201717993

(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 201717993 A

(43)公開日： 中華民國 106 (2017) 年 06 月 01 日

(21)申請案號：105130077 (22)申請日： 中華民國 105 (2016) 年 09 月 14 日

(51)Int. Cl.： *A61K38/16 (2006.01)* *A61K47/42 (2006.01)*
A61P27/02 (2006.01)

(30)優先權：2015/09/15 美國 62/219,063

(71)申請人：建南德克公司 (美國) GENENTECH, INC. (US)
美國

(72)發明人：漢那許 拉米 HANNOUSH, RAMI (CA)；卡鄔亞拉啟齊 哈里尼 KALUARACHCHI, HARINI (CA)；尼爾 亞倫 NILE, AARON (US)；諾蘭 卡麥隆 NOLAND, CAMERON (US)；張映楠 ZHANG, YINGNAN (CN)；周麗娟 ZHOU, LIJUAN (US)；高新欣 GAO, XINXIN (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：138 項 圖式數：16 共 343 頁

(54)名稱

胱胺酸結骨架平臺

CYSTINE KNOT SCAFFOLD PLATFORM

(57)摘要

本發明提供可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)。另外，提供使用可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 的方法，包括診斷性及治療性組合物及方法。亦提供可結合低密度脂蛋白受體相關蛋白 6(LRP6)之非天然 CKP。

Provided are non-naturally occurring cystine knot peptides (CKPs) that bind to VEGF-A. Additionally, provided are methods of using non-naturally occurring CKPs that bind to VEGF-A, including diagnostic and therapeutic compositions and methods. Non-naturally CKPs that bind low density lipoprotein receptor-related protein 6 (LRP6) are also provided.

指定代表圖：

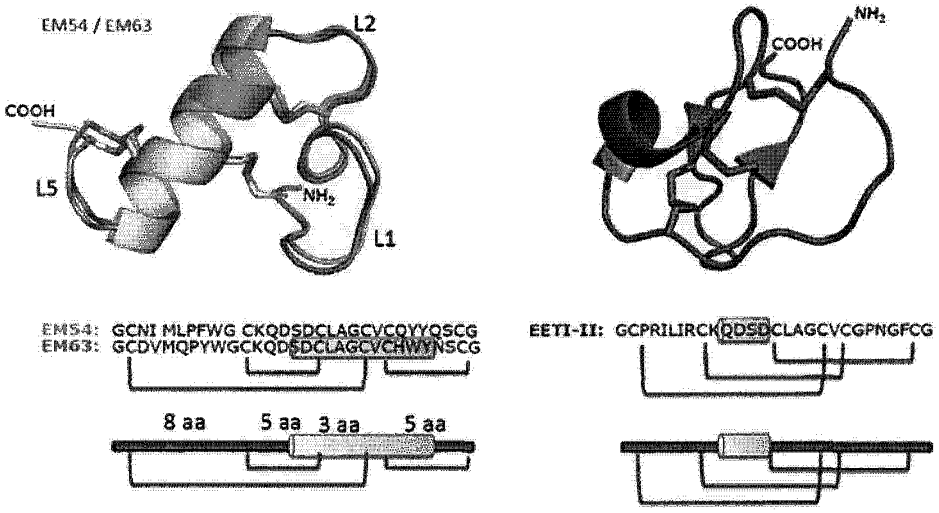

EM54 / EM63
L2
COOH
L5
NH2
L1
NH2
COOH
EM54: GCNI MLPFWG CKQDSDCLAGCVCQYYQSCG
EM63: GCDVMQPYWGCKQDSDCLAGCVCHWYNSCG
8 aa
5 aa
3 aa
5 aa
EETI-II: GCPRILIRCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG

圖 5

發明專利說明書

（本說明書格式、順序，請勿任意更動）

【發明名稱】（中文/英文）

胱胺酸結骨架平臺

CYSTINE KNOT SCAFFOLD PLATFORM

【先前技術】

【0001】 由替代蛋白質骨架設計新穎蛋白質及對其進行工程改造在最近十年中已成為新興領域，具有自結構生物學及成像工具至臨床上目前正在測試之治療試劑的範圍內的諸多應用(HK Binz 等人, *Nat Biotechnol* 23, 1257-1268, 2005；HK Binz 及 A Pluckthun, *Curr Opin Biotechnol* 16, 459-469, 2005；SS Sidhu 及 S Koide, *Curr Opin Struct Biol* 17, 481-487, 2007；A Skerra, *Curr Opin Biotechnol* 18, 295-304, 2007；C Gronwall 及 S Stahl, *J Biotechnol* 140, 254-269, 2009；T Wurch 等人, *Trends Biotechnol* 30, 575-582, 2012；S Banta 等人, *Annu Rev Biomed Eng* 15, 93-113, 2013)。

【0002】 潛在替代骨架分子之理想物理性質包括熱摺疊及展開之高熱穩定性及可逆性。已應用若干種方法來增加蛋白質及酶之表觀熱穩定性，包括基於與高度相似之熱穩定序列進行比較的合理設計、穩定二硫橋之設計、增加 α-螺旋傾向性之突變、鹽橋之工程改造、蛋白質表面電荷之改變、定向演化及共有序列之合成(Lehmann 及 Wyss, Cur Open Biotechnology 12, 371-375, 2001)。

【0003】 胱胺酸結肽來自多種來源且展現多樣性藥理學活性。其大致為 30 至 50 個胺基酸長且含有六個保守半胱胺酸殘基，由此形成三個二硫鍵。該等二硫鍵之一可滲透由另兩個二硫鍵與其互連主幹所形成之大環，從而產生有多個環暴露於表面上之特徵性有結拓撲結構。該等環定義為側接該六個保守半胱胺酸殘基且本質上高度可變之胺基酸區域。此外，二硫鍵之獨特排列使得胱胺酸結肽對熱、蛋白水解及化學降解高度穩定。

【0004】 因此，需要開發穩定的人工抗體樣小分子以用於多種治療及診斷應用，諸如眼部疾病及病症。本發明滿足此需要及其他需要。

【發明內容】

【0005】 在某些實施例中，本文中提供一種可結合血管內皮生長因子A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)，其中該 CKP 包含胱胺酸骨架結構：

$$Z_1C_1L1C_2L2C_3L3C_4L4C_5L5C_6Z_2$$

其中：

Z_1及 Z_2為任何胺基酸；

L1 為環 1 且具有選自由以下各項組成之群的結構：$X_1X_2X_3X_4X_5X_6$ (SEQ ID NO: 2)、$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ (SEQ ID NO: 3)、$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 4)、$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$ (SEQ ID NO: 5) 及 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$ (SEQ ID NO: 6)，其中 X_1至 X_{10}各自為任何胺基酸；

L2 為環 2 且具有結構：$X_1X_2X_3X_4X_5$ (SEQ ID NO: 7)，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基酸或非天然胺基酸；

L3 為環 3 且具有結構：$X_1X_2X_3$，其中 X_1至 X_3為任何胺基酸或非天然胺基酸；

L4 為環 4 且具有結構：X_1，其中 X_1為任何胺基酸或非天然胺基酸；

L5 為環 5 且具有結構：$X_1X_2X_3X_4X_5$ (SEQ ID NO: 7)，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基酸或非天然胺基酸；

其中該非天然胺基酸選自由以下各項組成之群：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸及 L-4-氟苯丙胺酸；且

其中該 CKP 以 500 pM 或更佳之親和力結合 VEGF-A。

【0006】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，參考具有 SEQ ID NO: 1 中所闡述之胺基酸序列的野生型噴瓜胰蛋白酶抑制劑 EETI-II 蛋白，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)具有經改變之二硫鍵連接；其中該經改變之二硫鍵連接為 C1-C4、C2-C3 及 C5-C6。

【0007】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該非天然胺基酸選自由以下各項組成之群：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、

L-3-氟酪胺酸、-L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。

【0008】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，Z_1及/或 Z_2為多於一個胺基酸或非天然胺基酸。在某些實施例中，Z_2為兩個胺基酸。在某些實施例中，Z_2為三個胺基酸。

【0009】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，Z_1及/或 Z_2為 G。

【0010】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L1 中，X_3不為 I；X_5不為 M；及/或 X_6不為 R。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L1 中：X_1為選自 P、Q、R、T、V、D、N、K、L 及 X 之胺基酸；X_2為選自 T、D、L、V、I、R、P、N 及 X 之胺基酸；X_3為選自 T、P、M、L、S、F、R 及 X 之胺基酸；X_4為選自 R、T、Q、D、W、L、E、S、K 及 X 之胺基酸；X_5為選自 F、P、V、E、K、L、I 及 X 之胺基酸；X_6為選自 K、N、F、P、L、Y、T、D、M 及 X 之胺基酸；X_7為選自 Q、W、H 及/X 之胺基酸；及/或 X_8為選自 Y、A、G、D、

E、W、S 及 X 之胺基酸，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸及 L-4-氟苯丙胺酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L1 中：X_9為選自 L、I、V、D、E 及 X 之胺基酸，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸及 L-4-氟苯丙胺酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L1 中：X_{10}為選自 Y、T、M、N、F 及 X 之胺基酸，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸及 L-4-氟苯丙胺酸。

【0011】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-

甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。

【0012】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L5 中，X_1至 X_5各自為任何胺基酸，但 X_2不為脯胺酸(P)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L5 中，X_1至 X_5各自為任何胺基酸，但 X_4不為甘胺酸(G)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L5 中：X_1為選自 G、Q、H、R、L 及 Q 之胺基酸；X_2為選自 P、M、W、Y、F、L 及 H 之胺基酸；X_3為選自 N、F、H 及 Y 之胺基酸；X_4為選自 G、Q、D、N、K、H、E 及 S 之胺基酸；及/或 X_5為選自 F、S 及 T 之胺基酸。

【0013】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，L1 具有結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 4)，其中：X_1為選自 P、Q 及 R 之胺基酸；X_2為選自 T、L 及 D 之胺基酸；X_3為選自 T、M 及 L 之胺基酸；X_4為選自 R、Q 及 D 之胺基酸；X_5為選自 F、P 及 V 之胺基酸；X_6為選自 K 及 F 之胺基酸；X_7為選自 Q 及 W 之胺基酸；且 X_8為選自 Y、G 及 D 之胺基酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，L1 具有結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$ (SEQ ID NO: 6)，其中：X_1為選自 Q、R、T 及 V 之胺基酸；X_2為選自 T 及 D 之胺基酸；X_3為 P；X_4為選自 T 及 W 之胺基酸；X_5為選自 F、E、P 及 K 之胺基酸；X_6為選自 N 及 P 之胺基酸；X_7為選自 W 及 H 之胺基酸；X_8為選自 A、D、E 及 W 之胺基酸；X_9為選自 L 及 I 之胺基酸；且 X_{10}為選自 Y、T、M 及 N 之胺基酸。

【0014】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L5 中：X_1為選自 G、H 及 Q 之胺基酸；X_2為選自 P、M、W 及 Y 之胺基酸；X_3為選自 N 及 Y 之胺基酸；X_4為選自 G、Q 及 S 之胺基酸；且 X_5為選自 F 及 S 之胺基酸。

【0015】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，L1 具有結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 4)，其中：X_1為選自 D、Q、N 及 K 之胺基酸；X_2為選自 V、I、R、L 及 P 之胺基酸；X_3為選自 L、S、M、T 及 F 之胺基酸；X_4為選自 Q、L 及 E 之胺基酸；X_5為 P；X_6為選自 F、

及 Y 之胺基酸；X_7為 W；且 X_8為 G。

【0016】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L5 中：X_3為 Y；X_5為 S；且 X_1、X_2及 X_4各自為任何胺基酸，但 X_1不為 G，X_2不為 P，X_4不為 G，及/或 X_5不為 F。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L5 中：X_1為選自 H、L、R 及 Q 之胺基酸；X_2為選自 W、F 及 Y 之胺基酸；X_3為 Y；X_4為選自 Q、N、K、H 及 E 之胺基酸；且 X_5為 S。

【0017】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，L1 具有結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$ (SEQ ID NO: 6)，其中：X_1為選自 K、Q、L 及 R 之胺基酸；X_2為選自 N 及 D 之胺基酸；X_3為選自 P 及 L 之胺基酸；X_4為選自 L、T、S 及 K 之胺基酸；X_5為選自 F、V、I 及 L 之胺基酸；X_6為選自 N 及 D 之胺基酸；X_7為 W；X_8為選自 A 及 S 之胺基酸；X_9為選自 L、V、E 及 D 之胺基酸；且 X_{10}為選自 Y 及 F 之胺基酸。

【0018】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L5 中：X1 為 Q；X_2為選自 L、F、M 及 H 之胺基酸；X_3為選自 F、Y 及 H 之胺基酸；X_4為選自 D、Q、N 及 K 之胺基酸；且 X_5為選自 S 及 T 之胺基酸。

【0019】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L2 中，X_1為 K，X_2為 Q，X_3為 D，X_4為 S，且 X_5為 D。

【0020】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，L1 具有結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 4)，其中：X_5為 P；X_7為 W；X_8為 G；且其中 X_1、X_2、X_3、X_4及 X_6各自為任何胺基酸，但 X1 不為 P，X_2不為 R，X_3不為 I，及/或 X_6不為 R。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，L1 具有結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 4)，其中：X_1為選自 N 及 D 之胺基酸；X_2為選自 I 及 V 之胺基酸；X_3為選自 M 及 L 之胺基酸；X_4為選自 L、Q、D 及 K 之胺基酸；X_5為 P；X_6為選自 F、Y、T、L 及 M 之胺基酸；X_7為 W；且 X_8為 G。

【0021】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L5 中：X_1為選自 Q、H、L 及 R 之胺基酸；X_2為選自 Y 及 W 之胺基酸；

X_3為 Y；X_4為選自 Q 及 N 之胺基酸；且 X_5為 S。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L5 中：X_3為 Y；X_5為 S；且其中 X_1、X_2及 X_4各自為任何胺基酸，但：X_1不為 G，X_2不為 P，及/或 X_4不為 G。

【0022】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L2 中：X_1為選自 G 或 E 之胺基酸；X_2為選自 Q、L、P、R、E 及 M 之胺基酸；X_3為選自 S、D 及 N 之胺基酸；X_4為選自 F、Y、L、M 及 I 之胺基酸；及/或 X_5為選自 E、D、Q、L 及 S 之胺基酸，

【0023】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L3 中，X_1為 L，X_2為 A，且 X_3為 G。

【0024】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L4 中，X1 為 V 或 F。

【0025】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L5 中，X_1至 X_5各自為任何胺基酸，但 X_2不為脯胺酸(P)。

【0026】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L5 中，X_1至 X_5各自為任何胺基酸，但 X_4不為甘胺酸(G)。

【0027】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L5 中：X_1為除 G 以外之任何胺基酸；X_2為除 P 以外之任何胺基酸；X_3為除 N 以外之任何胺基酸；X_4為除 G 以外之任何胺基酸；及/或 X_5為除 F 以外之任何胺基酸。

【0028】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，L1 具有結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 4)，其中 X_1為選自 N、D 及 X 之胺基酸；X_2為選自 I、V 及 X 之胺基酸；X_3為 M 或 X；X_4為選自 L、Q 及 X 之胺基酸；X_5為 P 或 X；X_6為 F、Y 或 X；X_7為 W 或 X；且 X_8為 G 或 X，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸及 L-4-氟苯丙胺酸。

【0029】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色

胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。

【0030】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在L3中，X_1至X_3各自為任何胺基酸或非天然胺基酸，但X_1不為白胺酸(L)，X_2不為丙胺酸(A)，且 X_3不為甘胺酸(G)，其中該非天然胺基酸選自由以下各項組成之群：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸及 L-4-氟苯丙胺酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L3 中：X_1為選自 M、F、L、V 及 X 之胺基酸；X_2為選自 S、N、Q、I、Y、E、V、T 及 X 之胺基酸；X_3為選自 D、Q、T、N、E、R 及 X 之胺基酸，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸及 L-4-氟苯丙胺酸。

【0031】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L4 中，X_1為除 V 以外之任何胺基酸或選自由以下各項組成之群的非天

然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸及 L-4-氟苯丙胺酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L4 中，X_1為I、L或X，其中X為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸及 L-4-氟苯丙胺酸。

【0032】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L5 中：X_3為 Y 或 X；X_5為 S 或 X；且 X_1、X_2及 X_4各自為任何胺基酸或 X，但 X_1不為 G，X_2不為 P，及/或 X_4不為 G，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸及 L-4-氟苯丙胺酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L5 中，X_1至 X_5各自為任何胺基酸，但 X_2不為脯胺酸(P)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L5 中，X_1至 X_5各自為任何胺基酸，但 X_4不為甘胺酸(G)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L5 中：X_1為選自 Q、H 及 X 之胺基酸；X_2為選自 Y、W 及 X 之胺基酸；X_3為 Y 或 X；X_4為選自 Q、N 或 X 之胺基酸；X_5為 S 或 X，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸及 L-4-氟苯丙胺酸。

【0033】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-

丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。

【0034】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L2 中：X_1為 G 或 X；X_2為 R、P 或 X；X_3為 D 或 X；X_4為 F、I 或 X；且 X_5為 E、D 或 X，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸及 L-4-氟苯丙胺酸。

【0035】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECLQQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 103)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECVERCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 104)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 105)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECMNQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 106)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列

GCNIMLPFWGCGRDFECMQTCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 107)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列GCNIMLPFWGCGRDFECVYQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 108)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列GCNIMLPFWGCGRDFECFINCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 109)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列GCNIMLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 110)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列GCNIMLPFWGCGRDFECVTECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 111)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列GCNIMLPFWGCGRDFECFYECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 112)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列GCNIMLPFWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 113)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列GCNIMLPFWGCGRDFECVYRCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 114)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列GCDVMQPYWGCGPDIDCFVRCLCHWYNSCG (SEQ ID NO: 139)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列GCDVMQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 140)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長

因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 142)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列 GCNIXLPFWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 144)，其中 X 為正白胺酸(Nle)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列 GCNIXLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 145)，其中 X 為正白胺酸(Nle)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列 GCNIXLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 146)，其中 X 為正白胺酸(Nle)。

【0036】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含胺基酸序列 GCDVXQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 224)，其中 X 為正白胺酸。

【0037】 在某些實施例中，提供一種非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)，其包含選自由以下各項組成之群的胺基酸：GCNIMLPFWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 113)、GCNIMLPFWGCGRDFECVYRCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 114)、GCDVMQPYWGCGPDIDCFVRCLCHWYNSCG (SEQ ID NO: 139)、GCDVMQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 140)、GCNIMLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 142)、GCNIXLPFWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 144) (其中 X 為正白胺酸(Nle))、GCNIXLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 145) (其中 X 為正白胺酸(Nle))、GCNIXLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 146) (其中 X 為正白胺酸(Nle)) 及 GCDVXQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 224) (其中 X 為正白胺酸)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例

中，該 CKP 包含 GCNIMLPFWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 113)中所闡述之胺基酸序列。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCNIMLPFWGCGRDFECVYRCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 114)中所闡述之胺基酸序列。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCDVMQPYWGCGPDIDCFVRCLCHWYNSCG (SEQ ID NO: 139)中所闡述之胺基酸序列。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCDVMQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 140)中所闡述之胺基酸序列。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCNIMLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 142)中所闡述之胺基酸序列。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCNIXLPFWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 144)中所闡述之胺基酸序列，其中 X 為正白胺酸(Nle)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCNIXLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 145)中所闡述之胺基酸序列，其中 X 為正白胺酸(Nle)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCNIXLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 146)中所闡述之胺基酸序列，其中 X 為正白胺酸(Nle)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCDVXQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 224)中所闡述之胺基酸序列，其中 X 為正白胺酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 結合 VEGF-A。

【0038】 在某些實施例中，提供一種非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)，其包含選自由以下各項組成之群的胺基酸：GCDVX$_1$QPYWGCGPDI-D/E-CLS-N/K/X$_2$-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 534)、GCDVX$_1$QPYWGCGPDI-N/K/X$_2$-CLS-D/E-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 535)、GCNIX$_1$LPYWGCGRDF-D/E-CME-N/K/X$_2$-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 538)、GCNIX$_1$LPYWGCGRDF-N/K/X$_2$-CME-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 539)、GCNIX$_1$LPFWGCGRDF-D/E-CVS-N/K/X$_2$-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 540)

及 GCNIX$_1$LPFWGCGRDF-N/K/X$_2$-CVS-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 541)，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCDVX$_1$QPYWGCGPDI-D/E-CLS-N/K/X$_2$-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 534)中所闡述之胺基酸序列，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCDVXQPYWGCGPDIDCLSKCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 536)中所闡述之胺基酸序列，其中 X 為正白胺酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCDVX$_1$QPYWGCGPDIDCLSX$_2$CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 537)中所闡述之胺基酸序列，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCDVX$_1$QPYWGCGPDI-N/K/X$_2$-CLS-D/E-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 535)中所闡述之胺基酸序列，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCNIX$_1$LPYWGCGRDF-D/E-CME-N/K/X$_2$-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 538)中所闡述之胺基酸序列，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCNIXLPYWGCGRDFECMEKCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 543)中所闡述之胺基酸序列，其中 X 為正白胺酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCNIX$_1$LPYWGCGRDFECMEX$_2$CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 544)中所闡述之胺基酸序列，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCNIX$_1$LPYWGCGRDF-N/K/X$_2$-CME-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 539)中所闡述之胺基酸序列，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCNIX$_1$LPFWGCGRDF-D/E-CVS-N/K/X$_2$-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 540)中所闡述之胺基酸序列，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCNIXLPFWGCGRDFECVSKCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 545)中所闡述之胺基酸序列，其中 X 為正白胺酸。在根據(或適用於)

以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCNIX$_1$LPFWGCGR DFECVSX$_2$CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 546)中所闡述之胺基酸序列，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 包含 GCNIX$_1$LPFWGCGRDF-N/K/X$_2$-CVS-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 541)中所闡述之胺基酸序列，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 CKP 結合 VEGF-A。

【0039】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，提供一種可結合血管內皮生長因子(VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)，其中該 CKP 包含胱胺酸骨架結構：

$$Z_1C_1L1C_2L2C_3L3C_4L4C_5L5C_6Z_2，$$

其中：

Z$_1$及 Z$_2$為任何胺基酸；

L1 為環 1 且具有選自由以下各項組成之群的結構：X$_1$X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$X$_8$、X$_1$X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$X$_8$X$_9$及X$_1$X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$X$_8$X$_9$X$_{10}$，其中 X$_1$至 X$_{10}$各自為任何胺基酸；

L2 為環 2 且具有結構：X$_1$X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$，其中 X$_1$至 X$_5$各自為任何胺基酸；

L3 為環 3 且具有結構：X$_1$X$_2$X$_3$，其中 X$_1$至 X$_3$各自為任何胺基酸；

L4 為環 4 且具有結構：X$_1$，其中 X$_1$為任何胺基酸；

L5 為環 5 且具有結構：X$_1$X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$，其中 X$_1$至 X$_5$各自為任何胺基酸；

其中參考具有 SEQ ID NO: 1 中所闡述之胺基酸序列的野生型噴瓜胰蛋白酶抑制劑 EETI-II 蛋白，該 CKP 具有經改變之二硫鍵連接；其中該經改變之二硫鍵連接為 C1-C4、C2-C3 及 C5-C6；且其中該 CKP 具有至少 20% 之 α 螺旋含量百分比。

【0040】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，Z$_1$及 Z$_2$為任何胺基酸、多於一個胺基酸、或非天然胺基酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，L1 中之 X$_1$至 X$_{10}$各自為任何胺基酸或非天然胺基酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，L2 中之 X$_1$至 X$_5$各自為任何胺基酸或非天然胺基酸。在根據(或適用

於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，L3 中之 X_1至 X_3各自為任何胺基酸或非天然胺基酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，L4 中之 X_1為任何胺基酸或非天然胺基酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，L5 中之 X_1至 X_5各自為任何胺基酸或非天然胺基酸。在某些實施例中，該非天然胺基酸選自由以下各項組成之群：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。

【0041】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)以 500 pM 或更低之親和力結合 VEGF-A。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該結合親和力係經由表面電漿子共振來測定。

【0042】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，Z_1及/或 Z_2為多於一個胺基酸或非天然胺基酸。在某些實施例中，Z_2為兩個胺基酸。在某些實施例中，Z_2為三個胺基酸。在根據(或適用於)以上實施例

中之任一者的某些實施例中，在 L5 中，X_1至 X_5各自為任何胺基酸，但 X_2不為脯胺酸(P)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L5 中，X_1至 X_5各自為任何胺基酸，但 X_4不為甘胺酸(G)。

【0043】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)的 C 末端羧基經修飾(諸如經封端)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)的 N 末端胺基經修飾(諸如經封端)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)的 C 末端羧基經封端且該可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)的 N 末端胺基經修飾(諸如經封端)。

【0044】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)的 C 末端羧基經醯胺化。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)的 N 末端胺基經乙醯化。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)的 C 末端羧基經醯胺化且該可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)的 N 末端胺基經乙醯化。

【0045】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)抑制 VEGF-A 活性。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，CKP 以介於約 0.5 nM 與約 1.0 nM 之間的 IC_{50}抑制 VEGF-A 活性。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該非天然存在之 EETI-II 骨架蛋白結合人類 VEGF-A、小鼠 VEGF-A 及大鼠 VEGF-A。

【0046】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該非天然存在之 CKP 與抗體 G6.31 競爭結合 VEGF-A。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，提供一種非天然存在之 CKP，其與如以上實施例中任一者之可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)競爭結合 VEGF-A。

【0047】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，

可結合 VEGF-A 上之抗原決定基的非天然存在之 CKP，該抗原決定基包含選自由以下各項組成之群的胺基酸殘基中的至少一者：V14、V15、F17、D19、Y21、Q22、Y25、I46、K48、N62、D63、L66、M81、I83、K84、P85、H86、G88、Q89、I91、C104、R105 及 P106。

【0048】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該等殘基選自由以下各項組成之群：K48、N62 及 D63。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該等殘基選自由以下各項組成之群：Y21、Y25 及 P106。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該等殘基選自由以下各項組成之群：H86 及 Q89。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該等殘基選自由以下各項組成之群：M81、D19 及 Q22。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該等殘基選自由以下各項組成之群：F17、M81 及 I91。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該等殘基選自由以下各項組成之群：V14、F17、D19、Q22、M81 及 I91。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該等殘基選自由以下各項組成之群：Y25。

【0049】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 與治療劑結合。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 與標記結合。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該標記選自由以下各項組成之群：放射性同位素、螢光染料及酶。

【0050】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，提供一種經分離之核酸，其編碼如以上實施例中任一者之可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)。亦提供一種表現載體，其編碼如以上實施例中任一者之核酸分子。亦提供一種細胞，其包含如以上實施例中任一者之表現載體。亦提供一種產生如以上實施例中任一者之可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)的方法，該方法包括培養如以上實施例中任一者之細胞及自細胞培養物中回收可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)。

【0051】 亦提供一種產生如以上實施例中任一者之可結合 VEGF-A

之非天然存在之(CKP)的方法，該方法包括化學合成該可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)。

【0052】 本文中提供一種組合物，其包含如以上實施例中任一者之可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)及醫藥學上可接受之載劑。

【0053】 本文中提供一種治療個體之以血管生成及/或血管滲透或滲漏為特徵之眼部疾病的方法，該方法包括向該個體投與有效量之如以上實施例中任一者之可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該眼部疾病為選自由以下各項組成之群的眼內新生血管疾病：增生性視網膜病變、脈絡膜新血管形成(CNV)、年齡相關性黃斑變性(AMD)、糖尿病性及其他局部缺血相關性視網膜病變、糖尿病性黃斑水腫、病理性近視、馮希伯-林島氏病(von Hippel-Lindau disease)、眼組織胞漿菌病、視網膜靜脈阻塞(RVO，包括視網膜中央靜脈阻塞(CRVO)及視網膜分枝靜脈阻塞(BRVO))、角膜新血管形成、視網膜新血管形成及早產兒視網膜病變(ROP)。

【0054】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)或該組合物係經由可植入式裝置投與該個體。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可植入式裝置選自由以下各項組成之群：眼部插入物、緩慢釋放貯庫、眼部插塞/儲器、非生物可降解性眼部植入物或生物可降解性眼部植入物。

【0055】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，提供一種包含如以上實施例中任一者之可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)的組合物，其用於治療個體之以血管生成及/或血管滲透或滲漏為特徵之眼部疾病。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該眼部疾病為選自由以下各項組成之群的眼內新生血管疾病：增生性視網膜病變、脈絡膜新血管形成(CNV)、年齡相關性黃斑變性(AMD)、糖尿病性及其他局部缺血相關性視網膜病變、糖尿病性黃斑水腫、病理性近視、馮希伯-林島氏病、眼組織胞漿菌病、視網膜靜脈阻塞(RVO，包括視網膜中央靜脈阻塞(CRVO)及視網膜分枝靜脈阻塞(BRVO))、角膜新血管形成、視網膜新血管形成及早產兒視網膜病變(ROP)。在根據(或適用於)以上實施例中之

任一者的某些實施例中，該組合物係經由可植入式裝置投與該個體。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可植入式裝置選自由以下各項組成之群：眼部插入物、緩慢釋放貯庫、眼部插塞/儲器、非生物可降解性眼部植入物或生物可降解性眼部植入物。

【0056】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，提供一種包含如以上實施例中任一者之可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)的組合物，其用於治療個體之以血管生成及/或血管滲透或滲漏為特徵之眼部疾病。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該眼部疾病為選自由以下各項組成之群的眼內新生血管疾病：增生性視網膜病變、脈絡膜新血管形成(CNV)、年齡相關性黃斑變性(AMD)、糖尿病性及其他局部缺血相關性視網膜病變、糖尿病性黃斑水腫、病理性近視、馮希伯-林島氏病、眼組織胞漿菌病、視網膜靜脈阻塞(RVO，包括視網膜中央靜脈阻塞(CRVO)及視網膜分枝靜脈阻塞(BRVO))、角膜新血管形成、視網膜新血管形成及早產兒視網膜病變(ROP)。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該藥物係經由可植入式裝置投與該個體。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可植入式裝置選自由以下各項組成之群：眼部插入物、緩慢釋放貯庫、眼部插塞/儲器、非生物可降解性眼部植入物或生物可降解性眼部植入物。

【0057】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)經調配以用於長期作用遞送。

【0058】 本文中提供一種調配物，其包含如以上實施例中任一者之可結合 VEGF-A 之非天然存在之(CKP)及 PLGA。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，該 PLGA 為 PLGA 棒。

【0059】 本文中亦提供一種可結合人類低密度脂蛋白受體相關蛋白 6 (LRP6)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)，其中該 CKP 包含胱胺酸骨架結構：

$$Z_1C_1L1C_2L2C_3L3C_4L4C_5L5C_6Z_2；$$

其中：

Z_1及 Z_2為任何胺基酸；

L1 為環 1 且具有選自由以下各項組成之群的結構：$X_1X_2X_3X_4X_5X_6$、$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ 、 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ 、 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$ 及 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$，其中 X_1 至 X_{10} 各自為任何胺基酸；

L2 為環 2 且具有結構：$X_1X_2X_3X_4X_5$，其中 X_1 至 X_5 各自為任何胺基酸；

L3 為環 3 且具有結構：$X_1X_2X_3$，其中 X_1 至 X_3 各自為任何胺基酸；

L4 為環 4 且具有結構：X_1，其中 X_1 為任何胺基酸；且

L5 為環 5 且具有結構：$X_1X_2X_3X_4X_5$，其中 X_1 至 X_5 各自為任何胺基酸。

【0060】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，Z_1 及/或 Z_2 為多於一個胺基酸或非天然胺基酸。在某些實施例中，Z_2 為兩個胺基酸。在某些實施例中，Z_2 為三個胺基酸。

【0061】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，Z_1 及/或 Z_2 為 G。

【0062】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L1 中：X_1 為選自 R、V、M、A、G、N、S 及 E 之胺基酸；X_2 為選自 T、N、S、G、R 及 A 之胺基酸；X_3 為選自 N、R、H、V、K、S、G、I 及 Y 之胺基酸；X_4 為選自 R、V、N、I、K、S 及 T 之胺基酸；X_5 為選自 V、R、K、I、T、S、L 及 N 之胺基酸；且 X_6 為選自 K、G、A、I、R、N、S 及 V 之胺基酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L1 中：X_7 為選自 G、R、K、E、P 及 T 之胺基酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L1 中：X_8 為選自 G、R、K、Q、A 及 S 之胺基酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L1 中：X_9 為選自 R 或 G 之胺基酸。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L1 中：X_{10} 為選自 E、W 及 G 之胺基酸。

【0063】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L5 中：X_1 為選自 G、S、N、Y、A 及 R 之胺基酸；X_2 為選自 P、G、S、V、E、R、F 及 D 之胺基酸；X_3 為選自 N、G、S、E、P、K、H 及 R 之胺基酸；X_4 為選自 G、R、H、S、Q、V 及 D 之胺基酸；且 X_5 為選自 F、D、N、R、G、Y、S 及 T 之胺基酸。

【0064】 在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，

在 L2 中，X_1為 K，X_2為 Q，X_3為 D，X_4為 S，且 X_5為 D。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L3 中，X_1為 L，X_2為 A，且 X_3為 G。在根據(或適用於)以上實施例中之任一者的某些實施例中，在 L4 中，X_1為 V。

【圖式簡單說明】

【0065】 **圖 1** 描繪 EETI-II 胱胺酸結蛋白之結構。

【0066】 **圖 2A** 顯示為了確定 EGF_CKP9.54.90 是否會破壞 VEGF-A(8-109)與 KDR 之間、VEGF-A(8-109)與 Flt-1 之間、VEGF-A 165 與 KDR 之間、VEGF-B 與 Flt-1 之間、VEGF-C 與 Flt-4 之間、VEGF-D 與 Flt-4 之間及 PIGF-2 與 FLT-1 之間的相互作用而進行之實驗的結果。

【0067】 **圖 2B** 顯示為了確定 EGF_CKP9.54.90 是否會破壞 VEGF-A(8-109)與 KDR 之間、VEGF-A(8-109)與 Flt-1 之間、VEGF-A 165 與 KDR 之間、EGF 與 EGFR 之間、PDGF 與 PDGFR 之間、NGF 與 NGFR 之間及 IGF 與 IGFR 之間的相互作用而進行之實驗的結果。

【0068】 **圖 3** 顯示為了確定 VEGF_CKP9.54.90、VEGF_CKP9.54 及 VEGF_CKP9.63.12 是否抑制胰蛋白酶活性而進行之實驗的結果。

【0069】 **圖 4** 顯示為了確定 VEGF_CKP9.54.90 及 VEGF_CKP9.63.12 是否對胰蛋白酶消化具有抗性而進行之實驗的結果。

【0070】 **圖 5** 描繪 VEGF_CKP9.54.90 之結構、野生型 EETI-II 之結構，且提供比較結合 VEGF 之 CKP 變異體之二硫鍵連接模式與野生型 EETI-II 之二硫鍵連接模式的示意圖。

【0071】 **圖 6** 描繪 VEGF_CKP9.54.90 與 VEGF-A 之複合物的共晶結構。

【0072】 **圖 7** 描繪顯示 VEGF_CKP9.54.90、抗體 G6.31、及 VEGF-A 上之 Flt-2 之結構域 2 之結合界面的空間填充模型。

【0073】 **圖 8** 描繪顯示 VEGF_CKP9.54.90、抗體 G6.31、及 VEGF-A 上之 Flt-2 之結構域 2 之結合界面的帶狀圖解模型。

【0074】 **圖 9** 顯示處於 VEGF-A 與 VEGF_CKP9.54.90 之間的相互作用表面的 VEGF-A 上接觸殘基。

【0075】 **圖 10** 顯示貝伐珠單抗 Fab、Z 結構域、及 VEGF-A 上之受體阻斷肽 v108 的結合界面。

【0076】 **圖 11** 提供為了確定 VEGF-A 中之胺基酸取代突變對 VEGF_CKP9.54.90 與 VEGF-A 之結合及對 VEGF_CKP9.63.12 與 VEGFA 之結合的影響而進行之實驗的結果。相對於兩個不同的 y 軸顯示該等實驗結果。

【0077】 **圖 12** 提供為了確定 VEGF_CKP9.54.90 對大鼠眼中之 CNV 的影響而進行之實驗的結果。

【0078】 **圖 13** 提供為了確定結合 VEGF 之 CKP 變異體的 IC_{50}值而進行之實驗的結果。

【0079】 **圖 14** 描繪 VEGF_CKP9.54 及 VEGF_CKP9.63 之結構。圖 14 中亦顯示 VEGF_CKP9.63 與 VEGF-A 之複合物之共晶結構的一部分，其顯示 VEGF_CKP9.63 之環 1 內的位置 8 上的殘基可與 VEGF-A 之 Gln22 的側鏈形成氫鍵。

【0080】 **圖 15** 顯示為了評估純系 9.54-28、9.54、9.54.1-2、9.54.1-36、9.54.1-42、9.54.1-63、9.54.1-90 及 9.54.1 對 hVEGF(8-109)之結合親和力而進行之噬菌體競爭 ELISA 實驗的結果。

【0081】 **圖 16A** 顯示為了評估純系 9.63.44-1 至 9.63.44-7 之結合親和力而進行之噬菌體競爭 ELISA 實驗的結果。

【0082】 **圖 16B** 顯示為了評估純系 9.63.44-8 至 9.63.44-14 之結合親和力而進行之噬菌體競爭 ELISA 實驗的結果。

【實施方式】

【0083】 提供特異性結合人類 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)。此種非天然存在之 CKP 顯示一或多個以下特徵：抑制 VEGF-A 活性且 IC_{50}介於小於約 0.5 nM 與小於約 1.0 nM 之間；結合人類 VEGF-A、小鼠 VEGF-A 及大鼠 VEGF-A；對胰蛋白酶消化具有抗性；二硫鍵連接 C1-C4、C2-C3 及 C5-C6；至少約 15%至至少約 50%之 α 螺旋含量；結合 VEGF-A 上不同於抗體 G6.31 所結合之抗原決定基的抗原決定基、結合 VEGF-A 上不同於貝伐珠單抗所結合之抗原決定基的抗原決定基及/或結合 VEGF-A 上

不同於 Flt-1 所結合之抗原決定基的抗原決定基。

【0084】 亦提供包含可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽的嵌合分子及結合物、編碼可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 的核酸、及組合物(諸如醫藥組合物)。亦提供使用可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 來治療由異常(諸如過度)血管生成及/或異常血管滲透引起之眼部疾病及/或病症(諸如眼部血管增生性疾病及/或病症)的方法。亦提供可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 在製造用於治療眼部疾病或病症之藥劑方面的用途。

【0085】 在一相關態樣中，亦提供可結合人類低密度脂蛋白受體相關蛋白 6 (LRP6)之非天然存在之 CKP。

【0086】 除非另外指示，否則本發明之實施採用細胞生物學、毒理學、分子生物學、生物化學、細胞培養、免疫學、腫瘤學、重組 DNA 及相關領域中在熟習此項技術者之能力範圍內的標準方法及習知技術。此種技術描述於文獻中且從而可為熟習此項技術者所用。參見例如 Alberts, B.等人，「Molecular Biology of the Cell」，第 5 版, Garland Science, New York, NY, 2008；Voet, D.等人，「Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level」，第 3 版, John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, 2008；Sambrook, J.等人，「Molecular Cloning: A Laboratory Manual」，第 3 版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001；Ausubel, F.等人，「Current Protocols in Molecular Biology」, John Wiley & Sons, New York, 1987 及週期性更新；Freshney, R.I.，「Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique」，第 4 版, John Wiley & Sons, Somerset, NJ, 2000；及叢書「Methods in Enzymology」, Academic Press, San Diego, CA。

定義

【0087】 如本文中所使用，「非天然存在」意謂例如包含並非在自然界中發現之胺基酸序列的多肽，或例如包含並非在自然界中發現之核苷酸序列的核酸。本文中所提供之「非天然存在之胱胺酸結肽」或「非天然存在之 CKP」(或編碼其之核酸)不具有野生型 EETI-II 蛋白之胺基酸序列，亦即，GCPRILMRCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 1)，其中環 1 (L1)為胺基酸序列 PRILMR (SEQ ID NO: 92)，環 2 (L2)為胺基酸序列

KQDSD (SEQ ID NO: 93)，環 3 (L3)為胺基酸序列 LAG，環 4 (L4)為胺基酸 V，且環 5 (L5)為胺基酸序列 GPNGF (SEQ ID NO: 19)。本文中所提供之非天然存在之 CKP 可藉由基因工程改造方法或藉由化學合成方法來產生。因而，本文中所描述之非天然存在之 CKP 可為重組的，亦即，由已藉由引入異源核酸或將天然核酸變成對該細胞而言並非天然之形式而加以修飾之細胞或核酸或載體或來源於經如此修飾之細胞的細胞產生。或者，本文中所描述之非天然存在之 CKP 可經由化學肽合成而產生。

【0088】 如本文中所使用，術語「胱胺酸結肽」或「CKP」係指長度介於 26 至 50 個胺基酸之間的肽，其含有六個保守半胱胺酸殘基，從而形成三個二硫鍵。該等二硫鍵之一可滲透由另兩個二硫鍵與其互連主幹所形成之大環，從而產生有多個環暴露於表面上之特徵性有結拓撲結構。該等環定義為側接該六個保守半胱胺酸殘基且本質上高度可變之胺基酸區域。

【0089】 如本文中所使用，「胺基酸變化」係指例如在肽序列中添加、缺失或取代至少一個胺基酸(諸如在 WT EETI-II 肽序列中，以產生非天然存在之 CKP；或在非天然存在之 CKP 中，以產生另一非天然存在之 CKP)。

【0090】 「經分離」之非天然存在之 CKP 或組合物為自其天然環境組分中鑑別並分離及/或回收之 CKP 或組合物。其天然環境之污染組分為將會干擾該非天然存在之 CKP 之診斷性或治療性用途的物質，且可包括酶、激素及其他蛋白質或非蛋白質溶質。在較佳實施例中，該非天然存在之 CKP 或組合物將純化(1)至非天然存在之 CKP 之超過 95 重量%，如藉由 Lowry 方法所測定，且最佳超過 99 重量%；(2)至足以藉由使用轉杯式定序儀獲得 N 末端或內部胺基酸序列之至少 15 個殘基的程度；或(3)至均質(藉由在還原或非還原條件下使用考馬斯藍進行 SDS-PAGE 或較佳藉由銀染色)。經分離之非天然存在之 CKP 包括重組細胞內之原位 CKP，此係因為該 CKP 之天然環境中之至少一種組分將不存在。經分離之非天然存在之 CKP 將藉由至少一個純化步驟來製備。

【0091】 就本文中所鑑別之多肽序列而言，「胺基酸序列一致性百分比(%)」或「同源性」定義為在將任何保守取代視為序列一致性之一部分的情況下比對序列之後，候選序列中與正在比較之多肽中的胺基酸殘基一致

的胺基酸殘基的百分比。出於確定胺基酸序列同一性百分比之目的而進行的比對可用在熟習此項技術者能力範圍內的多種方式，例如使用公開可獲得之電腦軟體，諸如 BLAST、BLAST-2、ALIGN 或 Megalign (DNASTAR) 軟體來達成。熟習此項技術者可確定適用於量測對準之參數，包括在所比較之序列的全長上達成最大程度之對準所需的任何算法。然而，出於本文中之目的，使用序列比較電腦程式 ALIGN-2 來產生胺基酸序列同一性%值。ALIGN-2 序列比較電腦程式由 Genentech, Inc.編寫，且原始碼已與用戶文件一起提交至美國著作權局(Washington D.C., 20559)，登記在美國著作權登記號 TXU510087 之下。ALIGN-2 程式可經由 Genentech, Inc. (South San Francisco, California)公開獲得。應對 ALIGN-2 程式進行編譯以用於 UNIX 操作系統，較佳數位 UNIX V4.0D。所有序列比較參數均由 ALIGN-2 程式設定並且不變化。

【0092】 如本文中所使用，術語「抗原決定基」係指能夠由本文中所提供之非天然存在之 CKP 特異性結合的蛋白質決定子。抗原決定基可在空間構象中包含介於約 3 至 10 個之間的胺基酸，此為抗原決定基所獨有的。此等胺基酸在蛋白質內可為線性的(亦即，在胺基酸序列中連續)或其可位於蛋白質的不同的部分中(亦即，在胺基酸序列中不連續)。確定蛋白質內或兩個蛋白質之界面上之胺基酸的空間構象的方法在本領域中為已知的，且包括例如 x 射線結晶學及 2 維核磁共振。

【0093】 術語「二硫鍵結模式(DBP)」、「二硫鍵連接」及「二硫鍵聯模式」係指相對於 WT EETI-II 蛋白之半胱胺酸連接模式。WT EETI-II 蛋白包含六個保守半胱胺酸殘基(編號 1 至 6)，由此形成具有連接 C1-C4、C2-C5 及 C3-C6 之三個二硫鍵。該等二硫鍵結模式在拓撲學上為恆定的，意謂僅可藉由解開一或多個二硫鍵，諸如使用氧化還原條件來改變該等二硫鍵。

【0094】 「個體」、「患者」或「個人」出於治療之目的係指分類為哺乳動物之任何動物，包括人類、馴養動物及農場動物以及動物園動物、競技動物或寵物，諸如狗、馬、貓、牛等。較佳地，該哺乳動物為人類。

【0095】 如本文中所揭示之非天然存在之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)的「有效量」為足以實現明確陳述之目的之量。「有

效量」可憑經驗及藉由已知方法來確定，與所陳述之目的有關。

【0096】 術語「治療有效量」係指如本文中所揭示之非天然存在之CKP或組合物有效「治療」哺乳動物(諸如人類患者)之疾病或病症的量。在眼部疾病或眼部病症(諸如眼部血管增生性疾病或以過度血管生成為特徵之眼部病症)的情況下，本文中所描述之可結合VEGF-A之非天然存在之CKP(或包含此種非天然存在之結合VEGF-A之CKP的組合物)的治療有效量係指減輕、終止或預防該眼部疾病之至少一種症狀(諸如本文中在其他部分更詳細描述之眼部疾病之症狀或病症)的量。舉例而言，有效量將被視為足以減輕或預防該眼部疾病或眼部病症(諸如眼部血管增生性疾病或以過度血管生成為特徵之眼部病症)之症狀，例如，完全或部份緩解及/或維持眼部疾病(如藉由光同調斷層掃瞄(OCT)所量測)或增加及/或維持最佳矯正視力(諸如超過5個字母，如藉由EDTRS視力表所評估)或減少新血管形成尺寸或新血管滲透性(如藉由眼底螢光血管造影所評估)的量。如本文中所使用之有效量亦將包括足以預防或延遲例如黃斑水腫、滲透(諸如視網膜血管滲透)增強、CNV病變尺寸及視力損失之發展的量。如本文中所使用之有效量亦將包括足以預防或延遲眼部疾病症狀之發展、改變症狀疾病之過程(例如但不限於減緩眼部疾病症狀之進展)或逆轉疾病症狀的量。

【0097】 如本文中所使用，「治療」為用於獲得有益或所要結果(包括臨床結果)之方法。出於本發明之目的，有益或所要臨床結果包括但不限於以下各項中之一或多者：減輕由眼部疾病引起之一或多種症狀；削弱眼部疾病之程度；穩定眼部疾病(例如，預防或延遲疾病惡化)；預防或延遲疾病擴散(諸如達至周圍眼組織)；預防或延遲眼部疾病復發；延遲或減緩眼部疾病之進展；改善疾病狀態；提供眼部疾病之緩解或消退(部分或總體)；降低治療眼部疾病所需之一或多種其他藥物的劑量；延遲眼部疾病之進展；增加或改良生活品質；及/或預防或延遲視力損失。「治療」亦涵蓋減輕眼部疾病之病理學後果(諸如例如視力損失)。本文中所提供之方法涵蓋此等治療態樣中之任何一或多者。

