



(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 202325343 A

(43) 公開日：中華民國 112 (2023) 年 07 月 01 日

(21) 申請案號：111132932

(22) 申請日：中華民國 111 (2022) 年 08 月 31 日

(51) Int. Cl. :

A61K47/62 (2017.01)

A61K47/64 (2017.01)

A61K47/68 (2017.01)

A61K51/04 (2006.01)

A61K103/40 (2006.01)

A61K103/00 (2006.01)

(30) 優先權：2021/08/31 日本

2021-141625

(71) 申請人：日商日本醫事物理股份有限公司 (日本) NIHON MEDI-PHYSICS CO., LTD. (JP)
日本(72) 發明人：岸本聡 KISHIMOTO, SATOSHI (JP)；武田拓也 TAKEDA, TAKUYA (JP)；成田雄
大 NARITA, YUDAI (JP)；河谷稔 KAWATANI, MINORU (JP)；井澤彰宏 IZAWA,
AKIHIRO (JP)；水勇太 TARUMIZU, YUTA (JP)

(74) 代理人：林志剛

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：16 項 圖式數：10 共 104 頁

(54) 名稱

去醣基化抗體之放射性複合體，及放射性醫藥

(57) 摘要

本發明提供「一種鉗合有放射性核種之鉗合劑與經去醣基化的抗體之複合體，其中該鉗合劑係透過連結子，將前述抗體之 Fc 區域予以部位特異性地修飾」。該複合體，會改善效果的降低與副作用的風險。



【發明摘要】

【中文發明名稱】

去醣基化抗體之放射性複合體，及放射性醫藥

【中文】

本發明提供「一種鉗合有放射性核種之鉗合劑與經去醣基化的抗體之複合體，其中該鉗合劑係透過連結子，將前述抗體之Fc區域予以部位特異性地修飾」。該複合體，會改善效果的降低與副作用的風險。

【指定代表圖】無

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

去醣基化抗體之放射性複合體，及放射性醫藥

【技術領域】

【0001】本發明係關於經去醣基化之抗體與放射性核種之複合體、含有其之放射性醫藥，及該等之製造方法。

【先前技術】

【0002】抗體係自以往起，於各種之研究/開發中，多利用於標的分子之檢測，作為檢測試藥或診斷藥，於產業面亦成為極重要者。又，抗體由於對其標的分子之特異性高，作為用以治療疾病之醫藥品亦受到注目。

【0003】抗體具有藉由與免疫細胞所表現的FcγR之相互作用，而累積於細胞內皮系組織之特性。因而，有報告以改善抗體之體內動態為目的，對抗體之醣鏈經切斷之抗體(以下亦僅稱去醣基化抗體)進行放射標識之技術(非專利文獻1)。又，專利文獻1中，揭示藉由經放射標識(^{89}Zr)之去醣基化抗體所進行的PET實驗。

【0004】另一方面，作為用以在不影響對抗體之標的分子之特異性下附加功能之部位特異性的化學修飾，至今為止，報告有對抗體特異性或選擇性結合的抗體修飾胜肽(亦稱CCAP(Chemical conjugation by affinity peptide)胜肽)(專利文獻2)，進一步地，本申請人，報告了對CCAP胜

肽導入可與交聯劑結合之胺基酸，透過該胺基酸與交聯劑之結合，藉由結合於交聯劑之含放射性同位元素之錯合物等標識物質或抗癌劑等藥劑修飾抗體的技術(專利文獻3、4)。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0005】

[專利文獻1]美國專利申請公開第2019/0389966號說明書

[專利文獻2]國際公開第2016/186206號

[專利文獻3]國際公開第2017/217347號

[專利文獻4]國際公開第2021/075546號

[非專利文獻]

【0006】

[非專利文獻1]Vivier D. et al., J Nucl Med. 2019 Aug ; 60(8) : 1174-1182.

【發明內容】

[發明所欲解決之課題]

【0007】 RI標識抗體中，對正常組織之累積及腫瘤累積之降低係成為課題。

非專利文獻1及專利文獻1之經⁸⁹Zr標識之去醣基化抗體，修飾個數之控制係成為課題。又，並未著眼於以去醣基化抗體所進行的放射線治療。

此外，尚不知去醣基化抗體是否可能夠以CCAP胜肽修飾。

因此，減低對正常組織之累積，提高腫瘤累積性之RI標識抗體之提供係成為課題。

[用以解決課題之手段]

【0008】本發明之一態樣，為一種複合體，其係去醣基化抗體與鉈合劑之複合體，其中放射性金屬核種鉈合化於鉈合劑，該鉈合劑係透過連結子(L)將前述抗體之Fc區域予以部位特異性地修飾。本發明之別的一態樣，為一種複合體，其係去醣基化抗體與鉈合劑之複合體，其中放射性金屬核種鉈合化於鉈合劑，放射性金屬核種為釋出 α 射線之核種。

【0009】本發明之其他態樣為上述複合體之製造方法。

【0010】本發明之其他態樣為含有上述複合體作為有效成分之放射性醫藥。

【0011】再者，本發明所稱之「連結」，若無特別指明，意指直接地或間接地連接的兩者。

[發明之效果]

【0012】依照本發明，提供減低對正常組織之累積，提高腫瘤累積性的RI標識抗體。

【圖式簡單說明】**【0013】**

[圖 1] 為表示評價遵照實施例 1(PNGase F-treated Trastuzumab)及比較例 1(Trastuzumab)之記載製造，且經製劑化之放射性複合體之對 HER2 之結合活性的結果之圖。

[圖 2] 為表示確認遵照實施例 1($^{89}\text{Zr-CCAP-Trastuzumab-PNGaseF}$)及比較例 1($^{89}\text{Zr-CCAP-Trastuzumab}$)之記載製造，且經製劑化之放射性複合體於生物體內對各組織(血液、心臟、肺、肝臟、脾臟、胰臟、胃、小腸、大腸、腎臟、膀胱、大腿肌、大腿骨、皮膚、腫瘤、剩餘全身)之分布的結果之圖。

[圖 3] 為表示確認遵照實施例 1($^{89}\text{Zr-CCAP-Trastuzumab-PNGaseF}$)及比較例 1($^{89}\text{Zr-CCAP-Trastuzumab}$)之記載製造，且經製劑化之放射性複合體於生物體內對各組織(血液、肝臟、脾臟、腫瘤)之分布的結果之圖。

[圖 4] 為表示評價遵照實施例 2(PNGase F-treated Trastuzumab)及比較例 2(Trastuzumab)之記載製造之放射性複合體之抗原結合活性的結果之圖。

[圖 5] 為表示放射性複合體(實施例 2)10kBq 投予群($^{225}\text{Ac-Trastuzumab-PNGaseF}_{10\text{KBq}}$)、放射性複合體(實施例 2)5kBq 投予群($^{225}\text{Ac-Trastuzumab-PNGaseF}_{5\text{KBq}}$)、放射性複合體(比較例 2)10kBq 投予群($^{225}\text{Ac-Trastuzumab}_{10\text{KBq}}$)、放射性複合體(比較例 2)5kBq 投予群($^{225}\text{Ac-Trastuzumab}_{5\text{KBq}}$)，及 Vehicle 群之荷癌小鼠中

之腫瘤體積的經時變化之圖。

[圖 6]為表示放射性複合體(實施例 2)10kBq 投予群 ($^{225}\text{Ac-Tmab-PNG.}_{10\text{KBq}}$)、放射性複合體(實施例 2)5kBq 投予群 ($^{225}\text{Ac-Tmab-PNG.}_{5\text{KBq}}$)、放射性複合體(比較例 2)10kBq 投予群 ($^{225}\text{Ac-Tmab-Cont.}_{10\text{KBq}}$)、放射性複合體(比較例 2)5kBq 投予群 ($^{225}\text{Ac-Tmab-Cont.}_{5\text{KBq}}$)，及 Vehicle 群之荷癌小鼠中之體重的經時變化之圖。

[圖 7]為表示放射性複合體(實施例 2)10kBq 投予群 ($^{225}\text{Ac-Trastuzumab-PNGaseF}_{10\text{KBq}}$)、放射性複合體(實施例 2)5kBq 投予群 ($^{225}\text{Ac-Trastuzumab-PNGaseF}_{5\text{KBq}}$)、放射性複合體(比較例 2)10kBq 投予群 ($^{225}\text{Ac-Trastuzumab}_{10\text{KBq}}$)、放射性複合體(比較例 2)5kBq 投予群 ($^{225}\text{Ac-Trastuzumab}_{5\text{KBq}}$)，及 Vehicle 群之荷癌小鼠中之經時的存活個體數之圖。

[圖 8]為表示評價遵照實施例 3(PNGase F-treated Cetuximab)及比較例 3(Cetuximab)之記載製造之放射性複合體之抗原結合活性的結果之圖。

[圖 9]為表示確認遵照實施例 3($^{89}\text{Zr-CCAP-Cetuximab-PNGaseF}$)及比較例 3($^{89}\text{Zr-CCAP-Cetuximab}$)之記載製造之放射性複合體於生物體內對各組織(血液、心臟、肺、脾臟、胰臟、胃、小腸、大腸、大腿肌(muscle)、大腿骨(bone)、皮膚、腫瘤、腎臟、肝臟、剩餘全身)之分布的結果之圖。

[圖 10]為表示確認遵照實施例 3及比較例 3之記載製造

之放射性複合體於生物體內對各組織(血液、肝臟、脾臟、腫瘤)之分布的結果之圖。

【實施方式】

(1)放射性複合體 1

【0014】本發明提供一種複合體(以下亦稱本發明之放射性複合體，或僅稱複合體)，其係鉗合有放射性核種之鉗合劑與經去醯基化的抗體之複合體，該鉗合劑係透過連結子，將前述抗體之Fc區域予以部位特異性地修飾。

【0015】

(1-1)放射性金屬核種

本發明之放射性複合體中所含有的放射性金屬核種，為釋出 α 射線之放射性核種、釋出 β 射線之放射性核種、釋出正子之放射性核種或釋出 γ 射線之放射性核種。將本發明之放射性複合體用於癌治療時，較佳使用釋出 α 射線之放射性核種或釋出 β 射線之放射性核種。又，將本發明之放射性複合體用於癌之診斷或檢測時，較佳使用釋出正子之放射性核種或釋出 γ 射線之放射性核種。作為釋出 α 射線之放射性核種，例示有Bi-212、Bi-213、Ac-225、Th-227。又，作為釋出 β 射線之放射性核種，例示有Co-60、Fe-59、Cu-64、Cu-67、Sr-89、Y-90、Tc-99m、Ru-103、Sm-153、Dy-165、Ho-166、Lu-177、Re-186、Re-188、Au-198、Hg-203、Bi-212、Bi-213或Pb-212。又，作為釋出正子之放射性核種，例示有Cu-64、Ga-68、Y-86、

Zr-89。又，作為釋出 γ 射線之放射性核種，例示有Tc-99m或In-111。本發明之放射性複合體1中所含有的放射性金屬核種，更佳為Ac-225、Y-90、Lu-177或Zr-89。本發明之放射性複合體1中所含有的放射性金屬核種，特佳為Ac-225或Zr-89。

【0016】

(1-2)抗體

本發明之複合體中所含有的抗體，只要係醣鏈被切斷之抗體亦即去醣基化抗體，則不特別限定。本發明所用之抗體，可為多株抗體、亦可為單株抗體，較佳為單株抗體。抗體之來源不特別限定，例如可列舉非人類動物之抗體、非人類哺乳動物之抗體，及人類抗體，較佳可例示人類、大鼠、小鼠及兔子。抗體源自人類以外之物種時，較佳使用週知之技術進行嵌合化或人類化，但本發明所用之抗體亦可為嵌合體抗體、人類化抗體，或人類抗體。又，本發明所用之抗體亦可為雙特異性抗體。更佳為，本發明之複合體所用的去醣基化抗體為人類IgG抗體。人類IgG抗體例如可為IgG1、IgG2、IgG3，或IgG4。

【0017】人類化抗體(IgG)中，於重鏈之Fc部分之Asn殘基(EU編號297殘基號)係具有N結合型醣鏈。又，於Asn297以外之胺基酸殘基上，亦有時鍵結有N結合型醣鏈或O結合型醣鏈。本發明所用之去醣基化抗體為此等之醣鏈經切斷者，較佳為N結合型醣鏈經切斷者、更佳為Asn殘基(297殘基號)之N結合型醣鏈經切斷者。

【0018】抗體之去醣基化，可藉由本領域中通常使用之方法來實施，可化學性或酵素性地進行。化學性的去醣基化，可參照 Hakimuddin et al.,1987,Arch.Biochem.Biophys.259 : 52 及 Edge et al.,1981,Anal.Biochem.118 : 131 之記載。酵素的切斷，可參照 Thotakura et al.,1987,Meth.Enzymol.138 : 350 之記載，可使用各種的醣鏈分解酵素。酵素之來源不特別限定，可列舉源自植物、細菌或酵母者。較佳為切斷N結合型醣鏈(使之游離)的酵素，可列舉分類為EC3.5.1.52之胛肽-N⁴-(N-乙醯基-β-葡萄糖胺基)-天門冬醯胺醯胺酶(PNGaseF、PNGaseA等)、分類為EC3.2.1.96之內切醣苷酶等。作為內切醣苷酶，具體而言，可列舉內-β-N-乙醯基葡萄糖胺酶D(內切醣苷酶D、Endo-D、endo-D)、內-β-N-乙醯基葡萄糖胺酶H(內切醣苷酶H、Endo-H、endo-H)、內切醣苷酶S(EndoS、Endo-S、endo-S)、內-β-N-乙醯基葡萄糖胺酶M(內切醣苷酶M、Endo-M、endo-M)、內-β-N-乙醯基葡萄糖胺酶LL(內切醣苷酶LL、EndoLL、Endo-LL、endo-LL)、內-β-N-乙醯基葡萄糖胺酶F1(內切醣苷酶F1、Endo-F1、endo-F1)、內-β-N-乙醯基葡萄糖胺酶F2(內切醣苷酶F2、Endo-F2、endo-F2)，及內-β-N-乙醯基葡萄糖胺酶F3(內切醣苷酶F3、Endo-F3、endo-F3)。

抗體之去醣基化處理(反應溫度、反應時間等)，可因應醣鏈之切斷(游離)所用的手段，遵照該領域中實施的方法而實施。

【0019】 用於本發明之複合體的抗體之較佳的具體例子，可列舉抗 HER2 抗體（例如，曲妥珠單抗 (Trastuzumab)、帕妥珠單抗 (Pertuzumab)、抗 EGFR 抗體（例如，西妥昔單抗 (Cetuximab)、帕尼單抗 (Panitumumab)、抗 CD20 抗體（例如，利妥昔單抗 (Rituximab)、Ibritumomab、Ocrelizumab）。

均可藉由本身公知之方法配製，或可由商業上獲得。

再者，本發明之複合體所用的抗體，亦可為 WO2017/141604 或 WO2021/075545 記載之抗體。

【0020】

(1-3) 鉈合劑

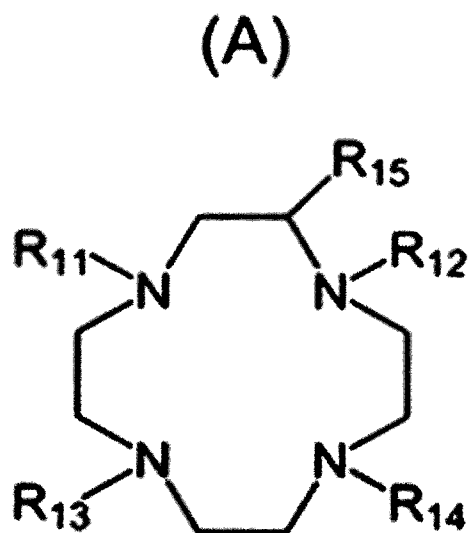
本發明中，鉈合劑只要係結構中具有放射性金屬核種進行配位的部位者則不特別限定。鉈合劑例如可列舉 CB-TE2A(1,4,8,11-四氮雜雙環 [6.6.2] 十六烷 -4,11-二乙酸)、CDTA(環己烷 -反 -1,2-二胺四 -乙酸)、CDTPA(4-氰基 -4-[[(十二烷硫基) 硫酮基甲基] 硫基]-戊酸)、DOTA(1,4,7,10-四氮雜環十二烷 -1,4,7,10-四乙酸)、DOTMA((1R,4R,7R,10R)- $\alpha,\alpha',\alpha'',\alpha'''$ -四甲基 -1,4,7,10-四氮雜環十二烷 -1,4,7,10-四乙酸)、DOTAM(1,4,7,10-肆(胺甲醯基甲基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷)、DOTPA(1,4,7,10-四氮雜環十二烷 -1,4,7,10-四丙酸)、1,4,7,10-肆(吡啶 -2-基甲基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷 (L^{py})、DOTA-GA(α -(2-羧基乙基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷 -1,4,7,10-四乙酸)、DOTP(((1,4,7,10-四氮雜環十二烷 -1,4,7,10-四基)肆(亞甲

基))四膦酸)、DOTMP(1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-肆(亞甲基膦酸))、DOTA-4AMP(1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-肆(乙醯胺基亞甲基膦酸))、D02P(四氮雜環十二烷二甲烷膦酸)、去鐵胺(DFO)、DTPA(甘胺酸,N,N-雙[2-[雙(羧基甲基)胺基]乙基]-)、CHX-A"-DTPA(2,2'-((2-(((1S,2R)-2-(雙(羧基甲基)胺基)環己基)(羧基甲基)胺基)乙基)-一氫化氮基(azanediyl))二乙酸)、DTPA-BMA(5,8-雙(羧基甲基)-11-[2-(甲基胺基)-2-側氧基乙基]-3-側氧基-2,5,8,11-四氮雜十三-13-酸)、EDTA(2,2',,2",2""-(乙烷-1,2-二基雙(氮三基))四乙酸)、NOTA(1,4,7-三氮雜環壬烷-1,4,7-三乙酸)、NOTP(1,4,7-三氮雜環壬烷-1,4,7-三基參(亞甲基膦酸))、TETPA(1,4,8,11-四氮雜環十四烷-1,4,8,11-四丙酸)、TETA(1,4,8,11-四氮雜環十四烷-N,N',N",N""-四乙酸)、TTHA(3,6,9,12-肆(羧基甲基)-3,6,9,12-四氮雜十四烷二酸)、HEHA(1,2,7,10,13-六氮雜環十八烷-1,4,7,10,13,16-六乙酸)、1,2-HOPO(N,N',N",N""-四(1,2-二氫-1-羥基-2-側氧基吡啶-6-羰基)-1,5,10,14-四氮雜十四烷)、PEPA(1,4,7,10,13-五氮雜環十五烷-N,N',N",N""、N""-五乙酸)、H4octapa(N,N'-雙(6-羧基-2-吡啶基甲基)-乙二胺-N,N'-二乙酸)、H2bispa2(6,6'-({9-羥基-1,5-雙(甲氧基羰基)-2,4-二(吡啶-2-基)-3,7-二氮雜雙環[3.3.1]壬烷-3,7-二基}雙(-亞甲基))二吡啶甲酸)、H2dedpa(1,2-[[6-(羧基)-吡啶-2-基]-甲基胺基]乙烷)、H2macropa(6-(1,4,10,13-四氧雜-7,16-二氮雜環十八碳-N,N'-甲基)吡啶甲酸)、

