。

【0114】術語「抗CD138抗體」或「結合至CD138之抗體」係指結合(例如特異性結合)至CD138之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等生物功能抗體片段結合(例如特異性結合)至CD138即可。在一些實施例中，本文所揭示之ADC中所使用之抗CD138抗體為內化性抗體或內化性抗體片段。B-B4 (Tassone等人(2004) Blood 104:3688-96)為例示性抗人類CD138抗體。

【0115】如本文所使用之術語「蝶素A型受體2」或「EPHA2」係指任何天然形式之人類EPHA2。該術語涵蓋全長EPHA2 (例如UniProt參考序列：P29317；SEQ ID NO:33)以及可由細胞加工得到之任何形式之人類EPHA2。該術語亦涵蓋人類EPHA2之功能變異體或片段，包括但不限於保持人類EPHA2之一或多種生物功能之剪接變異體、對偶基因變異體及同功異型物(亦即除非上下文指示該術語僅用於指野生型蛋白質，否則涵蓋變異體及片段)。EPHA2可自人類分離，或可以重組方式或藉由合成方法產生。

【0116】術語「抗EPHA2抗體」或「結合至EPHA2之抗體」係指結合(例如特異性結合)至EPHA2之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等生物功能抗體片段結合(例如特異性結合)至EPHA2即可。WO 2007/030642提供例示性EPHA2結合序列，包括例示性抗EPHA2抗體序列，且該案以引用

之方式併入本文中。在一些實施例中，本文所揭示之ADC中所使用之抗EPHA2抗體為內化性抗體或內化性抗體片段。1C1 (WO 2007/030642；Jackson等人(2008) Cancer Res. 68(22): 9367-74)為例示性抗人類EPHA2抗體。

【0117】如本文所使用之術語「間皮素」或「MSLN」係指任何天然形式之人類MSLN。該術語涵蓋全長MSLN (例如UniProt參考序列：Q13421；SEQ ID NO:94)以及可由細胞加工得到之任何形式之人類MSLN。該術語亦涵蓋人類MSLN之功能變異體或片段，包括但不限於保持人類MSLN之一或多種生物功能之剪接變異體、對偶基因變異體及同功異型物(亦即除非上下文指示該術語僅用於指野生型蛋白質，否則涵蓋變異體及片段)。MSLN可自人類分離，或可以重組方式或藉由合成方法產生。

【0118】術語「抗MSLN抗體」或「結合至MSLN之抗體」係指結合(例如特異性結合)至MSLN之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等生物功能抗體片段結合(例如特異性結合)至MSLN即可。WO 2011/074621提供例示性MSLN結合序列，包括例示性抗MSLN抗體序列，且該案以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，本文所揭示之ADC中所使用之抗MSLN抗體為內化性抗體或內化性抗體片段。11-25、IC14-30、IC7-4、IC17-35及2-9為例示性抗人類MSLN抗體。

【0119】如本文所使用之術語「麩胺酸羧肽酶2」或「FOLH1」係指任何天然形式之人類FOLH1。該術語涵蓋全長FOLH1 (例如UniProt參考序列：Q04609；SEQ ID NO:95)以及可由細胞加工得到之任何形式之

人類FOLH1。該術語亦涵蓋人類FOLH1之功能變異體或片段，包括但不限於保持人類FOLH1之一或多種生物功能之剪接變異體、對偶基因變異體及同功異型物(亦即除非上下文指示該術語僅用於指野生型蛋白質，否則涵蓋變異體及片段)。FOLH1可自人類分離，或可以重組方式或藉由合成方法產生。

【0120】術語「抗FOLH1抗體」或「結合至FOLH1之抗體」係指結合(例如特異性結合)至FOLH1之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等生物功能抗體片段結合(例如特異性結合)至FOLH1即可。WO 2019/012260及WO 2017/212250提供例示性FOLH1結合序列，包括例示性抗FOLH1抗體序列，且該等案以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，本文所揭示之ADC中所使用之抗FOLH1抗體為內化性抗體或內化性抗體片段。J591(去免疫型)為例示性抗人類FOLH1抗體。

【0121】如本文所使用之術語「鈣黏素-6」或「CDH6」係指任何天然形式之人類CDH6。該術語涵蓋全長CDH6 (例如UniProt參考序列：P55285；SEQ ID NO:96)以及可由細胞加工得到之任何形式之人類CDH6。該術語亦涵蓋人類CDH6之功能變異體或片段，包括但不限於保持人類CDH6之一或多種生物功能之剪接變異體、對偶基因變異體及同功異型物(亦即除非上下文指示該術語僅用於指野生型蛋白質，否則涵蓋變異體及片段)。CDH6可自人類分離，或可以重組方式或藉由合成方法產生。

【0122】術語「抗CDH6抗體」或「結合至CDH6之抗體」係指結合(例如特異性結合)至CDH6之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗體

(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等生物功能抗體片段結合(例如特異性結合)至CDH6即可。WO 2018/185618提供例示性CDH6結合序列，包括例示性抗CDH6抗體序列，且該案以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，本文所揭示之ADC中所使用之抗CDH6抗體為內化性抗體或內化性抗體片段。

【0123】如本文所使用之術語「癌胚抗原相關細胞黏附分子5」或「CEACAM5」係指任何天然形式之人類CEACAM5。該術語涵蓋全長CEACAM5 (例如UniProt參考序列：P06731；SEQ ID NO:97)以及可由細胞加工得到之任何形式之人類CEACAM5。該術語亦涵蓋人類CEACAM5之功能變異體或片段，包括但不限於保持人類CEACAM5之一或多種生物功能之剪接變異體、對偶基因變異體及同功異型物(亦即除非上下文指示該術語僅用於指野生型蛋白質，否則涵蓋變異體及片段)。CEACAM5可自人類分離，或可以重組方式或藉由合成方法產生。

【0124】術語「抗CEACAM5抗體」或「結合至CEACAM5之抗體」係指結合(例如特異性結合)至CEACAM5之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等生物功能抗體片段結合(例如特異性結合)至CEACAM5即可。US 2015/0125386提供例示性CEACAM5結合序列，包括例示性抗CEACAM5抗體序列，且該案以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，本文所揭示之ADC中所使用之抗CEACAM5抗體為內化性抗體或內化性抗體片段。hMN14為例示性抗人類CEACAM5抗體。

【0125】如本文所使用之術語「隱藏家族蛋白1B」或「CFC1B」係指任何天然形式之人類CFC1B。該術語涵蓋全長CFC1B (例如UniProt參

考序列：P0CG36；SEQ ID NO:98)以及可由細胞加工得到之任何形式之人類CFC1B。該術語亦涵蓋人類CFC1B之功能變異體或片段，包括但不限於保持人類CFC1B之一或多種生物功能之剪接變異體、對偶基因變異體及同功異型物(亦即除非上下文指示該術語僅用於指野生型蛋白質，否則涵蓋變異體及片段)。CFC1B可自人類分離，或可以重組方式或藉由合成方法產生。

【0126】術語「抗CFC1B抗體」或「結合至CFC1B之抗體」係指結合(例如特異性結合)至CFC1B之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等生物功能抗體片段結合(例如特異性結合)至CFC1B即可。WO 2002/088170提供例示性CFC1B結合序列，包括例示性抗CFC1B抗體序列，且該案以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，本文所揭示之ADC中所使用之抗CFC1B抗體為內化性抗體或內化性抗體片段。

【0127】如本文所使用之術語「外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶家族成員3」或「ENPP3」係指任何天然形式之人類ENPP3。該術語涵蓋全長ENPP3 (例如UniProt參考序列：O14638；SEQ ID NO:99)以及可由細胞加工得到之任何形式之人類ENPP3。該術語亦涵蓋人類ENPP3之功能變異體或片段，包括但不限於保持人類ENPP3之一或多種生物功能之剪接變異體、對偶基因變異體及同功異型物(亦即除非上下文指示該術語僅用於指野生型蛋白質，否則涵蓋變異體及片段)。ENPP3可自人類分離，或可以重組方式或藉由合成方法產生。

【0128】術語「抗ENPP3抗體」或「結合至ENPP3之抗體」係指結合(例如特異性結合)至ENPP3之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗

體(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等生物功能抗體片段結合(例如特異性結合)至ENPP3即可。Donate等人((2016) Clin Cancer Res. 22(8):1989-99)提供例示性ENPP3結合序列，包括例示性抗ENPP3抗體序列，且該文獻以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，本文所揭示之ADC中所使用之抗ENPP3抗體為內化性抗體或內化性抗體片段。

【0129】如本文所使用之術語「葉酸受體α」或「FOLR1」係指任何天然形式之人類FOLR1。該術語涵蓋全長FOLR1 (例如UniProt參考序列：P15328；SEQ ID NO:100)以及可由細胞加工得到之任何形式之人類FOLR1。該術語亦涵蓋人類FOLR1之功能變異體或片段，包括但不限於保持人類FOLR1之一或多種生物功能之剪接變異體、對偶基因變異體及同功異型物(亦即除非上下文指示該術語僅用於指野生型蛋白質，否則涵蓋變異體及片段)。FOLR1可自人類分離，或可以重組方式或藉由合成方法產生。

【0130】術語「抗FOLR1抗體」或「結合至FOLR1之抗體」係指結合(例如特異性結合)至FOLR1之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等生物功能抗體片段結合(例如特異性結合)至FOLR1即可。WO 2005/080431及Coney等人((1991) Cancer Res. 51(22):6125-32)提供例示性FOLR1結合序列，包括例示性抗FOLR1抗體序列，且該案及文獻以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，本文所揭示之ADC中所使用之抗FOLR1抗體為內化性抗體或內化性抗體片段。伐吐珠單抗(Farletuzumab)及MOv19為例示性抗人類FOLR1抗體。

【0131】如本文所使用之術語「A型肝炎病毒細胞受體1」或「HAVCR1」係指任何天然形式之人類HAVCR1。該術語涵蓋全長HAVCR1 (例如UniProt參考序列：Q96D42；SEQ ID NO:101)以及可由細胞加工得到之任何形式之人類HAVCR1。該術語亦涵蓋人類HAVCR1之功能變異體或片段，包括但不限於保持人類HAVCR1之一或多種生物功能之剪接變異體、對偶基因變異體及同功異型物(亦即除非上下文指示該術語僅用於指野生型蛋白質，否則涵蓋變異體及片段)。HAVCR1可自人類分離，或可以重組方式或藉由合成方法產生。

【0132】術語「抗HAVCR1抗體」或「結合至HAVCR1之抗體」係指結合(例如特異性結合)至HAVCR1之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等生物功能抗體片段結合(例如特異性結合)至HAVCR1即可。Thomas等人((2016) Mol Cancer Ther. 15(12):2946-54)提供例示性HAVCR1結合序列，包括例示性抗HAVCR1抗體序列，且該文獻以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，本文所揭示之ADC中所使用之抗HAVCR1抗體為內化性抗體或內化性抗體片段。

【0133】如本文所使用之術語「肥大細胞/幹細胞生長因子受體Kit」或「KIT」係指任何天然形式之人類KIT。該術語涵蓋全長KIT (例如UniProt參考序列：P10721；SEQ ID NO:102)以及可由細胞加工得到之任何形式之人類KIT。該術語亦涵蓋人類KIT之功能變異體或片段，包括但不限於保持人類KIT之一或多種生物功能之剪接變異體、對偶基因變異體及同功異型物(亦即除非上下文指示該術語僅用於指野生型蛋白質，否則涵蓋變異體及片段)。KIT可自人類分離，或可以重組方式或藉由合成

方法產生。

【0134】術語「抗KIT抗體」或「結合至KIT之抗體」係指結合(例如特異性結合)至KIT之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等生物功能抗體片段結合(例如特異性結合)至KIT即可。Shi等人((2016) Proc Natl Acad Sci USA 113(33):E4784-93)及Abrams等人((2018) Clin Cancer Res. 24(17):4297-308)提供例示性KIT結合序列，包括例示性抗KIT抗體序列，且該等文獻以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，本文所揭示之ADC中所使用之抗KIT抗體為內化性抗體或內化性抗體片段。

【0135】如本文所使用之術語「肝細胞生長因子受體」或「MET」係指任何天然形式之人類MET。該術語涵蓋全長MET (例如UniProt參考序列：P08581；SEQ ID NO:103)以及可由細胞加工得到之任何形式之人類MET。該術語亦涵蓋人類MET之功能變異體或片段，包括但不限於保持人類MET之一或多種生物功能之剪接變異體、對偶基因變異體及同功異型物(亦即除非上下文指示該術語僅用於指野生型蛋白質，否則涵蓋變異體及片段)。MET可自人類分離，或可以重組方式或藉由合成方法產生。

【0136】術語「抗MET抗體」或「結合至MET之抗體」係指結合(例如特異性結合)至MET之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等生物功能抗體片段結合(例如特異性結合)至MET即可。Yang等人((2019) Acta Pharmacol Sin.)提供例示性MET結合序列，包括例示性抗MET抗體序列，且該文獻以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，本文所揭示之

ADC中所使用之抗MET抗體為內化性抗體或內化性抗體片段。

【0137】如本文所使用之術語「黏蛋白-16」或「MUC16」係指任何天然形式之人類MUC16。該術語涵蓋全長MUC16 (例如UniProt參考序列：Q8WXI7；SEQ ID NO:104)以及可由細胞加工得到之任何形式之人類MUC16。該術語亦涵蓋人類MUC16之功能變異體或片段，包括但不限於保持人類MUC16之一或多種生物功能之剪接變異體、對偶基因變異體及同功異型物(亦即除非上下文指示該術語僅用於指野生型蛋白質，否則涵蓋變異體及片段)。MUC16可自人類分離，或可以重組方式或藉由合成方法產生。

【0138】術語「抗MUC16抗體」或「結合至MUC16之抗體」係指結合(例如特異性結合)至MUC16之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等生物功能抗體片段結合(例如特異性結合)至MUC16即可。Liu等人((2016) Ann Oncol. 27(11):2124-30)提供例示性MUC16結合序列，包括例示性抗MUC16抗體序列，且該文獻以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，本文所揭示之ADC中所使用之抗MUC16抗體為內化性抗體或內化性抗體片段。

【0139】如本文所使用之術語「鋅轉運子ZIP6」或「SLC39A6」係指任何天然形式之人類SLC39A6。該術語涵蓋全長SLC39A6 (例如UniProt參考序列：Q13433；SEQ ID NO:105)以及可由細胞加工得到之任何形式之人類SLC39A6。該術語亦涵蓋人類SLC39A6之功能變異體或片段，包括但不限於保持人類SLC39A6之一或多種生物功能之剪接變異體、對偶基因變異體及同功異型物(亦即除非上下文指示該術語僅用於指

野生型蛋白質，否則涵蓋變異體及片段)。SLC39A6可自人類分離，或可以重組方式或藉由合成方法產生。

【0140】術語「抗SLC39A6抗體」或「結合至SLC39A6之抗體」係指結合(例如特異性結合)至SLC39A6之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等生物功能抗體片段結合(例如特異性結合)至SLC39A6即可。Sussman等人((2014) Mol Cancer Ther. 13(12):2991-3000)提供例示性SLC39A6結合序列，包括例示性抗SLC39A6抗體序列，且該文獻以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，本文所揭示之ADC中所使用之抗SLC39A6抗體為內化性抗體或內化性抗體片段。

【0141】如本文所使用之術語「膽鹼轉運子樣蛋白4」或「SLC44A4」係指任何天然形式之人類SLC44A4。該術語涵蓋全長SLC44A4 (例如UniProt參考序列：Q53GD3；SEQ ID NO:106)以及可由細胞加工得到之任何形式之人類SLC44A4。該術語亦涵蓋人類SLC44A4之功能變異體或片段，包括但不限於保持人類SLC44A4之一或多種生物功能之剪接變異體、對偶基因變異體及同功異型物(亦即除非上下文指示該術語僅用於指野生型蛋白質，否則涵蓋變異體及片段)。SLC44A4可自人類分離，或可以重組方式或藉由合成方法產生。

【0142】術語「抗SLC44A4抗體」或「結合至SLC44A4之抗體」係指結合(例如特異性結合)至SLC44A4之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等生物功能抗體片段結合(例如特異性結合)至SLC44A4即可。Mattie等人((2016) Mol Cancer Ther. 15(11):2679-87)提供例示性SLC44A4結合序

列，包括例示性抗SLC44A4抗體序列，且該文獻以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，本文所揭示之ADC中所使用之抗SLC44A4抗體為內化性抗體或內化性抗體片段。

【0143】如本文所使用之術語「金屬還原酶STEAP1」或「STEAP1」係指任何天然形式之人類STEAP1。該術語涵蓋全長STEAP1 (例如UniProt參考序列：Q9UHE8；SEQ ID NO:107)以及可由細胞加工得到之任何形式之人類STEAP1。該術語亦涵蓋人類STEAP1之功能變異體或片段，包括但不限於保持人類STEAP1之一或多種生物功能之剪接變異體、對偶基因變異體及同功異型物(亦即除非上下文指示該術語僅用於指野生型蛋白質，否則涵蓋變異體及片段)。STEAP1可自人類分離，或可以重組方式或藉由合成方法產生。

【0144】術語「抗STEAP1抗體」或「結合至STEAP1之抗體」係指結合(例如特異性結合)至STEAP1之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等生物功能抗體片段結合(例如特異性結合)至STEAP1即可。WO 2008/052187提供例示性STEAP1結合序列，包括例示性抗STEAP1抗體序列，且該案以引用之方式併入本文中。在一些實施例中，本文所揭示之ADC中所使用之抗STEAP1抗體為內化性抗體或內化性抗體片段。

【0145】如本文所使用之術語「特異性」、「特異性結合(specifically binds/binds specifically)」係指抗體或抗原結合片段(例如抗HER2抗體)與異質蛋白質及其他生物製品群體中之目標抗原(例如HER2)之間的結合反應。可藉由在一組給定條件下比較與適當抗原之結合與與不相關抗原或抗原混合物之結合來測試抗體之結合特異性。若抗體結合至適當抗原且親

和力為與不相關抗原或抗原混合物之結合親和力之至少2、5、7倍且較佳10倍或更多倍，則認為其具有特異性。「特異性抗體」或「目標特異性抗體」為僅結合目標抗原(例如HER2)、但不結合至其他抗原(或展現與其他抗原之最小結合)的抗體。在某些實施例中，特異性結合目標抗原(例如HER2)之抗體或抗原結合片段之K_D小於1×10^{-6} M、小於1×10^{-7} M、小於1×10^{-8} M、小於1×10^{-9} M、小於1×10^{-10} M、小於1×10^{-11} M、小於1×10^{-12} M或小於1×10^{-13} M。在某些實施例中，K_D為1 pM至500 pM。在一些實施例中，K_D係介於500 pM至1 μM、1 μM至100 nM或100 mM至10 nM之間。

【0146】術語「抗原決定基」係指能夠由抗體辨識且特異性結合之抗原之部分。當抗原為多肽時，抗原決定基可由連續胺基酸或藉由多肽之三級摺疊而鄰接之非連續胺基酸形成。抗體所結合之抗原決定基可使用此項技術中已知之任何抗原決定基定位技術來識別，該抗原決定基定位技術包括用於抗原決定基識別之X射線結晶學，其係藉由直接觀測抗原-抗體複合物，以及監測抗體與抗原之片段或突變型變異體之結合，或監測抗體及抗原之不同部分的溶劑可接近性。用於定位抗體抗原決定基之例示性策略包括但不限於基於陣列之寡肽掃描、受限蛋白質水解、定點突變誘發、高通量突變誘發定位、氫-氘交換及質譜法(參見例如Gershoni等人(2007) 21:145-56； 及Hager-Braun及Tomer (2005) Expert Rev Proteomics 2:745-56)。

【0147】亦可使用競爭性結合及抗原決定基分箱(epitope binning)來確定共有相同或重疊抗原決定基之抗體。競爭性結合可使用諸如「Antibodies, A Laboratory Manual」, Cold Spring Harbor Laboratory,

Harlow及Lane(1988年第1版, 2014年第2版)中所描述之分析之交叉阻斷分析來進行評估。在一些實施例中，當在交叉阻斷分析中，測試抗體或結合蛋白使參考抗體或結合蛋白(例如包含CDR及/或選自表2-4中所識別之可變域之可變域的結合蛋白)與目標抗原(諸如HER2)之結合減少至少約50%(例如50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、99.5%或更高或其間之任何百分比)時，識別出競爭性結合，且/或反之亦然。在一些實施例中，競爭性結合可歸因於共用或類似(例如部分重疊)之抗原決定基，或由於其中抗體或結合蛋白在鄰近抗原決定基處結合之位阻(參見例如Tzartos, Methods in Molecular Biology (Morris, 編(1998) 第66卷, 第55-66頁))。在一些實施例中，可使用競爭性結合來分選共有類似抗原決定基之結合蛋白之群組。舉例而言，競爭結合之結合蛋白可「分箱」為具有重疊或鄰近抗原決定基之結合蛋白組，而不競爭之結合蛋白歸入不具有重疊或鄰近抗原決定基之單獨結合蛋白組。

【0148】術語「k_{on}」或「k_a」係指抗體與抗原締合以形成抗體/抗原複合物之締合速率常數。該速率可使用諸如表面電漿共振、生物層干涉量測術或ELISA分析之標準分析來測定。

【0149】術語「k_{off}」或「k_d」係指抗體自抗體/抗原複合物解離之解離速率常數。該速率可使用諸如表面電漿共振、生物層干涉量測術或ELISA分析之標準分析來測定。

【0150】術語「K_D」係指特定抗體-抗原相互作用之平衡解離常數。K_D係藉由k_a/k_d來計算。該速率可使用諸如表面電漿共振、生物層干涉量測術或ELISA分析之標準分析來測定。

【0151】在本文所揭示之ADC中，術語「p」或「荷伯希二烯剪接調

節子負載量」或「荷伯希二烯剪接調節子:抗體比」或「荷伯希二烯剪接調節子與抗體比」或「HAR」係指每個抗體或抗原結合片段之荷伯希二烯剪接調節子之數目，亦即荷伯希二烯剪接調節子負載量，或每個抗體或抗原結合片段(Ab)之-L-H部分之數目。在包含荷伯希二烯剪接調節子之ADC中，「p」係指連接至抗體或抗原結合片段之荷伯希二烯剪接調節子之數目。舉例而言，若兩個荷伯希二烯剪接調節子(例如各自具有H3結構之兩種化合物)均連接至抗體或抗原結合片段，則$p = 2$。在包含如本文所描述之ADC之多個複本之組合物中，「平均p」係指每個抗體或抗原結合片段之-L-H部分之平均數目，亦稱為「平均荷伯希二烯剪接調節子負載量」。

【0152】「連接子」或「連接子部分」在本文中用於指能夠將化合物(通常藥物部分，諸如荷伯希二烯剪接調節子藥物部分)共價接合至另一部分(諸如抗體或抗原結合片段)之任何化學部分。連接子可能在使化合物或抗體保持活性之條件下易於發生或實質上抵抗酸誘導之裂解、肽酶誘導之裂解、基於光之裂解、酯酶誘導之裂解及/或二硫鍵裂解。

【0153】術語「藥劑」在本文中用於指化合物、化合物之混合物、生物大分子或由生物材料製成之提取物。術語「治療劑」或「藥物」係指能夠調節生物過程且/或具有生物活性之藥劑。本文所描述之荷伯希二烯剪接調節子為例示性治療劑。

【0154】術語「化學治療劑」或「抗癌劑」在本文中用於指不管作用機制如何，均有效治療癌症之所有藥劑。轉移或血管生成之抑制常常為化學治療劑之特性。化學治療劑包括抗體、生物分子及小分子，且涵蓋本文所描述之荷伯希二烯剪接調節子化合物。化學治療劑可為細胞毒性劑或

細胞生長抑制劑。術語「細胞生長抑制劑」係指抑制或遏制細胞生長及/或細胞增殖之藥劑。術語「細胞毒性劑」係指主要藉由干擾細胞之表現活性及/或運作而造成細胞死亡之物質。

【0155】如本文所使用之術語「荷伯希二烯剪接調節子(herboxidiene splicing modulator/herboxidiene splice modulator)」、「荷伯希二烯剪接體調節子」係指藉由與剪接體之組分相互作用而具有抗癌活性且與荷伯希二烯結構上相關之化合物。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子更改目標細胞中之剪接速率或形式。充當抑制劑之荷伯希二烯剪接調節子例如能夠減少不受控之細胞增殖。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子可藉由結合至SF3b剪接體複合物而起作用。該等調節子可為天然存在之或合成之荷伯希二烯衍生物或類似物。當提及荷伯希二烯剪接調節子或其類似物時，如本文所使用之術語「衍生物」及「類似物」意謂與荷伯希二烯保持基本上相同、類似或經增強之生物功能或活性、但具有經更改之化學或生物學結構的任何該化合物。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子為荷伯希二烯衍生物。

【0156】如本文所使用之「荷伯希二烯剪接調節子藥物部分」係指提供荷伯希二烯剪接調節子化合物之結構之ADC或組合物的組分，例如式(I) ADC或包含-L-H之組合物中之荷伯希二烯剪接調節子(H)組分。

【0157】如本文所使用之「剪接體」係指自諸如pre-mRNA區段之一或多個RNA區段移除內含子之核糖核蛋白複合物。

【0158】術語「同源物」係指藉由例如在對應位置處具有相同或類似之化學殘基之序列而展現與另一分子之同源性的分子。

【0159】如本文所使用之術語「抑制(inhibit/inhibition of)」意謂減

少可量測之量，且可包括但不需要完全預防或抑制。

【0160】術語「目標陰性」、「目標抗原陰性」或「抗原陰性」係指細胞或組織不存在目標抗原表現。術語「目標陽性」、「目標抗原陽性」或「抗原陽性」係指存在目標抗原表現。舉例而言，不表現目標抗原之細胞或細胞株可描述為目標陰性的，而表現目標抗原之細胞或細胞株可描述為目標陽性的。

【0161】術語「旁觀者殺滅」或「旁觀者效應」係指在目標陽性細胞存在之情況下目標陰性細胞之殺滅，其中在目標陽性細胞不存在之情況下未觀測到目標陰性細胞之殺滅。細胞間接觸或至少目標陽性細胞與目標陰性細胞之間之鄰近使得能夠進行旁觀者殺滅。此類殺滅可與「脫靶殺滅」相區分，該「脫靶殺滅」係指對目標陰性細胞之無差別殺滅。在目標陽性細胞不存在之情況下可觀測到「脫靶殺滅」。

【0162】術語「贅生性病症」與「癌症」在本文中可互換用於指存在具有致癌細胞特有之特徵，諸如不受控之增殖、不滅性、轉移潛在性、快速生長及增殖速率及/或某些形態特點的細胞。通常，癌細胞可呈腫瘤或腫塊形式，但該等細胞可單獨存在於個體內，或可在血流中作為諸如白血病細胞或淋巴瘤細胞之獨立細胞循環。術語「贅生性病症」及「癌症」包括所有類型之癌症及癌症轉移，包括血液惡性病、實體腫瘤、肉瘤、癌瘤及其他實體腫瘤癌症及非實體腫瘤癌症。血液惡性病可包括B細胞惡性病、血癌(白血病)、漿細胞癌(骨髓瘤，例如多發性骨髓瘤)或淋巴結癌(淋巴瘤)。例示性B細胞惡性病包括慢性淋巴球性白血病(CLL)、濾泡性淋巴瘤、套細胞淋巴瘤及彌漫性大B細胞淋巴瘤。白血病可包括急性淋巴母細胞白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴球性白血病

(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性骨髓單核球性白血病(CMML)、急性單核球性白血病(AMoL)等。淋巴瘤可包括霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)及非霍奇金氏淋巴瘤。其他血液惡性病可包括骨髓化生不良症候群(MDS)。實體腫瘤可包括癌瘤，諸如腺癌，例如乳癌、胰臟癌、前列腺癌、大腸癌或大腸直腸癌、肺癌、胃癌、子宮頸癌、子宮內膜癌、卵巢癌、膽管癌、神經膠質瘤、黑色素瘤等。

【0163】術語「腫瘤」及「贅瘤」係指由過量細胞生長或增殖造成之良性或惡性之任何組織腫塊，包括癌前病變。

【0164】術語「腫瘤細胞」與「贅生性細胞」可互換使用且係指來源於腫瘤或贅瘤之個別細胞或總細胞群，包括非致瘤細胞及癌幹細胞兩者。當僅提及缺乏更新及分化能力之彼等腫瘤細胞時，如本文所使用之術語「腫瘤細胞」由術語「非致瘤」修飾以將彼等腫瘤細胞與癌幹細胞區分開。

【0165】術語「個體」與「患者」在本文中可互換用於指任何動物，諸如任何哺乳動物，包括但不限於人類、非人類靈長類動物、嚙齒動物及其類似動物。在一些實施例中，哺乳動物為小鼠。在一些實施例中，哺乳動物為人類。在一些實施例中，個體為小鼠。在一些實施例中，個體為人類。

【0166】術語「共投與」或「組合」投與一或多種治療劑包括同時投與及按任何次序連續投與。

【0167】「醫藥組合物」係指呈准許投與活性成分且隨後提供活性成分之預期生物活性及/或達成治療效果之形式，且不含對應投與調配物之個體具有不可接受毒性之額外組分的製劑。醫藥組合物可為無菌的。

【0168】「醫藥賦形劑」包含諸如佐劑、載劑、pH調節劑及緩衝劑、張力調節劑、潤濕劑、防腐劑及其類似試劑之物質。

【0169】「醫藥學上可接受之」意謂經聯邦管制機構或洲政府審批通過或可由其審批通過，或在美國藥典(U.S. Pharmacopeia)或其他普遍公認藥典中列出以用於動物且更特定言之用於人類。

【0170】「醫藥學上可接受之鹽」為保持母體化合物之所需生物活性且不賦予非所需毒理學作用之鹽。該等鹽之實例為：(a)用無機酸形成之酸加成鹽，該等無機酸例如為鹽酸、氫溴酸、硫酸、磷酸、硝酸及其類似無機酸；及用有機酸形成之鹽，該等有機酸例如為乙酸、草酸、酒石酸、琥珀酸、順丁烯二酸、反丁烯二酸、葡萄糖酸、檸檬酸、蘋果酸、抗壞血酸、苯甲酸、鞣酸、棕櫚酸、海藻酸、聚麩胺酸、萘磺酸、甲磺酸、對甲苯磺酸、萘二磺酸、聚半乳糖醛酸及其類似有機酸；及(b)由諸如氯、溴及碘之元素陰離子形成之鹽。參見例如Haynes等人「Commentary: Occurrence of Pharmaceutically Acceptable Anions and Cations in the Cambridge Structural Database」, J Pharmaceutical Sciences, 第94卷, 第10號(2005)，及Berge等人「Pharmaceutical Salts」, J Pharmaceutical Sciences, 第66卷, 第1號(1977)，該等文獻以引用之方式併入本文中。

【0171】如本文所使用之術語「有效量」係指本文所描述之化合物、ADC或組合物(例如荷伯希二烯剪接調節子或ADC)足以執行經特定地陳述之目的，例如足以在投與之後產生治療效果，諸如腫瘤生長率降低或腫瘤體積減小、癌症症狀減輕或治療功效之一些其他標誌的量。有效量可以與所陳述目的相關之常規方式來測定。術語「治療有效量」係指本文所描述之化合物、ADC或組合物有效地可偵測性地殺滅腫瘤細胞、減少及/

或抑制腫瘤細胞之生長或擴散、腫瘤之尺寸或數目及/或癌症之程度、階段、發展及/或嚴重程度之其他量度的量。治療有效量可視預期施用(活體外或活體內)或所治療之個體及疾病病況，例如個體之體重及年齡、疾病病況之嚴重程度、投與方式及其可易於由一般熟習此項技術者確定之類似者而變化。該術語亦適用於在目標細胞中誘導特定反應，例如抑制細胞生長之劑量。具體劑量可視例如特定醫藥組合物、個體及其年齡以及現有健康狀況或健康狀況之風險、待遵循之給藥方案、疾病之嚴重程度、投與時序(不論其是否與其他藥劑組合投與)、待投與之組織以及攜載其之物理遞送系統而變化。在癌症情況下，治療有效量之ADC可減少癌細胞之數目、減小腫瘤尺寸、抑制(例如減緩或停止)腫瘤轉移、抑制(例如減緩或停止)腫瘤生長及/或緩解一或多種症狀。

【0172】「預防有效量」係指在必需劑量及時間段下有效達成所需預防結果之量。通常，由於預防劑量係在疾病之前或在疾病早期階段時用於個體中，故預防有效量小於治療有效量。

【0173】如本文所使用之「以治療」或「治療性」及語法相關術語係指疾病之任何後果之任何改善，諸如經延長之存活期、較低發病率及/或由替代性治療模式引起之副作用減輕。如此項技術中易於瞭解，治療操作涵蓋但不需要疾病之完全根除。如本文所使用之「治療(treatment/treat)」係指將所描述之ADC或組合物投與至例如患者之個體。治療可用於治癒、癒合、減輕、緩解、更改、補救、改善、緩和、改進或影響病症(例如癌症)、病症之症狀或患病症之傾向性。在一些實施例中，除治療患有病況之個體之外，亦可預防性提供本文所揭示之組合物以預防或降低罹患彼病況之可能性。

【0174】在一些實施例中，使用經標記之ADC。合適「標記」包括放射性核種、酶、受質、輔因子、抑制因子、螢光部分、化學發光部分、磁性粒子及其類似物。

【0175】如本文所使用之「蛋白質」意謂至少兩個共價連接之胺基酸。該術語涵蓋多肽、寡肽及肽。在一些實施例中，兩個或更多個共價連接之胺基酸係藉由肽鍵連接。蛋白質可由天然存在之胺基酸及肽鍵構成，例如當蛋白質係使用表現系統及宿主細胞以重組方式製成時如此。可替代地，蛋白質可包括合成胺基酸(例如高苯丙胺酸、瓜胺酸、鳥胺酸及正白胺酸)或肽模擬物結構(亦即「肽或蛋白質類似物」，諸如類肽)。類肽為其側鏈附接至肽主鏈之氮原子而非附接至α-碳(因為其處於胺基酸中)之例示性類別之肽模擬物，且具有相較於肽而言不同之氫鍵結及構形特徵(參見例如Simon等人(1992) Proc Natl Acad Sci. USA 89:9367)。因此，類肽可能對蛋白質水解或其他生理或儲存條件具有抗性，且有效地滲透細胞膜。可併入該等合成胺基酸，詳言之當藉由此項技術中熟知之習知方法活體外合成抗體時如此。另外，可使用肽模擬物、合成殘基/結構及天然存在之殘基/結構之任何組合。「胺基酸」亦包括諸如脯胺酸及羥基脯胺酸之亞胺基酸殘基。胺基酸「R基」或「側鏈」可呈(L)-或(S)-組態。在一具體實施例中，胺基酸呈(L)-或(S)-組態。

【0176】「重組蛋白」為使用重組技術、使用此項技術中已知之任何技術及方法，亦即經由表現重組核酸而製成之蛋白質。用於產生重組蛋白之方法及技術在此項技術中眾所周知。

【0177】「經分離之」蛋白質未伴隨在其天然狀態下通常與其締合之至少某種材料，例如占給定樣品中總蛋白質之至少約5重量%或至少約

50重量%。應理解，經分離之蛋白質可視情況而定占總蛋白質含量之5重量%至99.9重量%。舉例而言，可經由使用誘導性啟動子或高表現啟動子以顯著較高之濃度製造蛋白質，以使得以經增加之濃度水準製造蛋白質。該定義包括在此項技術中已知之廣泛多種之生物體及/或宿主細胞中產生抗體。

【0178】對於胺基酸序列，序列一致性及/或類似性可使用包括但不限於Smith及Waterman (1981) Adv Appl Math. 2:482之局域序列一致性演算法、Needleman及Wunsch (1970) J Mol Biol. 48:443之序列一致性比對演算法、Pearson及Lipman (1988) Proc Nat Acad Sci. USA 85:2444之類似性方法檢索、此等演算法之電腦化實施方案(Wisconsin Genetics套裝軟體, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.中之GAP、BESTFIT、FASTA及TFASTA)、Devereux等人(1984) Nucl Acid Res. 12:387-95描述之Best Fit序列程式之此項技術中已知之標準技術，較佳使用預設設定或藉由檢驗來測定。較佳地，一致性百分比係藉由FastDB基於以下參數來計算：錯配罰分1；空隙罰分1；空隙尺寸罰分0.33；及接合罰分30 (「Current Methods in Sequence Comparison and Analysis」, Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications, 第127-149頁(1988), Alan R. Liss, Inc)。

【0179】適用演算法之實例為PILEUP。PILEUP使用漸進式成對比對由一組相關序列產生多序列比對。其亦可繪製顯示用於產生比對之叢集關係之樹形圖。PILEUP使用Feng及Doolittle (1987) J Mol Evol. 35:351-60之漸進式比對方法之簡化形式；該方法類似於Higgins及Sharp (1989) CABIOS 5:151-3所描述之方法。適用PILEUP參數包括預設空隙權重

3.00、預設空隙長度權重0.10及加權末端空隙。

【0180】適用演算法之另一實例為以下中所描述之BLAST演算法：Altschul等人(1990) J Mol Biol. 215:403-10；Altschul等人(1997) Nucl Acid Res. 25:3389-402；及Karin等人(1993) Proc Natl Acad Sci. USA 90:5873-87。特別適用之BLAST程式為自Altschul等人(1996) Methods in Enzymology 266:460-80獲得之WU-BLAST-2程式。WU-BLAST-2使用若干檢索參數，其中大部分設定成預設值。用以下值設定可調參數：重疊間隔=1、重疊分數=0.125、字臨限值(T)=II。HSP S及HSP S2參數為動態值且藉由程式本身視特定序列之組成及檢索所關注序列所對照之特定資料庫之組成而確立；然而可調節該等值以提高敏感性。

【0181】額外之適用演算法為Altschul等人(1997) Nucl Acid Res. 25:3389-402所報導之帶空隙之BLAST。帶空隙之BLAST使用BLOSUM-62取代計分；臨限值T參數設定成9；二次打擊法(two-hit method)用於觸發無空隙之延伸部分，加入空隙長度k，代價為10+k；Xu設定成16，且Xg在資料庫檢索階段設定成40，且在演算法輸出階段設定成67。空隙比對係由對應於約22比之計分觸發。

【0182】一般而言，本文所揭示之蛋白質及其變異體(包括目標抗原(諸如HER2、CD138或EPHA2、MSLN、FOLH1、CDH6、CEACAM5、CFC1B、ENPP3、FOLR1、HAVCR1、KIT、MET、MUC16、SLC39A6、SLC44A4或STEAP1)變異體及抗體可變域變異體(包括個別變異CDR))與本文所描繪之序列之間之胺基酸同源性、類似性或一致性為至少80%，例如同源性或一致性為至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、近似100%或100%。

【0183】以類似方式，關於抗體及本文所識別之其他蛋白質之核酸序列之「核酸序列一致性百分比(%)」定義為與抗原結合蛋白之編碼序列中之核苷酸殘基相同的候選序列中的核苷酸殘基百分比。特定方法利用設定成預設參數之WU-BLAST-2之BLASTN模組，其中重疊間隔及重疊分數分別設定成1及0.125。

【0184】儘管引入胺基酸序列變化之位點或區域為預先確定的，但突變本身無需預先確定。舉例而言，為使給定位點處之突變之效能最佳化，可在目標密碼子或區域處進行隨機突變誘發且篩檢經表現之抗原結合蛋白CDR變異體之所需活性的最佳組合。用於在具有已知序列之DNA中之預確定位點處進行取代突變之技術為眾所周知的，例如M13引子突變誘發及PCR突變誘發。

【0185】如本文所使用之「烷基(alkyl/alkyl group)」意謂完全飽和之直鏈、分支鏈或環烴鏈。在某些實施例中，烷基可含有1-8個碳原子(「C_1-C_8烷基」)。在某些實施例中，烷基可含有1-6個碳原子(「C_1-C_6烷基」)。在某些實施例中，烷基含有1-3個碳原子。在又其他實施例中，烷基含有2-3個碳原子，且在又其他實施例中，烷基含有1-2個碳原子。

【0186】如本文所使用之「烷基烷氧基」意謂經烷氧基取代之烷基。

【0187】如本文所使用之「烷氧基」係指經由氧(「烷氧基」)原子連接至主碳鏈之如先前所定義之烷基。

【0188】如本文所使用之「烷基羥基」意謂經羥基取代之烷基。

【0189】如本文所使用之「羥基(hydroxy/hydroxyl)」係指-OH。

【0190】如本文所使用之「碳環」或「碳環基」包括芳族基團(例如

芳基)及非芳族基團(例如環烷基)兩者。在某些實施例中，碳環基團含有3-10個碳原子(「3至10員碳環」)。在某些實施例中，碳環基團含有3-8個碳原子(「3至8員碳環」)。在某些實施例中，碳環基團含有3-6個碳原子(「3至6員碳環」)。在某些實施例中，碳環基團含有3-5個碳原子(「3至5員碳環」)。

【0191】如本文所使用之「鹵烷基」係指經一或多個鹵素原子取代之烷基。

【0192】「鹵素」係指任何鹵素基團，例如-F、-Cl、-Br或-I。

【0193】如本文所使用之術語「雜環(heterocycle/heterocyclyl/heterocyclic)」、「雜環基」意謂在環中含有至少一個雜原子之單環雜環、雙環雜環或三環雜環。

【0194】單環雜環為含有至少一個獨立地選自O、N及S之雜原子之3員、4員、5員、6員、7員或8員環。在一些實施例中，該雜環為含有一個選自O、N及S之雜原子之3員或4員環。在一些實施例中，該雜環為含有零個或一個雙鍵及一個、兩個或三個選自O、N及S之雜原子之5員環。在一些實施例中，該雜環為含有零個、一個或兩個雙鍵及一個、兩個或三個選自O、N及S之雜原子之6員、7員或8員環。單環雜環之代表性實例包括但不限於氮雜環丁烷基、氮雜環庚烷基、氮雜環丙烷基、二氮雜環庚烷基、1 ,3-二氧雜環己烷基、1,3-二氧戊環基、二氫哌喃基(包括3,4-二氫-2H-哌喃-6-基)、1,3-二硫雜環戊烷基、1,3-二噻烷基、咪唑啉基、咪唑啶基、異噻唑啉基、異噻唑啶基、異噁唑啉基、異噁唑啶基、嗎啉基、噁二唑啉基、噁二唑啶基、噁唑啉基、噁唑啶基、哌嗪基、哌啶基、哌喃基、吡唑啉基、吡唑啶基、吡咯啉基、吡咯啶基、四氫呋喃基、四氫哌喃基

(包括四氫-2H-哌喃-4-基)、四氫噻吩基、噻二唑啉基、噻二唑啶基、噻唑啉基、噻唑啶基、硫代嗎啉基、1,1-二氧離子基硫代嗎啉基(硫代嗎啉碸)、硫代哌喃基及三噻烷基。

【0195】本發明之雙環雜環可包括與芳基稠合之單環雜環、或與單環環烷基稠合之單環雜環、或與單環環烯基稠合之單環雜環、或與具有總計5至12個環原子之單環雜環稠合之單環雜環。雙環雜環之實例包括但不限於3,4-二氫-2H-哌喃基、1,3-苯并間二氧雜環戊烯基、1,3-苯并二硫雜環戊烯基、2,3-二氫-1,4-苯并間二氧雜環己烯基、2,3-二氫-1-苯并呋喃基、2,3-二氫-1-苯并噻吩基、2,3-二氫-1H-吲哚基及1,2,3,4-四氫喹啉基。

【0196】術語「雜環(heterocycle/heterocyclyl/heterocyclic)」、「雜環基」涵蓋雜芳基。「雜芳基」係指具有一或多個閉合環且在該等環中之至少一個中具有一或多個雜原子(氧、氮或硫)之環狀部分，其中該等環中之至少一個為芳族環，且其中該環或該等環可獨立地經稠合及/或橋連。實例包括不限於苯基、噻吩基、三唑基、吡啶基、嘧啶基、噠嗪基及吡嗪基。

【0197】如本文所描述，本發明之化合物可含有「視情況經取代之」部分。一般而言，術語「經取代之」無論前面是否有術語「視情況」均意謂指定部分之一或多個氫經合適取代基置換。除非另外指示，否則「視情況經取代之」基團可在該基團之各可取代位置處具有合適取代基，且當任何給定結構中之超過一個位置可經超過一個選自指定群組之取代基取代時，在各位置處之取代基可相同或不同。依據本發明預想之取代基組合較佳為引起形成穩定或化學上可行之化合物的取代基組合。

【0198】熟習此項技術者應理解，「取代」或「經取代」或「不存

在」包括以下隱含限制條件：該取代或不存在係根據經取代原子及取代基之准許價數，且取代或不存在產生穩定化合物，例如該穩定化合物不自發地經歷諸如藉由重排、環化、消除等進行之轉型。出於本發明之目的，諸如氮之雜原子可具有氫取代基及/或滿足雜原子價數之本文所描述之有機化合物的任何容許取代基。

【0199】「穩定」係指化合物在經受允許其產生、偵測且在某些實施例中其回收、純化及用於本文所揭示之目的中之一或多個的條件時，實質上不經化學上及/或物理上更改。在一些實施例中，穩定化合物或化學上可行之化合物為當在水分或其他化學反應性條件不存在之情況下保持在40℃或更低之溫度下達至少一週時實質上不經更改的化合物。在一些實施例中，本文所揭示之化合物為穩定的。

【0200】本文所教示之對映異構體可包括「對映異構性純」異構體，其在一或多個特定不對稱中心處實質上包含單個對映異構體，例如大於或等於90%、92%、95%、98%或99%或等於100%之單個對映異構體。「不對稱中心」或「手性中心」係指包含四個不同取代基之四面體碳原子。

【0201】本文所描述之化合物亦可在構成該等化合物之原子中之一或多個處含有非天然比例之原子同位素。舉例而言，化合物可經諸如氘(^{2}H)、氚(^{3}H)、碳-13 (^{13}C)或碳-14 (^{14}C)之放射性同位素放射性標記。本文所揭示之化合物之所有同位素變異體無論是否具放射性均意欲涵蓋於本發明之範疇內。另外，本文所描述之化合物之所有互變異構形式均意欲處於本發明之範疇內。

抗體-藥物結合物

【0202】本發明之抗體-藥物結合物(ADC)化合物包括具有抗癌活性之ADC化合物。明確而言，ADC化合物包括結合(亦即藉由連接子共價連接)至荷伯希二烯剪接調節子之抗體或抗原結合片段(包括其抗原結合片段)，例如其中荷伯希二烯剪接調節子在不結合至抗體或抗原結合片段時具有細胞毒性或細胞生長抑制作用。在各種實施例中，荷伯希二烯剪接調節子在不結合至抗體或抗原結合片段時能夠與SF3b剪接體複合物結合及/或相互作用。在各種實施例中，荷伯希二烯剪接調節子在不結合至抗體或抗原結合片段時能夠調節活體外及/或活體內RNA剪接。在各種實施例中，藉由靶向RNA剪接，本文所揭示之荷伯希二烯剪接調節子及ADC為強效抗增生劑。在各種實施例中，本文所揭示之荷伯希二烯剪接調節子及ADC可靶向主動分裂細胞及休眠細胞兩者。

【0203】在各種實施例中，本發明至少部分地基於特定生物活性荷伯希二烯剪接調節子可在用於ADC中時提供經改善之特性的發現。儘管荷伯希二烯剪接調節子在單獨使用時可顯示理想上經改善之特點(例如穩健SF3b剪接體複合物結合、對RNA剪接之強效調節)，但在各種實施例中，荷伯希二烯剪接調節子在結合至抗體或抗原結合片段時可展現少量該等理想上經改善之特點。因此，用作人類治療劑，例如用作腫瘤藥劑之ADC之研發及生產可能不僅僅需要識別能夠結合至一或多個所需目標且連接至單獨使用以治療癌症之藥物的抗體。將抗體連接至荷伯希二烯剪接調節子可對抗體及荷伯希二烯剪接調節子中之一者或兩者之活性具有顯著影響，亦即視所選連接子及/或荷伯希二烯剪接調節子之類型而變化的影響。因此，在一些實施例中，ADC之組分經選擇以(i)保持分離之抗體及荷伯希二烯剪接調節子部分所展現之一或多種治療特性；(ii)維持抗體或

抗原結合片段之特異性結合特性；(iii)使荷伯希二烯剪接調節子負載量及荷伯希二烯剪接調節子與抗體比最佳化；(iv)允許經由穩定連接至抗體或抗原結合片段來遞送，例如胞內遞送荷伯希二烯剪接調節子部分；(v)保持ADC作為完整結合物之穩定性直至轉運或遞送至目標位點為止；(vi)將投與之前或之後之ADC之聚集減至最少；(vii)允許細胞環境中裂解或其他釋放機制之後之荷伯希二烯剪接調節子部分之治療作用，例如細胞毒性作用；(viii)展現與分離之抗體及荷伯希二烯剪接調節子部分之活體內抗癌治療功效相當或優於其之活體內抗癌治療功效；(ix)將藉由荷伯希二烯剪接調節子部分進行之脫靶殺滅減至最少；及/或(x)展現所需藥物動力學及藥效動力學特性、可調配性及毒理學/免疫學概況。可能需要此等特性中之各者以識別用於治療用途之經改善之ADC (Ab等人(2015) Mol Cancer Ther. 14:1605-13)。

【0204】在各種實施例中，本文所揭示之ADC展現上文所列類別中之一些或各個中之出乎意料地有利之特性。舉例而言，在一些實施例中，與包含替代連接子及/或藥物部分(例如替代荷伯希二烯剪接調節子)之ADC相比，本文所揭示之ADC構築體展現出乎意料地有利之荷伯希二烯剪接調節子負載量、聚集及/或穩定性概況，且/或保留抗體結合功能、藥物活性及/或經改善之旁觀者殺滅，同時減少脫靶殺滅。在一些實施例中，與使用替代連接子及/或荷伯希二烯剪接調節子部分之ADC相比，本文所揭示之ADC構築體展現優良穩定性、活性、效力或其他效果(活體內或活體外量測)。在一些實施例中，本文所揭示之ADC構築體在以單次劑量投與時展現活體內治療功效。在一些實施例中，與使用替代連接子及/或荷伯希二烯剪接調節子部分之ADC相比，本文所揭示之ADC構築體出

乎意料地穩定。

【0205】本發明之ADC化合物可將有效劑量之細胞毒性劑或細胞生長抑制劑選擇性遞送至癌細胞或腫瘤組織。已發現，所揭示之ADC針對表現各別目標抗原(例如HER2、CD138、EPHA2、MSLN、FOLH1、CDH6、CEACAM5、CFC1B、ENPP3、FOLR1、HAVCR1、KIT、MET、MUC16、SLC39A6、SLC44A4或STEAP1)之細胞具有強效細胞毒性及/或細胞生長抑制活性。在一些實施例中，ADC之細胞毒性及/或細胞生長抑制活性係視細胞中之目標抗原表現而定。在一些實施例中，所揭示之ADC特別有效地殺滅表現目標抗原之癌細胞，同時將脫靶殺滅減至最少。在一些實施例中，所揭示之ADC不對不表現目標抗原之癌細胞展現細胞毒性及/或細胞生長抑制作用。

【0206】例示性HER2表現性癌症包括但不限於乳癌、胃癌、膀胱癌、尿道上皮細胞癌、食道癌、肺癌(例如肺腺癌)、子宮癌(例如子宮漿液性子宮內膜癌)、唾腺管癌、子宮頸癌、子宮內膜癌及卵巢癌(English等人(2013) Mol Diagn Ther. 17:85-99)。

【0207】例示性CD138表現性癌症包括但不限於胸內癌(例如肺癌、間皮瘤)、皮膚癌(例如基底細胞癌、鱗狀細胞癌)、頭頸癌(例如喉癌、喉咽癌、鼻咽癌)、乳癌、泌尿生殖癌(例如子宮頸癌、卵巢癌、子宮內膜癌、前列腺癌、膀胱癌、尿道上皮癌)、血液惡性病(例如骨髓瘤(諸如多發性骨髓瘤)、B細胞惡性病、霍奇金氏淋巴瘤)及甲狀腺癌(Szatmári等人(2015) Dis Markers 2015:796052)。

【0208】例示性EPHA2表現性癌症包括乳癌、腦癌、卵巢癌、膀胱癌、胰臟癌、食道癌、肺癌、前列腺癌、黑色素瘤、食道癌及胃癌

(Tandon等人(2011) Expert Opin Ther Targets 15(1):31-51)。

【0209】在一些實施例中，ADC之裂解自抗體或抗原結合片段及連接子釋放荷伯希二烯剪接調節子。在一些實施例中，連接子及/或荷伯希二烯剪接調節子設計成促進旁觀者殺滅(鄰近細胞殺滅)。在一些實施例中，連接子及/或荷伯希二烯剪接調節子設計成促進在細胞內化及連接子-荷伯希二烯剪接調節子部分及/或單獨荷伯希二烯剪接調節子部分擴散至鄰近細胞之後經由裂解進行之旁觀者殺滅。在一些實施例中，連接子促進細胞內化。在一些實施例中，連接子設計成將胞外環境中之裂解減至最少且由此降低針對脫靶組織(例如非癌變組織)之毒性，同時保持ADC結合至目標組織及對不表現由ADC之抗體或抗原結合片段靶向之抗原但環繞表現彼抗原之目標癌組織的癌組織的旁觀者殺滅。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子部分或藉由ADC裂解產生之荷伯希二烯剪接調節子部分之分解代謝物設計成促進目標細胞之吸收或鄰近細胞(亦即可滲透細胞)之吸收。該等荷伯希二烯剪接調節子部分及分解代謝物在本文中可稱為「旁觀者活性」，而具有經降低之細胞滲透性之藥物部分或分解代謝物可稱為「旁觀者非活性」。

【0210】在一些實施例中，所揭示之ADC亦展現旁觀者殺滅活性，但展現低脫靶細胞毒性。在不受理論束縛之情況下，在ADC向實體腫瘤中之滲透受到限制及/或腫瘤細胞中之目標抗原表現具異質性時，ADC之旁觀者殺滅活性可為特別有益的。在一些實施例中，相對於用包含不可裂解連接子之ADC進行之相當治療而言，包含可裂解連接子之ADC特別有效地進行旁觀者殺滅且/或展現經改善之旁觀者殺滅活性。在一些實施例中，本文所揭示之ADC展現相比於單獨藥物部分而言經改善之溶解性及

目標細胞滲透性。在一些實施例中，本文所揭示之ADC展現相比於單獨荷伯希二烯剪接調節子部分之細胞毒性而言經改善之細胞毒性。在一些實施例中，本文所揭示之ADC使用在評估為單獨荷伯希二烯剪接調節子時展現較低細胞毒性之藥物部分，但出乎意料地比包含在評估為單獨荷伯希二烯剪接調節子時具有較高細胞毒性之其他荷伯希二烯剪接調節子部分的ADC更佳。在一些實施例中，相對於用包含不可裂解連接子之ADC進行之相當治療而言，荷伯希二烯剪接調節子之裂解及釋放改善ADC之細胞毒性。在其他實施例中，ADC不需要荷伯希二烯剪接調節子之裂解及釋放來具有所需生物活性。在一些實施例中，包含具有經增加之間隔子長度之不可裂解連接子(例如ADL12)之ADC提供相對於用包含可裂解連接子(例如ADL1、ADL5)之ADC進行之相當治療而言相同或類似之細胞毒性、及相對於用包含較短不可裂解連接子之ADC進行之相當治療而言出乎意料地優良之細胞毒性。在一些實施例中，包含具有經增加之間隔子長度且不具有羰基之不可裂解連接子(例如ADL12)之ADC提供相對於用包含可裂解連接子(例如ADL1、ADL5)之ADC進行之相當治療而言相同或類似之細胞毒性、及相對於用包含具有相同或類似間隔子長度且具有羰基之不可裂解連接子(例如ADL10)之ADC進行之相當治療而言出乎意外地優良之細胞毒性。在一些實施例中，相對於用包含未經修飾之不可裂解MC連接子(例如ADL10)之ADC進行之相當治療而言，自不可裂解MC連接子(例如ADL12)移除羰基可引起細胞毒性增加大於50倍、大於75倍、大於100倍、大於150倍或大於200倍。在一些實施例中，相對於用包含未經修飾之不可裂解MC連接子(例如ADL10)之ADC進行之相當治療而言，自不可裂解MC連接子(例如ADL12)移除羰基且增加間隔子長度(例如添加至少一

個間隔子單元)可引起細胞毒性增加大於50倍、大於75倍、大於100倍、大於150倍或大於200倍。

【0211】本文提供包含靶向腫瘤細胞之抗體或其抗原結合片段(Ab)、剪接調節子藥物部分(D)及將Ab共價連接至D之連接子部分(L)的ADC化合物。在某些態樣中，抗體或抗原結合片段能夠以高特異性及高親和力結合至腫瘤相關抗原(例如HER2、CD138、EPHA2、MSLN、FOLH1、CDH6、CEACAM5、CFC1B、ENPP3、FOLR1、HAVCR1、KIT、MET、MUC16、SLC39A6、SLC44A4或STEAP1)。在某些實施例中，抗體或抗原結合片段在結合後內化至目標細胞中，例如內化至該細胞中之降解隔室中。在各種實施例中，可使用在結合至目標細胞後內化、經歷降解且釋放荷伯希二烯剪接調節子部分以殺滅癌細胞之ADC。可藉由酶作用、水解、氧化或任何其他機制自ADC之抗體及/或連接子部分釋放荷伯希二烯剪接調節子部分。

【0212】例示性ADC具有式(I)：

$$Ab\text{-}(L\text{-}H)_p \qquad (I)$$

其中Ab =抗體或抗原結合片段，L =連接子部分，H =荷伯希二烯剪接調節子藥物部分，且p =每個抗體或抗原結合片段之剪接調節子藥物部分之數目。

【0213】在某些實施例中，用於所描述之ADC及組合物中之靶向荷伯希二烯剪接調節子之部分為抗體或抗原結合片段。本文亦提供且描述用於所描述之ADC及組合物中之其他例示性靶向藥物之部分。在一些實施例中，靶向荷伯希二烯剪接調節子之部分可為各種細胞結合劑及非抗體骨架中之任一者。在一些實施例中，靶向荷伯希二烯剪接調節子之部分為細

胞結合劑。如本文所使用之術語「細胞結合劑」係指能夠結合至動物(例如人類)細胞且遞送荷伯希二烯剪接調節子部分(例如如本文所揭示之荷伯希二烯剪接調節子藥物部分)之任何藥劑。該術語涵蓋本文所揭示之例示性抗體及抗原結合片段(例如單株抗體及其諸如Fab及scFV之片段)。該術語進一步涵蓋例示性細胞結合劑，諸如DARPin、duobody、雙環肽、奈米抗體、辛替恩(centyrin)、MSH (黑色素細胞刺激激素)、受體-Fc融合分子、T細胞受體結構、類固醇激素(諸如雄激素及雌激素)、生長因子、群落刺激因子(諸如EGF)及其他非抗體骨架。在各種實施例中，非抗體骨架可大體上分為兩個結構類別，亦即結構域設定大小之化合物(約6-20 kDa)及限制性肽(約2-4 kDa)。例示性結構域設定大小之骨架包括但不限於親和抗體、親和素(affilin)、抗運載蛋白(anticalin)、阿特里莫(atrimer)、DARPin、FN3骨架(例如纖連蛋白(adnectin)及辛替恩)、非諾莫(fynomer)、孔尼茲域(Kunitz domain)、纖維結合素連接蛋白(pronectin)、O-body及受體-Fc融合蛋白，而例示性限制性肽包括高親合性多聚體(avimer)、雙環肽及Cys結(Cys-knot)。在一些實施例中，用於所描述之ADC及組合物中之靶向藥物之部分選自親和抗體、親和素、抗運載蛋白、阿特里莫、DARPin、FN3骨架(諸如纖連蛋白或辛替恩)、非諾莫、孔尼茲域、纖維結合素連接蛋白、O-body、高親和性多聚體、雙環肽及Cys結。在一些實施例中，用於所描述之ADC及組合物中之靶向藥物之部分為受體-Fc融合蛋白，例如HER2-Fc嵌合融合蛋白。非抗體骨架綜述於例如Vazquez-Lombardi等人(2015) Drug Dis Today 20(10):1271-83中。

抗體

【0214】式(I)抗體或抗原結合片段(Ab)在其範疇內包括特異性結合至癌細胞上之目標抗原之任何抗體或抗原結合片段。抗體或抗原結合片段可結合至目標抗原，其中如藉由例如BIAcore®分析所量測，解離常數(K_D) ≤1 mM、≤100 nM或≤10 nM或其間任何量。在某些實施例中，K_D為1 pM至500 pM。在一些實施例中，K_D係介於500 pM至1 μM、1 μM至100 nM或100 mM至10 nM之間。

【0215】在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為包含兩個重鏈及兩個輕鏈之四鏈抗體(亦稱為免疫球蛋白或全長抗體或完整抗體)。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為雙鏈半抗體(一個輕鏈及一個重鏈)或免疫球蛋白之抗原結合片段。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為保持結合目標癌抗原之能力及/或提供免疫球蛋白功能之能力之免疫球蛋白的抗原結合片段。

【0216】在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為內化性抗體或其內化性抗原結合片段。在一些實施例中，內化性抗體或其內化性抗原結合片段結合至於細胞表面上表現之目標癌抗原且在結合後進入細胞。在一些實施例中，在ADC進入且存在於表現目標癌抗原之細胞中之後(亦即在ADC已經內化之後)，例如藉由裂解、藉由抗體或抗原結合片段降解或藉由任何其他合適之釋放機制自ADC之抗體或抗原結合片段釋放ADC之荷伯希二烯剪接調節子藥物部分。

【0217】本發明之例示性抗體之胺基酸序列闡述於表2-4中。

表1. 抗體

mAb	類型	目標
曲妥珠單抗(AB185)	人類化	HER2/NEU
B-B4 (AB205)	鼠	CD138 (多配體蛋白聚糖-1)
1C1 (AB206)	人類化	EPHA2

表2. mAb可變區之胺基酸序列

mAb	IgG鏈	SEQ ID NO	胺基酸序列
曲妥珠單抗 (AB185)	重鏈	19	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF NIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPT NGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYL QMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMD YWGQGTLVTVSS
曲妥珠單抗 (AB185)	輕鏈	20	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ DVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFL YSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKR T
B-B4 (AB205)	重鏈	21	QVQLQQSGSELMMPGASVKISCKATGY TFSNYWIQRPGHGLEWIGEILPGTGRT IYNEKFKGKATFTADISSNTVQMQLSS LTSEDSAVYYCARRDYYGNFYYAMDYW GQGTSVTVSS
B-B4 (AB205)	輕鏈	22	DIQMTQSTSSLSASLGDRVTISCSASQ GINNYLNWYQQKPDGTVELLIYYTSTL QSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEPE DIGTYYCQQYSKLPRTFGGGTKLEIK
1C1 (AB206)	重鏈	23	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF TFSHYMMAWVRQAPGKGLEWVSRIGPS GGPTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAGYDSGYDYVAV AGPAE-YFQHWGQGTLVTVSS
1C1 (AB206)	輕鏈	24	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ SISTWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASNL HTGVPSRFSGSGSGTEFSLTISGLQPD DFATYYCQQYNSYS-RTFGQGTKVEIK

表3. mAb CDR之胺基酸序列

mAb	IgG鏈	SEQ ID NO	胺基酸序列
曲妥珠單抗 (AB185)	HCDR1	1	GFNIKDTYIH
曲妥珠單抗 (AB185)	HCDR2	2	RIYPTNGYTRYADSVKG
曲妥珠單抗 (AB185)	HCDR3	3	WGGDGFYAMDV
曲妥珠單抗 (AB185)	LCDR1	4	RASQDVNTAVAW
曲妥珠單抗 (AB185)	LCDR2	5	SASFLES
曲妥珠單抗 (AB185)	LCDR3	6	QQHYTTPPT
B-B4 (AB205)	HCDR1	7	NYWIE
B-B4 (AB205)	HCDR2	8	ILPGTGRTIYNEKFKGKA
B-B4 (AB205)	HCDR3	9	RDYYGNFYYAMDY
B-B4 (AB205)	LCDR1	10	ASQGINNYLN
B-B4 (AB205)	LCDR2	11	TSTLQS
B-B4 (AB205)	LCDR3	12	QQYSKLPRT
1C1 (AB206)	HCDR1	13	HYMMA
1C1 (AB206)	HCDR2	14	RIGPSGGPTHYADSVKG
1C1 (AB206)	HCDR3	15	YDSGYDYVAVAGPAE-YFQH
1C1 (AB206)	LCDR1	16	RASWSISTWLA
1C1 (AB206)	LCDR2	17	KASNLHT
1C1 (AB206)	LCDR3	18	QQYNSYS-RT

表4. 全長mAb Ig鏈之胺基酸序列

mAb	IgG鏈	類別	SEQ ID NO	胺基酸序列
曲妥珠單抗 (AB185)	重鏈	IgG1	25	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWV ARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISA DTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC SRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
曲妥珠單抗 (AB185)	輕鏈	κ	26	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLI YSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPP TFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
B-B4 (AB205)	重鏈	IgG2a	27	QVQLQQSGSELMMPGASVKISCKA TGYTFSNYWIQRPGHGLEWIGEIL PGTGRTIYNEKFKGKATFTADISS NTVQMQLSSLTSEDSAVYYCARRD YYGNFYYAMDYWGQGTSVTVSSAK TTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLG CLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGV HTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSST

				WPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIV PRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPP KPKDVLTITLTPKVTCVVVDISKD DPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPRE EQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGK EFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKG RPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSL TCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAE NYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQ KSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHT EKSLSHSPG
B-B4 (AB205)	輕鏈	κ	28	DIQMTQSTSSLSASLGDRVTISCS ASQGINNYLNWYQQKPDGTVELLI YYTSTLQSGVPSRFSGSGSGTDYS LTISNLEPEDIGTYYCQQYSKLPR TFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPP SSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDI NVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDS KDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSY TCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
1C1 (AB206)	重鏈	IgG1	29	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFTFSHYMMAWVRQAPGKGLEWV SRIGPSGGPTHYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AGYDSGYDYVAVAGPAEYFQHWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G

1C1 (AB206)	輕鏈	κ	30	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISTWLAWYQQKPGKAPKLLI YKASNLHTGVPSRFSGSGSGTEFS LTISGLQPDDFATYYCQQYNSYSR TFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

表5. 例示性目標抗原胺基酸序列

抗原	SEQ ID NO	胺基酸序列
HER2/NEU	31	MELAALCRWGLLLALLPPGAASTQVCTGTDMKLRLPASPETHLDM LRHLYQGCQVVQGNLELTYLPTNASLSFLQDIQEVQGYVLIAHNQ VRQVPLQRLRIVRGTQLFEDNYALAVLDNGDPLNNTTPVTGASPG GLRELQLRSLTEILKGGVLIQRNPQLCYQDTILWKDIFHKNNQLA LTLIDTNRSRACHPCSPMCKGSRCWGESSEDCQSLTRTVCAGGCA RCKGPLPTDCCHEQCAAGCTGPKHSDCLACLHFNHSGICELHCPA LVTYNTDTFESMPNPEGRYTFGASCVTACPYNYLSTDVGSCTLVC PLHNQEVTAEDGTQRCEKCSKPCARVCYGLGMEHLREVRAVTSAN IQEFAGCKKIFGSLAFLPESFDGDPASNTAPLQPEQLQVFETLEE ITGYLYISAWPDSLPDLSVFQNLQVIRGRILHNGAYSLTLQGLGI SWLGLRSLRELGSGLALIHHNTHLCFVHTVPWDQLFRNPHQALLH TANRPEDECVGEGLACHQLCARGHCWGPGPTQCVNCSQFLRGQEC VEECRVLQGLPREYVNARHCLPCHPECQPQNGSVTCFGPEADQCV ACAHYKDPPFCVARCPSGVKPDLSYMPIWKFPDEEGACQPCPINC THSCVDLDDKGCPAEQRASPLTSIISAVVGILLVVVLGVVFGILI KRRQQKIRKYTMRRLLQETELVEPLTPSGAMPNQAQMRILKETEL RKVKVLGSGAFGTVYKGIWIPDGENVKIPVAIKVLRENTSPKANK EILDEAYVMAGVGSPYVSRLLGICLTSTVQLVTQLMPYGCLLDHV RENRGRLGSQDLLNWCMQIAKGMSYLEDVRLVHRDLAARNVLVKS PNHVKITDFGLARLLDIDETEYHADGGKVPIKWMALESILRRRFT HQSDVWSYGVTVWELMTFGAKPYDGIPAREIPDLLEKGERLPQPP ICTIDVYMIMVKCWMIDSECRPRFRELVSEFSRMARDPQRFVVIQ NEDLGPASPLDSTFYRSLLEDDDMGDLVDAEEYLVPQQGFFCPDP APGAGGMVHHRHRSSSTRSGGGDLTLGLEPSEEEAPRSPLAPSEG AGSDVFDGDLGMGAAKGLQSLPTHDPSPLQRYSEDPTVPLPSETD GYVAPLTCSPQPEYVNQPDVRPQPPSPREGPLPAARPAGATLERP

		KTLSPGKNGVVKDVFAFGGAVENPEYLTPQGGAAPQPHPPPAFSP AFDNLYYWDQDPPERGAPPSTFKGTPTAENPEYLGLDVPV
CD138	32	MRRAALWLWLCALALSLQPALPQIVATNLPPEDQDGSGDDSDNFS GSGAGALQDITLSQQTPSTWKDTQLLTAIPTSPEPTGLEATAAST STLPAGEGPKEGEAVVLPEVEPGLTAREQEATPRPRETTQLPTTH LASTTTATTAQEPATSHPHRDMQPGHHETSTPAGPSQADLHTPHT EDGGPSATERAAEDGASSQLPAAEGSGEQDFTFETSGENTAVVAV EPDRRNQSPVDQGATGASQGLLDRKEVLGGVIAGGLVGLIFAVCL VGFMLYRMKKKDEGSYSLEEPKQANGGAYQKPTKQEEFYA
EPHA2	33	MELQAARACFALLWGCALAAAAAAQGKEVVLLDFAAAGGELGWLT HPYGKGWDLMQNIMNDMPIYMYSVCNVMSGDQDNWLRTNWVYRGE AERIFIELKFTVRDCNSFPGGASSCKETFNLYYAESDLDYGTNFQ KRLFTKIDTIAPDEITVSSDFEARHVKLNVEERSVGPLTRKGFYL AFQDIGACVALLSVRVYYKKCPELLQGLAHFPETIAGSDAPSLAT VAGTCVDHAVVPPGGEEPRMHCAVDGEWLVPIGQCLCQAGYEKVE DACQACSPGFFKFEASESPCLECPEHTLPSPEGATSCECEEGFFR APQDPASMPCTRPPSAPHYLTAVGMGAKVELRWTPPQDSGGREDI VYSVTCEQCWPESGECGPCEASVRYSEPPHGLTRTSVTVSDLEPH MNYTFTVEARNGVSGLVTSRSFRTASVSINQTEPPKVRLEGRSTT SLSVSWSIPPPQQSRVWKYEVTYRKKGDSNSYNVRRTEGFSVTLD DLAPDTTYLVQVQALTQEGQGAGSKVHEFQTLSPEGSGNLAVIGG VAVGVVLLLVLAGVGFFIHRRRKNQRARQSPEDVYFSKSEQLKPL KTYVDPHTYEDPNQAVLKFTTEIHPSCVTRQKVIGAGEFGEVYKG MLKTSSGKKEVPVAIKTLKAGYTEKQRVDFLGEAGIMGQFSHHNI IRLEGVISKYKPMMIITEYMENGALDKFLREKDGEFSVLQLVGML RGIAAGMKYLANMNYVHRDLAARNILVNSNLVCKVSDFGLSRVLE DDPEATYTTSGGKIPIRWTAPEAISYRKFTSASDVWSFGIVMWEV MTYGERPYWELSNHEVMKAINDGFRLPTPMDCPSAIYQLMMQCWQ QERARRPKFADIVSILDKLIRAPDSLKTLADFDPRVSIRLPSTSG SEGVPFRTVSEWLESIKMQQYTEHFMAAGYTAIEKVVQMTNDDIK RIGVRLPGHQKRIAYSLLGLKDQVNTVGIPI
MSLN	94	MALPTARPLLGSCGTPALGSLLFLLFSLGWVQPSRTLAGETGQEA APLDGVLANPPNISSLSPRQLLGFPCAEVSGLSTERVRELAVALA QKNVKLSTEQLRCLAHRLSEPPEDLDALPLDLLLFLNPDAFSGPQ ACTRFFSRITKANVDLLPRGAPERQRLLPAALACWGVRGSLLSEA DVRALGGLACDLPGRFVAESAEVLLPRLVSCPGPLDQDQQEAARA ALQGGGPPYGPPSTWSVSTMDALRGLLPVLGQPIIRSIPQGIVAA WRQRSSRDPSWRQPERTILRPRFRREVEKTACPSGKKAREIDESL IFYKKWELEACVDAALLATQMDRVNAIPFTYEQLDVLKHKLDELY

		PQGYPESVIQHLGYLFLKMSPEDIRKWNVTSLETLKALLEVNKGH EMSPQAPRRPLPQVATLIDRFVKGRGQLDKDTLDTLTAFYPGYLC SLSPEELSSVPPSSIWAVRPQDLDTCDPRQLDVLYPKARLAFQNM NGSEYFVKIQSFLGGAPTEDLKALSQQNVSMDLATFMKLRTDAVL PLTVAEVQKLLGPHVEGLKAEERHRPVRDWILRQRQDDLDTLGLG LQGGIPNGYLVLDLSMQEALSGTPCLLGPGPVLTVLALLLASTLA
FOLH1	95	MWNLLHETDSAVATARRPRWLCAGALVLAGGFFLLGFLFGWFIKS SNEATNITPKHNMKAFLDELKAENIKKFLYNFTQIPHLAGTEQNF QLAKQIQSQWKEFGLDSVELAHYDVLLSYPNKTHPNYISIINEDG NEIFNTSLFEPPPPGYENVSDIVPPFSAFSPQGMPEGDLVYVNYA RTEDFFKLERDMKINCSGKIVIARYGKVFRGNKVKNAQLAGAKGV ILYSDPADYFAPGVKSYPDGWNLPGGGVQRGNILNLNGAGDPLTP GYPANEYAYRRGIAEAVGLPSIPVHPIGYYDAQKLLEKMGGSAPP DSSWRGSLKVPYNVGPGFTGNFSTQKVKMHIHSTNEVTRIYNVIG TLRGAVEPDRYVILGGHRDSWVFGGIDPQSGAAVVHEIVRSFGTL KKEGWRPRRTILFASWDAEEFGLLGSTEWAEENSRLLQERGVAYI NADSSIEGNYTLRVDCTPLMYSLVHNLTKELKSPDEGFEGKSLYE SWTKKSPSPEFSGMPRISKLGSGNDFEVFFQRLGIASGRARYTKN WETNKFSGYPLYHSVYETYELVEKFYDPMFKYHLTVAQVRGGMVF ELANSIVLPFDCRDYAVVLRKYADKIYSISMKHPQEMKTYSVSFD SLFSAVKNFTEIASKFSERLQDFDKSNPIVLRMMNDQLMFLERAF IDPLGLPDRPFYRHVIYAPSSHNKYAGESFPGIYDALFDIESKVD PSKAWGEVKRQIYVAAFTVQAAAETLSEVA
CDH6	96	MRTYRYFLLLFWVGQPYPTLSTPLSKRTSGFPAKKRALELSGNSK NELNRSKRSWMWNQFFLLEEYTGSDYQYVGKLHSDQDRGDGSLKY ILSGDGAGDLFIINENTGDIQATKRLDREEKPVYILRAQAINRRT GRPVEPESEFIIKIHDINDNEPIFTKEVYTATVPEMSDVGTFVVQ VTATDADDPTYGNSAKVVYSILQGQPYFSVESETGIIKTALLNMD RENREQYQVVIQAKDMGGQMGGLSGTTTVNITLTDVNDNPPRFPQ STYQFKTPESSPPGTPIGRIKASDADVGENAEIEYSITDGEGLDM FDVITDQETQEGIITVKKLLDFEKKKVYTLKVEASNPYVEPRFLY LGPFKDSATVRIVVEDVDEPPVFSKLAYILQIREDAQINTTIGSV TAQDPDAARNPVKYSVDRHTDMDRIFNIDSGNGSIFTSKLLDRET LLWHNITVIATEINNPKQSSRVPLYIKVLDVNDNAPEFAEFYETF VCEKAKADQLIQTLHAVDKDDPYSGHQFSFSLAPEAASGSNFTIQ DNKDNTAGILTRKNGYNRHEMSTYLLPVVISDNDYPVQSSTGTVT VRVCACDHHGNMQSCHAEALIHPTGLSTGALVAILLCIVILLVTV VLFAALRRQRKKEPLIISKEDIRDNIVSYNDEGGGEEDTQAFDIG TLRNPEAIEDNKLRRDIVPEALFLPRRTPTARDNTDVRDFINQRL

		KENDTDPTAPPYDSLATYAYEGTGSVADSLSSLESVTTDADQDYD YLSDWGPRFKKLADMYGGVDSDKDS
CEACAM5	97	MESPSAPPHRWCIPWQRLLLTASLLTFWNPPTTAKLTIESTPFNV AEGKEVLLLVHNLPQHLFGYSWYKGERVDGNRQIIGYVIGTQQAT PGPAYSGREIIYPNASLLIQNIIQNDTGFYTLHVIKSDLVNEEAT GQFRVYPELPKPSISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPETQDATYLWWV NNQSLPVSPRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDTASYKCETQNPVSARR SDSVILNVLYGPDAPTISPLNTSYRSGENLNLSCHAASNPPAQYS WFVNGTFQQSTQELFIPNITVNNSGSYTCQAHNSDTGLNRTTVTT ITVYAEPPKPFITSNNSNPVEDEDAVALTCEPEIQNTTYLWWVNN QSLPVSPRLQLSNDNRTLTLLSVTRNDVGPYECGIQNKLSVDHSD PVILNVLYGPDDPTISPSYTYYRPGVNLSLSCHAASNPPAQYSWL IDGNIQQHTQELFISNITEKNSGLYTCQANNSASGHSRTTVKTIT VSAELPKPSISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPEAQNTTYLWWVNGQS LPVSPRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDARAYVCGIQNSVSANRSDPV TLDVLYGPDTPIISPPDSSYLSGANLNLSCHSASNPSPQYSWRIN GIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVS ASGTSPGLSAGATVGIMIGVLVGVALI
CFC1B	98	MTWRHHVRLLFTVSLALQIINLGNSYQREKHNGGREEVTKVATQK HRQSPLNWTSSHFGEVTGSAEGWGPEEPLPYSWAFGEGASARPRC CRNGGTCVLGSFCVCPAHFTGRYCEHDQRRSECGALEHGAWTLRA CHLCRCIFGALHCLPLQTPDRCDPKDFLASHAHGPSAGGAPSLLL LLPCALLHRLLRPDAPAHPRSLVPSVLQRERRPCGRPGLGHRL
ENPP3	99	MESTLTLATEQPVKKNTLKKYKIACIVLLALLVIMSLGLGLGLGL RKLEKQGSCRKKCFDASFRGLENCRCDVACKDRGDCCWDFEDTCV ESTRIWMCNKFRCGETRLEASLCSCSDDCLQRKDCCADYKSVCQG ETSWLEENCDTAQQSQCPEGFDLPPVILFSMDGFRAEYLYTWDTL MPNINKLKTCGIHSKYMRAMYPTKTFPNHYTIVTGLYPESHGIID NNMYDVNLNKNFSLSSKEQNNPAWWHGQPMWLTAMYQGLKAATYF WPGSEVAINGSFPSIYMPYNGSVPFEERISTLLKWLDLPKAERPR FYTMYFEEPDSSGHAGGPVSARVIKALQVVDHAFGMLMEGLKQRN LHNCVNIILLADHGMDQTYCNKMEYMTDYFPRINFFYMYEGPAPR IRAHNIPHDFFSFNSEEIVRNLSCRKPDQHFKPYLTPDLPKRLHY AKNVRIDKVHLFVDQQWLAVRSKSNTNCGGGNHGYNNEFRSMEAI FLAHGPSFKEKTEVEPFENIEVYNLMCDLLRIQPAPNNGTHGSLN HLLKVPFYEPSHAEEVSKFSVCGFANPLPTESLDCFCPHLQNSTQ LEQVNQMLNLTQEEITATVKVNLPFGRPRVLQKNVDHCLLYHREY VSGFGKAMRMPMWSSYTVPQLGDTSPLPPTVPDCLRADVRVPPSE SQKCSFYLADKNITHGFLYPPASNRTSDSQYDALITSNLVPMYEE

		FRKMWDYFHSVLLIKHATERNGVNVVSGPIFDYNYDGHFDAPDEI TKHLANTDVPIPTHYFVVLTSCKNKSHTPENCPGWLDVLPFIIPH RPTNVESCPEGKPEALWVEERFTAHIARVRDVELLTGLDFYQDKV QPVSEILQLKTYLPTFETTI
FOLR1	100	MAQRMTTQLLLLLVWVAVVGEAQTRIAWARTELLNVCMNAKHHKE KPGPEDKLHEQCRPWRKNACCSTNTSQEAHKDVSYLYRFNWNHCG EMAPACKRHFIQDTCLYECSPNLGPWIQQVDQSWRKERVLNVPLC KEDCEQWWEDCRTSYTCKSNWHKGWNWTSGFNKCAVGAACQPFHF YFPTPTVLCNEIWTHSYKVSNYSRGSGRCIQMWFDPAQGNPNEEV ARFYAAAMSGAGPWAAWPFLLSLALMLLWLLS
HAVCR1	101	MHPQVVILSLILHLADSVAGSVKVGGEAGPSVTLPCHYSGAVTSM CWNRGSCSLFTCQNGIVWTNGTHVTYRKDTRYKLLGDLSRRDVSL TIENTAVSDSGVYCCRVEHRGWFNDMKITVSLEIVPPKVTTTPIV TTVPTVTTVRTSTTVPTTTTVPMTTVPTTTVPTTMSIPTTTTVLT TMTVSTTTSVPTTTSIPTTTSVPVTTTVSTFVPPMPLPRQNHEPV ATSPSSPQPAETHPTTLQGAIRREPTSSPLYSYTTDGNDTVTESS DGLWNNNQTQLFLEHSLLTANTTKGIYAGVCISVLVLLALLGVII AKKYFFKKEVQQLSVSFSSLQIKALQNAVEKEVQAEDNIYIENSL YATD
KIT	102	MRGARGAWDFLCVLLLLLRVQTGSSQPSVSPGEPSPPSIHPGKSD LIVRVGDEIRLLCTDPGFVKWTFEILDETNENKQNEWITEKAEAT NTGKYTCTNKHGLSNSIYVFVRDPAKLFLVDRSLYGKEDNDTLVR CPLTDPEVTNYSLKGCQGKPLPKDLRFIPDPKAGIMIKSVKRAYH RLCLHCSVDQEGKSVLSEKFILKVRPAFKAVPVVSVSKASYLLRE GEEFTVTCTIKDVSSSVYSTWKRENSQTKLQEKYNSWHHGDFNYE RQATLTISSARVNDSGVFMCYANNTFGSANVTTTLEVVDKGFINI FPMINTTVFVNDGENVDLIVEYEAFPKPEHQQWIYMNRTFTDKWE DYPKSENESNIRYVSELHLTRLKGTEGGTYTFLVSNSDVNAAIAF NVYVNTKPEILTYDRLVNGMLQCVAAGFPEPTIDWYFCPGTEQRC SASVLPVDVQTLNSSGPPFGKLVVQSSIDSSAFKHNGTVECKAYN DVGKTSAYFNFAFKGNNKEQIHPHTLFTPLLIGFVIVAGMMCIIV MILTYKYLQKPMYEVQWKVVEEINGNNYVYIDPTQLPYDHKWEFP RNRLSFGKTLGAGAFGKVVEATAYGLIKSDAAMTVAVKMLKPSAH LTEREALMSELKVLSYLGNHMNIVNLLGACTIGGPTLVITEYCCY GDLLNFLRRKRDSFICSKQEDHAEAALYKNLLHSKESSCSDSTNE YMDMKPGVSYVVPTKADKRRSVRIGSYIERDVTPAIMEDDELALD LEDLLSFSYQVAKGMAFLASKNCIHRDLAARNILLTHGRITKICD FGLARDIKNDSNYVVKGNARLPVKWMAPESIFNCVYTFESDVWSY GIFLWELFSLGSSPYPGMPVDSKFYKMIKEGFRMLSPEHAPAEMY

		DIMKTCWDADPLKRPTFKQIVQLIEKQISESTNHIYSNLANCSPN RQKPVVDHSVRINSVGSTASSSQPLLVHDDV
MET	103	MKAPAVLAPGILVLLFTLVQRSNGECKEALAKSEMNVNMKYQLPN FTAETPIQNVILHEHHIFLGATNYIYVLNEEDLQKVAEYKTGPVL EHPDCFPCQDCSSKANLSGGVWKDNINMALVVDTYYDDQLISCGS VNRGTCQRHVFPHNHTADIQSEVHCIFSPQIEEPSQCPDCVVSAL GAKVLSSVKDRFINFFVGNTINSSYFPDHPLHSISVRRLKETKDG FMFLTDQSYIDVLPEFRDSYPIKYVHAFESNNFIYFLTVQRETLD AQTFHTRIIRFCSINSGLHSYMEMPLECILTEKRKKRSTKKEVFN ILQAAYVSKPGAQLARQIGASLNDDILFGVFAQSKPDSAEPMDRS AMCAFPIKYVNDFFNKIVNKNNVRCLQHFYGPNHEHCFNRTLLRN SSGCEARRDEYRTEFTTALQRVDLFMGQFSEVLLTSISTFIKGDL TIANLGTSEGRFMQVVVSRSGPSTPHVNFLLDSHPVSPEVIVEHT LNQNGYTLVITGKKITKIPLNGLGCRHFQSCSQCLSAPPFVQCGW CHDKCVRSEECLSGTWTQQICLPAIYKVFPNSAPLEGGTRLTICG WDFGFRRNNKFDLKKTRVLLGNESCTLTLSESTMNTLKCTVGPAM NKHFNMSIIISNGHGTTQYSTFSYVDPVITSISPKYGPMAGGTLL TLTGNYLNSGNSRHISIGGKTCTLKSVSNSILECYTPAQTISTEF AVKLKIDLANRETSIFSYREDPIVYEIHPTKSFISGGSTITGVGK NLNSVSVPRMVINVHEAGRNFTVACQHRSNSEIICCTTPSLQQLN LQLPLKTKAFFMLDGILSKYFDLIYVHNPVFKPFEKPVMISMGNE NVLEIKGNDIDPEAVKGEVLKVGNKSCENIHLHSEAVLCTVPNDL LKLNSELNIEWKQAISSTVLGKVIVQPDQNFTGLIAGVVSISTAL LLLLGFFLWLKKRKQIKDLGSELVRYDARVHTPHLDRLVSARSVS PTTEMVSNESVDYRATFPEDQFPNSSQNGSCRQVQYPLTDMSPIL TSGDSDISSPLLQNTVHIDLSALNPELVQAVQHVVIGPSSLIVHF NEVIGRGHFGCVYHGTLLDNDGKKIHCAVKSLNRITDIGEVSQFL TEGIIMKDFSHPNVLSLLGICLRSEGSPLVVLPYMKHGDLRNFIR NETHNPTVKDLIGFGLQVAKGMKYLASKKFVHRDLAARNCMLDEK FTVKVADFGLARDMYDKEYYSVHNKTGAKLPVKWMALESLQTQKF TTKSDVWSFGVLLWELMTRGAPPYPDVNTFDITVYLLQGRRLLQP EYCPDPLYEVMLKCWHPKAEMRPSFSELVSRISAIFSTFIGEHYV HVNATYVNVKCVAPYPSLLSSEDNADDEVDTRPASFWETS
MUC16	104	MLKPSGLPGSSSPTRSLMTGSRSTKATPEMDSGLTGATLSPKTST GAIVVTEHTLPFTSPDKTLASPTSSVVGRTTQSLGVMSSALPEST SRGMTHSEQRTSPSLSPQVNGTPSRNYPATSMVSGLSSPRTRTSS TEGNFTKEASTYTLTVETTSGPVTEKYTVPTETSTTEGDSTETPW DTRYIPVKITSPMKTFADSTASKENAPVSMTPAETTVTDSHTPGR TNPSFGTLYSSFLDLSPKGTPNSRGETSLELILSTTGYPFSSPEP

		GSAGHSRISTSAPLSSSASVLDNKISETSIFSGQSLTSPLSPGVP EARASTMPNSAIPFSMTLSNAETSAERVRSTISSLGTPSISTKQT AETILTFHAFAETMDIPSTHIAKTLASEWLGSPGTLGGTSTSALT TTSPSTTLVSEETNTHHSTSGKETEGTLNTSMTPLETSAPGEESE MTATLVPTLGFTTLDSKIRSPSQVSSSHPTRELRTTGSTSGRQSS STAAHGSSDILRATTSSTSKASSWTSESTAQQFSEPQHTQWVETS PSMKTERPPASTSVAAPITTSVPSVVSGFTTLKTSSTKGIWLEET SADTLIGESTAGPTTHQFAVPTGISMTGGSSTRGSQGTTHLLTRA TASSETSADLTLATNGVPVSVSPAVSKTAAGSSPPGGTKPSYTMV SSVIPETSSLQSSAFREGTSLGLTPLNTRHPFSSPEPDSAGHTKI STSIPLLSSASVLEDKVSATSTFSHHKATSSITTGTPEISTKTKP SSAVLSSMTLSNAATSPERVRNATSPLTHPSPSGEETAGSVLTLS TSAETTDSPNIHPTGTLTSESSESPSTLSLPSVSGVKTTFSSSTP STHLFTSGEETEETSNPSVSQPETSVSRVRTTLASTSVPTPVFPT MDTWPTRSAQFSSSHLVSELRATSSTSVTNSTGSALPKISHLTGT ATMSQTNRDTFNDSAAPQSTTWPETSPRFKTGLPSATTTVSTSAT SLSATVMVSKFTSPATSSMEATSIREPSTTILTTETTNGPGSMAV ASTNIPIGKGYITEGRLDTSHLPIGTTASSETSMDFTMAKESVSM SVSPSQSMDAAGSSTPGRTSQFVDTFSDDVYHLTSREITIPRDGT SSALTPQMTATHPPSPDPGSARSTWLGILSSSPSSPTPKVTMSST FSTQRVTTSMIMDTVETSRWNMPNLPSTTSLTPSNIPTSGAIGKS TLVPLDTPSPATSLEASEGGLPTLSTYPESTNTPSIHLGAHASSE SPSTIKLTMASVVKPGSYTPLTFPSIETHIHVSTARMAYSSGSSP EMTAPGETNTGSTWDPTTYITTTDPKDTSSAQVSTPHSVRTLRTT ENHPKTESATPAAYSGSPKISSSPNLTSPATKAWTITDTTEHSTQ LHYTKLAEKSSGFETQSAPGPVSVVIPTSPTIGSSTLELTSDVPG EPLVLAPSEQTTITLPMATWLSTSLTEEMASTDLDISSPSSPMST FAIFPPMSTPSHELSKSEADTSAIRNTDSTTLDQHLGIRSLGRTG DLTTVPITPLTTTWTSVIEHSTQAQDTLSATMSPTHVTQSLKDQT SIPASASPSHLTEVYPELGTQGRSSSEATTFWKPSTDTLSREIET GPTNIQSTPPMDNTTTGSSSSGVTLGIAHLPIGTSSPAETSTNMA LERRSSTATVSMAGTMGLLVTSAPGRSISQSLGRVSSVLSESTTE GVTDSSKGSSPRLNTQGNTALSSSLEPSYAEGSQMSTSIPLTSSP TTPDVEFIGGSTFWTKEVTTVMTSDISKSSARTESSSATLMSTAL GSTENTGKEKLRTASMDLPSPTPSMEVTPWISLTLSNAPNTTDSL DLSHGVHTSSAGTLATDRSLNTGVTRASRLENGSDTSSKSLSMGN STHTSMTYTEKSEVSSSIHPRPETSAPGAETTLTSTPGNRAISLT LPFSSIPVEEVISTGITSGPDINSAPMTHSPITPPTIVWTSTGTI EQSTQPLHAVSSEKVSVQTQSTPYVNSVAVSASPTHENSVSSGSS

		TSSPYSSASLESLDSTISRRNAITSWLWDLTTSLPTTTWPSTSLS EALSSGHSGVSNPSSTTTEFPLFSAASTSAAKQRNPETETHGPQN TAASTLNTDASSVTGLSETPVGASISSEVPLPMAITSRSDVSGLT SESTANPSLGTASSAGTKLTRTISLPTSESLVSFRMNKDPWTVSI PLGSHPTTNTETSIPVNSAGPPGLSTVASDVIDTPSDGAESIPTV SFSPSPDTEVTTISHFPEKTTHSFRTISSLTHELTSRVTPIPGDW MSSAMSTKPTGASPSITLGERRTITSAAPTTSPIVLTASFTETST VSLDNETTVKTSDILDARKTNELPSDSSSSSDLINTSIASSTMDV TKTASISPTSISGMTASSSPSLFSSDRPQVPTSTTETNTATSPSV SSNTYSLDGGSNVGGTPSTLPPFTITHPVETSSALLAWSRPVRTF STMVSTDTASGENPTSSNSVVTSVPAPGTWTSVGSTTDLPAMGFL KTSPAGEAHSLLASTIEPATAFTPHLSAAVVTGSSATSEASLLTT SESKAIHSSPQTPTTPTSGANWETSATPESLLVVTETSDTTLTSK ILVTDTILFSTVSTPPSKFPSTGTLSGASFPTLLPDTPAIPLTAT EPTSSLATSFDSTPLVTIASDSLGTVPETTLTMSETSNGDALVLK TVSNPDRSIPGITIQGVTESPLHPSSTSPSKIVAPRNTTYEGSIT VALSTLPAGTTGSLVFSQSSENSETTALVDSSAGLERASVMPLTT GSQGMASSGGIRSGSTHSTGTKTFSSLPLTMNPGEVTAMSEITTN RLTATQSTAPKGIPVKPTSAESGLLTPVSASSSPSKAFASLTTAP PTWGIPQSTLTFEFSEVPSLDTKSASLPTPGQSLNTIPDSDASTA SSSLSKSPEKNPRARMMTSTKAISASSFQSTGFTETPEGSASPSM AGHEPRVPTSGTGDPRYASESMSYPDPSKASSAMTSTSLASKLTT LFSTGQAARSGSSSSPISLSTEKETSFLSPTASTSRKTSLFLGPS MARQPNILVHLQTSALTLSPTSTLNMSQEEPPELTSSQTIAEEEG TTAETQTLTFTPSETPTSLLPVSSPTEPTARRKSSPETWASSISV PAKTSLVETTDGTLVTTIKMSSQAAQGNSTWPAPAEETGSSPAGT SPGSPEMSTTLKIMSSKEPSISPEIRSTVRNSPWKTPETTVPMET TVEPVTLQSTALGSGSTSISHLPTGTTSPTKSPTENMLATERVSL SPSPPEAWTNLYSGTPGGTRQSLATMSSVSLESPTARSITGTGQQ SSPELVSKTTGMEFSMWHGSTGGTTGDTHVSLSTSSNILEDPVTS PNSVSSLTDKSKHKTETWVSTTAIPSTVLNNKIMAAEQQTSRSVD EAYSSTSSWSDQTSGSDITLGASPDVTNTLYITSTAQTTSLVSLP SGDQGITSLTNPSGGKTSSASSVTSPSIGLETLRANVSAVKSDIA PTAGHLSQTSSPAEVSILDVTTAPTPGISTTITTMGTNSISTTTP NPEVGMSTMDSTPATERRTTSTEHPSTWSSTAASDSWTVTDMTSN LKVARSPGTISTMHTTSFLASSTELDSMSTPHGRITVIGTSLVTP SSDASAVKTETSTSERTLSPSDTTASTPISTFSRVQRMSISVPDI LSTSWTPSSTEAEDVPVSMVSTDHASTKTDPNTPLSTFLFDSLST LDWDTGRSLSSATATTSAPQGATTPQELTLETMISPATSQLPFSI

		GHITSAVTPAAMARSSGVTFSRPDPTSKKAEQTSTQLPTTTSAHP GQVPRSAATTLDVIPHTAKTPDATFQRQGQTALTTEARATSDSWN EKEKSTPSAPWITEMMNSVSEDTIKEVTSSSSVLRTLNTLDINLE SGTTSSPSWKSSPYERIAPSESTTDKEAIHPSTNTVETTGWVTSS EHASHSTIPAHSASSKLTSPVVTTSTREQAIVSMSTTTWPESTRA RTEPNSFLTIELRDVSPYMDTSSTTQTSIISSPGSTAITKGPRTE ITSSKRISSSFLAQSMRSSDSPSEAITRLSNFPAMTESGGMILAM QTSPPGATSLSAPTLDTSATASWTGTPLATTQRFTYSEKTTLFSK GPEDTSQPSPPSVEETSSSSSLVPIHATTSPSNILLTSQGHSPSS TPPVTSVFLSETSGLGKTTDMSRISLEPGTSLPPNLSSTAGEALS TYEASRDTKAIHHSADTAVTNMEATSSEYSPIPGHTKPSKATSPL VTSHIMGDITSSTSVFGSSETTEIETVSSVNQGLQERSTSQVASS ATETSTVITHVSSGDATTHVTKTQATFSSGTSISSPHQFITSTNT FTDVSTNPSTSLIMTESSGVTITTQTGPTGAATQGPYLLDTSTMP YLTETPLAVTPDFMQSEKTTLISKGPKDVSWTSPPSVAETSYPSS LTPFLVTTIPPATSTLQGQHTSSPVSATSVLTSGLVKTTDMLNTS MEPVTNSPQNLNNPSNEILATLAATTDIETIHPSINKAVTNMGTA SSAHVLHSTLPVSSEPSTATSPMVPASSMGDALASISIPGSETTD IEGEPTSSLTAGRKENSTLQEMNSTTESNIILSNVSVGAITEATK MEVPSFDATFIPTPAQSTKFPDIFSVASSRLSNSPPMTISTHMTT TQTGSSGATSKIPLALDTSTLETSAGTPSVVTEGFAHSKITTAMN NDVKDVSQTNPPFQDEASSPSSQAPVLVTTLPSSVAFTPQWHSTS SPVSMSSVLTSSLVKTAGKVDTSLETVTSSPQSMSNTLDDISVTS AATTDIETTHPSINTVVTNVGTTGSAFESHSTVSAYPEPSKVTSP NVTTSTMEDTTISRSIPKSSKTTRTETETTSSLTPKLRETSISQE ITSSTETSTVPYKELTGATTEVSRTDVTSSSSTSFPGPDQSTVSL DISTETNTRLSTSPIMTESAEITITTQTGPHGATSQDTFTMDPSN TTPQAGIHSAMTHGFSQLDVTTLMSRIPQDVSWTSPPSVDKTSSP SSFLSSPAMTTPSLISSTLPEDKLSSPMTSLLTSGLVKITDILRT RLEPVTSSLPNFSSTSDKILATSKDSKDTKEIFPSINTEETNVKA NNSGHESHSPALADSETPKATTQMVITTTVGDPAPSTSMPVHGSS ETTNIKREPTYFLTPRLRETSTSQESSFPTDTSFLLSKVPTGTIT EVSSTGVNSSSKISTPDHDKSTVPPDTFTGEIPRVFTSSIKTKSA EMTITTQASPPESASHSTLPLDTSTTLSQGGTHSTVTQGFPYSEV TTLMGMGPGNVSWMTTPPVEETSSVSSLMSSPAMTSPSPVSSTSP QSIPSSPLPVTALPTSVLVTTTDVLGTTSPESVTSSPPNLSSITH ERPATYKDTAHTEAAMHHSTNTAVTNVGTSGSGHKSQSSVLADSE TSKATPLMSTTSTLGDTSVSTSTPNISQTNQIQTEPTASLSPRLR ESSTSEKTSSTTETNTAFSYVPTGAITQASRTEISSSRTSISDLD

		RPTIAPDISTGMITRLFTSPIMTKSAEMTVTTQTTTPGATSQGIL PWDTSTTLFQGGTHSTVSQGFPHSEITTLRSRTPGDVSWMTTPPV EETSSGFSLMSPSMTSPSPVSSTSPESIPSSPLPVTALLTSVLVT TTNVLGTTSPEPVTSSPPNLSSPTQERLTTYKDTAHTEAMHASMH TNTAVANVGTSISGHESQSSVPADSHTSKATSPMGITFAMGDTSV STSTPAFFETRIQTESTSSLIPGLRDTRTSEEINTVTETSTVLSE VPTTTTTEVSRTEVITSSRTTISGPDHSKMSPYISTETITRLSTF PFVTGSTEMAITNQTGPIGTISQATLTLDTSSTASWEGTHSPVTQ RFPHSEETTTMSRSTKGVSWQSPPSVEETSSPSSPVPLPAITSHS SLYSAVSGSSPTSALPVTSLLTSGRRKTIDMLDTHSELVTSSLPS ASSFSGEILTSEASTNTETIHFSENTAETNMGTTNSMHKLHSSVS IHSQPSGHTPPKVTGSMMEDAIVSTSTPGSPETKNVDRDSTSPLT PELKEDSTALVMNSTTESNTVFSSVSLDAATEVSRAEVTYYDPTF MPASAQSTKSPDISPEASSSHSNSPPLTISTHKTIATQTGPSGVT SLGQLTLDTSTIATSAGTPSARTQDFVDSETTSVMNNDLNDVLKT SPFSAEEANSLSSQAPLLVTTSPSPVTSTLQEHSTSSLVSVTSVP TPTLAKITDMDTNLEPVTRSPQNLRNTLATSEATTDTHTMHPSIN TAVANVGTTSSPNEFYFTVSPDSDPYKATSAVVITSTSGDSIVST SMPRSSAMKKIESETTFSLIFRLRETSTSQKIGSSSDTSTVFDKA FTAATTEVSRTELTSSSRTSIQGTEKPTMSPDTSTRSVTMLSTFA GLTKSEERTIATQTGPHRATSQGTLTWDTSITTSQAGTHSAMTHG FSQLDLSTLTSRVPEYISGTSPPSVEKTSSSSSLLSLPAITSPSP VPTTLPESRPSSPVHLTSLPTSGLVKTTDMLASVASLPPNLGSTS HKIPTTSEDIKDTEKMYPSTNIAVTNVGTTTSEKESYSSVPAYSE PPKVTSPMVTSFNIRDTIVSTSMPGSSEITRIEMESTFSLAHGLK GTSTSQDPIVSTEKSAVLHKLTTGATETSRTEVASSRRTSIPGPD HSTESPDISTEVIPSLPISLGITESSNMTIITRTGPPLGSTSQGT FTLDTPTTSSRAGTHSMATQEFPHSEMTTVMNKDPEILSWTIPPS IEKTSFSSSLMPSPAMTSPPVSSTLPKTIHTTPSPMTSLLTPSLV MTTDTLGTSPEPTTSSPPNLSSTSHEILTTDEDTTAIEAMHPSTS TAATNVETTSSGHGSQSSVLADSEKTKATAPMDTTSTMGHTTVST SMSVSSETTKIKRESTYSLTPGLRETSISQNASFSTDTSIVLSEV PTGTTAEVSRTEVTSSGRTSIPGPSQSTVLPEISTRTMTRLFASP TMTESAEMTIPTQTGPSGSTSQDTLTLDTSTTKSQAKTHSTLTQR FPHSEMTTLMSRGPGDMSWQSSPSLENPSSLPSLLSLPATTSPPP ISSTLPVTISSSPLPVTSLLTSSPVTTTDMLHTSPELVTSSPPKL SHTSDERLTTGKDTTNTEAVHPSTNTAASNVEIPSSGHESPSSAL ADSETSKATSPMFITSTQEDTTVAISTPHFLETSRIQKESISSLS PKLRETGSSVETSSAIETSAVLSEVSIGATTEISRTEVTSSSRTS

		ISGSAESTMLPEISTTRKIIKFPTSPILAESSEMTIKTQTSPPGS TSESTFTLDTSTTPSLVITHSTMTQRLPHSEITTLVSRGAGDVPR PSSLPVEETSPPSSQLSLSAMISPSPVSSTLPASSHSSSASVTSL LTPGQVKTTEVLDASAEPETSSPPSLSSTSVEILATSEVTTDTEK IHPFSNTAVTKVGTSSSGHESPSSVLPDSETTKATSAMGTISIMG DTSVSTLTPALSNTRKIQSEPASSLTTRLRETSTSEETSLATEAN TVLSKVSTGATTEVSRTEAISFSRTSMSGPEQSTMSQDISIGTIP RISASSVLTESAKMTITTQTGPSESTLESTLNLNTATTPSWVETH SIVIQGFPHPEMTTSMGRGPGGVSWPSPPFVKETSPPSSPLSLPA VTSPHPVSTTFLAHIPPSPLPVTSLLTSGPATTTDILGTSTEPGT SSSSSLSTTSHERLTTYKDTAHTEAVHPSTNTGGTNVATTSSGYK SQSSVLADSSPMCTTSTMGDTSVLTSTPAFLETRRIQTELASSLT PGLRESSGSEGTSSGTKMSTVLSKVPTGATTEISKEDVTSIPGPA QSTISPDISTRTVSWFSTSPVMTESAEITMNTHTSPLGATTQGTS TLDTSSTTSLTMTHSTISQGFSHSQMSTLMRRGPEDVSWMSPPLL EKTRPSFSLMSSPATTSPSPVSSTLPESISSSPLPVTSLLTSGLA KTTDMLHKSSEPVTNSPANLSSTSVEILATSEVTTDTEKTHPSSN RTVTDVGTSSSGHESTSFVLADSQTSKVTSPMVITSTMEDTSVST STPGFFETSRIQTEPTSSLTLGLRKTSSSEGTSLATEMSTVLSGV PTGATAEVSRTEVTSSSRTSISGFAQLTVSPETSTETITRLPTSS IMTESAEMMIKTQTDPPGSTPESTHTVDISTTPNWVETHSTVTQR FSHSEMTTLVSRSPGDMLWPSQSSVEETSSASSLLSLPATTSPSP VSSTLVEDFPSASLPVTSLLNPGLVITTDRMGISREPGTSSTSNL SSTSHERLTTLEDTVDTEDMQPSTHTAVTNVRTSISGHESQSSVL SDSETPKATSPMGTTYTMGETSVSISTSDFFETSRIQIEPTSSLT SGLRETSSSERISSATEGSTVLSEVPSGATTEVSRTEVISSRGTS MSGPDQFTISPDISTEAITRLSTSPIMTESAESAITIETGSPGAT SEGTLTLDTSTTTFWSGTHSTASPGFSHSEMTTLMSRTPGDVPWP SLPSVEEASSVSSSLSSPAMTSTSFFSTLPESISSSPHPVTALLT LGPVKTTDMLRTSSEPETSSPPNLSSTSAEILATSEVTKDREKIH PSSNTPVVNVGTVIYKHLSPSSVLADLVTTKPTSPMATTSTLGNT SVSTSTPAFPETMMTQPTSSLTSGLREISTSQETSSATERSASLS GMPTGATTKVSRTEALSLGRTSTPGPAQSTISPEISTETITRIST PLTTTGSAEMTITPKTGHSGASSQGTFTLDTSSRASWPGTHSAAT HRSPHSGMTTPMSRGPEDVSWPSRPSVEKTSPPSSLVSLSAVTSP SPLYSTPSESSHSSPLRVTSLFTPVMMKTTDMLDTSLEPVTTSPP SMNITSDESLATSKATMETEAIQLSENTAVTQMGTISARQEFYSS YPGLPEPSKVTSPVVTSSTIKDIVSTTIPASSEITRIEMESTSTL TPTPRETSTSQEIHSATKPSTVPYKALTSATIEDSMTQVMSSSRG

		PSPDQSTMSQDISTEVITRLSTSPIKTESTEMTITTQTGSPGATS RGTLTLDTSTTFMSGTHSTASQGFSHSQMTALMSRTPGDVPWLSH PSVEEASSASFSLSSPVMTSSSPVSSTLPDSIHSSSLPVTSLLTS GLVKTTELLGTSSEPETSSPPNLSSTSAEILAITEVTTDTEKLEM TNVVTSGYTHESPSSVLADSVTTKATSSMGITYPTGDTNVLTSTP AFSDTSRIQTKSKLSLTPGLMETSISEETSSATEKSTVLSSVPTG ATTEVSRTEAISSSRTSIPGPAQSTMSSDTSMETITRISTPLTRK ESTDMAITPKTGPSGATSQGTFTLDSSSTASWPGTHSATTQRFPQ SVVTTPMSRGPEDVSWPSPLSVEKNSPPSSLVSSSSVTSPSPLYS TPSGSSHSSPVPVTSLFTSIMMKATDMLDASLEPETTSAPNMNIT SDESLAASKATTETEAIHVFENTAASHVETTSATEELYSSSPGFS EPTKVISPVVTSSSIRDNMVSTTMPGSSGITRIEIESMSSLTPGL RETRTSQDITSSTETSTVLYKMPSGATPEVSRTEVMPSSRTSIPG PAQSTMSLDISDEVVTRLSTSPIMTESAEITITTQTGYSLATSQV TLPLGTSMTFLSGTHSTMSQGLSHSEMTNLMSRGPESLSWTSPRF VETTRSSSSLTSLPLTTSLSPVSSTLLDSSPSSPLPVTSLILPGL VKTTEVLDTSSEPKTSSSPNLSSTSVEIPATSEIMTDTEKIHPSS NTAVAKVRTSSSVHESHSSVLADSETTITIPSMGITSAVDDTTVF TSNPAFSETRRIPTEPTFSLTPGFRETSTSEETTSITETSAVLYG VPTSATTEVSMTEIMSSNRIHIPDSDQSTMSPDIITEVITRLSSS SMMSESTQMTITTQKSSPGATAQSTLTLATTTAPLARTHSTVPPR FLHSEMTTLMSRSPENPSWKSSLFVEKTSSSSSLLSLPVTTSPSV SSTLPQSIPSSSFSVTSLLTPGMVKTTDTSTEPGTSLSPNLSGTS VEILAASEVTTDTEKIHPSSSMAVTNVGTTSSGHELYSSVSIHSE PSKATYPVGTPSSMAETSISTSMPANFETTGFEAEPFSHLTSGFR KTNMSLDTSSVTPTNTPSSPGSTHLLQSSKTDFTSSAKTSSPDWP PASQYTEIPVDIITPFNASPSITESTGITSFPESRFTMSVTESTH HLSTDLLPSAETISTGTVMPSLSEAMTSFATTGVPRAISGSGSPF SRTESGPGDATLSTIAESLPSSTPVPFSSSTFTTTDSSTIPALHE ITSSSATPYRVDTSLGTESSTTEGRLVMVSTLDTSSQPGRTSSSP ILDTRMTESVELGTVTSAYQVPSLSTRLTRTDGIMEHITKIPNEA AHRGTIRPVKGPQTSTSPASPKGLHTGGTKRMETTTTALKTTTTA LKTTSRATLTTSVYTPTLGTLTPLNASMQMASTIPTEMMITTPYV FPDVPETTSSLATSLGAETSTALPRTTPSVFNRESETTASLVSRS GAERSPVIQTLDVSSSEPDTTASWVIHPAETIPTVSKTTPNFFHS ELDTVSSTATSHGADVSSAIPTNISPSELDALTPLVTISGTDTST TFPTLTKSPHETETRTTWLTHPAETSSTIPRTIPNFSHHESDATP SIATSPGAETSSAIPIMTVSPGAEDLVTSQVTSSGTDRNMTIPTL TLSPGEPKTIASLVTHPEAQTSSAIPTSTISPAVSRLVTSMVTSL

