202423953

(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 202423953 A

(43)公開日： 中華民國 113 (2024) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：112128641 (22)申請日： 中華民國 112 (2023) 年 07 月 31 日

(51)Int. Cl.： *C07K14/47 (2006.01)* *C07K16/18 (2006.01)*
A61K39/395 (2006.01) *C12N15/13 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01) *A61P9/00 (2006.01)*
A61P25/00 (2006.01) *A61P29/00 (2006.01)*

(30)優先權：2022/08/01 美國 63/370,021

(71)申請人：美商ＣＹＴＯＭＸ生物製藥公司 (美國) CYTOMX THERAPEUTICS, INC. (US)
美國

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

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：無　申請專利範圍項數：51 項　圖式數：4　　共 238 頁

(54)名稱

蛋白酶可切割部分及其使用方法

(57)摘要

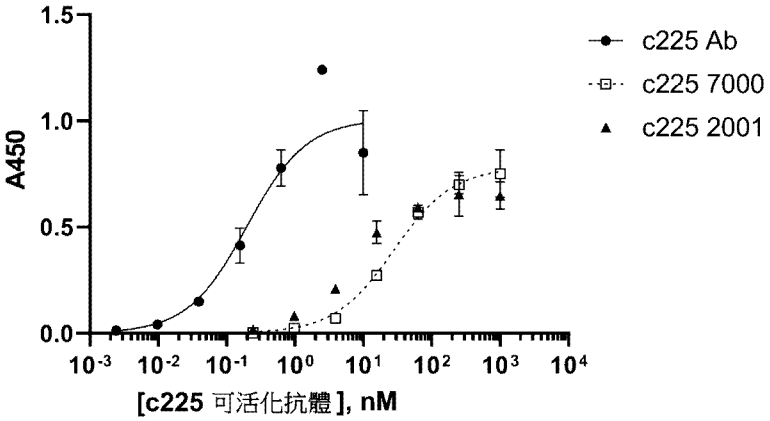
本發明揭示單離之多肽，其包括作為至少一種蛋白酶(例如 MMP)之受質的可切割部分。本發明揭示包括該等單離之多肽的可活化分子。本發明揭示製造和使用該等單離之多肽和包括該等單離之多肽的可活化分子之方法，該等單離之多肽和可活化分子係用於各種治療性、診斷性及預防性應用。

Isolated polypeptides that include a cleavable moiety that is a substrate for at least one protease (e.g., MMP) are disclosed. Activatable molecules including the isolated polypeptides are disclosed. Methods of making and using the isolated polypeptides and activatable molecules including the isolated polypeptides in a variety of therapeutic, diagnostic, and prophylactic applications are disclosed.

指定代表圖：

TW 202423953 A

具有例示性受質之抗**EGFR**可活化抗體之活體外遮蔽效率



【圖 1】

【發明摘要】

【中文發明名稱】

蛋白酶可切割部分及其使用方法

【英文發明名稱】

PROTEASE-CLEAVABLE MOIETIES AND METHODS OF USE THEREOF

【中文】

本發明揭示單離之多肽，其包括作為至少一種蛋白酶(例如MMP)之受質的可切割部分。本發明揭示包括該等單離之多肽的可活化分子。本發明揭示製造和使用該等單離之多肽和包括該等單離之多肽的可活化分子之方法，該等單離之多肽和可活化分子係用於各種治療性、診斷性及預防性應用。

【英文】

Isolated polypeptides that include a cleavable moiety that is a substrate for at least one protease (e.g., MMP) are disclosed. Activatable molecules including the isolated polypeptides are disclosed. Methods of making and using the isolated polypeptides and activatable molecules including the isolated polypeptides in a variety of therapeutic, diagnostic, and prophylactic applications are disclosed.

【指定代表圖】圖1

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

蛋白酶可切割部分及其使用方法

【英文發明名稱】

PROTEASE-CLEAVABLE MOIETIES AND METHODS OF USE THEREOF

【技術領域】

【0001】本揭露通常有關包括作為至少一種蛋白酶基質金屬蛋白酶(MMP)之受質的可切割部分之多肽，以及製造和於各種治療性、診斷性以及預防性應用中使用多肽和可活化分子之方法。

相關申請案之交叉參照

【0002】本申請案主張於2022年8月1日提出申請的美國臨時申請案第63/370,021號之優先權，其內容係以引用方式整體納入本文中。

序列表

【0003】本申請案含有已以XML格式電子提交的序列表，並且特此以引用方式整體納入。所述XML副本係於2023年7月25日創建，命名為CYTX-092-TW_SL.xml，以及大小為110,592位元組。

【先前技術】

【0004】蛋白酶為催化胺基酸殘基之間的肽鍵水解的酵素。已知一些蛋白酶係基於蛋白質內特定胺基酸序列之存在來斷裂特定肽鍵。蛋白酶天然存在於所有生物體中，並且涉及從簡單降解到高度調節之途徑的各種生理反應。一些蛋白酶係基於蛋白質內特定胺基酸序列之存在來斷裂特定肽鍵，而一些胺基酸序列則對特定蛋白酶的切割有抗性。

【0005】因此，存在鑑定蛋白酶之新受質，並且將此等受質用於各種治療性、診斷性以及預防性應用的需求。

【發明內容】

【0006】於一個態樣中，本揭露提供一種單離之多肽，其包含可切割部分(cleavable moiety，CM)，該可切割部分(CM)包含胺基酸序列AIALY(SEQ ID NO：5)，其中該CM為蛋白酶之受質。於一些具體例中，本揭露提供一種單離之多肽，其包含可切割部分(CM)，該可切割部分(CM)包含胺基酸序列AIALYA(SEQ ID NO：2)，其中該CM為蛋白酶之受質。於一些具體例中，CM包含胺基酸序列AIALYAD(SEQ ID NO：1)。

【0007】於另一個態樣中，本揭露提供一種單離之多肽，其包含可切割部分(CM)，該可切割部分(CM)包含選自SEQ ID NO：1至14之胺基酸序列，其中該CM為蛋白酶

之受質。

【0008】根據本揭露，單離之多肽為一種分子，其中蛋白酶對CM之切割導致該分子的一部分或組分與該分子的其餘部分分離。於本揭露之一些態樣中，蛋白酶對CM之切割活化分子。於一些態樣中，單離之多肽為一種其中多種蛋白酶切割CM之分子。於一些態樣中，單離之多肽為一種其中MMP2切割CM之分子。於一些態樣中，單離之多肽為一種其中MMP9切割CM之分子。於一些態樣中，單離之多肽為一種其中MMP14切割CM之分子。於一些態樣中，單離之多肽為一種其中MMP2、MMP9以及MMP14中之兩者或全部切割CM之分子。於一些態樣中，單離之多肽為一種分子，其中CM之%切割率為至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%或100%，例如，至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%或100%可由MMP2、MMP9以及MMP14中之任一者，或MMP2、MMP9以及MMP14中之任兩者，或MMP2、MMP9以及MMP14中各者切割。根據本揭露，單離之多肽為一種具有高活體內穩定性，使得其在血漿中不被切割(如活體內投予7天後之小於60%、小於50%、小於40%、小於25%的活體內活化所證明)之分子。根據本揭露之具體例，單離之多肽為一種包含具有大於5×10^2 $M^{-1}s^{-1}$之k_{cat}/K_M($M^{-1}s^{-1}$)的CM之分子。

【0009】於一些具體例中，單離之多肽為可活化分子，並且進一步包含與標靶特異性地結合之「活性部分」

(active moiety，AM)。於一些具體例中，AM為治療性大分子。於一些具體例中，AM為抗體或其抗原結合片段。於一些具體例中，抗體為全長抗體、單鏈可變片段(scFv)、雙鏈抗體(diabody)(scFv之非共價二聚體)、單鏈抗體(scab)、VHH、域抗體(dAb)或單域抗體(奈米抗體，例如，單域重鏈抗體、單域輕鏈抗體)。於一些具體例中，抗體為單株抗體、單鏈抗體、Fab片段、$F(ab')_2$片段、單鏈可變片段(scFv)、雙鏈抗體(scFv之非共價二聚體)、單鏈抗體(scab)、VHH、域抗體(dAb)或單域抗體(奈米抗體，例如，單域重鏈抗體、單域輕鏈抗體)。根據本揭露之一些具體例，單離之多肽為一種具有高活體內穩定性，使得其在血漿中不被切割(如活體內投予7天後之小於25%的活體內活化所證明)之可活化分子(例如，如實施例3中所例舉的)。根據本揭露之一些具體例，單離之多肽為一種具有25x、40x、41x、50x、75x、100x、150x、200x或更高的遮蔽效率之可活化分子(例如，如實施例4中所例舉的)。根據本揭露之一些具體例，可活化分子係由MMP2、MMP9以及MMP14中之一者、兩者或全部活化。根據本揭露，將可活化分子活化至具有至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%或100%，例如，至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%或100%可由MMP2、MMP9以及MMP14中之任一者或MMP2、MMP9以及MMP14中之任兩者或MMP2、MMP9以及MMP14中各者切割的切割率百分比的

程度。於一些具體例中，AM為細胞介素。於一些具體例中，AM為嵌合抗原受體。於一些態樣中，AM為藥物或劑，例如，治療劑、顯像劑或診斷劑。

【0010】於一些具體例中，AM與CM偶合。於一些具體例中，AM直接與CM偶合。於一些具體例中，AM係經由連接肽間接與CM偶合。於一些具體例中，AM係經由可活化蛋白之一或多種組分間接與CM偶合。

【0011】於一些具體例中，單離之多肽進一步包含遮蔽部分(masking moiety，MM)。於一些具體例中，MM具有與AM結合之解離常數大於AM與標靶結合之解離常數。於一些具體例中，MM不干擾或與AM競爭與活化之分子中之標靶之結合(亦即，在CM係由蛋白酶切割之後)。於一些具體例中，MM為2至40個胺基酸長。於一些具體例中，MM不與AM結合，但仍然通過非特異性交互作用干擾AM與其結合配偶體(partner)之結合。於一些具體例中，MM為立體遮蔽物。於一些具體例中，MM為蛋白質。於一些具體例中，MM與CM偶合，使得單離之多肽包含從N端到C端之結構排列如下：MM-CM-AM或AM-CM-MM。於一些具體例中，MM直接與CM偶合。

【0012】於一些具體例中，MM係經由連接肽間接與CM偶合。於一些具體例中，單離之多肽包含連接肽(LP)，以及其中該單離之多肽具有從N端到C端之結構排列如下：MM-LP-CM-AM或MM-CM-LP-AM。於一些具體例中，單離之多肽包含第一連接肽(LP1)和第二連接肽

(LP2)，以及其中該單離之多肽具有從N端到C端之結構排列如下：MM-LP1-CM-LP2-AM或AM-LP2-CM-LP1-MM。於一些具體例中，LP1與LP2彼此不相同。於一些具體例中，LP1與LP2彼此相同。於一些具體例中，LP1和LP2各為1至20個胺基酸長之肽。

【0013】一般而言，在本文中之各具體例中，除非另有說明，否則多肽可包含一或多個在所列之各元件之間的視需要之連接子，並且此類連接子可為1至30、6至29、7至28、8至27、9至26、10至25、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26或27個胺基酸長。

【0014】於一些具體例中，CM為基質金屬蛋白酶(MMP)之受質。於一些具體例中，MMP為MMP2、MMP9以及MMP14。於一些具體例中，MMP2對CM之切割的k_{cat}/K_M為至少1×10^3 $M^{-1}s^{-1}$。於一些具體例中，MMP2對CM之切割的k_{cat}/K_M為至少1×10^4 $M^{-1}s^{-1}$。於一些具體例中，MMP9對CM之切割的k_{cat}/K_M為至少1×10^2 $M^{-1}s^{-1}$。於一些具體例中，MMP9對CM之切割的k_{cat}/K_M為至少1×10^3 $M^{-1}s^{-1}$。於一些具體例中，MMP14對CM之切割的k_{cat}/K_M為至少1×10^2 $M^{-1}s^{-1}$。於一些具體例中，MMP14對CM之切割的k_{cat}/K_M為至少1×10^3 $M^{-1}s^{-1}$。

【0015】於另一個態樣中，本揭露提供一種單離之多肽，其包含可切割部分(CM)，該可切割部分(CM)包含SEQ ID NO：1至14中任一者之具有一胺基酸或二胺基酸突變之

胺基酸序列，其中CM為蛋白酶之受質。例如，突變可包括離胺酸、精胺酸以及組胺酸殘基中之任一者之間的取代。於某些態樣中，本揭露可包括經離胺酸取代所揭示之序列中之任何精胺酸。於其他態樣中，本揭露亦包括經非離胺酸之胺基酸取代所揭示之序列中之任何精胺酸。例如，突變可包括丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸以及色胺酸殘基中之任一者之間的取代。例如，突變可包括甘胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、半胱胺酸、絲胺酸、蘇胺酸以及酪胺酸殘基中之任一者之間的取代。例如，突變可包括精胺酸、天冬醯胺酸、天冬胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、組胺酸、離胺酸、絲胺酸以及蘇胺酸殘基中之任一者之間的取代。例如，突變可包括丙胺酸、半胱胺酸、異白胺酸、白胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、色胺酸、酪胺酸以及纈胺酸殘基中之任一者之間的取代。例如，突變可包括絲胺酸和蘇胺酸殘基中之任一者之間的取代。例如，突變可包括天冬醯胺酸和麩醯胺酸殘基中之任一者之間的取代。例如，突變可包括丙胺酸、纈胺酸、白胺酸以及異白胺酸殘基中之任一者之間的取代。例如，突變可包括苯丙胺酸、色胺酸以及酪胺酸殘基中之任一者之間的取代。