H5decapa(N,N''-雙(6-羧基-2-吡啶基甲基)-二乙三胺-N,N',N''-三乙酸)、H6phospa(N,N'-(亞甲基膦酸酯)-N,N''-[6-(甲氧基羰基)吡啶-2-基]-甲基-1,2-二胺基乙烷)、HP-D03A(羥基丙基四氮雜環十二烷三乙酸)、紫質等者，較佳為下述式(A)表示之化合物。

【0021】

[化1]



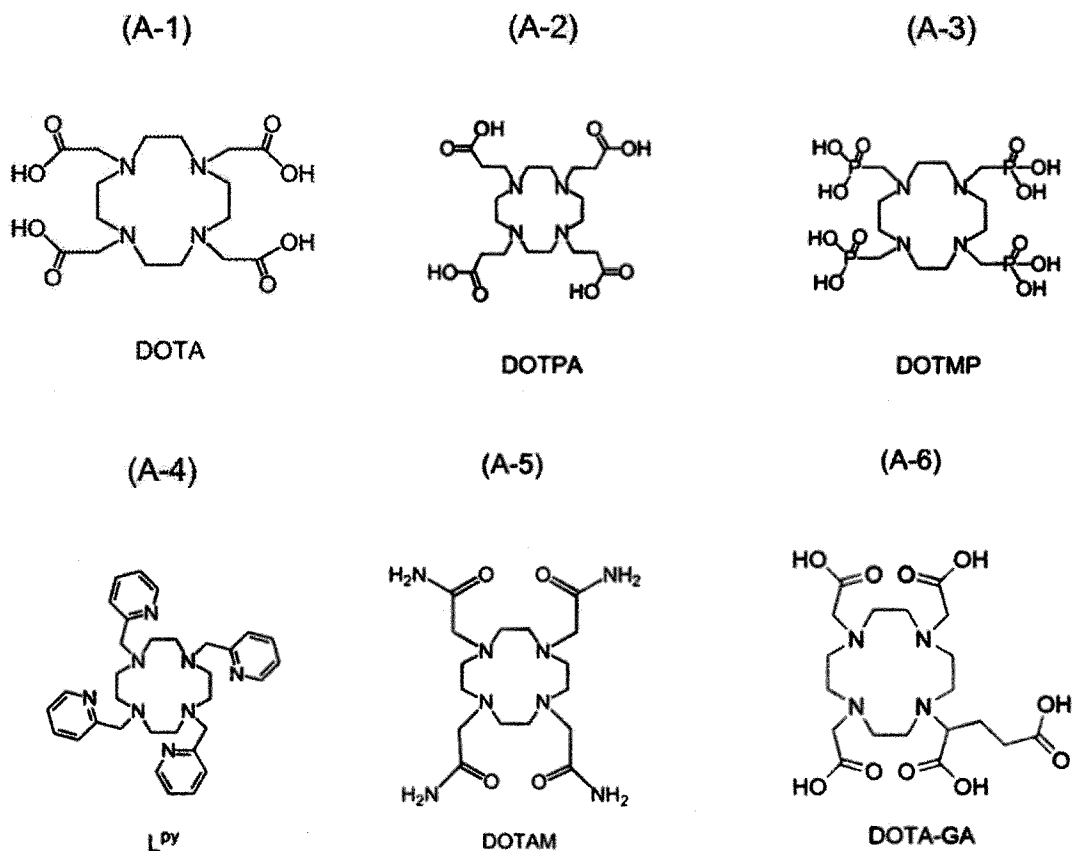
【0022】(式(A)中， R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 及 R_{14} 係分別獨立地，為由 $-(CH_2)_pCOOH$ 、 $-(CH_2)_pC_5H_5N$ 、 $-(CH_2)_pPO_3H_2$ 、 $-(CH_2)_pCONH_2$ 或 $-(CHCOOH)(CH_2)_pCOOH$ 所構成之基， R_{15} 為氫原子， p 為0以上3以下之整數)。

【0023】式(A)表示之化合物，較佳為包含源自1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)，或其衍生物之結構的化合物，具體而言，於結構中可包含源自選自DOTA(1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸)、DOTMA((1R,4R,7R,10R)- $\alpha,\alpha',\alpha'',\alpha'''$ -四甲基-1,4,7,10-四氮

雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸)、DOTAM(1,4,7,10-肆(胺甲醯基甲基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷)、DOTPA(1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四丙酸)、1,4,7,10-肆(吡啶-2-基甲基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷(L^{py})、DOTA-GA(α -(2-羧基乙基)-1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸)、DOTP(((1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四基)肆(亞甲基))四膦酸)、DOTMP(1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-肆(亞甲基膦酸))、DOTA-4AMP(1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10-肆(乙醯胺基亞甲基膦酸))、D02P(四氮雜環十二烷二甲烷膦酸)的一種鉗合劑之結構，更佳可列舉以下之式(A-1)~(A-6)表示之化合物。用於本發明之放射性複合體的鉗合劑，又更佳為DOTA-GA(式(A-6)表示之化合物)。

【0024】

[化2]



【0025】本發明之複合體中，鉀合劑亦可透過連結子(L)與抗體連結。作為連結子(L)，可列舉取代或無取代之烷基、取代或無取代之雜烷基、聚乙二醇(PEG)基、胜肽、醣鏈、二硫化物基及此等之組合等。

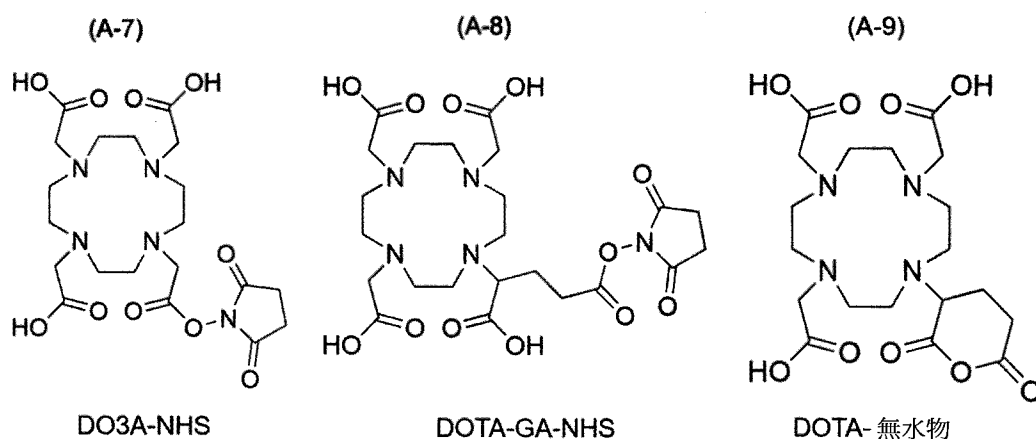
本發明之複合體中，鉀合劑與連結子(L)較佳藉由共價鍵而連結。因此，前述之鉀合劑，在本發明之複合體中，化合物內之一部分之基亦可取代為與連結子(L)形成共價鍵之基。例如，本發明所用之鉀合劑，為式(A)表示之化合物時， R_{12} 或 R_{15} 亦可取代為與連結子(L)形成共價鍵之基。較佳為， R_{12} 取代為與連結子(L)形成共價鍵之基時， R_{15} 為氫原子， R_{12} 為由 $-(CH_2)_pCOOH$ 、 $-(CH_2)_pC_5H_5N$ 、

$-(\text{CH}_2)_p\text{PO}_3\text{H}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_p\text{CONH}_2$ 或 $-(\text{CHCOOH})(\text{CH}_2)_p\text{COOH}$ 所構成之基時， R_{15} 被取代為與連結子(L)形成共價鍵之基。

【0026】鉈合劑與連結子(L)之連結，例如係藉由下述式(A-7)或(A-8)之N-羥基琥珀醯亞胺酯(NHS)基或下述式(A-9)之2,6-二側氧基四氫-2H-吡喃基，與連結子(L)之1級胺的反應而形成。

【0027】

[化3]



【0028】本發明之複合體1中，相對於抗體1分子，至少具備1分子以上的鉈合劑即可。惟，就維持抗體本身的活性(抗原辨識作用、中和作用、補體活性化作用及/或調理素作用)之觀點，較佳於抗體之Fc區域(恆定區域)部位特異性地導入鉈合劑，本發明之複合體1中，相對於抗體1分子，更佳具備1分子或2分子的鉈合劑。

【0029】

(1-4)抗體修飾胜肽

較佳為，本發明所用之去醯基化抗體，藉由抗體修飾胜肽，部位特異地較佳為對Fc區域修飾，此時，本發明所用之鉗合劑，可使用隔著連結子(L)，包含下述式(i)表示之由13個以上17個以下之胺基酸殘基所構成的胜肽(以下亦稱「抗體修飾胜肽」)，且藉由經交聯劑修飾之抗體修飾胜肽與抗體之交聯反應所形成者。再者，式(i)中，係以胺基酸序列之紙面左側係表示N末端側、胺基酸序列之紙面右側表示C末端側者來進行說明。鉗合劑隔著抗體修飾胜肽作為連結子，而與抗體連接時，鉗合劑與抗體修飾胜肽所連結的位置不特別限定，例如可直接或間接地連結於抗體修飾胜肽之N末端或C末端、較佳為N末端。又，抗體修飾胜肽之C末端，為了提高其安定性等，亦可受到醯胺化等之修飾。

【0030】

$(Xa)-Xaa1-(Xb)-Xaa2-(Xc)-Xaa3-(Xd) \cdots (i)$

式(i)中，Xa、Xb、Xc及Xd，分別表示連續的a個X、連續的b個X、連續的c個X，及連續的d個X，

X為側鏈不具有硫醇基及鹵乙醯基之胺基酸殘基，

a、b、c及d係分別獨立為1以上5以下之整數，且滿足 $a+b+c+d \leq 14$ ，

Xaa1及Xaa3係分別獨立地

表示源自側鏈具有硫醇基之胺基酸的胺基酸殘基，或者

一方表示源自側鏈具有硫醇基之胺基酸的胺基酸殘

基，另一方表示源自側鏈具有鹵乙醯基之胺基酸的胺基酸殘基，Xaa1與Xaa3經連結，

Xaa2為離胺酸殘基、精胺酸殘基、半胱胺酸殘基、天門冬胺酸殘基、麩胺酸殘基、2-胺基辛二酸，或二胺基丙酸，且經交聯劑修飾。

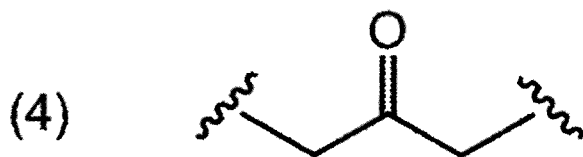
【0031】上述式(i)中之X中可含有的胺基酸殘基，例如可列舉源自甘胺酸、丙胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、天門冬醯胺、天門冬胺酸、麩胺酸、精胺酸、組胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、甲硫胺酸等之胺基酸者，X可為由同一種類之胺基酸所構成的胺基酸殘基、亦可分別為由不同種類之胺基酸所構成的胺基酸殘基。

【0032】式(i)中之a、b、c及d，只要為上述範圍之數則無特別限制，就胜肽與抗體之結合安定性之觀點，以 $a+b+c+d \leq 14$ 為條件，a較佳為1以上3以下之整數、b較佳為1以上3以下之整數、c較佳為3以上5以下之整數，及d較佳為1以上3以下之整數。

【0033】Xaa1及Xaa3為源自側鏈具有硫醇基之胺基酸的胺基酸殘基，該胺基酸分別可相同亦可相異。側鏈具有硫醇基之胺基酸，例如可列舉半胱胺酸、同半胱胺酸。如此之胺基酸殘基，較佳藉由雙硫鍵而鍵結，或透過以下式(4)所示之連結子，而鍵結有硫化物基。式(4)中，波浪線部分表示與硫化物基之鍵結部分。

【0034】

[化4]



【0035】 Xaa1及 Xaa3，亦可為 Xaa1及 Xaa3中之一方為源自側鏈具有硫醇基之胺基酸的胺基酸殘基，另一方為源自側鏈具有鹵乙醯基之胺基酸的胺基酸殘基，來取代上述組合。此等係透過硫醚鍵而鍵結。鹵乙醯基，其末端係經碘等之鹵素取代，藉由與另一方之側鏈中的硫醇基之反應使鹵素脫離，形成硫醚鍵。

【0036】式(i)表示之抗體修飾胜肽之具體的胺基酸序列，例如可列舉國際公開 2016/186206號、國際公開 2017/217347號及國際公開 2018/230257號記載之胜肽，亦可使用此等。

【0037】此等之中，作為抗體修飾胜肽之胺基酸序列，較佳具有以下序列(1)~(18)之任一者；更佳具有以下序列(1)、(2)、(13)或(14)。以下之胺基酸序列(1)~(18)中，(Xaa2)表示離胺酸殘基、半胱胺酸殘基、天門冬胺酸殘基、麩胺酸殘基、2-胺基辛二酸，或二胺基丙酸，(Xaa1)及(Xaa3)均表示同半胱胺酸殘基。同半胱胺酸彼此亦可互相形成雙硫鍵。又，以下之胺基酸序列(1)~(18)中，(Xaa1)、(Xaa2)及(Xaa3)以外之胺基酸係以一字母縮寫來表述。

【0038】

- (1)DCAYH(Xaa2)GELVWCT(序列編號1)、
 (2)GPDCAYH(Xaa2)GELVWCTFH(序列編號2)、
 (3)RCAYH(Xaa2)GELVWCS(序列編號3)、
 (4)GPRCAYH(Xaa2)GELVWCSFH(序列編號4)、
 (5)SPDCAYH(Xaa2)GELVWCTFH(序列編號5)、
 (6)GDDCAYH(Xaa2)GELVWCTFH(序列編號6)、
 (7)GPSCAYH(Xaa2)GELVWCTFH(序列編號7)、
 (8)GPDCAYH(Xaa2)GELVWCSFH(序列編號8)、
 (9)GPDCAYH(Xaa2)GELVWCTHH(序列編號9)、
 (10)GPDCAYH(Xaa2)GELVWCTFY(序列編號10)、
 (11)SPDCAYH(Xaa2)GELVWCTFY(序列編號11)、
 (12)SDDCAYH(Xaa2)GELVWCTFY(序列編號12)、
 (13)RGNCA YH(Xaa2)GQLVWCTYH(序列編號13)、
 (14)G(Xaa1)DCAYH(Xaa2)GELVWCT(Xaa3)H(序列編號14)
- (15)DCTYH(Xaa2)GNLVWCT(序列編號15)、
 (16)DCAYH(Xaa2)GNLVWCT(序列編號16)、
 (17)DCTYH(Xaa2)GELVWCT(序列編號17)，及
 (18)DCAWH(Xaa2)GELVWCT(序列編號18)。

【0039】

(1-5)連結子(L)

連結子(L)，在本發明之放射性複合體中，只要係可將鉗合劑與胜肽連結者則不特別限定。可列舉取代或無取代之烷基、取代或無取代之雜烷基、聚乙二醇(PEG)基、

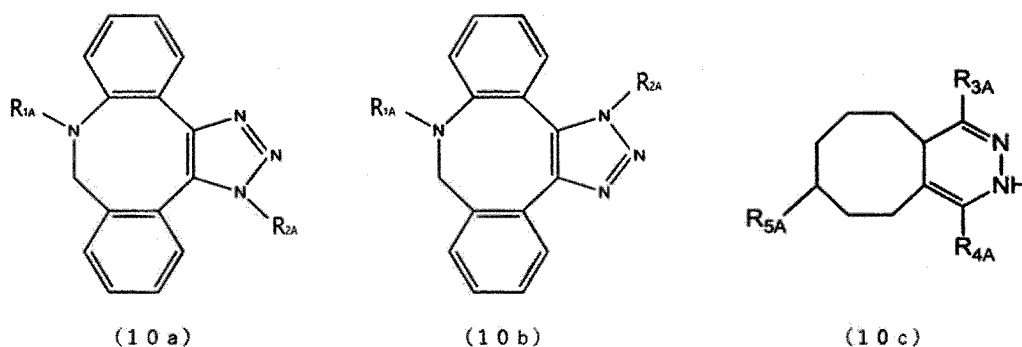
胜肽、醯鏈、二硫化物基、醯胺基，及此等之組合等。

本說明書中，連結子(L)，係指經胜肽修飾之去醯基化抗體與鉗合劑之連接所用的連結子之總稱，為包含抗體修飾連結子(L₁)及鉗合連結子(L₂)之用語。抗體修飾連結子(L₁)，詳如後述，為對(1-4)所說明之胜肽的N末端側所導入者，鉗合連結子(L₂)亦詳如後述，為對(1-3)所說明之鉗合劑的官能基所導入者。

【0040】本發明所用之連結子(L)，可包含以點擊反應所形成之鍵結部位，較佳為抗體修飾連結子(L₁)與鉗合連結子(L₂)係藉由點擊反應而鍵結。此處，以點擊反應所形成之鍵結部位，較佳可認為係下述式(10a)或(10b)表示之含三唑骨架之結構或下述式(10c)表示之含嗒嗒骨架之結構。式(10a)與式(10b)係處於異構物之關係，因此可以任意比例被含有。

【0041】

[化5]



【0042】式(10a)及式(10b)中，R_{1A}表示與鉗合劑之連結部位，R_{2A}表示與抗體修飾胜肽之連結部位。式(10c)中，R_{3A}及R_{4A}中之一方表示氫原子、甲基、苯基或吡啶

基，另一方表示與鉗合劑之連結部位， R_{5A} 表示與抗體修飾胜肽之連結部位。式(10a)、式(10b)及式(10c)中，與抗體修飾胜肽之連結部位，係透過抗體修飾連結子(L_1)而連結胜肽，與鉗合劑之連結部位，係透過鉗合連結子(L_2)而連結鉗合劑。

【0043】 本發明之放射性複合體，係以胜肽來部位特異性地修飾抗體，胜肽與鉗合劑係透過連結子(L)而連結，因此成為對於去醣基化抗體1分子而言，使1分子或2分子之鉗合劑複合化者。

【0044】

(1-6)複合體之製造方法

本發明之複合體之製造方法，可由使鉗合劑與抗體接合(conjugate)之接合步驟，與形成放射性核種與鉗合劑之錯合物的錯合物形成步驟之2個步驟來製造。接合步驟，可為錯合物形成步驟之前，亦可為錯合物形成步驟之後。

【0045】 接合步驟中，可使用各種對抗體之部位特異性的化學修飾法，例如，可列舉將具有前述(1-4)所示之抗體修飾胜肽的鉗合劑或連結子，於抗體之Fc區域予以部位特異性地修飾的方法。