		AAKTSTTNRALTNSPGEPATTVSLVTHPAQTSPTVPWTTSIFFHS KSDTTPSMTTSHGAESSSAVPTPTVSTEVPGVVTPLVTSSRAVIS TTIPILTLSPGEPETTPSMATSHGEEASSAIPTPTVSPGVPGVVT SLVTSSRAVTSTTIPILTFSLGEPETTPSMATSHGTEAGSAVPTV LPEVPGMVTSLVASSRAVTSTTLPTLTLSPGEPETTPSMATSHGA EASSTVPTVSPEVPGVVTSLVTSSSGVNSTSIPTLILSPGELETT PSMATSHGAEASSAVPTPTVSPGVSGVVTPLVTSSRAVTSTTIPI LTLSSSEPETTPSMATSHGVEASSAVLTVSPEVPGMVTSLVTSSR AVTSTTIPTLTISSDEPETTTSLVTHSEAKMISAIPTLAVSPTVQ GLVTSLVTSSGSETSAFSNLTVASSQPETIDSWVAHPGTEASSVV PTLTVSTGEPFTNISLVTHPAESSSTLPRTTSRFSHSELDTMPST VTSPEAESSSAISTTISPGIPGVLTSLVTSSGRDISATFPTVPES PHESEATASWVTHPAVTSTTVPRTTPNYSHSEPDTTPSIATSPGA EATSDFPTITVSPDVPDMVTSQVTSSGTDTSITIPTLTLSSGEPE TTTSFITYSETHTSSAIPTLPVSPGASKMLTSLVISSGTDSTTTF PTLTETPYEPETTAIQLIHPAETNTMVPRTTPKFSHSKSDTTLPV AITSPGPEASSAVSTTTISPDMSDLVTSLVPSSGTDTSTTFPTLS ETPYEPETTATWLTHPAETSTTVSGTIPNFSHRGSDTAPSMVTSP GVDTRSGVPTTTIPPSIPGVVTSQVTSSATDTSTAIPTLTPSPGE PETTASSATHPGTQTGFTVPIRTVPSSEPDTMASWVTHPPQTSTP VSRTTSSFSHSSPDATPVMATSPRTEASSAVLTTISPGAPEMVTS QITSSGAATSTTVPTLTHSPGMPETTALLSTHPRTETSKTFPAST VFPQVSETTASLTIRPGAETSTALPTQTTSSLFTLLVTGTSRVDL SPTASPGVSAKTAPLSTHPGTETSTMIPTSTLSLGLLETTGLLAT SSSAETSTSTLTLTVSPAVSGLSSASITTDKPQTVTSWNTETSPS VTSVGPPEFSRTVTGTTMTLIPSEMPTPPKTSHGEGVSPTTILRT TMVEATNLATTGSSPTVAKTTTTFNTLAGSLFTPLTTPGMSTLAS ESVTSRTSYNHRSWISTTSSYNRRYWTPATSTPVTSTFSPGISTS SIPSSTAATVPFMVPFTLNFTITNLQYEEDMRHPGSRKFNATERE LQGLLKPLFRNSSLEYLYSGCRLASLRPEKDSSATAVDAICTHRP DPEDLGLDRERLYWELSNLTNGIQELGPYTLDRNSLYVNGFTHRS SMPTTSTPGTSTVDVGTSGTPSSSPSPTTAGPLLMPFTLNFTITN LQYEEDMRRTGSRKFNTMESVLQGLLKPLFKNTSVGPLYSGCRLT LLRPEKDGAATGVDAICTHRLDPKSPGLNREQLYWELSKLTNDIE ELGPYTLDRNSLYVNGFTHQSSVSTTSTPGTSTVDLRTSGTPSSL SSPTIMAAGPLLVPFTLNFTITNLQYGEDMGHPGSRKFNTTERVL QGLLGPIFKNTSVGPLYSGCRLTSLRSEKDGAATGVDAICIHHLD PKSPGLNRERLYWELSQLTNGIKELGPYTLDRNSLYVNGFTHRTS VPTSSTPGTSTVDLGTSGTPFSLPSPATAGPLLVLFTLNFTITNL

		KYEEDMHRPGSRKFNTTERVLQTLLGPMFKNTSVGLLYSGCRLTL LRSEKDGAATGVDAICTHRLDPKSPGVDREQLYWELSQLTNGIKE LGPYTLDRNSLYVNGFTHWIPVPTSSTPGTSTVDLGSGTPSSLPS PTTAGPLLVPFTLNFTITNLKYEEDMHCPGSRKFNTTERVLQSLL GPMFKNTSVGPLYSGCRLTLLRSEKDGAATGVDAICTHRLDPKSP GVDREQLYWELSQLTNGIKELGPYTLDRNSLYVNGFTHQTSAPNT STPGTSTVDLGTSGTPSSLPSPTSAGPLLVPFTLNFTITNLQYEE DMHHPGSRKFNTTERVLQGLLGPMFKNTSVGLLYSGCRLTLLRPE KNGAATGMDAICSHRLDPKSPGLNREQLYWELSQLTHGIKELGPY TLDRNSLYVNGFTHRSSVAPTSTPGTSTVDLGTSGTPSSLPSPTT AVPLLVPFTLNFTITNLQYGEDMRHPGSRKFNTTERVLQGLLGPL FKNSSVGPLYSGCRLISLRSEKDGAATGVDAICTHHLNPQSPGLD REQLYWQLSQMTNGIKELGPYTLDRNSLYVNGFTHRSSGLTTSTP WTSTVDLGTSGTPSPVPSPTTTGPLLVPFTLNFTITNLQYEENMG HPGSRKFNITESVLQGLLKPLFKSTSVGPLYSGCRLTLLRPEKDG VATRVDAICTHRPDPKIPGLDRQQLYWELSQLTHSITELGPYTLD RDSLYVNGFTQRSSVPTTSTPGTFTVQPETSETPSSLPGPTATGP VLLPFTLNFTITNLQYEEDMRRPGSRKFNTTERVLQGLLMPLFKN TSVSSLYSGCRLTLLRPEKDGAATRVDAVCTHRPDPKSPGLDRER LYWKLSQLTHGITELGPYTLDRHSLYVNGFTHQSSMTTTRTPDTS TMHLATSRTPASLSGPMTASPLLVLFTINFTITNLRYEENMHHPG SRKFNTTERVLQGLLRPVFKNTSVGPLYSGCRLTLLRPKKDGAAT KVDAICTYRPDPKSPGLDREQLYWELSQLTHSITELGPYTLDRDS LYVNGFTQRSSVPTTSIPGTPTVDLGTSGTPVSKPGPSAASPLLV LFTLNFTITNLRYEENMQHPGSRKFNTTERVLQGLLRSLFKSTSV GPLYSGCRLTLLRPEKDGTATGVDAICTHHPDPKSPRLDREQLYW ELSQLTHNITELGPYALDNDSLFVNGFTHRSSVSTTSTPGTPTVY LGASKTPASIFGPSAASHLLILFTLNFTITNLRYEENMWPGSRKF NTTERVLQGLLRPLFKNTSVGPLYSGCRLTLLRPEKDGEATGVDA ICTHRPDPTGPGLDREQLYLELSQLTHSITELGPYTLDRDSLYVN GFTHRSSVPTTSTGVVSEEPFTLNFTINNLRYMADMGQPGSLKFN ITDNVMQHLLSPLFQRSSLGARYTGCRVIALRSVKNGAETRVDLL CTYLQPLSGPGLPIKQVFHELSQQTHGITRLGPYSLDKDSLYLNG YNEPGPDEPPTTPKPATTFLPPLSEATTAMGYHLKTLTLNFTISN LQYSPDMGKGSATFNSTEGVLQHLLRPLFQKSSMGPFYLGCQLIS LRPEKDGAATGVDTTCTYHPDPVGPGLDIQQLYWELSQLTHGVTQ LGFYVLDRDSLFINGYAPQNLSIRGEYQINFHIVNWNLSNPDPTS SEYITLLRDIQDKVTTLYKGSQLHDTFRFCLVTNLTMDSVLVTVK ALFSSNLDPSLVEQVFLDKTLNASFHWLGSTYQLVDIHVTEMESS

		VYQPTSSSSTQHFYLNFTITNLPYSQDKAQPGTTNYQRNKRNIED ALNQLFRNSSIKSYFSDCQVSTFRSVPNRHHTGVDSLCNFSPLAR RVDRVAIYEEFLRMTRNGTQLQNFTLDRSSVLVDGYSPNRNEPLT GNSDLPFWAVILIGLAGLLGVITCLICGVLVTTRRRKKEGEYNVQ QQCPGYYQSHLDLEDLQ
SLC39A6	105	MARKLSVILILTFALSVTNPLHELKAAAFPQTTEKISPNWESGIN VDLAISTRQYHLQQLFYRYGENNSLSVEGFRKLLQNIGIDKIKRI HIHHDHDHHSDHEHHSDHERHSDHEHHSEHEHHSDHDHHSHHNHA ASGKNKRKALCPDHDSDSSGKDPRNSQGKGAHRPEHASGRRNVKD SVSASEVTSTVYNTVSEGTHFLETIETPRPGKLFPKDVSSSTPPS VTSKSRVSRLAGRKTNESVSEPRKGFMYSRNTNENPQECFNASKL LTSHGMGIQVPLNATEFNYLCPAIINQIDARSCLIHTSEKKAEIP PKTYSLQIAWVGGFIAISIISFLSLLGVILVPLMNRVFFKFLLSF LVALAVGTLSGDAFLHLLPHSHASHHHSHSHEEPAMEMKRGPLFS HLSSQNIEESAYFDSTWKGLTALGGLYFMFLVEHVLTLIKQFKDK KKKNQKKPENDDDVEIKKQLSKYESQLSTNEEKVDTDDRTEGYLR ADSQEPSHFDSQQPAVLEEEEVMIAHAHPQEVYNEYVPRGCKNKC HSHFHDTLGQSDDLIHHHHDYHHILHHHHHQNHHPHSHSQRYSRE ELKDAGVATLAWMVIMGDGLHNFSDGLAIGAAFTEGLSSGLSTSV AVFCHELPHELGDFAVLLKAGMTVKQAVLYNALSAMLAYLGMATG IFIGHYAENVSMWIFALTAGLFMYVALVDMVPEMLHNDASDHGCS RWGYFFLQNAGMLLGFGIMLLISIFEHKIVFRINF
SLC44A4	106	MGGKQRDEDDEAYGKPVKYDPSFRGPIKNRSCTDVICCVLFLLFI LGYIVVGIVAWLYGDPRQVLYPRNSTGAYCGMGENKDKPYLLYFN IFSCILSSNIISVAENGLQCPTPQVCVSSCPEDPWTVGKNEFSQT VGEVFYTKNRNFCLPGVPWNMTVITSLQQELCPSFLLPSAPALGR CFPWTNVTPPALPGITNDTTIQQGISGLIDSLNARDISVKIFEDF AQSWYWILVALGVALVLSLLFILLLRLVAGPLVLVLILGVLGVLA YGIYYCWEEYRVLRDKGASISQLGFTTNLSAYQSVQETWLAALIV LAVLEAILLLMLIFLRQRIRIAIALLKEASKAVGQMMSTMFYPLV TFVLLLICIAYWAMTALYLATSGQPQYVLWASNISSPGCEKVPIN TSCNPTAHLVNSSCPGLMCVFQGYSSKGLIQRSVFNLQIYGVLGL FWTLNWVLALGQCVLAGAFASFYWAFHKPQDIPTFPLISAFIRTL RYHTGSLAFGALILTLVQIARVILEYIDHKLRGVQNPVARCIMCC FKCCLWCLEKFIKFLNRNAYIMIAIYGKNFCVSAKNAFMLLMRNI VRVVVLDKVTDLLLFFGKLLVVGGVGVLSFFFFSGRIPGLGKDFK SPHLNYYWLPIMTSILGAYVIASGFFSVFGMCVDTLFLCFLEDLE RNNGSLDRPYYMSKSLLKILGKKNEAPPDNKKRKK

STEAP1	107	MESRKDITNQEELWKMKPRRNLEEDDYLHKDTGETSMLKRPVLLH LHQTAHADEFDCPSELQHTQELFPQWHLPIKIAAIIASLTFLYTL LREVIHPLATSHQQYFYKIPILVINKVLPMVSITLLALVYLPGVI AAIVQLHNGTKYKKFPHWLDKWMLTRKQFGLLSFFFAVLHAIYSL SYPMRRSYRYKLLNWAYQQVQQNKEDAWIEHDVWRMEIYVSLGIV GLAILALLAVTSIPSVSDSLTWREFHYIQSKLGIVSLLLGTIHAL IFAWNKWIDIKQFVWYTPPTFMIAVFLPIVVLIFKSILFLPCLRK KILKIRHGWEDVTKINKTEICSQL

【0218】在各種實施例中，本文所揭示之ADC可包含上表中所列舉之重鏈及輕鏈可變域之任何集合，或例如藉由將六個CDR移植至所選人類供體抗體構架中得到之來自重鏈及輕鏈集合之六個CDR序列的集合。在各種實施例中，本文所揭示之ADC可包含與上表中所列舉之序列同源之胺基酸序列，只要ADC保持結合至其目標癌抗原(例如其中K_D小於1×10^{-8} M)之能力且保持本文所揭示之ADC之一或多種功能特性(例如內化、調節RNA剪接、抑制細胞生長等之能力)即可。

【0219】在一些實施例中，ADC進一步包含人類重鏈及輕鏈恆定域或其片段。舉例而言，ADC可包含人類IgG重鏈恆定域(諸如IgG1)及人類κ或λ輕鏈恆定域。在各種實施例中，所描述之ADC之抗體或抗原結合片段包含人類免疫球蛋白G亞型1 (IgG1)重鏈恆定域及人類Ig κ輕鏈恆定域。

【0220】在各種其他實施例中，ADC之目標癌抗原為人類表皮生長因子受體2 (HER2)。

【0221】在各種實施例中，抗HER2抗體或其抗原結合片段包含如下三個重鏈CDR及三個輕鏈CDR：如由Kabat編號系統所定義，由SEQ ID NO:1組成之重鏈CDR1 (HCDR1)、由SEQ ID NO:2組成之重鏈CDR2 (HCDR2)、由SEQ ID NO:3組成之重鏈CDR3 (HCDR3)；由SEQ ID

NO:4組成之輕鏈CDR1 (LCDR1)、由SEQ ID NO:5組成之輕鏈CDR2 (LCDR2)及由SEQ ID NO:6組成之輕鏈CDR3 (LCDR3)。

【0222】在各種實施例中，抗HER2抗體或其抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:19之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:20之胺基酸序列之輕鏈可變區。在一些實施例中，抗HER2抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO:19之重鏈可變區胺基酸序列及SEQ ID NO:20之輕鏈可變區胺基酸序列或與所揭示之序列具有至少95%一致性之序列。在一些實施例中，抗HER2抗體或其抗原結合片段具有與SEQ ID NO:19具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性之重鏈可變區胺基酸序列及/或與SEQ ID NO:20具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性之輕鏈可變區胺基酸序列。

【0223】在各種實施例中，抗HER2抗體或其抗原結合片段為內化性抗體或內化性抗原結合片段。在各種實施例中，抗HER2抗體包含人類IgG1重鏈恆定域及人類Ig κ輕鏈恆定域。

【0224】在各種實施例中，抗HER2抗體包含SEQ ID NO:19之重鏈胺基酸序列或與SEQ ID NO:19具有至少95%一致性之序列及SEQ ID NO:20之輕鏈胺基酸序列或與SEQ ID NO:20具有至少95%一致性之序列。在特定實施例中，抗HER2抗體包含SEQ ID NO:19之重鏈胺基酸序列及SEQ ID NO:20之輕鏈胺基酸序列或與所揭示之序列具有至少95%一致性之序列。在一些實施例中，抗HER2抗體具有與SEQ ID NO:19具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性之重鏈胺基酸序列及與SEQ ID NO:20具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性之輕鏈胺基酸序列。在各種實施例中，抗HER2抗體為曲妥珠單抗或其抗原

結合片段。

【0225】在各種實施例中，抗HER2抗體或其抗原結合片段包含曲妥珠單抗之三個重鏈CDR及三個輕鏈CDR，或其中CDR包括HCDR1 (SEQ ID NO:1)、HCDR2 (SEQ ID NO:2)、HCDR3 (SEQ ID NO:3)、LCDR1 (SEQ ID NO:4)、LCDR2 (SEQ ID NO:5)及LCDR3 (SEQ ID NO:6)之不超過一個、兩個、三個、四個、五個或六個胺基酸添加、刪除或取代。

【0226】在各種其他實施例中，ADC之目標癌抗原為人類多配體蛋白聚糖-1 (CD138)。

【0227】在各種實施例中，抗CD138抗體或其抗原結合片段包含如下三個重鏈CDR及三個輕鏈CDR：如由Kabat編號系統所定義，由SEQ ID NO:7組成之重鏈CDR1 (HCDR1)、由SEQ ID NO:8組成之重鏈CDR2 (HCDR2)、由SEQ ID NO:9組成之重鏈CDR3 (HCDR3)；由SEQ ID NO:10組成之輕鏈CDR1 (LCDR1)、由SEQ ID NO:11組成之輕鏈CDR2 (LCDR2)及由SEQ ID NO:12組成之輕鏈CDR3 (LCDR3)。

【0228】在各種實施例中，抗CD138抗體或其抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:21之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:22之胺基酸序列之輕鏈可變區。在一些實施例中，抗CD138抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO:21之重鏈可變區胺基酸序列及SEQ ID NO:22之輕鏈可變區胺基酸序列或與所揭示之序列具有至少95%一致性之序列。在一些實施例中，抗CD138抗體或其抗原結合片段具有與SEQ ID NO:21具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性之重鏈可變區胺基酸序列及/或與SEQ ID NO:22具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性之輕鏈可變區胺基酸序列。

【0229】在各種實施例中，抗CD138抗體或其抗原結合片段為內化性抗體或內化性抗原結合片段。在各種實施例中，抗CD138抗體包含鼠IgG2a重鏈恆定域及鼠Ig κ輕鏈恆定域。在各種實施例中，抗CD138抗體包含人類IgG2a重鏈恆定域及人類Ig κ輕鏈恆定域。

【0230】在各種實施例中，抗CD138抗體包含SEQ ID NO:21之重鏈胺基酸序列或與SEQ ID NO:21具有至少95%一致性之序列及SEQ ID NO:22之輕鏈胺基酸序列或與SEQ ID NO:22具有至少95%一致性之序列。在特定實施例中，抗CD138抗體包含SEQ ID NO:21之重鏈胺基酸序列及SEQ ID NO:22之輕鏈胺基酸序列或與所揭示之序列具有至少95%一致性之序列。在一些實施例中，抗CD138抗體具有與SEQ ID NO:21具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性之重鏈胺基酸序列及與SEQ ID NO:22具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性之輕鏈胺基酸序列。在各種實施例中，抗CD138抗體為B-B4或其抗原結合片段。

【0231】在各種實施例中，抗CD138抗體或其抗原結合片段包含B-B4之三個重鏈CDR及三個輕鏈CDR，或其中CDR包括HCDR1 (SEQ ID NO:7)、HCDR2 (SEQ ID NO:8)、HCDR3 (SEQ ID NO:9)、LCDR1 (SEQ ID NO:10)、LCDR2 (SEQ ID NO:11)及LCDR3 (SEQ ID NO:12)之不超過一個、兩個、三個、四個、五個或六個胺基酸添加、刪除或取代。

【0232】在各種其他實施例中，ADC之目標癌抗原為人類蝶素A型受體2 (EPHA2)。

【0233】在各種實施例中，抗EPHA2抗體或其抗原結合片段包含如下三個重鏈CDR及三個輕鏈CDR：如由Kabat編號系統所定義，由SEQ

ID NO:13組成之重鏈CDR1 (HCDR1)、由SEQ ID NO:14組成之重鏈CDR2 (HCDR2)、由SEQ ID NO:15組成之重鏈CDR3 (HCDR3)；由SEQ ID NO:16組成之輕鏈CDR1 (LCDR1)、由SEQ ID NO:17組成之輕鏈CDR2 (LCDR2)及由SEQ ID NO:18組成之輕鏈CDR3 (LCDR3)。

【0234】在各種實施例中，抗EPHA2抗體或其抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:23之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:24之胺基酸序列之輕鏈可變區。在一些實施例中，抗EPHA2抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO:23之重鏈可變區胺基酸序列及SEQ ID NO:24之輕鏈可變區胺基酸序列或與所揭示之序列具有至少95%一致性之序列。在一些實施例中，抗EPHA2抗體或其抗原結合片段具有與SEQ ID NO:23具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性之重鏈可變區胺基酸序列及/或與SEQ ID NO:24具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性之輕鏈可變區胺基酸序列。

【0235】在各種實施例中，抗EPHA2抗體或其抗原結合片段為內化性抗體或內化性抗原結合片段。在各種實施例中，抗EPHA2抗體包含人類IgG1重鏈恆定域及人類Ig κ輕鏈恆定域。

【0236】在各種實施例中，抗EPHA2抗體包含SEQ ID NO:23之重鏈胺基酸序列或與SEQ ID NO:23具有至少95%一致性之序列及SEQ ID NO:24之輕鏈胺基酸序列或與SEQ ID NO:24具有至少95%一致性之序列。在特定實施例中，抗EPHA2抗體包含SEQ ID NO:23之重鏈胺基酸序列及SEQ ID NO:24之輕鏈胺基酸序列或與所揭示之序列具有至少95%一致性之序列。在一些實施例中，抗EPHA2抗體具有與SEQ ID NO:23具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性之重鏈胺基酸序列及與

SEQ ID NO:24具有至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致性之輕鏈胺基酸序列。在一些實施例中，抗EPHA2抗體包含由SEQ ID NO:23之核苷酸序列編碼之重鏈；及由SEQ ID NO:24之核苷酸序列編碼之輕鏈。在各種實施例中，抗EPHA2抗體為1C1或其抗原結合片段。

【0237】在各種實施例中，抗EPHA2抗體或其抗原結合片段包含1C1之三個重鏈CDR及三個輕鏈CDR，或其中CDR包括HCDR1 (SEQ ID NO:13)、HCDR2 (SEQ ID NO:14)、HCDR3 (SEQ ID NO:15)、LCDR1 (SEQ ID NO:16)、LCDR2 (SEQ ID NO:17)及LCDR3 (SEQ ID NO:18)之不超過一個、兩個、三個、四個、五個或六個胺基酸添加、刪除或取代。

【0238】在各種實施例中，胺基酸取代具有單獨殘基。插入之數量級通常為約1至約20個胺基酸殘基，但顯著更大之插入可為容許的，只要保持生物功能(例如結合至目標抗原)即可。刪除通常介於約1至約20個胺基酸殘基範圍內，但在一些情況下，刪除可能要大得多。取代、刪除、插入或其任何組合可用於獲得最終衍生物或變異體。一般而言，對數個胺基酸作出此等改變以將對分子，明確而言抗原結合蛋白之免疫原性及特異性之更改減至最少。然而，在某些情況下，更多變化可為容許的。保守取代一般係根據以下如表6所描繪之圖表進行。

表6

原始殘基	例示性取代
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln、His
Asp	Glu

Cys	Ser
Gln	Asn
Glu	Asp
Gly	Pro
His	Asn、Gln
Ile	Leu、Val
Leu	Ile、Val
Lys	Arg、Gln、Glu
Met	Leu、Ile
Phe	Met、Leu、Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp、Phe
Val	Ile、Leu

【0239】藉由選擇保守性低於表6中所示之取代之取代來作出功能或免疫屬性中之實質性改變。舉例而言，可進行更顯著地影響以下之取代：更改區域中多肽主鏈之結構，例如α-螺旋或β-摺疊結構；目標位點處該分子之電荷或疏水性；或側鏈之體積。一般可產生多肽特性中之最大改變之取代為其中具有以下情況之取代，(a)例如絲胺醯基或蘇胺醯基之親水性殘基取代例如白胺醯基、異白胺醯基、苯丙胺醯基、纈胺醯基或丙胺醯基之疏水性殘基(或經疏水性殘基取代)；(b)半胱胺酸或脯胺酸取代任何其他殘基(或經任何其他殘基取代)；(c)例如離胺醯基、精胺醯基或組胺醯基之

具有正電性側鏈之殘基取代例如麩胺醯基或天冬胺醯基之負電性殘基(或經負電性殘基取代)；或(d)例如苯丙胺酸之具有大體積側鏈之殘基取代例如甘胺酸之不具有側鏈之殘基(或經不具有側鏈之殘基取代)。

【0240】在其中變異抗體序列用於ADC中之各種實施例中，變異體通常展現相同定性生物活性且引發相同免疫反應，但亦可視需要選擇變異體以修改抗原結合蛋白之特徵。可替代地，變異體可設計成使得抗原結合蛋白之生物活性得到更改。舉例而言，可更改或移除糖基化位點。

【0241】各種抗體可與本文所使用之ADC一起使用以靶向癌細胞。如下文所示，本文所揭示之ADC中之連接子-有效負載物在靶向不同腫瘤抗原之抗體之情況下出乎意料地有效。於腫瘤細胞而非健康細胞上表現、或於腫瘤細胞上以高於健康細胞之表現量表現之合適抗原以及針對該等抗原之抗體為此項技術中已知的。此等抗體可與本文所揭示之連接子及荷伯希二烯剪接調節子有效負載物一起使用。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段靶向HER2，且靶向HER2之抗體或抗原結合片段為曲妥珠單抗。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段靶向CD138，且靶向CD138之抗體或抗原結合片段為B-B4。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段靶向EPHA2，且靶向EPHA2之抗體或抗原結合片段為1C1。在一些實施例中，儘管所揭示之連接子及荷伯希二烯剪接調節子有效負載物在若干不同靶向腫瘤之抗體之情況下出乎意料地有效，但靶向HER2之抗體(諸如曲妥珠單抗)、靶向CD138之抗體(諸如B-B4)及靶向EPHA2之抗體(諸如1C1)提供特定地經改善之藥物:抗體比、聚集量、穩定性(亦即活體外及活體內穩定性)、腫瘤靶向(亦即細胞毒性、效力)及/或治療功效。經改善之治療功效可在活體外或活體內量測，且可包括經減慢之腫瘤生長速率及/或經

減小之腫瘤體積。

【0242】在某些實施例中，使用針對不同抗原目標之相同目標或抗體之替代抗體，且提供上文所描述之有利功能特性(例如經改善之穩定性、經改善之腫瘤靶向、經改善之治療功效等)中之至少一些。在一些實施例中，當所揭示之連接子及荷伯希二烯剪接調節子有效負載物結合至替代性靶向HER2、CD138或EPHA2之抗體或抗原結合片段時，觀測到此等有利功能特性中之一些或全部。在一些其他實施例中，當所揭示之連接子及荷伯希二烯剪接調節子有效負載物結合至靶向HER2之抗體或抗原結合片段時，觀測到此等有利功能特性中之一些或全部。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段靶向HER2。在一些實施例中，靶向HER2之抗體或抗原結合片段為曲妥珠單抗。在一些其他實施例中，當所揭示之連接子及荷伯希二烯剪接調節子有效負載物結合至靶向CD138之抗體或抗原結合片段時，觀測到此等有利功能特性中之一些或全部。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段靶向CD138。在一些實施例中，靶向CD138之抗體或抗原結合片段為B-B4。在一些其他實施例中，當所揭示之連接子及荷伯希二烯剪接調節子有效負載物結合至靶向EPHA2之抗體或抗原結合片段時，觀測到此等有利功能特性中之一些或全部。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段靶向EPHA2。在一些實施例中，靶向EPHA2之抗體或抗原結合片段為1C1。

連接子

【0243】在各種實施例中，ADC中之連接子以足以具治療有效性之方式具胞外穩定性。在一些實施例中，連接子在細胞外部穩定以使得ADC在存在於胞外條件中時(例如在轉運或遞送至細胞中之前)保持完整。

在ADC之情形下使用之術語「完整」意謂抗體或抗原結合片段保持連接至藥物部分(例如荷伯希二烯剪接調節子)。在連接子或包含連接子之ADC之情形下，如本文所使用之「穩定」意謂當ADC存在於胞外條件中時，ADC樣品中之不超過20%、不超過約15%、不超過約10%、不超過約5%、不超過約3%或不超過約1% (或其間任何百分比)之連接子經裂解(或在總體ADC在其他方面不完整之情況下)。在一些實施例中，與替代性連接子及/或具有替代性連接子及/或荷伯希二烯剪接調節子有效負載物之ADC相比，本文所揭示之連接子及/或ADC出乎意料地穩定。在一些實施例中，本文所揭示之ADC可保持完整達超過約48小時、超過60小時、超過約72小時、超過約84小時或超過約96小時。

【0244】可例如藉由在血漿中包括ADC達預先確定之時間段(例如2、4、6、8、16、24、48或72小時)且隨後定量血漿中存在之游離藥物部分之量來確定連接子在細胞外是否穩定。穩定性可允許ADC之定位時間靶向腫瘤細胞且防止藥物部分過早釋放，該過早釋放可能因無差別地損害正常組織及腫瘤組織兩者而減小ADC之治療指數。在一些實施例中，連接子在目標細胞外部穩定且一旦處於細胞內部則自ADC釋放藥物部分，以使得藥物可結合至其目標(例如結合至SF3b剪接體複合物)。因此，有效連接子將：(i)維持抗體或抗原結合片段之特異性結合特性；(ii)允許經由穩定連接至抗體或抗原結合片段遞送(例如胞內遞送)藥物部分；(iii)保持穩定及完整直至ADC已經轉運或遞送至其目標位點；及(iv)允許裂解或替代性釋放機制之後之藥物部分之治療作用，例如細胞毒性作用。

【0245】連接子可能影響ADC之物理-化學特性。由於許多細胞毒性劑本質上具疏水性，故將其連接至具有額外疏水性部分之抗體可能引起聚

集。ADC聚集物不可溶且通常限制向抗體上之可達成藥物負載，此可能不利地影響ADC之效力。一般而言，生物製品之蛋白質聚集物亦與免疫原性增加相關。如下文所示，本文所揭示之連接子使ADC具有低聚集量及所需藥物負載量。

【0246】連接子可為「可裂解的」或「不可裂解的」(Ducry及Stump (2010) Bioconjugate Chem. 21:5-13)。可裂解連接子設計成在經受某些環境因素時，例如在內化至目標細胞中時釋放藥物部分(例如荷伯希二烯剪接調節子)，然而不可裂解連接子一般依賴於抗體或抗原結合片段自身之降解。

【0247】在一些實施例中，連接子為不可裂解連接子。在一些實施例中，ADC之荷伯希二烯剪接調節子藥物部分係藉由降解抗體或抗原結合片段來釋放。在經目標細胞內化且在目標細胞內降解時，不可裂解連接子傾向於保持與抗體之至少一個胺基酸及藥物共價締合。本文描述多種例示性不可裂解連接子，且其他不可裂解連接子為此項技術中已知的。例示性不可裂解連接子可包含硫醚、環己基、N-琥珀醯亞胺基4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1甲酸酯(SMCC)或N-羥基琥珀醯亞胺(NHS)、一或多個聚乙二醇(PEG)部分(例如1、2、3、4、5或6個PEG部分)或一或多個烷基部分。

【0248】在一些實施例中，連接子為可裂解連接子。可裂解連接子係指包含可裂解部分之任何連接子。如本文所使用之術語「可裂解部分」係指可經裂解之任何化學鍵。合適之可裂解化學鍵在此項技術中眾所周知且包括但不限於酸不穩定性鍵、蛋白酶/肽酶不穩定性鍵、光不穩定性鍵、二硫鍵及酯酶不穩定性鍵。包含可裂解部分之連接子可允許經由在連

接子中之特定位點處裂解而自ADC釋放荷伯希二烯剪接調節子藥物部分。

【0249】在一些實施例中，連接子在胞內條件下可裂解以使得連接子之裂解在胞內環境中自抗體或抗原結合片段充分地釋放荷伯希二烯剪接調節子藥物部分以活化藥物且/或賦予藥物治療有效性。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子藥物部分未自抗體或抗原結合片段裂解直至ADC進入表現對ADC之抗體或抗原結合片段具有特異性之抗原的細胞為止，且在進入細胞後荷伯希二烯剪接調節子藥物部分自抗體或抗原結合片段裂解。在一些實施例中，連接子包含經定位以使得在裂解後連接子或抗體或抗原結合片段之部分不保持結合至荷伯希二烯剪接調節子藥物部分的可裂解部分。例示性可裂解連接子包括酸不穩定性連接子、蛋白酶/肽酶敏感性連接子、光不穩定性連接子、含二甲基連接子、含二硫化物連接子或含磺醯胺連接子。

【0250】在一些實施例中，連接子為pH敏感性連接子，且在某些pH值下對水解敏感。通常，pH敏感性連接子可在酸性條件下水解。此裂解策略一般在胞內體胞內隔室(pH ~ 5-6)及溶酶體胞內隔室(pH ~ 4.8)中利用相較於細胞溶質胞內隔室(pH ~ 7.4)而言較低之pH，以觸發諸如腙之連接子中之酸不穩定性基團的水解(Jain等人(2015) Pharm Res 32:3526-40)。在一些實施例中，連接子為酸不穩定性連接子及/或可水解連接子。舉例而言，可使用可在溶酶體中水解且含有酸不穩定性基團之酸不穩定性連接子(例如腙、半卡巴腙、硫半卡巴腙、順式烏頭酸醯胺、原酸酯、縮醛、縮酮或其類似物)。參見例如美國專利第5,122,368號；第5,824,805號；第5,622,929號；Dubowchik及Walker (1999) Pharm Therapeutics

83:67-123；Neville等人(1989) Biol Chem. 264:14653-61。該等連接子在中性pH條件，諸如血液中之pH條件下相對穩定，但在低於pH 5.5或5.0(溶酶體之近似pH)下不穩定。在某些實施例中，可水解連接子為硫醚連接子(諸如經由醯腙鍵連接至治療劑之硫醚) (參見例如美國專利第5,622,929號)。

【0251】在一些實施例中，連接子可在還原條件下裂解。在一些實施例中，連接子可在諸如麩胱甘肽或二硫蘇糖醇之還原劑存在之情況下裂解。在一些實施例中，連接子為可裂解二硫化物連接子或可裂解磺醯胺連接子。

【0252】在一些實施例中，連接子為可裂解二硫化物連接子。各種二硫化物連接子為此項技術中已知的，包括例如可使用SATA (N-琥珀醯亞胺基-5-乙醯基硫基乙酸酯)、SPDP (N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯)、SPDB (N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丁酸酯)及SMPT (N-琥珀醯亞胺基氧基羰基-α-甲基-α-(2-吡啶基-二硫基)甲苯)、SPDB及SMPT形成之二硫化物連接子。參見例如Thorpe等人(1987) Cancer Res. 47:5924-31；Wawrzynczak等人, Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radioimagery and Therapy of Cancer (C. W. Vogel編, Oxford U. Press, 1987)。亦參見美國專利第4,880,935號。通常使用二硫化物連接子以開發胞內硫醇之豐度，此可有助於其二硫鍵之裂解。最多豐度胞內硫醇、經減少之麩胱甘肽之胞內濃度一般介於1-10 nM範圍內，比在約5 μM下之血液中最豐富之低分子硫醇(亦即半胱胺酸)之胞內濃度高約1,000倍(Goldmacher等人, Cancer Drug Discovery and Development: Antibody-Drug Conjugates and Immunotoxins (G. L.

Phillips編, Springer, 2013))。蛋白質二硫化物異構酶家族之胞內酶亦可促進二硫化物連接子之胞內裂解。如本文所使用之可裂解二硫化物連接子係指包含可裂解二硫化物部分之任何連接子。術語「可裂解二硫化物部分」係指可例如藉由硫醇或酶進行裂解及/或還原之二硫鍵。

【0253】在一些實施例中，連接子為可裂解磺醯胺連接子。如本文所使用之可裂解磺醯胺連接子係指包含可裂解磺醯胺部分之任何連接子。術語「可裂解磺醯胺部分」係指磺醯胺基團，亦即連接至胺基之磺醯基，其中硫-氮鍵可經裂解。

【0254】在一些實施例中，連接子可為用於經由分支之多官能連接子部分將超過一個藥物部分共價連接至抗體或抗原結合片段的樹突狀型連接子。參見例如Sun等人(2002) Bioorg Med Chem Lett. 12:2213-5；Sun等人(2003) Bioorg Med Chem. 11:1761-8。樹突狀連接子可增加藥物與抗體之莫耳比，亦即藥物負載量，其與ADC之效力有關。因此，舉例而言，在抗體或抗原結合片段僅承載一個反應性半胱胺酸硫醇基之情況下，多個荷伯希二烯剪接調節子藥物部分可經由樹突狀連接子連接。在一些實施例中，連接子部分或連接子-藥物部分可經由經還原之二硫橋連化學物質或限制性離胺酸利用技術連接至抗體或抗原結合片段。參見例如國際公開案第WO 2013/173391號及第WO 2013/173393號。

【0255】在一些實施例中，連接子可藉由胞內環境中(例如溶酶體或胞內體或胞膜窖內)存在之裂解劑，例如酶進行裂解。連接子可為例如藉由包括但不限於溶酶體或胞內體蛋白酶之胞內肽酶或蛋白酶裂解之肽連接子。

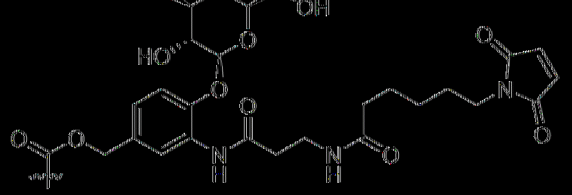
【0256】在一些實施例中，連接子為可裂解肽連接子。如本文所使

用之可裂解肽連接子係指包含可裂解肽部分之任何連接子。術語「可裂解肽部分」係指可藉由胞內環境中存在之藥劑裂解之任何化學鍵連接之胺基酸(天然或合成胺基酸衍生物)。舉例而言，連接子可包含可藉由諸如組織蛋白酶(例如組織蛋白酶B)之肽酶裂解之纈胺酸-丙胺酸(Val-Ala)序列或纈胺酸-瓜胺酸(Val-Cit)序列。在一些實施例中，連接子可包含麩胺酸-纈胺酸-瓜胺酸(Glu-Val-Cit)序列。在一些實施例中，連接子為酶可裂解連接子且連接子中之可裂解肽部分可藉由酶裂解。在一些實施例中，可裂解肽部分可藉由例如組織蛋白酶之溶酶體酶裂解。在一些實施例中，連接子為組織蛋白酶可裂解連接子。在一些實施例中，連接子中之可裂解肽部分可藉由諸如組織蛋白酶B、C、F、H、K、L、O、S、V、X或W之溶酶體半胱胺酸組織蛋白酶裂解。在一些實施例中，可裂解肽部分可藉由組織蛋白酶B裂解。可藉由組織蛋白酶B裂解之例示性二肽為纈胺酸-瓜胺酸(Val-Cit) (Dubowchik等人(2002) Bioconjugate Chem. 13:855-69)。

【0257】在一些實施例中，連接子或連接子中之可裂解肽部分包含胺基酸單元。在一些實施例中，胺基酸單元允許藉由蛋白酶裂解連接子，由此促進在暴露於一或多種胞內蛋白酶(諸如一或多種溶酶體酶)後荷伯希二烯剪接調節子藥物部分自ADC之釋放(Doronina等人(2003) Nat Biotechnol. 21:778-84；Dubowchik及Walker (1999) Pharm Therapeutics 83:67-123)。例示性胺基酸單元包括但不限於二肽、三肽、四肽及五肽。例示性二肽包括但不限於纈胺酸-丙胺酸(Val-Ala)、纈胺酸-瓜胺酸(Val-Cit)、丙胺酸-天冬醯胺酸(Ala-Asn)、丙胺酸-苯丙胺酸(Ala-Phe)、苯丙胺酸-離胺酸(Phe-Lys)、丙胺酸-離胺酸(Ala-Lys)、丙胺酸-纈胺酸(Ala-Val)、纈胺酸-離胺酸(Val-Lys)、離胺酸-離胺酸(Lys-Lys)、苯丙胺酸-瓜

胺酸(Phe Cit)、白胺酸 瓜胺酸(Leu Cit)、異白胺酸 瓜胺酸(Ile Cit)、色胺酸 瓜胺酸(Trp Cit)及苯丙胺酸 丙胺酸(Phe Ala)。例示性二肽包括但不限於丙胺酸 丙胺酸 天冬醯胺酸(Ala Ala Asn)、甘胺酸 纈胺酸 瓜胺酸(Gly Val Cit)、甘胺酸 甘胺酸 甘胺酸(Gly Gly Gly)、苯丙胺酸 苯丙胺酸 離胺酸(Phe Phe Lys)、麩胺酸 纈胺酸 瓜胺酸(Glu Val Cit)（參見Anami等人(2018) Nat. Comm. 9:2512)及甘胺酸 苯丙胺酸 離胺酸(Gly Phe Lys)。其他例示性胺基酸單元包括但不限於如例如美國專利第6,214,345號中所描述之Gly Phe Gly Gly (SEQ ID NO:34)、Gly Phe Leu Gly (SEQ ID NO:35)、Ala Leu Ala Leu (SEQ ID NO:36)、Phe N^9-tosyl Arg及Phe N^9-Nitro Arg。在一典實施例中，連接子中之胺基酸單元包含Val Ala。在一典實施例中，連接子中之胺基酸單元包含Val Cit。在一典實施例中，連接子中之胺基酸單元包含Glu Val Cit。胺基酸單元可包含天然存在之胺基酸殘基及/或次級胺基酸及/或非天然存在之胺基酸類似物(諸如瓜胺酸)。胺基酸單元可針對藉由特定酶進行之酶裂解進行設計及最佳化，該特定酶例如為腫瘤相關蛋白酶、溶酶體蛋白酶(諸如組織蛋白酶B、C、D或S)或纖維蛋白溶酶蛋白酶。

[0258] 在一典實施例中，連接子為可裂解β-葡萄糖醛酸連接子。如本文所使用之可裂解β-葡萄糖醛酸連接子係指包含可裂解β-葡萄糖醛酸部分之任何連接子。例示性可裂解β-葡萄糖醛酸連接子包含以下結構：



[0259] 術語「可裂解β-葡萄糖醛酸部分」係指可藉由具有β-葡萄

糖醛酸酶活性之藥劑裂解之醣苷鍵。在一些實施例中，連接子包含可藉由β-葡萄糖醛酸酶裂解之醣苷鍵。β-葡萄糖醛酸酶為催化具有β-組態之葡萄糖醛酸之醣苷鍵之水解的UDP-葡萄糖醛酸基轉移酶。

【0260】在一些實施例中，本文所揭示之ADC包含可藉由酶裂解之連接子中之可裂解β-葡萄糖醛酸部分。在一些實施例中，連接子中之可裂解β-葡萄糖醛酸部分可藉由例如β-葡萄糖醛酸酶之溶酶體酶裂解。在一些實施例中，連接子為β-葡萄糖醛酸酶可裂解連接子。在一些實施例中，連接子中之可裂解β-葡萄糖醛酸部分允許在ADC內化之後藉由β-葡萄糖醛酸酶進行之連接子裂解，由此促進細胞環境中藥物部分自ADC之釋放。

【0261】在一些實施例中，本文所揭示之ADC中之任一種中之連接子可包含將抗體或抗原結合片段接合至藥物部分(例如荷伯希二烯剪接調節子藥物部分)之至少一個間隔子單元。在一些實施例中，介於抗體或抗原結合片段與可裂解部分之間之間隔子單元當存在時將連接子中之裂解位點(例如可裂解肽部分)接合至抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，介於藥物部分與可裂解部分之間之間隔子單元當存在時將連接子中之裂解位點(例如可裂解肽部分)接合至藥物部分。在一些實施例中，不存在裂解位點，且使用間隔子單元來將抗體或抗原結合片段連接至藥物部分。

【0262】在一些實施例中，連接子及/或連接子中之間隔子單元實質上具有親水性。親水性連接子可用於降低可經由多重抗藥性(MDR)或功能上類似之轉運子自抗藥性癌細胞中泵送出藥物之程度。在一些實施例中，親水性連接子可包括一或多個聚乙二醇(PEG)部分，例如1、2、3、4、5或6個PEG部分。在一些實施例中，連接子包含2個PEG部分。

【0263】在一些實施例中，連接子中之間隔子單元包含一或多個

PEG部分。在一些實施例中，間隔子單元包含一或多個-$(PEG)_m$-，且*m*為1至10之整數(亦即*m*可為1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)。在一些實施例中，*m*介於1至10範圍內；介於2至8範圍內；介於2至6範圍內；介於2至5範圍內；介於2至4範圍內；或介於2至3範圍內。在一些實施例中，*m*為2。在一些實施例中，間隔子單元包含$(PEG)_2$、$(PEG)_3$、$(PEG)_4$、$(PEG)_5$、$(PEG)_6$、$(PEG)_7$、$(PEG)_8$、$(PEG)_9$或$(PEG)_{10}$。在一些實施例中，間隔子單元包含$(PEG)_2$。

【0264】在一些實施例中，連接子中之間隔子單元包含烷基部分。在一些實施例中，間隔子單元包含一或多個-$(CH_2)_n$-，且*n*為1至10之整數(亦即*n*可為1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)。在一些實施例中，*n*介於1至10範圍內；介於2至8範圍內；介於2至6範圍內；介於2至5範圍內；介於2至4範圍內；或介於2至3範圍內。在一些實施例中，*n*為2。在一些實施例中，*n*為5。在一些實施例中，*n*為6。在一些實施例中，間隔子單元包含$(CH_2)_2$、$(CH_2)_3$、$(CH_2)_4$、$(CH_2)_5$、$(CH_2)_6$、$(CH_2)_7$、$(CH_2)_8$、$(CH_2)_9$或$(CH_2)_{10}$。在一些實施例中，間隔子單元包含$(CH_2)_2$(「Et」)。在一些實施例中，間隔子單元包含$(CH_2)_6$(「Hex」)。在一些實施例中，間隔子單元包含$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$(「Et-O-Et」)。

【0265】可使用間隔子單元例如以將抗體或抗原結合片段直接地或間接地連接至藥物部分。在一些實施例中，間隔子單元將抗體或抗原結合片段直接地連接至荷伯希二烯剪接調節子藥物部分。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段及荷伯希二烯剪接調節子藥物部分經由包含一或多個PEG部分(例如$(PEG)_2$)或一或多個烷基部分(例如$(CH_2)_2$、$(CH_2)_6$或$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$)之間隔子單元連接。在一些實施例中，間隔子單元將抗

體或抗原結合片段間接地連接至荷伯希二烯剪接調節子藥物部分。在一些實施例中，間隔子單元經由可裂解部分(例如可裂解肽或可裂解β-葡萄糖醛酸)及/或用以將間隔子單元接合至抗體或抗原結合片段之連接部分(例如順丁烯二醯亞胺部分)來將抗體或抗原結合片段間接連接至荷伯希二烯剪接調節子藥物部分。

【0266】在各種實施例中，間隔子單元經由順丁烯二醯亞胺(Mal)部分連接至抗體或抗原結合片段(亦即抗體或抗原結合片段)。

【0267】經由Mal連接至抗體或抗原結合片段之間隔子單元在本文中稱為「Mal-間隔子單元」。如本文所使用之術語「Mal」或「順丁烯二醯亞胺部分」意謂含有順丁烯二醯亞胺基且可與硫氫基，例如抗體或抗原結合片段上之半胱胺酸殘基之硫氫基反應的化合物。可與硫氫基(硫醇)反應之其他官能基包括但不限於碘乙醯胺、溴乙醯胺、乙烯基吡啶、二硫化物、吡啶基二硫化物、異氰酸酯及異硫氰酸酯。在一些實施例中，Mal-間隔子單元可與抗體或抗原結合片段上之半胱胺酸殘基反應。在一些實施例中，Mal-間隔子單元經由半胱胺酸殘基接合至抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，Mal-間隔子單元包含PEG部分。在一些實施例中，Mal-間隔子單元包含烷基部分。

【0268】在某些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元及可裂解肽部分。在一些實施例中，可裂解肽部分包含胺基酸單元。在一些實施例中，胺基酸單元包含Val-Cit。在一些實施例中，胺基酸單元包含Val-Ala。在一些實施例中，胺基酸單元包含Glu-Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元及Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元及Val-Ala。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單

元及Val-Cit，其中Mal-間隔子單元包含順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元及Val-Ala，其中Mal-間隔子單元包含順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元及可裂解β-葡萄糖醛酸部分。

【0269】在一些實施例中，連接子包含以下結構：Mal-間隔子單元。在一些實施例中，Mal-間隔子單元包含順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)。在一些實施例中，連接子包含以下結構：MC。在一些實施例中，連接子包含以下結構：Mal-$(CH_2)_2$（「Mal-Et」）。在一些實施例中，連接子包含以下結構：Mal-$(CH_2)_6$（「Mal-Hex」）。在一些實施例中，連接子包含以下結構：Mal-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$（「Mal-Et-O-Et」）。在一些實施例中，連接子包含以下結構：Mal-$(PEG)_2$。在一些實施例中，連接子包含以下結構：Mal-$(PEG)_2$-CO。

【0270】在各種實施例中，Mal-間隔子單元將抗體或抗原結合片段連接至可裂解肽部分。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元-肽。在一些實施例中，連接子包含以下結構：Mal-間隔子單元-Val-Cit。在一些實施例中，Mal-間隔子單元包含順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)。在一些實施例中，連接子包含以下結構：MC-Val-Cit。

【0271】在一些實施例中，連接子包含以下結構：Mal-間隔子單元-Val-Ala。在一些實施例中，Mal-間隔子單元包含順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)。在一些實施例中，連接子包含以下結構：MC-Val-Ala。

【0272】在各種實施例中，Mal-間隔子單元將抗體或抗原結合片段連接至可裂解β-葡萄糖醛酸部分。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元-β-葡萄糖醛酸。在一些實施例中，連接子包含MC-β-葡萄糖醛

酸。

【0273】在各種實施例中，連接子中之可裂解部分直接地接合至荷伯希二烯剪接調節子藥物部分。在其他實施例中，間隔子單元用於將連接子中之可裂解部分連接至荷伯希二烯剪接調節子藥物部分。在各種實施例中，荷伯希二烯剪接調節子藉由間隔子單元連接至連接子中之可裂解部分。

【0274】間隔子單元可為「自我分解型」或「非自我分解型」間隔子單元。「非自我分解型」間隔子單元為間隔子單元之部分或全部在連接子裂解後保持結合至荷伯希二烯剪接調節子藥物部分的間隔子單元。非自我分解型間隔子單元之實例包括但不限於甘胺酸間隔子單元及甘胺酸-甘胺酸間隔子單元。非自我分解型間隔子單元最終可隨時間推移而降解，但在細胞條件下不會容易地完全釋放所連接之天然藥物部分。「自我分解型」間隔子單元允許在胞內條件下釋放天然藥物部分。「天然藥物」或「天然藥物部分」為在間隔子單元裂解/降解之後不保留間隔子單元之部分或其他化學修飾。

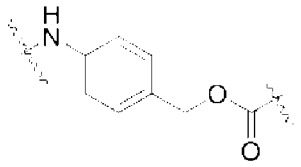
【0275】自我分解型化學物質為此項技術中已知的且可針對所揭示之ADC容易地選擇。在各種實施例中，將連接子中之可裂解部分連接至荷伯希二烯剪接調節子藥物部分之間隔子單元為自我分解型間隔子單元，且與在胞內條件下之可裂解部分裂解同時或在其之前/在其之後不久進行自我分解。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子藉由自我分解型間隔子單元連接至連接子中之可裂解部分。在某些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子係藉由自我分解型間隔子單元連接至連接子中之可裂解部分，可裂解部分包含Val-Cit，且順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)將可裂解部分接合

至抗體或抗原結合片段。在某些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子係藉由自我分解型間隔子單元連接至連接子中之可裂解部分，可裂解部分包含Val-Ala，且順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)將可裂解部分接合至抗體或抗原結合片段。在某些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子係藉由自我分解型間隔子單元連接至連接子中之可裂解部分，可裂解部分包含Glu-Val-Cit，且順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)將可裂解部分接合至抗體或抗原結合片段。在某些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子係經由接合至Val-Cit可裂解部分之連接子中之Mal-間隔子單元(例如MC)及pABC或pAB自我分解型間隔子單元接合至抗體或抗原結合片段。在某些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子係經由接合至Val-Ala可裂解部分之連接子中之Mal-間隔子單元(例如MC)及pABC或pAB自我分解型間隔子單元接合至抗體或抗原結合片段。在某些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子係經由接合至Glu-Val-Cit可裂解部分之連接子中之Mal-間隔子單元(例如MC)及pABC或pAB自我分解型間隔子單元接合至抗體或抗原結合片段。

【0276】在某些實施例中，連接子中之自我分解型間隔子單元包含對胺基苯甲基單元。在一些實施例中，對胺基苯甲醇(pABOH)經由醯胺鍵連接至連接子中之胺基酸單元或其他可裂解部分，且在pABOH與藥物部分之間製成胺基甲酸酯、胺基甲酸甲酯或碳酸酯(Hamann等人(2005) Expert Opin Ther Patents 15:1087-103)。在一些實施例中，自我分解型間隔子單元為或包含對胺基苯甲氧基羰基(pABC)。在不受理論束縛之情況下，認為pABC之自我分解涉及自發1,6-消除反應(Jain等人(2015) Pharm Res. 32:3526-40)。

【0277】在各種實施例中，所揭示之ADC中所使用之對胺基苯甲氧

基羰基(pABC)之結構顯示於下：



【0278】在各種實施例中，自我分解型間隔子單元將連接子中之可裂解部分連接至荷伯希二烯剪接調節子。在一些實施例中，自我分解型間隔子單元為pABC。在一些實施例中，pABC將連接子中之可裂解部分連接至荷伯希二烯剪接調節子。在一些實施例中，在可裂解部分裂解後pABC進行自我分解，且荷伯希二烯剪接調節子以其天然活性形式自ADC釋放。

【0279】在一些實施例中，抗HER2抗體或抗原結合片段係藉由包含MC-Val-Cit-pABC之連接子接合至荷伯希二烯剪接調節子。在其他實施例中，抗HER2抗體或抗原結合片段係藉由包含MC-Val-Ala-pABC之連接子接合至荷伯希二烯剪接調節子。

【0280】在一些實施例中，抗CD138抗體或抗原結合片段係藉由包含MC-Val-Cit-pABC之連接子接合至荷伯希二烯剪接調節子。在其他實施例中，抗CD138抗體或抗原結合片段係藉由包含MC-Val-Ala-pABC之連接子接合至荷伯希二烯剪接調節子。

【0281】在一些實施例中，抗EPHA2抗體或抗原結合片段係藉由包含MC-Val-Cit-pABC之連接子接合至荷伯希二烯剪接調節子。在其他實施例中，抗EPHA2抗體或抗原結合片段係藉由包含MC-Val-Ala-pABC之連接子接合至荷伯希二烯剪接調節子。

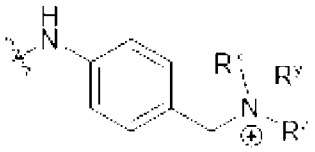
【0282】在一些實施例中，在連接子中之可裂解肽部分裂解後，pABC進行自我分解。在一些實施例中，可裂解肽部分包含胺基酸單元。

在一些實施例中，連接子包含胺基酸單元-pABC。在一些實施例中，胺基酸單元為Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含Val-Cit-pABC。在一些實施例中，胺基酸單元為Glu-Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含Glu-Val-Cit-pABC。在一些實施例中，胺基酸單元為Val-Ala。在一些實施例中，連接子包含Val-Ala-pABC。在一些實施例中，胺基酸單元為Ala-Ala-Asn。在一些實施例中，連接子包含Ala-Ala-Asn-pABC。

【0283】在一些實施例中，在連接子中之可裂解β-葡萄糖醛酸部分裂解後，pABC進行自我分解。在一些實施例中，連接子包含β-葡萄糖醛酸-pABC。

【0284】在某些實施例中，連接子中之自我分解型間隔子單元包含對胺基苯甲基單元。在一些實施例中，連接子中之自我分解型間隔子單元包含對胺基苯甲基(pAB)。在一些實施例中，pAB之自我分解涉及自發1,6-消除反應。

【0285】在各種實施例中，所揭示之ADC中所使用之對胺基苯甲基(pAB)之結構顯示於下：



【0286】在各種實施例中，自我分解型間隔子單元將連接子中之可裂解部分連接至荷伯希二烯剪接調節子。在一些實施例中，自我分解型間隔子單元為pAB。在一些實施例中，pAB將連接子中之可裂解部分連接至荷伯希二烯剪接調節子。在一些實施例中，pAB在可裂解部分裂解後進行自我分解，且荷伯希二烯剪接調節子以其天然活性形式自ADC釋放。

【0287】在一些實施例中，抗HER2抗體或抗原結合片段係藉由包含

MC-Val-Cit-pAB之連接子接合至荷伯希二烯剪接調節子。在其他實施例中，抗HER2抗體或抗原結合片段係藉由包含MC-Val-Ala-pAB之連接子接合至荷伯希二烯剪接調節子。

【0288】在一些實施例中，抗CD138抗體或抗原結合片段係藉由包含MC-Val-Cit-pAB之連接子接合至荷伯希二烯剪接調節子。在其他實施例中，抗CD138抗體或抗原結合片段係藉由包含MC-Val-Ala-pAB之連接子接合至荷伯希二烯剪接調節子。

【0289】在一些實施例中，抗EPHA2抗體或抗原結合片段係藉由包含MC-Val-Cit-pAB之連接子接合至荷伯希二烯剪接調節子。在其他實施例中，抗EPHA2抗體或抗原結合片段係藉由包含MC-Val-Ala-pAB之連接子接合至荷伯希二烯剪接調節子。

【0290】在一些實施例中，在連接子中之可裂解肽部分裂解後，pAB進行自我分解。在一些實施例中，可裂解肽部分包含胺基酸單元。在一些實施例中，連接子包含胺基酸單元-pAB。在一些實施例中，胺基酸單元為Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含Val-Cit-pAB。在一些實施例中，胺基酸單元為Val-Ala。在一些實施例中，連接子包含Val-Ala-pAB。在一些實施例中，胺基酸單元為Glu-Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含Glu-Val-Cit-pAB。在一些實施例中，胺基酸單元為Ala-Ala-Asn。在一些實施例中，連接子包含Ala-Ala-Asn-pAB。

【0291】在一些實施例中，在連接子中之可裂解β-葡萄糖醛酸部分裂解後，pAB進行自我分解。在一些實施例中，連接子包含β-葡萄糖醛酸-pAB。

【0292】在一些其他實施例中，荷伯希二烯剪接調節子藉由非自我

分解型間隔子單元連接至連接子中之可裂解部分。在某些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子係藉由非自我分解型間隔子單元連接至連接子中之可裂解部分，可裂解部分包含Val-Cit，且順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)將可裂解部分接合至抗體或抗原結合片段。在某些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子係藉由非自我分解型間隔子單元連接至連接子中之可裂解部分，可裂解部分包含Val-Ala，且順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)將可裂解部分接合至抗體或抗原結合片段。

【0293】在各個態樣中，ADC之抗體或抗原結合片段經由連接子結合至荷伯希二烯剪接調節子藥物部分，其中連接子包含Mal-間隔子單元(例如MC)、可裂解胺基酸單元及pABC。在一些實施例中，間隔子單元包含烷基部分。在一些實施例中，Mal-間隔子單元包含順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元-胺基酸單元-pABC。在一些實施例中，連接子包含MC-胺基酸單元-pABC。在一些實施例中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC。在一些實施例中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC。在一些實施例中，連接子包含MC-Glu-Val-Cit-pABC。在一些實施例中，連接子包含MC-Ala-Ala-Asn-pABC。

【0294】在各個其他態樣中，ADC之抗體或抗原結合片段經由連接子結合至荷伯希二烯剪接調節子藥物部分，其中連接子包含Mal-間隔子單元(例如MC)、可裂解胺基酸單元及pAB。在一些實施例中，間隔子單元包含烷基部分。在一些實施例中，Mal-間隔子單元包含順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元-胺基酸單元-pAB。在一些實施例中，連接子包含MC-胺基酸單元-pAB。在一些實施例中，連接子包含MC-Val-Cit-pAB。在一些實施例中，連接子包含MC-

Val-Ala-pAB。在一些實施例中，連接子包含MC-Glu-Val-Cit-pAB。在一些實施例中，連接子包含MC-Ala-Ala-Asn-pAB。

【0295】在各個其他態樣中，ADC之抗體或抗原結合片段經由連接子結合至荷伯希二烯剪接調節子藥物部分，其中連接子包含Mal-間隔子單元(例如MC)、可裂解β-葡萄糖醛酸及pABC。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元-β-葡萄糖醛酸-pABC。在一些實施例中，連接子包含MC-β-葡萄糖醛酸-pABC。

【0296】在又其他態樣中，ADC之抗體或抗原結合片段經由連接子結合至荷伯希二烯剪接調節子藥物部分，其中連接子包含Mal-間隔子單元(例如MC)、可裂解β-葡萄糖醛酸及pAB。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元-β-葡萄糖醛酸-pAB。在一些實施例中，連接子包含MC-β-葡萄糖醛酸-pAB。

【0297】在各種實施例中，ADC化合物具有式(I)：

$Ab-(L-H)_p$　(I)

其中Ab為靶向贅生性細胞之抗體或抗原結合片段；

H為荷伯希二烯剪接調節子；

L為將Ab共價連接至D之連接子；且

*p*為1至15之整數。

【0298】在一些實施例中，ADC之抗體或抗原結合片段(Ab)經由連接子結合至荷伯希二烯剪接調節子藥物部分，其中連接子為所揭示或以引用之方式併入本文中之連接子中之任一種，或包含所揭示或以引用之方式併入本文中之連接子中之任一種的一或多種組分。

【0299】在一些實施例中，連接子包含經定位以使得連接子或抗體

或抗原結合片段之部分在裂解之後不保持結合至荷伯希二烯剪接調節子的可裂解部分。在一些實施例中，可裂解部分為可裂解肽部分，例如胺基酸單元，諸如Val-Cit或Val-Ala。在一些實施例中，胺基酸單元或連接子包含Val-Cit。在一些實施例中，胺基酸單元或連接子包含Val-Ala。在一些實施例中，胺基酸單元或連接子包含Glu-Val-Cit。

【0300】在一些實施例中，連接子包含將抗體或抗原結合片段接合至可裂解部分之至少一個間隔子單元。在一些實施例中，連接子包含將抗體或抗原結合片段接合至藥物部分之至少一個間隔子單元。在一些實施例中，間隔子單元或連接子包含至少一個烷基部分。

【0301】在一些實施例中，連接子中之間隔子單元經由Mal部分(「Mal-間隔子單元」)連接至抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，Mal-間隔子單元包含至少一個烷基部分。在一些實施例中，連接子包含順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(CH_2)_2$(「Mal-Et」)。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(CH_2)_6$(「Mal-Hex」)。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$(「Mal-Et-O-Et」)。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_2$-CO。在一些實施例中，Mal-間隔子單元將抗體或抗原結合片段連接至藥物部分。

【0302】在一些實施例中，Mal-間隔子單元或連接子包含Mal-$(PEG)_2$、Mal-$(PEG)_3$、Mal-$(PEG)_4$、Mal-$(PEG)_5$、Mal-$(PEG)_6$、Mal-$(PEG)_7$或Mal-$(PEG)_8$。在一些實施例中，Mal-間隔子單元或連接子包含Mal-$(PEG)_2$。在一些實施例中，Mal-間隔子單元或連接子包含Mal-$(PEG)_2$-CO、Mal-$(PEG)_3$-CO、Mal-$(PEG)_4$-CO、Mal-$(PEG)_5$-CO、Mal-$(PEG)_6$-CO、Mal-$(PEG)_7$-CO或Mal-$(PEG)_8$-CO。在一些實施例中，Mal-

間隔子單元或連接子包含Mal-$(PEG)_2$-CO。在一些實施例中，Mal-間隔子單元或連接子包含Mal-$(PEG)_2$-CO及至少一個額外間隔子單元。在一些實施例中，Mal-$(PEG)_2$-CO將抗體或抗原結合片段連接至藥物部分。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_2$-CO或由其組成。「Mal-$(PEG)_2$-CO」連接子之實例在本文中亦稱為「ADL2」或「ADL2」連接子。

【0303】在一些實施例中，Mal-間隔子單元或連接子包含MC。在一些實施例中，Mal-間隔子單元或連接子包含MC及至少一個額外間隔子單元。在一些實施例中，MC將抗體或抗原結合片段連接至藥物部分。在一些實施例中，連接子包含MC或由其組成。「MC」連接子之實例在本文中亦稱為「ADL10」或「ADL10」連接子。

【0304】在一些實施例中，Mal-間隔子單元或連接子包含Mal-$(CH_2)_6$（「Mal-Hex」）。在一些實施例中，Mal-間隔子單元或連接子包含Mal-Hex及至少一個額外間隔子單元。在一些實施例中，Mal-Hex將抗體或抗原結合片段連接至藥物部分。在一些實施例中，連接子包含Mal-Hex。「Mal-Hex」連接子之實例在本文中亦稱為「ADL12」或「ADL12」連接子。

【0305】在一些實施例中，Mal-間隔子單元或連接子包含Mal-$(CH_2)_2$（「Mal-Et」）。在一些實施例中，Mal-間隔子單元或連接子包含Mal-Et及至少一個額外間隔子單元。在一些實施例中，Mal-Et將抗體或抗原結合片段連接至藥物部分。在一些實施例中，連接子包含Mal-Et。「Mal-Et」連接子之實例在本文中亦稱為「ADL14」或「ADL14」連接子。

【0306】在一些實施例中，Mal-間隔子單元或連接子包含Mal-

$(CH_2)_2$-O-$(CH_2)_2$（「Mal-Et-O-Et」）。在一些實施例中，Mal-間隔子單元或連接子包含Mal-Et-O-Et及至少一個額外間隔子單元。在一些實施例中，Mal-Et-O-Et將抗體或抗原結合片段連接至藥物部分。在一些實施例中，連接子包含Mal-Et-O-Et。「Mal-Et-O-Et」連接子之實例在本文中亦稱為「ADL15」或「ADL15」連接子。

【0307】在一些其他實施例中，Mal-間隔子單元將抗體或抗原結合片段連接至連接子中之可裂解部分。在一些實施例中，連接子中之可裂解部分為可裂解肽部分，例如胺基酸單元。在一些實施例中，可裂解肽部分為Val-Cit或Val-Ala。在一些實施例中，Mal-間隔子單元或連接子包含MC。在一些實施例中，連接子包含MC-Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含MC-Val-Ala。在一些實施例中，連接子包含MC-Glu-Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含MC-Ala-Ala-Asn。

【0308】在一些實施例中，間隔子單元將連接子中之可裂解部分連接至荷伯希二烯剪接調節子。在一些實施例中，將可裂解部分連接至荷伯希二烯剪接調節子之間隔子單元為自我分解型間隔子單元。

【0309】在一些實施例中，間隔子單元包含pABC。在一些實施例中，pABC將可裂解部分連接至荷伯希二烯剪接調節子。在一些實施例中，可裂解部分為可裂解肽部分，例如胺基酸單元。在一些實施例中，連接子包含胺基酸單元-pABC。

【0310】在一些實施例中，連接子包含Val-Cit-pABC。在一些實施例中，連接子包含將連接子接合至抗體或抗原結合片段之Val-Cit-pABC及MC Mal-間隔子單元。在一些實施例中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC。在一些實施例中，連接子包含MC-Val-Cit-pABC及至少一個額外

間隔子單元。MC-Val-Cit-pABC連接子之實例在本文中亦稱為「ADL1」或「ADL1」連接子。

【0311】在一些實施例中，連接子包含Val-Ala-pABC。在一些實施例中，連接子包含將連接子接合至抗體或抗原結合片段之Val-Ala-pABC及MC Mal-間隔子單元。在一些實施例中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC。在一些實施例中，連接子包含MC-Val-Ala-pABC及至少一個額外間隔子單元。MC-Val-Ala-pABC連接子之實例在本文中亦稱為「ADL6」或「ADL6」連接子。

【0312】在一些實施例中，連接子包含Glu-Val-Cit-pABC。在一些實施例中，連接子包含將連接子接合至抗體或抗原結合片段之Glu-Val-Cit-pABC及MC Mal-間隔子單元。在一些實施例中，連接子包含MC-Glu-Val-Cit-pABC。在一些實施例中，連接子包含MC-Glu-Val-Cit-pABC及至少一個額外間隔子單元。MC-Glu-Val-Cit-pABC連接子之實例在本文中亦稱為「ADL23」或「ADL23」連接子。

【0313】在一些實施例中，連接子包含Ala-Ala-Asn-pABC。在一些實施例中，連接子包含將連接子接合至抗體或抗原結合片段之Ala-Ala-Asn-pABC及MC Mal-間隔子單元。在一些實施例中，連接子包含MC-Ala-Ala-Asn-pABC。在一些實施例中，連接子包含MC-Ala-Ala-Asn-pABC及至少一個額外間隔子單元。MC-Ala-Ala-Asn-pABC連接子之實例在本文中亦稱為「ADL21」或「ADL21」連接子。

【0314】在一些其他實施例中，間隔子單元包含pAB。在一些實施例中，pAB將可裂解部分連接至荷伯希二烯剪接調節子。在一些實施例中，可裂解部分為可裂解肽部分，例如胺基酸單元。在一些實施例中，連

接子包含胺基酸單元-pAB。

【0315】在一些實施例中，連接子包含Val-Ala-pAB。在一些實施例中，連接子包含將連接子接合至抗體或抗原結合片段之Val-Ala-pAB及MC Mal-間隔子單元。在一些實施例中，連接子包含MC-Val-Ala-pAB。在一些實施例中，連接子包含MC-Val-Ala-pAB及至少一個額外間隔子單元。MC-Val-Ala-pAB連接子之實例在本文中亦稱為「ADL5」或「ADL5」連接子。

【0316】在一些實施例中，連接子包含Val-Cit-pAB。在一些實施例中，連接子包含將連接子接合至抗體或抗原結合片段之Val-Cit-pAB及MC Mal-間隔子單元。在一些實施例中，連接子包含MC-Val-Cit-pAB。在一些實施例中，連接子包含MC-Val-Cit-pAB及至少一個額外間隔子單元。MC-Val-Cit-pAB連接子之實例在本文中亦稱為「ADL7」或「ADL7」連接子。

【0317】在一些實施例中，連接子包含β-葡萄糖醛酸-pABC。在一些實施例中，連接子包含將連接子接合至抗體或抗原結合片段之β-葡萄糖醛酸-pABC及MC Mal-間隔子單元。在一些實施例中，連接子包含MC-β-葡萄糖醛酸-pABC。在一些實施例中，連接子包含MC-β-葡萄糖醛酸-pABC及至少一個額外間隔子單元。MC-β-葡萄糖醛酸-pABC之實例在本文中亦稱為「ADL13」或「ADL13」連接子。

【0318】在一些實施例中，連接子包含β-葡萄糖醛酸-pAB。在一些實施例中，連接子包含將連接子接合至抗體或抗原結合片段之β-葡萄糖醛酸-pAB及MC Mal-間隔子單元。在一些實施例中，連接子包含MC-β-葡萄糖醛酸-pAB。

【0319】在一些實施例中，抗體或抗原結合片段經由ADL1、ADL2、ADL5、ADL6、ADL7、ADL12、ADL13、ADL14、ADL15、ADL21或ADL23連接子結合至荷伯希二烯剪接調節子藥物部分。已發現，在各種實施例中，包含ADL1、ADL2、ADL5、ADL6、ADL7、ADL12、ADL13、ADL14、ADL15、ADL21或ADL23連接子及本文所揭示之荷伯希二烯剪接調節子藥物部分的ADC展現治療性ADC所需之特性。在各種實施例中，此等特性包括但不限於有效藥物負載量、低聚集量、在儲存條件下或當在體內循環時之穩定性(例如血清穩定性)、對表現目標之細胞保持與未結合抗體相當之親和力、針對表現目標之細胞之強效細胞毒性、較低脫靶細胞殺滅水準、較高旁觀者殺滅水準及/或有效活體內抗癌活性，全部特性均係與使用其他連接子-有效負載物之ADC相比較而言。舉例而言，在各種實施例中，與使用其他連接子-有效負載物(例如ADL10連接子及荷伯希二烯剪接調節子藥物部分)之ADC相比，包含ADL1、ADL2、ADL5、ADL6、ADL7、ADL12、ADL13、ADL14、ADL15、ADL21或ADL23連接子及本文所揭示之荷伯希二烯剪接調節子藥物部分的ADC展現經增加之抑制表現目標之細胞生長及/或增殖之能力。在各種實施例中，與基於其他剪接調節子之ADC (例如如Puthenveetil等人Bioconjugate Chem. (2016) 27:1880-8中所報導之基於泰蘭他汀A (thailanstatin A)之ADC)相比，包含ADL1、ADL2、ADL5、ADL6、ADL7、ADL12、ADL13、ADL14、ADL15、ADL21或ADL23連接子及本文所揭示之荷伯希二烯剪接調節子藥物部分的ADC展現出乎意料地經增加之活體內穩定性(例如血漿穩定性)。

【0320】在一些實施例中，在結合至例如抗HER2抗體(諸如曲妥珠

單抗)、抗CD138抗體(諸如B-B4)或抗EPHA2抗體(諸如1C1)之連接子-有效負載物之情況下可觀測到由ADL1、ADL2、ADL5、ADL6、ADL7、ADL12、ADL13、ADL14、ADL15、ADL21或ADL23連接子與本文所揭示之荷伯希二烯剪接調節子藥物部分之特定組合所提供的良好或優良功能特性。

【0321】在一些實施例中，ADC包含ADL1-荷伯希二烯剪接調節子及包含保持靶向贅生性細胞且內化於贅生性細胞中之能力之抗體或其抗原結合片段的抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL2-荷伯希二烯剪接調節子及包含保持靶向贅生性細胞且內化於贅生性細胞中之能力之抗體或其抗原結合片段的抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL5-荷伯希二烯剪接調節子及包含保持靶向贅生性細胞且內化於贅生性細胞中之能力之抗體或其抗原結合片段的抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL6-荷伯希二烯剪接調節子及包含保持靶向贅生性細胞且內化於贅生性細胞中之能力之抗體或其抗原結合片段的抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL7-荷伯希二烯剪接調節子及包含保持靶向贅生性細胞且內化於贅生性細胞中之能力之抗體或其抗原結合片段的抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL12-荷伯希二烯剪接調節子及包含保持靶向贅生性細胞且內化於贅生性細胞中之能力之抗體或其抗原結合片段的抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL13-荷伯希二烯剪接調節子及包含保持靶向贅生性細胞且內化於贅生性細胞中之能力之抗體或其抗原結合片段的抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL14-荷伯希二烯剪接調節子及包含保持靶向贅生性細胞且內化於贅生性細胞中之能力之抗體或其抗

原結合片段的抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL15-荷伯希二烯剪接調節子及包含保持靶向贅生性細胞且內化於贅生性細胞中之能力之抗體或其抗原結合片段的抗體或抗原結合片段。

【0322】在一些實施例中，ADC包含ADL1-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現HER2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL2-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現HER2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL5-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現HER2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL6-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現HER2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL7-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現HER2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL12-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現HER2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL13-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現HER2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL14-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現HER2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL15-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現HER2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。

【0323】在一些實施例中，靶向表現HER2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段為內化性抗體或內化性抗原結合片段。在一些實施例中，靶向表現HER2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:1 (HCDR1)、SEQ ID NO:2 (HCDR2)及SEQ ID NO:3 (HCDR3)之胺基酸序列之三個重鏈互補決定區(HCDR)；及包含SEQ ID NO:4

(LCDR1)、SEQ ID NO:5 (LCDR2)及SEQ ID NO:6 (LCDR3)之胺基酸序列之三個輕鏈互補決定區(LCDR)。

【0324】在一些實施例中，ADC具有式(I)：

$Ab\text{-}(L\text{-}H)_p$ (I)

其中：

(i) Ab為包含有包含SEQ ID NO:1 (HCDR1)、SEQ ID NO:2 (HCDR2)及SEQ ID NO:3 (HCDR3)之胺基酸序列之三個重鏈互補決定區(HCDR)及包含SEQ ID NO:4 (LCDR1)、SEQ ID NO:5 (LCDR2)及SEQ ID NO:6 (LCDR3)之胺基酸序列之三個輕鏈互補決定區(LCDR)的抗HER2抗體或其抗原結合片段；

(ii) H為荷伯希二烯剪接調節子；

(iii) L為包含ADL1、ADL2、ADL5、ADL6、ADL7、ADL12、ADL13、ADL14、ADL15、ADL21或ADL23之連接子；且

(iv) *p*為1至15之整數。

【0325】在一些實施例中，靶向表現HER2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:19之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:20之胺基酸序列之輕鏈可變區。在一些實施例中，靶向表現HER2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段包含人類IgG1重鏈恆定域及人類Ig κ輕鏈恆定域。在一些實施例中，抗體為曲妥珠單抗。在一些實施例中，*p*為1至10、2至8或4至8之整數。在一些實施例中，*p*為4。在一些實施例中，*p*為8。

【0326】在一些實施例中，ADC包含ADL1-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現CD138之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例

中，ADC包含ADL2-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現CD138之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL5-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現CD138之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL6-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現CD138之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL7-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現CD138之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL12-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現CD138之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL13-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現CD138之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL14-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現CD138之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL15-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現CD138之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。

【0327】在一些實施例中，靶向表現CD138之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段為內化性抗體或內化性抗原結合片段。在一些實施例中，靶向表現CD138之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:7 (HCDR1)、SEQ ID NO:8 (HCDR2)及SEQ ID NO:9 (HCDR3)之胺基酸序列之三個重鏈互補決定區(HCDR)；及包含SEQ ID NO:10 (LCDR1)、SEQ ID NO:11 (LCDR2)及SEQ ID NO:12 (LCDR3)之胺基酸序列之三個輕鏈互補決定區(LCDR)。

【0328】在一些實施例中，ADC具有式(I)：

$$Ab\text{-}(L\text{-}H)_p \qquad (I)$$

其中：

(i) Ab為包含有包含SEQ ID NO:7 (HCDR1)、SEQ ID NO:8 (HCDR2)及SEQ ID NO:9 (HCDR3)之胺基酸序列之三個重鏈互補決定區(HCDR)及包含SEQ ID NO:10 (LCDR1)、SEQ ID NO:11 (LCDR2)及SEQ ID NO:12 (LCDR3)之胺基酸序列之三個輕鏈互補決定區(LCDR)的抗CD138抗體或其抗原結合片段；

(ii) H為荷伯希二烯剪接調節子；

(iii) L為包含ADL1、ADL2、ADL5、ADL6、ADL7、ADL12、ADL13、ADL14、ADL15、ADL21或ADL23之連接子；且

(iv) *p*為1至15之整數。

【0329】在一些實施例中，靶向表現CD138之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:21之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:22之胺基酸序列之輕鏈可變區。在一些實施例中，靶向表現CD138之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段包含鼠IgG2a重鏈恆定域及鼠Ig κ輕鏈恆定域。在一些實施例中，靶向表現CD138之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段包含人類IgG2a重鏈恆定域及人類Ig κ輕鏈恆定域。在一些實施例中，抗體為B-B4。在一些實施例中，*p*為1至10、2至8或4至8之整數。在一些實施例中，*p*為4。在一些實施例中，*p*為8。

【0330】在一些實施例中，ADC包含ADL1-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現EPHA2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL2-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現EPHA2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL5-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現EPHA2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL6-荷伯希二烯剪接調節子及靶

向表現EPHA2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL7-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現EPHA2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL12-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現EPHA2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL13-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現EPHA2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL14-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現EPHA2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，ADC包含ADL15-荷伯希二烯剪接調節子及靶向表現EPHA2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段。

【0331】在一些實施例中，靶向表現EPHA2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段為內化性抗體或內化性抗原結合片段。在一些實施例中，靶向表現EPHA2之贅生性細胞的抗體或其抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:13 (HCDR1)、SEQ ID NO:14 (HCDR2)及SEQ ID NO:15 (HCDR3)之胺基酸序列之三個重鏈互補決定區(HCDR)；及包含SEQ ID NO:16 (LCDR1)、SEQ ID NO:17 (LCDR2)及SEQ ID NO:18 (LCDR3)之胺基酸序列之三個輕鏈互補決定區(LCDR)。

【0332】在一些實施例中，ADC具有式(I)：

$Ab\text{-}(L\text{-}H)_p$ (I)

其中：

(i) Ab為包含有包含SEQ ID NO:13 (HCDR1)、SEQ ID NO:14 (HCDR2)及SEQ ID NO:15 (HCDR3)之胺基酸序列之三個重鏈互補決定區(HCDR)及包含SEQ ID NO:16 (LCDR1)、SEQ ID NO:17 (LCDR2)及

SEQ ID NO:18 (LCDR3)之胺基酸序列之三個輕鏈互補決定區(LCDR)的抗EPHA2抗體或其抗原結合片段；

(ii) H為荷伯希二烯勇接調節子；

(iii) L為包含ADL1、ADL2、ADL5、ADL6、ADL7、ADL12、ADL13、ADL14、ADL15、ADL21或ADL23之連接子；且

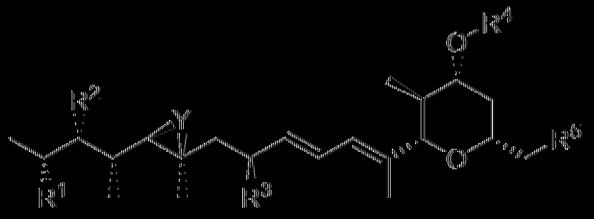
(iv) *p*為1至15之整數。

[0333] 在一些實施例中，靶向表現EPHA2之資生性細胞的抗體或其抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:23之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:24之胺基酸序列之輕鏈可變區。在一些實施例中，靶向表現EPHA2之資生性細胞的抗體或其抗原結合片段包含人類IgG1重鏈恆定域及人類Ig κ輕鏈恆定域。在一些實施例中，抗體為1C1。在一些實施例中，*p*為1至10、2至8或4至8之整數。在一些實施例中，*p*為4。在一些實施例中，*p*為8。

荷伯希二烯勇接調節子

[0334] 在一些實施例中，抗體-藥物結合物為式(I)抗體-藥物結合物：$Ab-(L-H)_p$，其中Ab為靶向資生性細胞之抗體或抗原結合片段；H為荷伯希二烯勇接調節子；L為將Ab共價連接至H之連接子；且*p*為1至15之整數。

[0335] 在一些實施例中，作為荷伯希二烯勇接調節子之H包含式(I)化合物：



(I)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

Y選自O、S、NR^6及CR^6R^7；

R^1、R^2及R^3各自獨立地選自氫、羥基、O-(C_1-C_6烷基)、O-C(=O)-(C_1-C_6烷基)、C(=O)O-(C_1-C_6烷基)及C_1-C_6烷基；

R^4選自氫、C_1-C_6烷基、C(=O)-(C_1-C_6烷基)、C(=O)-(C_3-C_8碳環基)、C(=O)-(C_3-C_8雜環基)及C(=O)NR^6R^7；

R^5選自氫、羥基、CH_2OH、CO_2H、C(=O)O-(C_1-C_6烷基)、C(=O)NR^6R^7、NR^6C(=O)R^8、O-C(=O)NR^6R^7、NR^6C(=O)R^8及NR^6C(=O)NR^6R^7；

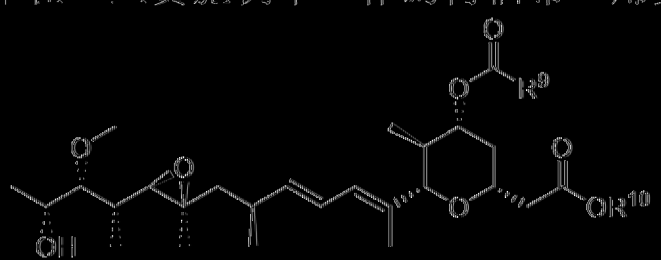
R^6及R^7各自獨立地選自氫、R^8、C(=O)R^8及C(=O)OR^8；且

R^8選自C_1-C_6烷基、C_3-C_8碳環基及C_3-C_8雜環基，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7及R^8各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_6烷基、O-(C_1-C_6烷基)、CO_2H、C(=O)-(C_1-C_6烷基)、C(=O)-(C_3-C_8碳環基)、C(=O)-(C_3-C_8雜環基)、NR^6R^7、C_3-C_8碳環基、C_1-C_6烷基羥基、C_1-C_6烷基烷氧基、苄基及C_3-C_8雜環基，其中之各者可獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、C_1-C_3鹵烷基、NHC(=O)(C_1-C_3烷基)及NHC(=O)O-(C_1-C_3烷基)，且

其中共價連接至L之原子之價數未超出。

[0336] 在一典實施例中，作為荷伯希二烯勇接調節子之II包含式(Ia)化合物：



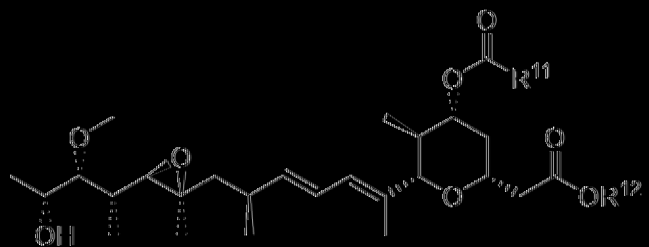
(Ia)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

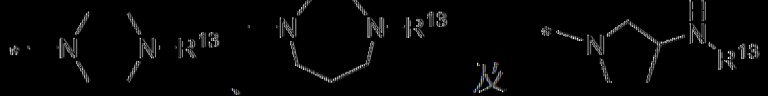
R^9選自C_3-C_8雜環基；

R^{10}選自H及C_1-C_6烷基，

其中R^9及R^{10}各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、NH_2、NH(C_1-C_3烷基)及N(C_1-C_3烷基)$_2$，且

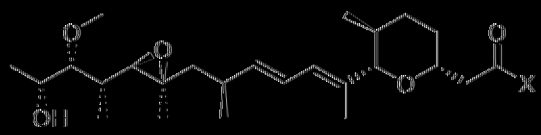
其中共價連接至L之原子之價數未超出。

[0337] 在一典實施例中，作為荷伯希二烯勇接調節子之H包含式(Ib)化合物：  (Ib)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

R^{11}選自  ，其中*指示R^{11}與該化合物之其餘部分之連接點；

R^{12}及R^{13}各自獨立地選自H及甲基；且

其中共價連接至L之原子之價數未超出。

[0338] 在一典實施例中，作為荷伯希二烯勇接調節子之H包含式(II)化合物：  (II)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

X為羥基或NR^6R^7；

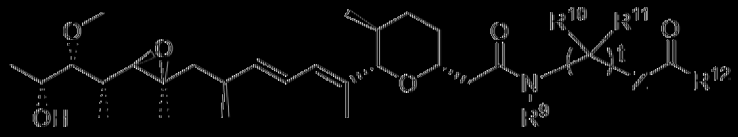
R^6及R^7各自獨立地選自氫、R^8、C(=O)R^8、C(=O)OR^8、(C_1-C_6烷基)-O-C(=O)R^8及(C_1-C_6烷基)-NH-C(=O)R^8；且

R^8選自C_1-C_6烷基、C_3-C_8碳環基及C_3-C_8雜環基，

其中R^6、R^7及R^8各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_6烷基、-O-(C_1-C_6烷基)、$-CO_2H$、-C(=O)-O-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-(C_3-C_8碳環基)、-C(=O)-(C_3-C_8雜環基)、$-NR^6R^7$、C_3-C_8碳環基、C_1-C_6烷基羥基、C_1-C_6烷基烷氧基、下基及C_3-C_8雜環基，其中之各者可獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、C_1-C_3鹵烷基、-NH-C(=O)(C_1-C_3烷基)及-NH-C(=O)-O-(C_1-C_3烷基)，且

其中共價連接至L之原子之價數未超出。

[0339] 在一典型實施例中，作為荷伯希二烯勇接調節子之II包含式(IIa)化合物：



(IIa)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

Z選自NR^9及O；

R^9選自氫及C_1-C_6烷基；

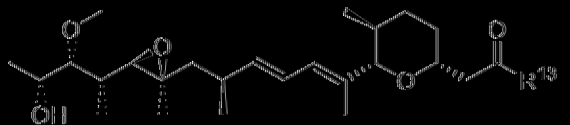
R^{10}及R^{11}各自獨立地選自氫、鹵素、羥基、C_1-C_6烷基、-O-(C_1-C_6烷基)、$-CO_2H$、-C(=O)-O-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-(C_3-C_8碳環基)、-C(=O)-(C_3-C_8雜環基)、C_3-C_8碳環基、C_1-C_6烷基羥基、C_1-C_6烷基烷氧基、下基及C_3-C_8雜環基；

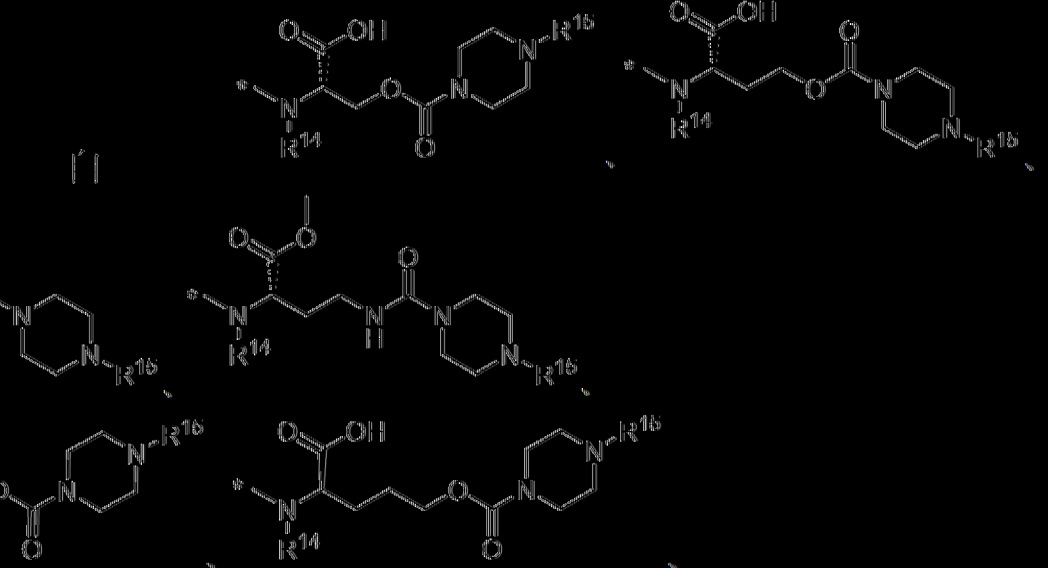
R^{12}選自C_1-C_6烷基、C_3-C_8碳環基、C_3-C_8雜環基，

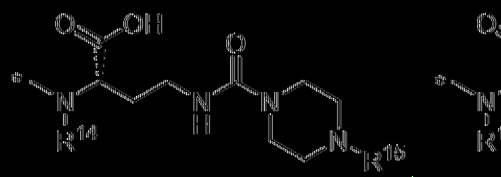
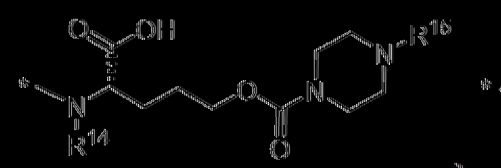
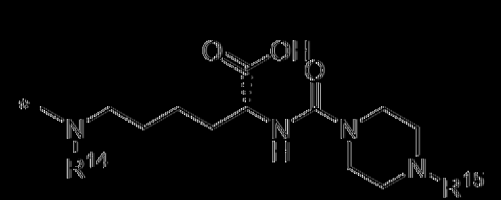
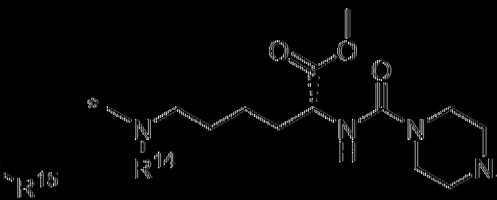
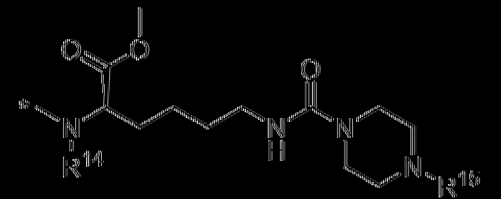
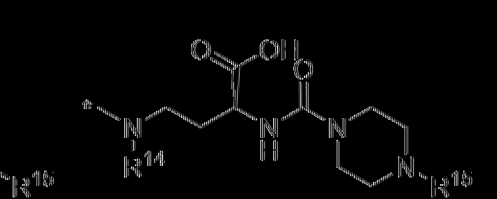
其中R^9、R^{10}、R^{11}及R^{12}各自獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基及C_1-C_3鹵烷基；

t為選自1、2、3、4、5及6之整數；且

其中共價連接至L之原子之價數未超出。

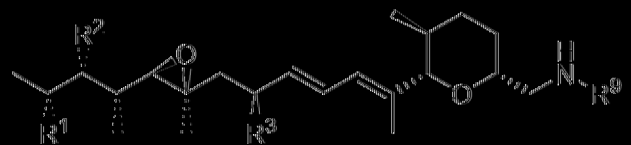
[0340] 在一典實施例中，作為荷伯希二烯烴共接調節子之II包含式(IIb)化合物：  (IIb)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

R^{13}選自 

 、、  、、  、  、  、  、  及，其中*指示R^{13}與該化合物之其餘部分之連接點；

R^{14}及R^{15}各自獨立地選自氫及甲基；且

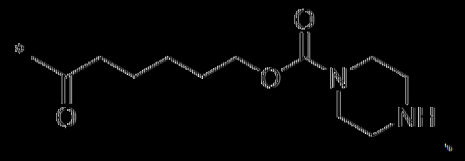
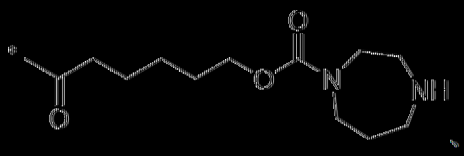
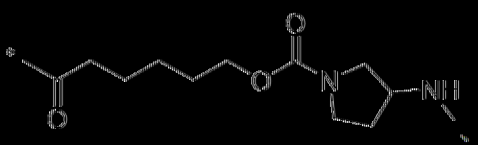
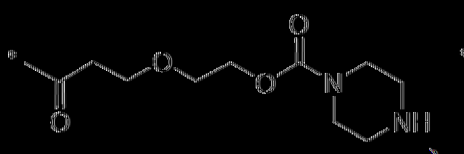
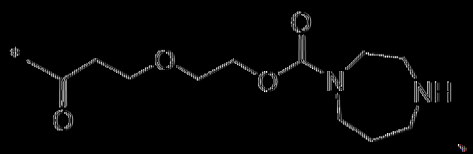
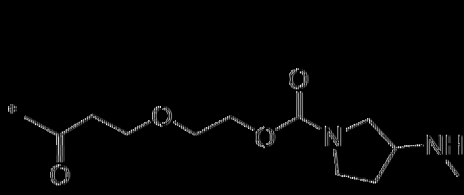
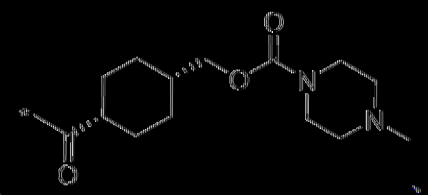
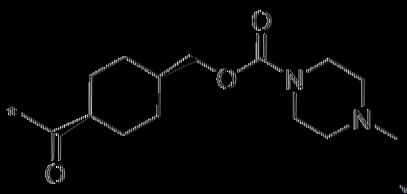
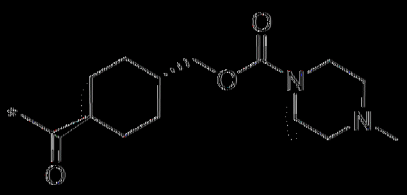
其中共價連接至L之原子之價數未超出。

[0341] 在一些實施例中，作為荷伯希二烯剪接調節子之II包含式(III)化合物：  (III)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

R^1、R^2及R^3各自獨立地選自氫、鹵素、-O-(C_1-C_6烷基)、-O-C(=O)-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-O-(C_1-C_6烷基)及C_1-C_6烷基；

R^6及R^7各自獨立地選自氫、R^8、-C(=O)-R^8及-C(=O)-O-R^8；

R^8選自C_1-C_6烷基、C_3-C_8碳環及C_3-C_8雜環；且

R^9選自  、  、  、  、  、  、  、  、  及  ；

其中R^1、R^2、R^3、R^6、R^7及R^8各自獨立地經0個3個獨立地選自以下

之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_6烷基、-O-(C_1-C_6烷基)、-CO_2H、-C(=O)-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-(C_3-C_8碳環基)、-C(=O)-(C_3-C_8雜環基)、-NR^6R^7、C_3-C_8碳環基、C_1-C_6烷基羥基、C_1-C_6烷基烷氧基、苄基及C_3-C_8雜環基，其中之各者可獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、C_1-C_3鹵烷基、-NH-C(=O)(C_1-C_3烷基)及-NH-C(=O)-O-(C_1-C_3烷基)，

其中共價連接至L之原子之價數未超出；且

其中*指示R^9與該化合物之其餘部分之連接點。

【0342】在一些實施例中，抗體或抗原結合片段靶向表現以下之細胞：HER2、CD138、EPHA2、MSLN、FOLH1、CDH6、CEACAM5、CFC1B、ENPP3、FOLR1、HAVCR1、KIT、MET、MUC16、SLC39A6、SLC44A4及/或STEAP1。

【0343】在一些實施例中，抗體或抗原結合片段靶向表現HER2之細胞。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為抗HER2抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:1 (HCDR1)、SEQ ID NO:2 (HCDR2)及SEQ ID NO:3 (HCDR3)之胺基酸序列之三個重鏈互補決定區(HCDR1、HCDR2及HCDR3)；及包含SEQ ID NO:4 (LCDR1)、SEQ ID NO:5 (LCDR2)及SEQ ID NO:6 (LCDR3)之胺基酸序列之三個輕鏈互補決定區(LCDR1、LCDR2及LCDR3)。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:19之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:20之胺基酸序列之輕鏈可變區。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段包含人類IgG1重鏈恆定區。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段包含人類Ig κ輕鏈恆定區。

【0344】在一些其他實施例中，抗體或抗原結合片段靶向表現CD138之細胞。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為抗CD138抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:7 (HCDR1)、SEQ ID NO:8 (HCDR2)及SEQ ID NO:9 (HCDR3)之胺基酸序列之三個重鏈互補決定區(HCDR1、HCDR2及HCDR3)；及包含SEQ ID NO:10 (LCDR1)、SEQ ID NO:11 (LCDR2)及SEQ ID NO:12 (LCDR3)之胺基酸序列之三個輕鏈互補決定區(LCDR1、LCDR2及LCDR3)。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:21之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:22之胺基酸序列之輕鏈可變區。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段包含鼠IgG2a重鏈恆定區。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段包含鼠Ig κ輕鏈恆定區。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段包含人類IgG2a重鏈恆定區。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段包含人類Ig κ輕鏈恆定區。

【0345】在一些其他實施例中，抗體或抗原結合片段靶向表現EPHA2之細胞。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為抗EPHA2抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:13 (HCDR1)、SEQ ID NO:14 (HCDR2)及SEQ ID NO:15 (HCDR3)之胺基酸序列之三個重鏈互補決定區(HCDR1、HCDR2及HCDR3)；及包含SEQ ID NO:16 (LCDR1)、SEQ ID NO:17 (LCDR2)及SEQ ID NO:18 (LCDR3)之胺基酸序列之三個輕鏈互補決定區(LCDR1、LCDR2及LCDR3)。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:23之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:24之胺基酸序列之輕鏈可變區。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段包含人類

IgG1重鏈恆定區。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段包含人類Ig κ輕鏈恆定區。

【0346】在一些其他實施例中，抗體或抗原結合片段靶向表現MSLN之細胞。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為抗MSLN抗體或抗原結合片段。

【0347】在一些其他實施例中，抗體或抗原結合片段靶向表現FOLH1之細胞。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為抗FOLH1抗體或抗原結合片段。

【0348】在一些其他實施例中，抗體或抗原結合片段靶向表現CDH6之細胞。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為抗CDH6抗體或抗原結合片段。

【0349】在一些其他實施例中，抗體或抗原結合片段靶向表現CEACAM5之細胞。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為抗CEACAM5抗體或抗原結合片段。

【0350】在一些其他實施例中，抗體或抗原結合片段靶向表現CFC1B之細胞。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為抗CFC1B抗體或抗原結合片段。

【0351】在一些其他實施例中，抗體或抗原結合片段靶向表現ENPP3之細胞。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為抗ENPP3抗體或抗原結合片段。

【0352】在一些其他實施例中，抗體或抗原結合片段靶向表現FOLR1之細胞。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為抗FOLR1抗體或抗原結合片段。

【0353】在一些其他實施例中，抗體或抗原結合片段靶向表現HAVCR1之細胞。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為抗HAVCR1抗體或抗原結合片段。

【0354】在一些其他實施例中，抗體或抗原結合片段靶向表現KIT之細胞。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為抗KIT抗體或抗原結合片段。

【0355】在一些其他實施例中，抗體或抗原結合片段靶向表現MET之細胞。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為抗MET抗體或抗原結合片段。

【0356】在一些其他實施例中，抗體或抗原結合片段靶向表現MUC16之細胞。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為抗MUC16抗體或抗原結合片段。

【0357】在一些其他實施例中，抗體或抗原結合片段靶向表現SLC39A6之細胞。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為抗SLC39A6抗體或抗原結合片段。

【0358】在一些其他實施例中，抗體或抗原結合片段靶向表現SLC44A4之細胞。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為抗SLC44A4抗體或抗原結合片段。

【0359】在一些其他實施例中，抗體或抗原結合片段靶向表現STEAP1之細胞。在一些實施例中，抗體或抗原結合片段為抗STEAP1抗體或抗原結合片段。

【0360】在一些實施例中，L選自本文所揭示之連接子中之任一種或本文所揭示之連接子組分之任何組合。在一些實施例中，L為包含MC-

Val-Cit-pABC、Mal-$(PEG)_2$-CO、MC-Val-Ala-pAB、MC-Val-Ala-pABC、MC-Val-Cit-pAB、Mal-Hex、Mal-Et或Mal-Et-O-Et之連接子。在一些實施例中，連接子亦可包含一或多個額外間隔子單元。在一些實施例中，L為ADL1、ADL2、ADL5、ADL6、ADL7、ADL12、ADL13、ADL14、ADL15、ADL21或ADL23連接子。在一些實施例中，L為ADL12、ADL14或ADL15連接子。在一些實施例中，ADL1、ADL2、ADL5、ADL6、ADL7、ADL12、ADL13、ADL14、ADL15、ADL21或ADL23連接子亦可包含一或多個額外間隔子單元。

【0361】在某些實施例中，在適當條件下使作為連接子部分之前驅體之中間物與荷伯希二烯剪接調節子部分反應。在某些實施例中，在荷伯希二烯剪接調節子及/或中間物或連接子上使用反應基。隨後，在適當條件下使荷伯希二烯剪接調節子與中間物之間之反應產物或所衍生之荷伯希二烯剪接調節子(荷伯希二烯剪接調節子加上連接子)與抗體或抗原結合片段反應。可替代地，首先可使中間物或連接子與抗體或抗原結合片段或所衍生之抗體或抗原結合片段反應，且隨後與藥物或所衍生之藥物反應。

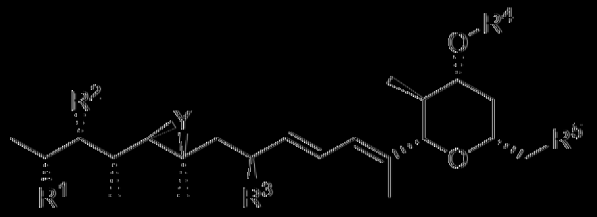
【0362】多個不同反應可供用於將荷伯希二烯剪接調節子部分及/或連接子部分共價連接至抗體或抗原結合片段。此通常係藉由使抗體或抗原結合片段之一或多個胺基酸殘基，包括離胺酸之胺基、麩胺酸及天冬胺酸之游離羧酸基、半胱胺酸之硫氫基及芳族胺基酸之各種部分反應來實現。舉例而言，非特異性共價連接可使用碳化二亞胺反應以使荷伯希二烯剪接調節子部分上之羧基(或胺基)連接至抗體或抗原結合片段上之胺基(或羧基)來進行。另外，亦可使用諸如二醛或亞胺基酯之雙官能試劑以將荷伯希二烯剪接調節子部分上之胺基連接至抗體或抗原結合片段上之胺基。希

大鹼反應(Schiff base reaction)亦可供用於將藥物(例如荷伯希二烯勇接調節子)連接至結合劑。此方法涉及過碘酸鹽氧化含有二醇或經其其團之藥物，由此形成醛，隨後使該醛與結合劑反應。連接係經由用結合劑之胺其形成希大鹼而發生。亦可使用異硫氰酸酯作為偶合劑以用於將藥物共價連接至結合劑。其他技術為熟習此項技術者已知且處於本發明之範疇內。可使用此項技術中已知之各種化學反應生成且連接至抗體或抗原結合片段之藥物部分之實例包括荷伯希二烯勇接調節子，例如本文所描述且例示之荷伯希二烯勇接調節子。

連接子-荷伯希二烯勇接調節子/荷伯希二烯勇接調節子化合物

[0363] 本文進一步揭示例示性連接子-荷伯希二烯勇接調節子(L-H)化合物以及包含該等化合物之多個複本之組合物。在各種實施例中，本文所揭示之連接子-荷伯希二烯勇接調節子化合物可由以下通式界定：L-H，其中L-連接子部分，且H-荷伯希二烯勇接調節子。在某些實施例中，所揭示之L-H化合物適用於本文所描述之ADC。

[0364] 在一些實施例中，本文揭示式(I)化合物：



(I)，或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

Y選自O、S、NR^6及CR^6R^7；

R^1、R^2及R^3各自獨立地選自氫、羥基、-O-(C_1-C_6烷基)、-O-C(=O)-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-O-(C_1-C_6烷基)及C_1-C_6烷基；

R^4選自氫、C_1-C_6烷基、-C(=O)-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-(C_3-C_8碳環基)、-C(=O)-(C_3-C_8雜環基)及-C(=O)-NR^6R^7；

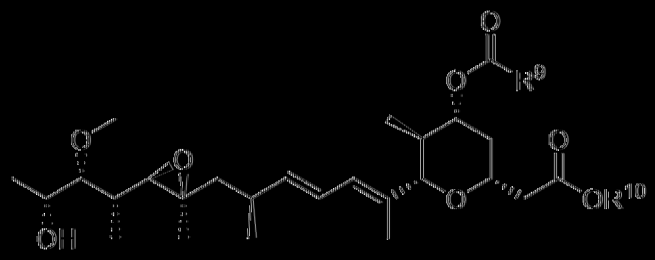
R^5選自氫、羥基、CH_2OH、CO_2H、$C(=O)O(C_1-C_6$烷基)、$C(=O)NR^6R^7$、$NR^6C(=O)R^8$、$OC(=O)NR^6R^7$、$NR^6C(=O)R^8$及$NR^6C(=O)NR^6R^7$；

R^6及R^7各自獨立地選自氫、R^8、$C(=O)R^8$及$C(=O)OR^8$；且

R^8選自C_1-C_6烷基、C_3-C_8碳環基及C_3-C_8雜環基，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7及R^8各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_6烷基、$O(C_1-C_6$烷基)、CO_2H、$C(=O)(C_1-C_6$烷基)、$C(=O)(C_3-C_8$碳環基)、$C(=O)(C_3-C_8$雜環基)、NR^6R^7、C_3-C_8碳環基、C_1-C_6烷基羥基、C_1-C_6烷基烷氧基、苄基及C_3-C_8雜環基，其中之各者可獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、C_1-C_3鹵烷基、NH_2、$NHC(=O)(C_1-C_3$烷基)及$NHC(=O)O(C_1-C_3$烷基)。

[0365] 在一些實施例中，本文提供式(Ia)化合物：



(Ia)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

R^9選自C_3-C_8雜環基；且

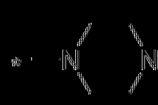
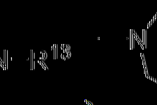
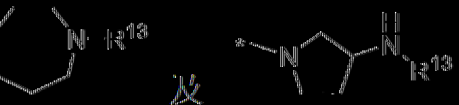
R^{10}選自H及C_1-C_6烷基，

其中R^9及R^{10}各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、NH_2、$NH(C_1-C_3$烷基)及$N(C_1-C_3$烷基)$_2$。

[0366] 在一些實施例中，本文提供式(Ib)化合物：

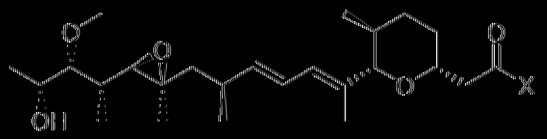


(Ib)，或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

R^{11}選自  、  及  ，其中*指示R^{11}與該化合物之其餘部分之連接點；

R^{12}及R^{13}各自獨立地選自H及甲基。

[0367]在一些實施例中，本文提供式(II)化合物：



(II)，或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

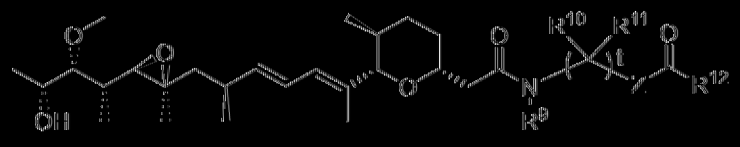
X為羥基或NR^6R'；

R^6及R'各自獨立地選自氫、R^8、C(=O)R^8、C(=O)OR^8、(C_1-C_6烷基)-O-C(=O)R^8及(C_1-C_6烷基)-NH-C(=O)R^8；且

R^8選自C_1-C_6烷基、C_3-C_8碳環基及C_3-C_8雜環基，

其中R^6、R'及R^8各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_6烷基、O-(C_1-C_6烷基)、CO_2H、C(=O)O-(C_1-C_6烷基)、C(=O)-(C_1-C_6烷基)、C(=O)-(C_3-C_8碳環基)、C(=O)-(C_3-C_8雜環基)、NR^6R'、C_3-C_8碳環基、C_1-C_6烷基羥基、C_1-C_6烷基烷氧基、下基及C_3-C_8雜環基，其中之各者可獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、C_1-C_3鹵烷基、NH-C(=O)(C_1-C_3烷基)及NH-C(=O)O-(C_1-C_3烷基)。

[0368]在一些實施例中，本文提供式(IIa)化合物：



(IIa)，或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

Z選自NR^{9}及O；

R^{9}選自氫及C$_1$-C$_6$烷基；

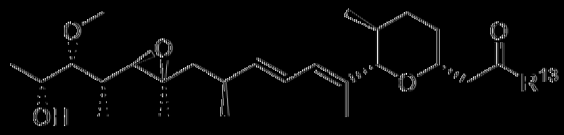
R^{10}及R^{11}各自獨立地選自氫、鹵素、羥基、C$_1$-C$_6$烷基、-O-(C$_1$-C$_6$烷基)、-CO$_2$H、-C(=O)-O-(C$_1$-C$_6$烷基)、-C(=O)-(C$_1$-C$_6$烷基)、-C(=O)-(C$_3$-C$_8$碳環基)、-C(=O)-(C$_3$-C$_8$雜環基)、C$_3$-C$_8$碳環基、C$_1$-C$_6$烷基羥基、C$_1$-C$_6$烷基烷氧基、苄基及C$_3$-C$_8$雜環基；

R^{12}選自C$_1$-C$_6$烷基、C$_3$-C$_8$碳環基、C$_3$-C$_8$雜環基，

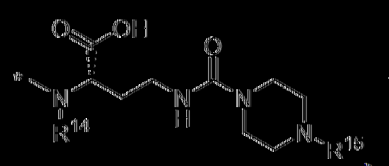
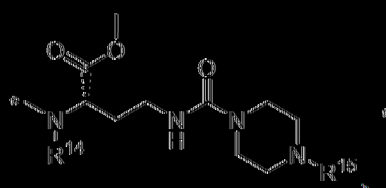
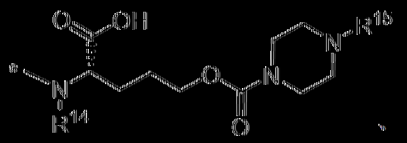
其中R^9、R^{10}、R^{11}及R^{12}各自獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C$_1$-C$_3$烷基、C$_1$-C$_3$烷氧基及C$_1$-C$_3$鹵烷基；且