【0016】於另一個態樣中，本揭露提供一種多肽複合物，其包含一或多種單離之多肽，該等單離之多肽包含本文中所揭示之CM。於一些態樣中，複合物包含本揭露之一或多種單離之多肽，其與第二單離之多肽結合，例如，

經由兩個多肽之間的蛋白質-蛋白質親和交互作用、疏水性交互作用、(多個)二硫鍵、(多個)交聯、(多個)共價鍵、(多個)化學鍵聯或任何其他類型之結合。

【0017】於另一個態樣中，本揭露提供一種接合之多肽，其包含與劑接合之本文中之單離之多肽。於一些具體例中，劑係經由接合連接子與單離之多肽接合。於一些具體例中，接合連接子為可切割的。於一些具體例中，接合連接子為不可切割的。於一些具體例中，接合連接子包含選自SEQ ID NO：1至14之胺基酸序列。於一些具體例中，劑為毒素、微管抑制劑、核酸損傷劑、多拉司他汀(dolastatin)、阿里他汀(auristatin)、美登木素生物鹼(maytansinoid)、多卡黴素(duocarmycin)、卡奇黴素(calicheamicin)或其組合。

【0018】於另一個態樣中，本揭露提供一種組成物，其包含本文中之單離之多肽、多肽複合物或接合之多肽以及載劑。於一些具體例中，載劑為醫藥上可接受之載劑。於一些具體例中，組成物包含額外的劑。於一些具體例中，額外的劑為治療劑、顯像劑或診斷劑。

【0019】於前述具體例中各者中，並且除非另有說明，否則多肽可包含例如所列之各元件之間的一或多個視需要之連接子。於一些具體例中，連接子為具有5至30、6至29、7至28、8至27、9至26、10至25、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24個胺基酸之長度的肽。於前述段落和貫穿本揭露中所揭示之結構排

列中，一或多個連接子可視需要地存在於元件之間。又，本揭露亦考慮且包括可活化蛋白質，其中所揭示之元件中之任一或多者視需要地彼此直接鄰接，使得元件之間無連接子或其他胺基酸序列。

【0020】於另一個態樣中，本揭露提供一種單離之核酸分子，其編碼本文中之單離之多肽。

【0021】於另一個態樣中，本揭露提供一種載體，其包含本文中之單離之核酸分子。

【0022】於另一個態樣中，本揭露提供一種細胞，其包含本文中之單離之核酸分子或載體。

【0023】於另一個態樣中，本揭露提供一種製造含有可切割部分(CM)之可活化分子之方法，該方法包含表現和回收包含本文中之單離之多肽的多肽。

【0024】於另一個態樣中，本揭露提供一種治療個體之疾病或病症、減輕該疾病或病症之症狀或延遲該疾病或病症之進展之方法，其包含向該個體投予治療有效量的本文中之單離之多肽、多肽複合物、接合之多肽或組成物。於一些具體例中，疾病為癌症、感染、發炎性疾患、心血管疾患、神經退化性疾患或自體免疫疾患。

【0025】於另一個態樣中，本揭露提供一種檢測或診斷個體之疾病或健康狀況之方法，其包含：使本文中之單離之多肽、多肽複合物、接合之多肽或組成物與來自該個體之樣本接觸；以及測量該單離之多肽的切割水平，從而檢測或診斷該個體之該疾病或健康狀況。於一些具體例

中，疾病為癌症、感染、發炎性疾患、心血管疾患、神經退化性疾患或自體免疫疾患。

【圖式簡單說明】

【0026】對本發明之特徵和優點的理解將藉由參考下列提出闡釋性具體例(其中可利用本發明之原理)之實施方式及其附圖而獲得：

【0027】[**圖1**]為顯示本揭露之例示性抗EGFR可活化抗體的活體外遮蔽效率之圖。此等例示性結果顯示受質影響可活化抗體之原域(prodomain)的遮蔽效率。

【0028】[**圖2A**]顯示例示性可活化抗體對小鼠腫瘤消退之影響。針對例示性可活化抗體與西妥昔單抗(cetuximab)或免疫球蛋白(IVIG)對照一起投予後之各測量時間點繪製平均腫瘤體積±SEM。[**圖2B**]顯示可活化抗體之瘤內活化。

【0029】[**圖3A至3C**]顯示衍生自患者之腫瘤樣本中的例示性可活化抗體之活化(圖3A中之膽管癌、圖3B中之胰臟癌以及圖3C中之TNBC)。

【0030】[**圖4**]顯示衍生自患者之急性骨髓性白血病腫瘤(AML)樣本中之例示性可活化抗體之活化。

【實施方式】

【0031】蛋白酶在健康組織的穩態中起關鍵作用，但已知在疾病(包括癌症和自體免疫疾病)中失調(Vasiljeva et

al. “The multifaceted roles of tumor-associated proteases and harnessing their activity for prodrug activation,” Biol. Chem. 2019 Apr 22)。蛋白酶活性的失調為開發蛋白酶可活化之治療性分子提供新的機會，該等分子優先在局部組織微環境中被活化。此等治療劑已展現更大的治療窗和安全性概況(profile)，並且於健康組織中有較低的靶向毒性(on-target toxicity)。因此，需要鑑定充當蛋白酶之切割辨識位點的受質，該等蛋白酶在疾病組織中被發現為失調的。此等受質或可切割部分(CM)可具有多個切割位點以利用多種疾病相關蛋白酶之活性。

【0032】理解受質切割概況且使用此等受質作為特定疾病或癌症類型的活化工具將能夠開發新的治療性蛋白酶可活化之分子。藉由使用具有獨特切割概況之蛋白酶受質而微調治療劑可活化之分子將為更廣譜之患者提供治療選項，同時提供增加之治療指數。例如，「組學(omics)」研究已證明數種基質金屬蛋白酶(MMP)橫跨數種癌症類型之分布，以及與正常組織相比之MMP表現的差異(Gobin et al. “A pan-cancer perspective of matrix metalloproteases (MMP) gene expression profile and their diagnostic/prognostic potential,” BMC Cancer. 2019 Jun 14; 19(1): 581)，強調對適當的可切割部分選擇之需求。的確，第一蛋白酶可活化之抗體係使用MMP受質設計的(Bleuez et al., “Exploiting protease activation for therapy,”Drug Discovery Today, 2022 Jun;27(6):1743-1754)。

【0033】本揭露提供包含可切割部分(CM)之多肽，該可切割部分作為至少一種蛋白酶(例如，MMP)之受質。於一些態樣中，本文中之CM在患病組織(例如，腫瘤組織)中被切割，但在健康組織中較少被切割。此等CM可用於各種治療性、診斷性以及預防性應用。於一些具體例中，含有CM之多肽為可活化分子，並且進一步包含與標靶特異性地結合之活性部分(AM)。例如，AM可為治療性蛋白質、治療劑、顯像劑、診斷劑、抗體或抗原結合片段、細胞介素、嵌合抗原受體或用於治療性和診斷性應用之其他分子。

【0034】本文中亦提供相關組成物、套組、核酸、載體以及重組細胞，以及相關方法，包括本文中所述的任何含有CM之多肽之使用方法和製造方法。

定義

【0035】除非另有定義，否則本文中所用的所有技術和科學術語具有與發明所屬領域中具有通常知識者通常理解的相同含義。本文中描述用於本揭露之方法和材料；亦可使用發明所屬技術領域中已知的其他合適的方法和材料。材料、方法以及實施例僅是闡釋性的，而非旨在限制。本文中提及的所有刊物、專利申請案、專利、序列、資料庫條目以及其他參考文獻均係以引用方式整體納入。在有矛盾的情況下，將以本說明書(包括定義)為準。

【0036】術語「a(一)」和「an(一)」是指冠詞之一或

多個(亦即，至少一個)文法受詞。舉例來說，「細胞」涵蓋一或多個細胞。

【0037】如本文中所用，當術語「約」和「大約」用以修飾數值或範圍中指定的量時，表示該數值以及從發明所屬技術領域中的技術人員已知的值的合理偏差。例如，在適當時，±20%、±10%或±5%係在敘述之值的預期含義內。

【0038】濃度、量以及其他數值數據可在本文中以範圍格式表達或呈現。應當理解，此類範圍格式僅為了方便和簡潔而使用，因此應當被彈性地解讀為不僅包括明確敘述為範圍限值的數值，而是如同各數值和次範圍均被明確敘述一般而包括所有涵蓋在該範圍內之個別數值或次範圍。作為例證，應將「約0.01至2.0」的數值範圍解讀為不僅包括明確敘述的約0.01至約2.0的值，而是亦包括註明之範圍內的個別值和次範圍。因此，此數值範圍中包括諸如0.5、0.7以及1.5之個別值以及諸如0.5至1.7、0.7至1.5以及1.0至1.5之次範圍等。此外，此類解讀應該適用，無論所述範圍或特性的寬度。另外，應注意，除非另有說明，否則所有百分比均以重量計。

【0039】在理解本揭露之範疇時，本文中所用的術語「包括」或「包含」以及其派生詞旨在為開放式術語，其指定所註明之特徵、元件、組分、群組、整數及/或步驟之存在，但不排除其他未註明之特徵、元件、組分、群組、整數及/或步驟之存在。前述者亦適用於具有類似含

義的詞語，諸如，術語「包括」、「具有」以及其派生詞。如本文中所用，術語「由…所組成」以及其派生詞旨在為封閉式術語(其指定所註明之特徵、元件、組分、群組、整數及/或步驟之存在)，但排除其他未註明之特徵、元件、組分、群組、整數及/或步驟之存在。如本文中所用，術語「基本上由…所組成」旨在指定所註明之特徵、元件、組分、群組、整數及/或步驟以及彼等不會實質影響特徵、元件、組分、群組、整數及/或步驟之(多個)基本和新穎特徵之存在。應當理解，對此等轉折語中之任何一者的引用(亦即，「包括」、「由…所組成」或「基本上由…所組成」)提供對任何未具體使用的其他轉折語的替換的直接支持。例如，由於此定義，將術語從「包含」修正為「基本上由…所組成」或「由…所組成」會有對貫穿本揭露所揭示之任何元件有直接支持。基於此定義，本文中所揭示或以引用方式納入之任何元件可包括在請求保護之發明中或從請求保護之發明中排除。

【0040】如本文中所用，為了方便起見，可以一般列表呈現複數種化合物、元件或步驟。然而，此等列表應當被解釋為如同列表之各成員被個別地辨識為單獨且唯一的成員。因此，在沒有相反指示的情況下，此類列表之個別成員不應僅基於其在共同群組中之呈現而被解釋為相同列表之任何其他成員的事實等效(de facto equivalent)。

【0041】本文中所用的術語「例示性」是指作為範例、實例或例證。本文中描述為「例示性」的任何態樣或

設計不一定被解釋為比其他態樣或設計更佳或有利。相反地，使用詞語「例示性」旨在以更具體的方式呈現本概念。

【0042】此外，某些分子、構築體、組成物、元件、部分、賦形劑、病症、病況、性質、步驟等可在一個特定具體例或態樣的前後文中或在本揭露之單獨段落或章節中討論。應當理解，這僅是為了方便和簡潔，並且任何此類揭露同樣適用於且旨在與本揭露和申請專利範圍中任何處發現的任何其他具體例或態樣合併(其係於申請日全部形成本申請案和請求保護之發明)。例如，關於構築體、分子、單離之多肽、可活化分子、組成物或方法描述的構築體、分子、方法步驟、套組或組成物之列表旨在且確實找到對本揭露之任何其他部分所述的與構築體、分子、單離之多肽、可活化分子、組成物、調配物以及方法相關之具體例的直接支持，即使是彼等方法步驟、活性劑、套組或組成物未在該具體例或態樣中再度列表。

【0043】本文中所用的術語「單離之多核苷酸」應指基因組、cDNA、RNA、mRNA或合成來源或其一些組合之多核苷酸，由於其來源，「單離之多核苷酸」(1)與其中「單離之多核苷酸」在自然界發現之多核苷酸的全部或部分不締合(associated)，(2)可操作地連接(link)至在自然界未連接之多核苷酸，及/或(3)在自然界不存在作為更大序列的一部分。於一些具體例中，多核苷酸包括編碼重鏈免疫球蛋白分子之核酸分子和編碼輕鏈免疫球蛋白分子之核