【0046】 錯合物形成步驟中，係使放射性金屬核種鉗合於鉗合劑(形成錯合物)。此處所使用之放射性金屬核種，就提高錯合物形成效率之觀點，較佳以可電離之態樣使用、更佳以離子之態樣使用。錯合物形成步驟，只要可形成與放射性金屬核種之錯合物，則放射性金屬核種對鉗

合劑之添加順序不限定。例如可使用於以水為主體之溶劑中溶解有放射性金屬離子之溶液作為放射性核種。

錯合物形成後，亦可使用過濾濾器、膜濾器、填充有各種填充劑之管柱、層析等，來純化所得之錯合物。

【0047】 本發明之複合體之製造方法，較佳於錯合物形成步驟之後實行接合步驟。

更佳之態樣中，錯合物形成步驟(A)中，係於放射性核種，與具有可點擊反應之第1原子團作為用以可與抗體複合化之取代基的鉗合劑之間形成錯合物。接著，接合步驟(B)中，係使用具有前述式(i)所示之抗體修飾胜肽，與可點擊反應之第2原子團的抗體修飾連結子(L₁)，於將Fc區域經部位特異性地修飾之胜肽修飾抗體，與步驟(A)所得之經形成錯合物的鉗合劑之間實行點擊反應，而得到本發明之複合體。

以下詳述步驟(A)及(B)。

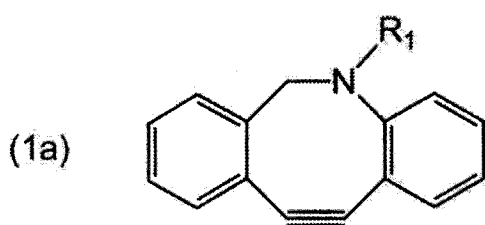
【0048】 作為可點擊反應之第1原子團與第2原子團之組合，係依點擊反應之種類，而選擇適當者，例如可列舉炔與疊氮化物之組合、1,2,4,5-四嗪與烯之組合等。此等之原子團，只要第1原子團具有上述原子團之組合中的一者、第2原子團具有上述原子團之組合中成為與第1原子團相異之一者的原子團即可。就兼顧鉗合劑及抗體之安定性，與提高此等之結合效率的觀點，較佳為鉗合連結子(L₂)為炔且抗體修飾連結子(L₁)為疊氮化物，或者鉗合連結子(L₂)為1,2,4,5-四嗪且抗體修飾連結子(L₁)為烯。如此

之原子團之組合所致之點擊反應的具體例子，可列舉 Huisgen環化加成反應，或反電子需求型 Diels-Alder反應等。

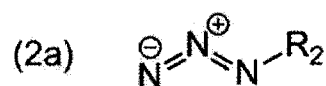
【0049】可點擊反應之原子團的組合之具體例子，如下式所示，可列舉含有二苄基環辛炔(DBCO)作為第1原子團之炔的原子團(式(1a))，與含有疊氮化物基作為第2原子團之疊氮化物的原子團(式(2a))之組合，或者第1原子團包含1,2,4,5-四嗪之原子團(式(1b))，與含有反-環辛烯(TCO)作為第2原子團之烯的原子團(式(2b))之組合。較佳為式(1a)與式(2a)之組合。

【0050】

[化6]



二苄基環辛炔

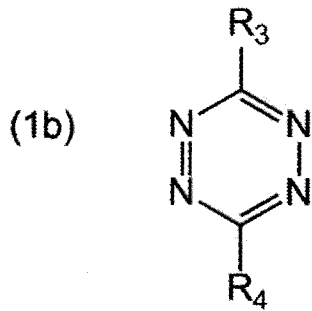


疊氮化物

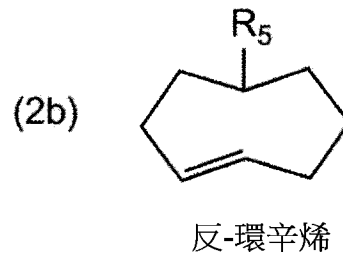
【0051】(式(1a)中， R_1 表示與鉗合劑之連結部位，式(2a)中， R_2 表示與抗體中之抗體修飾胜肽之連結部位)。

【0052】

[化7]



1,2,4,5-四嗪



【0053】(式(1b)中， R_3 及 R_4 中的一方表示與鉗合劑或抗體中之抗體修飾胜肽之任一者的連結部位，另一方表示氫原子、甲基、苯基或吡啶基，式(2b)中， R_5 係因應 R_3 或 R_4 ，表示與鉗合劑或抗體中之抗體修飾胜肽之任一者的連結部位)。

【0054】使用含有上述式(1a)表示之DBCO作為第1原子團之炔的原子團時，可列舉市售之各種DBCO試藥。具體而言，例如可選擇DBCO-C6-酸、二苄基環辛炔-胺、二苄基環辛炔馬來醯亞胺、DBCO-PEG酸、DBCO-PEG-NHS酯、DBCO-PEG-醇、DBCO-PEG-胺、DBCO-PEG-NH-Boc、羧基玫紅-PEG-DBCO、磺酸玫紅-PEG-DBCO、TAMRA-PEG-DBCO、DBCO-PEG-生物素、DBCO-PEG-DBCO、DBCO-PEG-馬來醯亞胺、TCO-PEG-DBCO、DBCO-mPEG等，較佳使用二苄基環辛炔馬來醯亞胺。

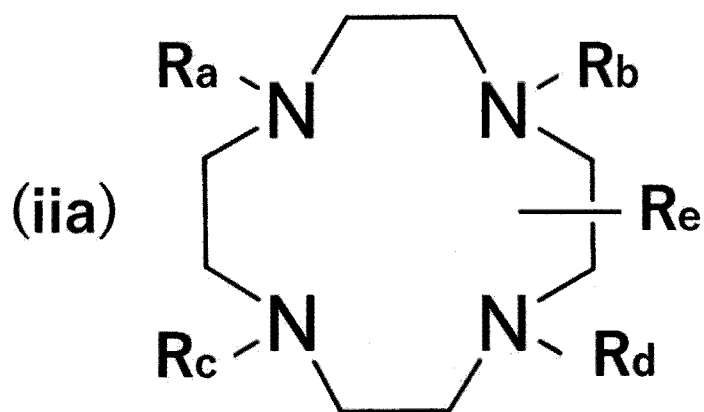
【0055】步驟(A)中，更佳使用具有以下式(ii)表示之結構的鉗合劑。



式(ii)中，A為以下之式(ia)表示之鉗合部。

【 0056】

[化8]

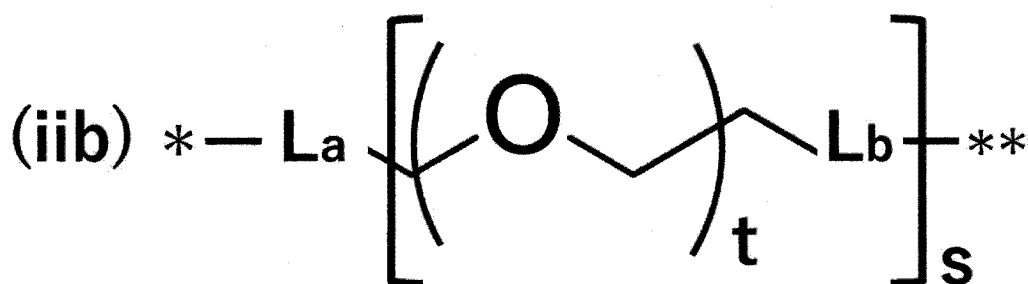


【 0057】式 (iia) 中， R_a 、 R_b 及 R_c 係獨立地為由 $-(CH_2)_pCOOH$ 、 $-(CH_2)_pC_5H_5N$ 、 $-(CH_2)_pPO_3H_2$ 、 $-(CH_2)_pCONH_2$ 或 $-(CHCOOH)(CH_2)_pCOOH$ 所構成之基， p 為 0 以上 3 以下之整數， R_d 或 R_e 之任一方，為與 B 之鍵結部位 (*)、另一方為氫原子，或者為由 $-(CH_2)_pCOOH$ 、 $-(CH_2)_pC_5H_5N$ 、 $-(CH_2)_pPO_3H_2$ 、 $-(CH_2)_pCONH_2$ 或 $-(CHCOOH)(CH_2)_pCOOH$ 所構成之基， p 為 0 以上 3 以下之整數。

式 (ii) 中，B 係由以下之式 (iib) 表示。

【 0058】

[化9]



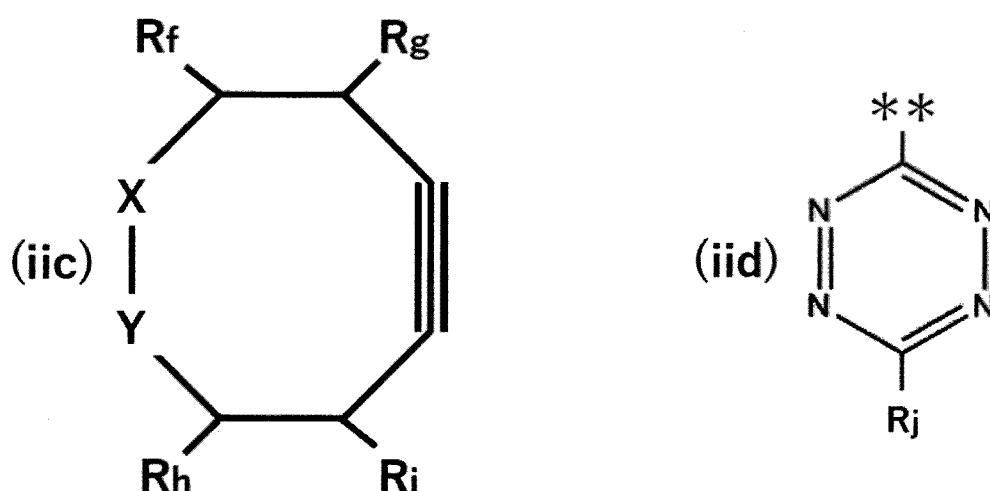
【 0059】式 (iib) 中， La 及 Lb 係獨立地為至少包含醯胺鍵或硫脲鍵之碳數 1 以上 50 以下之結合連結子， t 為 0 以上

30以下之整數，s為0或1，*為與A之鍵結部位，**為與C之鍵結部位。

式(ii)中，C為以下式(iic)表示之炔衍生物或式(iid)表示之四嗪衍生物之任一者。

【0060】

[化10]



【0061】式(iic)中，X為 $\text{CHR}_k\text{-**}$ 或 N-** ，Y為 CHR_k 或 C=O ， R_k 係獨立地為氫原子，或者為碳數1個以上5個以下之烷基，X為 $\text{CHR}_k\text{-**}$ ，且Y為 CHR_k 時， R_k 部分亦可一起而形成環烷基， R_f 、 R_g 、 R_h 及 R_i 係獨立地為氫原子、鹵素原子、碳數1個以上5個以下之烷基， R_f 與 R_g 亦可一起，或 R_h 與 R_i 亦可一起而形成烴環，**表示與B之鍵結部位，式(iid)中，**表示與B之鍵結部位， R_j 表示氫原子、甲基、苯基或吡啶基。

【0062】步驟(A)所使用之鉗合劑，更佳為上述式(iia)中， R_a 至 R_d 為 $-(\text{CH}_2)_p\text{COOH}$ ，p為1， R_e 為與B之鍵結部位(*)的DOTA衍生物；或 R_a 至 R_c 為 $-(\text{CH}_2)_p\text{COOH}$ ，p為

1，Rd為與B之鍵結部位(*)，Re為氫原子的DO3A衍生物或DOTAGA衍生物之任一者。

【0063】式(ii)中，A為上述DOTA衍生物時，更佳B係La為包含硫脲鍵之碳數1以上50以下之結合連結子，s為0或1，s為1時，t為0以上30以下之整數，Lb為包含醯胺鍵或硫脲鍵之碳數1以上50以下之結合連結子，C為式(iic)表示之炔衍生物，式(iic)中，X為N-**，Y為CHR_k，R_k為氫原子，R_f與R_g一起而形成苯環，R_h與R_i一起而形成苯環，**為與B之鍵結部位的DOTA-PEG_t-DBCO衍生物；或B係La為包含硫脲鍵之碳數1以上50以下之結合連結子，s為0或1，s為1時，t為0以上30以下之整數，Lb為包含醯胺鍵或硫脲鍵之碳數1以上50以下之結合連結子，C為式(iid)表示之四嗪衍生物的DOTA-PEG_t-Tz衍生物。

【0064】式(ii)中，A為上述DO3A衍生物時，更佳B係La為包含醯胺鍵或硫脲鍵之碳數1以上50以下之結合連結子，s為0或1，s為1時，t為0以上30以下之整數，Lb為包含醯胺鍵之碳數1以上50以下之結合連結子，C為式(iic)表示之炔衍生物，式(iic)中，X為N-**，Y為CHR_k，R_k為氫原子，R_f與R_g一起而形成苯環，R_h與R_i一起而形成苯環，**為與B之鍵結部位的DO3A-PEG_t-DBCO衍生物。

【0065】式(ii)中，A為上述DOTAGA衍生物時，更佳B係La為包含醯胺鍵或硫脲鍵之碳數1以上50以下之結合連結子，s為0或1，s為1時，t為0以上30以下之整數，Lb為包含醯胺鍵或包含硫脲鍵之碳數1以上50以下之結合連結

子，C為式(iic)表示之炔衍生物，式(iic)中，X為N-**，Y為CHR_k，R_k為氫原子，R_f與R_g一起而形成苯環，R_h與R_i一起而形成苯環，**為與B之鍵結部位的DOTAGA-PEGt-DBCO衍生物。

【0066】鉈合劑與放射性核種之莫耳比率，以鉈合部/放射性核種計，下限較佳為10/1以上、更佳為100/1以上、又更佳為500/1以上；上限較佳為15000/1以下、更佳為10000/1以下、又更佳為7000/1以下；例如較佳為100/1以上7000/1以下之範圍、更佳為500/1以上7000/1以下之範圍。

【0067】錯合物形成反應，較佳於溶劑下進行。溶劑例如可使用水、生理食鹽水，或乙酸鈉緩衝液、乙酸銨緩衝液、磷酸緩衝液、磷酸緩衝生理食鹽水、參羥基甲基胺基甲烷緩衝液(Tris緩衝液)、4-(2-羥基乙基)-1-哌嗪乙烷磺酸緩衝液(HEPES緩衝液)，或四甲基銨乙酸緩衝液等之緩衝液等。

【0068】溶劑之液量不特別限定，就製造步驟中之實用性之觀點，於步驟(A)之開始時，下限係0.01mL以上、較佳為0.1mL以上、更佳為1.0mL以上、又更佳為10mL以上、又再更佳為100mL以上；上限較佳為1000mL以下、更佳為100mL以下、又更佳為10mL以下、又再更佳為1.0mL以下，例如為0.01mL以上100mL以下之範圍。

【0069】錯合物形成反應之反應液中的鉈合劑之濃度，就作為目標之鉈合劑之產率的觀點，分別獨立地，於

步驟(A)之開始時，下限較佳為 $0.001\mu\text{mol/L}$ 以上、更佳為 $0.01\mu\text{mol/L}$ 以上、又更佳為 $0.1\mu\text{mol/L}$ 以上、更佳為 $1\mu\text{mol/L}$ 以上；上限較佳為 $1000\mu\text{mol/L}$ 以下、更佳為 $100\mu\text{mol/L}$ 以下、又更佳為 $10\mu\text{mol/L}$ 以下，例如可列舉 $1\mu\text{mol/L}$ 以上 $100\mu\text{mol/L}$ 以下之範圍。

【0070】錯合物形成反應之溫度，例如可為室溫(25°C)、亦可為加熱條件下，就兼顧抑制鉗合劑之分解與提高錯合物之形成效率的觀點，下限較佳為 20°C 以上、更佳為 30°C 以上、又更佳為 35°C 以上、又再更佳為 37°C 以上、特佳為 45°C 以上；上限較佳為 150°C 以下、更佳為 120°C 以下、又更佳為 100°C 以下、又再更佳為 90°C 以下，例如較佳為 30°C 以上 100°C 以下之範圍、更佳為 35°C 以上 90°C 以下之範圍。

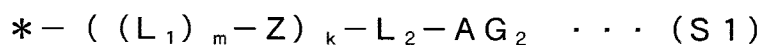
【0071】反應時間，以上述之反應溫度為條件，下限較佳為5分鐘以上、更佳為10分鐘以上、又更佳為20分鐘以上、又再更佳為30分鐘以上、特佳為45分鐘以上；上限較佳為180分鐘以下、更佳為150分鐘以下、又更佳為120分鐘以下、又再更佳為90分鐘以下、特佳為60分鐘以下，例如較佳為10分鐘以上150分鐘以下之範圍、更佳為10分鐘以上60分鐘以下之範圍。

【0072】步驟(B)所使用之抗體，為使用具有前述式(i)所示之抗體修飾胜肽，與可點擊反應之第2原子團的抗體修飾連結子(L_2)，而將上述「(1-2)抗體」之項目中詳述的人類化抗體之Fc區域(恆定區域)部位特異性地修飾而得

的胜肽修飾抗體。

【0073】抗體修飾胜肽，可藉由組合使用天然胺基酸及非天然胺基酸皆可的胺基酸，例如進行液相合成法、固相合成法、自動胜肽合成法、基因重組法及噬菌體展現法等之胜肽合成法而製造。胜肽之合成時，亦可依需要進行所使用之胺基酸的官能基之保護。此等例如可根據國際公開2017/217347號及國際公開2018/230257號記載之方法進行。

【0074】抗體修飾連結子(L₂)，亦可為抗體修飾胜肽與以下式(S1)表示之連結子經結合者。



(式中，*表示與胜肽之N末端或C末端之鍵結部位，

L₁為聚乙二醇(PEG)連結子部，

m為1以上50以下之整數，

Z為將(L₁)_m與L₂鍵結之第2連結子部，

k為0或1，

L₂為第2之PEG連結子部，

AG₂為第2原子團)。

【0075】前述式(S1)中，Z之結構，只要是將(L₁)_m與L₂彼此鍵結之連結子結構則不特別限定，例如可包含由1個以上5個以下之胺基酸殘基所構成的胺基酸序列。此時，Z中所含的胺基酸序列，較佳包含半胱胺酸殘基、更佳透過藉由半胱胺酸殘基之硫醇基與馬來醯亞胺基之鍵結所形成之硫化物基而與L₂鍵結。

【0076】本發明中，構成 L_2 之PEG連結子部，較佳具有以下式(P2)所示之結構。式(P2)中， n 為整數，較佳為1以上50以下、更佳為1以上20以下、又更佳為2以上10以下、又再更佳為2以上6以下。

【0077】

[化11]



【0078】PEG連結子部之結構的一端，亦可藉由源自市售之PEG化試藥的結構或源自PEG化時通常使用之試藥的結構而修飾，不特別限定，例如例示有源自二乙醇酸或其衍生物、馬來醯亞胺或其衍生物之結構。