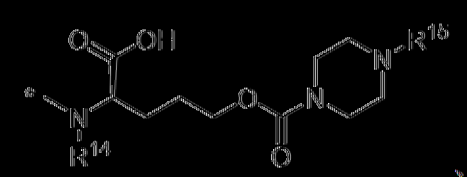
t為選自1、2、3、4、5及6之整數。

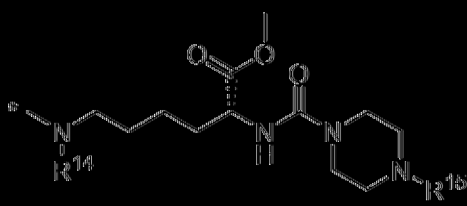
[0369] 在一些實施例中，本文提供式(IIb)化合物：



(IIb)，或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

R^{13}選自  、  、  、  、  、


、

、

、

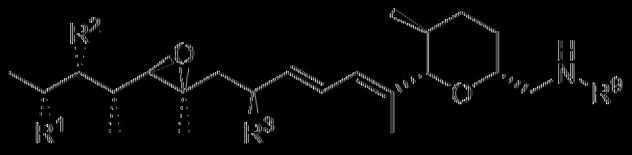
、

及

，其中*指示R^{13}與該化合物之其餘部分之連接點；且

R^{14}及R^{15}各自獨立地選自氫及甲基。

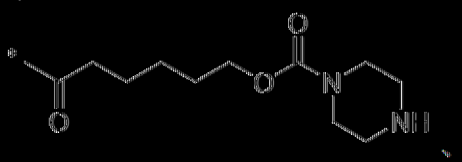
[0370] 在一些實施例中，本文提供式(III)化合物：

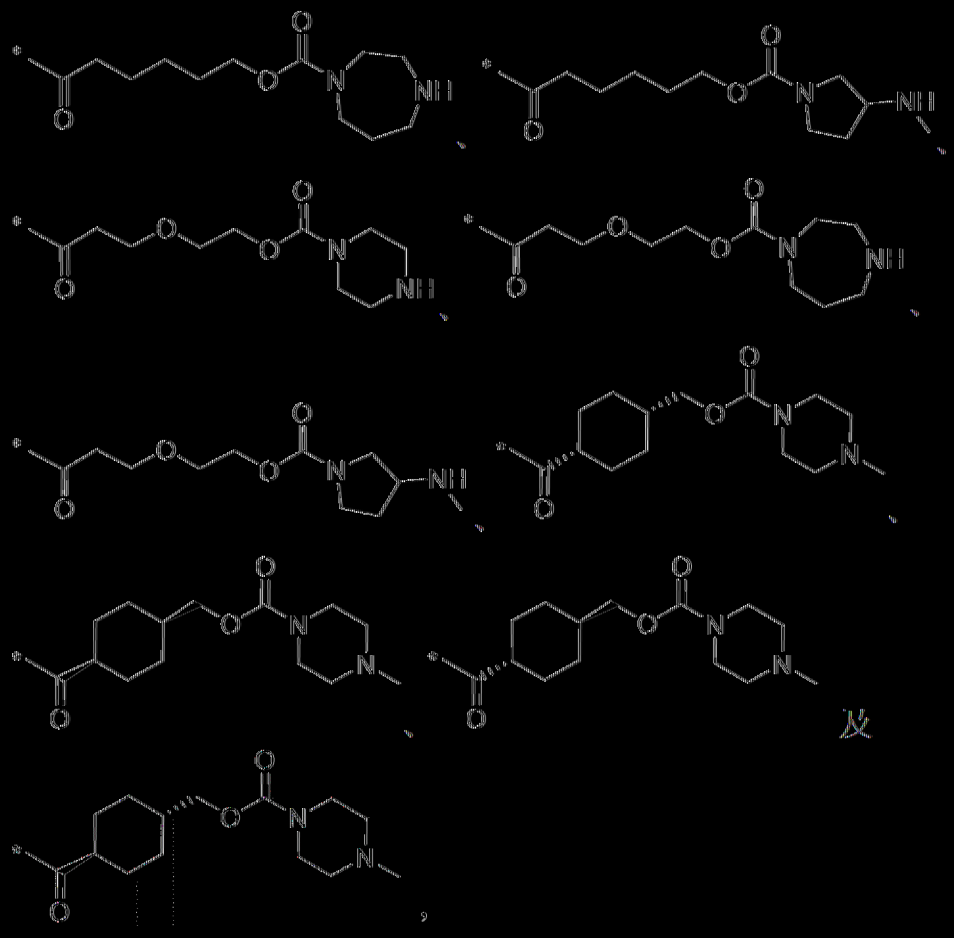

(III)，或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

R^1、R^2及R^3各自獨立地選自氫、羥基、-O-(C1-C6烷基)、-O-C(=O)-(C1-C6烷基)、-C(=O)-O-(C1-C6烷基)及C1-C6烷基；

R^6及R^7各自獨立地選自氫、R^8、-C(=O)-R^8及-C(=O)-O-R^8；

R^8選自C1-C6烷基、C3-C8碳環基及C3-C8雜環基；且

R^9選自氫、

、



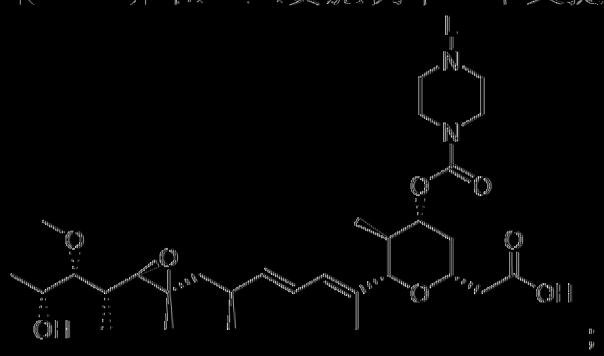
其中R^1、R^2、R^3、R^6、R^7及R^8各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_6烷基、-O-(C_1-C_6烷基)、CO_2H、-C(=O)-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-(C_3-C_8碳環基)、-C(=O)-(C_3-C_8雜環基)、NR^6R^7、C_3-C_8碳環基、C_1-C_6烷基羥基、C_1-C_6烷基烷氧基、下基及C_3-C_8雜環基，其中之各者可獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、C_1-C_3鹵烷基、-NH-C(=O)(C_1-C_3烷基)及-NH-C(=O)-O-(C_1-C_3烷基)；且

其中*指示R^9與該化合物之其餘部分之連接點。

[0371] 在一些實施例中，本文提供化合物H1或其醫藥學上可接受之鹽。在一些實施例中，本文提供化合物H4或其醫藥學上可接受之鹽。在一些實施例中，本文提供化合物H5或其醫藥學上可接受之鹽。在一些實施例中，本文提供化合物H6或其醫藥學上可接受之鹽。在一些實施例

中，本文提供化合物H7或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H8或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H9或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H10或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H2或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H3或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H12或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H13或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H14或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H15或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H16或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H17或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H18或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H19或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H20或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H21或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H22或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H23或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H24或其醫藥學上可接受之鹽。在一典實施例中，本文提供化合物H25或其醫藥學上可接受之鹽。

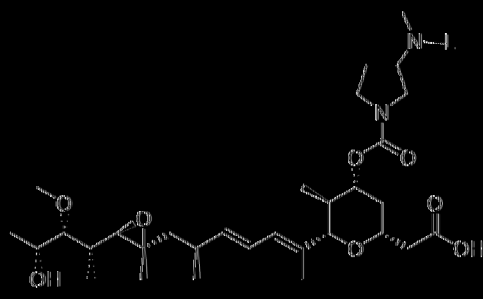
[(0372)] 在一典實施例中，本文提供選自以下之化合物：



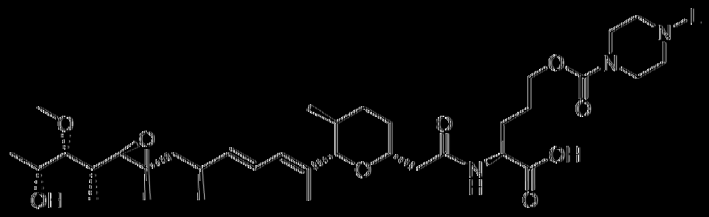
；



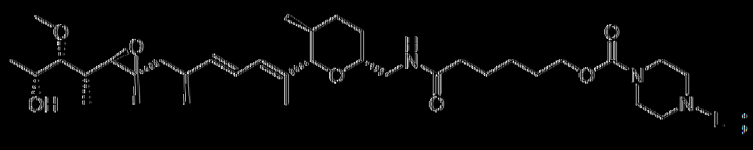
;



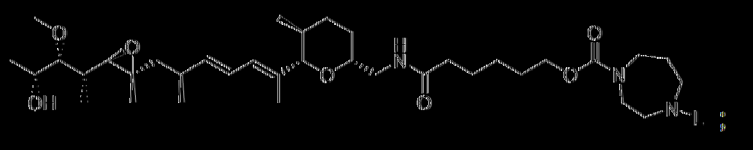
;



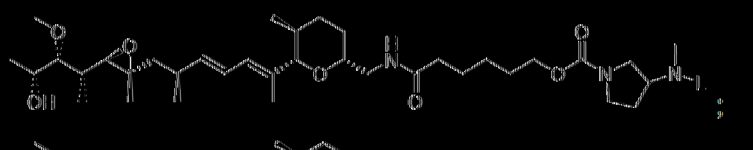
;



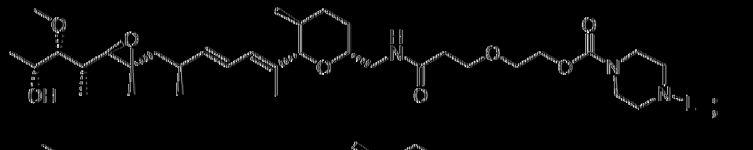
;



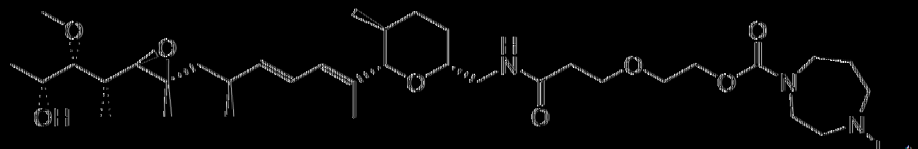
;



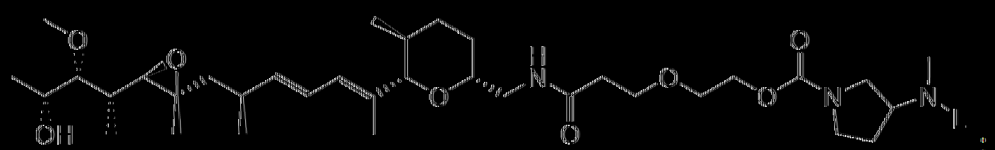
;



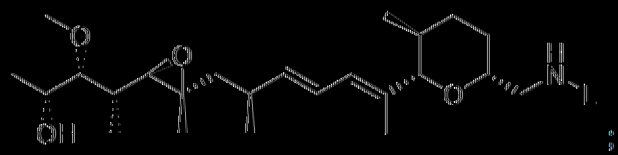
;

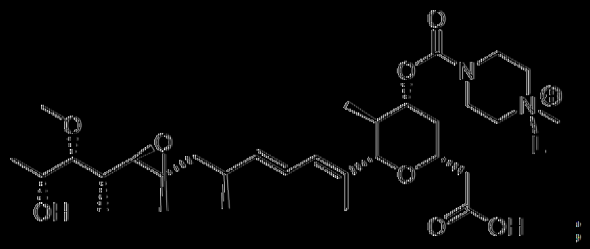


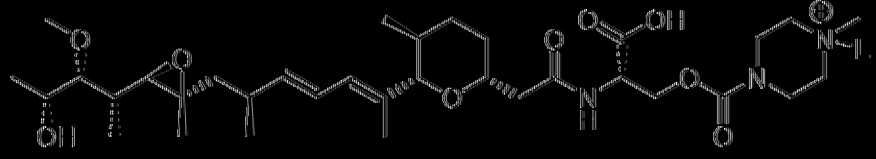
;

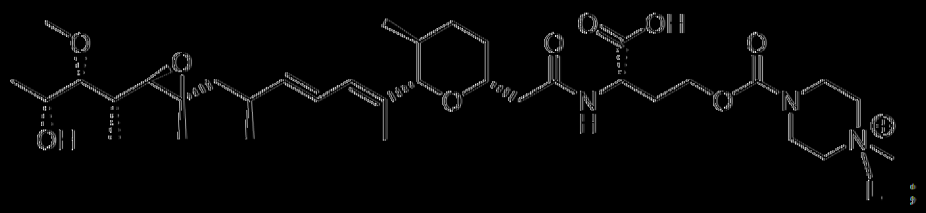


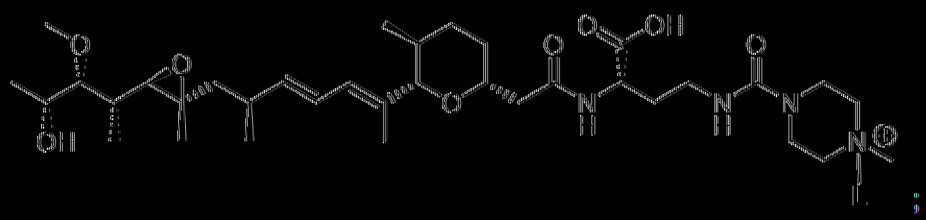
;

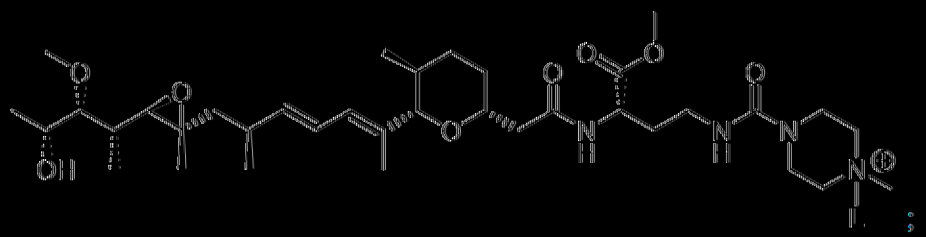


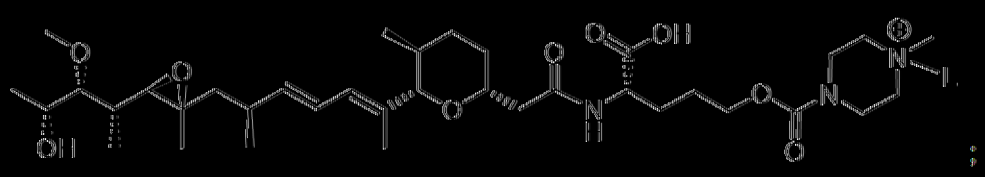


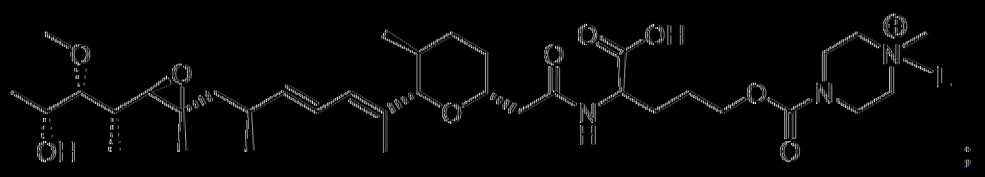


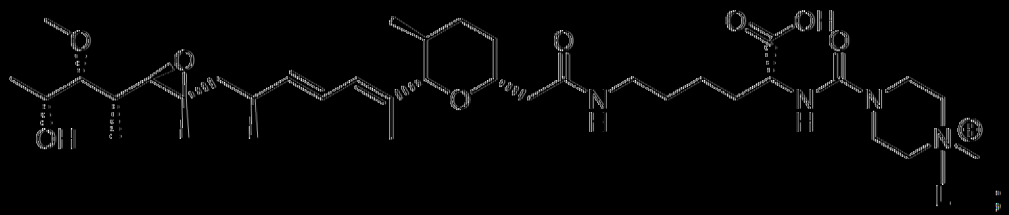


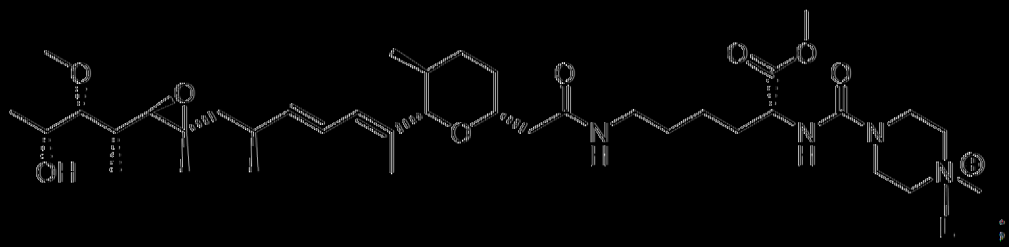


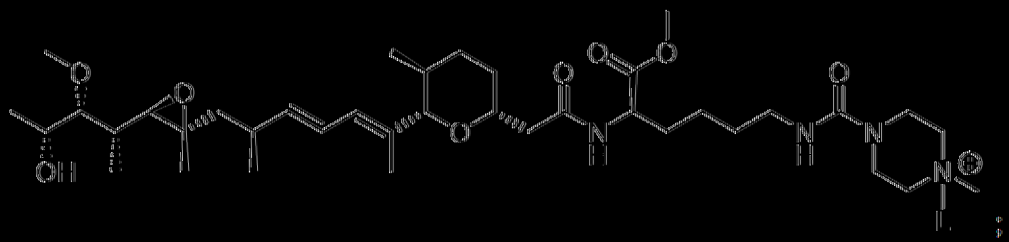




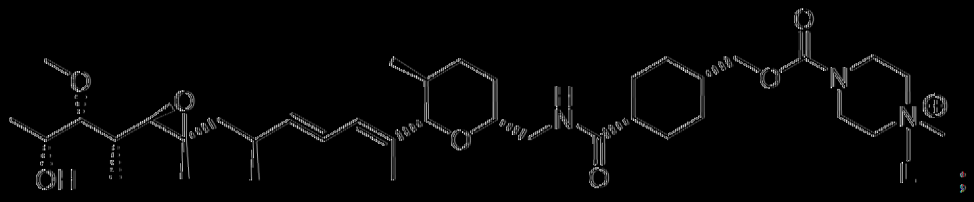


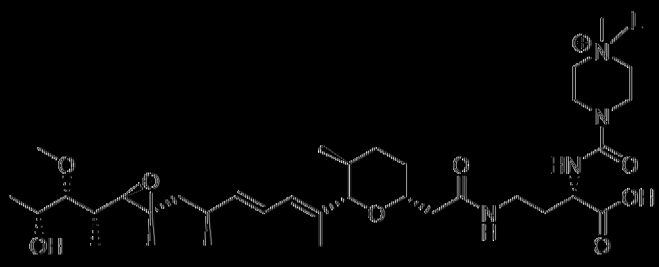


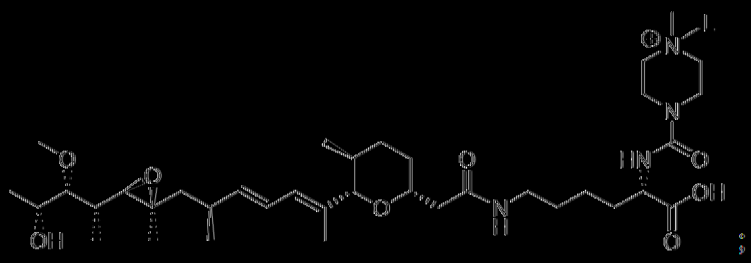


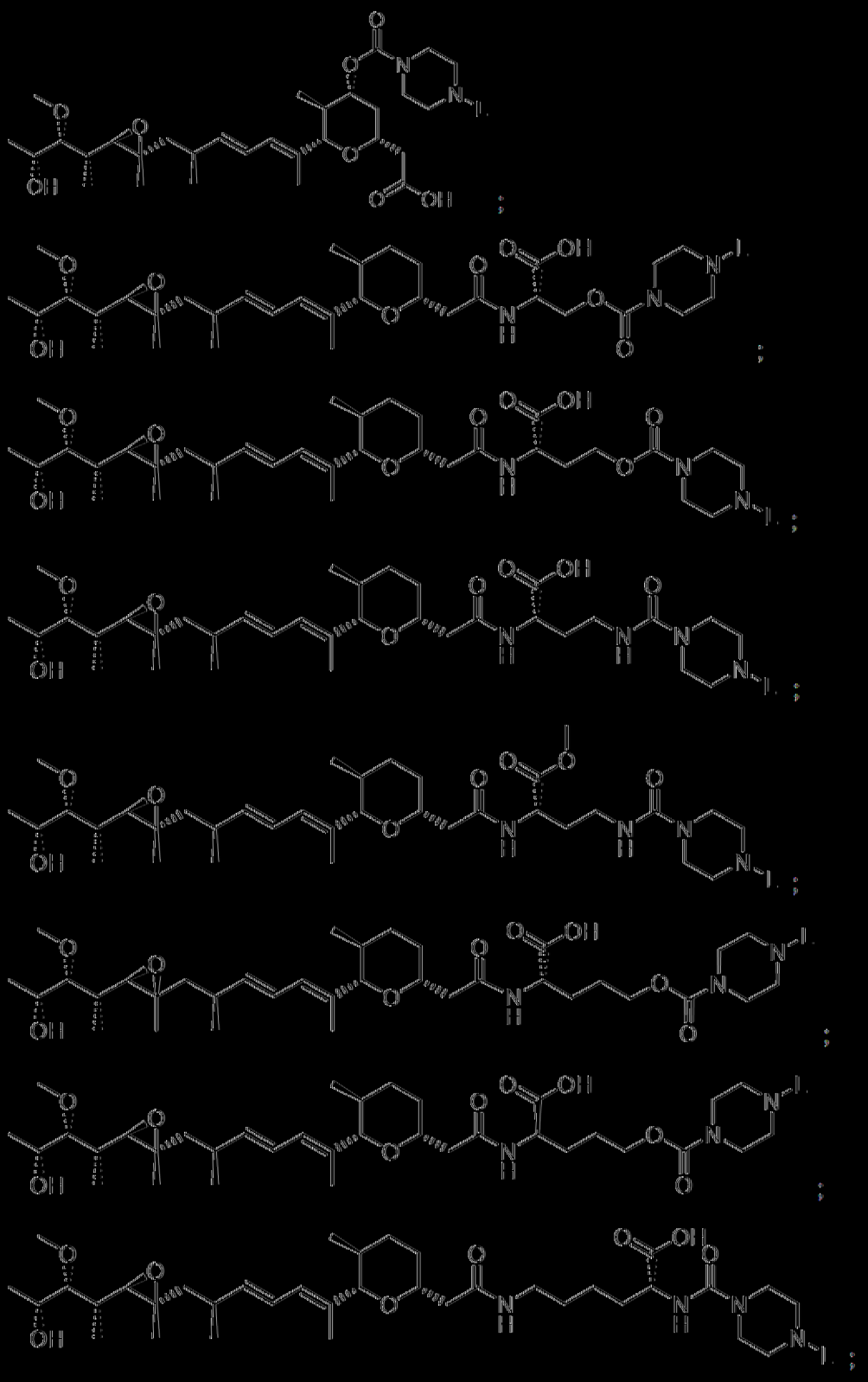






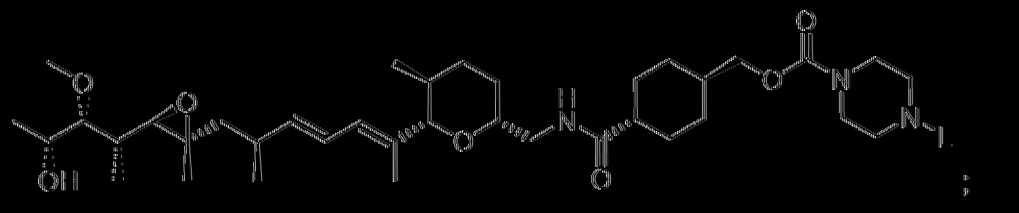




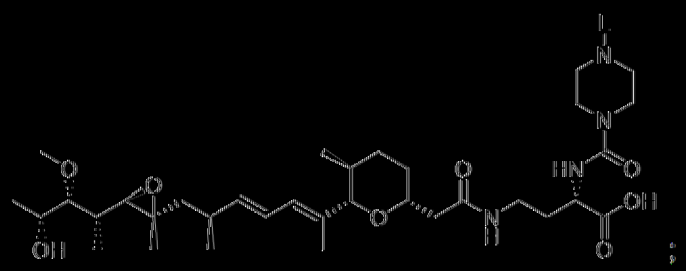


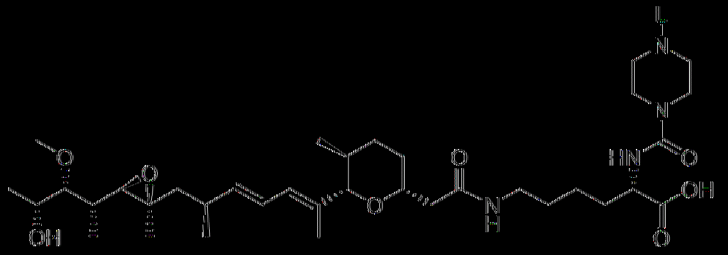

;


;


;


;


;


，及其醫藥學上可接受之鹽，

其中L為共價連接至抗體之連接子。

[03173] 在一些實施例中，連接子包含至少一個可裂解肽部分。在一些實施例中，至少一個可裂解肽部分可藉由酶裂解。在一些實施例中，連接子或可裂解肽部分包含至少一個胺基酸單元。在一些實施例中，至少

一個胺基酸單元選自精胺酸、組胺酸、離胺酸、天冬胺酸、麩胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、半胱胺酸、硒半胱胺酸、甘胺酸、脯胺酸、丙胺酸、纈胺酸、異白胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、酪胺酸、色胺酸及瓜胺酸。在一些實施例中，至少一個胺基酸單元選自丙胺酸、瓜胺酸及纈胺酸。在一些實施例中，連接子包含瓜胺酸及纈胺酸。在一些實施例中，連接子包含丙胺酸及纈胺酸。

【0374】在一些實施例中，連接子包含選自磺醯胺、β-葡萄糖醛酸、二硫化物及羰基之部分。在一些實施例中，連接子包含磺醯胺。在一些實施例中，連接子包含β-葡萄糖醛酸。在一些實施例中，連接子包含二硫化物。在一些實施例中，連接子包含羰基。

【0375】在一些實施例中，連接子包含間隔子單元。在一些實施例中，間隔子單元選自烷基及聚乙二醇(PEG)部分。在一些實施例中，烷基為C_1-C_{12}烷基。在一些實施例中，烷基為C_1-C_6烷基。在一些實施例中，烷基為亞甲基。在一些實施例中，烷基為伸乙基。在一些實施例中，烷基為伸正丙基。在一些實施例中，烷基為伸正丁基。在一些實施例中，烷基為伸正戊基。在一些實施例中，烷基為伸正己基。在一些實施例中，PEG部分包含-$(PEG)_m$-，其中m為1至10之整數。在一些實施例中，m為1。在一些實施例中，m為2。在一些實施例中，m為3。在一些實施例中，m為4。在一些實施例中，m為5。在一些實施例中，m為6。

【0376】在一些實施例中，連接子包含順丁烯二醯亞胺(Mal)部分(「Mal-間隔子單元」)。在一些實施例中，連接子包含自我分解型間隔子單元。在一些實施例中，自我分解型間隔子單元選自對胺基苯甲氧基羰基(pABC)及對胺基苯甲基(pAB)。

【0377】在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元、烷基、至少一個胺基酸單元及自我分解型間隔子。在一些實施例中，至少一個胺基酸單元選自丙胺酸、瓜胺酸及纈胺酸。在一些實施例中，至少一個胺基酸單元包含丙胺酸及纈胺酸。在一些實施例中，至少一個胺基酸單元包含瓜胺酸及纈胺酸。在一些實施例中，自我分解型間隔子選自pAB及pABC。在一些實施例中，自我分解型間隔子包含pAB。在一些實施例中，自我分解型間隔子包含pABC。在一些實施例中，烷基包含C_1-C_6烷基。

【0378】在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元、PEG部分、至少一個胺基酸單元及自我分解型間隔子。在一些實施例中，至少一個胺基酸單元選自丙胺酸、瓜胺酸及纈胺酸。在一些實施例中，至少一個胺基酸單元包含丙胺酸及纈胺酸。在一些實施例中，至少一個胺基酸單元包含瓜胺酸及纈胺酸。在一些實施例中，自我分解型間隔子選自pAB及pABC。在一些實施例中，自我分解型間隔子包含pAB。在一些實施例中，自我分解型間隔子包含pABC。在一些實施例中，PEG部分包含-$(PEG)_m$-，其中m為1至6之整數。

藥物負載量

【0379】藥物負載量由*p*表示且在本文中亦稱為荷伯希二烯剪接調節子與抗體比(HAR)。藥物負載量可介於每個抗體或抗原結合片段1至10個藥物部分範圍內。在一些實施例中，*p*為1至10之整數。在一些實施例中 ，*p*為1至10、1至9、1至8、1至7、1至6、1至5、1至4、1至3或1至2之整數。在一些實施例中，*p*為2至10、2至9、2至8、2至7、2至6、2至5、2至4或2至3之整數。在一些實施例中，*p*為1至8之整數。在一些實施例中，*p*為2至5之整數。在一些實施例中，*p*為2至4之整數。在一些實施例

中，*p*為3至4之整數。在其他實施例中，*p*為4至8之整數。在其他實施例中，*p*為1、2、3、4、5、6、7或8，較佳地4或8。

【0380】藥物負載量可受抗體或抗原結合片段上之連接位點之數目限制。在一些實施例中，ADC之連接子部分(L)經由抗體或抗原結合片段上之一或多個胺基酸殘基上之化學活性基團連接至抗體或抗原結合片段。舉例而言，連接子可經由游離胺基、亞胺基、羥基、硫醇基或羧基連接至抗體或抗原結合片段(例如連接至N端或C端、連接至一或多個離胺酸殘基之ε胺基、連接至一或多個麩胺酸或天冬胺酸殘基之游離羧酸基或連接至一或多個半胱胺酸殘基之硫氫基)。與連接子連接之位點可為抗體或抗原結合片段之胺基酸序列中之天然殘基，或其可例如藉由DNA重組技術(例如藉由將半胱胺酸殘基引入胺基酸序列中)或藉由蛋白質生物化學(例如藉由還原、pH調節或水解)引入抗體或抗原結合片段中。

【0381】在一些實施例中，可結合至抗體或抗原結合片段之藥物部分之數目受游離半胱胺酸殘基之數目限制。舉例而言，在連接為半胱胺酸硫醇基之情況下，抗體可具有僅一個或數個半胱胺酸硫醇基，或可具有僅一個或數個連接子可經由其連接之具足夠反應性的硫醇基。一般而言，抗體不含有許多可連接至藥物部分之游離反應性半胱胺酸硫醇基。實際上，抗體中之大部分半胱胺酸硫醇殘基涉及於鏈間或鏈內二硫鍵中。因此，在一些實施例中，結合至半胱胺酸可能需要抗體之至少部分還原。連接子-毒素與抗體之過量連接可藉由還原可供用於形成二硫鍵之半胱胺酸殘基來使抗體去穩定。因此，最佳化藥物:抗體比應增加ADC之效力(藉由增加每個抗體之經連接之藥物部分的數目)，且不使抗體或抗原結合片段去穩定。在一些實施例中，最佳比率可為2、4、6或8。

【0382】在一些實施例中，使抗體或抗原結合片段在結合之前暴露於還原條件以便生成一或多個游離半胱胺酸殘基。在一些實施例中，可在部分或總體還原條件下用諸如二硫蘇糖醇(DTT)或參(2-羧乙基)膦(TCEP)之還原劑還原抗體以生成反應性半胱胺酸硫醇基。可經由用受限莫耳當量之TCEP進行部分還原來生成未經配對之半胱胺酸，該受限莫耳當量之TCEP可還原連接輕鏈及重鏈(一對/個H-L配對)及鉸鏈區中之兩個重鏈(在人類IgG1之情況下，兩對/個H-H配對)的鏈間二硫鍵，但使鏈內二硫鍵完整(Stefano等人(2013) Methods Mol Biol. 1045:145-71)。在實施例中，例如藉由採用施加交替還原及氧化電壓之工作電極來以電化學方式還原抗體內之二硫鍵。此方法可允許將二硫鍵還原與分析裝置(例如電化學偵測裝置、NMR光譜儀或質譜儀)或化學分離裝置(例如液體層析儀(例如HPLC)或電泳裝置(參見例如美國公開案第20140069822號))之在線偶合。在某些實施例中，抗體經受變性條件以顯露諸如半胱胺酸之胺基酸殘基上之反應性親核基團。

【0383】ADC之藥物負載量可以不同方式控制，例如藉由：(i)限制藥物-連接子中間物或連接子試劑相對於抗體而言之莫耳過量；(ii)限制結合反應時間或溫度；(iii)用於半胱胺酸硫醇修飾之部分或限制性還原條件；及/或(iv)藉由重組技術工程改造抗體之胺基酸序列以使得修飾半胱胺酸殘基之數目及位置以控制連接子-藥物連接之數目及/或位置。

【0384】在一些實施例中，將游離半胱胺酸殘基引入抗體或抗原結合片段之胺基酸序列中。舉例而言，可製備經半胱胺酸工程改造之抗體，其中親本抗體之一或多個胺基酸經半胱胺酸胺基酸置換。任何形式之抗體均可經如此工程改造，亦即突變。舉例而言，親本Fab抗體片段可經工程

改造以形成經半胱胺酸工程改造之Fab，稱為「ThioFab」。類似地，親本單株抗體可經工程改造以形成「ThioMab」。單位點突變在ThioFab中產生單個經工程改造之半胱胺酸殘基，而歸因於IgG抗體之二聚體性質，單位點突變在ThioMab中產生兩個經工程改造之半胱胺酸殘基。編碼親本多肽之胺基酸序列變異體之DNA可藉由此項技術中已知之各種方法來製備(參見例如國際公開案第WO 2006/034488號中所描述之方法)。此等方法包括但不限於藉由先前所製備之編碼多肽之DNA之定點(或寡核苷酸介導之)突變誘發、PCR突變誘發及卡匣突變誘發進行的製備。重組抗體變異體亦可藉由限制性片段操作或藉由重疊延伸PCR用合成寡核苷酸來構築。式(I) ADC包括但不限於具有1、2、3或4個經工程改造之半胱胺酸胺基酸之抗體(Lyon等人(2012) Methods Enzymol. 502:123-38)。在一些實施例中，在不使用工程改造之情況下，一或多個游離半胱胺酸殘基已存在於抗體或抗原結合片段中，在此情況下可使用現有游離半胱胺酸殘基以將抗體或抗原結合片段結合至藥物部分。

【0385】在超過一個親核性基團與藥物-連接子中間物或連接子部分試劑反應，隨後與藥物部分試劑反應之情況下，在包含抗體或抗原結合片段及連接子部分之多個複本之反應混合物中，隨後所得產物可為ADC化合物之混合物，該混合物具有一或多個藥物部分連接至混合物中之抗體或抗原結合片段之各複本的分佈。在一些實施例中，由結合反應得到之ADC之混合物中之藥物負載量介於每個抗體或抗原結合片段1至10個經連接之藥物部分範圍內。每個抗體或抗原結合片段之藥物部分之平均數目(亦即平均藥物負載量或平均*p*)可藉由此項技術中已知之任何習知方法，例如藉由質譜分析(例如逆相LC-MS)及/或高效液相層析(例如HIC-HPLC)

來計算。在一些實施例中，每個抗體或抗原結合片段之藥物部分之平均數目係藉由疏水相互作用層析法-高效液相層析法(HIC-HPLC)來測定。在一些實施例中，每個抗體或抗原結合片段之藥物部分之平均數目係藉由逆相液相層析法-質譜法(LC-MS)來測定。在一些實施例中，每個抗體或抗原結合片段之藥物部分之平均數目為約1.5至約3.5、約2.5至約4.5、約3.5至約5.5、約4.5至約6.5、約5.5至約7.5、約6.5至約8.5或約7.5至約9.5。在一些實施例中，每個抗體或抗原結合片段之藥物部分之平均數目為約2至約4、約3至約5、約4至約6、約5至約7、約6至約8、約7至約9、約2至約8或約4至約8。

【0386】在一些實施例中，每個抗體或抗原結合片段之藥物部分之平均數目為約2。在一些實施例中，每個抗體或抗原結合片段之藥物部分之平均數目為約1.5、約1.6、約1.7、約1.8、約1.9、約2、約2.1、約2.2、約2.3、約2.4或約2.5。在一些實施例中，每個抗體或抗原結合片段之藥物部分之平均數目為2。

【0387】在一些實施例中，每個抗體或抗原結合片段之藥物部分之平均數目為約4。在一些實施例中，每個抗體或抗原結合片段之藥物部分之平均數目為約3.5、約3.6、約3.7、約3.8、約3.9、約4、約4.1、約4.2、約4.3、約4.4或約4.5。在一些實施例中，每個抗體或抗原結合片段之藥物部分之平均數目為4。

【0388】在一些實施例中，每個抗體或抗原結合片段之藥物部分之平均數目為約8。在一些實施例中，每個抗體或抗原結合片段之藥物部分之平均數目為約7.5、約7.6、約7.7、約7.8、約7.9、約8、約8.1、約8.2、約8.3、約8.4或約8.5。在一些實施例中，每個抗體或抗原結合片段之藥物

部分之平均數目為8。

【0389】在各種實施例中，如關於每個抗體或抗原結合片段之藥物部分之平均數目所使用之術語「約」意謂± 10%。

【0390】個別ADC化合物或「物種」可在混合物中藉由質譜法識別且藉由UPLC或HPLC，例如疏水性相互作用層析(HIC-HPLC)分離。在某些實施例中，具有單一負載值之均質或接近均質之ADC產物可例如藉由電泳或層析法自結合混合物分離。

【0391】在一些實施例中，較高藥物負載量(例如$p > 8$)可引起某些抗體-藥物結合物之聚集、不可溶、毒性或細胞滲透性損失。較高藥物負載量亦可能不利地影響某些ADC之藥物動力學(例如清除率)。在一些實施例中，較低藥物負載量(例如$p < 2$)可能降低某些ADC針對表現目標之細胞及/或旁觀者細胞之效力。在一些實施例中，本發明之ADC之藥物負載量介於約2至約8；約2至約6；約2至約5；約3至約5；約2至約4；或約4至約8範圍內。

【0392】在一些實施例中，例如使用抗體或抗原結合片段上之鏈內二硫化物之部分還原來達成約2之藥物負載量及/或平均藥物負載量，且提供有益特性。在一些實施例中，例如使用抗體或抗原結合片段上之鏈內二硫化物之部分還原來達成約4之藥物負載量及/或平均藥物負載量，且提供有益特性。在一些實施例中，例如使用抗體或抗原結合片段上之鏈內二硫化物之部分還原來達成約8之藥物負載量及/或平均藥物負載量，且提供有益特性。在一些實施例中，小於約2之藥物負載量及/或平均藥物負載量可能產生不可接受地高水準之未經結合之抗體物種，該等物種可與ADC競爭結合至目標抗原且/或提供經降低之治療功效。在一些實施例中，大於

約8之藥物負載量及/或平均藥物負載量可能產生不可接受地高水準之產物異質性及/或ADC聚集。大於約8之藥物負載量及/或平均藥物負載量亦可能因使抗體或抗原結合片段穩定所需之一或多個化學鍵的損失而影響ADC之穩定性。

【0393】本發明包括產生所描述之ADC之方法。簡言之，ADC包含作為該抗體或抗原結合片段之抗體或抗原結合片段、藥物部分(例如荷伯希二烯剪接調節子)及接合藥物部分及抗體或抗原結合片段之連接子。在一些實施例中，ADC可使用具有用於共價連接至藥物部分及抗體或抗原結合片段之反應性官能基的連接子來製備。舉例而言，在一些實施例中，抗體或抗原結合片段之半胱胺酸硫醇可與連接子或藥物-連接子中間物之反應性官能基(例如順丁烯二醯亞胺部分)一起形成鍵以製造ADC。ADC生成可藉由熟習此項技術者已知之任何技術來實現。

【0394】在一些實施例中，ADC係藉由以下產生：首先使抗體或抗原結合片段與連接子及藥物部分(例如荷伯希二烯剪接調節子)以依序方式接觸以使得抗體或抗原結合片段共價連接至連接子，且隨後使預先形成之抗體-連接子中間物與藥物部分反應。抗體-連接子中間物在接觸藥物部分之前可經受或可不經受純化步驟。在其他實施例中，ADC係藉由使抗體或抗原結合片段與連接子-藥物化合物接觸來產生，該連接子-藥物化合物係藉由使連接子與藥物部分反應而預先形成。預先形成之連接子-藥物化合物在接觸抗體或抗原結合片段之前可經受或可不經受純化步驟。在其他實施例中，抗體或抗原結合片段接觸一種反應混合物中之連接子及藥物部分，允許在抗體或抗原結合片段與連接子之間及連接子與藥物部分之間同時形成共價鍵。此產生ADC之方法可包括一反應，其中抗體或抗原結合

片段在將連接子添加至反應混合物中之前接觸抗體或抗原結合片段，且反之亦然。在某些實施例中，ADC係藉由在允許結合之條件下使抗體或抗原結合片段與接合至藥物部分之連接子，諸如ADL1-荷伯希二烯剪接調節子(例如ADL1-79392)或ADL5-荷伯希二烯剪接調節子(例如ADL5-0349)反應來產生。

【0395】根據上文所描述之方法製備之ADC可經受純化步驟。純化步驟可涉及此項技術中已知用於純化蛋白質之任何生物化學方法或其任何方法組合。此等方法包括但不限於切向流過濾(TFF)、親和性層析法、離子交換層析法、基於電荷或等電點之任何層析法、混合模式層析法(例如CHT (陶瓷羥基磷灰石))、疏水相互作用層析法、粒徑篩析層析法、透析、過濾、選擇性沈澱或其任何組合。

治療用途及組合物

【0396】本文揭示使用所揭示之ADC及組合物治療個體之病症(例如贅生性病症)之方法。ADC可單獨或與第二治療劑組合投與，且可以任何醫藥學上可接受之配方、劑量及給藥方案投與。可針對毒性以及功效指標評估ADC治療功效且作出相應地調整。功效量度包括但不限於活體外或活體內觀測到之細胞生長抑制及/或細胞毒性作用、腫瘤體積減小、腫瘤生長抑制及/或經延長之存活期。

【0397】已知確定ADC是否對細胞發揮細胞生長抑制及/或細胞毒性作用之方法。舉例而言，ADC之細胞毒性或細胞生長抑制活性可藉由以下量測：使表現ADC之目標蛋白之哺乳動物細胞暴露於細胞培養基中；培養細胞達約6小時至約6天之時段；及量測細胞活力。基於細胞之活體外分析亦可用於量測ADC之活力(增殖)、細胞毒性及細胞凋亡誘導(凋亡蛋

白酶活化)。

【0398】為確定ADC是否發揮細胞生長抑制作用，可使用胸苷併入分析。舉例而言，可將呈5,000個細胞/所塗鋪之96孔盤之孔之密度的表現目標抗原之癌細胞培養72小時時段，且在72小時時段之最後8小時期間暴露於0.5 μCi之^{3}H-胸苷。在ADC存在及不存在之情況下，量測培養物之細胞中^{3}H-胸苷之併入量。

【0399】為測定細胞毒性，可量測壞死或細胞凋亡(計劃性細胞死亡)。壞死通常伴隨有質膜之滲透性增加；細胞膨脹及質膜破裂。細胞凋亡可例如藉由量測DNA斷裂來定量。用於定量活體外測定DNA斷裂之商業測光方法為可用的。包括TUNEL (其偵測經斷裂之DNA中經標記核苷酸之併入)及基於ELISA之分析之該等分析之實例描述於Biochemica (1999)第2期, 第34-37頁(Roche Molecular Biochemicals)中。

【0400】細胞凋亡亦可藉由量測細胞中之形態變化來測定。舉例而言，如同壞死一樣，質膜完整性之損失可藉由量測對某些染料(例如螢光染料，諸如吖啶橙或溴化乙錠)之吸收來測定。用於量測凋亡細胞數目之方法已由Duke及Cohen, Current Protocols in Immunology (Coligan等人, 編(1992) 第3.17.1-3.17.16頁)描述。細胞亦可經DNA染料(例如吖啶橙、溴化乙錠或碘化丙錠)標記且觀測細胞之沿內部核膜之染色體凝聚及邊聚。在一些實施例中，細胞凋亡亦可藉由針對凋亡蛋白酶活性進行篩檢來測定。在一些實施例中，可使用Caspase-Glo®分析來量測凋亡蛋白酶-3及凋亡蛋白酶-7之活性。在一些實施例中，分析在針對凋亡蛋白酶活性、螢光素酶活性及細胞溶解最佳化之試劑中提供發光凋亡蛋白酶-3/7受質。在一些實施例中，以「添加-混合-量測」格式添加Caspase-Glo® 3/7試劑

可引起細胞溶解，接著引起受質之凋亡蛋白酶裂解且生成由螢光素酶產生之「輝光型」發光信號。在一些實施例中，發光可與所存在之凋亡蛋白酶活性之量成比例，且可充當細胞凋亡之指示符。可經量測以測定細胞凋亡之其他形態變化包括例如細胞質凝聚、經增加之膜起泡及細胞收縮。針對對癌細胞之此等影響中之任一者之測定指示，ADC可用於治療癌症。

【0401】細胞活力可例如藉由測定細胞中諸如中性紅、錐蟲藍、結晶紫或ALAMAR™藍之染料之吸收來量測(參見例如Page等人(1993) Intl J Oncology 3:473-6)。在此類分析中，在含有染料之培養基中培育細胞，洗滌細胞，且以分光光度法量測反映細胞對染料之吸收的剩餘染料。細胞活力亦可例如藉由定量作為具代謝活性之細胞之指示符的ATP來量測。在某些實施例中，所製備之ADC或荷伯希二烯剪接調節子化合物之活體外效力及/或細胞活力可使用如本文所提供之實例中所描述之CellTiter-Glo®發光細胞活力分析來評估。在某些實施例中，在此分析中，將單一試劑(CellTiter-Glo®試劑)直接添加至在補充血清之培養基中培養之細胞中。添加試劑引起細胞溶解且生成與所存在之ATP之量成比例之發光信號。ATP之量與存在於培養物中之細胞之數目成正比。亦可使用蛋白質結合染料磺醯羅丹明B (sulforhodamine B，SRB)來量測細胞毒性(Skehan等人(1990) J Natl Cancer Inst. 82:1107-12)。

【0402】亦可評估所揭示之ADC之旁觀者殺滅活性。旁觀者殺滅活性可例如藉由採用兩個細胞株之分析測定，該等兩個細胞株中之一者對目標抗原呈陽性，而一者對目標抗原呈陰性。在某些實施例中，分析之設計允許僅追蹤目標陰性細胞。在某些實施例中，在以下三個條件下塗鋪細胞：(i)單獨目標陰性細胞(加標籤或經標記)；(ii)單獨目標陽性細胞；及

(iii)目標陰性細胞與目標陽性細胞之共培養物。隨後，用ADC治療細胞，接著監測細胞毒性。當用CellTiter-Glo®試劑讀取盤時，可監測所有細胞群之活力。當用OneGlo®試劑讀取盤時，僅加標籤或經標記之目標陰性細胞產生信號。目標陰性細胞與目標陽性細胞混合時之殺滅指示旁觀者殺滅，而在目標陽性細胞不存在之情況下之目標陰性細胞之殺滅指示脫靶殺滅。

【0403】在某些態樣中，本發明之特點在於藉由破壞RNA剪接來殺滅癌細胞或組織、抑制或調節癌細胞或組織之生長、或干擾癌細胞或組織之代謝的方法。該方法可用於RNA剪接破壞提供治療效益之任何個體。可自破壞RNA剪接受益之個體包括但不限於患有贅生性病症或處於患有贅生性病症之風險下之個體，該贅生性病症諸如血液惡性病或實體腫瘤。在某些實施例中，血液惡性病為B細胞惡性病、血癌(白血病)、漿細胞癌(骨髓瘤，例如多發性骨髓瘤)或淋巴結癌(淋巴瘤)。在某些實施例中，血液惡性病為急性骨髓性白血病或多發性骨髓瘤。在某些實施例中，白血病為急性淋巴母細胞白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴球性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性骨髓單核球性白血病(CMML)或急性單核球性白血病(AMoL)。在某些實施例中，淋巴瘤為霍奇金氏淋巴瘤或非霍奇金氏淋巴瘤。在某些實施例中，血液惡性病為骨髓化生不良症候群(MDS)。在某些實施例中，實體腫瘤為癌瘤，諸如乳癌、胰臟癌、前列腺癌、大腸癌或大腸直腸癌、肺癌、胃癌、子宮頸癌、子宮內膜癌、卵巢癌、膽管上皮癌、神經膠質瘤或黑色素瘤。在某些實施例中，實體腫瘤為乳癌、胃癌、前列腺癌、卵巢癌、肺癌(例如肺腺癌)、子宮癌(例如子宮漿液性子宮內膜癌)、唾腺管癌、黑色素瘤、大腸癌、子宮

頸癌、胰臟癌、腎癌、大腸直腸癌或食道癌。在某些實施例中，肺癌為肺腺癌。在某些實施例中，子宮癌為子宮漿液性子宮內膜癌。

【0404】在各種實施例中，可在諸如表現HER2之贅生性細胞或組織之表現HER2之任何細胞或組織中投與所揭示之ADC。例示性實施例包括抑制HER2介導之細胞信號傳導之方法或殺滅細胞之方法。該方法可用於表現HER2之任何細胞或組織，諸如癌細胞或轉移性病變。HER2表現性癌症之非限制性實例包括乳癌、胃癌、膀胱癌、尿道上皮細胞癌、食道癌、肺癌(例如肺腺癌)、子宮癌(例如子宮漿液性子宮內膜癌)、唾腺管癌、子宮頸癌、子宮內膜癌及卵巢癌(English等人(2013) Mol Diagn Ther. 17:85-99)。表現HER2之細胞之非限制性實例包括HCC1954及SKBR3人類乳房導管癌細胞、N87人類胃癌細胞及包含編碼HER2或其部分之重組核酸的細胞。

【0405】在各種實施例中，可在諸如表現CD138之贅生性細胞或組織之表現CD138之任何細胞或組織中投與所揭示之ADC。例示性實施例包括抑制CD138介導之細胞信號傳導之方法或殺滅細胞之方法。該方法可用於表現CD138之任何細胞或組織，諸如癌細胞或轉移性病變。CD138表現性癌症之非限制性實例包括胸內癌症(例如肺癌、間皮瘤)、皮膚癌(例如基底細胞癌、鱗狀細胞癌)、頭頸癌(例如喉癌、喉咽癌、鼻咽癌)、乳癌、泌尿生殖癌(例如子宮頸癌、卵巢癌、子宮內膜癌、前列腺癌、膀胱癌、尿道上皮癌)、血液惡性病(例如骨髓瘤，諸如多發性骨髓瘤、霍奇金氏淋巴瘤)及甲狀腺癌(Szatmári等人(2015) Dis Markers 2015:796052)。表現CD138之細胞之非限制性實例包括MOLP8人類多發性骨髓瘤細胞及包含編碼CD138或其部分之重組核酸的細胞。

【0406】在各種實施例中，可在諸如表現EPHA2之贅生性細胞或組織之表現EPHA2之任何細胞或組織中投與所揭示之ADC。例示性實施例包括抑制EPHA2介導之細胞信號傳導之方法或殺滅細胞之方法。該方法可用於表現EPHA2之任何細胞或組織，諸如癌細胞或轉移性病變。EPHA2表現性癌症之非限制性實例包括乳癌、腦癌、卵巢癌、膀胱癌、胰臟癌、食道癌、肺癌、前列腺癌、黑色素瘤、食道癌及胃癌(Tandon等人(2011) Expert Opin Ther Targets 15(1):31-51)。EPHA2表現性細胞之非限制性實例包括PC3人類前列腺癌細胞及包含編碼EPHA2或其部分之重組核酸的細胞。

【0407】例示性方法包括使細胞與有效量(亦即足以殺滅細胞之量)之如本文所描述之ADC接觸的步驟。該方法可用於例如活體外、活體內、離體或原位培養物中之細胞上。舉例而言，可在培養基中活體外培養表現HER2之細胞(例如藉由腫瘤或轉移性病變之生檢收集之細胞；來自已建立之癌細胞株之細胞；或重組細胞)，且可藉由將ADC添加至培養基中來影響接觸步驟。該方法將引起對表現HER2之細胞，詳言之包括表現HER2之腫瘤細胞的殺滅。可替代地，可藉由任何合適之投與途徑(例如靜脈內、皮下或與腫瘤組織直接地接觸)將ADC投與至個體以具有活體內效果。此方法可用於靶向其他細胞表面抗原(例如CD138、EPHA2)之抗體。

【0408】所揭示之ADC治療性組合物之活體內效果可在合適動物模型中進行評估。舉例而言，可使用異種癌症模型，其中將癌症外植體或所傳代之異種移植組織引入諸如裸小鼠或SCID小鼠之免疫受損動物中(Klein等人(1997) Nature Med. 3:402-8)。可使用量測對腫瘤形成、腫瘤消退或轉移之抑制之分析及其類似分析預測功效。

【0409】亦可使用評估藉由諸如細胞凋亡之機制進行之腫瘤死亡促進之活體內分析。在一個實施例中，可檢查來自經治療性組合物治療之攜腫瘤小鼠之異種移植物的細胞凋亡灶點的存在且與未經治療之對照攜異種移植物小鼠對比。在經治療之小鼠之腫瘤中發現細胞凋亡灶點之程度提供關於組合物治療功效之指示。

【0410】本文進一步提供治療例如癌症之贅生性病症之方法。本文所揭示之ADC可投與至非人類哺乳動物或人類個體以用於治療目的。治療方法需要向患有或疑似患有贅生性病症之個體投與治療有效量之包含連接至與經表現抗原結合之靶向抗體之荷伯希二烯剪接調節子的ADC或組合物，可進行結合，或定位於癌細胞表面上。在一些實施例中，用抗體-藥物結合物或組合物進行之治療誘導對不表現目標抗原但鄰近於表現目標抗原之贅生性細胞之贅生性細胞的旁觀者殺滅。

【0411】例示性實施例為將荷伯希二烯剪接調節子遞送至表現HER2之細胞之方法，其包含使荷伯希二烯剪接調節子結合至免疫特異性結合至HER2抗原決定基之抗體且使細胞暴露於ADC。指示本發明之ADC之表現HER2之例示性腫瘤細胞包括胃癌細胞及乳房導管癌細胞。

【0412】另一例示性實施例為將荷伯希二烯剪接調節子遞送至表現CD138之細胞之方法，其包含使荷伯希二烯剪接調節子結合至免疫特異性結合至CD138抗原決定基之抗體且使細胞暴露於ADC。指示本發明之ADC之表現CD138之例示性腫瘤細胞包括多發性骨髓瘤細胞。

【0413】另一例示性實施例為將荷伯希二烯剪接調節子遞送至表現EPHA2之細胞之方法，其包含使荷伯希二烯剪接調節子結合至免疫特異性結合至EPHA2抗原決定基之抗體且使細胞暴露於ADC。指示本發明之

ADC之表現EPHA2之例示性腫瘤細胞包括前列腺癌細胞。

【0414】另一例示性實施例為減少或抑制腫瘤(例如HER2表現性腫瘤、CD138表現性腫瘤、EPHA2表現性腫瘤)之生長之方法，其包含投與治療有效量之ADC或包含ADC之組合物。在一些實施例中，該治療足以減少或抑制患者腫瘤之生長、減少轉移性病變之數目或尺寸、減輕腫瘤負荷、減輕原發性腫瘤負荷、降低侵襲性、延長存活時間且/或維持或改善生活品質。在一些實施例中，腫瘤對單獨投與時之ADC之抗體或抗原結合片段(例如抗HER2抗體、抗CD138抗體、抗EPHA2抗體)具有抗性或頑抗性，且/或腫瘤對單獨投與時之荷伯希二烯剪接調節子藥物部分具有抗性或頑抗性。

【0415】在某些態樣中，本發明提供減少或抑制HER2表現性腫瘤之生長之方法。在某些實施例中，用抗體-藥物結合物或組合物進行之治療誘導對不表現HER2但鄰近於表現HER2之贅生性腫瘤細胞的腫瘤細胞的旁觀者殺滅。例示性HER2表現性腫瘤類型包括但不限於來源於HER2表現性乳癌、胃癌、膀胱癌、尿道上皮細胞癌、食道癌、肺癌(例如肺腺癌)、子宮癌(例如子宮漿液性子宮內膜癌)、唾腺管癌、子宮頸癌、子宮內膜癌及卵巢癌之腫瘤。在某些實施例中，HER2表現性腫瘤為來源於HER2表現性乳癌、卵巢癌、胃癌、肺癌(例如肺腺癌)、子宮癌(例如子宮漿液性子宮內膜癌)、骨肉瘤或唾腺管癌之腫瘤。在某些實施例中，HER2表現性腫瘤為肺腺癌或子宮漿液性子宮內膜癌。

【0416】在某些態樣中，本發明提供減少或抑制CD138表現性腫瘤之生長之方法。在某些實施例中，用抗體-藥物結合物或組合物進行之治療誘導對不表現CD138但鄰近於表現CD138之贅生性腫瘤細胞的腫瘤細胞

的旁觀者殺滅。例示性CD138表現性腫瘤類型包括但不限於來源於CD138表現性胸內癌症(例如肺癌、間皮瘤)、皮膚癌(例如基底細胞癌、鱗狀細胞癌)、頭頸癌(例如喉癌、喉咽癌、鼻咽癌)、乳癌、泌尿生殖癌(例如子宮頸癌、卵巢癌、子宮內膜癌、前列腺癌、膀胱癌、尿道上皮癌)及甲狀腺癌之腫瘤。

【0417】在某些態樣中，本發明提供減少或抑制EPHA2表現性腫瘤之生長之方法。在某些實施例中，用抗體-藥物結合物或組合物進行之治療誘導對不表現EPHA2但鄰近於表現EPHA2之贅生性腫瘤細胞的腫瘤細胞的旁觀者殺滅。例示性EPHA2表現性腫瘤類型包括但不限於來源於EPHA2表現性乳癌、腦癌、卵巢癌、膀胱癌、胰臟癌、食道癌、肺癌、前列腺癌、黑色素瘤、食道癌及胃癌之腫瘤。在某些實施例中，EPHA2表現性腫瘤為來源於EPHA2表現性乳癌、前列腺癌、卵巢癌、肺癌、黑色素瘤、大腸癌或食道癌之腫瘤。

【0418】此外，可將本發明之抗體投與至表現能夠與ADC結合之抗原之非人類哺乳動物以用於獸醫學目的或作為人類疾病之動物模型。就後者而言，該等動物模型可用於評估所揭示之ADC之治療功效(例如測試劑量及投與時程)。

【0419】本文進一步提供所揭示之ADC及組合物之治療用途。例示性實施例為ADC在治療贅生性病症(例如HER2表現性癌症、CD138表現性癌症、EPHA2表現性癌症)中之用途。另一例示性實施例為用於治療贅生性病症(例如HER2表現性癌症、CD138表現性癌症、EPHA2表現性癌症)之ADC。用於識別患有表現目標抗原(例如HER2、CD138、EPHA2、MSLN、FOLH1、CDH6、CEACAM5、CFC1B、ENPP3、FOLR1、

HAVCR1、KIT、MET、MUC16、SLC39A6、SLC44A4或STEAP1)之癌症之個體的方法為此項技術中已知的且可用於識別適用於用所揭示之ADC進行之治療的患者。

【0420】另一例示性實施例為ADC在製造用於治療贅生性病症(例如HER2表現性癌症、CD138表現性癌症、EPHA2表現性癌症)之藥劑之方法中的用途。

【0421】用於實踐前述方法之治療性組合物可調配成包含適用於所需遞送方法之醫藥學上可接受之載劑的醫藥組合物。例示性實施例為包含本發明之ADC及醫藥學上可接受之載劑的醫藥組合物。合適載劑包括在與治療性組合物組合時保持治療性組合物之抗腫瘤功能且一般不可與患者免疫系統反應之任何材料。醫藥學上可接受之載劑包括生理上相容之任何及所有溶劑、分散介質、包衣劑、抗細菌劑及抗真菌劑、等張劑及吸收延遲劑及其類似物。醫藥學上可接受之載劑之實例包括水、生理鹽水、磷酸鹽緩衝生理鹽水、右旋糖、甘油、乙醇、甲磺酸鹽及其類似物以及其組合中之一或多者。在許多情況下，組合物中包括例如糖、多元醇(諸如甘露糖醇、山梨糖醇)或氯化鈉之等張劑。醫藥學上可接受之載劑可進一步包含極少量之輔助物質，諸如潤濕劑或乳化劑、防腐劑或緩衝劑，該等輔助物質增強ADC之保存期限或有效性。

【0422】治療性調配物可溶解且經由能夠將治療性組合物遞送至腫瘤部位之任何途徑投與。潛在有效之投與途徑包括但不限於靜脈內、非經腸、腹膜內、肌內、瘤內、皮內、器官內、正位及其類似途徑。治療性蛋白製劑可凍乾且以無菌粉末形式儲存在例如真空下，且隨後在注射之前於抑菌水(含有例如苯甲醇防腐劑)或無菌水中復原。治療性調配物可包含

ADC或其醫藥學上可接受之鹽(例如甲磺酸鹽)。

【0423】在一些實施例中，每天、兩月一次或其間任何時間段向患者投與ADC。使用前述方法治療癌症之劑量及投與方案將隨該方法及目標癌症而變化，且一般將視此項技術中所瞭解之多種其他因素而定。

【0424】各種遞送系統已為人所知且可用於投與一或多種本發明之ADC。投與ADC之方法包括但不限於非經腸投與(例如皮內、肌內、腹膜內、靜脈內及皮下)、硬膜外投與、瘤內投與及黏膜投與(例如鼻內及經口途徑)。另外，可採用例如藉由使用吸入器或噴霧器及具有氣霧劑之調配物進行之經肺投與。參見例如以下中所描述之用於經肺投與之組合物及方法：美國專利第6,019,968號、第5,985,320號、第5,985,309號、第5,934,272號、第5,874,064號、第5,855,913號、第5,290,540號及第4,880,078號；及國際公開案第WO 1992/019244號、第WO 1997/032572號、第WO 1997/044013號、第WO 1998/031346號及第WO 1999/066903。ADC可藉由任何便利途徑投與，例如藉由輸注或快速注射或藉由經上皮或黏膜皮膚內層(例如口腔黏膜、直腸及腸黏膜等)吸收。投與可為全身或局部的。

【0425】本文所揭示之治療性組合物可在製造及儲存條件下無菌且穩定。在一些實施例中，ADC或醫藥組合物中之一或多種係以乾燥經滅菌凍乾粉末或無水濃縮物形式供應於氣密密封式容器中且可復原(例如用水或生理鹽水)至適當濃度以向個體投與。在一些實施例中，預防劑或治療劑或醫藥組合物中之一或多種係以至少5 mg、至少10 mg、至少15 mg、至少25 mg、至少35 mg、至少45 mg、至少50 mg、至少75 mg或至少100 mg或其間任何量之單位劑量以乾燥無菌凍乾粉末形式供應於氣密

密封式容器中。在一些實施例中，經凍乾之ADC或醫藥組合物係在原始容器中在2℃與8℃之間儲存。在一些實施例中，本文所描述之ADC或醫藥組合物中之一或多種係以液體形式供應於氣密密封式容器，例如指示藥劑之量及濃度的容器中。在一些實施例中，液體形式之所投與之組合物係供應於具有至少0.25 mg/mL、至少0.5 mg/mL、至少1 mg /mL、至少2.5 mg/mL、至少5 mg/mL、至少8 mg/mL、至少10 mg/mL、至少15 mg/mL、至少25 mg/mL、至少50 mg/mL、至少75 mg/mL或至少100 mg /mL ADC之氣密密封式容器中。液體形式可在原始容器中在2℃與8℃之間儲存。

【0426】在一些實施例中，所揭示之ADC可併入適用於非經腸投與之醫藥組合物中。可注射溶液可由於弗林特(flint)或琥珀色小瓶、安瓿或預填充注射器或其他已知遞送或儲存裝置中之液體或凍乾劑型構成。

【0427】本文所描述之組合物可呈多種形式。此等形式包括例如液體、半固體及固體劑型，諸如液體溶液(例如可注射溶液及可輸注溶液)、分散液或懸浮液、錠劑、丸劑、散劑、脂質體及栓劑。較佳形式係視預期投與模式及治療性應用而定。

【0428】在各種實施例中，治療涉及經由可接受之投與途徑單次快速注射或重複投與ADC製劑。

【0429】可針對給定樣品中目標抗原之含量(例如表現目標抗原之細胞之含量)對患者進行評估以便幫助確定最有效之給藥方案等。例示性實施例為確定患者是否對用本發明之ADC進行之治療起反應的方法，其包含提供來自患者之生物樣品且使生物樣品與ADC接觸。例示性生物樣品包括組織或體液，諸如發炎性滲出物、血液、血清、腸液、糞便樣品或腫

瘤生檢(例如來源於患有目標抗原表現性癌症(例如HER2表現性癌症、CD138表現性癌症、EPHA2表現性癌症)或處於目標抗原表現性癌症之風險下之患者的腫瘤生檢)。在一些實施例中，樣品(例如組織及/或體液)可自個體獲得，且可使用合適之免疫學方法來偵測及/或量測目標抗原(例如HER2、CD138、EPHA2、MSLN、FOLH1、CDH6、CEACAM5、CFC1B、ENPP3、FOLR1、HAVCR1、KIT、MET、MUC16、SLC39A6、SLC44A4或STEAP1)之蛋白質表現。該等評估亦在整個療法中用於監測目的，且可與其他參數評估組合用於規測治療成功性。

【0430】在一些實施例中，可藉由使來自個體之腫瘤樣品與ADC接觸且評估腫瘤生長速率或體積來評估ADC之功效。在一些實施例中，當確定ADC有效時，可將其投與至個體。

【0431】以上治療方法可與廣泛多種之額外手術、化學療法或放射療法方案中之任一者組合。在一些實施例中，本文所揭示之ADC或組合物係與一或多種額外治療劑，例如一或多種化學治療劑共調配及/或共投與。化學治療劑之非限制性實例包括烷基化劑，例如氮芥(nitrogen mustard)、伸乙亞胺化合物及磺酸烷基酯；抗代謝物，例如葉酸、嘌呤或嘧啶拮抗劑；抗有絲分裂劑，例如抗微管蛋白劑，諸如艾瑞布林(eribulin)或甲磺酸艾瑞布林(Halaven™)、長春花屬生物鹼(vinca alkaloid)及奧瑞他汀(auristatin)；細胞毒性抗生素；損害或干擾DNA表現或複製之化合物，例如DNA小溝結合劑；以及生長因子受體拮抗劑。在一些實施例中，化學治療劑可為細胞毒性劑或細胞生長抑制劑。細胞毒性劑之實例包括但不限於抗有絲分裂劑，諸如艾瑞布林或甲磺酸艾瑞布林(Halaven™)、奧瑞他汀(例如單甲基奧瑞他汀E (MMAE)、單甲基奧瑞他

汀F (MMAF))、類美登素(例如美登素)、海兔毒素、多斯他汀(duostatin)、念珠藻素、長春花屬生物鹼(例如長春新鹼、長春花鹼)、紫杉烷、紫杉醇及秋水仙鹼；蒽環黴素(例如道諾黴素(daunorubicin)、小紅莓、二羥基炭疽菌素(dihydroxyanthracindione))；細胞毒性抗生素(例如絲裂黴素、放射菌素、倍癌黴素(例如CC-1065)、金黴素(auromycin/duomycin)、卡奇黴素(calicheamicin)、內黴素、酚黴素)；烷基化劑(例如順鉑)；插入劑(例如溴化乙錠)；拓樸異構酶抑制劑(例如依託泊苷(etoposide)、替尼泊苷(tenoposide))；放射性同位素，諸如At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}或Bi^{213}、P^{32}及鐳放射性同位素(例如Lu^{177})；及細菌、真菌、植物或動物起源之毒素(例如蓖麻毒素(例如蓖麻毒素A鏈)、白喉毒素、假單胞菌外毒素A (*Pseudomonas* exotoxin A) (例如PE40)、內毒素、有絲分裂素、康普瑞汀(combrestatin)、侷限麴菌素、白樹素、α-帚麴菌素、相思子毒素(例如相思子毒素A鏈)、莫迪素(例如莫迪素A鏈)、麻瘋樹逆境蛋白(curicin)、巴豆毒素、肥皂草抑制劑(*Sapaonaria officinalis* inhibitor)、糖皮質素)。

【0432】本文亦揭示所揭示之ADC中之一或多種在例如根據上文所描述之方法製造用於治療癌症之藥劑中的用途。在一些實施例中，使用本文所揭示之ADC，例如根據上文所描述之方法治療癌症。

【0433】在各種實施例中，用於本文所描述之實驗室及治療性應用之套組係處於本發明之範疇內。該等套組可包含經分隔以容納諸如小瓶、套管及其類似物之一或多個容器的載架、封裝或容器，該一或多個容器中之各者包含待用於本文所揭示之方法中之獨立元素中之一者以及包含諸如本文所描述之用途之使用說明書的標籤或插頁。套組可包含有包含藥物部

分之容器。本發明亦提供封裝在指示藥劑之量之氣密密封式容器(諸如安瓿或藥囊)中之ADC或其醫藥組合物中之一或多者。

【0434】套組可包含上文所描述之容器及與其相聯之一或多個其他容器，該一或多個其他容器包含自商業及使用者觀點看合乎需要之材料，包括緩衝劑、稀釋劑、過濾劑、針、注射器；列舉內容物及/或使用說明書之載架、封裝、容器、小瓶及/或套管標籤；及具有使用說明書之藥品說明書。

【0435】標籤可存在於容器上或容器中以指示組合物用於特定療法或非治療性應用，諸如預後、預防、診斷或實驗室應用。標籤亦可指示關於活體內或活體外用途，諸如本文所描述之用途的指導。在包括在套組中或套組上之插頁或標籤上亦可包括指導及/或其他資訊。標籤可處於容器上或與容器相聯。當將形成標籤之字母、數字或其他字符模製或蝕刻至容器自身中時，標籤可處於容器上。當標籤存在於亦固持容器之貯器或載架內時，標籤可例如以藥品說明書形式與容器相聯。標籤可指示組合物用於診斷或治療諸如本文所描述之癌症之病況。

新抗原及使用方法

【0436】在各種實施例中，本文亦揭示藉由在可由患者免疫系統靶向之腫瘤細胞中誘導新抗原以進行清除來治療患者的方法。在各種實施例中，在不受理論束縛之情況下，投與單獨且/或作為ADC或組合物之部分之荷伯希二烯剪接調節子可產生例如由於經再表現之內含子滯留性內源性反轉錄病毒而誘導免疫反應、誘導雙股RNA免疫反應的新抗原，且/或產生誘導免疫原性細胞死亡的新抗原。

【0437】如本文所使用之術語「新抗原」係指由於一或多個腫瘤特

異性突變及/或由於使腫瘤暴露於荷伯希二烯剪接調節子(例如單獨且/或作為ADC或組合物之部分之本文所揭示之荷伯希二烯剪接調節子中之任一者或多者)，免疫系統先前尚未向其暴露的任何抗原。腫瘤特異性突變可包括誤義突變、框移、易位及變異型mRNA剪接以及影響諸如磷酸化及糖基化之轉譯後加工之突變。在各種實施例中，此等例示性突變可來源於更改mRNA加工(例如剪接)之非同義編碼改變及/或突變。在各種實施例中，所有此等例示性突變均可能導致分子改變，該等分子改變可由適當T細胞受體辨別。在各種實施例中，例示性新抗原為藉由遞送單獨且/或作為ADC或組合物之部分之荷伯希二烯剪接調節子而誘導的新抗原。在各種實施例中，遞送荷伯希二烯剪接調節子(例如本文所揭示之荷伯希二烯剪接調節子中之任一者或多者)可誘導新穎mRNA剪接，引起對含有免疫系統先前尚未向其暴露之一或多個新穎肽域之蛋白質的轉譯。在各種實施例中，腫瘤特異性突變可為由遞送或投與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物得到的mRNA剪接變異體。

【0438】在各種實施例中，在不受理論束縛之情況下，遞送單獨且作為ADC或組合物之部分之荷伯希二烯剪接調節子可誘導新穎mRNA剪接(例如外顯子跳躍、內含子滯留)，引起對各種基因之開放閱讀框及/或編碼序列的更改。在各種實施例中，此等經更改之基因轉譯成由免疫系統識別為具外源性之含有一或多個新穎肽域之蛋白質。在各種實施例中，在荷伯希二烯剪接調節子治療不存在之情況下，一或多個新穎肽域不存在於蛋白質或人類蛋白質體之任何其他部分中。在各種實施例中，含有一或多個新穎肽域之蛋白質可藉由蛋白酶體降解以產生新穎肽片段，該等新穎肽片段充當用於例如經由MHC呈現進行之免疫肽呈現機制的受質。在各種實

施例中，代表新抗原之新穎肽片段可呈現於例如腫瘤細胞上之MHC1結合肽組中。

【0439】在各種實施例中，遞送單獨且作為ADC或組合物之部分之荷伯希二烯剪接調節子可引起一或多個腫瘤細胞內部事件(例如細胞生長遏制)。在各種實施例中，腫瘤細胞內部事件可引起(1)吞噬細胞之接合增強(Bracci等人 (2014) Cell Death Differ. 21(1):15-25)；(2)新穎肽片段轉運至腫瘤引流淋巴結以與抗原呈現細胞接合；(3)抗原呈現細胞加工來自吞噬腫瘤細胞之新穎肽片段，且將該等片段作為新抗原呈現給循環天然T細胞群；(4)新穎肽片段與將該等片段辨識為新抗原之表現T細胞之受體相互作用；(5)效應T細胞反應之成熟及活化(例如CD4+及/或CD8+ T細胞；及/或(6) T細胞與暴露於荷伯希二烯剪接調節子治療之額外腫瘤細胞接合且將代表新抗原之新穎肽片段呈現於其表面MHC1複合物上。在各種實施例中，腫瘤細胞內部事件可直接地或間接地引起具有效應子功能之T細胞接合及/或對呈現新抗原之腫瘤細胞之殺滅。

【0440】此外，在各種實施例中，在不受理論束縛之情況下，遞送單獨且作為ADC或組合物之部分之荷伯希二烯剪接調節子可引起內含子滯留性內源性反轉錄病毒之再表現，引起雙股RNA免疫反應。

【0441】此外，在各種實施例中，在不受理論束縛之情況下，遞送單獨且作為ADC或組合物之部分之荷伯希二烯剪接調節子可引起由以突變方式衍生之新抗原之剪接調節子誘導之釋放觸發的免疫原性細胞死亡。在各種實施例中，遞送單獨且作為ADC或組合物之部分之荷伯希二烯剪接調節子可誘導雙股RNA免疫反應。在各種實施例中，雙股RNA免疫反應可由內含子滯留性內源性反轉錄病毒之再表現引起。在各種實施例中，

雙股RNA免疫反應可引起腫瘤細胞死亡。在各種實施例中，遞送單獨且作為ADC或組合物之部分之荷伯希二烯剪接調節子可誘導免疫原性細胞死亡。在各種實施例中，免疫原性細胞死亡可由突變性衍生之新抗原之釋放及/或針對腫瘤細胞之宿主免疫反應引起。

【0442】因此，在各種實施例中，揭示治療方法，其包含藉由投與一或多種荷伯希二烯剪接調節子及/或ADC及/或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物，例如本文所揭示之任何荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物來誘導新抗原。在各種實施例中，該方法包含在不存在新抗原誘導之情況下，投與比需要劑量減少之劑量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物。在一些實施例中，該方法包含投與一或多次初始誘導劑量以產生新抗原且誘導免疫反應(例如將天然T細胞轉化成記憶細胞)，接著投與經減少之劑量或投與頻率(亦即歸因於荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之組合效果及新抗原之免疫靶向)。在一些實施例中，治療可包含投與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物以誘導基於新抗原之免疫反應與至少一種額外療法(例如第二抗癌療法)的組合。舉例而言，在一些實施例中，治療可包含投與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物以誘導基於新抗原之免疫反應與一或多種檢查點抑制劑的組合。在一些實施例中，治療可包含投與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物以誘導基於新抗原之免疫反應與一或多種細胞介素或細胞介素類似物的組合。在一些實施例中，治療可包含投與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物以誘導基於新抗原之免疫反應與一或多種新抗原疫苗的組合。在一些其他實施例中，治療可包含投與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物以誘導基於新抗原之免疫反應與一或多種經工程改造之靶向腫瘤之T細

胞(例如CAR-T)的組合。

【0443】在一些實施例中，可使用新抗原來監測用荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物進行之治療之有效性。舉例而言，在投與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之後，可獲得患者樣品(例如腫瘤生檢)且針對新抗原或針對免疫反應或發炎反應之標識符對其進行篩檢。若偵測到新抗原及/或免疫反應，則可例如以經減少之劑量提供進一步治療。

【0444】在各種實施例中，揭示治療方法，其包含藉由投與一或多種荷伯希二烯剪接調節子及/或ADC及/或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物，例如本文所揭示之任何荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物來誘導雙股RNA免疫反應。

【0445】在各種實施例中，揭示治療方法，其包含藉由投與一或多種荷伯希二烯剪接調節子及/或ADC及/或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物，例如本文所揭示之任何荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物來誘導免疫原性細胞死亡。

【0446】在各種實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子之組合物之投與可與任何已知抗癌療法組合。可供用於腫瘤學治療之現行免疫活化策略之實例包括但不限於用免疫檢查點抑制劑(ICI)分子進行之治療、用細胞介素或細胞介素類似物進行之治療、用腫瘤相關疫苗進行之疫苗接種及經工程改造之靶向腫瘤之T細胞(例如腫瘤浸潤性淋巴球或CAR-T擴增)。此等技術主要集中於增強或誘導針對已現存之腫瘤抗原之免疫反應(細胞表面蛋白之突變或異常表現)。此等策略中之一或多種可涉及能夠誘導抗原T細胞反應之一或多個突變。舉例而言，患者對檢查點抑制之反應可能與非同義突變負荷相關。另外，可使用依賴

於預先存在之突變及此等突變之抗原性之癌症疫苗方法。

【0447】荷伯希二烯剪接調節子及/或包含該等調節子之ADC可誘導出現在多個譜系中之轉錄組的大範圍改變。此等mRNA改變之轉譯可產生穩健且可再現之蛋白質改變，該等蛋白質改變產生具有跨多個HLA同型之高親和力之MHC1結合新肽。在不受理論束縛之情況下，歸因於轉錄組及蛋白質體之大量改變，用荷伯希二烯剪接調節子及/或ADC進行之治療可增濃潛在地反應性新抗原之數目以用於經增強之適應性免疫反應之接合。

【0448】如本文所描述之術語「荷伯希二烯剪接調節子」、「剪接調節子(splicing modulator/splice modulator)」、「剪接體調節子」係指藉由與剪接體之組分相互作用而具有抗癌活性之化合物。在一些實施例中，剪接調節子更改目標細胞中之剪接速率或形式。充當抑制劑之荷伯希二烯剪接調節子例如能夠減少不受控之細胞增殖。明確而言，在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子可藉由抑制SF3b剪接體複合物而起作用。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子選自本文所揭示之荷伯希二烯剪接調節子中之任一種或多種。在一些實施例中，使用荷伯希二烯剪接調節子，遞送至細胞，且/或作為單獨藥劑投與至個體。在一些其他實施例中，使用荷伯希二烯剪接調節子，遞送至細胞，且/或作為ADC (例如選自本文所揭示之例示性ADC中之任一種之ADC)之部分投與至個體。在一些其他實施例中，使用荷伯希二烯剪接調節子，遞送至細胞，且/或作為包含荷伯希二烯剪接調節子之多個複本或攜載荷伯希二烯剪接調節子之ADC之多個複本的組合物的部分投與至個體。本文揭示該等組合物。

【0449】在一些實施例中，相比於所使用、遞送至細胞且/或作為單獨藥劑投與至個體的荷伯希二烯剪接調節子而言，所使用、遞送至細胞且

/或作為ADC (例如選自本文所揭示之例示性ADC中之任一種之ADC)之部分投與至個體的荷伯希二烯剪接調節子提供新增治療性效益。舉例而言，在一些實施例中，所使用、遞送至細胞且/或作為ADC之部分投與至個體的荷伯希二烯剪接調節子提供荷伯希二烯剪接調節子向表現目標抗原(亦即由ADC之抗體部分靶向之抗原)之贅生性細胞的靶向遞送。在一些實施例中，該荷伯希二烯剪接調節子之靶向遞送減少脫靶治療及/或脫靶細胞毒性。在一些實施例中，該靶向遞送促進於贅生性細胞上而非於不表現目標抗原之健康細胞上之腫瘤選擇性新抗原呈現。在一些實施例中，該靶向遞送引起例如至少75%、80%、85%、90%、95%或99%之於靶向贅生性細胞而非脫靶細胞中代表新抗原之新穎mRNA及MHC相關肽的交替剪接及誘導。因此，在一些實施例中，在不受理論束縛之情況下，由於在用如本文所揭示之ADC治療之後腫瘤細胞上新抗原之優先表現，故在效應T細胞激活及/或擴增(例如使用新抗原疫苗)之後，免疫系統可優先攻擊呈現新抗原之贅生性細胞而非健康細胞。

免疫誘導及治療方案：

【0450】在各種實施例中，本發明提供誘導至少一種新抗原之方法，其係藉由使贅生性細胞與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、基於荷伯希二烯剪接調節子之抗體-藥物結合物(ADC)或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物接觸來進行。在各種實施例中，本發明提供誘導雙股RNA免疫反應之方法，其係藉由使贅生性細胞與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、基於荷伯希二烯剪接調節子之抗體-藥物結合物(ADC)或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物接觸來進行。在各種實施例中，本發明提供誘導免疫原性細胞死亡之方法，其係藉由使贅生性細胞與有效

量之荷伯希二烯剪接調節子、基於荷伯希二烯剪接調節子之抗體-藥物結合物(ADC)或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物接觸來進行。

【0451】在一些實施例中，贅生性細胞存在於活體外細胞培養物中。在一些實施例中，贅生性細胞係自個體獲得。在一些實施例中，贅生性細胞存在於個體中。在一些實施例中，贅生性細胞來源於血液惡性病或實體腫瘤。在一些實施例中，血液惡性病選自B細胞惡性病、白血病、淋巴瘤及骨髓瘤。在一些實施例中，血液惡性病選自急性骨髓性白血病及多發性骨髓瘤。在一些實施例中，實體腫瘤選自乳癌(例如HER2陽性乳癌)、胃癌(例如胃腺癌)、前列腺癌、卵巢癌、肺癌(例如肺腺癌)、子宮癌(例如子宮漿液性子宮內膜癌)、唾腺管癌、黑色素瘤、大腸癌、子宮頸癌、胰臟癌、腎癌、大腸直腸癌及食道癌。在一些實施例中，實體腫瘤選自HER2陽性乳癌、胃腺癌、前列腺癌及骨肉瘤。

【0452】在各種實施例中，本發明進一步提供在患有或疑似患有贅生性病症之個體中誘導至少一種新抗原及/或T細胞反應之方法，其係藉由向個體投與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物來進行。在各種實施例中，本文亦提供治療患有或疑似患有贅生性病症之個體之方法，其係藉由向個體投與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物來進行，其中荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之投與誘導至少一種新抗原及/或T細胞反應。

【0453】在各種其他實施例中，本發明提供在患有或疑似患有贅生性病症之個體中誘導雙股RNA免疫反應之方法，其係藉由向個體投與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或

ADC之組合物來進行。在各種實施例中，本文亦提供治療患有或疑似患有贅生性病症之個體之方法，其係藉由向個體投與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物來進行，其中荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之投與誘導雙股RNA免疫反應。

【0454】在再其他實施例中，本發明提供在患有或疑似患有贅生性病症之個體中誘導免疫原性細胞死亡之方法，其係藉由向個體投與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物來進行。在各種實施例中，本文進一步提供治療患有或疑似患有贅生性病症之個體之方法，其係藉由向個體投與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物來進行，其中荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之投與誘導免疫原性細胞死亡。

【0455】在一些實施例中，本發明進一步提供治療患有或疑似患有贅生性病症之個體之方法，其係藉由向個體投與與包含第二藥劑之一或多種額外療法組合的有效量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物來進行，其中荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之投與誘導免疫原性細胞死亡。

【0456】在本文所描述之治療方法之一些實施例中，與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物、組合物或第二藥劑之標準劑量相比，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物、組合物或第二藥劑之投與量由於誘導至少一種新抗原及/或T細胞反應而減少。在一些實施例中，與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物、組合物或第二藥劑之標準劑量相

比，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物、組合物或第二藥劑之投與量減少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、75%或90%。在一些實施例中，與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物、組合物或第二藥劑之標準給藥方案相比，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物、組合物或第二藥劑係以低至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、75%或90%之頻率投與。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物、組合物或第二藥劑之投與量及/或劑量引起較低全身性毒性及/或經改善之耐藥性。

【0457】如本文所使用之術語「標準劑量」或「標準給藥方案」係指用於治療劑之任何常用或常規給藥方案，例如由製造商提出、經管理機構批准或在人類個體中以其他方式經測試以滿足平均患者需求之方案。在一些實施例中，治療劑為具有抗癌活性之荷伯希二烯剪接調節子、抗體或抗體-藥物結合物。

【0458】舉例而言，用於作為本文所揭示之例示性抗HER2抗體之曲妥珠單抗之標準給藥方案可為經90 min靜脈內投與8 mg/kg (第1週)，接著每3週(第4週至療法週期結束時)經30-90 min靜脈內投與6 mg/kg (Herceptin® (曲妥珠單抗) FDA Label Supplement, 2017)。

【0459】作為另一實例，用於作為例示性抗CTLA4檢查點抑制劑抗體之伊匹單抗之標準給藥方案可為每3週經90 min靜脈內投與3 mg/kg，持續4次劑量(Yervoy® (伊匹單抗) FDA Label Supplement, 2018)。伊匹單抗之另一標準給藥方案可為每3週經90 min靜脈內投與10 mg/kg，持續4次劑量，接著每12週10 mg/kg，持續至多3年(Yervoy® (伊匹單抗) FDA Label Supplement, 2018)。

【0460】作為另一實例，用於作為例示性抗PD1檢查點抑制劑抗體之納武單抗之標準給藥方案可為每2週經60 min靜脈內投與3 mg/kg (Opdivo® (納武單抗) FDA Label, 2015)。

【0461】作為另一個實例，用於作為例示性抗PDL1檢查點抑制劑抗體之阿特珠單抗之標準給藥方案可為每3週經60 min靜脈內投與1200 mg (Tecentriq® (阿特珠單抗) FDA Label Supplement, 2018)。

【0462】作為又另一實例，用於作為例示性抗HER2抗體-藥物結合物之T-DM1之標準給藥方案可為每3週經90 min靜脈內投與3.6 mg/kg (Kadcyla® (T-DM1) FDA Label Supplement, 2016)。

【0463】在一些實施例中，本文所描述之方法可進一步包含投與至少一種額外療法(例如檢查點抑制劑、新抗原疫苗、細胞介素或細胞介素類似物、CAR-T等)。在一些實施例中，與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物、組合物及/或至少一種額外療法之標準劑量相比，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物、組合物及/或至少一種額外療法之投與量由於誘導至少一種新抗原及/或T細胞反應而減少。在一些實施例中，與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物、組合物及/或至少一種額外療法之標準劑量相比，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物、組合物及/或至少一種額外療法之投與量由於誘導雙股RNA免疫反應而減少。在一些實施例中，與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物、組合物及/或至少一種額外療法之標準劑量相比，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物、組合物及/或至少一種額外療法之投與量由於誘導免疫原性細胞死亡而減少。在一些實施例中，與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物、組合物及/或至少一種額外療法之標準劑量相比，荷伯希二烯剪

接調節子、抗體-藥物結合物、組合物及/或至少一種額外療法之投與量減少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、75%或90%在一些實施例中，與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物、組合物及/或至少一種額外療法之標準給藥方案相比，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物、組合物及/或至少一種額外療法係以低至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、75%或90%之頻率投與。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物、組合物及/或至少一種額外療法之投與量及/或劑量引起較低全身性毒性及/或經改善之耐藥性。

【0464】在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之投與係在至少一種額外療法之投與之前開始。在其他實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之投與係在至少一種額外療法之投與之後開始。在再其他實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之投與係與至少一種額外療法之投與同時開始。

【0465】在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之投與在初始投與之後重複至少一次。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物用於重複投與之量相較於用於初始投與之量而言減少。在一些實施例中，與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之標準劑量相比，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物用於重複投與之量減少。在一些實施例中，與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之標準劑量或初始劑量相比，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物用於

重複投與之量減少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、75%或90%。

【0466】在一些實施例中，至少一種額外療法之投與在初始投與之後重複至少一次。在一些實施例中，至少一種額外療法用於重複投與之量相較於用於初始投與之量而言減少。在一些實施例中，與至少一種額外療法之標準劑量相比，至少一種額外療法用於重複投與之量減少。在一些實施例中，與至少一種額外療法之標準劑量或初始劑量相比，至少一種額外療法用於重複投與之量減少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、75%或90%。

【0467】在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之重複投與係與至少一種額外療法之重複投與同時進行。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之投與係與至少一種額外療法之重複投與依序或錯開進行。

【0468】在一些實施例中，至少一種額外療法包含投與檢查點抑制劑，例如本文所揭示之任何檢查點抑制劑。在一些實施例中，個體對單獨投與時之檢查點抑制劑不耐受、無反應或反應不良。在一些實施例中，檢查點抑制劑靶向PD1/PDL1、CTLA4、OX40、CD40、LAG3、TIM3、GITR及/或KIR。在一些實施例中，檢查點抑制劑靶向CTLA4、OX40、CD40及/或GITR。在一些實施例中，檢查點抑制劑為對其目標具有抑制性或促效活性之抗體。在一些實施例中，檢查點抑制劑與抑制性抗體或其他類似抑制性分子一起靶向。在其他實施例中，檢查點抑制劑與促效抗體或其他類似促效分子一起靶向。

【0469】在一些其他實施例中，至少一種額外療法包含投與新抗原

疫苗，例如本文所揭示之任何新抗原疫苗。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物係在投與新抗原疫苗之前投與。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物係在投與新抗原疫苗之後投與。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物係與新抗原疫苗投與同時投與。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之投與在初始投與之後重複至少一次。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物用於重複投與之量相較於用於初始投與之量而言減少。

【0470】在一些實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原肽。在一些實施例中，至少一種新抗原肽之長度介於約10個至約50個胺基酸範圍內。在一些實施例中，至少一種新抗原肽之長度介於約10個至約35個胺基酸範圍內。在一些實施例中，至少一種新抗原肽之長度介於約15個至約25個胺基酸範圍內。在一些實施例中，至少一種新抗原肽包含一個或超過一個新抗原序列。

【0471】在一些實施例中，新抗原序列及/或抗原部分之長度介於約10個至約50個胺基酸範圍內。在一些實施例中，至少一種新抗原肽之長度介於約10個至約35個胺基酸範圍內。在一些實施例中，新抗原序列及/或抗原部分之長度介於約15個至約25個胺基酸範圍內。在一些實施例中，新抗原序列及/或抗原部分之長度介於約10個至約20個胺基酸範圍內。在一些實施例中，新抗原序列及/或抗原部分不排他性地覆蓋典型肽序列或由典型肽序列組成(例如表8中加下劃線之例示性典型肽序列中之任一者)。

【0472】如本文所使用之術語新抗原序列之「抗原部分」或「抗原

片段」係指保持誘導T細胞反應(例如效應T細胞群之抗原特異性擴增及/或成熟)之能力的新抗原序列之一或多個片段。在一些實施例中，抗原部分亦可保持由抗原呈現細胞(例如樹突狀細胞)內化、加工及/或呈現之能力。在一些實施例中，抗原部分亦保持T細胞激活功能。在一些實施例中，新抗原序列之抗原部分之長度介於約10個至約50個胺基酸範圍內。在一些實施例中，新抗原序列之抗原部分之長度介於約10個至約35個胺基酸範圍內。在一些實施例中，新抗原序列之抗原部分之長度介於約15個至約25個胺基酸範圍內。在一些實施例中，新抗原序列之抗原部分之長度介於約10個至約20個胺基酸範圍內。在一些實施例中，新抗原序列之抗原部分(例如SEQ ID NO: 66-93中之任一者之抗原部分)或其編碼mRNA調配為新抗原疫苗。

【0473】抗原部分之例示性實施例為側接SEQ ID NO: 66之胺基酸45-53之區域。抗原部分之另一例示性實施例為側接SEQ ID NO: 66之胺基酸82-90之區域。在一些實施例中，抗原部分能夠結合至於個體中表現之至少一個HLA對偶基因(例如HLA-A*02:01)。在一些其他實施例中，抗原部分能夠結合至於罹患贅生性病症之個體群體中至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%或至少45%之個體中表現之至少一個HLA對偶基因。在一些實施例中，抗原部分能夠引發針對於罹患贅生性病症之個體群體之至少1%、至少5%或至少10%中存在之腫瘤的T細胞反應。

【0474】在一些實施例中，抗原部分不排他性地覆蓋典型肽序列或由典型肽序列組成。如本文所使用之術語「典型肽序列」係指在與荷伯希二烯剪接調節子之接觸不存在之情況下(例如在與單獨且/或作為ADC或組

合物之部分之荷伯希二烯剪接調節子之接觸不存在之情況下)於人類蛋白質體中存在且/或免疫先前已向其暴露之任何鄰接肽序列。在一些實施例中，典型肽序列來源於典型轉錄本開放閱讀框及/或由典型轉錄本開放閱讀框編碼。例示性典型肽序列在表8中加下劃線。

【0475】在一些實施例中，當投與荷伯希二烯剪接調節子(例如單獨且/或作為ADC或組合物之部分)時，典型肽序列可來源於由荷伯希二烯剪接調節子誘導之異常剪接事件之前的即時5'框內24個核苷酸及/或由其編碼。因此，在一些實施例中，典型肽序列包含以下或由以下組成：緊靠著N端至由荷伯希二烯剪接調節子誘導之新抗原序列的8個胺基酸。在一些實施例中，當5'外顯子序列以密碼子之末端核苷酸終止時，典型肽序列終止於外顯子末端。在一些其他實施例中，當5'外顯子序列以密碼子之三個核苷酸中之一個或兩個終止時，典型肽序列來源於不完整密碼子之前之24個核苷酸及/或由其編碼。在一些實施例中，異常剪接事件之mRNA序列3'可在來源於5'外顯子之相同開放閱讀框中轉譯直至到達終止密碼子為止，因此可終止轉譯。在一些實施例中，當異常剪接事件(例如外顯子跳躍)引起典型轉錄本開放閱讀框之保守時，可轉譯C端序列以用於額外之編碼8個C端胺基酸之24個核苷酸。在此情形下，在一些實施例中，僅跨異常外顯子接合點之區域可編碼新抗原序列。在一些實施例中，當開放閱讀框移位(例如內含子滯留)時，完整C端序列(由3' mRNA編碼)可編碼新抗原序列。

【0476】在一些實施例中，新抗原序列之抗原部分係藉由以下來選擇：比較新抗原序列與典型肽序列；及選擇不排他性地覆蓋典型肽序列、由典型肽序列組成及/或與典型肽序列比對的新抗原序列之一部分。在一

些實施例中，可以與全長新抗原序列(例如衍生抗原部分之新抗原序列)相同之方式篩檢新抗原序列之抗原部分的抗原性及/或T細胞激活功能。在一些實施例中，使用諸如本文所描述之例示性T細胞激活實驗之T細胞激活分析評估新抗原序列之抗原部分的抗原性及/或T細胞激活功能。

【0477】在一些實施例中，新抗原序列為對個體具有特異性之新抗原序列。在一些實施例中，新抗原序列為用於個體之個人化新抗原疫苗。在一些實施例中，用於產生用於個體之個人化新抗原疫苗之新抗原序列能夠結合至於個體中表現之至少一個HLA對偶基因。在一些實施例中，藉由例如在投與荷伯希二烯剪接調節子或ADC之後識別於個體腫瘤中表現之新抗原且選擇包含於患者腫瘤中觀測到之新抗原序列的疫苗來選擇個人化新抗原疫苗。

【0478】術語「個人化」在用於描述新抗原疫苗時係指藉由識別於患者中產生之一或多種新抗原，較佳地在暴露於荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之後於患者中識別之新抗原，且隨後使用彼等新抗原中之一或多者作為用於相同患者之疫苗之基體產生的疫苗。因此，在一些實施例中，給與患者荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物且篩檢由治療產生之新抗原。在一些實施例中，所選新抗原疫苗包含本文所揭示且確認為在暴露於荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之後存在於患者中之新抗原肽或mRNA。在一些實施例中，可向患者投與一次或重複投與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物及/或肽或mRNA疫苗。隨後，在一些實施例中，使用彼等新抗原中之一或多者來產生給與至患者之個人化疫苗。在一些實施例中，用於產生個人化疫苗之一或多種新抗原具有針對一或多種患者特異性HLA對偶基因之結合親和力。在一些實施例中，患者表現結

合至一或多種新抗原之一或多個MHC1對偶基因。可使用此項技術中已知之任何計算預測方法來確定給定新抗原是否將結合至特異性MHC1對偶基因之預測。例示性計算預測方法揭示於例如Meydan等人(2013) BMC Bioinformatics 14(增刊2):S13中，對於該等方法該文獻以引用之方式併入本文中。

【0479】在一些其他實施例中，新抗原序列為通用新抗原序列。在一些實施例中，新抗原序列為通用新抗原疫苗。

【0480】術語「通用」在用於描述新抗原疫苗時係指具有基於常見或已知新抗原之肽或mRNA序列之疫苗，該/該等新抗原係藉由較佳地在暴露於荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之後對於多個患者及/或患者組織樣品中產生之新抗原進行定序而觀測到。疫苗中所使用之肽或mRNA序列不需要存在於每個患者中，但在至少數個患者或患者組織樣品中觀測到。在一些實施例中，可向患者投與一次或重複投與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物及/或肽或mRNA疫苗。隨後，在一些實施例中，彼肽或mRNA序列用於疫苗接種另外患者。在一些實施例中，給與患者荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物，且隨後給與具有已知新抗原之肽或mRNA疫苗以增強針對由荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物產生之新抗原的免疫反應。在一些實施例中，給與患者一次或重複給與通用肽或mRNA疫苗，且隨後給與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物。在一些實施例中，用於產生通用新抗原疫苗之一或多個新抗原序列係基於給定患者群體中之總體MHC1對偶基因頻率來選擇(Maiers等人(2007) Hum. Immunol. 68(9):779-88)。

【0481】在一些實施例中，新抗原(例如通用新抗原)序列能夠與於

罹患贅生性病症之個體群體中之至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%或至少45%個體中表現之至少一個HLA對偶基因結合。在一些實施例中，新抗原序列能夠引發針對於罹患贅生性病症之個體群體之至少1%、至少5%或至少10%中存在之腫瘤的T細胞反應。

【0482】在一些實施例中，已藉由對藉由投與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物而於個體中誘導之至少一種新抗原肽或其編碼mRNA進行定序來識別新抗原序列。在一些實施例中，至少一種新抗原肽包含藉由使贅生性細胞與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物接觸而誘導之新抗原序列。在一些實施例中，贅生性細胞存在於活體外細胞培養物中。在一些實施例中，贅生性細胞係自個體獲得。在一些實施例中，贅生性細胞存在於個體中。

【0483】在一些實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原肽及醫藥學上可接受之載劑(例如本文所描述之例示性載劑中之任一種)。在一些實施例中，至少一種新抗原肽與醫藥學上可接受之載劑連接。在一些實施例中，醫藥學上可接受之載劑選自肽、血清白蛋白、匙孔螺血氰蛋白、免疫球蛋白、甲狀腺球蛋白、卵白蛋白、類毒素或減毒類毒素衍生物、細胞介素及趨化因子。在一些實施例中，新抗原肽及醫藥學上可接受之載劑係經由連接子共價連接。在一些實施例中，新抗原肽及醫藥學上可接受之載劑係以融合蛋白形式表現。在一些實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原肽及醫藥學上可接受之稀釋劑。在一些實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原肽及醫藥學上可接受之佐劑。

【0484】在一些實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原

mRNA。在一些實施例中，至少一種新抗原mRNA編碼一個或超過一個新抗原序列。

【0485】在一些實施例中，新抗原序列為對個體具有特異性之新抗原序列。在一些實施例中，新抗原序列為用於個體之個人化新抗原疫苗。在一些實施例中，新抗原序列能夠結合至於個體中表現之至少一個HLA對偶基因。

【0486】在一些其他實施例中，新抗原序列為通用新抗原序列。在一些實施例中，新抗原序列為通用新抗原疫苗。在一些實施例中，新抗原序列能夠與於罹患贅生性病症之個體群體中之至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%或至少45%個體中表現之至少一個HLA對偶基因結合。在一些實施例中，新抗原序列能夠引發針對於罹患贅生性病症之個體群體之至少1%、至少5%或至少10%中存在之腫瘤的T細胞反應。

【0487】在一些實施例中，已藉由對至少一種新抗原之蛋白質序列進行定序來識別新抗原序列。在一些實施例中，已藉由對編碼藉由投與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物而於個體中誘導之新抗原之至少一種mRNA進行定序來識別新抗原序列。在一些實施例中，至少一種新抗原mRNA編碼藉由使贅生性細胞與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物接觸而誘導之新抗原序列。在一些實施例中，贅生性細胞存在於活體外細胞培養物中。在一些實施例中，贅生性細胞係自個體獲得。在一些實施例中，贅生性細胞存在於個體中。

【0488】在一些實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原mRNA及醫藥學上可接受之載劑(例如本文所描述之例示性載劑中之任一種)。在

一些實施例中，至少一種新抗原mRNA與醫藥學上可接受之載劑連接。在一些實施例中，醫藥學上可接受之載劑選自肽、血清白蛋白、匙孔螺血氰蛋白、免疫球蛋白、甲狀腺球蛋白、卵白蛋白、類毒素或減毒類毒素衍生物、細胞介素及趨化因子。在一些實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原mRNA及醫藥學上可接受之稀釋劑。在一些實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原mRNA及醫藥學上可接受之佐劑。在一些實施例中，新抗原mRNA係藉由囊封劑囊封。在一些實施例中，囊封劑為脂質體。在一些實施例中，囊封劑為奈米粒子。

【0489】在一些實施例中，至少一種額外療法包含投與細胞介素或細胞介素類似物，例如本文所揭示之任何細胞介素或細胞介素類似物。在一些實施例中，個體對單獨投與時之細胞介素或細胞介素類似物不耐受、無反應或反應不良。在一些實施例中，細胞介素或細胞介素類似物包含T細胞強化子。在一些實施例中，細胞介素或細胞介素類似物包含IL-2、IL-10、IL-12、IL-15、IFNγ及/或TNFα。在一些實施例中，細胞介素或細胞介素類似物包含IL-2、IL-10、IL-12及/或IL-15。在一些實施例中，在投與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物後，投與細胞介素或細胞介素類似物由於新抗原誘導及呈現而增強T細胞激活。

【0490】在一些實施例中，至少一種額外療法包含投與經工程改造之靶向腫瘤之T細胞(亦即CAR-T)，例如本文所揭示之任何CAR-T療法。

【0491】在一些實施例中，本文所描述之方法可進一步包含在投與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之後，偵測個體中之一或多種新抗原及/或T細胞反應，且若偵測到一或多種新抗原及/或T細胞反應，則視情況繼續投與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組

合物。在一些實施例中，偵測個體中之一或多種新抗原及/或T細胞反應指示用荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物進行之治療的功效。在一些實施例中，若偵測到一或多種新抗原及/或T細胞反應，則繼續用額外療法連同荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物一起進行之治療。在一些實施例中，若偵測到一或多種新抗原及/或T細胞反應，則以經減少之劑量及/或經降低之頻率繼續治療。

【0492】在一些實施例中，本文所描述之方法可進一步包含在投與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之後，偵測個體中之雙股RNA免疫反應，且若偵測到雙股RNA免疫反應，則視情況繼續投與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物。在一些實施例中，偵測個體中之雙股RNA免疫反應指示用荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物進行之治療的功效。在一些實施例中，若偵測到雙股RNA免疫反應，則繼續用額外療法連同荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物一起進行之治療。在一些實施例中，若偵測到雙股RNA免疫反應，則以經減少之劑量及/或經降低之頻率繼續治療。

【0493】在一些實施例中，本文所描述之方法可進一步包含在投與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之後，偵測個體中之免疫原性細胞死亡，且若偵測到免疫原性細胞死亡，則視情況繼續投與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物。在一些實施例中，偵測個體中之免疫原性細胞死亡指示用荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物進行之治療的功效。在一些實施例中，若偵測到免疫原性細胞死亡，則繼續用額外療法連同荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物一起進行之治療。在一些實施例中，若偵測到免疫原性細胞

死亡，則以經減少之劑量及/或經降低之頻率繼續治療。

【0494】在一些實施例中，個體具有約150個突變或更少之非同義突變負荷。在一些實施例中，個體具有約100個突變或更少之非同義突變負荷。在一些實施例中，個體具有約50個突變或更少之非同義突變負荷。在一些實施例中，個體患有或疑似患有例如血液惡性病或實體腫瘤之贅生性病症。在一些實施例中，血液惡性病選自B細胞惡性病、白血病、淋巴瘤及骨髓瘤。在一些實施例中，血液惡性病選自急性骨髓性白血病及多發性骨髓瘤。在一些實施例中，實體腫瘤選自乳癌、胃癌、前列腺癌、卵巢癌、肺癌、子宮癌、唾腺管癌、黑色素瘤、大腸癌、子宮頸癌、胰臟癌、腎癌、大腸直腸癌及食道癌。在一些實施例中，實體腫瘤選自HER2陽性乳癌、胃腺癌、前列腺癌及骨肉瘤。

【0495】在各種實施例中，本發明進一步提供治療患有或疑似患有贅生性病症之個體之方法，其包含：(a)向個體投與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物，其中投與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物誘導至少一種新抗原及/或T細胞反應；(b)在投與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之後，偵測個體中之一或多種新抗原及/或T細胞反應；及(c)若偵測到一或多種新抗原及/或T細胞反應，則繼續投與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物。在一些實施例中，偵測個體中之一或多種新抗原及/或T細胞反應指示用荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物進行之治療的功效。在一些實施例中，一或多種新抗原包含SEQ ID NO: 37-65中之任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，一或多種新抗原包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列。在一些實施例中，一或多種

新抗原包含SEQ ID NO: 39之胺基酸序列。在一些實施例中，一或多種新抗原包含SEQ ID NO: 46-49中之任一者之胺基酸序列。

荷伯希二烯剪接調節子/ADC與免疫檢查點抑制之組合：

【0496】在各種實施例中，可用荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物與檢查點抑制劑療法之組合治療患有如本文所描述之癌症之患者。免疫檢查點為減緩或終止免疫反應且防止免受免疫細胞之不受控活動之過度組織損傷的抑制性路徑。如本文所使用之術語「檢查點抑制劑」意圖指抑制抑制性路徑中之一或多個，由此允許更廣泛之免疫活性之任何治療劑，其包括任何小分子化合物、抗體、核酸分子或多肽或其任何片段。

【0497】已顯示用免疫檢查點抑制治療患者在某些臨床適應症中具有穩健功效。最近，FDA批准在具有展現高微衛星不穩定性、對組織譜系之不可知性之腫瘤之患者中使用檢查點抑制劑。此批准部分地基於反應率與突變負荷正相關之觀測結果(Rizvi等人(2015) Science 348(6230):124-8；Hellmann等人(2018) Cancer Cell 33(5):853-861)。來自文獻之估計值在絕對數值及譜系上有所不同，但一般支持超過~150-250個突變之臨限值，反應機率升高。對TCGA資料之分析顯示，大百分比之成年發病型腫瘤譜系具有相對低之非同義突變負荷(Vogelstein等人(2013) Science 339:1549-58)。大多數譜系之中位非同義突變率為每位患者~30-80個，遠低於經改善之檢查點抑制劑之反應機率的臨限值。

【0498】舉例而言，已顯示HER2陽性乳癌具有每個患者樣品~60個非同義突變的中值。然而，如上文所提及，檢查點抑制劑治療功效之臨限值經估計介於~150-250個非同義突變範圍內，亦即高於此臨限值之患者更可能顯示完全緩解、部分緩解及/或穩定疾病，然而低於此臨限值之患

者更可能展現進行性疾病。因此，需要增強明顯數目之非同義突變及/或呈現於腫瘤細胞上之新抗原且可增強例如對檢查點抑制劑療法之總體反應機率的策略。由於細胞介素(及其類似物)經由類似作用機制起作用，故該等策略亦可增強對基於細胞介素之療法的總體反應機率。

【0499】現行HER2陽性乳癌中之反應率為～15%-25% (CTI NCT02129556)。在本文所揭示之各種實施例中，用荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物進行之治療與檢查點抑制劑及/或細胞介素療法的組合可改善該等反應率。在各種實施例中，用荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物進行之治療與檢查點抑制劑及/或細胞介素療法的組合可施用至任何成年發病型腫瘤，特定言之其中中值非同義突變速率低於經估計之~150個突變臨限值的成年發病型腫瘤。在各種實施例中，適用於單獨或與額外療法(例如檢查點抑制劑療法、細胞介素療法)組合之用本發明之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物進行之治療的例示性癌症類型包括但不限於食道癌、非霍奇金氏淋巴瘤、大腸直腸癌、頭頸癌、胃癌、子宮內膜癌、胰臟腺癌、卵巢癌、前列腺癌、肝細胞癌、神經膠母細胞瘤、乳癌(例如HER2陽性乳癌)、肺癌(例如非小細胞肺癌)、慢性淋巴球性白血病及急性骨髓性白血病。其他例示性合適癌症類型在例如Vogelstein等人(2013) Science 339:1549-58中識別出，該文獻以全文引用之方式併入本文中。

【0500】由於許多檢查點抑制劑療法係基於腫瘤相關抗原之長期表現，故需要定期治療加強以獲得功效及「再加強」反應性T細胞群。本文所描述之荷伯希二烯剪接調節子或ADC源性新抗原之可誘導性質提供可設計成增強新抗原反應性T細胞之免疫反應、同時限制通常由長期抗原刺

激導致之T細胞耗竭的治療性給藥方案。舉例而言，在一些實施例中，將初始劑量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物投與至個體以觸發異常剪接及新抗原肽之產生。在一些實施例中，在允許蛋白質產生及抗原呈現之一段時間之後，隨後投與個體初始劑量之檢查點抑制劑以加強及/或增強效應T細胞激活及擴增。在一些實施例中，一定劑量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物與檢查點抑制劑之間之等待期為約2天、約3天、約4天、約5天、約6天或約7天。在一些實施例中，等待期介於約3天與約5天之間。在一些實施例中，檢查點抑制劑靶向CTLA4、OX40、CD40及/或GITR。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物與檢查點抑制劑之組合治療效益可為累加的或超累加的。

【0501】在一些實施例中，在允許T細胞激活及擴增之一定時段之後，隨後投與個體第二或後續劑量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物以觸發新抗原肽之再呈現。在一些實施例中，初始劑量之檢查點抑制劑與第二或後續劑量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之間之等待期為約2週、約3週、約4週或約5週。在一些實施例中，等待期為約3週。在一些實施例中，在第二或後續劑量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之後，免疫系統可與呈現新抗原之腫瘤細胞接合且/或引發腫瘤細胞殺滅。在一些實施例中，隨後投與個體第二或後續劑量之檢查點抑制劑以在允許二次T細胞激活及擴增之後進一步擴增記憶效應T細胞群。

【0502】在一些實施例中，在此例示性初始治療方案之後之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之給藥可為脈衝式給藥，亦即可以經延長之間隔(例如約每4週、約每5週、約每6週)給藥荷伯希二烯剪接調節

子、ADC或組合物以允許抗原呈現、T細胞接合及/或腫瘤細胞殺滅及/或記憶T細胞群恢復。在一些實施例中，在稍後時間點，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物治療可與經靶向之一或多種檢查點抑制劑組合以恢復經耗竭之T細胞群之效應功能。在一些實施例中，舉例而言，在稍後時間點，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物治療可與靶向PD1/PDL1、LAG3及/或TIM3之一或多種檢查點抑制劑組合。在一些實施例中，新抗原呈現及激活之脈衝式性質可允許檢查點抑制劑及/或荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物以較低頻率及/或以較低劑量投與。在一些實施例中，與不與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物治療同時投與時之檢查點抑制劑相比，新抗原呈現之脈衝式性質可提供檢查點抑制劑(例如抗CTLA4抗體，諸如伊匹單抗)之一或多種治療效益，例如藉由降低通常在檢查點抑制劑標準給藥方案之情況下觀測到之不良反應的潛在風險來提供。