酸分子。

【0044】本文中所用的術語「單離之多肽」是指以不同於自然界發現之形式存在的多肽。本文中所用的「單離之多肽」可由cDNA、重組RNA、重組DNA、信使RNA、或合成來源之多核苷酸或其一些組合所編碼。由於其來源或衍生來源，「單離之多肽」(1)不存在於天然存在的生物體中(例如，不是天然存在的生物體的內源多肽)，以及(2)以自然界未發現之自然之形式存在。於一些態樣中，「單離之多肽」係由來自不同物種的細胞所表現。於一些態樣中，「單離之多肽」為治療性蛋白質或診斷性蛋白質，而不是天然存在的蛋白質。例如，如本文中所用，「單離之多肽」不為植物蛋白或天然存在於細菌或其他天然生物體中之蛋白質。術語「單離之多肽」包括可活化分子且為其提供支持，該可活化分子包括可活化大分子、可活化多肽、可活化抗體、可活化細胞介素等。術語「單離之多肽」包括其中CM之切割將其活化之可活化分子且為其提供支持。

【0045】術語「多肽」在本文中用作通用術語，是指多肽序列之天然蛋白質、片段或類似物。因此，蛋白質、蛋白質片段以及類似物為多肽屬的物種(species)。於一些具體例中，根據本揭露之多肽包含重鏈免疫球蛋白分子和輕鏈免疫球蛋白分子，以及由包含重鏈免疫球蛋白分子與輕鏈免疫球蛋白分子(諸如，卡帕(kappa)輕鏈免疫球蛋白分子)之組合所形成之抗體分子，反之亦然，以及其片段

和類似物。

【0046】如本文中所討論，考慮多肽之胺基酸序列中之微小變化涵蓋在本揭露中，只要胺基酸序列中之變化維持與未改變之胺基酸序列有至少75%，於一些具體例中，至少80%、至少90%、至少95%，以及於一些具體例中，至少99%的同一性。特別地，考慮保守性胺基酸取代。保守性取代包括彼等發生在側鏈相關之胺基酸家族內者。基因編碼之胺基酸一般分為下列家族：(1)酸性胺基酸為天冬胺酸、麩胺酸；(2)鹼性胺基酸為離胺酸、精胺酸、組胺酸；(3)非極性胺基酸為丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸、色胺酸；以及(4)不帶電荷之極性胺基酸為甘胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、半胱胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸。親水性胺基酸包括精胺酸、天冬醯胺酸、天冬胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、組胺酸、離胺酸、絲胺酸以及蘇胺酸。疏水性胺基酸包括丙胺酸、半胱胺酸、異白胺酸、白胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、色胺酸、酪胺酸以及纈胺酸。其他胺基酸家族包括(i)絲胺酸和蘇胺酸，其為脂肪族-羥基家族；(ii)天冬醯胺酸和麩醯胺酸，其為含有醯胺之家族；(iii)丙胺酸、纈胺酸、白胺酸以及異白胺酸，其為脂肪族家族；以及(iv)苯丙胺酸、色胺酸以及酪胺酸，其為芳香族家族。例如，可合理地預期用異白胺酸或纈胺酸替換白胺酸、用麩胺酸替換天冬胺酸、用絲胺酸替換蘇胺酸或者用結構相關之胺基酸類似地替換胺基酸不會對所得分子之

結合或性質產生的重大影響，尤其是若替換不涉及框架位點內之胺基酸。藉由測定多肽衍生物之比活性，可輕易地確定胺基酸變化是否產生功能肽。本文中詳述測定法。發明所屬技術領域中具有通常知識者可輕易地製備抗體或免疫球蛋白分子之片段或類似物。片段或類似物之合適的胺基端和羧基端出現在功能域的邊界附近。結構和功能域可由核苷酸及/或胺基酸序列數據與公共或專有序列資料庫之比對鑑定。於一些具體例中，將電腦化之比對方法用以鑑定出現於具有已知結構及/或功能之其他蛋白質中之序列基序或預測之蛋白質構形域。鑑定折疊成已知三維結構之蛋白質序列之方法為已知的，例如，如Bowie et al., Science 253:164 (1991)中所述。因此，前述實施例證明發明所屬技術領域中的技術人員可辨識可用以定義根據本揭露之域和功能域的序列基序和結構構形。

【0047】合適的胺基酸取代包括彼等：(1)改變對蛋白水解之易感性，(2)降低對氧化之易感性，(3)改變形成蛋白質複合物之結合親和力，(4)改變結合親和力，以及(5)賦予或修飾此類類似物之其他物理化學或功能性質。類似物可包括除天然存在的肽序列之外的序列的各種突變蛋白。例如，可在天然存在的序列中(例如，在形成分子間接觸的(多個)域之外的多肽部分中)進行單個或多個胺基酸取代(例如，保守性胺基酸取代)。保守性胺基酸取代不應實質上改變母序列(parent sequence)的結構特性(例如，胺基酸之替換不應傾向於斷裂母序列中出現的螺旋，或破

壞表徵母序列的其他類型的二級結構)。發明所屬技術領域中公認的多肽二級和三級結構係描述於Proteins, Structures and Molecularprinciples (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984))；Introduction to Protein Structure (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, New York (1991))；以及Thornton et al. Nature 354:105(1991)。

【0048】術語「樣本」旨在包括從個體單離之組織、細胞以及生物流體，以及個體體內存在的組織、細胞以及流體。因此，術語「樣本」的使用為血液和血液的一部分(fraction)或成分，包括血清、血漿或淋巴液。

【0049】術語「治療性大分子」是指可向個體投予且具有治療效果之任何蛋白質或核酸。於一些具體例中，治療性大分子可為治療性多核苷酸或治療性多肽，亦即，可於療法中使用之多核苷酸或多核苷酸。

【0050】如本文中所一般提供的，可活化分子可包含(多個)MM-CM構築體，其於本文中亦稱為原域。因此，如本文中所用，術語「原域」是指包含遮蔽部分(MM)和可切割部分(CM)之多肽域。於一些具體例中，MM和CM係由本文中稱為LP1之連接子分開。於一些具體例中，原域包含將原域之CM連接至可活化分子中之活性部分(AM)的連接子(本文中稱為LP2)。於一些具體例中，原域包含MM和CM之間的連接子以及CM和AM之間的連接子。於一些具體例中，MM和CM不被連接子分開。於某些具體例中，

原域包含下列式之一(其中下式表示N端至C端方向或C端至N端方向之胺基酸序列)：MM-LP1-CM、MM-CM-LP2、MM-LP1-CM-LP2或MM-CM。如本文中所用且除非另有說明，否則可活化分子之組分之間的各破折號(-)表示直接鍵聯或經由一或多個連接肽之間接鍵聯。

可切割部分

【0051】蛋白酶涉及數種生理程序之控制，並且已於許多病理(諸如，例如，腫瘤、心血管、自體免疫以及神經退行性疾病)中辨識其失調。參見，例如，O. Vasiljeva, et al., "Monitoring protease activity in biological tissues using antibody prodrugs as sensing probes," *Scientific Reports*, 10, 5894 (2020)；O. Erster, et al., "Site-specific targeting of antibody activity in vivo mediated by disease-associated proteases," *J. Control Release*, 161(3):804-812 (2012)；L. Desnoyers, et al., "Tumor-specific activation of an EGFR-targeting probody enhances therapeutic index," *Science Translational Medicine*, 5(207):207ra144 (2013)；以及B. Turk "Targeting proteases: successes, failures and future prospects" Nature Reviews Drug Discovery, 5 (2006)。文獻中已描述經天然蛋白酶活化的蛋白酶活化之抗體，當其與正常組織相比時，在例如腫瘤組織等中更普遍具有活性。此等前藥已於其結構中併入蛋白酶受質，該蛋白酶受質在暴露於適當的蛋白酶以及其隨後的切割後釋

放活性藥物。然而，顯而易見的是，患病組織中的失調之蛋白酶活性的概況可因疾病組織/病症而彼此不同。因此，有一組靶向各種不同蛋白酶活性概況之受質係所欲的。

【0052】於一些態樣中，本揭露提供可切割部分，其對基質金屬蛋白酶(MMP)(例如，MMP2、MMP9或MMP14)展現增強之切割率。於某些態樣中，某些蛋白酶(例如，MMP)選擇性地切割可切割部分，但另一種蛋白酶具有降低的或無切割率。於一些態樣中，健康組織中之可切割部分對蛋白酶切割之抗性可降低全身性毒性，其係藉由限制可活化分子與標靶(亦可存在於健康組織中)之結合。因此，具有一些蛋白酶之選擇性的可切割性及對其他蛋白酶有抗性之可切割部分有展現更大的治療窗和安全性概況，並且於健康組織中有較低的靶向毒性之潛力。

【0053】於特定態樣中，本揭露提供包含可切割部分(CM)之多肽(例如，單離之多肽)。CM為包含序列特異性蛋白酶之受質的多肽。於一些態樣中，本揭露提供包含CM和活性部分之多肽和多肽複合物。

【0054】於一些具體例中，CM包含SEQ ID NO：1之胺基酸序列。於一些具體例中，CM包含SEQ ID NO：2之胺基酸序列。於一些具體例中，CM包含SEQ ID NO：3之胺基酸序列。於一些具體例中，CM包含SEQ ID NO：4之胺基酸序列。於一些具體例中，CM包含SEQ ID NO：5之胺基酸序列。於一些具體例中，CM包含SEQ ID NO：6之

胺基酸序列。於一些具體例中，CM包含SEQ ID NO：7之胺基酸序列。於一些具體例中，CM包含SEQ ID NO：8之胺基酸序列。於一些具體例中，CM包含SEQ ID NO：9之胺基酸序列。於一些具體例中，CM包含SEQ ID NO：10之胺基酸序列。於一些具體例中，CM包含SEQ ID NO：11之胺基酸序列。於一些具體例中，CM包含SEQ ID NO：12之胺基酸序列。於一些具體例中，CM包含SEQ ID NO：13之胺基酸序列。於一些具體例中，CM包含SEQ ID NO：14之胺基酸序列。

【0055】於一些具體例中，CM包含SEQ ID NO：1至14中之任一者之胺基酸序列之組合、C端截短變體、C端延伸變體、N端截短變體或N端延伸變體。適合用於CM之前述胺基酸序列之截短變體可為任何保留相應的蛋白酶之辨識位點者。此等包括C端及/或N端截短變體，其包含保留蛋白酶之辨識位點的前述胺基酸序列之至少1、2、3、4、5或更多個鄰接的胺基酸。於某些具體例中，截短變體包含來自選自由SEQ ID NO：1至14所組成之群組之胺基酸序列的一個胺基酸殘基之C端刪除及/或N端刪除。適用於CM之前述胺基酸序列的延伸變體可為任何具有一或多個(例如，1、2、3、4、5或更多個)額外的胺基酸，且保留相應的蛋白酶的辨識位點者。於一些實例中，額外的胺基酸與前述胺基酸序列之C端偶合。於一些實例中，額外的胺基酸與前述胺基酸序列之N端偶合。於一些實例中，延伸變體可包含與前述胺基酸序列之C端和N端兩者偶合之

額外的胺基酸。於一些情況下，C端或N端延伸變體可具有C端甘胺酸或N端絲胺酸胺基酸。

【0056】於一些具體例中，除了SEQ ID NO：1至14中之任一者之胺基酸序列之外，CM進一步包含一、二、三、四、五、六或更多個胺基酸。於一些實例中，CM包含在SEQ ID NO：1至14中之任一者之胺基酸序列之N端的一、二、三、四、五、六或更多個額外的胺基酸。於一些實例中，CM包含在SEQ ID NO：1至14中之任一者之胺基酸序列之C端的一、二、三、四、五、六或更多個額外的胺基酸。於一些實例中，CM包含在SEQ ID NO：1至14中之任一者之胺基酸序列之N端的一、二、三、四、五、六或更多個額外的胺基酸和C端的一、二、三、四、五、六或更多個額外的胺基酸。

【0057】於一些具體例中，CM包含SEQ ID NO：1至14中任一者之胺基酸序列的具有一或多個胺基酸之突變的序列。例如，CM包含SEQ ID NO：1至14中任一者之胺基酸序列的具有一胺基酸、二胺基酸、三胺基酸、四胺基酸或五胺基酸突變之序列。於一些具體例中，CM包含選自由SEQ ID NO：1至14所組成之群組且具有一個保守性取代之胺基酸序列。

【0058】於一些具體例中，CM係由SEQ ID NO：1之胺基酸序列所組成。於一些具體例中，CM係由SEQ ID NO：2之胺基酸序列所組成。於一些具體例中，CM係由SEQ ID NO：3之胺基酸序列所組成。於一些具體例中，

CM係由SEQ ID NO：4之胺基酸序列所組成。於一些具體例中，CM係由SEQ ID NO：5之胺基酸序列所組成。於一些具體例中，CM係由SEQ ID NO：6之胺基酸序列所組成。於一些具體例中，CM係由SEQ ID NO：7之胺基酸序列所組成。於一些具體例中，CM係由SEQ ID NO：8之胺基酸序列所組成。於一些具體例中，CM係由SEQ ID NO：9之胺基酸序列所組成。於一些具體例中，CM係由SEQ ID NO：10之胺基酸序列所組成。於一些具體例中，CM係由SEQ ID NO：11之胺基酸序列所組成。於一些具體例中，CM係由SEQ ID NO：12之胺基酸序列所組成。於一些具體例中，CM係由SEQ ID NO：13之胺基酸序列所組成。於一些具體例中，CM係由SEQ ID NO：14之胺基酸序列所組成。