【0098】 「病症」為將受益於用本文中所描述之可結合VEGF-A之非天然存在之CKP進行治療的任何病狀。本文中欲治療之VEGF-A相關病

症之非限制性實例包括如本文中在其他部分所描述之眼部疾病及病症(諸如眼部血管增生性疾病或以過度血管生成為特徵之眼部病症)。

【0099】 如本文中所使用，「醫藥學上可接受」或「醫藥學上相容」意謂不會在生物學或其他方面不合需要之物質，例如，該物質可併入投與患者之醫藥組合物中而不會引起任何顯著不合需要之生物學效應或以不利方式與含有其之組合物的任何其他組分相互作用。醫藥學上可接受之載劑或賦形劑較佳滿足所要求之毒理學及製造測試標準及/或包括在由美國食品藥物管理局製定之非活性成分指南上。

【0100】 術語「偵測」意欲包括確定物質之存在或不存在或者對物質(諸如靶配位體)之量進行定量。因而，該術語係指使用本文中所提供之物質、組合物及方法進行定性及定量測定。一般而言，用於偵測之特定技術對本發明之實施並不重要。

【0101】 舉例而言，根據本發明之「偵測」可包括：觀測靶配位體(包括但不限於人類低密度脂蛋白受體相關蛋白 6 (LRP6)多肽或人類血管內皮生長因子 A (VEGF-A)多肽)之存在或不存在；靶配位體水準之變化；及/或靶配位體生物功能/活性之變化。在某些實施例中，「偵測」可包括偵測靶配位體之水準(例如，人類 LRP6 或人類 VEGF-A 之多肽水準)。偵測可包括對當與對照相比時介於 10%與 90%之間的任何值或介於 30%與 60%之間的任何值或超過 100%的變化(增加或減少)進行定量。偵測可包括對介於 2 倍至 10 倍(包括端點)之間或更大(例如，100 倍)的任何值的變化進行定量。

【0102】 字組「標記」當在本文中使用時係指直接或間接地與非天然存在之 CKP 結合的可偵測化合物或組合物。標記本身可為本身可檢測的(例如放射性同位素標記或螢光標記)，或在酶標記之情況下，可催化可檢測之受質化合物或組合物的化學變化。

【0103】 就非天然存在之 CKP 與靶配位體的結合而言，術語「特異性結合」特定靶配位體或與特定靶配位體「特異性地結合」或對特定靶配位體具有「特異性」意謂該結合可量測地不同於非特異性相互作用。可例如藉由測定分子之結合且與對照分子之結合相比較來量測特異性結合，該對照分子一般為不具有結合活性之具有類似結構之分子。舉例而言，可藉

由與類似於標靶之對照分子(例如，過量未標記標靶)競爭來測定特異性結合。在此情況下，若經標記之標靶與探針之結合因過量未標記標靶而受到競爭性抑制，則指示特異性結合。在某些實施例中，該非天然存在之 CKP 與「非標靶」配位體的結合程度將小於該非天然存在之 CKP 與其靶配位體(諸如 LRP6 或 VEGF-A)之結合的約 10%，如藉由例如螢光活化細胞分選(FACS)分析或放射免疫沈澱(RIA)所測定。在某些實施例中，本發明之非天然存在之 CKP 特異性結合靶配位體(諸如人類低密度脂蛋白受體相關蛋白 6 (LRP6)或人類血管內皮生長因子 A (VEGF-A))，其中解離常數(Kd)等於或低於 100 nM、視情況低於 10 nM、視情況低於 1 nM、視情況低於 0.5 nM、視情況低於 0.1 nM、視情況低於 0.01 nM 或視情況低於 0.005 nM；如在約 4℃、25℃、37℃或 45℃之溫度下所量測。

【0104】 提及「約」某一值或參數在本文中係指本技術領域中之熟習此項技術者容易獲知之相應值的通常誤差範圍。提及「約」某一值或參數在本文中包括(且描述)針對該值或參數本身之態樣。舉例而言，提及「約 X」之描述包括「X」之描述。

【0105】 應理解，本文中所描述之本發明態樣及實施例包括「包含」、「由……組成」及「基本上由……組成」態樣及實施例。

【0106】 本文中所引用之所有參考文獻(包括專利申請案及公開案)均以全文引用之方式併入在此。

可結合人類血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)

【0107】 在某些實施例中，本文中提供一種可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)，其中該 CKP 包含以下胱胺酸骨架結構(亦即，骨架結構 I)：

$$Z_1C_1\mathbf{L1}C_2\mathbf{L2}C_3\mathbf{L3}C_4\mathbf{L4}C_5\mathbf{L5}C_6Z_2 \qquad (I)，$$

其中：

Z_1及 Z_2為任何胺基酸；

L1 為環 1 且具有選自由以下各項組成之群的結構：$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$、$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$及$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$，其中 X_1至 X_{10}各自為任何胺基酸；

L2 為環 2 且具有結構：$X_1X_2X_3X_4X_5$，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基酸或選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。

L3 為環 3 且具有結構：$X_1X_2X_3$，其中 X_1至 X_3各自為任何胺基酸或選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-

甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺；

L4 為環 4 且具有結構：X_1，其中 X_1為任何胺基酸或選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘

胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺；

L5 為環 5 且具有結構：$X_1X_2X_3X_4X_5$，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基酸或選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺；且

其中該 CKP 以 500 pM 或更低之親和力結合 VEGF-A。

【0108】 在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端及 N 末端皆經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端羧基經醯胺化。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端胺經乙醯化。

在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端羧基經醯胺化且該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端胺經乙醯化。

【0109】 在某些實施例中，參考具有 SEQ ID NO: 1 中所闡述之胺基酸序列的野生型噴瓜胰蛋白酶抑制劑 EETI-II 蛋白，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)具有經改變之二硫鍵連接；其中該經改變之二硫鍵連接為 C1-C4、C2-C3 及 C5-C6。

【0110】 在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)之 Z_1及/或 Z_2為 G。在某些實施例中，Z_1及/或 Z_2包含多於一個胺基酸。在某些實施例中，Z_1及/或 Z_2包含 4 個胺基酸。在某些實施例中，Z_1及/或 Z_2包含 5 個胺基酸。在某些實施例中，Z_1及/或 Z_2為非天然胺基酸。在某些實施例中，該非天然胺基酸為 N-乙醯基甘胺酸或甘胺醯胺。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L1，其中 X_3不為 I；其中 X_5不為 M；及/或其中 X_6不為 R。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L1，其中 X_1為選自 P、Q、R、T、V、D、N、K、L 及 X 之胺基酸；其中 X_2為選自 T、D、L、V、I、R、P、N 及 X 之胺基酸；其中 X_3為選自 T、P、M、L、S、F、R 及 X 之胺基酸；其中 X_4為選自 R、T、Q、D、W、L、E、S、K 及 X 之胺基酸；其中 X_5為選自 F、P、V、E、K、L、I 及 X 之胺基酸；其中 X_6為選自 K、N、F、P、L、Y、T、D、M 及 X 之胺基酸；其中 X_7為選自 Q、W、H 及/X 之胺基酸；及/或其中 X_8為選自 Y、A、G、D、E、W、S 及 X 之胺基酸，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-

丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L1，其中 X_9為選自 L、I、V、D、E 及 X 之胺基酸，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。在某些實施例

中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L1，其中 X_{10} 為選自 Y、T、M、N、F 及 X 之胺基酸，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。

【0111】 在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L5，其中 X_1 至 X_5 各自為任何胺基酸或選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、

3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺，但 X_2不為脯胺酸(P)。

【0112】 在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L5，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基酸或選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及

甘胺酸嗎啉醯胺，但 X_4不為甘胺酸(G)。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L5，其中 X_1為選自 G、Q、H、R、L 及 Q 之胺基酸；其中 X_2為選自 P、M、W、Y、F、L 及 H 之胺基酸；其中 X_3為選自 N、F、H 及 Y 之胺基酸；其中 X_4為選自 G、Q、D、N、K、H、E 及 S 之胺基酸；及/或其中 X_5為選自 F、S 及 T 之胺基酸。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L2，其中 X_1為 K，X_2為 Q，X_3為 D，X_4為 S，且 X_5為 D。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L3，其中 X_1為 L，X_2為 A，且 X_3為 G。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L4，其中 X_1為 V 或 F。

【0113】 在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L1，該 L1 包含結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$，其中：X_1為選自 P、Q 及 R 之胺基酸；X_2為選自 T、L 及 D 之胺基酸；X_3為選自 T、M 及 L 之胺基酸；X_4為選自 R、Q 及 D 之胺基酸；X_5為選自 F、P 及 V 之胺基酸；X_6為選自 K 及 F 之胺基酸；X_7為選自 Q 及 W 之胺基酸；且 X_8為選自 Y、G 及 D 之胺基酸。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L1，該 L1 包含結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$，其中 X_1為選自 Q、R、T 及 V 之胺基酸；X_2為選自 T 及 D 之胺基酸；X_3為 P；X_4為選自 T 及 W 之胺基酸；X_5為選自 F、E、P 及 K 之胺基酸；X_6為選自 N 及 P 之胺基酸；X_7為選自 W 及 H 之胺基酸；X_8為選自 A、D、E 及 W 之胺基酸；X_9為選自 L 及 I 之胺基酸；且 X_{10}為選自 Y、T、M 及 N 之胺基酸。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L5，其中 X_1為選自 G、H 及 Q 之胺基酸；X_2為選自 P、M、W 及 Y 之胺基酸；X_3為選自 N 及 Y 之胺基酸；X_4為選自 G、Q 及 S 之胺基酸；且 X_5為選自 F 及 S 之胺基酸。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L2，其中 X_1為 K，X_2為 Q，X_3為 D，X_4為 S，且 X_5為 D。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L3，其中 X_1為 L，X_2為 A，且 X_3為 G。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L4，其中 X_1為 V 或

F。

【0114】 在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L1，該 L1 具有結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$，其中：X_1為選自 D、Q、N 及 K 之胺基酸；X_2為選自 V、I、R、L 及 P 之胺基酸；X_3為選自 L、S、M、T 及 F 之胺基酸；X_4為選自 Q、L 及 E 之胺基酸；X_5為 P；X_6為選自 F、L 及 Y 之胺基酸；X_7為 W；且 X_8為 G。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L5，其中 X_3為 Y；X_5為 S；且其中 X_1、X_2及 X_4各自為任何胺基酸，但 X_1不為 G，X_2不為 P，X_4不為 G，及/或 X_5不為 F。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L5，其中 X_1為選自 H、L、R 及 Q 之胺基酸；X_2為選自 W、F 及 Y 之胺基酸；X_3為 Y；X_4為選自 Q、N、K、H 及 E 之胺基酸；且 X_5為 S。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L2，其中 X_1為 K，X_2為 Q，X_3為 D，X_4為 S，且 X_5為 D。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L3，其中 X_1為 L，X_2為 A，且 X_3為 G。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L4，其中 X_1為 V 或 F。

【0115】 在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L1，該 L1 包含結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$，其中 X_1為選自 K、Q、L 及 R 之胺基酸；X_2為選自 N 及 D 之胺基酸；X_3為選自 P 及 L 之胺基酸；X_4為選自 L、T、S 及 K 之胺基酸；X_5為選自 F、V、I 及 L 之胺基酸；X_6為選自 N 及 D 之胺基酸；X_7為 W；X_8為選自 A 及 S 之胺基酸；X_9為選自 L、V、E 及 D 之胺基酸；且 X_{10}為選自 Y 及 F 之胺基酸。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L5，其中 X_1為 Q；X_2為選自 L、F、M 及 H 之胺基酸；X_3為選自 F、Y 及 H 之胺基酸；X_4為選自 D、Q、N 及 K 之胺基酸；且 X_5為選自 S 及 T 之胺基酸。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L2，其中 X_1為 K，X_2為 Q，X_3為 D，X_4為 S，且 X_5為 D。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L3，其中 X_1為 L，X_2為 A，且 X_3為 G。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存

在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L4，其中 X_1為 V 或 F。

【0116】 在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L1，該 L1 包含結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$，其中：X_5為 P；X_7為 W；X_8為 G；且其中 X_1、X_2、X_3、X_4及 X_6各自為任何胺基酸，但 X_1不為 P，X_2不為 R，X_3不為 I，及/或 X_6不為 R。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L1，該 L1 包含結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$，其中 X_1為選自 N 及 D 之胺基酸；X_2為選自 I 及 V 之胺基酸；X_3為選自 M 及 L 之胺基酸；X_4為選自 L、Q、D 及 K 之胺基酸；X_5為 P；X_6為選自 F、Y、T、L 及 M 之胺基酸；X_7為 W；且 X_8為 G。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L5，其中 X_1為選自 Q、H、L 及 R 之胺基酸；X_2為選自 Y 及 W 之胺基酸；X_3為 Y；X_4為選自 Q 及 N 之胺基酸；且 X_5為 S。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L5，其中 X_3為 Y；X_5為 S；且其中 X_1、X_2及 X_4各自為任何胺基酸，但：X_1不為 G，X_2不為 P，及/或 X_4不為 G。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L2，其中 X_1為選自 G 或 E 之胺基酸；X_2為選自 Q、L、P、R、E 及 M 之胺基酸；X_3為選自 S、D 及 N 之胺基酸；X_4為選自 F、Y、L、M 及 I 之胺基酸；及/或 X_5為選自 E、D、Q、L 及 S 之胺基酸。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L3，其中 X_1為 L，X_2為 A，且 X_3為 G。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L4，其中 X_1為 V 或 F。

【0117】 在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L5，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基酸，但 X_2不為脯胺酸(P)。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L5，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基酸，但 X_4不為甘胺酸(G)。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L5，其中 X_1為除 G 以外之任何胺基酸；X_2為除 P 以外之任何胺基酸；X_3為除 N 以外之任何胺基酸；X_4為除 G 以外之任何胺基酸；及/或 X_5為除 F 以外之任何胺基酸。

【0118】 在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L1，該 L1 包含結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$，其中 X_1為選自 N、D 及 X 之胺基酸；X_2為選自 I、V 及 X 之胺基酸；X_3為 M 或 X；X_4為選自 L、Q 及 X 之胺基酸；X_5為 P 或 X；X_6為 F、Y 或 X；X_7為 W 或 X；且 X_8為 G 或 X，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L3，其中 X_1至 X_3各自為任何胺基酸或選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、

吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺 ，但 X_1不為白胺酸(L)，X_2不為丙胺酸(A)，且 X_3不為甘胺酸(G)，其中該非天然胺基酸選自由以下各項組成之群：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、

丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L3，其中 X_1為選自 M、F、L、V 及 X 之胺基酸；X_2為選自 S、N、Q、I、Y、E、V、T 及 X 之胺基酸；且 X_3為選自 D、Q、T、N、E、R 及 X 之胺基酸，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L4，其中 X_1為除 V 以外之任何胺基酸或選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-

丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L4，其中 X_1 為 I、L 或 X，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸 γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-

甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺 。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L5，其中 X_3為 Y 或選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺；X_5為 S 或選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉

基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺；且其中 X_1、X_2及 X_4各自為任何胺基酸或選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺，但 X_1不為 G，X_2不為 P，及/或 X_4不為 G。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L5，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基酸，但 X_2不為脯胺酸(P)。在某些實施例中，

可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L5，其中 X_1至 X_5 各自為任何胺基酸，但 X_4不為甘胺酸(G)。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L5，其中 X_1為選自 Q、H 及 X 之胺基酸；X_2為選自 Y、W 及 X 之胺基酸；X_3為 Y 或 X；X_4為選自 Q、N 或 X 之胺基酸；X_5為 S 或 X，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)包含 L2，其中 X_1為 G 或 X；X_2為 R、P 或 X；X_3為 D 或 X；X_4為 F、I 或 X；且 X_5為 E、D 或 X，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-

氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。

【0119】 在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端及 N 末端皆經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端羧基經醯胺化。在某些實施例中，該可結合VEGF-A之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的N末端胺經乙醯化。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端羧基經醯胺化且該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端胺經乙醯化。

【0120】 本文中亦提供一種可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)，其中該 CKP 包含以下所提供之胱胺酸骨架結構(亦即，骨架結構 I)：

$$Z_1C_1L1C_2L2C_3L3C_4L4C_5L5C_6Z_2 \text{ (I)，}$$

其中：

Z_1及 Z_2為任何胺基酸；

L1 為環 1 且具有選自由以下各項組成之群的結構：$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$、$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$及$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$，其中 X_1至 X_{10}各自為任何胺基酸；

L2 為環 2 且具有結構：$X_1X_2X_3X_4X_5$，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基酸；

L3 為環 3 且具有結構：$X_1X_2X_3$，其中 X_1至 X_3各自為任何胺基酸；

L4 為環 4 且具有結構：X_1，其中 X_1為任何胺基酸；

L5 為環 5 且具有結構：$X_1X_2X_3X_4X_5$，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基酸；

其中，

參考具有 SEQ ID NO: 1 中所闡述之胺基酸序列的野生型噴瓜胰蛋白酶抑制劑 EETI-II 蛋白，該 CKP 具有經改變之二硫鍵連接；其中該經改變之二硫鍵連接為 C1-C4、C2-C3 及 C5-C6；且其中該 CKP 具有至少約 15%、至少約 20%、至少約 25%、至少約 30%、至少約 35%、至少約 40%、至少約 45%或至少約 50%之 α 螺旋含量百分比，包括介於此等值之間的任何範圍。

【0121】 在某些實施例中，該非天然存在之 CKP 以約 500 pM 或更低之親和力結合 VEGF-A。

【0122】 在某些實施例中，該非天然存在之 CKP 與 VEGF-A 之結合親和力係經由例如表面電漿子共振或以下實例中所詳述之其他分析法加以測定。

【0123】 在某些實施例中，可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)之 Z_1及/或 Z_2為 G。在某些實施例中，Z_1及/或 Z_2包含多於一個胺基酸。在某些實施例中，Z_1及/或 Z_2包含 4 個胺基酸。在某些實施例中，Z_1及/或 Z_2包含 5 個胺基酸。在某些實施例中，Z_1及/或 Z_2為非天然胺基酸。在某些實施例中，該非天然胺基酸為 N-乙醯基甘胺酸或甘胺醯胺。

【0124】 在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端及 N 末端皆經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A

之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端羧基經醯胺化。在某些實施例中，該可結合VEGF-A之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的N末端胺經乙醯化。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端羧基經醯胺化且該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端胺經乙醯化。

【0125】 在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 包含 L5，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基酸，但 X_2不為脯胺酸(P)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 包含 L5，X_1至 X_5各自為任何胺基酸，但 X_4不為甘胺酸(G)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 抑制 VEGF-A 活性，且 IC_{50}為約 0.5 nM 至約 1.0 nM。在某些實施例中，抑制程度係經由如以下實例中更詳細描述之細胞 IC_{50}分析法加以測定。

【0126】 在某些實施例中，參考以上骨架結構 I，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 包含 L1，該 L1 包含胺基酸序列 HMMYDY (SEQ ID NO: 231)或K/P/Q/R-K/T/L/D-W/T/M/L-Q/R/D-W/F/P/V-W/K/F-Y/Q/W-M/Y/G/D (SEQ ID NO: 15)或 E/G/P/Q/R/T/V-T/E/A/D-D/T/I/P-W/V/Q/T/W-Y/F/N/E/P/K-P/E/W/N/P-H/Q/K/W/H-Q/F/E/A/D/W-I/L/H-D/W/P/Y/T/M/N (SEQ ID NO: 232)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 LAG。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 包含 L4，該 L4 包含 V 或 F。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 包含 L5，該 L5 包含胺基酸序列 G/E/Y/Q/H-P/M/W/Y-N/Y/W-G/D/T/Q/R/S-F/A/E/S (SEQ ID NO: 20)或 SWWPSL (SEQ ID NO: 237)。

【0127】 在某些實施例中，參考以上骨架結構 I，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 包含 L1，該 L1 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 8-14 及 225-230。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ

ID NO: 93)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 LAG。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 包含 L4，該 L4 包含 V 或 F。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO 15-18 及 233-238。SEQ ID NO 8-18、225-230 及 233-238 之胺基酸序列提供於以下**表 1** 中。

表 1

ETDWYPHQID (SEQ ID NO: 225)	GPNGF (SEQ ID NO: 233)
GETVFEQFLW (SEQ ID NO: 226)	GPNGF (SEQ ID NO: 234)
HMMYDY (SEQ ID NO: 227)	EMYDA (SEQ ID NO: 235)
KKWQWWYM (SEQ ID NO: 228)	YPWTE (SEQ ID NO: 236)
PAIQNWKEHP (SEQ ID NO: 229)	SWWPSL (SEQ ID NO: 237)
PTTRFKQY (SEQ ID NO: 8)	GPNGF (SEQ ID NO: 15)
QDPTFNWALY (SEQ ID NO: 9)	QM**YQS** (SEQ ID NO: 16)
QLMHPFWG (SEQ ID NO: 230)	HW**YRS** (SEQ ID NO: 238)
QLMQPFWG (SEQ ID NO: 10)	HW**YQS** (SEQ ID NO: 17)
RDLDVKWD (SEQ ID NO: 11)	QY**YSS** (SEQ ID NO: 18)
RTPWEPHDIT (SEQ ID NO: 12)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)
TTPWPPHEIM (SEQ ID NO: 13)	
VTPWKPHWIN (SEQ ID NO: 14)	

【0128】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 SEQ ID NO: 21-17 及 239-244 中任一者之胺基酸序列。SEQ ID NO: 21-17 及 239-244 之胺基酸序列提供於以下**表 2** 中。

表 2

GCETDWYPHQIDCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 239)
GCGETVFEQFLWCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 240)

GCHMMYDYCKQDSDCLAGCVCEMYDACG (SEQ ID NO: 241)
GCKKWQWWYMCKQDSDCLAGCVCYPWTECG (SEQ ID NO: 242)
GCPAIQNWKEHPCKQDSDCLAGCVCSWWPSLCG (SEQ ID NO: 243)
GCPTTRFKQYCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 21)
GCQDPTFNWALYCKQDSDCLAGCVCQMYQSCG (SEQ ID NO: 22)
GCQLMHPFWGCKQDSDCLAGCVCHWYRSCG (SEQ ID NO: 244)
GCQLMQPFWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 23)
GCRDLDVKWDCKQDSDCLAGCFCQYYSSCG (SEQ ID NO: 24)
GCRTPWEPHDITCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 25)
GCTTPWPPHEIMCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 26)
GCVTPWKPHWINCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 27)

【0129】 在某些實施例中，參考以上骨架結構I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含胺基酸序列 Q/H/E/N/D-L/V/R/P/I-M/F/L-Q/E/R/L-P-F/A/L/S-W-G (SEQ ID NO: 358)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 LAG。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含胺基酸 V。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含胺基酸序列 HWYQS (SEQ ID NO: 17)。

【0130】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO 33、36 及 245-253。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 LAG。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含胺基酸 V。在某些實施例

中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含胺基酸序列 HWYQS (SEQ ID NO: 17)。SEQ ID NO 33、36 及 245-253 之胺基酸序列提供於以下表 3 中：

表 3

HLFEPLWG (SEQ ID NO: 245)
QVMRPFWG (SEQ ID NO: 246)
QVMQPAWG (SEQ ID NO: 247)
HRLQPLWG (SEQ ID NO: 248)
ELLQPSWG (SEQ ID NO: 249)
NPMLPFWG (SEQ ID NO: 368)
NVLLPLWG (SEQ ID NO: 250)
DIMQPLWG (SEQ ID NO: 36)
DLMQPLWG (SEQ ID NO: 251)
NPMLPLWG (SEQ ID NO: 252)
QVLQPSWG (SEQ ID NO: 253)

【0131】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 SEQ ID NO: 265-275 中任一者之胺基酸序列。SEQ ID NO: 265-275 之胺基酸序列提供於以下**表 4** 中。

表 4

GCHLFEPLWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 265)
GCQVMRPFWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 266)
GCQVMQPAWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 267)
GCHRLQPLWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 268)
GCELLQPSWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 269)
GCNPMLPFWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 270)
GCNVLLPLWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 271)

GCDIMQPLWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 272)
GCDLMQPLWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 273)
GCNPMLPLWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 58)
GCQVLQPSWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 275)

【0132】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L1，該 L1 包含胺基酸序列 QLMQPFWG (SEQ ID NO: 10)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 LAG。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含胺基酸 V。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L5，該 L5 包含胺基酸序列 R/H-W-Y-N/Q/H-S (SEQ ID NO: 359)。

【0133】 在某些實施例中，參考以上骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L1，該 L1 包含胺基酸序列 QLMQPFWG (SEQ ID NO: 10)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 LAG。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含胺基酸 V。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L5，該 L5 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：HWYQS (SEQ ID NO: 17)、RWYHS (SEQ ID NO: 43)及 RWYNS (SEQ ID NO: 133)。

【0134】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 23、276 及 278。SEQ ID NO 23、276 及 278 提供於以下**表 5** 中。

表 5

GCQLMQPFWGCKQDSDCLAGCVCRWYNSCG (SEQ ID NO: 276)

GCQLMQPFWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 23)
GCQLMQPFWGCKQDSDCLAGCVCRWYHSCG (SEQ ID NO: 278)

【0135】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含胺基酸序列 Q/D/K/N/A/R/H-L/V/I/R/P/V/-M/L/S/T/F-Q/E/L/H-P-F/L/M/Y/S-W-G (SEQ ID NO: 40)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 LAG。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含胺基酸 V。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含胺基酸序列 H/L/R/Q/-W/F/Y-Y-Q/N/K/H/D/E-S (SEQ ID NO: 360)。

【0136】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 28-39 及 254-261。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 LAG。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含胺基酸 V。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 17、41-46、133 及 262-264。SEQ ID NO: 17、28-39、41-46、133 及 254-264 之胺基酸序列提供於以下**表 6** 中：

表 6

DVLQPFWG (SEQ ID NO: 28)	HWYQS (SEQ ID NO: 17)
QISQPFWG (SEQ ID NO: 29)	HFYNS (SEQ ID NO: 41)
DRMQPLWG (SEQ ID NO: 30)	LWYKS (SEQ ID NO: 42)
QLLEPMWG (SEQ ID NO: 254)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)
KLLQPMWG (SEQ ID NO: 255)	QWYKS (SEQ ID NO: 262)

DRMQPYWG (SEQ ID NO: 256)	RWYHS (SEQ ID NO: 43)
NLMLPFWG (SEQ ID NO: 31)	RWYQS (SEQ ID NO: 44)
QRTQPFWG (SEQ ID NO: 32)	LWYDS (SEQ ID NO: 263)
KIMQPLWG (SEQ ID NO: 257)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
NLMHPFWG (SEQ ID NO: 258)	RWYNS (SEQ ID NO: 133)
NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	QWYQS (SEQ ID NO: 264)
DPMQPFWG (SEQ ID NO: 34)	NPMLPLWG (SEQ ID NO: 38)
DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	KLFEPLWG (SEQ ID NO: 39)
DIMQPLWG (SEQ ID NO: 36)	
ALLQPLWG (SEQ ID NO: 259)	
QLLQPLWG (SEQ ID NO: 37)	
RLLEPSWG (SEQ ID NO: 260)	
HLLLPLWG (SEQ ID NO: 261)	

【0137】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 47-59 及 279-286。SEQ ID NO: 47-59 及 279-286 之胺基酸序列提供於以下**表 7** 中。

表 7

GCDVLQPFWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 47)
GCQISQPFWGCKQDSDCLAGCVCHFYNSCG (SEQ ID NO: 48)
GCDRMQPLWGCKQDSDCLAGCVCLWYKSCG (SEQ ID NO: 49)
GCQLLEPMWGCKQDSDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 279)
GCKLLQPMWGCKQDSDCLAGCVCRWYQSCG (SEQ ID NO: 280)
GCDRMQPYWGCKQDSDCLAGCVCQWYKSCG (SEQ ID NO: 281)
GCNLMLPFWGCKQDSDCLAGCVCRWYHSCG (SEQ ID NO: 50)
GCQRTQPFWGCKQDSDCLAGCVCRWYQSCG (SEQ ID NO: 51)
GCKIMQPLWGCKQDSDCLAGCVCLWYDSCG (SEQ ID NO: 282)
GCNLMHPFWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 283)
GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 52)

GCNPMLPFWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 53)
GCDPMQPFWGCKQDSDCLAGCVCRWYQSCG (SEQ ID NO: 54)
GCDVMQPYWGCKQDSDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 55)
GCDIMQPLWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 56)
GCALLQPLWGCKQDSDCLAGCVCRWYNSCG (SEQ ID NO: 284)
GCQLLQPLWGCKQDSDCLAGCVCRWYQSCG (SEQ ID NO: 57)
GCRLLEPSWGCKQDSDCLAGCVCQWYQSCG (SEQ ID NO: 285)
GCHLLLPLWGCKQDSDCLAGCVCRWYHSCG (SEQ ID NO: 286)
GCNPMLPLWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 58)
GCKLFEPLWGCKQDSDCLAGCVCRWYESCG (SEQ ID NO: 59)

【0138】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含胺基酸序列 Q/D/K/W/E/L/R-D/N-P/R/L/T-T/S/L/K-F/V/L/I-N/D-W-A/S/G-L/V/E/T/Q/D-F/Y (SEQ ID NO: 70)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 LAG。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含胺基酸 V。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含胺基酸序列 Q/R-M/L/F/H-Y/F/H-D/Q/N/K-S/T (SEQ ID NO: 80)。

【0139】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 60-69 及 287-291。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 LAG。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含胺基酸 V。在某些實施例中，該非天然存在之

結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 16、71-79、274 及 292。SEQ ID NO: 16、60-69、71-79、274 及 287-292 之胺基酸序列提供於以下表 8 中。

表 8

DDPSFDWSVY (SEQ ID NO: 287)	RMYDS (SEQ ID NO: 292)
KNPLFNWALY (SEQ ID NO: 60)	QLFDS (SEQ ID NO: 71)
QDPTVNWAVY (SEQ ID NO: 61)	QFYQS (SEQ ID NO: 72)
QDPTFNWAEY (SEQ ID NO: 62)	QLYQS (SEQ ID NO: 73)
WDPTFNWALY (SEQ ID NO: 288)	QMYDS (SEQ ID NO: 76)
QDPTLNWATY (SEQ ID NO: 289)	QMYQS (SEQ ID NO: 16)
EDPTVDWAQY (SEQ ID NO: 290)	QMHQS (SEQ ID NO: 74)
QDPSLNWADY (SEQ ID NO: 63)	QMYNS (SEQ ID NO: 75)
LDRTLNWALY (SEQ ID NO: 64)	QLYQS (SEQ ID NO: 73)
LDPSFNWSLY (SEQ ID NO: 65)	QHYKT (SEQ ID NO: 77)
RDLTINWALF (SEQ ID NO: 66)	QLFNS (SEQ ID NO: 78)
KDTTFNWGLF (SEQ ID NO: 291)	QLYNS (SEQ ID NO: 79)
LDPTVNWALF (SEQ ID NO: 67)	QMFNS (SEQ ID NO: 274)
QDPKLNWAVY (SEQ ID NO: 68)	
LDPSFDWALY (SEQ ID NO: 69)	

【0140】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 81-91 及 293-297。SEQ ID NO: 81-91 及 293-297 之胺基酸序列提供於以下**表 9** 中。

表 9

GCDDPSFDWSVYCKQDSDCLAGCVCRMYDSCG (SEQ ID NO: 293)
GCKNPLFNWALYCKQDSDCLAGCVCQLFDSCG (SEQ ID NO: 81)
GCQDPTVNWAVYCKQDSDCLAGCVCQFYQSCG (SEQ ID NO: 82)
GCQDPTFNWAEYCKQDSDCLAGCVCQLYQSCG (SEQ ID NO: 83)
GCWDPTFNWALYCKQDSDCLAGCVCQMYDSCG (SEQ ID NO: 294)
GCQDPTFNWAEYCKQDSDCLAGCVCQMYQSCG (SEQ ID NO: 84)
GCQDPSLNWADYCKQDSDCLAGCVCQMHQSCG (SEQ ID NO: 85)

GCQDPTLNWATYCKQDSDCLAGCVCQMYQSCG (SEQ ID NO: 295)
GCEDPTVDWAQYCKQDSDCLAGCVCQMYQSCG (SEQ ID NO: 296)
GCLDRTLNWALYCKQDSDCLAGCVCQMYNSCG (SEQ ID NO: 86)
GCLDPSFNWSLYCKQDSDCLAGCVCQMYDSCG (SEQ ID NO: 87)
GCRDLTINWALFCKQDSDCLAGCVCQMFNSCG (SEQ ID NO: 88)
GCKDTTFNWGLFCKQDSDCLAGCVCQLYQSCG (SEQ ID NO: 297)
GCLDPTVNWALFCKQDSDCLAGCVCQHYKTCG (SEQ ID NO: 89)
GCQDPKLNWAVYCKQDSDCLAGCVCQLFNSCG (SEQ ID NO: 90)
GCLDPSFDWALYCKQDSDCLAGCVCQLYNSCG (SEQ ID NO: 91)

【0141】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含胺基酸序列 NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 K/G/Q/S/N-Q/L/P/A/V/T/R/W/K/G/Y-D/S/E/N-S/F/Y/L/F/Q/M-D/E/N/A/L/F/H/Q (SEQ ID NO: 98)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 LAG。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含胺基酸 V。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含胺基酸序列 QYYQS (SEQ ID NO: 45)。

【0142】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含胺基酸序列 NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 94-97 及 298-309。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 LAG。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含胺基酸 V。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含胺基酸序列 QYYQS (SEQ ID NO: 45)。SEQ ID NO: 94-97 及 298-309 之胺基酸序列提供於以下**表 10** 中。

表 10

GQSFE (SEQ ID NO: 94)	GWDQF (SEQ ID NO: 304)
GLDYD (SEQ ID NO: 95)	GKDFH (SEQ ID NO: 305)
GPELN (SEQ ID NO: 298)	GPDLQ (SEQ ID NO: 96)
QADYA (SEQ ID NO: 299)	SGDFA (SEQ ID NO: 306)
GVDYL (SEQ ID NO: 300)	GKELN (SEQ ID NO: 307)
GTNFL (SEQ ID NO: 301)	GWSMD (SEQ ID NO: 308)
SRDFD (SEQ ID NO: 302)	GYDLQ (SEQ ID NO: 309)
NRDFL (SEQ ID NO: 303)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)

【0143】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 99-102 及 310-321。SEQ ID NO: 99-102 及 310-321 之胺基酸序列提供於以下**表 11** 中。

表 11

GCNIMLPFWGCGQSFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 99)
GCNIMLPFWGCGLDYDCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 100)
GCNIMLPFWGCGPELNCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 310)
GCNIMLPFWGCQADYACLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 311)
GCNIMLPFWGCGVDYLCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 312)
GCNIMLPFWGCGTNFLCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 313)
GCNIMLPFWGCSRDFDCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 314)
GCNIMLPFWGCNRDFLCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 315)
GCNIMLPFWGCGWDQFCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 316)
GCNIMLPFWGCGKDFHCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 317)
GCNIMLPFWGCGPDLQCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 101)
GCNIMLPFWGCSGDFACLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 318)
GCNIMLPFWGCGKELNCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 319)

GCNIMLPFWGCGWSMDCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 320)
GCNIMLPFWGCGYDLQCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 321)
GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 102)

【0144】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含胺基酸序列 N-I-M/L-L/S/T/Q/N/E/D-P-F/Y/S-WG (SEQ ID NO: 454)。在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含胺基酸序列 NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 GRDFE (SEQ ID NO: 97)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 L/V/M/F-A/Q/E/S/N/Y/I/T-G/Q/R/D/T/N/E。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含胺基酸 V 或 I。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含胺基酸序列 QYYQS (SEQ ID NO: 45)。

【0145】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)、NILLPFWG (SEQ ID NO: 396)、NILLPYWG (SEQ ID NO: 397)、NIMSPFWG (SEQ ID NO: 398)、NIMTPFWG (SEQ ID NO: 399)、NIMQPFWG (SEQ ID NO: 400)、NIMNPFWG (SEQ ID NO: 401)、NIMEPFWG (SEQ ID NO: 402)、NIMDPFWG (SEQ ID NO: 403)、NIMLPSWG (SEQ ID NO: 414) 及 NIMLPYWG (SEQ ID NO: 141)。在某些實施例中，參考骨架結構 V 或 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含胺基酸序列 NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 GRDFE (SEQ ID NO: 97)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：LQQ、VER、MSD、MNQ、MQT、VYQ、FIN、VSQ、VTE、FYE、MEQ 及 VYR。在某些實

施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含胺基酸 I。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含胺基酸序列 QYYQS (SEQ ID NO: 45)。

【0146】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 103-114。SEQ ID NO: 103-114 之胺基酸序列提供於以下**表 12** 中。

表 12

GCNIMLPFWGCGRDFECLQQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 103)
GCNIMLPFWGCGRDFECVERCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 104)
GCNIMLPFWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 105)
GCNIMLPFWGCGRDFECMNQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 106)
GCNIMLPFWGCGRDFECMQTCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 107)
GCNIMLPFWGCGRDFECVYQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 108)
GCNIMLPFWGCGRDFECFINCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 109)
GCNIMLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 110)
GCNIMLPFWGCGRDFECVTECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 111)
GCNIMLPFWGCGRDFECFYECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 112)
GCNIMLPFWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 113)
GCNIMLPFWGCGRDFECVYRCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 114)
GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 386)
GCNILLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 405)
GCNILLPYWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 406)
GCNIMSPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 407)
GCNIMTPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 408)
GCNIMQPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 409)
GCNIMNPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 410)
GCNIMEPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 411)
GCNIMDPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 412)
GCNIMLPSWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 415)
GCNIMLPFWGCGRDFECLSGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 421)

GCNIMLPFWGCGRDFECLTGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 422)
GCNIMLPFWGCGRDFECLEGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 423)
GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCLCQYYQSCG (SEQ ID NO: 424)
GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 425)
GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCS (SEQ ID NO: 431)
GCNILLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 435)

【0147】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含胺基酸序列 DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 K/G/D/A/E-Q/E/R/V/P/D/M/G/N/L/A/F-D/N/Y/S-S/F/L/I/M/Y/V/N/E-D/L/Q/S/E/T/L/A/N (SEQ ID NO: 121)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 LAG。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含胺基酸 V。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含胺基酸序列 HWYNS (SEQ ID NO: 46)。

【0148】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含胺基酸序列 DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 117-120、211 及 322-339。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 LAG。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含胺基酸 V。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含胺基酸序列 HWYNS (SEQ ID NO: 46)。SEQ ID NO: 117-120、211 及 322-339 之胺基酸序列提供於以下**表 13** 中。

表 13

GENFL (SEQ ID NO: 117)	DGDFD (SEQ ID NO: 331)
GRDLQ (SEQ ID NO: 322)	AGDFE (SEQ ID NO: 332)

GVDLS (SEQ ID NO: 323)	EMDFD (SEQ ID NO: 120)
GPDID (SEQ ID NO: 118)	GNSFE (SEQ ID NO: 333)
GDDLE (SEQ ID NO: 324)	GQDLT (SEQ ID NO: 334)
GVDMT (SEQ ID NO: 325)	GENLA (SEQ ID NO: 335)
GMDIE (SEQ ID NO: 326)	GQDYN (SEQ ID NO: 336)
DGDYQ (SEQ ID NO: 327)	GADLS (SEQ ID NO: 337)
GNDVS (SEQ ID NO: 328)	GFDMD (SEQ ID NO: 338)
GRDMD (SEQ ID NO: 119)	GESLS (SEQ ID NO: 211)
AGDEL (SEQ ID NO: 329)	DLNYE (SEQ ID NO: 339)
GLDEE (SEQ ID NO: 330)	

【0149】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 122-126 及 340-357。SEQ ID NO: 122-126 及 340-357 之胺基酸序列提供於以下**表 14** 中。

表 14

GCDVMQPYWGCGENFLCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 122)
GCDVMQPYWGCGRDLQCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 340)
GCDVMQPYWGCGVDLSCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 341)
GCDVMQPYWGCGPDIDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 123)
GCDVMQPYWGCGDDLECLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 342)
GCDVMQPYWGCGVDMTCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 343)
GCDVMQPYWGCGMDIECLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 344)
GCDVMQPYWGCDGDYQCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 345)
GCDVMQPYWGCGNDVSCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 346)
GCDVMQPYWGCGRDMDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 124)
GCDVMQPYWGCAGDELCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 347)

GCDVMQPYWGCGLDEECLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 348)
GCDVMQPYWGCDGDFDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 349)
GCDVMQPYWGCAGDFECLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 350)
GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 125)
GCDVMQPYWGCGNSFECLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 351)
GCDVMQPYWGCGQDLTCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 352)
GCDVMQPYWGCGENLACLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 353)
GCDVMQPYWGCGQDYNCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 354)
GCDVMQPYWGCGADLSCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 355)
GCDVMQPYWGCGFDMDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 356)
GCDVMQPYWGCGESLSCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 126)
GCDVMQPYWGCDLNYECLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 357)

【0150】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含胺基酸序列 D-V-M/L-Q/K/D-P-Y/M/T/L-W-G (SEQ ID NO: 130)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 LAG。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含胺基酸 V。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含胺基酸序列 H/L/Q/R-W-Y-N-S (SEQ ID NO: 134)。

【0151】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含選自 SEQ ID NO: 127-129 之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 LAG。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含

L4，該 L4 包含胺基酸 V。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 131-133。SEQ ID NO: 127-129 及 131-133 之胺基酸序列提供於以下**表 15** 中：

表 15

DVMKPMWG (SEQ ID NO: 127)	QWYNS (SEQ ID NO: 131)
DVLDPTWG (SEQ ID NO: 128)	LWYNS (SEQ ID NO: 132)
DVLQPLWG (SEQ ID NO: 129)	RWYNS (SEQ ID NO: 133)

【0152】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 135-137。SEQ ID NO: 135-127 之胺基酸序列提供於以下**表 16** 中：

表 16

GCDVMKPMWGCKQDSDCLAGCVCQWYNSCG (SEQ ID NO: 135)
GCDVLDPTWGCKQDSDCLAGCVCLWYNSCG (SEQ ID NO: 136)
GCDVLQPLWGCKQDSDCLAGCVCRWYNSCG (SEQ ID NO: 137)

【0153】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含胺基酸序列 DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 GPDID (SEQ ID NO: 118)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 L/F-A/V/S-G/R/N。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含選自 V、I 及 L 之胺基酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含胺基酸序列 HWYNS (SEQ ID NO: 46)。

【0154】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含胺基酸序列 DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 GPDID (SEQ ID NO: 118)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列

FVR 及 LSN。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含選自 V、I 及 L 之胺基酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含胺基酸序列 HWYNS (SEQ ID NO: 46)。

【0155】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVMQPYWGCGPDIDCFVRCLCHWYNSCG (SEQ ID NO: 139)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVMQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 140)。

【0156】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含本文中所揭示之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 中任一者的 L1、L2、L3、L4 及/或 L5。因而，在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 8-14、28-39、60-69、127-129、141、225-230、245-261、287-291、396-403 及 414。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 93-97、117-120、211、298-309 及 322-339。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：LAG、LQQ、VER、MSD、MNQ、MQT、VYQ、FIN、VSQ、VTE、FYE、MEQ 及 VYR、FVR 及 LSN。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含胺基酸 V、F、I 或 L。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含選自由以下各項組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 15-18、41-46、71-79、131-133、233-238、262-264 及 292。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端及 N 末端皆經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端羧基經醯胺化。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之

非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端胺經乙醯化。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端羧基經醯胺化且該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端胺經乙醯化。

【0157】 在某些實施例中，至少一個胺基酸自本文中所提供之結合 VEGF-A 之 CKP 中缺失。在某些實施例中，至少一個胺基酸自 N 末端缺失。在某些實施例中，至少一個胺基酸自 C 末端缺失。在某些實施例中，至少一個胺基酸自 N 末端及 C 末端缺失。在某些實施例中，至少一個內部胺基酸缺失。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 CNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYYQSC (SEQ ID NO: 217)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端及 N 末端皆經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的C末端羧基經醯胺化。在某些實施例中，該可結合VEGF-A之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端羧基經醯胺化且該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端胺經乙醯化。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端羧基經醯胺化且該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端胺經乙醯化。

【0158】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含至少一個胺基酸添加。在某些實施例中，至少一個胺基酸添加至 N 末端。在某些實施例中，至少一個胺基酸添加至 C 末端。在某些實施例中，至少一個胺基酸添加至 N 末端及 C 末端。

【0159】 在某些實施例中，兩個胺基酸添加至本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的 N 末端。在某些實施例中，兩個胺基酸添加至 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 102)中所闡述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的 N 末端。在某些實施例中，添

加至 SEQ ID NO: 102 之 N 末端的兩個胺基酸為 F/I/G/T/V/L-H/A/S/R。在某些實施例中，添加至 SEQ ID NO: 102 之 N 末端的兩個胺基酸選自由以下各項組成之群：FH、IA、GS、TR、VH 及 LS。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGFH (SEQ ID NO: 379)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGIA (SEQ ID NO: 380)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGGS (SEQ ID NO: 381)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGTR (SEQ ID NO: 382)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGVH (SEQ ID NO: 383)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGLS (SEQ ID NO: 384)中所闡述之胺基酸序列。

【0160】 在某些實施例中，兩個胺基酸添加至 GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 386)中所闡述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的 N 末端。在某些實施例中，添加至 SEQ ID NO: 102 之 N 末端的兩個胺基酸為 R/W/P/D/Q/E/S-T/K/E/F/Q/L/S。在某些實施例中，添加至 SEQ ID NO: 102 之 N 末端的兩個胺基酸選自由以下各項組成之群：RT、WK、PL、DE、QF、EQ、PT、RL 及 SL。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGRT (SEQ ID NO: 387)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGWK (SEQ ID NO: 388)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGPL (SEQ ID NO: 389)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCDV

LQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGDE (SEQ ID NO: 390)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGQF (SEQ ID NO: 391)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGEQ (SEQ ID NO: 392)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGPT (SEQ ID NO: 393)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGRL (SEQ ID NO: 394)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGSL (SEQ ID NO: 395)中所闡述之胺基酸序列。

【0161】 在某些實施例中，三個胺基酸添加至本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的 N 末端。在某些實施例中，兩個胺基酸添加至 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 102)中所闡述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的 N 末端。在某些實施例中，添加至 SEQ ID NO: 102 之 N 末端的三個胺基酸為 P/N/T/D/E/Y/W-L/Y/F/H/D/P-I/Q/V/K/S/Y/H。在某些實施例中，添加至 SEQ ID NO: 102 之 N 末端的三個胺基酸選自由以下各項組成之群：PLI、NYQ、PLQ、TFQ、DLV、EHK、YLS、WDY、WPH 及 PHQ。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGPLI (SEQ ID NO: 369)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGNYQ (SEQ ID NO: 370)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGPLQ (SEQ ID NO: 371)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGTFQ (SEQ ID NO: 372)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCNIMLPFWG

CGRDFECLAGCVCQYYQSCGDLV (SEQ ID NO: 373)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGEHK (SEQ ID NO: 374)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGYLS (SEQ ID NO: 375)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGWDY (SEQ ID NO: 376)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGWPH (SEQ ID NO: 377)中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGPHQ (SEQ ID NO: 378)中所闡述之胺基酸序列。

【0162】 在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端及 N 末端皆經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端羧基經醯胺化。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端羧基經醯胺化且該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端胺經乙醯化。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端羧基經醯胺化且該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端胺經乙醯化。

【0163】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 為本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的變異體。在某些實施例中，此種變異體在 SEQ ID NO: 8-14、28-39、60-69、127-129、141、225-230、245-261、287-291、396-403 及 414、SEQ ID NO: 93-97、117-120、211、298-309 及 322-339 中所闡述之序列、胺基酸序列 LAG、LQQ、VER、MSD、MNQ、MQT、VYQ、FIN、VSQ、VTE、FYE、MEQ 及 VYR、FVR 及 LSN 及/或

15-18、41-46、71-79、131-133、233-238、262-264 及 292 中之一或多者中包含至少 1 個、至少 2 個、至少 3 個、至少 4 個、至少 5 個、至少 6 個、至少 7 個、至少 8 個、至少 9 個或至少 10 個胺基酸取代。在某些實施例中，胺基酸取代為保守胺基酸取代。在某些實施例中，胺基酸取代實質上不降低該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合人類 VEGF-A 的能力。舉例而言，可進行實質上不降低 VEGF-A 結合親和力的保守變化(例如，如本文中所提供之保守取代)。可使用以下實例中所描述之方法來評估非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 之變異體的結合親和力。