【0503】在某些實施例中，檢查點抑制劑為細胞毒性T淋巴球相關抗原(CTLA4)路徑之抑制劑。亦稱為CD152之CTLA4為下調免疫反應之蛋白質受體。CTLA4在調節性T細胞中組成性表現，但在活化後僅在習知T細胞中上調。如本文所使用之術語「CTLA4抑制劑」意圖指CTLA4及/或CTLA4路徑之任何抑制劑。例示性CTLA4抑制劑包括但不限於抗CTLA4抗體。用於人類之CTLA4阻斷抗體係基於在小鼠抗腫瘤免疫模型中所見之臨床前活性而研發出。例示性抗CTLA4抗體包括但不限於伊匹單抗(MDX-010)及替西木單抗(tremelimumab) (CP-675,206)，兩者均為完全人類的。伊匹單抗為血漿半衰期為約12-14天之IgG1；替西木單抗為血漿半衰期為約22天之IgG2。參見例如Phan等人(2003) Proc Natl Acad Sci

USA. 100:8372-7；Ribas等人(2005) J Clin Oncol. 23:8968-77；Weber等人(2008) J Clin Oncol. 26:5950-6。在一些實施例中，抗CTLA4抗體為伊匹單抗。

【0504】在某些實施例中，檢查點抑制劑為計劃性死亡-1 (PD1)路徑之抑制劑。計劃性細胞死亡1 (PD1)路徑代表可藉由腫瘤細胞接合以克服活性T細胞免疫監視之主要免疫控制開關。PD1之配位體(PDL1及PDL2)經組成性表現或可在各種腫瘤中經誘導。已發現腫瘤細胞上PDL1之高表現(且達至PDL2之較低程度)與各種其他實體腫瘤類型中之不良預後及存活期相關。此外，已表明PD1調節患有惡性黑色素瘤之患者中之腫瘤特異性T細胞擴增。此等觀測結果表明，PD1/PDL1路徑在腫瘤免疫逃避中發揮關鍵作用，且可視為治療性干預之引人注目之目標。如本文所使用之術語「PD1抑制劑」意圖指PD1及/或PD1路徑之任何抑制劑。例示性PD1抑制劑包括但不限於抗PD1抗體及抗PDL1抗體。在某些實施例中，檢查點抑制劑為抗PD1抗體。例示性抗PD1抗體包括但不限於納武單抗及派姆單抗(pembrolizumab) (MK-3475)。舉例而言，納武單抗為完全人類免疫球蛋白G4 (IgG4) PD1免疫檢查點抑制劑抗體，其干擾PD1受體與其配位體PDL1及PDL2之相互作用，由此抑制細胞免疫反應(Guo等人(2017) J Cancer 8(3):410-6)。在一些實施例中，抗PD1抗體為納武單抗。舉例而言，派姆單抗為IgG4/κ同型之強效且高度選擇性人類化mAb，其設計成直接地阻斷PD1與其配位體PDL1及PDL2之間之相互作用。派姆單抗強烈地增強來自健康人類供體、癌症患者及靈長類動物之經培養血細胞中之T淋巴球免疫反應。亦報導派姆單抗調節介白素-2 (IL-2)、腫瘤壞死因子α (TNFα)、干擾素γ (IFNγ)及其他細胞介素之含量。例示性抗PDL1抗體包

括但不限於阿特珠單抗、阿維魯單抗(avelumab)及德瓦魯單抗(durvalumab)。舉例而言，阿特珠單抗為IgG1人類化mAb，據報導其藉由靶向多種惡性細胞上之經表現PDL1來阻斷PD1/PDL1相互作用。此PD1/PDL1路徑阻斷可刺激針對腫瘤之免疫防禦機制(Abdin等人(2018) Cancers (Basel) 10(2):32)。在一些實施例中，抗PDL1抗體為阿特珠單抗。

【0505】在某些實施例中，檢查點抑制劑靶向PD1/PDL1、CTLA4、OX40、CD40、LAG3、TIM3、GITR及/或KIR。在某些實施例中，檢查點抑制劑靶向CTLA4、OX40、CD40及/或GITR。在某些實施例中，檢查點抑制劑與抑制性抗體或其他類似抑制性分子(例如抑制性抗CTLA4抗體或抗PD1/PDL1抗體)一起靶向。在某些其他實施例中，檢查點抑制劑與目標之促效劑一起靶向；此類別之實例包括刺激性目標OX40、CD40及/或GITR。在一些實施例中，靶向OX40、CD40及/或GITR之檢查點抑制劑為促效抗體。針對OX40之促效抗體可具有雙重作用，亦即抑制調節性T細胞遏制，同時增強效應T細胞功能。亦已顯示促效抗GITR抗體使效應T細胞對由調節性T細胞誘導之抑制更具抗性(Karaki等人(2016) Vaccines (Basel) 4(4):37)。同樣，促效CD40抗體展現T細胞依賴性抗腫瘤活性。樹突狀細胞上CD40之活化增加腫瘤抗原之交叉呈現，且因此增加經活化之腫瘤定向效應T細胞之數目(Ellmark等人(2015) Oncoimmunol. 4(7):e1011484)。

【0506】在某些實施例中，檢查點抑制劑靶向CTLA4 (例如抗CTLA4抗體)。在某些實施例中，靶向CTLA4促進天然T細胞之激活及活化。在某些實施例中，檢查點抑制劑靶向OX40 (例如抗OX40抗體)。在

某些實施例中，靶向OX40增強效應T細胞之擴增。在某些實施例中，檢查點抑制劑靶向CD40 (例如抗CD40抗體)。在某些實施例中，靶向CD40抑制T細胞之「耐受原性(tolerogenic)」激活及/或調節性T細胞之形成。在某些實施例中，檢查點抑制劑靶向GITR (例如抗GITR抗體)。在某些實施例中，靶向GITR抑制調節性T細胞之活性。在某些實施例中，具有**荷伯希二烯**剪接調節子、ADC或組合物及CTLA4靶向劑、OX40靶向劑、CD40靶向劑及/或GITR靶向劑之組合療法之效益(例如對疾病發展之至少一種症狀或風險/速率之效果)為累加的。在一些實施例中，具有荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物及CTLA4靶向劑、OX40靶向劑、CD40靶向劑及/或GITR靶向劑之組合療法之效益為超累加的(亦即協同性的)。

【0507】檢查點抑制劑治療策略係基於以下假設：治療促進且/或增強針對弱或不良抗原性腫瘤(例如CTLA4)之T細胞反應之激活，或治療恢復及/或再激活對腫瘤抗原起反應，但由於抗原呈現(例如PD1、PDL1)之長期性質而已變得「耗竭」的T細胞(Chen及Mellman (2013) Immunity 39(1):1-10)。例如抗PD1抗體、抗PDL1抗體或抗CTLA4抗體之合適檢查點抑制療法及藥劑之實例為此項技術中已知的。參見例如WO 2001/014424、WO 2013/173223、WO 2016/007235。

【0508】組合檢查點抑制劑療法之後之此等經激活之T細胞反應與於可與經激活之免疫系統反應之腫瘤細胞中誘導新抗原之治療可提供有益協同作用。當尚未呈現荷伯希二烯剪接調節子或ADC源性新抗原以進行T細胞激活時，具有CTLA4抑制劑之組合可為特別有益的。在一些實施例中，治療包含投與一或多種荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物以誘導新抗原之產生，此前、同時或此後為用以刺激CD8 T細胞激活之CTLA4

抑制劑之初始投與。在一些實施例中，向患者提供CTLA4抑制劑之額外投與，例如以進一步刺激新抗原反應性CD8群體之激活及/或活化。在一些實施例中，可向患者給與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之額外投與以增加藉由腫瘤進行之新抗原呈現。荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物及檢查點抑制劑療法之重複投與可同時或以錯開間隔出現。在一些實施例中，治療進一步包含投與PD1/PDL1抑制劑共治療，例如以恢復腫瘤微環境內之經耗竭之靶向新抗原之T細胞的效應功能。

【0509】如本文所使用之術語「組合」或「組合療法」係指作為治療方案之部分之一或多種荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物以及額外藥劑或療法(例如檢查點抑制劑、細胞介素或細胞介素類似物、新抗原疫苗、CAR-T)的投與意欲提供所投與藥劑中之一或多者的共作用的有益(亦即累加或協同性)效果。在一些實施例中，組合亦可包括有包括但不限於化學治療劑、抗血管生成劑及減少免疫遏制之藥劑(例如第二檢查點抑制劑)之一或多種額外藥劑。組合之有益效果包括但不限於由治療劑組合產生之藥物動力學或藥效動力學共作用。此等治療劑組合之投與通常經限定時間段(視所選組合而定，例如數分鐘、數小時、數天或數週)進行。

【0510】如本文所使用之「組合」投與或「共投與」意謂在個體罹患醫學病況(例如贅生性病症)期間將兩種或更多種不同治療遞送至個體。舉例而言，在一些實施例中，在個體已診斷患有疾病或病症之後及在疾病或病症已治癒或消除之前或當個體識別為處於風險下、但在個體已出現疾病症狀之前，遞送兩種或更多種治療。在一些實施例中，一種治療之遞送在第二治療之遞送開始之時仍存在，以使得存在重疊。在一些實施例中，第一治療及第二治療同時開始。此等類型之遞送在本文中有時稱為「同時

(simultaneous/concurrent)」或「伴隨」遞送。在其他實施例中，一種治療之遞送係在第二治療之遞送開始之前結束。此類型之遞送在本文中有時稱為「連續」或「依序」遞送。

【0511】在一些實施例中，兩種治療(例如荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物及檢查點抑制劑)均包含於同一組合物中。該等組合物可以任何適當形式且藉由任何合適途徑投與。在其他實施例中，兩種治療(例如荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物及檢查點抑制劑)均在單獨組合物中以任何適當形式且藉由任何合適途徑投與。舉例而言，在一些實施例中，包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物及包含檢查點抑制劑之組合物可同時或依序、在不同時間點按任何次序投與；在任一情況下，其投與時間應充分地接近以便提供所需治療性效果或預防性效果。

【0512】在同時或依序遞送之實施例中，治療可由於組合投與而更有效。在一些實施例中，第一治療更有效，例如與在第二治療不存在之情況下投與第一治療所見效果相比，在第一治療較少(例如具有較低劑量)之情況下見到等效效果。在一些實施例中，第一治療更有效以使得症狀減少或與疾病或病症相關之其他參數大於在第二治療不存在之情況下遞送第一治療情況下所觀測到之情況。在其他實施例中，在第二治療之情況下觀測到類似情形。在一些實施例中，組合療法之效益(例如對至少一種症狀或疾病發展之風險/速率之效果)為累加的。在一些實施例中，組合療法之效益為超累加的。

【0513】在各種實施例中，本發明提供治療患有或疑似患有贅生性病症之個體之方法，其係藉由向個體投與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物及至少一種額外

療法(例如檢查點抑制劑療法、細胞介素或細胞介素類似物、新抗原疫苗、CAR-T)來進行。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之投與誘導至少一種新抗原及/或T細胞反應。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之投與誘導雙股RNA免疫反應。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之投與誘導免疫原性細胞死亡。在一些實施例中，至少一種額外療法可包含至少一種、至少兩種、至少三種、至少四種或至少五種額外療法。舉例而言，在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物可與兩種檢查點療法(亦即使用兩種不同檢查點抑制劑)組合投與。在一些其他實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物可與檢查點抑制劑療法及新抗原疫苗組合投與。

【0514】在組合療法之一些實施例中，與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物及/或至少一種額外療法之標準劑量相比，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物及/或至少一種額外療法之投與量減少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、75%或90%　在一些實施例中，與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物及/或至少一種額外療法之標準給藥方案相比，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物及/或至少一種額外療法係以低至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、75%或90%之頻率投與。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物及/或至少一種額外療法之投與量及/或劑量引起較低全身性毒性及/或經改善之耐藥性。

【0515】在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合

物或組合物之投與係在至少一種額外療法之投與之前開始。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之投與係在至少一種額外療法之投與之後開始。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之投與係與至少一種額外療法之投與同時開始。

【0516】在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之投與在初始投與之後重複至少一次。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物用於重複投與之量相較於用於初始投與之量而言減少。在一些實施例中，與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之標準劑量相比，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物用於重複投與之量減少。在一些實施例中，與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之標準劑量相比，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物用於重複投與之量減少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、75%或90%。

【0517】在一些實施例中，至少一種額外療法之投與在初始投與之後重複至少一次。在一些實施例中，至少一種額外療法用於重複投與之量相較於用於初始投與之量而言減少。在一些實施例中，與至少一種額外療法之標準劑量相比，至少一種額外療法用於重複投與之量減少。在一些實施例中，與至少一種額外療法之標準劑量相比，至少一種額外療法用於重複投與之量減少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、75%或90%。

【0518】在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合

物或組合物之重複投與係與至少一種額外療法之重複投與同時進行。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物之重複投與係與至少一種額外療法之重複投與依序或錯開進行。

【0519】在各種實施例中，本發明提供治療患有或疑似患有贅生性病症之個體之方法，其係藉由向個體投與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物及檢查點抑制劑療法來進行。在一些實施例中，檢查點抑制劑療法包含投與至少一種檢查點抑制劑。在一些實施例中，個體對單獨投與時之至少一種檢查點抑制劑不耐受、無反應或反應不良。在一些實施例中，如使用例如免疫相關反應準則(irRC)及/或實體腫瘤中之免疫相關反應評估準則(irRECIST)所確定，個體可視為對至少一種檢查點抑制劑無反應或反應不良。參見例如Wolchok等人(2009) Clin Cancer Res. 15(23):7412-20；Bohnsack等人「Adaptation of the Immune-Related Response Criteria:irRECIST」(摘要4958) ESMO 2014。例示性準則可包括此項技術中用於界定當所評估之治療為免疫-腫瘤學藥物(例如檢查點抑制劑)時在治療期間癌症患者中之腫瘤何時改善(「反應」)、保持相同(「穩定」)或惡化(「發展」)的準則。在一些實施例中，若個體呈現針對各別檢查點抑制劑(例如伊匹單抗)所識別之一椿或超過一椿不良(2+級)事件，則個體可視為對至少一種檢查點抑制劑不耐受。在一些實施例中，舉例而言，若個體呈現選自小腸結腸炎、肝炎、皮炎(包括中毒性表皮壞死溶解)、神經病變及內分泌病之一或多椿不良事件，則個體可視為對伊匹單抗治療不耐受(Yervoy® (伊匹單抗) FDA Label Supplement, 2018)。

【0520】在一些實施例中，檢查點抑制劑靶向PD1/PDL1、

CTLA4、OX40、CD40、LAG3、TIM3、GITR及/或KIR。在一些實施例中，檢查點抑制劑靶向CTLA4、OX40、CD40及/或GITR。在一些實施例中，檢查點抑制劑與抑制性抗體或其他類似抑制性分子一起靶向。在一些其他實施例中，檢查點抑制劑與促效抗體或其他類似促效分子一起靶向。在一些實施例中，檢查點抑制劑包含細胞毒性T淋巴球相關抗原4路徑(CTLA4)抑制劑。在一些實施例中，CTLA4抑制劑為抗CTLA4抗體。在一些實施例中，抗CTLA4抗體為伊匹單抗。在一些實施例中，檢查點抑制劑包含計劃性死亡-1路徑(PD1)抑制劑。在一些實施例中，PD1抑制劑為抗PD1抗體。在一些實施例中，抗PD1抗體為納武單抗。在一些實施例中，PD1抑制劑為抗PDL1抗體。在一些實施例中，抗PDL1抗體為阿特珠單抗。在一些實施例中，檢查點抑制劑包含CTLA4抑制劑及PD1抑制劑。在一些實施例中，檢查點抑制劑靶向OX40。在一些實施例中，檢查點抑制劑靶向CD40。在一些實施例中，檢查點抑制劑靶向GITR。在一些實施例中，具有荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物與檢查點抑制劑(例如靶向CTLA4之抗體或分子、靶向PD1/PDL1之抗體或分子、靶向OX40之抗體或分子、靶向CD40之抗體或分子及/或靶向GITR之抗體或分子)之組合療法的效益(例如對至少一種症狀或疾病發展之風險/速率的效果)為累加的。在一些實施例中，具有荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物與檢查點抑制劑(例如靶向CTLA4之抗體或分子、靶向PD1/PDL1之抗體或分子、靶向OX40之抗體或分子、靶向CD40之抗體或分子及/或靶向GITR之抗體或分子)之組合療法的效益為超累加的(亦即協同性的)。

【0521】在各種實施例中，本發明提供治療患有或疑似患有贅生性病症之個體之方法，其係藉由向個體投與有效量之荷伯希二烯剪接調節

子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物及細胞介素或細胞介素類似物療法來進行。在一些實施例中，細胞介素或細胞介素類似物療法包含投與至少一種細胞介素或細胞介素類似物。在一些實施例中，個體對單獨投與時之至少一種細胞介素或細胞介素類似物不耐受、無反應或反應不良。

【0522】在一些實施例中，細胞介素或細胞介素類似物包含T細胞強化子。在一些實施例中，細胞介素或細胞介素類似物包含IL-2、IL-10、IL-12、IL-15、IFNγ及/或TNFα。在一些實施例中，細胞介素或細胞介素類似物包含IL-2、IL-10、IL-12及/或IL-15。在一些實施例中，在投與荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物後，投與細胞介素或細胞介素類似物由於新抗原誘導及呈現而增強T細胞激活。

【0523】在一些實施例中，細胞介素或細胞介素類似物包含IL-2。在一些實施例中，IL-2加強針對效應細胞之信號，促進其擴增(Rosenberg(2014) J Immunol. 192(12):5451-8)。在一些實施例中，細胞介素或細胞介素類似物包含IL-10。在一些實施例中，IL-10加強CD8+ T細胞激活及活化(Mumm等人(2011) Cancer Cell 20(6):781-96)。在一些實施例中，細胞介素或細胞介素類似物包含IL-12。在一些實施例中，IL-12連接先天性免疫反應及適應性免疫反應以加強抗原特異性激活及靶向(Tugues等人(2015) Cell Death Differ. 22(2):237-46)。在一些實施例中，細胞介素或細胞介素類似物包含IL-15。在一些實施例中，IL-15加強T效應(CD8)細胞激活及/或活化。在一些實施例中，細胞介素或細胞介素類似物包含IFNγ。在一些實施例中，IFNγ補充IFNγ之T效應細胞分泌。在一些實施例中，細胞介素或細胞介素類似物包含TNFα。在一些實施例中，

TNFα補充TNFα之T效應細胞分泌。

【0524】在一些實施例中，將初始劑量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物投與至個體以觸發異常剪接及新抗原肽之產生。在一些實施例中，在允許蛋白質產生及抗原呈現之一定時段之後，隨後投與個體初始劑量之細胞介素或細胞介素類似物以加強及/或增強效應T細胞激活及擴增。在一些實施例中，一定劑量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物與細胞介素或細胞介素類似物之間之等待期為約2天、約3天、約4天、約5天、約6天或約7天。在一些實施例中，等待期介於約3天與約5天之間。在一些實施例中，細胞介素或細胞介素類似物為IL-2、IL-10、IL-12、IL-15、IFNγ及/或TNFα。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物與細胞介素或細胞介素類似物之組合治療效益可為累加的或超累加的。

【0525】在一些其他實施例中，將初始劑量之細胞介素或細胞介素類似物投與至個體以加強及/或增強效應T細胞激活及擴增。在一些實施例中，在一定等待期之後，隨後投與個體初始劑量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物以觸發異常剪接及新抗原肽之產生。在一些實施例中，一定劑量之細胞介素或細胞介素類似物與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之間之等待期為約2天、約3天、約4天、約5天、約6天或約7天。在一些實施例中，等待期介於約3天與約5天之間。在一些實施例中，細胞介素或細胞介素類似物為IL-2、IL-10、IL-12、IL-15、IFNγ及/或TNFα。在一些實施例中，細胞介素或細胞介素類似物與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之組合治療效益可為累加的或超累加的。

【0526】在一些實施例中，在允許T細胞激活及擴增之一定時段之

後，隨後投與個體第二或後續劑量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物以觸發新抗原肽之再呈現。在一些實施例中，初始劑量之細胞介素或細胞介素類似物與第二或後續劑量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之間之等待期為約2週、約3週、約4週或約5週。在一些實施例中，等待期為約3週。在一些實施例中，可例如在後續劑量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之間穿插投與後續劑量之細胞介素或細胞介素類似物。在一些實施例中，在第二或後續劑量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之後，免疫系統可與呈現新抗原之腫瘤細胞接合且/或引發腫瘤細胞殺滅。在一些實施例中，在此例示性初始治療方案之後之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之給藥可為脈衝式給藥，亦即可以經延長之間隔(例如約每4週、約每5週、約每6週)給藥荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物以允許抗原呈現、T細胞接合及/或腫瘤細胞殺滅及/或記憶T細胞群恢復。

【0527】在一些實施例中，個體具有約150個突變或更少之非同義突變負荷。在一些實施例中，個體具有約100個突變或更少之非同義突變負荷。在一些實施例中，個體具有約50個突變或更少之非同義突變負荷。在一些實施例中，個體患有或疑似患有例如血液惡性病或實體腫瘤之贅生性病症。在一些實施例中，血液惡性病選自B細胞惡性病、白血病、淋巴瘤及骨髓瘤。在一些實施例中，血液惡性病選自急性骨髓性白血病及多發性骨髓瘤。在一些實施例中，實體腫瘤選自乳癌、胃癌、前列腺癌、卵巢癌、肺癌、子宮癌、唾腺管癌、黑色素瘤、大腸癌、子宮頸癌、胰臟癌、腎癌、大腸直腸癌及食道癌。在一些實施例中，實體腫瘤選自HER2陽性乳癌、胃腺癌、前列腺癌及骨肉瘤。

荷伯希二烯剪接調節子/ADC與新抗原疫苗之組合：

【0528】在各種實施例中，可用荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物與新抗原疫苗之組合治療患有如本文所描述之癌症之患者。在不受理論束縛之情況下，單獨或與免疫檢查點抑制劑(ICI)分子組合使用之疫苗已在早期試驗中顯示出前景(Ott等人(2017) Nature 547(7662):217-21；Sahin等人(2017) Nature 547(7662):222-6)，但一般需要對患者腫瘤突變進行定序(Ott等人(2017) Nature 547(7662):217-21；Aldous及Dong (2018) Bioorg. Med. Chem. 26(10):2842-9)。如此，疫苗通常視足夠數目之具有抗原性之非同義突變而定。一般而言，具有極低突變負荷之腫瘤提供很少候選抗原，且具有快速生長之腫瘤提供有限時間來識別且產生患者特異性疫苗。

【0529】迄今為止，研發在大百分比患者中具有廣泛免疫原性之疫苗之嘗試已集中於頻繁突變、異位性過度表現或放大的蛋白質及/或以生物體內「自身」蛋白質形式存在的蛋白質。另外，此等蛋白質通常在免疫受限組織中表現(例如在神經內分泌腫瘤類型中表現之神經元標記)，而其他蛋白質可在胚胎發生期間正常表現(例如癌胚抗原)。因此，使用該等蛋白質作為抗原之疫苗之效用通常限於其中該等抗原中之一或多者得到呈現之特定腫瘤譜系或亞集合。亦需要藉由對患者腫瘤樣品進行定序來確認疫苗效用，該定序可能為耗時的。

【0530】此外，若此等抗原以「自身」蛋白質形式存在，則免疫系統有可能經激活以將此等抗原識別為「自身」的且因此不起反應。或可替代地，若免疫系統能夠對此等抗原產生效應子反應，則其可能在其中可表現抗原之組織中引起中靶副作用。在此兩種情況下，關鍵挑戰中之一者為

大多數抗原肽來源於「乘客」基因(亦即在腫瘤形成過程中突變或放大、但在腫瘤本身之繼續存活或增殖中不發揮關鍵作用之基因)。因此，此等基因可沉默且對腫瘤發展無顯著影響，且因此將允許腫瘤「逃避」針對此等抗原之免疫反應。在不希望受理論束縛之情況下，此機制可在腫瘤演化中發揮作用，其中具有強抗原性之隨機突變通常在腫瘤形成早期期間由腫瘤「針對性地選擇」(Dunn等人(2004) Annu. Rev. Immunol. 22:329-60)。

【0531】另外，某些證據亦指示，長期抗原呈現及免疫刺激可能導致免疫細胞惰能及耗竭(Pardoll (2012) Nat. Rev. Cancer 12(4):252-64)。此等表型構成現行ICI治療背後之治療原理之基礎，因為已顯示ICI抑制經耗盡之免疫細胞表型(α-PD1/PD-L1)或促進額外免疫細胞反應(α-CTLA4)。值得注意地，在α-CTLA4療法之情況下，已報導特定亞集合之患者展現嚴重免疫相關不良事件，該等事件可能歸因於促進T細胞活化及打破限制自我反應性免疫反應之免疫耐受機制。

【0532】此兩種方法(亦即從頭觸發或增強針對新抗原之免疫反應或阻遏現存免疫反應之惰能或耗竭)與長期免疫活化相關。如此，此等方法對惰能、編輯及設計成遏制免疫接合之其他腫瘤介導之機制敏感。

【0533】相比之下，用本文所揭示之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物進行之治療可誘導針對代表新抗原之序列之免疫反應。在一些實施例中，新抗原之呈現為適應性免疫系統提供更多一起進行接合及活化之不同目標。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物急性地誘導交替剪接及所得新抗原之能力可降低由於長期暴露於突變驅動之新抗原而造成之免疫系統疲勞的風險且/或限制腫瘤細胞進行調適以逃避

療法的能力。在一些實施例中，投與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物與新抗原疫苗之組合增強針對由荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物產生之新抗原的免疫反應。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物係在疫苗接種之前、期間或之後投與。在一些實施例中，在治療過程期間，可投與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物及/或疫苗一次或超過一次。在一些實施例中，在治療過程期間，投與疫苗一次且投與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物超過一次。在一些實施例中，在治療過程期間，投與疫苗一次且隨後投與一或多種加強劑。

【0534】如本文所使用之術語「新抗原疫苗」係指一或多種免疫原性新抗原肽或mRNA，例如至少兩種、至少三種、至少四種、至少五種或更多種新抗原肽之彙集樣品。術語「疫苗」係指用於生成用以預防及/或治療疾病(例如贅生性病症，例如血液惡性病或實體腫瘤)之免疫性之組合物。因此，疫苗為包含免疫原性劑之藥劑，且意欲用於人類或動物中以在疫苗接種後生成特定免疫防禦及保護性物質。新抗原疫苗可另外包括醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑、賦形劑及/或佐劑。

【0535】如本文所使用之術語「免疫原性」係指可引發例如T細胞反應之免疫反應之任何藥劑或組合物。免疫反應可為抗體介導的或細胞介導的，或兩者兼而有之。

【0536】在一些實施例中，給與患者荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物，且隨後給與具有已知新抗原之肽或mRNA疫苗以增強針對由荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物產生之新抗原的免疫反應。在一些其他實施例中，給與患者荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物且篩檢由治療產生之新抗原。隨後，使用彼等新抗原中之一或多者來產生給與至

患者之個人化疫苗。在此等實施例中之任一者中，可向患者投與一次或重複投與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物及/或肽或mRNA疫苗。

【0537】在各種實施例中，適用於疫苗之新抗原可藉由篩檢來自患者中之一或多個組織樣品(例如來自腫瘤生檢)之具有經更改之剪接及穩健表現的一組轉錄本來識別。在一些實施例中，基於跨經異常剪接之mRNA接合點之轉譯在所篩檢之樣品中識別變異蛋白質序列，同時保持側接跨越接合點之胺基酸變化的蛋白質序列的部分(至多12個胺基酸)。在一些實施例中，例如使用諸如NetMHC1之工具掃描此等跨越接合點之肽片段與MHC1對偶基因結合之高親和力(Nielsen等人(2003) Protein Sci 12(5):1007-17；Andreatta及Neilsen (2016) Bioinformatics 32(4):511-7)。此等結果允許將新肽過濾成作為針對獨特患者HLA對偶基因組成所預測之高親和力結合劑之新肽，以及裝配預測為與不同群體中以高頻存在之HLA對偶基因廣泛結合的新肽池(Maiers等人(2007) Hum Immunol 68(9):779-88)。在各種實施例中，隨後，例如藉由結合至合適載劑或佐劑將所識別之新肽調配為疫苗(Ott等人(2017) Nature 547(7662):217-21)，或作為mRNA遞送(Sahin等人(2017) Nature 547(7662):222-6)。

【0538】在一些實施例中，所選新抗原係基於用以識別由用於後續疫苗接種中之治療產生之一或多種新抗原之對針對荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物的個別患者腫瘤反應的篩檢。在其他實施例中，例如基於對一組來自不同患者之樣品進行篩檢以識別由荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物產生之常見新抗原且隨後用作用於未來患者之通用疫苗來選擇新抗原。

【0539】在一些實施例中，在不受理論束縛之情況下，通用新抗原

疫苗之使用應避免對定序且分析各患者腫瘤之獨特突變狀態之需要，此係因為所選新抗原不視腫瘤突變而定，而實際上模擬由荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物產生且一般由身體辨識為外源之新抗原。另外，在一些實施例中，新抗原疫苗之使用可特別地有效，此係因為與模擬由荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物產生之新抗原的新抗原相比，患者腫瘤細胞更可能突變遠離產生視腫瘤突變而定之一或多種新抗原。此可允許調配本體疫苗，該本體疫苗在大百分比患者中具有廣泛免疫原性，加速治療方案開始。患者可根據本文所概述之時程進行疫苗接種，且在後續疫苗接種完成之前可進一步經荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物治療，例如以誘導新抗原肽之表現。在一些實施例中，可在疫苗接種之前、同時或之後投與患者荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物。在一些實施例中，投與患者荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物，對在一組通用新抗原中發現之一或多種新抗原進行篩檢，且接種包含於個體中識別之至少一種通用新抗原之通用新抗原疫苗。在一些實施例中，在疫苗接種之後可投與患者荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物一次或超過一次。在治療過程期間，可投與荷伯希二烯剪接調節子或ADC或組合物及/或疫苗一次或超過一次。

【0540】在各種實施例中，疫苗可包含一種或超過一種新抗原肽或mRNA。在各種實施例中，疫苗可包含一種或超過一種長新抗原肽。在各種實施例中，該等「長」新抗原肽在諸如樹突狀細胞之專職抗原呈現細胞中經歷有效內化、加工及交叉呈現。類似地，在其他情形下，已顯示長疫苗肽在人類中誘導細胞毒性T細胞(Melief及van der Burg (2008) Nat Rev Cancer 8(5):351-60)。在各種實施例中，除側接胺基酸序列之外，新抗原

肽亦經延長以包含新抗原肽序列本身。在各種實施例中，經延長之肽序列促進例如樹突狀細胞之抗原呈現細胞對蛋白質之吸收。在各種實施例中，經延長之肽序列使得能夠在具有不同HLA同型之模型中進行有效抗原呈現及T細胞激活。在各種實施例中，與較短新抗原肽及/或較短肽序列(例如長度小於約10個或小於約5個胺基酸之肽序列)相比，較長新抗原肽及/或經延長之肽序列展現經增加之抗原呈現細胞(例如樹突狀細胞)吸收、經增加之抗原呈現及/或經增加之T細胞激活。在一些實施例中，長新抗原肽之長度介於約5個至約50個胺基酸範圍內。在一些實施例中，長新抗原肽之長度介於約10個至約50個胺基酸範圍內。在一些實施例中，至少一種新抗原肽之長度介於約10個至約35個胺基酸範圍內。在一些實施例中，長新抗原肽之長度介於約15個至約25個胺基酸範圍內。

【0541】在一些實施例中，新抗原序列及/或抗原部分之長度介於約10個至約35個胺基酸範圍內。在一些實施例中，新抗原序列及/或抗原部分之長度介於約15個至約25個胺基酸範圍內。在一些實施例中，新抗原序列及/或抗原部分之長度介於約10個至約20個胺基酸範圍內。在一些實施例中，新抗原序列及/或抗原部分不排他性地覆蓋典型肽序列或由典型肽序列組成(例如表8中加下劃線之例示性典型肽序列中之任一者)。

【0542】例示性長新抗原肽之胺基酸序列闡述於表8中。

【0543】在投與含有普拉二烯內酯剪接調節子之ADC之後生成此等例示性新抗原肽，然而，在類似作用機制(亦即類似剪接調節機制)之情況下，可由荷伯希二烯剪接調節子產生類似新抗原肽。

表7. 新肽

新肽		SEQ ID NO	接合點(HG19)	基因	事件類型	觀測之地
1	SPTLPPRSL	37	chr12:49663470-49663610:+	TUBA1C	內含子滯留	H1568
2	HPSIKRGLSSL	38	chr12:42729776-42781257:+	PPHLN1	外顯子跳躍	H1568
3	LLLPHHVL	39	chr12:49663470-49663610:+	TUBA1C	內含子滯留	H1568
4	RTAPGVRPPF	40	chr14:35182767-35183743:-	CFL2	內含子滯留	H1568
5	RPQKSIQAL	41	chr10:28822963-28823162:+	WAC	內含子滯留	H1568
6	APAPPPLPA	42	chr17:80009840-80011149:+	GPS1	內含子滯留	H1568
7	RPRPSFPVSL	43	chr7:55087058-55134942:+	EGFR	內含子滯留	H1568
8	RPKHGDGFSL	44	chr11:57472287-57472444:-	MED19	內含子滯留	H1568
9	GPAPGKTGL	45	chr7:75932393-75933118:+	HSBP1	內含子滯留	H1568
10	EAARKGNSL	46	chr1:53480715-53504588:+	SCP2	外顯子跳躍	H1568
11	RIKEKIEEL	47	chr9:72897499-72912881:+	SMC5	外顯子跳躍	H1568
12	EIKKRFRQF	48	chr1:28531860-28541450:-	DNAJC8	外顯子跳躍	H1568
13	HESAAMAET	49	chr11:102272937-102323254:-	TMEM123	外顯子跳躍	HCC1954
14	ALKLKQVGV	50	chr1:153610924-153617539:+	CHTOP	外顯子跳躍	H1568
15	DLKKRHITF	51	chr13:41323417-41331008:-	MRPS31	外顯子跳躍	H1568
16	DVKRNDIAM	52	chr1:41213277-41218822:+	NFYC	外顯子跳躍	H1568
17	IPSDHILTPA	53	chr6:149718900-149720239:+	TAB2	外顯子跳躍	H1568
18	TVFSTSSLK	54	chr11:61197654-61213412:+	SDHAF2	外顯子跳躍	H1568

19	ITSCLLNF	55	chr5:137892555-137893090:-	HSPA9	內含子滯留	H1568
20	RASPVRGQL	56	chr7:75677544-75677893:+	MDH2	內含子滯留	H1568
21	VVRKPVIAL	57	chr1:36923582-36929406:-	MRPS15	外顯子跳躍	H1568
22	LLSEKKKIS	58	chr6:31750622-31750872:-	VARS	內含子滯留	H1568
23	APASKPRPRL	59	chr19:3573798-3574380:+	HMG20B	內含子滯留	H1568
24	RYGQLSEKF	60	chr19:33076813-33078158:+	PDCD5	外顯子跳躍	HCC1954
25	VYISNVSKL	61	chr3:53920961-53925796:-	SELK	外顯子跳躍	HCC1954
26	LPTKETPSF	62	chr2:85133241-85133394:+	TMSB10	Alt 3'ss	HCC1954
27	GEAPPPPPA	63	chr17:80223672-80231181:-	CSNK1D	內含子滯留	HCC1954
28	LEEISKQEI	64	chr17:27804724-27807385:+	TAOK1	外顯子跳躍	HCC1954
29	IYNHITVKI	65	chr4:2886393-2896308:+	ADD1	外顯子跳躍	HCC1954

【0544】表7中所列舉之二十九個新肽之蛋白質序列可經延長。除側接胺基酸序列之外，經延長之蛋白質序列亦併有兩個新肽序列本身。經延長之蛋白質序列較佳促進樹突狀細胞對蛋白質之吸收，且使得能夠在具有不同HLA同型之模型中進行抗原呈現及T細胞激活。二十九個經延長之新肽之胺基酸序列闡述於表8中。

表8. 經延長之新肽之胺基酸序列

基因	SEQ ID NO	經延長之新肽胺基酸序列*
TUBA1C	66	VDLEPTVIGELTSVTQVRSQGAGTGGLSWGGSAGHSPTLPPRSLSLLLL PHHVLQMKFALALTASSSTLSNSSQARKMLPITMPEGTTPLARRSLTSC WTEFASWLTSAPVFRASWFSTALVGELVLGSPRCSWNVSQLIMARSPSW SSPFTRRPRFPQL
PPHLN1	67	APPRSHPSIKRGLSSL
CFL2	68	MVRRARWPGGRGEARKAPRTAPGVRPPF

WAC	69	WVNCLFVSGRAAAGGGGGGAVPPYLELAGPPFLLLTLIRIGLGRRSGRA GGRAGTQCGGERGPGFAAFRPLRPFRRLRVCAVCVRGSALGRSVGLPRG GAAGAPFSSSPAPHPRRVLCRCLLFLFFSCHDRRGDSQPYQVPAEAGVE GLEGAGGGREGLLLERRPQKSIQALRCNTSETSTADPLKIPGLVPLALS SKV
GPS1	70	MPLPVQVFNLQVTSRGRPGPPRPRAPRHWGRAEVEQGRGACARSRSGTL RAGPPRAARVGGCRAEGASPPWLRAAIGGRRAAPAPPPLPAAHGRGSRP PRR
EGFR	71	QPAQPRTGAPARRPRPRPSFPVSLRSAAPPTGTAGGTGRFVLRPGESGA GGGGDAWDTGLQARRGTAAGTSGAPNRSQLSSLTFPAQLRRIGVSGRKP GAGGRLGPGSRTCAPRCLPRARRGPGAHPRGGRCPPAETALFREAEEGT QKYSLPSDPAGQAAF
MED19	72	FRLHTGPVSPVGGRRQMGRPKHGDGFSLQVCSFIMEQNG
HSBP1	73	GVVEITGEPPCSCRGEEEASRAGRAGGVRLKRGSRGPGELNVGPAPGKT GLLIPLLRNWECGSLLRALSAL
SCP2	74	KMGFPEAARKGNSL
SMC5	75	LEARIKEKIEELQQALI
DNAJC8	76	EIKKRFRQFKQAVYKQ
TMEM123	77	AHESAAMAETLQHVPS
CHTOP	78	NRPSVQAALKLKQVGV
MRPS31	79	KTDDLKKRHITFTLGCGIC
NFYC	80	MKLDEDVKRNDIAMAI
TAB2	81	NSISQIPSDHILTPALFITFMTILDL
SDHAF2	82	TVFSTSSLKLNQPQKYLKMKSWPC
HSPA9	83	AEEDRRKKVITSCLLNFNLSKAQS
MDH2	84	RSFSTSAQVGQTRGGLQAEAPRPGPRASPVRGQL
MRPS15	85	RGYVVRKPVIALSVKI
VARS	86	VDMDFGTGGQGAGPVGRGKDWSCTLAVHLLSEKKKISFSQIDRAWGGSQ GTVLDKWGPGVVSELHPSAKEVSVGRNSVESLMTWAS
HMG20B	87	EKGSHEEEVRVPALSWGRPRAPAPASKPRPRLDLNCLWLRPQPIFLWKL RPRPVPAATPLTGPLPL
PDCD5	88	RYGQLSEKFNRRKVMDS
SELK	89	MVYISNVSKLCFSKM
TMSB10	90	NTLPTKETPSFLLNPHTSWVPRPHREAPRLRVGVAAPLQRPLPALHSH
CSNK1D	91	FGDIYLGEAPPPPPAARRPGPCGCQDQARSRKEVVAPAGSPRKSRHRRI VARTQRPLG
TAOK1	92	GSASDLLEEISKQEISF
ADD1	93	QLIYNHITVKINLQGD

* 下劃線指示來源於典型轉錄閱讀開放框(亦即典型肽序列)之胺基酸。

【0545】如本文所使用之新抗原肽或mRNA疫苗涵蓋使用新抗原肽或其編碼mRNA之片段，只要彼片段保持免疫原性潛能即可。

【0546】在一些實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原肽。在一些實施例中，新抗原疫苗包含至少2種、至少3種、至少4種、至少5種、至少6種、至少7種、至少8種、至少9種、至少10種、至少12種、至少15種或至少20種新抗原肽。在一些實施例中，新抗原肽之長度介於約5個至約50個胺基酸範圍內。在一些實施例中，新抗原肽之長度介於約10個至約50個胺基酸範圍內。。在一些實施例中，至少一種新抗原肽之長度介於約10個至約35個胺基酸範圍內。在一些實施例中，新抗原肽之長度介於約15個至約25個胺基酸範圍內。

【0547】在各種實施例中，本發明提供治療患有或疑似患有贅生性病症之個體之方法，其係藉由向個體投與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物及新抗原疫苗來進行。新抗原疫苗可為例如肽或mRNA新抗原疫苗。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物係在投與新抗原疫苗之前投與。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物係在投與新抗原疫苗之後投與。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物係與新抗原疫苗投與同時投與。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之投與在初始投與之後重複至少一次。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物用於重複投與之量相較於用於初始投與之量而言減少。

【0548】在各種實施例中，本發明進一步提供用於治療患有或疑似患有贅生性病症之個體之包含荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物與新抗原疫苗(例如通用新抗原疫苗)的組合。在一些實施例中，新抗原疫苗為肽或mRNA新抗原疫苗。在一些實施例中，該組合進一步包含至少一種額外療法。在一些實施例中，至少一種額外療法包含至少一種、至少兩種、至少三種、至少四種或至少五種額外療法。

【0549】在各種實施例中，本發明進一步提供治療患有或疑似患有贅生性病症之個體之方法，其係藉由以下來進行：(a)向個體投與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物；(b)在投與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之後，偵測個體中之一或多種新抗原；(c)比較一或多新抗原與一組通用新抗原；及(d)向個體投與包含存在於個體中之至少一種通用新抗原的通用新抗原疫苗。在一些實施例中，通用新抗原疫苗係單獨或與至少一種額外療法組合投與。在一些實施例中，至少一種額外療法包含至少一種、至少兩種、至少三種、至少四種或至少五種額外療法。

【0550】在一些實施例中，至少一種額外療法包含荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之重複投與。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之重複投與係在通用新抗原疫苗之投與之前開始。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之重複係在通用新抗原疫苗之投與之後開始。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之重複投與係與通用新抗原疫苗之投與同時開始。在一些實施例中，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物用於重複投與

之量相較於用於初始投與之量而言減少。在一些實施例中，當不與疫苗治療一起使用時，與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之標準劑量相比，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物用於初始投與及/或重複投與之量減少。在一些實施例中，與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之標準劑量相比，荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物用於初始投與及/或重複投與之量減少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、75%或90%。

【0551】在一些實施例中，至少一種額外療法包含投與檢查點抑制劑(例如本文所描述之例示性檢查點抑制劑中之任一種)。在一些實施例中，檢查點抑制劑之投與係在通用新抗原疫苗之投與及/或荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之重複投與之前開始。在一些實施例中，檢查點抑制劑之投與係在通用新抗原疫苗之投與及/或荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之重複之後開始。在一些實施例中，檢查點抑制劑之投與係與通用新抗原疫苗之投與及/或荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物之重複投與同時開始。在一些實施例中，檢查點抑制劑之投與在初始投與之後重複至少一次。在一些實施例中，檢查點抑制劑用於重複投與之量相較於用於初始投與之量而言減少。在一些實施例中，與檢查點抑制劑之標準劑量相比，檢查點抑制劑用於重複投與之量減少。在一些實施例中，與檢查點抑制劑之標準劑量相比，檢查點抑制劑用於重複投與之量減少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、75%或90%。在一些實施例中，個體對單獨投與時之檢查點抑制劑不耐受、無反應或反應不良。

【0552】在各種實施例中，本文亦提供包含至少一種新抗原肽或至

少一種新抗原mRNA之新抗原疫苗。在一些實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原肽。在一些其他實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原mRNA。

【0553】在各種實施例中，本文亦提供包含荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物及新抗原疫苗(例如通用新抗原疫苗)的套組。在一些實施例中，新抗原疫苗為肽或mRNA新抗原疫苗。在一些實施例中，套組進一步包含包括但不限於以下之一或多種額外組分：使用說明書；其他藥劑，例如一或多種額外治療劑；用於製備用以治療性投與之荷伯希二烯剪接調節子、ADC、組合物及/或新抗原疫苗之裝置、容器或其他材料；醫藥學上可接受之載劑；及用於向患者投與荷伯希二烯剪接調節子、ADC、組合物及/或新抗原疫苗之裝置、容器或其他材料。使用說明書可包括治療性應用之指南，該指南包括例如患有或疑似患有贅生性病症之患者中之建議劑量及/或投與模式。在各種實施例中，套組進一步含有治療用途說明書，例如荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物及新抗原疫苗治療或預防患者之贅生性病症的用途。在各種實施例中，套組進一步含有至少一種額外治療劑(例如用於連同荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物及新抗原疫苗(例如檢查點抑制劑)一起投與)。在各種實施例中，將荷伯希二烯剪接調節子、ADC、組合物及/或新抗原疫苗調配為醫藥組合物。

【0554】在本文所揭示之方法及組合物之一些實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原肽。在一些實施例中，至少一種新抗原肽之長度介於約10個至約50個胺基酸範圍內。在一些實施例中，至少一種新抗原肽之長度介於約10個至約35個胺基酸範圍內。在一些實施例中，至少一種

新抗原肽之長度介於約15個至約25個胺基酸範圍內。

【0555】在一些實施例中，至少一種新抗原肽包含一種或超過一種本文所揭示之新抗原序列。

【0556】在一些實施例中，新抗原序列及/或抗原部分之長度介於約10個至約35個胺基酸範圍內。在一些實施例中，新抗原序列及/或抗原部分之長度介於約15個至約25個胺基酸範圍內。在一些實施例中，新抗原序列及/或抗原部分之長度介於約10個至約20個胺基酸範圍內。在一些實施例中，新抗原序列及/或抗原部分不排他性地覆蓋典型肽序列或由典型肽序列組成(例如表8中加下劃線之例示性典型肽序列中之任一者)。

【0557】在一些實施例中，新抗原序列為對個體具有特異性之新抗原序列。在一些實施例中，新抗原序列為用於個體之個人化新抗原疫苗。在一些實施例中，新抗原序列能夠結合至於個體中表現之至少一個HLA對偶基因。

【0558】在一些其他實施例中，新抗原序列為通用新抗原序列。在一些實施例中，新抗原序列為通用新抗原疫苗。在一些實施例中，新抗原序列能夠與於罹患贅生性病症之個體群體中之至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%或至少45%個體中表現之至少一個HLA對偶基因結合。在一些實施例中，新抗原序列能夠引發針對於罹患贅生性病症之個體群體之至少1%、至少5%或至少10%中存在之腫瘤的T細胞反應。

【0559】在一些實施例中，已藉由對藉由投與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物而於個體中誘導之至少一種新抗原肽進行定序來識別新抗原序列。在一些實施例中，至少一種新抗原肽包

含藉由使贅生性細胞與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物接觸而誘導之新抗原序列。在一些實施例中，贅生性細胞存在於活體外細胞培養物中。在一些實施例中，贅生性細胞係自個體獲得。在一些實施例中，贅生性細胞存在於個體中。

【0560】在一些實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原肽或mRNA及醫藥學上可接受之載劑。在各種實施例中，新抗原肽或mRNA可與合適載劑連接以幫助引發免疫反應。用於連接至免疫原性劑(例如新抗原肽或mRNA)之例示性載劑包括血清白蛋白、匙孔螺血氰蛋白、免疫球蛋白分子、甲狀腺球蛋白、卵白蛋白、破傷風類毒素或來自諸如白喉、大腸桿菌(*E. coli*)、霍亂(cholera)或幽門螺旋桿菌(*H. pylori*)之其他病原菌之類毒素或減毒毒素衍生物。用於刺激或增強免疫反應之其他載劑包括細胞介素(諸如IL-1、IL-1α及IL-1β肽、IL-2、γINF、IL-10、GM-CSF)及趨化因子(諸如M1P1α及M1P1β及RANTES)。免疫原性劑亦可與增強跨組織轉運之肽連接，如例如WO 97/17613及WO 97/17614中所描述。在一些實施例中，醫藥學上可接受之載劑選自肽、血清白蛋白、匙孔螺血氰蛋白、免疫球蛋白、甲狀腺球蛋白、卵白蛋白、類毒素或減毒類毒素衍生物、細胞介素及趨化因子。

【0561】在一些實施例中，新抗原肽或mRNA可與醫藥學上可接受之載劑連接。免疫原性劑可藉由化學交聯與載劑連接。用於將免疫原性肽與載劑連接之技術包括使用N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基-硫基)丙酸酯(SPDP)及4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸琥珀醯亞胺酯(SMCC)形成二硫鍵(若肽缺乏硫氫基，則此種情況可藉由添加半胱胺酸殘基來提供)。此等試劑在其本身與駐存於一種蛋白質上之肽半胱胺酸殘基

之間產生二硫鍵，且經由離胺酸上之ε-胺基或其他胺基酸中之其他游離胺基產生醯胺鍵。各種該等二硫化物/醯胺形成劑描述於Jansen等人((1982) Immun Rev. 62:185)中。其他雙官能偶合劑形成硫醚鍵而非二硫鍵。許多此等硫醚形成劑為市售的，且包括6-順丁烯二醯亞胺基己酸、2-溴乙酸及2-碘乙酸、4-(N-順丁烯二醯亞胺基-甲基)環己烷-1-甲酸之反應性酯。羧基可藉由將其與琥珀醯亞胺或1-羥基-2-硝基-4-磺酸鈉鹽組合來活化。在一些實施例中，新抗原肽及醫藥學上可接受之載劑係經由連接子共價連接。

【0562】新抗原及其他該等免疫原性肽亦可以與載劑之融合蛋白形式表現。免疫原性肽可在胺基端、羧基端或肽內(內部)任何地方處之位點處與載劑連接。在一些實施例中，免疫原性肽之多個重複序列可存在於融合蛋白中。在一些實施例中，新抗原肽及醫藥學上可接受之載劑係以融合蛋白形式表現。

【0563】在一些實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原肽或其編碼mRNA及醫藥學上可接受之稀釋劑。在一些實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原肽或其編碼mRNA及醫藥學上可接受之佐劑(例如如本文所描述之佐劑)。

【0564】在本文所揭示之方法及組合物之一些實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原mRNA。在一些實施例中，至少一種新抗原mRNA編碼一個或超過一個新抗原序列。

【0565】在一些實施例中，新抗原序列及/或抗原部分之長度介於約10個至約50個胺基酸範圍內。在一些實施例中，至少一種新抗原肽之長度介於約10個至約35個胺基酸範圍內。在一些實施例中，新抗原序列及/

或抗原部分之長度介於約15個至約25個胺基酸範圍內。在一些實施例中，新抗原序列及/或抗原部分之長度介於約10個至約20個胺基酸範圍內。在一些實施例中，新抗原序列及/或抗原部分不排他性地覆蓋典型肽序列或由典型肽序列組成(例如表8中加下劃線之例示性典型肽序列中之任一者)。

【0566】在一些實施例中，新抗原序列為對個體具有特異性之新抗原序列。在一些實施例中，新抗原序列為用於個體之個人化新抗原疫苗。在一些實施例中，新抗原序列能夠結合至於個體中表現之至少一個HLA對偶基因。

【0567】在一些其他實施例中，新抗原序列為通用新抗原序列。在一些實施例中，新抗原序列為通用新抗原疫苗。在一些實施例中，新抗原序列能夠與於罹患贅生性病症之個體群體中之至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%或至少45%個體中表現之至少一個HLA對偶基因結合。在一些實施例中，新抗原序列能夠引發針對於罹患贅生性病症之個體群體之至少1%、至少5%或至少10%中存在之腫瘤的T細胞反應。

【0568】在一些實施例中，已藉由對藉由投與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物而於個體中誘導之至少一種新抗原mRNA進行定序來識別新抗原序列。在一些實施例中，至少一種新抗原mRNA編碼藉由使贅生性細胞與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、抗體-藥物結合物或組合物接觸而誘導之新抗原序列。在一些實施例中，贅生性細胞存在於活體外細胞培養物中。在一些實施例中，贅生性細胞係自個體獲得。在一些實施例中，贅生性細胞存在於個體中。

【0569】在一些實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原mRNA及醫藥學上可接受之載劑。在一些實施例中，至少一種新抗原mRNA與醫藥學上可接受之載劑連接。在一些實施例中，醫藥學上可接受之載劑選自肽、血清白蛋白、匙孔螺血氰蛋白、免疫球蛋白、甲狀腺球蛋白、卵白蛋白、類毒素或減毒類毒素衍生物、細胞介素及趨化因子。

【0570】在一些實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原mRNA及醫藥學上可接受之稀釋劑。在一些實施例中，新抗原疫苗包含至少一種新抗原mRNA及醫藥學上可接受之佐劑(例如如本文所描述之佐劑)。

【0571】在一些實施例中，新抗原mRNA係藉由囊封劑囊封。在一些實施例中，囊封劑保護新抗原mRNA免受降解且改善疫苗遞送(McNamara等人(2015) J Immunol Res. 2015:794528)。在一些實施例中，囊封劑為脂質體。在一些實施例中，脂質體為陽離子脂質體，諸如N-[1-(2,3-二油醯氧基)丙基]-N,N,N-三甲基氯化銨1 (DOTAP)。在一些實施例中，囊封劑為奈米粒子。在一些實施例中，奈米粒子保護新抗原mRNA免受核酸酶降解且/或增強細胞吸收及/或遞送效率。在一些實施例中，奈米粒子可工程改造為完全可降解。在一些實施例中，奈米粒子為具有由磷脂殼包封之pH反應性聚(b-胺基酯) (PBAE)核之生物可降解核-殼結構化奈米粒子(Su等人(2011) Mol Pharm. 8(3):774-87)。在一些實施例中，該等奈米粒子特別有效地活體內遞送mRNA且引發抗腫瘤免疫反應。

【0572】在一些實施例中，個體具有約150個突變或更少之非同義突變負荷。在一些實施例中，個體具有約100個突變或更少之非同義突變負荷。在一些實施例中，個體具有約50個突變或更少之非同義突變負荷。在一些實施例中，個體患有或疑似患有例如血液惡性病或實體腫瘤之贅生性

病症。在一些實施例中，血液惡性病選自B細胞惡性病、白血病、淋巴瘤及骨髓瘤。在一些實施例中，血液惡性病選自急性骨髓性白血病及多發性骨髓瘤。在一些實施例中，實體腫瘤選自乳癌、胃癌、前列腺癌、卵巢癌、肺癌、子宮癌、唾腺管癌、黑色素瘤、大腸癌、子宮頸癌、胰臟癌、腎癌、大腸直腸癌及食道癌。在一些實施例中，實體腫瘤選自HER2陽性乳癌、胃腺癌、前列腺癌及骨肉瘤。

【0573】如本文所使用之「佐劑」係指能夠增加、放大或調節針對伴隨免疫原性劑(例如新抗原肽或mRNA)之免疫反應之物質。在某些實施例中，本發明之新抗原可與佐劑組合投與，該等佐劑亦即自身不引起適應性免疫反應、但放大或調節針對伴隨新抗原之反應的物質。各種佐劑可與所揭示之新抗原組合使用以便引發免疫反應。在一些實施例中，選定佐劑以強化針對新抗原之內部反應，而不造成影響反應之定性形式之新抗原中之構形變化。在一些實施例中，選定佐劑以增強T效應(例如CD8)細胞激活及/或活化。

【0574】在某些實施例中，佐劑為鋁鹽(alum)，諸如氫氧化鋁、磷酸鋁及硫酸鋁。該等佐劑可與或不與其他特異性免疫刺激劑一起使用，該等其他特異性免疫刺激劑諸如3去-O-醯化單磷醯脂質A (MPL)或3-DMP、聚合胺基酸或單體胺基酸(諸如聚麩胺酸或聚離胺酸)。該等佐劑可與或不與其他特異性免疫刺激劑一起使用，該等其他特異性免疫刺激劑諸如為胞壁醯肽(例如N-乙醯基胞壁醯基-L-蘇胺醯基-D-異麩醯胺酸(thr-MDP)、N-乙醯基-去甲胞壁醯基-L-丙胺醯基-D-異麩醯胺酸(nor-MDP)、N-乙醯基胞壁醯基-L-丙胺醯基-D-異麩醯胺醯基-L-丙胺酸-2-(1'-2'二軟脂醯基-sn-甘油基-3-羥基磷醯基氧基)-乙胺(MTP-PE)、N-乙醯基葡萄糖胺基-N-乙

醯基胞壁醯基-L-Al-D-isoglu-L-Ala-二軟脂醯氧基丙醯胺(DTP-DPP))或其他細菌細胞壁組分。其他佐劑為水包油乳液，且包括以下：(a) MF59 (WO 90/14837)，其含有5%角鯊烯、0.5% Tween 80及0.5% Span 85 (視情況含有各種量之MTP-PE)，其係使用諸如型號110Y微流化床(Microfluidics)之微流化床調配成次微米級粒子；(b) SAF，其含有10%角鯊烯、0.4% Tween 80、5%普洛尼克(pluronic)嵌段聚合物L121及thr-MDP，其中之任一者微流化成次微米級乳液或經渦旋以生成較大粒度之乳液；及(c) Ribi™佐劑系統(RAS) (Ribi ImmunoChem)，其含有2%角鯊烯、0.2% Tween 80及來自由以下組成之群之一或多種細菌細胞壁組分：單磷醯脂質A (MPL)、海藻糖二黴菌酸酯(TDM)及細胞壁骨架(CWS) (例如MPL-FCWS (Detox™))。在一些實施例中，佐劑為諸如Stimulon™ (QS21)之皂素或諸如ISCOM (免疫刺激複合物)及ISCOMATRIX之由其生成之粒子。其他佐劑包括弗氏完全佐劑(Complete Freund's Adjuvant，CFA)及弗氏不完全佐劑(Incomplete Freund's Adjuvant，IFA)、細胞介素(諸如介白素(IL-1、IL-2及IL-12))、巨噬細胞群落刺激因子(M-CSF)及腫瘤壞死因子(TNF))。

【0575】佐劑可與免疫原性劑(例如新抗原肽或mRNA)一起以單一組合物形式投與，或可在免疫原性劑投與之前、同時或之後投與。在一些實施例中，免疫原性劑及佐劑可在同一小瓶中封裝及供應，或可在單獨小瓶中封裝且在使用之前混合。在一些實施例中，免疫原性劑及佐劑可與標籤一起封裝，該標籤指示預期治療性應用。在一些實施例中，若免疫原性劑及佐劑分開封裝，則封裝可包括在使用之前混合之說明書。佐劑及/或載劑之選擇視含有佐劑之免疫原性調配物之穩定性、投與途徑、給藥時程、

佐劑對疫苗接種之物種之功效而定，且在人類中，醫藥學上可接受之佐劑為已由相關監管機構批准或可批准用於人類投與之佐劑。舉例而言，弗氏完全佐劑不適用於人類投與。然而，單獨或視情況與alum、QS21及MPL中之任一者及其所有組合組合之alum、MPL或弗氏不完全佐劑(Chang等人(1998) Adv Drug Deliv Rev. 32:173-186)適用於人類投與。

【0576】在一些實施例中，本發明進一步提供篩檢及識別至少一種新抗原之方法。更具體言之，在各種實施例中，本發明提供識別至少一種新抗原之方法，其係藉由以下來進行：(a)使贅生性細胞與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物接觸；(b)在使贅生性細胞與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物接觸之後，偵測至少一種經交替剪接之mRNA轉錄本；(c)預測至少一種經交替剪接之mRNA轉錄本向至少一種肽之轉譯；及(d)比較至少一種肽與參考蛋白質體，其中若至少一種肽與參考蛋白質體中之任何肽均不匹配，則識別出至少一種新抗原。在各種實施例中，該方法進一步包含接觸一或多個額外贅生性細胞以識別至少一種通用新抗原。在各種實施例中，對一或多個額外贅生性細胞或樣品(例如組織生檢)重複該方法以確認合適新抗原(例如用於新抗原疫苗中)及/或識別一或多種通用新抗原。

【0577】在各種其他實施例中，本發明提供識別至少一種新抗原之方法，其係藉由以下來進行：(a)使贅生性細胞與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物接觸；(b)在使贅生性細胞與荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物接觸之後，偵測至少一種包含潛在新抗原序列之肽；及(c)比較至少一種肽與參考蛋白質體，其中若至少一種肽與參考蛋白質體中之任何肽均不匹配，則識別出

至少一種新抗原。在各種實施例中，該方法進一步包含接觸一或多個額外贅生性細胞以識別至少一種通用新抗原。在各種實施例中，對一或多個額外贅生性細胞或樣品(例如組織生檢)重複該方法以確認合適新抗原(例如用於新抗原疫苗中)及/或識別一或多種通用新抗原。

【0578】在本文所描述之新抗原識別方法之一些實施例中，偵測至少一種經交替剪接之mRNA轉錄本包含RNAseq。在一些實施例中，預測至少一種經交替剪接之mRNA轉錄本之轉譯包含定量至少一種轉錄本之剪接百分比(dPSI)值的變化。在一些實施例中，預測至少一種經交替剪接之mRNA轉錄本之轉譯包含RiboSeq及/或核糖體剖析。

【0579】在本文所描述之新抗原識別方法之一些實施例中，該等方法進一步包含針對所預測之主要組織相容複合體(MHC)結合對至少一種肽進行評估。在一些實施例中，所預測之MHC結合係藉由量測至少一種肽之原始親和力預測結合強度來確定。在一些實施例中，約500 nM或更高之原始親和力預測結合強度指示MHC結合。在一些實施例中，所預測之MHC結合係藉由以下來確定：識別一系列隨機肽之預測結合強度之分佈；且比較至少一種肽之預測結合強度與該分佈。在一些實施例中，該分佈之前2%中之預測結合強度指示弱MHC結合。在一些實施例中，該分佈之前0.5%中之預測結合強度指示強MHC結合。

【0580】在本文所描述之新抗原識別方法之一些實施例中，贅生性細胞存在於活體外細胞培養物中。在一些實施例中，贅生性細胞係自個體獲得。在一些實施例中，贅生性細胞存在於個體中。

【0581】在各種實施例中，本文亦提供製造新抗原疫苗之方法，其係藉由以下來進行：(a)使用本文所揭示之例示性識別方法中之任一種識

別至少一種新抗原(例如至少一種新抗原肽或其編碼mRNA)；及(b)將至少一種新抗原連同醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或佐劑(例如本文所描述之醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或佐劑中之任一種)一起調配。

【0582】在一些實施例中，至少一種新抗原及/或抗原部分之長度介於約10個至約50個胺基酸範圍內。在一些實施例中，至少一種新抗原肽之長度介於約10個至約35個胺基酸範圍內。在一些實施例中，至少一種新抗原及/或抗原部分之長度介於約15個至約25個胺基酸範圍內。在一些實施例中，至少一種新抗原及/或抗原部分之長度介於約10個至約20個胺基酸範圍內。在一些實施例中，至少一種新抗原及/或抗原部分不排他性地覆蓋典型肽序列或由典型肽序列組成(例如表8中加下劃線之例示性典型肽序列中之任一者)。

【0583】在一些實施例中，疫苗中所使用之至少一種新抗原與醫藥學上可接受之載劑連接。在一些實施例中，醫藥學上可接受之載劑選自肽、血清白蛋白、匙孔螺血氰蛋白、免疫球蛋白、甲狀腺球蛋白、卵白蛋白、類毒素或減毒類毒素衍生物、細胞介素及趨化因子。

荷伯希二烯剪接調節子/ADC與經工程改造之T細胞(CAR-T)之組合：

【0584】在各種實施例中，可用荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物與一或多種經工程改造之靶向腫瘤之T細胞(亦即CAR-T)之組合治療患有如本文所描述之癌症之患者。因此，在各種實施例中，本發明提供治療患有或疑似患有贅生性病症之個體之方法，其係藉由向個體投與有效量之荷伯希二烯剪接調節子、ADC或包含荷伯希二烯剪接調節子或ADC之組合物及經工程改造之靶向腫瘤之T細胞(亦即CAR-T)來進行。在各種實施例中，嵌合T細胞受體可使用可與所識別之新抗原反應之抗原辨識序列

來進行工程改造。

【0585】舉例而言，在各種實施例中，為靶向細胞表面蛋白之胞外域中之荷伯希二烯剪接調節子或ADC誘導之改變，可藉由首先識別辨識細胞表面表現之新抗原蛋白質域的抗體來對嵌合抗原反應性T細胞受體(CAR)進行工程改造。隨後，該等抗體之抗原辨識序列可與T細胞受體域融合以用於選擇性靶向及活化。

【0586】在各種其他實施例中，採用整合腫瘤細胞之抗原呈現機制以及荷伯希二烯剪接調節子或ADC源性新抗原之策略。在一些實施例中，可用荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物治療含有已知且常常表示之HLA對偶基因(例如HLA-A*02:01)之細胞，且藉由配體組學(ligandomics)識別MHC1結合新抗原。在一些實施例中，此等肽可用於激活及/或擴增來自表現相同HLA對偶基因之健康供體之T細胞。在一些實施例中，可分離該等T細胞且對T細胞受體(TCR) α及β鏈進行定序以識別同源抗原辨識區/可變區。在一些實施例中，隨後可對同源CAR進行工程改造。

【0587】在一些實施例中，將CAR序列選殖至患者源性T細胞群中且使用當前可用方案進行擴增。在一些實施例中，在用荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物治療後，隨後將經工程改造之T細胞回輸至患者循環中。在一些實施例中，在用荷伯希二烯剪接調節子、ADC或組合物治療之後，腫瘤細胞可開始呈現抗原。在一些實施例中，經工程改造之T細胞群可與抗原呈現腫瘤細胞接合且殺滅該等抗原呈現腫瘤細胞。

【0588】熟習此項技術者將易於瞭解，本文所描述之本發明之方法之其他合適修改及改編顯而易見且可在不脫離本發明之範疇或本文所揭示

之實施例的情況下使用合適等效方案進行。現已詳細地描述本發明，參照以下實例將更清楚地理解本發明，該等實例僅出於說明之目的包括在內且不意欲為限制性的。

實例

實例1

【0589】描述具有表9-11中所示之結構之有效負載物、連接子及可結合連接子-有效負載物(連接子-藥物，即L-D)化合物的合成方法。使用可結合連接子-有效負載物來製備抗體-藥物結合物(ADC)。例示性ADC描述於實例3-5中。

1.1 試劑及材料

【0590】以下合成方法中所使用之起始材料為市售的或可藉由標準方法由已知材料容易地製備。所揭示之可結合連接子-有效負載物可使用本文所描述之反應及技術來製備。在描述以下所描述之合成方法中，應理解，除非另外指示，否則可選擇所有所提出之反應條件(包括溶劑、反應氛圍、反應溫度、實驗持續時間及處理程序之選擇)作為彼反應之標準條件。熟習有機合成之技術者應理解，分子之各個部分上所存在之官能基應與所提出之試劑及反應物相容。與反應條件不相容之取代基對於熟習此項技術者為顯而易見的，且因此在本文中指定替代方法。

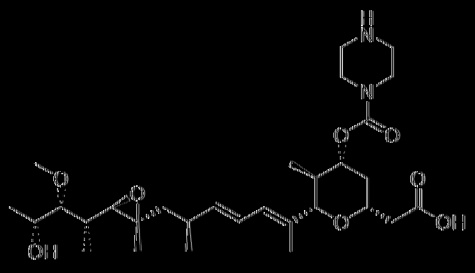
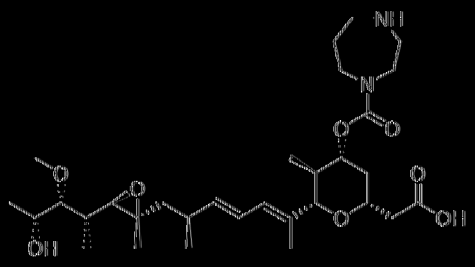
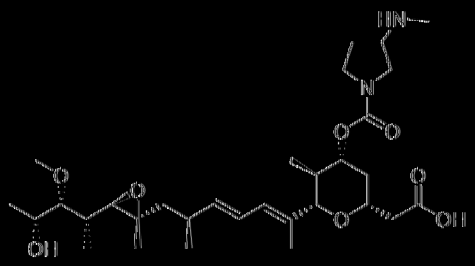
【0591】使用Waters自動純化系統及XTerra MS C18管柱(5 μm，19 mm × 100 mm)在酸性移動相條件下進行製備型液相層析法-質譜法(LC/MS)。使用Varian儀器(Agilent Technologies)在400 MHz下記錄核磁共振(NMR)譜。使用Biotage Emrys Liberator或Initiator微波執行微波加熱。使用Teledyne Isco Combiflash Rf200d進行管柱層析法。使用Büchi

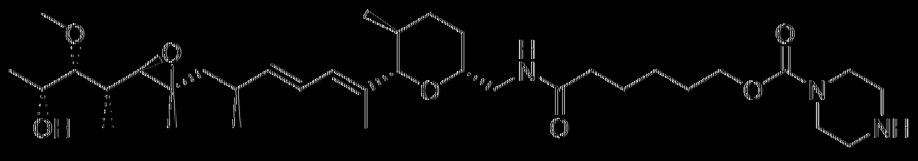
旋轉式蒸發器或Genevac離心式蒸發器進行溶劑移除。

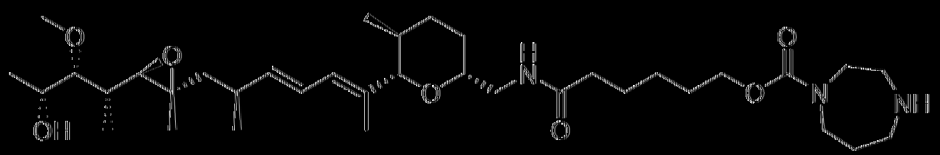
【0592】**術語/縮寫**：如本文所使用之術語「惰性化」係指用諸如氮氣或氬氣之基本上不含水分之惰性氣體置換反應器(例如反應容器、燒瓶、玻璃反應器)中之空氣。本文使用以下縮寫：DCM=二氯甲烷，DMF=二甲基甲醯胺，HPLC=高效液相層析法，KHMDS=雙(三甲基矽烷基)胺基鉀，LC/MS=液相層析法-質譜法，MeOH=甲醇，RT=室溫，TBSCl=氯化第三丁基二甲基矽烷，THF=四氫呋喃，TLC=薄層層析法。使用以下縮寫指示多重性：s=單重態，d=二重態，t=三重態，q=四重態，quint=五重態，sxt=六重態，m=多重態，dd=雙二重態，ddd=雙二倍二重態，dt=雙三重態，br s=寬單重態。

【0593】**LC/MS**：移動相=A (含0.1%甲酸之H2O)及B (含0.1%甲酸之乙腈)。梯度=1.8 min內B 5%至95%。管柱=Waters Acquity BEH C18管柱(1.7 μm，2.1 × 50 mm)。

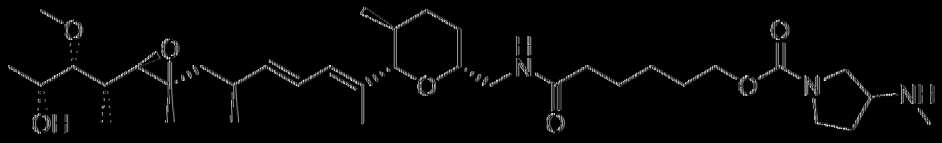
表9. 例示性藥物部分(有效負載物)之結構

有效負載物結構 / ID

II1

II2

II3

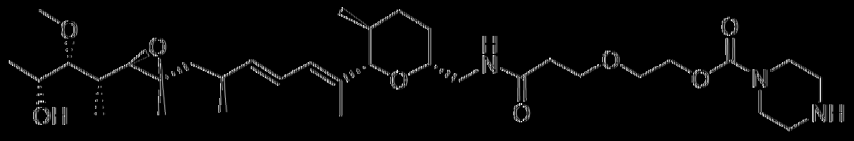
II4

II5



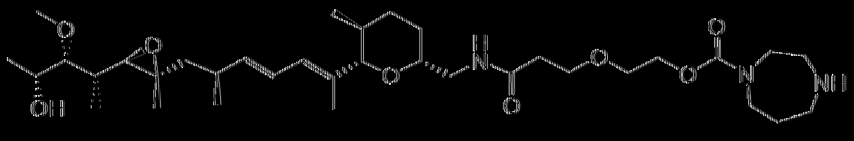
I-6



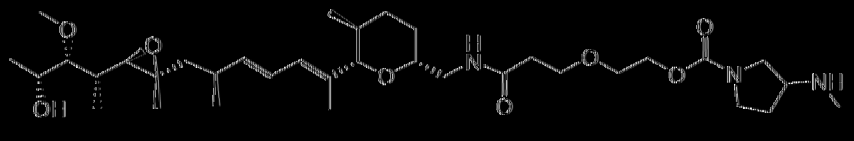
I-7



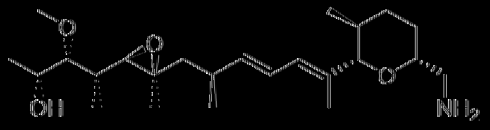
I-8



I-9



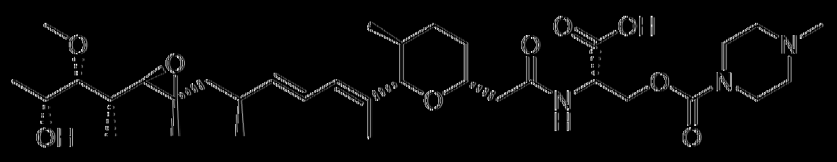
I-10



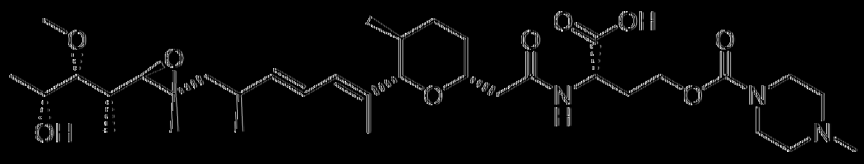
I-11



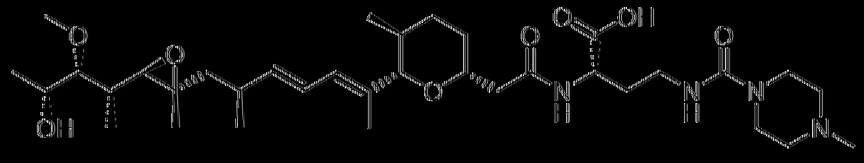
I-12



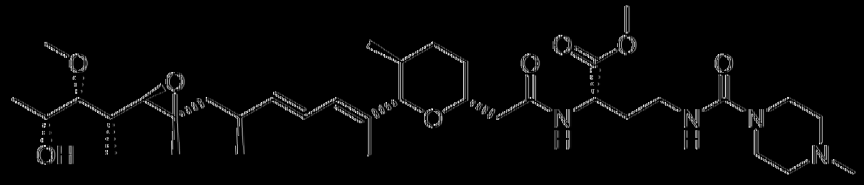
H13



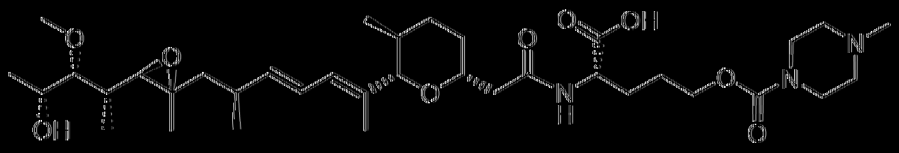
H14



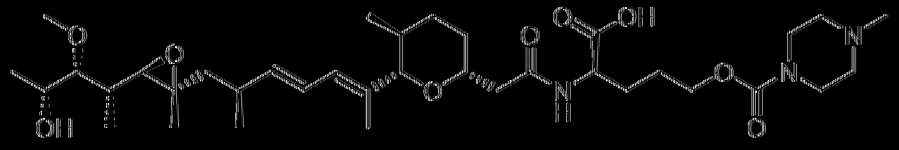
H15



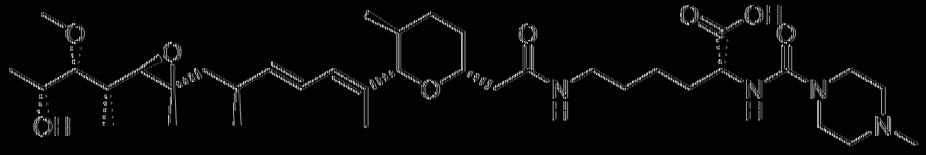
H16



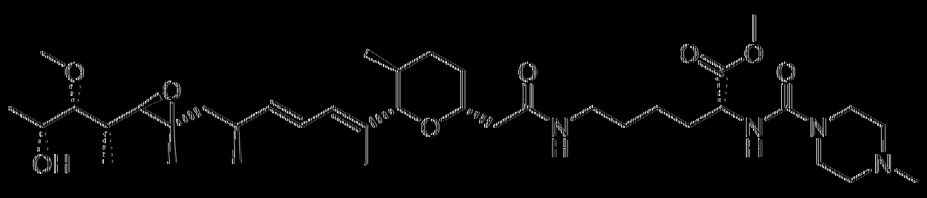
H17



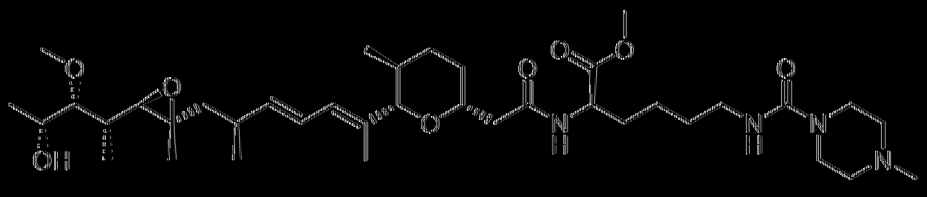
H18



H19



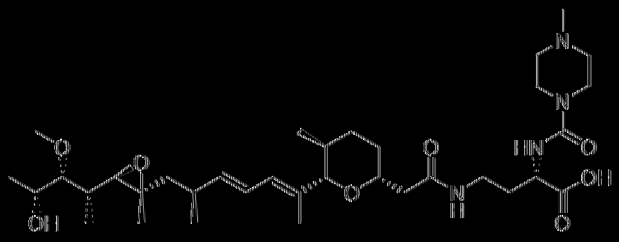
I20



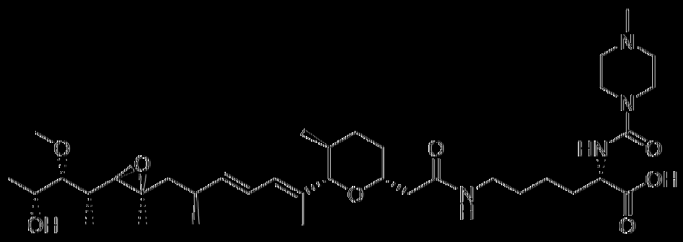
I21



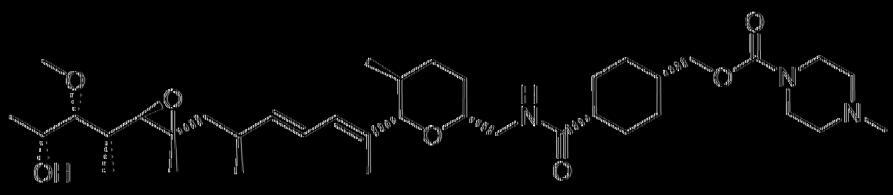
I22



I23

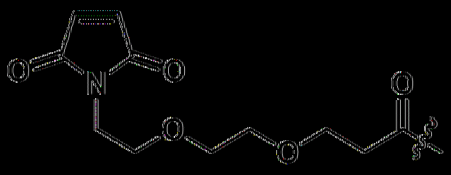
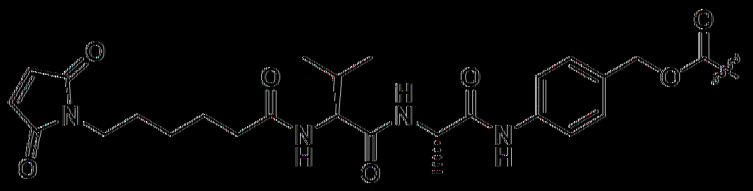
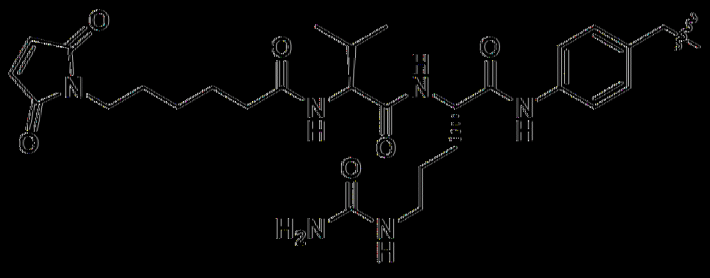


I24



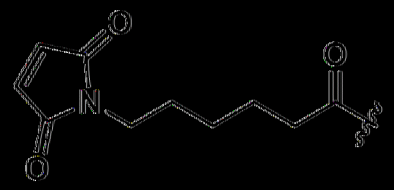
I25

表10. 例示性連接子之結構

連接子結構/ID (IUPAC名稱)
 ADL1 /「MC-Val-Cit-pABC」 (甲酸{4-[(2S)-5-(胺甲醯基胺基)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-1-氧代己-3-甲基]丙醯胺基]戊醯胺基]苯基}甲酯)
 ADL2 /「MC-(PEG)$_2$-CO」 (3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙酸)
 ADL5 /「MC-Val-Ala-pAB」 (6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-[(1S)-2-甲基-1-{[(1S)-1-[(4-甲基苯基)胺甲醯基]乙基]胺甲醯基}丙基]-L-醯胺)
 ADL6 /「MC-Val-Ala-pABC」 (甲酸{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-L-醯胺基]-3-甲基丁醯胺基]丙醯胺基]苯基}甲酯)


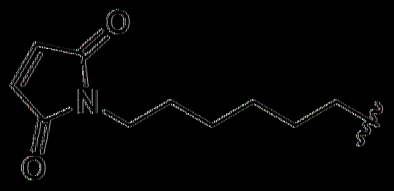
ADL7 / 「MC-Val-Cit-pAB」

(N-[(1S)-1-{[(1S)-4-(脒甲酰肼基)-1-[(4-甲基苯基)脒甲酰基]丁基]脒甲酰基}-2-甲基丙基]-6-(2,5-二侧氧基-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺)



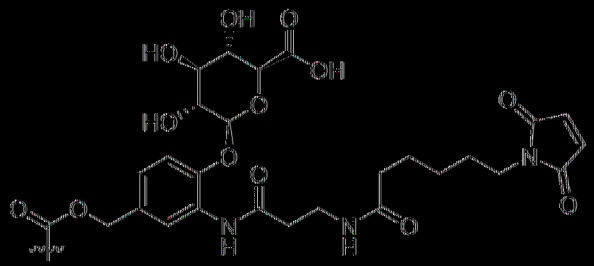
ADL10 / 「MC」

(6-(2,5-二侧氧基-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己醛)



ADL12 / 「Mal-Hex」

(1-己基-2,5-二氢-1H-吡咯-2,5-二酮)



ADL13 / 「MC-β-葡萄糖醛酸」

((2S,3S,4S,5R,6S)-6-(2-{3-[6-(2,5-二侧氧基-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)己酰胺基]丙酰胺基}-4-[(甲酰氧基)甲基]苯氧基)-3,4,5-三羟基噁烷-2-甲酸)



ADL14 / 「Mal-Et」

(1-乙基-2,5-二氢-1H-吡咯-2,5-二酮)

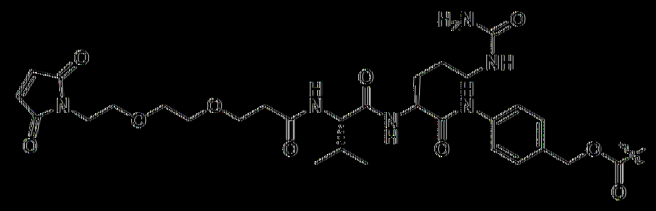


ADL15 / 「Mal-Et-O-Et」

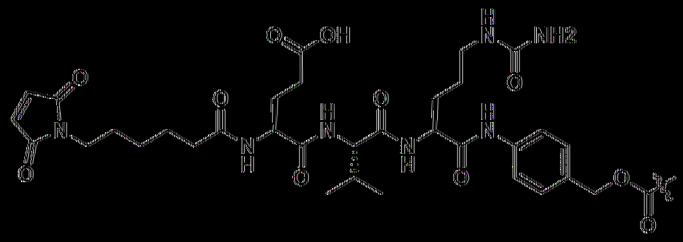
(1-(2-乙氧基乙基)-2,5-二氢-1H-吡咯-2,5-二酮)



ADL21 / 「MC-Ala-Ala-Asp-pABC」

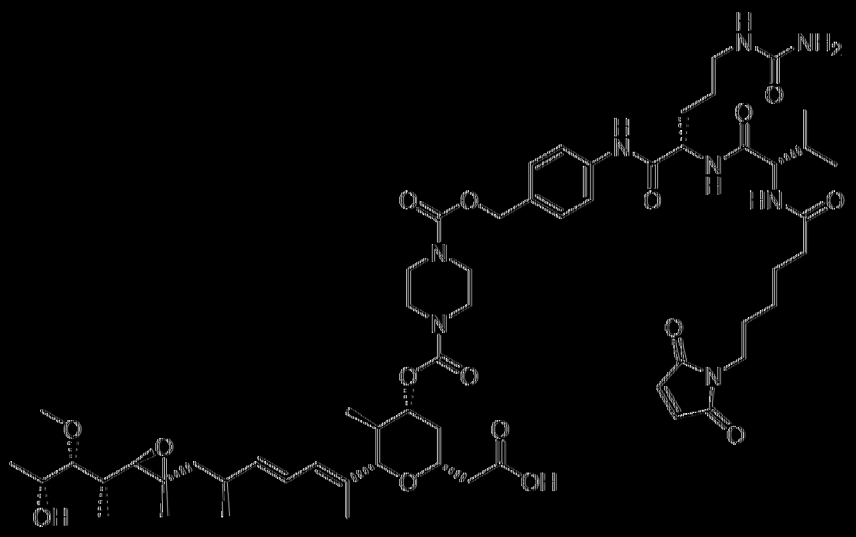


ADL22 / 「MC-(PEG)$_2$-Val-Cit-pABC」

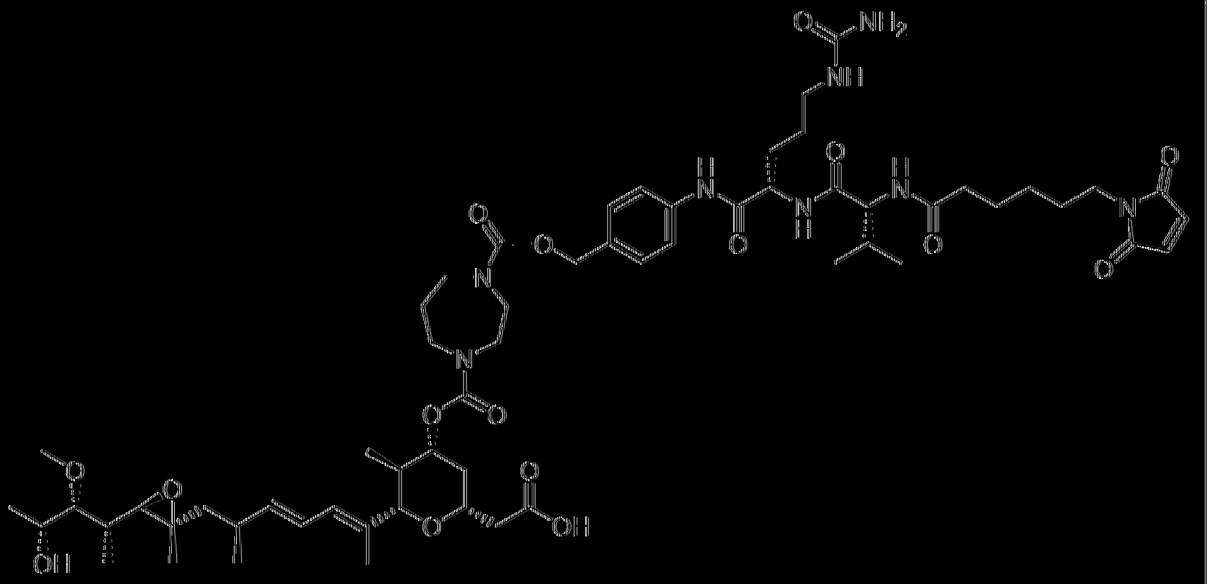


ADL23 / 「MC-Glu-Val-Cit-pABC」

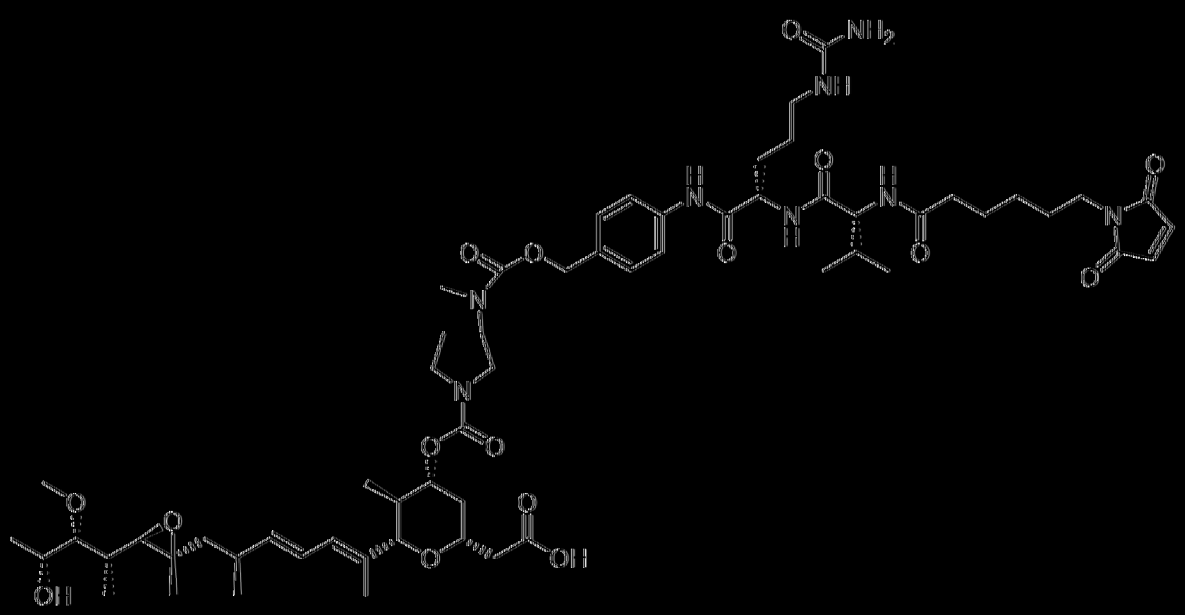
表11. 例示性可結合連接子-有效負載物(L-D)化合物之結構



ADL1-H1



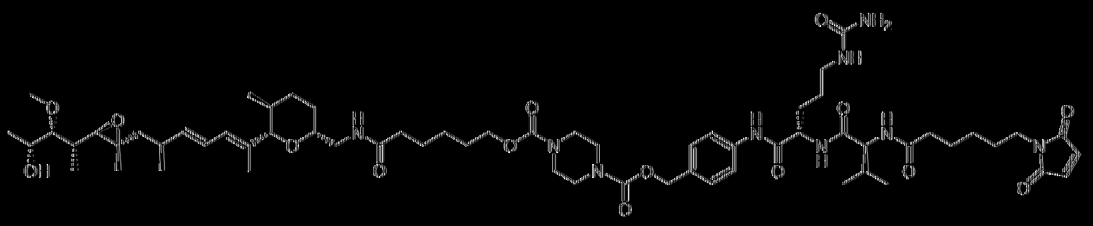
ADL1-H2



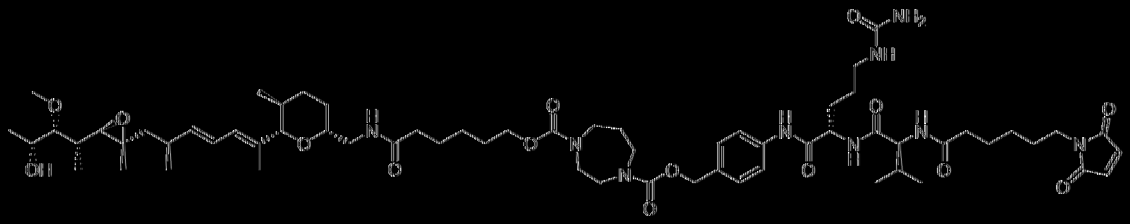
ADL1-H3



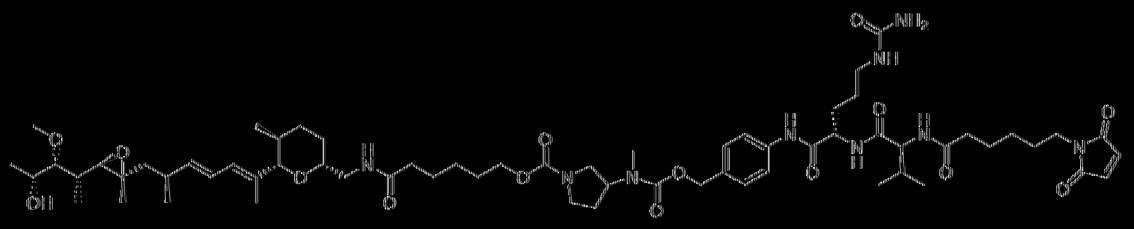
ADL1-H4



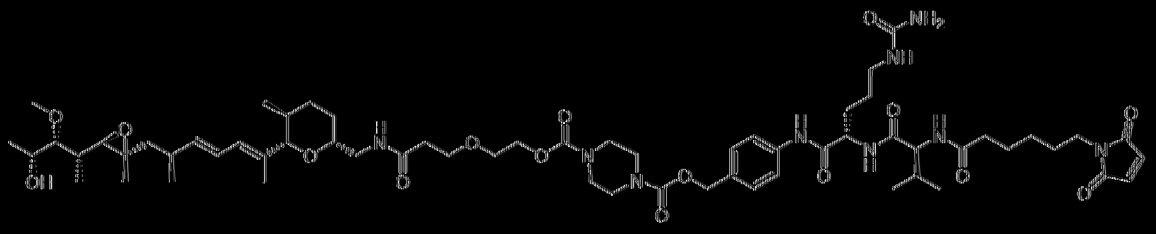
ADL1-H5



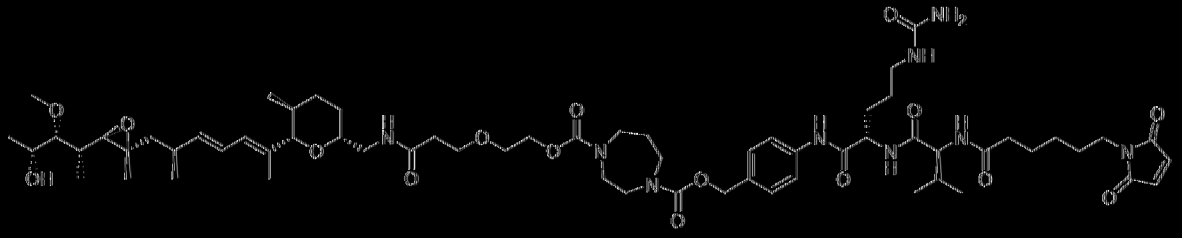
ADL1-H6



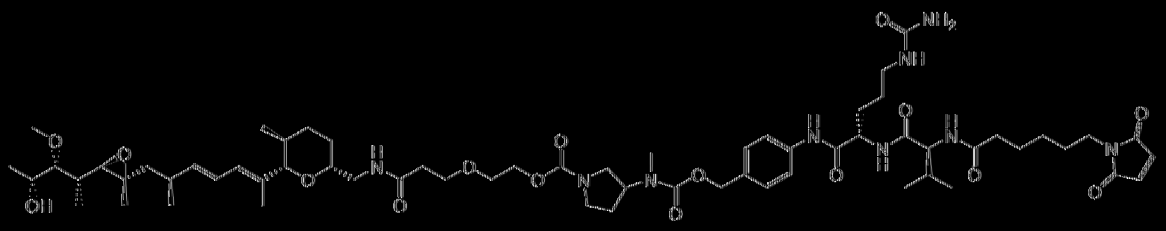
ADI-1-H7



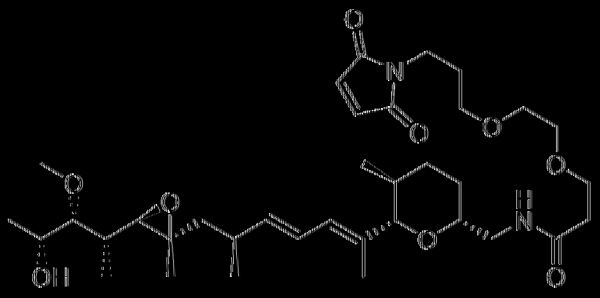
ADI-1-H8



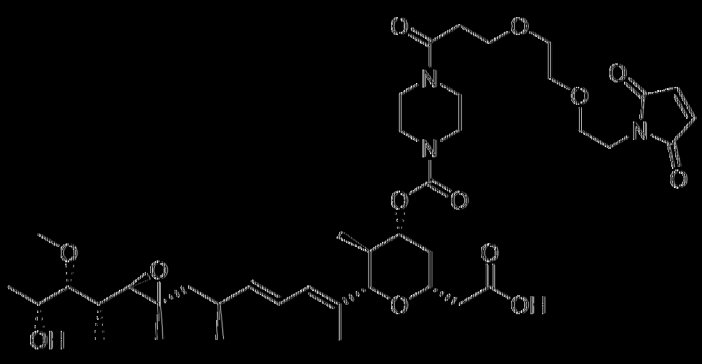
ADI-1-H9



ADI-1-H10



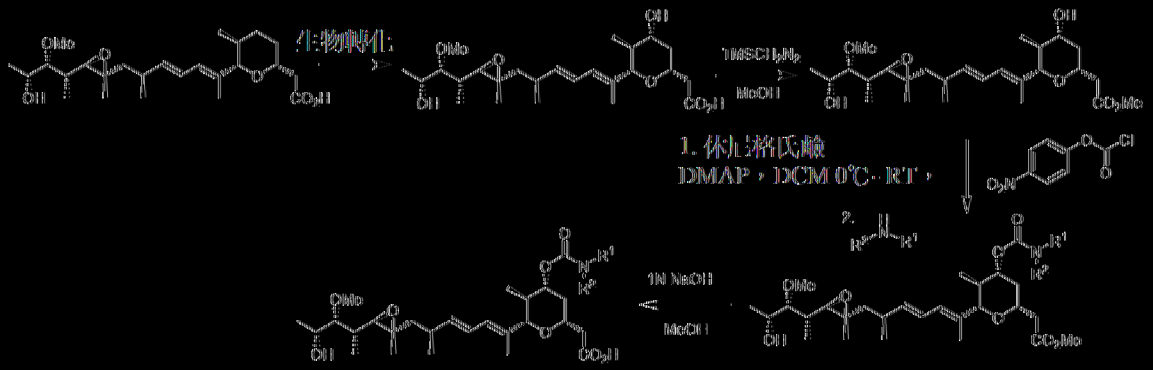
ADI-2-H11



ADL2-H1

1.2 製備ADL1-H1、ADL1-H2、ADL1-H3及ADL1-H4

1.2.1 概述-通用程序1



流程1

[0594] 步驟1：酸酵及生物轉化

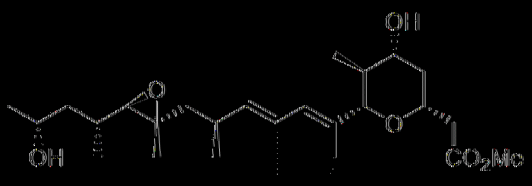
[0595] 將自日本土壤分離之糖絲菌屬(Saccharothrix sp.) EAS-AB4564之20%甘油儲備溶液接種至於含有10 mL SY-32介質(1% D-葡萄糖、1%可溶性澱粉、0.5%大豆胰(bactosoytone)、0.5%酵母提取物、0.2%硫酸銨、0.2% NaCl及2.3% TES，pH為8.0)之試管中之第一種菌培養物中。將第一種菌培養物在往復式搖動器上在28℃下以200 rpm搖動2天。在酸酵之後，將第一種菌培養物接種至於1% v/v Erlenmeyer燒瓶中之無菌第二種菌培養物中，各燒瓶含有100 mL新型SY-32介質。將第二種菌培養物在旋轉式搖動器(Iwashiya bioscience SC-144-GR)上在28℃下以200 rpm搖動2天。在酸酵之後，將250 mL第二培養物接種至含有10 L新

型SY-32介質及2 mL防沫劑PE-M之15 L醱酵槽(Sanki seiki MAT-15)中。在攪拌及充氣(450 rpm，10 L/min)之條件下在28℃下進行醱酵。48小時之後，將培養液以3000 rpm離心10分鐘。在移除上清液之後，將10 L 20 mM磷酸鹽緩衝液(pH 7.0)添加至微生物集結粒中以用於洗滌微生物細胞。將懸浮液以3000 rpm離心10分鐘。在移除洗滌緩衝液之後，將10 L反應緩衝液(1% D-葡萄糖、0.2%六水合氯化鎂、2.3% TES及1.3 g荷伯希二烯，pH為8.0)添加至微生物集結粒中，且將懸浮液轉移至15 L醱酵槽中。在28℃下進行生物轉化達6小時，同時進行攪拌及充氣(450 rpm，10 L/min)。

【0596】**分離5-羥基荷伯希二烯**

【0597】將XAD-7HP (400 g)添加至上文所提及之混合物(10 L)中，且將混合物以300 rpm攪拌(EYELA MAZELA Z) 30分鐘。在攪動之後，使用染色及測試篩(0.25 mm孔徑及0.16 mm線徑)確定XAD-7HP之分離。重複相同操作。藉由1 L丙酮萃取所收集之XAD-7HP，且在真空中移除溶劑。藉由逆相MPLC (Yamazen EPCLC-W-製備型2XY)及梯度溶離(YMC-DispoPack AT ODS-25 120 g，添加有0.1%甲酸之25%至55%乙腈/水，經15分鐘)純化萃取物，得到5-OH荷伯希二烯(397.47 mg)，且轉化產率為29.5%。^{1}H-NMR及質譜資料與文獻一致。參見例如EP0781772 B1及Ghosh等人(2014) Org. Lett. 16:3154-57。

【0598】**步驟2：合成2-((2R,4R,5S,6S)-4-羥基-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙酸甲酯**



[0599] 在0℃下向2-((2R,4R,5S,6S)-4-羥基-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙酸(45 mg，0.099 mmol)於THF (2 mL)及MeOH (0.5 mL)中之溶液中逐滴添加三甲基矽烷基重氮甲烷(於己烷中2.0 M，0.148 mL，0.297 mmol)。隨後，使所得混合物逐漸升溫至室溫且在冷卻至0℃之前攪拌1小時。隨後，添加乙酸(0.017 mL，0.297 mmol)且攪拌30分鐘。隨後，用AcOEt及飽和碳酸氫鈉水溶液稀釋混合物。將有機相分離，用水及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾，且在真空中濃縮。藉由矽膠層析法純化經分離之殘餘物，得到呈無色油狀之2-((2R,4R,5S,6S)-4-羥基-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙酸甲酯(36.1 mg，產率78%)。

[0600] ^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) 0.80 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 0.86 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 1.03 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 1.16 (d, J=6.3 Hz, 3 H) 1.20-1.24 (m, 1H) 1.26 (s, 3H) 1.31-1.34 (m, 3 H) 1.40-1.59 (m, 2 H) 1.63 (br. s., 2 H) 1.69 (s, 3 H) 1.87 (dd, J=13.66, 4.88 Hz, 1 H) 2.03 (ddd, J=10.37, 4.02, 2.20 Hz, 1 H) 2.42 (dd, J=15.61, 6.34 Hz, 2 H) 2.54 (d, J=9.8 Hz, 2 H) 2.62 (dd, J=15.6, 6.3 Hz, 1 H) 2.95 (t, J=5.37 Hz, 1 H) 3.33-3.44 (m, 2 H) 3.52 (s, 3 H) 3.65 (s, 3 H) 3.79-3.90 (m, 2 H) 5.45 (dd, J=15.12, 8.78 Hz, 1 H) 5.88 (d, J=11.22 Hz, 1 H) 6.21 (dd, J=15.12, 10.73 Hz, 1 H)。

【0601】**步驟3：胺基甲酸酯合成**

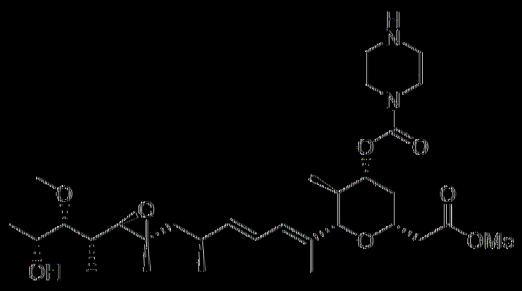
【0602】在0℃ 下 向2-((2R,4R,5S,6S)-4-羥 基-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙酸甲酯(1.0 eq.，.075 mmol)、氯甲酸4-硝苯酯(2 eq.)、休尼格氏鹼(0.065 mL，4.5 eq.)於二氯甲烷(0.04 M)中之混合物中添加DMAP (0.05 eq.)。隨後，使混合物升溫至室溫且攪拌16小時。將哌嗪(10 eq.)添加至混合物中且將所得混合物再攪拌1小時。隨後，用DCM稀釋混合物，且將有機層分離，用水及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾，且在真空中濃縮。將所得殘餘物藉由矽膠層析法純化且隨後藉由胺基官能化矽膠層析法純化，得到所需產物。

【0603】**步驟4：羧酸合成**

【0604】向 獲 自 步 驟3之 甲 酯(1.0 eq.，0.039 mmol)於MeOH (0.02M ml)中之混合物中添加氫氧化鈉水溶液(1.0 eq.，2N)。使混合物升溫至40℃且在彼溫度下攪拌4小時。隨後，使所得混合物冷卻至0℃且用鹽酸水溶液(200 μL，2N)中和。隨後，在真空中濃縮混合物，且藉由製備型HPLC (H2O/MeCN/HCOOH = 80/20/0.1至60/40/0.1)純化所得殘餘物，得到所需產物。

1.2.2 合成H1

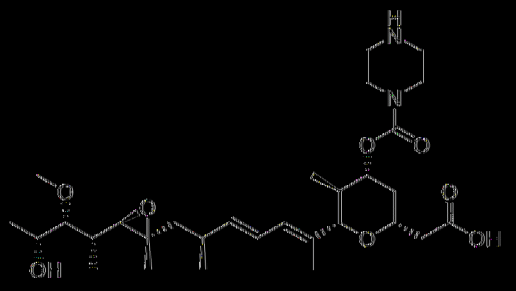
【0605】哌 嗪-1-甲 酸(2S,3S,4R,6R)-2-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-6-(2-甲氧基-2-側氧基乙基)-3-甲基四氫-2H-哌喃-4-基酯



[0606] 根據部分1.2.1之步驟3合成標題化合物，得到淡黃色油(22.3 mg，產率52%)。

[0607] ^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.71 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 0.85 (d, J=6.8 Hz, 3 H) 1.03 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 1.16 (d, J=6.8 Hz, 3 H) 1.20 - 1.25 (m, 1H) 1.26 (s, 3H) 1.37 (q, J=11.55 Hz, 1 H) 1.51 (dt, J=8.90, 6.52 Hz, 1 H) 1.63 - 1.67 (m, 1 H) 1.69 (s, 3H) 1.83 - 2.07 (m, 10 H) 2.11 - 2.17 (m, 1 H) 2.36 - 2.45 (m, 2 H) 2.51 - 2.62 (m, 2 H) 2.81 (s, 4 H) 2.95 (t, J=5.12 Hz, 1 H) 3.40 - 3.49 (m, 4 H) 3.52 (s, 3 H) 3.65 (s, 3 H) 3.80 - 3.94 (m, 2 H) 4.56 (td, J=10.98, 4.39 Hz, 1 H) 5.46 (dd, J=15.12, 8.78 Hz, 1 H) 5.90 (d, J=10.24 Hz, 1 H) 6.21 (dd, J=15.12, 10.73 Hz, 1 H)。

[0608] 2-((2R,4R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基-4-((哌嗪-1-羰基)氧基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙酸(H1)

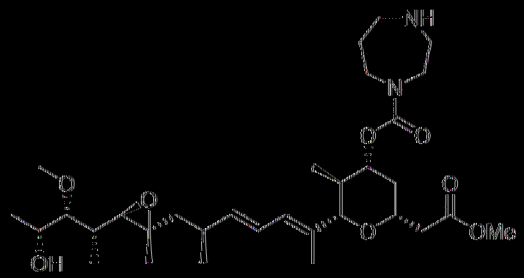


[0609] 根據部分1.2.1之步驟4合成標題化合物，得到無色油(16.0 mg，產率73%)。LC/MS (ESI, m/z), 567.77 $[M+H]^+$。

|0610| ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 0.72 (d, J=6.3 Hz, 3 H) 0.80 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 1.03 (d, J=6.3 Hz, 3 H) 1.08 (d, J=6.3 Hz, 3 H) 1.17 (dd, J=13.2, 11.2 Hz, 1 H) 1.25 (s, 3H) 1.36 (q, J=11.4 Hz, 1 H) 1.45-1.50 (m, 2 H) 1.68 (s, 3 H) 1.90 (dd, J=13.42, 4.15 Hz, 1 H) 2.14 (dd, J=11.71, 3.90 Hz, 1 H) 2.36 - 2.52 (m, 3 H) 2.63 (d, J=9.27 Hz, 1 H) 2.95 (dd, J=5.85, 4.39 Hz, 1 H) 3.17 (br. s, 4 H) 3.46 - 3.53 (m, 4 H) 3.56 - 3.60 (m, 1 H) 3.69 nr. s, 4 H) 3.74 - 3.82 (m, 2 H) 3.85 - 3.92 (m, 1 H) 4.58 (td, J=10.49, 4.39 Hz, 1 H) 5.49 (dd, J=15.12, 8.78 Hz, 1 H) 5.94 (d, J=10.73 Hz, 1 H) 6.28 (dd, J=14.88, 10.98 Hz, 1 H)。

1.2.3 合成H2

|0611| 1,4-二氮呯-1-甲酸(2S,3S,4R,6R)-2-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-6-(2-甲氧基-2-側氧基乙基)-3-甲基四氫-2H-哌喃-4-基酯

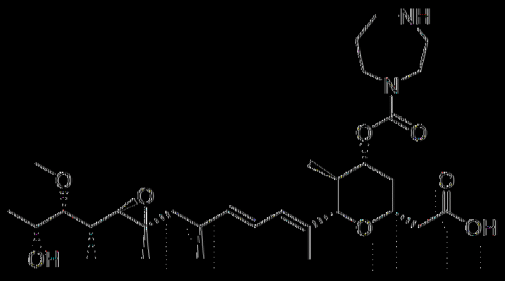


|0612| 根據部分1.2.1之步驟3合成標題化合物(30.3 mg，產率60%)。

|0613| ^{1}H NMR (500 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.71 (d, J=6.11 Hz, 3 H) 0.84 (d, J=6.73 Hz, 3 H) 1.00 - 1.05 (m, 4 H) 1.16 (d, J=6.11 Hz, 3 H) 1.19 - 1.24 (m, 1 H) 1.26 (s, 3 H) 1.32 - 1.40 (m, 1 H) 1.51 (dt, J=9.17, 6.42 Hz, 1 H) 1.63 - 1.67 (m, 1 H) 1.69 (s, 3 H) 1.73 - 1.81 (m,

3 H) 1.83 - 1.90 (m, 2 H) 2.07 - 2.18 (m, 1 H) 2.41 (dd, J =15.28, 6.11 Hz, 2 H) 2.51 - 2.60 (m, 2 H) 2.82 - 2.95 (m, 5 H) 3.41 - 3.49 (m, 4 H) 3.51 (s, 3 H) 3.64 (s, 3 H) 3.79 - 3.95 (m, 2 H) 4.57 (td, J =10.70, 4.28 Hz, 1 H) 5.45 (dd, J =14.98, 8.86 Hz, 1 H) 5.90 (d, J =11.00 Hz, 1 H) 6.20 (dd, J =14.98, 10.70 Hz, 1 H)。

[0614] 2-((2R,4R,5S,6S)-4-((1,4-二氮呯-1-基)氧基)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙酸(H2)