【0059】於一些具體例中，CM係由SEQ ID NO：1至14中任一者之胺基酸序列的具有一或多個胺基酸之突變的序列所組成。例如，CM係由SEQ ID NO：1至14中任一者之胺基酸序列的具有一胺基酸、二胺基酸、三胺基酸、四胺基酸或五胺基酸突變的序列所組成。

【0060】於一些具體例中，CM包含總共3個胺基酸至25個胺基酸。例如，CM可包含總共3至25、3至20、3至15、3至10、3至5、5至25、5至20、5至15、5至10、10至25、10至20、10至15、15至25、15至20或20至25個胺基酸。於一些具體例中，CM係由總共3個胺基酸至25個胺基酸所組成。例如，CM可由總共3至25、3至20、3至15、3

至10、3至5、5至25、5至20、5至15、5至10、10至25、10至20、10至15、15至25、15至20或20至25個胺基酸所組成。

[0061] 蛋白酶(例如，MMP，諸如，MMP2、MMP9或MMP14)可以所欲速率特異性地切割CM。如WO2016118629(其係以引用方式整體納入)中所揭示，該速率可以受質切割動力學(k_{cat}/K_M)測量。簡而言之，k_{cat}為轉換數，並且描述蛋白酶於每個單位時間將多少個受質分子轉化成產物。K_M值描述受質與蛋白酶之活性位點的親和力。k_{cat}/K_M比率提供蛋白酶對受質之切割率測量值。一般而言，該比率越大，則切割速率越高；反之，該比率越低，則切割速率越慢。k_{cat}/K_M值可用以下等式確定

$$\frac{k_{cat}}{K_M} = -\ln(1-C)/(t*p)$$

式中C為產物轉換率，t為時間(s)，p為蛋白酶濃度(M)，其係假設受質濃度比K_M低且超過蛋白酶濃度。

[0062] 於一些典型實例中，CM係由MMP以具有1x10至1×10^6 $M^{-1}s^{-1}$，例如，1x10至5x10、5x10至1×10^2、1×10^2至5×10^2、5×10^2至1×10^3、1×10^3至5×10^3、5×10^3至1×10^4、1×10^4至5×10^4、5×10^4至1×10^5、1×10^5至5×10^5或5×10^5至1×10^6 $M^{-1}s^{-1}$之k_{cat}/K_M值的速率切割。於一些典型實例中，CM係由MMP以具有至少1x10、至少5x10、至少1×10^2、至少5×10^2、至少1×10^3、5×10^3、至少1×10^4、至少5×10^4、至少1×10^5、至少5×10^5或至少1×10^6之k_{cat}/K_M值的速率切割。

【0063】於一些具體例中，CM係由MMP2以具有1×10至1×10^6 $M^{-1}s^{-1}$，例如，1×10至5×10、5×10至1×10^2、1×10^2至5×10^2、5×10^2至1×10^3、1×10^3至5×10^3、5×10^3至1×10^4、1×10^4至5×10^4、5×10^4至1×10^5、1×10^5至5×10^5或5×10^5至1×10^6 $M^{-1}s^{-1}$之k_{cat}/K_M值的速率切割。於一些具體例中，CM係由MMP2以具有至少1×10、至少5×10、至少1×10^2、至少5×10^2、至少1×10^3、5×10^3、至少1×10^4、至少5×10^4、至少1×10^5、至少5×10^5或至少1×10^6之k_{cat}/K_M值的速率切割。

【0064】於一些具體例中，CM係由MMP9以具有1×10至1×10^6 $M^{-1}s^{-1}$，例如，1×10至5×10、5×10至1×10^2、1×10^2至5×10^2、5×10^2至1×10^3、1×10^3至5×10^3、5×10^3至1×10^4、1×10^4至5×10^4、5×10^4至1×10^5、1×10^5至5×10^5或5×10^5至1×10^6 $M^{-1}s^{-1}$之k_{cat}/K_M值的速率切割。於一些具體例中，CM係由MMP9以具有至少1×10、至少5×10、至少1×10^2、至少5×10^2、至少1×10^3、5×10^3、至少1×10^4、至少5×10^4、至少1×10^5、至少5×10^5或至少1×10^6之k_{cat}/K_M值的速率切割。

【0065】於一些具體例中，CM係由MMP14以具有1×10至1×10^6 $M^{-1}s^{-1}$，例如，1×10至5×10、5×10至1×10^2、1×10^2至5×10^2、5×10^2至1×10^3、1×10^3至5×10^3、5×10^3至1×10^4、1×10^4至5×10^4、5×10^4至1×10^5、1×10^5至5×10^5或5×10^5至1×10^6 $M^{-1}s^{-1}$之k_{cat}/K_M值的速率切割。於一些具體例中，CM係由MMP14以具有至少1×10、至少5×10、至少1×10^2、至少5×10^2、至少1×10^3、5×10^3、至少1×10^4、至少5×10^4、至少1×10^5、至少5×10^5或至少1×10^6之k_{cat}/K_M值的速率切

割。

【0066】於一些具體例中，CM之切割率係呈現為切割之CM(或包含CM之多肽)之部分的百分比，例如，如實施例2所述的毛細管電泳測定法中所測定的。於一些實例中，蛋白酶(例如，MMP)對CM之切割率為至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%或100%。於一些實例中，當500 nM含有具有被測試之CM之原域的可活化抗體c225與10 nM的MMP2於37℃下培養1.5小時，MMP2對CM之切割率為至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%或100%。於一些實例中，當500 nM含有具有被測試之CM之原域的可活化抗體c225與10 nM的MMP9於37℃下培養1.5小時，MMP9對CM之切割率為至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%或100%。於一些實例中，當500 nM含有具有被測試之CM之原域的可活化抗體c225與10 nM的MMP14於37℃下培養1.5小時，MMP14對CM之切割率為至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%或100%。

【0067】於一些具體例中，為了酶之特異性切割，在酶和CM之間進行接觸。當含有CM之多肽(例如，包含與MM和CM偶合之AM的可活化分子)係於標靶和足夠的蛋白酶活性之存在下，可切割CM。足夠的蛋白酶活性是指蛋白酶接近CM且實現切割的能力。

【0068】於一些具體例中，根據本揭露之CM和參考

多肽可由相同的蛋白酶(例如，MMP)切割，但與參考多肽相比，根據本揭露之CM在某些組織中具有降低之原位切割或對原位切割(例如，由MMP2、MMP9以及MMP14除外之(多種)不同的蛋白酶)之抗性。例如，與參考多肽之切割相比，CM之組織或包含組織或細胞之樣本中之原位切割(例如，由與MMP(諸如，MMP2、MMP9以及MMP14)不同的蛋白酶)可小於99%、小於95%、小於90%、小於80%、小於70%、小於60%、小於50%、小於40%、小於30%、小於20%、小於10%、小於5% 或小於1%。對蛋白酶或包含蛋白酶之樣本或組織切割有抗性之CM是指(i)其中蛋白酶沒有水解肽鍵，或當在包含蛋白酶之樣本或組織中培養時沒有水解肽鍵之CM，或(ii)其中與參考CM相比，由蛋白酶水解之肽鍵的水平降低，或當在包含蛋白酶之樣本或組織中培養時水解之肽鍵的水平降低之CM。

【0069】於一些具體例中，CM可由超過一種蛋白酶切割。例如，CM可由一或多種MMP(例如，MMP2、MMP9及/或MMP14)和第二或多種額外的蛋白酶切割。額外的蛋白酶之實例可為任何一或多種下列蛋白酶：去整合素和金屬蛋白酶(ADAM)、ADAM樣或具有血小板活化素(thrombospondin)基序(ADAMTS，諸如，例如，ADAM8、ADAM9、ADAM10、ADAM12、ADAM15、ADAM17/TACE、ADAMDEC1、ADAMTS1、ADAMTS4、ADAMTS5)之去整合素和金屬蛋白酶；天冬胺酸蛋白酶(諸如，例如，BACE、腎素等)；天冬胺酸組織蛋白酶(諸

如，例如，組織蛋白酶D、組織蛋白酶E等)；半胱天冬酶(Caspase)(例如，半胱天冬酶1、半胱天冬酶2、半胱天冬酶3、半胱天冬酶4、半胱天冬酶5、半胱天冬酶6、半胱天冬酶7、半胱天冬酶8、半胱天冬酶9、半胱天冬酶10、半胱天冬酶14等)；半胱胺酸組織蛋白酶(諸如，例如，組織蛋白酶B、組織蛋白酶C、組織蛋白酶K、組織蛋白酶L、組織蛋白酶S、組織蛋白酶V/L2、組織蛋白酶X/Z/P)；半胱胺酸蛋白酶(諸如，例如，克魯氏蛋白酶(Cruzipain)、天冬醯胺酸內肽酶(Legumain)、卵巢腫瘤域泛素醛結合蛋白-2(Otubain-2)等)；胰舒血管素相關肽酶(KLK)(諸如，例如，KLK4、KLK5、KLK6、KLK7、KLK8、KLK10、KLK11、KLK13、KLK14等)；金屬蛋白酶(諸如，例如，腎組織金屬內肽酶(Meprin)、中性內肽酶(Neprilysin)、前列腺特異膜抗原(PSMA)、骨形態演發蛋白(BMP-1)等)；基質金屬蛋白酶(MMP，諸如，例如，MMP1、MMP2、MMP3、MMP7、MMP8、MMP9、MMP10、MMP11、MMP12、MMP13、MMP14、MMP15、MMP16、MMP17、MMP19、MMP20、MMP23、MMP24、MMP26或MMP27等)；絲胺酸蛋白酶(諸如，例如，活化蛋白C、組織蛋白酶A、組織蛋白酶G、凝乳酶(Chymase)、凝血因子蛋白酶(諸如，例如，FVIIa、FIXa、FXa、FXIa、FXIIa等)、彈性蛋白酶(elastase)、顆粒酶B、胍基苯甲酸蛋白酶(Guanidinobenzoatase)、HtrA1、蛋白酶3、嗜中性球彈性蛋白酶、嗜中性球絲胺酸蛋白酶4(NSP4)、乳鐵蛋白

(Lactoferrin)、胰蛋白酶型絲胺酸肽酶(Marapsin)、NS3/4A、PACE4、胞漿素、前列腺特異性抗原(PSA)、組織胞漿素原活化物(tPA)、凝血酶、類胰蛋白酶(Tryptase)、尿激酶型胞漿素原活化物(uPA)；II型跨膜絲胺酸蛋白酶(TTSP)(諸如，例如，DESC1、DPP-4、FAP、肝細胞跨膜絲胺酸蛋白酶(Hepsin)、間質蛋白酶-2(Matriptase-2)、MT-SP1/間質蛋白酶、TMPRSS2、TMPRSS3、TMPRSS4、TMPRSS5、TMPRSS6、TMPRSS7、TMPRSS8、TMPRSS9、TMPRSS10、TMPRSS11等)等。具體的受質係描述於，例如，WO 2010/081173、WO 2015/048329、WO 2015/116933以及WO 2016/118629中，其各自係以引用方式整體納入本文中。

可活化分子

【0070】於一些具體例中，包含CM之多肽或多肽複合物為可活化分子。可活化分子可包含與標靶特異性地結合之活性部分(AM)。AM可與CM偶合。於一些具體例中，可活化分子包含經由CM與AM偶合之遮蔽部分(MM)。

【0071】多肽或多肽複合物(例如，可活化分子)中之兩個組分的偶合可為直接或間接的。當兩個組分直接偶合時，一個組分之C端的胺基酸殘基與另一個組分之N端的胺基酸殘基形成肽鍵。當兩個組分間接偶合時，兩個組分之間有一段胺基酸。於一些實例中，多肽之兩個組分可經由多肽中之一或多個其他組分間接偶合，亦即，一或多個

其他組分係在兩個偶合之組分之間。對於經由另一個組分間接偶合或連接，一或多個其他組分可為連接子、(多個)AM、(多個)CM、(多個)MM或其任何組合。

【0072】如本文中所用，術語「可活化分子」是指包含至少一組MM、CM以及AM之分子，並且其與包含相同AM之對應的「活化之」分子與相同標靶之結合相比，展現與標靶之減弱的結合。術語「活化之分子」和「切割之可活化分子」在本文中可互換地使用，是指將可活化分子暴露於CM特異性蛋白酶後(亦即，在CM係由至少一種蛋白酶切割之後)所產生的含有AM之切割產物。於一些具體例中，由於CM之切割(例如，由蛋白酶)，切割之可活化分子可能缺少MM，導致MM之釋放。

【0073】AM可為任何與標靶特異性地結合之多肽。於一些實例中，AM可為治療性大分子。於一些實例中，AM可為抗體或抗原結合片段。於一些實例中，AM可為抗腫瘤大分子。於一些實例中，AM可為細胞介素。於一些實例中，AM可為嵌合抗原受體。