【0079】前述第2原子團對抗體修飾連結子(L_2)之導入方法，可列舉藉由上述方法得到具有所期望之胺基酸序列的抗體修飾胜肽後，將該胜肽溶解於添加有溶解輔助劑及還原劑，以及依需要之酸的溶液中，於該溶液中添加作為第2原子團之含有疊氮化物基或反-環辛烯(TCO)之原子團的有機溶劑溶液，並藉由於室溫攪拌而導入之方法。

【0080】導入含有疊氮化物基之原子團作為第2原子團時，可使用市售之疊氮化物基導入試藥，遵照常規方法，對胜肽之N末端或C末端直接導入疊氮化物基，或者透過上述之連結子結構，導入含有疊氮化物基之原子團。

所使用之疊氮化物基導入試藥，例如可列舉矽烷基疊氮化物、磷酸疊氮化物、烷基銨疊氮化物、無機疊氮化物、磺醯基疊氮化物，或PEG疊氮化物等。

【0081】又，導入含有TCO之原子團作為第2原子團時，可使用含有TCO之市售的點擊化學用試藥，遵照常規方法，對胜肽之N末端或C末端直接導入TCO，或者透過上述之連結子結構，導入含有TCO之原子團。

【0082】使抗體修飾胜肽與去醣基化抗體結合而得到胜肽修飾抗體之方法，可根據國際公開2017/217347號之記載，例如使上述抗體修飾胜肽、去醣基化抗體、交聯劑與依需要之觸媒，在適當之緩衝液中分散而進行。此處，交聯劑可使用上述者。又，使抗體修飾胜肽與去醣基化抗體結合時，亦可依需要將含有去醣基化抗體之溶液，以超微過濾器等進行處理，實施1次或2次以上的於緩衝液中分散之緩衝液取代後，與抗體修飾胜肽結合。

【0083】本發明之抗體修飾胜肽，係結合於抗體例如IgG之Fc結構域。此時，本發明之抗體修飾胜肽，亦可稱為IgG結合胜肽。本揭示之IgG結合胜肽，於上述Xaa1中，接近於IgG Fc之特定區域、亦即人類IgGFc中遵照Eu編號之Lys248殘基或Lys246殘基、較佳為Lys248殘基所對應的Fc區域之離胺酸殘基。因此，藉由將本揭示之IgG結合胜肽之Xaa1以交聯劑修飾，並與IgG交聯反應，IgG結合胜肽之Xaa1，可於與上述離胺酸殘基所對應的本揭示之IgG Fc的離胺酸殘基之間部位特異性地形成交聯結構。

【0084】本揭示中，「交聯劑」係指用以將本揭示之IgG結合胜肽與IgG Fc藉由共價鍵而連結的化學物質。本揭示之交聯劑，只要是所屬技術領域中具有通常知識者即可適當選擇，可為具有至少2處之可與所期望之胺基酸殘基(例如離胺酸殘基、半胱胺酸殘基、天門冬胺酸殘基、麩胺酸殘基、2-胺基辛二酸，或二胺基丙酸，及精胺酸殘基等)結合的部位之化合物。雖非限定，其例子可列舉DSG(disuccinimidyl glutarate、二琥珀醯亞胺基戊二酸酯)、DSS(disuccinimidyl suberate、二琥珀醯亞胺基辛二酸酯)等之較佳含2個以上之琥珀醯亞胺基的交聯劑；DMA(dimethyl adipimidate·2HCl、己二醯亞胺酸二甲酯二鹽酸鹽)、DMP(dimethyl pimelimidate·2HCl、庚二醯亞胺酸二甲酯二鹽酸鹽)，及DMS(dimethyl suberimidate·2HCl、辛二醯亞胺酸二甲酯二鹽酸鹽)等之較佳含2個以上之醯亞胺酸部分的交聯劑，以及DTBP(dimethyl 3,3'-dithiobispropionimidate·2HCl、3,3'-二硫代雙丙醯亞胺酸二甲酯二鹽酸鹽)及DSP(dithiobis(succinimidyl propionate)、二硫代雙琥珀醯亞胺基丙酸酯)等之具有SS鍵結之交聯劑。

【0085】例如，DSS或DSG等之含琥珀醯亞胺基之交聯劑，會與離胺酸殘基之側鏈及多肽之N末端所存在的一級胺反應，因此可藉由將IgG結合胜肽之N末端封端後，與DSS或DSG反應，僅將離胺酸殘基之側鏈以DSS或DSG特異性地修飾。如此之胺基酸殘基與交聯劑之組合，只要

是所屬技術領域中具有通常知識者即可適當選擇。

【0086】IgG結合胜肽與本揭示之抗體之間的交聯反應，特別是可於IgG結合胜肽之上述Xaa1的胺基酸殘基，與人類IgG Fc中之EU編號Lys248或Lys246、較佳為Lys248之間部位特異性地產生。

【0087】該混合步驟之條件，只要係於本揭示之IgG結合胜肽與本揭示之抗體之間會產生交聯反應的條件下進行者則不特別限定。例如，可藉由將本揭示之IgG結合胜肽與本揭示之抗體，於適當之緩衝液中，於室溫(例如約15°C~30°C)進行混合來進行反應。該混合步驟，亦可依需要適量添加促進交聯反應之觸媒來進行。

【0088】作為一例，係至少添加含水的溶劑，來溶解本揭示之抗體。該溶劑，於水以外，例如可列舉二甲基亞砷、乙腈、生理食鹽水，或乙酸鈉緩衝液、乙酸銨緩衝液、磷酸緩衝液、磷酸緩衝生理食鹽水、Tris緩衝液、HEPES緩衝液，或四甲基銨乙酸緩衝液等之緩衝液等。使用緩衝液時，就抗體之安定性之觀點，於25°C之pH較佳為4.0以上10.0以下、更佳為5.5以上8.5以下。抗體之濃度，於交聯反應之開始時，較佳為下限1.0 $\mu\text{mol/L}$ 以上、上限1000 $\mu\text{mol/L}$ 以下，上限較佳為500 $\mu\text{mol/L}$ 以下。

【0089】接著，可添加經交聯劑修飾之IgG結合胜肽與依需要之觸媒，於10°C以上30°C以下使其分散來進行。

該混合步驟中之本揭示之IgG結合胜肽與本揭示之抗體的混合比率不特別限定。本揭示之IgG結合胜肽與本揭

示之抗體的莫耳比率，例如可為 1 : 1~20 : 1、較佳可為 2 : 1~20 : 1或 5 : 1~10 : 1。

【0090】 一較佳之態樣中，於上述混合步驟中，相對於本揭示之抗體而言，IgG 結合胜肽(莫耳比)可為 0.5~2.2、較佳可為 0.8~1.8來進行混合。藉此，可效率良好地得到一價之修飾抗體(亦即相對於抗體含有 1個 IgG 結合胜肽之複合體)。

【0091】 該混合步驟中之混合時間(反應時間)，只要本揭示之 IgG 結合胜肽與本揭示之抗體之間會產生交聯反應則不限定，例如可為 1分鐘~5小時、較佳可為 10分鐘~2小時。

【0092】 經過以上步驟所得之胜肽修飾抗體，為以任意比例含有對於去醣基化抗體 1分子鍵結有抗體修飾胜肽 1分子之抗體(以下稱「一價抗體」)，與對於去醣基化抗體 1分子鍵結有抗體修飾胜肽 2分子之抗體(以下稱「二價抗體」)的混合物，可將其直接進行以後之步驟，亦可藉由過濾濾器、膜濾器、填充有各種填充劑之管柱、各種層析等之方法，分離純化未修飾抗體、一價抗體與二價抗體後，僅將任一價數之抗體進行以後之步驟。

純化之結果，無法分離未修飾抗體與其他價數之抗體時，亦可作為含有此等之混合物而進行以後的步驟。

分離純化未修飾抗體、一價抗體與二價抗體時，可藉由上述任意之純化方法分離純化，可使用填充有各種填充劑之管柱，例如，可使用填充有使蛋白質 A、蛋白質 G或

上述之抗體修飾胜肽等之蛋白質結合於承載體而得的填充劑之管柱。如此之管柱中所填充的填充劑之承載體的形狀，可列舉凝膠(例如管柱用凝膠)、粒子、珠、奈米粒子、微粒子及大珠(macrobeads)等之形狀，承載體之材質，可列舉磁性物質、乳膠、瓊脂糖、玻璃、纖維素、Sepharese、硝基纖維素、聚苯乙烯、其他高分子材料。具體而言，可例示使上述之抗體修飾胜肽結合於管柱用凝膠而得的IgG-BP管柱(參照WO2021/080008)。

【0093】 使用該IgG-BP管柱，利用對抗體修飾胜肽之各自的相互作用之不同，可分別分離純化相對含有較多未修飾抗體及一價抗體的第一抗體組成物，與相對含有較多二價抗體的第二抗體組成物。第一抗體組成物，於一較佳態樣中，未修飾抗體與一價修飾抗體之莫耳比為4~47：53~96、較佳為4~30：70~96、更佳為4~20：80~96、又更佳為4~10：90~96。

經分離純化之第一抗體組成物或第二抗體組成物，可直接使用於以後的步驟(B)中之點擊反應、亦可於調節所含有的胜肽修飾抗體之蛋白質濃度後，使用於步驟(B)中之點擊反應。

【0094】 步驟(B)中之點擊反應，為於鉗合劑所具有的可點擊反應之第1原子團，與胜肽修飾抗體所具有的可點擊反應之第2原子團之間實行者。藉由該點擊反應，形成連結鉗合劑與抗體之結合基(可與抗體複合化之取代基)。

【0095】只要胜肽修飾抗體與步驟(A)所得之錯合物可進行點擊反應，則此等之添加順序不限定，例如可於容納溶劑之反應容器中，添加該錯合物及該胜肽修飾抗體之一方，接著添加另一方進行反應，亦可於將該錯合劑及該抗體之一方分散於溶劑而得的分散液中添加另一方來進行反應。或亦可於容納有溶劑之反應容器中同時添加此等來進行反應。

【0096】步驟(B)之點擊反應所用的溶劑，可使用含水之溶劑，例如可使用水、生理食鹽水，或乙酸鈉緩衝液、乙酸銨緩衝液、磷酸緩衝液、磷酸緩衝生理食鹽水、Tris緩衝液、HEPES緩衝液，或四甲基銨乙酸緩衝液等之緩衝液等。使用緩衝液時，就兼顧錯合物及抗體之安定性，與此等之結合效率的觀點，於25℃之pH較佳為4.0以上10.0以下、更佳為5.5以上8.5以下。

【0097】反應液量不特別限定，就製造步驟中之實用性之觀點，於步驟(B)之開始時，下限較佳為0.001mL以上、更佳為0.01mL以上、又更佳為0.1mL以上、又再更佳為1mL以上；上限較佳為1000mL以下、更佳為100mL以下、又更佳為10mL以下、又再更佳為1mL以下，例如較佳為0.001mL以上1000mL以下之範圍、更佳為0.1mL以上10mL以下之範圍。

【0098】又，錯合劑及抗體之反應液中之濃度，係分別獨立地，於步驟(B)之開始時，下限較佳為0.001 μ mol/L以上、更佳為0.01 μ mol/L以上、又更佳為0.1 μ mol/L以上、

又再更佳為 $1.0\mu\text{mol/L}$ 以上；上限較佳為 $1000\mu\text{mol/L}$ 以下、更佳為 $100\mu\text{mol/L}$ 以下，例如較佳為 $0.1\mu\text{mol/L}$ 以上 $1000\mu\text{mol/L}$ 以下之範圍，就目標之複合體的產量之觀點而言，更佳為 $1\mu\text{mol/L}$ 以上 $100\mu\text{mol/L}$ 以下之範圍。

【0099】就防止抗體之非意圖的變性，同時提高反應效率之觀點，步驟(B)中之點擊反應，反應溫度之上限較佳為 50°C 以下、更佳為 40°C 以下。又，反應溫度之下限，只要係反應進行的溫度則無特別限制，較佳為 15°C 以上。點擊反應之反應時間，以上述之反應溫度為條件，較佳為 5分鐘以上、更佳為 10分鐘以上；較佳為 24小時以下、更佳為 20小時以下，例如較佳為 5分鐘以上 24小時以下之範圍、更佳為 10分鐘以上 20小時以下之範圍。

【0100】所得之複合體，可直接予以使用，或可使用過濾濾器、膜濾器、填充有各種填充劑之管柱、層析等來純化。

【0101】藉由步驟(A)及(B)所製造之複合體，為抗去醣基化抗體之Fc區域的離胺酸殘基經鉗合劑特異性地修飾者。該複合體，相對於該抗體1分子，具備前述鉗合劑1分子或2分子。鉗合劑係透過連結子(L)，將本發明之抗體之Fc區域予以部位特異性地修飾。該連結子(L)，係由連接於鉗合劑之鉗合連結子(L_2)、連接於該連結子(L_2)之第1原子團、可與第1原子團進行點擊反應的第2原子團、連接於第2原子團之抗體修飾連結子(L_1)(包含上述式(i)表示之抗體修飾胜肽)所構成。因此，該連結子(L)，具有源自第1原

子團與第2原子團之化學結構。如此之化學結構，可認為有前述式(10a)或(10b)表示之含三唑骨架之結構或前述式(10c)表示之含噁嗪骨架之結構。式(10a)與式(10b)處於異構物之關係，故能夠以任意比例被含有。

【0102】

(1-7)放射性醫藥

放射性醫藥係指含有本發明之複合體，且成為適於對於對象之生物體內投予的形態之組成物。放射性醫藥，例如可將以上述(1-6)所示方法所製造的複合體直接，或將其純化後，溶解於以水為主體且與生物體呈大致等張的溶劑中來製造。此時，放射性醫藥較佳為水溶液之形態，亦可依需要，含有藥學上容許的其他成分。放射性醫藥，係將其有效量經口性地，或於靜脈內、皮下、腹腔內或肌肉內等之非經口性地對生物體投予，而用於癌之治療、癌之診斷，或病灶的檢測等。

此處，投予對象係人類，或小鼠、大鼠、猴子、天竺鼠、黑猩猩、綿羊、山羊、狗、貓、豬、牛或馬等之動物，但不特別限定。較佳為人類。

對象疾病係依所用之抗體之特性來決定，抗HER2抗體的情況，可列舉HER2過剩表現之疾病。具體而言，可列舉確認到HER2過剩表現之乳癌或確認到HER2過剩表現之無法治癒切除的晚期/復發之胃癌等。抗EGFR抗體的情況，可列舉EGFR過剩表現之疾病。具體而言，可列舉無法切除之晚期/復發大腸癌或頭頸部癌等。抗CD20抗體的

情況，可列舉 CD20 過剩表現之疾病。具體而言，可列舉 CD20 陽性之 B 細胞性非何杰金氏淋巴瘤、免疫抑制狀態下之 CD20 陽性之 B 細胞性淋巴增殖性疾病、韋格納氏肉芽腫症、顯微多血管炎、難治性之腎病症候群、腎移植/肝移植時之 ABO 血型不相容移植中的抗體相關型排斥反應之抑制等。

【0103】此處之「有效量」，係指可得到於投予對象之診斷上或治療上有效的效果之量。應對於對象投予之有效量，係依對象之種類、對象之體重、所投予之劑型(錠劑、注射劑等)及路徑(經口投予、非經口投予等)，及疾病(例如癌)之嚴重度等而異。醫師或獸醫師可考慮該等之因子，來決定適當之有效量。

【0104】藉由選擇作為放射性金屬核種而具有治療效果者，具體而言係釋出 α 射線之核種或釋出 β 射線之核種(較佳為 Ac-225、Y-90、Lu-177；更佳為 Ac-225)，本發明之放射性醫藥可使用於癌之放射線內用療法。該放射線內用療法中，可將本發明之放射性醫藥進行靜脈注射或經口投予，於如癌原發病灶或轉移病灶般的病灶部位使本發明之放射性複合體累積，並藉由自放射性金屬核種釋出的放射線，破壞病灶部位之癌細胞。本發明之放射性醫藥之投予量、用量，係依有效成分之有效性、投予之形態/路徑、癌之進行期數、患者之體型/體重/年齡、合併使用的其他疾病之治療藥的種類或量而適當選擇。

【0105】又，作為放射性金屬核種，藉由選擇釋出正

子之放射性核種或釋出 γ 射線之放射性核種(較佳為 Zr-89)，可使用於癌的診斷或病灶之檢測。使用釋出正子之放射性核種的放射性醫藥之情況時，可適合地使用於 PET(Positron Emission Tomography)檢查，使用釋出 γ 射線之放射性核種的放射性醫藥之情況時，可適合地使用於 SPECT(Single Photon Emission Computed Tomography)檢查。亦可將其合併使用於上述癌之放射線內用療法中的癌之診斷或病灶之檢測。本發明之癌之診斷用放射性醫藥，可於進行癌之放射線內用療法之前的診斷中使用、亦可於進行癌之放射線內用療法之後的診斷中使用。藉由於進行癌之放射線內用療法之前的診斷中使用，可用於判斷是否實行使用具備釋出 α 射線之金屬核種的本發明之放射性醫藥的癌之放射線內用療法之治療選擇。又，藉由於進行癌之放射線內用療法之後的診斷中使用，可用於判定有無使用了本發明之放射性醫藥的癌之放射線內用療法的效果，或投予量之增減等之治療計畫的最適化。

【0106】

(2)複合體 2

作為別的一實施態樣，本發明提供一種複合體，其係鉗合有放射性核種之鉗合劑與經去醮基化的抗體之複合體，其中上述放射性核種為 α 射線核種。

【0107】本發明之複合體中，鉗合劑可將抗體隨機地修飾，此時，較佳具備抗體 1 分子以上 8 分子以下。

將抗體隨機地修飾時，於鉗合劑或連結子與抗體之接

合步驟中，係使用各種之抗體之化學修飾法。具體而言，可列舉(a)~(e)之方法。

(a)胺偶合法(使用具備經N-羥基琥珀醯亞胺(NHS)基活性化的羧基之鉗合劑或鉗合將抗體之離胺酸殘基的胺基修飾之方法)、

(b)對藉由將位於抗體之絞鏈部位的多肽鏈間之雙硫鍵(SS鍵)部分還原所產生之氫硫(SH)基，以具備對SH基具有反應性之馬來醯亞胺基的鉗合劑或連結子修飾之方法、

(c)對藉由以基因工程所進行的胺基酸變異而對抗體新導入之半胱胺酸，以具備馬來醯亞胺基之鉗合劑或連結子進行修飾之方法、

(d)對藉由以基因工程所進行的胺基酸變異而對抗體新導入之疊氮化物化離胺酸的疊氮化物基，利用點擊反應以具備炔(例如二苄基環辛炔：DBCO)之鉗合劑或連結子進行修飾之方法、

(e)對利用轉麩醯胺酸酶於抗體之特定位置導入的麩醯胺，以具有離胺酸之側鏈的鉗合劑或連結子進行修飾之方法。

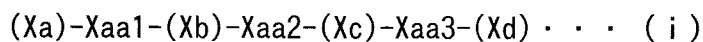
【0108】除了鉗合劑中之放射性核種為 α 射線核種，且鉗合劑可將抗體隨機地修飾以外，係適用與上述「(1)複合體1」相同之定義。