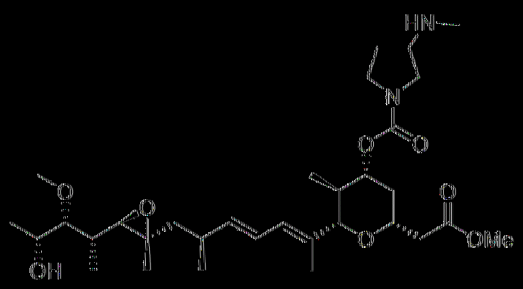
[0615] 根據部分1.2.1之步驟4合成標題化合物，得到無色油(20.9 mg，產率71%)。LC/MS (ESI, m/z), 581.81 $[M+H]^+$。

[0616] ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 0.74 (d, J =6.34 Hz, 3 H) 0.80 (d, J =7.32 Hz, 3 H) 1.03 (d, J =6.34 Hz, 3 H) 1.08 (d, J =6.34 Hz, 3 H) 1.12 - 1.23 (m, 1 H) 1.25 (s, 3 H) 1.31 - 1.41 (m, 1 H) 1.41 - 1.53 (m, 1 H) 1.63 - 1.74 (m, 4 H) 1.84 - 1.93 (m, 1 H) 2.04 (br. s., 2 H) 2.11 - 2.21 (m, 1 H) 2.34 - 2.54 (m, 3 H) 2.63 (d, J =9.27 Hz, 1 H) 2.90 - 2.98 (m, 2 H) 3.21 - 3.36 (m, 7 H) 3.50 (s, 3 H) 3.53 - 3.66 (m, 2 H) 3.69 - 3.79 (m, 3 H) 3.83 - 3.95 (m, 1 H) 4.57 (br. s., 1 H) 5.49 (dd, J =14.88, 9.03 Hz, 1 H) 5.94 (d, J =10.73 Hz, 1 H) 6.24 - 6.36 (m, 1 H)。

1.2.4 合成H3

[0617] 3-(甲基胺基)吡咯啶-1-甲酸(2S,3S,4R,6R)-2-((S,2E,4E) -

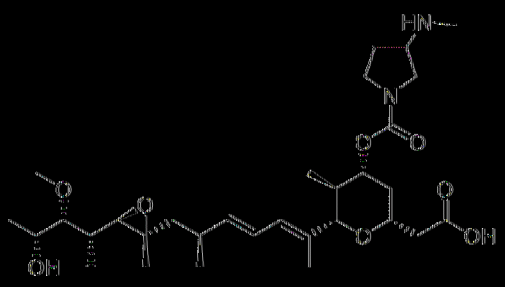
7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-6-(2-甲氧基-2-側氧基乙基)-3-甲基四氫-2H-哌喃-4-基酯



[0618] 根據部分1.2.1之步驟3合成標題化合物，得到無色油(9.6 mg，產率19%)。

[0619] 1H NMR (500 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.71 (d, J=6.3 Hz, 3 H) 0.85 (d, J=6.73 Hz, 3 H) 0.99 - 1.05 (m, 4 H) 1.17 (d, J=6.11 Hz, 4 H) 1.27 (s, 3 H) 1.32 - 1.45 (m, 1 H) 1.49 - 1.68 (m, 6 H) 1.70 (s, 3 H) 1.88 (dd, J=13.45, 4.89 Hz, 1 H) 2.00 - 2.08 (m, 1 H) 2.10 - 2.17 (m, 1 H) 2.38 - 2.47 (m, 5 H) 2.52 - 2.61 (m, 2 H) 2.94 (t, J=5.50 Hz, 1 H) 3.17 - 3.26 (m, 1 H) 3.43 (d, J=10.4 Hz, 2 H) 3.52 (s, 4 H) 3.65 (s, 3 H) 3.78 - 3.86 (m, 1 H) 3.87 - 3.95 (m, 1 H) 4.51 - 4.57 (m, 1 H) 5.45 (dd, J=14.98, 8.86 Hz, 1 H) 5.90 (d, J=10.39 Hz, 1 H) 6.21 (dd, J=14.98, 10.70 Hz, 1 H)。

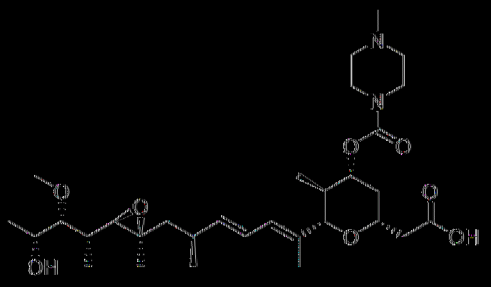
[0620] 2-((2R,4R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基-4-((3-(甲基胺基)吡咯啶-1-羰基)氧基)四氫-2H-哌喃-2-基)乙酸(IB3)



[0621] 根據部分1.2.1之步驟4合成標題化合物，得到無色油(9.8 mg，定量產率)。LC/MS (ESI, m/z), 581.81 $[M+H]^+$。

[0622] ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ ppm 0.71 (d, J = 6.34 Hz, 3 H) 0.85 (d, J = 6.83 Hz, 3 H) 1.02 (d, J = 6.34 Hz, 3 H) 1.16 (d, J = 6.34 Hz, 3 H) 1.22 - 1.24 (m, 1 H) 1.26 (s, 3 H) 1.31 - 1.42 (m, 1 H) 1.45 - 1.66 (m, 4 H) 1.69 (s, 3 H) 1.87 (dd, J = 13.66, 4.88 Hz, 1 H) 2.02 - 2.20 (m, 2 H) 2.38 - 2.51 (m, 4 H) 2.51 - 2.60 (m, 2 H) 2.94 (t, J = 5.12 Hz, 1 H) 3.08 - 3.26 (m, 2 H) 3.33 - 3.40 (m, 1 H) 3.43 (d, J = 9.76 Hz, 2 H) 3.51 (s, 3 H) 3.64 (s, 3 H) 3.83 - 3.94 (m, 1 H) 4.51 - 4.59 (m, 1 H) 5.45 (dd, J = 15.12, 8.78 Hz, 1 H) 5.89 (d, J = 10.73 Hz, 1 H) 6.20 (dd, J = 15.12, 10.73 Hz, 1 H)。

1.2.5 合成H12



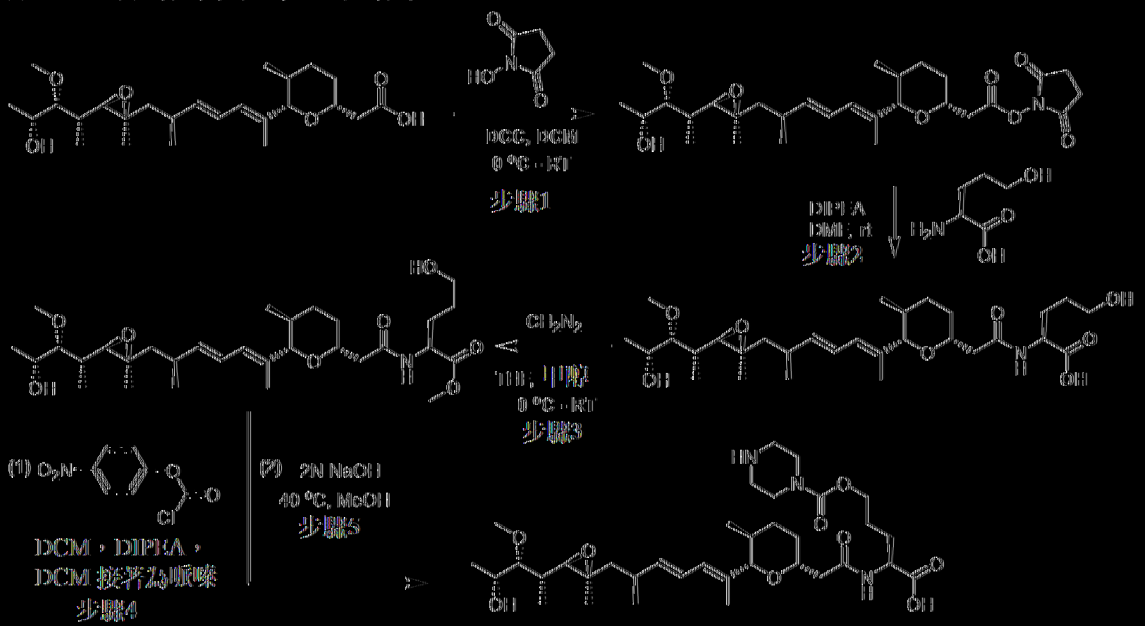
[0623] 根據部分1.2.1之步驟3 (13.8 mg，產率91%)及步驟4 (4.58 mg，產率76%)合成標題化合物，得到白色非晶固體。LC/MS (ESI, m/z), 581.55 $[M+H]^+$。

[0624] 1H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.71 (d, J = 6.83 Hz, 3

H) 0.85 (d, J =6.83 Hz, 3 H) 1.03 (d, J =6.34 Hz, 3 H) 1.16 (d, J =6.34 Hz, 3 H) 1.26 (s, 4 H) 1.48 – 1.57 (m, 1 H) 1.61 – 1.68 (m, 1 H) 1.89 (dd, J =13.66, 4.39 Hz, 1 H) 2.20 (br d, J =8.29 Hz, 1 H) 2.30 (s, 4 H) 2.33 – 2.51 (m, 6 H) 2.52 – 2.57 (m, 2 H) 2.57 – 2.63 (m, 1 H) 2.78 – 3.21 (m, 9 H) 3.35 – 3.66 (m, 9 H) 3.70 – 3.99 (m, 2 H) 4.52 (br d, J =3.90 Hz, 1 H) 5.41 – 5.58 (m, 1 H) 5.92 (br d, J =11.22 Hz, 1 H) 6.13 – 6.29 (m, 1 H)。

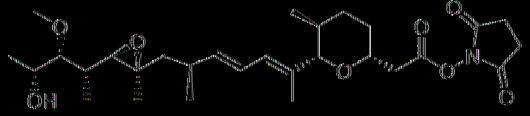
1.2.6 合成H4

[0625] 根據流程2合成H4：



流程2

[0626] 步驟1：2-((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯

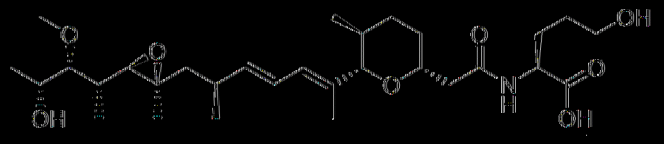


[0627] 在0℃下向2-((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二

烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙酸(荷伯希二烯，300 mg，0.684 mmol)於DCM (10 ml)中之混合物中添加DCC (310 mg，1.505 mmol)，且將所得混合物攪拌15分鐘。隨後，將N-羥基琥珀二醯胺(173 mg，1.505 mmol)添加至混合物中。使所得混合物升溫至室溫且攪拌16小時。隨後，使混合物經由矽藻土過濾，且用DCM洗滌濾餅。在真空中濃縮濾液，且藉由矽膠層析法(12 g，庚烷/AcOEt = 50/50至0/100)純化所得殘餘物，得到呈無色固體狀之標題化合物(357 mg，產率97%)。

[0628] ^{1}H NMR (500 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.66 (d, J = 6.73 Hz, 3 H) 0.83 - 0.89 (m, 3 H) 1.03 (d, J = 6.73 Hz, 3 H) 1.17 (d, J = 6.1 Hz, 3 H) 1.19 - 1.25 (m, 4 H) 1.27 (s, 3H) 1.39 - 1.56 (m, 3 H) 1.59 (s, 3H) 1.70 (s, 3 H) 1.79 - 1.93 (m, 3 H) 2.36 - 2.43 (m, 1 H) 2.52 - 2.55 (m, 2 H) 2.70 (dd, J = 15.28, 7.34 Hz, 1 H) 2.81 (br. s., 3 H) 2.83 - 2.90 (m, 1 H) 2.95 (t, J = 5.50 Hz, 1 H) 3.34 (d, J = 9.78 Hz, 1 H) 3.52 (s, 3 H) 3.79 - 3.87 (m, 2 H) 5.43 (dd, J = 15.28, 9.17 Hz, 1 H) 5.88 (d, J = 11.00 Hz, 1 H) 6.21 - 6.26 (m, 1 H)。

[0629] 步驟2：(S)-5-胍基-2-(2-((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-胍基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙醯胺基)戊酸

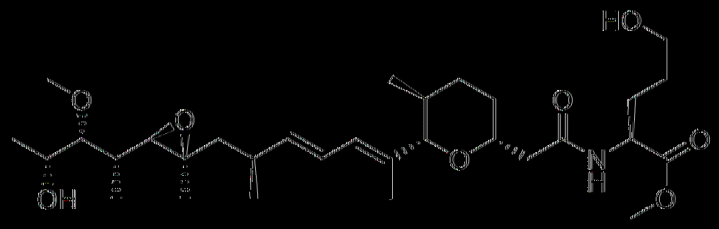


[0630] 向於步驟1中獲得之化合物(40 mg，0.075 mmol)及(S)-2-胺基-5-胍基戊酸(19.88 mg，0.149 mmol)於DMF (2 mL)中之混合物中添加DIPEA (0.065 mL，0.373 mmol)。將所得混合物在室溫下攪拌4小時且

隨後用AcOEt稀釋。將有機層分離，用水及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾，且在真空中濃縮。所得殘餘物不經進一步純化即用於步驟3中。

[0631] ^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.66 (d, J = 6.3 Hz, 3 H) 0.85 (d, J = 6.8 Hz, 3 H) 1.03 (d, J = 6.8 Hz, 3 H) 1.15 (d, J = 6.3 Hz, 3 H) 1.19 - 1.23 (m, 2 H) 1.27 (s, 3H) 1.40 - 1.61 (m, 6H) 1.72 (s, 3H) 1.82 - 1.93 (m, 3 H) 2.37 - 2.43 (m, 2 H) 2.56 (d, J = 9.8 Hz, 1 H) 2.99 (t, J = 5.3 Hz, 1 H) 3.33 (d, J = 9.8 Hz, 1 H) 3.52 (s, 3H) 3.54 - 3.70 (m, 4 H) 3.81 - 3.87 (m, 2 H) 4.56 (d, J = 5.4 Hz, 1 H) 5.48 (dd, J =15.12, 8.29 Hz, 1 H) 5.89 (d, J =11.2 Hz, 1 H) 6.22 (dd, J =15.1, 10.7 Hz, 1 H) 7.30 (d, J = 7.3 Hz 1 H)。

[0632] 步驟3：(S)-5-溴基-2-(2-((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-溴基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙醯胺基)戊酸甲酯

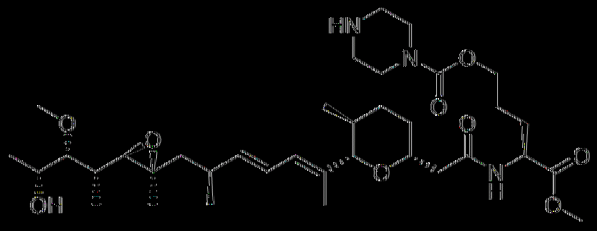


[0633] 在0℃下向獲自步驟2之化合物(35 mg，0.063 mmol)於THF(2 mL)及甲醇(0.5 mL)中之混合物中添加三甲基矽烷基重氮甲烷(於己烷中2.0 M，0.095 mL，0.19 mmol)。隨後，使混合物升溫至室溫且攪拌1小時。隨後，使混合物冷卻至0℃且藉由添加乙酸來淬滅。將所得混合物攪拌30分鐘且隨後在真空中濃縮。藉由矽膠層析法(12 g，庚烷/AcOEt：90/10至30/70)純化所得殘餘物，得到標題化合物(15.7 mg，產率44%)。

[0634] ^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.66 (d, J = 6.8 Hz, 3 H) 0.85 (d, J = 6.8 Hz, 3 H) 1.03 (d, J = 6.3 Hz, 3 H) 1.16 (d, J = 6.8 Hz,

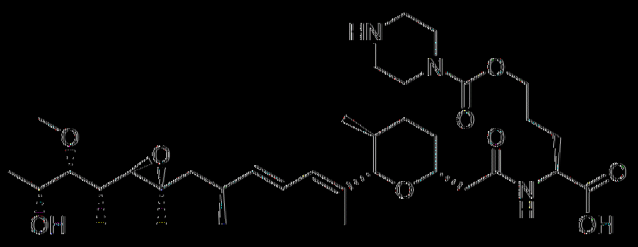
3 H) 1.19 - 1.23 (m, 3 H) 1.27 (s, 3 H) 1.47 - 1.70 (m, 7 H) 1.73 (s, 3 H) 1.77 - 1.94 (m, 6 H) 2.34 - 2.59 (m, 5 H) 2.96 (t, J = 5.4 Hz 1 H) 3.29 - 3.40 (m, 1 H) 3.52 (s, 3 H) 3.56 - 3.66 (m, 3 H) 3.70 (s, 3 H) 3.77 - 3.89 (m, 1 H) 4.61 (td, J =8.05, 4.88 Hz, 1 H) 5.46 (dd, J =15.12, 8.78 Hz, 1 H) 5.89 (d, J =10.73 Hz, 1 H) 6.23 (dd, J =15.12, 10.73 Hz, 1 H) 7.10 (d, J =8.29 Hz, 1 H)。

[0635] 步驟4：哌啶-1-甲酸(S)-4-(2-((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙醯胺基)-5-甲氧基-5-側氧基戊酯



[0636] 在室溫下向於步驟3中產生之化合物(15.7 mg，0.028 mmol)、氫甲酸4-硝苯酯(11.15 mg，0.055 mmol)及休尼格氏鹼(0.024 mL，0.138 mmol)於DCM (1 mL)中之混合物中添加DMAP (1.689 mg，0.014 mmol)。將所得混合物在室溫下攪拌16小時。隨後，添加哌啶(23.82 mg，0.277 mmol)且將混合物再攪拌1小時。隨後，用DCM稀釋混合物，且將有機層分離，用水及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾，且在真空中濃縮。粗殘餘物不經純化即用於下一步驟中。

[0637] 步驟5：(S)-2-(2-((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙醯胺基)-5-((哌啶-1-基)氧基)戊酸(114)

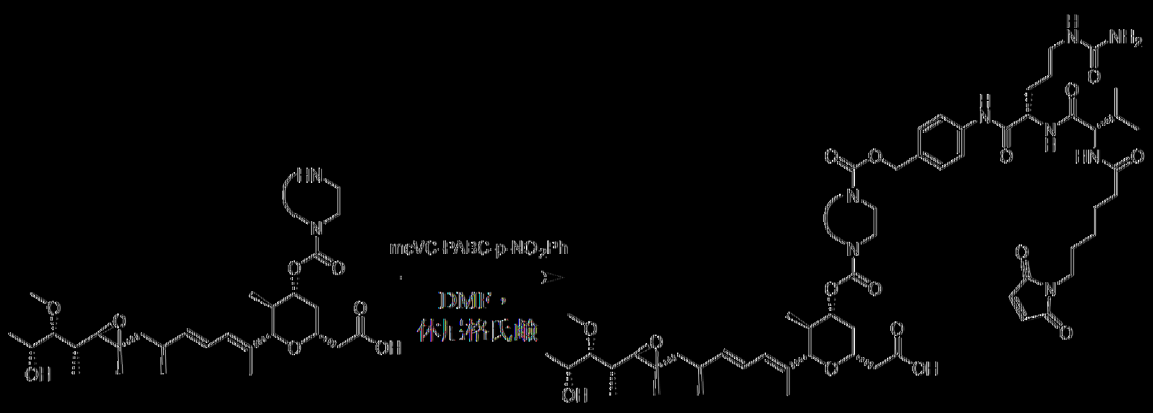


[0638] 向於步驟4中獲得之殘餘物(15 mg，0.022 mmol)及MeOH (1 mL)之混合物中添加氫氧化鈉水溶液(2 N，100 μl，0.20 mmol)。使混合物升溫至40℃且攪拌2小時。隨後，使混合物冷卻至0℃，且添加鹽酸水溶液(100 μL，2N)。隨後，在真空中濃縮所得混合物，且藉由製備型HPLC (H_2O/MeCN/NH_3 aq. = 60/40/0.1至30/70/0.1)純化所得殘餘物，得到呈無色油狀之標題化合物(7.0 mg，產率48%，經步驟4及5)。LC/MS (ESI, m/z), 666.90 $[M+H]^+$。

[0639] ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ ppm 0.65 (d, J = 6.83 Hz, 3 H) 0.81 (d, J = 7.32 Hz, 3 H) 0.98 - 1.04 (m, 3 H) 1.08 (d, J = 6.34 Hz, 3 H) 1.17 (d, J = 11.71 Hz, 1 H) 1.22 - 1.28 (m, 4 H) 1.35 (d, J = 6.83 Hz, 1 H) 1.46 - 1.66 (m, 10 H) 1.70 (s 3 H) 1.82 - 1.94 (m, 3 H) 2.25 - 2.31 (m, 1 H) 2.36 - 2.45 (m, 2 H) 2.61 - 2.65 (m, 1 H) 2.95 (dd, J = 6.10, 4.15 Hz, 1 H) 3.14 (br. s., 2 H) 3.50 (s, 3 H) 3.62 - 3.71 (m, 4 H) 3.76 (t, J = 6.3 Hz, 1 H) 4.03 (dd, J = 4.15, 1.71 Hz, 1 H) 4.29 (br. s., 1 H) 5.45 (d, J = 6.34 Hz, 1 H) 5.87 (d, J = 10.73 Hz, 1 H) 6.27 (dd, J = 15.12, 10.73 Hz, 1 H)。

1.2.7 合成MC-Val-Cit-pABC連接子-有效負載物之通用程序

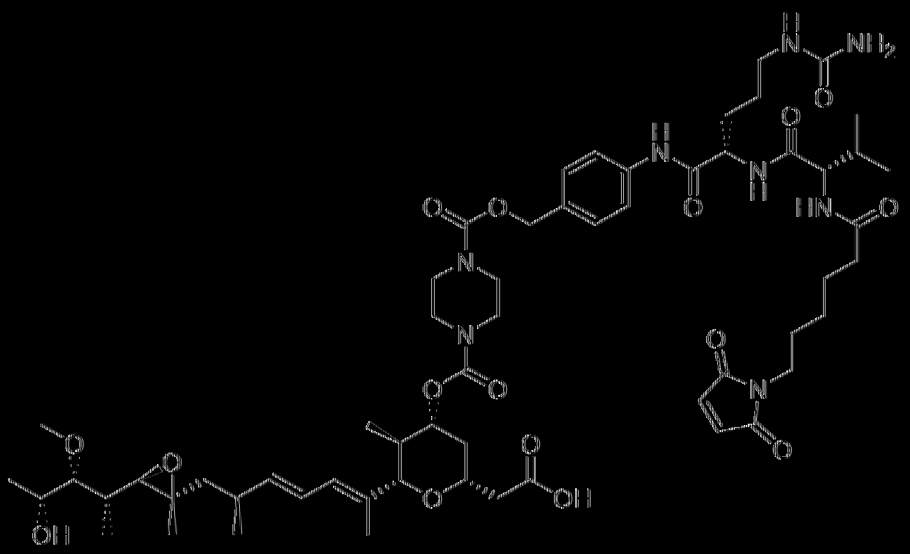
[0640] 合成MC-Val-Cit-pABC連接子-有效負載物之通用程序概述於流程3中。



流程3

[0641] 在室溫下向有效負載物(例如根據前述步驟合成之化合物；1.0 eq.)及(4-硝苯基)碳酸4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基)-3-甲基丁醯胺基)-5-脲基戊醯胺基)苄酯(1.0 eq.)於DMF (0.028 M)中之混合物中添加DIPEA (3.03 eq.)。將所得混合物在室溫下攪拌16小時，在真空中濃縮，且藉由逆相製備型HPLC (H_2O/MeCN/HCOOH，60/40/0.1至40/60/0.1)純化所得殘餘物，得到所需化合物。

1.2.8 合成ADL1-H1

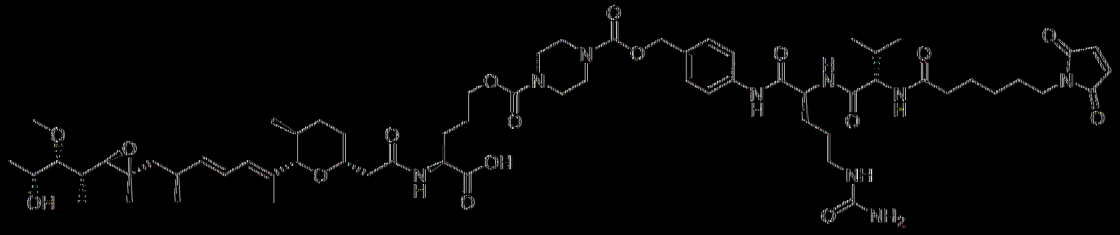


[0642] 根據部分1.2.7中所闡述之通用程序合成ADL1-H1 (2-((2R,4R,5S,6S)-4-((4-(((4-((R)-2-((S)-2-(6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-

吡咯-1-基)己醯胺基)-3-甲基丁醯胺基)-5-脲基戊醯胺基)下基)氧基)羰基)哌啶-1-羰基)氧基)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙酸)以無色油形式獲得(12.7 mg，產率39%)。

[0643] ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 0.71 (d, J=5.85 Hz, 4 H) 0.80 (d, J=6.34 Hz, 3 H) 0.94 (dd, J=6.1, 3.2 Hz, 6H) 1.01 (d, J=6.3 Hz, 3 H) 1.08 (d, J=6.6 Hz, 3 H) 1.13-1.19 (m, 1H) 1.25 (s, 4 H) 1.29-1.36 (m, 2 H) 1.46-1.65 (m, 7H) 1.68 (s, 3H) 1.71-1.76 (m, 1H) 1.84-1.93 (m, 2 H) 2.02-2.15 (m, 2 H) 2.25 (t, J=7.32 Hz, 2 H) 2.37-2.51 (m, 3 H) 2.58-2.67 (m, 2 H) 2.79 (s, 4 H) 2.82-2.96 (m, 2 H) 3.08-3.23 (m, 8 H) 3.39-3.54 (m, 15 H) 3.76 (t, J=6.34 Hz, 1 H) 3.85-3.97 (m, 2 H) 4.13 (d, J=7.32 Hz, 1 H) 4.46-4.58 (m, 2 H) 5.07 (s, 2 H) 5.48 (dd, J=14.88, 9.03 Hz, 1 H) 5.93 (d, J=10.73 Hz, 1 H) 6.28 (dd, J=14.88, 10.98 Hz, 1 H) 7.30 (d, J=7.81 Hz, 2 H) 7.57 (d, J=7.81 Hz, 2 H)。

1.2.9 ADL1-H4

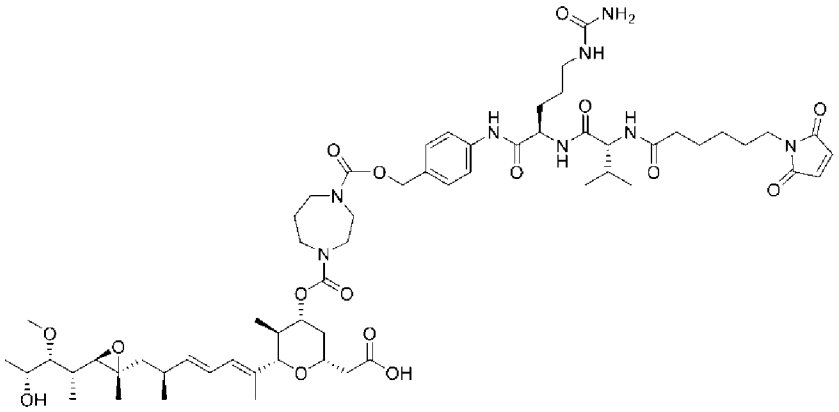


[0644] 根據部分1.2.7中所闡述之通用程序合成ADL1-H4 ((S)-5-((4-(((4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基)-3-甲基丁醯胺基)-5-脲基戊醯胺基)下基)氧基)羰基)哌啶-1-羰基)氧基)-2-(2-((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四

氫-2H-哌嗪-2-基)乙醯胺基)戊酸)且以無色油形式獲得(2.4 mg，產率44%)。

【0645】^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ ppm 0.64 (d, J=6.50 Hz, 3 H) 0.80 (d, J=6.80 Hz, 3 H) 0.84 - 0.89 (m, 1 H) 0.89 - 0.97 (m, 6 H) 0.97 - 1.03 (m, 2 H) 1.08 (d, J=6.34 Hz, 3 H) 1.10 - 1.16 (m, 1 H) 1.22 - 1.25 (m, 3 H) 1.25 - 1.32 (m, 6 H) 1.49 - 1.66 (m, 9 H) 1.69 (s, 3 H) 1.80 - 1.95 (m, 3 H) 1.95 - 2.15 (m, 2 H) 2.25 (t, J=7.20 Hz, 2 H) 2.33 - 2.48 (m, 1 H) 2.62 (d, J=9.76 Hz, 1 H) 2.91 - 2.98 (m, 1 H) 3.04 - 3.13 (m, 1 H) 3.39 - 3.47 (m, 7 H) 3.49 (s, 3 H) 3.63 (s, 1 H) 3.76 (t, J=6.50 Hz, 1 H) 3.99 (br. s, 1 H) 4.14 (d, J=7.20 Hz, 1 H) 4.44 - 4.51 (m, 1 H) 4.44 - 4.51 (m, 1 H) 5.07 (br. s, 2 H) 5.43 (dd, J=15.37, 9.03 Hz, 1 H) 5.82 - 5.90 (m, 1 H) 6.19 - 6.36 (m, 1 H) 6.77 (s, 1 H) 7.30 (d, J=8.29 Hz, 2 H) 7.57 (d, J=8.78 Hz, 2 H)。

1.2.10 ADL1-H2

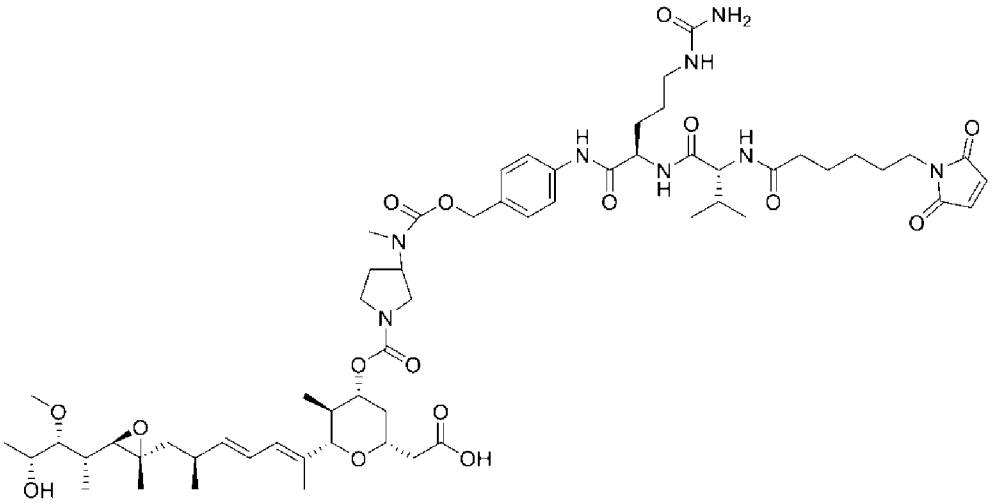


【0646】根據部分1.2.7中所闡述之通用程序合成ADL1-H2 (2-((2R,4R,5S,6S)-4-((4-(((4-((R)-2-((R)-2-(6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基)-3-甲基丁醯胺基)-5-脲基戊醯胺基)苄基)氧基)羰基)-1,4-二氮呯-1-羰基)氧基)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-

2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙酸)且以無色油形式獲得(10.4 mg，產率34%)。

【0647】^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ ppm 0.61 - 0.68 (m, 3 H) 0.79 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 0.94 (t, J=6.10 Hz, 6 H) 1.02 (d, J=6.34 Hz, 3 H) 1.04 - 1.10 (m, 3 H) 1.10 - 1.17 (m, 1 H) 1.19 - 1.31 (m, 8 H) 1.42 - 1.49 (m, 2 H) 1.51 - 1.65 (m, 8 H) 1.67 (s, 3 H) 1.69 - 1.78 (br. s, 3 H) 1.83 - 1.93 (m, 2 H) 1.94 (s, 1 H) 2.00 - 2.10 (m, 2 H) 2.25 (t, J=7.32 Hz, 2 H) 2.30 - 2.38 (m, 1 H) 2.38 - 2.49 (m, 2 H) 2.63 (d, J=9.27 Hz, 1 H) 2.94 (t, J=5.12 Hz, 1 H) 3.05 - 3.21 (m, 2 H) 3.39 - 3.48 (m, 7 H) 3.49 (s, 3 H) 3.52 - 3.63 (m, 5 H) 3.67 - 3.81 (m, 2 H) 3.90 (br. s., 1 H) 4.17 (t, J=7.30 Hz, 1 H) 4.45 - 4.55 (m, 2 H) 5.00 - 5.08 (m, 2 H) 5.48 (dd, J=14.88, 9.51 Hz, 1 H) 5.87 - 5.95 (m, 1 H) 6.23 - 6.32 (m, 1 H) 6.76 (s, J=4.01 Hz, 2 H) 7.28 (q, J=7.81 Hz, 2 H) 7.58 (t, J=7.07 Hz, 2 H)。

1.2.11 ADL1-H3



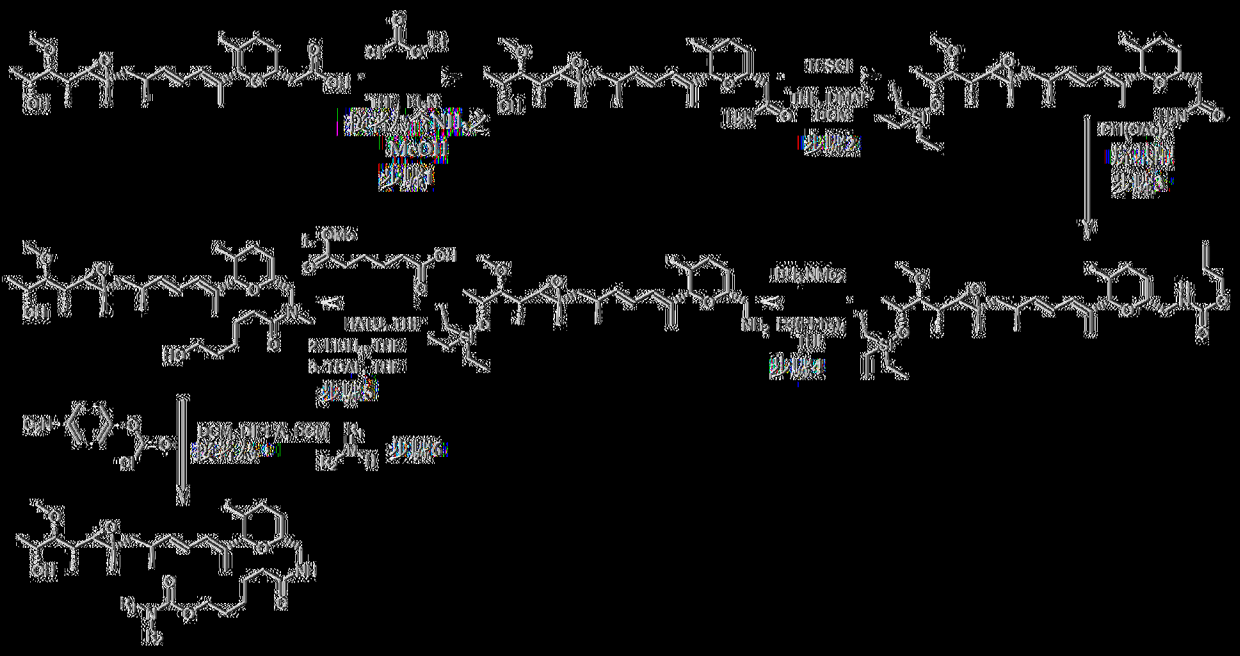
【0648】根據部分1.2.7中所闡述之通用程序合成ADL1-H3 (2-((2R,4R,5S,6S)-4-((3-((((4-((R)-2-((R)-2-(6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-

基)己醯胺基)-3-甲基丁醯胺基)-5-脲基戊醯胺基)苄基)氧基)羰基) (甲基)胺基)吡咯啶-1-羰基)氧基)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙酸)且以無色油形式獲得(18.8 mg，產率37%)。

【0649】^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ ppm 0.72 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 0.80 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 0.90 - 0.97 (m, 6 H) 1.02 (d, J=6.34 Hz, 3 H) 1.08 (d, J=6.34 Hz, 3 H) 1.16 (dd, J=12.93, 11.46 Hz, 1 H) 1.22 - 1.28 (m, 4 H) 1.28 - 1.37 (m, 2 H) 1.44 - 1.67 (m, 8 H) 1.68 (s, 3 H) 1.90 (dd, J=13.42, 4.15 Hz, 2 H) 2.00 - 2.15 (m, 4 H) 2.25 (t, J=7.32 Hz, 2 H) 2.38 - 2.52 (m, 3 H) 2.63 (d, J=9.27 Hz, 1 H) 2.84 (s, 3 H) 2.93 - 2.97 (m, 1 H) 3.08 (d, J=6.34 Hz, 1 H) 3.16 (d, J=6.83 Hz, 1 H) 3.42 - 3.47 (m, 3 H) 3.49 (s, 3 H) 3.51 - 3.57 (m, 2 H) 3.76 (t, J=6.34 Hz, 1 H) 3.85 - 3.92 (m, 1 H) 4.14 - 4.19 (m, 1 H) 4.47 - 4.55 (m, 2 H) 4.71 (d, J=7.32 Hz, 1 H) 5.06 (s, 2 H) 5.48 (dd, J=14.88, 9.03 Hz, 1 H) 5.93 (d, J=11.22 Hz, 1 H) 6.28 (dd, J=14.88, 10.98 Hz, 1 H) 6.76 (s, J=5.13 Hz, 2 H) 7.30 (d, J=8.29 Hz, 2 H) 7.56 (d, J=8.29 Hz, 2 H)。

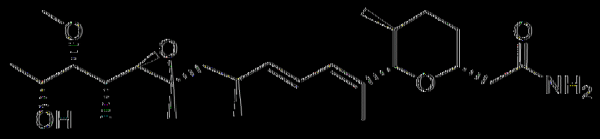
1.3 製備ADL1-H5、ADL1-H6及ADL1-H7

1.3.1 概述 - 通用程序2



流程3

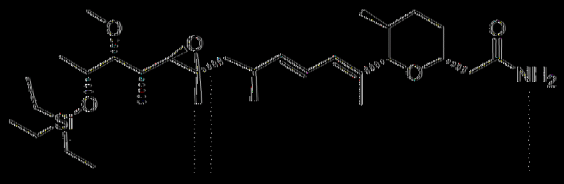
[0650] 步驟1：2-((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙醯胺



[0651] 在0℃下向2-((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙酸(荷伯希二烯，750 mg，1.71 mmol)及三乙胺(1.192 mL，8.55 mmol)於THF (15 mL)中之混合物中添加氯甲酸乙酯(0.767 mL，5.13 mmol)。將所得混合物在0℃下攪拌30 min，且隨後添加含氨之甲醇(7 M，3.66 mL，25.65 mmol)。將所得混合物在相同溫度下再攪拌30分鐘，之後在真空中濃縮且藉由矽膠層析法(庚烷/AcOEt：50/50至0/100，隨後AcOEt：80/20)純化所得殘餘物，得到呈無色固體狀之標題化合物(632 mg，產率85%)。

|0652| ^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.67 (d, J = 6.34 Hz, 3 H) 0.85 (d, J = 6.7 Hz, 3 H) 1.05 (d, J = 6.34 Hz, 3 H) 1.16 (d, J = 6.7 Hz, 3 H) 1.20 - 1.25 (m, 3 H) 1.27 (s, 3 H) 1.34 - 1.45 (m, 1 H) 1.49 - 1.65 (m, 7 H) 1.71 (s, 3 H) 1.82 - 1.97 (m, 2 H) 2.01 - 2.05 (m, 1 H) 2.33 - 2.48 (m, 3 H) 2.54 (d, J = 9.27 Hz, 2 H) 2.95 - 2.99 (m, 1 H) 3.34 (d, J = 10.0 Hz, 1 H) 3.52 (s, 3 H) 3.63 - 3.70 (m, 1 H) 3.80 - 3.87 (m, 1 H) 4.08 - 4.14 (m, 1 H) 5.24 - 5.33 (m, 1 H) 5.47 (dd, J = 15.12, 9.27 Hz, 1 H) 5.90 (d, J = 10.73 Hz, 1 H) 6.22 (dd, J = 14.88, 10.98 Hz, 1 H) 6.61 (br. s, 1 H)。

|0653| 步驟2：2-((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-3-甲氧基-4-((三乙基矽烷基)氧基)戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙醯胺

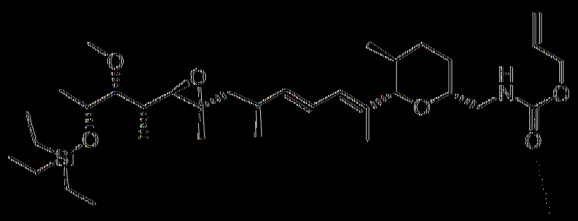


|0654| 在0℃下向於DCM (15 mL)中之自步驟1分離之化合物(719 mg，1.446 mmol)及三乙胺(2.015 mL，14.458 mmol)之混合物中添加三乙基氯矽烷(1090 mg，7.229 mmol)及N,N-二甲基吡啶-4-胺(177 mg，1.446 mmol)。隨後，使所得混合物升溫至室溫且攪拌16小時。在攪拌之後，用DCM (100 mL)稀釋混合物，且將混合物用水及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾，且在真空中濃縮。將所得殘餘物與AcOEt (100 mL)及胺基官能化二氧化矽(50 g)組合。將所得懸浮液在室溫下攪拌16小時且隨後過濾。用AcOEt/MeOH (9/1，150 mL)洗滌濾液。在真空中濃縮合併母液，且藉由矽膠層析法純化經分離之殘餘物(40 g，庚烷/AcOEt = 70/30

至0/100)，得到呈無色固體狀之標題化合物(807 mg，定量)。

[0655] ^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.60 (q, J = 7.8 Hz, 6 H) 0.67 (d, J = 6.3 Hz, 3 H) 0.76 (d, J = 7.32 Hz, 3 H) 0.95 (t, J = 7.8 Hz, 9 H) 1.04 (td, J = 3.3, 1.7 Hz, 6 H) 1.17 - 1.20 (m, 1 H) 1.24 (s, 3 H) 1.34 - 1.46 (m, 2 H) 1.50 - 1.58 (m, 1 H) 1.61 (s, 3 H) 1.70 (s, 3 H) 1.82 - 1.92 (m, 2 H) 2.33 - 2.45 (m, 3 H) 2.63 (d, J = 9.27 Hz, 1 H) 3.05 - 3.09 (m, 1 H), 3.34 (d, J = 9.76 Hz, 1 H) 3.50 (s, 3 H) 3.62 - 3.70 (m, 1 H) 3.85 (t, J = 6.59 Hz, 1 H) 5.29 (br. s., 1 H) 5.48 (dd, J = 14.88, 8.54 Hz, 1 H) 5.90 (d, J = 10.73 Hz, 1 H) 6.21 (dd, J = 14.64, 11.22 Hz, 1 H) 6.63 (br. s., 1 H)。

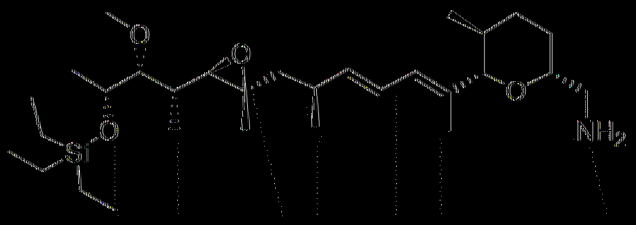
[0656] 步驟3：(((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-3-甲氧基-4-((三乙基矽烷基)氧基)戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲基)胺基甲酸烯丙酯



[0657] 將於步驟2中分離之化合物(807 mg，1.462 mmol)及二乙酸碘化苯(1413 mg，4.387 mmol)於烯丙醇(20 mL)中之混合物加熱至60℃且攪拌3小時。隨後，使混合物冷卻至室溫，且向其中添加AcOEt及碳酸氫鈉水溶液(各100 mL)。分離有機相，且用AcOEt萃取水相。將合併有機萃取物用水及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾，且在真空中濃縮。藉由矽膠層析法(40 g，庚烷/AcOEt = 90/10至50/50)純化所得殘餘物，得到呈無色油狀之標題化合物(663 mg，產率75%)。

|0658| ^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.55 - 0.67 (m, 9 H) 0.77 (d, J = 6.7 Hz, 3 H) 0.87 (t, J = 6.5 Hz, 2 H) 0.95 (t, J = 7.8 Hz, 9 H) 1.04 (t, J = 5.5 Hz, 6 H) 1.16 - 1.32 (m, 9 H) 1.39 - 1.53 (m, 2 H) 1.58 (s, 3 H) 1.69 (s, 3 H) 1.80 - 1.91 (m, 2 H) 2.40 (br. s, 1 H) 2.64 (d, J = 9.27 Hz, 1 H) 3.01 - 3.10 (m, 2 H) 3.26 (d, J = 10.24 Hz, 1 H) 3.35 - 3.44 (m, 2 H) 3.50 (s, 3 H) 3.85 (t, J = 6.5 Hz, 1 H) 4.54 (d, J = 5.37 Hz, 2 H) 5.12 (br. s., 1 H) 5.19 (dt, J = 10.49, 1.10 Hz, 1 H) 5.25 - 5.33 (m, 1 H) 5.45 (dd, J = 15.12, 8.78 Hz, 1 H) 5.85 - 5.97 (m, 2 H) 6.22 (dd, J = 14.88, 10.98 Hz, 1 H)。

|0659| 步驟4：((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-3-甲氧基-4-((三乙基矽烷基)氧基)戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲胺

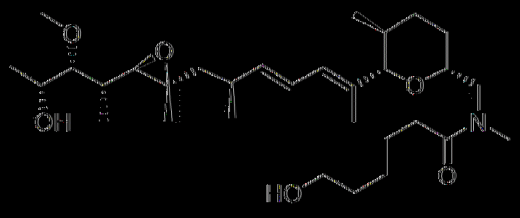


|0660| 向於步驟3中獲得之化合物(663 mg，1.091 mmol)及THF (15 mL，183.065 mmol)之混合物中添加硼烷-二甲胺複合物(643 mg，10.906 mmol)。在用氮氣沖洗容器之後，添加肆(三苯膦)鈀(0) (37.8 mg，0.033 mmol)且將混合物在室溫下攪拌1小時。隨後，用AcOEt及飽和碳酸氫鈉水溶液(各100 mL)稀釋混合物，且分離各相。用AcOEt (50 mL × 3)萃取水層，且隨後將合併有機溶離份用水及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾，且在真空中濃縮。藉由按其官能化矽膠層析法(40 g，庚烷/AcOEt = 70/30至0/100)純化所得殘餘物，得到呈白色固體狀之標題化合

物(525 mg，產率92%)。

[0661] ^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.60 (q, J=7.80 Hz, 6 H) 0.65 (d, J=6.8 Hz, 3 H) 0.77 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 0.95 (t, J=7.8 Hz, 9 H) 1.03 (dd, J=9.0, 6.6 Hz, 6 H) 1.14 - 1.21 (m, 1 H) 1.23 (s, 3 H), 1.30 - 1.34 (m, 1 H) 1.42 (ddd, J=9.4, 7, 2.7 Hz, 1 H) 1.48 - 1.59 (m, 6 H) 1.70 (s, 3 H) 1.81 - 1.91 (m, 2 H) 2.34 - 2.44 (m, 1 H) 2.62 - 2.74 (m, 3 H) 3.06 (dd, J=6.83, 2.93 Hz, 1 H) 3.25 - 3.31 (m, 2 H) 3.50 (s, 3 H) 3.81 - 3.89 (quin, J=6.5 Hz, 1 H) 5.44 (dd, J=15.12, 8.78 Hz, 1 H) 5.88 (d, J=10.73 Hz, 1 H) 6.22 (dd, J=15.12, 10.73 Hz, 1 H)。

[0662] 步驟5：6-烯基N-(((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-烯基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲基)-N-甲基-L-纈胺



[0663] 向於步驟5中分離之化合物(133 mg，0.254 mmol)及6-甲氧基-6-側氧基己酸(0.056 ml，0.381 mmol)於THF (2 mL)中之混合物中添加HATU (145 mg，0.381 mmol)，且隨後將混合物在室溫下攪拌16小時。隨後，添加AcOEt且將所得混合物用水及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾，且在真空中濃縮。將所獲得之殘餘物與THF (2 mL)組合且冷卻至0℃。隨後，添加硼氫化鋰(22.1 mg，1.016 mmol)且將混合物在相同溫度下攪拌30分鐘。隨後，使混合物升溫至室溫且再攪拌1小時。向混合物中添加飽和氯化銨水溶液，接著為AcOEt及水。將有機相分離，用水及鹽水

洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾且在真空中濃縮。隨後，將所得殘餘物溶解於THF (5 mL，61.02 mmol)中，且在0℃下添加TBAF (於THF中之1 M溶液，0.508 mL，0.508 mmol)。將所得混合物在0℃下攪拌30分鐘，隨後升溫至室溫，接著在室溫下再攪拌2小時。隨後，用AcOEt稀釋混合物，且將有機相分離，用水及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾，且在真空中濃縮。藉由矽膠層析法(40 g 二氧化矽，0-100% 庚烷/EtOAc)純化所得殘餘物，得到呈無色油狀之標題化合物(113 mg，產率85%)。

【0664】^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.64 (d, J = 6.3 Hz, 3 H) 0.84 (d, J = 6.8 Hz, 3 H) 1.03 (d, J = 6.3 H, 3 H) 1.14 (d, J = 6.3 H, 3 H) 1.17 - 1.21 (m, 3 H) 1.25 (s, 3 H) 1.27 - 1.40 (m, 3 H) 1.46 - 1.60 (m, 6 H) 1.60 - 1.67 (m, 2 H) 1.69 (s, 3 H) 1.77 - 1.92 (m, 3 H) 2.15 (t, J = 7.3 Hz, 2 H) 2.40 (br. s, 1 H) 2.53 (d, J=9.76 Hz, 2 H) 2.92 - 3.02 (m, 2 H) 3.26 (d, J=9.76 Hz, 1 H) 3.34 - 3.45 (m, 1 H) 3.50 (s, 3 H) 3.52 - 3.62 (m, 3 H) 3.80 - 3.83 (m, 1 H) 5.45 (dd, J=15.12, 8.78 Hz, 1 H) 5.89 (d, J=10.73 Hz, 1 H) 5.96 (br. s, 1 H) 6.23 (dd, J=14.88, 10.98 Hz, 1 H)。

【0665】步驟6：合成胺基甲酸酯通用程序

【0666】向自步驟5分離之化合物(28.3 mg，0.054 mmol)、氯甲酸4-硝苯酯(2.0 eq.)及休尼格氏鹼 (5 eq.)於DCM (0.05 M)中之混合物中添加DMAP (0.5 eq.)。將所得混合物在室溫下攪拌16小時。隨後，添加胺(2.0 eq.)，且將混合物再攪拌1小時。隨後，用二氯甲烷稀釋混合物，且將有機層分離，用水及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾，且在真空中濃縮。隨後，藉由胺基官能化矽膠層析法純化所得殘餘物，得到所需化合

物。

1.3.2　合成ADL1-H5

1.3.2.1 合成H5

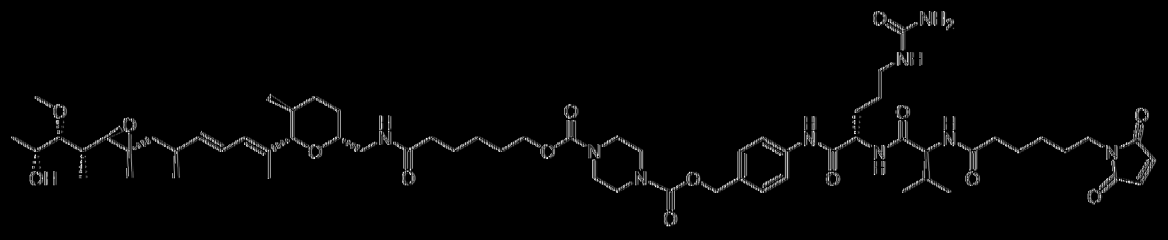


[0667] 哌啶-1-甲酸6-(((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲基)胺基)-6-側氧基己酯(H5)

[0668] 採用部分1.3.1中所闡述之步驟1-6，得到呈無色油狀之標題化合物(24.5 mg，產率71%)。LC/MS (ESI, m/z), 636.89 $[M+H]^+$。

[0669] ^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.65 (d, J = 6.34 Hz, 3 H) 0.85 (d, J = 6.83 Hz, 3 H) 0.95 (dd, J = 16.8, 6.6 Hz, 1 H) 1.03 (d, J = 6.34 Hz, 3 H) 1.15 (d, J = 6.34 Hz, 3 H) 1.18 - 1.25 (m, 2 H) 1.26 (s, 3 H) 1.29 - 1.40 (m, 3 H) 1.47 - 1.69 (m, 8 H) 1.70 (s, 3 H) 1.79 - 1.92 (m, 2 H) 1.92 - 2.07 (m, 4 H) 2.15 (t, J = 7.56 Hz, 2 H) 2.36 - 2.45 (m, 1 H) 2.54 (d, J = 9.27 Hz, 1 H) 2.80 (br. s., 4 H) 2.89 - 3.04 (m, 2 H) 3.27 (d, J = 10.24 Hz, 1 H) 3.35 - 3.46 (m, 5 H) 3.51 (s, 3 H) 3.52 - 3.58 (m, 2 H) 3.83 (t, J = 6.34 Hz, 1 H) 4.05 (t, J = 6.34 Hz, 2 H) 5.46 (dd, J = 15.12, 8.78 Hz, 1 H) 5.82 - 5.95 (m, 2 H) 6.24 (dd, J = 15.12, 10.73 Hz, 1 H)。

1.3.2.2 合成ADL1-H5



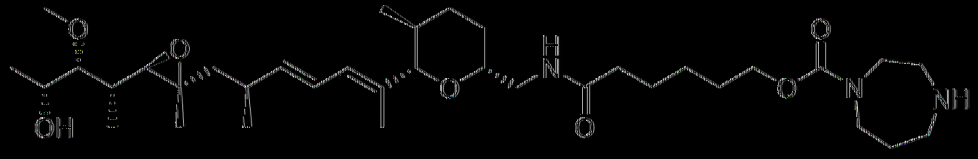
[0670] 1-(4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基)-3-甲基丁醯胺基)-5-脲基戊醯胺基)苄基) 4-(6-((((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲基)胺基)-6-側氧基己基) 哌嗪-1,4-二甲酸酯(ADL1-H5)

[0671] 採用部分1.2.7中所闡述之程序，得到呈無色油狀之標題化合物(25.8 mg，產率54%)。

[0672] ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 0.65 (d, J 6.83 Hz, 3 H) 0.80 (d, J 6.83 Hz, 3 H) 0.94 (dd, J 6.34, 4.39 Hz, 7 H) 1.01 (d, J 6.34 Hz, 3 H) 1.07 (d, J 6.30 Hz, 4 H) 1.11 - 1.38 (m, 14 H) 1.45 - 1.66 (m, 14 H) 1.69 (s, 3 H) 1.70 - 1.79 (m, 1 H) 1.80 - 1.92 (m, 3 H) 2.00 - 2.09 (m, 1 H) 2.17 (t, J 7.07 Hz, 2 H) 2.25 (t, J 7.32 Hz, 3 H) 2.42 (br. s., 1 H) 2.63 (d, J 9.76 Hz, 1 H) 2.95 (dd, J 5.85, 4.39 Hz, 1 H) 3.02 - 3.11 (m, 2 H) 3.17 (d, J 6.83 Hz, 1 H) 3.37 - 3.48 (m, 14 H) 3.50 (s, 4 H) 3.53 (t, J 4.50 Hz, 2 H) 3.63 - 3.67 (m, 2 H) 3.76 (t, J 6.34 Hz, 1 H) 4.05 (t, J 6.34 Hz, 3 H) 4.14 (d, J 7.32 Hz, 1 H) 4.48 (dd, J 8.78, 4.88 Hz, 1 H) 5.06 (s, 2 H) 5.46 (dd, J 15.12, 8.78 Hz, 1 H) 5.90 (d, J 10.73 Hz, 1 H) 6.20 - 6.38 (m, 1 H) 6.76 (s 2 H) 7.30 (d, J 8.29 Hz, 2 H) 7.57 (d, J 8.29 Hz, 2 H)。

1.3.3 合成ADL1-H6

1.3.3.1 合成H6

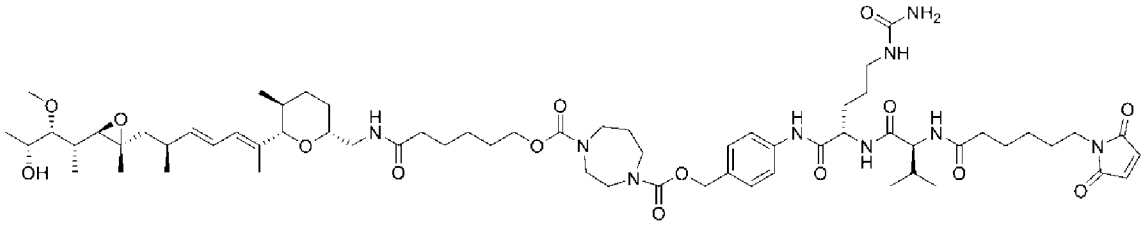


【0673】**1,4-二氮吡-1-甲酸6-((((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R) -3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲基)胺基)-6-側氧基己酯(H6)**

【0674】採用部分1.3.1中所闡述之步驟1-6，得到呈無色油狀之標題化合物(15.3 mg，產率43%)。LC/MS (ESI, m/z), 650.92$[M+H]^+$。

【0675】^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.65 (d, J=6.34 Hz, 3 H) 0.85 (d, J=6.34 Hz, 3 H) 0.93 - 1.00 (m, 1 H) 1.03 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 1.16 (d, J = 6.83 Hz, 3 H) 1.18 - 1.24 (m, 2 H) 1.27 (s, 3 H) 1.29 - 1.41 (m, 3 H) 1.49 - 1.55 (m, 2 H) 1.59 - 1.68 (m, 5 H) 1.71 (s, 3 H) 1.73 - 1.92 (m, 7 H) 2.16 (t, J=7.56 Hz, 2 H) 2.36 - 2.46 (m, 1 H) 2.54 (d, J=9.27 Hz, 1 H) 2.81 - 2.93 (m, 4 H) 2.93 - 3.04 (m, 2 H) 3.27 (d, J=9.76 Hz, 1 H) 3.37 - 3.49 (m, 4 H) 3.52 (s, 3 H) 3.54 - 3.59 (m, 2 H) 3.79 - 3.88 (m, 1 H) 4.05 (t, J=6.34 Hz, 2 H) 5.46 (dd, J=15.12, 8.78 Hz, 1 H) 5.82 - 5.96 (m, 2 H) 6.24 (dd, J=15.12, 10.73 Hz, 1 H)。

1.3.3.2 合成ADL1-H6



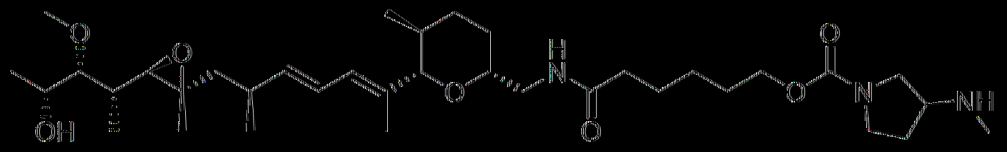
【0676】**1-(4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基)-3-甲基丁醯胺基)-5-脲基戊醯胺基)苄基) 4-(6-((((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲基)胺基)-6-側氧基己基) 1,4-二氮吡-1,4-二甲酸酯(ADL-H6)**

[0677] 採用部分1.2.7中所闡述之程序，得到呈無色油狀之標題化合物(11.6 mg，產率52%)。

[0678] ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 0.65 (d, J = 6.34 Hz, 3 H) 0.80 (d, J = 6.83 Hz , 2 H) 0.94 (dd, J 6.83, 4.39 Hz, 6 H) 0.98 - 1.16 (m, 9 H) 1.19 - 1.36 (m, 9 H) 1.44 - 1.65 (m, 14 H) 1.69 (s, 3 H) 1.71 - 1.78 (m, 4 H) 1.80 - 1.92 (m, 3 H) 2.00 - 2.10 (m, 1 H) 2.11 - 2.19 (m, 2 H) 2.25 (t, J 7.56 Hz, 3 H) 3.03 - 3.21 (m, 4 H) 3.36 - 3.49 (m, 10 H) 3.49 - 3.51 (m, 3 H) 3.51 - 3.57 (m, 12 H) 3.62 - 3.67 (m, 8 H) 3.70 - 3.82 (m, 1 H) 3.97 - 4.05 (m, 2 H) 4.14 (d, J 7.32 Hz, 1 H) 4.46 - 4.52 (m, 1 H) 5.00 - 5.08 (m, 3 H) 5.35 - 5.52 (m, 1 H) 5.35 - 5.52 (m, 1 H) 5.87 - 5.95 (m, 1 H) 6.24 - 6.33 (m, 1 H) 6.76 (s, 2 H) 7.26 - 7.37 (m, 3 H) 7.57 (d, J 7.32 Hz, 3 H) 8.19 - 8.24 (m, 1 H)。

1.3.4 合成ADL1-117

1.3.4.1 合成117



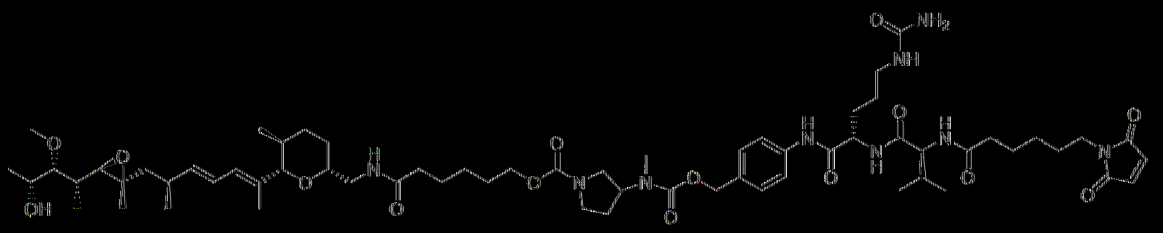
[0679] 3-(甲基胺基)吡咯啶-1-甲酸6-((((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲基)胺基)-6-側氧基己酯(117)

[0680] 採用部分1.3.1中所闡述之步驟1-6，得到呈無色油狀之標題化合物(26.6 mg，產率76%)。LC/MS (ESI, m/z), 650.88[M+H]$^+$。

[0681] ^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.65 (d, J 6.34 Hz, 3

H) 0.85 (d, J=6.34 Hz, 3 H) 0.93-0.99 (m, 1 H) 1.04 (d, J=6.34 Hz, 3 H) 1.16 (dd, J=6.34, 0.98 Hz, 3 H) 1.19 - 1.22 (m, 2 H) 1.27 (s, 3 H) 1.31 - 1.41 (m, 3 H) 1.47 - 1.67 (m, 8 H) 1.70 (s, 4 H) 1.80 - 1.87 (m, 2 H) 1.89 (d, J=3.90 Hz, 1 H) 2.03 (dd, J=12.68, 6.34 Hz, 1 H) 2.15 (t, J=7.32 Hz, 2 H) 2.41 (m, 3 H) 2.54 (d, J=9.76 Hz, 1 H) 2.94 - 3.13 (m, 2 H) 3.20 (m, 1 H) 3.27 (d, J=9.76 Hz, 1 H) 3.35 - 3.50 (m, 3 H) 3.51 (s, 3 H) 3.53 - 3.60 (m, 2 H) 3.79 - 3.88 (m, 1 H) 4.04 (t, J=6.34 Hz, 2 H) 5.46 (dd, J=15.12, 8.78 Hz, 1 H) 5.82 - 5.96 (m, 2 H) 6.24 (dd, J=14.88, 10.98 Hz, 1 H)。

1.3.4.2合成ADL1-H7



[0682] 6-((((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲基)胺基)-6-側氧基己基 3-((((4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基)-3-甲基丁醯胺基)-5-脲基戊醯胺基)苄基)氧基)羰基)(甲基)胺基)吡咯啶-1-甲酸酯(ADL1-H7)

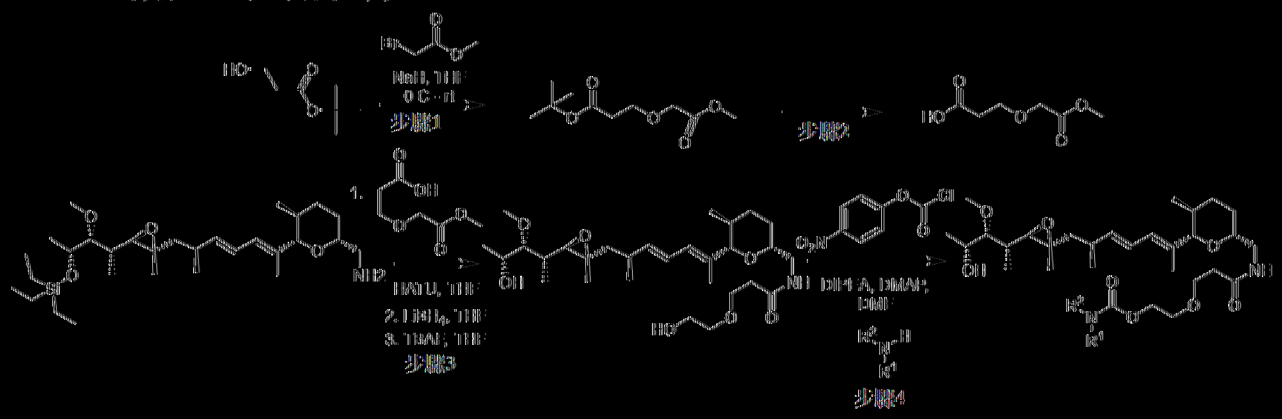
[0683] 採用部分1.2.7中所闡述之程序(將混合物攪拌16小時而非2小時)，得到呈無色油狀之標題化合物(20.1 mg，產率54%)。

[0684] ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 0.65 (d, J=6.30 Hz, 3 H) 0.80 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 0.94 (dd, J=6.59, 4.63 Hz, 7 H) 1.01 (d,

J 6.34 Hz, 3 H) 1.08 (d, J 6.34 Hz, 4 H) 1.11 – 1.23 (m, 4 H) 1.23 – 1.27 (m, 6 H) 1.27 – 1.38 (m, 5 H) 1.43 – 1.65 (m, 14 H) 1.69 (s, 3 H) 1.70 – 1.77 (m, 1 H) 1.80 – 1.92 (m, 3 H) 2.00 – 2.09 (m, 3 H) 2.17 (t, J 7.32 Hz, 2 H) 2.25 (t, J 7.30 Hz, 3 H) 2.38 – 2.46 (m, 1 H) 2.63 (d, J 9.27 Hz, 1 H) 2.83 (s, 3 H) 2.84 (s, 3 H) 2.92 – 2.96 (m, 1 H) 2.97 (s, 3 H) 3.02 – 3.21 (m, 4 H) 3.30 – 3.42 (m, 3 H) 3.45 (t, J 7.07 Hz, 3 H) 3.50 (s, 3 H) 3.51 – 3.58 (m, 3 H) 3.72 – 3.80 (m, 1 H) 4.03 (t, J 6.34 Hz, 2 H) 4.15 (d, J 7.32 Hz, 1 H) 4.49 (dd, J 9.03, 5.12 Hz, 1 H) 5.06 (s, 2 H) 5.46 (dd, J 14.88, 9.03 Hz, 1 H) 5.90 (d, J 11.22 Hz, 1 H) 6.28 (dd, J 14.88, 10.98 Hz, 1 H) 6.76 (s, 2 H) 7.30 (d, J 5.90 Hz, 2 H) 7.57 (d, J 8.29 Hz, 2 H) 7.95 (s, 1 H)。

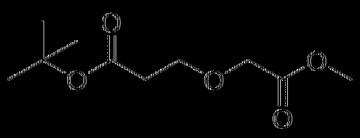
1.4 合成ADL1-H8、ADL1-H9及ADL1-H10

1.4.1 概述 - 通用程序4



流程4

[0685] 步驟1：3-氧雜內酸第三丁酯

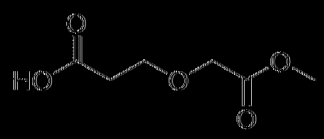


[0686] 在0℃下向氫化鈉(269 mg，6.157 mmol)於DMF (30 mL)

中之混合物中添加3-羥基丙酸第三丁酯(0.909 mL，6.157 mmol)。將混合物在0℃下攪拌1小時且隨後逐滴添加溴乙酸甲酯(0.624 mL，6.157 mmol)。使所得混合物升溫至室溫且在室溫下攪拌16小時。隨後，添加飽和氯化銨水溶液且用AcOEt萃取混合物。隨後，將合併有機萃取物用水及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾，且在真空中濃縮。藉由矽膠層析法(80 g，庚烷/AcOEt：80/20至50/50)純化經分離之殘餘物，得到呈無色油狀之標題化合物(97 mg，產率77%)。

[0687] ^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 1.42 (s, 9 H) 2.49 - 2.58 (m, 2 H) 3.41 (s, 3 H) 3.69 - 3.79 (m, 2 H) 4.05 - 4.13 (m, 2 H)。

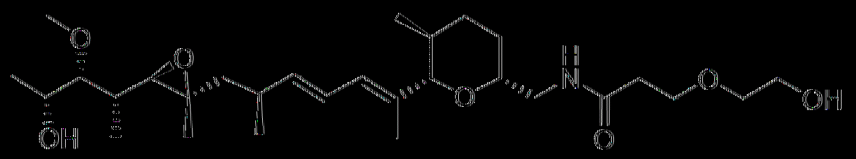
[0688] 步驟2：3-(2-甲氧基-2-側氧基乙氧基)丙酸



[0689] 將3-(2-甲氧基-2-側氧基乙氧基)丙酸第三丁酯(66 mg，0.302 mmol)於二氯甲烷(2 mL)及TFA (2 mL)中之混合物在室溫下攪拌3小時。隨後，使混合物濃縮至乾，得到呈無色油狀之標題化合物(58 mg，100%)。

[0690] ^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 2.62 - 2.78 (m, 2 H) 3.76 (s, 3 H) 3.78 - 3.85 (m, 2 H) 4.14 (d, J=1.95 Hz, 2 H)。

[0691] 步驟3：N-(((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲基)-3-(2-羥基乙氧基)丙烯醯胺



【0692】在室溫下向((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-3-甲氧基-4-((三乙基矽烷基)氧基)戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲胺(133 mg，0.254 mmol)及3-(2-甲氧基-2-側氧基乙氧基)丙酸(61.7 mg，0.381 mmol)於THF (5 mL)中之混合物中添加HATU (145 mg，0.381 mmol)及DIPEA (221 μL，1.27 mmol)。將混合物攪拌16小時且隨後用AcOEt稀釋。將有機層分離，用水及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾，且在真空中濃縮。

【0693】將經分離之殘餘物溶解於THF (5 mL)中且冷卻至0℃，且隨後添加硼氫化鋰(22.12 mg，1.016 mmol)。將所得混合物在相同溫度下攪拌30分鐘且隨後升溫至室溫且再攪拌2小時。隨後，添加飽和氯化銨水溶液及水且用AcOEt萃取水層。將合併有機層用水及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，且在真空中濃縮。隨後，將經分離之殘餘物溶解於THF (5 mL)中且在0℃下添加TBAF (於THF溶液中1M，0.508 mL，0.508 mmol)。在於0℃下攪拌30分鐘之後，使混合物升溫至室溫且攪拌2小時。隨後，用AcOEt稀釋混合物，且將有機層分離，用水及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾，且在真空中濃縮。藉由矽膠層析法(24 g，庚烷/AcOEt = 70/30至0/100，隨後AcOEt/MeOH = 80/20)純化所得殘餘物，得到呈無色油狀之標題化合物(68 mg，產率51%)。

【0694】^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.65 (d, J=6.34 Hz, 3 H) 0.85 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 1.04 (d, J=6.34 Hz, 3 H) 1.16 (d, J = 6.8 Hz, 4 H) 1.19 - 1.22 (m, 2 H) 1.27 (s, 3 H) 1.42 - 1.65 (m, 4 H) 1.71 (s, 3 H) 1.79 - 1.92 (m, 2 H) 2.37 - 2.50 (m, 4 H) 2.54 (d, J = 9.27 Hz, 2 H) 2.89 - 3.05 (m, 2 H) 3.28 (d, J=10.24 Hz, 1 H) 3.41 (td, J=8.54, 2.44 Hz, 1 H)

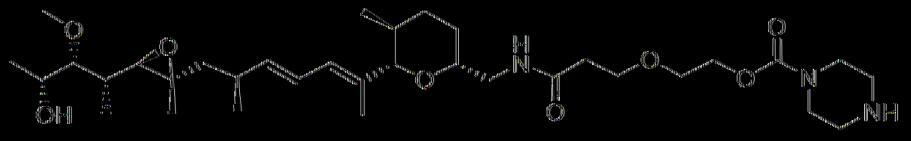
3.52 (s, 3 H) 3.54 - 3.59 (m, 2 H) 3.61 - 3.68 (m, 2 H) 3.69 - 3.76 (m, 2 H) 3.78 - 3.91 (m, 2 H) 5.43 - 5.52 (m, 1 H) 5.92 (d, J =10.73 Hz, 1 H) 6.24 (dd, J =15.12, 10.73 Hz, 1 H) 6.77 (m, 1 H)。

[0695] 步驟4：合成胺基甲酸酯

[0696] 在室溫下向N-(((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲基)-3-(2-羥基乙氧基)內醯胺(1.0 eq.，0.043 mmol)、氯甲酸4-硝苯酯(2.0 eq.，0.086 mmol)及DIPEA (5.0 eq.)於DCM (0.04 M)中之混合物中添加DMAP (5.0 eq.)。將混合物在室溫下攪拌16小時，且隨後添加哌嗪(10.0 eq.)，且將混合物再攪拌1小時。隨後，用二氯甲烷稀釋所得混合物，且將有機層分離，用水及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾，且在真空中濃縮。藉由胺基官能化矽膠層析法(庚烷/AcOEt - 50/50至0/100)純化所得殘餘物，得到所需化合物。

1.4.2 合成ADL1-H8

1.4.2.1 合成H8

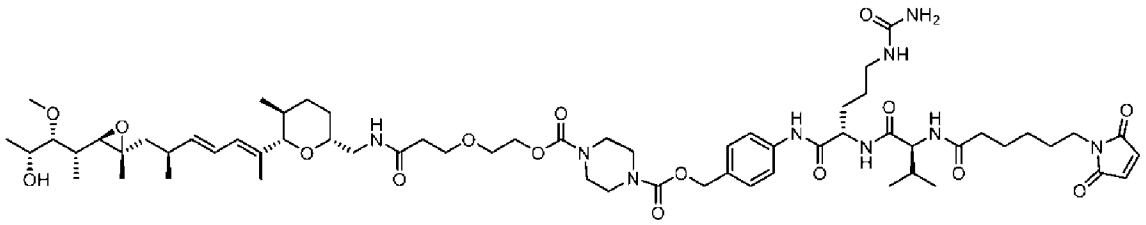


[0697] 哌嗪-1-甲酸2-(3-(((((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲基)胺基)-3-側氧基丙氧基)乙酯(H8)

[0698] 採用部分1.4.1中所闡述之步驟1-4，得到呈淡黃色油狀之標題化合物(19.2 mg，產率70%)。LC/MS (ESI, m/z), 638.78 [M+H]+。

【0699】^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.65 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 0.85 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 0.96 (dd, J=18.54, 6.34 Hz, 1 H) 1.03 (d, J=5.85 Hz, 3 H) 1.16 (d, J=5.85 Hz, 4 H) 1.18 - 1.25 (m, 2 H) 1.27 (s, 3 H) 1.29 - 1.39 (m, 1 H) 1.41 - 1.63 (m, 4 H) 1.70 (s, 3 H) 1.77 - 1.97 (m, 7 H) 2.44 (t, J=5.61 Hz, 2 H) 2.47 - 2.57 (m, 1 H) 2.80 (br. s., 4 H) 2.85 - 2.99 (m, 1 H) 2.99 - 3.09 (m, 1 H) 3.27 (d, J=9.76 Hz, 1 H) 3.36 - 3.48 (m, 5 H) 3.52 (s, 3 H) 3.54 - 3.59 (m, 1 H) 3.59 - 3.68 (m, 2 H) 3.68 - 3.74 (m, 2 H) 3.77 - 3.90 (m, 1 H) 4.15 - 4.23 (m, 2 H) 4.36 (t, J=6.10 Hz, 1 H) 5.44 (dd, J=14.88, 8.54 Hz, 1 H) 5.88 (d, J=10.73 Hz, 1 H) 6.23 (dd, J=14.88, 10.98 Hz, 1 H) 6.41 (br. s., 1 H)。

1.4.2.2 合成H8



【0700】**1-(4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基)-3-甲基丁醯胺基)-5-脲基戊醯胺基)苄基) 4-(2-(3-((((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲基)胺基)-3-側氧基丙氧基)乙基) 哌嗪-1,4-二甲酸酯(ADL1-H8)**

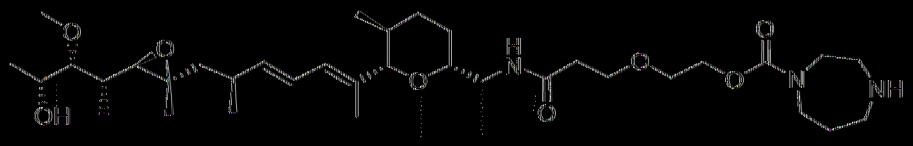
【0701】採用類似於部分1.2.7中所闡述之程序之程序，得到呈無色油狀之標題化合物(18.3 mg，產率60%)。

【0702】^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ ppm 0.65 (d, J=6.30 Hz, 3

H) 0.80 (d, J =6.83 Hz, 3 H) 0.94 (dd, J =6.59, 4.15 Hz, 7 H) 1.01 (d, J =6.83 Hz, 3 H) 1.08 (d, J =6.34 Hz, 3 H) 1.10 – 1.23 (m, 4 H) 1.25 (s, 3 H) 1.26 – 1.32 (m, 3 H) 1.44 – 1.65 (m, 10 H) 1.68 (s, 3 H) 1.70 – 1.75 (m, 1 H) 1.80 – 1.92 (m, 3 H) 2.00 – 2.09 (m, 1 H) 2.25 (t, J =7.56 Hz, 2 H) 2.41 (t, J =5.85 Hz, 2 H) 2.63 (d, J =9.27 Hz, 1 H) 2.95 (dd, J =6.34, 4.39 Hz, 1 H) 3.08 (dt, J =13.05, 6.40 Hz, 1 H) 3.14 – 3.21 (m, 1 H) 3.38 – 3.48 (m, 14 H) 3.49 (s, 4 H) 3.58 – 3.65 (m, 2 H) 3.69 (t, J =6.10 Hz, 2 H) 3.72 – 3.80 (m, 1 H) 4.13 – 4.19 (m, 3 H) 4.48 (dd, J =9.02, 5.12 Hz, 1 H) 5.07 (s, 2 H) 5.46 (dd, J =15.12, 9.27 Hz, 1 H) 5.90 (d, J =10.24 Hz, 1 H) 6.28 (dd, J =14.88, 10.98 Hz, 1 H) 6.76 (s, 2 H) 7.30 (d, J =8.78 Hz, 2 H) 7.57 (d, J =7.25 Hz, 2 H)。

1.4.3　合成ADL1-H9

1.4.3.1合成H9



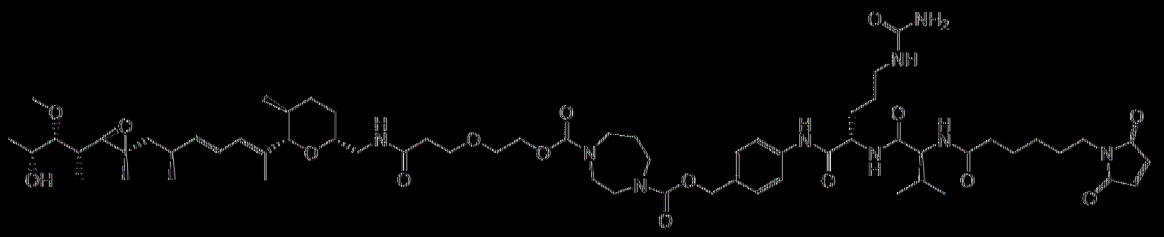
|0703| 1,4-二氫吡啶-1-甲酸2-(3-((((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲基)胺基)-3-側氧基丙氧基)乙酯(H9)

|0704| 採用部分1.4.1中所闡述之步驟1-4，得到呈無色油狀之標題化合物(21.1 mg，產率75%)。LC/MS (ESI, m/z), 652.86[M+H]+。

|0705| ^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.65 (d, J =6.83 Hz, 3 H) 0.85 (d, J =7.32 Hz, 3 H) 0.92 – 1.00 (m, 1 H) 1.03 (d, J =6.8 H, 3 H)

1.16 (d, J = 6.8 Hz, 3 H) 1.20 - 1.24 (m, 1 H) 1.27 (s, 4 H) 1.47 - 1.60 (m, 4 H) 1.70 (s, 3 H) 1.73 - 1.90 (m, 8 H) 2.37 - 2.47 (m, 3 H) 2.53 (d, J = 9.8 Hz, 1 H) 2.81 - 2.86 (m, 2 H) 2.87 - 2.92 (m, 2 H) 2.94 - 2.97 (m, 1 H) 2.99 - 3.07 (m, 1 H) 3.27 (d, J = 9.76 Hz, 1 H) 3.38 - 3.50 (m, 4 H) 3.52 (s, 3 H) 3.55 - 3.59 (m, 1 H) 3.61 - 3.68 (m, 2 H) 3.68 - 3.74 (m, 2 H) 3.77 - 3.91 (m, 1 H) 4.19 (br. S., 2 H) 4.37 (t, J = 6.10 Hz, 1 H) 5.41 - 5.50 (m, 1 H) 5.89 (d, J = 11.22 Hz, 1 H) 6.23 (dd, J = 14.88, 10.98 Hz, 1 H) 6.46 (dd, J = 13.17, 1.22 Hz, 1 H)。

1.4.3.2 合成ADL1-H9



[0706] 1-(4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺基)-3-甲基丁醯胺基)-5-脲基戊醯胺基)苄基) 4-(2-(3-((((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲基)胺基)-3-側氧基丙氧基)乙基) 1,4-二氮呯-1,4-二甲酸酯(ADL1-H9)

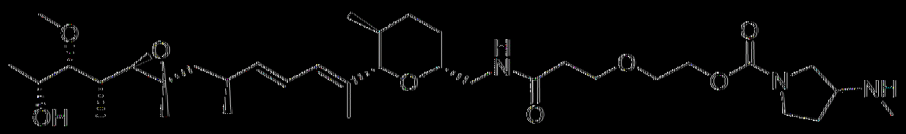
[0707] 採用類似於部分1.2.7中所闡述之程序之程序，得到標題化合物(25.2 mg，產率72%)。

[0708] ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d_4) δ ppm 0.65 (d, J = 6.30 Hz, 3 H) 0.80 (d, J = 6.83 Hz, 3 H) 0.93 (t, J = 5.85 Hz, 7 H) 1.01 (d, J = 6.30 Hz, 3 H) 1.08 (d, J = 6.30 Hz, 3 H) 1.11 - 1.21 (m, 2 H) 1.21 - 1.32 (m, 7 H)

1.43 - 1.65 (m, 10 H) 1.69 (s, 3 H) 1.70 - 1.91 (m, 5 H) 2.05 (q, J =6.8 Hz, 1 H) 2.25 (t, J =7.32 Hz, 2 H) 2.36 - 2.48 (m, 3 H) 2.63 (d, J =9.27 Hz, 1 H) 2.95 (dd, J =5.85, 4.39 Hz, 1 H) 3.03 - 3.13 (m, 2 H) 3.13 - 3.21 (m, 1 H) 3.37 - 3.48 (m, 7 H) 3.48 - 3.59 (m, 8 H) 3.62 - 3.70 (m, 2 H) 3.76 (quin, J =6.46 Hz, 1 H) 4.11 - 4.22 (m, 2 H) 4.47 - 4.53 (m, 1 H) 5.02 - 5.09 (m, 2 H) 5.45 (dd, J =14.88, 9.03 Hz, 1 H) 5.90 (d, J =10.73 Hz, 1 H) 6.28 (dd, J =14.64, 11.22 Hz, 1 H) 6.76 (s, 2 H) 7.26 - 7.37 (m, 2 H) 7.57 (d, J =7.81 Hz, 2 H)。

1.4.4 合成ADL1-H10

1.4.4.1 合成H10



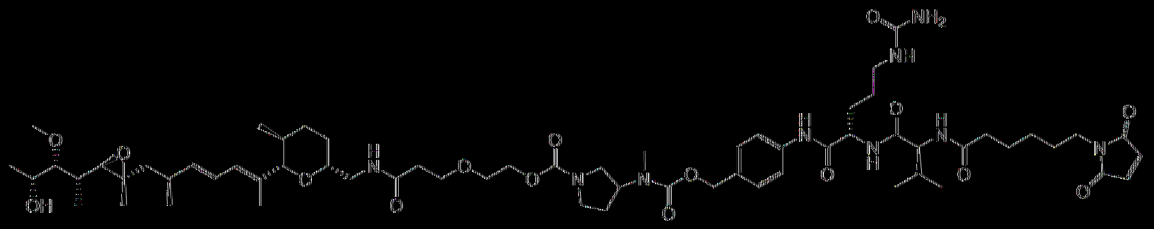
|0709| 3-(甲基胺基)吡咯啶-1-甲酸2-(3-((((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲基)胺基)-3-側氧基丙氧基)乙酯(H10)

|0710| 採用部分1.4.1中所闡述之步驟1-4，得到呈無色油狀之標題化合物(24.8 mg，產率88%)。LC/MS (ESI, m/z), 652.91 $[M+H]^+$。

|0711| ^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.65 (d, J =6.34 Hz, 3 H) 0.85 (d, J =6.83 Hz, 3 H) 0.96 (dd, J =18.78, 6.59 Hz, 1 H) 1.03 (d, J =6.8 Hz, 3 H) 1.16 (d, J =6.34 Hz, 3 H) 1.18 - 1.25 (m, 3 H) 1.27 (s 3 H) 1.20 - 1.32 (m, 5 H) 1.41 - 1.63 (m, 4 H) 1.70 (s, 3 H) 1.72 - 1.90 (m, 4 H) 2.02 (dd, J =12.44, 6.10 Hz, 2 H) 2.41 (s 3 H) 2.43 - 2.50 (m, 2

H)2.54 (d, J = 9.76 Hz, 1 H) 2.95 (t, J = 5.37 Hz, 1 H) 3.01 – 3.14 (m, 1 H) 3.18 – 3.24 (m, 1 H) 3.27 (d, J = 9.7 Hz, 1 H) 3.38 – 3.49 (m, 2 H) 3.52 (s, 6 H) 3.61 – 3.65 (m, 2 H) 3.69 – 3.74 (m, 2 H) 3.83 (quin, J = 5.98 Hz, 1 H) 4.15 – 4.22 (m, 1 H) 4.34 (t, J = 6.10 Hz, 1 H) 5.44 (dd, J = 15.12, 8.78 Hz, 1 H) 5.88 (d, J = 11.22 Hz, 1 H) 6.23 (dd, J = 14.88, 10.98 Hz, 1 H) 6.43 – 6.51 (m, 1 H)。

1.4.4.2 合成ADL1-H10

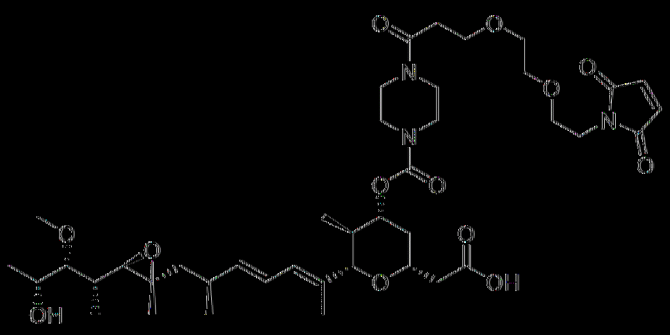


[0712] 採用類似於部分1.2.7中所闡述之程序之程序，得到呈無色油狀之標題化合物(22.1 mg，產率57%)。

[0713] 1H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 0.65 (d, J = 6.34 Hz, 3 H) 0.80 (d, J = 6.83 Hz, 3 H) 0.94 (dd, J = 6.34, 4.88 Hz, 8 H) 1.01 (dd, J = 3.90, 2.93 Hz, 4 H) 1.08 (d, J = 6.30 Hz, 3 H) 1.11 – 1.22 (m, 3 H) 1.22 – 1.31 (m, 7 H) 1.44 – 1.65 (m, 10 H) 1.68 (s 3 H) 1.71 – 1.91 (m, 4 H) 1.99 – 2.09 (m, 3 H) 2.25 (t, J = 7.56 Hz, 2 H) 2.41 (t, J = 5.85 Hz, 2 H) 2.62 (d, J = 9.27 Hz, 1 H) 2.84 (m, 4 H) 2.93 – 2.99 (m, 2 H) 3.04 – 3.13 (m, 2 H) 3.13 – 3.21 (m, 1 H) 3.43 (t, J = 7.07 Hz, 2 H) 3.50 (s, 3 H) 3.52 – 3.56 (m, 2 H) 3.61 (t, J = 4.39 Hz, 2 H) 3.69 (t, J = 5.37 Hz, 2 H) 3.73 – 3.79 (m, 1 H) 4.15 (d, J = 7.32 Hz, 3 H) 4.49 (dd, J = 9.03, 5.12 Hz, 1 H) 5.06 (s, 2 H) 5.45 (dd, J = 14.88, 9.03 Hz, 1 H) 5.90 (d, J = 11.22 Hz, 1 H) 6.28 (dd, J = 14.88, 10.98 Hz, 1 H) 6.76 (s, J = 4.56 Hz, 2 H) 7.30 (d,

J = 8.29 Hz, 2 H) 7.57 (d, J = 8.29 Hz, 2 H)。

1.5 合成ADL2-H1



[0714] 2-((2R,4R,5S,6S)-4-((4-(3-(2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)丙醯基)哌嗪-1-羰基)氧基)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙酸(ADL2-H1)

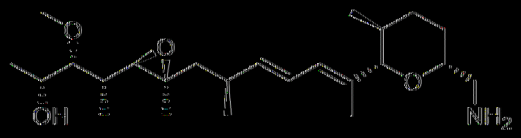
[0715] 向H1 (參見例如部分1.2.2；22.5 mg，0.03 mmol)於DMF (1 mL)中之混合物中添加3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯(10.55 mg，0.03 mmol)及DIPEA (0.016 mL，0.089 mmol)。將所得混合物在室溫下攪拌4小時。隨後，在真空中移除溶劑，且藉由逆相層析法(ODS，24 g，H_2O/MeCN = 95/5至60/40)純化所得殘餘物，得到呈無色油狀之標題化合物(15.7 mg，產率65%)。

[0716] ^{1}H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 0.73 (d, J = 6.34 Hz, 4 H) 0.97 - 1.15 (m, 13 H) 1.21 (s, 2 H) 1.28 - 1.41 (m, 1 H) 1.42 - 1.62 (m, 2 H) 1.69 (d, J = 4.39 Hz, 4 H) 2.08 - 2.20 (m, 1 H) 2.33 - 2.39 (m, 1 H) 2.42 - 2.58 (m, 3 H) 2.63 (t, J = 5.30 Hz, 2 H) 2.91 - 2.94 (m, 1 H) 3.33 (d, J = 3.41 Hz, 1 H) 3.36 (d, J = 1.95 Hz, 2 H) 3.44 - 3.60 (m, 18 H) 3.60 - 3.67 (m, 4 H) 3.69 (t, J = 5.37 Hz, 2 H) 3.75 - 3.78 (m, 1 H) 3.81 -

4.00 (m, 2 H) 4.22 - 4.31 (m, 1 H) 4.52 - 4.60 (m, 1 H) 5.58 - 5.72 (m, 1 H) 5.89 - 6.00 (m, 1 H) 6.13 - 6.31 (m, 1 H) 6.71 - 6.89 (m, 2 H)。

1.6 合成ADL2-H11

[0717] 步驟1：合成(2R,3R,4R)-4-((2R,3R)-3-((S,3E,5E)-6-((2S,3S,6R)-6-(胺基甲基)-3-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)-2-甲基庚-3,5-二烯-1-基)-3-甲基環氧乙烷-2-基)-3-甲氧基戊-2-醇(H11)

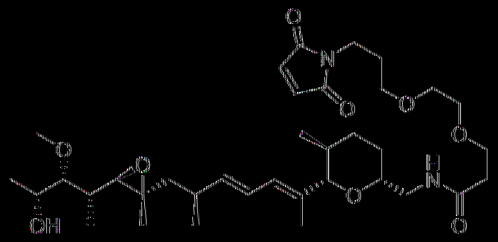


[0718] 向((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-3-甲氧基-4-((三乙基矽烷基)氧基)戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲胺(32 mg，0.061 mmol)於THF (1 mL)中之混合物中添加TBAF (於THF中之1 M溶液，0.183 mL，0.183 mmol)。將所得混合物在室溫下攪拌2小時且隨後用AcOEt稀釋。將有機相分離，用水及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，過濾，且在真空中濃縮。藉由胺基官能化矽膠層析法(24 g，庚烷/AcOEt：50/50至0/100，隨後AcOEt/MeOH：80/20)純化經分離之殘餘物，得到呈無色油狀之標題化合物(15.1 mg，產率60.4%)。LC/MS (ESI, m/z), 410.07 $[M+H]^+$。

[0719] ^{1}H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.65 (d, J 6.80 Hz, 3 H) 0.86 (d, J 6.80 Hz, 3 H) 1.03 (d, J 6.80 Hz, 3 H) 1.16 (d, J 6.30 Hz, 4 H) 1.19 - 1.24 (m, 2 H) 1.27 (s, 3 H) 1.29 - 1.38 (m, 1 H) 1.44 - 1.57 (m, 3 H) 1.62 - 1.66 (m, 1 H) 1.71 (s, 5 H) 1.74 - 1.93 (m, 3 H) 2.34 - 2.45 (m, 1 H) 2.54 (d, J 9.00 Hz, 1 H) 2.62 - 2.74 (m, 2 H) 2.92 - 2.98 (m, 1 H) 3.24 - 3.32 (m, 2 H) 3.52 (s, 3 H) 3.79 - 3.88 (m, 1 H) 5.39 -

5.48 (m, 1 H) 5.88 (d, J =10.73 Hz, 1 H) 6.23 (ddd, J =14.64, 11.22, 3.41 Hz, 1 H)。

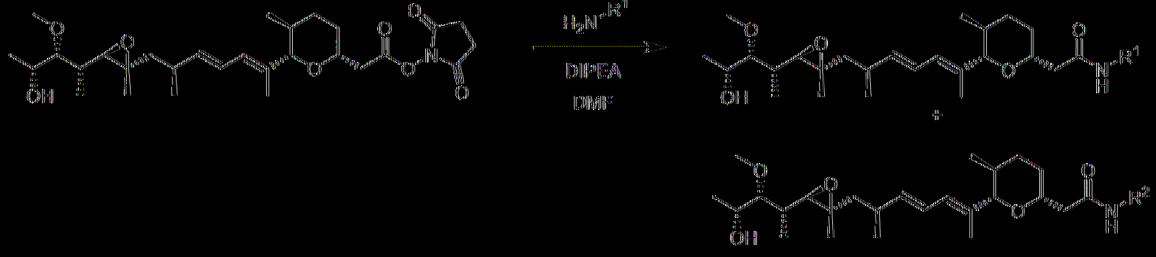
[0720] 步驟2：合成3-(2-(3-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)丙氧基)乙氧基)-N-(((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲基)丙醯胺(ADL2-H11)



[0721] 向獲自步驟1之化合物(15.1 mg，0.037 mmol)於DMF (1 mL，12.915 mmol)中之混合物中添加3-{2-[2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基]乙氧基}丙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯(13.1 mg，0.037 mmol)及DIPEA (0.019 ml, 0.111 mmol)。將所得混合物在室溫下攪拌16小時。隨後，在真空中濃縮混合物且藉由逆相層析法(ODS，24 g，H_2O/MeCN　：95/5至60/40)純化所得殘餘物，得到呈無色油狀之標題化合物(14.9 mg，產率62%)。

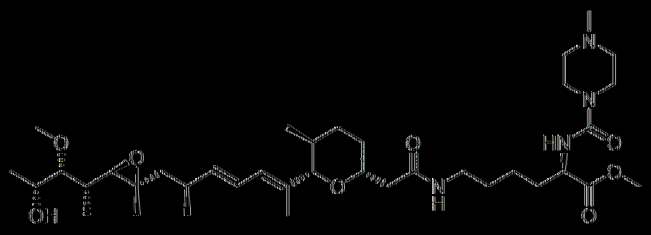
1.7 合　成H18、H20、H23、H16、H15、H24、H13、H14、H17、H19及H21

[0722] 經由以下通用程序(通用程序1.7)製備H18、H20、H23、H16、H15、H24、H13、H14、H17、H19及H21。



[0723] 向2-((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-4-羥基-3-甲氧基戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)乙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯(1.0當量)於DMF (0.028M)中之溶液中添加胺(16 mg，0.056 mmol)及DIPEA (2.0當量)。將反應混合物在室溫下攪拌16小時，隨後藉HPLC純化混合物，得到所需產物。

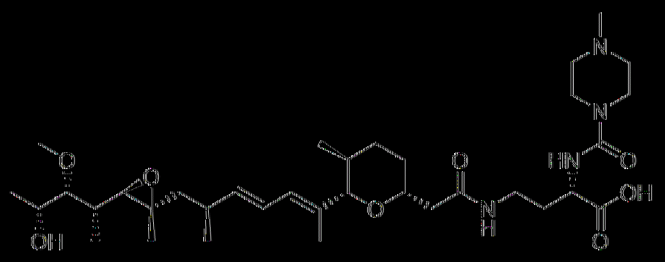
1.7.1 合成H20



[0724] 採用通用程序1.7，得到呈無色非晶產物狀之H20 (15.7 mg，0.022 mmol，產率79%)。LC/MS (ESI, m/z), 707.99 [M+H]+。

[0725] 1H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.66 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 0.85 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 1.04 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 1.16 (d, J=6.34 Hz, 3 H) 1.18 - 1.25 (m, 2 H) 1.27 (s, 4 H) 1.30 - 1.59 (m, 8 H) 1.71 - 1.80 (m, 2 H) 1.81 - 1.89 (m, 2 H) 2.35 (br d, J=3.90 Hz, 2 H) 2.38 - 2.44 (m, 1 H) 2.52 - 2.60 (m, 4 H) 2.79 - 2.86 (m, 4 H) 2.96 (t, J=5.37 Hz, 1 H) 3.06 - 3.16 (m, 1 H) 3.24 - 3.30 (m, 1 H) 3.32 (d, J=9.76 Hz, 1 H) 3.52 (s, 3 H) 3.64 (br d, J=4.39 Hz, 5 H) 3.71 (s, 3 H) 3.83 (t, J=5.85 Hz, 1 H) 4.30 - 4.42 (m, 1 H) 5.40 - 5.53 (m, 3 H) 5.89 (br d, J=10.73 Hz, 1 H) 6.16 - 6.28 (m, 1 H) 6.75 (br t, J=5.85 Hz, 1 H)。

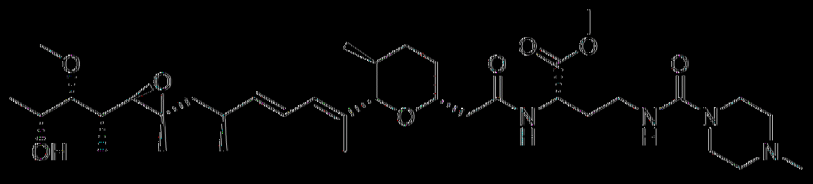
1.7.2 合成H23



[0726] 以通用程序1.7獲得H23 (6.9 mg，產率37%)。LC/MS (ESI, m/z), 665.96 [M+H]+。

[0727] 1H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 0.66 (d, J =6.34 Hz, 3 H) 0.80 (d, J =6.83 Hz, 3 H) 1.02 (d, J =6.34 Hz, 3 H) 1.08 (d, J =6.34 Hz, 3 H) 1.12 - 1.23 (m, 2 H) 1.25 (s, 4 H) 1.31 - 1.37 (m, 1 H) 1.43 - 1.55 (m, 2 H) 1.63 (br d, J =13.17 Hz, 1 H) 1.67 (s, 3 H) 1.81 - 1.93 (m, 3 H) 2.21 - 2.40 (m, 1 H) 2.63 (d, J =9.76 Hz, 1 H) 2.74 (s, 2 H) 2.92 - 2.97 (m, 1 H) 3.05 (br s, 3 H) 3.12 - 3.22 (m, 1 H) 3.31 - 3.38 (m, 2 H) 3.50 (s, 3 H) 3.63 (br s, 4 H) 3.68 - 3.78 (m, 2 H) 4.23 (br d, J =4.39 Hz, 1 H) 5.45 (dd, J =15.12, 8.78 Hz, 1 H) 5.89 (br d, J =10.73 Hz, 1 H) 6.27 (dd, J =14.88, 10.98 Hz, 1 H)。

1.7.3 合成H16

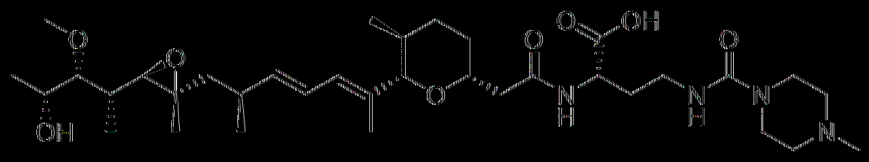


[0728] 採用通用程序1.7，得到呈無色非晶產物狀之H16 (6.4 mg，產率34%)。LC/MS (ESI, m/z), 679.86[M+H]+。

[0729] 1H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.67 (br d, J =6.34 Hz, 3 H) 0.85 (br d, J =6.83 Hz, 3 H) 1.01 - 1.06 (m, 3 H) 1.14 - 1.19 (m, 3 H) 1.19 - 1.28 (m, 5 H) 1.43 (br dd, J =12.20, 9.76 Hz, 1 H) 1.47 - 1.55 (m, 1 H) 1.61 - 1.64 (m, 1 H) 1.71 (br d, J =7.32 Hz, 3 H) 1.83 - 1.90 (m,

2 H) 2.03 - 2.20 (m, 1 H) 2.37 - 2.44 (m, 3 H) 2.49 - 2.56 (m, 5 H) 2.75 (br s, 1 H) 2.78 - 2.84 (m, 3 H) 2.87 - 2.94 (m, 1 H) 2.94 - 2.98 (m, 1 H) 3.35 (br dd, J =13.41, 10.00 Hz, 2 H) 3.52 (s, 4 H) 3.60 (br s, 4 H) 3.69 (br s, 3 H) 3.71 (s, 4 H) 3.83 (td, J =12.56, 6.59 Hz, 2 H) 4.06 - 4.20 (m, 1 H) 4.57 - 4.68 (m, 1 H) 5.47 (td, J =15.98, 8.54 Hz, 1 H) 5.81 - 5.96 (m, 1 H) 6.14 - 6.36 (m, 1 H)。

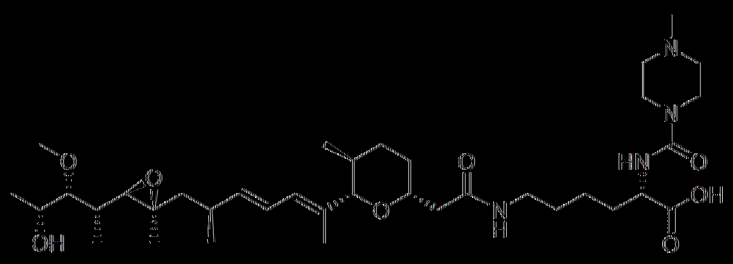
1.7.4 合成H15



|0730| 通用程序1.7在合成H16期間得到作為副產物之H15 (6.6 mg，產率35%)。LC/MS (ESI, m/z), 665.46 $[M+H]^+$。

|0731| 1H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 0.66 (br d, J =6.34 Hz, 4 H) 0.81 (br d, J =5.85 Hz, 3 H) 0.99 - 1.04 (m, 4 H) 1.07 - 1.10 (m, 4 H) 1.17 (br s, 1 H) 1.19 - 1.27 (m, 5 H) 1.46 - 1.55 (m, 2 H) 1.65 (br s, 1 H) 1.68 (s, 4 H) 1.82 - 1.95 (m, 2 H) 2.00 - 2.18 (m, 1 H) 2.29 - 2.49 (m, 4 H) 2.61 - 2.67 (m, 4 H) 2.92 - 3.03 (m, 5 H) 3.34 (br d, J =10.24 Hz, 1 H) 3.50 (s, 3 H) 3.58 - 3.77 (m, 8 H) 4.28 (t, J =9.76 Hz, 1 H) 5.40 - 5.53 (m, 1 H) 5.83 - 5.99 (m, 1 H) 6.28 (dd, J =14.63, 10.73 Hz, 1 H)。

1.7.5 合成H24

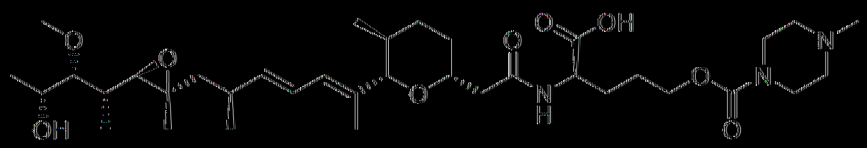


|0732| 採用通用程序1.7，得到呈無色非晶產物狀之H24 (12.1

mg，產率94%)。LC/MS (ESI, m/z), 693.72 [M+H]+。

[0733] 1H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 0.66 (d, J =6.34 Hz, 3 H) 0.80 (d, J =6.83 Hz, 3 H) 1.02 (d, J =6.83 Hz, 4 H) 1.08 (d, J =6.34 Hz, 4 H) 1.32 - 1.37 (m, 8 H) 1.44 - 1.50 (m, 4 H) 1.65 - 1.68 (m, 5 H) 1.75 - 1.96 (m, 4 H) 2.19 - 2.39 (m, 3 H) 2.40 - 2.52 (m, 2 H) 2.63 (d, J =9.27 Hz, 1 H) 2.80 (s, 3 H) 2.95 (dd, J =6.34, 4.39 Hz, 1 H) 3.06 - 3.15 (m, 1 H) 3.31 - 3.40 (m, 2 H) 3.50 (s, 3 H) 3.65 - 3.72 (m, 7 H) 3.73 - 3.80 (m, 2 H) 4.10 - 4.24 (m, 1 H) 5.47 (dd, J =15.12, 9.27 Hz, 1 H) 5.89 (d, J =10.24 Hz, 1 H) 6.28 (dd, J =15.12, 10.73 Hz, 1 H)。

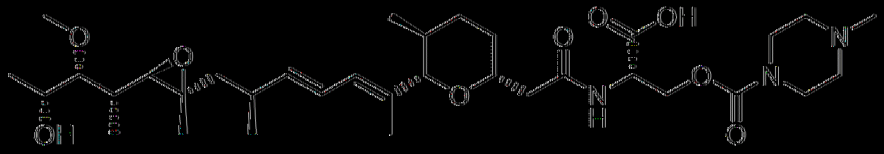
1.7.6 合成H18



[0734] 採用通用程序1.7，得到呈無色非晶產物狀之H18 (8.1 mg，產率53%)。LC/MS (ESI, m/z), 678.68[M-H]-。

[0735] 1H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.67 (br d, J =6.34 Hz, 3 H) 0.87 (d, J =6.83 Hz, 3 H) 1.03 (br d, J =6.83 Hz, 3 H) 1.15 - 1.24 (m, 5 H) 1.28 (s, 3 H) 1.50 - 1.67 (m, 5 H) 1.75 (br s, 1 H) 1.82 - 1.94 (m, 3 H) 2.37 - 2.44 (m, 3 H) 2.56 - 2.60 (m, 4 H) 2.71 - 2.93 (m, 3 H) 3.00 (br t, J =5.12 Hz, 1 H) 3.37 (br d, J =10.24 Hz, 1 H) 3.53 (s, 3 H) 3.55 - 3.63 (m, 1 H) 3.65 - 3.76 (m, 3 H) 3.83 - 3.91 (m, 1 H) 4.04 (br d, J =4.39 Hz, 1 H) 4.08 - 4.16 (m, 1 H) 4.41 - 4.53 (m, 2 H) 5.42 - 5.55 (m, 1 H) 5.91 (br d, J =10.73 Hz, 1 H) 6.14 - 6.28 (m, 1 H) 7.21 (br d, J =7.32 Hz, 1 H)。

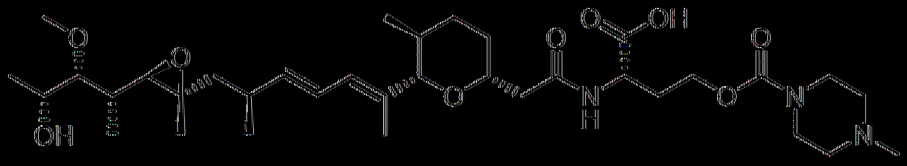
1.7.7　合成H13



[0736] 採用通用程序1.7，得到呈無色非晶產物狀之H13 (6.7 mg，產率36.7%)。LC/MS (ESI, m/z), 652.86 [M+H]+。

[0737] 1H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 0.66 (d, J =6.34 Hz, 3 H) 0.81 (d, J =6.34 Hz, 3 H) 1.02 (d, J =6.34 Hz, 3 H) 1.05 - 1.10 (m, 3 H) 1.14 - 1.23 (m, 2 H) 1.26 (s, 4 H) 1.34 - 1.52 (m, 2 H) 1.52 - 1.59 (m, 1 H) 1.65 (br s, 1 H) 1.70 (s, 4 H) 1.82 - 1.92 (m, 2 H) 2.41 (qd, J =14.39, 6.10 Hz, 3 H) 2.63 (d, J =9.76 Hz, 1 H) 2.73 (br d, J =4.39 Hz, 3 H) 2.95 (br t, J =5.12 Hz, 2 H) 2.99 - 3.09 (m, 3 H) 3.30 - 3.36 (m, 1 H) 3.50 (s, 3 H) 3.53 - 3.65 (m, 2 H) 3.65 - 3.78 (m, 4 H) 4.24 - 4.42 (m, 2 H) 4.55 (br s, 1 H) 5.36 - 5.55 (m, 1 H) 5.89 (br d, J =10.73 Hz, 1 H) 6.21 - 6.43 (m, 1 H)。

1.7.8　合成H14

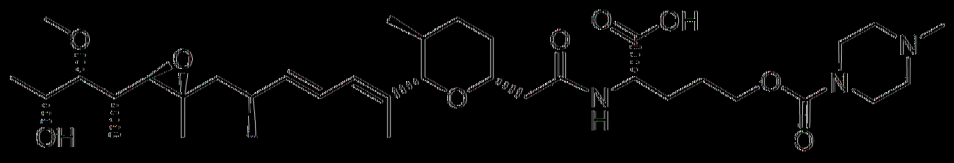


[0738] 採用通用程序1.7，得到呈無色非晶固體狀之H14 (15.5 mg，產率83%)。LC/MS (ESI, m/z), 666.90 [M+H]+。

[0739] 1H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.65 (br d, J =6.34 Hz, 3 H) 0.85 (br d, J =6.83 Hz, 3 H) 1.02 (br d, J =6.34 Hz, 3 H) 1.14 - 1.28 (m, 8 H) 1.38 - 1.57 (m, 2 H) 1.57 - 1.65 (m, 2 H) 1.81 - 1.89 (m, 2 H) 2.04 - 2.19 (m, 2 H) 2.41 (br d, J =4.88 Hz, 3 H) 2.54 (d, J =9.76 Hz, 1 H)

2.65 (s, 3 H) 2.91 – 3.03 (m, 5 H) 3.33 (br d, J =9.76 Hz, 1 H) 3.52 (s, 3 H) 3.70 (br s, 5 H) 3.81 – 3.87 (m, 1 H) 4.08 – 4.18 (m, 2 H) 4.52 (br d, J =6.34 Hz, 1 H) 5.45 (br dd, J =15.12, 8.78 Hz, 1 H) 5.89 (br d, J =10.73 Hz, 1 H) 6.21 (br dd, J =14.88, 10.98 Hz, 2 H) 7.15 (br d, J =7.32 Hz, 1 H)。