【0074】於一些實例中，AM可為診斷性大分子。例如，診斷性大分子可為具有3至30、5至25、7至20或9至15個胺基酸長之診斷性多肽。此類診斷性多肽可在非限制性態樣中使用，例如，用於測試組織中之切割及/或評估組織微環境。

【0075】如本文中所用，術語「特異性結合」和「特異性地結合」是指AM與其標靶(AM 對其特異)(例如，免

疫球蛋白分子與抗原或細胞介素以與其受體)之間出現的類型之非共價交互作用。結合交互作用之強度或親和力可用交互作用之解離常數(K_d)表達，其中較小的K_d表示較大的親和力。除非另有說明，否則本文中所用的「親和力」是指內在結合親和力，其反映AM成員與其標靶之間的1:1之交互作用。親和力可由發明所屬技術領域中已知的常用方法測量，包括彼等本文中所述者。例如，可使用表面電漿子共振(SPR)技術(例如，BIACORE®)或生物層干涉術(例如，FORTEBIO®)測定親和力。用於測定AM以及其標靶之親和力的額外方法為發明所屬技術領域中已知的。發明所屬技術領域中眾所周知的方法可用以定量所選多肽之免疫學結合性質。一種此類方法需要測量抗原結合位點/抗原複合物形成和解離之速率，其中彼等速率取決於複合物配偶體之濃度、交互作用之親和力以及在兩個方向同等地影響速率之幾何參數。因此，「結合速率常數(on rate constant)」(K_{on})和「解離速率常數(off rate constant)」(K_{off})均可藉由計算濃度以及結合和解離的實際速率而測定。(參見Nature 361:186-87(1993))。K_{off}/K_{on}之比率可抵消所有與親和力無關之參數，並且等於解離常數K_d(一般參見Davies et al. (1990) Annual Rev Biochem 59:439-473)。如本文中所用，AM與其標靶「特異性地結合」之陳述是指AM以小於100 μM(例如，小於5 μM或10 μM)之解離常數(K_d)結合其標靶。於一些實例中，AM以約0.01 nM至約500 nM之K_d特異地性結合其標靶。於一些實例中，如

由諸如放射性配體結合測定法或發明所屬技術領域中的技術人員已知的類似測定法所測量，當平衡結合常數(K_d)≤1 μM，於一些具體例中≤100 nM，於一些具體例中≤10 nM，以及於一些具體例中≤100 pM至約1 pM時，AM被認為與標靶特異性地結合。

【0076】一般而言，可活化分子可藉由選擇感興趣的AM且構築可活化分子之其餘部分而設計，以便當構形受限時，MM提供AM之遮蔽或AM與其標靶之結合降低。可考慮結構設計標準以提供此功能特徵。

【0077】可活化分子可以各種結構組態提供。以下提供可活化分子之例示性式。考慮AM、MM以及CM之N端到C端的順序可在可活化分子內反轉。例如，可活化分子可由下列式所示(按照胺基(N)端區域到羧基(C)端區域的順序)：

MM-CM-AM

AM-CM-MM

如本文中所用且除非另有說明，否則可活化分子之組分之間的各破折號(-)表示直接鍵聯或經由一或多個連接子之間接鍵聯。應注意的是，雖然MM和CM在上式中被註明為不同之組分，在本文中所揭示之所有例示性具體例(包括式)中，考慮MM和CM之胺基酸序列可重疊，例如，使得CM完全或部分含在MM內。另外，上式提供可位於可活化分子組分之N端或C端之額外的胺基酸序列。實例包括靶向部分(例如，標靶組織中存在的細胞受體之配體)和半

衰期延長部分。

【0078】於一些具體例中，MM、CM及/或AM係經由一或多個連接子(例如，連接肽(LP))間接偶合。例如，可活化分子可包含下式之一(按照胺基(N)端區域到羧基(C)端區域的順序)：

MM-LP-CM-AM

MM-CM-LP-AM

MM-LP1-CM-LP2-AM

AM-LP-CM-MM

AM-CM-LP-MM

AM-LP2-CM-LP1-MM

其中LP1和LP2為兩個連接肽。於一些實例中，LP1和LP2彼此相同。於一些實例中，LP1和LP2彼此不相同。

【0079】於一些具體例中，可活化分子包含複數個CM，其中至少一者包含SEQ ID NO：1至14中之任一者之序列。例如，包含SEQ ID NO：1至14中之任一者之序列之CM可工程改造成具有複數個CM之較長切割受質。可活化分子中不為包含SEQ ID NO：1至14中之任一者之序列的CM之(多個)額外的CM之實例包括彼等描述於WO2010/081173、WO2021207669、WO2021207657、WO2021142029、WO2021061867、WO2020252349、WO2020252358、WO2020236679、WO2020176672、WO2020118109、WO2020092881、WO2020086665、WO2019213444、WO2019183218、WO2019173771、

WO2019165143、WO2019075405、WO2019046652、WO2019018828、WO2019014586、WO2018222949、WO2018165619、WO2018085555、WO2017011580、WO2016179335、WO2016179285、WO2016179257、WO2016149201、WO2016014974中者，其係出於所有目的以引用方式整體納入本文中。於一些實例中，可由天冬醯胺酸內肽酶切割一或多個額外的CM。於一些實例中，可由天冬醯胺酸內肽酶切割之CM可包含SEQ ID NO：1至14中之任一者之序列以及N端或C端之天冬醯胺酸(Asn)殘基。

【0080】於一些具體例中，受質包含可由第一蛋白酶切割之CM1和可由第二蛋白酶切割之CM2。於一些具體例中，受質包含可由第一蛋白酶切割之CM1、可由第二蛋白酶切割之CM2以及可由第三蛋白酶切割之CM3。於一些具體例中，受質包含可由第一蛋白酶切割之CM1、可由第二蛋白酶切割之CM2、可由第三蛋白酶切割之CM3以及可由第四蛋白酶切割之CM4。

【0081】於一些具體例中，可活化分子包含從N端到C端之結構排列如下：MM-CM1-CM2-AM、MM-CM2-CM1-AM、AM-CM1-CM2-MM或AM-CM2-CM1-MM、MM-CM2-CM1-CM3-AM、MM-CM1-CM2-CM3-AM、MM-CM1-CM3-CM2-AM、MM-CM3-CM1-CM2-AM或MM-CM3-CM2-CM1-AM。同樣地，CM4可插入MM和AM之間的任何位置。

【0082】於一些具體例中，可活化分子包含連接肽(LP)，以及其中該可活化分子具有從N端到C端之結構排列如下：MM-LP-CM1-CM2-AM、MM-CM1-CM2-LP-AM、MM-LP-CM2-CM1-AM、MM-CM2-CM1-LP-AM、MM-LP-CM2-CM1-CM3-AM、MM-LP-CM1-CM2-CM3-AM、MM-LP-CM1-CM3-CM2-AM、MM-LP-CM3-CM1-CM2-AM、MM-LP-CM3-CM2-CM1-AM、MM-CM2-CM1-CM3-LP-AM、MM-CM1-CM2-CM3-LP-AM、MM-CM1-CM3-CM2-LP-AM、MM-CM3-CM1-CM2-LP-AM 或 MM-CM3-CM2-CM1-LP-AM。同樣地，CM4可插入MM和AM之間的任何位置。

【0083】於一些具體例中，可活化分子包含第一連接肽(LP1)和第二連接肽(LP2)，以及其中該可活化分子具有從N端到C端之結構排列如下：MM-LP1-CM1-CM2-LP2-AM、MM-LP1-CM2-CM1-LP2-AM、AM-LP2-CM1-CM2-LP1-MM 或 AM-LP2-CM2-CM1-LP1-MM、MM-LP1-CM2-CM1-CM3-LP2-AM、MM-LP1-CM1-CM2-CM3-LP2-AM、MM-LP1-CM1-CM3-CM2-LP2-AM、MM-LP1-CM3-CM1-CM2-LP2-AM、MM-LP1-CM3-CM2-CM1-LP2-AM、MM-LP2-CM2-CM1-CM3-LP1-AM、MM-LP2-CM1-CM2-CM3-LP1-AM、MM-LP2-CM1-CM3-CM2-LP1-AM、MM-LP2-CM3-CM1-CM2-LP1-AM 或 MM-LP2-CM3-CM2-CM1-LP1-AM。同樣地，CM4可插入MM和AM之間的任何位置。

【0084】於一些具體例中，可活化分子包含額外的連

接肽(LP3)，以及其中該可活化分子具有從N端到C端之結構排列如下：MM-LP-CM1-LP3-CM2-AM、MM-CM1-LP3-CM2-LP-AM、MM-LP-CM2-LP3-CM1-AM、MM-CM2-LP3-CM1-LP-AM、MM-LP-CM2-LP3-CM1-CM3-AM、MM-LP-CM1-LP3-CM2-CM3-AM、MM-LP-CM1-LP3-CM3-CM2-AM、MM-LP-CM3-LP3-CM1-CM2-AM、MM-LP-CM3-LP3-CM2-CM1-AM、MM-CM2-LP3-CM1-CM3-LP-AM、MM-CM1-LP3-CM2-CM3-LP-AM、MM-CM1-LP3-CM3-CM2-LP-AM、MM-CM3-LP3-CM1-CM2-LP-AM、MM-CM3-LP3-CM2-CM1-LP-AM、MM-LP-CM2-CM1-LP3-CM3-AM、MM-LP-CM1-CM2-LP3-CM3-AM、MM-LP-CM1-CM3-LP3-CM2-AM、MM-LP-CM3-CM1-LP3-CM2-AM、MM-LP-CM3-CM2-LP3-CM1-AM、MM-CM2-CM1-LP3-CM3-LP-AM、MM-CM1-CM2-LP3-CM3-LP-AM、MM-CM1-CM3-LP3-CM2-LP-AM、MM-CM3-CM1-LP3-CM2-LP-AM、MM-CM3-CM2-LP3-CM1-LP-AM、MM-LP1-CM1-LP3-CM2-LP2-AM、MM-LP1-CM2-LP3-CM1-LP2-AM、AM-LP1-CM1-LP3-CM2-LP2-MM 或 AM-LP1-CM2-LP3-CM1-LP2-MM、MM-LP1-CM2-LP3-CM1-CM3-LP2-AM、MM-LP1-CM1-LP3-CM2-CM3-LP2-AM、MM-LP1-CM1-LP3-CM3-CM2-LP2-AM、MM-LP1-CM3-LP3-CM1-CM2-LP2-AM、MM-LP1-CM3-LP3-CM2-CM1-LP2-AM、MM-LP2-CM2-LP3-CM1-CM3-LP1-AM、MM-LP2-CM1-LP3-CM2-CM3-LP1-AM、MM-LP2-CM1-LP3-CM3-CM2-LP1-AM、MM-

LP2-CM3-LP3-CM1-CM2-LP1-AM 或 MM-LP2-CM3-LP3-CM2-CM1-LP1-AM。同樣地，CM4可插入MM和AM之間的任何位置。

【0085】於一些具體例中，可活化分子具有從N端到C端之結構排列如下：MM-LP-CM2-LP3-CM1-LP4-CM3-AM、MM-LP-CM1-LP3-CM2-LP4-CM3-AM、MM-LP-CM1-LP3-CM3-LP4-CM2-AM、MM-LP-CM3-LP3-CM1-LP4-CM2-AM、MM-LP-CM3-LP3-CM2-LP4-CM1-AM、MM-CM2-LP3-CM1-LP4-CM3-LP-AM、MM-CM1-LP3-CM2-LP4-CM3-LP-AM、MM-CM1-LP3-CM3-LP4-CM2-LP-AM、MM-CM3-LP3-CM1-LP4-CM2-LP-AM、MM-CM3-LP3-CM2-LP4-CM1-LP-AM、MM-LP-CM2-LP4-CM1-LP3-CM3-AM、MM-LP-CM1-LP4-CM2-LP3-CM3-AM、MM-LP-CM1-LP4-CM3-LP3-CM2-AM、MM-LP-CM3-LP4-CM1-LP3-CM2-AM、MM-LP-CM3-LP4-CM2-LP3-CM1-AM、MM-CM2-LP4-CM1-LP3-CM3-LP-AM、MM-CM1-LP4-CM2-LP3-CM3-LP-AM、MM-CM1-LP4-CM3-LP3-CM2-LP-AM、MM-CM3-LP4-CM1-LP3-CM2-LP-AM、MM-CM3-LP4-CM2-LP3-CM1-LP-AM、MM-LP1-CM2-LP3-CM1-LP4-CM3-LP2-AM、MM-LP1-CM1-LP3-CM2-LP4-CM3-LP2-AM、MM-LP1-CM1-LP3-CM3-LP4-CM2-LP2-AM、MM-LP1-CM3-LP3-CM1-LP4-CM2-LP2-AM、MM-LP1-CM3-LP3-CM2-LP4-CM1-LP2-AM、MM-LP2-CM2-LP3-CM1-LP4-CM3-LP1-AM、MM-LP2-CM1-LP3-CM2-LP4-CM3-