【0164】 保守取代示於以下**表 17** 中「保守取代」之表頭下。更實質性變化提供於**表 17** 中「例示性取代」之表頭下，且如以下參考胺基酸側鏈類別進一步描述。可將胺基酸取代引入非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的變異體中且針對所要活性(例如，保持/改良之 VEGF-A 結合)篩選產物。

表 17：保守取代

原始殘基	例示性取代	較佳取代
Ala (A)	Val；Leu；Ile	Val
Arg (R)	Lys；Gln；Asn	Lys
Asn (N)	Gln；His；Asp, Lys；Arg	Gln
Asp (D)	Glu；Asn	Glu
Cys (C)	Ser；Ala	Ser
Gln (Q)	Asn；Glu	Asn
Glu (E)	Asp；Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn；Gln；Lys；Arg	Arg
Ile (I)	Leu；Val；Met；Ala；Phe；正白胺酸	Leu
Leu (L)	正白胺酸；Ile；Val；Met；Ala；Phe	Ile
Lys (K)	Arg；Gln；Asn	Arg
Met (M)	Leu；Phe；Ile	Leu
Phe (F)	Trp；Leu；Val；Ile；Ala；Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val；Ser	Ser
Trp (W)	Tyr；Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp；Phe；Thr；Ser	Phe

Val (V)	Ile；Leu；Met；Phe；Ala；正白胺酸	Leu

【0165】 非保守取代將使得有必要將此等類別之一的成員與另一類別交換。

【0166】 例示性取代變異體為親和力成熟型非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP，其可例如使用基於噬菌體呈現之親和力成熟技術(諸如本文中所描述之彼等親和力成熟技術)便利地產生。簡而言之，改變(亦即，添加、缺失或取代) L1、L2、L3、L4 及/或 L5 中之一或多個殘基，且將變異之結合 VEGF-A 之 CKP 呈現於噬菌體上並且針對 VEGF-A 結合親和力進行篩選。在親和力成熟之某些實施例中，藉由多種方法(例如，易出錯 PCR、環改組或寡核苷酸定向突變誘發)中之任一種將多樣性引入針對成熟所選擇之可變基因中。隨後建立第二文庫。隨後篩選該文庫以鑑別對 VEGF-A 具有所要親和力的任何非天然存在之 CKP 變異體。在某些實施例中，引入多樣性包括環定向方法，其中對 L1、L2、L3、L4 及/或 L5 中之若干殘基(例如，每次約 5 個、約 4-6 個或約 6-10 個殘基)進行隨機化。可例如使用丙胺酸掃描突變誘發或模型化來鑑別參與結合靶配位體之 L1、L2、L3、L4 及/或 L5 殘基。

【0167】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGQSFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 215)。

【0168】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 216)。

【0169】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAKCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 542)。

【0170】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 363)。

【0171】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包

含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 364)。

【0172】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECMNQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 222)。

【0173】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECFYECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 223)。

【0174】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 142)。

【0175】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNILLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 405)。

【0176】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNILLPYWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 406)。

【0177】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMSPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 407)。

【0178】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMTPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 408)。

【0179】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMQPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 409)。

【0180】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMNPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 410)。

【0181】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMEPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 411)。

【0182】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMDPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 412)。

【0183】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPSWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 415)。

【0184】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECLSGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 421)。

【0185】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECLTGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 422)。

【0186】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECLEGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 423)。

【0187】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCLCQYYQSCG (SEQ ID NO: 424)。

【0188】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 425)。

【0189】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCS (SEQ ID NO: 431)。

【0190】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNILLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO:

435)。

【0191】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 386)。

【0192】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNILLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 547)。

【0193】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNILQPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 548)。

【0194】 在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的序列中的一或多個胺基酸經非天然胺基酸取代。在某些實施例中，該一或多個胺基酸經相同的非天然胺基酸取代。在某些實施例中，該一或多個胺基酸各自經不同的非天然胺基酸取代。在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 在 L1、L2、L3、L4 及/或 L5 中之任何胺基酸位置上包含非天然胺基酸。

【0195】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 216)，其中 N 末端甘胺酸以 C(=O)-氧雜環丁烷-3-基封端。

【0196】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAXCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 216，其中 X 為鳥胺酸。

【0197】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 XCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 361)，其中 X 為 N-乙醯基甘胺酸。

【0198】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPXWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 362)，其中 X 為磺酸基酪胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPXWGCGRDFECLAGCVCQYY

QSCG (SEQ ID NO: 362)，其中 X 為 3,4-二氟-L-苯丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPXWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 362)，其中 X 為 3,4-二氯-L-苯丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPXWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 362)，其中 X 為 4-氯-L-苯丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPXWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 362)，其中 X 為 3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPXWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 362)，其中 X 為 2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPXWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 362)，其中 X 為吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸。

【0199】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIXLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 218)，其中 X 為正白胺酸。

【0200】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPFXGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 219)，其中 X 為 1-萘基丙胺酸。

【0201】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPFXGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 219)，其中 X 為 2-萘基丙胺酸。

【0202】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 XCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 221)，其中 X 為 PEG_6-炔丙基甘胺酸。

【0203】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIXLPYWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 365)，其中 X 為正白胺酸。

【0204】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包

含胺基酸序列 GCNIXLPFWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 144)，其中 X 為正白胺酸。

【0205】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIXLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 145)，其中 X 為正白胺酸。

【0206】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIX$_1$LPFWGCGRDF-D/E-CVS-N/K/X$_2$-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 540)，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIXLPFWGCGRDFECVSKCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 545)，其中 X 為正白胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIX$_1$LPFWGCGRDFECVSX$_2$CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 546)，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIX$_1$LPFWGCGRDF-N/K/X$_2$-CVS-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 541)，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。

【0207】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIXLPFWGCGRDFKCVS-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 561，在本文中 X 為正白胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 CNIXLPFWGCGRDFKCVSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 562，在本文中 X 為正白胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 CNIXLPFWGCGRDFKCVSECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 563，在本文中 X 為正白胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIX$_1$LPFWGCGRDFX$_2$CVS-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 564，在本文中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIX$_1$LPFWGCGRDFX$_2$CVSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 565，在本文中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIX$_1$

LPFWGCGRDFX$_2$CVSECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 566，在本文中 X$_1$ 為正白胺酸且 X$_2$ 為鳥胺酸。

【0208】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIXLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 146)，其中 X 為正白胺酸。

【0209】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIX$_1$LPYWGCGRDF-D/E-CME-N/K/X$_2$-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 538)，其中 X$_1$ 為正白胺酸且 X$_2$ 為鳥胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIXLPYWGCGRDFECMEKCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 543)，其中 X 為正白胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIX$_1$LPYWGCGRDFECMEX$_2$CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 544)，其中 X$_1$ 為正白胺酸且 X$_2$ 為鳥胺酸。

【0210】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIX$_1$LPYWGCGRDF-N/K/X$_2$-CME-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 539)，其中 X$_1$ 為正白胺酸且 X$_2$ 為鳥胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIXLPYWGCGRDFKCME-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 555)，其中 X 為正白胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIXLPYWGCGRDFKCMEDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 556)，其中 X 為正白胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIXLPYWGCGRDFKCMEECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 557)，其中 X 為正白胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIX$_1$LPYWGCGRDFX$_2$CME-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 558)，其中 X$_1$ 為正白胺酸且 X$_2$ 為鳥胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIX$_1$LPYWGCGRDFX$_2$CMEDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 559)，其中 X$_1$ 為正白胺酸且 X$_2$ 為鳥胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIX$_1$LPYWGCGRDFX$_2$CMEECICQYYQSCG (SEQ I

D NO: 560)，其中 X_1為正白胺酸且 X_2為鳥胺酸。

【0211】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVX$_1$QPYWGCGPDI-D/E-CLS-N/K/X$_2$-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 534)，其中 X_1為正白胺酸且 X_2為鳥胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVXQPYWGCGPDIDCLSKCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 536)，其中 X 為正白胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVX$_1$QPYWGCGPDIDCLSX$_2$CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 537)，其中 X_1為正白胺酸且 X_2為鳥胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVX$_1$QPYWGCGPDI-N/K/X$_2$-CLS-D/E-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 535)，其中 X_1為正白胺酸且 X_2為鳥胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVXQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 224)，其中 X 為正白胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVXQPYWGCGPDIKCLS-D/E-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 549)，其中 X 為正白胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVXQPYWGCGPDIKCLSDCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 550)，其中 X 為正白胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVXQPYWGCGPDIKCLSECICHWYNSCG (SEQ ID NO: 551)，其中 X 為正白胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVX$_1$QPYWGCGPDIX$_2$CLS-D/E-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 552)，其中 X_1為正白胺酸且 X_2為鳥胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVX$_1$QPYWGCGPDIX$_2$CLSDCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 553)，其中 X_1為正白胺酸且 X_2為鳥胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVX$_1$QPYWGCGPDIX$_2$CLSECICHWYNSCG (SEQ ID NO: 554)，其中 X_1為正白胺酸且 X_2為鳥胺酸。

【0212】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包

含胺基酸序列 GCNIMLXFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 413)，其中 X 為 γ-苯甲基-L-脯胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLXFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 413)，其中 X 為 γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLXFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 413)，其中 X 為 4-OH-L-脯胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLXFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 413)，其中 X 為 4-氟-L-脯胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLXFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 413)，其中 X 為 4-[4-(三氟甲基)苯甲基]-L-脯胺酸。

【0213】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYXGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 417)，其中 X 為 N-甲基吲哚。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYXGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 417)，其中 X 為 N-乙基吲哚。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYXGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 417)，其中 X 為 N-異丙基吲哚。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYXGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 417)，其中 X 為 5-氮雜-吲哚。

【0214】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419)，其中 X 為 4-甲基-L-苯丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419)，其中 X 為 2-萘基-L-丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419)，其中 X 為 2-喹

啉基-丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419)，其中 X 為 4,4'-聯苯-L-丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419)，其中 X 為 3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419)，其中 X 為 3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419)，其中 X 為 3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419)，其中 X 為 4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419)，其中 X 為 4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419)，其中 X 為苯并噻唑-L-丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419)，其中 X 為苯并噻吩-L-丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419)，其中 X 為 3-(3-異喹啉基)-L-丙胺酸。

【0215】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECXAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 420)，其中 X 為第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECXAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 420)，其中 X 為 3-環丁基-L-丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECXAGCVCQYYQSCG (SEQ ID

NO: 420)，其中 X 為 3-環戊基-L-丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECXAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 420)，其中 X 為 5,5,5-三氟-L-白胺酸。

【0216】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCXCQYYQSCG (SEQ ID NO: 426)，其中 X 為 L-第三白胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCXCQYYQSCG (SEQ ID NO: 426)，其中 X 為第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCXCQYYQSCG (SEQ ID NO: 426)，其中 X 為 L-環戊基甘胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCXCQYYQSCG (SEQ ID NO: 426)，其中 X 為 3-環戊基-L-丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCXCQYYQSCG (SEQ ID NO: 426)，其中 X 為 L-環丁基-L-甘胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCXCQYYQSCG (SEQ ID NO: 426)，其中 X 為 3-環丁基-L-丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCXCQYYQSCG (SEQ ID NO: 426)，其中 X 為 5,5,5-三氟-L-白胺酸。

【0217】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQXYQSCG (SEQ ID NO: 428)，其中 X 為 2-吡啶酮。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQXYQSCG (SEQ ID NO: 428)，其中 X 為 3,4-羥基-L-苯丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQXYQSCG (SEQ ID NO: 428)，其中 X 為 3,4-氟苯丙胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQXYQSCG (SEQ ID NO: 428)，其

中 X 為 3-氟,4-OH-L-苯丙胺酸。

【0218】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYXQSCG (SEQ ID NO: 430)，其中 X 為 2-氯-L-酪胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYXQSCG (SEQ ID NO: 430)，其中 X 為 2-甲基-L-酪胺酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYXQSCG (SEQ ID NO: 430)，其中 X 為 2-乙基-L-酪胺酸或 4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸。

【0219】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCX (SEQ ID NO: 432)，其中 X 為 D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲基甘胺酸、羧基末端轉化成三醇酯之甘胺酸、羧基末端轉化成二醇酯之甘胺酸、羧基末端轉化成氧雜環丁醇酯之甘胺酸或甘胺酸嗎啉醯胺。

【0220】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIXQPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 436)，其中 X 為正白胺酸。

【0221】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 $GCNIX_1LPYWGCGRDFECX_2EQCICQYYQSCG$ (SEQ ID NO: 437)。在某些實施例中，X_1及 X_2為相同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1及 X_2為不同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1及 X_2為正白胺酸。在某些實施例中，X_1為正白胺酸且 X_2為 3-環丁基-L-丙胺酸。

【0222】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIXLPYWGCGRDFECLEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 438)，其中 X 為正白胺酸。

【0223】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 $GCNIX_1LPYWGCGRDFECX_2EQCX_3CQYYQSCG$ (SEQ ID NO: 439)。在某些實施例中，X_1、X_2及/或 X_3為相同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1、X_2及/或 X_3不為相同的非天然胺基酸。在某些實施例中，

X_1為正白胺酸，X_2為 3-環丁基-L-丙胺酸，且 X_3為環丁基-L-甘胺酸。在某些實施例中，X_1為正白胺酸，X_2為 3-環丁基-L-丙胺酸，且 X_3為 3-環丁基-L-丙胺酸。在某些實施例中，X_1為正白胺酸，X_2為 3-環丁基-L-丙胺酸，且 X_3為正白胺酸。

【0224】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 $CNIX_1QPYWGCGRDFECX_2EQCX_3CQYYQSCG$ (SEQ ID NO: 440)。在某些實施例中，X_1、X_2及/或 X_3為相同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1、X_2及/或 X_3不為相同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1為正白胺酸，X_2為 3-環丁基-L-丙胺酸，且 X_3為環丁基-L-甘胺酸。在某些實施例中，X_1為正白胺酸，X_2為 3-環丁基-L-丙胺酸，且 X_3為 3-環丁基-L-丙胺酸。

【0225】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNILLPYWGCGRDFECXEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 441)，其中 X 為 3-環丁基-L-丙胺酸或第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)。

【0226】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNILLPYWGCGRDFECMEQCXCQYYQSCG (SEQ ID NO: 442)，其中 X 為環丁基-L-甘胺酸或 3-環丁基-L-丙胺酸。

【0227】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 $X_1CNIX_2LPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCX_3$ (SEQ ID NO: 443)。在某些實施例中，X_1、X_2及/或 X_3為相同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1、X_2及/或 X_3不為相同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1為 N-乙醯基甘胺酸，X_2為正白胺酸，且 X_3為甘胺醯胺。

【0228】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 $X_1CNILLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCX_2$ (SEQ ID NO: 444)。在某些實施例中，X_1及 X_2為相同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1及 X_2為不同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1為 N-乙醯基甘胺酸且 X_2為甘胺醯胺。

【0229】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包

含胺基酸序列 X_1CNILQPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCX$_2$ (SEQ ID NO: 445)。在某些實施例中，X_1及 X_2為相同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1及 X_2為不同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1為 N-乙醯基甘胺酸且 X_2為甘胺醯胺。

【0230】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 X_1CNILQPYWGCGRDFECLEQCICQYYQSCX$_2$ (SEQ ID NO: 446)。在某些實施例中，X_1及 X_2為相同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1及 X_2為不同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1為 N-乙醯基甘胺酸且 X_2為甘胺醯胺。

【0231】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVLQPYWGCGPDIDCXSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 447)，其中 X 為 3-環丁基-L-丙胺酸或第三丁基-L-丙胺酸(L-新戊基甘胺酸)。

【0232】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCXCHWYNSCG (SEQ ID NO: 448)，其中 X 為環丁基-L-甘胺酸。

【0233】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVX$_1$QPYWGCGPDIDCX$_2$SNC2X$_3$CHWYNSCG (SEQ ID NO: 449)。在某些實施例中，X_1、X_2及/或 X_3為相同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1、X_2及/或 X_3不為相同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1為正白胺酸，X_2為 3-環丁基-L-丙胺酸，且 X_3為環丁基-L-甘胺酸。在某些實施例中，X_1為正白胺酸，X_2為 3-環丁基-L-丙胺酸，且 X_3為 3-環丁基-L-丙胺酸。

【0234】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVLQPYWGCGPDIDCX$_1$SNC2X$_2$CHWYNSCG (SEQ ID NO: 450)。在某些實施例中，X_1及 X_2為相同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1及 X_2為不同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1為 3-環丁基-L-丙胺酸，且 X_2為環丁基-L-甘胺酸。在某些實施例中，X_1為 3-環丁基-L-丙胺酸，且 X_2為 3-環丁基-L-丙胺酸。

【0235】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 X_1CDVLQPYWGCGPDIDCX$_2$SNC2X$_3$CHWYNSCX$_4$ (SEQ ID NO: 451)。在某些實施例中，X_1、X_2、X_3及/或 X_4為相同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1、X_2、X_3及/或 X_4不為相同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1為 N-乙醯基甘胺酸，X_2為 3-環丁基-L-丙胺酸，X_3為環丁基-L-甘胺酸，且 X_4為甘胺醯胺。在某些實施例中，X_1為乙醯基甘胺酸，X_2為環丁基-L-丙胺酸，X_3為環丁基-L-丙胺酸，且 X_4為甘胺醯胺。

【0236】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 X_1CDVX$_2$QPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCX$_3$ (SEQ ID NO: 452)。在某些實施例中，X_1、X_2及/或 X_3為相同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1、X_2及/或 X_3不為相同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1為 N-乙醯基甘胺酸，X_2為正白胺酸，且 X_3為甘胺醯胺。

【0237】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 X_1CDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCX$_2$ (SEQ ID NO: 453)。在某些實施例中，X_1及 X_2為相同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1及 X_2為不同的非天然胺基酸。在某些實施例中，X_1為 N-乙醯基甘胺酸且 X_2為甘胺醯胺。

【0238】 在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端及 N 末端皆經修飾(諸如經封端)。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端羧基經醯胺化。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端羧基經醯胺化且該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端胺經乙醯化。在某些實施例中，該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 C 末端羧基經醯胺化且該可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)的 N 末端胺經乙醯化。

結構特徵

【0239】 在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的結構具有不同於 WT EETI-II 蛋白，亦即，不同於 WT EETI-II 所特有之 C1-C4、C2-C5 及 C3-C6 二硫鍵模式的二硫鍵連接。在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 具有 C1-C4、C2-C3 及 C5-C6 之二硫鍵連接。確定例如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的二硫鍵連接的方法包括例如藉由解出並分析非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 與 VEGF-A 之複合物的共晶結構、在部分還原烷基化後經由質譜或在蛋白水解消化後經由質譜、如 Sampoli 等人, (2000) *Proteins Struct Funct Gen.* 40, 168-174 中所描述進行結構計算等。

【0240】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 具有至少約 10%、至少約 15%、至少約 20%、至少約 25%、至少約 30%、至少約 35%、至少約 40%、至少約 45%或至少約 50%之 α 螺旋含量，包括介於此等值之間的任何範圍。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的至少 7 個、至少 8 個、至少 9 個、至少 10 個、至少 11 個、至少 12 個、至少 13 個、至少 14 個、至少 15 個、至少 16 個、至少 17 個或至少 18 個胺基酸形成該 α 螺旋。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 具有 C1-C4、C2-C3 及 C5-C6 之二硫鍵連接及至少約 10%、至少約 15%、至少約 20%、至少約 25%、至少約 30%、至少約 35%、至少約 40%、至少約 45%或至少約 50%之 α 螺旋含量，包括介於此等值之間的任何範圍。在某些實施例中，藉由例如圓二色性(CD)、旋光色散(ORD)、核磁共振(NMR)、藉由解出並分析非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 與 VEGF-A 之複合物的共晶結構、在部分還原烷基化後經由質譜或在蛋白水解消化後經由質譜來測定該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的 α 螺旋含量。

【0241】 在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 與第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 競爭結合 VEGF-A，其中參考骨架結構 I，該第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 QYYQS (SEQ ID NO: 45)。在

某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 與第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 競爭結合 VEGF-A，其中該第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 52)。

【0242】 在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 上由第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 所結合之同一抗原決定基，其中參考骨架結構 I，該第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 QYYQS (SEQ ID NO: 45)。在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 上由第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 所結合之同一抗原決定基，其中該第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 52)。

【0243】 在某些實施例中，本文中所提供之非天然之結合 VEGF-A 之 CKP 與第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 競爭結合 VEGF-A，其中參考骨架結構 I，該第二結合 VEGF-A 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)；L2，其包含胺基酸序列 GRDFE (SEQ ID NO: 97)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 QYYQS (SEQ ID NO: 45)。在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 與第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 競爭結合 VEGF-A，其中該第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 102)。

【0244】 在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 上由第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 所結合之同一抗原決定基，其中參考骨架結構 I，該第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)；L2，其包含胺基酸序列 GRDFE (SEQ ID NO: 97)；L3，其包含胺基酸序列

LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 QYYQS (SEQ ID NO: 45)。在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 上由第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 所結合之同一抗原決定基，其中該第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 102)。

【0245】 在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 與第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 競爭結合 VEGF-A，其中參考骨架結構 I，該第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 HWYNS (SEQ ID NO: 46)。在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 與第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 競爭結合 VEGF-A，其中該第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVMQPYWGCKQDSDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 55)。

【0246】 在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 上由第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 所結合之同一抗原決定基，其中參考骨架結構 I，該第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 HWYNS (SEQ ID NO: 46)。在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 上由第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 所結合之同一抗原決定基，其中該第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVMQPYWGCKQDSDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 55)。

【0247】 在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 蛋白與第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 競爭結合 VEGF-A，其中參考骨架結構 I，該第二結合 VEGF-A 之 CKP 包含：L1，

其包含胺基酸序列 DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)；L2，其包含胺基酸序列 GPDID (SEQ ID NO: 118)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 HWYNS (SEQ ID NO: 46)。在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 與第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 競爭結合 VEGF-A，其中該第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVMQPYWGCGPDIDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 123)。

【0248】 在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 上由第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 所結合之同一抗原決定基，其中參考骨架結構 I，該第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)；L2，其包含胺基酸序列 GPDID (SEQ ID NO: 118)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 HWYNS (SEQ ID NO: 46)。在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 上由第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 所結合之同一抗原決定基，其中該第二非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVMQPYWGCGPDIDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 123)。

【0249】 在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 中包含至少一個、至少兩個、至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個、至少八個、至少九個、至少十個或多於十個選自由以下各項組成之群的胺基酸的抗原決定基：V14、V15、F17、D19、Y21、Q22、Y25、I46、K48、N62、D63、L66、M81、I83、K84、P85、H86、Q87、G88、Q89、I91、C104、R105 及 P106。在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 中包含 K48、N62 及 D63 之抗原決定基。在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 中包含 H86 之抗原決定基。在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 中包含 Y21、Y25 及 P106 之抗原決定基。在某些實施例中，

本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 中包含 M81、D19 及 Q22 之抗原決定基。在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 中包含 F17、M81 及 I91 之抗原決定基。在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 中包含 V14、F17、D19、Q22、M81 及 I91 之抗原決定基。在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 中包含 Q22 及 Y25 之抗原決定基。

【0250】 在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 上與抗 VEGF-A 抗體 G6.31 所結合之 VEGF-A 抗原決定基重疊的抗原決定基(Fuh 等, (2006) *J. Biol. Chem.* 281, 6625-6631)。在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 上與 Flt-1 所結合之 VEGF-A 抗原決定基重疊的抗原決定基。在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合 VEGF-A 上與貝伐珠單抗所結合之 VEGF-A 抗原決定基重疊的抗原決定基。

功能特徵

【0251】 在某些實施例中，可「特異性結合」VEGF-A (諸如人類 VEGF-A、小鼠 VEGF-A 及/或大鼠 VEGF-A)之非天然存在之 CKP 具有不超過約 1×10^{-7} M、較佳不超過約 1×10^{-8} M 且最佳不超過約 1×10^{-9} M)之結合親和力(Kd)值，但對 VEGF-A 同系物或其他生長因子所具有的結合親和力比其對 VEGF-A 之結合親和力弱至少約 50 倍或至少約 500 倍或至少約 1000 倍。

【0252】 在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 與例如非靶蛋白(例如，VEGFA 同系物，諸如 VEGF-B、VEGF-C 及 VEGF-D)或其他生長因子(諸如 P1GF、EGF、NGF、IGF 及 PDGF)的結合程度小於該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 與 VEGF-A 之結合的約 10%，如藉由本領域中已知的方法，諸如 ELISA、螢光活化細胞分選(FACS)分析或放射免疫沈澱(RIA)所測定。可例如藉由測定分子之結合且與對照分子之結合相比較來量測特異性結合，該對照分子一般為不具有結合活性之

具有類似結構之分子。舉例而言，可藉由與類似於標靶之對照分子(例如，過量未標記標靶)競爭來測定特異性結合。在此情況下，若經標記之標靶與探針之結合因過量未標記標靶而受到競爭性抑制，則指示特異性結合。評估可「特異性結合」VEGF-A 之非天然存在之 CKP 之結合的其他方法描述於實例中。

【0253】 如本文中所使用之術語特定多肽或特定多肽靶上之抗原決定基的「特異性結合」或與特定多肽或特定多肽靶上之抗原決定基「特異性結合」或對特定多肽或特定多肽靶上之抗原決定基「具有特異性」可例如藉由對該標靶具有至少約 10^{-4} M、或者至少約 10^{-5} M、或者至少約 10^{-6} M、或者至少約 10^{-7} M、或者至少約 10^{-8} M、或者至少約 10^{-9} M、或者至少約 10^{-10} M、或者至少約 10^{-11} M、或者至少約 10^{-12} M 或更大之 Kd 的分子來展現。在一個實施例中，術語「特異性結合」係指分子與特定多肽或特定多肽上之抗原決定基結合而實質上不存在與任何其他多肽或多肽抗原決定基之結合的結合。

【0254】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 以介於約 1 pM 至約 500 nM 之間的 Kd 結合 VEGF-A。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 以介於約 1 pM 至約 50 pM 之間、介於約 50 pM 至約 250 pM 之間、介於約 250 pM 至約 500 pM 之間、介於約 500 pM 至 750 pM 之間、介於約 750 pM 至約 1 nM 之間、介於約 1 nM 至約 25 nM 之間、介於約 25 nM 至約 50 nM 之間、介於 50 nM 至約 100 nM 之間、介於約 100 nM 至約 250 nM 之間或介於約 250 nM 至約 500 nM 之間的 Kd 結合 VEGF-A。

【0255】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 結合人類 VEGF-A、小鼠 VEGF-A 及/或大鼠 VEGF-A。在某些實施例中，參考骨架結構 I，可結合人類 VEGF-A、小鼠 VEGF-A 及大鼠 VEGF-A 之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 QYYQS (SEQ ID NO: 45)。在某些實施例中，可結合人類 VEGF-A、小鼠

VEGF-A 及大鼠 VEGF-A 之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 52)。

【0256】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，可結合人類 VEGF-A、小鼠 VEGF-A 及大鼠 VEGF-A 之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)；L2，其包含胺基酸序列 GRDFE (SEQ ID NO: 97)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 QYYQS (SEQ ID NO: 45)。在某些實施例中，可結合人類 VEGF-A、小鼠 VEGF-A 及大鼠 VEGF-A 之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 102)。

【0257】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，可結合人類 VEGF-A、小鼠 VEGF-A 及大鼠 VEGF-A 之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 HWYNS (SEQ ID NO: 46)。在某些實施例中，可結合人類 VEGF-A、小鼠 VEGF-A 及大鼠 VEGF-A 之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVMQPYWGCKQDSDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 55)。

【0258】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，可結合人類 VEGF-A、小鼠 VEGF-A 及大鼠 VEGF-A 之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)；L2，其包含胺基酸序列 GPDID (SEQ ID NO: 118)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 HWYNS (SEQ ID NO: 46)。在某些實施例中，可結合人類 VEGF-A、小鼠 VEGF-A 及大鼠 VEGF-A 之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 包含胺基酸序列 GCDVMQPYWGCGPDIDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 123)。

【0259】 在某些實施例中，本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 具有小於約 0.5 nM、小於約 0.6 nM、小於約 0.7 nM、小於約 0.8 nM、小於約 0.9 nM 或小於約 1.0 nM 之 IC_{50} 值，包括介於此等值之

間的任何範圍。

【0260】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 不抑制胰蛋白酶活性，如在肽受質裂解分析(例如，實例中所描述之肽受質裂解分析)中所量測。

【0261】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 對胰蛋白酶消化具有抗性。在某些實施例中，與胰蛋白酶一起在 37℃下進行 24 h 培育之後，約 30%或更少、約 25%或更少或者約 20%或更少的非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 在環 2 內之 Arg13 上裂解。

【0262】 亦涵蓋編碼本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的核酸分子、包含編碼該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的核酸分子的表現載體及包含該等核酸分子之細胞。本文中亦提供產生本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的方法，該等方法係藉由培養此種細胞、表現該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 及自細胞培養物中回收該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP。

【0263】 在某些實施例中，如本文中其他部分所描述，經由活體外轉譯來產生非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP。

【0264】 在某些實施例中，經由化學肽合成，例如藉由將化學合成之 L1、L2、L3、L4 及/或 L5 肽接枝至骨架構架(諸如骨架結構 I)上或藉由化學合成整個非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 來產生非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP。

可結合人類低密度脂蛋白受體(LDL)相關蛋白 6 (LRP6)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)

【0265】 LDL 受體為參與脂蛋白及蛋白質配位體之受體介導之細胞吞噬的跨膜細胞表面蛋白。人類 LDL 受體相關蛋白 6 (LRP6) (登錄號：NM_002336 (mRNA)及 NP_002327 (蛋白質)；UniProtKB：O75581)充當 Wnt 之受體或與 Frizzled 一起充當共受體，且從而傳輸典型 Wnt/β-連環蛋白信號傳導級聯(Katoh 等人, (2007) *Clin Cancer Res* 13:4042-4045)。藉由其與 Wnt/β-連環蛋白信號傳導級聯之相互作用，LRP6 在調控細胞分化、增殖及移行中且在許多癌症類型之發展中起作用(Li 等人, (2004) *Oncogene*

23:9129-9135；Tung 等人，(2012) PLoS ONE 7(5): e36565. doi:10.1371/journal.pone.0036565；Liu 等人, (2010) *Proc Natl Acad Sci USA* 107:5136-5141)。

【0266】 Wnt 信號傳導涉及許多生物途徑。關於疾病，其涉及癌症及轉移性疾病、骨質疏鬆症及其他骨代謝及疾病、神經元及神經變性疾病、變形性關節炎及其他炎性疾病。此由阻斷 LRP6 所致之對 Wnt 信號傳導之抑制可具有多種治療效用。骨損失為嚴重醫學問題，不僅在停經後骨質疏鬆症期間，而且在變形性關節炎中。在多發性骨髓瘤中及骨轉移中發生骨質降解。因此對旨在強化骨質、骨折預防或恢復受損骨骼之治療策略非常感興趣(Kawai 等人, (2011) *Nat. Rev. Drug Discov.* 10, 141-156；Mason 及 Williams (2010) *J. Osteoporosis*, 第 2010 卷, 文章 ID 460120, 9 頁; doi:10.4061/2010/460120)。Wnt 途徑抑制劑 DKK1 及 SOST 由於其在抑制新骨形成中之作用而被視為非常有前景之治療標靶；中和 SOST 之功能的抗體顯示顯著臨床前活性(Ominsky 等人, (2010) *J. Bone Miner. Res.* 25, 948-959)且現下正在人類臨床試驗中(Padhi 等人, (2011) *J. Bone Miner. Res.* 26, 19-26)。

【0267】 失調之 Wnt 信號傳導牽涉自骨質疏鬆症至癌症範圍內之疾病(Clevers (2006) *Cell* 127: 469-80；MacDonald 等人, 2009. *Dev Cell* 17: 9-26；Nusse (2008) *Cell Res* 18: 523-7；Polakis (2007) *Curr Opin Genet Dev* 17: 45-51)。此清單已擴大至包括代謝病症(Mani 等人, (2007) *Science* 315: 1278-82)及神經退化(Caricasole 等人, (2004) *J Neurosci* 24: 6021-7；De Ferrari 等人, (2007) *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 9434-9)。腺瘤性結腸息肉病蛋白(APC)中可防止有效調控 β-連環蛋白水準之突變與結腸直腸癌之間存在尤其明確之關聯(Polakis (2007) *Curr Opin Genet Dev* 17: 45-51)。亦應尤其注意 LRP5 與骨恆定之間的強基因關係。LRP5 中之功能損失型突變導致以低骨質、眼部缺陷及骨折之傾向為特徵之常染色體隱性病症骨質疏鬆症-假神經膠質瘤症候群(OPPG) (Gong 等人, (2001) *Cell* 107: 513-23)。

【0268】 本文中提供一種可結合人類低密度脂蛋白受體相關蛋白 6 (LRP6)之非天然存在之 CKP，其中該非天然 CKP 包含以下胱胺酸骨架結構

(亦即，骨架結構 I)：

$$Z_1C_1L1C_2L2C_3L3C_4L4C_5L5C_6Z_2 \qquad (I)，$$

其中：

Z_1及 Z_2為任何胺基酸；

L1 為環 1 且具有選自由以下各項組成之群的結構：$X_1X_2X_3X_4X_5X_6$、$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$、$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$、$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$ 及 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$，其中 X_1至 X_{10}各自為任何胺基酸；

L2 為環 2 且具有結構：$X_1X_2X_3X_4X_5$，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基酸；

L3 為環 3 且具有結構：$X_1X_2X_3$，其中 X_1至 X_3各自為任何胺基酸；

L4 為環 4 且具有結構：X_1，其中 X_1為任何胺基酸；且

L5 為環 5 且具有結構：$X_1X_2X_3X_4X_5$，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基酸。

【0269】 在某些實施例中，可結合 LRP6 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)之 Z_1及/或 Z_2為 G。在某些實施例中，Z_1及/或 Z_2包含多於一個胺基酸。在某些實施例中，Z_1及/或 Z_2包含 4 個胺基酸。在某些實施例中，Z_1及/或 Z_2包含 5 個胺基酸。

【0270】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含 L1，其中 X_1為選自 R、V、M、A、G、N、S 及 E 之胺基酸；其中 X_2為選自 T、N、S、G、R 及 A 之胺基酸；其中 X_3為選自 N、R、H、V、K、S、G、I 及 Y 之胺基酸；其中 X_4為選自 R、V、N、I、K、S 及 T 之胺基酸；其中 X_5為選自 V、R、K、I、T、S、L 及 N 之胺基酸；且其中 X_6為選自 K、G、A、I、R、N、S 及 V 之胺基酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含 L1，其中 X_7為選自 G、R、K、E、P 及 T 之胺基酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含 L1，其中 X_8為選自 G、R、K、Q、A 及 S 之胺基酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含 L1，其中 X_9為選自 R 或 G 之胺基酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含 L1，其中 X_{10}為選自 E、W 及 G 之胺基酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含 L5，其中 X_1為選自 G、S、N、Y、A 及 R 之胺基酸；其中 X_2為選自 P、G、S、V、E、R、F 及 D 之胺基酸；其中 X_3為選自 N、G、S、E、P、K、H

及 R 之胺基酸；其中 X_4 為選自 G、R、H、S、Q、V 及 D 之胺基酸；且其中 X_5 為選自 F、D、N、R、G、Y、S 及 T 之胺基酸。在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含 L2，其中 X_1 為 K，X_2 為 Q，X_3 為 D，X_4 為 S，且 X_5 為 D。在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含 L3，其中 X_1 為 L，X_2 為 A，且 X_3 為 G。在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含 L4，其中 X_1 為 V。

【0271】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 競爭性抑制競爭分子與人類 LRP6 之結合。在某些實施例中，該競爭分子為抗 LRP6 抗體。在某些實施例中，該競爭分子為第二非天然存在之結合 LRP6 之 CKP。

【0272】 可結合標靶上重疊或類似區域之非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 可藉由競爭性抑制/結合分析加以鑑別。此種分析在本領域中為熟知的且描述於例如以下文獻中：S. J. Mather (編) *1996. Current Directions in Radiopharmaceutical Research and Development,* 169- 179, Kluwer Academic Publishers；Zettner (1973) *Clin. Chem.* 19, 699-705；Gao (2012) *Analytical Methods* 4, 3718-3723。

【0273】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 結合人類 LRP6 中由第二非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 所結合之同一抗原決定基且包含：L1，其包含胺基酸序列 V/R/N/S/E/G-N/S/G/R-R/V/K/S/N/I/Y-V/N/I/R/S/T-R/K/I/N-G/I/R/K/S/A (SEQ ID NO: 185)或 A/R/M/V/G/S-N/T/S/A-R/N/H-V/R/K-K/V/I-R/K/A/N/S/V-T/G/R/K/P-S/G/R/A (SEQ ID NO: 186)或 R/A/Q-S/A-G/S/N/I-N/K-T/S/L/R-I/R/V-R/E/K-K/Q/A/R-R/G/Q-E/W/G/R (SEQ ID NO: 187)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 G/S/N/Y/A/R-P/G/S/V/E/R/F/D-N/G/S/E/P/K/H/R-G/R/H/S/Q/V/D-F/D/N/R/G/Y/S/T (SEQ ID NO: 188)。

【0274】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含胺基酸序列 V/R/N/S/E/G-N/S/G/R-R/V/K/S/N/I/Y-V/N/I/R/S/T-R/K/I/N-G/I/R/K/S/A (SEQ ID NO: 185)或 A/R/M/V/G/

S-N/T/S/A-R/N/H-V/R/K-K/V/I-R/K/A/N/S/V-T/G/R/K/P-S/G/R/A (SEQ ID NO: 186)或 R/A-S-G/S/N-N/K-T/S/L-I/R-R/E-K/Q/A-R/G-E/W/G (SEQ ID NO: 187)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 LAG。在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含胺基酸 V。在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含胺基酸序列 G/S/N/Y/A/R-P/G/S/V/E/R/F/D-N/G/S/E/P/K/H/R-G/R/H/S/Q/V/D-F/D/N/R/G/Y/S/T (SEQ ID NO: 188)。

【0275】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含本文中所揭示之非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 中任一者的 L1 及/或 L5。在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含 L1，該 L1 包含 SEQ ID NO: 147-168 及 367 中之任一者中所闡述的胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 進一步包含 L2，該 L2 包含 SEQ ID NO: 93 中所闡述之胺基酸序列。在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 進一步包含 L3，該 L3 包含胺基酸序列 LAG。在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 進一步包含 L4，該 L4 包含胺基酸 V。在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 進一步包含 L5，該 L5 包含 SEQ ID NO: 19 及 169-184 中之任一者中所闡述的胺基酸序列。

【0276】 以上所描述之 L1 及 L5 胺基酸序列提供於以下**表 18** 中：

表 18

RTNRVKGG (SEQ ID NO: 147)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)
VNRVRG (SEQ ID NO: 148)	SGGRD (SEQ ID NO: 169)
MNHVKARR (SEQ ID NO: 149)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)
RSVNKI (SEQ ID NO: 150)	GSSRN (SEQ ID NO: 170)
VNKIKG (SEQ ID NO: 151)	GVEGR (SEQ ID NO: 171)

RNSIKR (SEQ ID NO: 152)	SVGHG (SEQ ID NO: 172)
VSNRVNKG (SEQ ID NO: 153)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)
RGNIIK (SEQ ID NO: 154)	NESRG (SEQ ID NO: 173)
RSGNTIRKRE (SEQ ID NO: 155)	GGPGG (SEQ ID NO: 174)
ASSNSIRQGW (SEQ ID NO: 156)	GPKSN (SEQ ID NO: 175)
RSNRIR (SEQ ID NO: 157)	YGHGD (SEQ ID NO: 176)
RSNKLREARG (SEQ ID NO: 158)	GSRQD (SEQ ID NO: 177)
VNSVKR (SEQ ID NO: 159)	SRGVN (SEQ ID NO: 178)
GSNKIRPR (SEQ ID NO: 160)	GPNDF (SEQ ID NO: 179)
NRIRNS (SEQ ID NO: 161)	GRGDY (SEQ ID NO: 180)
SRNSIK (SEQ ID NO: 162)	ASGSS (SEQ ID NO: 181)
SNYVKR (SEQ ID NO: 163)	SPGGR (SEQ ID NO: 182)
RANRVSGR (SEQ ID NO: 164)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)
SNRVKVRA (SEQ ID NO: 165)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)
ENRTKG (SEQ ID NO: 166)	GFRGT (SEQ ID NO: 183)
GNKIRA (SEQ ID NO: 167)	RDRVG (SEQ ID NO: 184)
ANRVKRTS (SEQ ID NO: 168)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)
QAINRVKRQR (SEQ ID NO: 367)	
V/R/N/S/E/G-N/S/G/R-R/V/K/S/N/I/Y-V/N/I/R/S/T-R/K/I/N-G/I/R/K/S/A (SEQ ID NO: 185)	A/R/M/V/G/S-N/T/S/A-R/N/H-V/R/K-K/V/I-R/K/A/N/S/V-T/G/R/K/P-S/G/R/A (SEQ ID NO: 186)
R/A-S-G/S/N-N/K-T/S/L-I/R-R/E-K/Q/A-R/G-E/W/G (SEQ ID NO: 187)	G/S/N/Y/A/R-P/G/S/V/E/R/F/D-N/G/S/E/P/K/H/R-G/R/H/S/Q/V/D-F/D/N/R/G/Y/S/T (SEQ ID NO: 188)

【0277】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 RTNRVKGG (SEQ ID NO: 147)；

L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 GPNGF (SEQ ID NO: 19)。

【0278】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 VNRVRG (SEQ ID NO: 148)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 SGGRD (SEQ ID NO: 169)。

【0279】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 MNHVKARR (SEQ ID NO: 149)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 GPNGF (SEQ ID NO: 19)。

【0280】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 RSVNKI (SEQ ID NO: 150)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 GSSRN (SEQ ID NO: 170)。

【0281】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 VNKIKG (SEQ ID NO: 151)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 GVEGR (SEQ ID NO: 29)。

【0282】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 RNSIKR (SEQ ID NO: 152)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 SVGHG (SEQ ID NO: 172)。

【0283】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合

LRP6之CKP包含：L1，其包含胺基酸序列VSNRVNKG (SEQ ID NO: 153)；L2，其包含胺基酸序列KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列LAG；L4，其包含胺基酸V；及L5，其包含胺基酸序列GPNGF (SEQ ID NO: 19)。

【0284】 在某些實施例中，參考骨架結構I，該非天然存在之結合LRP6之CKP包含：L1，其包含胺基酸序列RGNIIK (SEQ ID NO: 154)；L2，其包含胺基酸序列KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列LAG；L4，其包含胺基酸V；及L5，其包含胺基酸序列NESRG (SEQ ID NO: 173)。

【0285】 在某些實施例中，參考骨架結構I，該非天然存在之結合LRP6之CKP包含：L1，其包含胺基酸序列RSGNTIRKRE (SEQ ID NO: 155)；L2，其包含胺基酸序列KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列LAG；L4，其包含胺基酸V；及L5，其包含胺基酸序列GGPGG (SEQ ID NO: 174)。

【0286】 在某些實施例中，參考骨架結構I，該非天然存在之結合LRP6之CKP包含：L1，其包含胺基酸序列ASSNSIRQGW (SEQ ID NO: 156)；L2，其包含胺基酸序列KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列LAG；L4，其包含胺基酸V；及L5，其包含胺基酸序列GPKSN (SEQ ID NO: 175)。

【0287】 在某些實施例中，參考骨架結構I，該非天然存在之結合LRP6之CKP包含：L1，其包含胺基酸序列RSNRIR (SEQ ID NO: 157)；L2，其包含胺基酸序列KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列LAG；L4，其包含胺基酸V；及L5，其包含胺基酸序列YGHGD (SEQ ID NO: 176)。

【0288】 在某些實施例中，參考骨架結構I，非天然存在之結合LRP6之CKP包含：L1，其包含胺基酸序列RSNKLREARG (SEQ ID NO: 158)；L2，其包含胺基酸序列KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列LAG；L4，其包含胺基酸V；及L5，其包含胺基酸序列GSRQD (SEQ ID NO: 177)。

【0289】 在某些實施例中，參考骨架結構I，該非天然存在之結合

LRP6 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 VNSVKR (SEQ ID NO: 159)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 SRGVN (SEQ ID NO: 178)。

【0290】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 GSNKIRPR (SEQ ID NO: 160)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 GPNDF (SEQ ID NO: 179)。

【0291】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 NRIRNS (SEQ ID NO: 161)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 GRGDY (SEQ ID NO: 180)。

【0292】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 SRNSIK (SEQ ID NO: 162)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 ASGSS (SEQ ID NO: 181)。

【0293】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 SNYVKR (SEQ ID NO: 163)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 SPGGR (SEQ ID NO: 182)。

【0294】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 RANRVSGR (SEQ ID NO: 164)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 GPNGF (SEQ ID NO: 19)。

【0295】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合

LRP6 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 SNRVKVRA (SEQ ID NO: 165)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 GPNGF (SEQ ID NO: 19)。

【0296】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 ENRTKG (SEQ ID NO: 166)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 GFRGT (SEQ ID NO: 183)。

【0297】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 GNKIRA (SEQ ID NO: 167)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 RDRVG (SEQ ID NO: 184)。

【0298】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 ANRVKRTS (SEQ ID NO: 168)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 GPNGF (SEQ ID NO: 19)。

【0299】 在某些實施例中，參考骨架結構 I，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含：L1，其包含胺基酸序列 QAINRVKRQR (SEQ ID NO: 367)；L2，其包含胺基酸序列 KQDSD (SEQ ID NO: 93)；L3，其包含胺基酸序列 LAG；L4，其包含胺基酸 V；及 L5，其包含胺基酸序列 GPNGF (SEQ ID NO: 19)。

【0300】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 包含 SEQ ID NO: 189-210 及 366 中之任一者中所闡述的胺基酸序列。SEQ ID NO: 189-210 及 366 提供於下文。

GCRTNRVKGGCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 189)

GCVNRVRGCKQDSDCLAGCVCSGGRDCG (SEQ ID NO: 190)

GCMNHVKARRCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 191)

GCRSVNKICKQDSDCLAGCVCGSSRNCG (SEQ ID NO: 192)

GCVNKIKGCKQDSDCLAGCVCGVEGRCG (SEQ ID NO: 193)

GCRNSIKRCKQNSDCLAGCVCSVGHGCG (SEQ ID NO: 194)

GCVSNRVNKGCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 195)

GCRGNIIKCKQDSDCLAGCVCNESRGCG (SEQ ID NO: 196)

GCRSGNTIRKRECKQDSDCLAGCVCGGPGGCG (SEQ ID NO: 197)

GCASSNSIRQGWCKQDSDCLAGCVCGPKSNCG (SEQ ID NO: 198)

GCRSNRIRCKQDSDCLAGCVCYGHGDCG (SEQ ID NO: 199)

GCRSNKLREARGCKQDSDCLAGCVCGSRQDCG (SEQ ID NO: 200)

GCVNSVKRCKQDSDCLAGCVCSRGVNCG (SEQ ID NO: 201)

GCGSNKIRPRCKQDSDCLAGCVCGPNDFCG (SEQ ID NO: 202)

GCNRIRNSCKQDSDCLAGCVCGRGDYCG (SEQ ID NO: 203)

GCSRNSIKCKQDSDCLAGCVCASGSSCG (SEQ ID NO: 204)

GCSNYVKRCKQDSDCLAGCVCSPGGRCG (SEQ ID NO: 205)

GCRANRVSGRCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 206)

GCSNRVKVRACKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 207)

GCENRTKGCKQDSDCLAGCVCGFRGTCG (SEQ ID NO: 208)

GCGNKIRACKQDSDCLAGCVCRDRVGCG (SEQ ID NO: 209)

GCANRVKRTSCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 210)

GCQAINRVKRQRCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 366)

【0301】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 為本文中所描述之非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 的變異體。在某些實施例中，此種變異體在 SEQ ID NO: 19、93、147-168、169-184 及 189-210 中所闡述