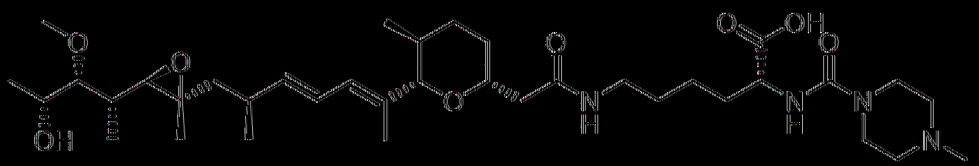
1.7.9 合成H17



|0740| 採用通用程序1.7，得到呈無色非晶固體狀之H17 (12.94 mg，產率68%)。LC/MS (ESI, m/z), 680.66 $[M+H]^+$。

|0741| 1H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 0.66 (d, J =6.83 Hz, 4 H) 0.81 (d, J =7.32 Hz, 3 H) 0.97 – 1.04 (m, 5 H) 1.08 (d, J =6.34 Hz, 5 H) 1.10 – 1.16 (m, 2 H) 1.20 – 1.23 (m, 1 H) 1.25 (s, 4 H) 1.69 (d, J =0.98 Hz, 4 H) 1.83 (br d, J =3.41 Hz, 1 H) 1.87 (br d, J =4.39 Hz, 1 H) 1.90 (br d, J =4.39 Hz, 1 H) 2.24 – 2.30 (m, 1 H) 2.40 (br dd, J =13.90, 9.02 Hz, 2 H) 2.58 – 2.62 (m, 5 H) 2.64 (s, 1 H) 2.84 (br t, J =4.88 Hz, 5 H) 2.95 (dd, J =6.34, 4.39 Hz, 1 H) 3.30 – 3.32 (m, 1 H) 3.50 (s, 3 H) 3.56 – 3.64 (m, 6 H) 3.74 – 3.79 (m, 1 H) 4.02 (br t, J =5.37 Hz, 3 H) 4.32 – 4.35 (m, 1 H) 4.35 – 4.37 (m, 1 H) 5.45 (dd, J =15.12, 8.78 Hz, 1 H) 5.85 – 5.91 (m, 1 H) 6.27 (dd, J =15.12, 10.73 Hz, 1 H)。

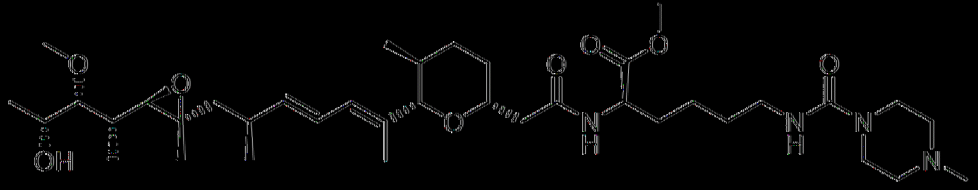
1.7.10 合成H19



[0742] 採用通用程序1.7，得到呈無色非晶固體狀之I119 (5.53 mg，產率56.4%)。LC/MS (ESI, m/z), 694.08 [M+H]+。

[0743] 1H NMR (400 MHz, 甲醇-d4) δ ppm 0.66 (d, J =6.83 Hz, 3 H) 0.81 (d, J =6.83 Hz, 3 H) 0.95 - 0.95 (m, 1 H) 1.02 (d, J =6.83 Hz, 3 H) 1.08 (d, J =6.34 Hz, 3 H) 1.12 - 1.22 (m, 2 H) 1.26 (s, 4 H) 1.34 - 1.52 (m, 7 H) 1.62 (br d, J =13.66 Hz, 2 H) 1.68 (s, 4 H) 1.81 - 1.93 (m, 3 H) 2.08 - 2.08 (m, 1 H) 2.20 - 2.39 (m, 2 H) 2.39 - 2.50 (m, 1 H) 2.61 - 2.68 (m, 4 H) 2.90 - 2.97 (m, 5 H) 3.11 - 3.15 (m, 2 H) 3.30 - 3.34 (m, 1 H) 3.50 (s, 3 H) 3.56 - 3.62 (m, 4 H) 3.76 (t, J =6.34 Hz, 1 H) 4.11 - 4.22 (m, 1 H) 5.45 (dd, J =15.12, 8.78 Hz, 1 H) 5.90 (br d, J =11.22 Hz, 1 H) 6.29 (dd, J =14.88, 10.98 Hz, 1 H)。

1.7.11 合成I121



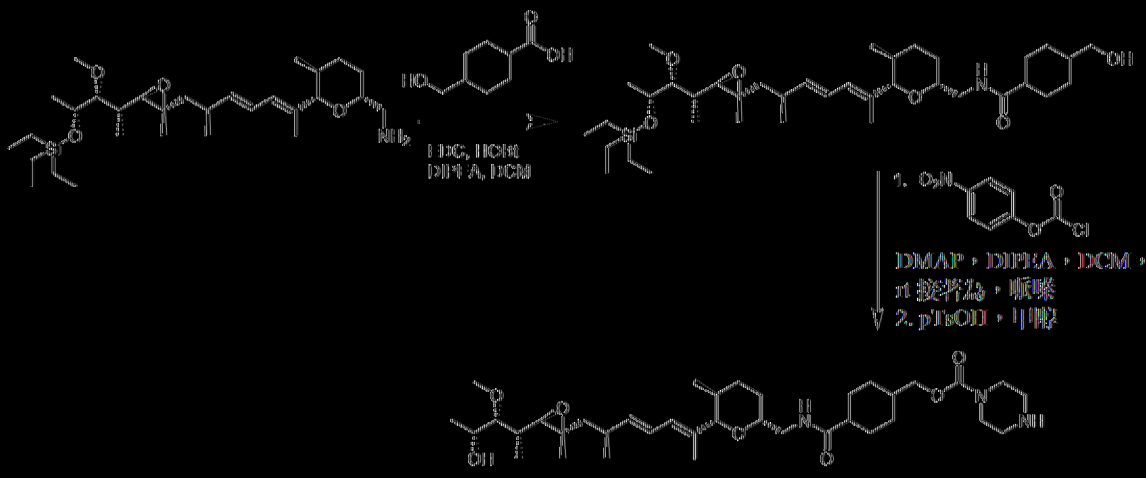
[0744] 採用通用程序1.7，得到I121，其係以無色非晶固體形式獲得(12.3 mg，產率62.1%)。LC/MS (ESI, m/z), 708.03 [M+H]+。

[0745] 1H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.67 (br d, J =6.34 Hz, 3 H) 0.85 (br d, J =6.83 Hz, 3 H) 1.02 (br d, J =6.83 Hz, 3 H) 1.15 - 1.29 (m, 9 H) 1.29 - 1.42 (m, 3 H) 1.47 - 1.63 (m, 6 H) 1.74 - 1.79 (m, 1 H) 1.86 (br dd, J =13.17, 3.90 Hz, 2 H) 2.40 (br d, J =5.37 Hz, 3 H) 2.51 - 2.55 (m, 4 H) 2.78 (br s, 4 H) 2.96 (br t, J =5.12 Hz, 1 H) 3.18 (td, J =12.07, 6.10 Hz, 2 H) 3.37 (br d, J =9.76 Hz, 1 H) 3.52 (s, 3 H) 3.57 (br s, 4 H) 3.69 (s, 4 H) 3.84 (br t, J =5.85 Hz, 1 H) 4.50 - 4.57 (m, 1 H)

4.85 - 4.93 (m, 2 H) 5.44 (br dd, J =15.12, 8.78 Hz, 1 H) 5.92 (br d, J =10.24 Hz, 1 H) 6.15 - 6.38 (m, 1 H) 7.24 - 7.29 (m, 2 H) 8.24 (br s, 1 H)。

1.8 合成H22及H25

[0746] 經由以下通用程序製備H22及H25。

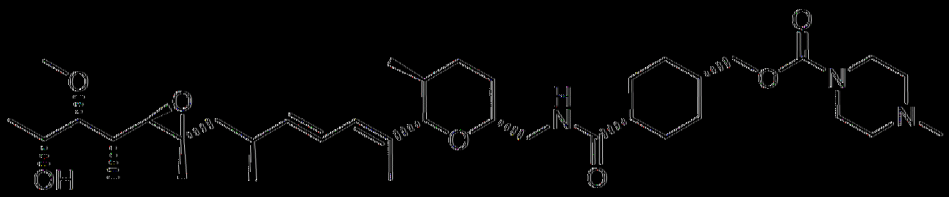


[0747] 步驟1：在室溫下向((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-3-甲氧基-4-((三乙基矽烷基)氧基)戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌喃-2-基)甲胺(16.6 mg，0.027 mmol)及4-羧基-1-環己烷甲醇(順式及反式之混合物，5.11 mg，0.032 mmol)於二氯甲烷(2 ml)中之溶液中添加EDC (6.20 mg，0.032 mmol)及HOBT (4.54 mg，0.03 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌16小時。隨後，用二氯甲烷稀釋混合物，且將有機層用水及鹽水洗滌，隨後經無水硫酸鈉乾燥。過濾固體，且濃縮濾液，且藉由矽膠層析法純化，得到呈無色油狀之所需產物(8.3 mg，產率47%)。

[0748] 步驟2：在室溫下向4-(羥基甲基)-N-(((2R,5S,6S)-6-((S,2E,4E)-7-((2R,3R)-3-((2R,3R,4R)-3-甲氧基-4-((三乙基矽烷基)氧基)戊-2-基)-2-甲基環氧乙烷-2-基)-6-甲基庚-2,4-二烯-2-基)-5-甲基四氫-2H-哌

喃-2-基)甲基)環丁烷甲醯胺(21 mg，0.032 mmol)及DIPEA (0.028 ml, 0.158 mmol)之順式、反式混合物於二氯甲烷(1 ml)中之溶液中分批添加氯甲酸4-硝苯酯(12.75 mg，0.063 mmol)及DMAP (1.932 mg，0.016 mmol)。將所得混合物在相同溫度下攪拌16小時。隨後，添加1-甲基哌嗪(31.7 mg，.316 mmol)且再攪拌1小時。用二氯甲烷稀釋反應混合物，且將有機層用水及鹽水洗滌，隨後經Na_2SO_4乾燥。過濾固體且將濾液濃縮至乾。將所獲得之殘餘物溶解於1.0 mL MeOH及10 mg p-TsOH中且在室溫下攪拌2小時。藉由添加100 µL DIPEA來淬滅反應物，且隨後在真空中移除溶劑。藉由NH-矽膠層析法(Hep/AcOEt　50/50至0/100)純化所獲得之殘餘物，得到I25及I22。

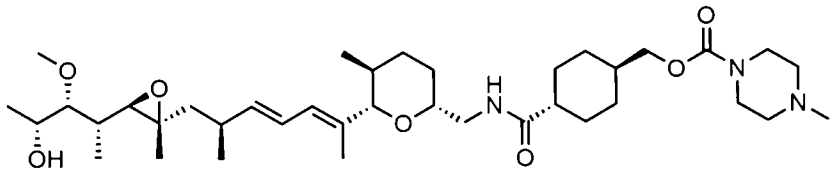
1.8.1　合成I25



[0749] 獲得呈無色非晶產物狀之I25 (7.0 mg，產率32.7%)。LC/MS (ESI, m/z), 676.94 $[M+H]^+$。

[0750] 1H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.68 (d, J 6.83 Hz, 3 H) 1.02 (d, J 7.32 Hz, 3 H) 1.10 (d, J 6.83 Hz, 3 H) 1.17 (d, J 6.34 Hz, 4 H) 1.25 (s, 3 H) 1.47 - 1.62 (m, 11 H) 1.71 (s, 3 H) 1.80 - 1.86 (m, 4 H) 2.13 (s, 1 H) 2.27 - 2.36 (m, 10 H) 2.49 - 2.65 (m, 1 H) 2.99 - 3.12 (m, 1 H) 3.29 (d, J 10.20 Hz, 1 H) 3.32 (s, 4 H) 3.47 (br t, J 4.88 Hz, 4 H) 3.72 - 3.73 (m, 1 H) 3.73 - 3.74 (m, 1 H) 3.99 (d, J 6.83 Hz, 2 H) 4.21 - 4.36 (m, 1 H) 5.56 - 5.71 (m, 1 H) 5.92 (s, 1 H) 6.18 - 6.31 (m, 1 H)。

1.8.2 合成H22



【0751】獲得呈無色非晶產物狀之H22 (5.6 mg，產率26.2%)。LC/MS (ESI, m/z), 676.89$[M+H]^+$。

【0752】1H NMR (400 MHz, 氯仿-d) δ ppm 0.68 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 1.02 (d, J=6.83 Hz, 3 H) 1.10 (d, J=7.32 Hz, 3 H) 1.14 (d, J=6.34 Hz, 3 H) 1.17 (s, 3 H) 1.21 - 1.41 (m, 2 H) 1.49 - 1.55 (m, 5 H) 1.58 - 1.62 (m, 6 H) 1.70 (s, 3 H) 1.80 - 1.86 (m, 4 H) 2.26 - 2.30 (m, 4 H) 2.35 (br s, 4 H) 2.46 - 2.57 (m, 1 H) 2.89 (dd, J=3.66, 2.20 Hz, 1 H) 3.01 - 3.11 (m, 1 H) 3.27 (d, J=9.76 Hz, 1 H) 3.38 (s, 3 H) 3.47 (br t, J=4.88 Hz, 4 H) 3.53 (ddd, J=10.24, 6.83, 3.41 Hz, 1 H) 3.76 (d, J=5.37 Hz, 1 H) 3.89 (dd, J=6.34, 1.95 Hz, 1 H) 3.99 (d, J=7.32 Hz, 2 H) 5.68 - 5.77 (m, 1 H) 5.91 (d, J=11.22 Hz, 1 H) 6.18 (dd, J=14.88, 10.98 Hz, 1 H)。

實例2

【0753】剖析用於製備ADC之例示性荷伯希二烯剪接體調節子有效負載物。評估有效負載物與SF3b複合物之結合、活體外剪接活性及抑制細胞生長之能力。

2.1 活體外剪接(IVS)

【0754】為評估有效負載物在無細胞系統中之活性，執行活體外剪接分析。將有效負載物與核提取物及pre-mRNA受質小型基因一起培育。

【0755】**HeLa核提取物製備**：使HeLa S3細胞集結粒再懸浮於低滲緩衝液(10 mM HEPES pH 7.9、1.5 mM $MgCl_2$、10 mM KCl、0.2 mM

PMSF、0.5 mM DTT)中，且使懸浮液達到總共5血球容積比(PCV)。離心之後，丟棄上清液，且用低滲緩衝液使細胞達到3 PCV且在冰上培育10 min。使用dounce均質機溶解細胞且隨後進行離心。丟棄上清液，且用½核容積比(PNV)之低鹽緩衝液(20 mM HEPES pH 7.9、1.5 mM $MgCl_2$、20 mM KCl、0.2 mM EDTA、25%甘油、0.2 mM PMSF、0.5 mM DTT)使集結粒再懸浮，接著用½ PNV之高鹽緩衝液(除1.4 M KCl之外其餘與低鹽緩衝液相同)使集結粒再懸浮。輕輕地混合核達30 min，之後進行離心。隨後，將上清液(核提取物)透析至儲存緩衝液(20 mM HEPES pH 7.9、100 mM KCl、0.2 mM EDTA、20%甘油、0.2 mM PMSF、0.5 mM DTT)中。使用NanoDrop 8000 UV-Vis分光光度計(ThermoFisher Scientific)測定蛋白質濃度。

【0756】**IVS**：使用5' EcoRI及3' XbaI限制位點將所有Ad2源性序列(Pellizzoni等人(1998) Cell 95(5):615-24)選殖至pcDNA3.1(+)載體(Promega)中。使用XbaI使質體線性化且用作活體外轉錄反應中之DNA模板。使用EcoRI使FtzΔi無內含子質體(Luo及Reed (1999) 96(26):14937-42)線性化。使所有RNA進行活體外轉錄且隨後分別使用MEGAScript T7 (Invitrogen)及MegaClear (Invitrogen)套組進行純化。對於使用Ad2變異pre-mRNA進行之剪接反應，使用由HeLa S3、2 ng pre-mRNA、0.2 ng FTZΔi及變化濃度之化合物或DMSO製備之8 μg核提取物來製備1 μL反應物。在30℃下預培育15 min之後，添加1 μL剪接活化緩衝液(0.5 mM ATP、20 mM磷酸肌酸、1.6 mM $MgCl_2$)，且將反應物在30℃下培育90 min。隨後，用13 μL DMSO淬滅反應物，且使用25 nL以進行RT-qPCR。RT-qPCR反應物係使用以下來製備：TaqMan RNA-to-C_T 1步套

組(Life Technologies)、來自剪接反應之RNA、Ad2 (正向：ACTCTCTTCCGCATCGCTGT (SEQ ID NO: 108)；逆向：CCGACGGGTTTCCGATCCAA (SEQ ID NO: 109)；探針：CTGTTGGGCTCGCGGTTG (SEQ ID NO: 110))及Ftz (正向：TGGCATCAGATTGCAAAGAC (SEQ ID NO: 111)；逆向：ACGCCGGGTGATGTATCTAT (SEQ ID NO: 112)；探針：CGAAACGCACCCGTCAGACG (SEQ ID NO: 113)) mRNA引子-探針組。使用Prism 7 (Graphpad)對所形成之剪接產物進行非線性回歸曲線擬合且相對於對照(DMSO)樣品標準化。

【0757】鑒於所有經測試之有效負載物均特異性結合至SF3b複合物且展現類似結合概況，故假設所有有效負載物亦應在相當程度上調節剪接。所有有效負載物均顯著地調節Ad2.2 pre-mRNA之剪接(參見表13)。在有效負載物存在之情況下，觀測到剪接產物之量減少。

2.2 細胞活力

【0758】將HCC1954 (美國菌種中心(American Type Culture Collection，ATCC))乳房導管癌細胞以2000個細胞/孔塗鋪於平底96孔組織培養盤(Corning)中之補充有10%胎牛血清之90 μL總體積之組織培養基(ThermoFisher Scientific)中。用200 nM至0.03 nM之3倍連續稀釋之化合物處理細胞。一式三份測試各濃度。在處理時，根據製造商建議(Promega；編號G9241)使用CellTiter-Glo®2.0發光細胞活力分析評估具有未經處理之細胞之盤。將CellTiter-Glo® 2.0試劑添加至培養基中，培育且在EnVision多標記讀取器(PerkinElmer)上進行分析。值表示零時(T0)。亦使用CellTiter-Glo®2.0發光細胞活力分析測定144小時(T144)化

合物處理之後之活細胞之數目。使用零時(T0)之發光值、DMSO對照生長(C)及在化合物存在之情況下之測試生長(T144)，計算在化合物濃度水準中之各者下之生長百分比。生長抑制百分比計算如下：對於T144>/=T0之濃度，[(T144-T0)/(C-T0)] × 100，或對於T144<T0之濃度，[(T144-T0)/T0] × 100。使用Prism 7 (Graphpad)生成劑量反應曲線圖且使用非線性回歸分析及log(抑制劑)相對於反應—可變斜率(四個參數)進行擬合。

【0759】在經HER2放大之HCC1954乳癌細胞中測定所有有效負載物之細胞活力劑量反應。大部分所測試之有效負載物展現介於低奈莫耳範圍內之GI_{50}值(亦即引起50%細胞增殖減少之化合物濃度)(參見表13)。

實例3

【0760】經由抗體上之半胱胺酸殘基將實例2中所評估之例示性有效負載化合物結合至例示性抗HER2抗體(曲妥珠單抗)。下文描述例示性抗HER2 ADC之製備及評估。

3.1 抗體

【0761】使用曲妥珠單抗抗體(「AB185」) (Molina等人(2001) Cancer Res. 61(12):4744-9)來製備抗HER2 ADC (在本文中亦稱為SMLA)。

3.2 生物結合

【0762】使於PBS緩衝液(pH 7.0)中之10 mg/mL抗體(曲妥珠單抗)與5 mM TCEP (2-4莫耳當量) (ThermoFisher Scientific；編號77720)混合以使鏈間二硫鍵斷裂。將反應物在22℃下輕輕地混合3小時。隨後，添加丙二醇(15% v/v)，接著為8莫耳當量之連接子-有效負載物(於DMSO中之6 mM儲備液)，且使溶液充分地混合。將反應物在22℃下置放於培育箱

中之旋轉盤上。2小時結合之後，藉由AKTA GE M150 (HiTrapTM 26/10去鹽管柱；流動速率：3 mL/min) (GE Healthcare Bio-Sciences)純化反應混合物以將未經結合之有效負載物移至DPBS (pH 7.5)中。經由Amicon超濾器(30 kDa，Ultra-4) (EMD Millipore)濃縮所得結合物，且經由0.22 μm PVDF拋棄式過濾器(EMD Millipore)進行無菌過濾。藉由UV-VIS量測最終澄清溶液以根據比-朗定律(Beer-Lambert law) (A=E*c*l)及以下方程式測定抗體濃度([mAb]；莫耳/公升)及經結合之有效負載物濃度([LD]；莫耳/公升)：

$A_{280nm} = E^{mAb}_{280nm} * [mAb] * l + E^{LD}_{280nm} * [LD] * l$

$A_{252nm} = E^{mAb}_{252nm} * [mAb] * l + E^{LD}_{252nm} * [LD] * l$

E^{mAb}_{280nm}： 曲妥珠單抗 = 213,380 $cm^{-1}M^{-1}$

E^{mAb}_{252nm}： 曲妥珠單抗 = 79,112 $cm^{-1}M^{-1}$

E^{LD}_{280nm} = 800 $cm^{-1}M^{-1}$

E^{LD}_{252nm} = 31,000 $cm^{-1}M^{-1}$

縮寫：c -莫耳濃度；l -光路長度(Nanodrop：0.1 cm)；E -莫耳消光係數；A -吸光度。

3.3 生物物理學表徵

【0763】分別藉由液相層析法-質譜法(LC/MS)、粒徑篩析層析法(SEC)及逆相高效液相層析法(HPLC)分析例示性抗HER2 ADC之荷伯希二烯剪接調節子與抗體比(HAR)、聚集%及未經結合之有效負載物%。一般而言，結合物含有少於2%游離藥物且含有少於10%聚集物。

3.3.1 LC/MS分析- HAR

【0764】使用與Agilent G6224A精確質量TOF質譜儀介接之Agilent

1290 UPLC系統執行LC/MS分析。將結合物在37℃下用N-醣醯胺酶F (New England Biolabs；編號P0705L)去糖基化4小時，用8 M Gdn-HCl (Sigma；編號G9284)變性，且最後使用DTT (5 mM最終濃度) (Promega；編號V3151)分成輕鏈域及重鏈域。將所製備之樣品注射至Agilent PLRP-S管柱(2.1 × 150 mm，8 μm)上且在室溫(RT)下經28 min用25% B至50% B之梯度進行溶離。移動相A為具有0.05% TFA之水，移動相B為具有0.04% TFA之乙腈，且流動速率為1 mL/min。由解卷積質譜、藉由對關於輕鏈(L0或L1)及重鏈(H0、H1、H2及H3)之未結合峰及藥物結合峰之強度求加權平均值來計算HAR。使用以下方程式計算完整結合物之總HAR：(HAR_{LC}* 2) + (HAR_{HC}*2) =總HAR。例示性抗HER2 ADC之HAR值報導於表12中。

3.3.2 SEC分析- 聚集

【0765】使用TOSON-G3000SWXL (編號008541)管柱在具有0.25 mM氯化鉀及15% (v/v) IPA之0.2 M磷酸鉀(pH 7)中以0.75 mL/min之流動速率執行尺寸篩析層析法。藉由曲線下面積積分測定高分子量單體結合物組分在280 nm處之峰面積吸光度。例示性抗HER2 ADC之單體百分比報導於表12中。

3.3.3 HPLC分析-游離荷伯希二烯剪接調節子

【0766】在冰上用10體積之乙腈使所關注之結合物沈澱2小時且進行短暫離心。隨後，將含有殘餘未經結合之有效負載物之上清液注射至Agilent Poroshell 120 SB-C18 120A管柱(4.6 × 100 mm，2.7 μm)上，且在RT下經10 min用45% B至70% B之梯度進行溶離。移動相A為100%水，移動相B為100%乙腈，且流動速率為0.6 mL/min且偵測係在252 nm

處。經由UV偵測定量殘餘游離荷伯希二烯剪接調節子之量，且與未經結合之連接子-有效負載物之外部標準物曲線比較。例示性抗HER2 ADC之游離荷伯希二烯剪接調節子百分比報導於表12中。

3.4 結合表徵

3.4.1 FACS與目標陽性細胞之結合

【0767】藉由流動式細胞量測術使用間接免疫螢光評估未經結合之抗HER2抗體及抗HER2 ADC與目標陽性細胞之結合。將作為內源性表現HER2之乳癌細胞株之JIMT1細胞(DSMZ)塗鋪(5×10^4個細胞/孔)於v型底96孔盤(Greiner Bio-One)中，且在4℃下將其與在分析培養基(補充有10% (w/v)胎牛血清白蛋白之RPMI-1640 (Thermo Fisher Scientific))中稀釋至各種濃度之測試化合物一起培育2小時。隨後，用PBS + 2% FBS (FACS緩衝液)洗滌細胞，且在4℃下在暗處用經藻紅素標記(PE)之山羊抗人類免疫球蛋白G (IgG)抗體(Invitrogen)染色40 min。用冷FACS緩衝液洗滌細胞，且在室溫下用FluroFix緩衝液(Biolegend)固定30 min。用FACS緩衝液洗掉固定劑。使用LSRFortessa流動式細胞量測儀(BD Bioscience)分析經固定細胞之PE之幾何平均螢光。包括曲妥珠單抗及T-DM1 (與曲妥珠單抗結合之DM1)作為對照。

3.5 活體外分析

3.5.1 細胞活力

【0768】在若干經HER2放大之細胞株中測試抗HER2 ADC抑制細胞生長之能力。使用HCC1954 (ATCC，2000個細胞/孔)細胞株。如部分2.3中所描述執行細胞活力分析。

【0769】出乎意料地，並非所有ADC在HCC1954細胞中皆具有活

性，不管具有類似結合概況(參見表13)及有類似生物化學特性之有效負載物如何均如此。舉例而言，具有ADL2連接子之ADC不太能夠抑制細胞生長(例如比較ADL1-H1與ADL2-H1之活性)。

表12. 荷伯希二烯剪接調節子有效負載物之物理表徵

SMLA	荷伯希二烯剪接調節子	連接子	游離藥物%	單體%	濃度 (mg/ml)	滲透性 平均值 Caco-2 A-B Perm (10^{-6} cm/s)	滲透性 平均值	ER	穩定性 平均值 穩定性t1/2 pH5.5 (d)	穩定性 平均值 穩定性% pH5.5 t24h (%)
AB185-ADL1-H3	H3	ADL1	nd	99	1.380	nd	nd	nd	nd	nd
AB185-ADL1-H1	H1	ADL1	0.300	97	2.550	0.263	0.334	1.270	3.5	79
AB185-ADL1-H8	H8	ADL1	nd	98	0.320	nd	nd	nd	nd	nd
AB185-ADL1-H5	H5	ADL1	nd	98	2.490	1.040	23.6	22.692	>7	>100
AB185-ADL1-H7	H7	ADL1	nd	97	2.570	nd	nd	nd	nd	nd
AB185-ADL1-H10	H10	ADL1	nd	98	2.380	nd	nd	nd	nd	nd
AB185-ADL1-H9	H9	ADL1	nd	98	2.550	11.596	nd	nd	nd	nd
AB185-ADL1-H4	H4	ADL1	0.400	91	2.740	19.263	nd	nd	nd	nd
AB185-ADL1-H6	H6	ADL1	nd	99	2.050	5.725	nd	nd	nd	nd
AB185-ADL2-H1	H1	ADL2	nd	nd	2.090	0.263	0.334	1.270	3.5	79
AB185-ADL2-H11	H11	ADL2	nd	nd	3.060	nd	nd	nd	nd	nd

表13. 例示性抗HER2 ADC及對應荷伯希二烯剪接調節子有效負載物之表徵

				SMLA活性		有效負載物SF3B1結合及mRNA剪接調節			荷伯希二烯剪接調節子細胞效力						
SMLA	荷伯希二烯剪接調節子	連接子	HAR	CTGlo G平均值 GI50 (nM) HER2 SMLA 篩檢 HCC1954.1	CTGlo G平均值 LD50 (nM) HER2 SMLA 篩檢 HCC1954.1	SPA-ATS G平均值 IC50 (nM) SF3B1 (WT) HELA.2	qPCR-IVS - ATS G平均值 IC50 (nM) Ad2.1 HELA.2	qPCR-IVS - ATS G平均值 IC50 (nM) Ad2.2 HELA.2	CTGlo - ATS G平均值 GI50 (nM) 72h THP1.1	CTGlo - ATS G平均值 LD50 (nM) 72h THP1.1	CTGlo - ATS 平均值 最小反應% 72h THP1.1	CTGlo-ATS G平均值 GI50 (nM) 72h NCIH1650.1	CTGlo-ATS G平均值 LD50 (nM) 72h NCIH1650.1	CTGlo -ATS 平均值 最小反應% 72h NCIH1650.1	CTGlo - ATS 平均值 最小反應% 72h OPM2.1
AB185-ADL1-H3	H3	ADL1	4.520	0.067	0.246	nd	562.476	35.185	54.563	478.332	-92.943	114.915	>10000	19.182	-98.873
AB185-ADL1-H1	H1	ADL1	4.800	0.048	0.310	11.671	72.619	33.667	114.194	697.273	-84.238	182.271	>10000	10.179	-83.666
AB185-ADL1-H8	H8	ADL1	5.920	0.030	0.980	nd	12.902	12.916	1.218	11.851	-102.030	1.105	>10000	17.053	-103.148
AB185-ADL1-H5	H5	ADL1	4.920	0.180	1.040	12.903	30.268	17.764	0.433	3.415	-103.352	0.407	>10000	-25.308	-103.609
AB185-ADL1-H7	H7	ADL1	5.160	0.305	1.388	nd	14.452	12.059	0.650	6.756	-99.328	0.772	>10000	5.754	-100.376
AB185-ADL1-H10	H10	ADL1	4.710	0.162	3.963	nd	21.704	16.500	2.058	21.021	-98.789	3.036	>10000	9.194	-100.672
AB185-ADL1-H9	H9	ADL1	4.770	0.323	36.1	nd	9.679	8.659	1.337	14.441	-101.645	0.481	2.681	2.327	>10000

AB185-ADL1-H4	H4	ADL1	4.010	0.516	200	14.497	31.583	29.555	649.406	5337.399	-40.902	463.968	2575.18	728.583	>10000
AB185-ADL1-H6	H6	ADL1	6.090	3.952	400	nd	9.514	7.188	0.701	6.522	-101.275	0.219	1.336	0.978	>10000
AB185-ADL2-H1	H1	ADL2	3.200	355	400	11.671	72.619	33.667	114.194	697.273	-84.238	182.271	>10000	10.179	-83.666
AB185-ADL2-H11	H11	ADL2	2.600	235	400	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

nd =未測定

3.5.2 ADC有效負載物之Caco-2滲透性

【0770】將Caco-2細胞在37℃、95%濕度、5% CO_2下在transwell 24孔盤中培養21天。藉由TEER (經上皮電阻)及螢光黃確認細胞單層之完整性。一式兩份，將10 μM有效負載物分別摻加於細胞單層之兩側上。藉由緊接地在處理之後(t=0)及培育2小時之後自兩個隔室取樣等分試樣來測定自頂部至底外側(A-B)方向及自底外側至頂部(B-A)方向的滲透速率。用含內部標準物之有機溶劑使樣品中之蛋白質沈澱且藉由LC-MS/MS (SCIEX；API 5500)進行分析。使用在兩個方向上隨時間推移之有效負載物/內部標準物之面積比反應來生成滲透性(cm/sec)值。藉由B-A/A-B相除來計算流出比。對照化合物之低滲透性及高滲透性以及流出表現正如預期。滲透性值報導於表12中。

3.5.3 ADC有效負載物之化學穩定性

【0771】在Mcilvane (檸檬酸鹽-磷酸鹽)緩衝液pH 5.5 (Boston Bioproducts；編號BB-2466)中培育荷伯希二烯剪接調節子，最終濃度為20 μM (低於來自儲備溶液之0.5% DMSO)。將荷伯希二烯剪接調節子溶液及內部標準物抽吸至入96孔盤中，在UPLC (Waters Aquity H類)上運作，且分析初始層析信號(t=0)。管柱為Waters UPLC HSS T3 1.8 μm 2.1 × 50 mm管柱(編號186003538)。經1 min採用95%至10%之移動相A梯度，其中A為0.1%甲酸/水且移動相B為0.1%甲酸/乙腈(流動速率0.9 mL/min)。將荷伯希二烯剪接調節子溶液之剩餘部分在37℃下保持在盤搖動器(Eppendorf ThermoMixer)中。在37℃下培育後24小時、72小時及96小時，重複藉由UPLC進行之樣品分析。測定以下三個時間點之荷伯希二烯剪接調節子及內部標準物之面積比反應：0時、第1天及第3天或第4

天。0時設定成100。比較稍後時間點與0時之面積比反應。剩餘部分百分比計算如下：(第X天之面積比/ 0時之面積比) × 100 =剩餘部分%。在比較剩餘部分%之對數與時間點之Excel中計算直線斜率。在Excel中藉由ln(2)/斜率計算半衰期且報導於表12中。

實例4

【0772】如下文所描述評估例示性有效負載化合物。

4.1 活體外分析

4.1.1 細胞活力

【0773】在經HER2放大之HCC1954乳癌細胞及NCI-N87胃癌細胞中測定例示性有效負載化合物之細胞活力劑量反應。

【0774】將HCC1954 (美國菌種中心(ATCC))乳房導管癌細胞或NCI-N87 (ATCC)胃癌細胞以500個細胞/孔塗鋪於平底384孔組織培養盤(Corning)中之補充有10%胎牛血清之30 μL總體積之組織培養基(ThermoFisher Scientific)中。用10000 nM至0.01 nM之4倍連續稀釋之化合物處理細胞。一式三份測試各濃度。在處理時，根據製造商建議(Promega；編號G9241)使用CellTiter-Glo® 2.0發光細胞活力分析評估具有未經處理之細胞之盤。將CellTiter-Glo® 2.0試劑添加至培養基中，培育且在EnVision多標記讀取器(PerkinElmer)上進行分析。值表示零時(T0)。亦使用CellTiter-Glo®2.0發光細胞活力分析測定72小時(T72)或144小時(T144)化合物處理之後之活細胞之數目。使用零時(T0)之發光值、DMSO對照生長(C)及在化合物存在之情況下之測試生長(T72或T144)，計算在化合物濃度水準中之各者下之生長百分比。生長抑制百分比計算如下(例如)：對於T144>/=T0之濃度，[(T144-T0)/(C-T0)] × 100，或對於

T144<T0之濃度，[(T144-T0)/T0] × 100。使用Prism 8 (Graphpad)生成劑量反應曲線圖且使用非線性回歸分析及log(抑制劑)相對於反應－可變斜率(四個參數)進行擬合。

【0775】**圖1A-1D**顯示經HER2放大之乳癌細胞(HCC1954)及胃癌細胞(NCI-N87)中之例示性有效負載化合物之活力劑量反應。**圖1A**顯示在72小時培育之後HCC1954細胞中之活力劑量反應。**圖1B**顯示在72小時培育之後NCI-N87細胞中之活力劑量反應。**圖1C**顯示在144小時培育之後HCC1954細胞中之活力劑量反應。**圖1D**顯示在144小時培育之後NCI-N87細胞中之活力劑量反應。表14顯示所有所測試之化合物之GI50、LD50及Rmin值。

4.1.2 細胞內剪接PD分析

【0776】亦在經增加濃度之例示性有效負載化合物治療之HCC1954細胞及NCI-N87細胞中檢驗SLC25A19成熟轉錄本的剪接。

【0777】將HCC1954細胞或NCI-N87細胞(ATCC)以1000個細胞/孔塗鋪於RPMI+10% FBS培養基(ATCC)中，每孔20 µL。在4倍稀釋劑量-反應中用化合物治療細胞。6小時之後，對細胞進行PBS洗滌，且用含有25 µL/mL RNAsin (Promega)之30 µL CL緩衝液(IgePal CA-630、5M NaCl、於水中之1M Tris HCl 1M pH 7.4)進行溶解，且在RT下在振盪器上培育20 min。根據製造商建議使用所得混合物(1 µL)來評估具有以下Taqman引子之Taqman快速病毒1步主混合物(Applied Biosystems)反轉錄PCR反應中之剪接調節：SLC25A19 (Invitrogen，Hs00222265_m1)；RPLPO (Invitrogen，Hs99999902_m1)。

【0778】**圖2A**及**圖2B**顯示經HER2放大之乳癌細胞(HCC1954) (**圖**

2A)及胃癌細胞(NCI-N87) (**圖2B**)中之剪接分析之結果。表14顯示所有所測試之化合物之IC50值。

表14. 例示性荷伯希二烯剪接調節子有效負載物之表徵

	HCC1954							NCI-N87						
化合物	CTG 72h GI50 (nM)	CTG 72h LD50 (nM)	CTG 72h Rmin (%)	CTG 144h GI50 (nM)	CTG 144h LD50 (nM)	CTG 144h Rmin (%)	剪接6h IC50 (nM)	CTG 72h GI50 (nM)	CTG 72h LD50 (nM)	CTG 72h Rmin (%)	CTG 144h GI50 (nM)	CTG 144h LD50 (nM)	CTG 144h Rmin (%)	剪接6h IC50 (nM)
H17	118.654	10000	-48.872	125.718	275.218	-96.54	115.1	46.97	10000	-15.164	81.28	912.895	-65.458	113.6
H22	10000	10000	82.229	10000	10000	71.431	10000	10000	10000	48.181	5102.126	10000	29.113	10000
H18	624.477	10000	-20.785	435.9	1606.048	-88.195	1679	299.847	10000	-12.297	313.328	3937.618	-60.543	463.6
H20	40.416	10000	-44.802	16.417	98.861	-94.301	51.44	29.413	10000	-62.676	21.01	532.734	-94.539	56.23
H13	189.939	10000	-54.164	209.534	690.614	-97.151	319.7	53.935	10000	-15.164	114.882	2784.969	-80.613	108.3
H14	626.028	10000	-42.159	681.616	2055.923	-95.522	1346	415.335	10000	-2.467	729.758	7944.263	-63.41	961.8
H21	81.436	10000	-54.164	50.008	127.893	-97.761	157.4	35.451	10000	-7.791	40.936	654.736	-86.347	87.47
H16	11.844	10000	-65.968	8.985	22.316	-98.779	16.7	6.758	10000	-21.717	3.624	98.186	-86.757	8.552
H15	18.051	10000	-44.191	11.718	31.77	-95.522	17.06	6.002	10000	-18.011	3.499	106.186	-82.661	15.41
H19	8989.184	10000	32.813	7928.26	10000	27.17	10000	10000	10000	44.396	3266.803	10000	17.442	10000

在10000下之值高於最大劑量(>10 μM)。

【補充序列表】

<110> 日商衛材R&D企管股份有限公司(EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD.)

<120> 荷伯希二烯(herboxidiene)剪接調節抗體-藥物結合物及其使用方法

<130> 12636.0011-00270

<150> 62/941,220
<151> 2019-11-27

<150> 62/779,406
<151> 2018-12-13

<150> 62/779,400
<151> 2018-12-13

<160> 113

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 1
Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 2
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 2
Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 3
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 3
Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Val
1 5 10

<210> 4
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 4
Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala Trp
1 5 10

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 5
Ser Ala Ser Phe Leu Glu Ser
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 6

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 7
Asn Tyr Trp Ile Glu
1 5

<210> 8
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 8
Ile Leu Pro Gly Thr Gly Arg Thr Ile Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly
1 5 10 15

Lys Ala

<210> 9
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 9
Arg Asp Tyr Tyr Gly Asn Phe Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 10
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 10
Ala Ser Gln Gly Ile Asn Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 11
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 11
Thr Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 12
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 12
Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Arg Thr
1 5

<210> 13
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 13
His Tyr Met Met Ala
1 5

<210> 14

<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 14
Arg Ile Gly Pro Ser Gly Gly Pro Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 15
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 15
Tyr Asp Ser Gly Tyr Asp Tyr Val Ala Val Ala Gly Pro Ala Glu Tyr
1 5 10 15

Phe Gln His

<210> 16
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 16
Arg Ala Ser Trp Ser Ile Ser Thr Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 17
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 17
Lys Ala Ser Asn Leu His Thr
1 5

<210> 18
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 18
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg Thr
1 5

<210> 19
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 19
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 20
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 20
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105

<210> 21
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 21
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Met Met Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Ile Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Leu
35 40 45

Pro Gly Thr Gly Arg Thr Ile Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala
50 55 60

Thr Phe Thr Ala Asp Ile Ser Ser Asn Thr Val Gln Met Gln Leu Ser
65 70 75 80

Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Asp
85 90 95

Tyr Tyr Gly Asn Phe Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 22
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 22

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Glu Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 23
<211> 128
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 23
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr
20 25 30

Met Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Arg Ile Gly Pro Ser Gly Gly Pro Thr His Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Tyr Asp Ser Gly Tyr Asp Tyr Val Ala Val Ala Gly Pro Ala
100 105 110

Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 24
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 24
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 25
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 25
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

```
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Pro Lys Ser Cys
    210                 215                 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225                 230                 235                 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
                245                 250                 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
            260                 265                 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
        275                 280                 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
    290                 295                 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305                 310                 315                 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
                325                 330                 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
```

340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 26
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 26
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 27
<211> 441
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 27

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Met Met Pro Gly Ala
1               5                  10                  15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

Trp Ile Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Leu
        35                  40                  45

Pro Gly Thr Gly Arg Thr Ile Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala
    50                  55                  60

Thr Phe Thr Ala Asp Ile Ser Ser Asn Thr Val Gln Met Gln Leu Ser
65                  70                  75                  80

Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Asp
                85                  90                  95

Tyr Tyr Gly Asn Phe Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro
        115                 120                 125

Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly
    130                 135                 140

Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn
145                 150                 155                 160

Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
                165                 170                 175

Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr
```

180 185 190

Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro
210 215 220

Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
225 230 235 240

Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys
245 250 255

Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp
260 265 270

Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu
275 280 285

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met
290 295 300

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser
305 310 315 320

Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
325 330 335

Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln
340 345 350

Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe
355 360 365

Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu
370 375 380

Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe
385 390 395 400

Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn
405 410 415

Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr
420 425 430

Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly
435 440

<210> 28
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 28
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Glu Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 29
<211> 457
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 29
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr
20 25 30

Met Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Arg Ile Gly Pro Ser Gly Gly Pro Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Tyr Asp Ser Gly Tyr Asp Tyr Val Ala Val Ala Gly Pro Ala
100 105 110

Glu Tyr Phe Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
130 135 140

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145 150 155 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
165 170 175

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
195 200 205

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
275 280 285

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
355 360 365

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
450 455

<210> 30
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 30
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 31
<211> 1255
<212> PRT
<213> 智人

<400> 31
Met Glu Leu Ala Ala Leu Cys Arg Trp Gly Leu Leu Leu Ala Leu Leu
1 5 10 15

Pro Pro Gly Ala Ala Ser Thr Gln Val Cys Thr Gly Thr Asp Met Lys
20 25 30

Leu Arg Leu Pro Ala Ser Pro Glu Thr His Leu Asp Met Leu Arg His
35 40 45

Leu Tyr Gln Gly Cys Gln Val Val Gln Gly Asn Leu Glu Leu Thr Tyr
50 55 60

Leu Pro Thr Asn Ala Ser Leu Ser Phe Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val
65 70 75 80

Gln Gly Tyr Val Leu Ile Ala His Asn Gln Val Arg Gln Val Pro Leu
85 90 95

Gln Arg Leu Arg Ile Val Arg Gly Thr Gln Leu Phe Glu Asp Asn Tyr
100 105 110

Ala Leu Ala Val Leu Asp Asn Gly Asp Pro Leu Asn Asn Thr Thr Pro
115 120 125

Val Thr Gly Ala Ser Pro Gly Gly Leu Arg Glu Leu Gln Leu Arg Ser
130 135 140

Leu Thr Glu Ile Leu Lys Gly Gly Val Leu Ile Gln Arg Asn Pro Gln
145 150 155 160

Leu Cys Tyr Gln Asp Thr Ile Leu Trp Lys Asp Ile Phe His Lys Asn
165 170 175

Asn Gln Leu Ala Leu Thr Leu Ile Asp Thr Asn Arg Ser Arg Ala Cys
180 185 190

His Pro Cys Ser Pro Met Cys Lys Gly Ser Arg Cys Trp Gly Glu Ser
195 200 205

Ser Glu Asp Cys Gln Ser Leu Thr Arg Thr Val Cys Ala Gly Gly Cys
210 215 220

Ala Arg Cys Lys Gly Pro Leu Pro Thr Asp Cys Cys His Glu Gln Cys
225 230 235 240

Ala Ala Gly Cys Thr Gly Pro Lys His Ser Asp Cys Leu Ala Cys Leu
245 250 255

His Phe Asn His Ser Gly Ile Cys Glu Leu His Cys Pro Ala Leu Val
260 265 270

Thr Tyr Asn Thr Asp Thr Phe Glu Ser Met Pro Asn Pro Glu Gly Arg
275 280 285

Tyr Thr Phe Gly Ala Ser Cys Val Thr Ala Cys Pro Tyr Asn Tyr Leu
290 295 300

Ser Thr Asp Val Gly Ser Cys Thr Leu Val Cys Pro Leu His Asn Gln
305 310 315 320

Glu Val Thr Ala Glu Asp Gly Thr Gln Arg Cys Glu Lys Cys Ser Lys
325 330 335

Pro Cys Ala Arg Val Cys Tyr Gly Leu Gly Met Glu His Leu Arg Glu
340 345 350

Val Arg Ala Val Thr Ser Ala Asn Ile Gln Glu Phe Ala Gly Cys Lys
355 360 365

Lys Ile Phe Gly Ser Leu Ala Phe Leu Pro Glu Ser Phe Asp Gly Asp
370 375 380

Pro Ala Ser Asn Thr Ala Pro Leu Gln Pro Glu Gln Leu Gln Val Phe
385 390 395 400

Glu Thr Leu Glu Glu Ile Thr Gly Tyr Leu Tyr Ile Ser Ala Trp Pro
405 410 415

Asp Ser Leu Pro Asp Leu Ser Val Phe Gln Asn Leu Gln Val Ile Arg
420 425 430

Gly Arg Ile Leu His Asn Gly Ala Tyr Ser Leu Thr Leu Gln Gly Leu
435 440 445

Gly Ile Ser Trp Leu Gly Leu Arg Ser Leu Arg Glu Leu Gly Ser Gly
450 455 460

Leu Ala Leu Ile His His Asn Thr His Leu Cys Phe Val His Thr Val
465 470 475 480

Pro Trp Asp Gln Leu Phe Arg Asn Pro His Gln Ala Leu Leu His Thr
485 490 495

Ala Asn Arg Pro Glu Asp Glu Cys Val Gly Glu Gly Leu Ala Cys His
500 505 510

Gln Leu Cys Ala Arg Gly His Cys Trp Gly Pro Gly Pro Thr Gln Cys
515 520 525

Val Asn Cys Ser Gln Phe Leu Arg Gly Gln Glu Cys Val Glu Glu Cys
530 535 540

Arg Val Leu Gln Gly Leu Pro Arg Glu Tyr Val Asn Ala Arg His Cys
545 550 555 560

Leu Pro Cys His Pro Glu Cys Gln Pro Gln Asn Gly Ser Val Thr Cys
565 570 575

Phe Gly Pro Glu Ala Asp Gln Cys Val Ala Cys Ala His Tyr Lys Asp
580 585 590

Pro Pro Phe Cys Val Ala Arg Cys Pro Ser Gly Val Lys Pro Asp Leu
595 600 605

Ser Tyr Met Pro Ile Trp Lys Phe Pro Asp Glu Glu Gly Ala Cys Gln
610 615 620

Pro Cys Pro Ile Asn Cys Thr His Ser Cys Val Asp Leu Asp Asp Lys
625 630 635 640

Gly Cys Pro Ala Glu Gln Arg Ala Ser Pro Leu Thr Ser Ile Ile Ser
645 650 655

Ala Val Val Gly Ile Leu Leu Val Val Val Leu Gly Val Val Phe Gly
660 665 670

Ile Leu Ile Lys Arg Arg Gln Gln Lys Ile Arg Lys Tyr Thr Met Arg
675 680 685

Arg Leu Leu Gln Glu Thr Glu Leu Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly
690 695 700

Ala Met Pro Asn Gln Ala Gln Met Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Leu
705 710 715 720

Arg Lys Val Lys Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys
725 730 735

Gly Ile Trp Ile Pro Asp Gly Glu Asn Val Lys Ile Pro Val Ala Ile
740 745 750

Lys Val Leu Arg Glu Asn Thr Ser Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu
755 760 765

Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Gly Val Gly Ser Pro Tyr Val Ser Arg
770 775 780

Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser Thr Val Gln Leu Val Thr Gln Leu
785 790 795 800

Met Pro Tyr Gly Cys Leu Leu Asp His Val Arg Glu Asn Arg Gly Arg
805 810 815

Leu Gly Ser Gln Asp Leu Leu Asn Trp Cys Met Gln Ile Ala Lys Gly
820 825 830

Met Ser Tyr Leu Glu Asp Val Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala
835 840 845

Arg Asn Val Leu Val Lys Ser Pro Asn His Val Lys Ile Thr Asp Phe
850 855 860

Gly Leu Ala Arg Leu Leu Asp Ile Asp Glu Thr Glu Tyr His Ala Asp
865 870 875 880

Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu Arg
885 890 895

Arg Arg Phe Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val
900 905 910

Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ala Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala
915 920 925

Arg Glu Ile Pro Asp Leu Leu Glu Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro
930 935 940

Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met
945 950 955 960

Ile Asp Ser Glu Cys Arg Pro Arg Phe Arg Glu Leu Val Ser Glu Phe
965 970 975

Ser Arg Met Ala Arg Asp Pro Gln Arg Phe Val Val Ile Gln Asn Glu
980 985 990

Asp Leu Gly Pro Ala Ser Pro Leu Asp Ser Thr Phe Tyr Arg Ser Leu
995 1000 1005

Leu Glu Asp Asp Asp Met Gly Asp Leu Val Asp Ala Glu Glu Tyr
1010 1015 1020

Leu Val Pro Gln Gln Gly Phe Phe Cys Pro Asp Pro Ala Pro Gly
1025 1030 1035

Ala Gly Gly Met Val His His Arg His Arg Ser Ser Ser Thr Arg
1040 1045 1050

Ser Gly Gly Gly Asp Leu Thr Leu Gly Leu Glu Pro Ser Glu Glu
1055 1060 1065

Glu Ala Pro Arg Ser Pro Leu Ala Pro Ser Glu Gly Ala Gly Ser
1070 1075 1080

Asp Val Phe Asp Gly Asp Leu Gly Met Gly Ala Ala Lys Gly Leu
1085 1090 1095

Gln Ser Leu Pro Thr His Asp Pro Ser Pro Leu Gln Arg Tyr Ser
1100 1105 1110

Glu Asp Pro Thr Val Pro Leu Pro Ser Glu Thr Asp Gly Tyr Val
1115 1120 1125

Ala Pro Leu Thr Cys Ser Pro Gln Pro Glu Tyr Val Asn Gln Pro
1130 1135 1140

Asp Val Arg Pro Gln Pro Pro Ser Pro Arg Glu Gly Pro Leu Pro
1145 1150 1155

Ala Ala Arg Pro Ala Gly Ala Thr Leu Glu Arg Pro Lys Thr Leu
1160 1165 1170

Ser Pro Gly Lys Asn Gly Val Val Lys Asp Val Phe Ala Phe Gly
1175 1180 1185

Gly Ala Val Glu Asn Pro Glu Tyr Leu Thr Pro Gln Gly Gly Ala
1190 1195 1200

Ala Pro Gln Pro His Pro Pro Pro Ala Phe Ser Pro Ala Phe Asp
1205 1210 1215

Asn Leu Tyr Tyr Trp Asp Gln Asp Pro Pro Glu Arg Gly Ala Pro
1220 1225 1230

Pro Ser Thr Phe Lys Gly Thr Pro Thr Ala Glu Asn Pro Glu Tyr
1235 1240 1245

Leu Gly Leu Asp Val Pro Val
1250 1255

<210> 32
<211> 310

<212> PRT
<213> 智人

<400> 32

```
Met Arg Arg Ala Ala Leu Trp Leu Trp Leu Cys Ala Leu Ala Leu Ser
1               5                  10                  15

Leu Gln Pro Ala Leu Pro Gln Ile Val Ala Thr Asn Leu Pro Pro Glu
            20                  25                  30

Asp Gln Asp Gly Ser Gly Asp Asp Ser Asp Asn Phe Ser Gly Ser Gly
        35                  40                  45

Ala Gly Ala Leu Gln Asp Ile Thr Leu Ser Gln Gln Thr Pro Ser Thr
    50                  55                  60

Trp Lys Asp Thr Gln Leu Leu Thr Ala Ile Pro Thr Ser Pro Glu Pro
65                  70                  75                  80

Thr Gly Leu Glu Ala Thr Ala Ala Ser Thr Ser Thr Leu Pro Ala Gly
                85                  90                  95

Glu Gly Pro Lys Glu Gly Glu Ala Val Val Leu Pro Glu Val Glu Pro
            100                 105                 110

Gly Leu Thr Ala Arg Glu Gln Glu Ala Thr Pro Arg Pro Arg Glu Thr
        115                 120                 125

Thr Gln Leu Pro Thr Thr His Leu Ala Ser Thr Thr Thr Ala Thr Thr
    130                 135                 140

Ala Gln Glu Pro Ala Thr Ser His Pro His Arg Asp Met Gln Pro Gly
145                 150                 155                 160

His His Glu Thr Ser Thr Pro Ala Gly Pro Ser Gln Ala Asp Leu His
                165                 170                 175

Thr Pro His Thr Glu Asp Gly Gly Pro Ser Ala Thr Glu Arg Ala Ala
            180                 185                 190
```

Glu Asp Gly Ala Ser Ser Gln Leu Pro Ala Ala Glu Gly Ser Gly Glu
195 200 205

Gln Asp Phe Thr Phe Glu Thr Ser Gly Glu Asn Thr Ala Val Val Ala
210 215 220

Val Glu Pro Asp Arg Arg Asn Gln Ser Pro Val Asp Gln Gly Ala Thr
225 230 235 240

Gly Ala Ser Gln Gly Leu Leu Asp Arg Lys Glu Val Leu Gly Gly Val
245 250 255

Ile Ala Gly Gly Leu Val Gly Leu Ile Phe Ala Val Cys Leu Val Gly
260 265 270

Phe Met Leu Tyr Arg Met Lys Lys Lys Asp Glu Gly Ser Tyr Ser Leu
275 280 285

Glu Glu Pro Lys Gln Ala Asn Gly Gly Ala Tyr Gln Lys Pro Thr Lys
290 295 300

Gln Glu Glu Phe Tyr Ala
305 310

<210> 33
<211> 976
<212> PRT
<213> 智人

<400> 33
Met Glu Leu Gln Ala Ala Arg Ala Cys Phe Ala Leu Leu Trp Gly Cys
1 5 10 15

Ala Leu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gln Gly Lys Glu Val Val Leu Leu
20 25 30

Asp Phe Ala Ala Ala Gly Gly Glu Leu Gly Trp Leu Thr His Pro Tyr
35 40 45

```
Gly Lys Gly Trp Asp Leu Met Gln Asn Ile Met Asn Asp Met Pro Ile
    50                  55                  60

Tyr Met Tyr Ser Val Cys Asn Val Met Ser Gly Asp Gln Asp Asn Trp
65                  70                  75                  80

Leu Arg Thr Asn Trp Val Tyr Arg Gly Glu Ala Glu Arg Ile Phe Ile
                85                  90                  95

Glu Leu Lys Phe Thr Val Arg Asp Cys Asn Ser Phe Pro Gly Gly Ala
            100                 105                 110

Ser Ser Cys Lys Glu Thr Phe Asn Leu Tyr Tyr Ala Glu Ser Asp Leu
        115                 120                 125

Asp Tyr Gly Thr Asn Phe Gln Lys Arg Leu Phe Thr Lys Ile Asp Thr
    130                 135                 140

Ile Ala Pro Asp Glu Ile Thr Val Ser Ser Asp Phe Glu Ala Arg His
145                 150                 155                 160

Val Lys Leu Asn Val Glu Glu Arg Ser Val Gly Pro Leu Thr Arg Lys
                165                 170                 175

Gly Phe Tyr Leu Ala Phe Gln Asp Ile Gly Ala Cys Val Ala Leu Leu
            180                 185                 190

Ser Val Arg Val Tyr Tyr Lys Lys Cys Pro Glu Leu Leu Gln Gly Leu
        195                 200                 205

Ala His Phe Pro Glu Thr Ile Ala Gly Ser Asp Ala Pro Ser Leu Ala
    210                 215                 220

Thr Val Ala Gly Thr Cys Val Asp His Ala Val Val Pro Pro Gly Gly
225                 230                 235                 240
```

Glu Glu Pro Arg Met His Cys Ala Val Asp Gly Glu Trp Leu Val Pro
245 250 255

Ile Gly Gln Cys Leu Cys Gln Ala Gly Tyr Glu Lys Val Glu Asp Ala
260 265 270

Cys Gln Ala Cys Ser Pro Gly Phe Phe Lys Phe Glu Ala Ser Glu Ser
275 280 285

Pro Cys Leu Glu Cys Pro Glu His Thr Leu Pro Ser Pro Glu Gly Ala
290 295 300

Thr Ser Cys Glu Cys Glu Glu Gly Phe Phe Arg Ala Pro Gln Asp Pro
305 310 315 320

Ala Ser Met Pro Cys Thr Arg Pro Pro Ser Ala Pro His Tyr Leu Thr
325 330 335

Ala Val Gly Met Gly Ala Lys Val Glu Leu Arg Trp Thr Pro Pro Gln
340 345 350

Asp Ser Gly Gly Arg Glu Asp Ile Val Tyr Ser Val Thr Cys Glu Gln
355 360 365

Cys Trp Pro Glu Ser Gly Glu Cys Gly Pro Cys Glu Ala Ser Val Arg
370 375 380

Tyr Ser Glu Pro Pro His Gly Leu Thr Arg Thr Ser Val Thr Val Ser
385 390 395 400

Asp Leu Glu Pro His Met Asn Tyr Thr Phe Thr Val Glu Ala Arg Asn
405 410 415

Gly Val Ser Gly Leu Val Thr Ser Arg Ser Phe Arg Thr Ala Ser Val
420 425 430

Ser Ile Asn Gln Thr Glu Pro Pro Lys Val Arg Leu Glu Gly Arg Ser
435 440 445

Thr Thr Ser Leu Ser Val Ser Trp Ser Ile Pro Pro Pro Gln Gln Ser
450 455 460

Arg Val Trp Lys Tyr Glu Val Thr Tyr Arg Lys Lys Gly Asp Ser Asn
465 470 475 480

Ser Tyr Asn Val Arg Arg Thr Glu Gly Phe Ser Val Thr Leu Asp Asp
485 490 495

Leu Ala Pro Asp Thr Thr Tyr Leu Val Gln Val Gln Ala Leu Thr Gln
500 505 510

Glu Gly Gln Gly Ala Gly Ser Lys Val His Glu Phe Gln Thr Leu Ser
515 520 525

Pro Glu Gly Ser Gly Asn Leu Ala Val Ile Gly Gly Val Ala Val Gly
530 535 540

Val Val Leu Leu Leu Val Leu Ala Gly Val Gly Phe Phe Ile His Arg
545 550 555 560

Arg Arg Lys Asn Gln Arg Ala Arg Gln Ser Pro Glu Asp Val Tyr Phe
565 570 575

Ser Lys Ser Glu Gln Leu Lys Pro Leu Lys Thr Tyr Val Asp Pro His
580 585 590

Thr Tyr Glu Asp Pro Asn Gln Ala Val Leu Lys Phe Thr Thr Glu Ile
595 600 605

His Pro Ser Cys Val Thr Arg Gln Lys Val Ile Gly Ala Gly Glu Phe
610 615 620

Gly Glu Val Tyr Lys Gly Met Leu Lys Thr Ser Ser Gly Lys Lys Glu
625 630 635 640

Val Pro Val Ala Ile Lys Thr Leu Lys Ala Gly Tyr Thr Glu Lys Gln
645 650 655

Arg Val Asp Phe Leu Gly Glu Ala Gly Ile Met Gly Gln Phe Ser His
660 665 670

His Asn Ile Ile Arg Leu Glu Gly Val Ile Ser Lys Tyr Lys Pro Met
675 680 685

Met Ile Ile Thr Glu Tyr Met Glu Asn Gly Ala Leu Asp Lys Phe Leu
690 695 700

Arg Glu Lys Asp Gly Glu Phe Ser Val Leu Gln Leu Val Gly Met Leu
705 710 715 720

Arg Gly Ile Ala Ala Gly Met Lys Tyr Leu Ala Asn Met Asn Tyr Val
725 730 735

His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Ile Leu Val Asn Ser Asn Leu Val
740 745 750

Cys Lys Val Ser Asp Phe Gly Leu Ser Arg Val Leu Glu Asp Asp Pro
755 760 765

Glu Ala Thr Tyr Thr Thr Ser Gly Gly Lys Ile Pro Ile Arg Trp Thr
770 775 780

Ala Pro Glu Ala Ile Ser Tyr Arg Lys Phe Thr Ser Ala Ser Asp Val
785 790 795 800

Trp Ser Phe Gly Ile Val Met Trp Glu Val Met Thr Tyr Gly Glu Arg
805 810 815

Pro Tyr Trp Glu Leu Ser Asn His Glu Val Met Lys Ala Ile Asn Asp
820 825 830

Gly Phe Arg Leu Pro Thr Pro Met Asp Cys Pro Ser Ala Ile Tyr Gln
835 840 845

Leu Met Met Gln Cys Trp Gln Gln Glu Arg Ala Arg Arg Pro Lys Phe
850 855 860

Ala Asp Ile Val Ser Ile Leu Asp Lys Leu Ile Arg Ala Pro Asp Ser
865 870 875 880

Leu Lys Thr Leu Ala Asp Phe Asp Pro Arg Val Ser Ile Arg Leu Pro
885 890 895

Ser Thr Ser Gly Ser Glu Gly Val Pro Phe Arg Thr Val Ser Glu Trp
900 905 910

Leu Glu Ser Ile Lys Met Gln Gln Tyr Thr Glu His Phe Met Ala Ala
915 920 925

Gly Tyr Thr Ala Ile Glu Lys Val Val Gln Met Thr Asn Asp Asp Ile
930 935 940

Lys Arg Ile Gly Val Arg Leu Pro Gly His Gln Lys Arg Ile Ala Tyr
945 950 955 960

Ser Leu Leu Gly Leu Lys Asp Gln Val Asn Thr Val Gly Ile Pro Ile
965 970 975

<210> 34
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 34
Gly Phe Gly Gly
1

<210> 35
<211> 4
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 35
Gly Phe Leu Gly
1

<210> 36
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 36
Ala Leu Ala Leu
1

<210> 37
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 37
Ser Pro Thr Leu Pro Pro Arg Ser Leu
1 5

<210> 38
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 38
His Pro Ser Ile Lys Arg Gly Leu Ser Ser Leu
1 5 10

<210> 39

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 39
Leu Leu Leu Pro His His Val Leu
1 5

<210> 40
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 40
Arg Thr Ala Pro Gly Val Arg Pro Pro Phe
1 5 10

<210> 41
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 41
Arg Pro Gln Lys Ser Ile Gln Ala Leu
1 5

<210> 42
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 42
Ala Pro Ala Pro Pro Pro Leu Pro Ala
1 5

<210> 43
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 43
Arg Pro Arg Pro Ser Phe Pro Val Ser Leu
1 5 10

<210> 44
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 44
Arg Pro Lys His Gly Asp Gly Phe Ser Leu
1 5 10

<210> 45
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 45
Gly Pro Ala Pro Gly Lys Thr Gly Leu
1 5

<210> 46
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 46
Glu Ala Ala Arg Lys Gly Asn Ser Leu

1 5

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 47
Arg Ile Lys Glu Lys Ile Glu Glu Leu
1 5

<210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 48
Glu Ile Lys Lys Arg Phe Arg Gln Phe
1 5

<210> 49
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 49
His Glu Ser Ala Ala Met Ala Glu Thr
1 5

<210> 50
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 50
Ala Leu Lys Leu Lys Gln Val Gly Val
1 5

<210> 51
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 51
Asp Leu Lys Lys Arg His Ile Thr Phe
1 5

<210> 52
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 52
Asp Val Lys Arg Asn Asp Ile Ala Met
1 5

<210> 53
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 53
Ile Pro Ser Asp His Ile Leu Thr Pro Ala
1 5 10

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 54
Thr Val Phe Ser Thr Ser Ser Leu Lys
1 5

<210> 55
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 55
Ile Thr Ser Cys Leu Leu Asn Phe
1 5

<210> 56
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 56
Arg Ala Ser Pro Val Arg Gly Gln Leu
1 5

<210> 57
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 57
Val Val Arg Lys Pro Val Ile Ala Leu
1 5

<210> 58
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 58
Leu Leu Ser Glu Lys Lys Lys Ile Ser
1 5

<210> 59
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 59
Ala Pro Ala Ser Lys Pro Arg Pro Arg Leu
1 5 10

<210> 60
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 60
Arg Tyr Gly Gln Leu Ser Glu Lys Phe
1 5

<210> 61
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 61
Val Tyr Ile Ser Asn Val Ser Lys Leu
1 5

<210> 62
<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 62
Leu Pro Thr Lys Glu Thr Pro Ser Phe
1 5

<210> 63
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 63
Gly Glu Ala Pro Pro Pro Pro Pro Ala
1 5

<210> 64
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 64
Leu Glu Glu Ile Ser Lys Gln Glu Ile
1 5

<210> 65
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 65
Ile Tyr Asn His Ile Thr Val Lys Ile
1 5

<210> 66
<211> 160
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 66

```
Val Asp Leu Glu Pro Thr Val Ile Gly Glu Leu Thr Ser Val Thr Gln
1               5                  10                  15

Val Arg Ser Gln Gly Ala Gly Thr Gly Gly Leu Ser Trp Gly Gly Ser
            20                  25                  30

Ala Gly His Ser Pro Thr Leu Pro Pro Arg Ser Leu Ser Leu Leu Leu
        35                  40                  45

Leu Pro His His Val Leu Gln Met Lys Phe Ala Leu Ala Leu Thr Ala
    50                  55                  60

Ser Ser Ser Thr Leu Ser Asn Ser Ser Gln Ala Arg Lys Met Leu Pro
65                  70                  75                  80

Ile Thr Met Pro Glu Gly Thr Thr Pro Leu Ala Arg Arg Ser Leu Thr
                85                  90                  95

Ser Cys Trp Thr Glu Phe Ala Ser Trp Leu Thr Ser Ala Pro Val Phe
            100                 105                 110

Arg Ala Ser Trp Phe Ser Thr Ala Leu Val Gly Glu Leu Val Leu Gly
        115                 120                 125

Ser Pro Arg Cys Ser Trp Asn Val Ser Gln Leu Ile Met Ala Arg Ser
    130                 135                 140

Pro Ser Trp Ser Ser Pro Phe Thr Arg Arg Pro Arg Phe Pro Gln Leu
145                 150                 155                 160
```

<210> 67

<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 67
Ala Pro Pro Arg Ser His Pro Ser Ile Lys Arg Gly Leu Ser Ser Leu
1 5 10 15

<210> 68
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 68
Met Val Arg Arg Ala Arg Trp Pro Gly Gly Arg Gly Glu Ala Arg Lys
1 5 10 15

Ala Pro Arg Thr Ala Pro Gly Val Arg Pro Pro Phe
20 25

<210> 69
<211> 199
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 69
Trp Val Asn Cys Leu Phe Val Ser Gly Arg Ala Ala Ala Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ala Val Pro Pro Tyr Leu Glu Leu Ala Gly Pro Pro Phe
20 25 30

Leu Leu Leu Thr Leu Ile Arg Ile Gly Leu Gly Arg Arg Ser Gly Arg
35 40 45

Ala Gly Gly Arg Ala Gly Thr Gln Cys Gly Gly Glu Arg Gly Pro Gly
50 55 60

Phe Ala Ala Phe Arg Pro Leu Arg Pro Phe Arg Arg Leu Arg Val Cys
65 70 75 80

Ala Val Cys Val Arg Gly Ser Ala Leu Gly Arg Ser Val Gly Leu Pro
85 90 95

Arg Gly Gly Ala Ala Gly Ala Pro Phe Ser Ser Ser Pro Ala Pro His
100 105 110

Pro Arg Arg Val Leu Cys Arg Cys Leu Leu Phe Leu Phe Phe Ser Cys
115 120 125

His Asp Arg Arg Gly Asp Ser Gln Pro Tyr Gln Val Pro Ala Glu Ala
130 135 140

Gly Val Glu Gly Leu Glu Gly Ala Gly Gly Gly Arg Glu Gly Leu Leu
145 150 155 160

Leu Glu Arg Arg Pro Gln Lys Ser Ile Gln Ala Leu Arg Cys Asn Thr
165 170 175

Ser Glu Thr Ser Thr Ala Asp Pro Leu Lys Ile Pro Gly Leu Val Pro
180 185 190

Leu Ala Leu Ser Ser Lys Val
195

<210> 70
<211> 101
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 70
Met Pro Leu Pro Val Gln Val Phe Asn Leu Gln Val Thr Ser Arg Gly

1 5 10 15

Arg Pro Gly Pro Pro Arg Pro Arg Ala Pro Arg His Trp Gly Arg Ala
20 25 30

Glu Val Glu Gln Gly Arg Gly Ala Cys Ala Arg Ser Arg Ser Gly Thr
35 40 45

Leu Arg Ala Gly Pro Pro Arg Ala Ala Arg Val Gly Gly Cys Arg Ala
50 55 60

Glu Gly Ala Ser Pro Pro Trp Leu Arg Ala Ala Ile Gly Gly Arg Arg
65 70 75 80

Ala Ala Pro Ala Pro Pro Pro Leu Pro Ala Ala His Gly Arg Gly Ser
85 90 95

Arg Pro Pro Arg Arg
100

<210> 71
<211> 162
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 71
Gln Pro Ala Gln Pro Arg Thr Gly Ala Pro Ala Arg Arg Pro Arg Pro
1 5 10 15

Arg Pro Ser Phe Pro Val Ser Leu Arg Ser Ala Ala Pro Pro Thr Gly
20 25 30

Thr Ala Gly Gly Thr Gly Arg Phe Val Leu Arg Pro Gly Glu Ser Gly
35 40 45

Ala Gly Gly Gly Gly Asp Ala Trp Asp Thr Gly Leu Gln Ala Arg Arg
50 55 60

Gly Thr Ala Ala Gly Thr Ser Gly Ala Pro Asn Arg Ser Gln Leu Ser
65 70 75 80

Ser Leu Thr Phe Pro Ala Gln Leu Arg Arg Ile Gly Val Ser Gly Arg
85 90 95

Lys Pro Gly Ala Gly Gly Arg Leu Gly Pro Gly Ser Arg Thr Cys Ala
100 105 110

Pro Arg Cys Leu Pro Arg Ala Arg Arg Gly Pro Gly Ala His Pro Arg
115 120 125

Gly Gly Arg Cys Pro Pro Ala Glu Thr Ala Leu Phe Arg Glu Ala Glu
130 135 140

Glu Gly Thr Gln Lys Tyr Ser Leu Pro Ser Asp Pro Ala Gly Gln Ala
145 150 155 160

Ala Phe

<210> 72
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 72
Phe Arg Leu His Thr Gly Pro Val Ser Pro Val Gly Gly Arg Arg Gln
1 5 10 15

Met Gly Arg Pro Lys His Gly Asp Gly Phe Ser Leu Gln Val Cys Ser
20 25 30

Phe Ile Met Glu Gln Asn Gly
35

<210> 73
<211> 71
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 73
Gly Val Val Glu Ile Thr Gly Glu Pro Pro Cys Ser Cys Arg Gly Glu
1 5 10 15

Glu Glu Ala Ser Arg Ala Gly Arg Ala Gly Gly Val Arg Leu Lys Arg
20 25 30

Gly Ser Arg Gly Pro Gly Glu Leu Asn Val Gly Pro Ala Pro Gly Lys
35 40 45

Thr Gly Leu Leu Ile Pro Leu Leu Arg Asn Trp Glu Cys Gly Ser Leu
50 55 60

Leu Arg Ala Leu Ser Ala Leu
65 70

<210> 74
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 74
Lys Met Gly Phe Pro Glu Ala Ala Arg Lys Gly Asn Ser Leu
1 5 10

<210> 75
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 75
Leu Glu Ala Arg Ile Lys Glu Lys Ile Glu Glu Leu Gln Gln Ala Leu
1 5 10 15

Ile

<210> 76
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 76
Glu Ile Lys Lys Arg Phe Arg Gln Phe Lys Gln Ala Val Tyr Lys Gln
1 5 10 15

<210> 77
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 77
Ala His Glu Ser Ala Ala Met Ala Glu Thr Leu Gln His Val Pro Ser
1 5 10 15

<210> 78
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 78
Asn Arg Pro Ser Val Gln Ala Ala Leu Lys Leu Lys Gln Val Gly Val
1 5 10 15

<210> 79

<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 79
Lys Thr Asp Asp Leu Lys Lys Arg His Ile Thr Phe Thr Leu Gly Cys
1 5 10 15

Gly Ile Cys

<210> 80
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 80
Met Lys Leu Asp Glu Asp Val Lys Arg Asn Asp Ile Ala Met Ala Ile
1 5 10 15

<210> 81
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 81
Asn Ser Ile Ser Gln Ile Pro Ser Asp His Ile Leu Thr Pro Ala Leu
1 5 10 15

Phe Ile Thr Phe Met Thr Ile Leu Asp Leu
20 25

<210> 82
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 82
Thr Val Phe Ser Thr Ser Ser Leu Lys Leu Asn Gln Pro Gln Lys Tyr
1 5 10 15

Leu Lys Met Lys Ser Trp Pro Cys
20

<210> 83
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 83
Ala Glu Glu Asp Arg Arg Lys Lys Val Ile Thr Ser Cys Leu Leu Asn
1 5 10 15

Phe Asn Leu Ser Lys Ala Gln Ser
20

<210> 84
<211> 34
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 84
Arg Ser Phe Ser Thr Ser Ala Gln Val Gly Gln Thr Arg Gly Gly Leu
1 5 10 15

Gln Ala Glu Ala Pro Arg Pro Gly Pro Arg Ala Ser Pro Val Arg Gly
20 25 30

Gln Leu

<210> 85
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 85
Arg Gly Tyr Val Val Arg Lys Pro Val Ile Ala Leu Ser Val Lys Ile
1 5 10 15

<210> 86
<211> 86
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 86
Val Asp Met Asp Phe Gly Thr Gly Gly Gln Gly Ala Gly Pro Val Gly
1 5 10 15

Arg Gly Lys Asp Trp Ser Cys Thr Leu Ala Val His Leu Leu Ser Glu
20 25 30

Lys Lys Lys Ile Ser Phe Ser Gln Ile Asp Arg Ala Trp Gly Gly Ser
35 40 45

Gln Gly Thr Val Leu Asp Lys Trp Gly Pro Gly Val Val Ser Glu Leu
50 55 60

His Pro Ser Ala Lys Glu Val Ser Val Gly Arg Asn Ser Val Glu Ser
65 70 75 80

Leu Met Thr Trp Ala Ser
85

<210> 87
<211> 66
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 87
Glu Lys Gly Ser His Glu Glu Glu Val Arg Val Pro Ala Leu Ser Trp
1 5 10 15

Gly Arg Pro Arg Ala Pro Ala Pro Ala Ser Lys Pro Arg Pro Arg Leu
20 25 30

Asp Leu Asn Cys Leu Trp Leu Arg Pro Gln Pro Ile Phe Leu Trp Lys
35 40 45

Leu Arg Pro Arg Pro Val Pro Ala Ala Thr Pro Leu Thr Gly Pro Leu
50 55 60

Pro Leu
65

<210> 88
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 88
Arg Tyr Gly Gln Leu Ser Glu Lys Phe Asn Arg Arg Lys Val Met Asp
1 5 10 15

Ser

<210> 89
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 89
Met Val Tyr Ile Ser Asn Val Ser Lys Leu Cys Phe Ser Lys Met
1 5 10 15

<210> 90
<211> 48
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 90
Asn Thr Leu Pro Thr Lys Glu Thr Pro Ser Phe Leu Leu Asn Pro His
1 5 10 15

Thr Ser Trp Val Pro Arg Pro His Arg Glu Ala Pro Arg Leu Arg Val
20 25 30

Gly Val Ala Ala Pro Leu Gln Arg Pro Leu Pro Ala Leu His Ser His
35 40 45

<210> 91
<211> 58
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 91
Phe Gly Asp Ile Tyr Leu Gly Glu Ala Pro Pro Pro Pro Pro Ala Ala
1 5 10 15

Arg Arg Pro Gly Pro Cys Gly Cys Gln Asp Gln Ala Arg Ser Arg Lys
20 25 30

Glu Val Val Ala Pro Ala Gly Ser Pro Arg Lys Ser Arg His Arg Arg
35 40 45

Ile Val Ala Arg Thr Gln Arg Pro Leu Gly
50 55

<210> 92
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 92
Gly Ser Ala Ser Asp Leu Leu Glu Glu Ile Ser Lys Gln Glu Ile Ser
1 5 10 15

Phe

<210> 93
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 93
Gln Leu Ile Tyr Asn His Ile Thr Val Lys Ile Asn Leu Gln Gly Asp
1 5 10 15

<210> 94
<211> 630
<212> PRT
<213> 智人

<400> 94
Met Ala Leu Pro Thr Ala Arg Pro Leu Leu Gly Ser Cys Gly Thr Pro
1 5 10 15

Ala Leu Gly Ser Leu Leu Phe Leu Leu Phe Ser Leu Gly Trp Val Gln
20 25 30

Pro Ser Arg Thr Leu Ala Gly Glu Thr Gly Gln Glu Ala Ala Pro Leu
35 40 45

Asp Gly Val Leu Ala Asn Pro Pro Asn Ile Ser Ser Leu Ser Pro Arg
50 55 60

Gln Leu Leu Gly Phe Pro Cys Ala Glu Val Ser Gly Leu Ser Thr Glu
65 70 75 80

Arg Val Arg Glu Leu Ala Val Ala Leu Ala Gln Lys Asn Val Lys Leu
85 90 95

Ser Thr Glu Gln Leu Arg Cys Leu Ala His Arg Leu Ser Glu Pro Pro
100 105 110

Glu Asp Leu Asp Ala Leu Pro Leu Asp Leu Leu Leu Phe Leu Asn Pro
115 120 125

Asp Ala Phe Ser Gly Pro Gln Ala Cys Thr Arg Phe Phe Ser Arg Ile
130 135 140

Thr Lys Ala Asn Val Asp Leu Leu Pro Arg Gly Ala Pro Glu Arg Gln
145 150 155 160

Arg Leu Leu Pro Ala Ala Leu Ala Cys Trp Gly Val Arg Gly Ser Leu
165 170 175

Leu Ser Glu Ala Asp Val Arg Ala Leu Gly Gly Leu Ala Cys Asp Leu
180 185 190

Pro Gly Arg Phe Val Ala Glu Ser Ala Glu Val Leu Leu Pro Arg Leu
195 200 205

Val Ser Cys Pro Gly Pro Leu Asp Gln Asp Gln Gln Glu Ala Ala Arg
210 215 220

Ala Ala Leu Gln Gly Gly Gly Pro Pro Tyr Gly Pro Pro Ser Thr Trp
225 230 235 240

Ser Val Ser Thr Met Asp Ala Leu Arg Gly Leu Leu Pro Val Leu Gly
245 250 255

Gln Pro Ile Ile Arg Ser Ile Pro Gln Gly Ile Val Ala Ala Trp Arg
260 265 270

Gln Arg Ser Ser Arg Asp Pro Ser Trp Arg Gln Pro Glu Arg Thr Ile
275 280 285

Leu Arg Pro Arg Phe Arg Arg Glu Val Glu Lys Thr Ala Cys Pro Ser
290 295 300

Gly Lys Lys Ala Arg Glu Ile Asp Glu Ser Leu Ile Phe Tyr Lys Lys
305 310 315 320

Trp Glu Leu Glu Ala Cys Val Asp Ala Ala Leu Leu Ala Thr Gln Met
325 330 335

Asp Arg Val Asn Ala Ile Pro Phe Thr Tyr Glu Gln Leu Asp Val Leu
340 345 350

Lys His Lys Leu Asp Glu Leu Tyr Pro Gln Gly Tyr Pro Glu Ser Val
355 360 365

Ile Gln His Leu Gly Tyr Leu Phe Leu Lys Met Ser Pro Glu Asp Ile
370 375 380

Arg Lys Trp Asn Val Thr Ser Leu Glu Thr Leu Lys Ala Leu Leu Glu
385 390 395 400

Val Asn Lys Gly His Glu Met Ser Pro Gln Ala Pro Arg Arg Pro Leu
405 410 415

Pro Gln Val Ala Thr Leu Ile Asp Arg Phe Val Lys Gly Arg Gly Gln
420 425 430

Leu Asp Lys Asp Thr Leu Asp Thr Leu Thr Ala Phe Tyr Pro Gly Tyr
435 440 445

Leu Cys Ser Leu Ser Pro Glu Glu Leu Ser Ser Val Pro Pro Ser Ser
450 455 460

Ile Trp Ala Val Arg Pro Gln Asp Leu Asp Thr Cys Asp Pro Arg Gln
465 470 475 480

Leu Asp Val Leu Tyr Pro Lys Ala Arg Leu Ala Phe Gln Asn Met Asn
485 490 495

Gly Ser Glu Tyr Phe Val Lys Ile Gln Ser Phe Leu Gly Gly Ala Pro
500 505 510

Thr Glu Asp Leu Lys Ala Leu Ser Gln Gln Asn Val Ser Met Asp Leu
515 520 525

Ala Thr Phe Met Lys Leu Arg Thr Asp Ala Val Leu Pro Leu Thr Val
530 535 540

Ala Glu Val Gln Lys Leu Leu Gly Pro His Val Glu Gly Leu Lys Ala
545 550 555 560

Glu Glu Arg His Arg Pro Val Arg Asp Trp Ile Leu Arg Gln Arg Gln
565 570 575

Asp Asp Leu Asp Thr Leu Gly Leu Gly Leu Gln Gly Gly Ile Pro Asn
580 585 590

Gly Tyr Leu Val Leu Asp Leu Ser Met Gln Glu Ala Leu Ser Gly Thr
595 600 605

Pro Cys Leu Leu Gly Pro Gly Pro Val Leu Thr Val Leu Ala Leu Leu
610 615 620

Leu Ala Ser Thr Leu Ala
625 630

<210> 95
<211> 750

<212> PRT
<213> 智人

<400> 95

```
Met Trp Asn Leu Leu His Glu Thr Asp Ser Ala Val Ala Thr Ala Arg
1               5                  10                  15

Arg Pro Arg Trp Leu Cys Ala Gly Ala Leu Val Leu Ala Gly Gly Phe
            20                  25                  30

Phe Leu Leu Gly Phe Leu Phe Gly Trp Phe Ile Lys Ser Ser Asn Glu
        35                  40                  45

Ala Thr Asn Ile Thr Pro Lys His Asn Met Lys Ala Phe Leu Asp Glu
    50                  55                  60

Leu Lys Ala Glu Asn Ile Lys Lys Phe Leu Tyr Asn Phe Thr Gln Ile
65                  70                  75                  80

Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln Asn Phe Gln Leu Ala Lys Gln Ile
                85                  90                  95

Gln Ser Gln Trp Lys Glu Phe Gly Leu Asp Ser Val Glu Leu Ala His
            100                 105                 110

Tyr Asp Val Leu Leu Ser Tyr Pro Asn Lys Thr His Pro Asn Tyr Ile
        115                 120                 125

Ser Ile Ile Asn Glu Asp Gly Asn Glu Ile Phe Asn Thr Ser Leu Phe
    130                 135                 140

Glu Pro Pro Pro Pro Gly Tyr Glu Asn Val Ser Asp Ile Val Pro Pro
145                 150                 155                 160

Phe Ser Ala Phe Ser Pro Gln Gly Met Pro Glu Gly Asp Leu Val Tyr
                165                 170                 175

Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe Lys Leu Glu Arg Asp Met
            180                 185                 190
```

Lys Ile Asn Cys Ser Gly Lys Ile Val Ile Ala Arg Tyr Gly Lys Val
195 200 205

Phe Arg Gly Asn Lys Val Lys Asn Ala Gln Leu Ala Gly Ala Lys Gly
210 215 220

Val Ile Leu Tyr Ser Asp Pro Ala Asp Tyr Phe Ala Pro Gly Val Lys
225 230 235 240

Ser Tyr Pro Asp Gly Trp Asn Leu Pro Gly Gly Gly Val Gln Arg Gly
245 250 255

Asn Ile Leu Asn Leu Asn Gly Ala Gly Asp Pro Leu Thr Pro Gly Tyr
260 265 270

Pro Ala Asn Glu Tyr Ala Tyr Arg Arg Gly Ile Ala Glu Ala Val Gly
275 280 285

Leu Pro Ser Ile Pro Val His Pro Ile Gly Tyr Tyr Asp Ala Gln Lys
290 295 300

Leu Leu Glu Lys Met Gly Gly Ser Ala Pro Pro Asp Ser Ser Trp Arg
305 310 315 320

Gly Ser Leu Lys Val Pro Tyr Asn Val Gly Pro Gly Phe Thr Gly Asn
325 330 335

Phe Ser Thr Gln Lys Val Lys Met His Ile His Ser Thr Asn Glu Val
340 345 350

Thr Arg Ile Tyr Asn Val Ile Gly Thr Leu Arg Gly Ala Val Glu Pro
355 360 365

Asp Arg Tyr Val Ile Leu Gly Gly His Arg Asp Ser Trp Val Phe Gly
370 375 380

Gly Ile Asp Pro Gln Ser Gly Ala Ala Val Val His Glu Ile Val Arg
385 390 395 400

Ser Phe Gly Thr Leu Lys Lys Glu Gly Trp Arg Pro Arg Arg Thr Ile
405 410 415

Leu Phe Ala Ser Trp Asp Ala Glu Glu Phe Gly Leu Leu Gly Ser Thr
420 425 430

Glu Trp Ala Glu Glu Asn Ser Arg Leu Leu Gln Glu Arg Gly Val Ala
435 440 445

Tyr Ile Asn Ala Asp Ser Ser Ile Glu Gly Asn Tyr Thr Leu Arg Val
450 455 460

Asp Cys Thr Pro Leu Met Tyr Ser Leu Val His Asn Leu Thr Lys Glu
465 470 475 480

Leu Lys Ser Pro Asp Glu Gly Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Glu Ser
485 490 495

Trp Thr Lys Lys Ser Pro Ser Pro Glu Phe Ser Gly Met Pro Arg Ile
500 505 510

Ser Lys Leu Gly Ser Gly Asn Asp Phe Glu Val Phe Phe Gln Arg Leu
515 520 525

Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr Lys Asn Trp Glu Thr Asn
530 535 540

Lys Phe Ser Gly Tyr Pro Leu Tyr His Ser Val Tyr Glu Thr Tyr Glu
545 550 555 560

Leu Val Glu Lys Phe Tyr Asp Pro Met Phe Lys Tyr His Leu Thr Val
565 570 575

Ala Gln Val Arg Gly Gly Met Val Phe Glu Leu Ala Asn Ser Ile Val
580 585 590

Leu Pro Phe Asp Cys Arg Asp Tyr Ala Val Val Leu Arg Lys Tyr Ala
595 600 605

Asp Lys Ile Tyr Ser Ile Ser Met Lys His Pro Gln Glu Met Lys Thr
610 615 620

Tyr Ser Val Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser Ala Val Lys Asn Phe Thr
625 630 635 640

Glu Ile Ala Ser Lys Phe Ser Glu Arg Leu Gln Asp Phe Asp Lys Ser
645 650 655

Asn Pro Ile Val Leu Arg Met Met Asn Asp Gln Leu Met Phe Leu Glu
660 665 670

Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro Asp Arg Pro Phe Tyr Arg
675 680 685

His Val Ile Tyr Ala Pro Ser Ser His Asn Lys Tyr Ala Gly Glu Ser
690 695 700

Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Leu Phe Asp Ile Glu Ser Lys Val Asp
705 710 715 720

Pro Ser Lys Ala Trp Gly Glu Val Lys Arg Gln Ile Tyr Val Ala Ala
725 730 735

Phe Thr Val Gln Ala Ala Ala Glu Thr Leu Ser Glu Val Ala
740 745 750

<210> 96
<211> 790
<212> PRT
<213> 智人

<400> 96
Met Arg Thr Tyr Arg Tyr Phe Leu Leu Leu Phe Trp Val Gly Gln Pro
1 5 10 15

Tyr Pro Thr Leu Ser Thr Pro Leu Ser Lys Arg Thr Ser Gly Phe Pro
20 25 30

Ala Lys Lys Arg Ala Leu Glu Leu Ser Gly Asn Ser Lys Asn Glu Leu
35 40 45

Asn Arg Ser Lys Arg Ser Trp Met Trp Asn Gln Phe Phe Leu Leu Glu
50 55 60

Glu Tyr Thr Gly Ser Asp Tyr Gln Tyr Val Gly Lys Leu His Ser Asp
65 70 75 80

Gln Asp Arg Gly Asp Gly Ser Leu Lys Tyr Ile Leu Ser Gly Asp Gly
85 90 95

Ala Gly Asp Leu Phe Ile Ile Asn Glu Asn Thr Gly Asp Ile Gln Ala
100 105 110

Thr Lys Arg Leu Asp Arg Glu Glu Lys Pro Val Tyr Ile Leu Arg Ala
115 120 125

Gln Ala Ile Asn Arg Arg Thr Gly Arg Pro Val Glu Pro Glu Ser Glu
130 135 140

Phe Ile Ile Lys Ile His Asp Ile Asn Asp Asn Glu Pro Ile Phe Thr
145 150 155 160

Lys Glu Val Tyr Thr Ala Thr Val Pro Glu Met Ser Asp Val Gly Thr
165 170 175

Phe Val Val Gln Val Thr Ala Thr Asp Ala Asp Asp Pro Thr Tyr Gly
180 185 190

Asn Ser Ala Lys Val Val Tyr Ser Ile Leu Gln Gly Gln Pro Tyr Phe
195 200 205

Ser Val Glu Ser Glu Thr Gly Ile Ile Lys Thr Ala Leu Leu Asn Met
210 215 220

Asp Arg Glu Asn Arg Glu Gln Tyr Gln Val Val Ile Gln Ala Lys Asp
225 230 235 240

Met Gly Gly Gln Met Gly Gly Leu Ser Gly Thr Thr Thr Val Asn Ile
245 250 255

Thr Leu Thr Asp Val Asn Asp Asn Pro Pro Arg Phe Pro Gln Ser Thr
260 265 270

Tyr Gln Phe Lys Thr Pro Glu Ser Ser Pro Pro Gly Thr Pro Ile Gly
275 280 285

Arg Ile Lys Ala Ser Asp Ala Asp Val Gly Glu Asn Ala Glu Ile Glu
290 295 300

Tyr Ser Ile Thr Asp Gly Glu Gly Leu Asp Met Phe Asp Val Ile Thr
305 310 315 320

Asp Gln Glu Thr Gln Glu Gly Ile Ile Thr Val Lys Lys Leu Leu Asp
325 330 335

Phe Glu Lys Lys Lys Val Tyr Thr Leu Lys Val Glu Ala Ser Asn Pro
340 345 350

Tyr Val Glu Pro Arg Phe Leu Tyr Leu Gly Pro Phe Lys Asp Ser Ala
355 360 365

Thr Val Arg Ile Val Val Glu Asp Val Asp Glu Pro Pro Val Phe Ser
370 375 380

Lys Leu Ala Tyr Ile Leu Gln Ile Arg Glu Asp Ala Gln Ile Asn Thr
385 390 395 400

Thr Ile Gly Ser Val Thr Ala Gln Asp Pro Asp Ala Ala Arg Asn Pro
405 410 415

Val Lys Tyr Ser Val Asp Arg His Thr Asp Met Asp Arg Ile Phe Asn
420 425 430

Ile Asp Ser Gly Asn Gly Ser Ile Phe Thr Ser Lys Leu Leu Asp Arg
435 440 445

Glu Thr Leu Leu Trp His Asn Ile Thr Val Ile Ala Thr Glu Ile Asn
450 455 460

Asn Pro Lys Gln Ser Ser Arg Val Pro Leu Tyr Ile Lys Val Leu Asp
465 470 475 480

Val Asn Asp Asn Ala Pro Glu Phe Ala Glu Phe Tyr Glu Thr Phe Val
485 490 495

Cys Glu Lys Ala Lys Ala Asp Gln Leu Ile Gln Thr Leu His Ala Val
500 505 510

Asp Lys Asp Asp Pro Tyr Ser Gly His Gln Phe Ser Phe Ser Leu Ala
515 520 525

Pro Glu Ala Ala Ser Gly Ser Asn Phe Thr Ile Gln Asp Asn Lys Asp
530 535 540

Asn Thr Ala Gly Ile Leu Thr Arg Lys Asn Gly Tyr Asn Arg His Glu
545 550 555 560

Met Ser Thr Tyr Leu Leu Pro Val Val Ile Ser Asp Asn Asp Tyr Pro
565 570 575

Val Gln Ser Ser Thr Gly Thr Val Thr Val Arg Val Cys Ala Cys Asp
580 585 590

His His Gly Asn Met Gln Ser Cys His Ala Glu Ala Leu Ile His Pro
595 600 605

Thr Gly Leu Ser Thr Gly Ala Leu Val Ala Ile Leu Leu Cys Ile Val
610 615 620

Ile Leu Leu Val Thr Val Val Leu Phe Ala Ala Leu Arg Arg Gln Arg
625 630 635 640

Lys Lys Glu Pro Leu Ile Ile Ser Lys Glu Asp Ile Arg Asp Asn Ile
645 650 655

Val Ser Tyr Asn Asp Glu Gly Gly Gly Glu Glu Asp Thr Gln Ala Phe
660 665 670

Asp Ile Gly Thr Leu Arg Asn Pro Glu Ala Ile Glu Asp Asn Lys Leu
675 680 685

Arg Arg Asp Ile Val Pro Glu Ala Leu Phe Leu Pro Arg Arg Thr Pro
690 695 700

Thr Ala Arg Asp Asn Thr Asp Val Arg Asp Phe Ile Asn Gln Arg Leu
705 710 715 720

Lys Glu Asn Asp Thr Asp Pro Thr Ala Pro Pro Tyr Asp Ser Leu Ala
725 730 735

Thr Tyr Ala Tyr Glu Gly Thr Gly Ser Val Ala Asp Ser Leu Ser Ser
740 745 750

Leu Glu Ser Val Thr Thr Asp Ala Asp Gln Asp Tyr Asp Tyr Leu Ser
755 760 765

Asp Trp Gly Pro Arg Phe Lys Lys Leu Ala Asp Met Tyr Gly Gly Val
770 775 780

Asp Ser Asp Lys Asp Ser
785 790

<210> 97
<211> 702

<212> PRT
<213> 智人

<400> 97

```
Met Glu Ser Pro Ser Ala Pro Pro His Arg Trp Cys Ile Pro Trp Gln
1               5                  10                  15

Arg Leu Leu Leu Thr Ala Ser Leu Leu Thr Phe Trp Asn Pro Pro Thr
            20                  25                  30

Thr Ala Lys Leu Thr Ile Glu Ser Thr Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly
        35                  40                  45

Lys Glu Val Leu Leu Leu Val His Asn Leu Pro Gln His Leu Phe Gly
    50                  55                  60

Tyr Ser Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Gly Asn Arg Gln Ile Ile
65                  70                  75                  80

Gly Tyr Val Ile Gly Thr Gln Gln Ala Thr Pro Gly Pro Ala Tyr Ser
                85                  90                  95

Gly Arg Glu Ile Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Ile
            100                 105                 110

Ile Gln Asn Asp Thr Gly Phe Tyr Thr Leu His Val Ile Lys Ser Asp
        115                 120                 125

Leu Val Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe Arg Val Tyr Pro Glu Leu
    130                 135                 140

Pro Lys Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Lys Pro Val Glu Asp Lys
145                 150                 155                 160

Asp Ala Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Thr Gln Asp Ala Thr Tyr
                165                 170                 175

Leu Trp Trp Val Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln
            180                 185                 190
```

```
Leu Ser Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Phe Asn Val Thr Arg Asn
        195                 200                 205

Asp Thr Ala Ser Tyr Lys Cys Glu Thr Gln Asn Pro Val Ser Ala Arg
    210                 215                 220

Arg Ser Asp Ser Val Ile Leu Asn Val Leu Tyr Gly Pro Asp Ala Pro
225                 230                 235                 240

Thr Ile Ser Pro Leu Asn Thr Ser Tyr Arg Ser Gly Glu Asn Leu Asn
                245                 250                 255

Leu Ser Cys His Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser Trp Phe
            260                 265                 270

Val Asn Gly Thr Phe Gln Gln Ser Thr Gln Glu Leu Phe Ile Pro Asn
        275                 280                 285

Ile Thr Val Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Thr Cys Gln Ala His Asn Ser
    290                 295                 300

Asp Thr Gly Leu Asn Arg Thr Thr Val Thr Thr Ile Thr Val Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Pro Pro Lys Pro Phe Ile Thr Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu
                325                 330                 335

Asp Glu Asp Ala Val Ala Leu Thr Cys Glu Pro Glu Ile Gln Asn Thr
            340                 345                 350

Thr Tyr Leu Trp Trp Val Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg
        355                 360                 365

Leu Gln Leu Ser Asn Asp Asn Arg Thr Leu Thr Leu Leu Ser Val Thr
    370                 375                 380
```

Arg Asn Asp Val Gly Pro Tyr Glu Cys Gly Ile Gln Asn Lys Leu Ser
385 390 395 400

Val Asp His Ser Asp Pro Val Ile Leu Asn Val Leu Tyr Gly Pro Asp
405 410 415

Asp Pro Thr Ile Ser Pro Ser Tyr Thr Tyr Tyr Arg Pro Gly Val Asn
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Cys His Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser
435 440 445

Trp Leu Ile Asp Gly Asn Ile Gln Gln His Thr Gln Glu Leu Phe Ile
450 455 460

Ser Asn Ile Thr Glu Lys Asn Ser Gly Leu Tyr Thr Cys Gln Ala Asn
465 470 475 480

Asn Ser Ala Ser Gly His Ser Arg Thr Thr Val Lys Thr Ile Thr Val
485 490 495

Ser Ala Glu Leu Pro Lys Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Lys Pro
500 505 510

Val Glu Asp Lys Asp Ala Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Ala Gln
515 520 525

Asn Thr Thr Tyr Leu Trp Trp Val Asn Gly Gln Ser Leu Pro Val Ser
530 535 540

Pro Arg Leu Gln Leu Ser Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Phe Asn
545 550 555 560

Val Thr Arg Asn Asp Ala Arg Ala Tyr Val Cys Gly Ile Gln Asn Ser
565 570 575

Val Ser Ala Asn Arg Ser Asp Pro Val Thr Leu Asp Val Leu Tyr Gly
580 585 590

Pro Asp Thr Pro Ile Ile Ser Pro Pro Asp Ser Ser Tyr Leu Ser Gly
595 600 605

Ala Asn Leu Asn Leu Ser Cys His Ser Ala Ser Asn Pro Ser Pro Gln
610 615 620

Tyr Ser Trp Arg Ile Asn Gly Ile Pro Gln Gln His Thr Gln Val Leu
625 630 635 640

Phe Ile Ala Lys Ile Thr Pro Asn Asn Asn Gly Thr Tyr Ala Cys Phe
645 650 655

Val Ser Asn Leu Ala Thr Gly Arg Asn Asn Ser Ile Val Lys Ser Ile
660 665 670

Thr Val Ser Ala Ser Gly Thr Ser Pro Gly Leu Ser Ala Gly Ala Thr
675 680 685

Val Gly Ile Met Ile Gly Val Leu Val Gly Val Ala Leu Ile
690 695 700

<210> 98
<211> 223
<212> PRT
<213> 智人

<400> 98
Met Thr Trp Arg His His Val Arg Leu Leu Phe Thr Val Ser Leu Ala
1 5 10 15

Leu Gln Ile Ile Asn Leu Gly Asn Ser Tyr Gln Arg Glu Lys His Asn
20 25 30

Gly Gly Arg Glu Glu Val Thr Lys Val Ala Thr Gln Lys His Arg Gln
35 40 45

Ser Pro Leu Asn Trp Thr Ser Ser His Phe Gly Glu Val Thr Gly Ser
50 55 60

Ala Glu Gly Trp Gly Pro Glu Glu Pro Leu Pro Tyr Ser Trp Ala Phe
65 70 75 80

Gly Glu Gly Ala Ser Ala Arg Pro Arg Cys Cys Arg Asn Gly Gly Thr
85 90 95

Cys Val Leu Gly Ser Phe Cys Val Cys Pro Ala His Phe Thr Gly Arg
100 105 110

Tyr Cys Glu His Asp Gln Arg Arg Ser Glu Cys Gly Ala Leu Glu His
115 120 125

Gly Ala Trp Thr Leu Arg Ala Cys His Leu Cys Arg Cys Ile Phe Gly
130 135 140

Ala Leu His Cys Leu Pro Leu Gln Thr Pro Asp Arg Cys Asp Pro Lys
145 150 155 160

Asp Phe Leu Ala Ser His Ala His Gly Pro Ser Ala Gly Gly Ala Pro
165 170 175

Ser Leu Leu Leu Leu Leu Pro Cys Ala Leu Leu His Arg Leu Leu Arg
180 185 190

Pro Asp Ala Pro Ala His Pro Arg Ser Leu Val Pro Ser Val Leu Gln
195 200 205

Arg Glu Arg Arg Pro Cys Gly Arg Pro Gly Leu Gly His Arg Leu
210 215 220

<210> 99
<211> 875
<212> PRT
<213> 智人

<400> 99
Met Glu Ser Thr Leu Thr Leu Ala Thr Glu Gln Pro Val Lys Lys Asn
1 5 10 15

Thr Leu Lys Lys Tyr Lys Ile Ala Cys Ile Val Leu Leu Ala Leu Leu
20 25 30

Val Ile Met Ser Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Arg Lys Leu
35 40 45

Glu Lys Gln Gly Ser Cys Arg Lys Lys Cys Phe Asp Ala Ser Phe Arg
50 55 60

Gly Leu Glu Asn Cys Arg Cys Asp Val Ala Cys Lys Asp Arg Gly Asp
65 70 75 80

Cys Cys Trp Asp Phe Glu Asp Thr Cys Val Glu Ser Thr Arg Ile Trp
85 90 95

Met Cys Asn Lys Phe Arg Cys Gly Glu Thr Arg Leu Glu Ala Ser Leu
100 105 110

Cys Ser Cys Ser Asp Asp Cys Leu Gln Arg Lys Asp Cys Cys Ala Asp
115 120 125

Tyr Lys Ser Val Cys Gln Gly Glu Thr Ser Trp Leu Glu Glu Asn Cys
130 135 140

Asp Thr Ala Gln Gln Ser Gln Cys Pro Glu Gly Phe Asp Leu Pro Pro
145 150 155 160

Val Ile Leu Phe Ser Met Asp Gly Phe Arg Ala Glu Tyr Leu Tyr Thr
165 170 175

Trp Asp Thr Leu Met Pro Asn Ile Asn Lys Leu Lys Thr Cys Gly Ile
180 185 190

His Ser Lys Tyr Met Arg Ala Met Tyr Pro Thr Lys Thr Phe Pro Asn
195 200 205

His Tyr Thr Ile Val Thr Gly Leu Tyr Pro Glu Ser His Gly Ile Ile
210 215 220

Asp Asn Asn Met Tyr Asp Val Asn Leu Asn Lys Asn Phe Ser Leu Ser
225 230 235 240

Ser Lys Glu Gln Asn Asn Pro Ala Trp Trp His Gly Gln Pro Met Trp
245 250 255

Leu Thr Ala Met Tyr Gln Gly Leu Lys Ala Ala Thr Tyr Phe Trp Pro
260 265 270

Gly Ser Glu Val Ala Ile Asn Gly Ser Phe Pro Ser Ile Tyr Met Pro
275 280 285

Tyr Asn Gly Ser Val Pro Phe Glu Glu Arg Ile Ser Thr Leu Leu Lys
290 295 300

Trp Leu Asp Leu Pro Lys Ala Glu Arg Pro Arg Phe Tyr Thr Met Tyr
305 310 315 320

Phe Glu Glu Pro Asp Ser Ser Gly His Ala Gly Gly Pro Val Ser Ala
325 330 335

Arg Val Ile Lys Ala Leu Gln Val Val Asp His Ala Phe Gly Met Leu
340 345 350

Met Glu Gly Leu Lys Gln Arg Asn Leu His Asn Cys Val Asn Ile Ile
355 360 365

Leu Leu Ala Asp His Gly Met Asp Gln Thr Tyr Cys Asn Lys Met Glu
370 375 380

Tyr Met Thr Asp Tyr Phe Pro Arg Ile Asn Phe Phe Tyr Met Tyr Glu
385 390 395 400

Gly Pro Ala Pro Arg Ile Arg Ala His Asn Ile Pro His Asp Phe Phe
405 410 415

Ser Phe Asn Ser Glu Glu Ile Val Arg Asn Leu Ser Cys Arg Lys Pro
420 425 430

Asp Gln His Phe Lys Pro Tyr Leu Thr Pro Asp Leu Pro Lys Arg Leu
435 440 445

His Tyr Ala Lys Asn Val Arg Ile Asp Lys Val His Leu Phe Val Asp
450 455 460

Gln Gln Trp Leu Ala Val Arg Ser Lys Ser Asn Thr Asn Cys Gly Gly
465 470 475 480

Gly Asn His Gly Tyr Asn Asn Glu Phe Arg Ser Met Glu Ala Ile Phe
485 490 495

Leu Ala His Gly Pro Ser Phe Lys Glu Lys Thr Glu Val Glu Pro Phe
500 505 510

Glu Asn Ile Glu Val Tyr Asn Leu Met Cys Asp Leu Leu Arg Ile Gln
515 520 525

Pro Ala Pro Asn Asn Gly Thr His Gly Ser Leu Asn His Leu Leu Lys
530 535 540

Val Pro Phe Tyr Glu Pro Ser His Ala Glu Glu Val Ser Lys Phe Ser
545 550 555 560

Val Cys Gly Phe Ala Asn Pro Leu Pro Thr Glu Ser Leu Asp Cys Phe
565 570 575

Cys Pro His Leu Gln Asn Ser Thr Gln Leu Glu Gln Val Asn Gln Met
580 585 590

Leu Asn Leu Thr Gln Glu Glu Ile Thr Ala Thr Val Lys Val Asn Leu
595 600 605

Pro Phe Gly Arg Pro Arg Val Leu Gln Lys Asn Val Asp His Cys Leu
610 615 620

Leu Tyr His Arg Glu Tyr Val Ser Gly Phe Gly Lys Ala Met Arg Met
625 630 635 640

Pro Met Trp Ser Ser Tyr Thr Val Pro Gln Leu Gly Asp Thr Ser Pro
645 650 655

Leu Pro Pro Thr Val Pro Asp Cys Leu Arg Ala Asp Val Arg Val Pro
660 665 670

Pro Ser Glu Ser Gln Lys Cys Ser Phe Tyr Leu Ala Asp Lys Asn Ile
675 680 685

Thr His Gly Phe Leu Tyr Pro Pro Ala Ser Asn Arg Thr Ser Asp Ser
690 695 700

Gln Tyr Asp Ala Leu Ile Thr Ser Asn Leu Val Pro Met Tyr Glu Glu
705 710 715 720

Phe Arg Lys Met Trp Asp Tyr Phe His Ser Val Leu Leu Ile Lys His
725 730 735

Ala Thr Glu Arg Asn Gly Val Asn Val Val Ser Gly Pro Ile Phe Asp
740 745 750

Tyr Asn Tyr Asp Gly His Phe Asp Ala Pro Asp Glu Ile Thr Lys His
755 760 765

Leu Ala Asn Thr Asp Val Pro Ile Pro Thr His Tyr Phe Val Val Leu
770 775 780

Thr Ser Cys Lys Asn Lys Ser His Thr Pro Glu Asn Cys Pro Gly Trp
785 790 795 800

Leu Asp Val Leu Pro Phe Ile Ile Pro His Arg Pro Thr Asn Val Glu
805 810 815

Ser Cys Pro Glu Gly Lys Pro Glu Ala Leu Trp Val Glu Glu Arg Phe
820 825 830

Thr Ala His Ile Ala Arg Val Arg Asp Val Glu Leu Leu Thr Gly Leu
835 840 845

Asp Phe Tyr Gln Asp Lys Val Gln Pro Val Ser Glu Ile Leu Gln Leu
850 855 860

Lys Thr Tyr Leu Pro Thr Phe Glu Thr Thr Ile
865 870 875

<210> 100
<211> 257
<212> PRT
<213> 智人

<400> 100
Met Ala Gln Arg Met Thr Thr Gln Leu Leu Leu Leu Leu Val Trp Val
1 5 10 15

Ala Val Val Gly Glu Ala Gln Thr Arg Ile Ala Trp Ala Arg Thr Glu
20 25 30

Leu Leu Asn Val Cys Met Asn Ala Lys His His Lys Glu Lys Pro Gly
35 40 45

Pro Glu Asp Lys Leu His Glu Gln Cys Arg Pro Trp Arg Lys Asn Ala
50 55 60

Cys Cys Ser Thr Asn Thr Ser Gln Glu Ala His Lys Asp Val Ser Tyr
65 70 75 80

Leu Tyr Arg Phe Asn Trp Asn His Cys Gly Glu Met Ala Pro Ala Cys
85 90 95

Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Thr Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn
100 105 110

Leu Gly Pro Trp Ile Gln Gln Val Asp Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg
115 120 125

Val Leu Asn Val Pro Leu Cys Lys Glu Asp Cys Glu Gln Trp Trp Glu
130 135 140

Asp Cys Arg Thr Ser Tyr Thr Cys Lys Ser Asn Trp His Lys Gly Trp
145 150 155 160

Asn Trp Thr Ser Gly Phe Asn Lys Cys Ala Val Gly Ala Ala Cys Gln
165 170 175

Pro Phe His Phe Tyr Phe Pro Thr Pro Thr Val Leu Cys Asn Glu Ile
180 185 190

Trp Thr His Ser Tyr Lys Val Ser Asn Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg
195 200 205

Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Pro Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu
210 215 220

Val Ala Arg Phe Tyr Ala Ala Ala Met Ser Gly Ala Gly Pro Trp Ala
225 230 235 240

Ala Trp Pro Phe Leu Leu Ser Leu Ala Leu Met Leu Leu Trp Leu Leu
245 250 255

Ser

<210> 101
<211> 364
<212> PRT
<213> 智人

<400> 101
Met His Pro Gln Val Val Ile Leu Ser Leu Ile Leu His Leu Ala Asp
1 5 10 15

Ser Val Ala Gly Ser Val Lys Val Gly Gly Glu Ala Gly Pro Ser Val
20 25 30

Thr Leu Pro Cys His Tyr Ser Gly Ala Val Thr Ser Met Cys Trp Asn
35 40 45

Arg Gly Ser Cys Ser Leu Phe Thr Cys Gln Asn Gly Ile Val Trp Thr
50 55 60

Asn Gly Thr His Val Thr Tyr Arg Lys Asp Thr Arg Tyr Lys Leu Leu
65 70 75 80

Gly Asp Leu Ser Arg Arg Asp Val Ser Leu Thr Ile Glu Asn Thr Ala
85 90 95

Val Ser Asp Ser Gly Val Tyr Cys Cys Arg Val Glu His Arg Gly Trp
100 105 110

Phe Asn Asp Met Lys Ile Thr Val Ser Leu Glu Ile Val Pro Pro Lys
115 120 125

Val Thr Thr Thr Pro Ile Val Thr Thr Val Pro Thr Val Thr Thr Val
130 135 140

Arg Thr Ser Thr Thr Val Pro Thr Thr Thr Thr Val Pro Met Thr Thr
145 150 155 160

Val Pro Thr Thr Thr Val Pro Thr Thr Met Ser Ile Pro Thr Thr Thr
165 170 175

Thr Val Leu Thr Thr Met Thr Val Ser Thr Thr Thr Ser Val Pro Thr
180 185 190

Thr Thr Ser Ile Pro Thr Thr Thr Ser Val Pro Val Thr Thr Thr Val
195 200 205