LP1-AM、MM-LP2-CM1-LP3-CM3-LP4-CM2-LP1-AM、MM-LP2-CM3-LP3-CM1-LP4-CM2-LP1-AM或MM-LP2-CM3-LP3-CM2-LP4-CM1-LP1-AM。同樣地，CM4可插入MM和AM之間的任何位置。

【0086】於一些具體例中，於前述結構排列中，CM1包含SEQ ID NO：1至14中之任一者之序列。替代地或另外，於一些具體例中，於前述結構排列中，CM2包含SEQ ID NO：1至14中之任一者之序列。替代地或另外，於一些具體例中，於前述結構排列中，CM3包含SEQ ID NO：1至14中之任一者之序列。

【0087】於可活化分子包含複數個CM之一些具體例中，受質中之第一CM的至少一部分與第二CM的至少一部分重疊，使得受質中之一或多個胺基酸屬於兩個CM。例如，具有序列$X_1X_2X_3X_4X_5X_6$(各X為胺基酸)之受質可包含重疊的CM1和CM2，其中CM1為$X_1X_2X_3X_4$且CM2為$X_3X_4X_5X_6$。

【0088】於可活化分子包含複數個CM之一些具體例中，兩個CM在胺基酸序列上不重疊，使得受質中沒有胺基酸屬於兩個CM。例如，具有序列$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$(各X為胺基酸)之受質可包含不重疊的CM1和CM2，其中CM1為$X_1X_2X_3X_4$且CM2為$X_5X_6X_7X_8$。於一些具體例中，不重疊的CM1和CM2直接偶合。於一些具體例中，不重疊的CM1和CM2間接偶合(例如，經由連接肽)。

【0089】於一些具體例中，受質中之兩個CM(例如，

CM1和CM2)具有從N端到C端之結構排列為CM1-CM2。於一些具體例中，受質中之兩個CM(例如，CM1和CM2)具有從N端到C端之結構排列為CM2-CM1。如本文中所用，式CM1-CM2或CM2-CM1中之CM1和CM2可為重疊的CM1和CM2、直接偶合之不重疊的CM1和CM2或間接偶合(例如，經由連接肽)之不重疊的CM1和CM2。

【0090】於一些具體例中，受質中之兩個CM(例如，CM2或CM4和CM3或CM4)具有從N端到C端之結構排列為CM2-CM3、CM2-CM4或CM3-CM4。於一些具體例中，受質中之兩個CM(例如，CM2和CM3)具有從N端到C端之結構排列為CM3-CM2或CM4-CM2或CM4-CM3。如本文中所用，式CM2-CM3或CM3-CM2中之CM2和CM3可為重疊的CM2和CM3、直接偶合之不重疊的CM2和CM3或間接偶合(例如，經由連接肽)之不重疊的CM2和CM3。如本文中所用，式CM2-CM4或CM4-CM2中之CM2和CM4可為重疊的CM2和CM4、直接偶合之不重疊的CM2和CM4或間接偶合(例如，經由連接肽)之不重疊的CM2和CM4。如本文中所用，式CM4-CM3或CM3-CM4中之CM4和CM3可為重疊的CM4和CM3、直接偶合之不重疊的CM4和CM3或間接偶合(例如，經由連接肽)之不重疊的CM4和CM3。

抗體和抗原結合片段

【0091】於一些具體例中，AM為抗體或其抗原結合片段。術語「抗體」在本文中係以其最廣泛的含義使用且

包括某些類型的免疫球蛋白分子，該等免疫球蛋白分子包括與抗原或表位特異性地結合之一或多個標靶結合域。抗體之實例包括完整抗體(例如，完整免疫球蛋白)、抗體片段、雙特異性及多特異性抗體。標靶結合域之一個實例係由V_H-V_L二聚體所形成。本文中描述抗體之其他實例。抗體之額外的實例為發明所屬技術領域中已知的。

【0092】「輕鏈」包括一個可變域(VL)和一個恆定域(CL)。有兩種不同的輕鏈，稱為卡帕或拉目達(lambda)。「重鏈」係由一個可變域(VH)和三個恆定區域(CH1、CH2、CH3)所組成。有五種主要的重鏈類別或同型，其中一些具有數種亞型，並且此等亞型決定抗體分子之功能活性。免疫球蛋白之五大類別為免疫球蛋白M(IgM)、免疫球蛋白D(IgD)、免疫球蛋白G(IgG)、免疫球蛋白A(IgA)以及免疫球蛋白E(IgE)。IgG是迄今為止最豐富的免疫球蛋白，並且具有多個亞類(人類的IgG1、IgG2、IgG3以及IgG4)。

【0093】於一些具體例中，抗原結合片段為Fab片段、$F(ab')_2$片段、scFv、scAb、dAb、單域重鏈抗體或單域輕鏈抗體。抗原結合片段之額外的實例包括VH域、VHH域、VNAR域和單鏈可變片段(scFv)、BiTE或其組分、$(scFv)_2$、NANOBODY®、奈米抗體-HSA、VHH-scAb、VHH-Fab、雙scFab、$F(ab')_2$、雙鏈抗體(diabody)、CROSSMAB®、DAF(二合一)、DAE(四合一)、DUTAMAB®、DT-IgG、杵臼(Knobs-Into-Holes，KIH)共

有輕鏈、杵臼組裝、電荷對、Fab臂交換、股交換工程改造之域小體(SEEDbody)、LUZ-Y、FcAb、k1-體(k1-body)、正交Fab、DVD-IgG、IgG(H)-scFv、scFv-(H)IgG、IgG(L)-scFv、scFv-(L)IgG、IgG(L,H)-Fv、IgG(H)-V、V(H)-IgG、IgG(L)-V、V(L)-IgG、KIH IgG-scFab、2scFv-IgG、IgG-2scFv、scFv4-Ig、ZYBODY™、DVI-IgG、雙鏈抗體-CH3、三體(triple body)、微型抗體(miniantibody)、微型體(minibody)、TriBi微型體、scFv-CH3 KIH、Fab-scFv、F(ab')2-scFv2、scFv-KIH、Fab-scFv-Fc、四價HCAb、sc雙鏈抗體-Fc、雙鏈抗體-Fc、串聯scFv-Fc、VHH-Fc、串聯VHH-Fc、L'HH-Fc KiH、Fab-VHH-Fc、胞內抗體(Intrabody)、對接和鎖定、ImmTAC®(針對癌症之免疫動員單株TCR(T細胞受體))、IgG-IgG接合物、Cov-X-體(Cov-X-Body)、scFv1-PEG-scFv2、黏連蛋白(Adnectin)、DARPin®、纖維連接蛋白、IgG、IgM、IgA、IgE、IgD、DEP接合物、TMEAbody™、SAFEbody®、TRITAC®或SHIELD抗體。

【0094】「抗原結合片段」(Fab)包括與重鏈的VH域和CH1域配對的完整輕鏈。當胃蛋白酶在鉸鏈區下方切割(或以其他方式截短)抗體(在此情況下，抗體分子的兩個片段標靶結合域(Fab)維持連接)時，形成$F(ab')_2$片段。$F(ab')_2$片段含有兩個完整的輕鏈，其與由鉸鏈區連結(joined)在一起的重鏈的兩個VH和CH1域配對。「可結晶片段」(Fc)片段(本文中亦稱為F_C域)相應於配對的CH2和

CH3域，並且為與效應分子和細胞交互作用的抗體分子的部分。重鏈同型之間的功能差異主要在於Fc片段。「單鏈可變片段」(scFv)僅含有輕鏈可變域(VL)由一段肽與重鏈可變域(VH)連接。單鏈Fv這名稱是衍生自可變片段。「鉸鏈區」或「域間」為將Fab片段連結或連接至Fc區域之可撓(flexible)胺基酸段。「合成鉸鏈區」為將Fab片段連結或連接至Fc域之胺基酸序列。

【0095】「Fv」片段包括一個重鏈可變域和一個輕鏈可變域之非共價連接之二聚體。「雙可變域免疫球蛋白G」或「DVD-IgG」是指多價和多特異性標靶結合蛋白，其係如例如DiGiammarino et al., Methods Mol. Biol. 899: 145-156, 2012, Jakob et al., MABs 5:358-363, 2013；以及美國專利第7,612,181；8,258,268；8,586,714；8,716,450；8,722,855；8,735,546；以及8,822,645中所述，其各自係以引用方式整體納入。DART之實例係描述於例如Garber, Nature Reviews Drug Discovery 13:799-801, 2014。

【0096】VHH域為可在駱駝科動物中發現的單一單體可變抗體域。VNAR域為可在軟骨魚類中發現的單一單體可變抗體域。VHH域和VNAR域之非限制性態樣係描述於，例如，Cromie et al., Curr. Top. Med. Chem. 15:2543-2557, 2016；De Genst et al. Dev. Comp. Immunol. 30:187-198, 2006；De Meyer et al, Trends Biotechnol 32:263-270, 2014; Kijanka et al., Nanomedicine 10:161-174, 2015；

Kovaleva et al., Expert. Opin. Biol. Ther. 14: 1527-1539, 2014；Krah et al., Immunopharmacol. Immunotoxicol. 38:21-28, 2016；Mujic-Delic et al., Trends Pharmacol. Sci. 35:247-255, 2014；Muyldermans, J. Biotechnol. 74:277-302, 2001, Muyldermans et al., Trends Biocheni. Sci. 26:230-235, 2001;；Muyldermans, Ann. Rev. Biochem. 82:775-797, 2013；Rahbarizadeh et al., Immunol, invest. 40:299-338, 2011；Van Audenhove et al., EBioMedicine 8:40-48, 2016；Van Bockstaele et al., Curr. Opin. Investig. Drugs 10:1212-1224, 2009；Vincke et al. Methods Mol, Biol, 911:15-26, 2012；以及Wesolowski et al. Med. Microbiol. Immunol. 198:157-174, 2009，其各自係以引用方式整體納入。

【0097】於一些具體例中，AM可為小鼠、大鼠、兔、山羊、駱駝、驢、靈長類、人類或人源化或嵌合多肽。於一個實例中，AM可為人類多肽。於一個實例中，AM可為人源化(例如，完全人源化)多肽。

【0098】術語「人源化」指一種AM，其具有包括來自非人類物種(例如，小鼠)中產生的參考蛋白質的VH和VL區序列之胺基酸序列，但亦包括彼等序列中旨在使其更「類似人類」之相對於參考蛋白質的修飾，亦即，更類似人類生殖細胞系可變序列。於一些具體例中，「人源化」AM為與感興趣的抗原免疫特異性地結合，且具有與人類蛋白質之胺基酸序列實質上相同的胺基酸序列之框架

(FR)區以及具有與含有人源化VH和VL區之非人類蛋白質之胺基酸序列實質上相同的胺基酸序列之互補決定區(CDR)者。

【0099】術語「人類多肽」旨在包括具有自人類免疫球蛋白序列產生、組裝或衍生之可變區和恆定區的AM。於一些具體例中，AM可被認為是「人類的」，即使其胺基酸序列包括不由人類生殖細胞系免疫球蛋白序列(例如，於一或多個CDR中)所編碼的殘基或元件(例如，包括序列變異，例如，可能(最初)已由活體外隨機或定點突變或活體內體細胞突變而引入者)。

【0100】抗體和抗原結合片段之實例包括彼等與細胞表面受體和分泌之結合蛋白(例如，生長因子)、可溶性酵素、結構蛋白(例如，膠原蛋白、纖維連接蛋白)等或細胞外標靶(例如，細胞外蛋白質標靶)結合者。於一些具體例中，將抗體和抗原結合片段設計成用於細胞攝取且於細胞內可活化。

【0101】抗體和抗原結合片段之實例包括彼等於實施例1中者，例如，彼等包含包括選自SEQ ID NO：73、74、83、85、87、89以及91中之一者之序列的輕鏈和包括選自SEQ ID NO：84、86、88以及92中之一者之序列的重鏈者。

多特異性可活化抗體

【0102】於一些具體例中，可活化抗體為多特異性可

活化抗體。於一些實例中，本文中之多特異性可活化抗體辨識二或更多種不同的抗原或表位，並且包括連結至多特異性抗體之至少一個抗原結合域或表位結合域之至少一個遮蔽部分(MM)，使得MM之偶合降低抗原結合域或表位結合域與其標靶結合的能力。於一些具體例中，MM係經由可切割部分(CM)與多特異性抗體之抗原結合域或表位結合域偶合，該可切割部分作用為至少一種蛋白酶(例如，MMP)之受質。本文中提供之可活化多特異性抗體於循環中是穩定的，於療法及/或診斷的預期位點活化，但不於正常組織(亦即，健康組織)中活化，並且當活化時，展現與標靶的結合至少與相應、未修飾之多特異性抗體相當。

【0103】多特異性可活化分子可用以靶向第一和第二標靶組織。於一個具體例中，第一和第二標靶組織於例如生物體的不同部位空間上分開。於一個具體例中，第一和第二標靶組織為時間上分開之相同組織，例如，於兩個不同時間點的相同組織，例如，第一個時間點為當組織是早期腫瘤時，而第二個時間點為當組織是晚期腫瘤時。