【0109】以下態樣亦包含於本發明之技術思想中。

(1)一種複合體，其係鉗合有放射性核種之鉗合劑與經去醯基化的抗體之複合體，其中

該鉗合劑係透過連結子，將前述抗體之Fc區域予以部位特異性地修飾。

(2)如(1)之複合體，其中該連結子包含以下述式(i)表示之由13個以上17個以下之胺基酸殘基所構成的抗體修飾胜肽；



(式中，Xa、Xb、Xc及Xd係分別表示連續的a個X、連續的b個X、連續的c個X，及連續的d個X，

X為側鏈不具有硫醇基及鹵乙醯基之胺基酸殘基，

a、b、c及d係分別獨立地為1以上5以下之整數，且滿足 $a+b+c+d \leq 14$ ，

Xaa1及Xaa3係分別獨立地

表示源自側鏈具有硫醇基之胺基酸的胺基酸殘基，且透過雙硫鍵鍵結或硫化物基透過連結子而鍵結，或

一方表示源自側鏈具有硫醇基之胺基酸的胺基酸殘基，另一方表示源自側鏈具有鹵乙醯基之胺基酸的胺基酸殘基，且透過硫醚鍵而鍵結，

Xaa2為離胺酸殘基、精胺酸殘基、半胱胺酸殘基、天門冬胺酸殘基、麩胺酸殘基、2-胺基辛二酸，或二胺基丙酸)。

(3)如(2)之複合體，其中該抗體修飾胜肽，於前述式(i)中，Xaa2為離胺酸殘基。

(4)如(2)或(3)之複合體，其中該抗體修飾胜肽包含由序列編號2(惟，Xaa2為離胺酸殘基)表示之胺基酸序列所

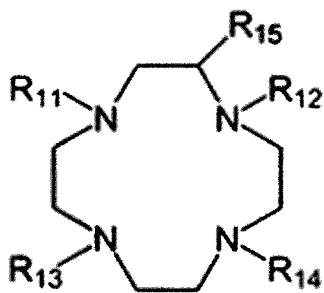
構成的抗體修飾胜肽。

(5)如(1)~(4)中任一項之複合體，其中該鉗合劑，具有源自下述式(A)表示之化合物或其鹽的結構；

【0110】

[化12]

(A)



【0111】

(式(A)中， R_{11} 、 R_{13} 及 R_{14} 係分別獨立地，為由 $-(CH_2)_pCOOH$ 、 $-(CH_2)_pC_5H_5N$ 、 $-(CH_2)_pPO_3H_2$ 、 $-(CH_2)_pCONH_2$ 或 $-(CHCOOH)(CH_2)_pCOOH$ 所構成之基， R_{12} 或 R_{15} 之一方為氫原子、羧基，或碳數2或3之羧基烷基，另一方為用以與前述抗體複合化之取代基， p 為0以上3以下之整數， R_{12} 為用以與前述抗體複合化之取代基時， R_{15} 為氫原子， R_{12} 並非用以與前述抗體複合化之取代基時， R_{15} 為用以與前述抗體複合化之取代基)。

(6)如(1)~(5)中任一項之複合體，其中該連結子具有以點擊反應所形成之結合基。

(7)如(1)~(6)中任一項之複合體，其中該放射性金屬核種為Ac-225、Y-90、Lu-177或Zr-89。

(8)一種複合體，其係鉈合有放射性核種之鉈合劑與經去醣基化的抗體之複合體，其中

該放射性核種為釋出 α 射線之核種。

(9)如(8)之複合體，其中釋出 α 射線之核種為Ac-225。

(10)如(1)~(9)中任一項之複合體，其中該經去醣基化的抗體為人類IgG抗體。

(11)如(1)~(10)中任一項之複合體，其中去醣基化係藉由N型醣鏈之切斷而進行。

(12)如(11)之複合體，其中N型醣鏈之切斷係藉由以PNGaseF之處理而進行。

(13)一種放射性醫藥，其含有如(1)~(12)中任一項之複合體作為有效成分。

(14)如(13)之放射性醫藥，其係使用於癌之RI內用療法。

(15)如(13)之放射性醫藥，其係使用於癌之診斷。

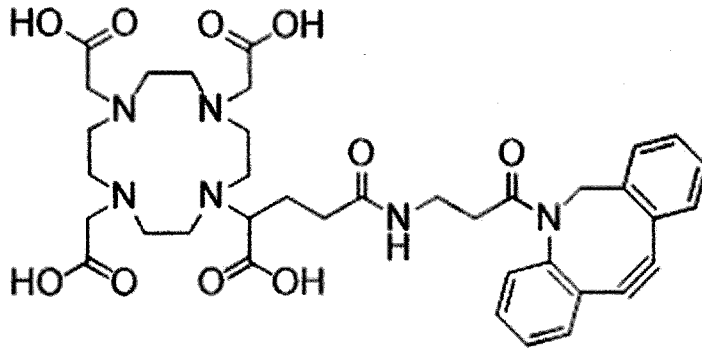
(16)一種如(1)~(12)中任一項之複合體之製造方法，其包含使鉈合有放射性核種之鉈合劑與經去醣基化的抗體複合化，而生成該鉈合劑與該抗體之複合體之複合化步驟。

(17)如(16)之製造方法，其中該複合化步驟係藉由實行點擊反應而實施。

(18)如(17)之製造方法，其中該複合化步驟，係藉由使該抗體，與下述式表示之DOTAGA-DBCO之放射性金屬錯合物進行點擊反應而實施。

【 0112 】

[化13]



DOTAGA-DBCO

[實施例]

【 0113 】 以下，藉由實施例更詳細說明本發明。但是本發明之範圍不限制於該實施例。

【 0114 】

[實施例 1] 使用 ^{89}Zr 標識 DOTAGA-DBCO 的去醣基化抗體 - RI 接合體 (conjugate) 之製造

(1. 抗體組成物之製造) (步驟 1)

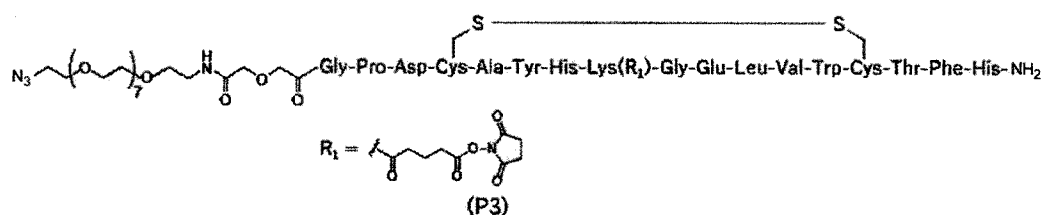
(1-1. 抗體修飾連結子之製造)

藉由國際公開 2017/217347 號記載之方法，得到下述 (P3) 表示之含有 17 個胺基酸殘基之胜肽 (序列編號 19)。該胜肽之胺基酸序列，係與序列編號 2 之 Xaa2 為離胺酸殘基的序列相同，離胺酸殘基之側鏈末端胺基係經 R_1 表示之結構修飾。又，2 個之半胱胺酸殘基彼此進行雙硫鍵結，胜肽之 N 末端係透過具有二乙醇酸及 8 個 PEG 之連結子 (L1) 結

構，作為第2原子團之包含疊氮化物基之原子團，而鍵結有乙基疊氮化物者。

【0115】

[化14]



【0116】 (式(P3)中，Lys表示離胺酸、Gly表示甘胺酸、Pro表示脯胺酸、Asp表示天門冬胺酸、Cys表示半胱胺酸、Ala表示丙胺酸、Tyr表示酪胺酸、His表示組胺酸、Glu表示麩胺酸、Leu表示白胺酸、Val表示纈胺酸、Thr表示蘇胺酸、Trp表示色胺酸、Phe表示苯丙胺酸)。

【0117】

(1-2.以抗體修飾連結子所進行之抗體之修飾)

根據國際公開2017/217347號記載之方法，使上述之胜肽DSG(二琥珀醯亞胺基戊二酸酯)進行反應。將所得之含有DSG修飾胜肽之溶液，與含有以J.Nucl.Med.2019,60,1174記載之方法所得到的藉由PNGaseF而經去醣基化的抗體(Trastuzumab)的溶液，混合於0.02mol/L乙酸/乙酸鈉緩衝液(pH6.0)，於室溫反應60分鐘，得到含有胜肽修飾抗體之溶液。該胜肽修飾抗體，為藉由上述之胜肽，而將抗體之Fc區域部位特異性地修飾者。

【 0118】

(1-3.一價抗體之分離純化)

接著，於IgG-BP管柱進行通液，得到含有相對較多未標識抗體及一價抗體之第一抗體組成物。以所回收之區分中所含的一價抗體之濃度成為15mg/mL的方式以含有0.1mol/L氯化鈉之0.02mol/L磷酸緩衝液(pH6.0)調整濃度。將所得之含有第一抗體組成物之溶液進行後述之標識步驟。

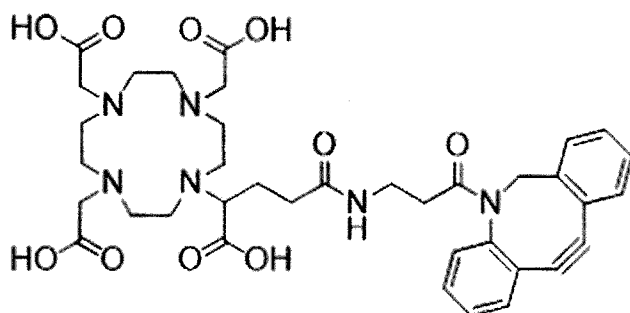
【 0119】

(2.錯合物形成步驟)(步驟2)

基於Chem.Eur.J.2012,18,7834-7841記載之方法製造下述式表示之DOTAGA-DBCO。將DOTAGA-DBCO分散於作為溶劑之0.156mol/L乙酸鈉緩衝液(pH5.5)，作為含有鉈合劑0.3mmol/L之分散液。將混合有該分散液0.03mL、含0.15mol/L龍膽酸之0.156mol/L乙酸鈉緩衝液(pH5.5)0.03mL，與作為放射性金屬源之含 ^{89}Zr 離子之溶液(將以 $^{89}\text{Y}(p,n)^{89}\text{Zr}$ 法所生成的 ^{89}Zr 調整為0.1mol/L鹽酸水溶液、放射能濃度910MBq/mL，液量0.03mL)27.3MBq之反應液，於加熱條件下反應，得到 ^{89}Zr 錯合物溶液。鉈合劑與放射性金屬離子之莫耳比率，為鉈合劑： ^{89}Zr 離子=約1500：1，反應液之加熱溫度為70℃、加熱時間為1小時。

【 0120】

[化15]



DOTAGA-DBCO

【0121】以如下方法測定所得 ^{89}Zr 錯合物之放射化學的純度。亦即將 ^{89}Zr 錯合物溶液之一部分以薄層層析(Agilent公司製、型號：SGI0001、展開溶劑為乙腈：0.1mol/L EDTA溶液(pH5.0)之混合液(體積比1：1))展開，之後，以放射性 $-\gamma$ -TLC分析器(raytest製、MODEL GITA Star)測定。將相對於所檢測之全放射能(計數)而言，於原點附近所檢測之波峰的放射能(計數)之百分率作為 ^{89}Zr 錯合物之標識率(%)。其結果， ^{89}Zr 錯合物之標識率為96.0%。此處，標識率(%)意指相對於於錯合物形成步驟中給入的放射能而言， ^{89}Zr 錯合物之放射能。將所得之 ^{89}Zr 錯合物溶液直接用於標識步驟。

【0122】

(3.標識步驟)(步驟3)

於經上述步驟2所得之未純化的 ^{89}Zr 錯合物之溶液中，添加上述步驟1所得之含胜肽修飾抗體(一價抗體)之溶液，於 37°C 進行2小時點擊反應，得到 ^{89}Zr 錯合物標識抗體。反應時之DBCO基與疊氮化物基之莫耳比為約1：

2.4。未純化時之 ^{89}Zr 錯合物標識抗體之反應率(%)為89.9%。此處，反應率(%)意指相對於在錯合物形成步驟中之標識率(%)而言， ^{89}Zr 錯合物標識抗體之放射化學的純度(RCP)(%)。

進一步地，將於37°C反應2小時所得之 ^{89}Zr 錯合物標識抗體之溶液，使用超微過濾濾器(Merck公司製、型號：UFC505096)進行純化。純化後之 ^{89}Zr 錯合物標識抗體之RCP為96.5%、放射化學的產率(RCY)為66.7%。

【0123】

(4.製劑化步驟)(步驟4)

將上述步驟3所製造之 ^{89}Zr 錯合物標識抗體分別抽取一部分到5mL微量離心管(LoBind、Eppendorf公司製)，以保存緩衝液(含有84mg/L PS20之19g/L海藻糖水合物、470mg/L L-組胺酸鹽酸鹽、300mg/L L-組胺酸水溶液)稀釋。

【0124】

[比較例1]使用 ^{89}Zr 標識DOTAGA-DBCO的與抗體(未經去醣基化)之複合體之製造

【0125】

(1.抗體配製步驟)(步驟1)

抗體係使用未經去醣基化之Trastuzumab。抗體修飾連結子係使用與實施例1記載的相同者，一價抗體之分離純化亦與實施例1同樣地實施。

【0126】

(2.錯合物形成步驟)(步驟2)

將 DOTAGA-DBCO 分散於作為溶劑之 0.156mol/L 乙酸钠緩衝液 (pH5.5)，作為含鉍合劑 0.3mmol/L 之分散液。將混合有該分散液 0.03mL、含 0.15mol/L 龍膽酸之 0.156mol/L 乙酸钠緩衝液 (pH5.5) 0.03mL，與作為放射性金屬源之含 ^{89}Zr 離子之溶液 (將以 $^{89}\text{Y}(p,n)^{89}\text{Zr}$ 法所生成的 ^{89}Zr 調整為 0.1mol/L 鹽酸水溶液、放射能濃度 890MBq/mL，液量 0.03mL) 26.7MBq 的反應液，於加熱條件下反應，得到 ^{89}Zr 錯合物溶液。鉍合劑與放射性金屬離子之莫耳比率，為鉍合劑： ^{89}Zr 離子=約 1500：1，反應液之加熱溫度為 70°C、加熱時間為 1 小時。

【0127】與實施例 1 同樣地測定所得 ^{89}Zr 錯合物之放射化學的純度。其結果， ^{89}Zr 錯合物之標識率為 97.7%。將所得之 ^{89}Zr 錯合物溶液直接用於標識步驟。

【0128】

(3.標識步驟)(步驟3)

於經上述步驟 2 所得之未純化的 ^{89}Zr 錯合物溶液中添加含有與實施例 1 同樣方式所得到的胜肽修飾抗體 (一價抗體) 之溶液，於 37°C 進行 2 小時點擊反應，得到 ^{89}Zr 錯合物標識抗體。反應時之 DBCO 與疊氮化物之莫耳比為約 1：2.4。未純化時之 ^{89}Zr 錯合物標識抗體之反應率 (%) 為 88.9%。

進一步地，將於 37°C 反應 2 小時所得之 ^{89}Zr 錯合物標識抗體之溶液，使用超微過濾濾器 (Merck 公司製、型號：

UFC505096)進行純化。純化後之⁸⁹Zr錯合物標識抗體之RCP為97.1%、RCY為73%。⁸⁹Zr錯合物標識抗體之RCP及RCY之測定方法係與實施例1同樣地進行。

【0129】

(4.製劑化步驟)(步驟4)

將上述步驟3所製造之⁸⁹Zr錯合物標識抗體分別抽取一部分到5mL微量離心管(LoBind、Eppendorf公司製)，以保存緩衝液(含有84mg/L PS20之19g/L海藻糖水合物、470mg/L L-組胺酸鹽酸鹽、300mg/L L-組胺酸水溶液)稀釋。

【0130】

[評價1]凝集體之比例

以尺寸篩除層析(SEC)確認⁸⁹Zr錯合物標識抗體中所含有的凝集體之比例。液體層析裝置係使用Water公司製之2695型分離模組或e2695型分離模組，UV檢測器係使用Waters公司製之2489型UV/Vis檢測器，以下述條件進行分析。製造結束後之各成分之比例示於表1。

【0131】

[表1]

評價化合物	主波峰之比例(%)	凝集體之波峰比例(%)
⁸⁹ Zr錯合物標識去醮基化抗體	92.12	0.36
⁸⁹ Zr錯合物標識抗體	92.81	0.41

【0132】

[HPLC條件]

管柱：TOSOH TSKgel guard column SWXL(6mm×4cm),TOSOH TSKgel G3000SWXL(5μm、7.8×30cm)×2支(直列)

管柱溫度：25℃附近之一定溫度

移動相：含有0.2mol/L精胺酸鹽酸鹽之0.1mol/L磷酸緩衝液(pH6.8)

流量：每分鐘 1.0mL

面積測定範圍：30分鐘

檢測波長：280nm

【0133】

[評價2]對抗原之結合性

對抗原之結合活性係以in vitro自放射顯影術(ARG)確認。將由ATCC(American Type Culture Collection)購入之HER2陽性之人類卵巢癌細胞株SKOV3細胞及HER2陰性之人類乳癌細胞株MDA-MB-231細胞對雌性SCID Beige小鼠(日本Charles River)之側腹皮下分別投予 5×10^6 cells製作荷癌小鼠。之後，將SKOV3腫瘤及MDA-MB-231腫瘤摘出，包埋於Tissue-Tech O.C.T.Compound(Sakura Finetek Japan)製作冷凍切片。於含1%牛血清白蛋白之PBS中分別添加實施例1及比較例1所得之放射性複合體使成為5kBq/mL，浸漬SKOV3腫瘤切片及MDA-MB-231腫瘤切片。使切片接觸於成像板後，以掃描器型影像解析裝置(GE Healthcare Japan製、Typhoon FLA 7000)讀取，評價結合於切片之放

射能。結果示於圖 1。圖中之縱軸，表示於組織中設定任意之感興趣區域(ROI)，定量其每單位面積之強度，除以標準線源 Std.之強度之值(標準線源：浸漬切片之含放射性複合體之溶液 5 μ L液點(spot))。ROI係於組織中設定 10個，取其標準差。

遵照實施例 1 及比較例 1 之記載所製造的任意放射性複合體，均確認到對 HER2 之結合活性。遵照實施例 1 及比較例 1 之記載所製造之放射性複合體，更強烈結合於 HER2 陽性之 SKOV3 腫瘤切片，不結合於 HER2 陰性之 MDA-MB-231 腫瘤切片，顯示出 HER2 選擇性的結合。