```
Ser Thr Phe Val Pro Pro Met Pro Leu Pro Arg Gln Asn His Glu Pro
    210                 215                 220

Val Ala Thr Ser Pro Ser Ser Pro Gln Pro Ala Glu Thr His Pro Thr
225                 230                 235                 240

Thr Leu Gln Gly Ala Ile Arg Arg Glu Pro Thr Ser Ser Pro Leu Tyr
                245                 250                 255

Ser Tyr Thr Thr Asp Gly Asn Asp Thr Val Thr Glu Ser Ser Asp Gly
            260                 265                 270

Leu Trp Asn Asn Asn Gln Thr Gln Leu Phe Leu Glu His Ser Leu Leu
        275                 280                 285

Thr Ala Asn Thr Thr Lys Gly Ile Tyr Ala Gly Val Cys Ile Ser Val
    290                 295                 300

Leu Val Leu Leu Ala Leu Leu Gly Val Ile Ile Ala Lys Lys Tyr Phe
305                 310                 315                 320

Phe Lys Lys Glu Val Gln Gln Leu Ser Val Ser Phe Ser Ser Leu Gln
                325                 330                 335

Ile Lys Ala Leu Gln Asn Ala Val Glu Lys Glu Val Gln Ala Glu Asp
            340                 345                 350

Asn Ile Tyr Ile Glu Asn Ser Leu Tyr Ala Thr Asp
        355                 360
```

<210> 102
<211> 976
<212> PRT
<213> 智人

<400> 102

```
Met Arg Gly Ala Arg Gly Ala Trp Asp Phe Leu Cys Val Leu Leu Leu
1               5                   10                  15
```

```
Leu Leu Arg Val Gln Thr Gly Ser Ser Gln Pro Ser Val Ser Pro Gly
            20                  25                  30

Glu Pro Ser Pro Pro Ser Ile His Pro Gly Lys Ser Asp Leu Ile Val
        35                  40                  45

Arg Val Gly Asp Glu Ile Arg Leu Leu Cys Thr Asp Pro Gly Phe Val
    50                  55                  60

Lys Trp Thr Phe Glu Ile Leu Asp Glu Thr Asn Glu Asn Lys Gln Asn
65                  70                  75                  80

Glu Trp Ile Thr Glu Lys Ala Glu Ala Thr Asn Thr Gly Lys Tyr Thr
                85                  90                  95

Cys Thr Asn Lys His Gly Leu Ser Asn Ser Ile Tyr Val Phe Val Arg
            100                 105                 110

Asp Pro Ala Lys Leu Phe Leu Val Asp Arg Ser Leu Tyr Gly Lys Glu
        115                 120                 125

Asp Asn Asp Thr Leu Val Arg Cys Pro Leu Thr Asp Pro Glu Val Thr
    130                 135                 140

Asn Tyr Ser Leu Lys Gly Cys Gln Gly Lys Pro Leu Pro Lys Asp Leu
145                 150                 155                 160

Arg Phe Ile Pro Asp Pro Lys Ala Gly Ile Met Ile Lys Ser Val Lys
                165                 170                 175

Arg Ala Tyr His Arg Leu Cys Leu His Cys Ser Val Asp Gln Glu Gly
            180                 185                 190

Lys Ser Val Leu Ser Glu Lys Phe Ile Leu Lys Val Arg Pro Ala Phe
        195                 200                 205

Lys Ala Val Pro Val Val Ser Val Ser Lys Ala Ser Tyr Leu Leu Arg
    210                 215                 220
```

Glu Gly Glu Glu Phe Thr Val Thr Cys Thr Ile Lys Asp Val Ser Ser
225 230 235 240

Ser Val Tyr Ser Thr Trp Lys Arg Glu Asn Ser Gln Thr Lys Leu Gln
245 250 255

Glu Lys Tyr Asn Ser Trp His His Gly Asp Phe Asn Tyr Glu Arg Gln
260 265 270

Ala Thr Leu Thr Ile Ser Ser Ala Arg Val Asn Asp Ser Gly Val Phe
275 280 285

Met Cys Tyr Ala Asn Asn Thr Phe Gly Ser Ala Asn Val Thr Thr Thr
290 295 300

Leu Glu Val Val Asp Lys Gly Phe Ile Asn Ile Phe Pro Met Ile Asn
305 310 315 320

Thr Thr Val Phe Val Asn Asp Gly Glu Asn Val Asp Leu Ile Val Glu
325 330 335

Tyr Glu Ala Phe Pro Lys Pro Glu His Gln Gln Trp Ile Tyr Met Asn
340 345 350

Arg Thr Phe Thr Asp Lys Trp Glu Asp Tyr Pro Lys Ser Glu Asn Glu
355 360 365

Ser Asn Ile Arg Tyr Val Ser Glu Leu His Leu Thr Arg Leu Lys Gly
370 375 380

Thr Glu Gly Gly Thr Tyr Thr Phe Leu Val Ser Asn Ser Asp Val Asn
385 390 395 400

Ala Ala Ile Ala Phe Asn Val Tyr Val Asn Thr Lys Pro Glu Ile Leu
405 410 415

Thr Tyr Asp Arg Leu Val Asn Gly Met Leu Gln Cys Val Ala Ala Gly
420 425 430

Phe Pro Glu Pro Thr Ile Asp Trp Tyr Phe Cys Pro Gly Thr Glu Gln
435 440 445

Arg Cys Ser Ala Ser Val Leu Pro Val Asp Val Gln Thr Leu Asn Ser
450 455 460

Ser Gly Pro Pro Phe Gly Lys Leu Val Val Gln Ser Ser Ile Asp Ser
465 470 475 480

Ser Ala Phe Lys His Asn Gly Thr Val Glu Cys Lys Ala Tyr Asn Asp
485 490 495

Val Gly Lys Thr Ser Ala Tyr Phe Asn Phe Ala Phe Lys Gly Asn Asn
500 505 510

Lys Glu Gln Ile His Pro His Thr Leu Phe Thr Pro Leu Leu Ile Gly
515 520 525

Phe Val Ile Val Ala Gly Met Met Cys Ile Ile Val Met Ile Leu Thr
530 535 540

Tyr Lys Tyr Leu Gln Lys Pro Met Tyr Glu Val Gln Trp Lys Val Val
545 550 555 560

Glu Glu Ile Asn Gly Asn Asn Tyr Val Tyr Ile Asp Pro Thr Gln Leu
565 570 575

Pro Tyr Asp His Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asn Arg Leu Ser Phe Gly
580 585 590

Lys Thr Leu Gly Ala Gly Ala Phe Gly Lys Val Val Glu Ala Thr Ala
595 600 605

Tyr Gly Leu Ile Lys Ser Asp Ala Ala Met Thr Val Ala Val Lys Met
610 615 620

Leu Lys Pro Ser Ala His Leu Thr Glu Arg Glu Ala Leu Met Ser Glu
625 630 635 640

Leu Lys Val Leu Ser Tyr Leu Gly Asn His Met Asn Ile Val Asn Leu
645 650 655

Leu Gly Ala Cys Thr Ile Gly Gly Pro Thr Leu Val Ile Thr Glu Tyr
660 665 670

Cys Cys Tyr Gly Asp Leu Leu Asn Phe Leu Arg Arg Lys Arg Asp Ser
675 680 685

Phe Ile Cys Ser Lys Gln Glu Asp His Ala Glu Ala Ala Leu Tyr Lys
690 695 700

Asn Leu Leu His Ser Lys Glu Ser Ser Cys Ser Asp Ser Thr Asn Glu
705 710 715 720

Tyr Met Asp Met Lys Pro Gly Val Ser Tyr Val Val Pro Thr Lys Ala
725 730 735

Asp Lys Arg Arg Ser Val Arg Ile Gly Ser Tyr Ile Glu Arg Asp Val
740 745 750

Thr Pro Ala Ile Met Glu Asp Asp Glu Leu Ala Leu Asp Leu Glu Asp
755 760 765

Leu Leu Ser Phe Ser Tyr Gln Val Ala Lys Gly Met Ala Phe Leu Ala
770 775 780

Ser Lys Asn Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Ile Leu Leu
785 790 795 800

Thr His Gly Arg Ile Thr Lys Ile Cys Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp
805 810 815

Ile Lys Asn Asp Ser Asn Tyr Val Val Lys Gly Asn Ala Arg Leu Pro
820 825 830

Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ser Ile Phe Asn Cys Val Tyr Thr Phe
835 840 845

Glu Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Ile Phe Leu Trp Glu Leu Phe Ser
850 855 860

Leu Gly Ser Ser Pro Tyr Pro Gly Met Pro Val Asp Ser Lys Phe Tyr
865 870 875 880

Lys Met Ile Lys Glu Gly Phe Arg Met Leu Ser Pro Glu His Ala Pro
885 890 895

Ala Glu Met Tyr Asp Ile Met Lys Thr Cys Trp Asp Ala Asp Pro Leu
900 905 910

Lys Arg Pro Thr Phe Lys Gln Ile Val Gln Leu Ile Glu Lys Gln Ile
915 920 925

Ser Glu Ser Thr Asn His Ile Tyr Ser Asn Leu Ala Asn Cys Ser Pro
930 935 940

Asn Arg Gln Lys Pro Val Val Asp His Ser Val Arg Ile Asn Ser Val
945 950 955 960

Gly Ser Thr Ala Ser Ser Ser Gln Pro Leu Leu Val His Asp Asp Val
965 970 975

<210> 103
<211> 1390
<212> PRT
<213> 智人

<400> 103
Met Lys Ala Pro Ala Val Leu Ala Pro Gly Ile Leu Val Leu Leu Phe
1 5 10 15

```
Thr Leu Val Gln Arg Ser Asn Gly Glu Cys Lys Glu Ala Leu Ala Lys
            20                  25                  30

Ser Glu Met Asn Val Asn Met Lys Tyr Gln Leu Pro Asn Phe Thr Ala
        35                  40                  45

Glu Thr Pro Ile Gln Asn Val Ile Leu His Glu His His Ile Phe Leu
    50                  55                  60

Gly Ala Thr Asn Tyr Ile Tyr Val Leu Asn Glu Glu Asp Leu Gln Lys
65                  70                  75                  80

Val Ala Glu Tyr Lys Thr Gly Pro Val Leu Glu His Pro Asp Cys Phe
                85                  90                  95

Pro Cys Gln Asp Cys Ser Ser Lys Ala Asn Leu Ser Gly Gly Val Trp
            100                 105                 110

Lys Asp Asn Ile Asn Met Ala Leu Val Val Asp Thr Tyr Tyr Asp Asp
        115                 120                 125

Gln Leu Ile Ser Cys Gly Ser Val Asn Arg Gly Thr Cys Gln Arg His
    130                 135                 140

Val Phe Pro His Asn His Thr Ala Asp Ile Gln Ser Glu Val His Cys
145                 150                 155                 160

Ile Phe Ser Pro Gln Ile Glu Glu Pro Ser Gln Cys Pro Asp Cys Val
                165                 170                 175

Val Ser Ala Leu Gly Ala Lys Val Leu Ser Ser Val Lys Asp Arg Phe
            180                 185                 190

Ile Asn Phe Phe Val Gly Asn Thr Ile Asn Ser Ser Tyr Phe Pro Asp
        195                 200                 205

His Pro Leu His Ser Ile Ser Val Arg Arg Leu Lys Glu Thr Lys Asp
    210                 215                 220
```

Gly Phe Met Phe Leu Thr Asp Gln Ser Tyr Ile Asp Val Leu Pro Glu
225 230 235 240

Phe Arg Asp Ser Tyr Pro Ile Lys Tyr Val His Ala Phe Glu Ser Asn
245 250 255

Asn Phe Ile Tyr Phe Leu Thr Val Gln Arg Glu Thr Leu Asp Ala Gln
260 265 270

Thr Phe His Thr Arg Ile Ile Arg Phe Cys Ser Ile Asn Ser Gly Leu
275 280 285

His Ser Tyr Met Glu Met Pro Leu Glu Cys Ile Leu Thr Glu Lys Arg
290 295 300

Lys Lys Arg Ser Thr Lys Lys Glu Val Phe Asn Ile Leu Gln Ala Ala
305 310 315 320

Tyr Val Ser Lys Pro Gly Ala Gln Leu Ala Arg Gln Ile Gly Ala Ser
325 330 335

Leu Asn Asp Asp Ile Leu Phe Gly Val Phe Ala Gln Ser Lys Pro Asp
340 345 350

Ser Ala Glu Pro Met Asp Arg Ser Ala Met Cys Ala Phe Pro Ile Lys
355 360 365

Tyr Val Asn Asp Phe Phe Asn Lys Ile Val Asn Lys Asn Asn Val Arg
370 375 380

Cys Leu Gln His Phe Tyr Gly Pro Asn His Glu His Cys Phe Asn Arg
385 390 395 400

Thr Leu Leu Arg Asn Ser Ser Gly Cys Glu Ala Arg Arg Asp Glu Tyr
405 410 415

Arg Thr Glu Phe Thr Thr Ala Leu Gln Arg Val Asp Leu Phe Met Gly
420 425 430

Gln Phe Ser Glu Val Leu Leu Thr Ser Ile Ser Thr Phe Ile Lys Gly
435 440 445

Asp Leu Thr Ile Ala Asn Leu Gly Thr Ser Glu Gly Arg Phe Met Gln
450 455 460

Val Val Val Ser Arg Ser Gly Pro Ser Thr Pro His Val Asn Phe Leu
465 470 475 480

Leu Asp Ser His Pro Val Ser Pro Glu Val Ile Val Glu His Thr Leu
485 490 495

Asn Gln Asn Gly Tyr Thr Leu Val Ile Thr Gly Lys Lys Ile Thr Lys
500 505 510

Ile Pro Leu Asn Gly Leu Gly Cys Arg His Phe Gln Ser Cys Ser Gln
515 520 525

Cys Leu Ser Ala Pro Pro Phe Val Gln Cys Gly Trp Cys His Asp Lys
530 535 540

Cys Val Arg Ser Glu Glu Cys Leu Ser Gly Thr Trp Thr Gln Gln Ile
545 550 555 560

Cys Leu Pro Ala Ile Tyr Lys Val Phe Pro Asn Ser Ala Pro Leu Glu
565 570 575

Gly Gly Thr Arg Leu Thr Ile Cys Gly Trp Asp Phe Gly Phe Arg Arg
580 585 590

Asn Asn Lys Phe Asp Leu Lys Lys Thr Arg Val Leu Leu Gly Asn Glu
595 600 605

Ser Cys Thr Leu Thr Leu Ser Glu Ser Thr Met Asn Thr Leu Lys Cys
610 615 620

Thr Val Gly Pro Ala Met Asn Lys His Phe Asn Met Ser Ile Ile Ile
625 630 635 640

Ser Asn Gly His Gly Thr Thr Gln Tyr Ser Thr Phe Ser Tyr Val Asp
645 650 655

Pro Val Ile Thr Ser Ile Ser Pro Lys Tyr Gly Pro Met Ala Gly Gly
660 665 670

Thr Leu Leu Thr Leu Thr Gly Asn Tyr Leu Asn Ser Gly Asn Ser Arg
675 680 685

His Ile Ser Ile Gly Gly Lys Thr Cys Thr Leu Lys Ser Val Ser Asn
690 695 700

Ser Ile Leu Glu Cys Tyr Thr Pro Ala Gln Thr Ile Ser Thr Glu Phe
705 710 715 720

Ala Val Lys Leu Lys Ile Asp Leu Ala Asn Arg Glu Thr Ser Ile Phe
725 730 735

Ser Tyr Arg Glu Asp Pro Ile Val Tyr Glu Ile His Pro Thr Lys Ser
740 745 750

Phe Ile Ser Gly Gly Ser Thr Ile Thr Gly Val Gly Lys Asn Leu Asn
755 760 765

Ser Val Ser Val Pro Arg Met Val Ile Asn Val His Glu Ala Gly Arg
770 775 780

Asn Phe Thr Val Ala Cys Gln His Arg Ser Asn Ser Glu Ile Ile Cys
785 790 795 800

Cys Thr Thr Pro Ser Leu Gln Gln Leu Asn Leu Gln Leu Pro Leu Lys
805 810 815

Thr Lys Ala Phe Phe Met Leu Asp Gly Ile Leu Ser Lys Tyr Phe Asp
820 825 830

Leu Ile Tyr Val His Asn Pro Val Phe Lys Pro Phe Glu Lys Pro Val
835 840 845

Met Ile Ser Met Gly Asn Glu Asn Val Leu Glu Ile Lys Gly Asn Asp
850 855 860

Ile Asp Pro Glu Ala Val Lys Gly Glu Val Leu Lys Val Gly Asn Lys
865 870 875 880

Ser Cys Glu Asn Ile His Leu His Ser Glu Ala Val Leu Cys Thr Val
885 890 895

Pro Asn Asp Leu Leu Lys Leu Asn Ser Glu Leu Asn Ile Glu Trp Lys
900 905 910

Gln Ala Ile Ser Ser Thr Val Leu Gly Lys Val Ile Val Gln Pro Asp
915 920 925

Gln Asn Phe Thr Gly Leu Ile Ala Gly Val Val Ser Ile Ser Thr Ala
930 935 940

Leu Leu Leu Leu Leu Gly Phe Phe Leu Trp Leu Lys Lys Arg Lys Gln
945 950 955 960

Ile Lys Asp Leu Gly Ser Glu Leu Val Arg Tyr Asp Ala Arg Val His
965 970 975

Thr Pro His Leu Asp Arg Leu Val Ser Ala Arg Ser Val Ser Pro Thr
980 985 990

Thr Glu Met Val Ser Asn Glu Ser Val Asp Tyr Arg Ala Thr Phe Pro
995 1000 1005

Glu Asp Gln Phe Pro Asn Ser Ser Gln Asn Gly Ser Cys Arg Gln
1010 1015 1020

Val Gln Tyr Pro Leu Thr Asp Met Ser Pro Ile Leu Thr Ser Gly
1025 1030 1035

Asp Ser Asp Ile Ser Ser Pro Leu Leu Gln Asn Thr Val His Ile
1040 1045 1050

Asp Leu Ser Ala Leu Asn Pro Glu Leu Val Gln Ala Val Gln His
1055 1060 1065

Val Val Ile Gly Pro Ser Ser Leu Ile Val His Phe Asn Glu Val
1070 1075 1080

Ile Gly Arg Gly His Phe Gly Cys Val Tyr His Gly Thr Leu Leu
1085 1090 1095

Asp Asn Asp Gly Lys Lys Ile His Cys Ala Val Lys Ser Leu Asn
1100 1105 1110

Arg Ile Thr Asp Ile Gly Glu Val Ser Gln Phe Leu Thr Glu Gly
1115 1120 1125

Ile Ile Met Lys Asp Phe Ser His Pro Asn Val Leu Ser Leu Leu
1130 1135 1140

Gly Ile Cys Leu Arg Ser Glu Gly Ser Pro Leu Val Val Leu Pro
1145 1150 1155

Tyr Met Lys His Gly Asp Leu Arg Asn Phe Ile Arg Asn Glu Thr
1160 1165 1170

His Asn Pro Thr Val Lys Asp Leu Ile Gly Phe Gly Leu Gln Val
1175 1180 1185

Ala Lys Gly Met Lys Tyr Leu Ala Ser Lys Lys Phe Val His Arg
1190 1195 1200

Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys Met Leu Asp Glu Lys Phe Thr Val
1205 1210 1215

Lys Val Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Met Tyr Asp Lys Glu
1220 1225 1230

Tyr Tyr Ser Val His Asn Lys Thr Gly Ala Lys Leu Pro Val Lys
1235 1240 1245

Trp Met Ala Leu Glu Ser Leu Gln Thr Gln Lys Phe Thr Thr Lys
1250 1255 1260

Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Leu Met Thr
1265 1270 1275

Arg Gly Ala Pro Pro Tyr Pro Asp Val Asn Thr Phe Asp Ile Thr
1280 1285 1290

Val Tyr Leu Leu Gln Gly Arg Arg Leu Leu Gln Pro Glu Tyr Cys
1295 1300 1305

Pro Asp Pro Leu Tyr Glu Val Met Leu Lys Cys Trp His Pro Lys
1310 1315 1320

Ala Glu Met Arg Pro Ser Phe Ser Glu Leu Val Ser Arg Ile Ser
1325 1330 1335

Ala Ile Phe Ser Thr Phe Ile Gly Glu His Tyr Val His Val Asn
1340 1345 1350

Ala Thr Tyr Val Asn Val Lys Cys Val Ala Pro Tyr Pro Ser Leu
1355 1360 1365

Leu Ser Ser Glu Asp Asn Ala Asp Asp Glu Val Asp Thr Arg Pro
1370 1375 1380

Ala Ser Phe Trp Glu Thr Ser
1385 1390

<210> 104
<211> 14507
<212> PRT
<213> 智人

<400> 104

```
Met Leu Lys Pro Ser Gly Leu Pro Gly Ser Ser Ser Pro Thr Arg Ser
1               5                  10                  15

Leu Met Thr Gly Ser Arg Ser Thr Lys Ala Thr Pro Glu Met Asp Ser
            20                  25                  30

Gly Leu Thr Gly Ala Thr Leu Ser Pro Lys Thr Ser Thr Gly Ala Ile
        35                  40                  45

Val Val Thr Glu His Thr Leu Pro Phe Thr Ser Pro Asp Lys Thr Leu
    50                  55                  60

Ala Ser Pro Thr Ser Ser Val Val Gly Arg Thr Thr Gln Ser Leu Gly
65                  70                  75                  80

Val Met Ser Ser Ala Leu Pro Glu Ser Thr Ser Arg Gly Met Thr His
                85                  90                  95

Ser Glu Gln Arg Thr Ser Pro Ser Leu Ser Pro Gln Val Asn Gly Thr
            100                 105                 110

Pro Ser Arg Asn Tyr Pro Ala Thr Ser Met Val Ser Gly Leu Ser Ser
        115                 120                 125

Pro Arg Thr Arg Thr Ser Ser Thr Glu Gly Asn Phe Thr Lys Glu Ala
    130                 135                 140

Ser Thr Tyr Thr Leu Thr Val Glu Thr Thr Ser Gly Pro Val Thr Glu
145                 150                 155                 160

Lys Tyr Thr Val Pro Thr Glu Thr Ser Thr Thr Glu Gly Asp Ser Thr
                165                 170                 175
```

Glu Thr Pro Trp Asp Thr Arg Tyr Ile Pro Val Lys Ile Thr Ser Pro
180 185 190

Met Lys Thr Phe Ala Asp Ser Thr Ala Ser Lys Glu Asn Ala Pro Val
195 200 205

Ser Met Thr Pro Ala Glu Thr Thr Val Thr Asp Ser His Thr Pro Gly
210 215 220

Arg Thr Asn Pro Ser Phe Gly Thr Leu Tyr Ser Ser Phe Leu Asp Leu
225 230 235 240

Ser Pro Lys Gly Thr Pro Asn Ser Arg Gly Glu Thr Ser Leu Glu Leu
245 250 255

Ile Leu Ser Thr Thr Gly Tyr Pro Phe Ser Ser Pro Glu Pro Gly Ser
260 265 270

Ala Gly His Ser Arg Ile Ser Thr Ser Ala Pro Leu Ser Ser Ser Ala
275 280 285

Ser Val Leu Asp Asn Lys Ile Ser Glu Thr Ser Ile Phe Ser Gly Gln
290 295 300

Ser Leu Thr Ser Pro Leu Ser Pro Gly Val Pro Glu Ala Arg Ala Ser
305 310 315 320

Thr Met Pro Asn Ser Ala Ile Pro Phe Ser Met Thr Leu Ser Asn Ala
325 330 335

Glu Thr Ser Ala Glu Arg Val Arg Ser Thr Ile Ser Ser Leu Gly Thr
340 345 350

Pro Ser Ile Ser Thr Lys Gln Thr Ala Glu Thr Ile Leu Thr Phe His
355 360 365

```
Ala Phe Ala Glu Thr Met Asp Ile Pro Ser Thr His Ile Ala Lys Thr
    370                 375                 380

Leu Ala Ser Glu Trp Leu Gly Ser Pro Gly Thr Leu Gly Gly Thr Ser
385                 390                 395                 400

Thr Ser Ala Leu Thr Thr Thr Ser Pro Ser Thr Thr Leu Val Ser Glu
                405                 410                 415

Glu Thr Asn Thr His His Ser Thr Ser Gly Lys Glu Thr Glu Gly Thr
            420                 425                 430

Leu Asn Thr Ser Met Thr Pro Leu Glu Thr Ser Ala Pro Gly Glu Glu
        435                 440                 445

Ser Glu Met Thr Ala Thr Leu Val Pro Thr Leu Gly Phe Thr Thr Leu
    450                 455                 460

Asp Ser Lys Ile Arg Ser Pro Ser Gln Val Ser Ser Ser His Pro Thr
465                 470                 475                 480

Arg Glu Leu Arg Thr Thr Gly Ser Thr Ser Gly Arg Gln Ser Ser Ser
                485                 490                 495

Thr Ala Ala His Gly Ser Ser Asp Ile Leu Arg Ala Thr Thr Ser Ser
            500                 505                 510

Thr Ser Lys Ala Ser Ser Trp Thr Ser Glu Ser Thr Ala Gln Gln Phe
        515                 520                 525

Ser Glu Pro Gln His Thr Gln Trp Val Glu Thr Ser Pro Ser Met Lys
    530                 535                 540

Thr Glu Arg Pro Pro Ala Ser Thr Ser Val Ala Ala Pro Ile Thr Thr
545                 550                 555                 560

Ser Val Pro Ser Val Val Ser Gly Phe Thr Thr Leu Lys Thr Ser Ser
                565                 570                 575
```

Thr Lys Gly Ile Trp Leu Glu Glu Thr Ser Ala Asp Thr Leu Ile Gly
580 585 590

Glu Ser Thr Ala Gly Pro Thr Thr His Gln Phe Ala Val Pro Thr Gly
595 600 605

Ile Ser Met Thr Gly Gly Ser Ser Thr Arg Gly Ser Gln Gly Thr Thr
610 615 620

His Leu Leu Thr Arg Ala Thr Ala Ser Ser Glu Thr Ser Ala Asp Leu
625 630 635 640

Thr Leu Ala Thr Asn Gly Val Pro Val Ser Val Ser Pro Ala Val Ser
645 650 655

Lys Thr Ala Ala Gly Ser Ser Pro Pro Gly Gly Thr Lys Pro Ser Tyr
660 665 670

Thr Met Val Ser Ser Val Ile Pro Glu Thr Ser Ser Leu Gln Ser Ser
675 680 685

Ala Phe Arg Glu Gly Thr Ser Leu Gly Leu Thr Pro Leu Asn Thr Arg
690 695 700

His Pro Phe Ser Ser Pro Glu Pro Asp Ser Ala Gly His Thr Lys Ile
705 710 715 720

Ser Thr Ser Ile Pro Leu Leu Ser Ser Ala Ser Val Leu Glu Asp Lys
725 730 735

Val Ser Ala Thr Ser Thr Phe Ser His His Lys Ala Thr Ser Ser Ile
740 745 750

Thr Thr Gly Thr Pro Glu Ile Ser Thr Lys Thr Lys Pro Ser Ser Ala
755 760 765

Val Leu Ser Ser Met Thr Leu Ser Asn Ala Ala Thr Ser Pro Glu Arg
770 775 780

Val Arg Asn Ala Thr Ser Pro Leu Thr His Pro Ser Pro Ser Gly Glu
785 790 795 800

Glu Thr Ala Gly Ser Val Leu Thr Leu Ser Thr Ser Ala Glu Thr Thr
805 810 815

Asp Ser Pro Asn Ile His Pro Thr Gly Thr Leu Thr Ser Glu Ser Ser
820 825 830

Glu Ser Pro Ser Thr Leu Ser Leu Pro Ser Val Ser Gly Val Lys Thr
835 840 845

Thr Phe Ser Ser Ser Thr Pro Ser Thr His Leu Phe Thr Ser Gly Glu
850 855 860

Glu Thr Glu Glu Thr Ser Asn Pro Ser Val Ser Gln Pro Glu Thr Ser
865 870 875 880

Val Ser Arg Val Arg Thr Thr Leu Ala Ser Thr Ser Val Pro Thr Pro
885 890 895

Val Phe Pro Thr Met Asp Thr Trp Pro Thr Arg Ser Ala Gln Phe Ser
900 905 910

Ser Ser His Leu Val Ser Glu Leu Arg Ala Thr Ser Ser Thr Ser Val
915 920 925

Thr Asn Ser Thr Gly Ser Ala Leu Pro Lys Ile Ser His Leu Thr Gly
930 935 940

Thr Ala Thr Met Ser Gln Thr Asn Arg Asp Thr Phe Asn Asp Ser Ala
945 950 955 960

Ala Pro Gln Ser Thr Thr Trp Pro Glu Thr Ser Pro Arg Phe Lys Thr
965 970 975

Gly Leu Pro Ser Ala Thr Thr Thr Val Ser Thr Ser Ala Thr Ser Leu
980 985 990

Ser Ala Thr Val Met Val Ser Lys Phe Thr Ser Pro Ala Thr Ser Ser
995 1000 1005

Met Glu Ala Thr Ser Ile Arg Glu Pro Ser Thr Thr Ile Leu Thr
1010 1015 1020

Thr Glu Thr Thr Asn Gly Pro Gly Ser Met Ala Val Ala Ser Thr
1025 1030 1035

Asn Ile Pro Ile Gly Lys Gly Tyr Ile Thr Glu Gly Arg Leu Asp
1040 1045 1050

Thr Ser His Leu Pro Ile Gly Thr Thr Ala Ser Ser Glu Thr Ser
1055 1060 1065

Met Asp Phe Thr Met Ala Lys Glu Ser Val Ser Met Ser Val Ser
1070 1075 1080

Pro Ser Gln Ser Met Asp Ala Ala Gly Ser Ser Thr Pro Gly Arg
1085 1090 1095

Thr Ser Gln Phe Val Asp Thr Phe Ser Asp Asp Val Tyr His Leu
1100 1105 1110

Thr Ser Arg Glu Ile Thr Ile Pro Arg Asp Gly Thr Ser Ser Ala
1115 1120 1125

Leu Thr Pro Gln Met Thr Ala Thr His Pro Pro Ser Pro Asp Pro
1130 1135 1140

Gly Ser Ala Arg Ser Thr Trp Leu Gly Ile Leu Ser Ser Ser Pro
1145 1150 1155

Ser Ser Pro Thr Pro Lys Val Thr Met Ser Ser Thr Phe Ser Thr
1160 1165 1170

Gln Arg Val Thr Thr Ser Met Ile Met Asp Thr Val Glu Thr Ser
1175 1180 1185

Arg Trp Asn Met Pro Asn Leu Pro Ser Thr Thr Ser Leu Thr Pro
1190 1195 1200

Ser Asn Ile Pro Thr Ser Gly Ala Ile Gly Lys Ser Thr Leu Val
1205 1210 1215

Pro Leu Asp Thr Pro Ser Pro Ala Thr Ser Leu Glu Ala Ser Glu
1220 1225 1230

Gly Gly Leu Pro Thr Leu Ser Thr Tyr Pro Glu Ser Thr Asn Thr
1235 1240 1245

Pro Ser Ile His Leu Gly Ala His Ala Ser Ser Glu Ser Pro Ser
1250 1255 1260

Thr Ile Lys Leu Thr Met Ala Ser Val Val Lys Pro Gly Ser Tyr
1265 1270 1275

Thr Pro Leu Thr Phe Pro Ser Ile Glu Thr His Ile His Val Ser
1280 1285 1290

Thr Ala Arg Met Ala Tyr Ser Ser Gly Ser Ser Pro Glu Met Thr
1295 1300 1305

Ala Pro Gly Glu Thr Asn Thr Gly Ser Thr Trp Asp Pro Thr Thr
1310 1315 1320

Tyr Ile Thr Thr Thr Asp Pro Lys Asp Thr Ser Ser Ala Gln Val
1325 1330 1335

Ser Thr Pro His Ser Val Arg Thr Leu Arg Thr Thr Glu Asn His
1340 1345 1350

Pro Lys Thr Glu Ser Ala Thr Pro Ala Ala Tyr Ser Gly Ser Pro
1355 1360 1365

Lys Ile Ser Ser Ser Pro Asn Leu Thr Ser Pro Ala Thr Lys Ala
1370 1375 1380

Trp Thr Ile Thr Asp Thr Thr Glu His Ser Thr Gln Leu His Tyr
1385 1390 1395

Thr Lys Leu Ala Glu Lys Ser Ser Gly Phe Glu Thr Gln Ser Ala
1400 1405 1410

Pro Gly Pro Val Ser Val Val Ile Pro Thr Ser Pro Thr Ile Gly
1415 1420 1425

Ser Ser Thr Leu Glu Leu Thr Ser Asp Val Pro Gly Glu Pro Leu
1430 1435 1440

Val Leu Ala Pro Ser Glu Gln Thr Thr Ile Thr Leu Pro Met Ala
1445 1450 1455

Thr Trp Leu Ser Thr Ser Leu Thr Glu Glu Met Ala Ser Thr Asp
1460 1465 1470

Leu Asp Ile Ser Ser Pro Ser Ser Pro Met Ser Thr Phe Ala Ile
1475 1480 1485

Phe Pro Pro Met Ser Thr Pro Ser His Glu Leu Ser Lys Ser Glu
1490 1495 1500

Ala Asp Thr Ser Ala Ile Arg Asn Thr Asp Ser Thr Thr Leu Asp
1505 1510 1515

Gln His Leu Gly Ile Arg Ser Leu Gly Arg Thr Gly Asp Leu Thr
1520 1525 1530

Thr Val Pro Ile Thr Pro Leu Thr Thr Thr Trp Thr Ser Val Ile
1535 1540 1545

Glu His Ser Thr Gln Ala Gln Asp Thr Leu Ser Ala Thr Met Ser
1550 1555 1560

Pro Thr His Val Thr Gln Ser Leu Lys Asp Gln Thr Ser Ile Pro
1565 1570 1575

Ala Ser Ala Ser Pro Ser His Leu Thr Glu Val Tyr Pro Glu Leu
1580 1585 1590

Gly Thr Gln Gly Arg Ser Ser Ser Glu Ala Thr Thr Phe Trp Lys
1595 1600 1605

Pro Ser Thr Asp Thr Leu Ser Arg Glu Ile Glu Thr Gly Pro Thr
1610 1615 1620

Asn Ile Gln Ser Thr Pro Pro Met Asp Asn Thr Thr Thr Gly Ser
1625 1630 1635

Ser Ser Ser Gly Val Thr Leu Gly Ile Ala His Leu Pro Ile Gly
1640 1645 1650

Thr Ser Ser Pro Ala Glu Thr Ser Thr Asn Met Ala Leu Glu Arg
1655 1660 1665

Arg Ser Ser Thr Ala Thr Val Ser Met Ala Gly Thr Met Gly Leu
1670 1675 1680

Leu Val Thr Ser Ala Pro Gly Arg Ser Ile Ser Gln Ser Leu Gly
1685 1690 1695

Arg Val Ser Ser Val Leu Ser Glu Ser Thr Thr Glu Gly Val Thr
1700 1705 1710

Asp Ser Ser Lys Gly Ser Ser Pro Arg Leu Asn Thr Gln Gly Asn
1715 1720 1725

Thr Ala Leu Ser Ser Ser Leu Glu Pro Ser Tyr Ala Glu Gly Ser
1730 1735 1740

Gln Met Ser Thr Ser Ile Pro Leu Thr Ser Ser Pro Thr Thr Pro
1745 1750 1755

Asp Val Glu Phe Ile Gly Gly Ser Thr Phe Trp Thr Lys Glu Val
1760 1765 1770

Thr Thr Val Met Thr Ser Asp Ile Ser Lys Ser Ser Ala Arg Thr
1775 1780 1785

Glu Ser Ser Ser Ala Thr Leu Met Ser Thr Ala Leu Gly Ser Thr
1790 1795 1800

Glu Asn Thr Gly Lys Glu Lys Leu Arg Thr Ala Ser Met Asp Leu
1805 1810 1815

Pro Ser Pro Thr Pro Ser Met Glu Val Thr Pro Trp Ile Ser Leu
1820 1825 1830

Thr Leu Ser Asn Ala Pro Asn Thr Thr Asp Ser Leu Asp Leu Ser
1835 1840 1845

His Gly Val His Thr Ser Ser Ala Gly Thr Leu Ala Thr Asp Arg
1850 1855 1860

Ser Leu Asn Thr Gly Val Thr Arg Ala Ser Arg Leu Glu Asn Gly
1865 1870 1875

Ser Asp Thr Ser Ser Lys Ser Leu Ser Met Gly Asn Ser Thr His
1880 1885 1890

Thr Ser Met Thr Tyr Thr Glu Lys Ser Glu Val Ser Ser Ser Ile
1895 1900 1905

His Pro Arg Pro Glu Thr Ser Ala Pro Gly Ala Glu Thr Thr Leu
1910 1915 1920

Thr Ser Thr Pro Gly Asn Arg Ala Ile Ser Leu Thr Leu Pro Phe
1925 1930 1935

Ser Ser Ile Pro Val Glu Glu Val Ile Ser Thr Gly Ile Thr Ser
1940 1945 1950

Gly Pro Asp Ile Asn Ser Ala Pro Met Thr His Ser Pro Ile Thr
1955 1960 1965

Pro Pro Thr Ile Val Trp Thr Ser Thr Gly Thr Ile Glu Gln Ser
1970 1975 1980

Thr Gln Pro Leu His Ala Val Ser Ser Glu Lys Val Ser Val Gln
1985 1990 1995

Thr Gln Ser Thr Pro Tyr Val Asn Ser Val Ala Val Ser Ala Ser
2000 2005 2010

Pro Thr His Glu Asn Ser Val Ser Ser Gly Ser Ser Thr Ser Ser
2015 2020 2025

Pro Tyr Ser Ser Ala Ser Leu Glu Ser Leu Asp Ser Thr Ile Ser
2030 2035 2040

Arg Arg Asn Ala Ile Thr Ser Trp Leu Trp Asp Leu Thr Thr Ser
2045 2050 2055

Leu Pro Thr Thr Thr Trp Pro Ser Thr Ser Leu Ser Glu Ala Leu
2060 2065 2070

Ser Ser Gly His Ser Gly Val Ser Asn Pro Ser Ser Thr Thr Thr
2075 2080 2085

Glu Phe Pro Leu Phe Ser Ala Ala Ser Thr Ser Ala Ala Lys Gln
2090 2095 2100

Arg Asn Pro Glu Thr Glu Thr His Gly Pro Gln Asn Thr Ala Ala
2105 2110 2115

Ser Thr Leu Asn Thr Asp Ala Ser Ser Val Thr Gly Leu Ser Glu
2120 2125 2130

Thr Pro Val Gly Ala Ser Ile Ser Ser Glu Val Pro Leu Pro Met
2135 2140 2145

Ala Ile Thr Ser Arg Ser Asp Val Ser Gly Leu Thr Ser Glu Ser
2150 2155 2160

Thr Ala Asn Pro Ser Leu Gly Thr Ala Ser Ser Ala Gly Thr Lys
2165 2170 2175

Leu Thr Arg Thr Ile Ser Leu Pro Thr Ser Glu Ser Leu Val Ser
2180 2185 2190

Phe Arg Met Asn Lys Asp Pro Trp Thr Val Ser Ile Pro Leu Gly
2195 2200 2205

Ser His Pro Thr Thr Asn Thr Glu Thr Ser Ile Pro Val Asn Ser
2210 2215 2220

Ala Gly Pro Pro Gly Leu Ser Thr Val Ala Ser Asp Val Ile Asp
2225 2230 2235

Thr Pro Ser Asp Gly Ala Glu Ser Ile Pro Thr Val Ser Phe Ser
2240 2245 2250

Pro Ser Pro Asp Thr Glu Val Thr Thr Ile Ser His Phe Pro Glu
2255 2260 2265

Lys Thr Thr His Ser Phe Arg Thr Ile Ser Ser Leu Thr His Glu
2270 2275 2280

Leu Thr Ser Arg Val Thr Pro Ile Pro Gly Asp Trp Met Ser Ser
2285 2290 2295

Ala Met Ser Thr Lys Pro Thr Gly Ala Ser Pro Ser Ile Thr Leu
2300 2305 2310

Gly Glu Arg Arg Thr Ile Thr Ser Ala Ala Pro Thr Thr Ser Pro
2315 2320 2325

Ile Val Leu Thr Ala Ser Phe Thr Glu Thr Ser Thr Val Ser Leu
2330 2335 2340

Asp Asn Glu Thr Thr Val Lys Thr Ser Asp Ile Leu Asp Ala Arg
2345 2350 2355

Lys Thr Asn Glu Leu Pro Ser Asp Ser Ser Ser Ser Ser Asp Leu
2360 2365 2370

Ile Asn Thr Ser Ile Ala Ser Ser Thr Met Asp Val Thr Lys Thr
2375 2380 2385

Ala Ser Ile Ser Pro Thr Ser Ile Ser Gly Met Thr Ala Ser Ser
2390 2395 2400

Ser Pro Ser Leu Phe Ser Ser Asp Arg Pro Gln Val Pro Thr Ser
2405 2410 2415

Thr Thr Glu Thr Asn Thr Ala Thr Ser Pro Ser Val Ser Ser Asn
2420 2425 2430

Thr Tyr Ser Leu Asp Gly Gly Ser Asn Val Gly Gly Thr Pro Ser
2435 2440 2445

Thr Leu Pro Pro Phe Thr Ile Thr His Pro Val Glu Thr Ser Ser
2450 2455 2460

Ala Leu Leu Ala Trp Ser Arg Pro Val Arg Thr Phe Ser Thr Met
2465 2470 2475

Val Ser Thr Asp Thr Ala Ser Gly Glu Asn Pro Thr Ser Ser Asn
2480 2485 2490

Ser Val Val Thr Ser Val Pro Ala Pro Gly Thr Trp Thr Ser Val
2495 2500 2505

Gly Ser Thr Thr Asp Leu Pro Ala Met Gly Phe Leu Lys Thr Ser
2510 2515 2520

Pro Ala Gly Glu Ala His Ser Leu Leu Ala Ser Thr Ile Glu Pro
2525 2530 2535

Ala Thr Ala Phe Thr Pro His Leu Ser Ala Ala Val Val Thr Gly
2540 2545 2550

Ser Ser Ala Thr Ser Glu Ala Ser Leu Leu Thr Thr Ser Glu Ser
2555 2560 2565

Lys Ala Ile His Ser Ser Pro Gln Thr Pro Thr Thr Pro Thr Ser
2570 2575 2580

Gly Ala Asn Trp Glu Thr Ser Ala Thr Pro Glu Ser Leu Leu Val
2585 2590 2595

Val Thr Glu Thr Ser Asp Thr Thr Leu Thr Ser Lys Ile Leu Val
2600 2605 2610

Thr Asp Thr Ile Leu Phe Ser Thr Val Ser Thr Pro Pro Ser Lys
2615 2620 2625

Phe Pro Ser Thr Gly Thr Leu Ser Gly Ala Ser Phe Pro Thr Leu
2630 2635 2640

Leu Pro Asp Thr Pro Ala Ile Pro Leu Thr Ala Thr Glu Pro Thr
2645 2650 2655

Ser Ser Leu Ala Thr Ser Phe Asp Ser Thr Pro Leu Val Thr Ile
2660 2665 2670

Ala Ser Asp Ser Leu Gly Thr Val Pro Glu Thr Thr Leu Thr Met
2675 2680 2685

Ser Glu Thr Ser Asn Gly Asp Ala Leu Val Leu Lys Thr Val Ser
2690 2695 2700

Asn Pro Asp Arg Ser Ile Pro Gly Ile Thr Ile Gln Gly Val Thr
2705 2710 2715

Glu Ser Pro Leu His Pro Ser Ser Thr Ser Pro Ser Lys Ile Val
2720 2725 2730

Ala Pro Arg Asn Thr Thr Tyr Glu Gly Ser Ile Thr Val Ala Leu
2735 2740 2745

Ser Thr Leu Pro Ala Gly Thr Thr Gly Ser Leu Val Phe Ser Gln
2750 2755 2760

Ser Ser Glu Asn Ser Glu Thr Thr Ala Leu Val Asp Ser Ser Ala
2765 2770 2775

Gly Leu Glu Arg Ala Ser Val Met Pro Leu Thr Thr Gly Ser Gln
2780 2785 2790

Gly Met Ala Ser Ser Gly Gly Ile Arg Ser Gly Ser Thr His Ser
2795 2800 2805

Thr Gly Thr Lys Thr Phe Ser Ser Leu Pro Leu Thr Met Asn Pro
2810 2815 2820

Gly Glu Val Thr Ala Met Ser Glu Ile Thr Thr Asn Arg Leu Thr
2825 2830 2835

Ala Thr Gln Ser Thr Ala Pro Lys Gly Ile Pro Val Lys Pro Thr
2840 2845 2850

Ser Ala Glu Ser Gly Leu Leu Thr Pro Val Ser Ala Ser Ser Ser
2855 2860 2865

Pro Ser Lys Ala Phe Ala Ser Leu Thr Thr Ala Pro Pro Thr Trp
2870 2875 2880

Gly Ile Pro Gln Ser Thr Leu Thr Phe Glu Phe Ser Glu Val Pro
2885 2890 2895

Ser Leu Asp Thr Lys Ser Ala Ser Leu Pro Thr Pro Gly Gln Ser
2900 2905 2910

Leu Asn Thr Ile Pro Asp Ser Asp Ala Ser Thr Ala Ser Ser Ser
2915 2920 2925

Leu Ser Lys Ser Pro Glu Lys Asn Pro Arg Ala Arg Met Met Thr
2930 2935 2940

Ser Thr Lys Ala Ile Ser Ala Ser Ser Phe Gln Ser Thr Gly Phe
2945 2950 2955

Thr Glu Thr Pro Glu Gly Ser Ala Ser Pro Ser Met Ala Gly His
2960 2965 2970

Glu Pro Arg Val Pro Thr Ser Gly Thr Gly Asp Pro Arg Tyr Ala
2975 2980 2985

Ser Glu Ser Met Ser Tyr Pro Asp Pro Ser Lys Ala Ser Ser Ala
2990 2995 3000

Met Thr Ser Thr Ser Leu Ala Ser Lys Leu Thr Thr Leu Phe Ser
3005 3010 3015

Thr Gly Gln Ala Ala Arg Ser Gly Ser Ser Ser Ser Pro Ile Ser
3020 3025 3030

Leu Ser Thr Glu Lys Glu Thr Ser Phe Leu Ser Pro Thr Ala Ser
3035 3040 3045

Thr Ser Arg Lys Thr Ser Leu Phe Leu Gly Pro Ser Met Ala Arg
3050 3055 3060

Gln Pro Asn Ile Leu Val His Leu Gln Thr Ser Ala Leu Thr Leu
3065 3070 3075

Ser Pro Thr Ser Thr Leu Asn Met Ser Gln Glu Glu Pro Pro Glu
3080 3085 3090

Leu Thr Ser Ser Gln Thr Ile Ala Glu Glu Glu Gly Thr Thr Ala
3095 3100 3105

Glu Thr Gln Thr Leu Thr Phe Thr Pro Ser Glu Thr Pro Thr Ser
3110 3115 3120

Leu Leu Pro Val Ser Ser Pro Thr Glu Pro Thr Ala Arg Arg Lys
3125 3130 3135

Ser Ser Pro Glu Thr Trp Ala Ser Ser Ile Ser Val Pro Ala Lys
3140 3145 3150

Thr Ser Leu Val Glu Thr Thr Asp Gly Thr Leu Val Thr Thr Ile
3155 3160 3165

Lys Met Ser Ser Gln Ala Ala Gln Gly Asn Ser Thr Trp Pro Ala
3170 3175 3180

Pro Ala Glu Glu Thr Gly Ser Ser Pro Ala Gly Thr Ser Pro Gly
3185 3190 3195

Ser Pro Glu Met Ser Thr Thr Leu Lys Ile Met Ser Ser Lys Glu
3200 3205 3210

Pro Ser Ile Ser Pro Glu Ile Arg Ser Thr Val Arg Asn Ser Pro
3215 3220 3225

Trp Lys Thr Pro Glu Thr Thr Val Pro Met Glu Thr Thr Val Glu
3230 3235 3240

Pro Val Thr Leu Gln Ser Thr Ala Leu Gly Ser Gly Ser Thr Ser
3245 3250 3255

Ile Ser His Leu Pro Thr Gly Thr Thr Ser Pro Thr Lys Ser Pro
3260 3265 3270

Thr Glu Asn Met Leu Ala Thr Glu Arg Val Ser Leu Ser Pro Ser
3275 3280 3285

Pro Pro Glu Ala Trp Thr Asn Leu Tyr Ser Gly Thr Pro Gly Gly
3290 3295 3300

Thr Arg Gln Ser Leu Ala Thr Met Ser Ser Val Ser Leu Glu Ser
3305 3310 3315

Pro Thr Ala Arg Ser Ile Thr Gly Thr Gly Gln Gln Ser Ser Pro
3320 3325 3330

Glu Leu Val Ser Lys Thr Thr Gly Met Glu Phe Ser Met Trp His
3335 3340 3345

Gly Ser Thr Gly Gly Thr Thr Gly Asp Thr His Val Ser Leu Ser
3350 3355 3360

Thr Ser Ser Asn Ile Leu Glu Asp Pro Val Thr Ser Pro Asn Ser
3365 3370 3375

Val Ser Ser Leu Thr Asp Lys Ser Lys His Lys Thr Glu Thr Trp
3380 3385 3390

Val Ser Thr Thr Ala Ile Pro Ser Thr Val Leu Asn Asn Lys Ile
3395 3400 3405

Met Ala Ala Glu Gln Gln Thr Ser Arg Ser Val Asp Glu Ala Tyr
3410 3415 3420

Ser Ser Thr Ser Ser Trp Ser Asp Gln Thr Ser Gly Ser Asp Ile
3425 3430 3435

Thr Leu Gly Ala Ser Pro Asp Val Thr Asn Thr Leu Tyr Ile Thr
3440 3445 3450

Ser Thr Ala Gln Thr Thr Ser Leu Val Ser Leu Pro Ser Gly Asp
3455 3460 3465

Gln Gly Ile Thr Ser Leu Thr Asn Pro Ser Gly Gly Lys Thr Ser
3470 3475 3480

Ser Ala Ser Ser Val Thr Ser Pro Ser Ile Gly Leu Glu Thr Leu
3485 3490 3495

Arg Ala Asn Val Ser Ala Val Lys Ser Asp Ile Ala Pro Thr Ala
3500 3505 3510

Gly His Leu Ser Gln Thr Ser Ser Pro Ala Glu Val Ser Ile Leu
3515 3520 3525

Asp Val Thr Thr Ala Pro Thr Pro Gly Ile Ser Thr Thr Ile Thr
3530 3535 3540

Thr Met Gly Thr Asn Ser Ile Ser Thr Thr Thr Pro Asn Pro Glu
3545 3550 3555

Val Gly Met Ser Thr Met Asp Ser Thr Pro Ala Thr Glu Arg Arg
3560 3565 3570

Thr Thr Ser Thr Glu His Pro Ser Thr Trp Ser Ser Thr Ala Ala
3575 3580 3585

Ser Asp Ser Trp Thr Val Thr Asp Met Thr Ser Asn Leu Lys Val
3590 3595 3600

Ala Arg Ser Pro Gly Thr Ile Ser Thr Met His Thr Thr Ser Phe
3605 3610 3615

Leu Ala Ser Ser Thr Glu Leu Asp Ser Met Ser Thr Pro His Gly
3620 3625 3630

Arg Ile Thr Val Ile Gly Thr Ser Leu Val Thr Pro Ser Ser Asp
3635 3640 3645

Ala Ser Ala Val Lys Thr Glu Thr Ser Thr Ser Glu Arg Thr Leu
3650 3655 3660

Ser Pro Ser Asp Thr Thr Ala Ser Thr Pro Ile Ser Thr Phe Ser
3665 3670 3675

Arg Val Gln Arg Met Ser Ile Ser Val Pro Asp Ile Leu Ser Thr
3680 3685 3690

Ser Trp Thr Pro Ser Ser Thr Glu Ala Glu Asp Val Pro Val Ser
3695 3700 3705

Met Val Ser Thr Asp His Ala Ser Thr Lys Thr Asp Pro Asn Thr
3710 3715 3720

Pro Leu Ser Thr Phe Leu Phe Asp Ser Leu Ser Thr Leu Asp Trp
3725 3730 3735

Asp Thr Gly Arg Ser Leu Ser Ser Ala Thr Ala Thr Thr Ser Ala
3740 3745 3750

Pro Gln Gly Ala Thr Thr Pro Gln Glu Leu Thr Leu Glu Thr Met
3755 3760 3765

Ile Ser Pro Ala Thr Ser Gln Leu Pro Phe Ser Ile Gly His Ile
3770 3775 3780

Thr Ser Ala Val Thr Pro Ala Ala Met Ala Arg Ser Ser Gly Val
3785 3790 3795

Thr Phe Ser Arg Pro Asp Pro Thr Ser Lys Lys Ala Glu Gln Thr
3800 3805 3810

Ser Thr Gln Leu Pro Thr Thr Thr Ser Ala His Pro Gly Gln Val
3815 3820 3825

Pro Arg Ser Ala Ala Thr Thr Leu Asp Val Ile Pro His Thr Ala
3830 3835 3840

Lys Thr Pro Asp Ala Thr Phe Gln Arg Gln Gly Gln Thr Ala Leu
3845 3850 3855

Thr Thr Glu Ala Arg Ala Thr Ser Asp Ser Trp Asn Glu Lys Glu
3860 3865 3870

Lys Ser Thr Pro Ser Ala Pro Trp Ile Thr Glu Met Met Asn Ser
3875 3880 3885

Val Ser Glu Asp Thr Ile Lys Glu Val Thr Ser Ser Ser Ser Val
3890 3895 3900

Leu Arg Thr Leu Asn Thr Leu Asp Ile Asn Leu Glu Ser Gly Thr
3905 3910 3915

Thr Ser Ser Pro Ser Trp Lys Ser Ser Pro Tyr Glu Arg Ile Ala
3920 3925 3930

Pro Ser Glu Ser Thr Thr Asp Lys Glu Ala Ile His Pro Ser Thr
3935 3940 3945

Asn Thr Val Glu Thr Thr Gly Trp Val Thr Ser Ser Glu His Ala
3950 3955 3960

Ser His Ser Thr Ile Pro Ala His Ser Ala Ser Ser Lys Leu Thr
3965 3970 3975

Ser Pro Val Val Thr Thr Ser Thr Arg Glu Gln Ala Ile Val Ser
3980 3985 3990

Met Ser Thr Thr Thr Trp Pro Glu Ser Thr Arg Ala Arg Thr Glu
3995 4000 4005

Pro Asn Ser Phe Leu Thr Ile Glu Leu Arg Asp Val Ser Pro Tyr
4010 4015 4020

Met Asp Thr Ser Ser Thr Thr Gln Thr Ser Ile Ile Ser Ser Pro
4025 4030 4035

Gly Ser Thr Ala Ile Thr Lys Gly Pro Arg Thr Glu Ile Thr Ser
4040 4045 4050

Ser Lys Arg Ile Ser Ser Ser Phe Leu Ala Gln Ser Met Arg Ser
4055 4060 4065

Ser Asp Ser Pro Ser Glu Ala Ile Thr Arg Leu Ser Asn Phe Pro
4070 4075 4080

Ala Met Thr Glu Ser Gly Gly Met Ile Leu Ala Met Gln Thr Ser
4085 4090 4095

Pro Pro Gly Ala Thr Ser Leu Ser Ala Pro Thr Leu Asp Thr Ser
4100 4105 4110

Ala Thr Ala Ser Trp Thr Gly Thr Pro Leu Ala Thr Thr Gln Arg
4115 4120 4125

Phe Thr Tyr Ser Glu Lys Thr Thr Leu Phe Ser Lys Gly Pro Glu
4130 4135 4140

Asp Thr Ser Gln Pro Ser Pro Pro Ser Val Glu Glu Thr Ser Ser
4145 4150 4155

Ser Ser Ser Leu Val Pro Ile His Ala Thr Thr Ser Pro Ser Asn
4160 4165 4170

Ile Leu Leu Thr Ser Gln Gly His Ser Pro Ser Ser Thr Pro Pro
4175 4180 4185

Val Thr Ser Val Phe Leu Ser Glu Thr Ser Gly Leu Gly Lys Thr
4190 4195 4200

Thr Asp Met Ser Arg Ile Ser Leu Glu Pro Gly Thr Ser Leu Pro
4205 4210 4215

Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ala Gly Glu Ala Leu Ser Thr Tyr Glu
4220 4225 4230

Ala Ser Arg Asp Thr Lys Ala Ile His His Ser Ala Asp Thr Ala
4235 4240 4245

Val Thr Asn Met Glu Ala Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Pro Ile Pro
4250 4255 4260

Gly His Thr Lys Pro Ser Lys Ala Thr Ser Pro Leu Val Thr Ser
4265 4270 4275

His Ile Met Gly Asp Ile Thr Ser Ser Thr Ser Val Phe Gly Ser
4280 4285 4290

Ser Glu Thr Thr Glu Ile Glu Thr Val Ser Ser Val Asn Gln Gly
4295 4300 4305

Leu Gln Glu Arg Ser Thr Ser Gln Val Ala Ser Ser Ala Thr Glu
4310 4315 4320

Thr Ser Thr Val Ile Thr His Val Ser Ser Gly Asp Ala Thr Thr
4325 4330 4335

His Val Thr Lys Thr Gln Ala Thr Phe Ser Ser Gly Thr Ser Ile
4340 4345 4350

Ser Ser Pro His Gln Phe Ile Thr Ser Thr Asn Thr Phe Thr Asp
4355 4360 4365

Val Ser Thr Asn Pro Ser Thr Ser Leu Ile Met Thr Glu Ser Ser
4370 4375 4380

Gly Val Thr Ile Thr Thr Gln Thr Gly Pro Thr Gly Ala Ala Thr
4385 4390 4395

Gln Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Thr Ser Thr Met Pro Tyr Leu Thr
4400 4405 4410

Glu Thr Pro Leu Ala Val Thr Pro Asp Phe Met Gln Ser Glu Lys
4415 4420 4425

Thr Thr Leu Ile Ser Lys Gly Pro Lys Asp Val Ser Trp Thr Ser
4430 4435 4440

Pro Pro Ser Val Ala Glu Thr Ser Tyr Pro Ser Ser Leu Thr Pro
4445 4450 4455

Phe Leu Val Thr Thr Ile Pro Pro Ala Thr Ser Thr Leu Gln Gly
4460 4465 4470

Gln His Thr Ser Ser Pro Val Ser Ala Thr Ser Val Leu Thr Ser
4475 4480 4485

Gly Leu Val Lys Thr Thr Asp Met Leu Asn Thr Ser Met Glu Pro
4490 4495 4500

Val Thr Asn Ser Pro Gln Asn Leu Asn Asn Pro Ser Asn Glu Ile
4505 4510 4515

Leu Ala Thr Leu Ala Ala Thr Thr Asp Ile Glu Thr Ile His Pro
4520 4525 4530

Ser Ile Asn Lys Ala Val Thr Asn Met Gly Thr Ala Ser Ser Ala
4535 4540 4545

His Val Leu His Ser Thr Leu Pro Val Ser Ser Glu Pro Ser Thr
4550 4555 4560

Ala Thr Ser Pro Met Val Pro Ala Ser Ser Met Gly Asp Ala Leu
4565 4570 4575

Ala Ser Ile Ser Ile Pro Gly Ser Glu Thr Thr Asp Ile Glu Gly
4580 4585 4590

Glu Pro Thr Ser Ser Leu Thr Ala Gly Arg Lys Glu Asn Ser Thr
4595 4600 4605

Leu Gln Glu Met Asn Ser Thr Thr Glu Ser Asn Ile Ile Leu Ser
4610 4615 4620

Asn Val Ser Val Gly Ala Ile Thr Glu Ala Thr Lys Met Glu Val
4625 4630 4635

Pro Ser Phe Asp Ala Thr Phe Ile Pro Thr Pro Ala Gln Ser Thr
4640 4645 4650

Lys Phe Pro Asp Ile Phe Ser Val Ala Ser Ser Arg Leu Ser Asn
4655 4660 4665

Ser Pro Pro Met Thr Ile Ser Thr His Met Thr Thr Thr Gln Thr
4670 4675 4680

Gly Ser Ser Gly Ala Thr Ser Lys Ile Pro Leu Ala Leu Asp Thr
4685 4690 4695

Ser Thr Leu Glu Thr Ser Ala Gly Thr Pro Ser Val Val Thr Glu
4700 4705 4710

Gly Phe Ala His Ser Lys Ile Thr Thr Ala Met Asn Asn Asp Val
4715 4720 4725

Lys Asp Val Ser Gln Thr Asn Pro Pro Phe Gln Asp Glu Ala Ser
4730 4735 4740

Ser Pro Ser Ser Gln Ala Pro Val Leu Val Thr Thr Leu Pro Ser
4745 4750 4755

Ser Val Ala Phe Thr Pro Gln Trp His Ser Thr Ser Ser Pro Val
4760 4765 4770

Ser Met Ser Ser Val Leu Thr Ser Ser Leu Val Lys Thr Ala Gly
4775 4780 4785

Lys Val Asp Thr Ser Leu Glu Thr Val Thr Ser Ser Pro Gln Ser
4790 4795 4800

Met Ser Asn Thr Leu Asp Asp Ile Ser Val Thr Ser Ala Ala Thr
4805 4810 4815

Thr Asp Ile Glu Thr Thr His Pro Ser Ile Asn Thr Val Val Thr
4820 4825 4830

Asn Val Gly Thr Thr Gly Ser Ala Phe Glu Ser His Ser Thr Val
4835 4840 4845

Ser Ala Tyr Pro Glu Pro Ser Lys Val Thr Ser Pro Asn Val Thr
4850 4855 4860

Thr Ser Thr Met Glu Asp Thr Thr Ile Ser Arg Ser Ile Pro Lys
4865 4870 4875

Ser Ser Lys Thr Thr Arg Thr Glu Thr Glu Thr Thr Ser Ser Leu
4880 4885 4890

Thr Pro Lys Leu Arg Glu Thr Ser Ile Ser Gln Glu Ile Thr Ser
4895 4900 4905

Ser Thr Glu Thr Ser Thr Val Pro Tyr Lys Glu Leu Thr Gly Ala
4910 4915 4920

Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Asp Val Thr Ser Ser Ser Ser Thr
4925 4930 4935

Ser Phe Pro Gly Pro Asp Gln Ser Thr Val Ser Leu Asp Ile Ser
4940 4945 4950

Thr Glu Thr Asn Thr Arg Leu Ser Thr Ser Pro Ile Met Thr Glu
4955 4960 4965

Ser Ala Glu Ile Thr Ile Thr Thr Gln Thr Gly Pro His Gly Ala
4970 4975 4980

Thr Ser Gln Asp Thr Phe Thr Met Asp Pro Ser Asn Thr Thr Pro
4985 4990 4995

Gln Ala Gly Ile His Ser Ala Met Thr His Gly Phe Ser Gln Leu
5000 5005 5010

Asp Val Thr Thr Leu Met Ser Arg Ile Pro Gln Asp Val Ser Trp
5015 5020 5025

Thr Ser Pro Pro Ser Val Asp Lys Thr Ser Ser Pro Ser Ser Phe
5030 5035 5040

Leu Ser Ser Pro Ala Met Thr Thr Pro Ser Leu Ile Ser Ser Thr
5045 5050 5055

Leu Pro Glu Asp Lys Leu Ser Ser Pro Met Thr Ser Leu Leu Thr
5060 5065 5070

Ser Gly Leu Val Lys Ile Thr Asp Ile Leu Arg Thr Arg Leu Glu
5075 5080 5085

Pro Val Thr Ser Ser Leu Pro Asn Phe Ser Ser Thr Ser Asp Lys
5090 5095 5100

Ile Leu Ala Thr Ser Lys Asp Ser Lys Asp Thr Lys Glu Ile Phe
5105 5110 5115

Pro Ser Ile Asn Thr Glu Glu Thr Asn Val Lys Ala Asn Asn Ser
5120 5125 5130

Gly His Glu Ser His Ser Pro Ala Leu Ala Asp Ser Glu Thr Pro
5135 5140 5145

Lys Ala Thr Thr Gln Met Val Ile Thr Thr Thr Val Gly Asp Pro
5150 5155 5160

Ala Pro Ser Thr Ser Met Pro Val His Gly Ser Ser Glu Thr Thr
5165 5170 5175

Asn Ile Lys Arg Glu Pro Thr Tyr Phe Leu Thr Pro Arg Leu Arg
5180 5185 5190

Glu Thr Ser Thr Ser Gln Glu Ser Ser Phe Pro Thr Asp Thr Ser
5195 5200 5205

Phe Leu Leu Ser Lys Val Pro Thr Gly Thr Ile Thr Glu Val Ser
5210 5215 5220

Ser Thr Gly Val Asn Ser Ser Ser Lys Ile Ser Thr Pro Asp His
5225 5230 5235

Asp Lys Ser Thr Val Pro Pro Asp Thr Phe Thr Gly Glu Ile Pro
5240 5245 5250

Arg Val Phe Thr Ser Ser Ile Lys Thr Lys Ser Ala Glu Met Thr
5255 5260 5265

Ile Thr Thr Gln Ala Ser Pro Pro Glu Ser Ala Ser His Ser Thr
5270 5275 5280

Leu Pro Leu Asp Thr Ser Thr Thr Leu Ser Gln Gly Gly Thr His
5285 5290 5295

Ser Thr Val Thr Gln Gly Phe Pro Tyr Ser Glu Val Thr Thr Leu
5300 5305 5310

Met Gly Met Gly Pro Gly Asn Val Ser Trp Met Thr Thr Pro Pro
5315 5320 5325

Val Glu Glu Thr Ser Ser Val Ser Ser Leu Met Ser Ser Pro Ala
5330 5335 5340

Met Thr Ser Pro Ser Pro Val Ser Ser Thr Ser Pro Gln Ser Ile
5345 5350 5355

Pro Ser Ser Pro Leu Pro Val Thr Ala Leu Pro Thr Ser Val Leu
5360 5365 5370

Val Thr Thr Thr Asp Val Leu Gly Thr Thr Ser Pro Glu Ser Val
5375 5380 5385

Thr Ser Ser Pro Pro Asn Leu Ser Ser Ile Thr His Glu Arg Pro
5390 5395 5400

Ala Thr Tyr Lys Asp Thr Ala His Thr Glu Ala Ala Met His His
5405 5410 5415

Ser Thr Asn Thr Ala Val Thr Asn Val Gly Thr Ser Gly Ser Gly
5420 5425 5430

His Lys Ser Gln Ser Ser Val Leu Ala Asp Ser Glu Thr Ser Lys
5435 5440 5445

Ala Thr Pro Leu Met Ser Thr Thr Ser Thr Leu Gly Asp Thr Ser
5450 5455 5460

Val Ser Thr Ser Thr Pro Asn Ile Ser Gln Thr Asn Gln Ile Gln
5465 5470 5475

Thr Glu Pro Thr Ala Ser Leu Ser Pro Arg Leu Arg Glu Ser Ser
5480 5485 5490

Thr Ser Glu Lys Thr Ser Ser Thr Thr Glu Thr Asn Thr Ala Phe
5495 5500 5505

Ser Tyr Val Pro Thr Gly Ala Ile Thr Gln Ala Ser Arg Thr Glu
5510 5515 5520

Ile Ser Ser Ser Arg Thr Ser Ile Ser Asp Leu Asp Arg Pro Thr
5525 5530 5535

Ile Ala Pro Asp Ile Ser Thr Gly Met Ile Thr Arg Leu Phe Thr
5540 5545 5550

Ser Pro Ile Met Thr Lys Ser Ala Glu Met Thr Val Thr Thr Gln
5555 5560 5565

Thr Thr Thr Pro Gly Ala Thr Ser Gln Gly Ile Leu Pro Trp Asp
5570 5575 5580

Thr Ser Thr Thr Leu Phe Gln Gly Gly Thr His Ser Thr Val Ser
5585 5590 5595

Gln Gly Phe Pro His Ser Glu Ile Thr Thr Leu Arg Ser Arg Thr
5600 5605 5610

Pro Gly Asp Val Ser Trp Met Thr Thr Pro Pro Val Glu Glu Thr
5615 5620 5625

Ser Ser Gly Phe Ser Leu Met Ser Pro Ser Met Thr Ser Pro Ser
5630 5635 5640

Pro Val Ser Ser Thr Ser Pro Glu Ser Ile Pro Ser Ser Pro Leu
5645 5650 5655

Pro Val Thr Ala Leu Leu Thr Ser Val Leu Val Thr Thr Thr Asn
5660 5665 5670

Val Leu Gly Thr Thr Ser Pro Glu Pro Val Thr Ser Ser Pro Pro
5675 5680 5685

Asn Leu Ser Ser Pro Thr Gln Glu Arg Leu Thr Thr Tyr Lys Asp
5690 5695 5700

Thr Ala His Thr Glu Ala Met His Ala Ser Met His Thr Asn Thr
5705 5710 5715

Ala Val Ala Asn Val Gly Thr Ser Ile Ser Gly His Glu Ser Gln
5720 5725 5730

Ser Ser Val Pro Ala Asp Ser His Thr Ser Lys Ala Thr Ser Pro
5735 5740 5745

Met Gly Ile Thr Phe Ala Met Gly Asp Thr Ser Val Ser Thr Ser
5750 5755 5760

Thr Pro Ala Phe Phe Glu Thr Arg Ile Gln Thr Glu Ser Thr Ser
5765 5770 5775

Ser Leu Ile Pro Gly Leu Arg Asp Thr Arg Thr Ser Glu Glu Ile
5780 5785 5790

Asn Thr Val Thr Glu Thr Ser Thr Val Leu Ser Glu Val Pro Thr
5795 5800 5805

Thr Thr Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Glu Val Ile Thr Ser Ser
5810 5815 5820

Arg Thr Thr Ile Ser Gly Pro Asp His Ser Lys Met Ser Pro Tyr
5825 5830 5835

Ile Ser Thr Glu Thr Ile Thr Arg Leu Ser Thr Phe Pro Phe Val
5840 5845 5850

Thr Gly Ser Thr Glu Met Ala Ile Thr Asn Gln Thr Gly Pro Ile
5855 5860 5865

Gly Thr Ile Ser Gln Ala Thr Leu Thr Leu Asp Thr Ser Ser Thr
5870 5875 5880

Ala Ser Trp Glu Gly Thr His Ser Pro Val Thr Gln Arg Phe Pro
5885 5890 5895

His Ser Glu Glu Thr Thr Thr Met Ser Arg Ser Thr Lys Gly Val
5900 5905 5910

Ser Trp Gln Ser Pro Pro Ser Val Glu Glu Thr Ser Ser Pro Ser
5915 5920 5925

Ser Pro Val Pro Leu Pro Ala Ile Thr Ser His Ser Ser Leu Tyr
5930 5935 5940

Ser Ala Val Ser Gly Ser Ser Pro Thr Ser Ala Leu Pro Val Thr
5945 5950 5955

Ser Leu Leu Thr Ser Gly Arg Arg Lys Thr Ile Asp Met Leu Asp
5960 5965 5970

Thr His Ser Glu Leu Val Thr Ser Ser Leu Pro Ser Ala Ser Ser
5975 5980 5985

Phe Ser Gly Glu Ile Leu Thr Ser Glu Ala Ser Thr Asn Thr Glu
5990 5995 6000

Thr Ile His Phe Ser Glu Asn Thr Ala Glu Thr Asn Met Gly Thr
6005 6010 6015

Thr Asn Ser Met His Lys Leu His Ser Ser Val Ser Ile His Ser
6020 6025 6030

Gln Pro Ser Gly His Thr Pro Pro Lys Val Thr Gly Ser Met Met
6035 6040 6045

Glu Asp Ala Ile Val Ser Thr Ser Thr Pro Gly Ser Pro Glu Thr
6050 6055 6060

Lys Asn Val Asp Arg Asp Ser Thr Ser Pro Leu Thr Pro Glu Leu
6065 6070 6075

Lys Glu Asp Ser Thr Ala Leu Val Met Asn Ser Thr Thr Glu Ser
6080 6085 6090

Asn Thr Val Phe Ser Ser Val Ser Leu Asp Ala Ala Thr Glu Val
6095 6100 6105

Ser Arg Ala Glu Val Thr Tyr Tyr Asp Pro Thr Phe Met Pro Ala
6110 6115 6120

Ser Ala Gln Ser Thr Lys Ser Pro Asp Ile Ser Pro Glu Ala Ser
6125 6130 6135

Ser Ser His Ser Asn Ser Pro Pro Leu Thr Ile Ser Thr His Lys
6140 6145 6150

Thr Ile Ala Thr Gln Thr Gly Pro Ser Gly Val Thr Ser Leu Gly
6155 6160 6165

Gln Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Ile Ala Thr Ser Ala Gly Thr
6170 6175 6180

Pro Ser Ala Arg Thr Gln Asp Phe Val Asp Ser Glu Thr Thr Ser
6185 6190 6195

Val Met Asn Asn Asp Leu Asn Asp Val Leu Lys Thr Ser Pro Phe
6200 6205 6210

Ser Ala Glu Glu Ala Asn Ser Leu Ser Ser Gln Ala Pro Leu Leu
6215 6220 6225

Val Thr Thr Ser Pro Ser Pro Val Thr Ser Thr Leu Gln Glu His
6230 6235 6240

Ser Thr Ser Ser Leu Val Ser Val Thr Ser Val Pro Thr Pro Thr
6245 6250 6255

Leu Ala Lys Ile Thr Asp Met Asp Thr Asn Leu Glu Pro Val Thr
6260 6265 6270

Arg Ser Pro Gln Asn Leu Arg Asn Thr Leu Ala Thr Ser Glu Ala
6275 6280 6285

Thr Thr Asp Thr His Thr Met His Pro Ser Ile Asn Thr Ala Val
6290 6295 6300

Ala Asn Val Gly Thr Thr Ser Ser Pro Asn Glu Phe Tyr Phe Thr
6305 6310 6315

Val Ser Pro Asp Ser Asp Pro Tyr Lys Ala Thr Ser Ala Val Val
6320 6325 6330

Ile Thr Ser Thr Ser Gly Asp Ser Ile Val Ser Thr Ser Met Pro
6335 6340 6345

Arg Ser Ser Ala Met Lys Lys Ile Glu Ser Glu Thr Thr Phe Ser
6350 6355 6360

Leu Ile Phe Arg Leu Arg Glu Thr Ser Thr Ser Gln Lys Ile Gly
6365 6370 6375

Ser Ser Ser Asp Thr Ser Thr Val Phe Asp Lys Ala Phe Thr Ala
6380 6385 6390

Ala Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Glu Leu Thr Ser Ser Ser Arg
6395 6400 6405

Thr Ser Ile Gln Gly Thr Glu Lys Pro Thr Met Ser Pro Asp Thr
6410 6415 6420

Ser Thr Arg Ser Val Thr Met Leu Ser Thr Phe Ala Gly Leu Thr
6425 6430 6435

Lys Ser Glu Glu Arg Thr Ile Ala Thr Gln Thr Gly Pro His Arg
6440 6445 6450

Ala Thr Ser Gln Gly Thr Leu Thr Trp Asp Thr Ser Ile Thr Thr
6455 6460 6465

Ser Gln Ala Gly Thr His Ser Ala Met Thr His Gly Phe Ser Gln
6470 6475 6480

Leu Asp Leu Ser Thr Leu Thr Ser Arg Val Pro Glu Tyr Ile Ser
6485 6490 6495

Gly Thr Ser Pro Pro Ser Val Glu Lys Thr Ser Ser Ser Ser Ser
6500 6505 6510

Leu Leu Ser Leu Pro Ala Ile Thr Ser Pro Ser Pro Val Pro Thr
6515 6520 6525

Thr Leu Pro Glu Ser Arg Pro Ser Ser Pro Val His Leu Thr Ser
6530 6535 6540

Leu Pro Thr Ser Gly Leu Val Lys Thr Thr Asp Met Leu Ala Ser
6545 6550 6555

Val Ala Ser Leu Pro Pro Asn Leu Gly Ser Thr Ser His Lys Ile
6560 6565 6570

Pro Thr Thr Ser Glu Asp Ile Lys Asp Thr Glu Lys Met Tyr Pro
6575 6580 6585

Ser Thr Asn Ile Ala Val Thr Asn Val Gly Thr Thr Thr Ser Glu
6590 6595 6600

Lys Glu Ser Tyr Ser Ser Val Pro Ala Tyr Ser Glu Pro Pro Lys
6605 6610 6615

Val Thr Ser Pro Met Val Thr Ser Phe Asn Ile Arg Asp Thr Ile
6620 6625 6630

Val Ser Thr Ser Met Pro Gly Ser Ser Glu Ile Thr Arg Ile Glu
6635 6640 6645

Met Glu Ser Thr Phe Ser Leu Ala His Gly Leu Lys Gly Thr Ser
6650 6655 6660

Thr Ser Gln Asp Pro Ile Val Ser Thr Glu Lys Ser Ala Val Leu
6665 6670 6675

His Lys Leu Thr Thr Gly Ala Thr Glu Thr Ser Arg Thr Glu Val
6680 6685 6690

Ala Ser Ser Arg Arg Thr Ser Ile Pro Gly Pro Asp His Ser Thr
6695 6700 6705

Glu Ser Pro Asp Ile Ser Thr Glu Val Ile Pro Ser Leu Pro Ile
6710 6715 6720

Ser Leu Gly Ile Thr Glu Ser Ser Asn Met Thr Ile Ile Thr Arg
6725 6730 6735

Thr Gly Pro Pro Leu Gly Ser Thr Ser Gln Gly Thr Phe Thr Leu
6740 6745 6750

Asp Thr Pro Thr Thr Ser Ser Arg Ala Gly Thr His Ser Met Ala
6755 6760 6765

Thr Gln Glu Phe Pro His Ser Glu Met Thr Thr Val Met Asn Lys
6770 6775 6780

Asp Pro Glu Ile Leu Ser Trp Thr Ile Pro Pro Ser Ile Glu Lys
6785 6790 6795

Thr Ser Phe Ser Ser Ser Leu Met Pro Ser Pro Ala Met Thr Ser
6800 6805 6810

Pro Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Lys Thr Ile His Thr Thr Pro
6815 6820 6825

Ser Pro Met Thr Ser Leu Leu Thr Pro Ser Leu Val Met Thr Thr
6830 6835 6840

Asp Thr Leu Gly Thr Ser Pro Glu Pro Thr Thr Ser Ser Pro Pro
6845 6850 6855

Asn Leu Ser Ser Thr Ser His Glu Ile Leu Thr Thr Asp Glu Asp
6860 6865 6870

Thr Thr Ala Ile Glu Ala Met His Pro Ser Thr Ser Thr Ala Ala
6875 6880 6885

Thr Asn Val Glu Thr Thr Ser Ser Gly His Gly Ser Gln Ser Ser
6890 6895 6900

Val Leu Ala Asp Ser Glu Lys Thr Lys Ala Thr Ala Pro Met Asp
6905 6910 6915

Thr Thr Ser Thr Met Gly His Thr Thr Val Ser Thr Ser Met Ser
6920 6925 6930

Val Ser Ser Glu Thr Thr Lys Ile Lys Arg Glu Ser Thr Tyr Ser
6935 6940 6945

Leu Thr Pro Gly Leu Arg Glu Thr Ser Ile Ser Gln Asn Ala Ser
6950 6955 6960

Phe Ser Thr Asp Thr Ser Ile Val Leu Ser Glu Val Pro Thr Gly
6965 6970 6975

Thr Thr Ala Glu Val Ser Arg Thr Glu Val Thr Ser Ser Gly Arg
6980 6985 6990

Thr Ser Ile Pro Gly Pro Ser Gln Ser Thr Val Leu Pro Glu Ile
6995 7000 7005

Ser Thr Arg Thr Met Thr Arg Leu Phe Ala Ser Pro Thr Met Thr
7010 7015 7020

Glu Ser Ala Glu Met Thr Ile Pro Thr Gln Thr Gly Pro Ser Gly
7025 7030 7035

Ser Thr Ser Gln Asp Thr Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Lys
7040 7045 7050

Ser Gln Ala Lys Thr His Ser Thr Leu Thr Gln Arg Phe Pro His
7055 7060 7065

Ser Glu Met Thr Thr Leu Met Ser Arg Gly Pro Gly Asp Met Ser
7070 7075 7080

Trp Gln Ser Ser Pro Ser Leu Glu Asn Pro Ser Ser Leu Pro Ser
7085 7090 7095

Leu Leu Ser Leu Pro Ala Thr Thr Ser Pro Pro Pro Ile Ser Ser
7100 7105 7110

Thr Leu Pro Val Thr Ile Ser Ser Ser Pro Leu Pro Val Thr Ser
7115 7120 7125

Leu Leu Thr Ser Ser Pro Val Thr Thr Thr Asp Met Leu His Thr
7130 7135 7140

Ser Pro Glu Leu Val Thr Ser Ser Pro Pro Lys Leu Ser His Thr
7145 7150 7155

Ser Asp Glu Arg Leu Thr Thr Gly Lys Asp Thr Thr Asn Thr Glu
7160 7165 7170

Ala Val His Pro Ser Thr Asn Thr Ala Ala Ser Asn Val Glu Ile
7175 7180 7185

Pro Ser Ser Gly His Glu Ser Pro Ser Ser Ala Leu Ala Asp Ser
7190 7195 7200

Glu Thr Ser Lys Ala Thr Ser Pro Met Phe Ile Thr Ser Thr Gln
7205 7210 7215

Glu Asp Thr Thr Val Ala Ile Ser Thr Pro His Phe Leu Glu Thr
7220 7225 7230

Ser Arg Ile Gln Lys Glu Ser Ile Ser Ser Leu Ser Pro Lys Leu
7235 7240 7245

Arg Glu Thr Gly Ser Ser Val Glu Thr Ser Ser Ala Ile Glu Thr
7250 7255 7260

Ser Ala Val Leu Ser Glu Val Ser Ile Gly Ala Thr Thr Glu Ile
7265 7270 7275

Ser Arg Thr Glu Val Thr Ser Ser Ser Arg Thr Ser Ile Ser Gly
7280 7285 7290

Ser Ala Glu Ser Thr Met Leu Pro Glu Ile Ser Thr Thr Arg Lys
7295 7300 7305

Ile Ile Lys Phe Pro Thr Ser Pro Ile Leu Ala Glu Ser Ser Glu
7310 7315 7320

Met Thr Ile Lys Thr Gln Thr Ser Pro Pro Gly Ser Thr Ser Glu
7325 7330 7335

Ser Thr Phe Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Pro Ser Leu Val Ile
7340 7345 7350

Thr His Ser Thr Met Thr Gln Arg Leu Pro His Ser Glu Ile Thr
7355 7360 7365

Thr Leu Val Ser Arg Gly Ala Gly Asp Val Pro Arg Pro Ser Ser
7370 7375 7380

Leu Pro Val Glu Glu Thr Ser Pro Pro Ser Ser Gln Leu Ser Leu
7385 7390 7395

Ser Ala Met Ile Ser Pro Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Ala
7400 7405 7410

Ser Ser His Ser Ser Ser Ala Ser Val Thr Ser Leu Leu Thr Pro
7415 7420 7425

Gly Gln Val Lys Thr Thr Glu Val Leu Asp Ala Ser Ala Glu Pro
7430 7435 7440

Glu Thr Ser Ser Pro Pro Ser Leu Ser Ser Thr Ser Val Glu Ile
7445 7450 7455

Leu Ala Thr Ser Glu Val Thr Thr Asp Thr Glu Lys Ile His Pro
7460 7465 7470

Phe Ser Asn Thr Ala Val Thr Lys Val Gly Thr Ser Ser Ser Gly
7475 7480 7485

His Glu Ser Pro Ser Ser Val Leu Pro Asp Ser Glu Thr Thr Lys
7490 7495 7500

Ala Thr Ser Ala Met Gly Thr Ile Ser Ile Met Gly Asp Thr Ser
7505 7510 7515

Val Ser Thr Leu Thr Pro Ala Leu Ser Asn Thr Arg Lys Ile Gln
7520 7525 7530

Ser Glu Pro Ala Ser Ser Leu Thr Thr Arg Leu Arg Glu Thr Ser
7535 7540 7545

Thr Ser Glu Glu Thr Ser Leu Ala Thr Glu Ala Asn Thr Val Leu
7550 7555 7560

Ser Lys Val Ser Thr Gly Ala Thr Thr Glu Val Ser Arg Thr Glu
7565 7570 7575

Ala Ile Ser Phe Ser Arg Thr Ser Met Ser Gly Pro Glu Gln Ser
7580 7585 7590

Thr Met Ser Gln Asp Ile Ser Ile Gly Thr Ile Pro Arg Ile Ser
7595 7600 7605

Ala Ser Ser Val Leu Thr Glu Ser Ala Lys Met Thr Ile Thr Thr
7610 7615 7620

Gln Thr Gly Pro Ser Glu Ser Thr Leu Glu Ser Thr Leu Asn Leu
7625 7630 7635

Asn Thr Ala Thr Thr Pro Ser Trp Val Glu Thr His Ser Ile Val
7640 7645 7650

Ile Gln Gly Phe Pro His Pro Glu Met Thr Thr Ser Met Gly Arg
7655 7660 7665

Gly Pro Gly Gly Val Ser Trp Pro Ser Pro Pro Phe Val Lys Glu
7670 7675 7680

Thr Ser Pro Pro Ser Ser Pro Leu Ser Leu Pro Ala Val Thr Ser
7685 7690 7695

Pro His Pro Val Ser Thr Thr Phe Leu Ala His Ile Pro Pro Ser
7700 7705 7710

Pro Leu Pro Val Thr Ser Leu Leu Thr Ser Gly Pro Ala Thr Thr
7715 7720 7725

Thr Asp Ile Leu Gly Thr Ser Thr Glu Pro Gly Thr Ser Ser Ser
7730 7735 7740

Ser Ser Leu Ser Thr Thr Ser His Glu Arg Leu Thr Thr Tyr Lys
7745 7750 7755

Asp Thr Ala His Thr Glu Ala Val His Pro Ser Thr Asn Thr Gly
7760 7765 7770

Gly Thr Asn Val Ala Thr Thr Ser Ser Gly Tyr Lys Ser Gln Ser
7775 7780 7785

Ser Val Leu Ala Asp Ser Ser Pro Met Cys Thr Thr Ser Thr Met
7790 7795 7800

Gly Asp Thr Ser Val Leu Thr Ser Thr Pro Ala Phe Leu Glu Thr
7805 7810 7815

Arg Arg Ile Gln Thr Glu Leu Ala Ser Ser Leu Thr Pro Gly Leu
7820 7825 7830

Arg Glu Ser Ser Gly Ser Glu Gly Thr Ser Ser Gly Thr Lys Met
7835 7840 7845

Ser Thr Val Leu Ser Lys Val Pro Thr Gly Ala Thr Thr Glu Ile
7850 7855 7860

Ser Lys Glu Asp Val Thr Ser Ile Pro Gly Pro Ala Gln Ser Thr
7865 7870 7875

Ile Ser Pro Asp Ile Ser Thr Arg Thr Val Ser Trp Phe Ser Thr
7880 7885 7890

Ser Pro Val Met Thr Glu Ser Ala Glu Ile Thr Met Asn Thr His
7895 7900 7905

Thr Ser Pro Leu Gly Ala Thr Thr Gln Gly Thr Ser Thr Leu Asp
7910 7915 7920

Thr Ser Ser Thr Thr Ser Leu Thr Met Thr His Ser Thr Ile Ser
7925 7930 7935

Gln Gly Phe Ser His Ser Gln Met Ser Thr Leu Met Arg Arg Gly
7940 7945 7950

Pro Glu Asp Val Ser Trp Met Ser Pro Pro Leu Leu Glu Lys Thr
7955 7960 7965

Arg Pro Ser Phe Ser Leu Met Ser Ser Pro Ala Thr Thr Ser Pro
7970 7975 7980

Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Glu Ser Ile Ser Ser Ser Pro
7985 7990 7995

Leu Pro Val Thr Ser Leu Leu Thr Ser Gly Leu Ala Lys Thr Thr
8000 8005 8010

Asp Met Leu His Lys Ser Ser Glu Pro Val Thr Asn Ser Pro Ala
8015 8020 8025

Asn Leu Ser Ser Thr Ser Val Glu Ile Leu Ala Thr Ser Glu Val
8030 8035 8040

Thr Thr Asp Thr Glu Lys Thr His Pro Ser Ser Asn Arg Thr Val
8045 8050 8055

Thr Asp Val Gly Thr Ser Ser Ser Gly His Glu Ser Thr Ser Phe
8060 8065 8070

Val Leu Ala Asp Ser Gln Thr Ser Lys Val Thr Ser Pro Met Val
8075 8080 8085

Ile Thr Ser Thr Met Glu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ser Thr Pro
8090 8095 8100

Gly Phe Phe Glu Thr Ser Arg Ile Gln Thr Glu Pro Thr Ser Ser
8105 8110 8115

Leu Thr Leu Gly Leu Arg Lys Thr Ser Ser Ser Glu Gly Thr Ser
8120 8125 8130

Leu Ala Thr Glu Met Ser Thr Val Leu Ser Gly Val Pro Thr Gly
8135 8140 8145

Ala Thr Ala Glu Val Ser Arg Thr Glu Val Thr Ser Ser Ser Arg
8150 8155 8160

Thr Ser Ile Ser Gly Phe Ala Gln Leu Thr Val Ser Pro Glu Thr
8165 8170 8175

Ser Thr Glu Thr Ile Thr Arg Leu Pro Thr Ser Ser Ile Met Thr
8180 8185 8190

Glu Ser Ala Glu Met Met Ile Lys Thr Gln Thr Asp Pro Pro Gly
8195 8200 8205

Ser Thr Pro Glu Ser Thr His Thr Val Asp Ile Ser Thr Thr Pro
8210 8215 8220

Asn Trp Val Glu Thr His Ser Thr Val Thr Gln Arg Phe Ser His
8225 8230 8235

Ser Glu Met Thr Thr Leu Val Ser Arg Ser Pro Gly Asp Met Leu
8240 8245 8250

Trp Pro Ser Gln Ser Ser Val Glu Glu Thr Ser Ser Ala Ser Ser
8255 8260 8265

Leu Leu Ser Leu Pro Ala Thr Thr Ser Pro Ser Pro Val Ser Ser
8270 8275 8280

Thr Leu Val Glu Asp Phe Pro Ser Ala Ser Leu Pro Val Thr Ser
8285 8290 8295

Leu Leu Asn Pro Gly Leu Val Ile Thr Thr Asp Arg Met Gly Ile
8300 8305 8310

Ser Arg Glu Pro Gly Thr Ser Ser Thr Ser Asn Leu Ser Ser Thr
8315 8320 8325

Ser His Glu Arg Leu Thr Thr Leu Glu Asp Thr Val Asp Thr Glu
8330 8335 8340

Asp Met Gln Pro Ser Thr His Thr Ala Val Thr Asn Val Arg Thr
8345 8350 8355

Ser Ile Ser Gly His Glu Ser Gln Ser Ser Val Leu Ser Asp Ser
8360 8365 8370

Glu Thr Pro Lys Ala Thr Ser Pro Met Gly Thr Thr Tyr Thr Met
8375 8380 8385

Gly Glu Thr Ser Val Ser Ile Ser Thr Ser Asp Phe Phe Glu Thr
8390 8395 8400

Ser Arg Ile Gln Ile Glu Pro Thr Ser Ser Leu Thr Ser Gly Leu
8405 8410 8415

Arg Glu Thr Ser Ser Ser Glu Arg Ile Ser Ser Ala Thr Glu Gly
8420 8425 8430

Ser Thr Val Leu Ser Glu Val Pro Ser Gly Ala Thr Thr Glu Val
8435 8440 8445

Ser Arg Thr Glu Val Ile Ser Ser Arg Gly Thr Ser Met Ser Gly
8450 8455 8460

Pro Asp Gln Phe Thr Ile Ser Pro Asp Ile Ser Thr Glu Ala Ile
8465 8470 8475

Thr Arg Leu Ser Thr Ser Pro Ile Met Thr Glu Ser Ala Glu Ser
8480 8485 8490

Ala Ile Thr Ile Glu Thr Gly Ser Pro Gly Ala Thr Ser Glu Gly
8495 8500 8505

Thr Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Thr Phe Trp Ser Gly Thr
8510 8515 8520

His Ser Thr Ala Ser Pro Gly Phe Ser His Ser Glu Met Thr Thr
8525 8530 8535

Leu Met Ser Arg Thr Pro Gly Asp Val Pro Trp Pro Ser Leu Pro
8540 8545 8550

Ser Val Glu Glu Ala Ser Ser Val Ser Ser Ser Leu Ser Ser Pro
8555 8560 8565

Ala Met Thr Ser Thr Ser Phe Phe Ser Thr Leu Pro Glu Ser Ile
8570 8575 8580

Ser Ser Ser Pro His Pro Val Thr Ala Leu Leu Thr Leu Gly Pro
8585 8590 8595

Val Lys Thr Thr Asp Met Leu Arg Thr Ser Ser Glu Pro Glu Thr
8600 8605 8610

Ser Ser Pro Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ser Ala Glu Ile Leu Ala
8615 8620 8625

Thr Ser Glu Val Thr Lys Asp Arg Glu Lys Ile His Pro Ser Ser
8630 8635 8640

Asn Thr Pro Val Val Asn Val Gly Thr Val Ile Tyr Lys His Leu
8645 8650 8655

Ser Pro Ser Ser Val Leu Ala Asp Leu Val Thr Thr Lys Pro Thr
8660 8665 8670

Ser Pro Met Ala Thr Thr Ser Thr Leu Gly Asn Thr Ser Val Ser
8675 8680 8685

Thr Ser Thr Pro Ala Phe Pro Glu Thr Met Met Thr Gln Pro Thr
8690 8695 8700

Ser Ser Leu Thr Ser Gly Leu Arg Glu Ile Ser Thr Ser Gln Glu
8705 8710 8715

Thr Ser Ser Ala Thr Glu Arg Ser Ala Ser Leu Ser Gly Met Pro
8720 8725 8730

Thr Gly Ala Thr Thr Lys Val Ser Arg Thr Glu Ala Leu Ser Leu
8735 8740 8745

Gly Arg Thr Ser Thr Pro Gly Pro Ala Gln Ser Thr Ile Ser Pro
8750 8755 8760

Glu Ile Ser Thr Glu Thr Ile Thr Arg Ile Ser Thr Pro Leu Thr
8765 8770 8775

Thr Thr Gly Ser Ala Glu Met Thr Ile Thr Pro Lys Thr Gly His
8780 8785 8790

Ser Gly Ala Ser Ser Gln Gly Thr Phe Thr Leu Asp Thr Ser Ser
8795 8800 8805

Arg Ala Ser Trp Pro Gly Thr His Ser Ala Ala Thr His Arg Ser
8810 8815 8820

Pro His Ser Gly Met Thr Thr Pro Met Ser Arg Gly Pro Glu Asp
8825 8830 8835

Val Ser Trp Pro Ser Arg Pro Ser Val Glu Lys Thr Ser Pro Pro
8840 8845 8850

Ser Ser Leu Val Ser Leu Ser Ala Val Thr Ser Pro Ser Pro Leu
8855 8860 8865

Tyr Ser Thr Pro Ser Glu Ser Ser His Ser Ser Pro Leu Arg Val
8870 8875 8880

Thr Ser Leu Phe Thr Pro Val Met Met Lys Thr Thr Asp Met Leu
8885 8890 8895

Asp Thr Ser Leu Glu Pro Val Thr Thr Ser Pro Pro Ser Met Asn
8900 8905 8910

Ile Thr Ser Asp Glu Ser Leu Ala Thr Ser Lys Ala Thr Met Glu
8915 8920 8925

Thr Glu Ala Ile Gln Leu Ser Glu Asn Thr Ala Val Thr Gln Met
8930 8935 8940

Gly Thr Ile Ser Ala Arg Gln Glu Phe Tyr Ser Ser Tyr Pro Gly
8945 8950 8955

Leu Pro Glu Pro Ser Lys Val Thr Ser Pro Val Val Thr Ser Ser
8960 8965 8970

Thr Ile Lys Asp Ile Val Ser Thr Thr Ile Pro Ala Ser Ser Glu
8975 8980 8985

Ile Thr Arg Ile Glu Met Glu Ser Thr Ser Thr Leu Thr Pro Thr
8990 8995 9000

Pro Arg Glu Thr Ser Thr Ser Gln Glu Ile His Ser Ala Thr Lys
9005 9010 9015

Pro Ser Thr Val Pro Tyr Lys Ala Leu Thr Ser Ala Thr Ile Glu
9020 9025 9030

Asp Ser Met Thr Gln Val Met Ser Ser Ser Arg Gly Pro Ser Pro
9035 9040 9045

Asp Gln Ser Thr Met Ser Gln Asp Ile Ser Thr Glu Val Ile Thr
9050 9055 9060

Arg Leu Ser Thr Ser Pro Ile Lys Thr Glu Ser Thr Glu Met Thr
9065 9070 9075

Ile Thr Thr Gln Thr Gly Ser Pro Gly Ala Thr Ser Arg Gly Thr
9080 9085 9090

Leu Thr Leu Asp Thr Ser Thr Thr Phe Met Ser Gly Thr His Ser
9095 9100 9105

Thr Ala Ser Gln Gly Phe Ser His Ser Gln Met Thr Ala Leu Met
9110 9115 9120

Ser Arg Thr Pro Gly Asp Val Pro Trp Leu Ser His Pro Ser Val
9125 9130 9135

Glu Glu Ala Ser Ser Ala Ser Phe Ser Leu Ser Ser Pro Val Met
9140 9145 9150

Thr Ser Ser Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Pro Asp Ser Ile His
9155 9160 9165

Ser Ser Ser Leu Pro Val Thr Ser Leu Leu Thr Ser Gly Leu Val
9170 9175 9180

Lys Thr Thr Glu Leu Leu Gly Thr Ser Ser Glu Pro Glu Thr Ser
9185 9190 9195

Ser Pro Pro Asn Leu Ser Ser Thr Ser Ala Glu Ile Leu Ala Ile
9200 9205 9210

Thr Glu Val Thr Thr Asp Thr Glu Lys Leu Glu Met Thr Asn Val
9215 9220 9225

Val Thr Ser Gly Tyr Thr His Glu Ser Pro Ser Ser Val Leu Ala
9230 9235 9240

Asp Ser Val Thr Thr Lys Ala Thr Ser Ser Met Gly Ile Thr Tyr
9245 9250 9255

Pro Thr Gly Asp Thr Asn Val Leu Thr Ser Thr Pro Ala Phe Ser
9260 9265 9270

Asp Thr Ser Arg Ile Gln Thr Lys Ser Lys Leu Ser Leu Thr Pro
9275 9280 9285

Gly Leu Met Glu Thr Ser Ile Ser Glu Glu Thr Ser Ser Ala Thr
9290 9295 9300

Glu Lys Ser Thr Val Leu Ser Ser Val Pro Thr Gly Ala Thr Thr
9305 9310 9315

Glu Val Ser Arg Thr Glu Ala Ile Ser Ser Ser Arg Thr Ser Ile
9320 9325 9330

Pro Gly Pro Ala Gln Ser Thr Met Ser Ser Asp Thr Ser Met Glu
9335 9340 9345

Thr Ile Thr Arg Ile Ser Thr Pro Leu Thr Arg Lys Glu Ser Thr
9350 9355 9360

Asp Met Ala Ile Thr Pro Lys Thr Gly Pro Ser Gly Ala Thr Ser
9365 9370 9375

Gln Gly Thr Phe Thr Leu Asp Ser Ser Ser Thr Ala Ser Trp Pro
9380 9385 9390

Gly Thr His Ser Ala Thr Thr Gln Arg Phe Pro Gln Ser Val Val
9395 9400 9405

Thr Thr Pro Met Ser Arg Gly Pro Glu Asp Val Ser Trp Pro Ser
9410 9415 9420

Pro Leu Ser Val Glu Lys Asn Ser Pro Pro Ser Ser Leu Val Ser
9425 9430 9435

Ser Ser Ser Val Thr Ser Pro Ser Pro Leu Tyr Ser Thr Pro Ser
9440 9445 9450

Gly Ser Ser His Ser Ser Pro Val Pro Val Thr Ser Leu Phe Thr
9455 9460 9465

Ser Ile Met Met Lys Ala Thr Asp Met Leu Asp Ala Ser Leu Glu
9470 9475 9480

Pro Glu Thr Thr Ser Ala Pro Asn Met Asn Ile Thr Ser Asp Glu
9485 9490 9495

Ser Leu Ala Ala Ser Lys Ala Thr Thr Glu Thr Glu Ala Ile His
9500 9505 9510

Val Phe Glu Asn Thr Ala Ala Ser His Val Glu Thr Thr Ser Ala
9515 9520 9525

Thr Glu Glu Leu Tyr Ser Ser Ser Pro Gly Phe Ser Glu Pro Thr
9530 9535 9540

Lys Val Ile Ser Pro Val Val Thr Ser Ser Ser Ile Arg Asp Asn
9545 9550 9555

Met Val Ser Thr Thr Met Pro Gly Ser Ser Gly Ile Thr Arg Ile
9560 9565 9570

Glu Ile Glu Ser Met Ser Ser Leu Thr Pro Gly Leu Arg Glu Thr
9575 9580 9585

Arg Thr Ser Gln Asp Ile Thr Ser Ser Thr Glu Thr Ser Thr Val
9590 9595 9600

Leu Tyr Lys Met Pro Ser Gly Ala Thr Pro Glu Val Ser Arg Thr
9605 9610 9615

Glu Val Met Pro Ser Ser Arg Thr Ser Ile Pro Gly Pro Ala Gln
9620 9625 9630

Ser Thr Met Ser Leu Asp Ile Ser Asp Glu Val Val Thr Arg Leu
9635 9640 9645

Ser Thr Ser Pro Ile Met Thr Glu Ser Ala Glu Ile Thr Ile Thr
9650 9655 9660

Thr Gln Thr Gly Tyr Ser Leu Ala Thr Ser Gln Val Thr Leu Pro
9665 9670 9675

Leu Gly Thr Ser Met Thr Phe Leu Ser Gly Thr His Ser Thr Met
9680 9685 9690

Ser Gln Gly Leu Ser His Ser Glu Met Thr Asn Leu Met Ser Arg
9695 9700 9705

Gly Pro Glu Ser Leu Ser Trp Thr Ser Pro Arg Phe Val Glu Thr
9710 9715 9720

Thr Arg Ser Ser Ser Ser Leu Thr Ser Leu Pro Leu Thr Thr Ser
9725 9730 9735

Leu Ser Pro Val Ser Ser Thr Leu Leu Asp Ser Ser Pro Ser Ser
9740 9745 9750

Pro Leu Pro Val Thr Ser Leu Ile Leu Pro Gly Leu Val Lys Thr
9755 9760 9765

Thr Glu Val Leu Asp Thr Ser Ser Glu Pro Lys Thr Ser Ser Ser
9770 9775 9780

```
Pro Asn  Leu Ser Ser Thr Ser  Val Glu Ile Pro Ala  Thr Ser Glu
    9785                 9790                 9795

Ile Met  Thr Asp Thr Glu Lys  Ile His Pro Ser Ser  Asn Thr Ala
    9800                 9805                 9810

Val Ala  Lys Val Arg Thr Ser  Ser Ser Val His Glu  Ser His Ser
    9815                 9820                 9825

Ser Val  Leu Ala Asp Ser Glu  Thr Thr Ile Thr Ile  Pro Ser Met
    9830                 9835                 9840

Gly Ile  Thr Ser Ala Val Asp  Asp Thr Thr Val Phe  Thr Ser Asn
    9845                 9850                 9855

Pro Ala  Phe Ser Glu Thr Arg  Arg Ile Pro Thr Glu  Pro Thr Phe
    9860                 9865                 9870

Ser Leu  Thr Pro Gly Phe Arg  Glu Thr Ser Thr Ser  Glu Glu Thr
    9875                 9880                 9885

Thr Ser  Ile Thr Glu Thr Ser  Ala Val Leu Tyr Gly  Val Pro Thr
    9890                 9895                 9900

Ser Ala  Thr Thr Glu Val Ser  Met Thr Glu Ile Met  Ser Ser Asn
    9905                 9910                 9915

Arg Ile  His Ile Pro Asp Ser  Asp Gln Ser Thr Met  Ser Pro Asp
    9920                 9925                 9930

Ile Ile  Thr Glu Val Ile Thr  Arg Leu Ser Ser Ser  Ser Met Met
    9935                 9940                 9945

Ser Glu  Ser Thr Gln Met Thr  Ile Thr Thr Gln Lys  Ser Ser Pro
    9950                 9955                 9960

Gly Ala  Thr Ala Gln Ser Thr  Leu Thr Leu Ala Thr  Thr Thr Ala
    9965                 9970                 9975
```

Pro Leu Ala Arg Thr His Ser Thr Val Pro Pro Arg Phe Leu His
9980 9985 9990

Ser Glu Met Thr Thr Leu Met Ser Arg Ser Pro Glu Asn Pro Ser
9995 10000 10005

Trp Lys Ser Ser Leu Phe Val Glu Lys Thr Ser Ser Ser Ser Ser
10010 10015 10020

Leu Leu Ser Leu Pro Val Thr Thr Ser Pro Ser Val Ser Ser Thr
10025 10030 10035

Leu Pro Gln Ser Ile Pro Ser Ser Ser Phe Ser Val Thr Ser Leu
10040 10045 10050

Leu Thr Pro Gly Met Val Lys Thr Thr Asp Thr Ser Thr Glu Pro
10055 10060 10065

Gly Thr Ser Leu Ser Pro Asn Leu Ser Gly Thr Ser Val Glu Ile
10070 10075 10080

Leu Ala Ala Ser Glu Val Thr Thr Asp Thr Glu Lys Ile His Pro
10085 10090 10095

Ser Ser Ser Met Ala Val Thr Asn Val Gly Thr Thr Ser Ser Gly
10100 10105 10110

His Glu Leu Tyr Ser Ser Val Ser Ile His Ser Glu Pro Ser Lys
10115 10120 10125

Ala Thr Tyr Pro Val Gly Thr Pro Ser Ser Met Ala Glu Thr Ser
10130 10135 10140

Ile Ser Thr Ser Met Pro Ala Asn Phe Glu Thr Thr Gly Phe Glu
10145 10150 10155

Ala Glu Pro Phe Ser His Leu Thr Ser Gly Phe Arg Lys Thr Asn
10160 10165 10170

Met Ser Leu Asp Thr Ser Ser Val Thr Pro Thr Asn Thr Pro Ser
10175 10180 10185

Ser Pro Gly Ser Thr His Leu Leu Gln Ser Ser Lys Thr Asp Phe
10190 10195 10200

Thr Ser Ser Ala Lys Thr Ser Ser Pro Asp Trp Pro Pro Ala Ser
10205 10210 10215

Gln Tyr Thr Glu Ile Pro Val Asp Ile Ile Thr Pro Phe Asn Ala
10220 10225 10230

Ser Pro Ser Ile Thr Glu Ser Thr Gly Ile Thr Ser Phe Pro Glu
10235 10240 10245

Ser Arg Phe Thr Met Ser Val Thr Glu Ser Thr His His Leu Ser
10250 10255 10260

Thr Asp Leu Leu Pro Ser Ala Glu Thr Ile Ser Thr Gly Thr Val
10265 10270 10275

Met Pro Ser Leu Ser Glu Ala Met Thr Ser Phe Ala Thr Thr Gly
10280 10285 10290

Val Pro Arg Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Pro Phe Ser Arg Thr
10295 10300 10305

Glu Ser Gly Pro Gly Asp Ala Thr Leu Ser Thr Ile Ala Glu Ser
10310 10315 10320

Leu Pro Ser Ser Thr Pro Val Pro Phe Ser Ser Ser Thr Phe Thr
10325 10330 10335

Thr Thr Asp Ser Ser Thr Ile Pro Ala Leu His Glu Ile Thr Ser
10340 10345 10350

Ser Ser Ala Thr Pro Tyr Arg Val Asp Thr Ser Leu Gly Thr Glu
10355 10360 10365

Ser Ser Thr Thr Glu Gly Arg Leu Val Met Val Ser Thr Leu Asp
10370 10375 10380

Thr Ser Ser Gln Pro Gly Arg Thr Ser Ser Ser Pro Ile Leu Asp
10385 10390 10395

Thr Arg Met Thr Glu Ser Val Glu Leu Gly Thr Val Thr Ser Ala
10400 10405 10410

Tyr Gln Val Pro Ser Leu Ser Thr Arg Leu Thr Arg Thr Asp Gly
10415 10420 10425

Ile Met Glu His Ile Thr Lys Ile Pro Asn Glu Ala Ala His Arg
10430 10435 10440

Gly Thr Ile Arg Pro Val Lys Gly Pro Gln Thr Ser Thr Ser Pro
10445 10450 10455

Ala Ser Pro Lys Gly Leu His Thr Gly Gly Thr Lys Arg Met Glu
10460 10465 10470

Thr Thr Thr Thr Ala Leu Lys Thr Thr Thr Thr Ala Leu Lys Thr
10475 10480 10485

Thr Ser Arg Ala Thr Leu Thr Thr Ser Val Tyr Thr Pro Thr Leu
10490 10495 10500

Gly Thr Leu Thr Pro Leu Asn Ala Ser Met Gln Met Ala Ser Thr
10505 10510 10515

Ile Pro Thr Glu Met Met Ile Thr Thr Pro Tyr Val Phe Pro Asp
10520 10525 10530

Val Pro Glu Thr Thr Ser Ser Leu Ala Thr Ser Leu Gly Ala Glu
10535 10540 10545

Thr Ser Thr Ala Leu Pro Arg Thr Thr Pro Ser Val Phe Asn Arg
10550 10555 10560

Glu Ser Glu Thr Thr Ala Ser Leu Val Ser Arg Ser Gly Ala Glu
10565 10570 10575

Arg Ser Pro Val Ile Gln Thr Leu Asp Val Ser Ser Ser Glu Pro
10580 10585 10590

Asp Thr Thr Ala Ser Trp Val Ile His Pro Ala Glu Thr Ile Pro
10595 10600 10605

Thr Val Ser Lys Thr Thr Pro Asn Phe Phe His Ser Glu Leu Asp
10610 10615 10620

Thr Val Ser Ser Thr Ala Thr Ser His Gly Ala Asp Val Ser Ser
10625 10630 10635

Ala Ile Pro Thr Asn Ile Ser Pro Ser Glu Leu Asp Ala Leu Thr
10640 10645 10650

Pro Leu Val Thr Ile Ser Gly Thr Asp Thr Ser Thr Thr Phe Pro
10655 10660 10665

Thr Leu Thr Lys Ser Pro His Glu Thr Glu Thr Arg Thr Thr Trp
10670 10675 10680

Leu Thr His Pro Ala Glu Thr Ser Ser Thr Ile Pro Arg Thr Ile
10685 10690 10695

Pro Asn Phe Ser His His Glu Ser Asp Ala Thr Pro Ser Ile Ala
10700 10705 10710

Thr Ser Pro Gly Ala Glu Thr Ser Ser Ala Ile Pro Ile Met Thr
10715 10720 10725

Val Ser Pro Gly Ala Glu Asp Leu Val Thr Ser Gln Val Thr Ser
10730 10735 10740

Ser Gly Thr Asp Arg Asn Met Thr Ile Pro Thr Leu Thr Leu Ser
10745 10750 10755

Pro Gly Glu Pro Lys Thr Ile Ala Ser Leu Val Thr His Pro Glu
10760 10765 10770

Ala Gln Thr Ser Ser Ala Ile Pro Thr Ser Thr Ile Ser Pro Ala
10775 10780 10785

Val Ser Arg Leu Val Thr Ser Met Val Thr Ser Leu Ala Ala Lys
10790 10795 10800

Thr Ser Thr Thr Asn Arg Ala Leu Thr Asn Ser Pro Gly Glu Pro
10805 10810 10815

Ala Thr Thr Val Ser Leu Val Thr His Pro Ala Gln Thr Ser Pro
10820 10825 10830

Thr Val Pro Trp Thr Thr Ser Ile Phe Phe His Ser Lys Ser Asp
10835 10840 10845

Thr Thr Pro Ser Met Thr Thr Ser His Gly Ala Glu Ser Ser Ser
10850 10855 10860

Ala Val Pro Thr Pro Thr Val Ser Thr Glu Val Pro Gly Val Val
10865 10870 10875

Thr Pro Leu Val Thr Ser Ser Arg Ala Val Ile Ser Thr Thr Ile
10880 10885 10890

Pro Ile Leu Thr Leu Ser Pro Gly Glu Pro Glu Thr Thr Pro Ser
10895 10900 10905

Met Ala Thr Ser His Gly Glu Glu Ala Ser Ser Ala Ile Pro Thr
10910 10915 10920

Pro Thr Val Ser Pro Gly Val Pro Gly Val Val Thr Ser Leu Val
10925 10930 10935

Thr Ser Ser Arg Ala Val Thr Ser Thr Thr Ile Pro Ile Leu Thr
10940 10945 10950

Phe Ser Leu Gly Glu Pro Glu Thr Thr Pro Ser Met Ala Thr Ser
10955 10960 10965

His Gly Thr Glu Ala Gly Ser Ala Val Pro Thr Val Leu Pro Glu
10970 10975 10980

Val Pro Gly Met Val Thr Ser Leu Val Ala Ser Ser Arg Ala Val
10985 10990 10995

Thr Ser Thr Thr Leu Pro Thr Leu Thr Leu Ser Pro Gly Glu Pro
11000 11005 11010

Glu Thr Thr Pro Ser Met Ala Thr Ser His Gly Ala Glu Ala Ser
11015 11020 11025

Ser Thr Val Pro Thr Val Ser Pro Glu Val Pro Gly Val Val Thr
11030 11035 11040

Ser Leu Val Thr Ser Ser Ser Gly Val Asn Ser Thr Ser Ile Pro
11045 11050 11055

Thr Leu Ile Leu Ser Pro Gly Glu Leu Glu Thr Thr Pro Ser Met
11060 11065 11070

Ala Thr Ser His Gly Ala Glu Ala Ser Ser Ala Val Pro Thr Pro
11075 11080 11085

Thr Val Ser Pro Gly Val Ser Gly Val Val Thr Pro Leu Val Thr
11090 11095 11100