【0104】於一些具體例中，多特異性可活化抗體包括與第一標靶結合之第一抗體或其抗原結合片段(AB1)，其中該AB1與遮蔽部分(MM1)偶合，使得該MM1之偶合降低該AB1與該第一標靶結合的能力，以及多特異性可活化抗體包括與第二標靶結合之第二抗體或其抗原結合片段(AB2)，其中該AB2與遮蔽部分(MM2)偶合，使得該MM2之偶合降低該AB2與該第二標靶結合的能力。於一些具體

例中，AB1係經由CM1與MM1偶合，並且AB2係經由CM2與MM2偶合。於一些具體例中，AB1和CM1之間、CM1和MM1之間、AB2和CM2之間及/或CM2和MM2之間有連接肽。於一些具體例中，AB1直接與CM1偶合，CM1直接與MM1偶合，AB2直接與CM2偶合，及/或CM2直接與MM2偶合。

【0105】例如，多特異性可活化抗體可由下列式所示(按照胺基(N)端區域到羧基(C)端區域的順序)：

MM1-CM1-AB1：MM2-CM2-AB2

AB1-CM1-MM1：MM2-CM2-AB2

AB1-CM1-MM1：AB2-CM2-MM2

其中「:」分開兩個多肽，其可為兩個不同分子上的兩個獨立的多肽，或相同分子上的兩個多肽(例如，相同蛋白質之兩個多肽鏈)。如本文中所用且除非另有說明，否則可活化分子之組分之間的各破折號(-)表示直接鍵聯或經由一或多個連接肽的間接鍵聯。

【0106】於一些具體例中，將多特異性可活化抗體設計成與免疫效應細胞銜接，其在本文中亦稱為與免疫效應細胞銜接之多特異性可活化抗體。於一些具體例中，將多特異性可活化抗體設計成與白血球銜接，其在本文中亦稱為與白血球銜接之多特異性可活化抗體。於一些具體例中，將多特異性可活化抗體設計成與T細胞銜接，其在本文中亦稱為與T細胞銜接之多特異性可活化抗體。於一些具體例中，多特異性可活化抗體與白血球上(諸如，T細胞

上、自然殺手(NK)細胞上、骨髓單核細胞上、巨噬細胞上及/或另一種免疫效應細胞上)之表面抗原銜接。於一些具體例中，免疫效應細胞為白血球。於一些具體例中，免疫效應細胞為T細胞。於一些具體例中，免疫效應細胞為NK細胞。於一些具體例中，免疫效應細胞為單核細胞，諸如，骨髓單核細胞。於一些具體例中，將多特異性可活化抗體設計成與超過一個標靶及/或超過一個表位結合或以其他方式交互作用，其在本文中亦稱為靶向多抗原之可活化抗體。如本文中所用，術語「標靶」和「抗原」可互換地使用。

【0107】於一些具體例中，本揭露之與免疫效應細胞銜接之多特異性可活化抗體包括靶向抗體或其抗原結合片段以及與免疫效應細胞銜接之抗體或其抗原結合部分，其中該靶向抗體或其抗原結合片段及/或與免疫效應細胞銜接之抗體或其抗原結合部分被遮蔽。

【0108】於一些具體例中，與非免疫效應細胞銜接之抗體為靶向癌症之抗體。於一些具體例中，非免疫細胞效應抗體為IgG。於一些具體例中，與免疫效應細胞銜接之抗體為scFv。於一些具體例中，靶向抗體(例如，非免疫細胞效應抗體)為IgG，而與免疫效應細胞銜接之抗體為scFv。於一些具體例中，免疫效應細胞為白血球。於一些具體例中，免疫效應細胞為T細胞。於一些具體例中，免疫效應細胞為NK細胞。於一些具體例中，免疫效應細胞為骨髓單核細胞。

【0109】於與免疫效應細胞銜接之多特異性可活化抗體之一些具體例中，一種抗原通常為存在於腫瘤細胞或與疾病相關之其他細胞類型的表面上的抗原，而另一種抗原通常為存在於T細胞、自然殺手(NK)細胞、骨髓單核細胞、巨噬細胞及/或其他免疫效應細胞的表面上的刺激性或抑制性受體。

【0110】本揭露之一個具體例為於癌症微環境中可活化之多特異性可活化抗體，並且包括針對腫瘤標靶之抗體(例如，IgG或scFv)和針對在活化T細胞或NK細胞的表面上表現的共刺激受體之促效抗體(例如，IgG或scFv)，其中癌症標靶抗體及/或促效抗體中之至少一者被遮蔽。於此具體例中，一旦多特異性可活化抗體被腫瘤相關蛋白酶活化，就以腫瘤依賴性的方式有效地交聯且活化由T細胞或NK細胞表現之共刺激受體，以增強經由其內源性T細胞抗原或NK活化受體對任何腫瘤抗原反應之T細胞的活性。此等T細胞或NK細胞共刺激受體之活化依賴本質將活化之多特異性可活化抗體的活性集中於腫瘤特異性T細胞，而不活化所有T細胞(與其抗原特異性無關)。於一個具體例中，遮蔽至少多特異性可活化抗體之共刺激受體抗體以防止自體反應性T細胞之活化，該自體反應性T細胞可存在於亦表現由多特異性可活化抗體中之腫瘤標靶引導之抗體所辨識之抗原的組織中，但其活性因缺乏輔助受體銜接而受到限制。

【0111】本揭露之一個具體例為一種多特異性可活化

抗體，其係在以T細胞過度刺激為特徵之疾病(諸如，自體免疫疾病或發炎性疾病微環境)中為可活化的。此類多特異性可活化抗體包括針對包含在自體免疫或發炎性疾病中由T細胞靶向之組織中表現的表面抗原的標靶之抗體(例如，IgG或scFv)，以及針對於T細胞或NK細胞的表面上表現的抑制性受體之抗體(例如，IgG或scFv)，其中疾病組織標靶抗體及/或T細胞抑制性受體抗體中之至少一者被遮蔽。自體免疫疾病中由T細胞靶向之組織抗原之實例包括多發性硬化症中之髓磷脂或神經細胞上表現的表面抗原或第1型糖尿病中之胰島細胞上表現的表面抗原。在此具體例中，當位於自體免疫攻擊或發炎下的組織中時，活化多特異性可活化抗體，並且與T細胞或NK細胞抑制性受體共同銜接以減抑自體反應性T細胞經由其內源性TCR或活化受體對任何靶向疾病組織之抗原反應。於一個具體例中，遮蔽至少一或多種抗體以防止亦可表現標靶抗原之非疾病組織中之T細胞反應的減抑。

【0112】於一些具體例中，靶向多抗原之抗體及/或靶向多抗原之可活化抗體包括至少與第一標靶及/或第一表位結合之第一抗體或其抗原結合片段以及與第二標靶及/或第二表位結合之第二抗體或其抗原結合片段。於一些具體例中，靶向多抗原之抗體及/或靶向多抗原之可活化抗體與二或更多個不同的標靶結合。於一些具體例中，靶向多抗原之抗體及/或靶向多抗原之可活化抗體與相同標靶上的二或更多個不同表位結合。於一些具體例中，靶向

多抗原之抗體及/或靶向多抗原之可活化抗體與二或更多個不同標靶和相同標靶上的二或更多個不同表位之組合結合。

遮蔽部分(MM)

【0113】本文中之可活化分子可包含一或多種能夠干擾AM與標靶之結合的遮蔽部分(MM)。可活化分子中之遮蔽部分「遮蔽」或降低或以其他方式抑制可活化分子與其標靶之結合。於一些具體例中，AM(例如，抗體或其片段，或其他治療性或診斷性蛋白質)與MM之偶合可以發明所屬技術領域中已知的抑制手段(例如，結構變化、抗原結合域之競爭等)抑制AM與其標靶特異性地結合的能力。於一些具體例中，AM與MM之偶合可實現結構改變，其降低或抑制AM與其標靶特異性地結合的能力。於一些具體例中，包含AM之蛋白質與MM之偶合立體阻斷、降低或抑制AM與其標靶及/或表位特異性地結合的能力。於一些具體例中，當未活化可活化分子時，MM防止AM進行標靶結合；但當活化可活化分子時(當CM係由蛋白酶切割時)，MM不會實質上或顯著地干擾AM與標靶之結合。

【0114】MM可經由本文中所述的CM直接或間接(例如，經由本文中所述的一或多個連接子)與AM(例如，抗體或其片段，或其他治療性或診斷性蛋白質)偶合。替代地，干擾AM之標靶結合的MM可直接或間接與不為AM的可活化分子之組分偶合。例如，MM可直接或間接與不同

的AM偶合。於另一個實例中，MM可直接或間接與半衰期延長部分(extending moiety，EM)偶合。於任何一種情況下，在可活化結構之三級或四級結構中，MM可處於使MM遮蔽AM之位置(例如，靠近欲遮蔽之AM)。

【0115】於一些具體例中，MM與AM交互作用，因此降低或抑制AM與其結合配偶體之間的交互作用。於一些具體例中，MM包含AM之天然存在的結合配偶體的至少一部分或完整胺基酸序列。如本文中所用的應用於受詞的術語「天然存在」是指受詞可在自然界發現的事實。例如，存在於可從自然界之來源單離之生物體(包括病毒或細菌)，且尚未於實驗室中人工有意地修飾或以其他方式為天然存在之多肽或多核苷酸序列。

【0116】例如，MM可為天然存在的結合配偶體的片段。該片段可保留與天然存在之結合配偶體具有至少95%、至少90%、至少80%、至少75%、至少70%、至少60%、至少50%、至少40%、至少30%、至少25%或至少20%的核酸或胺基酸序列同源性。於一些具體例中，MM為AM之同源肽。例如，MM可包含AM之表位或其片段之序列。

【0117】於一些具體例中，MM包含非為天然存在之胺基酸序列或不含有天然存在之結合配偶體或標靶蛋白之胺基酸序列。於一些具體例中，MM不為AM之天然結合配偶體。於一些具體例中，MM不包含AM之天然結合配偶體的超過4、5、6、7、8、9或10個連續胺基酸殘基的子序

列。MM可為AM之經修飾之結合配偶體，其含有降低與AM結合之親和力及/或強結合性(avidity)的胺基酸變化。於一些具體例中，MM不含有或實質上不含有與AM之天然結合配偶體之核酸或胺基酸同源性。於其他具體例中，MM與AM之天然結合配偶體具有不超過5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%同源性。

【0118】於一些具體例中，MM為與AM結合之多肽。於一些實例中，MM可為與AM結合之抗體或抗體片段(例如，Fab片段、$F(ab')_2$片段、scFv、scAb、dAb、單域重鏈抗體以及單域輕鏈抗體)，使得AM與其標靶之結合中斷。於一些實例中，MM可為AM之配體、受體、其片段(例如，受體之細胞外域)，其與AM結合且中斷AM與其標靶之結合。於一些實例中，當AM為抗體或其抗體片段時，MM可為與AM之獨特型結合的抗獨特型抗體或其片段(例如，scFv)。於一些實例中，MM可為細胞介素或細胞介素之受體。於一些實例中，MM可具有與細胞介素或細胞介素受體至少85%相同的胺基酸序列。

【0119】於一些具體例中，MM不與AM結合，但仍通過非特異性交互作用(例如，立體阻礙)干擾AM與其結合配偶體之結合。例如，MM可位於可活化分子中，使得可活化分子之三級或四級結構允許MM通過基於電荷之交互作用遮蔽AM，從而固定MM以干擾結合配偶體接近AM。此類MM之實例包括白蛋白(例如，人類血清白蛋白

(HSA))、可結晶片段(Fc)域、抗體恆定域(例如，CH域)、聚合物(例如，支鏈或多臂聚乙二醇(PEG)、潛伏相關蛋白(LAP)以及立體干擾AM-標靶交互作用之任何多肽或其他部分。於一些實例中，MM可募集立體干擾AM-標靶交互作用的大蛋白質結合配偶體。例如，MM可為與血清白蛋白結合之抗體或其片段。

【0120】合適的遮蔽部分之實例包括AM之同源受體的全長或AM結合片段或突變蛋白，以及AM結合抗體以及其片段，例如，多株抗體、重組抗體、人類抗體、人源化抗體、單鏈可變片段(scFv)、單域抗體(諸如，重鏈可變域(VH)、輕鏈可變域(VL)、駱駝科動物型奈米抗體之可變域(VHH)、dAb等。與AM結合且亦可用作MM之其他例示性抗原結合域包括模擬抗體結合及/或結構之非免疫球蛋白蛋白質，該結構係諸如，抗運載蛋白(anticalin)、阿非林(affilin)、親和抗體(affibody)分子、親和蛋白(affimer)、阿非廷(affitin)、阿爾法體(alphabody)、高親和力多聚體(avimer)、經設計之錨蛋白重複蛋白(DARPin)、非諾爾(fynomer)、孔尼茲(kunitz)域肽、單體以及基於其他工程改造之支架(諸如，SpA、GroEL、纖維連接蛋白、脂質運載蛋白(lipocallin)以及CTLA4支架)之結合域。作為另一個實例，藉由與水溶性聚合物(諸如，PEG)接合而修飾之肽可立體抑制或防止細胞介素與其受體之結合。與例如具有長血清半衰期之蛋白質(諸如，HSA、免疫球蛋白或轉鐵蛋白)結合或與再循環至細胞膜的受體(諸如，FcRn或轉鐵