之序列中之一或多者中及/或在胺基酸序列 LAG 中包含至少 1 個、至少 2 個、至少 3 個、至少 4 個、至少 5 個、至少 6 個、至少 7 個、至少 8 個、至少 9 個或至少 10 個胺基酸取代。在某些實施例中，胺基酸取代為保守胺基酸取代。在某些實施例中，胺基酸取代實質上不降低該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 結合人類 LRP6 的能力。舉例而言，可進行實質上不降低 LRP6 結合親和力的保守變化(例如，如本文中所提供之保守取代)。可使用以下實例中所描述之方法來評估非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 之變異體的結合親和力。

【0302】 保守取代示於以上**表 17** 中「保守取代」之表頭下。更實質性變化提供於**表 17** 中「例示性取代」之表頭下，且如以下參考胺基酸側鏈類別進一步描述。可將胺基酸取代引入非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 的變異體中且針對所要活性(例如，保持/改良之 LRP6 結合)篩選產物。

【0303】 非保守取代將使得有必要將此等類別之一的成員與另一類別交換。例示性取代變異體為親和力成熟型非天然存在之結合 LRP6 之 CKP，其可例如使用基於噬菌體呈現之親和力成熟技術(諸如本文中所描述之彼等親和力成熟技術)便利地產生。簡而言之，改變(亦即，添加、缺失或取代) L1、L2、L3、L4 及/或 L5 中之一或多個殘基，且將變異之結合 LRP6 之 CKP 呈現於噬菌體上並且針對 LRP6 結合親和力進行篩選。在親和力成熟之某些實施例中，藉由多種方法(例如，易出錯 PCR、環改組或寡核苷酸定向突變誘發)中之任一種將多樣性引入針對成熟所選擇之可變基因中。隨後建立第二文庫。隨後篩選該文庫以鑑別對 LRP6 具有所要親和力的任何非天然存在之 CKP 變異體。在某些實施例中，引入多樣性包括環定向方法，其中對 L1、L2、L3、L4 及/或 L5 中之若干殘基(例如，每次約 5 個、約 4-6 個或約 6-10 個殘基)進行隨機化。可例如使用丙胺酸掃描突變誘發或模型化來鑑別參與結合靶配位體之 L1、L2、L3、L4 及/或 L5 殘基。

【0304】 在某些實施例中，可「特異性結合」人類 LRP6 之非天然存在之 CKP (亦即，具有不超過約 1×10^{-7} M、較佳不超過約 1×10^{-8} M 且最佳不超過約 1×10^{-9} M)之結合親和力(Kd)值)但對另一 LRP 蛋白所具有的結合親和力比其對 LRP6 之結合親和力弱至少約 50 倍或至少約 500 倍或至少約

1000 倍。

【0305】 在某些實施例中，非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 與非靶蛋白(例如，LRP6 同系物，諸如 LRP1、LRP1B、LRP2、LRP3、LRP4、LRP5、LRP8、LRP10、LRP11 及 LRP12)的結合程度小於該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 與人類 LRP6 之結合的約 10%，如藉由本領域中已知的方法，諸如 ELISA、螢光活化細胞分選(FACS)分析或放射免疫沈澱(RIA)所測定。可例如藉由測定分子之結合且與對照分子之結合相比較來量測特異性結合，該對照分子一般為不具有結合活性之具有類似結構之分子。舉例而言，可藉由與類似於標靶之對照分子(例如，過量未標記標靶)競爭來測定特異性結合。在此情況下，若經標記之標靶與探針之結合因過量未標記標靶而受到競爭性抑制，則指示特異性結合。如本文中所使用之術語特定多肽或特定多肽靶上之抗原決定基的「特異性結合」或與特定多肽或特定多肽靶上之抗原決定基「特異性結合」或對特定多肽或特定多肽靶上之抗原決定基「具有特異性」可例如藉由對該標靶具有至少約 10^{-4} M、或者至少約 10^{-5} M、或者至少約 10^{-6} M、或者至少約 10^{-7} M、或者至少約 10^{-8} M、或者至少約 10^{-9} M、或者至少約 10^{-10} M、或者至少約 10^{-11} M、或者至少約 10^{-12} M 或更大之 Kd 的分子來展現。在一個實施例中，術語「特異性結合」係指分子與特定多肽或特定多肽上之抗原決定基結合而實質上不存在與任何其他多肽或多肽抗原決定基之結合的結合。

【0306】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 以介於約 1 pM 至約 500 nM 之間的 Kd 結合人類 LRP6。在某些實施例中，該可特異性結合 LRP6 之非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 蛋白以介於約 1 pM 至約 50 pM 之間、介於約 50 pM 至約 250 pM 之間、介於約 250 pM 至約 500 pM 之間、介於約 500 pM 至 750 pM 之間、介於約 750 pM 至約 1 nM 之間、介於約 1 nM 至約 25 nM 之間、介於約 25 nM 至約 50 nM 之間、介於 50 nM 至約 100 nM 之間、介於約 100 nM 至約 250 nM 之間或介於約 250 nM 至約 500 nM 之間的 Kd 結合人類 LRP6，包括介於此等值之間的任何範圍。

【0307】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 抑制 Wnt1 信號傳導，例如，如使用以下實例中所描述之方法所測定。

【0308】 亦涵蓋編碼所描述之非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 的核酸分子、包含編碼該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 的核酸分子的表現載體及包含該等核酸分子之細胞。本文中亦提供產生非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 的方法，該等方法係藉由培養此種細胞、表現該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 及自細胞培養物中回收該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP。

【0309】 在某些實施例中，如本文中其他部分所描述，經由活體外轉譯來產生非天然存在之結合 LRP6 之 CKP。

【0310】 如本文中其他部分所描述，經由化學肽合成，例如藉由將化學合成之 L1、L2、L3、L4 及/或 L5 肽接枝至 EETI-II 構架上或藉由化學合成整個非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 來產生非天然存在之結合 LRP6 之 CKP。

【0311】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 在涉及過度 LRP6 活性之疾病或病狀之治療中作為治療劑。

產生方法

【0312】 在某些實施例中，經由基因工程改造來產生非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP。先前已描述用於突變誘發之多種方法(以及適用於篩選或選擇之方法)。此種突變誘發方法包括但不限於例如易出錯 PCR、環改組或寡核苷酸定向突變誘發、隨機核苷酸插入或其他重組前方法。關於此等方法之其他細節描述於例如以下文獻中：Abou-Nadler 等人, (2010) *Bioengineered Bugs* 1, 337-340；Firth 等人, (2005) *Bioinformatics* 21, 3314-3315；Cirino 等人, (2003) *Methods Mol Biol* 231, 3-9；Pirakitikulr (2010) *Protein Sci* 19, 2336-2346；Steffens 等人, (2007) *J. Biomol Tech* 18, 147-149；及其他。因此，在某些實施例中，提供經由基因工程改造技術產生之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP。

【0313】 在某些實施例中，經由活體外轉譯來產生非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP。簡而言之，活體外轉譯需要將蛋白質編碼序列選殖至含有啟動子之載體中，藉由用 RNA 聚合酶轉錄所選殖之序列來產生 mRNA，及藉由在活體外(例如，使用無細胞提取

物)轉譯此 mRNA 來合成蛋白質。可藉由改變所選殖之蛋白質編碼序列簡單地產生所要變異蛋白質。可在小麥胚芽提取物中或在兔網狀紅血球溶解物中有效地轉譯許多 mRNA。關於活體外轉譯之其他細節描述於例如以下文獻中：Hope 等人, (1985) *Cell* 43, 177-188；Hope 等人, (1986) *Cell* 46, 885-894；Hope 等人, (1987) *EMBO J.* 6, 2781-2784；Hope 等人, (1988) *Nature* 333, 635-640；及 Melton 等人, (1984) *Nucl. Acids Res.*12, 7057-7070。

【0314】 因此，提供編碼本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 的核酸分子。亦提供與編碼非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 的核酸分子可操作地連接的表現載體。亦提供包含編碼非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 的核酸的宿主細胞(包括例如原核宿主細胞，諸如大腸桿菌；真核宿主細胞，諸如酵母細胞、哺乳動物細胞、CHO 細胞等)。

【0315】 在某些實施例中，經由活體外轉譯來產生非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP。簡而言之，活體外轉譯需要將蛋白質編碼序列選殖至含有啟動子之載體中，藉由用 RNA 聚合酶轉錄所選殖之序列來產生 mRNA，及藉由在活體外(例如，使用無細胞提取物)轉譯此 mRNA 來合成蛋白質。可藉由改變所選殖之蛋白質編碼序列簡單地產生所要突變蛋白質。可在小麥胚芽提取物中或在兔網狀紅血球溶解物中有效地轉譯許多 mRNA。關於活體外轉譯之其他細節描述於例如以下文獻中：Hope 等人, (1985) *Cell* 43, 177-188；Hope 等人, (1986) *Cell* 46, 885-894；Hope 等人, (1987) *EMBO J.* 6, 2781-2784；Hope 等人, (1988) *Nature* 333, 635-640；及 Melton 等人, (1984) *Nucl. Acids Res.*12, 7057-7070。

【0316】 在某些實施例中，經由化學合成來產生非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP。在某些實施例中，將化學合成之 L1、L2、L3、L4 及/或 L5 肽接枝至基於 EETI-II 之構架(諸如骨架結構 I)上，以產生非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP。在某些實施例中，化學合成整個非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或整個非天然存在之結合 LRP6 之 CKP。固相及液相肽合

成方法在本領域中為熟知的且詳細描述於例如以下文獻中：Methods of Molecular Biology, *35*, Peptide Synthesis Protocols, (M. W. Pennington 及 B. M. Dunn 編), Springer, 1994；Welsch 等人, (2010) *Curr Opin Chem Biol* 14, 1-15；Methods of Enzymology, *289*, Solid Phase Peptide Synthesis, (G. B. Fields 編), Academic Press, 1997；Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins, (P. Lloyd-Williams, F. Albericio 及 E. Giralt 編), CRC Press, 1997；Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis, A Practical Approach, (W. C. Chan, P. D. White 編), Oxford University Press, 2000；Solid Phase Synthesis, A Practical Guide, (S. F. Kates, F Albericio 編), Marcel Dekker, 2000；P. Seneci, Solid-Phase Synthesis and Combinatorial Technologies, John Wiley & Sons, 2000；Synthesis of Peptides and Peptidomimetics (M. Goodman, Editor-in-chief, A. Felix, L. Moroder, C. Tmiolo 編), Thieme, 2002；N. L. Benoiton, Chemistry of Peptide Synthesis, CRC Press, 2005；Methods in Molecular Biology, 298, Peptide Synthesis and Applications, (J. Howl 編) Humana Press, 2005；及 Amino Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry, 第 3 卷, Building Blocks, Catalysts and Coupling Chemistry, (A. B. Hughs 編) Wiley-VCH, 2011。

包含非天然存在之 EETI-II 蛋白之嵌合分子

【0317】 若有利則亦可用某一方式對本文中所描述之非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)加以修飾，以形成包含該非天然存在之 CKP 與另一異源多肽或胺基酸序列之融合物(例如，重組融合物)的嵌合分子。在某些實施例中，此種嵌合分子包含本文中所描述之非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)與用於形成例如二價分子或雙特異性分子之抗體的融合物。

【0318】 在某些實施例中，嵌合分子包含本文中所描述之非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)與使用例如人類免疫缺陷病毒 TAT 蛋白之蛋白質轉導結構域來靶向該嵌合分子以遞送至不同的組織或例如越過腦血屏障的第二部分(諸如蛋白質轉導結構域)的融合物(Schwarze 等人, 1999, *Science* 285: 1569-72)。

【0319】 在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之 CKP 可用作雙特異性或多特異性(針對不同的靶配位體或同一靶配位體上之不同的抗原決定基)，呈多聚體形式。舉例而言，二聚雙特異性非天然存在之 CKP 具有對第一靶蛋白或抗原決定基具有特異性之一個亞單元及對第二靶蛋白或抗原決定基具有特異性之第二亞單元。非天然存在之 CKP 蛋白亞單元可能以可增加原子價且因而增加與靶配位體之結合親合力的多種構形連接。

【0320】 在某些實施例中，本文中所提供之嵌合分子包含兩個或更多個(諸如三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個或多於十個)非天然存在之 CKP 蛋白。在某些實施例中，核酸可經工程改造以編碼單一非天然存在之 CKP 的兩個或更多個複本，該等複本經串聯轉錄與轉譯以產生一致亞單元之共價連接型多聚體。在某些實施例中，該核酸可經工程改造以編碼兩種或更多種不同的非天然存在之 CKP，該等複本經串聯轉錄與轉譯以產生結合例如單一靶配位體之不同抗原決定基或例如不同靶配位體的不同亞單元之共價連接型多聚體。

【0321】 在另一實施例中，此種嵌合分子包含本文中所描述之非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)與提供抗標籤抗體可選擇性地結合之抗原決定基的標籤多肽的融合物。該抗原決定基標籤一般位於該非天然存在之 CKP 的胺基或羧基末端。可使用針對該標籤多肽之抗體來偵測該非天然存在之 CKP 蛋白之此種抗原決定基標籤化形式的存在。此外，提供抗原決定基標籤使得能夠藉由使用抗標籤抗體或可結合該抗原決定基標籤之另一類型親和力基質的親和力純化來容易地純化該非天然存在之 CKP。各種標籤多肽及其個別抗體在本領域中為已知的。實例包括聚組胺酸(聚 His)或聚組胺酸-甘胺酸(聚 His-Gly)標籤；flu HA 標籤多肽及其抗體 12CA5 (Field 等人, (1988) *Mol. Cell. Biol.* 8, 2159-2165)；c-myc 標籤以及其 8F9、3C7、6E10、G4、B7 及 9E10 抗體(Evan 等人, (1985) *Mol. Cell. Biol.* 5, 3610-3616]；以及單純皰疹病毒糖蛋白 D (gD)標籤及其抗體(Paborsky 等人, (1990) *Protein Eng.*, 3, 547-553)。其他標籤多肽包括 Flag 肽(Hopp 等人, (1988) *BioTechnology*, 6,1204-1210)；KT3 抗原決定基肽(Martin 等人, (1992) *Science, 255*, 192-194]；α-微管蛋白抗

原決定基肽(Skinner 等人, (1991) *J. Biol. Chem.* 266, 15163-15166)；及 T7 基因 10 蛋白肽標籤(Lutz-Freyermuth 等人, (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 6393-6397]。

【0322】 在某些實施例中，該嵌合分子可包含本文中所描述之非天然存在之 CKP 蛋白(諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)與免疫球蛋白或免疫球蛋白之特定區域的融合物。對於該嵌合分子(例如「免疫黏附素」)之二價形式，此種融合物可為與 IgG 分子之 Fc 區的融合物。本文中所提供之 Ig 融合物包括大致或僅包含人類殘基 94-243、殘基 33-53 或殘基 33-52 替代 Ig 分子內之至少一個可變區的多肽。在一尤佳實施例中，該免疫球蛋白融合物包括 IgG1 分子之鉸鏈區、CH2 區及 CH3 區，或鉸鏈區、CH1 區、CH2 區及 CH3 區。關於免疫球蛋白融合物之產生，亦參見 1995 年 6 月 27 日頒發之美國專利第 5,428,130 號。在某些實施例中，本文中所描述之非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)例如在 N 或 C 末端與 IgG 之恆定區(Fc)融合。在某些實施例中，非天然存在之 CKP/Fc 融合分子可活化免疫反應之補體組分。在某些實施例中，非天然存在之 CKP/Fc 融合蛋白可增加該非天然存在之 CKP 的治療價值。在某些實施例中，本文中所描述之非天然存在之 CKP 蛋白(諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)例如在 N 或 C 末端與補體蛋白(諸如 C1q)融合(諸如重組融合)。各種出版物描述用於獲得非天然存在之蛋白質的方法，該等蛋白質之半衰期係藉由將FcRn結合多肽引入分子中(WO 1997/43316、US 5869046、US 5747035、WO 1996/32478、WO 1991/14438)或藉由使蛋白質與 FcRn 結合親和力得以保留但對其他 Fc 受體之親和力已大大降低的抗體融合(WO 1999/43713)或與抗體之 FcRn 結合結構域融合(WO 2000/09560、US 4703039)來調節。增加生理學活性分子(例如，非天然存在之 CKP)之半衰期的特定技術及方法亦可見於 US 7083784 中。在某些實施例中，本文中所描述之非天然存在之 CKP 蛋白(諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)可與來自 IgG 之包含以下胺基酸殘基突變(如藉由 Kabat 中之 EU 指數進行編號)的 Fc 區融合：M252Y/S254T/T256E

或 H433K/N434F/Y436H。

【0323】 在某些實施例中，本文中所描述之非天然存在之 CKP 蛋白(諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)可與可增加或延長活體內或血清半衰期之分子融合。在某些實施例中，本文中所描述之非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)可與諸如人血清白蛋白(HSA)之白蛋白、聚乙二醇(PEG)、聚糖、免疫球蛋白分子(IgG)、補體、血紅蛋白、結合肽、脂蛋白或用於增加其在血流中之半衰期及/或其組織滲透的其他因子融合。

【0324】 包含非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 的額外嵌合分子可藉由基因改組、基元改組、外顯子改組及/或密碼子改組(總稱為「DNA 改組」)技術來產生。DNA 改組可用於改變非天然存在之 CKP (例如，具有較高親和力及較低解離速率之非天然存在之 CKP)的活性。一般參見 US 5605793、US5811238、US 5830721、US 5834252、US 5837458；Patten 等人, (1997) *Curr. Opinion Biotechnol.* 8, 724-33；Harayama (1998) *Trends Biotechnol.* 16, 76-82；Hansson 等人, (1999) *J. Mol. Biol.* 287, 265-76；以及 Lorenzo 及 Blasco, (1998) *Biotechniques* 24, 308-313。

【0325】 在某些實施例中，藉由以易出錯 PCR、隨機核苷酸插入或其他重組前方法進行隨機突變誘發來改變本文中所提供之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP。可將編碼可結合特定標靶之骨架的多核苷酸的一或多個部分與一或多個異源分子之一或多個組件、基元、節段、部分、結構域、片段等重組。

【0326】 此等融合物中之任一者均可藉由標準技術來產生，例如藉由使用公開可獲得之基因序列由重組融合基因構建體表現融合蛋白質或藉由化學肽合成。

包含非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP 的結合物

【0327】 本文中提供包含本文中所描述之非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)與諸如化學治療劑、毒素(例如，細菌、真菌、植物或動物來源之酶活性毒素

或其片段)或放射性同位素(亦即，放射性結合物)之細胞毒性劑結合的免疫結合物。

【0328】 可使用之酶活性毒素及其片段包括白喉 A 鏈、白喉毒素之非結合活性片段、外毒素 A 鏈(來自綠膿桿菌)、篦麻毒素 A 鏈、相思子毒素 A 鏈、蒴蓮根毒素 A 鏈、α-帚麴菌素、油桐蛋白、石竹素蛋白、美洲商陸蛋白(PAPI、PAPII 及 PAP-S)、苦瓜抑制劑、麻瘋樹毒素、巴豆毒素、肥皂草抑制劑、白樹毒素、分裂黴素、局限麴菌素、酚黴素、依諾黴素及單端孢黴烯族毒素。其他毒素包括美登素及類美登素、卡奇黴素及其他細胞毒性劑。多種放射性核素可用於產生放射性結合之非天然存在之 CKP。實例包括 ^{212}Bi、^{131}I、^{131}In、^{90}Y 及 ^{186}Re。

【0329】 本文中所描述之非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)與例如細胞毒性劑之結合物係使用多種雙官能蛋白質偶合劑來製造，諸如 N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)、亞胺基硫雜環戊烷(IT)、醯亞胺酯之雙官能衍生物(諸如己二酸二甲酯鹽酸鹽)、活性酯(諸如辛二酸二琥珀醯亞胺酯)、醛(諸如戊二醛)、雙疊氮基化合物(諸如雙(對疊氮基苯甲醯基)己二胺)、雙重氮衍生物(諸如雙(對雙重氮苯甲醯基)乙二胺)、二異氰酸酯(諸如 2,6-二異氰酸伸甲苯酯)及雙活性氟化合物(諸如 1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。舉例而言，可如 Vitetta 等人, *Science,* 238: 1098 (1987)中所描述來製備篦麻毒素免疫毒素。經碳 14 標記之 1-異硫氰酸酯基苯甲基-3-甲基二伸乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)為用於結合放射性核素與本文中所提供之非天然存在之 CKP 的例示性螯合劑。參見 WO94/11026。

【0330】 在另一實施例中，本文中所描述之非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)可與「受體」(諸如鏈黴親和素)結合以用於眼部「預靶向」，其中將該非天然存在之 EETI-II 骨架蛋白-受體結合物投與眼病患者，隨後使用清除劑自循環中移除未結合之結合物，且隨後投與已與細胞毒性劑(例如放射性核素)或治療劑結合之「配位體」(例如親和素)。

【0331】 在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之 CKP (諸如

非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)可用作雙特異性或多特異性(針對不同靶配位體或同一靶配位體上之不同抗原決定基)多聚體形式。連接可為共價或非共價的。舉例而言，二聚雙特異性非天然存在之 CKP 具有對第一靶蛋白或抗原決定基具有特異性之一個亞單元及對第二靶蛋白或抗原決定基具有特異性之第二亞單元。非天然存在之 CKP 亞單元可能以可增加原子價且因而增加與一個靶配位體結合或與多個靶配位體結合之親合力的多種構形，例如經由結合而連接。

【0332】 在某些實施例中，本文中所提供之非天然存在之 CKP 經工程改造以提供反應性基團供結合。在某些實施例中，N 末端及/或 C 末端亦可用於提供反應性基團供結合。在某些實施例中，N 末端與一個部分(諸如但不限於 PEG)結合，而 C 末端與另一部分(諸如但不限於生物素)結合，或相反。

【0333】 提供本文中所描述之非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)與一或多個部分(包括但不限於肽、多肽、蛋白質、融合蛋白質、核酸分子、小分子、模擬劑、合成藥物、無機分子及有機分子)之結合物。亦提供本文中所描述之非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)與異源蛋白質或多肽(或其片段至具有至少 10 個、至少 20 個、至少 30 個、至少 40 個、至少 50 個、至少 60 個、至少 70 個、至少 80 個、至少 90 個或至少 100 個胺基酸之多肽)的化學結合物(包括共價及非共價結合)的用途。融合未必需要為直接融合，而可能經由本文中所描述之連接子序列來發生。

【0334】 在某些實施例中，本文中所描述之非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)或其類似物或衍生物可與診斷劑或偵測劑結合。此種非天然存在之 CKP 結合物可作為臨床測試程序之一部分用於監測或預測疾病之發展或進展，諸如確定特定療法之效力。此種診斷及偵測可藉由使該非天然存在之 CKP 與可偵測物質偶合來實現，所述可偵測物質包括但不限於各種酶，諸如但不限於辣根過氧化物酶、鹼性磷酸酶、β-半乳糖苷酶或乙醯膽鹼酯酶；輔成基，

諸如但不限於鏈黴親和素及親合素/生物素；螢光材料，諸如但不限於傘形酮、螢光素、異硫氰酸螢光素、若丹明、二氯三嗪基胺螢光素、丹磺醯氯或藻紅素；發光材料，諸如但不限於魯米諾(luminol)；生物發光材料，諸如但不限於螢光素酶、螢光素及水母素；放射性材料，諸如但不限於碘(^{131}I、^{125}I、^{123}I、^{121}I)、碳(^{14}C)、硫(^{35}S)、氚(^{3}H)、銦(^{115}In、^{113}In、^{112}In、^{111}In)及鎝(^{99}Tc)、鉈(^{201}Ti)、鎵(^{68}Ga、^{67}Ga)、鈀(^{103}Pd)、鉬(^{99}Mo)、氙(^{133}Xe)、氟(^{18}F)、^{153}Sm、^{177}Lu、^{159}Gd、^{149}Pm、^{140}La、^{175}Yb、^{166}Ho、^{90}Y、^{47}Sc、^{186}Re、^{188}Re、^{142}Pr、^{105}Rh、^{97}Ru、^{68}Ge、^{57}Co、^{65}Zn、^{85}Sr、^{32}P、^{153}Gd、^{169}Yb、^{51}Cr、^{54}Mn、^{75}Se、^{113}Sn 及 ^{117}Tn；用於各種正電子發射斷層攝影術之正電子發射金屬、非放射性順磁性金屬離子及經放射性標記或與特定放射性同位素結合之分子。

【0335】 亦提供非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)與治療部分的結合物。在某些實施例中，非天然存在之 CKP 可與諸如細胞毒素(例如細胞抑制劑或殺細胞劑)、治療劑或放射性金屬離子(例如 α 發射體)之治療部分結合。細胞毒素或細胞毒性劑包括對細胞不利之任何藥劑。

【0336】 在某些實施例中，本文中所描述之非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)與諸如放射性金屬離子(諸如 α 發射體，諸如 ^{213}Bi)或適用於使放射性金屬離子(包括但不限於 ^{131}In、^{131}Lu、^{131}Y、^{131}Ho、^{131}Sm)與多肽結合之大環螯合劑之治療部分結合。在某些實施例中，該大環螯合劑為 1,4,7,10-四氮雜環十二烷-N,N',N",N"'-四乙酸(DOTA)，其可經由連接子分子而連接於該非天然存在之 CKP。此種連接子分子在本領域中通常為已知的且描述於例如以下文獻中：Denardo 等人, (1998) *Clin Cancer Res.* 4, 2483-90；Peterson 等人, (1999) *Bioconjug. Chem.* 10, 553-557；及 Zimmerman 等人, (1999) *Nucl. Med. Biol.* 26, 943-50。

【0337】 用於使治療部分與抗體結合之技術為熟知的且可應用於本文中所揭示之非天然 CKP，參見例如 Amon 等人, 「Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy」, Monoclonal Antibodies

And Cancer Therapy, Reisfeld 等人(編), 第 243-56 頁. (Alan R. Liss, Inc. 1985)；Hellstrom 等人,「Antibodies For Drug Delivery」, Controlled Drug Delivery (第 2 版), Robinson 等人(編), 第 623-53 頁(Marcel Dekker, Inc. 1987)；Thorpe,「Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review」, Monoclonal Antibodies 84: Biological And Clinical Applications, Pinchera 等人(編), 第 475-506 頁(1985)；「Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radio labeled Antibody In Cancer Therapy」, Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin 等人(編), 第 303-16 頁(Academic Press 1985)；及 Thorpe 等人, 1982, Immunol. Rev. 62:119-58。可改適類似之方法以用於本文中所提供之非天然存在之 CKP。

【0338】 應選擇與本文中所描述之非天然 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)結合的治療部分或藥物以便在個體中達成對特定病症之所要預防或治療效應。當決定何種治療部分或藥物與骨架結合時，臨床醫師或其他醫學人士應考慮以下各項：疾病之性質、疾病之嚴重程度及個體之病狀。

【0339】 在某些實施例中，本文中所描述之非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)亦可連接於尤其適用於免疫分析或靶抗原純化之固體載體。此種固體載體包括但不限於玻璃、纖維素、聚丙烯醯胺、耐綸、聚苯乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯。

共價修飾

【0340】 亦涵蓋對本文中所描述之非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)的共價修飾。一種類型之共價修飾包括使非天然存在之 CKP 的靶向胺基酸殘基與能夠跟該非天然存在之 CKP 的所選側鏈或者 N 或 C 末端殘基反應的有機衍生化劑反應。利用雙官能試劑之衍生化適用於例如使非天然存在之 CKP 與水不溶性載體基質或表面交聯以用於純化靶配位體之方法中，且反之亦然。常用交聯劑包括例如 1,1-雙(二疊氮乙醯基)-2-苯乙烷；戊二醛；N-羥基琥珀醯亞胺酯，例如與 4-疊氮基水楊酸之酯；同雙官能醯亞胺基酯，包括二琥

珀醯亞胺基酯，諸如3,3'-二硫雙(琥珀醯亞胺基丙酸酯)；雙官能馬來醯亞胺，諸如雙-N-馬來醯亞胺基-1,8-辛烷；及諸如甲基-3-[(對疊氮基苯基)-二硫]丙醯亞胺酯之試劑。

【0341】 其他修飾包括穀醯胺基及天冬醯胺基殘基之脫醯胺化，分別形成相應的麩胺醯及天冬胺醯殘基；脯胺酸及離胺酸之羥基化；絲胺醯或蘇胺醯殘基之羥基磷酸化；離胺酸、精胺酸及組胺酸側鏈之 α-胺基之甲基化(T.E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W.H. Freeman & Co., San Francisco, 第 79-86 頁(1983))；N 末端胺之乙醯化；及任何 C 末端羧基之醯胺化。

【0342】 非天然存在之 CKP 的另一類型之共價修飾包括以 US 4640835、US 4496689、US 4301144、US 4670417、US 4791192 或 US 4179337 中所闡述之方式將該非天然存在之 CKP 連接至多種非蛋白質聚合物之一，例如聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇或聚氧化烯。

【0343】 術語「聚乙二醇」或「PEG」意謂聚乙二醇化合物或其在存在或不存在偶合劑、偶合或活化部分(例如存在硫醇、三氟甲磺酸酯、三氟乙磺酸酯、環氮乙烷、環氧乙烷、N-羥基琥珀醯亞胺或馬來醯亞胺部分)之情況下的衍生物。術語「PEG」意欲指示分子量介於 500 與 150,000 Da 之間的聚乙二醇，包括其類似物，其中舉例而言，末端 OR 基團已置換為甲氧基(稱為 mPEG)。

【0344】 在某些實施例中，用聚乙二醇(PEG)對本文中所描述之非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)進行衍生化。PEG 為具有兩個末端羥基之氧化乙烯重複單元之線性水溶性聚合物。PEG 係藉由其分子量加以分類，其分子量典型地介於約500道爾頓至約40,000道爾頓之範圍內。在一目前較佳之實施例中，所採用之PEG具有介於5,000道爾頓至約20,000道爾頓之範圍內的分子量。與本文中所描述之非天然存在之 CKP 偶合的 PEG 可為分枝或無分枝的(例如，Monfardini, C.等人, 1995 *Bioconjugate Chem* 6:62-69)。PEG 可購自 Nektar Inc.、Sigma Chemical Co.及其他公司。此種 PEG 包括但不限於單甲氧基聚乙二醇(MePEG-OH)、單甲氧基聚乙二醇琥珀酸酯(MePEG-S)、單甲氧基聚

乙二醇琥珀醯亞胺基琥珀酸酯(MePEG-S-NHS)、單甲氧基聚乙二醇胺(MePEG-NH2)、單甲氧基聚乙二醇三氟乙磺酸酯(MePEG-TRES)及咪唑基羰基單甲氧基聚乙二醇(MePEG-IM)。

【0345】 在某些實施例中，在一端以諸如甲氧基或乙氧基之無反應性基團對所採用之親水性聚合物(例如 PEG)進行封端。此後，在另一端藉由與諸如氰尿醯鹵(例如氰尿醯氯、氰尿醯溴或氰尿醯氟)、二咪唑、酸酐試劑(例如二鹵琥珀酸酐，諸如二溴琥珀酸酐)、醯基疊氮、對二重氮苯甲醚、3-(對二重氮苯氧基)-2-羥基丙醚)及其類似物之適合活化劑反應來活化該聚合物。隨後使已活化之聚合物與本文中之非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 或非天然存在之結合 LRP6 之 CKP)反應，以產生經聚合物衍生化之非天然存在之 CKP。或者，可將本文中所提供之非天然存在之 CKP 中的官能基活化以便與聚合物反應，或可在協同偶合反應中使用已知偶合方法來連接該兩個基團。應容易瞭解，本文中所提供之非天然存在之CKP可使用熟習此項技術者已知及使用之多種其他反應流程以PEG衍生化。

脂質體

【0346】 本文中所揭示之非天然存在之 CKP (諸如非天然存在之結合VEGF-A之CKP或非天然存在之結合LRP6之CKP)亦可調配為脂質體。含有本文中所描述之非天然存在之 EETI-II 骨架蛋白的脂質體可藉由本領域中已知的方法來製備，諸如以下文獻中所描述：Epstein 等人, *Proc Natl Acad Sci USA,* 82: 3688 (1985)；Hwang 等人, *Proc Natl Acad Sci USA,* 77: 4030 (1980)；及美國專利第 4,485,045 號及第 4,544,545 號。具有增加之循環時間的脂質體揭示於美國專利第 5,013,556 號中。

【0347】 尤其適用之脂質體可藉由逆相蒸發法利用包含磷脂醯膽鹼、膽固醇及 PEG 衍生化磷脂醯乙醇胺(PEG-PE)之脂質組合物來產生。使脂質體經由具有限定孔徑之過濾器擠出以產生具有所要直徑之脂質體。該脂質體內亦視情況含有第二治療劑。參見 Gabizon 等人, *J. National Cancer Inst.*, 81(19): 1484 (1989)。

包含可結合人類血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然胱胺酸結肽(CKP)的醫藥組合物及調配物

【0348】 在某些實施例中，本文中提供包含非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 及醫藥學上可接受之賦形劑的醫藥組合物。在某些實施例中，該組合物亦可含有緩衝劑、載劑、穩定劑、防腐劑及/或增積劑，以使該組合物適用於經眼投與患者以達成所要效應或結果。在某些實施例中，該醫藥組合物包含一或多種允許非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 滲透角膜之滲透增強劑。此種滲透增強劑之實例包括例如界面活性劑、膽汁酸、螯合劑、防腐劑、環糊精(亦即，具有親水性外表面及親脂性內表面且與親脂性藥物形成複合物的圓柱形寡核苷酸)等。此種滲透增強劑增加化學穩定性及生物可用性且減少局部刺激。在某些實施例中，本文中所提供之醫藥組合物另外包含可增加非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 在各種眼部隔室中之吸收及分佈的藥劑。在某些實施例中，本文中所提供之醫藥組合物包含交聯聚丙烯酸，由此可借助於其黏膜黏附性來提高經眼生物可用性。在某些實施例中，本文中所提供之醫藥組合物包含生物黏附性聚合物。

【0349】 在某些實施例中，本文中所提供之醫藥組合物調配為原位膠凝系統，例如當該組合物接觸淚液時由於特定物理化學參數(離子強度、溫度、pH 值或溶劑交換)之變化而在眼表面上展現溶膠至凝膠相過渡的基於黏性聚合物之液體。在某些實施例中，本文中所提供之醫藥組合物調配為眼部噴霧。在某些實施例中，所提供之醫藥組合物調配為脂質體。在某些實施例中，本文中所提供之醫藥組合物調配為非離子體(亦即，含有例如膽固醇作為賦形劑之基於非離子界面活性劑之囊泡)。在某些實施例中，本文中所提供之醫藥組合物調配為藥質體(亦即，由兩性藥物形成之囊泡)。在某些實施例中，本文中所提供之醫藥組合物調配為微乳液。關於各種眼用醫藥調配物之其他細節提供於例如以下文獻中：Gaikwad 等人, (2013) *Indo Amer J Pharm Res*. 3, 3216-3232；Achouri 等人, (2012) *Drug Dev Indust Pharm*. 39, 1599-1617；Lu (2010) *Recent Pat Drug Deliv Formul.* 4, 49-57；Baranowski 等人, (2014) *Sci World J.* doi.org/10.1155/2014/861904；Lang (1995) *Adv Drug Deliv Rev.* 16, 39-43；Short (2008) *Toxicologic Path.* 36, 49-62；及其他。

【0350】 在某些實施例中，包含本文中所描述之非天然存在之結合VEGF-A之CKP的醫藥組合物在室溫下(諸如在約20℃至25℃下)可穩定約0.5週、約1.0週、約1.5週、約2.0週、約2.5週、3.5週、約4.0週、約1個月、約2個月、約3個月、約4個月、約5個月、約6個月或超過6個月，包括介於此等值之間的任何範圍。在某些實施例中，包含本文中所描述之非天然存在之結合VEGF-A之CKP的醫藥組合物在加速條件(諸如在約37℃下儲存)下可穩定約0.5週、約1.0週、約1.5週、約2.0週、約2.5週、3.5週、約4.0週、約1個月、約2個月、約3個月、約4個月、約5個月、約6個月或超過6個月，包括介於此等值之間的任何範圍。

使用可結合人類血管內皮生長因子A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)進行治療的方法

【0351】 約40 kDa之二聚糖蛋白血管內皮生長因子(VEGF-A)為可刺激增殖、移行及管形成從而引起新血管之血管生成生長及血管滲透增加的有效內皮細胞促分裂原。視網膜或角膜中之低氧條件誘導血管內皮生長因子(VEGF-A)之表現，且漏血管之異常(諸如過度或在其他方面不當)生長促成若干衰弱性眼病之病理，包括例如糖尿病性失明、視網膜病變、原發性糖尿病性視網膜病變、年齡相關性黃斑變性(AMD)、增生性糖尿病性視網膜病變(PDR)、早產兒視網膜病變(ROP)、脈絡膜新血管形成(CNV)、糖尿病性黃斑水腫、病理性近視、馮希伯-林島氏病、眼組織胞漿菌病、視網膜靜脈阻塞(視網膜分枝靜脈阻塞(BRVO)及視網膜中央靜脈阻塞(CRVO))、角膜新血管形成、視網膜新血管形成及虹膜發紅。VEGF-A 誘導之新血管形成為不利的，且視網膜、小梁間或角膜新血管形成最終可導致視力喪失。

【0352】 在某些實施例中，本文中提供治療個體之眼部疾病或病症之方法，其包括向該個體投與有效量之本文中所描述之非天然存在之結合VEGF-A之CKP或包含本文中所描述之非天然存在之結合VEGF-A之CKP的組合物(諸如醫藥組合物)。在某些實施例中，提供包含本文中所描述之非天然存在之結合VEGF-A之CKP的組合物(諸如醫藥組合物)以用於治療個體之眼部疾病或病症。在某些實施例中，提供本文中所描述之非天然存在之結合VEGF-A之CKP (或包含此種非天然存在之CKP的組合物)用於製造

用以治療個體之眼部疾病或病症之藥物的用途。

【0353】 在某些實施例中，欲治療之個體為哺乳動物(例如，人類、非人類靈長類、大鼠、小鼠、牛、馬、豬、綿羊、山羊、狗、貓等)。在某些實施例中，該個體為人類。在某些實施例中，該個體為臨床患者、臨床試驗志願者、實驗動物等。在某些實施例中，該個體疑似患有或有風險患上以異常血管生成及/或異常血管滲透為特徵之眼部疾病或病症(諸如本文中所描述之彼等)。在某些實施例中，已診斷該個體患有以異常血管生成及/或異常血管滲透為特徵之眼部疾病或病症(諸如本文中所描述之彼等)。

【0354】 在某些實施例中，該眼部疾病或病症為眼部血管增生性疾病，諸如選自由以下各項組成之群的眼部血管增生性疾病：糖尿病性失明、視網膜病變、原發性糖尿病性視網膜病變、年齡相關性黃斑變性(AMD)、增生性糖尿病性視網膜病變(PDR)、早產兒視網膜病變(ROP)、脈絡膜新血管形成(CNV)、糖尿病性黃斑水腫、病理性近視、馮希伯-林島氏病、眼組織胞漿菌病、視網膜靜脈阻塞(視網膜分枝靜脈阻塞(BRVO)及視網膜中央靜脈阻塞(CRVO))、角膜新血管形成、視網膜新血管形成及虹膜發紅。在某些實施例中，該角膜新血管形成引起眼睛感染、眼睛炎症、眼睛創傷(包括化學灼傷)或角膜緣幹細胞屏障喪失。在某些實施例中，該角膜新血管形成由皰疹性角膜炎、沙眼或盤尾絲蟲病引起。

【0355】 在某些實施例中，如本文中在其他部分更詳細描述，將有效量之本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的組合物)直接投與個體之眼睛(諸如經玻璃體內或局部)。

【0356】 在某些實施例中，該本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)與第二藥劑組合投與。對於眼部疾病或病症由炎性反應觸發之患者，可考慮利用消炎劑之組合療法。舉例而言，組合使用類固醇與本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然 CKP 之組合物)來分別減輕炎症並防止新血管形成在存在例如角膜新血管形成之患者中可能尤其有利。受細菌、病毒、真菌或棘狀變形蟲感染繼發性眼部疾病或病症困擾之患者可受益於

投與本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)與抗微生物劑及視情況選用之消炎劑的組合。由於眼部疾病或病症而存在角膜基質血管之患者在角膜移植之後處於免疫排斥之重大風險下。因此，在角膜移植之前(且視情況在之後亦)投與本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)可能尤其有益於存在角膜基質血管之患者，因為成功減少角膜血管化將降低移植排斥之風險。在某些實施例中，該本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)與第二抗血管生成劑組合投與。在某些實施例中，該本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)與基質金屬蛋白酶(MMP)抑制劑組合投與。

【0357】 在某些實施例中，該本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)與第二療法組合投與。在某些實施例中，該第二療法為雷射光凝療法(LPT)。LPT 使用雷射光造成視網膜之受控損傷，以產生有益治療效應。短促雷射光可密封漏血管，破壞異常血管，密封視網膜裂孔，或破壞眼後部之異常組織。其快速、不具侵襲性，且通常無需除麻醉用點眼劑以外之麻醉。LPT 技術及裝置對於眼科醫師而言為容易利用的(參見 Lock 等人, (2010) *Med J Malaysia* 65:88-94)。關於 LPT 之額外細節可見於例如 WO 2014/033184 中。

【0358】 在某些實施例中，該第二療法為光動力療法(PDT)。PDT 使用光活化分子對新生血管內皮造成局部損傷，從而導致血管阻塞。使用適合之眼科放大鏡經由纖維光纜及狹縫燈將光作為單一圓斑遞送至視網膜(雷射處理)。在雷射處理之前將光活化型化合物注入循環中，且在受新血管形成困擾之區域中藉由化合物之光活化施以損傷。一種常用光活化型化合物為維替泊芬(verteporfin) (Visudyne®)。維替泊芬主要藉由脂蛋白在血漿中輸送。一旦維替泊芬在氧之存在下由光活化，便產生高反應性短壽命單態氧及反應性氧自由基，由此損傷血管周圍之內皮。已知受損之內皮會經由脂加氧酶(白細胞三烯)及環加氧酶(類花生酸，諸如凝血脂素)途徑釋放促凝血因子及血管活性因子，從而導致血小板凝聚、纖維蛋白結形成及血管收縮。

維替泊芬看似在某種程度上優先積聚在新血管結構中。用於光活化型化合物之光活化的雷射的波長可視所使用之特定光活化型化合物而變化。關於PDT之額外細節可見於例如WO 2014/033184中。

【0359】 在某些實施例中，該第二療法為電療法及燒灼術，其中藉由單極電療單元施加凝結電流或藉由使用插入角膜緣處之滋養血管中的電解針進行熱燒灼來阻塞血管。

投藥

【0360】 在某些實施例中，該非天然存在之結合VEGF-A之CKP(或包含此種非天然存在之CKP的組合物)係例如經由注射投與，例如結膜下注射、角膜內注射或玻璃體內注射。通常以20-150 μl，例如40-60 μl或50 μl之典型體積呈水溶液形式投與。注射可經由30號×1/2吋(12.7 mm)針來進行。在某些實施例中，該非天然存在之結合VEGF-A之CKP (或包含此種非天然存在之CKP的組合物)提供於即刻投與型預填充無菌注射器中。在某些實施例中，該注射器具有低矽酮含量或不含矽酮。該注射器可由玻璃製造。使用預填充注射器進行遞送所具有之優勢在於可避免投與前對無菌拮抗劑溶液之任何污染。預填充注射器亦為投藥眼科醫師提供更容易之處理。關於玻璃體內投藥之進一步細節，參見例如 WO 2014/033184；Fagan 等人, (2013) *Clin Exp Ophthalmol.* 41, 500-507；Avery 等人, (2014) *Retina.* 34 增刊12, S1-S18；及Doshi等人, (2015) *Seminar Ophthalmol.* 26, 104-113。

【0361】 在某些實施例中，該非天然存在之結合VEGF-A之CKP(或包含此種非天然存在之CKP的組合物)經局部，例如呈點眼劑形式投與。關於對眼睛進行局部藥物遞送之額外細節見於例如以下文獻中：Loftsson等人, (2012) Acta Ophthalmologica. 90, 603-608；Patel 等人, (2013) World J. Pharmacol. 2, 47-64；Freeman 等人, (2009) Exp Rev Ophthalmol. 4, 59-64；及Boddu 等人, (2014) Recent Patents on Drug Delivery and Formulation. 8, 27-36。

【0362】 在某些實施例中，使用玻璃體內裝置將該非天然存在之結合VEGF-A之CKP(或包含此種非天然存在之CKP的組合物)連續遞送至眼睛中。在某些實施例中，該非天然存在之結合VEGF-A之CKP (或包含此種

非天然存在之 CKP 的組合物)係經由眼部插入物(包括但不限於例如 Ocusert、Lactiser、可溶性眼部藥物插入物(SODI)、Minidisc、接觸式透鏡、膜、濾紙條、人工淚插入物及膠原蛋白眼罩)投與。參見例如 Gaikwad 等人, (2013) *Indo Amer J Pharm Res.* 3, 3216-3232)。在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)作為緩慢釋放貯庫、眼部插塞/儲器、眼部植入物(諸如鞏膜或玻璃體植入物)投與。各種鞏膜及玻璃體內遞送系統在本領域中為已知的。此等遞送系統典型地為非生物可降解的，且可為主動或被動的。舉例而言，WO 2010/088548 描述一種使用被動擴散來遞送治療劑之具有剛性體之遞送系統。WO 2002/100318 揭示一種允許經由壓力差主動投藥之具有可撓性體之遞送系統。或者，可藉由可植入式微型泵來達成主動遞送。使用微型泵遞送治療劑之玻璃體內遞送系統的一個實例為由 Replenish, Inc.出售之 Ophthalmic MicroPump System™，該系統可經程式化以遞送設定量之治療劑，持續預定次數。在某些實施例中，將該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)囊封於小膠囊樣容器(例如，矽酮彈性體杯)中。通常將該容器植入眼中之虹膜上方。該容器包括釋放開口。可藉由位於該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)與該開口之間的膜或借助於與該容器連接之微型泵來控制該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)的釋放。或者，可將該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)沈積在緩慢釋放基質中，由此防止拮抗劑自容器中快速擴散。較佳地，該玻璃體內裝置經設計以便在前一個月中以較高初始速率釋放該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)。釋放速率例如在植入之後前一個月的過程中緩慢降至比初始速率低約 50%的速率。該容器可具有足以容納持續約四至六個月之該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)之供應量的大小。因為當連續投藥時減少劑量之該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)可能足以實現有效治療，故該容器中之供應量可持續一年或更久，較佳約兩年，更佳約三年。因為僅需要小手

術來植入遞送系統且避免玻璃體內注射，故可避免患者順應性問題與重複玻璃體內注射。該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)的玻璃體內濃度得以降低，且因此，由該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)進入循環所致之潛在副作用風險得以降低。

【0363】 在某些實施例中，該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)係經由離子電滲法投與。離子電滲法為非侵襲性技術，其中施加小電流以增強電離之藥物向組織中滲透(參見例如 Myles 等人, (2005) *Adv Drug Deliv Rev* 57, 2063-79；及 Eljarrat-Binstock 等人, (2006) *J Controlled Release* 110, 479-89)。用攜帶與藥物相同之電荷的電極來施加藥物，並且將具有相反電荷的接地電極置放在身體上之其他處以完成電路。藥物充當通過組織之電流的導體。

【0364】 關於向眼睛投與藥物之額外細節提供於例如以下文獻中：Kuno 等人, (2011) *Polymers* 3, 193-221；Short (2008) *Toxicologic Path.* 36, 49-62；Ghate 等人, (2006) *Expert Opin Drug Deliv* 3, 275-87；Davis 等人, (2004) *Curr Opin Mol Therap* 6, 195-205；Gaudana 等人, (2010) *AAPS J.* 12, 348-360；及其他。

緩慢釋放/長期作用遞送調配物

【0365】 在某些實施例中，提供呈緩慢釋放調配物形式之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)。典型地藉由將治療劑與生物可降解聚合物混合或將其囊封至微粒中來獲得緩慢釋放調配物。