另一方面，不管是切斷了醣鏈之抗體還是未切斷之抗體，對 HER2 之結合能力並無不同。

【 0134 】

[評價 3]體內分布評價

使用小鼠，製作 SKOV3 細胞之皮下荷癌之模式，確認遵照實施例 1 及比較例 1 之記載所製造的放射性複合體於生物體內對各組織之分布。將 SKOV3 細胞懸浮於含 50% Matrigel 之 PBS，對 5 週齡之雌性 NSG(正式系統名：NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ) 小鼠(日本 Charles River)之左鼠蹊部皮下移植 5 \times 10⁶ cells 而製作荷癌小鼠。飼育荷癌小鼠至腫瘤體積約成為 50~200mm³，將遵照實施例 1 或比較例 1 之記載所製造之放射性複合體以 0.5~0.6MBq/隻(各 n=3)之用量對尾靜脈內投予。各放射性複合體之投予 24、48 及 120 小時後，於異氟烷麻醉下從心臟進行採血，

採取心臟、肺、肝臟、脾臟、胰臟、胃、小腸、大腸、腎臟、膀胱、大腿肌、大腿骨、皮膚、腫瘤，將其以外之組織作為剩餘全身而回收。經投予各放射性複合體之小鼠，至解剖時間點為止係以代謝籠飼育，採取糞及尿。測定所採取之各組織、血液之重量，以 γ 射線閃爍測定裝置(JDC-1712，日立製作所)測定各組織、血液、糞及尿之計數率。由所得之組織重量及計數率，算出每單位重量之累積率(%ID/g)。結果示於圖2。

【0135】遵照實施例1所製造之 ^{89}Zr 標識去醣基化抗體，相較於遵照比較例1之記載所製造之 ^{89}Zr 標識醣鏈未處理抗體(未經去醣基化之抗體)而言，於任意時間點，於網狀內皮組織之肝臟及脾臟中累積量均為低(圖3)。又，於血液中滯留之抗體量，於任意時間點， ^{89}Zr 標識去醣基化抗體均多於 ^{89}Zr 標識醣鏈未處理抗體，腫瘤累積性為 ^{89}Zr 標識去醣基化抗體較高的結果。

【0136】

[實施例2]使用 ^{225}Ac 標識DOTAGA-DBCO之去醣基化抗體-RI接合體之製造

(1.去醣基化抗體配製步驟)(步驟1)

使用實施例1記載之去醣基化抗體與抗體修飾連結子，以抗體修飾連結子進行抗體之修飾，進一步地將以實施例1記載的一價抗體之分離純化法所得之含有第一抗體組成物之溶液，進行後述之標識步驟。

(2.錯合物形成步驟)(步驟2)

使 DOTAGA-DBCO 分散於作為溶劑之 0.156mol/L 乙酸钠緩衝液 (pH5.5)，作為含有鉀合劑 0.3mmol/L 之分散液。使混合有該分散液 0.080mL、0.2mol/L 鹽酸水溶液 0.034mL，與作為放射性金屬源之含 ^{225}Ac 離子之溶液 (0.2mol/L 鹽酸水溶液、放射能濃度 157MBq/mL、由 ROSATOM 製所配製、液量 0.006mL) 0.94MBq 的反應液於加熱條件下反應，得到 ^{225}Ac 錯合物溶液。此時之鉀合劑與放射性金屬離子之莫耳比率，為鉀合劑： ^{225}Ac 離子 = 約 12304：1，反應液之加熱條件為 70°C、加熱時間為 30 分鐘。

【0137】與實施例 1 同樣地測定所得之 ^{225}Ac 錯合物之放射化學的純度。其結果， ^{225}Ac 錯合物之標識率為 81%。由所得之 ^{225}Ac 錯合物溶液，將 0.04mL (300kBq、配位子 8nmol 分) 用於標識步驟。

【0138】

(3. 標識步驟)(步驟 3)

於經過上述步驟 2 所得到的未純化之 ^{225}Ac 錯合物之溶液中添加步驟 1 所得之含有胜肽修飾抗體 (一價抗體) 之溶液 0.117mL，於 37°C 進行 1.5 小時點擊反應，得到 ^{225}Ac 錯合物標識抗體。反應時之 DBCO 與疊氮化物之莫耳比為約 1：1.5。未純化時之 ^{225}Ac 錯合物標識抗體之反應率為 77.6%。

進一步地，將所得之 ^{225}Ac 錯合物標識抗體之溶液使用超微過濾濾器 (Merck 公司製、型號：UFC505096) 純化。純化後之 ^{225}Ac 錯合物標識抗體之 RCP 為 99.4%、RCY 為

62.0%。 ^{225}Ac 錯合物標識抗體之RCP及RCY之測定，係以與實施例1相同之方法進行。

【0139】

(4.製劑化步驟)(步驟4)

將上述步驟3所製造之 ^{225}Ac 錯合物標識去醣基化抗體與實施例1同樣地以保存緩衝液稀釋。

【0140】

[比較例2]使用 ^{225}Ac 標識DOTAGA-DBCO之與抗體(未經去醣基化)之複合體之製造

(1.抗體配製步驟)(步驟1)

使用比較例1記載之未經去醣基化之抗體與抗體修飾連結子，以抗體修飾連結子進行抗體之修飾，進一步地，將以實施例1記載的一價抗體之分離純化法所得之含有第一抗體組成物之溶液進行後述之標識步驟。

(2.錯合物形成步驟)(步驟2)

使DOTAGA-DBCO分散於作為溶劑之0.156mol/L乙酸鈉緩衝液(pH5.5)，作為含有鉈合劑0.3mmol/L之分散液。使混合有該分散液0.080mL、0.2mol/L鹽酸水溶液0.034mL，與作為放射性金屬源之含 ^{225}Ac 離子之溶液(0.2mol-/L鹽酸水溶液、放射能濃度157MBq/mL、由ROSATOM製配製、液量0.006mL)0.94MBq的反應液於加熱條件下反應，得到 ^{225}Ac 錯合物溶液。此時之鉈合劑與放射性金屬離子之莫耳比率，為鉈合劑： ^{225}Ac 離子=約12304：1，反應液之加熱條件為70℃、加熱時間為30分

鐘。

【0141】與實施例1同樣地測定所得 ^{225}Ac 錯合物之RCP。其結果， ^{225}Ac 錯合物之RCP為81%。由所得之 ^{225}Ac 錯合物溶液，將0.04mL(307kBq、配位子8nmol分)用於標識步驟。

【0142】

(3.標識步驟)(步驟3)

於經過上述步驟2所得到的未純化之 ^{225}Ac 錯合物之溶液中添加步驟1所得到的含有胜肽修飾抗體(一價抗體)之溶液0.137mL，藉由於37°C進行1小時點擊反應，得到 ^{225}Ac 錯合物標識抗體。反應時之DBCO與疊氮化物之莫耳比為約1:1.7。未純化時之 ^{225}Ac 錯合物標識抗體之反應率為79.8%。

進一步地，將於37°C反應2小時所得之 ^{225}Ac 錯合物標識抗體之溶液使用超微過濾濾器(Merck公司製、型號：UFC505096)純化。純化後之 ^{225}Ac 錯合物標識抗體之RCP為99.7%、RCY為60.9%。 ^{225}Ac 錯合物標識抗體之RCP及RCY之測定，係與實施例1同樣地進行。

【0143】

(4.製劑化步驟)(步驟4)

將上述步驟3所製造之 ^{225}Ac 錯合物標識抗體與比較例1同樣地以保存緩衝液稀釋。

【0144】

[評價4]凝集體之評價

以動態光散射法(DLS)確認²²⁵Ac錯合物標識抗體中是否含有凝集體。DLS測定裝置係使用WYATT公司製DynaPro NanoStar(製造編號：693-DPN)，以下述條件進行分析。製造結束後之平均粒子徑，於²²⁵Ac錯合物標識去醣基化抗體為10.6nm、於²²⁵Ac錯合物標識醣鏈未處理抗體為9.2nm。均為抗體之平均的粒子徑9~12nm之範圍內，故未暗示出凝集等之進行。

【0145】

[DLS測定條件]

測定時間：5秒

測定間隔：1秒

測定次數：10次×3次

測定溫度：25℃

雷射波長：658nm

雷射輸出：10~100mW(可變)

【0146】

[評價5]對抗原之結合性

與評價2所記載之方法同樣地，製作SKOV3腫瘤及MDA-MB-231腫瘤之冷凍切片。於含1%牛血清白蛋白之PBS中分別添加實施例2及比較例2所得之放射性複合體，使成為1kBq/mL，浸漬SKOV3腫瘤切片及MDA-MB-231腫瘤切片。與評價2記載之方法同樣地，評價結合於切片之放射能，結果示於圖4。

遵照實施例2及比較例2之記載所製造之放射性複合

體，更強烈結合於HER2陽性之SKOV3腫瘤切片，不結合於HER2陰性之MDA-MB-231腫瘤切片，顯示出HER2選擇性的結合。另一方面，不管是切斷了醣鏈之抗體還是未切斷之抗體，對HER2之結合能力並無不同。

【0147】

[評價6]使用 ^{225}Ac 錯合物標識抗體之藥效評價

使用小鼠製作SKOV3之皮下荷癌模式，確認遵照實施例2及比較例2之記載所製造的放射性複合體之抗腫瘤效果。

使SKOV3細胞懸浮於含50%Matrigel之McCoy's 5A培養基(gibco公司製)，對5週齡之雌性NSG小鼠(Jackson Laboratory Japan公司製)之右肩皮下投予 5×10^6 cells而製作荷癌小鼠。使成長至腫瘤體積約成為 $50 \sim 200 \text{mm}^3$ ，由適於腫瘤直徑測定之形狀的個體隨機實施分群。此時之各小鼠之腫瘤體積與體重係示於表2。腫瘤體積係遵照下式算出。

$$\text{腫瘤體積}(\text{mm}^3) = (\text{腫瘤長徑} \times (\text{腫瘤短徑})^2) \times 1/2$$

【0148】

[表2]

	腫瘤體積 平均值±標準差 (mm ³)	體重 平均值±標準差 (g)
放射性複合體(實施例2) 10kBq 投予群	121.6±19.1	18.9±1.0
放射性複合體(實施例2) 5kBq 投予群	106.0±26.4	18.9±1.1
放射性複合體(比較例2) 10kBq 投予群	107.2±11.6	18.8±1.3
放射性複合體(比較例2) 5kBq 投予群	101.7±17.4	18.6±1.1
Vehicle群	102.4±12.1	18.8±1.4

【0149】將²²⁵Ac錯合物標識抗體均以10kBq或5kBq/隻(以Trastuzumab計分別為約100μg/隻及約50μg/隻)之用量對尾靜脈內投予。又，作為控制群，係設定投予了保存緩衝液之Vehicle群。各群設為6隻，至投予後30日為止，經時地進行一般狀態之觀察、測量體重及腫瘤體積。體重低於投予日之體重的80%且運動量或攝食行動觀察到異常的個體，係適用人道終點而使其安樂死。腫瘤體積之經時的變化示於圖5、體重的經時的變化示於圖6、觀察期間中之存活個體數示於圖7。圖5之圖之縱軸表示腫瘤體積，橫軸表示投予各藥劑後的經過日數。圖係以各群之腫瘤體積的平均值±標準差表示。圖6之圖之縱軸表示小鼠之體重，橫軸表示投予各藥劑後的經過日數。圖7之圖之縱軸表示存活個體數、橫軸表示投予各藥劑後的經過日數。圖中之「*」表示藉由適用人道終點而使個體安樂死的時間點。

【0150】投予²²⁵Ac錯合物標識抗體之群，於投予後30日點，相較於Vehicle群，抗腫瘤效果觀察到差異。又，

於 10kBq 投予群、5kBq 投予群之任意者，均為投予實施例 2 所製造之抗體之群的平均腫瘤體積小於比較例 2 所製造之抗體，因此暗示了經去醣基化之抗體顯示出較強的抗腫瘤效果。

【0151】又，因體重或運動量之減少而適用人道終點之個體，於投予實施例 2 所製造之抗體之群中合計為 1 隻，相對於此，投予比較例 2 所製造之抗體之群中合計為 5 隻。由此結果，暗示了藉由將抗體去醣基化，可減低體重或運動量減少等的副作用。

【0152】

[實施例 3] 使用 ^{89}Zr 標識 DOTAGA-DBCO 之去醣基化抗體 - RI 接合體之製造 - 2

(1. 抗體配製步驟)(步驟 1)

抗體係使用經去醣基化之西妥昔單抗(Cetuximab)。抗體修飾連結子係使用與實施例 1 記載的相同者，一價抗體之分離純化亦與實施例 1 同樣地實施。

(2. 錯合物形成步驟)(步驟 2)

除了使錯合物形成時之放射能成為 87.7MBq 以外，係與實施例 1 同樣地實施。

與實施例 1 同樣地測定所得 ^{89}Zr 錯合物之 RCP。其結果， ^{89}Zr 錯合物之 RCP 為 97.8%。由所得之 ^{89}Zr 錯合物溶液，將 0.03mL(25.9MBq、配位子 3nmol 分)用於標識步驟。

【0153】

(3. 標識步驟)(步驟 3)

作為抗體係使用經去醣基化之西妥昔單抗，且將反應時之 DBCO 與疊氮化物之莫耳比設為約 1：1.2，除此以外係與實施例 1 同樣地實施。未純化時之 ^{89}Zr 錯合物標識抗體之反應率為 56.1%。

進一步地，將所得到的 ^{89}Zr 錯合物標識抗體之溶液使用超微過濾濾器 (Merck 公司製、型號：UFC505096) 純化。純化後之 ^{89}Zr 錯合物標識抗體之 RCP 為 93.9%、RCY 為 46.6%。 ^{89}Zr 錯合物標識抗體之 RCP 及 RCY 之測定，係與實施例 1 同樣地進行。

【0154】

(4.製劑化步驟)(步驟 4)

將上述步驟 3 之 ^{89}Zr 錯合物標識去醣基化抗體抽取一部分到 5mL 微量離心管 (LoBind、Eppendorf 公司製)，以保存緩衝液 (含有 100mg/L PS20 之 5844mg/L 氯化鈉、7507mg/L 甘胺酸、2101mg/L 檸檬酸水合物水溶液)) 稀釋。

【0155】

[比較例 3] 使用 ^{89}Zr 標識 DOTAGA-DBCO 之與抗體 (未經去醣基化) 之複合體之製造 -2

(1.抗體配製步驟)(步驟 1)

抗體係使用未經去醣基化之西妥昔單抗。抗體修飾連結子係使用與實施例 1 記載的相同者，一價抗體之分離純化亦與實施例 1 同樣地實施。

(2.錯合物形成步驟)(步驟 2)

與實施例3同樣地實施。

與實施例1同樣地測定所得之 ^{89}Zr 錯合物之RCP。其結果， ^{89}Zr 錯合物之RCP為97.8%。由所得到的 ^{89}Zr 錯合物溶液，將0.03mL(28.7MBq、配位子3nmol分)用於標識步驟。

【0156】

(3.標識步驟)(步驟3)

作為抗體係使用未經去醮基化之西妥昔單抗，且將反應時之DBCO與疊氮化物之莫耳比設為約1:1.2，除此以外係與實施例1同樣地實施。未純化時之 ^{89}Zr 錯合物標識抗體之反應率為51.4%。

進一步地，將所得到的 ^{89}Zr 錯合物標識抗體之溶液使用超微過濾濾器(Merck公司製、型號：UFC505096)純化。純化後之 ^{89}Zr 錯合物標識抗體之RCP為93.8%、RCY為50.7%。 ^{89}Zr 錯合物標識抗體之RCP及RCY之測定係與實施例1同樣地進行。

【0157】

(4.製劑化步驟)(步驟4)

將上述步驟3之 ^{89}Zr 錯合物標識抗體(未經去醮基化)抽取一部分到5mL微量離心管(LoBind、Eppendorf公司製)，以保存緩衝液(含有100mg/L PS20之5844mg/L氯化鈉、7507mg/L甘胺酸、2101mg/L檸檬酸水合物水溶液)稀釋。

【0158】

[評價7]凝集體之比例

與評價1同樣地以SEC分析實施例3、比較例3所製造

之⁸⁹Zr錯合物標識抗體中所含有的凝集體之比例。HPLC條件係與評價1同樣地設定。製造結束後之各成分之比例係示於表3。

【0159】

[表3]

評價化合物	主波峰之比例 (%)	凝集體之波峰比例 (%)
⁸⁹ Zr 錯合物標識去醣基化抗體 (實施例3)	98.46	1.54
⁸⁹ Zr 錯合物標識抗體 (比較例3)	99.26	0.74

【0160】

[評價8]對抗原之結合性

與評價2記載之方法同樣地製作腫瘤之冷凍切片。惟，陽性切片係使用藉由NSG小鼠所製作之A431切片，作為陰性切片之代用，係使用以SCID Beige小鼠所製作之低表現切片的SNU-16切片。結果示於圖8。

遵照實施例3及比較例3之記載所製造之任意放射性複合體均確認到對EGFR之結合活性。⁸⁹Zr錯合物標識抗體係更強烈結合於EGFR陽性之A431腫瘤切片，對於EGFR低表現之SNU-16腫瘤切片顯示出較低的結合性，顯示了EGFR選擇性的結合。另一方面，不管是去醣基化抗體還是醣鏈未處理抗體，對EGFR之結合能力並無不同。

【0161】

[評價9]體內分布評價

與評價3同樣地，使用小鼠製作A431腫瘤之皮下移植

模式，確認遵照實施例3及比較例3之記載所製造的放射性複合體於生物體內對各組織之分布。將A431細胞懸浮於DMEM培養基(gibco公司製)，對5週齡之雌性NSG小鼠(Jackson Laboratory Japan公司製)之右肩皮下移植 5×10^6 cells，製作荷癌小鼠。飼育荷癌小鼠至腫瘤體積約成為 $50 \sim 200 \text{mm}^3$ ，將 ^{89}Zr 錯合物標識抗體分別以 $0.5 \sim 0.6 \text{MBq/}$ 隻(各群 $n=4$)之用量對尾靜脈內投予。各放射性複合體之投予24、48及120小時後，於異氟烷麻醉下由心臟進行採血，採取心臟、肺、脾臟、胰臟、胃、小腸、大腸、大腿肌、大腿骨、皮膚、腫瘤、腎臟、肝臟，其以外之組織係作為剩餘全身而回收。將投予各放射性複合體之小鼠，於代謝籠中飼育至解剖時間點為止，採取糞及尿。測定所採取之各組織、血液之重量，以 γ 射線閃爍測定裝置(JDC-1712、日立製作所)測定各組織、血液、糞及尿之計數率。由所得之組織重量及計數率，算出每單位重量之累積率(%ID/g)。結果示於圖9。圖之縱軸表示各組織之每單位重量之累積率。

【0162】遵照實施例3所製造之 ^{89}Zr 標識去醣基化抗體，相較於遵照比較例3之記載所製造之 ^{89}Zr 標識醣鏈未處理抗體而言，於作為網狀內皮組織的肝臟及脾臟中累積量較低(圖10)。又，於血液中滯留之抗體量，於任意的時間點， ^{89}Zr 標識去醣基化抗體均多於 ^{89}Zr 標識醣鏈未處理抗體，腫瘤累積性係 ^{89}Zr 標識去醣基化抗體為較高的結果。