```
Ser Ser  Arg Ala Val Thr Ser  Thr Thr Ile Pro Ile  Leu Thr Leu
    11105                 11110                 11115

Ser Ser  Ser Glu Pro Glu Thr  Thr Pro Ser Met Ala  Thr Ser His
    11120                 11125                 11130

Gly Val  Glu Ala Ser Ser Ala  Val Leu Thr Val Ser  Pro Glu Val
    11135                 11140                 11145

Pro Gly  Met Val Thr Ser Leu  Val Thr Ser Ser Arg  Ala Val Thr
    11150                 11155                 11160

Ser Thr  Thr Ile Pro Thr Leu  Thr Ile Ser Ser Asp  Glu Pro Glu
    11165                 11170                 11175

Thr Thr  Thr Ser Leu Val Thr  His Ser Glu Ala Lys  Met Ile Ser
    11180                 11185                 11190

Ala Ile  Pro Thr Leu Ala Val  Ser Pro Thr Val Gln  Gly Leu Val
    11195                 11200                 11205

Thr Ser  Leu Val Thr Ser Ser  Gly Ser Glu Thr Ser  Ala Phe Ser
    11210                 11215                 11220

Asn Leu  Thr Val Ala Ser Ser  Gln Pro Glu Thr Ile  Asp Ser Trp
    11225                 11230                 11235

Val Ala  His Pro Gly Thr Glu  Ala Ser Ser Val Val  Pro Thr Leu
    11240                 11245                 11250

Thr Val  Ser Thr Gly Glu Pro  Phe Thr Asn Ile Ser  Leu Val Thr
    11255                 11260                 11265

His Pro  Ala Glu Ser Ser Ser  Thr Leu Pro Arg Thr  Thr Ser Arg
    11270                 11275                 11280
```

Phe Ser His Ser Glu Leu Asp Thr Met Pro Ser Thr Val Thr Ser
11285 11290 11295

Pro Glu Ala Glu Ser Ser Ser Ala Ile Ser Thr Thr Ile Ser Pro
11300 11305 11310

Gly Ile Pro Gly Val Leu Thr Ser Leu Val Thr Ser Ser Gly Arg
11315 11320 11325

Asp Ile Ser Ala Thr Phe Pro Thr Val Pro Glu Ser Pro His Glu
11330 11335 11340

Ser Glu Ala Thr Ala Ser Trp Val Thr His Pro Ala Val Thr Ser
11345 11350 11355

Thr Thr Val Pro Arg Thr Thr Pro Asn Tyr Ser His Ser Glu Pro
11360 11365 11370

Asp Thr Thr Pro Ser Ile Ala Thr Ser Pro Gly Ala Glu Ala Thr
11375 11380 11385

Ser Asp Phe Pro Thr Ile Thr Val Ser Pro Asp Val Pro Asp Met
11390 11395 11400

Val Thr Ser Gln Val Thr Ser Ser Gly Thr Asp Thr Ser Ile Thr
11405 11410 11415

Ile Pro Thr Leu Thr Leu Ser Ser Gly Glu Pro Glu Thr Thr Thr
11420 11425 11430

Ser Phe Ile Thr Tyr Ser Glu Thr His Thr Ser Ser Ala Ile Pro
11435 11440 11445

Thr Leu Pro Val Ser Pro Gly Ala Ser Lys Met Leu Thr Ser Leu
11450 11455 11460

Val Ile Ser Ser Gly Thr Asp Ser Thr Thr Thr Phe Pro Thr Leu
11465 11470 11475

Thr Glu Thr Pro Tyr Glu Pro Glu Thr Thr Ala Ile Gln Leu Ile
11480 11485 11490

His Pro Ala Glu Thr Asn Thr Met Val Pro Arg Thr Thr Pro Lys
11495 11500 11505

Phe Ser His Ser Lys Ser Asp Thr Thr Leu Pro Val Ala Ile Thr
11510 11515 11520

Ser Pro Gly Pro Glu Ala Ser Ser Ala Val Ser Thr Thr Thr Ile
11525 11530 11535

Ser Pro Asp Met Ser Asp Leu Val Thr Ser Leu Val Pro Ser Ser
11540 11545 11550

Gly Thr Asp Thr Ser Thr Thr Phe Pro Thr Leu Ser Glu Thr Pro
11555 11560 11565

Tyr Glu Pro Glu Thr Thr Ala Thr Trp Leu Thr His Pro Ala Glu
11570 11575 11580

Thr Ser Thr Thr Val Ser Gly Thr Ile Pro Asn Phe Ser His Arg
11585 11590 11595

Gly Ser Asp Thr Ala Pro Ser Met Val Thr Ser Pro Gly Val Asp
11600 11605 11610

Thr Arg Ser Gly Val Pro Thr Thr Thr Ile Pro Pro Ser Ile Pro
11615 11620 11625

Gly Val Val Thr Ser Gln Val Thr Ser Ser Ala Thr Asp Thr Ser
11630 11635 11640

Thr Ala Ile Pro Thr Leu Thr Pro Ser Pro Gly Glu Pro Glu Thr
11645 11650 11655

Thr Ala Ser Ser Ala Thr His Pro Gly Thr Gln Thr Gly Phe Thr
11660 11665 11670

Val Pro Ile Arg Thr Val Pro Ser Ser Glu Pro Asp Thr Met Ala
11675 11680 11685

Ser Trp Val Thr His Pro Pro Gln Thr Ser Thr Pro Val Ser Arg
11690 11695 11700

Thr Thr Ser Ser Phe Ser His Ser Ser Pro Asp Ala Thr Pro Val
11705 11710 11715

Met Ala Thr Ser Pro Arg Thr Glu Ala Ser Ser Ala Val Leu Thr
11720 11725 11730

Thr Ile Ser Pro Gly Ala Pro Glu Met Val Thr Ser Gln Ile Thr
11735 11740 11745

Ser Ser Gly Ala Ala Thr Ser Thr Thr Val Pro Thr Leu Thr His
11750 11755 11760

Ser Pro Gly Met Pro Glu Thr Thr Ala Leu Leu Ser Thr His Pro
11765 11770 11775

Arg Thr Glu Thr Ser Lys Thr Phe Pro Ala Ser Thr Val Phe Pro
11780 11785 11790

Gln Val Ser Glu Thr Thr Ala Ser Leu Thr Ile Arg Pro Gly Ala
11795 11800 11805

Glu Thr Ser Thr Ala Leu Pro Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Phe
11810 11815 11820

Thr Leu Leu Val Thr Gly Thr Ser Arg Val Asp Leu Ser Pro Thr
11825 11830 11835

Ala Ser Pro Gly Val Ser Ala Lys Thr Ala Pro Leu Ser Thr His
11840 11845 11850

Pro Gly Thr Glu Thr Ser Thr Met Ile Pro Thr Ser Thr Leu Ser
11855 11860 11865

Leu Gly Leu Leu Glu Thr Thr Gly Leu Leu Ala Thr Ser Ser Ser
11870 11875 11880

Ala Glu Thr Ser Thr Ser Thr Leu Thr Leu Thr Val Ser Pro Ala
11885 11890 11895

Val Ser Gly Leu Ser Ser Ala Ser Ile Thr Thr Asp Lys Pro Gln
11900 11905 11910

Thr Val Thr Ser Trp Asn Thr Glu Thr Ser Pro Ser Val Thr Ser
11915 11920 11925

Val Gly Pro Pro Glu Phe Ser Arg Thr Val Thr Gly Thr Thr Met
11930 11935 11940

Thr Leu Ile Pro Ser Glu Met Pro Thr Pro Pro Lys Thr Ser His
11945 11950 11955

Gly Glu Gly Val Ser Pro Thr Thr Ile Leu Arg Thr Thr Met Val
11960 11965 11970

Glu Ala Thr Asn Leu Ala Thr Thr Gly Ser Ser Pro Thr Val Ala
11975 11980 11985

Lys Thr Thr Thr Thr Phe Asn Thr Leu Ala Gly Ser Leu Phe Thr
11990 11995 12000

Pro Leu Thr Thr Pro Gly Met Ser Thr Leu Ala Ser Glu Ser Val
12005 12010 12015

Thr Ser Arg Thr Ser Tyr Asn His Arg Ser Trp Ile Ser Thr Thr
12020 12025 12030

Ser Ser Tyr Asn Arg Arg Tyr Trp Thr Pro Ala Thr Ser Thr Pro
12035 12040 12045

Val Thr Ser Thr Phe Ser Pro Gly Ile Ser Thr Ser Ser Ile Pro
12050 12055 12060

Ser Ser Thr Ala Ala Thr Val Pro Phe Met Val Pro Phe Thr Leu
12065 12070 12075

Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu Asp Met Arg His
12080 12085 12090

Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Ala Thr Glu Arg Glu Leu Gln Gly
12095 12100 12105

Leu Leu Lys Pro Leu Phe Arg Asn Ser Ser Leu Glu Tyr Leu Tyr
12110 12115 12120

Ser Gly Cys Arg Leu Ala Ser Leu Arg Pro Glu Lys Asp Ser Ser
12125 12130 12135

Ala Thr Ala Val Asp Ala Ile Cys Thr His Arg Pro Asp Pro Glu
12140 12145 12150

Asp Leu Gly Leu Asp Arg Glu Arg Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Asn
12155 12160 12165

Leu Thr Asn Gly Ile Gln Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg
12170 12175 12180

Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Arg Ser Ser Met Pro
12185 12190 12195

Thr Thr Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val Asp Val Gly Thr Ser
12200 12205 12210

Gly Thr Pro Ser Ser Ser Pro Ser Pro Thr Thr Ala Gly Pro Leu
12215 12220 12225

```
Leu Met   Pro Phe Thr Leu Asn   Phe Thr Ile Thr Asn   Leu Gln Tyr
    12230                12235                12240

Glu Glu   Asp Met Arg Arg Thr   Gly Ser Arg Lys Phe   Asn Thr Met
    12245                12250                12255

Glu Ser   Val Leu Gln Gly Leu   Leu Lys Pro Leu Phe   Lys Asn Thr
    12260                12265                12270

Ser Val   Gly Pro Leu Tyr Ser   Gly Cys Arg Leu Thr   Leu Leu Arg
    12275                12280                12285

Pro Glu   Lys Asp Gly Ala Ala   Thr Gly Val Asp Ala   Ile Cys Thr
    12290                12295                12300

His Arg   Leu Asp Pro Lys Ser   Pro Gly Leu Asn Arg   Glu Gln Leu
    12305                12310                12315

Tyr Trp   Glu Leu Ser Lys Leu   Thr Asn Asp Ile Glu   Glu Leu Gly
    12320                12325                12330

Pro Tyr   Thr Leu Asp Arg Asn   Ser Leu Tyr Val Asn   Gly Phe Thr
    12335                12340                12345

His Gln   Ser Ser Val Ser Thr   Thr Ser Thr Pro Gly   Thr Ser Thr
    12350                12355                12360

Val Asp   Leu Arg Thr Ser Gly   Thr Pro Ser Ser Leu   Ser Ser Pro
    12365                12370                12375

Thr Ile   Met Ala Ala Gly Pro   Leu Leu Val Pro Phe   Thr Leu Asn
    12380                12385                12390

Phe Thr   Ile Thr Asn Leu Gln   Tyr Gly Glu Asp Met   Gly His Pro
    12395                12400                12405
```

Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu
12410 12415 12420

Leu Gly Pro Ile Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser
12425 12430 12435

Gly Cys Arg Leu Thr Ser Leu Arg Ser Glu Lys Asp Gly Ala Ala
12440 12445 12450

Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Ile His His Leu Asp Pro Lys Ser
12455 12460 12465

Pro Gly Leu Asn Arg Glu Arg Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu
12470 12475 12480

Thr Asn Gly Ile Lys Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asn
12485 12490 12495

Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Arg Thr Ser Val Pro Thr
12500 12505 12510

Ser Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly
12515 12520 12525

Thr Pro Phe Ser Leu Pro Ser Pro Ala Thr Ala Gly Pro Leu Leu
12530 12535 12540

Val Leu Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Lys Tyr Glu
12545 12550 12555

Glu Asp Met His Arg Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu
12560 12565 12570

Arg Val Leu Gln Thr Leu Leu Gly Pro Met Phe Lys Asn Thr Ser
12575 12580 12585

Val Gly Leu Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Ser
12590 12595 12600

Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr His
12605 12610 12615

Arg Leu Asp Pro Lys Ser Pro Gly Val Asp Arg Glu Gln Leu Tyr
12620 12625 12630

Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr Asn Gly Ile Lys Glu Leu Gly Pro
12635 12640 12645

Tyr Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His
12650 12655 12660

Trp Ile Pro Val Pro Thr Ser Ser Thr Pro Gly Thr Ser Thr Val
12665 12670 12675

Asp Leu Gly Ser Gly Thr Pro Ser Ser Leu Pro Ser Pro Thr Thr
12680 12685 12690

Ala Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr
12695 12700 12705

Asn Leu Lys Tyr Glu Glu Asp Met His Cys Pro Gly Ser Arg Lys
12710 12715 12720

Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln Ser Leu Leu Gly Pro Met
12725 12730 12735

Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu
12740 12745 12750

Thr Leu Leu Arg Ser Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp
12755 12760 12765

Ala Ile Cys Thr His Arg Leu Asp Pro Lys Ser Pro Gly Val Asp
12770 12775 12780

Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr Asn Gly Ile
12785 12790 12795

Lys Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asn Ser Leu Tyr Val
12800 12805 12810

Asn Gly Phe Thr His Gln Thr Ser Ala Pro Asn Thr Ser Thr Pro
12815 12820 12825

Gly Thr Ser Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly Thr Pro Ser Ser
12830 12835 12840

Leu Pro Ser Pro Thr Ser Ala Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr
12845 12850 12855

Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu Asp Met His
12860 12865 12870

His Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln
12875 12880 12885

Gly Leu Leu Gly Pro Met Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Leu Leu
12890 12895 12900

Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu Lys Asn Gly
12905 12910 12915

Ala Ala Thr Gly Met Asp Ala Ile Cys Ser His Arg Leu Asp Pro
12920 12925 12930

Lys Ser Pro Gly Leu Asn Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser
12935 12940 12945

Gln Leu Thr His Gly Ile Lys Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp
12950 12955 12960

Arg Asn Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Arg Ser Ser Val
12965 12970 12975

```
Ala Pro  Thr Ser Thr Pro Gly  Thr Ser Thr Val Asp  Leu Gly Thr
    12980                 12985                 12990

Ser Gly  Thr Pro Ser Ser Leu  Pro Ser Pro Thr Thr  Ala Val Pro
    12995                 13000                 13005

Leu Leu  Val Pro Phe Thr Leu  Asn Phe Thr Ile Thr  Asn Leu Gln
    13010                 13015                 13020

Tyr Gly  Glu Asp Met Arg His  Pro Gly Ser Arg Lys  Phe Asn Thr
    13025                 13030                 13035

Thr Glu  Arg Val Leu Gln Gly  Leu Leu Gly Pro Leu  Phe Lys Asn
    13040                 13045                 13050

Ser Ser  Val Gly Pro Leu Tyr  Ser Gly Cys Arg Leu  Ile Ser Leu
    13055                 13060                 13065

Arg Ser  Glu Lys Asp Gly Ala  Ala Thr Gly Val Asp  Ala Ile Cys
    13070                 13075                 13080

Thr His  His Leu Asn Pro Gln  Ser Pro Gly Leu Asp  Arg Glu Gln
    13085                 13090                 13095

Leu Tyr  Trp Gln Leu Ser Gln  Met Thr Asn Gly Ile  Lys Glu Leu
    13100                 13105                 13110

Gly Pro  Tyr Thr Leu Asp Arg  Asn Ser Leu Tyr Val  Asn Gly Phe
    13115                 13120                 13125

Thr His  Arg Ser Ser Gly Leu  Thr Thr Ser Thr Pro  Trp Thr Ser
    13130                 13135                 13140

Thr Val  Asp Leu Gly Thr Ser  Gly Thr Pro Ser Pro  Val Pro Ser
    13145                 13150                 13155
```

Pro Thr Thr Thr Gly Pro Leu Leu Val Pro Phe Thr Leu Asn Phe
13160 13165 13170

Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu Asn Met Gly His Pro Gly
13175 13180 13185

Ser Arg Lys Phe Asn Ile Thr Glu Ser Val Leu Gln Gly Leu Leu
13190 13195 13200

Lys Pro Leu Phe Lys Ser Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly
13205 13210 13215

Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu Lys Asp Gly Val Ala Thr
13220 13225 13230

Arg Val Asp Ala Ile Cys Thr His Arg Pro Asp Pro Lys Ile Pro
13235 13240 13245

Gly Leu Asp Arg Gln Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr
13250 13255 13260

His Ser Ile Thr Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asp Ser
13265 13270 13275

Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr Gln Arg Ser Ser Val Pro Thr Thr
13280 13285 13290

Ser Thr Pro Gly Thr Phe Thr Val Gln Pro Glu Thr Ser Glu Thr
13295 13300 13305

Pro Ser Ser Leu Pro Gly Pro Thr Ala Thr Gly Pro Val Leu Leu
13310 13315 13320

Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Gln Tyr Glu Glu
13325 13330 13335

Asp Met Arg Arg Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg
13340 13345 13350

Val Leu Gln Gly Leu Leu Met Pro Leu Phe Lys Asn Thr Ser Val
13355 13360 13365

Ser Ser Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu
13370 13375 13380

Lys Asp Gly Ala Ala Thr Arg Val Asp Ala Val Cys Thr His Arg
13385 13390 13395

Pro Asp Pro Lys Ser Pro Gly Leu Asp Arg Glu Arg Leu Tyr Trp
13400 13405 13410

Lys Leu Ser Gln Leu Thr His Gly Ile Thr Glu Leu Gly Pro Tyr
13415 13420 13425

Thr Leu Asp Arg His Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr His Gln
13430 13435 13440

Ser Ser Met Thr Thr Thr Arg Thr Pro Asp Thr Ser Thr Met His
13445 13450 13455

Leu Ala Thr Ser Arg Thr Pro Ala Ser Leu Ser Gly Pro Met Thr
13460 13465 13470

Ala Ser Pro Leu Leu Val Leu Phe Thr Ile Asn Phe Thr Ile Thr
13475 13480 13485

Asn Leu Arg Tyr Glu Glu Asn Met His His Pro Gly Ser Arg Lys
13490 13495 13500

Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu Leu Arg Pro Val
13505 13510 13515

Phe Lys Asn Thr Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu
13520 13525 13530

Thr Leu Leu Arg Pro Lys Lys Asp Gly Ala Ala Thr Lys Val Asp
13535 13540 13545

Ala Ile Cys Thr Tyr Arg Pro Asp Pro Lys Ser Pro Gly Leu Asp
13550 13555 13560

Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Ser Ile
13565 13570 13575

Thr Glu Leu Gly Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asp Ser Leu Tyr Val
13580 13585 13590

Asn Gly Phe Thr Gln Arg Ser Ser Val Pro Thr Thr Ser Ile Pro
13595 13600 13605

Gly Thr Pro Thr Val Asp Leu Gly Thr Ser Gly Thr Pro Val Ser
13610 13615 13620

Lys Pro Gly Pro Ser Ala Ala Ser Pro Leu Leu Val Leu Phe Thr
13625 13630 13635

Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Arg Tyr Glu Glu Asn Met Gln
13640 13645 13650

His Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr Glu Arg Val Leu Gln
13655 13660 13665

Gly Leu Leu Arg Ser Leu Phe Lys Ser Thr Ser Val Gly Pro Leu
13670 13675 13680

Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg Pro Glu Lys Asp Gly
13685 13690 13695

Thr Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr His His Pro Asp Pro
13700 13705 13710

Lys Ser Pro Arg Leu Asp Arg Glu Gln Leu Tyr Trp Glu Leu Ser
13715 13720 13725

Gln Leu Thr His Asn Ile Thr Glu Leu Gly Pro Tyr Ala Leu Asp
13730 13735 13740

Asn Asp Ser Leu Phe Val Asn Gly Phe Thr His Arg Ser Ser Val
13745 13750 13755

Ser Thr Thr Ser Thr Pro Gly Thr Pro Thr Val Tyr Leu Gly Ala
13760 13765 13770

Ser Lys Thr Pro Ala Ser Ile Phe Gly Pro Ser Ala Ala Ser His
13775 13780 13785

Leu Leu Ile Leu Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Thr Asn Leu Arg
13790 13795 13800

Tyr Glu Glu Asn Met Trp Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Thr Thr
13805 13810 13815

Glu Arg Val Leu Gln Gly Leu Leu Arg Pro Leu Phe Lys Asn Thr
13820 13825 13830

Ser Val Gly Pro Leu Tyr Ser Gly Cys Arg Leu Thr Leu Leu Arg
13835 13840 13845

Pro Glu Lys Asp Gly Glu Ala Thr Gly Val Asp Ala Ile Cys Thr
13850 13855 13860

His Arg Pro Asp Pro Thr Gly Pro Gly Leu Asp Arg Glu Gln Leu
13865 13870 13875

Tyr Leu Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Ser Ile Thr Glu Leu Gly
13880 13885 13890

Pro Tyr Thr Leu Asp Arg Asp Ser Leu Tyr Val Asn Gly Phe Thr
13895 13900 13905

His Arg Ser Ser Val Pro Thr Thr Ser Thr Gly Val Val Ser Glu
13910 13915 13920

Glu Pro Phe Thr Leu Asn Phe Thr Ile Asn Asn Leu Arg Tyr Met
13925 13930 13935

Ala Asp Met Gly Gln Pro Gly Ser Leu Lys Phe Asn Ile Thr Asp
13940 13945 13950

Asn Val Met Gln His Leu Leu Ser Pro Leu Phe Gln Arg Ser Ser
13955 13960 13965

Leu Gly Ala Arg Tyr Thr Gly Cys Arg Val Ile Ala Leu Arg Ser
13970 13975 13980

Val Lys Asn Gly Ala Glu Thr Arg Val Asp Leu Leu Cys Thr Tyr
13985 13990 13995

Leu Gln Pro Leu Ser Gly Pro Gly Leu Pro Ile Lys Gln Val Phe
14000 14005 14010

His Glu Leu Ser Gln Gln Thr His Gly Ile Thr Arg Leu Gly Pro
14015 14020 14025

Tyr Ser Leu Asp Lys Asp Ser Leu Tyr Leu Asn Gly Tyr Asn Glu
14030 14035 14040

Pro Gly Pro Asp Glu Pro Pro Thr Thr Pro Lys Pro Ala Thr Thr
14045 14050 14055

Phe Leu Pro Pro Leu Ser Glu Ala Thr Thr Ala Met Gly Tyr His
14060 14065 14070

Leu Lys Thr Leu Thr Leu Asn Phe Thr Ile Ser Asn Leu Gln Tyr
14075 14080 14085

Ser Pro Asp Met Gly Lys Gly Ser Ala Thr Phe Asn Ser Thr Glu
14090 14095 14100

Gly Val Leu Gln His Leu Leu Arg Pro Leu Phe Gln Lys Ser Ser
14105 14110 14115

Met Gly Pro Phe Tyr Leu Gly Cys Gln Leu Ile Ser Leu Arg Pro
14120 14125 14130

Glu Lys Asp Gly Ala Ala Thr Gly Val Asp Thr Thr Cys Thr Tyr
14135 14140 14145

His Pro Asp Pro Val Gly Pro Gly Leu Asp Ile Gln Gln Leu Tyr
14150 14155 14160

Trp Glu Leu Ser Gln Leu Thr His Gly Val Thr Gln Leu Gly Phe
14165 14170 14175

Tyr Val Leu Asp Arg Asp Ser Leu Phe Ile Asn Gly Tyr Ala Pro
14180 14185 14190

Gln Asn Leu Ser Ile Arg Gly Glu Tyr Gln Ile Asn Phe His Ile
14195 14200 14205

Val Asn Trp Asn Leu Ser Asn Pro Asp Pro Thr Ser Ser Glu Tyr
14210 14215 14220

Ile Thr Leu Leu Arg Asp Ile Gln Asp Lys Val Thr Thr Leu Tyr
14225 14230 14235

Lys Gly Ser Gln Leu His Asp Thr Phe Arg Phe Cys Leu Val Thr
14240 14245 14250

Asn Leu Thr Met Asp Ser Val Leu Val Thr Val Lys Ala Leu Phe
14255 14260 14265

Ser Ser Asn Leu Asp Pro Ser Leu Val Glu Gln Val Phe Leu Asp
14270 14275 14280

Lys Thr Leu Asn Ala Ser Phe His Trp Leu Gly Ser Thr Tyr Gln
14285 14290 14295

Leu Val Asp Ile His Val Thr Glu Met Glu Ser Ser Val Tyr Gln
14300 14305 14310

Pro Thr Ser Ser Ser Ser Thr Gln His Phe Tyr Leu Asn Phe Thr
14315 14320 14325

Ile Thr Asn Leu Pro Tyr Ser Gln Asp Lys Ala Gln Pro Gly Thr
14330 14335 14340

Thr Asn Tyr Gln Arg Asn Lys Arg Asn Ile Glu Asp Ala Leu Asn
14345 14350 14355

Gln Leu Phe Arg Asn Ser Ser Ile Lys Ser Tyr Phe Ser Asp Cys
14360 14365 14370

Gln Val Ser Thr Phe Arg Ser Val Pro Asn Arg His His Thr Gly
14375 14380 14385

Val Asp Ser Leu Cys Asn Phe Ser Pro Leu Ala Arg Arg Val Asp
14390 14395 14400

Arg Val Ala Ile Tyr Glu Glu Phe Leu Arg Met Thr Arg Asn Gly
14405 14410 14415

Thr Gln Leu Gln Asn Phe Thr Leu Asp Arg Ser Ser Val Leu Val
14420 14425 14430

Asp Gly Tyr Ser Pro Asn Arg Asn Glu Pro Leu Thr Gly Asn Ser
14435 14440 14445

Asp Leu Pro Phe Trp Ala Val Ile Leu Ile Gly Leu Ala Gly Leu
14450 14455 14460

Leu Gly Val Ile Thr Cys Leu Ile Cys Gly Val Leu Val Thr Thr
14465 14470 14475

Arg Arg Arg Lys Lys Glu Gly Glu Tyr Asn Val Gln Gln Gln Cys
14480 14485 14490

Pro Gly Tyr Tyr Gln Ser His Leu Asp Leu Glu Asp Leu Gln
14495 14500 14505

<210> 105
<211> 755
<212> PRT
<213> 智人

<400> 105
Met Ala Arg Lys Leu Ser Val Ile Leu Ile Leu Thr Phe Ala Leu Ser
1 5 10 15

Val Thr Asn Pro Leu His Glu Leu Lys Ala Ala Ala Phe Pro Gln Thr
20 25 30

Thr Glu Lys Ile Ser Pro Asn Trp Glu Ser Gly Ile Asn Val Asp Leu
35 40 45

Ala Ile Ser Thr Arg Gln Tyr His Leu Gln Gln Leu Phe Tyr Arg Tyr
50 55 60

Gly Glu Asn Asn Ser Leu Ser Val Glu Gly Phe Arg Lys Leu Leu Gln
65 70 75 80

Asn Ile Gly Ile Asp Lys Ile Lys Arg Ile His Ile His His Asp His
85 90 95

Asp His His Ser Asp His Glu His His Ser Asp His Glu Arg His Ser
100 105 110

Asp His Glu His His Ser Glu His Glu His His Ser Asp His Asp His
115 120 125

His Ser His His Asn His Ala Ala Ser Gly Lys Asn Lys Arg Lys Ala
130 135 140

Leu Cys Pro Asp His Asp Ser Asp Ser Ser Gly Lys Asp Pro Arg Asn
145 150 155 160

Ser Gln Gly Lys Gly Ala His Arg Pro Glu His Ala Ser Gly Arg Arg
165 170 175

Asn Val Lys Asp Ser Val Ser Ala Ser Glu Val Thr Ser Thr Val Tyr
180 185 190

Asn Thr Val Ser Glu Gly Thr His Phe Leu Glu Thr Ile Glu Thr Pro
195 200 205

Arg Pro Gly Lys Leu Phe Pro Lys Asp Val Ser Ser Ser Thr Pro Pro
210 215 220

Ser Val Thr Ser Lys Ser Arg Val Ser Arg Leu Ala Gly Arg Lys Thr
225 230 235 240

Asn Glu Ser Val Ser Glu Pro Arg Lys Gly Phe Met Tyr Ser Arg Asn
245 250 255

Thr Asn Glu Asn Pro Gln Glu Cys Phe Asn Ala Ser Lys Leu Leu Thr
260 265 270

Ser His Gly Met Gly Ile Gln Val Pro Leu Asn Ala Thr Glu Phe Asn
275 280 285

Tyr Leu Cys Pro Ala Ile Ile Asn Gln Ile Asp Ala Arg Ser Cys Leu
290 295 300

Ile His Thr Ser Glu Lys Lys Ala Glu Ile Pro Pro Lys Thr Tyr Ser
305 310 315 320

Leu Gln Ile Ala Trp Val Gly Gly Phe Ile Ala Ile Ser Ile Ile Ser
325 330 335

Phe Leu Ser Leu Leu Gly Val Ile Leu Val Pro Leu Met Asn Arg Val
340 345 350

Phe Phe Lys Phe Leu Leu Ser Phe Leu Val Ala Leu Ala Val Gly Thr
355 360 365

Leu Ser Gly Asp Ala Phe Leu His Leu Leu Pro His Ser His Ala Ser
370 375 380

His His His Ser His Ser His Glu Glu Pro Ala Met Glu Met Lys Arg
385 390 395 400

Gly Pro Leu Phe Ser His Leu Ser Ser Gln Asn Ile Glu Glu Ser Ala
405 410 415

Tyr Phe Asp Ser Thr Trp Lys Gly Leu Thr Ala Leu Gly Gly Leu Tyr
420 425 430

Phe Met Phe Leu Val Glu His Val Leu Thr Leu Ile Lys Gln Phe Lys
435 440 445

Asp Lys Lys Lys Lys Asn Gln Lys Lys Pro Glu Asn Asp Asp Asp Val
450 455 460

Glu Ile Lys Lys Gln Leu Ser Lys Tyr Glu Ser Gln Leu Ser Thr Asn
465 470 475 480

Glu Glu Lys Val Asp Thr Asp Asp Arg Thr Glu Gly Tyr Leu Arg Ala
485 490 495

Asp Ser Gln Glu Pro Ser His Phe Asp Ser Gln Gln Pro Ala Val Leu
500 505 510

Glu Glu Glu Glu Val Met Ile Ala His Ala His Pro Gln Glu Val Tyr
515 520 525

Asn Glu Tyr Val Pro Arg Gly Cys Lys Asn Lys Cys His Ser His Phe
530 535 540

His Asp Thr Leu Gly Gln Ser Asp Asp Leu Ile His His His His Asp
545 550 555 560

Tyr His His Ile Leu His His His His His Gln Asn His His Pro His
565 570 575

Ser His Ser Gln Arg Tyr Ser Arg Glu Glu Leu Lys Asp Ala Gly Val
580 585 590

Ala Thr Leu Ala Trp Met Val Ile Met Gly Asp Gly Leu His Asn Phe
595 600 605

Ser Asp Gly Leu Ala Ile Gly Ala Ala Phe Thr Glu Gly Leu Ser Ser
610 615 620

Gly Leu Ser Thr Ser Val Ala Val Phe Cys His Glu Leu Pro His Glu
625 630 635 640

Leu Gly Asp Phe Ala Val Leu Leu Lys Ala Gly Met Thr Val Lys Gln
645 650 655

Ala Val Leu Tyr Asn Ala Leu Ser Ala Met Leu Ala Tyr Leu Gly Met
660 665 670

Ala Thr Gly Ile Phe Ile Gly His Tyr Ala Glu Asn Val Ser Met Trp
675 680 685

Ile Phe Ala Leu Thr Ala Gly Leu Phe Met Tyr Val Ala Leu Val Asp
690 695 700

Met Val Pro Glu Met Leu His Asn Asp Ala Ser Asp His Gly Cys Ser
705 710 715 720

Arg Trp Gly Tyr Phe Phe Leu Gln Asn Ala Gly Met Leu Leu Gly Phe
725 730 735

Gly Ile Met Leu Leu Ile Ser Ile Phe Glu His Lys Ile Val Phe Arg
740 745 750

Ile Asn Phe
755

<210> 106
<211> 710
<212> PRT
<213> 智人

<400> 106
Met Gly Gly Lys Gln Arg Asp Glu Asp Asp Glu Ala Tyr Gly Lys Pro
1 5 10 15

Val Lys Tyr Asp Pro Ser Phe Arg Gly Pro Ile Lys Asn Arg Ser Cys
20 25 30

Thr Asp Val Ile Cys Cys Val Leu Phe Leu Leu Phe Ile Leu Gly Tyr
35 40 45

Ile Val Val Gly Ile Val Ala Trp Leu Tyr Gly Asp Pro Arg Gln Val
50 55 60

Leu Tyr Pro Arg Asn Ser Thr Gly Ala Tyr Cys Gly Met Gly Glu Asn
65 70 75 80

Lys Asp Lys Pro Tyr Leu Leu Tyr Phe Asn Ile Phe Ser Cys Ile Leu
85 90 95

Ser Ser Asn Ile Ile Ser Val Ala Glu Asn Gly Leu Gln Cys Pro Thr
100 105 110

Pro Gln Val Cys Val Ser Ser Cys Pro Glu Asp Pro Trp Thr Val Gly
115 120 125

Lys Asn Glu Phe Ser Gln Thr Val Gly Glu Val Phe Tyr Thr Lys Asn
130 135 140

```
Arg Asn Phe Cys Leu Pro Gly Val Pro Trp Asn Met Thr Val Ile Thr
145                 150                 155                 160

Ser Leu Gln Gln Glu Leu Cys Pro Ser Phe Leu Leu Pro Ser Ala Pro
                165                 170                 175

Ala Leu Gly Arg Cys Phe Pro Trp Thr Asn Val Thr Pro Pro Ala Leu
            180                 185                 190

Pro Gly Ile Thr Asn Asp Thr Thr Ile Gln Gln Gly Ile Ser Gly Leu
        195                 200                 205

Ile Asp Ser Leu Asn Ala Arg Asp Ile Ser Val Lys Ile Phe Glu Asp
    210                 215                 220

Phe Ala Gln Ser Trp Tyr Trp Ile Leu Val Ala Leu Gly Val Ala Leu
225                 230                 235                 240

Val Leu Ser Leu Leu Phe Ile Leu Leu Leu Arg Leu Val Ala Gly Pro
                245                 250                 255

Leu Val Leu Val Leu Ile Leu Gly Val Leu Gly Val Leu Ala Tyr Gly
            260                 265                 270

Ile Tyr Tyr Cys Trp Glu Glu Tyr Arg Val Leu Arg Asp Lys Gly Ala
        275                 280                 285

Ser Ile Ser Gln Leu Gly Phe Thr Thr Asn Leu Ser Ala Tyr Gln Ser
    290                 295                 300

Val Gln Glu Thr Trp Leu Ala Ala Leu Ile Val Leu Ala Val Leu Glu
305                 310                 315                 320

Ala Ile Leu Leu Leu Met Leu Ile Phe Leu Arg Gln Arg Ile Arg Ile
                325                 330                 335

Ala Ile Ala Leu Leu Lys Glu Ala Ser Lys Ala Val Gly Gln Met Met
            340                 345                 350
```

Ser Thr Met Phe Tyr Pro Leu Val Thr Phe Val Leu Leu Leu Ile Cys
355 360 365

Ile Ala Tyr Trp Ala Met Thr Ala Leu Tyr Leu Ala Thr Ser Gly Gln
370 375 380

Pro Gln Tyr Val Leu Trp Ala Ser Asn Ile Ser Ser Pro Gly Cys Glu
385 390 395 400

Lys Val Pro Ile Asn Thr Ser Cys Asn Pro Thr Ala His Leu Val Asn
405 410 415

Ser Ser Cys Pro Gly Leu Met Cys Val Phe Gln Gly Tyr Ser Ser Lys
420 425 430

Gly Leu Ile Gln Arg Ser Val Phe Asn Leu Gln Ile Tyr Gly Val Leu
435 440 445

Gly Leu Phe Trp Thr Leu Asn Trp Val Leu Ala Leu Gly Gln Cys Val
450 455 460

Leu Ala Gly Ala Phe Ala Ser Phe Tyr Trp Ala Phe His Lys Pro Gln
465 470 475 480

Asp Ile Pro Thr Phe Pro Leu Ile Ser Ala Phe Ile Arg Thr Leu Arg
485 490 495

Tyr His Thr Gly Ser Leu Ala Phe Gly Ala Leu Ile Leu Thr Leu Val
500 505 510

Gln Ile Ala Arg Val Ile Leu Glu Tyr Ile Asp His Lys Leu Arg Gly
515 520 525

Val Gln Asn Pro Val Ala Arg Cys Ile Met Cys Cys Phe Lys Cys Cys
530 535 540

Leu Trp Cys Leu Glu Lys Phe Ile Lys Phe Leu Asn Arg Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Ile Met Ile Ala Ile Tyr Gly Lys Asn Phe Cys Val Ser Ala Lys Asn
565 570 575

Ala Phe Met Leu Leu Met Arg Asn Ile Val Arg Val Val Val Leu Asp
580 585 590

Lys Val Thr Asp Leu Leu Leu Phe Phe Gly Lys Leu Leu Val Val Gly
595 600 605

Gly Val Gly Val Leu Ser Phe Phe Phe Phe Ser Gly Arg Ile Pro Gly
610 615 620

Leu Gly Lys Asp Phe Lys Ser Pro His Leu Asn Tyr Tyr Trp Leu Pro
625 630 635 640

Ile Met Thr Ser Ile Leu Gly Ala Tyr Val Ile Ala Ser Gly Phe Phe
645 650 655

Ser Val Phe Gly Met Cys Val Asp Thr Leu Phe Leu Cys Phe Leu Glu
660 665 670

Asp Leu Glu Arg Asn Asn Gly Ser Leu Asp Arg Pro Tyr Tyr Met Ser
675 680 685

Lys Ser Leu Leu Lys Ile Leu Gly Lys Lys Asn Glu Ala Pro Pro Asp
690 695 700

Asn Lys Lys Arg Lys Lys
705 710

<210> 107
<211> 339
<212> PRT
<213> 智人

<400> 107

```
Met Glu Ser Arg Lys Asp Ile Thr Asn Gln Glu Glu Leu Trp Lys Met
1               5                  10                  15

Lys Pro Arg Arg Asn Leu Glu Glu Asp Asp Tyr Leu His Lys Asp Thr
            20                  25                  30

Gly Glu Thr Ser Met Leu Lys Arg Pro Val Leu Leu His Leu His Gln
        35                  40                  45

Thr Ala His Ala Asp Glu Phe Asp Cys Pro Ser Glu Leu Gln His Thr
    50                  55                  60

Gln Glu Leu Phe Pro Gln Trp His Leu Pro Ile Lys Ile Ala Ala Ile
65                  70                  75                  80

Ile Ala Ser Leu Thr Phe Leu Tyr Thr Leu Leu Arg Glu Val Ile His
                85                  90                  95

Pro Leu Ala Thr Ser His Gln Gln Tyr Phe Tyr Lys Ile Pro Ile Leu
            100                 105                 110

Val Ile Asn Lys Val Leu Pro Met Val Ser Ile Thr Leu Leu Ala Leu
        115                 120                 125

Val Tyr Leu Pro Gly Val Ile Ala Ala Ile Val Gln Leu His Asn Gly
    130                 135                 140

Thr Lys Tyr Lys Lys Phe Pro His Trp Leu Asp Lys Trp Met Leu Thr
145                 150                 155                 160

Arg Lys Gln Phe Gly Leu Leu Ser Phe Phe Phe Ala Val Leu His Ala
                165                 170                 175

Ile Tyr Ser Leu Ser Tyr Pro Met Arg Arg Ser Tyr Arg Tyr Lys Leu
            180                 185                 190

Leu Asn Trp Ala Tyr Gln Gln Val Gln Gln Asn Lys Glu Asp Ala Trp
        195                 200                 205
```

Ile Glu His Asp Val Trp Arg Met Glu Ile Tyr Val Ser Leu Gly Ile
210 215 220

Val Gly Leu Ala Ile Leu Ala Leu Leu Ala Val Thr Ser Ile Pro Ser
225 230 235 240

Val Ser Asp Ser Leu Thr Trp Arg Glu Phe His Tyr Ile Gln Ser Lys
245 250 255

Leu Gly Ile Val Ser Leu Leu Leu Gly Thr Ile His Ala Leu Ile Phe
260 265 270

Ala Trp Asn Lys Trp Ile Asp Ile Lys Gln Phe Val Trp Tyr Thr Pro
275 280 285

Pro Thr Phe Met Ile Ala Val Phe Leu Pro Ile Val Val Leu Ile Phe
290 295 300

Lys Ser Ile Leu Phe Leu Pro Cys Leu Arg Lys Lys Ile Leu Lys Ile
305 310 315 320

Arg His Gly Trp Glu Asp Val Thr Lys Ile Asn Lys Thr Glu Ile Cys
325 330 335

Ser Gln Leu

<210> 108
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 108
actctcttcc gcatcgctgt 20

<210> 109
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 109
ccgacgggtt tccgatccaa 20

<210> 110
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成探針

<400> 110
ctgttgggct cgcggttg 18

<210> 111
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 111
tggcatcaga ttgcaaagac 20

<210> 112
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成引子

<400> 112
acgccgggtg atgtatctat 20

<210> 113
<211> 20

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成探針

<400> 113
cgaaacgcac ccgtcagacg 20

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種式(I)抗體-藥物結合物，

Ab-(L-H)$_p$　(I)

其中：

Ab為靶向贅生性細胞之抗體或抗原結合片段；

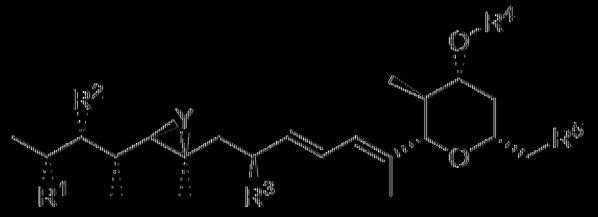
H為荷伯希二烯(herboxidiene)類接調節子；

L為將Ab共價連接至H之連接子；且

p為1至15之整數。

【請求項2】

如請求項1之抗體-藥物結合物，其中該荷伯希二烯類接調節子包含式(I)化合物：



(I)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

Y選自O、S、NR^6及CR^6R^7；

R^1、R^2及R^3各自獨立地選自氫、羥基、-O-(C_1-C_6烷基)、-O-C(=O)-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-O-(C_1-C_6烷基)及C_1-C_6烷基；

R^4選自氫、C_1-C_6烷基、-C(=O)-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-(C_3-C_8碳環基)、-C(=O)-(C_3-C_8雜環基)及-C(=O)-NR^6R^7；

R^5選自氫、羥基、CH_2-OH、CO_2H、-C(=O)-O-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-NR^6R^7、-NR^6-C(=O)-R^8、-O-C(=O)-NR^6R^7、-NR^6-C(=O)-

R^8及$NR^6C(=O)NR^6R^7$；

R^6及R^7各自獨立地選自氫、R^8、$C(=O)R^8$及$C(=O)OR^8$；且

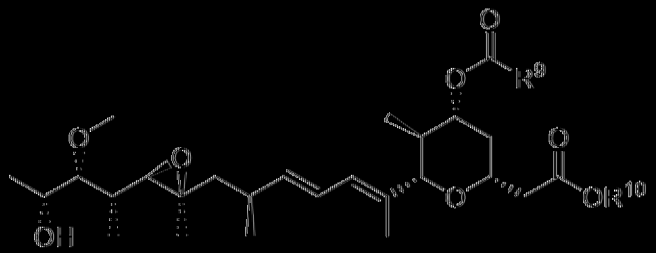
R^8選自C_1-C_6烷基、C_3-C_8碳環基及C_3-C_8雜環基，

其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、R^6、R^7及R^8各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_6烷基、$O(C_1$-C_6烷基)、CO_2H、$C(=O)(C_1$-C_6烷基)、$C(=O)(C_3$-C_8碳環基)、$C(=O)(C_3$-C_8雜環基)、NR^6R^7、C_3-C_8碳環基、C_1-C_6烷基羥基、C_1-C_6烷基烷氧基、苄基及C_3-C_8雜環基，其中之各者可獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、C_1-C_3鹵烷基、$NHC(=O)(C_1$-C_3烷基)及$NHC(=O)O(C_1$-C_3烷基)，且

其中共價連接至L之原子之價數未超出。

[請求項3]

如請求項1或請求項2之抗體-藥物結合物，其中該荷伯希烯酶接調節子包含式(Ia)化合物：



(Ia)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

R^9選自C_3-C_8雜環基；

R^{10}選自H及C_1-C_6烷基，

其中R^9及R^{10}各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、NH_2、$NH(C_1$-C_3烷基)及$N(C_1$-C_3烷基)$_2$，且

其中共價連接至L之原子之價數未超出。

[請求項4]

如請求項1至3中任一項之抗體-藥物結合物，其中該荷伯希二烯勇接調節子包含式(Ib)化合物：  (Ib)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

R^{11}選自  ，其中*指示R^{11}與該化合物之其餘部分之連接點；

R^{12}及R^{13}各自獨立地選自H及甲基；且

其中共價連接至L之原子之價數未超出。

[請求項5]

如請求項1至4中任一項之抗體-藥物結合物，

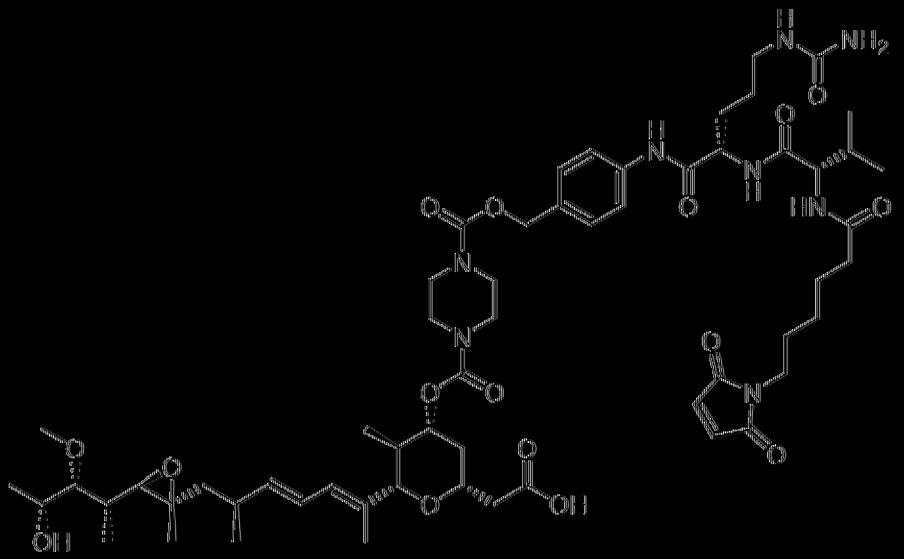
其中該荷伯希二烯勇接調節子經由任何原子共價連接至L

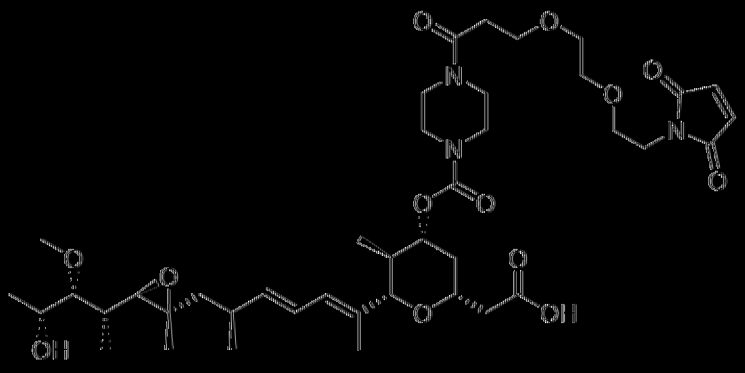
其中該荷伯希二烯勇接調節子選自H1、H2、H3及H12；且

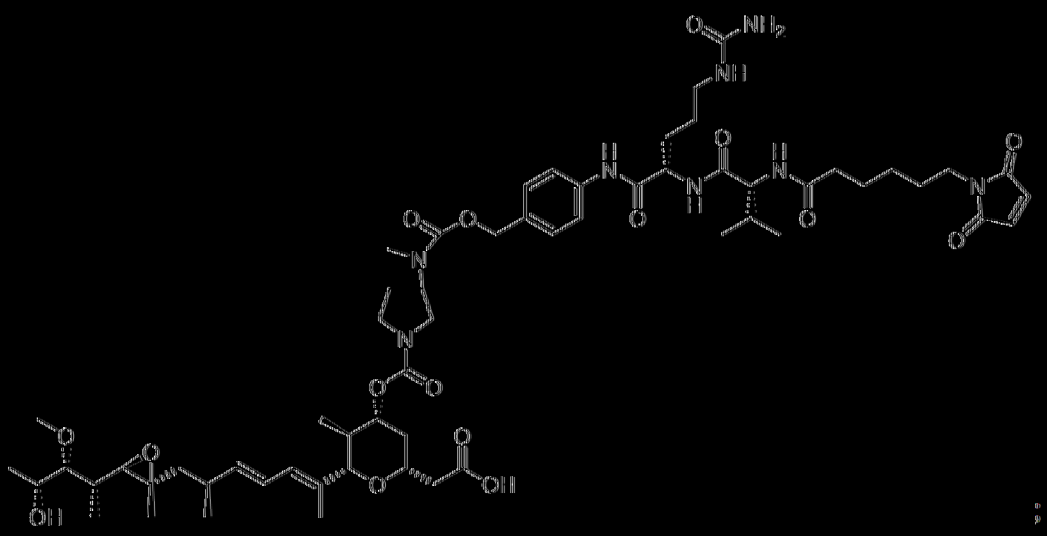
其中共價連接至L之原子之價數未超出。

[請求項6]

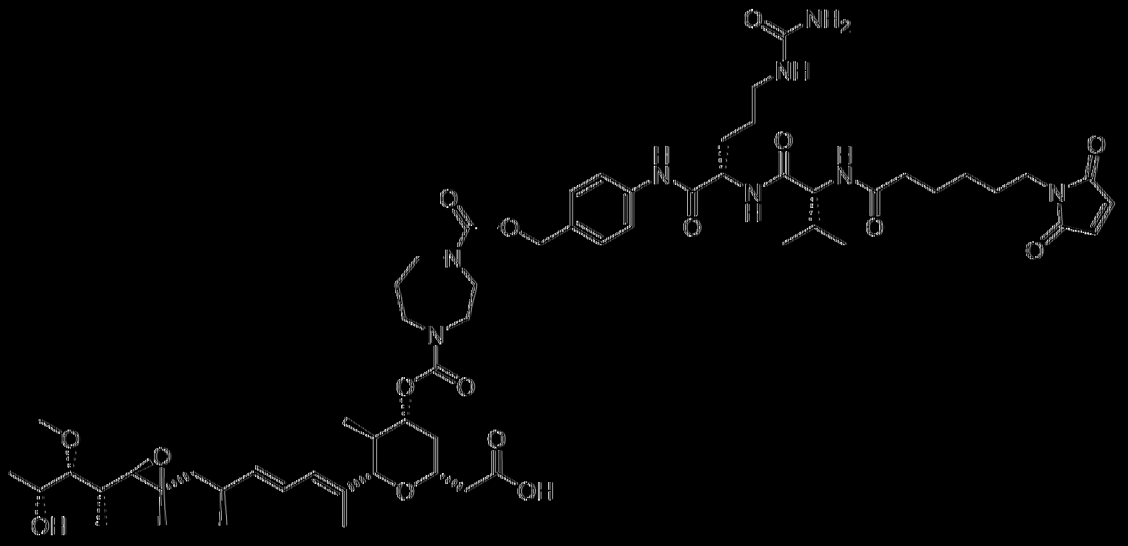
如請求項1或請求項2之抗體-藥物結合物，其中L共價連接至該荷伯希二烯勇接調節子(「L-H」)，且L-H具有選自以下結構之結構：







；

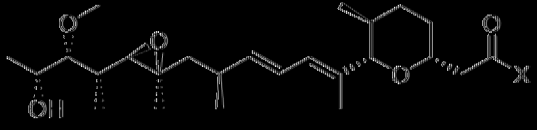


，

及其醫藥學上可接受之鹽。

[請求項7]

如請求項1之抗體-藥物結合物，其中該荷伯希烯偶接調節子為式(II)偶接調節子：



(II)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

X為羥基或NR^6R^7；

R^6及R^7各自獨立地選自氫、R^8、$C(=O)R^8$、$C(=O)OR^8$、$(C_1-C_6$烷基$)OC(=O)R^8$及$(C_1-C_6$烷基$)NHC(=O)R^8$；且

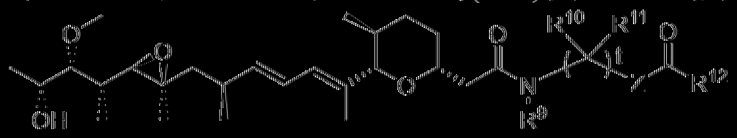
R^8選自C_1-C_6烷基、C_3-C_8碳環基及C_3-C_8雜環基，

其中R^6、R^7及R^8各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_6烷基、-O-(C_1-C_6烷基)、$-CO_2H$、-C(=O)-O-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-(C_3-C_8碳環基)、-C(=O)-(C_3-C_8雜環基)、$-NR^6R^7$、C_3-C_8碳環基、C_1-C_6烷基羥基、C_1-C_6烷基烷氧基、下基及C_3-C_8雜環基，其中之各者可獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、C_1-C_3鹵烷基、-NH-C(=O)-(C_1-C_3烷基)及-NH-C(=O)-O-(C_1-C_3烷基)，且

其中共價連接至L之原子之價數未超出。

[請求項8]

如請求項1或請求項7之抗體-藥物結合物，其中該荷伯希烯剪接調節子為式(IIa)剪接調節子：



(IIa)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：

Z_1選自NR^9及O；

R^9選自氫及C_1-C_6烷基；

R^{10}及R^{11}各自獨立地選自氫、鹵素、羥基、C_1-C_6烷基、-O-(C_1-C_6烷基)、$-CO_2H$、-C(=O)-O-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-(C_3-C_8碳環基)、-C(=O)-(C_3-C_8雜環基)、C_3-C_8碳環基、C_1-C_6烷基羥基、C_1-C_6烷基烷氧基、下基及C_3-C_8雜環基；

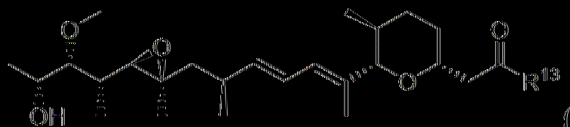
R^{12}選自C_1-C_6烷基、C_3-C_8碳環基、C_3-C_8雜環基，

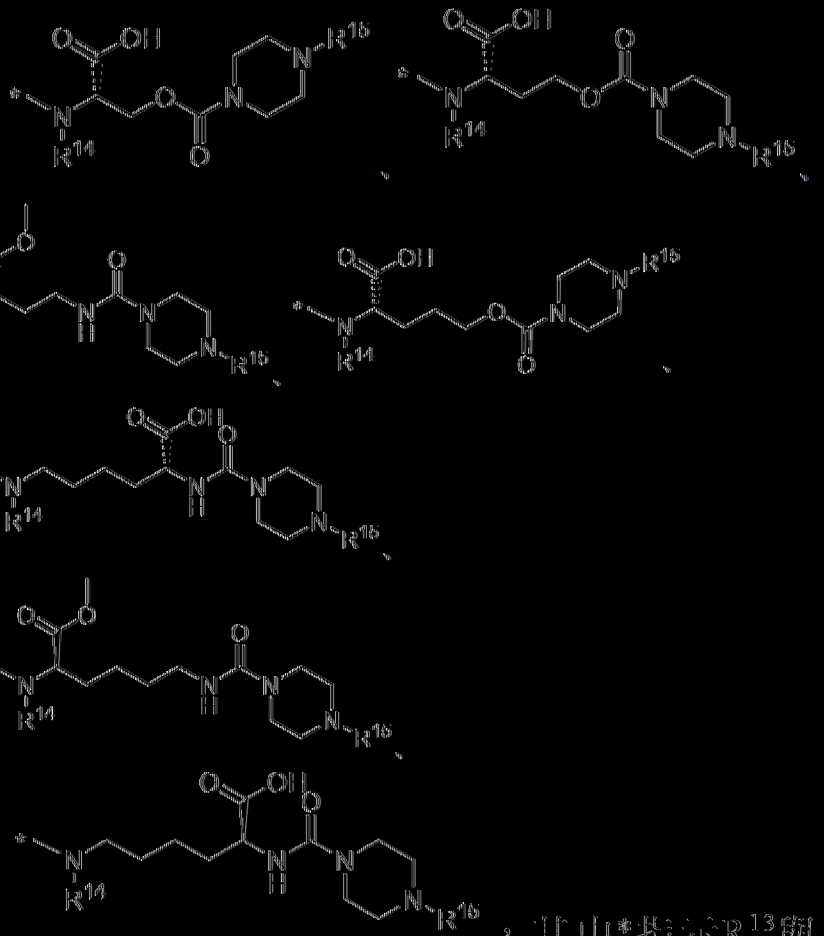
其中R^9、R^{10}、R^{11}及R^{12}各自獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基及C_1-C_3鹵烷基；

t為選自1、2、3、4、5及6之整數；且

其中共價連接至L之原子之價數未超出。

[(請求項9)]

如請求項1、7或8之抗體-藥物結合物，其中該荷伯希烯剪接調節子為式(IIb)剪接調節子：  (IIb)，或其醫藥學上可接受之鹽，其經由任何原子共價連接至L，其中：



R^{13}選自

及，其中*指示R^{13}與該化合物之其餘部分之連接點；

R^{14}及R^{15}各自獨立地選自氫及甲基；且

其中共價連接至L之原子之價數未超出。

【請求項10】

如請求項1、7、8或9之抗體-藥物結合物，

其中該荷伯希二烯剪接調節子經由任何原子共價連接至L；

其中該荷伯希二烯剪接調節子選自H4、H13、H14、H15、H16、H17、H18、H19、H20、H21、H23及H24；且

其中共價連接至L之原子之價數未超出。

(發明圖式)

圖 3

9 5 6 2 7 3 8 2 7
無效參數 , eV
(C,C) 圖
(0.10) %測入

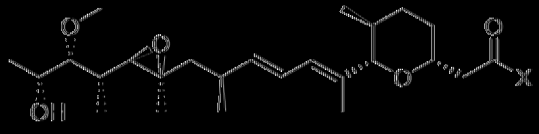
9 5 6 24 13 20 8 22 7
無效物質濃度
【圖式】
(0.1C) %濃久

9,556,243,228,217
7,232,571
7,232,571

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種共接調節子，其為下式：



(II)，或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

X為NR^6R^7；

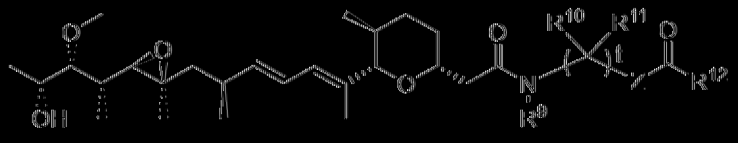
R^6及R^7各自獨立地選自氫、R^8、$C(=O)R^8$、$C(=O)OR^8$、$(C_1\text{-}C_6\text{烷基})OC(=O)R^8$及$(C_1\text{-}C_6\text{烷基})NHC(=O)R^8$；且

R^8選自$C_1\text{-}C_6$烷基、$C_3\text{-}C_8$碳環基及$C_3\text{-}C_8$雜環基，

其中R^6、R^7及R^8各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、$C_1\text{-}C_6$烷基、$O(C_1\text{-}C_6\text{烷基})$、$CO_2H$、$C(=O)O(C_1\text{-}C_6\text{烷基})$、$C(=O)(C_1\text{-}C_6\text{烷基})$、$C(=O)(C_3\text{-}C_8\text{碳環基})$、$C(=O)(C_3\text{-}C_8\text{雜環基})$、$C_3\text{-}C_8$碳環基、$C_1\text{-}C_6$烷基羥基、$C_1\text{-}C_6$烷基烷氧基、下基及$C_3\text{-}C_8$雜環基，其中之各者可獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、$C_1\text{-}C_3$烷基、$C_1\text{-}C_3$烷氧基、$C_1\text{-}C_3$鹵烷基、$NHC(=O)(C_1\text{-}C_3\text{烷基})$及$NHC(=O)O(C_1\text{-}C_3\text{烷基})$。

【請求項2】

如請求項1之共接調節子，其中該共接調節子為下式：



(IIa)，或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

Z選自NR^9及O；

R^9選自氫及$C_1\text{-}C_6$烷基；

R^{10}及R^{11}各自獨立地選自氫、鹵素、羥基、C_1-C_6烷基、-O-(C_1-C_6烷基)、$-CO_2H$、-C(=O)-O-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-(C_1-C_6烷基)、-C(=O)-(C_3-C_8碳環基)、-C(=O)-(C_3-C_8雜環基)、C_3-C_8碳環基、C_1-C_6烷基羥基、C_1-C_6烷基烷氧基、下基及C_3-C_8雜環基；

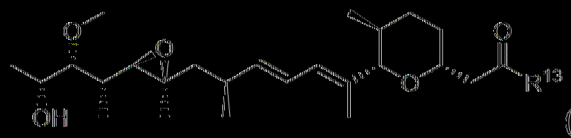
R^{12}選自C_1-C_6烷基、C_3-C_8碳環基、C_3-C_8雜環基，

其中R^9、R^{10}、R^{11}及R^{12}各自獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基及C_1-C_3鹵烷基；且

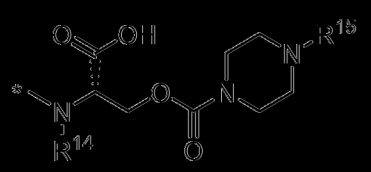
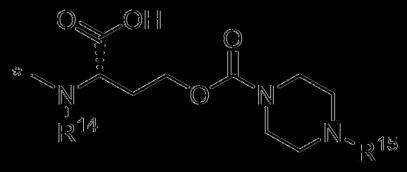
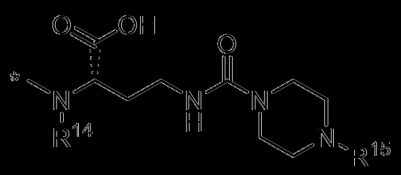
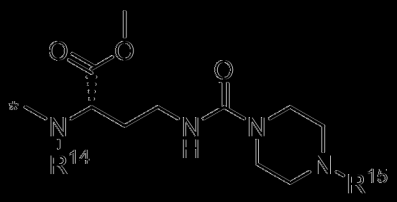
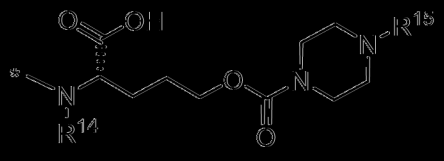
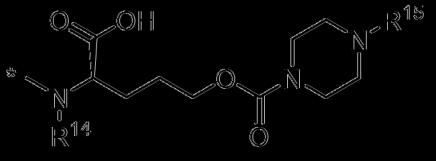
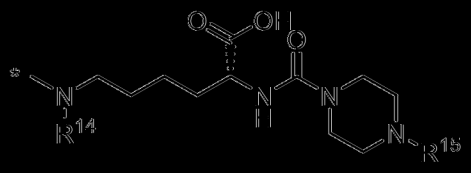
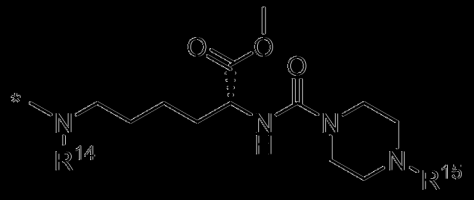
t為選自1、2、3、4、5及6之整數。

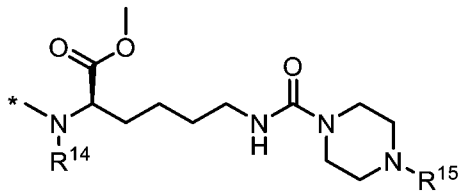
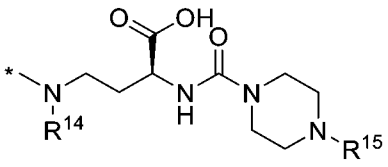
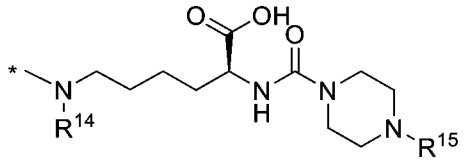
[請求項3]

如請求項1之剪接調節子，其中該剪接調節子為下式：



(IIb)，或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

R^{13}選自  、  、  、  、  、  、  、  、

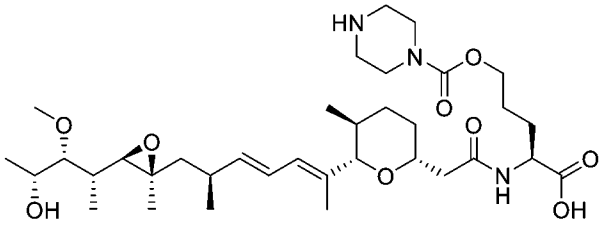

、

及

，其中*指示R^{13}與該化合物之其餘部分之連接點；且

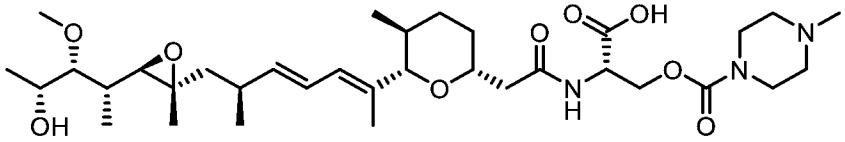
R^{14}及R^{15}各自獨立地選自氫及甲基。

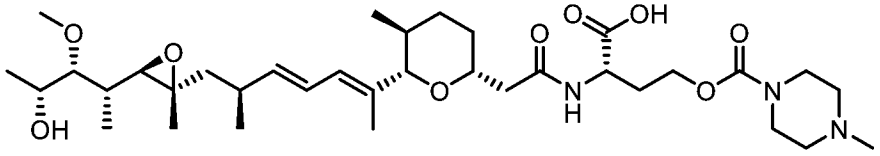
【請求項4】

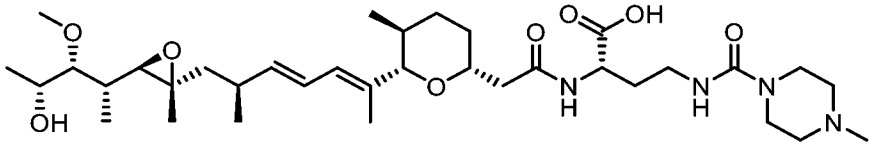
如請求項1之剪接調節子，

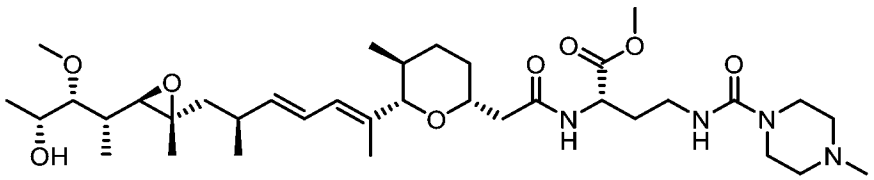
其中該剪接調節子選自：

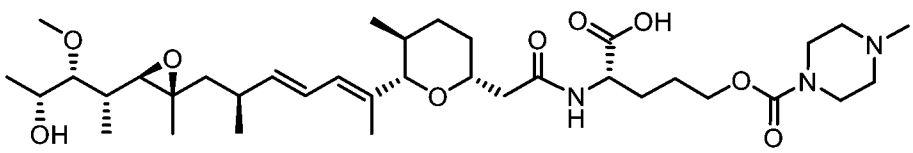

(H4)、

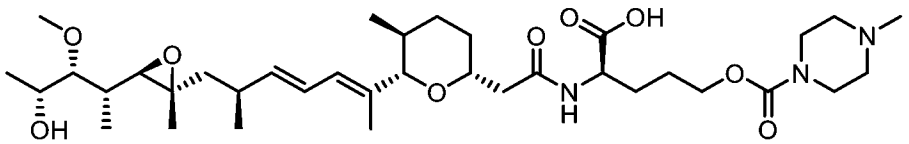

(H13)、


(H14)、

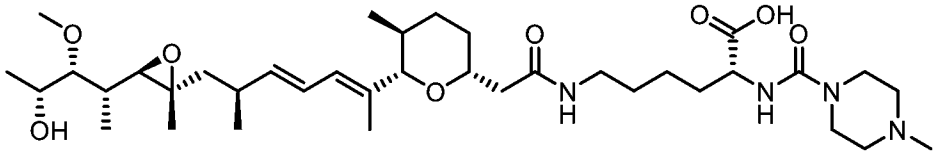

(H15)、


(H16)、

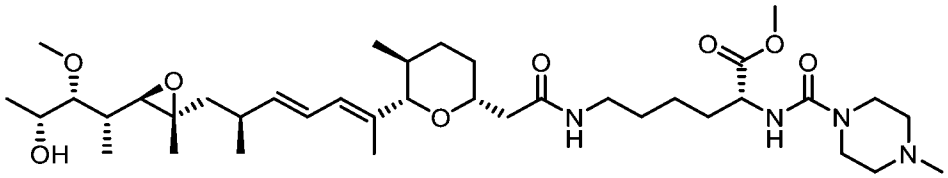

(H17)、



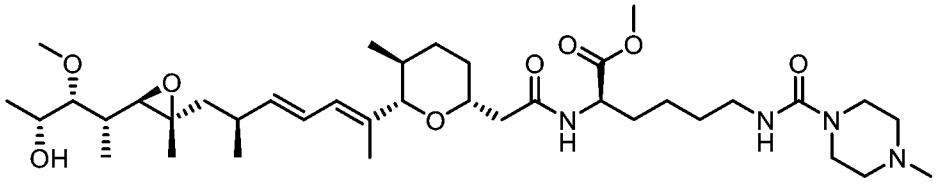
(H18)、



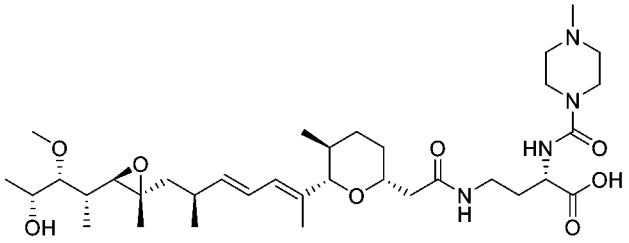
(H19)、



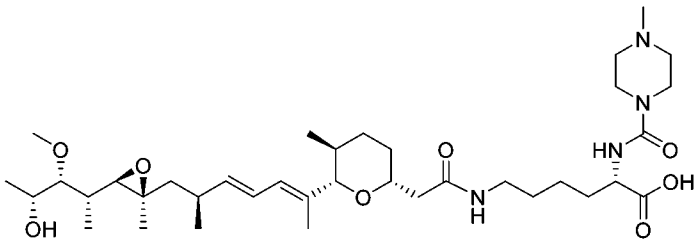
(H20)、



(H21)、



(H23)、



(H24)及其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項5】

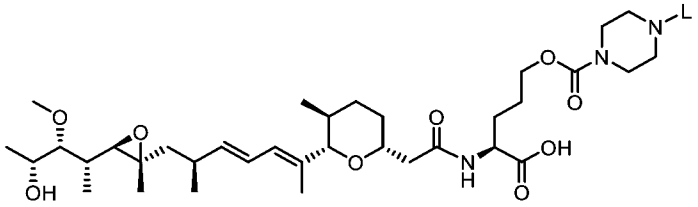
一種化合物或其醫藥學上可接受之鹽，該化合物包含式L-H之連接子-剪接調節子，其中L為連接子，且其中H為如請求項1之剪接調節子。

【請求項6】

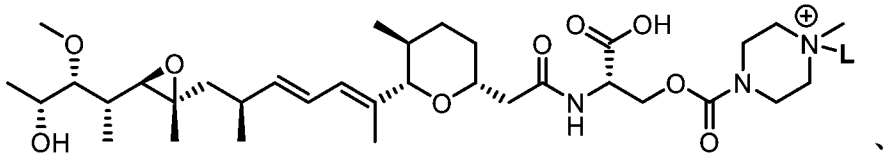
如請求項5之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中H經由任何原子共價連接至L，且共價連接至L之原子之價數未超出。

【請求項7】

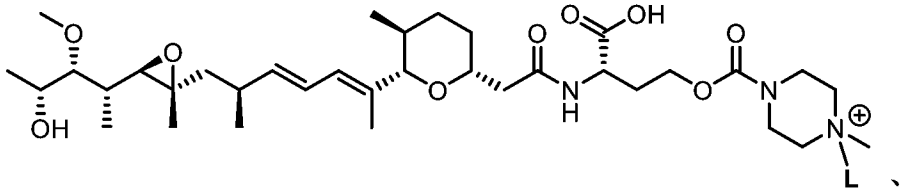
如請求項5之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其係選自



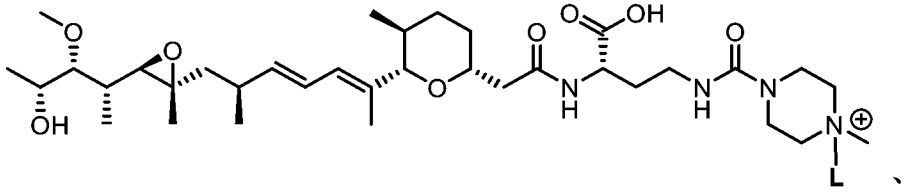
、



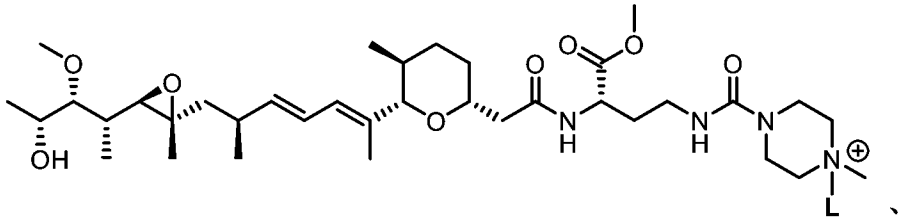
、



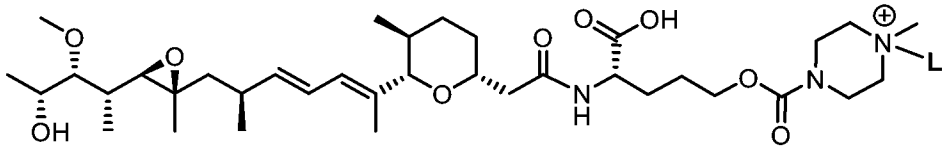
、



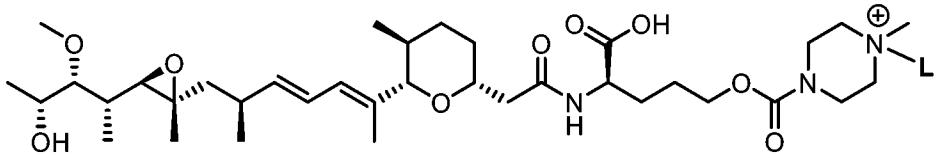
、



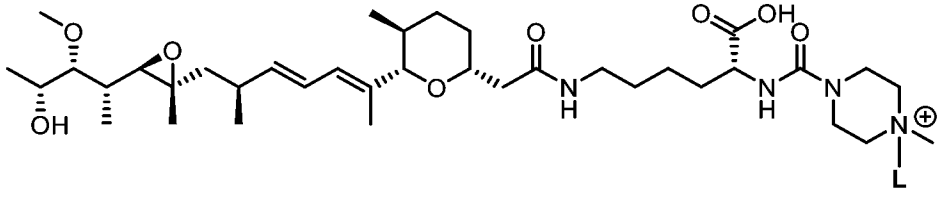
、



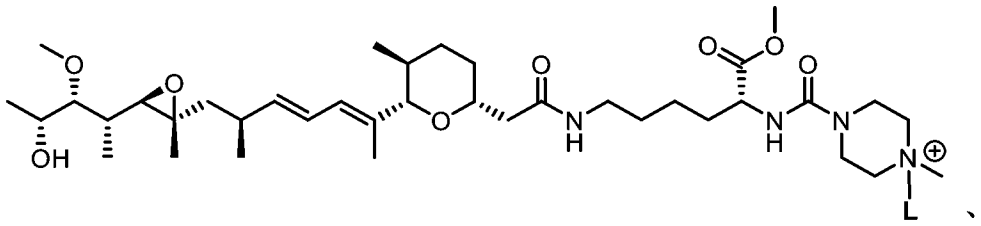
、

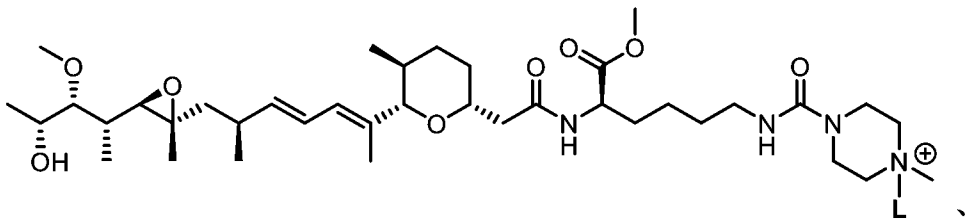


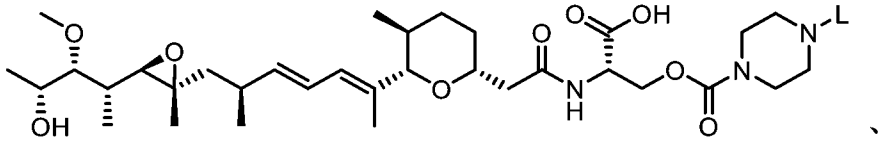
、

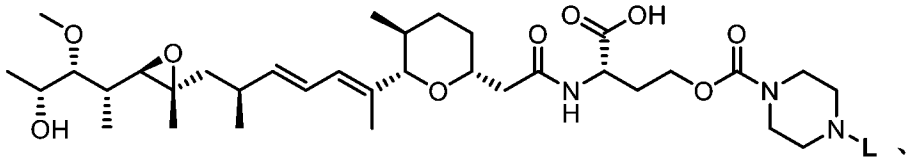


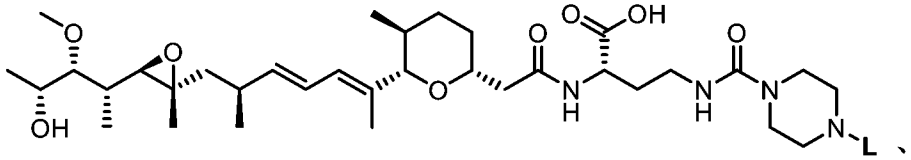
、

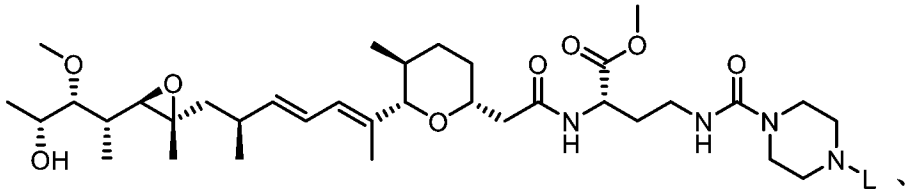


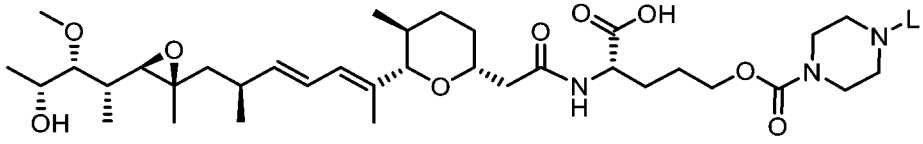


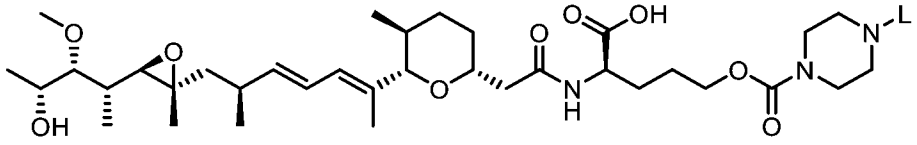


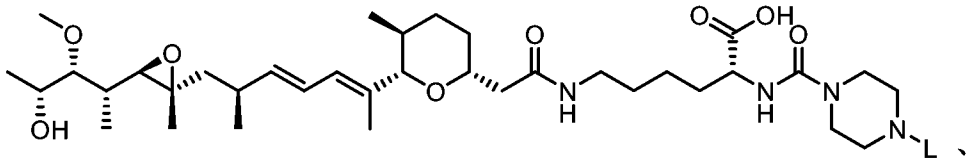


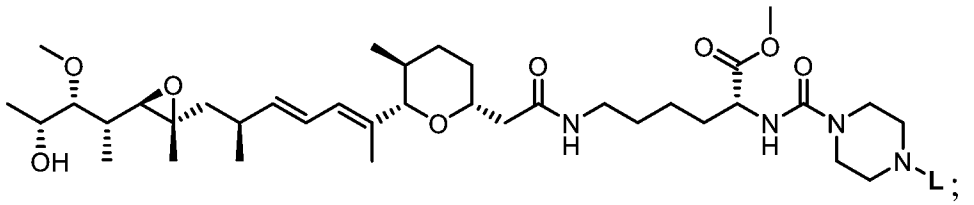


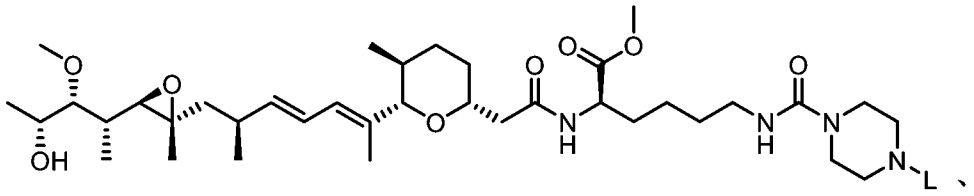


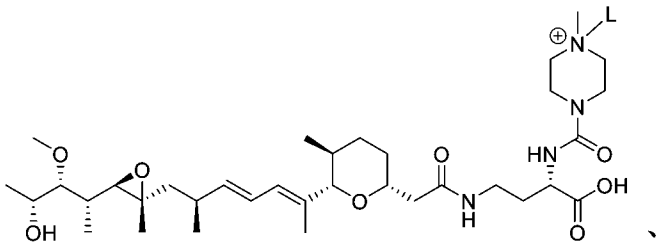


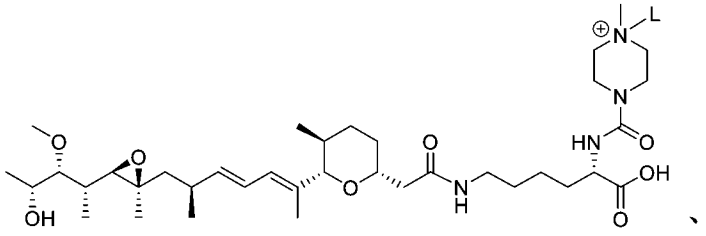


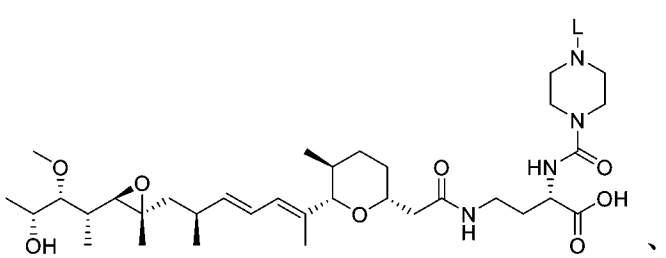
 、

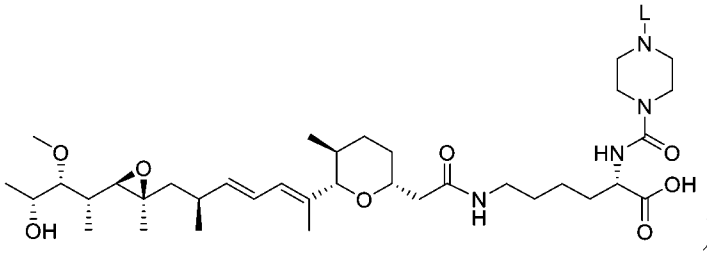
 ；

 、

 、

 、

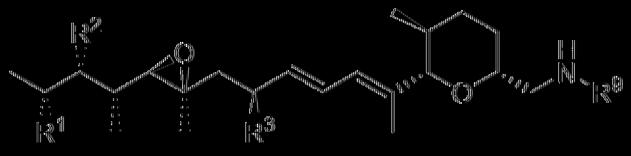
 、

 及

其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項8】

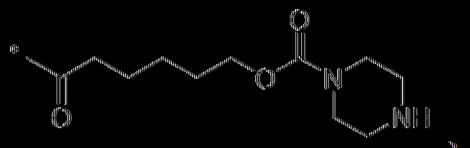
一種黃接調節子，其為下式：



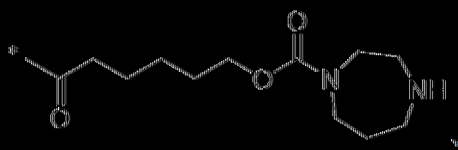
(III)，或其醫藥學上可接受之鹽，其中：

R^1、R^2及R^3各自獨立地選自氫、羥基、-O-(C1-C6烷基)、-O-C(=O)-(C1-C6烷基)、-C(=O)-O-(C1-C6烷基)及C1-C6烷基；

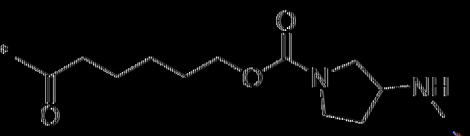
R^9選自：



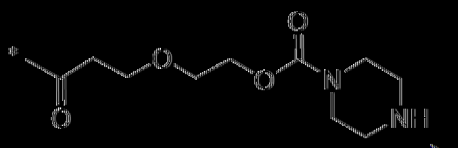
、



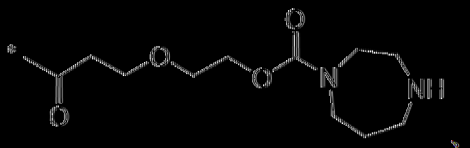
、



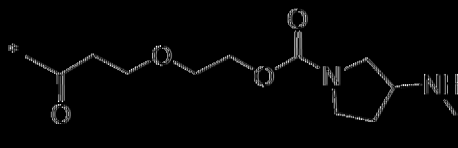
、



、



、



、



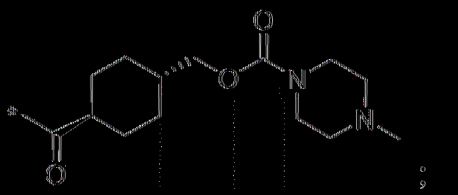
、



、



及



；

其中R^1、R^2及R^3各自獨立地經0至3個獨立地選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C1-C6烷基、-O-(C1-C6烷基)、CO_2H、-C(=O)-(C1-C6烷基)、-C(=O)-(C3-C8碳環基)、-C(=O)-(C3-C8雜環基)、NR^6R^7、C3-C8碳

環基、C_1-C_6烷基羥基、C_1-C_6烷基烷氧基、苄基及C_3-C_8雜環基，其中之各者可獨立地經0或1個選自以下之基團取代：鹵素、羥基、C_1-C_3烷基、C_1-C_3烷氧基、C_1-C_3鹵烷基、-NH-C(=O)(C_1-C_3烷基)及-NH-C(=O)-O-(C_1-C_3烷基)；

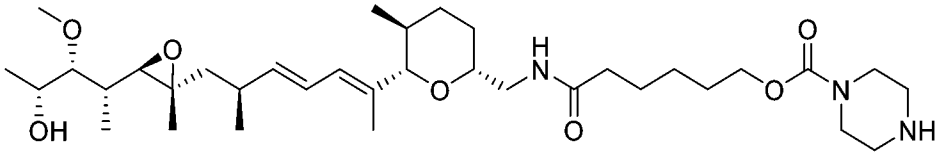
R^6及R^7各自獨立地選自氫、-R^8、-C(=O)-R^8及-C(=O)-O-R^8；

R^8選自C_1-C_6烷基、C_3-C_8碳環基及C_3-C_8雜環基；且

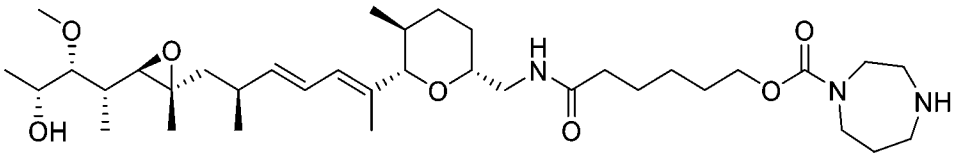
其中*指示R^9與該化合物之其餘部分之連接點。

【請求項9】

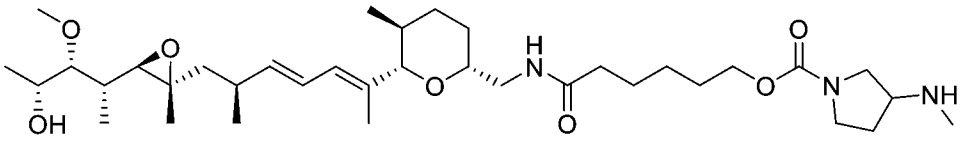
如請求項8之剪接調節子，其中該剪接調節子選自：



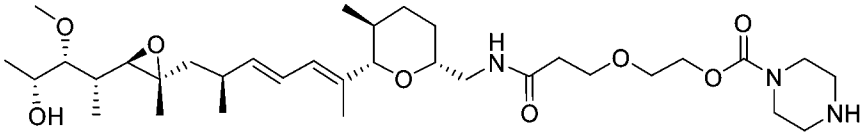
(H5)、



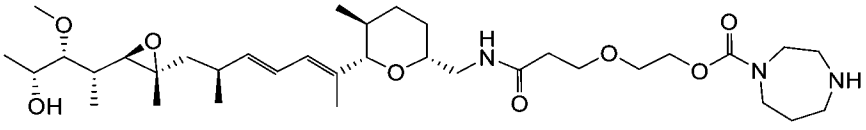
(H6)、



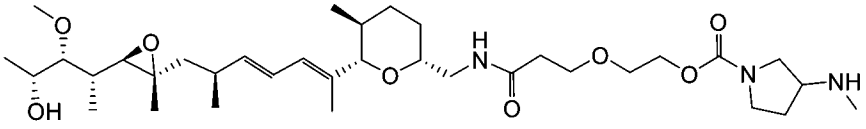
(H7)、



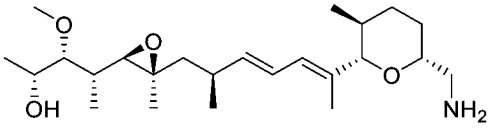
(H8)、



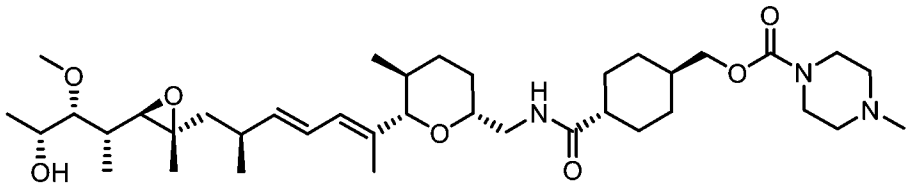
(H9)、



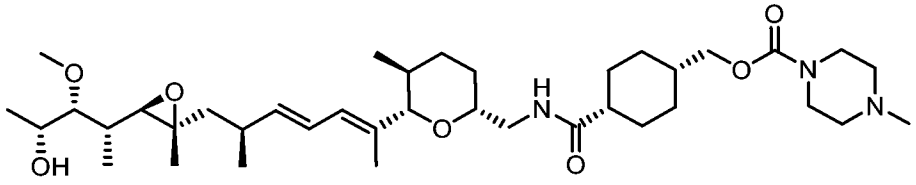
(H10)、



(H11)、



(H22)、



(H25)及其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項10】

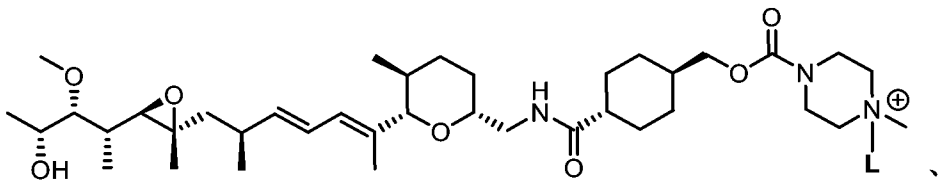
一種化合物或其醫藥學上可接受之鹽，該化合物包含式L-H之連接子-剪接調節子，其中L為連接子，且其中H為如請求項8之剪接調節子。

【請求項11】

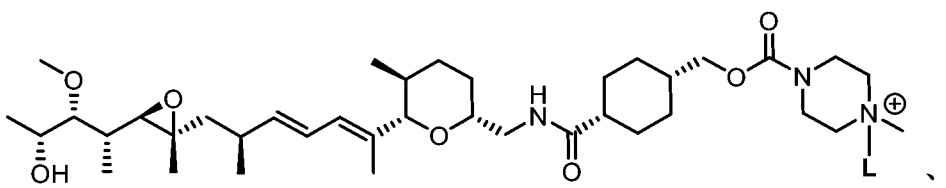
如請求項10之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中H經由任何原子共價連接至L，且共價連接至L之原子之價數未超出。

【請求項12】

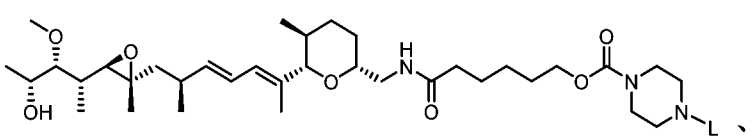
如請求項10之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其係選自



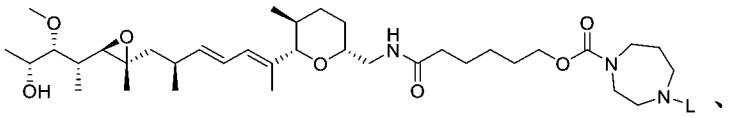
、

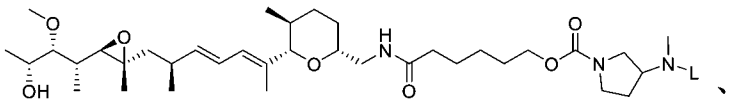


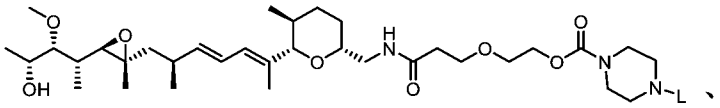
、

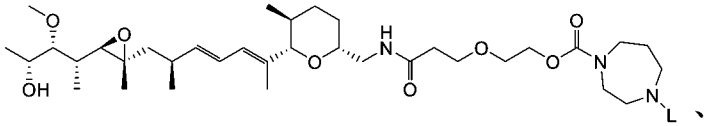


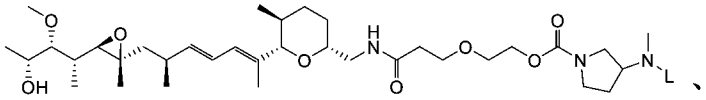
、

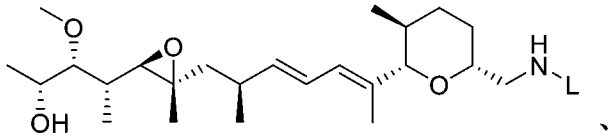
 、

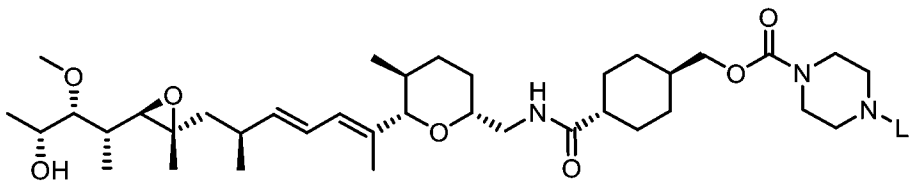
 、

 、

 、

 、

 、

 及

其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項13】

如請求項5至7及10至12中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該連接子L為包含可裂解部分之可裂解連接子。

【請求項14】

如請求項13之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該可裂解部分包含可裂解肽部分。

【請求項15】

如請求項14之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該可裂解肽部

分包含纈胺酸-瓜胺酸(Val-Cit)、纈胺酸-丙胺酸(Val-Ala)、麩醯胺酸-纈胺酸-瓜胺酸(Glu-Val-Cit)或丙胺酸-丙胺酸-天冬醯胺酸(Ala-Ala-Asn)。

【請求項16】

如請求項10之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該可裂解肽部分包含可裂解葡萄糖醛酸部分。

【請求項17】

如請求項13之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該連接子L包含至少一個間隔子單元，其中該至少一個間隔子單元包含：

(i) 聚乙二醇(PEG)部分，其中該PEG部分包含-$(PEG)_m$-且m為1至10之整數；或

(ii) 烷基部分，其中該烷基部分包含-$(CH_2)_n$-且n為1至10之整數。

【請求項18】

如請求項13之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該連接子L包含順丁烯二醯亞胺(Mal)部分。

【請求項19】

如請求項18之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該Mal部分連接至Val-Cit、Val-Ala、Glu-Val-Cit或Ala-Ala-Asn。

【請求項20】

如請求項17之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該至少一個間隔子單元連接至Mal部分（Mal-間隔子單元）。

【請求項21】

如請求項20之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該Mal-間隔子

單元連接至該連接子L中之可裂解部分。

【請求項22】

如請求項21之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該Mal-間隔子單元包含順丁烯二醯亞胺基己醯基(MC)部分。

【請求項23】

如請求項22之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該連接子L包含MC-Val-Cit、MC-Val-Ala、MC-Glu-Val-Cit或MC-Ala-Ala-Asn。

【請求項24】

如請求項20之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該Mal-間隔子單元與抗體或抗原結合片段上之之半胱胺酸殘基反應。

【請求項25】

如請求項13之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該連接子L中之可裂解部分直接地連接至該剪接調節子H。

【請求項26】

如請求項13之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中間隔子單元將該連接子L中之該可裂解部分連接至該剪接調節子H。

【請求項27】

如請求項26之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中將該可裂解部分連接至該剪接調節子H之該間隔子單元係自我分解型。

【請求項28】

如請求項26之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中將該可裂解部分連接至該剪接調節子H之該間隔子單元包含對胺基苯甲基(pAB)或對胺

基苯甲氧基羰基(pABC)。

【請求項29】

如請求項28之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該連接子L包含Val-Cit-pAB、Val-Ala-pAB、Glu-Val-Cit-pAB、Ala-Ala-Asn-pAB、Val-Cit-pABC、Val-Ala-pABC、Glu-Val-Cit-pABC或Ala-Ala-Asn-pABC。

【請求項30】

如請求項28之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該連接子L包含MC-Val-Cit-pAB、MC-Val-Ala-pAB、MC-Glu-Val-Cit-pAB、MC-Ala-Ala-Asn-pAB、MC-Val-Cit-pABC、MC-Val-Ala-pABC、MC-Glu-Val-Cit-pABC或MC-Ala-Ala-Asn-pABC。

【請求項31】

如請求項5至7中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該連接子為不可裂解連接子。

【請求項32】

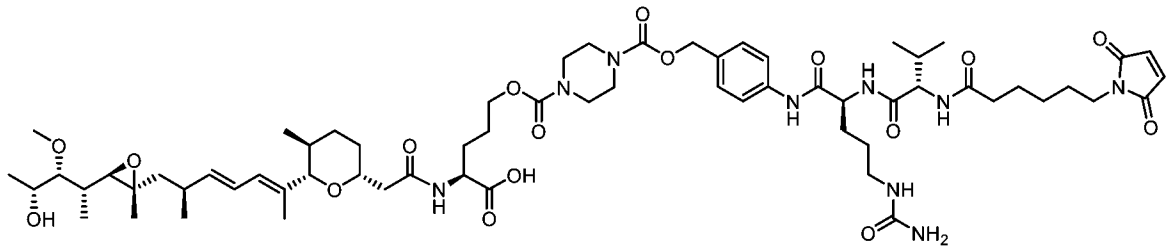
如請求項31之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該連接子L包含Mal-間隔子單元。

【請求項33】

如請求項32之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其中該Mal-間隔子單元包含Mal-$(PEG)_2$、Mal-Hex、Mal-Et、Mal-Et-O-Et或Mal $(PEG)_2$-CO。

【請求項34】

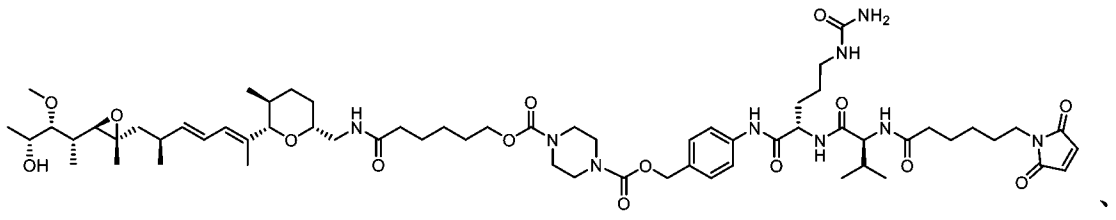
如請求項5之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其係選自：



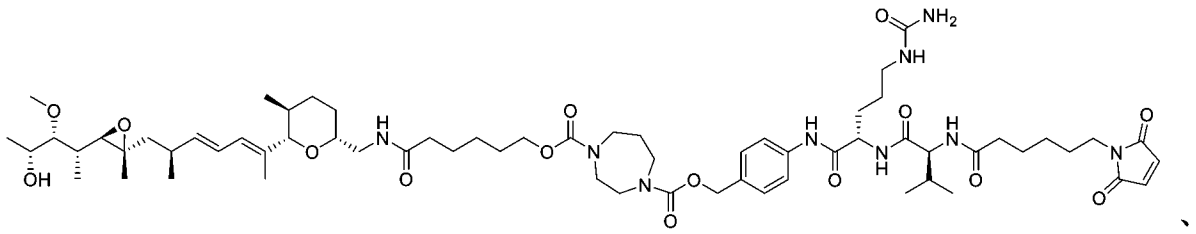
及其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項35】

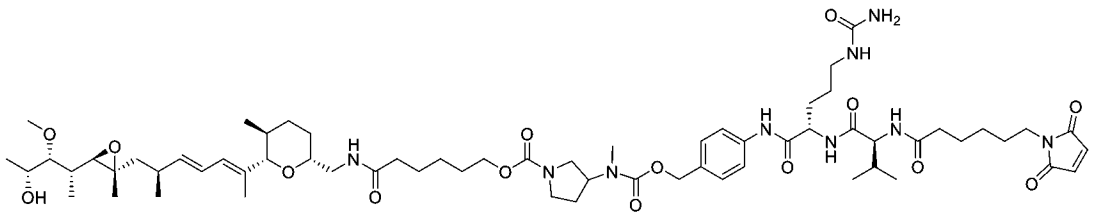
如請求項10之化合物或其醫藥學上可接受之鹽，其係選自：



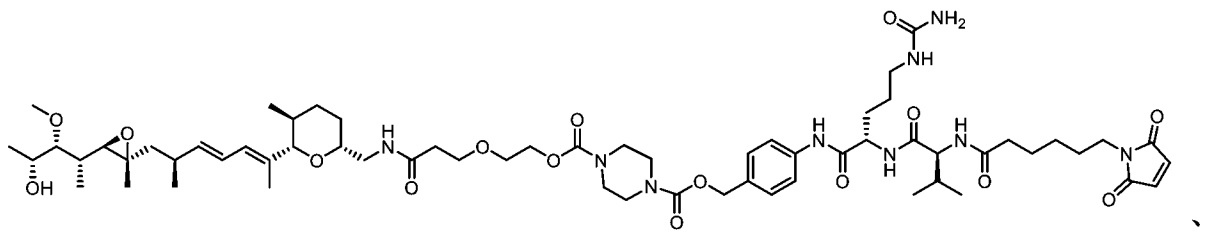
、



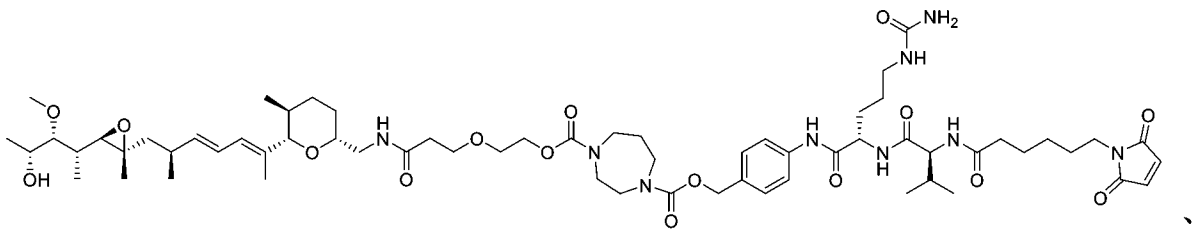
、



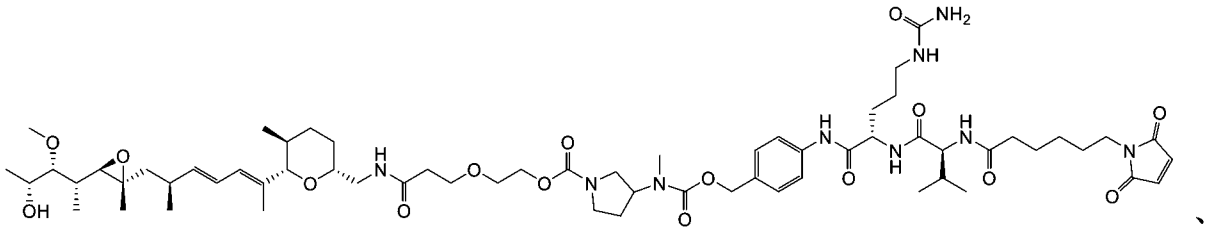
、



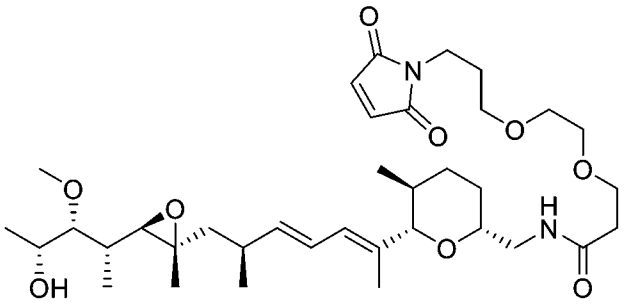
、



、



、



及其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項36】

一種式(I)抗體-藥物結合物，

$Ab-(L-H)_p$ (I)

其中：

Ab為靶向贅生性細胞之抗體或抗原結合片段；

L-H包含如請求項5至7及10至35中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之鹽；且

*p*為1至15之整數。

【請求項37】

如請求項36之抗體-藥物結合物，其中該贅生性細胞係衍生自：

(i) 血液惡性病，其選自B細胞惡性病、白血病、淋巴瘤及骨髓瘤；或

(ii) 實體腫瘤，其選自乳癌、胃癌、前列腺癌、卵巢癌、肺癌、子宮癌、唾腺管癌、黑色素瘤、大腸癌、子宮頸癌、胰臟癌、腎癌、及食道癌。

【請求項38】

如請求項36之抗體-藥物結合物，其中贅生性細胞係衍生自：

(i) 血液惡性病其選自急性骨髓性白血病及多發性骨髓瘤；或

(ii) 實體腫瘤，其係大腸癌。

【請求項39】

如請求項36之抗體-藥物結合物，其中贅生性細胞係：

(i) HER2表現性細胞，其中該抗體或抗原結合片段係抗HER2抗體或抗原結合片段，及/或其中該抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:1 (HCDR1)、SEQ ID NO:2 (HCDR2)及SEQ ID NO:3 (HCDR3)之胺基酸序列之三個重鏈互補決定區(HCDR1、HCDR2及HCDR3)； 及 包 含SEQ ID NO:4 (LCDR1)、SEQ ID NO:5 (LCDR2)及SEQ ID NO:6 (LCDR3)之胺基酸序列之三個輕鏈互補決定區(LCDR1、LCDR2及LCDR3)；或其中該抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:19之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:20之胺基酸序列之輕鏈可變區；

(ii) CD138表現性細胞，其中該抗體或抗原結合片段係抗CD138抗體或抗原結合片段，及/或其中該抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:7 (HCDR1)、SEQ ID NO:8 (HCDR2)

及SEQ ID NO:9 (HCDR3)之胺基酸序列之三個重鏈互補決定區(HCDR1、HCDR2及HCDR3)；及包含SEQ ID NO:10 (LCDR1)、SEQ ID NO:11 (LCDR2)及SEQ ID NO:12 (LCDR3)之胺基酸序列之三個輕鏈互補決定區(LCDR1、LCDR2及LCDR3)；或其中該抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:21之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:22之胺基酸序列之輕鏈可變區；或

(iii) EPHA2表現性細胞，其中該抗體或抗原結合片段係抗EPHA2抗體或抗原結合片段，及/或其中該抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:13 (HCDR1)、SEQ ID NO:14 (HCDR2)及SEQ ID NO:15 (HCDR3)之胺基酸序列之三個重鏈互補決定區(HCDR1、HCDR2及HCDR3)；及包含SEQ ID NO:16 (LCDR1)、SEQ ID NO:17 (LCDR2)及SEQ ID NO:18 (LCDR3)之胺基酸序列之三個輕鏈互補決定區(LCDR1、LCDR2及LCDR3)；或其中該抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:23之胺基酸序列之重鏈可變區及包含SEQ ID NO:24之胺基酸序列之輕鏈可變區。

【請求項40】

如請求項36之抗體-藥物結合物，其中*p*為1至10之整數。

【請求項41】

一種醫藥組合物，其包含(i) 如請求項1至4、8及9中任一項之剪接調節子或其醫藥學上可接受之鹽、(ii) 如請求項5至7及10至35中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之或(iii) 如請求項36至40中任一項之抗體-藥物

結合物，及醫藥學上可接受之載劑。

【請求項42】

一種如請求項1至4、8及9中任一項之剪接調節子或其醫藥學上可接受之鹽、如請求項5至7及10至35中任一項之化合物或其醫藥學上可接受之或如請求項36至40中任一項之抗體-藥物結合物之用途，其係用於製備治療贅生性病症之藥物。