【0366】 根據本發明之緩慢釋放調配物典型地包含該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)、聚合物載劑及用於調節該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)自該聚合物載劑之釋放速率的釋放調節劑。藉由改變基於聚合物之遞送組合物的製造條件，可調節所得組合物之釋放動力學性質。該聚合物載劑通常包含一或多種生物可降解聚合物或其共聚物或組合。舉例而言，該聚合物載劑可選自聚乳酸(PLA)、聚乙醇酸(PGA)、聚乳交酯-乙

交酯共聚物(PLGA)、聚酯、聚(原酸酯)、聚(膦嗪)、聚(磷酸酯)、聚己內酯或其組合。

【0367】 在某些實施例中，該聚合物載劑為 PLGA。該釋放調節劑典型地為較佳包含 10 至 40 個碳原子之長鏈脂肪醇。常用釋放調節劑包括辛醇、壬醇、癸醇、月桂醇、肉豆蔻醇、鯨蠟醇、棕櫚油醇、硬脂醇、異硬脂醇、反油醇、油醇、亞麻油醇、多不飽和反亞麻油醇、多不飽和亞麻醇、反亞麻醇、多不飽和蓖麻油醇、花生醇、二十二醇、瓢兒菜醇、木蠟醇、蠟醇、褐煤醇、二十八醇、蜂花醇、蜂蠟醇及三十四醇。

【0368】 在某些實施例中，將該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)併入基於微球體之持續釋放組合物中。在某些實施例中，該等微球體由 PLGA 製備。可藉由改變用於製備該等微球體之條件來控制併入微球體中之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)的量及非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)的釋放速率。用於製造此種緩慢釋放調配物之方法描述於 US 2005/0281861 及 US 2008/0107694 中。

【0369】 在某些實施例中，將該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)併入生物可降解之植入物(諸如微針)中。基質植入物(諸如微針)典型地用於治療眼部疾病，其需要一個負載劑量隨後在 1 天至 6 個月時間段期間逐漸減少藥物劑量(Davis 等人, (2004) *Curr Opin Mol Therap* 6, 195-205)。其最通常由將降解成水及二氧化碳之共聚物聚乳酸(PLA)及/或聚乳酸-乙醇酸(PLGA)製成。可藉由改變乳交酯(緩慢)及乙交酯(快速)之相對濃度、改變聚合物重量比、添加額外聚合物塗層或使用疏水性不溶性藥物來降低藥物自植入物中釋放之速率及程度。藥物釋放一般遵循一級動力學，其中藥物水準在初始爆發後快速降低。不需要移除生物可降解植入物，因為其隨時間而溶解(Hsu (2007) *Curr Opin Ophthalmol* 18, 235-9)。生物可降解植入物亦允許劑量及治療自短持續時間(數週)至較長持續時間(數月至一年)變動，視聚合物 PLA/PLGA 比率而定，此為針對疾病進展定製藥物遞送之另一益處，因為劑量及治療要求可能隨時間而變化。

關於製造及植入生物可降解植入物(諸如 PLGA 或 PLA 植入物)以用於經眼投與之額外細節提供於例如 WO 2006/093758、US 2006/0182783、WO 2009/026461、US 2008/0181929、US 2009/0263460、US 2010/0015158、US 2011/0207653 及 US 2014/0154321 中。關於用於眼部藥物遞送之微針的額外細節提供於例如以下文獻中：Donnelly 等人, (2010) *Drug Deliv* 14, 187-207；USP7918814，Yavux 等人, (2013) *Sci World J.* doi.org/10.1155/2013/732340；及其他文獻。

製品及套組

【0370】 在某些實施例中，提供含有本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 及適用於治療眼部疾病或病症(諸如眼部血管增生性疾病或以過度血管生成為特徵之眼部病症)之物質的製品。該製品可包括容器及處於該容器上或與該容器相關聯之標籤或包裝插頁。適合之容器包括例如瓶、小瓶、注射器等。該等容器可由多種材料形成，諸如玻璃或塑膠。在某些實施例中，該容器容納對治療眼部疾病或病症(諸如眼部血管增生性疾病或以過度血管生成為特徵之眼部病症)有效之組合物且可具有植入緩慢釋放眼部或眼內藥物遞送系統所需之一整套物品，包括但不限於注射裝置、局部及可注射藥物、手術儀器、縫合線及縫合針以及眼罩。在某些實施例中，該容器容納無菌單位劑量包裝。該組合物中之至少一種活性劑為本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP。該標記或包裝插頁指示該組合物用於治療眼部疾病或病症(諸如眼部血管增生性疾病或以過度血管生成為特徵之眼部病症)。該標記或包裝插頁將進一步包括關於向患者投與該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP (或包含此種非天然存在之 CKP 的組合物)的說明。亦涵蓋包含本文中所描述之組合療法的製品及套組。

【0371】 包裝插頁係指照例包括在治療產品之商業包裝中之說明書，其含有關於與使用此種治療產品相關之適應症、用法、劑量、投與、禁忌及/或警告的資訊。在某些實施例中，該包裝插頁指示包含該非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的組合物用於治療眼部疾病或病症(諸如本文中所描述之眼部血管增生性疾病或以過度血管生成為特徵之眼部病症)。

【0372】 亦提供適用於多種目的，例如用於分離或偵測 VEGF-A 之視情況與該等製品組合之套組。對於 VEGF-A 之分離及純化，該套組可含有與珠粒(例如，瓊脂糖凝膠珠粒)偶聯之本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP。可提供含有本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的套組，以用於在活體外，例如在 ELISA 或墨點法中對 VEGF-A 進行偵測及定量。如同該製品，該套組包括容器及處於該容器上或與該容器相關聯之標籤或包裝插頁。舉例而言，該容器容納包含至少一種本文中所描述之非天然存在之結合 VEGF-A 之 CKP 的組合物。可包括含有例如稀釋劑及緩衝劑、對照抗體等之額外容器。該標籤或包裝插頁可提供組合物之描述以及關於預定活體外或診斷用途之說明。

實例

實例 1：用於實例 2 至實例 3 之材料及方法

在 M13 噬菌體上呈現 EETI-II。

【0373】 藉由修飾先前描述之噬菌體質體 pS2202b 將 EETI-II 呈現於 M13 噬菌體之表面上(Skelton, N. J., Koehler, M. F., Zobel, K., Wong, W. L., Yeh, S., Pisabarro, M. T., Yin, J. P., Lasky, L. A.及 Sidhu, S. S. (2003) Origins of PDZ domain ligand specificity. Structure determination and mutagenesis of the Erbin PDZ domain. *J Biol Chem* **278**, 7645-7654)。使用標準分子生物學技術以編碼 EETI-II 之 DNA 片段置換編碼 Erbin PDZ 結構域之 pS2202d 片段。所得噬菌體質體(p8EETI-II)含有編碼麥芽糖結合蛋白分泌信號之開放閱讀框，隨後為 gD 標籤及 EETI-II，且以 M13 主要外鞘蛋白 p8 封端。用 M13-KO7 輔助噬菌體對帶有 p8EETI-II 之大腸桿菌進行共感染，且使培養物在 30℃ 下在補充有 50 μg/ml 羧苄青黴素及 25 μg/ml 卡那黴素之 30 ml 2YT 培養基中生長隔夜。根據標準方案來純化所繁殖之噬菌體(Tonikian, R., Zhang, Y., Boone, C.及 Sidhu, S. S. (2007) Identifying specificity profiles for peptide recognition modules from phage-displayed peptide libraries. *Nat Protoc* **2**, 1368-1386)，且再懸浮於 1 ml PBT 緩衝液(PBS、0.5% BSA 及 0.1% TWEEN®20)中，從而產生囊封 p8EETI-II DNA 及所呈現之 EETI-II 的噬菌體粒子。使用噬菌體 ELISA 來分析呈現水準。

文庫構建及分選。

【0374】 遵循Kunkel突變誘發方法來構建EETI-II文庫(Kunkel, T. A., Roberts, J. D.及 Zakour, R. A. (1987) Rapid and efficient site-specific mutagenesis without phenotypic selection. *Methods Enzymol* 154, 367-382)。構建三個文庫：文庫1，其中用編碼除Cys以外之所有天然胺基酸的簡併密碼子以6、8或10個胺基酸之長度使環1 (3-8)隨機化；或文庫2，其中用同一組簡併密碼子以5個胺基酸之固定長度使環5 (22-26)隨機化；或文庫3，其中以6、8及10個胺基酸使環1隨機化且同時用編碼19個胺基酸之簡併密碼子以5個胺基酸使環5隨機化。使用編碼19個胺基酸之三聚亞磷醯胺在等莫耳濃度下之定製混合物(Glen Research，Sterling，VA)來合成用於突變誘發之寡核苷酸。終止模板為p8EETI-II之在3-26區域中含有三個終止密碼子的單股DNA，且用於構建所有三個文庫。三個文庫之庫含有約3×10^{10}個獨特成員，且循環通過遵循標準方案針對俘獲在培養板上之 hVEGF (8-109)的數輪結合選擇(四輪) (Tonikian, R., Zhang, Y., Boone, C.及 Sidhu, S. S. (2007) Identifying specificity profiles for peptide recognition modules from phage-displayed peptide libraries. *Nat Protoc* **2**, 1368-1386)，其中變化之處在於使用25 ug/ml hVEGF (8-109)來塗佈培養板且藉由使隔夜培養物在30℃下生長使所溶離之噬菌體繁殖。

斑點噬菌體ELISA。

【0375】 在四輪結合選擇之後，揀選個別噬菌體純系且接種至96孔板中含有50 μg/ml羧苄青黴素及M13-KO7輔助噬菌體之450 μl 2YT培養基中，使其在37℃下生長隔夜。利用斑點噬菌體ELISA分析上清液，如下：將hVEGF (8-109)或BSA塗佈於384孔MAXISORP™免疫培養板上並且將經PBT緩衝液稀釋(1:3)之噬菌體上清液添加至各孔。洗滌培養板且依序用抗M13-HRP及TMB受質來偵測已結合之噬菌體。在此等分析中，並行測試與單獨BSA之噬菌體結合以評估背景結合。對hVEGF-A (8-109)之結合信號比BSA (背景)高出超過3倍的純系被視為陽性。對陽性純系進行DNA序列分析。

結晶學。

【0376】 為了形成穩定複合物，將 VEGF-A 濃縮至 7 mg/ml 且與 6 倍莫耳過量之 VEGF_CKP9.54.90 變異體一起培育。藉由懸滴氣相擴散法，使用 2:1 蛋白質:儲備溶液之懸滴比來使原始單斜空間群 $P12_11$ 之 VEGFA/VEGF_CKP9.54.90 晶體在 19℃下生長。儲備溶液含有 100 mM HEPES pH 7.4 及 26% PEG 3350。在資料收集之前，在補充有 25% PEG 200 之儲備溶液中對晶體進行低溫保護且在液氮中快速冷凍。

資料收集及結構確定。

【0377】 在先進光子源上以光束線 21IDF 針對 1.64 Å 收集 X 射線繞射資料。使用 iMosflm 處理資料。藉由使用 Phenix 中之 Phaser，以先前公開之 apo VEGF-A 結構(PDB：1VPF) (作為檢索模型)及不對稱單元中之一個 VEGF-A 二聚體進行分子置換來解出結構。VEGF_CKP9.54.90 變異體存在明顯 F_o-F_c密度，因此，使用 Coot 將此變異體之結構手動地包括在密度中，且隨後使用 Phenix 及 Coot 進行數輪疊代精化及重建。

用於測定細胞 IC_{50}之 KDR-CHO VEGF 分析

【0378】 使 KDR-CHO 細胞(經 gD 標籤化 KDR 穩定轉染之 CHO 細胞)在細胞生長培養基(DMEM/Ham 氏 F-12、10%經透析過濾之 FBS (GIBCO 目錄號 26400)、25 mM HEPES、2 mM L-GLUTAMAX™)中生長。對於 VEGF 刺激分析，將 5×10^4個細胞/孔接種於 96 孔組織培養板中之 100 µl 細胞接種培養基(DMEM/Ham 氏 F-12、0.2% BSA、0.25%經透析過濾之 FBS、25 mM HEPES、2 mM L-GLUTAMAX™)中且在 37℃下培育隔夜。將該培養基替換為 100 µl 無血清細胞刺激培養基(DMEM/Ham 氏 F-12、0.5% BSA、25 mM HEPES)且在 37℃下將細胞培育 2 小時。在刺激之前一小時，將該培養基替換為 50 µl 無血清細胞刺激培養基。同時，在 37℃下在 50 µl 無血清細胞刺激培養基中將 VEGF (對於 hVEGF，50 ng/ml；對於 mVEGF 及 rVEGF，100 ng/ml)與滴定量之 CKP 或抗 VEGF 一起預培育 1 小時且添加至細胞。在 37℃下將細胞刺激 15 min 且移除培養基。用 130 µl 冰冷細胞溶解緩衝液(150 mM NaCl、50 mM HEPES、0.5% Triton-X 100、HALT 蛋白酶與磷酸酶抑制劑混合液(ThermoFisher Scientific, Inc.，目錄號 78444)、5mM EDTA)來溶解細胞。藉由基於 ELISA 之分析法來測定 KDR 之 VEGF 介導之 Tyr 磷酸化。

簡而言之，在 4℃下以 100 μl 稀釋於 PBS 中之抗 gD 抗體(1 μg/ml)塗佈 MAXISORP™ 96 孔培養板(ThermoFisher Scientific, Inc.，目錄號 439454)隔夜且用洗滌緩衝液(PBS、0.05% TWEEN®20，pH7.4)洗滌三次。在室溫下用 300 μl 阻斷緩衝液(PBS、0.5% BSA)阻斷培養板 1 小時，隨後用洗滌緩衝液洗滌三次。將以上 KDR-CHO 細胞溶解物(100 μl)添加至各孔且在室溫下培育 2 小時。用洗滌緩衝液將培養板洗滌四次，隨後在室溫下在阻斷緩衝液中與 100 μl 之 0.5 μg/ml 生物素結合抗磷酸酪胺酸(純系 4G10，Millipore 目錄號 16-103)一起培育 2 小時。在洗滌四次之後，在室溫下在阻斷緩衝液中將培養板與 100 μl HRP 結合鏈黴親和素一起培育 30 min。在洗滌四次之後，在室溫下用 100 μl TMB 受質(BD Biosciences)使培養板顯色 20 至 30 min，且藉由添加 50μl H_2SO_4溶液來終止。使用設定至 450 nm 之微板讀數器來測定各孔之光學密度。

競爭 ELISA

【0379】 藉由競爭 ELISA 來確定各肽之結合特異性。首先，藉由在 4℃下將含 2 或 5 μg/mL VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、PlGf-2、NGF、EGF、PDGF-ββ 或 IGF-1 之 PBS 塗佈在 MAXISORP™培養板中隔夜來證實各生長因子與其相應受體以培養板-ELISA 格式結合。在室溫下用阻斷緩衝液(含 0.5% BSA 及 0.05% TWEEN®20 之 PBS)阻斷 2 小時之後，使用分析緩衝液(含 0.5% BSA 及 0.05% TWEEN®20 之 PBS)連續稀釋受體-Fc 融合物或生物素化受體且在室溫下培育 1 小時。藉由分別與抗人類 Fc-HRP (Life Technologies)或高親和力鏈黴親和素-HRP (ThermoFisher Scientific, Inc.)一起培育 30 min 來偵測已結合之受體-Fc 或生物素化受體的量。用與以上所描述相同之方式進行競爭 ELISA，但在阻斷之後，添加含有恆定濃度之受體-Fc 融合物或生物素化受體之連續稀釋肽混合物(受體濃度設定至 EC_{60})且培育 1 小時。所有重組人類蛋白質及抗體均購自 R & D Systems (Minneapolis，MN)。

SPR 結合分析。

【0380】 在 BIACORE™ 3000 儀器(GE Healthcare)上，在 37℃下使用含有 0.1% DMSO (v/v)之 HBS-EP 緩衝液(10 mM HEPES pH 7.4、150 mM

NaCl、3 mM EDTA 及 0.005% v/v 界面活性劑 P20)使用表面電漿子共振技術來評估 VEGF-A 抑制劑之結合動力學及親和力。視分析格式而定，如以下所描述利用鏈黴親和素感測器(SA)或葡聚糖塗佈(CM5)感測器。

【0381】 在與 SA 感測器一起使用時，首先藉由在冰上將蛋白質與 EZ-連接 NHS-PEG4-生物素(Pierce)分別以 1:1.5 莫耳比在 PBS 中培育 2 小時將 VEGF-A 生物素化(不超過 2 個生物素/VEGF-A)。隨後藉由添加 10 倍莫耳過量之甘胺酸 pH 8.0 來淬滅反應物且使用 Amicon 0.5 mL 3000 MWCO 超離心過濾器(EMD Millipore)將樣品緩衝液交換至 PBS 中。藉由 LC-MS 分析來驗證蛋白質之生物素化狀態。隨後將生物素化 VEGF-A 俘獲在表面上直至約~400 之共振單位(RU)信號。為了將 VEGF-A 固定在 CM5 感測器上，首先根據供應商說明用 N-乙基-N'-(3-二甲基胺基丙基)碳化二亞胺鹽酸鹽及 N-羥基琥珀醯亞胺之混合物(EDC/NHS)活化表面。隨後將 VEGF-A 稀釋至偶合緩衝液(0.1 M 乙酸鹽緩衝液，pH 5.0)中並且注入，直至信號達到約~400 RU，隨後用 1 M 乙醇胺 pH 8.0 洗滌以淬滅其餘已活化之位點。

【0382】 在俘獲步驟之後，在具有相匹配之 DMSO 濃度的 HBS-EP 緩衝液中製備一系列肽濃度(直至 0.1%)，且以 80 μL/min 之流速注入。隨後使用 Scrubber 2.0 (BioLogic Software)，使用 1:1 結合模型來分析所得感測圖以獲得動力學資料及親和力。

CKP 合成及摺疊。

【0383】 將線性前驅物 LRP6 肽溶解於 DMSO (0.5 mg/mL)、0.1 M 碳酸氫銨(pH 9)、含 1 mM 還原谷胱甘肽之 50% DMSO 中且在室溫下在振盪的同時培育 24 h。在 C18 管柱上藉由 RP-HPLC 來純化摺疊之 CKP，且隨後藉由質譜分析所收集之溶離份，彙集並凍乾，然後使用。

細胞培養及轉染。

【0384】 用螢火蟲螢光素酶 Wnt 報告子穩定轉染 HEK293 細胞(Gong 等人, (2010) *PLoS ONE* 5,9: e12682)。且使 pRL-SV40 海腎螢光素酶(Promega)在補充有 10% FBS、2 mM GLUTAMAX™及 40 μg/ml 潮黴素之 DMEM:F12 (50:50)中生長至 90%匯合。在 5% CO_2濕潤培育箱中在 37℃下將細胞培育 24 h。在培育之後，將細胞胰蛋白酶化(含 0.05% Gibco 15400-54 之 PBS)，

隨後在補充有 10% FBS、2 mM GLUTAMAX™之 DMEM:F12 (50:50)中稀釋至 4×10^5個細胞/ml。將 20,000 個細胞裝載至白色 microtest 96 孔 optilux 培養板(目錄號 353947)之個別孔中並且培育~ 24 h。使用 FUGENE® HD，以 Wnt1-pCDNA3.2 (5 ng/孔)或 Wnt3a-pCDNA3.2 (25 ng/孔)轉染各孔，隨後生長 24 h。將所有結合 LRP6 之變異體稀釋於 DMSO 中且以 0、0.1、0.1、1.0、10 及 100 μM 之肽濃度添加至細胞，最終 DMSO 濃度為 1%，持續 6 小時。對於刺激，在 PBS 中將重組 Wnt3a (5036-WN-010/CF，R & D Systems)稀釋至 50 ng/mL 且添加至含所指示之 CKP 的培養基中。

【0385】 隨後，用 Promega 之 DUAL-GLO®套組，根據製造商之說明但使用各試劑之體積的一半來量測所有分析中之螢光素酶反應。在 Perkin Elmer ENVISION™多標記讀數器上量測螢火蟲發光及海腎發光。計算螢火蟲發光:海腎發光之比且針對表現所指示之 Wnt 蛋白或經所指示之 Wnt 蛋白處理的對照細胞中的比率進行標準化。在 Prism Graphpad 中使用對數(抑制劑)相對於標準化反應使用標準化資料來計算抑制常數：可變斜率 Y=100/(1+10^((LogIC$_{50}$-X)*希爾斜率))。使用 Holm-Sidak 方法以 α=5.000%來確定統計顯著性。計算假定所有列均為來自具有相同散射(SD)之群體的樣品且使用額外平方和 F 檢驗(其中當顯著時 P<0.05)將 IC$_{50}$鑑別為顯著不同。

實例 2A：可結合 VEGF-A 之非天然存在之 EETI-II 變異體的產生

【0386】 選擇 EETI-II (**圖 1**)作為骨架用於呈現在 M13 噬菌體之表面上。將 EETI-II 融合至 M13 主要外鞘蛋白 p8 之 N 末端。此外，gD 標籤為 EETI-II 序列之經工程改造之 N 末端，以便驗證呈現水準。基於 EETI-II 構架產生三個肽噬菌體文庫，如下：文庫 I，其中使環 1 胺基酸殘基隨機化且環長度為可變的(6、8、10 個殘基)；文庫 II，其中使環 5 胺基酸殘基隨機化且天然環長度為固定的；及文庫 III，其中同時使環 1 及環 5 在胺基酸內含物方面隨機化，且環 1 長度自 6 至 10 個胺基酸殘基變化，而環 5 長度為固定的。總而言之，三個文庫含有 3×10^{10}個獨特成員且循環通過針對 VEGF-A 之數輪選擇。

【0387】 針對 VEGF-A 之淘選產生與 hVEGF$_{8\text{-}109}$結合之十三個獨特

變異體(參見**表 19**)。此等變異體在環 1 中或在環 1 及環 5 兩者中同時含有胺基酸組成變化。此外，許多變異體具有與 EETI-II 中所存在之天然環相比更長之環。保守 **YXS** 基元亦可見於環 5 中。吾等產生對應於此等獨特變異體中之七者的可溶性摺疊胱胺酸結肽，且其在噬菌體競爭 ELISA 中均顯示與 hVEGF-A 結合(**表 19**)。此外，吾等在細胞分析中評估一些變異體且其顯示對人類、小鼠及大鼠 VEGF-A 活性之跨物種抑制，具有低 μM 之 IC_{50}。

表 19：針對 hVEGF-A 之基於 EETI-II 之結合劑

變異體	環 1	環 5	n	ELISA	S/N*
EETI-II	PRILMR (SEQ ID NO: 92)	GPNGF (SEQ ID NO: 15)		0.01	1.11
VEGF_CKP1	ETDWYPHQID (SEQ ID NO: 225)	GPNGF (SEQ ID NO: 15)	2	0.9	16.9
VEGF_CKP2	GETVFEQFLW (SEQ ID NO: 226)	GPNGF (SEQ ID NO: 15)	2	3.2	48.1
VEGF_CKP3	HMMYDY (SEQ ID NO: 227)	EMYDA (SEQ ID NO: 235)	2	3.1	42.9
VEGF_CKP4	KKWQWWYM (SEQ ID NO: 228)	YPWTE (SEQ ID NO: 236)	5	2.6	35.3
VEGF_CKP5	PAIQNWKEHP (SEQ ID NO: 229)	SWWPSL (SEQ ID NO: 237)	2	1.9	28.4
VEGF_CKP6	PTTRFKQY (SEQ ID NO: 8)	GPNGF (SEQ ID NO: 15)	28	3.5	51.9
VEGF_CKP7	QDPTFNWALY (SEQ ID NO: 9)	QMYQS (SEQ ID NO: 16)	2	3.4	54.5
VEGF_CKP8	QLMHPFWG (SEQ ID NO: 230)	HWYRS (SEQ ID NO: 238)	2	3.9	59.4
VEGF_CKP9	QLMQPFWG (SEQ ID NO: 10)	HWYQS (SEQ ID NO: 17)	11	3.3	36.0
VEGF_CKP10	RDLDVKWD (SEQ ID NO: 11)	QYYSS (SEQ ID NO: 18)	3	3.2	43.7
VEGF_CKP11	RTPWEPHDIT (SEQ ID NO: 12)	GPNGF (SEQ ID NO: 15)	16	4.1	57.5
VEGF_CKP12	TTPWPPHEIM (SEQ ID NO: 13)	GPNGF (SEQ ID NO: 15)	75	3.5	55.2
VEGF_CKP13	VTPWKPHWIN (SEQ ID NO: 14)	GPNGF (SEQ ID NO: 15)	2	3.5	56.3

*S/N=與 BSA 對照相比之信號雜訊比

表 20：針對 hVEGF-A 之可溶性基於 EETI-II 之結合劑的噬菌體競爭 ELISA 及細胞抑制活性

變異體	活體外 $IC_{50}(\mu M)$	細胞分析		
		hVEGF-A (25 ng/ml)	mVEGF (50 ng/ml)	rVEGF (50 ng/ml)
VEGF_CKP6	3	47	169	711.2 (部分)
VEGF_CKP7	12	18	39	7
VEGF_CKP9	0.6	12	10	1
VEGF_CKP10	1	45	ND*	18
VEGF_CKP11	80	ND*	ND*	ND*
VEGF_CKP12	60	102	243	1220 (部分)
VEGF_CKP13	80	ND*	ND*	ND*

*ND=未測得

【0388】 為了進一步改良此等變異體之效力，吾等對 VEGF_CKP7 及 VEGF_CKP9 進行跟進。在 VEGF-CKP7 構架內對環 1 及環 5 進行軟隨機化，產生與人類 VEGF-A 結合的 16 個獨特變異體(參見以下**表 21**)。

表 21：針對 hVEGF-A 之 CKP_7 親和力成熟結合劑

變異體	環 1	環 5	n	ELISA	S/N*
VEGF_CKP7	QDPTFNWALY (SEQ ID NO: 9)	QMYQS (SEQ ID NO: 16)	1	0.1	1.3
VEGF_CKP7.2	DDPSFDWSVY (SEQ ID NO: 287)	RMYDS (SEQ ID NO: 292)	1	1.2	21.5
VEGF_CKP7.8	KNPLFNWALY (SEQ ID NO: 60)	QLFDS SEQ ID NO: 71)	2	0.5	7.5
VEGF_CKP7.17	QDPTVNWAVY (SEQ ID NO: 61)	QFYQS (SEQ ID NO: 72)	1	0.8	13.4
VEGF_CKP7.19	QDPTFNWAEY (SEQ ID NO: 62)	QLYQS (SEQ ID NO: 73)	2	0.6	11.1
VEGF_CKP7.24	WDPTFNWALY (SEQ ID NO: 288)	QMYDS (SEQ ID NO: 76)	2	0.8	13.4
VEGF_CKP7.35	QDPTFNWAEY (SEQ ID NO: 62)	QMYQS (SEQ ID NO: 16)	3	0.6	10.6
VEGF_CKP7.43	QDPTLNWATY (SEQ ID NO: 289)	QMYQS (SEQ ID NO: 16)	1	0.5	6.3
VEGF_CKP7.46	EDPTVDWAQY (SEQ ID NO: 290)	QMYQS (SEQ ID NO: 16)	1	0.3	4.9
VEGF_CKP7.50	QDPSLNWADY (SEQ ID NO: 63)	QMHQS (SEQ ID NO: 74)	1	0.8	14.3
VEGF_CKP7.54	LDRTLNWALY	QMYNS	1	0.5	9.3

	(SEQ ID NO: 64)	(SEQ ID NO: 75)			
VEGF_CKP7.57	LDPSFNWSLY (SEQ ID NO: 65)	QMYDS (SEQ ID NO: 76)	2	1.0	17.4
VEGF_CKP7.73	RDLTINWALF (SEQ ID NO: 66)	QMFNS (SEQ ID NO: 274)	1	1.2	19.2
VEGF_CKP7.78	KDTTFNWGLF (SEQ ID NO: 291)	QLYQS (SEQ ID NO: 73)	1	0.7	11.8
VEGF_CKP7.81	LDPTVNWALF (SEQ ID NO: 67)	QHYKT (SEQ ID NO: 77)	1	1.1	18.6
VEGF_CKP7.88	QDPKLNWAVY (SEQ ID NO: 68)	QLFNS (SEQ ID NO: 78)	2	0.5	7.7
LRP6_CKP7.89	LDPSFDWALY (SEQ ID NO: 69)	QLYNS (SEQ ID NO: 79)	1	0.5	8.1

*S/N=與 BSA 對照相比之信號雜訊比

【0389】 在 VEGF-CKP9 構架內對環 1 及環 5 進行軟隨機化，產生與人類 VEGF-A 結合的 16 個獨特變異體(參見以下**表 22** 至**表 24**)。

表 22：針對 VEGF-A 之 VEGF_CKP9 環 1 親和力成熟變異體

變異體	L1 序列	n	ELISA	S/N*
VEGF_CKP9	QLMQPFWG (SEQ ID NO: 10)		0.4	7.4
VEGF_CKP9.L1.2	HLFEPLWG (SEQ ID NO: 245)	17	1.6	12.5
VEGF_CKP9.L1.7	QVMRPFWG (SEQ ID NO: 246)	3	1.5	8.9
VEGF_CKP9.L1.8	QVMQPAWG (SEQ ID NO: 247)	1	1.2	12.8
VEGF_CKP9.L1.19	HRLQPLWG (SEQ ID NO: 248)	3	1.4	11.6
VEGF_CKP9.L1.26	ELLQPSWG (SEQ ID NO: 249)	4	1.7	11.9
VEGF_CKP9.L1.57	NPMLPFWG (SEQ ID NO: 368)	3	3.7	31.8
VEGF_CKP9.L1.64	NVLLPLWG (SEQ ID NO: 250)	1	2.3	19.9
VEGF_CKP9.L1.68	DIMQPLWG (SEQ ID NO: 36)	1	2.0	23.2
VEGF_CKP9.L1.76	DLMQPLWG (SEQ ID NO: 251)	2	2.5	17.4
VEGF_CKP9.L1.78	NPMLPLWG (SEQ ID NO: 252)	1	3.0	25.1
VEGF_CKP9.L1.79	QVLQPSWG (SEQ ID NO: 253)	1	1.2	10.0

*S/N=與 BSA 對照相比之信號雜訊比

表 23：針對 VEGF-A 之 VEGF_CKP9 環 5 親和力成熟變異體

變異體	L5 序列	n	ELISA	S/N*
VEGF_CKP9	HWYQS (SEQ ID NO:17)		0.9	11.6
VEGF_CKP9.L5.7	RWYNS (SEQ ID NO: 133)	11	1.4	18.9
VEGF_CKP9.L5.18	HWYQS (SEQ ID NO: 17)	1	1.6	20.4
VEGF_CKP9.L5.43	RWYHS (SEQ ID NO: 43)	2	0.9	13.6

*S/N=與 BSA 對照相比之信號雜訊比

表 24：針對 VEGF-A 之 VEGF_CKP9 環 1/環 5 親和力成熟變異體

變異體	環 1	環 5	n	ELISA	S/N*
VEGF_CKP9	QLMQPFWG (SEQ ID NO: 10)	HWYQS (SEQ ID NO:17)		0.4	7.4
VEGF_CKP9.2	DVLQPFWG (SEQ ID NO: 28)	HWYQS (SEQ ID NO: 17)	20	2.4	31.1
VEGF_CKP9.3	QISQPFWG (SEQ ID NO: 29)	HFYNS (SEQ ID NO: 41)	1	1.6	24.5
VEGF_CKP9.4	DRMQPLWG (SEQ ID NO: 30)	LWYKS (SEQ ID NO: 42)		N/D	N/D
VEGF_CKP9.9	QLLEPMWG (SEQ ID NO: 254)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1	1.1	19.7
VEGF_CKP9.14	KLLQPMWG (SEQ ID NO: 255)	RWYQS (SEQ ID NO: 44)	1	2.0	30.1
VEGF_CKP9.11	DRMQPYWG (SEQ ID NO: 256)	QWYKS (SEQ ID NO: 262)	1	1.1	14.1
VEGF_CKP9.20	NLMLPFWG (SEQ ID NO: 31)	RWYHS (SEQ ID NO: 43)	1	1.7	13.3
VEGF_CKP9.22	QRTQPFWG (SEQ ID NO: 32)	RWYQS (SEQ ID NO: 44)	1	1.2	17.2
VEGF_CKP9.47	KIMQPLWG (SEQ ID NO: 257)	LWYDS (SEQ ID NO: 263)	1	1.0	14.6
VEGF_CKP9.51	NLMHPFWG (SEQ ID NO: 258)	HWYQS (SEQ ID NO: 17)	1	1.0	11.0
VEGF_CKP9.54	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2.1	28.4
VEGF_CKP9.59	DPMQPFWG (SEQ ID NO: 34)	RWYQS (SEQ ID NO: 44)		N/D	N/D
VEGF_CKP9.63	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1	2.0	29.7

VEGF_CKP9.69	ALLQPLWG (SEQ ID NO: 259)	RWYNS (SEQ ID NO: 133)	1	1.0	14.3
VEGF_CKP9.71	QLLQPLWG (SEQ ID NO: 37)	RWYQS (SEQ ID NO: 44)	1	1.0	16.5
VEGF_CKP9.72	RLLEPSWG (SEQ ID NO: 260)	QWYQS (SEQ ID NO: 264)	1	0.6	10.0
VEGF_CKP9.76	HLLLPLWG (SEQ ID NO: 261)	RWYHS (SEQ ID NO: 43)	1	1.3	15.5
VEGF_CKP9.96	KLFEPLWG (SEQ ID NO: 39)	RWYES (SEQ ID NO: 45)	1	1.2	18.4

*S/N=與 BSA 對照相比之信號雜訊比

【0390】 選擇此等純系以用於在噬菌體滴定分析中進一步驗證，並且產生對應於此等序列中之十者的可溶性摺疊形式以用於進一步活體外評估(參見以下**表 25**)。在此組變異體中，與親本 VEGF-CKP9 相比，VEGF_CKP9.2、VEGF_CKP9.54 及 VEGF_CKP9.63 在活體外及細胞分析中對 VEGF-A 展現改良之效力，IC_{50}在 100 至 200 nM 範圍內(參見**表 25**)。

表 25：在噬菌體競爭 ELISA 及 VEGF-A-KDR 相互作用 ELISA 中之抑制活性

變異體	噬菌體 ELISA IC_{50}(μM)	細胞 IC_{50}(nM)
VEGF_CKP9	1.36	11700
VEGF_CKP9.2	0.168	270
VEGF_CKP9.3	1.50	N/D
VEGF_CKP9.4	1.95	N/D
VEGF_CKP9.20	1.34	N/D
VEGF_CKP9.22	>100.	N/D
VEGF_CKP9.54	0.45	188
VEGF_CKP9.59	5.82	N/D
VEGF_CKP9.63	0.146	140
VEGF_CKP9.96	49.00	N/D

【0391】 為了提高效力，吾等選擇前導 9.54 及 9.63 分子且基於此等構架產生新噬菌體庫，其中使環 2 隨機化。針對 hVEGF-A 淘選新文庫且產生許多環 2 變異體，與親本 9.54 及 9.63 分子相比，該等變異體對 VEGF-A 顯示顯著提高之效力(分別參見以下**表 26** 及**表 27**)，其中最有效之分子展現介於 0.5 至 2 nM 範圍內之 IC_{50} (參見以下**表 28**)。

表 26：基於 9.54 構架的親和力成熟型結合 VEGF-A 之環 2 變異體

變異體	環 1	環 2	環 5	n	ELISA	S/N*
VEGF_CKP9	QLMQPFWG (SEQ ID NO: 10)	KQDSD (SEQ ID NO: 93)	HWYQS (SEQ ID NO: 17)			
VEGF_CKP9.54	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	KQDSD (SEQ ID NO: 93)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)			
VEGF_CKP9.54.1	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GQSFE (SEQ ID NO: 94)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	80	2.4	29.9
VEGF_CKP9.54.2	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GLDYD (SEQ ID NO: 95)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	0.1	26
VEGF_CKP9.54.12	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GPELN (SEQ ID NO: 298)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2.4	38.8
VEGF_CKP9.54.14	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	QADYA (SEQ ID NO: 299)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2.5	23.5
VEGF_CKP9.54.16	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GVDYL (SEQ ID NO: 300)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2.4	30.8
VEGF_CKP9.54.31	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GTNFL (SEQ ID NO: 301)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2.3	32.5
VEGF_CKP9.54.44	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	SRDFD (SEQ ID NO: 302)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2.4	34.4
VEGF_CKP9.54.48	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	NRDFL (SEQ ID NO: 303)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2.5	34.9
VEGF_CKP9.54.51	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GWDQF (SEQ ID NO: 304)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2.5	44.5
VEGF_CKP9.54.56	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GKDFH (SEQ ID NO: 305)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2.3	35.8
VEGF_CKP9.54.59	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GPDLQ (SEQ ID NO: 96)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2.3	35.4
VEGF_CKP9.54.64	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	SGDFA (SEQ ID NO: 306)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2.2	22.4
VEGF_CKP9.54.69	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GKELN (SEQ ID NO: 307)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2.5	21.7
VEGF_CKP9.54.76	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GWSMD (SEQ ID NO: 308)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2.7	42.2
VEGF_CKP9.54.87	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GYDLQ (SEQ ID NO: 309)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2.4	26.1
VEGF_CKP9.54.90	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2.3	29.5

*S/N=與 BSA 對照相比之信號雜訊比

表 27：基於 VEGF_CKP9.63 構架的親和力成熟型結合 VEGF-A 之環 2 變異體

*S/N=與 BSA 對照相比之信號雜訊比

變異體	環 1	環 2	環 5	ELISA	S/N*
VEGF_CKP9	QLMQPFWG (SEQ ID NO: 10)	GRDLQ (SEQ ID NO: 322)	HWYQS (SEQ ID NO: 17)		
VEGF_CKP9.63	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GVDLS (SEQ ID NO: 323)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)		
VEGF_CKP9.63.1	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GPDID (SEQ ID NO: 118)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2.0	25.2
VEGF_CKP9.63.2	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GDDLE (SEQ ID NO: 324)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2.0	15.0
VEGF_CKP9.63.3	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GVDMT (SEQ ID NO: 325)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1.7	20.7
VEGF_CKP9.63.12	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GMDIE (SEQ ID NO: 326)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2.6	39.9
VEGF_CKP9.63.14	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	DGDYQ (SEQ ID NO: 327)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1.5	21.3
VEGF_CKP9.63.15	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GNDVS (SEQ ID NO: 328)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1.5	21.4
VEGF_CKP9.63.16	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GRDMD (SEQ ID NO: 119)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2.2	10.3
VEGF_CKP9.63.18	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	AGDEL (SEQ ID NO: 329)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2.3	17.3
VEGF_CKP9.63.24	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GLDEE (SEQ ID NO: 330)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1.6	20.4
VEGF_CKP9.63.27	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	DGDFD (SEQ ID NO: 331)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2.1	26.0
VEGF_CKP9.63.30	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	AGDFE (SEQ ID NO: 332)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2.0	26.0
VEGF_CKP9.63.37	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	EMDFD (SEQ ID NO: 120)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	0.6	8.6
VEGF_CKP9.63.39	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GNSFE (SEQ ID NO: 333)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1.6	18.9
VEGF_CKP9.63.42	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GQDLT (SEQ ID NO: 334)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1.7	23.1
VEGF_CKP9.63.44	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GENLA (SEQ IDNO: 335	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1.7	19.5
VEGF_CKP9.63.47	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GQDYN (SEQ ID NO: 336)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1.7	20.7
VEGF_CKP9.63.50	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GADLS (SEQ ID NO: 337)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	0.9	12.7
VEGF_CKP9.63.54	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GFDMD (SEQ ID NO: 338)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1.4	19.9
VEGF_CKP9.63.56	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GESLS (SEQ ID NO: 211)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1.8	8.4

VEGF_CKP9.63.62	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	DLNYE (SEQ ID NO: 339)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1.8	25.4
VEGF_CKP9.63.65	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GRDLQ (SEQ ID NO: 322)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2.0	27.1
VEGF_CKP9.63.69	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GVDLS (SEQ ID NO: 323)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2.9	23.7
VEGF_CKP9.63.87	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GPDID (SEQ ID NO: 118)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	0.9	8.6

表 28. VEGF_CKP9.54 及 VEGF_CKP9.63 衍生之環 2 變異體對 VEGF-A 的抑制活性

變異體	環 1	環 2	環 5	KDR-VEGF IC_{50} (nM)	細胞 IC_{50} (nM)
VEGF_CKP9	QLMQPFWG (SEQ ID NO: 10)	KQDSD (SEQ ID NO: 93)	HWYQS (SEQ ID NO: 17)	569	11700
VEGF_CKP9.54	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	KQDSD (SEQ ID NO: 93)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	5.8	188
VEGF_CKP9.54.1	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GQSFE (SEQ ID NO: 94)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	0.2	1.47
VEGF_CKP9.54.2	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GLDYD (SEQ ID NO: 95)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	0.2	4.3
VEGF_CKP9.54.59	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GPDLQ (SEQ ID NO: 96)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	0.5	3.06
VEGF_CKP9.54.90	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	0.2	1.35
VEGF_CKP9.63	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	KQDSD (SEQ ID NO: 93)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	10.8	140
VEGF_CKP9.63.1	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GENFL (SEQ ID NO: 117)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	0.4	0.49
VEGF_CKP9.63.27	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GRDMD (SEQ ID NO: 119)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	0.3	5.28
VEGF_CKP9.63.44	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	EMDFD (SEQ ID NO: 120)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	0.2	2.05
VEGF_CKP9.63.69	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GESLS (SEQ ID NO: 211)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2.1	26.4
VEGF_CKP9.63.12	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GPDID (SEQ ID NO: 118)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	0.7	1.83

【0392】 VEGF_CKP9.63.1、VEGF_CKP9.63.27、VEGF_CKP9.63.44、VEGF_CKP9.63.69 及 VEGF_CKP9.63.12 對 hVEGF-A (8-109)之親和力/效

力示於以下**表 29** 中。

表 29

變異體	k_a	k_d	K_D
EM63	0.16 ± 0.03	1.6 ± 0.5	100 ± 9 nM
L2.9.63.1	6 ± 1	0.37 ± 0.13	5.8 ± 1.2
L2.9.63.12	8 ± 1	0.10 ± 0.04	1.1 ± 0.2
L2.9.63.27	11 ± 4	0.15 ± 0.04	1.4 ± 0.2
L2.9.63.44	10 ± 2	0.11± 0.02	1.2 ± 0.2
L2.9.63.69	3 ± 1	0.20 ± 0.04	6.9 ± 0.7

【0393】 如藉由表面電漿子共振所測定，變異體 VEGF_CKP9.54.90 (參見**表 26** 之第 2 列)及 VEGF_CKP9.63.12 (參見**表 27** 之第 6 列)以及親本變異體 VEGF_CKP9.54 (參見**表 24** 之第 12 列)及 VEGF_CKP9.63 (參見**表 24** 之第 15 列)以類似之親和力結合人類、小鼠、大鼠及兔 VEGF-A。參見以下**表 30**。

表 30：VEGF_CKP9.54.90、VEGF_CKP9.63.12、VEGF_CKP9.54 及 VEGF_CKP9.63 對各種 VEGF 同功異型物之結合動力學及親和力

變異體	VEGF 同功異型物	ka	ka (誤差)	kd	kd (誤差)	KD (nM)	KD (誤差)
9.54	**人類 8-109**	**1.26×10^{6}**	**1.10×10^{5}**	**2.18×10^{-1}**	**1.19×10^{-2}**	**175.88**	**18.21**
	人類 165	8.23×10^{5}	1.11×10^{5}	1.49×10^{-1}	1.29×10^{-2}	189.67	34.57
	小鼠 164	8.26×10^{5}	2.93×10^{4}	2.07×10^{-1}	2.44×10^{-2}	249.87	21.19
	大鼠	1.93×10^{6}	8.91×10^{5}	2.96×10^{-1}	9.36×10^{-2}	175.64	26.27
	兔	2.10×10^{6}	7.12×10^{5}	2.74×10^{-1}	9.14×10^{-2}	133.22	9.47
9.54.90	人類 8-109	5.15×10^{7}	1.62×10^{7}	4.05×10^{-2}	8.77×10^{-3}	0.87	0.13
	人類 165	1.58×10^{7}	3.87×10^{6}	1.33×10^{-2}	1.70×10^{-3}	0.89	0.10
	小鼠 164	8.71×10^{6}	2.79×10^{6}	1.01×10^{-2}	2.12×10^{-3}	1.31	0.24
	大鼠	1.72×10^{7}	7.43×10^{6}	1.35×10^{-2}	3.33×10^{-3}	0.90	0.14
	兔	5.15×10^{7}	1.36×10^{7}	6.75×10^{-2}	8.99×10^{-3}	1.14	0.18
9.63	人類 8-109	6.62×10^{5}	9.83×10^{4}	1.81×10^{-1}	2.56×10^{-2}	281.44	43.53

	人類 165	3.40×10^{5}	2.79×10^{4}	1.30×10^{-1}	1.33×10^{-2}	381.89	19.15
	小鼠 164	5.57×10^{5}	4.60×10^{4}	1.60×10^{-1}	1.35×10^{-2}	288.75	11.08
	大鼠	4.56×10^{5}	1.49×10^{5}	2.46×10^{-1}	9.23×10^{-2}	523.93	25.06
	兔	4.24×10^{5}	3.22×10^{4}	1.30×10^{-1}	1.95×10^{-2}	311.43	52.25
9.63.12	人類 8-109	6.54×10^{6}	7.25×10^{5}	2.50×10^{-2}	3.45×10^{-3}	3.20	0.22
	人類 165	4.65×10^{6}	8.39×10^{5}	2.01×10^{-2}	3.95×10^{-3}	4.32	0.15
	小鼠 164	1.04×10^{6}	2.81×10^{5}	1.32×10^{-2}	3.04×10^{-3}	13.07	1.74
	大鼠	6.44×10^{6}	3.87×10^{6}	2.59×10^{-2}	1.01×10^{-2}	5.74	1.54
	兔	6.91×10^{6}	1.35×10^{6}	1.78×10^{-2}	4.46×10^{-3}	2.54	0.40

【0394】 VEGF_CKP9.54.90 亦對 VEGF-A 具有高選擇性且不結合或抑制其他 VEGF 同功異型物(諸如 VEGF-B、VEGF-C 及 VEGF-D)或其他生長因子(諸如 P1GF、EGF、NGF、IGF 及 PDGF)之活性。如**圖 2A** 及**圖 2B** 中所示，變異體 VEGF_CKP9.54.90 破壞 VEGF-A 與 KDR 之間的相互作用以及 VEGF-A 與 Flt-1 之間的相互作用，但不破壞 VEGF-B 與 Flt-1 之間、VEGF-C 與 Flt-4 之間的相互作用、VEGF-D 與 Flt-4 之間、PIGF-2 與 Flt-1 之間、EGF 與 EGFR 之間、PDGF 與 PDGFR 之間、NGF 與 NGFR 之間或 IGF 與 IGFR 之間的相互作用。

【0395】 如在肽受質裂解分析中所測定，不同於 EETI-II，VEGF_CKP9.54.90、VEGF_CKP9.54 及 VEGF_CKP9.63.12 不抑制胰蛋白酶活性(Stanger 等人, (2014) *FEBS Lett. 588* (23), 4487-96)。參見**圖 3**。然而，VEGF_CKP9.54.90 及 VEGF_CKP9.63.12 維持一定程度之抗胰蛋白酶消化性(參見**圖 4**)。在 37℃下與胰蛋白酶一起進行 24 h 培育之後，約 20%之 VEGF_CKP9.54.90 在環 2 內之 Arg13 處裂解。

【0396】 VEGF_CKP9.54、VEGF_CKP9.63 及 VEGF_CKP9.54.90 各自大致含有具有 3 個轉角之 α-螺旋，且各自採用與野生型 EETI-II 不同的二硫鍵特徵(VEGF_CKP9.54.90 之 C1-C4、C2-C3、C5-C6 相對於野生型 EETI-II 之 C1-C4、C2-C5、C3-C6)。參見**圖 5**。在該螺旋之一側上，VEGF_CKP9.54.90 形成由兩個二硫鍵(C1-C4 及 C2-C3)橋接之稠合二環結構，從而涵蓋環 1、