【0163】本申請案係以在日本申請的日本特願2021-

141625(申請日：2021年8月31日)為基礎，該等之內容全部包含於本說明書中。

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"
nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3" fileName="7B9179中譯序列表
123.xml" softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.2.0"
productionDate="2023-02-07">
  <ApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>111132932</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2022-08-31</FilingDate>
  </ApplicationIdentification>
  <ApplicantFileReference>093295</ApplicantFileReference>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>JP</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>2021-141625</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2021-08-31</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">日商日本醫事物理股份有限公司</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>NIHON MEDI-PHYSICS CO., LTD</ApplicantNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">去醣基化抗體之放射性複合體，及放射性醫藥
</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>19</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier id="q1">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>antibody modifying peptide</INSDQualifier_value>
              <NonEnglishQualifier_value>抗體修飾胜肽</NonEnglishQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

```

</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>6</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q2">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>misc_feature - lysine, cystein, aspartic acid,
glutamic acid, 2-aminosuberic acid, or diaminopropionic
acid</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-離胺酸、半胱胺酸、天門冬
胺酸、麩胺酸、2-胺基辛二酸或二胺基丙酸</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q3">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DCAYHXGELVWCT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>

```

```

<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q4">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>antibody modifying peptide</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>抗體修飾胜肽</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q5">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>misc_feature - lysine, cystein, aspartic acid,
glutamic acid, 2-aminosuberic acid, or diaminopropionic
acid</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-離胺酸、半胱胺酸、天門冬
胺酸、麩胺酸、2-胺基辛二酸或二胺基丙酸</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q6">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>

```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GPDCAYHXGELVWCTFH</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 3" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q7">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>antibody modifying peptide</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>抗體修飾胜肽</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q8">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>misc_feature - lysine, cystein, aspartic acid,
glutamic acid, 2-aminosuberic acid, or diaminopropionic
acid</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-離胺酸、半胱胺酸、天門冬
胺酸、麩胺酸、2-胺基辛二酸或二胺基丙酸</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>

```

```

<INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q9">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RCAYHXGELVWCS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q10">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>antibody modifying peptide</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>抗體修飾胜肽</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q11">

```

```

    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>misc_feature - lysine, cystein, aspartic acid,
glutamic acid, 2-aminosuberic acid, or diaminopropionic
acid</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-離胺酸、半胱胺酸、天門冬
胺酸、麩胺酸、2-胺基辛二酸或二胺基丙酸</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q12">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GPRCAYHXGELVWCSEFH</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q13">

```

```

    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>antibody modifying peptide</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>抗體修飾胜肽</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q14">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>misc_feature - lysine, cystein, aspartic acid,
glutamic acid, 2-aminosuberic acid, or diaminopropionic
acid</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-離胺酸、半胱胺酸、天門冬
胺酸、麩胺酸、2-胺基辛二酸或二胺基丙酸</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q15">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SPDCAYHXGELVWCTFH</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

<SequenceData sequenceIDNumber=" 6" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q16">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>antibody modifying peptide</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>抗體修飾胜肽</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q17">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>misc_feature -lysine, cystein, aspartic acid,
            glutamic acid, 2-aminosuberic acid, or diaminopropionic
            acid</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-離胺酸、半胱胺酸、天門冬
            胺酸、麩胺酸、2-胺基辛二酸或二胺基丙酸</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData >

```

```

<INSDQualifier id="q18">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GDDCAYHXGELVWCTFH</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q19">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>antibody modifying peptide</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>抗體修飾胜肽</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q20">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>misc_feature - lysine, cystein, aspartic acid,
glutamic acid, 2-aminosuberic acid, or diaminopropionic
acid</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-離胺酸、半胱胺酸、天門冬
胺酸、麩胺酸、2-胺基辛二酸或二胺基丙酸</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q21">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GPSCAYHXGELVWCTFH</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q22">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>antibody modifying peptide</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>抗體修飾胜肽</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q23">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>misc_feature - lysine, cystein, aspartic acid,
glutamic acid, 2-aminosuberic acid, or diaminopropionic
acid</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-離胺酸、半胱胺酸、天門冬
胺酸、麩胺酸、2-胺基辛二酸或二胺基丙酸</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q24">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GPDCAYHXGELVWCSFH</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>

```

```

<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q25">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>antibody modifying peptide</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>抗體修飾胜肽</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q26">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>misc_feature - lysine, cystein, aspartic acid,
glutamic acid, 2-aminosuberic acid, or diaminopropionic
acid</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-離胺酸、半胱胺酸、天門冬
胺酸、麩胺酸、2-胺基辛二酸或二胺基丙酸</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q27">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>

```

```

    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GPDCAYHXGELVWCTHH</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q28">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>antibody modifying peptide</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>抗體修飾胜肽</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q29">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>misc_feature - lysine, cystein, aspartic acid,
glutamic acid, 2-aminosuberic acid, or diaminopropionic
acid</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-離胺酸、半胱胺酸、天門冬
胺酸、麩胺酸、2-胺基辛二酸或二胺基丙酸</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>

```

```

<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q30">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GPDCAYHXGELVWCTFY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q31">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>antibody modifying peptide</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>抗體修飾胜肽</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q32">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>

```

<INSDQualifier_value>misc_feature -lysine, cystein, aspartic acid, glutamic acid, 2-aminosuberic acid, or diaminopropionic acid</INSDQualifier_value>

<NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-離胺酸、半胱胺酸、天門冬胺酸、麩胺酸、2-胺基辛二酸或二胺基丙酸</NonEnglishQualifier_value>

</INSDQualifier>

</INSDFeature_qual>

</INSDFeature>

<INSDFeature>

<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>

<INSDFeature_qual>

<INSDQualifier>

<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>

</INSDQualifier>

<INSDQualifier id="q33">

<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>

<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>

<NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>

</INSDQualifier>

</INSDFeature_qual>

</INSDFeature>

</INSDSeq_feature-table>

<INSDSeq_sequence>SPDCAYHXGELVWCTFY</INSDSeq_sequence>

</INSDSeq>

</SequenceData>

<SequenceData sequenceIDNumber="12">

<INSDSeq>

<INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>

<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>

<INSDSeq_feature-table>

<INSDFeature>

<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>

<INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>

<INSDFeature_qual>

<INSDQualifier id="q34">

<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>

```

    <INSDQualifier_value>antibody modifying peptide</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>抗體修飾胜肽</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q35">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>misc_feature - lysine, cystein, aspartic acid,
glutamic acid, 2-aminosuberic acid, or diaminopropionic
acid</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-離胺酸、半胱胺酸、天門冬
胺酸、麩胺酸、2-胺基辛二酸或二胺基丙酸</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q36">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SDDCAYHXGELVWCTFY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">

```

```

<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier id="q37">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>antibody modifying peptide</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>抗體修飾胜肽</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier id="q38">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>misc_feature - lysine, cystein, aspartic acid,
glutamic acid, 2-aminosuberic acid, or diaminopropionic
acid</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-離胺酸、半胱胺酸、天門冬
胺酸、麩胺酸、2-胺基辛二酸或二胺基丙酸</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q39">

```

```

    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RGNCAYHXGQLVWCTYH</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q40">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>antibody modifying peptide</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>抗體修飾胜肽</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>2</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q41">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>misc_feature - homocysteine</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-同半胱胺酸
          </INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq>

```

```

<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q42">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>misc_feature - lysine, cystein, aspartic acid,
glutamic acid, 2-aminosuberic acid, or diaminopropionic
acid</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-離胺酸、半胱胺酸、天門冬
胺酸、麩胺酸、2-胺基辛二酸或二胺基丙酸</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>16</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q43">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>misc_feature - homocysteine</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-同半胱胺酸
</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q44">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>

```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GXDCAYHXGELVWCTXH</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q45">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>antibody modifying peptide</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>抗體修飾胜肽</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q46">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>misc_feature - lysine, cystein, aspartic acid,
glutamic acid, 2-aminosuberic acid, or diaminopropionic
acid</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-離胺酸、半胱胺酸、天門冬
胺酸、麩胺酸、2-胺基辛二酸或二胺基丙酸</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>

```

```

<INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q47">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DCTYHXGNLVWCT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="16">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q48">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>antibody modifying peptide</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>抗體修飾胜肽</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q49">

```

```

    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>misc_feature - lysine, cystein, aspartic acid,
glutamic acid, 2-aminosuberic acid, or diaminopropionic
acid</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-離胺酸、半胱胺酸、天門冬
胺酸、麩胺酸、2-胺基辛二酸或二胺基丙酸</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q50">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>DCAYHXGNLVWCT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q51">

```

```

    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>antibody modifying peptide</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>抗體修飾胜肽</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>6</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q52">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>misc_feature - lysine, cystein, aspartic acid,
glutamic acid, 2-aminosuberic acid, or diaminopropionic
acid</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-離胺酸、半胱胺酸、天門冬
胺酸、麩胺酸、2-胺基辛二酸或二胺基丙酸</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q53">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DCTYHXGELVWCT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

<SequenceData sequenceIDNumber="18">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q54">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>antibody modifying peptide</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>抗體修飾胜肽</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q55">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>misc_feature - lysine, cystein, aspartic acid,
glutamic acid, 2-aminosuberic acid, or diaminopropionic
acid</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>具有生物學意義的區域-離胺酸、半胱胺酸、天門冬
胺酸、麩胺酸、2-胺基辛二酸或二胺基丙酸</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

<INSDQualifier id="q56">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DCAWHXGELVWCT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q57">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成的建構體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>DISULFID</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>4..14</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q58">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Cys-Cys</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

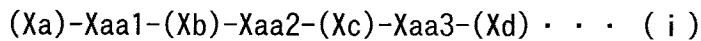
```
</INSDQualifier>  
</INSDFeature_qual>  
</INSDFeature>  
</INSDSeq_feature-table>  
<INSDSeq_sequence>GPDCAYHKGELVWCTFH</INSDSeq_sequence>  
</INSDSeq>  
</SequenceData>  
</ST26SequenceListing>
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種鉗合有放射性核種之鉗合劑與經去醮基化的抗體之複合體，其中

該鉗合劑係透過連結子，將前述抗體之Fc區域予以部位特異性地修飾。

【請求項2】如請求項1之複合體，其中該連結子包含下述式(i)表示之由13個以上17個以下之胺基酸殘基所構成的抗體修飾胜肽；



(式中，Xa、Xb、Xc及Xd係分別表示連續的a個X、連續的b個X、連續的c個X，及連續的d個X，

X為側鏈不具有硫醇基及鹵乙醯基之胺基酸殘基，

a、b、c及d係分別獨立地為1以上5以下之整數，且滿足 $a+b+c+d \leq 14$ ，

Xaa1及Xaa3係分別獨立地

表示源自側鏈具有硫醇基之胺基酸的胺基酸殘基，且透過雙硫鍵鍵結或硫化物基透過連結子而鍵結，或者

一方表示源自側鏈具有硫醇基之胺基酸的胺基酸殘基，另一方表示源自側鏈具有鹵乙醯基之胺基酸的胺基酸殘基，且透過硫醚鍵而鍵結，

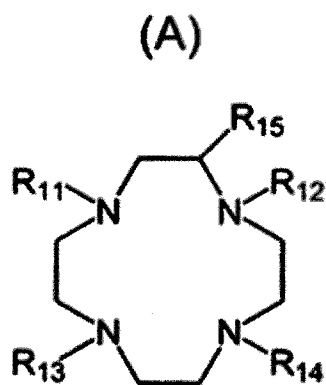
Xaa2為離胺酸殘基、精胺酸殘基、半胱胺酸殘基、天門冬胺酸殘基、麩胺酸殘基、2-胺基辛二酸，或二胺基丙酸)。

【請求項3】如請求項2之複合體，其中該抗體修飾胜

肽，於前述式(i)中，Xaa2為離胺酸殘基。

【請求項4】如請求項2之複合體，其中該抗體修飾胜肽，包含由序列編號2(惟，Xaa2為離胺酸殘基)表示之胺基酸序列所構成的抗體修飾胜肽。

【請求項5】如請求項1或2之複合體，其中該鉗合劑，具有源自下述式(A)表示之化合物或其鹽的結構；



(式(A)中， R_{11} 、 R_{13} 及 R_{14} 係分別獨立地，為由 $-(CH_2)_pCOOH$ 、 $-(CH_2)_pC_5H_5N$ 、 $-(CH_2)_pPO_3H_2$ 、 $-(CH_2)_pCONH_2$ 或 $-(CHCOOH)(CH_2)_pCOOH$ 所構成之基， R_{12} 或 R_{15} 之一方為氫原子、羧基，或碳數2或3之羧基烷基，另一方為用以與前述抗體複合化之取代基， p 為0以上3以下之整數， R_{12} 為用以與前述抗體複合化之取代基時， R_{15} 為氫原子， R_{12} 並非用以與前述抗體複合化之取代基時， R_{15} 為用以與前述抗體複合化之取代基)。

【請求項6】如請求項1或2之複合體，其中該連結子具有以點擊反應所形成之結合基。

【請求項7】如請求項1或2之複合體，其中該放射性核種為Ac-225、Y-90、Lu-177或Zr-89。

【請求項 8】一種鉈合有放射性核種之鉈合劑與經去醮基化的抗體之複合體，其中

該放射性核種為鈾-225(Ac-225)。

【請求項 9】如請求項 1 或 8 之複合體，其中該經去醮基化的抗體為人類 IgG 抗體。

【請求項 10】如請求項 1 或 8 之複合體，其中去醮基化係藉由 N 型醮鏈之切斷而進行。

【請求項 11】一種放射性醫藥，其含有如請求項 1 或 8 之複合體作為有效成分。

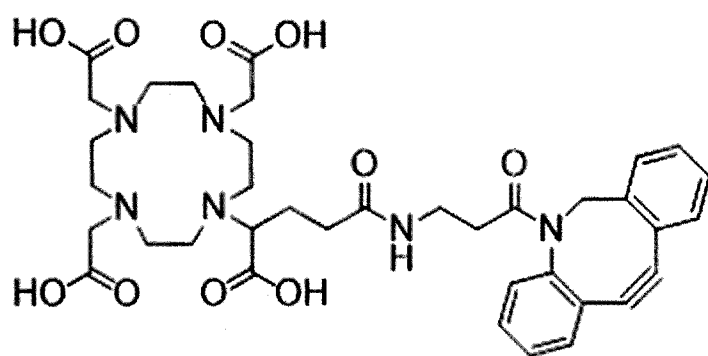
【請求項 12】如請求項 11 之放射性醫藥，其係使用於癌之 RI 內用療法。

【請求項 13】如請求項 11 之放射性醫藥，其係使用於癌之診斷。

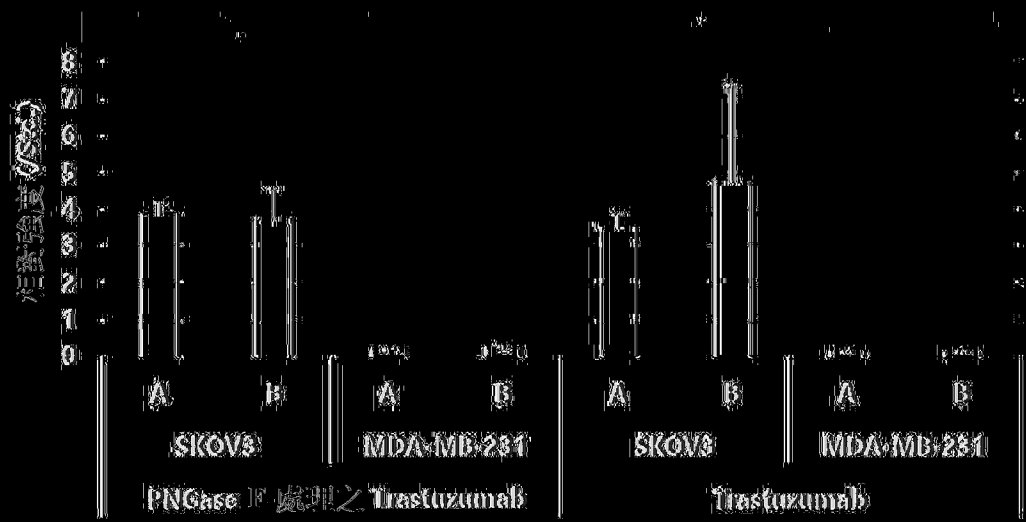
【請求項 14】一種如請求項 1 或 8 之複合體之製造方法，其包含使鉈合有放射性核種之鉈合劑與經去醮基化的抗體複合化，而生成該鉈合劑與該抗體之複合體的複合化步驟。

【請求項 15】如請求項 14 之製造方法，其中該複合化步驟係藉由實行點擊反應而實施。

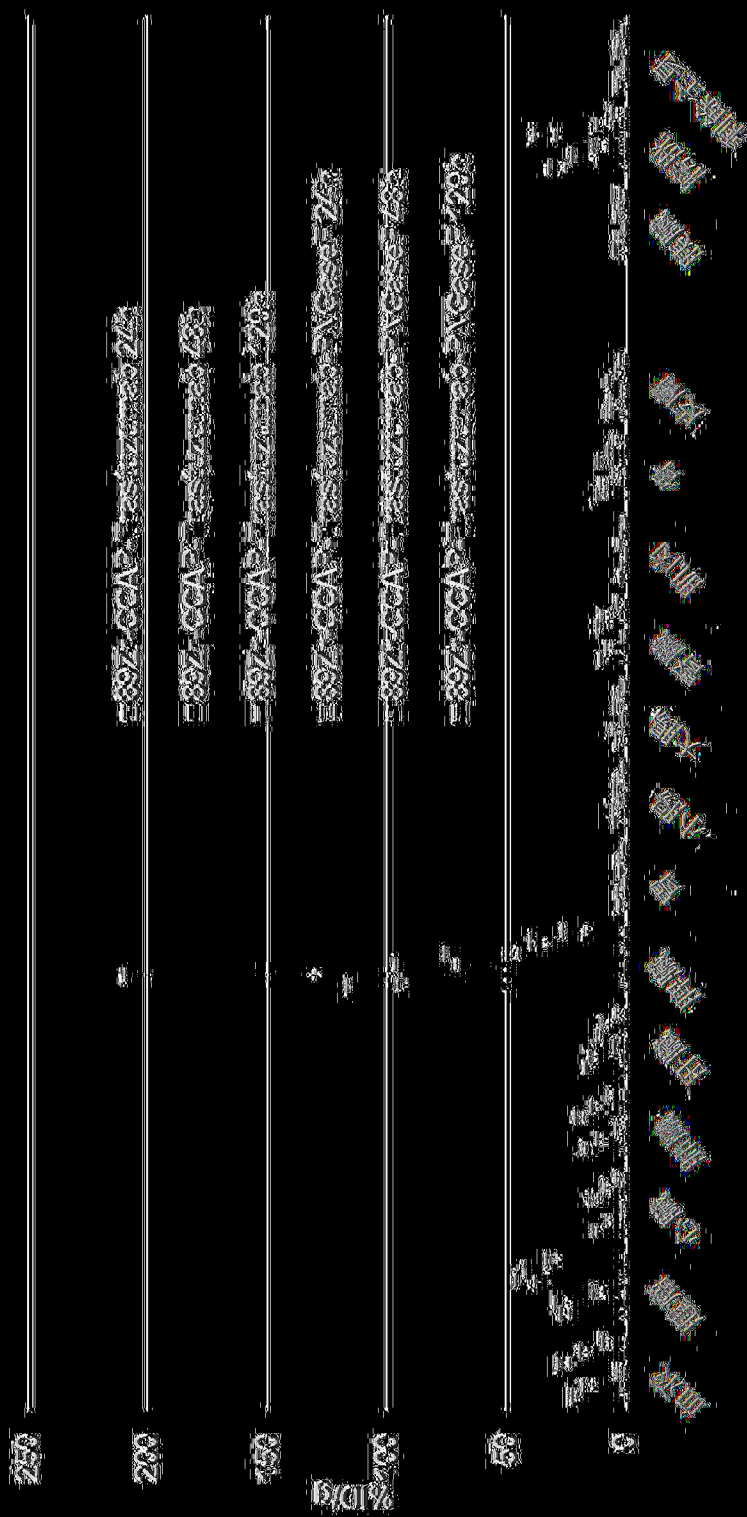
【請求項 16】如請求項 15 之製造方法，其中該複合化步驟，係藉由使該抗體，與下述式表示之 DOTAGA-DBCO 之放射性金屬錯合物進行點擊反應而實施；