環 2 及環 3，以及該 α-螺旋之~1.5 個轉角。環 5 形成在該螺旋之相對側上且受 C5-C6 二硫鍵約束。

【0397】 獲得 VEGF_CKP9.54、VEGF_CKP9.63 及 VEGF_CKP9.54.90 與 VEGF-A 之複合物的共晶結構。VEGF_CKP9.54、VEGF_CKP9.63 及 VEGF_CKP9.54.90 與 VEGF-A 之複合物的共晶結構非常相似。關於 VEGF_CKP9.54 與 VEGF-A 之複合物的共晶結構，參見**圖 5** 及**圖 6**。鑒於 VEGF_CKP9.54、VEGF_CKP9.63 及 VEGF_CKP9.54.90 之結構非常相似(參見**圖 5** 及**圖 6**)，用 VEGF_CKP9.54.90 進行進一步研究。由 VEGF_CKP9.54.90 之殘基 Phe15 至 Tyr26 限定之螺旋與 VEGF-A 表面形成廣泛疏水性及極性相互作用(參見以下**表 31**)。另外，主幹 H 鍵之網狀結構形成在具有~3 個轉角之 α 螺旋內且使其穩定。一般而言，VEGF_CKP9.54.90 展現藉由分子內極性及疏水性接觸(包括主幹-主幹、側鏈-主幹及側鏈-側鏈相互作用)加以穩定之緊湊剛性結構(**表 32**)。VEGF_CKP9.54.90 之接觸 VEGF-A 之表面本質上主要為疏水性的且具有極少極性側鏈(**表 31**)，而該肽之不與 VEGF-A 相互作用之相對表面係暴露於溶劑的且本質上主要為極性的。

表 31：在 VEGF-A 二聚體之 4 Å 內的 VEGF_CKP9.54.90 殘基

在 VEGFA 之 4 Å 內的 VEGF_CKP9.54.90 殘基	
VEGF_CKP9.54.90 (鏈 1)	VEGF_CKP9.54.90 (鏈 2)
I4	I4
M5	M5
L6	L6
P7	P7
F8	F8
W9	W9
R13	R13
D14	D14
F15	F15
L18	L18
A19	A19

V22	V22
C23	C23
Y25	Y25
Y26	Y26
Q27	Q27
S28	S28
G30	G30

表 32：VEGF_CKP9.54.90 分子內相互作用之彙總

殘基 1	殘基 2	備註
Cys2	Cys21	二硫鍵
Asn3	Trp9	主鏈 H 鍵
Asn3	Met5	Asp3 與 M5 主鏈氮形成 H 鍵
Asn3	Leu6	主鏈 H 鍵
Leu6	Trp9	主鏈 H 鍵
Pro7	Gly10	主鏈 H 鍵
Phe8	Cys11	主鏈 H 鍵
Phe8	Leu18	凡得瓦爾相互作用
Trp9	Ile4、Leu18、Val22、Tyr25、Tyr26	核心 Trp 形成凡得瓦爾相互作用網路
Cys11	Cys17	二硫鍵
Gly12	Asp14	主鏈 H 鍵
Asp14	Glu16、C17	Asp14 與螺旋之 N 末端形成穩定 H 鍵
Phe15	Leu18、Ala19	使螺旋穩定之凡得瓦爾相互作用
Leu18	Val22	使螺旋穩定之凡得瓦爾相互作用
Val22	Tyr26	使螺旋穩定之凡得瓦爾相互作用
Phe15 – Tyr26		使具有~3 個轉角之螺旋穩定的主幹 H 鍵形式之網路
Cys23	Cys29	二硫鍵
Tyr25	Tyr26	使螺旋穩定之凡得瓦爾相互作用
Gln27	Cys23	主鏈 H 鍵
Ser28	Cys23	主鏈 H 鍵

【0398】 VEGF_CKP9.54.90 在 VEGF-A 上之結合界面與天然受體及 G6.31 抗體重疊(**圖 7** 及**圖 8**)。VEGF-A 上處於肽界面中之接觸殘基彙總於**表 33** 中且示於**圖 9** 中。VEGF-A 上之 VEGF_CKP9.54.90 結合抗原決定基與雷尼珠單抗及貝伐珠單抗不同(**圖 10**)，該二者不結合小鼠或大鼠 VEGF-A，

因為其與人類 VEGF-A 之相互作用依賴於齧齒動物中經 Ser 取代之關鍵 Gly88 殘基。VEGF_CKP9.54.90 之結合模式表明，其實質上不依賴於 Gly88，且此觀點由該肽有效地結合人類及齧齒動物 VEGF-A 兩者之觀測結果驗證。利用定點突變誘發來驗證自晶體結構觀測到之蛋白質-肽界面中之許多接觸。不出所料，VEGF-A 上之 Y21A、Q89A 及 F17A/M81A 突變導致 VEGF_CKP9.54.90 在 VEGF-A 上之結合減少。參見**圖 11**。然而，K48A 突變使 VEGF_CKP9.54.90 之結合增強~2 至 3 倍，此特性類似於利用 G6.31 抗體下所觀測者(Fuh 等人, (2006) *J. Biol. Chem.* 281, 6625-6631)。參見以下**表 34** 及**圖 11**。

表 33. 處於 VEGF_CKP9.54.90 之 4 Å 內的 VEGF-A 二聚體殘基

處於 VEGF_CKP9.54.90 之 4 Å 內的 VEGF-A 殘基	
VEGF-A (二聚體鏈 A)	VEGF-A (二聚體鏈 B)
	V14
	V15
F17	F17
M18	M18
	D19
Y21	Y21
Q22	Q22
Y25	Y25
I46	I46
K48	K48
N62	N62
D63	D63
L66	L66
M81	M81
I83	I83
K84	K84
P85	P85
H86	H86

Q87	Q87
G88	G88
Q89	Q89
I91	
	C104
	R105
P106	P106

表 34：VEGF_CKP9.54.90、VEGF_CKP9.63.12、VEGF_CKP9.54 及 VEGF_CKP9.63 對各種 hVEGF-A 突變體之結合動力學及親和力。

變異體	VEGF 突變體	ka	ka (誤差)	kd	kd (誤差)	KD (nM)	KD (誤差)
9.54.90	WT	7.81×10^{7}	1.86×10^{7}	0.0300	9.79×10^{-3}	0.37	0.09
	Y21A	3.72×10^{7}	1.30×10^{7}	0.1202	2.44×10^{-2}	3.50	0.30
	K48A	6.04×10^{7}	2.12×10^{7}	0.0116	3.77×10^{-3}	0.19	0.02
	Q89A	1.71×10^{7}	8.38×10^{6}	0.1458	5.99×10^{-2}	8.80	0.45
	F17A/M81A						
9.63.12	WT	8.43×10^{6}	1.47×10^{6}	0.0096	0.0035	1.07	0.20
	Y21A	1.99×10^{7}	6.84×10^{6}	1.48×10^{-1}	3.13×10^{-2}	9.84	4.41
	K48A	5.30×10^{7}	3.77×10^{7}	0.017	0.013	0.33	0.01
	Q89A	7.43×10^{6}	2.09×10^{6}	0.47	2.71×10^{-1}	36.49	1.62
	F17A/M81A						
9.54	WT	4.10×10^{6}	8.59×10^{5}	0.2349	0.0778	55	7
	Y21A	6.63×10^{5}	6.39×10^{3}	0.2101	0.0389	317	56
	K48A	2.64×10^{6}	2.24×10^{5}	0.0587	0.0010	22	3
	Q89A	3.37×10^{5}	1.41×10^{5}	0.7932	0.5101	1882	460
	F17A/M81A						
9.63	WT	1.57×10^{6}	3.14×10^{5}	0.1624	0.05	100.34	9.40
	Y21A	7.52×10^{5}	2.45×10^{5}	0.4814	2.13×10^{-1}	584.85	112.171
	K48A	5.72×10^{5}	1.75×10^{5}	0.02	5.24×10^{-3}	28.4	4.8
	Q89A	2.66×10^{5}	8.01×10^{4}	0.51	1.22×10^{-1}	1999.8	127.5

	F17A/M81A						

【0399】 接下來，評估 VEGF-A 結合變異體 VEGF_CKP9.54.90、VEGF_CKP9.63.12 及 VEGF_CKP9.63.44 在脈絡膜新血管形成之 VEGF-A 驅動模型中的活體內效力。在大鼠眼睛中產生雷射灼傷斑且在 14 天週期之後在存在及不存在以不同的間隔經玻璃體內投與之肽的情況下監測新血管形成。肽 VEGF_CKP9.54.90 顯示有效抑制大鼠眼睛中之雷射誘導之脈絡膜新血管形成，如藉由與對照眼睛相比在經肽治療之眼睛中在新血管面積方面所觀測之顯著減少所量度。參見**圖 12**。

【0400】 VEGF_CKP9.54.90 與 VEGF-A 之複合物的共晶結構顯示，環 3 及環 4 中之天然胺基酸殘基就與 VEGF-A 結合而言未必呈最佳取向(參見**圖 9**)且可經修飾以增強其與 VEGF-A 表面之相互作用或在該肽內引發可改良肽摺疊及穩定性之分子內相互作用。因此，在進一步改良前導分子之效力及特性的目標下，基於 9.54、54.1 及 9.63、63.12 之序列構建新噬菌體庫，其中僅使環 3 及環 4 隨機化。儘管稍弱於前導分子，但仍選擇此等特定構架以便在分析中允許充分動態範圍以偵測親和力之改良。經鑒定，僅在環 3 及環 4 中含有變化之許多新純系顯示與 VEGF-A 之結合有所改良。選擇十四個所獲得之序列且接枝至前導 VEGF_CKP9.54.90 或 VEGF_CKP9.63.12 分子內之環 3 及環 4 上，且隨後產生呈摺疊形式之相應可溶性分子。該十四個親和力成熟型變異體之胺基酸序列提供於以下**表 35** 中。

表 35：基於 VEGF_CKP9.54.90 或 VEGF_CKP9.63.12 構架的親和力成熟型結合 VEGF-A 之環 3/環 4 變異體

變異體	環 1	環 2	環 3	環 4	環 5
9.54.90.7	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	LQQ	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.10	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	VER	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.12	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	MSD	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.13	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	MNQ	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.25	NIMLPFWG	GRDFE	MQT	I	QYYQS

	(SEQ ID NO: 33)	(SEQ ID NO: 97)			(SEQ ID NO: 45)
9.54.90.31	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	VYQ	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.44	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	FIN	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.53	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	VSQ	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.55	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	VTE	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.62	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	FYE	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.67	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	MEQ	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.71	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	VYR	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.63.12.8	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GPDID (SEQ ID NO: 118)	FVR	L	HWYNS (SEQ ID NO: 46)
9.63.12.12	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GPDID (SEQ ID NO: 118)	LSN	I	HWYNS (SEQ ID NO: 46)

【0401】 含有 L3/L4 變化之所有可溶性分子均顯示在細胞分析中之效力相對於 54.90 或 63.12.12 有所改良。三個前導分子 VEGF_CKP9.54.90.67、VEGF_CKP9.54.90.53 及 VEGF_CKP9.63.12.12 具有在約 0.5 至約 1 nM 之範圍內的細胞 IC_{50} 值。參見**圖 13** 及以下**表 36**。

表 36：表 35 中之變異體的 IC_{50} 值

變異體	細胞 IC_{50} (nM)	相對於變異體 9.54.90 之倍數提高
9.54.90	1.35	1
9.54.90.12	1.20	1.125
9.54.90.13	0.96	1.41
9.54.90.25	1.26	1.07
9.54.90.44	1.16	1.16
9.54.90.62	0.92	1.47
9.54.90.67	1.10	1.23
9.63.12	1.83	0.74
9.63.12.8	N/D	
9.63.12.12	0.56	2.41

【0402】 VEGF_CKP9.63 與 VEGF-A 之複合物的共晶結構顯示，環 1 內之位置 8 上的 Tyr 殘基可與 VEGF-A 上之 Gln22 的側鏈形成氫鍵。參見

圖 14。在來源於 VEGF_CKP9.54 之變異體(諸如**表 35** 中之變異體)中，位置 8 上之胺基酸為 Phe。因此，吾等設法使**表 35** 中之一些變異體中的 Phe8 突變至 Tyr I，目的在於改良所得 F8Y 變異體之親和力及/或溶解度。F8Y 突變顯示對一些分子(例如 VEGF_CKP9.54.1.F8Y、VEGF_CKP9.54.90.F8Y 及 VEGF_CKP9.54.90.67.F8Y)之親和力/效力的適度改良，而在極少其他情況下，其顯示極小或稍微消極之效應(例如 VEGF_CKP9.54.90.13.F8Y 及 VEGF_CKP9.54.90.62.F8Y)。參見**表 37**，其中比較某些變異體之結合親和力(如藉由表面電漿子共振所測定)，及**表 38**，其中比較某些變異體之效力(如藉由細胞 IC_{50}所測定)。F8Y 取代有助於使 VEGF_CKP9.54.90.67.F8Y 之溶解度提高約 2 mg/ml。選擇 VEGF_CKP9.54.90.67.F8Y 用於進一步跟進研究。

表 37：VEGF_CKP9.54.1.F8Y、VEGF_CKP9.54.90.F8Y、VEGF_CKP9.54.90.67.F8Y、VEGF_CKP9.54.90.13.F8Y 及 VEGF_CKP9.54.90.62.F8Y 對 VEGF-A 之結合動力學及親和力

變異體	k_a	k_d	K_D
VEGF_CKP9	1.2 ± 0.3	40 ± 20	5 ± 1 μM
VEGF_CKP9.54	3.4 ± 0.2	2.3 ± 0.8	44 ± 6 nM
VEGF_CKP9.54.1	15 ± 2	0.36 ± 0.17	2.2 ± 0.7 nM
VEGF_CKP9.54.1.F8Y	53 ± 12	0.38 ± 0.06	0.78 ± 0.11 nM
VEGF_CKP9.54.90	63 ± 16	0.17 ± 0.05	0.40 ± 0.08 nM
VEGF_CKP9.54.90.F8Y	70 ± 10	0.27 ± 0.01	0.40 ± 0.05 nM
VEGF_CKP9.54.90-Alkyn	50 ± 0.3	0.27 ± 0.004	0.49 ± 0.05 nM

【0403】 如下分析各種 CKP 變異體之氧化穩定性：將 5 μL 含 11 mM AAPH (Calbiochem 目錄號 100110)之水添加至 50 uL 變異肽樣品(製備為含 1 mg/mL 肽之 20mM 組胺酸乙酸鹽 pH 5.5)並且在 40℃下將混合物培育 16 小時。在培育結束時，藉由添加 27.5 uL 40 mM 甲硫胺酸來淬滅樣品，隨後添加 160 ul 20 mM 組胺酸乙酸鹽、100 mM 蔗糖(pH 5.5)以稀釋樣品。藉由 LC-MS 分析反應物。

【0404】 據觀測，VEGF_CKP9.54.90 在環 1 內之 Met5 處經歷~30% 氧化。用非天然胺基酸正白胺酸置換 Met 5 致使 VEGF_CKP9.54.90 完全抗氧化。用正白胺酸置換 Met5 亦對結合效率具有良好效應(~2 倍提高)。產生

變異體 VEGF_CKP9.54.90.67 F8Y M5Nle、VEGF_CKP9.54.90.53 M5Nle 及 VEGF_CKP9.63.12.12 M5Nle。Met5Nle 變異體之所有三個 Met5Nle 均顯示與其親本分子相比細胞效力適度改良～1.5 至 2 倍。

【0405】 接下來評估 VEGF_CKP9.54.90 之環 1 中之 Trp9 處的基於萘之胺基酸取代對 VEGF-A 結合親和力之效應。VEGF_CKP9.54.90 與 VEGF 之複合物的晶體結構指示 VEGF_CKP9.54.90 (及由其衍生之變異體)的 Trp9 殘基與 VEGF-A 表面相互作用，而其餘空間可能允許大環系統融入。為了驗證此假設，吾等產生 VEGF_CKP9.54.90 之可溶性變異體，其中以 1-萘基異構體或 2-萘基異構體置換 Trp9 之吲哚環。此等分子顯示細胞效力相對於親本 VEGF_CKP9.54.90 有所降低。關於包含 F8Y 取代及/或非天然胺基酸取代之 VEGF_CKP9.54.90 衍生變異體之效力的其他資料提供於**表 38** 中：

表 38：包含 F8Y 取代及/或非天然胺基酸取代之 VEGF_CKP9.54.90 衍生之變異體的 IC_{50} 值

變異體	細胞 IC_{50} (nM)	相對於變異體 9.54.90 之倍數提高
9.54.90	1.35	1
9.54.90.F8Y	1.58	0.85
9.54.90.F7Y. Δ2G	3.01	0.44
9.54.90.M5.Nle	1.95	0.69
9.54.90.Naph1	5.42	0.24
9.54.90.Naph2	17.1	0.08
9.54.90.13	0.96	1.41
9.54.90.13.F8Y	2.02	0.67
9.54.90.62	0.92	1.47
9.54.90.62.F8Y	1.14	1.18
9.54.90.67	1.1	1.23
9.54.90.67.F8Y	0.66	2.05

【0406】 藉由剪除 N 末端及 C 末端之兩個甘胺酸殘基使前導 VEGF_CKP9.54.90. F8Y 縮短以產生變異體 VEGF_CKP9.54.90 F7YΔ2G)導致細胞效力相對於 VEGF_CKP9.54.90 稍微降低。參見以上**表 38**。

實例 2B：包含 C 末端胺基酸延伸之結合 VEGF-A 之非天然存在之 EETI-II 變異體的產生

【0407】 為了鑑別對 VEGF-A 具有增強之親和力的額外肽變異體，

吾等選擇 9.54 (SEQ ID NO: 52)、9.54.1 (SEQ ID NO: 99)分子且基於此等構架產生新噬菌體庫，其中向其 C 末端添加兩個額外胺基酸。

【0408】 自 9.54 文庫中，鑑別出對 hVEGF-A (8-109)之結合信號比與 BSA (背景)之結合信號高出超過 3 倍的二十二個純系(**表 39**)。此等中選者在環 2 內、在環 2 及環 4 內或在環 2、環 4 及環 5 內含有胺基酸組成變化。

表 39：基於 9.54 之 C 末端二殘基延伸變異體

純系 ID	胺基酸序列	SEQ ID NO
9.54	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCG	52
9.54-28	GCNIMLPFWGCKQDFDCLAGCICQYYQSCGFH	455
9.54-39	GCNIMLPFWGCKQDFDCLAGCICQYYQSCGGE	457
9.54-10	GCNIMLPFWGCKQDSDCLVGCICQYYQSCGSI	458
9.54-32	GCNIMLPFWGCKQDFDCLAGCVCQYYQSCGGR	459
9.54-13	GCNIMLPFWGCKQDFDCLAGCVCQYYQSCGRP	460
9.54-6	GCNIMLPFWGCKQDFDCLAGCVCQYYQSCGQY	461
9.54-24	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGEN	462
9.54-34	GCNIMLPFWGCKQDFDCLAGCVCQYYQSCGDT	463
9.54-9	GCNIMLPFWGCKQDFDCLAGCVCQYYQSCGQH	464
9.54-12	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCICQYYQSCGQN	465
9.54-17	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGEE	466
9.54-19	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGDD	467
9.54-43	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGDG	468
9.54-5	GCNIMLPFWGCKQDFDCLAGCVCQYYQSCGLE	469
9.54-1	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGTD	470
9.54-4	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGSE	471
9.54-15	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGPE	472
9.54-42	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGTN	473
9.54-27	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGPH	474
9.54-2	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGMD	475
9.54-21	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGSD	476

【0409】 自 9.54.1 文庫中，鑑別出對 hVEGF-A (8-109)之結合信號比與 BSA (背景)之結合信號高出超過 3 倍的純系(**表 40**)。

表 40：基於 9.54.1 之 C 末端二殘基延伸變異體

純系 ID	胺基酸序列	SEQ ID NO
9.54.1	GCNIMLPFWGCGQSFECLAGCVCQYYQSCG	99
9.54.1-2	GCNIMLPFWGCGQSFECLAGCICQYYQSCGIA	477

9.54.1-63	GCNIMLPFWGCGQSFECLAGCICQYYQSCGGS	478
9.54.1-36	GCNIMLPFWGCGQSFECLAGCICQYYQSCGTR	479
9.54.1-42	GCNIMLPFWGCGQSFECLAGCICQYYQSCGLS	533
9.54.1-90	GCNIMLPFWGCGQSFECLAGCICQYYQSCGVH	480

【0410】 如藉由噬菌體競爭 ELISA (如以上所描述)所測定，純系 9.54-28 (**表 39** 中)顯示對 hVEGF-A (8-109)之結合親和力與 9.54 相比提高約 10 倍。(參見**圖 15**)。如藉由噬菌體競爭 ELISA 所測定，純系 9.54.1-2、9.54.1-36、9.54.1-42、9.54.1-63 及 9.54.1-90 (**表 40** 中)亦顯示對 hVEGF-A (8-109)之結合親和力與 9.54.1 相比提高約 10 倍。(參见**图 15**)。

【0411】 選擇肽 9.63 (SEQ ID NO: 55)及 9.63.44 (SEQ ID NO: 125)以便如以上所描述進行進一步修飾。產生基於此等構架之新噬菌體庫，其中向其 C 末端添加兩個額外胺基酸。

【0412】 自 9.63 文庫中，鑑別出對 hVEGF-A (8-109)之結合信號比與 BSA (背景)之結合信號高出超過 3 倍的 28 個純系(**表 41**)。此等中選者在環 2 及環 4 內含有胺基酸組成變化。

表 41：基於 9.63 之 C 末端二殘基延伸變異體

純系 ID	胺基酸序列	SEQ ID NO
9.63	GCDVMQPYWGCKQDSDCLAGCVCHWYNSCG	55
9.63-1	GCDVMQPYWGCKQDFDCLAGCVCHWYNSCGPS	481
9.63-4	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGFS	482
9.63-7	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGGK	483
9.63-10	GCDVMQPYWGCKQDFDCLAGCICHWYNSCGYL	484
9.63-16	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGDL	485
9.63-17	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGEK	486
9.63-19	GCDVMQPYWGCKQDSDCLAGCICHWYNSCGTD	487
9.63-20	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGQV	488
9.63-21	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGRL	489
9.63-22	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGYA	490
9.63-23	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGAS	491
9.63-25	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGSR	492
9.63-30	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGPT	493
9.63-36	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGSL	456
9.63-40	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGWD	494
9.63-45	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGSM	495
9.63-61	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGTR	496
9.63-62	GCDVMQPYWGCKQDSDCLAGCVCHWYNSCGEN	497

9.63-65	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGNN	498
9.63-66	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGPE	499
9.63-67	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGGI	500
9.63-68	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGVE	501
9.63-70	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGPL	502
9.63-72	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGTS	503
9.63-74	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGRP	504
9.63-77	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGND	505
9.63-79	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGLQ	506
9.63-93	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGDE	507

【0413】 自 9.63.44 文庫中，鑑別出對 hVEGF-A (8-109)之結合信號比與 BSA (背景)之結合信號高出超過 3 倍的 17 個純系(**表 42**)。此等中選者在環 4 內含有胺基酸組成變化。純系 9.63.44-55 在環 2 內含有胺基酸組成變化，且純系 9.63.44-10 在環 3 內含有胺基酸組成變化。令人感興趣的是，**表 42** 中之純系 9.63.44-12 與表 41 中之純系 9.63-70 具有相同的胺基酸序列。

表 42：基於 9.63.44 之 C 末端二殘基延伸變異體

純系 ID	胺基酸序列	SEQ ID NO
9.63.44	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCG	125
9.63.44-2-A	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGRT	508
9.63.44-55	GCDVMQPYWGCEIDFDCLAGCVCHWYNSCGQV	509
9.63.44-10-A	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGGI	510
9.63.44-54	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGYM	511
9.63.44-19	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGGQ	512
9.63.44-44	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGTP	513
9.63.44-14	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGVN	514
9.63.44-73	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGFN	515
9.63.44-16	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGEP	516
9.63.44-80	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGNS	517
9.63.44-41	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGST	518
9.63.44-82	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGRY	519
9.63.44-1	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGFS	520
9.63.44-2	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGQV	521
9.63.44-3	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGYA	522
9.63.44-4	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGSR	523
9.63.44-5	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGPT	524
9.63.44-6	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGSM	525
9.63.44-7	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGGI	526
9.63.44-8	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGTS	527
9.63.44-9	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGLQ	528

9.63.44-10	GCDVMQPYWGCEMDFDCLVGCVCHWYNSCGDE	529
9.63.44-11	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGDL	530
9.63.44-12	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGPL	503
9.63.44-13	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGQF	531
9.63.44-14	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGWK	532

【0414】 如藉由噬菌體競爭 ELISA 所測定，純系 9.63.44-1 至 9.63.44-14 (**表 42** 中)與 9.63.44 相比對 hVEGF-A (8-109)顯示改良之結合親和力。(參見**圖 16A** 及**圖 16B**)。

【0415】 總而言之，以上結果指示藉由向其 C 末端添加兩個胺基酸來延伸前導肽 9.54 (SEQ ID NO: 52)、9.54.1 (SEQ ID NO: 99)、9.63 (SEQ ID NO: 55)及 9.63.44 產生對 hVEGF-A (8-109)具有高出~10 倍之結合親和力的變異體。

【0416】 接下來選擇肽 9.54.90 (SEQ ID NO: 102)及 63.12.12.M5L (SEQ ID NO: 386)以便如以上所描述進行進一步修飾。簡而言之，產生基於 9.54.90 之新噬菌體庫，其中在 C 末端添加兩個額外胺基酸、三個額外胺基酸或四個額外胺基酸。產生基於 63.12.12.M5L 之第二組文庫，其中在 C 末端添加兩個額外胺基酸。

【0417】 自包含 2 個胺基酸之 C 末端延伸的 9.54.90 文庫中，鑑別出對 hVEGF-A (8-109)之結合信號與對 BSA (背景)相比高出超過 3 倍的 6 個純系(**表 43**)。

表 43：基於 9.54.90 之 C 末端二殘基延伸變異體

純系 ID	胺基酸序列	SEQ ID NO
9.54.90	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG	102
9.54.90-2x28	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGFH	379
9.54.90-2x2	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGIA	380
9.54.90-2x63	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGGS	381
9.54.90-2x36	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGTR	382
9.54.90-2x90	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGVH	383
9.54.90-2x42	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGLS	384

【0418】 自包含 3 個胺基酸之 C 末端延伸的 9.54.90 文庫中，鑑別出對 hVEGF-A (8-109)之結合信號與對 BSA (背景)相比高出超過 3 倍的 10 個純系(**表 44**)。

表 44：基於 9.54.90 之 C 末端三殘基延伸變異體

純系 ID	胺基酸序列	SEQ ID NO
9.54.90	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG	102
9.54.90-3X83	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGPLI	369
9.54.90-3X50	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGNYQ	370
9.54.90-3x49	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGPLQ	371
9.54.90-3x10	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGTFQ	372
9.54.90-3x91	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGDLV	373
9.54.90-3x42	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGEHK	374
9.54.90-3x88	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGYLS	375
9.54.90-3x9	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGWDY	376
9.54.90-3x133	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGWPH	377
9.54.90-3x33	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGPHQ	378

【0419】 包含 4 個胺基酸之 C 末端延伸的來自 9.54.90 文庫之所有肽均含有 3 個胺基酸之 C 末端延伸。

【0420】 自包含 2 個胺基酸之 C 末端延伸的 63.12.12.M5L 文庫中，鑑別出對 hVEGF-A (8-109)之結合信號與對 BSA (背景)相比高出超過 3 倍的 9 個純系(**表 45**)。

表 45：基於 63.12.12.M5L 之 C 末端二殘基延伸變異體

純系 ID	胺基酸序列	SEQ ID NO
63.12.12.M5L	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG	386
63.12.12.M5L.2x2	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGRT	387
63.12.12.M5L.2x77	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGWK	388
63.12.12.M5L.2x48	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGPL	389
63.12.12.M5L.2x25	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGDE	390
63.12.12.M5L.2x69	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGQF	391
63.12.12.M5L.2x12	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGEQ	392
63.12.12.M5L.2x30	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGPT	393
63.12.12.M5L.2x21	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGRL	394
63.12.12.M5L.2x29	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGSL	395

實例 2C：包含 C 末端胺基酸延伸之結合 VEGF-A 之非天然存在之 EETI-II 變異體的表徵

【0421】 經由如以上所描述之噬菌體競爭 ELISA 分析以上**表 43** 至**表 45** 中所提供之變異體，以鑑別出對 hVEGF-A (8-109)具有較大結合親和力的

變異體。

【0422】 隨後選擇對 hVEGF (8-109)顯示較高親和力之純系(例如，諸如**表 39** 至**表 45** 中所提供之彼等)，包括例如 9.54.1-2、9.54.1-36、9.54.1-42、9.54.1-63 及 9.54.1-90 以及 9.63.44-1 至 9.63.44-14，以如以上所描述來進行進一步活體外評估，諸如在噬菌體競爭 ELISA 及 VEGF-KDR 相互作用 ELISA 中之抑制活性。

【0423】 隨後經由表面電漿子共振分析純系以測定其對各種 VEGF 同功異型物(包括 hVEGF-A (8-109)、hVEGF-A 165、小鼠 VEGF-A 164、大鼠 VEGF-A 及兔 VEGF-A)之親和力。

【0424】 進行進一步分析以評估對 VEGF-A 之純系特異性。舉例而言，如以上所描述用 VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、PlGf-2、NGF、EGF、PDGF-β 或 IGF-1 進行競爭 ELISA。

【0425】 如在肽受質裂解分析中所量測，亦分析該等純系抑制胰蛋白酶活性之能力(Stanger 等人, (2014) *FEBS Lett. 588* (23), 4487-96)。

【0426】 如以上所描述來測定該等純系對各種 hVEGF 突變體(包括例如 Y21A、K48A、Q89A 及 F17A/M81A)之結合動力學及親和力。

【0427】 接下來，如以上所描述在脈絡膜新血管形成之 VEGF-A 驅動模型中評估該等純系之活體內效力。

【0428】 如以上所描述來分析該等變異體之氧化穩定性。

實例 3：可結合 LRP6 之非天然存在之 EETI-II 變異體的產生

【0429】 實例 2A 中所描述之天然 EETI-II 庫循環通過數輪針對 LRP6 E1E2 蛋白之選擇。鑑別出結合 LRP6 E1E2 之二十二個獨特純系(**表 46**)。此等初步中選者在環 1 及環 5 內含有胺基酸內含物變化。在若干變異體中，與天然 EETI-II 構架相比，環 1 展現更長之長度。值得注意的是，與 LRP6 結合之新演化序列在環 1 中含有與作為內源性 LRP6 配位體之天然 Dkk1 分子內所存在之基元(NAI)類似的共同基元(**NXI**)。該等新演化變異體概括了天然配位體中所存在之基元。

表 46：針對 LRP6 E1E2 之基於 EETI-II 之結合劑

變異體	環 1	環 5	ELISA	S/N*
LRP6_CKP1	RTNRVKGG	GPNGF	3.23	45.49

LRP6_CKP2	VNRVRG	SGGRD	3.41	41.62
LRP6_CKP3	MNHVKARR	GPNGF	2.93	40.18
LRP6_CKP4	RSVNKI	GSSRN	2.82	25.39
LRP6_CKP5	VNKIKG	GVEGR	3.04	35.71
LRP6_CKP6	RNSIKR	SVGHG	3.10	37.36
LRP6_CKP7	VSNRVNKG	GPNGF	3.30	28.96
LRP6_CKP8	RGNIIK	NESRG	3.23	37.56
LRP6_CKP9	RSGNTIRKRE	GGPGG	2.97	37.62
LRP6_CKP10	ASSNSIRQGW	GPKSN	3.29	37.38
LRP6_CKP11	RSNRIR	YGHGD	2.65	36.76
LRP6_CKP12	RSNKLREARG	GSRQD	0.60	6.78
LRP6_CKP13	VNSVKR	SRGVN	3.28	37.75
LRP6_CKP14	GSNKIRPR	GPNDF	3.18	43.53
LRP6_CKP15	NRIRNS	GRGDY	2.03	26.31
LRP6_CKP16	SRNSIK	ASGSS	3.36	31.11
LRP6_CKP17	SNYVKR	SPGGR	3.09	35.88
LRP6_CKP18	RANRVSGR	GPNGF	1.67	18.32
LRP6_CKP19	SNRVKVRA	GPNGF	3.27	41.96
LRP6_CKP20	ENRTKG	GFRGT	3.10	38.69
LRP6_CKP21	GNKIRA	RDRVG	2.80	33.69
LRP6_CKP22	ANRVKRTS	GPNGF	3.43	42.86

*S/N=與 BSA 對照相比之信號雜訊比

【0430】 LRP6 之細胞外域由與捲曲受體及 Wnt 蛋白相互作用以傳播 Wnt 信號傳導之四個螺旋槳結構域(E1-E4)組成。利用模組化方法，LRP6 分別經由其 E1-E2 或 E3-E4 結構域與特定 Wnt 同功異型物之選擇性結合來區分 Wnt1 或 Wnt3a 信號傳導(Hannoush 等人, (2010) *J. Biol. Chem.* 285, 9172-9179)。為了在藥理學上描繪 Wnt1 及 Wnt3a 信號傳導臂，吾等設法鑑別出選擇性地結合 LRP6 E1-E2 之配位體。

【0431】 在所鑑別之序列中，產生呈可溶性摺疊形式之 R1、LRP6_CKP6 及 LRP6_CKP19 以測試其針對 Wnt1 或 Wnt3a 信號傳導之藥理學活性。如以下**表 47** 及**表 48** 中所示，在基於細胞之信號傳導報告子分析中，藉由 R77 未觀測到對 Wnt1 或 Wnt3a 之顯著選擇性。另一方面，如在螢光素酶報告子分析中所量測，相對於 Wnt3a，R1 及 R19 對 Wnt1 信號傳導顯示選擇性抑制(Wnt1 相對於 Wnt3a，分別為 160 倍及 11 倍)，從而支持此等變異體不靶向 LRP6 E3-E4 結構域(IC_{50}>44 μM)。總而言之，該資料突出顯示新演化變異體之特異性及其在模擬天然配位體中所存在之基元方面的效應。更重要的是，所鑑別之變異體提供一種用於查詢 Wnt1 及 Wnt3 信號傳導之藥理學手段。

表 47：結合 LRP6 之 CKP 變異體對 Wnt1 信號傳導之抑制活性

Lrp6-CKP (n=4)	Wnt1 (5 ng/孔)之最佳擬合 IC_{50} (nM)	95%置信區間(nM)

R1 F1	241.7	185.8 至 314.5
R1 F2	193.8	140.1 至 268.2
LRP6_CKP6 F1	22,866	13,593 至 38,463
LRP6_CKP6 F2	23,760	14,458 至 39,046
LRP6_CKP6 F3	4,625	3,037 至 7,044
LRP6_CKP19 F1	23,132	15,397 至 34,754
LRP6_CKP19 F2	49,330	31,391 至 77,520

表 48：結合 LRP6 之 CKP 變異體對 Wnt3a 信號傳導之抑制活性

Lrp6-CKP (n=4)	Wnt3a (25 ng/孔)之最佳擬合 IC_{50} (nM)	95%置信區間(nM)
R1 F1	38,594	16,093 至 92,554
R1 F2	16,596	9,037 至 30,478
LRP6_CKP6 F1	350,240	11840 至 1.036×10^7
LRP6_CKP6 F2	275,584	24,695 至 3.075×10^6
LRP6_CKP6 F3	不收斂	不收斂
LRP6_CKP19 F1	59,287	32,600 至 107,823
LRP6_CKP19 F2	69,827	26,179 至 186,252

【0432】 **表 47** 及**表 48** 中之 F1、F2 及 F3 分別係指在 R1、LRP6_CKP6 及 LRP6_CKP19 之純化期間所獲得之峰溶離份 1、2 及 3。

【0433】 前述實例僅出於說明性目的而提供，而不意欲以任何方式限制本發明之範疇。根據以上描述，除本文中所顯示及描述之彼等修改以外的對本發明的各種修改對於本領域技術人員將顯而易見且屬於所附申請專利範圍之範疇內。

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 美商建南德克公司

<120> 胱胺酸結骨架平臺

<130> 146392026840

<140> TW 105130077
<151> 2016-09-14

<150> US 62/219,063
<151> 2015-09-15

<160> 568

<170> FastSEQ f或 Windows Version 4.0

<210> 1
<211> 28
<212> PRT
<213> 噴瓜

<400> 1
Gly Cys Pro Arg Ile Leu Met Arg Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
            20   25

<210> 2
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1, 2, 3, 4, 5, 6
<223> Xaa = 任何胺基酸

<400> 2
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

<210> 3
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
<223> Xaa = 任何胺基酸

<400> 3
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

<210> 4
<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8
<223> Xaa = 任何胺基酸

<400> 4
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

<210> 5
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9
<223> Xaa = 任何胺基酸

<400> 5
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

<210> 6
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10
<223> Xaa = 任何胺基酸

<400> 6
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5   10

<210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1, 2, 3, 4, 5
<223> Xaa = 任何胺基酸或非天然胺基酸

<400> 7
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 8
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 8
Pro Thr Thr Arg Phe Lys Gln Tyr
1 5

<210> 9
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 9
Gln Asp Pro Thr Phe Asn Trp Ala Leu Tyr
1 5 10

<210> 10
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 10
Gln Leu Met Gln Pro Phe Trp Gly
1 5

<210> 11
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 11
Arg Asp Leu Asp Val Lys Trp Asp
1 5

<210> 12
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 12
Arg Thr Pro Trp Glu Pro His Asp Ile Thr
1 5 10

<210> 13
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 13
Thr Thr Pro Trp Pro Pro His Glu Ile Met
1 5 10

<210> 14
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 14
Val Thr Pro Trp Lys Pro His Trp Ile Asn
1 5 10

<210> 15
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 15
Gly Pro Asn Gly Phe
1 5

<210> 16
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 16
Gln Met Tyr Gln Ser
1 5

<210> 17
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 17
His Trp Tyr Gln Ser
1 5

<210> 18

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 18
Gln Tyr Tyr Ser Ser
 1   5

<210> 19
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 19
Gly Pro Asn Gly Phe
 1   5

<210> 20
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = G 或 E 或 Y 或 Q 或 H

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = P 或 M 或 W 或 Y

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = N 或 Y 或 W

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = G 或 D 或 T 或 Q 或 R 或 S

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = F 或 A 或 E 或 S

<400> 20
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

<210> 21
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 21
Gly Cys Pro Thr Thr Arg Phe Lys Gln Tyr Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
20 25 30

<210> 22
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 22
Gly Cys Gln Asp Pro Thr Phe Asn Trp Ala Leu Tyr Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Met Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 23
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 23
Gly Cys Gln Leu Met Gln Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 24
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 24
Gly Cys Arg Asp Leu Asp Val Lys Trp Asp Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Phe Cys Gln Tyr Tyr Ser Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 25
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 25
Gly Cys Arg Thr Pro Trp Glu Pro His Asp Ile Thr Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15

Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
20 25 30

<210> 26
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 26
Gly Cys Thr Thr Pro Trp Pro Pro His Glu Ile Met Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
20 25 30

<210> 27
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 27
Gly Cys Val Thr Pro Trp Lys Pro His Trp Ile Asn Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
20 25 30

<210> 28
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 28
Asp Val Leu Gln Pro Phe Trp Gly
1 5

<210> 29
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 29
Gln Ile Ser Gln Pro Phe Trp Gly
1 5

<210> 30
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 30
Asp Arg Met Gln Pro Leu Trp Gly
1 5

<210> 31
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 31
Asn Leu Met Leu Pro Phe Trp Gly
1 5

<210> 32
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 32
Gln Arg Thr Gln Pro Phe Trp Gly
1 5

<210> 33
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 33
Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly
1 5

<210> 34
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 34
Asp Pro Met Gln Pro Phe Trp Gly
1 5

<210> 35
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 35

Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly
1 5

<210> 36
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 36
Asp Ile Met Gln Pro Leu Trp Gly
1 5

<210> 37
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 37
Gln Leu Leu Gln Pro Leu Trp Gly
1 5

<210> 38
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 38
Asn Pro Met Leu Pro Leu Trp Gly
1 5

<210> 39
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 39
Lys Leu Phe Glu Pro Leu Trp Gly
1 5

<210> 40
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1

<223> Xaa = Q 或 D 或 K 或 N 或 A 或 R 或 H

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = L 或 V 或 I 或 R 或 P 或 V

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = M 或 L 或 S 或 T 或 F

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Q 或 E 或 L 或 H

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = F 或 L 或 M 或 Y 或 S

<400> 40
Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Trp Gly
 1   5

<210> 41
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 41
His Phe Tyr Asn Ser
 1   5

<210> 42
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 42
Leu Trp Tyr Lys Ser
 1   5

<210> 43
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 43
Arg Trp Tyr His Ser
 1   5

<210> 44

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 44
Arg Trp Tyr Gln Ser
 1   5

<210> 45
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 45
Gln Tyr Tyr Gln Ser
 1   5

<210> 46
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 46
His Trp Tyr Asn Ser
 1   5

<210> 47
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 47
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 48
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 48
Gly Cys Gln Ile Ser Gln Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Phe Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 49
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 49
Gly Cys Asp Arg Met Gln Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Leu Trp Tyr Lys Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 50
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 50
Gly Cys Asn Leu Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr His Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 51
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 51
Gly Cys Gln Arg Thr Gln Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 52
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 52
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 53
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 53
Gly Cys Asn Pro Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 54
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 54
Gly Cys Asp Pro Met Gln Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 55
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 55
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 56
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 56
Gly Cys Asp Ile Met Gln Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 57
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 57
Gly Cys Gln Leu Leu Gln Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 58
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 58
Gly Cys Asn Pro Met Leu Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 59
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 59
Gly Cys Lys Leu Phe Glu Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr Glu Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 60
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 60
Lys Asn Pro Leu Phe Asn Trp Ala Leu Tyr
 1   5   10

<210> 61
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 61
Gln Asp Pro Thr Val Asn Trp Ala Val Tyr
 1   5   10

<210> 62
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 62

Gln Asp Pro Thr Phe Asn Trp Ala Glu Tyr
1 5 10

<210> 63
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 63
Gln Asp Pro Ser Leu Asn Trp Ala Asp Tyr
1 5 10

<210> 64
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 64
Leu Asp Arg Thr Leu Asn Trp Ala Leu Tyr
1 5 10

<210> 65
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 65
Leu Asp Pro Ser Phe Asn Trp Ser Leu Tyr
1 5 10

<210> 66
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 66
Arg Asp Leu Thr Ile Asn Trp Ala Leu Phe
1 5 10

<210> 67
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 67
Leu Asp Pro Thr Val Asn Trp Ala Leu Phe
1 5 10

<210> 68
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 68
Gln Asp Pro Lys Leu Asn Trp Ala Val Tyr
1 5 10

<210> 69
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 69
Leu Asp Pro Ser Phe Asp Trp Ala Leu Tyr
1 5 10

<210> 70
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Q 或 D 或 K 或 W 或 E 或 L 或 R

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = D 或 N

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = P 或 R 或 L 或 T

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = T 或 S 或 L 或 K

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = F 或 V 或 L 或 I

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = N 或 D

<220>

<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = A 或 S 或 G

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = L 或 V 或 E 或 T 或 Q 或 D

<220>
<221> 變異體
<222> 10
<223> Xaa = F 或 Y

<400> 70
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Xaa Xaa Xaa
 1   5   10

<210> 71
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 71
Gln Leu Phe Asp Ser
 1   5

<210> 72
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 72
Gln Phe Tyr Gln Ser
 1   5

<210> 73
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 73
Gln Leu Tyr Gln Ser
 1   5

<210> 74
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 74

Gln Met His Gln Ser
1 5

<210> 75
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 75
Gln Met Tyr Asn Ser
1 5

<210> 76
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 76
Gln Met Tyr Asp Ser
1 5

<210> 77
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 77
Gln His Tyr Lys Thr
1 5

<210> 78
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 78
Gln Leu Phe Asn Ser
1 5

<210> 79
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 79
Gln Leu Tyr Asn Ser
1 5

<210> 80
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Q 或 R

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = M 或 L 或 F 或 H

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Y 或 F 或 H

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = D 或 Q 或 N 或 K

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = S 或 T

<400> 80
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 81
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 81
Gly Cys Lys Asn Pro Leu Phe Asn Trp Ala Leu Tyr Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Leu Phe Asp Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 82
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 82
Gly Cys Gln Asp Pro Thr Val Asn Trp Ala Val Tyr Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Phe Tyr Gln Ser Cys Gly

20 25 30

<210> 83
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 83
Gly Cys Gln Asp Pro Thr Phe Asn Trp Ala Glu Tyr Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Leu Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 84
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 84
Gly Cys Gln Asp Pro Thr Phe Asn Trp Ala Glu Tyr Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Met Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 85
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 85
Gly Cys Gln Asp Pro Ser Leu Asn Trp Ala Asp Tyr Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Met His Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 86
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 86
Gly Cys Leu Asp Arg Thr Leu Asn Trp Ala Leu Tyr Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Met Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 87
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 87
Gly Cys Leu Asp Pro Ser Phe Asn Trp Ser Leu Tyr Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Met Tyr Asp Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 88
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 88
Gly Cys Arg Asp Leu Thr Ile Asn Trp Ala Leu Phe Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Met Phe Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 89
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 89
Gly Cys Leu Asp Pro Thr Val Asn Trp Ala Leu Phe Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln His Tyr Lys Thr Cys Gly
20 25 30

<210> 90
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 90
Gly Cys Gln Asp Pro Lys Leu Asn Trp Ala Val Tyr Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Leu Phe Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 91
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 91
Gly Cys Leu Asp Pro Ser Phe Asp Trp Ala Leu Tyr Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15

Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Leu Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 92
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 92
Pro Arg Ile Leu Met Arg
1 5

<210> 93
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 93
Lys Gln Asp Ser Asp
1 5

<210> 94
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 94
Gly Gln Ser Phe Glu
1 5

<210> 95
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 95
Gly Leu Asp Tyr Asp
1 5

<210> 96
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 96
Gly Pro Asp Leu Gln
1 5

<210> 97
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 97
Gly Arg Asp Phe Glu
1 5

<210> 98
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = K 或 G 或 Q 或 S 或 N

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = Q 或 L 或 P 或 A 或 V 或 T 或 R 或 W 或 K 或 G 或 Y

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = D 或 S 或 E 或 N

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = S 或 F 或 Y 或 L 或 F 或 Q 或 M

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = D 或 E 或 N 或 A 或 L 或 F 或 H 或 Q

<400> 98
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 99
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 99
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Gln Ser Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 100
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 100
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Leu Asp Tyr Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 101
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 101
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Pro Asp Leu Gln
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 102
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 102
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 103
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 103
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Gln Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 104
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 104
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Val Glu Arg Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 105
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 105
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Met Ser Asp Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 106
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 106
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Met Asn Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 107
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 107
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Met Gln Thr Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 108
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 108
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Val Tyr Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 109
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 109
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Phe Ile Asn Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 110
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 110
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Val Ser Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 111
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 111
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Val Thr Glu Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 112
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 112
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Phe Tyr Glu Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 113
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 113
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 114
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 114
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Val Tyr Arg Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 115
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = K 或 P 或 Q 或 R

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = K 或 T 或 L 或 D

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = W 或 T 或 M 或 L

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Q 或 R 或 D

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = W 或 F 或 P 或 V

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = W 或 K 或 F

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = Y 或 Q 或 W

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = M 或 Y 或 G 或 D

<400> 115
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

<210> 116

<400> 116
000

<210> 117
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 117
Gly Glu Asn Phe Leu
 1   5

<210> 118
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 118
Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5

<210> 119
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 119
Gly Arg Asp Met Asp
 1   5

<210> 120
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 120
Glu Met Asp Phe Asp
 1   5

<210> 121
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = K 或 G 或 D 或 A 或 E

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = Q 或 E 或 R 或 V 或 P 或 D 或 M 或 G 或 N 或
L 或 A 或 F

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = D 或 N 或 Y 或 S

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = S 或 F 或 L 或 I 或 M 或 Y 或 V 或 N 或 E

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = D 或 L 或 Q 或 S 或 E 或 T 或 L 或 A 或 N