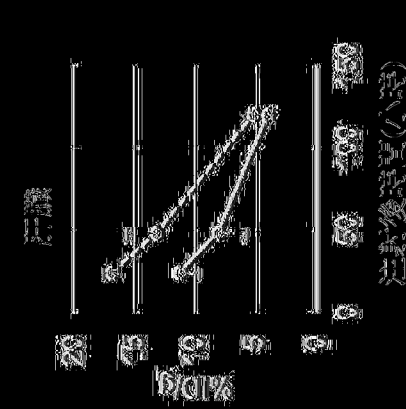
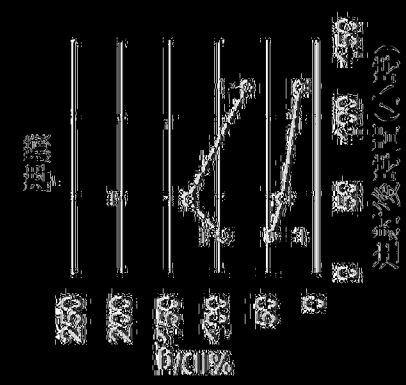
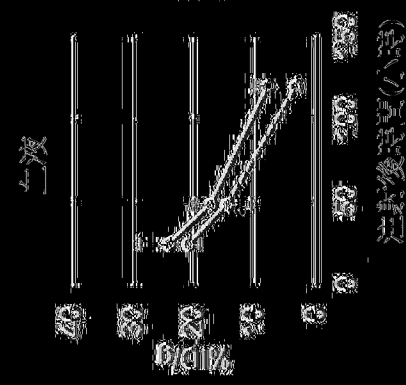
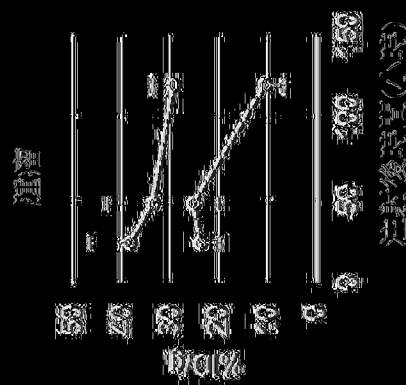
DOTAGA-DBCO



(圖 1)



(圖 2)



(a) 細孔率変化の概観

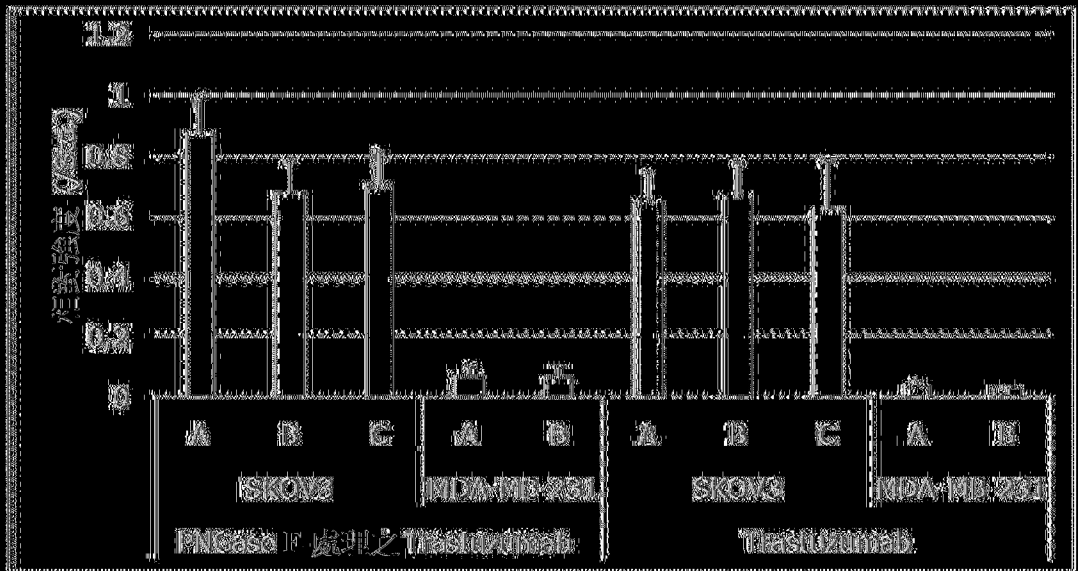
(b) 波長変化の概観

(c) 振幅変化の概観

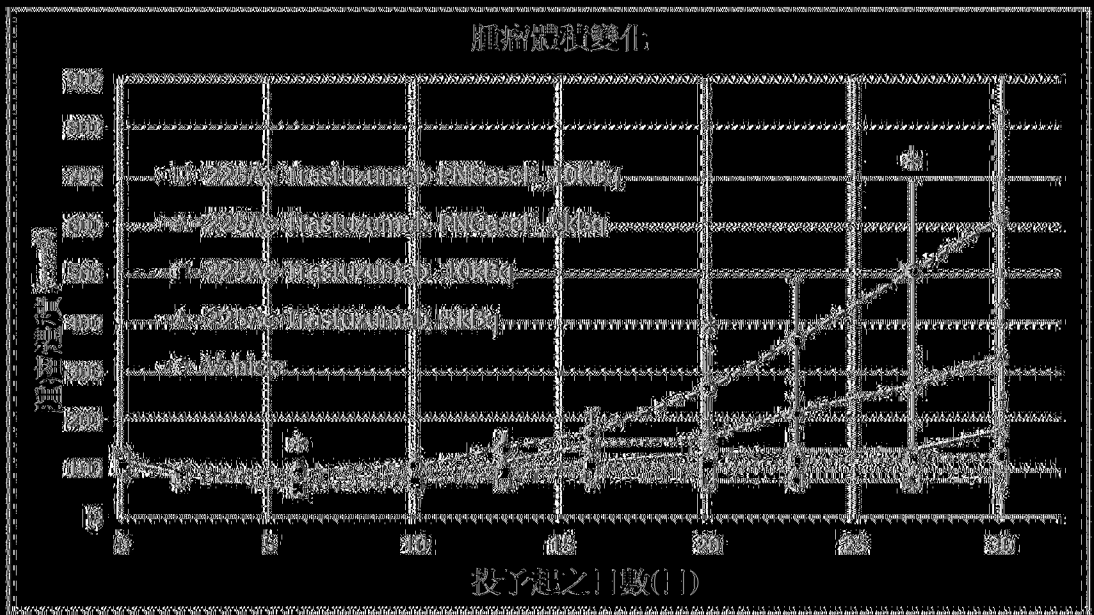
(d) 電圧変化の概観

(図 3)

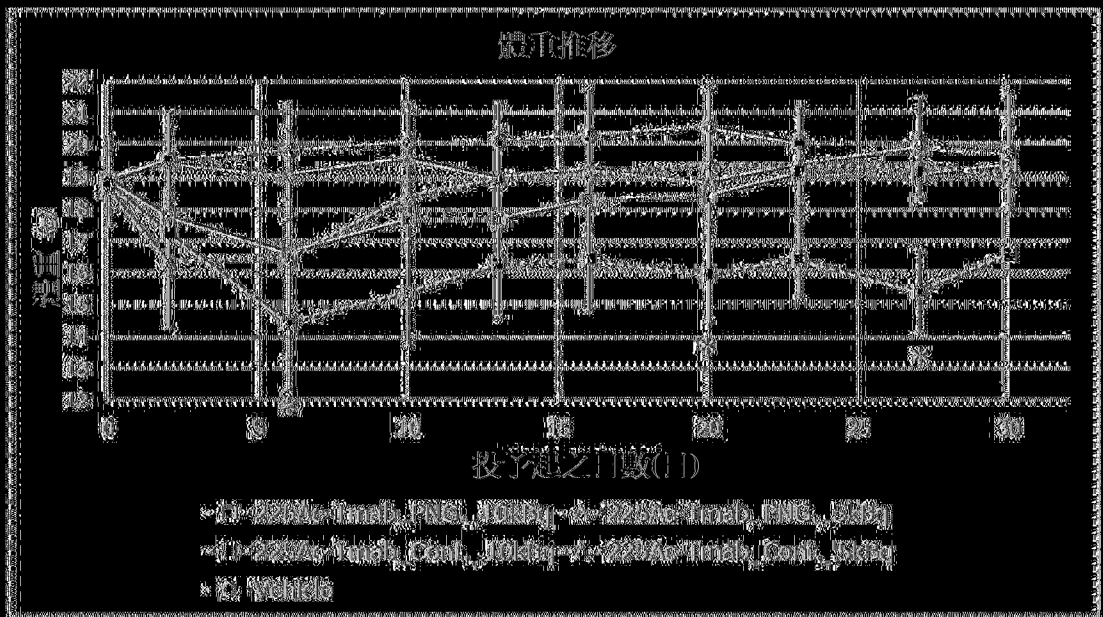
(圖 4)

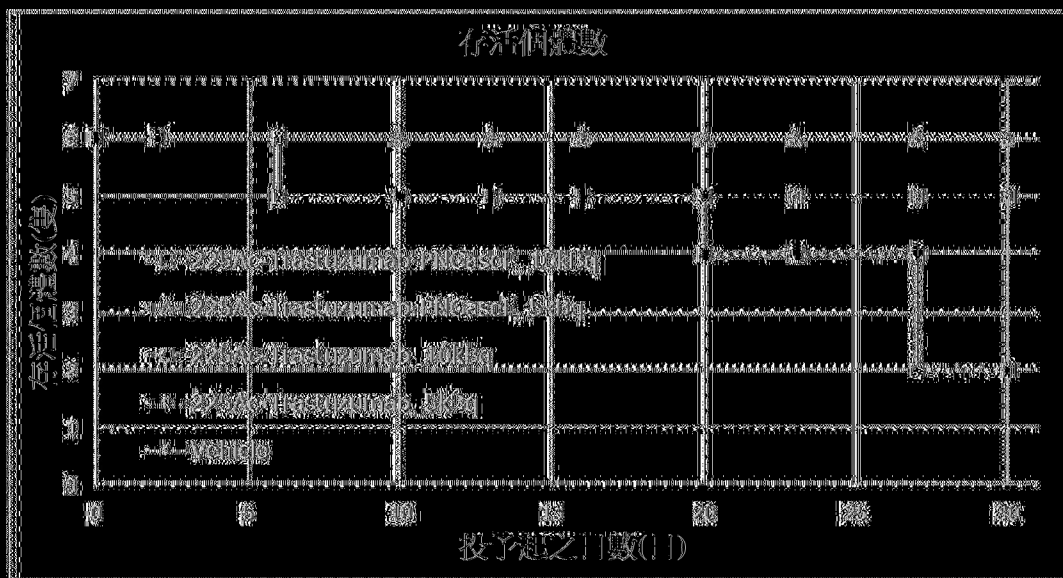


(圖 5)

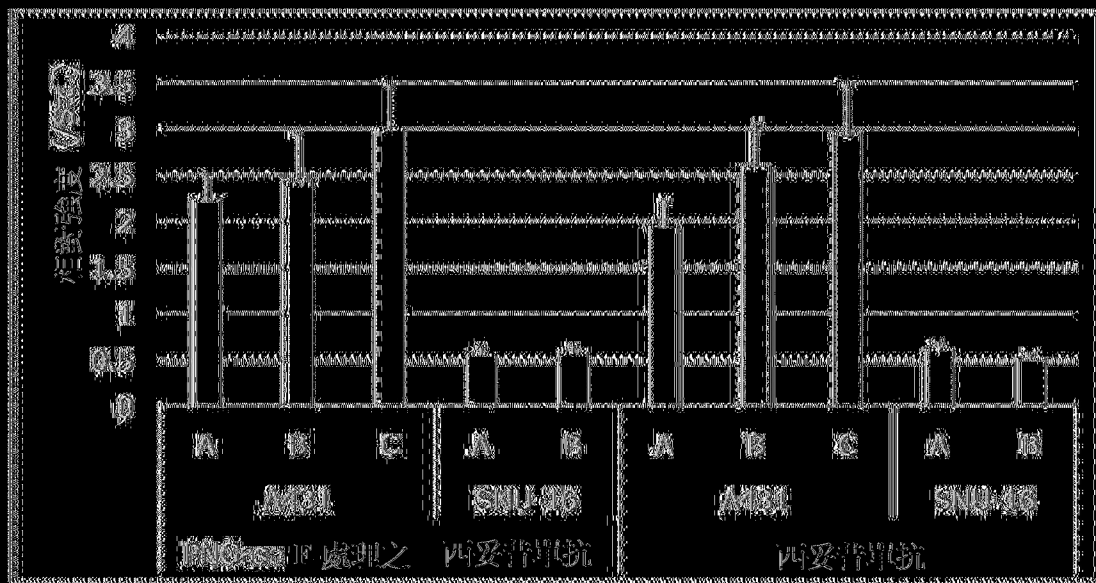


(圖 6)

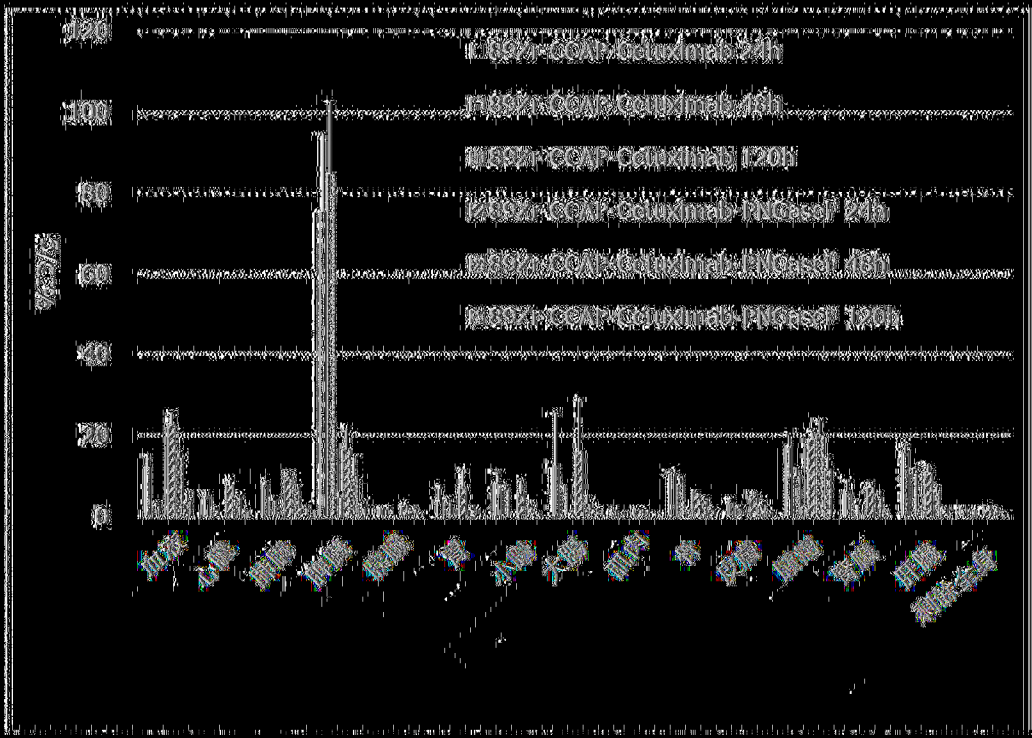




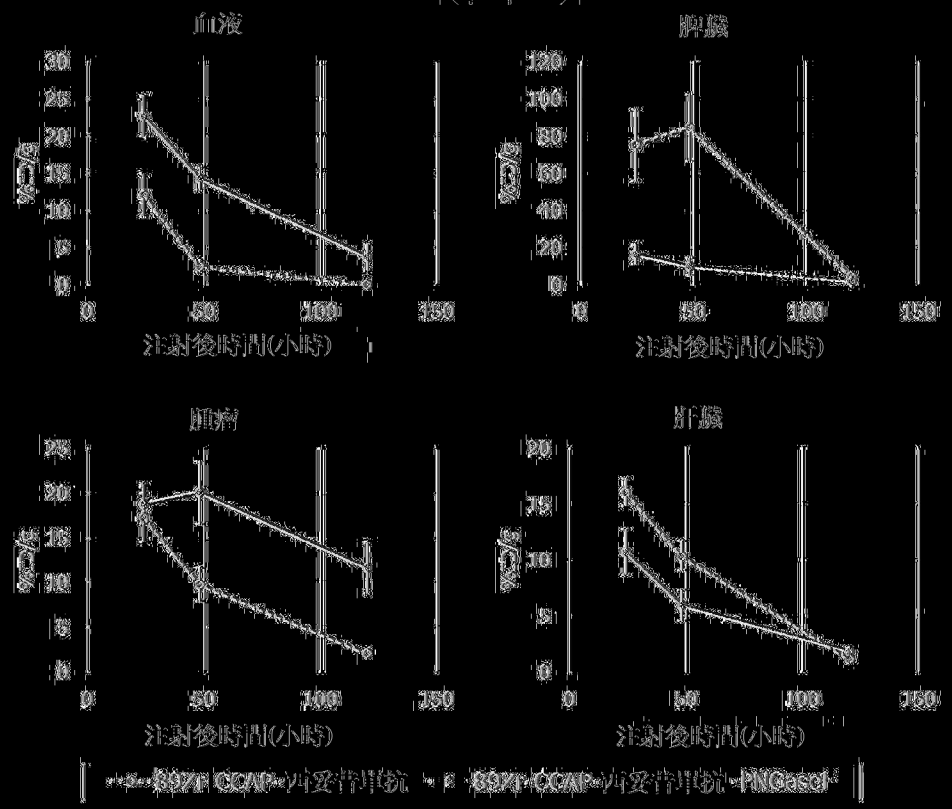
(圖 7)



(圖 8)



(圖 9)



(圖 10)