<400> 121
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 122
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 122
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Glu Asn Phe Leu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 123
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 123
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15

Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 124
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 124
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Met Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 125
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 125
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 126
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 126
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Glu Ser Leu Ser
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 127
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 127
Asp Val Met Lys Pro Met Trp Gly
1 5

<210> 128
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 128
Asp Val Leu Asp Pro Thr Trp Gly
 1   5

<210> 129
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 129
Asp Val Leu Gln Pro Leu Trp Gly
 1   5

<210> 130
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = M 或 L

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Q 或 K 或 D

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = Y 或 M 或 T 或 L

<400> 130
Asp Val Xaa Xaa Pro Xaa Trp Gly
 1   5

<210> 131
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 131
Gln Trp Tyr Asn Ser
 1   5

<210> 132
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 132
Leu Trp Tyr Asn Ser
 1   5

<210> 133
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 133
Arg Trp Tyr Asn Ser
 1   5

<210> 134
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = H 或 L 或 Q 或 R

<400> 134
Xaa Trp Tyr Asn Ser
 1   5

<210> 135
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 135
Gly Cys Asp Val Met Lys Pro Met Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 136
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 136
Gly Cys Asp Val Leu Asp Pro Thr Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Leu Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 137
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 137
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 138

<400> 138
000

<210> 139
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 139
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Phe Val Arg Cys Leu Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 140
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 140
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 141
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 141
Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly
1 5

<210> 142

<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 142
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 143
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 143
Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly
 1   5

<210> 144
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 144
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Ser Asp Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 145
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 145
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu

```
 1               5                  10                  15
Cys Val Ser Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20                  25                  30


<210> 146
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 146
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1               5                  10                  15
Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20                  25                  30


<210> 147
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 147
Arg Thr Asn Arg Val Lys Gly Gly
 1               5


<210> 148
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 148
Val Asn Arg Val Arg Gly
 1               5


<210> 149
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 149
Met Asn His Val Lys Ala Arg Arg
 1               5


<210> 150
<211> 6
<212> PRT
```

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 150
Arg Ser Val Asn Lys Ile
1 5

<210> 151
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 151
Val Asn Lys Ile Lys Gly
1 5

<210> 152
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 152
Arg Asn Ser Ile Lys Arg
1 5

<210> 153
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 153
Val Ser Asn Arg Val Asn Lys Gly
1 5

<210> 154
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 154
Arg Gly Asn Ile Ile Lys
1 5

<210> 155
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 155
Arg Ser Gly Asn Thr Ile Arg Lys Arg Glu
 1   5   10

<210> 156
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 156
Ala Ser Ser Asn Ser Ile Arg Gln Gly Trp
 1   5   10

<210> 157
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 157
Arg Ser Asn Arg Ile Arg
 1   5

<210> 158
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 158
Arg Ser Asn Lys Leu Arg Glu Ala Arg Gly
 1   5   10

<210> 159
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 159
Val Asn Ser Val Lys Arg
 1   5

<210> 160
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 160
Gly Ser Asn Lys Ile Arg Pro Arg
1 5

<210> 161
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 161
Asn Arg Ile Arg Asn Ser
1 5

<210> 162
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 162
Ser Arg Asn Ser Ile Lys
1 5

<210> 163
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 163
Ser Asn Tyr Val Lys Arg
1 5

<210> 164
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 164
Arg Ala Asn Arg Val Ser Gly Arg
1 5

<210> 165
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 165

Ser Asn Arg Val Lys Val Arg Ala
1 5

<210> 166
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 166
Glu Asn Arg Thr Lys Gly
1 5

<210> 167
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 167
Gly Asn Lys Ile Arg Ala
1 5

<210> 168
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 168
Ala Asn Arg Val Lys Arg Thr Ser
1 5

<210> 169
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 169
Ser Gly Gly Arg Asp
1 5

<210> 170
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 170
Gly Ser Ser Arg Asn
1 5

<210> 171
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 171
Gly Val Glu Gly Arg
1 5

<210> 172
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 172
Ser Val Gly His Gly
1 5

<210> 173
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 173
Asn Glu Ser Arg Gly
1 5

<210> 174
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 174
Gly Gly Pro Gly Gly
1 5

<210> 175
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 175
Gly Pro Lys Ser Asn
1 5

<210> 176
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 176
Tyr Gly His Gly Asp
1 5

<210> 177
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 177
Gly Ser Arg Gln Asp
1 5

<210> 178
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 178
Ser Arg Gly Val Asn
1 5

<210> 179
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 179
Gly Pro Asn Asp Phe
1 5

<210> 180
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 180
Gly Arg Gly Asp Tyr
1 5

<210> 181
<211> 5

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 181
Ala Ser Gly Ser Ser
 1   5

<210> 182
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 182
Ser Pro Gly Gly Arg
 1   5

<210> 183
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 183
Gly Phe Arg Gly Thr
 1   5

<210> 184
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 184
Arg Asp Arg Val Gly
 1   5

<210> 185
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = V 或 R 或 N 或 S 或 E 或 G

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = N 或 S 或 G 或 R

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = R 或 V 或 K 或 S 或 N 或 I 或 Y

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = V 或 N 或 I 或 R 或 S 或 T

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = R 或 K 或 I 或 N

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = G 或 I 或 R 或 K 或 S 或 A

<400> 185
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 186
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = A 或 R 或 M 或 V 或 G 或 S

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = N 或 T 或 S 或 A

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = R 或 N 或 H

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = V 或 R 或 K

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = K 或 V 或 I

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = R 或 K 或 A 或 N 或 S 或 V

<220>
<221> 變異體
<222> 7

<223> Xaa = T 或 G 或 R 或 K 或 P

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = S 或 G 或 R 或 A

<400> 186
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

<210> 187
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = R 或 A 或 Q

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = S 或 A

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = G 或 S 或 N 或 I

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = N 或 K

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = T 或 S 或 L 或 R

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = I 或 R 或 V

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = R 或 E 或 K

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = K 或 Q 或 A 或 R

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = R 或 G 或 Q

<220>
<221> 變異體

<222> 10
<223> Xaa = E 或 W 或 G 或 R

<400> 187
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5   10

<210> 188
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = G 或 S 或 N 或 Y 或 A 或 R

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = P 或 G 或 S 或 V 或 E 或 R 或 F 或 D

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = N 或 G 或 S 或 E 或 P 或 K 或 H 或 R

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = G 或 R 或 H 或 S 或 Q 或 V 或 D

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = F 或 D 或 N 或 R 或 G 或 Y 或 S 或 T

<400> 188
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

<210> 189
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 189
Gly Cys Arg Thr Asn Arg Val Lys Gly Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
            20   25   30

<210> 190
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 190
Gly Cys Val Asn Arg Val Arg Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Ser Gly Gly Arg Asp Cys Gly
            20   25

<210> 191
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 191
Gly Cys Met Asn His Val Lys Ala Arg Arg Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
            20   25   30

<210> 192
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 192
Gly Cys Arg Ser Val Asn Lys Ile Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Gly Ser Ser Arg Asn Cys Gly
            20   25

<210> 193
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 193
Gly Cys Val Asn Lys Ile Lys Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Gly Val Glu Gly Arg Cys Gly
            20   25

<210> 194
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 194
Gly Cys Arg Asn Ser Ile Lys Arg Cys Lys Gln Asn Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Ser Val Gly His Gly Cys Gly
            20   25

<210> 195
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 195
Gly Cys Val Ser Asn Arg Val Asn Lys Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
20 25 30

<210> 196
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 196
Gly Cys Arg Gly Asn Ile Ile Lys Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
1 5 10 15
Ala Gly Cys Val Cys Asn Glu Ser Arg Gly Cys Gly
20 25

<210> 197
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 197
Gly Cys Arg Ser Gly Asn Thr Ile Arg Lys Arg Glu Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Gly Pro Gly Gly Cys Gly
20 25 30

<210> 198
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 198
Gly Cys Ala Ser Ser Asn Ser Ile Arg Gln Gly Trp Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Lys Ser Asn Cys Gly
20 25 30

<210> 199
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 199
Gly Cys Arg Ser Asn Arg Ile Arg Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Tyr Gly His Gly Asp Cys Gly
            20   25

<210> 200
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 200
Gly Cys Arg Ser Asn Lys Leu Arg Glu Ala Arg Gly Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Ser Arg Gln Asp Cys Gly
            20   25   30

<210> 201
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 201
Gly Cys Val Asn Ser Val Lys Arg Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Ser Arg Gly Val Asn Cys Gly
            20   25

<210> 202
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 202
Gly Cys Gly Ser Asn Lys Ile Arg Pro Arg Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Asp Phe Cys Gly
            20   25   30

<210> 203
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 203
Gly Cys Asn Arg Ile Arg Asn Ser Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Gly Arg Gly Asp Tyr Cys Gly

20 25

<210> 204
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 204
Gly Cys Ser Arg Asn Ser Ile Lys Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
1 5 10 15
Ala Gly Cys Val Cys Ala Ser Gly Ser Ser Cys Gly
20 25

<210> 205
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 205
Gly Cys Ser Asn Tyr Val Lys Arg Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
1 5 10 15
Ala Gly Cys Val Cys Ser Pro Gly Gly Arg Cys Gly
20 25

<210> 206
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 206
Gly Cys Arg Ala Asn Arg Val Ser Gly Arg Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
20 25 30

<210> 207
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 207
Gly Cys Ser Asn Arg Val Lys Val Arg Ala Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
20 25 30

<210> 208
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 208
Gly Cys Glu Asn Arg Thr Lys Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Gly Phe Arg Gly Thr Cys Gly
            20   25

<210> 209
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 209
Gly Cys Gly Asn Lys Ile Arg Ala Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Arg Asp Arg Val Gly Cys Gly
            20   25

<210> 210
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 210
Gly Cys Ala Asn Arg Val Lys Arg Thr Ser Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
            20   25   30

<210> 211
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 211
Gly Glu Ser Leu Ser
 1   5

<210> 212
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = 3,4-二氟-L-苯基丙胺酸,
3,4-二氯-L-苯基丙胺酸, 4-氯-L-苯基丙胺酸,

3-F,4-Cl-L-苯基丙胺酸，2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸，
吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸，或 硫酪胺酸

<400> 212
Asn Ile Met Leu Pro Xaa Trp Gly
1 5

<210> 213
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = 1-萘基丙胺酸，2-萘基丙胺酸，或
2-氯吲哚

<400> 213
Asn Ile Met Leu Pro Phe Xaa Gly
1 5

<210> 214
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 214
Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly
1 5

<210> 215
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 215
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Gln Ser Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 216
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 30
<223> 甘胺酸可附加 C(=O)-環氧丙烷-3 基

<400> 216
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 217
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 217
Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu Cys
 1   5   10   15
Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys
            20   25

<210> 218
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 218
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 219
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = 1-萘基丙胺酸，或 2-萘基丙胺酸

<400> 219
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Xaa Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 220
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = 3-氟酪胺酸，或 4-氟苯基丙胺酸

<400> 220
Gln Tyr Xaa Gln Ser
1 5

<210> 221
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = PEG6-炔丙基甘胺酸

<400> 221
Xaa Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 222
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 222
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Met Asn Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 223
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 223
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Phe Tyr Glu Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 224
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 224
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 225
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 225
Glu Thr Asp Trp Tyr Pro His Gln Ile Asp
 1   5   10

<210> 226
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 226
Gly Glu Thr Val Phe Glu Gln Phe Leu Trp
 1   5   10

<210> 227
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 227
His Met Met Tyr Asp Tyr
 1   5

<210> 228
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 228
Lys Lys Trp Gln Trp Trp Tyr Met
 1   5

<210> 229
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 229
Pro Ala Ile Gln Asn Trp Lys Glu His Pro
 1   5   10

<210> 230
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 230
Gln Leu Met His Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 231
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 231
His Met Met Tyr Asp Tyr
 1   5

<210> 232
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = E 或 G 或 P 或 Q 或 R 或 T 或 V

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = T 或 E 或 A 或 D

<220>
<221> 變異體
<222> 3

<223> Xaa = D 或 T 或 I 或 P

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = W 或 V 或 Q 或 T 或 W

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = Y 或 F 或 N 或 E 或 P 或 K

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = P 或 E 或 W 或 N 或 P

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = H 或 Q 或 K 或 W 或 H

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = Q 或 F 或 E 或 A 或 D 或 W

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = I 或 L 或 H

<220>
<221> 變異體
<222> 10
<223> Xaa = D 或 W 或 P 或 Y 或 T 或 M 或 N

<400> 232
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5   10

<210> 233
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 233
Gly Pro Asn Gly Phe
 1   5

<210> 234
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 234
Gly Pro Asn Gly Phe
 1   5

<210> 235
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 235
Glu Met Tyr Asp Ala
 1   5

<210> 236
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 236
Tyr Pro Trp Thr Glu
 1   5

<210> 237
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 237
Ser Trp Trp Pro Ser Leu
 1   5

<210> 238
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 238
His Trp Tyr Arg Ser
 1   5

<210> 239
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 239
Gly Cys Glu Thr Asp Trp Tyr Pro His Gln Ile Asp Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
            20   25   30

<210> 240
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 240
Gly Cys Gly Glu Thr Val Phe Glu Gln Phe Leu Trp Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
            20   25   30

<210> 241
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 241
Gly Cys His Met Met Tyr Asp Tyr Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Glu Met Tyr Asp Ala Cys Gly
            20   25

<210> 242
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 242
Gly Cys Lys Lys Trp Gln Trp Trp Tyr Met Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Tyr Pro Trp Thr Glu Cys Gly
            20   25   30

<210> 243
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 243
Gly Cys Pro Ala Ile Gln Asn Trp Lys Glu His Pro Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Ser Trp Trp Pro Ser Leu Cys
            20   25   30
Gly

<210> 244
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 244
Gly Cys Gln Leu Met His Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Arg Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 245
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 245
His Leu Phe Glu Pro Leu Trp Gly
 1   5

<210> 246
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 246
Gln Val Met Arg Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 247
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 247
Gln Val Met Gln Pro Ala Trp Gly
 1   5

<210> 248
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 248
His Arg Leu Gln Pro Leu Trp Gly
 1   5

<210> 249
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 249
Glu Leu Leu Gln Pro Ser Trp Gly
 1   5

<210> 250
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 250
Asn Val Leu Leu Pro Leu Trp Gly
 1   5

<210> 251
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 251
Asp Leu Met Gln Pro Leu Trp Gly
 1   5

<210> 252
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 252
Asn Pro Met Leu Pro Leu Trp Gly
 1   5

<210> 253
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 253
Gln Val Leu Gln Pro Ser Trp Gly
 1   5

<210> 254
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 254
Gln Leu Leu Glu Pro Met Trp Gly
1 5

<210> 255
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 255
Lys Leu Leu Gln Pro Met Trp Gly
1 5

<210> 256
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 256
Asp Arg Met Gln Pro Tyr Trp Gly
1 5

<210> 257
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 257
Lys Ile Met Gln Pro Leu Trp Gly
1 5

<210> 258
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 258
Asn Leu Met His Pro Phe Trp Gly
1 5

<210> 259
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 259
Ala Leu Leu Gln Pro Leu Trp Gly
1 5

<210> 260
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 260
Arg Leu Leu Glu Pro Ser Trp Gly
1 5

<210> 261
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 261
His Leu Leu Leu Pro Leu Trp Gly
1 5

<210> 262
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 262
Gln Trp Tyr Lys Ser
1 5

<210> 263
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 263
Leu Trp Tyr Asp Ser
1 5

<210> 264
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 264
Gln Trp Tyr Gln Ser

1 5

<210> 265
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 265
Gly Cys His Leu Phe Glu Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 266
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 266
Gly Cys Gln Val Met Arg Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 267
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 267
Gly Cys Gln Val Met Gln Pro Ala Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 268
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 268
Gly Cys His Arg Leu Gln Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 269
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 269
Gly Cys Glu Leu Leu Gln Pro Ser Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 270
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 270
Gly Cys Asn Pro Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 271
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 271
Gly Cys Asn Val Leu Leu Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 272
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 272
Gly Cys Asp Ile Met Gln Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 273
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 273
Gly Cys Asp Leu Met Gln Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15

Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 274
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 274
Gln Met Phe Asn Ser
1 5

<210> 275
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 275
Gly Cys Gln Val Leu Gln Pro Ser Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 276
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 276
Gly Cys Gln Leu Met Gln Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 277
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 277
Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly
1 5

<210> 278
<211> 30

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 278
Gly Cys Gln Leu Met Gln Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr His Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 279
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 279
Gly Cys Gln Leu Leu Glu Pro Met Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 280
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 280
Gly Cys Lys Leu Leu Gln Pro Met Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 281
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 281
Gly Cys Asp Arg Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Trp Tyr Lys Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 282
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 282

Gly Cys Lys Ile Met Gln Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Leu Trp Tyr Asp Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 283
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 283
Gly Cys Asn Leu Met His Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 284
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 284
Gly Cys Ala Leu Leu Gln Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 285
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 285
Gly Cys Arg Leu Leu Glu Pro Ser Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 286
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 286
Gly Cys His Leu Leu Leu Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr His Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 287

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 287
Asp Asp Pro Ser Phe Asp Trp Ser Val Tyr
 1   5   10

<210> 288
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 288
Trp Asp Pro Thr Phe Asn Trp Ala Leu Tyr
 1   5   10

<210> 289
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 289
Gln Asp Pro Thr Leu Asn Trp Ala Thr Tyr
 1   5   10

<210> 290
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 290
Glu Asp Pro Thr Val Asp Trp Ala Gln Tyr
 1   5   10

<210> 291
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 291
Lys Asp Thr Thr Phe Asn Trp Gly Leu Phe
 1   5   10

<210> 292
<211> 5
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 292
Arg Met Tyr Asp Ser
 1   5

<210> 293
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 293
Gly Cys Asp Asp Pro Ser Phe Asp Trp Ser Val Tyr Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Met Tyr Asp Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 294
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 294
Gly Cys Trp Asp Pro Thr Phe Asn Trp Ala Leu Tyr Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Met Tyr Asp Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 295
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 295
Gly Cys Gln Asp Pro Thr Leu Asn Trp Ala Thr Tyr Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Met Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 296
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 296
Gly Cys Glu Asp Pro Thr Val Asp Trp Ala Gln Tyr Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Met Tyr Gln Ser Cys Gly

20 25 30

<210> 297
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 297
Gly Cys Lys Asp Thr Thr Phe Asn Trp Gly Leu Phe Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Leu Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 298
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 298
Gly Pro Glu Leu Asn
1 5

<210> 299
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 299
Gln Ala Asp Tyr Ala
1 5

<210> 300
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 300
Gly Val Asp Tyr Leu
1 5

<210> 301
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 301
Gly Thr Asn Phe Leu

1 5

<210> 302
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 302
Ser Arg Asp Phe Asp
1 5

<210> 303
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 303
Asn Arg Asp Phe Leu
1 5

<210> 304
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 304
Gly Trp Asp Gln Phe
1 5

<210> 305
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 305
Gly Lys Asp Phe His
1 5

<210> 306
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 306
Ser Gly Asp Phe Ala
1 5

<210> 307
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 307
Gly Lys Glu Leu Asn
1 5

<210> 308
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 308
Gly Trp Ser Met Asp
1 5

<210> 309
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 309
Gly Tyr Asp Leu Gln
1 5

<210> 310
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 310
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Pro Glu Leu Asn
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 311
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 311
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gln Ala Asp Tyr Ala
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly

20 25 30

<210> 312
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 312
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Val Asp Tyr Leu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 313
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 313
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Thr Asn Phe Leu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 314
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 314
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Ser Arg Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 315
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 315
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Asn Arg Asp Phe Leu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 316
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 316
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Trp Asp Gln Phe
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 317
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 317
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Lys Asp Phe His
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 318
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 318
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Ser Gly Asp Phe Ala
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 319
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 319
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Lys Glu Leu Asn
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 320
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 320
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Trp Ser Met Asp
1 5 10 15

Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 321
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 321
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Tyr Asp Leu Gln
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 322
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 322
Gly Arg Asp Leu Gln
1 5

<210> 323
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 323
Gly Val Asp Leu Ser
1 5

<210> 324
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 324
Gly Asp Asp Leu Glu
1 5

<210> 325
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 325

Gly Val Asp Met Thr
1 5

<210> 326
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 326
Gly Met Asp Ile Glu
1 5

<210> 327
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 327
Asp Gly Asp Tyr Gln
1 5

<210> 328
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 328
Gly Asn Asp Val Ser
1 5

<210> 329
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 329
Ala Gly Asp Glu Leu
1 5

<210> 330
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 330
Gly Leu Asp Glu Glu
1 5

<210> 331
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 331
Asp Gly Asp Phe Asp
1 5

<210> 332
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 332
Ala Gly Asp Phe Glu
1 5

<210> 333
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 333
Gly Asn Ser Phe Glu
1 5

<210> 334
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 334
Gly Gln Asp Leu Thr
1 5

<210> 335
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 335
Gly Glu Asn Leu Ala
1 5

<210> 336
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 336
Gly Gln Asp Tyr Asn
1 5

<210> 337
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 337
Gly Ala Asp Leu Ser
1 5

<210> 338
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 338
Gly Phe Asp Met Asp
1 5

<210> 339
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 339
Asp Leu Asn Tyr Glu
1 5

<210> 340
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 340
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Leu Gln
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 341
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 341
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Val Asp Leu Ser
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 342
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 342
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Asp Asp Leu Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 343
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 343
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Val Asp Met Thr
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 344
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 344
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Met Asp Ile Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 345
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 345
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Asp Gly Asp Tyr Gln
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 346
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 346
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Asn Asp Val Ser
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 347
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 347
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Ala Gly Asp Glu Leu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 348
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 348
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Leu Asp Glu Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 349
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 349
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Asp Gly Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 350
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 350
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Ala Gly Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 351
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 351
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Asn Ser Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 352
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 352
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Gln Asp Leu Thr
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 353
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 353
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Glu Asn Leu Ala
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 354
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 354
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Gln Asp Tyr Asn
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 355
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 355
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Ala Asp Leu Ser
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 356
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 356
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Phe Asp Met Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 357
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 357
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Asp Leu Asn Tyr Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 358
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Q 或 H 或 E 或 N 或 D

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = L 或 V 或 R 或 P 或 I

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = M 或 F 或 L

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Q 或 E 或 R 或 L

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = F 或 A 或 L 或 S

<400> 358
Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Trp Gly
1 5

<210> 359
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = R 或 H

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = N 或 Q 或 H

<400> 359
Xaa Trp Tyr Xaa Ser
1 5

<210> 360
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = H 或 L 或 R 或 Q

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = W 或 F 或 Y

<220>

<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Q 或 N 或 K 或 H 或 D 或 E

<400> 360
Xaa Xaa Tyr Xaa Ser
 1   5

<210> 361
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = 乙醯甘胺酸

<400> 361
Xaa Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 362
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = 硫化酪胺酸, 3,4-二氟-L-苯基丙胺酸,
3,4-二氯-L-苯基丙胺酸, 4-氯-L-苯基丙胺酸,
3-F,4-Cl-L-苯基丙胺酸, 2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸,
或吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸

<400> 362
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Xaa Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 363
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 363
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Ser Asp Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 364
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 364
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Met Ser Asp Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 365
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 365
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Met Ser Asp Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 366
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 366
Gly Cys Gln Ala Ile Asn Arg Val Lys Arg Gln Arg Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
20 25 30

<210> 367
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 367
Gln Ala Ile Asn Arg Val Lys Arg Gln Arg
1 5 10

<210> 368
<211> 8
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 368
Asn Pro Met Leu Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 369
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 369
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Pro Leu
            20   25   30
Ile

<210> 370
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 370
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Asn Tyr
            20   25   30
Gln

<210> 371
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 371
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Pro Leu
            20   25   30
Gln

<210> 372
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 372
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Thr Phe
20 25 30
Gln

<210> 373
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 373
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Asp Leu
20 25 30
Val

<210> 374
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 374
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Glu His
20 25 30
Lys

<210> 375
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 375
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Tyr Leu
20 25 30
Ser

<210> 376
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 376
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Trp Asp
20 25 30
Tyr

<210> 377
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 377
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Trp Pro
20 25 30
His

<210> 378
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 378
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Pro His
20 25 30
Gln

<210> 379
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 379
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Phe His
20 25 30

<210> 380
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 380
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Ile Ala
20 25 30

<210> 381
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 381
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Gly Ser
20 25 30

<210> 382
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 382
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Thr Arg
20 25 30

<210> 383
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 383
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Val His
20 25 30

<210> 384
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 384
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Leu Ser
20 25 30

<210> 385
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 385
Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly
1 5

<210> 386
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 386
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 387
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 387
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Arg Thr
20 25 30

<210> 388
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 388
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Trp Lys
20 25 30

<210> 389
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 389
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Pro Leu
20 25 30

<210> 390
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 390
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Asp Glu
20 25 30

<210> 391
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 391
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gln Phe
20 25 30

<210> 392
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 392
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Glu Gln
20 25 30

<210> 393
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 393
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Pro Thr
20 25 30

<210> 394
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 394
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Arg Leu
            20   25   30

<210> 395
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 395
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Ser Leu
            20   25   30

<210> 396
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 396
Asn Ile Leu Leu Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 397
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 397
Asn Ile Leu Leu Pro Tyr Trp Gly
 1   5

<210> 398
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 398
Asn Ile Met Ser Pro Phe Trp Gly

1 5

<210> 399
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 399
Asn Ile Met Thr Pro Phe Trp Gly
1 5

<210> 400
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 400
Asn Ile Met Gln Pro Phe Trp Gly
1 5

<210> 401
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 401
Asn Ile Met Asn Pro Phe Trp Gly
1 5

<210> 402
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 402
Asn Ile Met Glu Pro Phe Trp Gly
1 5

<210> 403
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 403
Asn Ile Met Asp Pro Phe Trp Gly
1 5

<210> 404
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 苄基-L-脯胺酸，4-氟-苄基-L-脯胺酸，
3-OH-L-脯胺酸，3-氟-L-脯胺酸，或
三氟甲基-苄基-L-脯胺酸

<400> 404
Asn Ile Met Leu Xaa Phe Trp Gly
 1   5

<210> 405
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 405
Gly Cys Asn Ile Leu Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 406
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 406
Gly Cys Asn Ile Leu Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 407
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 407
Gly Cys Asn Ile Met Ser Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 408

<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 408
Gly Cys Asn Ile Met Thr Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 409
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 409
Gly Cys Asn Ile Met Gln Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 410
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 410
Gly Cys Asn Ile Met Asn Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 411
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 411
Gly Cys Asn Ile Met Glu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 412
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 412
Gly Cys Asn Ile Met Asp Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 413
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = 苄基-L-脯胺酸, 4-氟-苄基-L-脯胺酸,
3-OH-L-脯胺酸, 3-氟-L-脯胺酸, 或 三氟甲基-苄基-L-脯胺酸

<400> 413
Gly Cys Asn Ile Met Leu Xaa Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 414
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 414
Asn Ile Met Leu Pro Ser Trp Gly
 1   5

<210> 415
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 415
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Ser Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 416
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 7

<223> Xaa = N-甲基吲哚, N-乙基吲哚,
N-異丙基吲哚, 或 5-氮雜-吲哚

<400> 416
Asn Ile Met Leu Pro Tyr Xaa Gly
1 5

<210> 417
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = N-甲基吲哚, N-乙基吲哚, N-異丙基吲哚,
或 5-氮雜-吲哚

<400> 417
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Xaa Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 418
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = 4-甲基 l-L-苯基丙胺酸, 2-萘基-L-丙胺酸,
2-喹啉基-丙胺酸, 4-二苯基-L-丙胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = 3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸, 3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸,
3-(2-喹噁啉基)-L-丙胺酸, 4-甲基 l-2-吡啶基-丙胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = 4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸, 苯并噻唑-L-丙胺酸, 或
苯并噻吩-L-丙胺酸, 3-異喹啉基-L-丙胺酸

<400> 418
Gly Arg Asp Xaa Glu
1 5

<210> 419
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 15
<223> Xaa = 4-甲基 1-L-苯基丙胺酸, 2-萘基-L-丙胺酸,
2-喹啉基-丙胺酸, 4-二苯基-L-丙胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 15
<223> Xaa = 3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸, 3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸,
3-(2-喹噁啉基)-L-丙胺酸, 4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 15
<223> Xaa = 4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸, 苯并噻唑-L-丙胺酸,
苯并噻吩-L-丙胺酸, 或 3-異喹啉基-L-丙胺酸

<400> 419
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Xaa Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 420
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 18
<223> Xaa = t-丁基-L-丙胺酸, 環丁基-L-丙胺酸,
環戊基-L-丙胺酸, 或 5,5,5-三氟-L-白胺酸

<400> 420
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Xaa Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 421
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 421
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 422
<211> 30
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 422
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Thr Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 423
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 423
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Glu Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 424
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 424
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Leu Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 425
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 425
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 426
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體

<222> 22
<223> Xaa = t-丁基-L-甘胺酸（亦名L-第三-白胺酸），
t-丁基-L-丙胺酸，L-環戊基甘胺酸，環戊基-L-丙胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 22
<223> Xaa = L-環丁基1-L-甘胺酸，環丁基1-L-丙胺酸，或
5,5,5-三氟-L-白胺酸

<400> 426
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Xaa Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 427
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = 2-吡啶酮，3,4-羥基苯基丙胺酸，
3,4-氟苯基丙胺酸，或 3-氟,4-OH 苯基丙胺酸

<400> 427
Gln Xaa Tyr Gln Ser
 1   5

<210> 428
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 25
<223> Xaa = 2-吡啶酮，3,4-羥基苯基丙胺酸，
3,4-氟苯基丙胺酸，或 3-氟,4-OH 苯基丙胺酸

<400> 428
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Xaa Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 429
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體

<222> 3
<223> Xaa = 2-氯酪胺酸, 2-甲基酪胺酸,
2-乙基酪胺酸, 或 1-萘酚丙胺酸

<400> 429
Gln Tyr Xaa Gln Ser
1 5

<210> 430
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 26
<223> Xaa = 2-氯酪胺酸, 2-甲基酪胺酸,
2-乙基酪胺酸, 或 1-萘酚丙胺酸

<400> 430
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Xaa Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 431
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 431
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Ser
20 25 30

<210> 432
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 30
<223> Xaa = D-絲胺酸, L-beta-高絲胺酸, L-beta-丙胺酸,
N-alpha-甲基甘胺酸, 甘胺醯胺, 丙三醇甘胺酸酯

<220>
<221> 變異體
<222> 30
<223> Xaa = 丙三醇甘胺酸酯,
環氧丙烷-3-基醇甘胺酸酯, 甘胺酸嗎啉醯胺

<400> 432
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu

```
 1               5                  10                  15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Xaa
            20                  25                  30


<210> 433
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 433
Asn Ile Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly
 1               5


<210> 434
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 434
Asn Ile Leu Gln Pro Tyr Trp Gly
 1               5


<210> 435
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 435
Gly Cys Asn Ile Leu Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1               5                  10                  15
Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20                  25                  30


<210> 436
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 436
Gly Cys Asn Ile Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1               5                  10                  15
```

Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 437
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 18
<223> Xaa = 正白胺酸 或環丁基-L-丙胺酸

<400> 437
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Xaa Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 438
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 438
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 439
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 18
<223> Xaa = 環丁基-L-丙胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 22
<223> Xaa = 環丁基-L-甘胺酸, 環丁基-L-丙胺酸
或 正白胺酸

<400> 439
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Xaa Glu Gln Cys Xaa Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 440
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 18
<223> Xaa = 環丁基-L-丙胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 22
<223> Xaa = 環丁基-L-甘胺酸 或 環丁基-L-丙胺酸

<400> 440
Gly Cys Asn Ile Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Xaa Glu Gln Cys Xaa Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 441
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 18
<223> Xaa = 環丁基-L-丙胺酸 或 t-丁基-L-丙胺酸

<400> 441
Gly Cys Asn Ile Leu Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Xaa Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 442
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 22
<223> Xaa = 環丁基-L-甘胺酸 或 環丁基-L-丙胺酸

<400> 442
Gly Cys Asn Ile Leu Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Met Glu Gln Cys Xaa Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 443
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = 乙醯甘胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 30
<223> Xaa = 甘胺醯胺

<400> 443
Xaa Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Xaa
20 25 30

<210> 444
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = 乙醯甘胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 30
<223> Xaa = 甘胺醯胺

<400> 444
Xaa Cys Asn Ile Leu Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15

Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Xaa
20 25 30

<210> 445
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = 乙醯甘胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 30
<223> Xaa = 甘胺醯胺

<400> 445
Xaa Cys Asn Ile Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Xaa
20 25 30

<210> 446
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = 乙醯甘胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 30
<223> Xaa = 甘胺醯胺

<400> 446
Xaa Cys Asn Ile Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Xaa
20 25 30

<210> 447
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 18
<223> Xaa = 環丁基-L-丙胺酸 或 t-丁基-L-丙胺酸

<400> 447
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Xaa Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 448
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 22
<223> Xaa = 環丁基-L-甘胺酸

<400> 448
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ser Asn Cys Xaa Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 449
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 18
<223> Xaa = 環丁基-L-丙胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 22
<223> Xaa = 環丁基-L-甘胺酸 或 環丁基-L-丙胺酸

<400> 449
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Xaa Ser Asn Cys Xaa Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 450
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體

<222> 18
<223> Xaa = 環丁基-L-丙胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 22
<223> Xaa = 環丁基-L-甘胺酸 或 環丁基-L-丙胺酸

<400> 450
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Xaa Ser Asn Cys Xaa Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 451
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = 乙醯甘胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 18
<223> Xaa = 環丁基-L-丙胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 22
<223> Xaa = 環丁基-L-甘胺酸 或 環丁基-L-丙胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 30
<223> Xaa = 甘胺醯胺

<400> 451
Xaa Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Xaa Ser Asn Cys Xaa Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Xaa
            20   25   30

<210> 452
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = 乙醯甘胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 30
<223> Xaa = 甘胺醯胺

<400> 452
Xaa Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Xaa
            20   25   30

<210> 453
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = 乙醯甘胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 30
<223> Xaa = 甘胺醯胺

<400> 453
Xaa Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Xaa
            20   25   30

<210> 454
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = M 或 L

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = L 或 S 或 T 或 Q 或 N 或 E 或 D

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = F 或 Y 或 S

<400> 454
Asn Ile Xaa Xaa Pro Xaa Trp Gly
 1   5

<210> 455

<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 455
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Phe His
            20   25   30

<210> 456
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 456
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Ser Leu
            20   25   30

<210> 457
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 457
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Gly Glu
            20   25   30

<210> 458
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 458
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Val Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Ser Ile
            20   25   30

<210> 459
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 459
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Gly Arg
20 25 30

<210> 460
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 460
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Arg Pro
20 25 30

<210> 461
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 461
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Gln Tyr
20 25 30

<210> 462
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 462
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Glu Asn
20 25 30

<210> 463
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 463
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Asp Thr
20 25 30

<210> 464
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 464
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Gln His
20 25 30

<210> 465
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 465
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Gln Asn
20 25 30

<210> 466
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 466
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Glu Glu
20 25 30

<210> 467
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 467
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Asp Asp
20 25 30

<210> 468
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 468
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Asp Gly
20 25 30

<210> 469
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 469
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Leu Glu
20 25 30

<210> 470
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 470
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Thr Asp
20 25 30

<210> 471
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 471
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Ser Glu
20 25 30

<210> 472
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 472
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Pro Glu
20 25 30

<210> 473
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 473
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Thr Asn
20 25 30

<210> 474
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 474
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Pro His
20 25 30

<210> 475
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 475
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Met Asp
20 25 30

<210> 476
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 476
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Ser Asp
20 25 30

<210> 477
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 477
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Gln Ser Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Ile Ala
20 25 30

<210> 478
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 478
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Gln Ser Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Gly Ser
20 25 30

<210> 479
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 479
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Gln Ser Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Thr Arg
20 25 30

<210> 480
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 480
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Gln Ser Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Val His
20 25 30

<210> 481
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 481
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Pro Ser
20 25 30

<210> 482
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 482
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Phe Ser
20 25 30

<210> 483
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 483
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gly Lys
20 25 30

<210> 484
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 484
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Tyr Leu
20 25 30

<210> 485
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 485
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Asp Leu
20 25 30

<210> 486
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 486
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Glu Lys
20 25 30

<210> 487
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 487
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Thr Asp
20 25 30

<210> 488
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 488
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gln Val
20 25 30

<210> 489
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 489
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Arg Leu
20 25 30

<210> 490
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 490
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Tyr Ala

20 25 30

<210> 491
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 491
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Ala Ser
20 25 30

<210> 492
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 492
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Ser Arg
20 25 30

<210> 493
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 493
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Pro Thr
20 25 30

<210> 494
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 494
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Trp Asp
20 25 30

<210> 495
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 495
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Ser Met
20 25 30

<210> 496
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 496
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Thr Arg
20 25 30

<210> 497
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 497
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Glu Asn
20 25 30

<210> 498
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 498
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Asn Asn
20 25 30

<210> 499
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 499
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15

Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Pro Glu
20 25 30

<210> 500
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 500
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gly Ile
20 25 30

<210> 501
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 501
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Val Glu
20 25 30

<210> 502
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 502
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Pro Leu
20 25 30

<210> 503
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 503
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Pro Leu
20 25 30

<210> 504
<211> 32
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 504
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Arg Pro
20 25 30

<210> 505
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 505
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Asn Asp
20 25 30

<210> 506
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 506
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Leu Gln
20 25 30

<210> 507
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 507
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Asp Glu
20 25 30

<210> 508
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 508
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp

```
 1               5                  10                  15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Arg Thr
            20                  25                  30
```

<210> 509
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 509

```
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Ile Asp Phe Asp
 1               5                  10                  15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gln Val
            20                  25                  30
```

<210> 510
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 510

```
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1               5                  10                  15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gly Ile
            20                  25                  30
```

<210> 511
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 511

```
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1               5                  10                  15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Tyr Met
            20                  25                  30
```

<210> 512
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 512

```
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1               5                  10                  15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gly Gln
            20                  25                  30
```

<210> 513
<211> 32

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 513
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Thr Pro
            20   25   30

<210> 514
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 514
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Val Asn
            20   25   30

<210> 515
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 515
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Phe Asn
            20   25   30

<210> 516
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 516
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Glu Pro
            20   25   30

<210> 517
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 517

Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Asn Ser
20 25 30

<210> 518
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 518
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Ser Thr
20 25 30

<210> 519
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 519
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Arg Tyr
20 25 30

<210> 520
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 520
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Phe Ser
20 25 30

<210> 521
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 521
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gln Val
20 25 30

<210> 522

<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 522
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Tyr Ala
            20   25   30

<210> 523
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 523
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Ser Arg
            20   25   30

<210> 524
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 524
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Pro Thr
            20   25   30

<210> 525
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 525
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Ser Met
            20   25   30

<210> 526
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 526
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gly Ile
20 25 30

<210> 527
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 527
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Thr Ser
20 25 30

<210> 528
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 528
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Leu Gln
20 25 30

<210> 529
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 529
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Val Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Asp Glu
20 25 30

<210> 530
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 530
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Asp Leu
20 25 30

<210> 531
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 531
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gln Phe
20 25 30

<210> 532
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 532
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Trp Lys
20 25 30

<210> 533
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 533
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Gln Ser Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Leu Ser
20 25 30

<210> 534
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 16
<223> Xaa = D 或 E

<220>
<221> 變異體
<222> 20
<223> Xaa = N, K, 或鳥胺酸

<400> 534
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Xaa
1 5 10 15
Cys Leu Ser Xaa Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 535
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 16
<223> Xaa = N, K, 或鳥胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 20
<223> Xaa = D 或 E

<400> 535
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Xaa
1 5 10 15
Cys Leu Ser Xaa Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 536
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 536
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ser Lys Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 537
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>

<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 20
<223> Xaa = 鳥胺酸

<400> 537
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Xaa Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 538
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 16
<223> Xaa = D 或 E

<220>
<221> 變異體
<222> 20
<223> Xaa = N, K, 或鳥胺酸

<400> 538
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
 1   5   10   15
Cys Met Glu Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 539
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 16
<223> Xaa = N 或 K 或鳥胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 20

<223> Xaa = D 或 E

<400> 539
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
 1   5   10   15
Cys Met Glu Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 540
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 16
<223> Xaa = D 或 E

<220>
<221> 變異體
<222> 20
<223> Xaa = N 或 K 或鳥胺酸

<400> 540
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
 1   5   10   15
Cys Val Ser Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 541
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 16
<223> Xaa = N 或 K 或鳥胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 20
<223> Xaa = D 或 E

<400> 541
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
 1   5   10   15
Cys Val Ser Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 542
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 542
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Lys Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 543
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 543
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Met Glu Lys Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 544
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 20
<223> Xaa = 鳥胺酸

<400> 544
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Met Glu Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 545
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 545
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Val Ser Lys Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 546
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 20
<223> Xaa = 鳥胺酸

<400> 546
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Val Ser Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 547
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 547
Gly Cys Asn Ile Leu Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Val Ser Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 548
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 548
Gly Cys Asn Ile Leu Gln Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Val Ser Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly

20 25 30

<210> 549
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 20
<223> Xaa = D 或 E

<400> 549
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Lys
1 5 10 15
Cys Leu Ser Xaa Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 550
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 550
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Lys
1 5 10 15
Cys Leu Ser Asp Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 551
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 551
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Lys
1 5 10 15
Cys Leu Ser Glu Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 552
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 16
<223> Xaa = 鳥胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 20
<223> Xaa = D 或 E

<400> 552
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Xaa
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Xaa Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 553
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 16
<223> Xaa = 鳥胺酸

<400> 553
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Xaa
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Asp Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 554
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5

<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 16
<223> Xaa = 鳥胺酸

<400> 554
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Xaa
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Glu Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 555
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 20
<223> Xaa = D 或 E

<400> 555
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Lys
 1   5   10   15
Cys Met Glu Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 556
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 556
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Lys
 1   5   10   15
Cys Met Glu Asp Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 557
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 557
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Lys
 1   5   10   15
Cys Met Glu Glu Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 558
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 16
<223> Xaa = 鳥胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 20
<223> Xaa = D 或 E

<400> 558
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
 1   5   10   15
Cys Met Glu Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 559
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 16
<223> Xaa = 鳥胺酸

<400> 559
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
 1   5   10   15
Cys Met Glu Asp Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 560
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5, 16
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 16
<223> Xaa = 鳥胺酸

<400> 560
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
1 5 10 15
Cys Met Glu Glu Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 561
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 20
<223> Xaa = D 或 E

<400> 561
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Lys
1 5 10 15
Cys Val Ser Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 562
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 562
Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Lys Cys
1 5 10 15

Val Ser Asp Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25

<210> 563
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = 正白胺酸

<400> 563
Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Lys Cys
1 5 10 15
Val Ser Glu Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25

<210> 564
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 16
<223> Xaa = 鳥胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 20
<223> Xaa = D 或 E

<400> 564
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
1 5 10 15
Cys Val Ser Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 565
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 16
<223> Xaa = 鳥胺酸

<400> 565
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
 1   5   10   15
Cys Val Ser Asp Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 566
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 正白胺酸

<220>
<221> 變異體
<222> 516
<223> Xaa = 鳥胺酸

<400> 566
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
 1   5   10   15
Cys Val Ser Glu Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 567
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 567
Arg Trp Tyr Glu Ser
 1   5

<210> 568
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> 變異體
<222> 20
<223> Xaa = 鳥胺酸

<400> 568
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Xaa Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly

201717993

發明摘要

※ 申請案號： 105130077

※ 申請日： 105/09/14 ※IPC 分類： ***A61K 38/16*** (2006.01)
A61K 47/42 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

胱胺酸結骨架平臺

CYSTINE KNOT SCAFFOLD PLATFORM

【中文】

本發明提供可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)。另外，提供使用可結合 VEGF-A 之非天然存在之 CKP 的方法，包括診斷性及治療性組合物及方法。亦提供可結合低密度脂蛋白受體相關蛋白 6 (LRP6)之非天然 CKP。

【英文】

Provided are non-naturally occurring cystine knot peptides (CKPs) that bind to VEGF-A. Additionally, provided are methods of using non-naturally occurring CKPs that bind to VEGF-A, including diagnostic and therapeutic compositions and methods. Non-naturally CKPs that bind low density lipoprotein receptor-related protein 6 (LRP6) are also provided.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（5）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

申請專利範圍

1. 一種可結合血管內皮生長因子 A (VEGF-A)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)，其中該 CKP 包含胱胺酸骨架結構：

$$Z_1C_1L1C_2L2C_3L3C_4L4C_5L5C_6Z_2，$$

其中：

Z_1及 Z_2為任何胺基酸；

L1 為環 1 且具有選自由以下各項組成之群的結構：$X_1X_2X_3X_4X_5X_6$ (SEQ ID NO: 2)、$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ (SEQ ID NO: 3)、$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 4)、$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$ (SEQ ID NO: 5)及 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$ (SEQ ID NO: 6)，其中 X_1至 X_{10}各自為任何胺基酸；

L2 為環 2 且具有結構：$X_1X_2X_3X_4X_5$ (SEQ ID NO: 7)，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基酸或非天然胺基酸；

L3 為環 3 且具有結構：$X_1X_2X_3$，其中 X_1至 X_3各自為任何胺基酸或非天然胺基酸；

L4 為環 4 且具有結構：X_1，其中 X_1為任何胺基酸或非天然胺基酸；

L5 為環 5 且具有結構：$X_1X_2X_3X_4X_5$ (SEQ ID NO: 7)，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基酸或非天然胺基酸；

其中該非天然胺基酸選自由以下各項組成之群：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺

酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺；

其中該 CKP 以 500 pM 或更佳之親和力結合 VEGF-A。

2. 如申請專利範圍第 1 項之 CKP，其中參考具有 SEQ ID NO: 1 中所闡述之胺基酸序列的野生型噴瓜胰蛋白酶抑制劑 EETI-II 蛋白，該 CKP 具有經改變之二硫鍵連接；其中該經改變之二硫鍵連接為 C1-C4、C2-C3 及 C5-C6。

3. 如申請專利範圍第 1 項或第 2 項之 CKP，其中 Z_1及/或 Z_2為 G。

4. 如申請專利範圍第 1 項至第 3 項中任一項之 CKP，其中在 L1 中：

X_3不為 I；

X_5不為 M；及/或

X_6不為 R。

5. 如申請專利範圍第 1 項至第 5 項中任一項之 CKP，其中在 L1 中：

X_1為選自 P、Q、R、T、V、D、N、K、L 及 X 之胺基酸；

X_2為選自 T、D、L、V、I、R、P、N 及 X 之胺基酸；

X_3為選自 T、P、M、L、S、F、R 及 X 之胺基酸；

X_4為選自 R、T、Q、D、W、L、E、S、K 及 X 之胺基酸；

X_5為選自 F、P、V、E、K、L、I 及 X 之胺基酸；

X_6為選自 K、N、F、P、L、Y、T、D、M 及 X 之胺基酸；

X_7為選自 Q、W、H 及/X 之胺基酸；及/或

X_8為選自 Y、A、G、D、E、W、S 及 X 之胺基酸，

其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、

4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。

6. 如申請專利範圍第 5 項之 CKP，其中在 L1 中：

X_9為選自 L、I、V、D、E 及 X 之胺基酸，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-

白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。

7. 如申請專利範圍第 5 項或第 6 項之 CKP，其中在 L1 中：

X_{10}為選自 Y、T、M、N、F 及 X 之胺基酸，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。

8. 如申請專利範圍第 1 項至第 7 項中任一項之 CKP，其中在 L5 中，X_1至X_5各自為任何胺基酸，但X_2不為脯胺酸(P)。

9. 如申請專利範圍第 1 項至第 7 項中任一項之 CKP，其中在 L5 中，X_1

至 X_5各自為任何胺基酸，但 X_4不為甘胺酸(G)。

10. 如申請專利範圍第 1 項至第 7 項中任一項之 CKP，其中在 L5 中：

X_1為選自 G、Q、H、R、L 及 Q 之胺基酸；

X_2為選自 P、M、W、Y、F、L 及 H 之胺基酸；

X_3為選自 N、F、H 及 Y 之胺基酸；

X_4為選自 G、Q、D、N、K、H、E 及 S 之胺基酸；及/或

X_5為選自 F、S 及 T 之胺基酸。

11. 如申請專利範圍第 1 項至第 5 項中任一項之 CKP，其中 L1 具有結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 4)，且其中：

X_1為選自 P、Q 及 R 之胺基酸；

X_2為選自 T、L 及 D 之胺基酸；

X_3為選自 T、M 及 L 之胺基酸；

X_4為選自 R、Q 及 D 之胺基酸；

X_5為選自 F、P 及 V 之胺基酸；

X_6為選自 K 及 F 之胺基酸；

X_7為選自 Q 及 W 之胺基酸；且

X_8為選自 Y、G 及 D 之胺基酸。

12. 如申請專利範圍第 1 項至第 7 項中任一項之 CKP，其中 L1 具有結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$ (SEQ ID NO: 6)，且其中：

X_1為選自 Q、R、T 及 V 之胺基酸；

X_2為選自 T 及 D 之胺基酸；

X_3為 P；

X_4為選自 T 及 W 之胺基酸；

X_5為選自 F、E、P 及 K 之胺基酸；

X_6為選自 N 及 P 之胺基酸；

X_7為選自 W 及 H 之胺基酸；且

X_8為選自 A、D、E 及 W 之胺基酸；

X_9為選自 L 及 I 之胺基酸；且

X_{10}為選自 Y、T、M 及 N 之胺基酸。

13. 如申請專利範圍第 11 項或第 12 項之 CKP，其中在 L5 中：

X_1為選自 G、H 及 Q 之胺基酸；

X_2為選自 P、M、W 及 Y 之胺基酸；

X_3為選自 N 及 Y 之胺基酸；

X_4為選自 G、Q 及 S 之胺基酸；且

X_5為選自 F 及 S 之胺基酸。

14. 如申請專利範圍第 1 項至第 5 項中任一項之 CKP，其中 L1 具有結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 4)，且其中：

X_1為選自 D、Q、N 及 K 之胺基酸；

X_2為選自 V、I、R、L 及 P 之胺基酸；

X_3為選自 L、S、M、T 及 F 之胺基酸；

X_4為選自 Q、L 及 E 之胺基酸；

X_5為 P；

X_6為選自 F、L 及 Y 之胺基酸；

X_7為 W；且

X_8為 G。

15. 如申請專利範圍第 14 項之 CKP，其中在 L5 中：

X_3為 Y；

X_5為 S；且

其中 X_1、X_2及 X_4各自為任何胺基酸，但 X_1不為 G，X_2不為 P，X_4不為 G，及/或 X_5不為 F。

16. 如申請專利範圍第 14 項或第 15 項之 CKP，其中在 L5 中：

X_1為選自 H、L、R 及 Q 之胺基酸；

X_2為選自 W、F 及 Y 之胺基酸；

X_3為 Y；

X_4為選自 Q、N、K、H 及 E 之胺基酸；且

X_5為 S。

17. 如申請專利範圍第 1 項至第 7 項中任一項之 CKP，其中 L1 具有結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$ (SEQ ID NO: 6)，且其中：

X_1為選自 K、Q、L 及 R 之胺基酸；

X_2為選自 N 及 D 之胺基酸；

X_3為選自 P 及 L 之胺基酸；

X_4為選自 L、T、S 及 K 之胺基酸；

X_5為選自 F、V、I 及 L 之胺基酸；

X_6為選自 N 及 D 之胺基酸；

X_7為 W；

X_8為選自 A 及 S 之胺基酸；

X_9為選自 L、V、E 及 D 之胺基酸；且

X_{10}為選自 Y 及 F 之胺基酸。

18. 如申請專利範圍第 17 項之 CKP，其中在 L5 中：

X_1為 Q；

X_2為選自 L、F、M 及 H 之胺基酸；

X_3為選自 F、Y 及 H 之胺基酸；

X_4為選自 D、Q、N 及 K 之胺基酸；且

X_5為選自 S 及 T 之胺基酸。

19. 如申請專利範圍第 1 項至第 16 項中任一項之 CKP，其中在 L2 中，X_1為 K，X_2為 Q，X_3為 D，X_4為 S，且 X_5為 D。

20. 如申請專利範圍第 1 項至第 4 項中任一項之 CKP，其中 L1 具有結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 4)，且其中：

X_5為 P；

X_7為 W；

X_8為 G；且

其中 X_1、X_2、X_3、X_4及 X_6各自為任何胺基酸，但 X1 不為 P，X_2不為 R，X_3不為 I，及/或 X_6不為 R。

21. 如申請專利範圍第 1 項至第 5 項及第 18 項中任一項之 CKP，其中 L1 具有結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 4)，且其中：

X_1為選自 N 及 D 之胺基酸；

X_2為選自 I 及 V 之胺基酸；

X_3為選自 M 及 L 之胺基酸；

X_4為選自 L、Q、D 及 K 之胺基酸；

X_5為 P；

X_6為選自 F、Y、T、L 及 M 之胺基酸；

X_7為 W；且

X_8為 G。

22. 如申請專利範圍第14項至第15項及第20項至第21項中任一項之CKP，其中在 L5 中：

X_1為選自 Q、H、L 及 R 之胺基酸；

X_2為選自 Y 及 W 之胺基酸；

X_3為 Y；

X_4為選自 Q 及 N 之胺基酸；且

X_5為 S。

23. 如申請專利範圍第 14 項至第 15 項及第 20 項至第 22 項之 CKP，其中在 L5 中：

X_3為 Y；

X_5為 S；且

其中 X_1、X_2及 X_4各自為任何胺基酸，但：

X_1不為 G，X_2不為 P，及/或 X_4不為 G。

24. 如申請專利範圍第 20 項至第 23 項之 CKP，其中在 L2 中：

X_1為選自 G 或 E 之胺基酸；

X_2為選自 Q、L、P、R、E 及 M 之胺基酸；

X_3為選自 S、D 及 N 之胺基酸；

X_4為選自 F、Y、L、M 及 I 之胺基酸；及/或

X_5為選自 E、D、Q、L 及 S 之胺基酸。

25. 如申請專利範圍第 1 項至第 22 項中任一項之 CKP，其中在 L3 中，X_1為 L，X_2為 A，且 X_3為 G。

26. 如申請專利範圍第 1 項至第 23 項中任一項之 CKP，其中在 L4 中，X1為 V 或 F。

27. 如申請專利範圍第 1 項至第 7 項、第 11 項至第 12 項、第 14 項、第 17 項、第 19 項至第 21 項及第 24 項至第 26 項中任一項之 CKP，其中在 L5 中，X_1至 X_5各自為任何胺基酸，但 X_2不為脯胺酸(P)。

28. 如申請專利範圍第 1 項至第 7 項、第 11 項至第 12 項、第 14 項、第

17 項、第 19 項至第 21 項及第 24 項至第 26 項中任一項之 CKP，其中在 L5 中，X_1至 X_5各自為任何胺基酸，但 X_4不為甘胺酸(G)。

29. 如申請專利範圍第 1 項至第 7 項、第 11 項至第 12 項、第 14 項、第 17 項、第 19 項至第 21 項及第 24 項至第 28 項中任一項之 CKP，其中在 L5 中：

X_1為除 G 以外之任何胺基酸；

X_2為除 P 以外之任何胺基酸；

X_3為除 N 以外之任何胺基酸；

X_4為除 G 以外之任何胺基酸；及/或

X_5為除 F 以外之任何胺基酸。

30. 如申請專利範圍第 1 項至第 5 項中任一項之 CKP，其中 L1 具有結構 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 4)，且其中：

X_1為選自 N、D 及 X 之胺基酸；

X_2為選自 I、V 及 X 之胺基酸；

X_3為 M 或 X；

X_4為選自 L、Q 及 X 之胺基酸；

X_5為 P 或 X；

X_6為 F、Y 或 X；

X_7為 W 或 X；且

X_8為 G 或 X，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基

-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。

31. 如申請專利範圍第 28 項之 CKP，其中在 L3 中，X_1至 X_3各自為任何胺基酸或非天然胺基酸，但 X_1不為白胺酸(L)，X_2不為丙胺酸(A)，且 X_3不為甘胺酸(G)，其中該非天然胺基酸選自由以下各項組成之群：PEG$_6$-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸

嗎啉醯胺。

32. 如申請專利範圍第 28 項或第 29 項之 CKP，其中在 L3 中：

X_1為選自 M、F、L、V 及 X 之胺基酸；

X_2為選自 S、N、Q、I、Y、E、V、T 及 X 之胺基酸；

X_3為選自 D、Q、T、N、E、R 及 X 之胺基酸，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。

33. 如申請專利範圍第 28 項至第 30 項中任一項之 CKP，其中在 L4 中，X_1為除 V 以外之任何胺基酸或選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺

酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。

34. 如申請專利範圍第 28 項至第 31 項中任一項之 CKP，其中在 L4 中，X_1 為 I、L 或 X，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺

酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。

35. 如申請專利範圍第 28 項至第 32 項中任一項之 CKP，其中在 L5 中：

X_3為 Y 或 X；

X_5為 S 或 X；且

其中 X_1、X_2及 X_4各自為任何胺基酸或 X，但 X_1不為 G，X_2不為 P，及/或 X_4不為 G，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。

36. 如申請專利範圍第 1 項至第 7 項、第 11 項至第 12 項、第 14 項、第 17 項、第 19 項至第 21 項及第 24 項至第 26 項中任一項之 CKP，其中在 L5 中，X_1至 X_5各自為任何胺基酸，但 X_2不為脯胺酸(P)。

37. 如申請專利範圍第 1 項至第 7 項、第 11 項至第 12 項、第 14 項、第 17 項、第 19 項至第 21 項及第 24 項至第 26 項中任一項之 CKP，其中在 L5 中，X_1至 X_5各自為任何胺基酸，但 X_4不為甘胺酸(G)。

38. 如申請專利範圍第 28 項至第 33 項中任一項之 CKP，其中在 L5 中：

X_1為選自 Q、H 及 X 之胺基酸；

X_2為選自 Y、W 及 X 之胺基酸；

X_3為 Y 或 X；

X_4為選自 Q、N 或 X 之胺基酸；

X_5為 S 或 X，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉

醯胺。

39. 如申請專利範圍第 28 項至第 34 項中任一項之 CKP，其中在 L2 中：

X_1為 G 或 X；

X_2為 R、P 或 X；

X_3為 D 或 X；

X_4為 F、I 或 X；且

X_5為 E、D 或 X，其中 X 為選自由以下各項組成之群的非天然胺基酸：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺。

40. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECLQQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 103)。

41. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序

列 GCNIMLPFWGCGRDFECVERCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 104)。

42. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 105)。

43. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECMNQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 106)。

44. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECMQTCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 107)。

45. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECVYQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 108)。

46. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECFINCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 109)。

47. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 110)。

48. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECVTECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 111)。

49. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECFYECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 112)。

50. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序列 GCNIMLPFWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 113)。

51. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序

列 GCNIMLPFWGCGRDFECVYRCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 114)。

52. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序列 GCDVMQPYWGCGPDIDCFVRCLCHWYNSCG (SEQ ID NO: 139)。

53. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序列 GCDVMQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 140)。

54. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序列 GCNIMLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 142)。

55. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序列 GCNIXLPFWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 144)，其中 X 為正白胺酸(Nle)。

56. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序列GCNIXLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 145)，其中 X 為正白胺酸(Nle)。

57. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序列 GCNIXLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 146)，其中 X 為正白胺酸(Nle)。

58. 如申請專利範圍第 28 項至第 35 項中任一項之 CKP，其包含胺基酸序列 GCDVXQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 224)，其中 X 為正白胺酸。

59. 一種非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)，其包含選自由以下各項組成之群的胺基酸：GCNIMLPFWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 113)；GCNIMLPFWGCGRDFECVYRCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 114)；GCDVMQPYWGCGPDIDCFVRCLCHWYNSCG (SEQ ID NO: 139)；GCDVMQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 140)；GCNIMLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 142)；GCNIXLPFWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID N

O: 144)，其中 X 為正白胺酸(Nle)；GCNIXLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 145)，其中 X 為正白胺酸(Nle)；GCNIXLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 146)，其中 X 為正白胺酸(Nle)；及 GCDVXQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 224)，其中 X 為正白胺酸。

60. 申請專利範圍第 59 項之 CKP，其包含 GCNIMLPFWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 113)中所闡述之胺基酸序列。
61. 如申請專利範圍第 59 項之 CKP，其包含 GCNIMLPFWGCGRDFECVYRCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 114)中所闡述之胺基酸序列。
62. 如申請專利範圍第 59 項之 CKP，其包含 GCDVMQPYWGCGPDIDCFVRCLCHWYNSCG (SEQ ID NO: 139)中所闡述之胺基酸序列。
63. 如申請專利範圍第 59 項之 CKP，其包含 GCDVMQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 140)中所闡述之胺基酸序列。
64. 如申請專利範圍第 59 項之 CKP，其包含 GCNIMLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 142)中所闡述之胺基酸序列。
65. 如申請專利範圍第 59 項之 CKP，其包含 GCNIXLPFWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 144)中所闡述之胺基酸序列，其中 X 為正白胺酸(Nle)。
66. 如申請專利範圍第 59 項之 CKP，其包含 GCNIXLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 145)中所闡述之胺基酸序列，其中 X 為正白胺酸(Nle)。
67. 如申請專利範圍第 59 項之 CKP，其包含 GCNIXLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 146)中所闡述之胺基酸序列，其中 X 為正白胺酸(Nle)。
68. 如申請專利範圍第 59 項之 CKP，其包含 GCDVXQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 224)中所闡述之胺基酸序列，其中 X 為正白胺酸。
69. 如申請專利範圍第 59 項至第 68 項中任一項之 CKP，其中該 CKP 結合 VEGF-A。
70. 一種非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)，其包含選自由以下各項組成之群

的胺基酸：GCDVX$_1$QPYWGCGPDI-D/E-CLS-N/K/X$_2$-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 534)；GCDVX$_1$QPYWGCGPDI-N/K/X$_2$-CLS-D/E-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 535)；GCNIX$_1$LPYWGCGRDF-D/E-CME-N/K/X$_2$-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 538)；GCNIX$_1$LPYWGCGRDF-N/K/X$_2$-CME-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 539)；GCNIX$_1$LPFWGCGRDF-D/E-CVS-N/K/X$_2$-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 540)；及GCNIX$_1$LPFWGCGRDF-N/K/X$_2$-CVS-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 541)，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。

71. 如申請專利範圍第 70 項之 CKP，其包含 GCDVX$_1$QPYWGCGPDI-D/E-CLS-N/K/X$_2$-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 534)中所闡述之胺基酸序列，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。

72. 如申請專利範圍第 71 項之 CKP，其包含 GCDVXQPYWGCGPDIDCLSKCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 536)中所闡述之胺基酸序列，其中 X 為正白胺酸。

73. 如申請專利範圍第 71 項之 CKP，其包含 GCDVX$_1$QPYWGCGPDIDCLSX$_2$CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 537)中所闡述之胺基酸序列，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。

74. 如申請專利範圍第 70 項之 CKP，其包含 GCDVX$_1$QPYWGCGPDI-N/K/X$_2$-CLS-D/E-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 535)中所闡述之胺基酸序列，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。

75. 如申請專利範圍第 70 項之 CKP，其包含 GCNIX$_1$LPYWGCGRDF-D/E-CME-N/K/X$_2$-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 538)中所闡述之胺基酸序列，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。

76. 如申請專利範圍第 75 項之 CKP，其包含 GCNIXLPYWGCGRDFECMEKCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 543)中所闡述之胺基酸序列，其中 X 為正白胺酸。

77. 如申請專利範圍第 75 項之 CKP，其包含 GCNIX$_1$LPYWGCGRDFECMEX$_2$CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 544)中所闡述之胺基酸序列，其中 X$_1$為正白胺酸且 X$_2$為鳥胺酸。

78. 如申請專利範圍第 70 項之 CKP，其包含 GCNIX$_1$LPYWGCGRDF-N/

K/X_2-CME-D/E.CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 539)中所闡述之胺基酸序列，其中 X_1為正白胺酸且 X_2為鳥胺酸。

79. 如申請專利範圍第 70 項之 CKP，其包含 GCNIX_1LPFWGCGRDF-D/E-CVS-N/K/X_2-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 540)中所闡述之胺基酸序列，其中 X_1為正白胺酸且 X_2為鳥胺酸。

80. 如申請專利範圍第 79 項之 CKP，其包含 GCNIXLPFWGCGRDFECVSKCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 545)中所闡述之胺基酸序列，其中 X 為正白胺酸。

81. 如申請專利範圍第 79 項之 CKP，其包含 GCNIX_1LPFWGCGRDFECVSX_2CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 546)中所闡述之胺基酸序列，其中 X_1為正白胺酸且 X_2為鳥胺酸。

82. 如申請專利範圍第 70 項之 CKP，其包含 GCNIX_1LPFWGCGRDF-N/K/X_2-CVS-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 541)中所闡述之胺基酸序列，其中 X_1為正白胺酸且 X_2為鳥胺酸。

83. 如申請專利範圍第 70 項至第 82 項中任一項之 CKP，其中該 CKP 結合 VEGF-A。

84. 一種可結合 VEGF-A 之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)，其中該 CKP 包含胱胺酸骨架結構：

$$Z_1C_1L1C_2L2C_3L3C_4L4C_5L5C_6Z_2，$$

其中：

Z_1及 Z_2為任何胺基酸、多於一個胺基酸、或非天然胺基酸；

L1 為環 1 且具有選自由以下各項組成之群的結構：$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$、$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$及 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$，其中 X_1至 X_{10}各自為任何胺基酸或非天然胺基酸；

L2 為環 2 且具有結構：$X_1X_2X_3X_4X_5$，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基酸或非天然胺基酸；

L3 為環 3 且具有結構：$X_1X_2X_3$，其中 X_1至 X_3各自為任何胺基酸或非天然胺基酸；

L4 為環 4 且具有結構：X_1，其中 X_1為任何胺基酸或非天然胺基酸；

L5 為環 5 且具有結構：$X_1X_2X_3X_4X_5$，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基酸或非天然胺基酸；

其中該非天然胺基酸選自由以下各項組成之群：PEG_6-L-炔丙基甘胺酸、L-磺酸基酪胺酸、L-正白胺酸、L-1-萘基丙胺酸、L-2-萘基丙胺酸、L-2-氯色胺酸、L-3-氟酪胺酸、L-4-氟苯丙胺酸、γ-苯甲基-L-脯胺酸、γ-(4-氟-苯甲基)-L-脯胺酸、4-OH-L-脯胺酸、4-氟-L-脯胺酸、4-[4-(三氟甲基)-苯甲基]-L-脯胺酸、3,4-二氟-L-苯丙胺酸、3,4-二氯-L-苯丙胺酸、4-氯-L-苯丙胺酸、3-F,4-Cl-L-苯丙胺酸、2-吡啶酮(NH 對)-L-丙胺酸、吡啶酮(NH 間)-L-丙胺酸、3-(1-N-甲基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-乙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(1-N-異丙基吲哚)-L-丙胺酸、3-(5-氮雜-吲哚)-L-丙胺酸、4-甲基-L-苯丙胺酸、2-萘基-L-丙胺酸、L-4,4'-聯苯丙胺酸、3-(3-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹啉基)-L-丙胺酸、3-(2-喹喏啉基)-L-丙胺酸、4-甲基-2-吡啶基-丙胺酸、4-乙基-2-吡啶基-L-丙胺酸、苯并噻唑-L-丙胺酸、苯并噻吩-L-丙胺酸、3-異喹啉基-L-丙胺酸、第三丁基-L-丙胺酸(亦稱為 L-新戊基甘胺酸)、3-環丁基-L-丙胺酸、環戊基-L-丙胺酸、5,5,5-三氟-L-白胺酸、第三丁基-L-甘胺酸(亦稱為 L-第三白胺酸)、L-環戊基甘胺酸、L-環丁基甘胺酸、3,4-羥基-L-苯丙胺酸、3,4-氟-L-苯丙胺酸、3-氟-4-OH-L-苯丙胺酸、2-氯-L-酪胺酸、2-甲基-L-酪胺酸、2-乙基-L-酪胺酸、4-(萘-1-酚)-L-丙胺酸、D-絲胺酸、L-β-高絲胺酸、L-β-丙胺酸、N-α-甲甘胺酸、甘胺醯胺、丙三醇甘胺酸酯、乙二醇甘胺酸酯、氧雜環丁烷-3-基甘胺酸酯及甘胺酸嗎啉醯胺，且

其中參考具有 SEQ ID NO: 1 中所闡述之胺基酸序列的野生型噴瓜胰蛋白酶抑制劑 EETI-II 蛋白，該 CKP 具有經改變之二硫鍵連接；其中該經改變之二硫鍵連接為 C1-C4、C2-C3 及 C5-C6；且其中該 CKP 具有至少 20%之 α 螺旋含量百分比。

85. 如申請專利範圍第 84 項之 CKP，其中該 CKP 以 500 pM 或更低之親和力結合 VEGF-A。

86. 如申請專利範圍第 1 項至第 58 項及第 84 項至第 85 項之 CKP，其中該結合親和力係經由表面電漿子共振來測定。

87. 如申請專利範圍第 84 項至第 86 項中任一項之 CKP，其中在 L5 中，

X_1至X_5各自為任何胺基酸，但X_2不為脯胺酸(P)。

88. 如申請專利範圍第 84 項至第 86 項中任一項之 CKP，其中在 L5 中，X_1至X_5各自為任何胺基酸，但X_4不為甘胺酸(G)。

89. 如申請專利範圍第 1 項至第 88 項中任一項之 CKP，其中：

(a) 該肽之 C 末端羧基經封端；

(b) 該肽(CKP)之 N 末端胺經封端；或

(c) 該肽(CKP)之 C 末端羧基及 N 末端胺經封端。

90. 如申請專利範圍第 89 項之 CKP，其中：

(a) 該肽之 C 末端羧基經醯胺化；

(b) 該肽(CKP)之 N 末端胺經乙醯化；或

(c) 該肽之 C 末端羧基經醯胺化且該肽(CKP)之 N 末端胺經乙醯化。

91. 如申請專利範圍第 1 項至第 90 項中任一項之 CKP，其中該 CKP 抑制 VEGF-A 活性。

92. 如申請專利範圍第 1 項至第 91 項之 CKP，其中該 CKP 抑制 VEGF-A 活性，且IC_{50}介於約 0.5 nM 與約 1.0 nM 之間。

93. 如申請專利範圍第 1 項至第 92 項中任一項之 CKP，其中該非天然存在之 EETI-II 骨架蛋白結合人類 VEGF-A、小鼠 VEGF-A 及大鼠 VEGF-A。

94. 一種非天然存在之 CKP，其與抗體 G6.31 競爭結合 VEGF-A。

95. 一種非天然存在之 CKP，其與如申請專利範圍第 1 項至第 94 項中任一項之 CKP 競爭結合 VEGF-A。

96. 一種非天然存在之 CKP，其可結合 VEGF-A 上之抗原決定基，該抗原決定基包含選自由以下各項組成之群的胺基酸殘基中的至少一者：V14、V15、F17、D19、Y21、Q22、Y25、I46、K48、N62、D63、L66、M81、I83、K84、P85、H86、G88、Q89、I91、C104、R105 及 P106。

97. 如申請專利範圍第 96 項之 CKP，其中該等殘基選自由以下各項組成之群：K48、N62 及 D63。

98. 如申請專利範圍第 96 項之 CKP，其中該等殘基選自由以下各項組成之群：

Y21、Y25 及 P106。

99. 如申請專利範圍第 96 項之 CKP，其中該等殘基選自由以下各項組成之群：

H86 及 Q89。

100. 如申請專利範圍第 96 項之 CKP，其中該等殘基選自由以下各項組成之群：

M81、D19 及 Q22。

101. 如申請專利範圍第 96 項之 CKP，其中該等殘基選自由以下各項組成之群：F17、M81 及 I91。

102. 如申請專利範圍第 96 項之 CKP，其中該等殘基選自由以下各項組成之群：V14、F17、D19、Q22、M81 及 I91。

103. 如申請專利範圍第 96 項之 CKP，其中該等殘基選自由以下各項組成之群：Y25。

104. 如申請專利範圍第 1 項至第 103 項中任一項之 CKP，其與治療劑結合。

105. 如申請專利範圍第 1 項至第 103 項中任一項之 CKP，其與標記結合。

106. 如申請專利範圍第 105 項之 CKP，其中該標記選自由以下各項組成之群：放射性同位素、螢光染料及酶。

107. 一種經分離之核酸，其編碼如申請專利範圍第 1 項至第 103 項中任一項之 CKP。

108. 一種表現載體，其編碼如申請專利範圍第 107 項之核酸分子。

109. 一種細胞，其包含如申請專利範圍第 108 項之表現載體。

110. 一種產生如申請專利範圍第 1 項至第 103 項中任一項之 CKP 的方法，其包括培養如申請專利範圍第 109 項之細胞及自細胞培養物回收該 CKP。

111. 一種產生如申請專利範圍第 1 項至第 103 項中任一項之 CKP 的方法，其包括化學合成該 CKP。

112. 一種組合物，其包含如申請專利範圍第 1 項至第 104 項中任一項之 CKP 及醫藥學上可接受之載劑。

113. 一種治療個體之以血管生成及/或血管滲透或滲漏為特徵之眼部疾病的方法，其包括向該個體投與有效量之如申請專利範圍第 1 項至第 104 項中任一項之 CKP 或如申請專利範圍第 112 項之組合物。

114. 如申請專利範圍第 113 項之方法，其中該眼部疾病為選自由以下各項組成之群的眼內新生血管疾病：增生性視網膜病變、脈絡膜新血管形成(CNV)、年齡相關性黃斑變性(AMD)、糖尿病性及其他局部缺血相關性視網膜病變、糖尿病性黃斑水腫、病理性近視、馮希伯-林島氏病(von Hippel-Lindau disease)、眼組織胞漿菌病、視網膜靜脈阻塞(RVO，包括視網膜中央靜脈阻塞(CRVO)及視網膜分枝靜脈阻塞(BRVO))、角膜新血管形成、視網膜新血管形成及早產兒視網膜病變(ROP)。
115. 如申請專利範圍第 113 項或第 114 項中任一項之方法，其中該 CKP 或該組合物係經由可植入式裝置投與該個體。
116. 如申請專利範圍第 115 項之方法，其中該可植入式裝置選自由以下各項組成之群：眼部插入物、緩慢釋放貯庫、眼部插塞/儲器、非生物可降解性眼部植入物或生物可降解性眼部植入物。
117. 一種組合物，其包含如申請專利範圍第 1 項至第 104 項中任一項之 CKP，其用於治療個體之以血管生成及/或血管滲透或滲漏為特徵之眼部疾病。
118. 如申請專利範圍第 117 項之用於應用之組合物，其中該眼部疾病為選自由以下各項組成之群的眼內新生血管疾病：增生性視網膜病變、脈絡膜新血管形成(CNV)、年齡相關性黃斑變性(AMD)、糖尿病性及其他局部缺血相關性視網膜病變、糖尿病性黃斑水腫、病理性近視、馮希伯-林島氏病、眼組織胞漿菌病、視網膜靜脈阻塞(RVO，包括視網膜中央靜脈阻塞(CRVO)及視網膜分枝靜脈阻塞(BRVO))、角膜新血管形成、視網膜新血管形成及早產兒視網膜病變(ROP)。
119. 如申請專利範圍第 117 項或第 118 項之用於應用之組合物，其中該組合物係經由可植入式裝置投與該個體。
120. 如申請專利範圍第 119 項之用於應用之組合物，其中該可植入式裝置選自由以下各項組成之群：眼部插入物、緩慢釋放貯庫、眼部插塞/儲器、非生物可降解性眼部植入物或生物可降解性眼部植入物。
121. 一種組合物之用途，該組合物包含如申請專利範圍第 1 項至第 104 項中任一項之 CKP，其用於治療個體之以血管生成及/或血管滲透或滲漏為特徵之眼部疾病。

122. 如申請專利範圍第 121 項之用途，其中該眼部疾病為選自由以下各項組成之群的眼內新生血管疾病：增生性視網膜病變、脈絡膜新血管形成(CNV)、年齡相關性黃斑變性(AMD)、糖尿病性及其他局部缺血相關性視網膜病變、糖尿病性黃斑水腫、病理性近視、馮希伯-林島氏病、眼組織胞漿菌病、視網膜靜脈阻塞(RVO，包括視網膜中央靜脈阻塞(CRVO)及視網膜分枝靜脈阻塞(BRVO))、角膜新血管形成、視網膜新血管形成及早產兒視網膜病變(ROP)。
123. 如申請專利範圍第 121 項或第 122 項之用途，其中該藥物係經由可植入式裝置投與該個體。
124. 如申請專利範圍第 123 項之用途，其中該可植入式裝置選自由以下各項組成之群：眼部插入物、緩慢釋放貯庫、眼部插塞/儲器、非生物可降解性眼部植入物或生物可降解性眼部植入物。
125. 如申請專利範圍第 1 項至第 104 項中任一項之 CKP，其中該 CKP 經調配以用於長期作用遞送。
126. 一種調配物，其包含如申請專利範圍第 1 項至第 104 項中任一項之 CKP 及 PLGA。
127. 如申請專利範圍第 126 項之調配物，其中該 PLGA 為 PLGA 棒。
128. 一種可結合人類低密度脂蛋白受體相關蛋白 6 (LRP6)之非天然存在之胱胺酸結肽(CKP)，其中該 CKP 包含胱胺酸骨架結構：

$$Z_1C_1L1C_2L2C_3L3C_4L4C_5L5C_6Z_2；$$

其中：

Z_1及 Z_2為任何胺基酸；

L1 為環 1 且具有選自由以下各項組成之群的結構：$X_1X_2X_3X_4X_5X_6$、$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$、$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$、$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$及 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$，其中 X_1至 X_{10}各自為任何胺基酸；

L2 為環 2 且具有結構：$X_1X_2X_3X_4X_5$，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基酸；

L3 為環 3 且具有結構：$X_1X_2X_3$，其中 X_1至 X_3各自為任何胺基酸；

L4 為環 4 且具有結構：X_1，其中 X_1為任何胺基酸；且

L5 為環 5 且具有結構：$X_1X_2X_3X_4X_5$，其中 X_1至 X_5各自為任何胺基

酸。

129. 如申請專利範圍第 128 項之 CKP，其中 Z_1及/或 Z_2為 G。

130. 如申請專利範圍第 128 項或第 129 項中任一項之 CKP，其中在 L1 中：

X_1為選自 R、V、M、A、G、N、S 及 E 之胺基酸；

X_2為選自 T、N、S、G、R 及 A 之胺基酸；

X_3為選自 N、R、H、V、K、S、G、I 及 Y 之胺基酸；

X_4為選自 R、V、N、I、K、S 及 T 之胺基酸；

X_5為選自 V、R、K、I、T、S、L 及 N 之胺基酸；且

X_6為選自 K、G、A、I、R、N、S 及 V 之胺基酸。

131. 如申請專利範圍第 128 項至第 130 項中任一項之 CKP，其中在 L1 中：

X_7為選自 G、R、K、E、P 及 T 之胺基酸。

132. 如申請專利範圍第 128 項至第 131 項中任一項之 CKP，其中在 L1 中：

X_8為選自 G、R、K、Q、A 及 S 之胺基酸。

133. 如申請專利範圍第 128 項至第 132 項中任一項之 CKP，其中在 L1 中：

X_9為選自 R 或 G 之胺基酸。

134. 如申請專利範圍第 128 項至第 133 項中任一項之 CKP，其中在 L1 中：

X_{10}為選自 E、W 及 G 之胺基酸。

135. 如申請專利範圍第 128 項至第 134 項中任一項之 CKP，其中在 L5 中：

X_1為選自 G、S、N、Y、A 及 R 之胺基酸；

X_2為選自 P、G、S、V、E、R、F 及 D 之胺基酸；

X_3為選自 N、G、S、E、P、K、H 及 R 之胺基酸；

X_4為選自 G、R、H、S、Q、V 及 D 之胺基酸；且

X_5為選自 F、D、N、R、G、Y、S 及 T 之胺基酸。

136. 如申請專利範圍第 128 項至第 135 項中任一項之 CKP，其中在 L2 中，X_1為 K，X_2為 Q，X_3為 D，X_4為 S，且 X_5為 D。

137. 如申請專利範圍第 128 項至第 136 項中任一項之 CKP，其中在 L3 中，X_1為 L，X_2為 A，且 X_3為 G。

138. 如申請專利範圍第 128 項至第 137 項中任一項之 CKP，其中在 L4 中，X_1為 V。

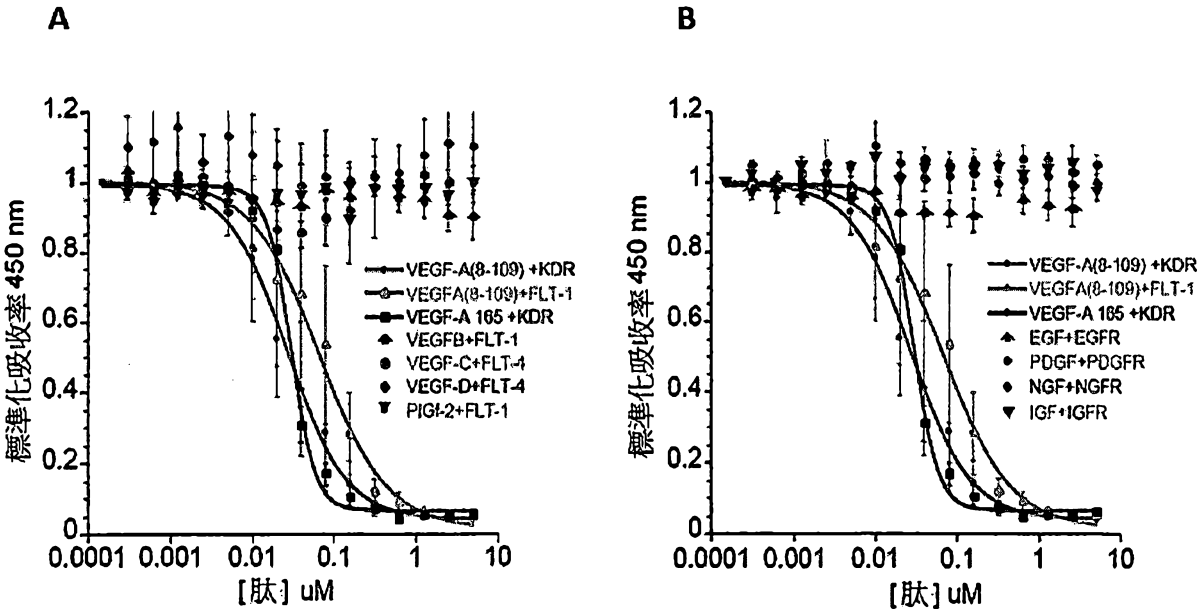

A
B
標準化吸收率 450 nm
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10
[肽] uM
VEGF-A(8-109) +KDR
VEGFA(8-109)+FLT-1
VEGF-A 165 +KDR
VEGFB+FLT-1
VEGF-C+FLT-4
VEGF-D+FLT-4
PlGf-2+FLT-1
EGF+EGFR
PDGF+PDGFR
NGF+NGFR
IGF+IGFR

圖 2

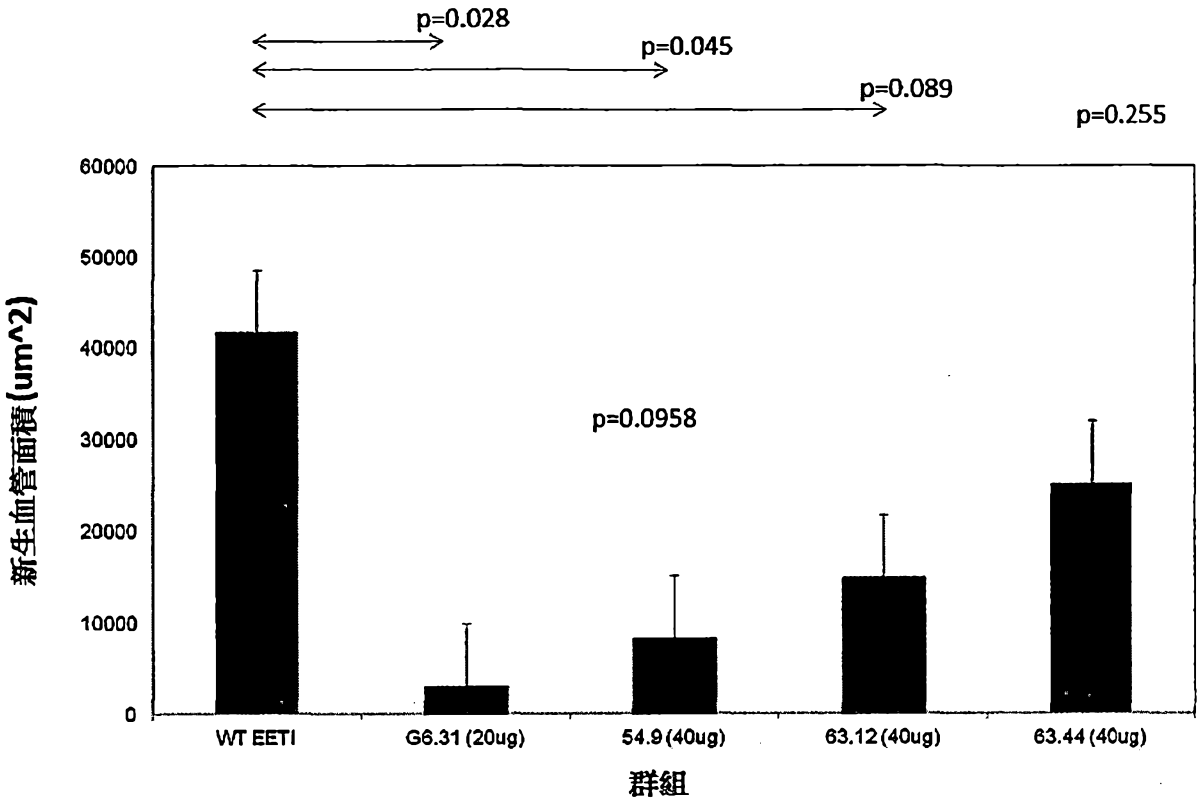

p=0.028
p=0.045
p=0.089
p=0.255
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
新生血管面積(um^2)
p=0.0958
WT EETI
G6.31 (20ug)
54.9 (40ug)
63.12 (40ug)
63.44 (40ug)
群組

圖 12

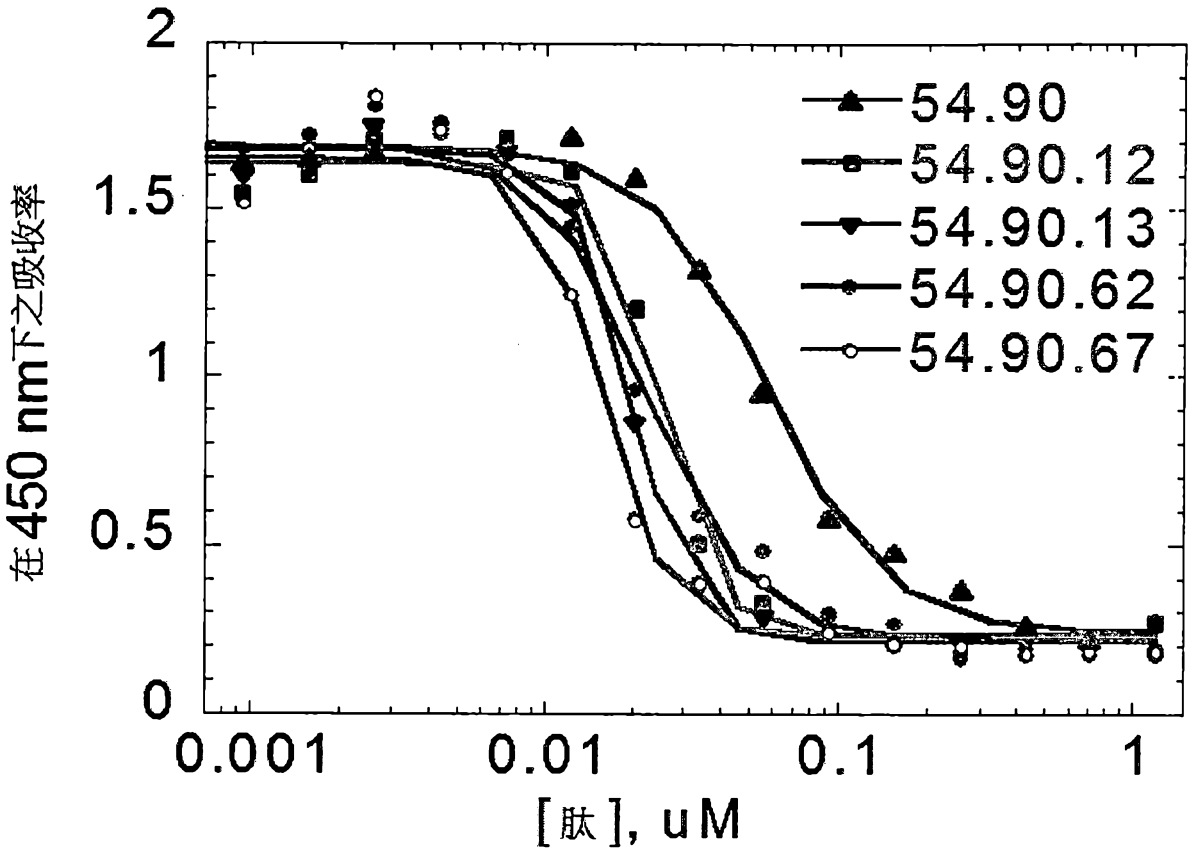

2
1.5
1
0.5
0
在450 nm下之吸收率
0.001
0.01
0.1
1
[肽], uM
54.90
54.90.12
54.90.13
54.90.62
54.90.67

圖 13

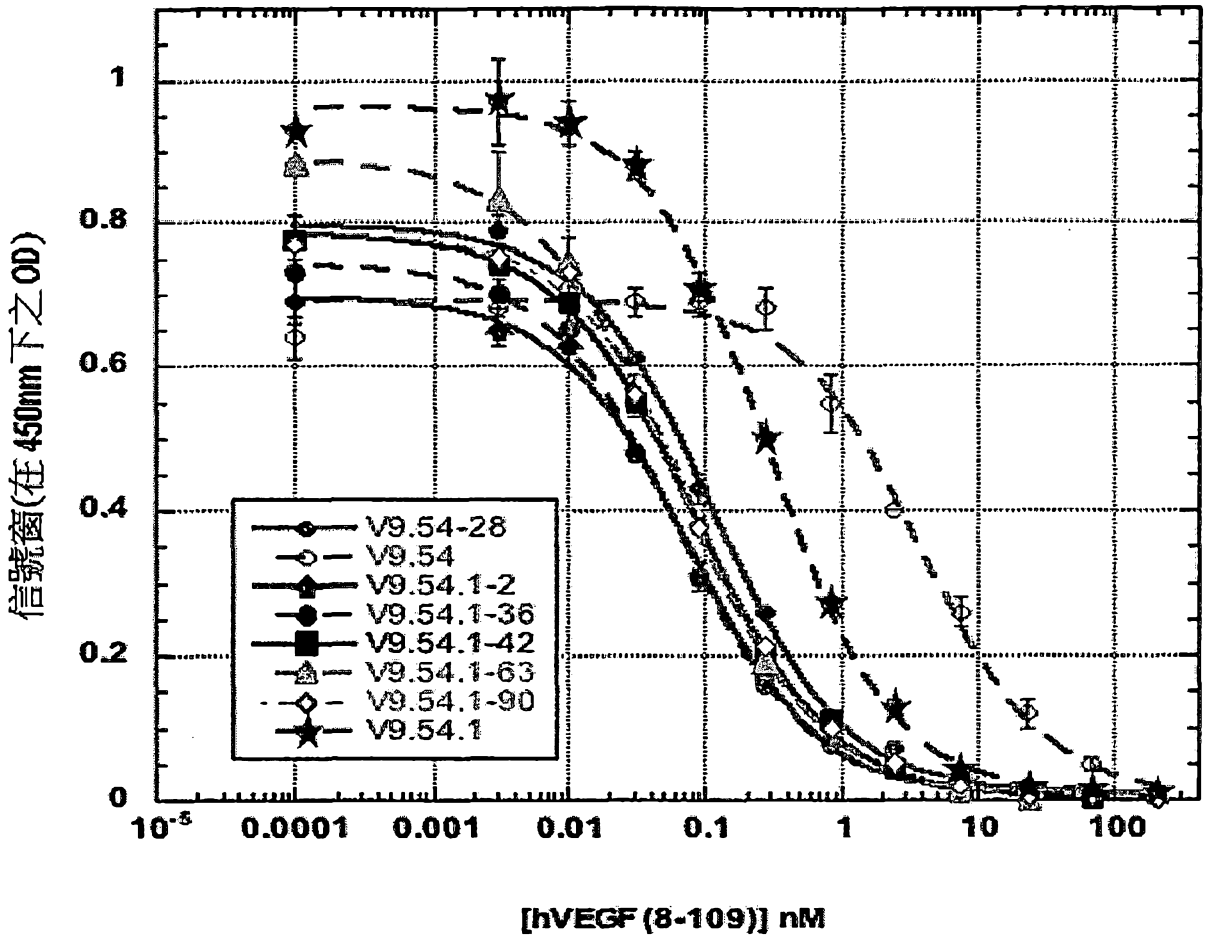

信號窗(在450nm下之OD)
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
10⁻⁵
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
[hVEGF (8-109)] nM
V9.54-28
V9.54
V9.54.1-2
V9.54.1-36
V9.54.1-42
V9.54.1-63
V9.54.1-90
V9.54.1

圖 15

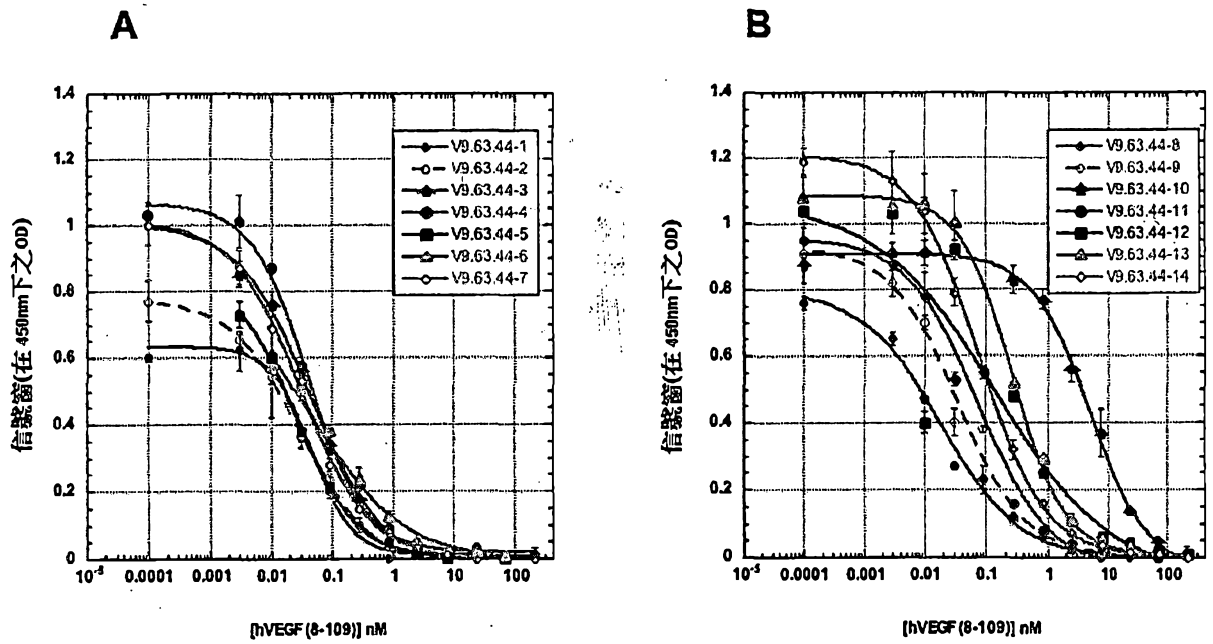

A
B
信號強(在 450nm下之OD)
[hVEGF (8-109)] nM
V9.63.44-1
V9.63.44-2
V9.63.44-3
V9.63.44-4
V9.63.44-5
V9.63.44-6
V9.63.44-7
V9.63.44-8
V9.63.44-9
V9.63.44-10
V9.63.44-11
V9.63.44-12
V9.63.44-13
V9.63.44-14

圖 16