蛋白受體)結合之抗體和抗原結合域亦可抑制細胞介素，特別是當與其抗原結合時。於一些具體例中，MM(例如，彼等立體干擾AM-標靶交互作用者)亦可作用為半衰期延長元件。

【0121】於一些具體例中，MM可具有與AM結合之解離常數不超過AM與標靶之解離常數。於一些具體例中，MM不干擾或與AM競爭與活化之分子中之標靶之結合(亦即，在CM係由蛋白酶切割之後)。

【0122】MM之結構性質可根據一些因素而選擇，諸如，干擾AM與標靶結合所需的最小胺基酸序列、感興趣的標靶蛋白質-蛋白質結合對、AM的大小、連接子之存在或不存在等。

【0123】於一些具體例中，MM對於偶合之AM而言可為獨有的(unique)。MM之實例包括經專門篩選以與AM之結合域或其片段結合之MM(例如，親和力遮蔽物)。本文中提供用於篩選MM以獲得AM獨有的MM以及彼等與結合配偶體之結合域/標靶特異性地及/或選擇性地結合的MM之方法，並且可包括蛋白質顯示(display)方法。

【0124】如本文中所用，術語「遮蔽效率」是指可活化分子的活性(例如，EC_{50})除以對照分子的活性，其中該對照分子可為可活化分子的切割產物(亦即，活化之分子)或可活化分子中使用的AM。具有降低水平之AM活性的可活化分子可具有大於10之遮蔽效率。於一些具體例中，本文中所述的可活化分子具有大於10、100、1000或5000之

遮蔽效率。

【0125】於一些具體例中，MM為約2至50個胺基酸長之多肽。例如，MM可為2至40、2至30、2至20、2至10、5至15、10至20、15至25、20至30、25至35、30至40、35至45、40至50個胺基酸長之多肽。例如，MM可為2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49 或50 個胺基酸長之多肽。於某些實例中，MM可為超過50個胺基酸長(例如，100、200、300、400、500、600、700、800或更多個胺基酸)之多肽。於一些具體例中，MM為立體遮蔽物。

【0126】於一些具體例中，當以活體外免疫吸收測定法測量(例如，如US20200308243A1中所述)時，於具有AM和干擾MM之可活化分子中，於AM之標靶之存在下，AM與標靶無結合或實質上無結合，或與無干擾MM的對應的分子之結合相比，AM與其標靶具有不超過0.001%、0.01%、0.1%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%或50%結合，為期至少0.1、0.5、1、2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84或96小時、或5、10、15、30、45、60、90、120、150或180天、或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12個月。

【0127】AM在有干擾MM下對標靶或結合配偶體之結

合親和力可為比AM在無干擾MM下對其結合配偶體之結合親和力低至少5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000倍，或者比AM在無干擾MM時對其結合配偶體之結合親和力低5至10、10至100、10至1,000、10至10,000、10至100,000、10至1,000,000、10至10,000,000、100至1,000、100至10,000、100至100,000、100至1,000,000、100至10,000,000、1,000至10,000、1,000至100,000、1,000至1,000,000、1000至10,000,000、10,000至100,000、10,000至1,000,000、10,000至10,000,000、100,000至1,000,000或100,000至10,000,000倍之間。

【0128】MM對其遮蔽之AM之解離常數(K_d)可大於AM對標靶之解離常數。MM對遮蔽之AM之解離常數可比AM對標靶之解離常數大至少5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、100,000、1,000,000或甚至10,000,000倍。相反地，MM對遮蔽之AM之結合親和力可比AM對標靶之結合親和力低。MM對AM之結合親和力可比AM對標靶之結合親和力低至少5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、100,000、1,000,0000、或甚至10,000,0000倍。

【0129】於一些具體例中，包含MM和CM之可活化分子對AM之標靶的K_d比與可活化分子實質上相同但不包含MM或CM之對應的分子對AM之標靶的K_d大至少5、10、

25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000或更大或5至10、10至100、10至1,000、10至10,000、10至100,000、10至1,000,000、10至10,000,000、100至1,000、100至10,000、100至100,000、100至1,000,000、100至10,000,000、1,000至10,000、1,000至100,000、1,000至1,000,000、1000至10,000,000、10,000至100,000、10,000至1,000,000、10,000至10,000,000、100,000至1,000,000或100,000至10,000,000倍之間。相反地，包含MM和CM之可活化分子對AM之標靶的結合親和力比與可活化分子實質上相同但不包含MM或CM之對應的分子對AM之標靶的結合親和力低至少5、10、25、50、100、250、500、1,000、2,500、5,000、10,000、50,000、100,000、500,000、1,000,000、5,000,000、10,000,000、50,000,000或更大或5至10、10至100、10至1,000、10至10,000、10至100,000、10至1,000,000、10至10,000,000、100至1,000、100至10,000、100至100,000、100至1,000,000、100至10,000,000、1,000至10,000、1,000至100,000、1,000至1,000,000、1000至10,000,000、10,000至100,000、10,000至1,000,000、10,000至10,000,000、100,000至1,000,000或100,000至10,000,000倍之間。

【0130】於一些具體例中，當AM與MM偶合且存在標靶時，與未與MM偶合之AM的特異性結合相比，降低或抑

制AM與其標靶的特異性結合。當以活體內或活體外測定法測量時，當與未與MM偶合之AM與標靶之結合相比時，與MM偶合之AM之標靶結合能力可降低至少50%、60%、70%、80%、90%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%，為期至少2、4、6、8、12、28、24、30、36、48、60、72、84或96小時或5、10、15、30、45、60、90、120、150或180天或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12個月或更長。

【0131】於一些具體例中，MM包含非結合立體部分(NB)，其不與AM結合，但能夠經由立體阻礙干擾AM與其標靶之間的結合。於一些具體例中，MM包含NB之結合配偶體(BP)，其中BP將NB募集或以其他方式吸引至可活化分子。

【0132】於一些具體例中，MM含有(多個)基因編碼或非基因編碼之胺基酸。非基因編碼之胺基酸之實例包括D-胺基酸、β-胺基酸以及γ-胺基酸。於特定具體例中，MM含有不超過50%、40%、30%、20%、15%、10%、5%或1%的非基因編碼之胺基酸。

【0133】於一些具體例中，一旦從可活化分子釋放且處於游離狀態，MM可具有生物活性或治療效果，諸如，結合能力。例如，游離肽可與相同或不同的結合配偶體結合。於某些具體例中，游離MM可發揮治療效果，以為本文中所揭示之組成物提供次要功能。於一些具體例中，一旦與可活化分子去偶合且處於游離狀態，MM可有利地不

展現生物活性。例如，於一些具體例中，自可活化分子切割之後的MM不會在個體體內引發免疫反應。

【0134】可通過篩選程序從具有可變MM之候選可活化分子庫中辨識及/或進一步最佳化合適的MM。例如，可選擇AM和CM以提供所欲酵素/標靶組合，並且可由下述篩選程序辨識MM之胺基酸序列以辨識提供可活化表型之MM之胺基酸序列。例如，隨機肽庫(例如，包含2至40或更多個胺基酸之肽)可用於本文中CX 所揭示之篩選方法以辨識合適的MM。

【0135】於一些具體例中，對AM具有特異性結合親和力之MM可通過包括提供包含候選MM之肽支架庫的篩選程序辨識，其中各支架係由跨膜蛋白和候選MM所組成。接著，可使庫與蛋白質的全部或一部分(諸如，全長蛋白質、天然存在之蛋白質片段或含有蛋白質之非天然存在之片段(亦能夠與感興趣的結合配偶體結合)接觸，並且辨識一或多個具有可偵測地結合之蛋白質的候選MM。篩選可藉由一或多輪磁性活化之分選(MACS)或螢光活化之分選(FACS)及MM對AM之結合親和力的測定以及遮蔽效率之隨後測定而進行，例如，如WO2009025846和US20200308243A1中所述，其係以引用方式整體納入本文中。

【0136】合適的MM之實例係於WO2021207657、WO2021142029、WO2021061867、WO2020252349、WO2020252358、WO2020236679、WO2020176672、

WO2020118109、WO2020092881、WO2020086665、WO2019213444、WO2019183218、WO2019173771、WO2019165143、WO2019075405、WO2019046652、WO2019018828、WO2019014586、WO2018222949、WO2018165619、WO2018085555、WO2017011580、WO2016179335、WO2016179285、WO2016179257、WO2016149201以及WO2016014974中所揭示，其係以引用方式整體納入本文中。

【0137】於一些具體例中，可活化分子中之AM為與EGFR特異性地結合之抗體或抗原結合片段。於一些實例中，此類可活化分子包含MM，其包含SEQ ID NO：81之胺基酸序列。於一些實例中，此類可活化分子包含MM，其包含SEQ ID NO：82之胺基酸序列。於一些實例中，此類可活化分子包含由SEQ ID NO：81之胺基酸序列所組成之MM。於一些實例中，此類可活化分子包含由SEQ ID NO：82之胺基酸序列所組成之MM。

【0138】於一些態樣中，本揭露包括一種可活化抗體，其包含直接或間接與CM偶合之抗EGFR抗體，其中該CM直接或間接與MM偶合，該MM包含SEQ ID NO：82之胺基酸序列或由其所組成。

連接子

【0139】可活化分子可包含一或多個連接子。連接子可為包含連接可活化分子中之兩個組分的一段胺基酸序列

之連接肽。連接子可為不可由任何蛋白酶切割的。於一些具體例中，可將一或多個連接子引入可活化分子中，以在域之間、部分之間、部分與域之間的一或多個連接處(junction)或其中連接子會是有益的之任何其他連接處提供可撓性。於一些具體例中，當可活化分子作為構形受限之構築體提供時，可插入可撓連接子以促進可活化分子中之結構的形成和維持。本文中所述的任何連接子可提供所欲可撓以促進標靶結合之抑制或促進蛋白酶對CM之切割。於一些具體例中，可活化分子中所包括之連接子可為全部或部分可撓的，使得連接子可包括可撓連接子以及賦予較不可撓的結構之一或多個部分以提供所欲可活化分子。一些連接子可包括半胱胺酸殘基，其可形成二硫鍵且降低構築體之可撓性。

【0140】於一些具體例中，與MM偶合之連接子可具有使MM處於有效地遮蔽AM之三級或四級位置的長度(例如，接近欲遮蔽之AM)，其允許MM遮蔽AM。

【0141】於大多數情況下，連接子之長度可藉由以N方向到C方向計數與前一個組分的C端胺基酸相鄰的連接子的N端到與下一個組分的N端胺基酸相鄰的連接子的C端(亦即，其中連接子長度不包括前一個組分的C端胺基酸或下一個組分的N端胺基酸)的胺基酸數量而測定。

【0142】於一些具體例中，連接子可包括總共1至50、1至40、1至30、1至25(例如，1至24、1至22、1至20、1至18、1至16、1至15、1至14、1至12、1至10、1至

8、1至6、1至5、1至4、1至3、1至2、2至25、2至24、2至22、2至20、2至18、2至16、2至15、2至14、2至12、2至10、2至8、2至6、2至5、2至4、2至3、4至25、4至24、4至22、4至20、4至18、4至16、4至15、4至14、4至12、4至10、4至8、4至6、4至5、5至25、5至24、5至22、5至20、5至18、5至16、5至15、5至14、5至12、5至10、5至8、5至6、6至25、6至24、6至22、6至20、6至18、6至16、6至15、6至14、6至12、6至10、6至8、8至25、8至24、8至22、8至20、8至18、8至16、8至15、8至14、8至12、8至10、10至25、10至24、10至22、10至20、10至18、10至16、10至15、10至14、10至12、12至25、12至24、12至22、12至20、12至18、12至16、12至15、12至14、14至25、14至24、14至22、14至20、14至18、14至16、14至15、15至25、15至24、15至22、15至20、15至18、15至16、16至25、16至24、16至22、16至20、16至18、18至25、18至24、18至22、18至20、20至25、20至24、20至22、22至25、22至24或24至25 個胺基酸)。於一些具體例中，連接子可包括總共1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25個胺基酸。

【0143】於一些具體例中，連接子可富含甘胺酸(Gly或G)殘基。於一些具體例中，連接子可富含絲胺酸(Ser或S)殘基。於一些具體例中，連接子可以富含甘胺酸和絲胺酸殘基。於一些具體例中，連接子可具有一或多個甘胺酸

-絲胺酸殘基對(GS)(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9或10或更多個GS對)。

【0144】於一些具體例中，連接子可具有一或多個Gly-Gly-Gly-Ser (GGGS)(SEQ ID NO：102)序列(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9或10或更多個GGGS(SEQ ID NO：102)序列)。於一些具體例中，連接子可具有一或多個Gly-Gly-Gly-Gly-Ser(GGGGS)(SEQ ID NO：108)序列(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9或10或更多個GGGGS(SEQ ID NO：108)序列)。於一些具體例中，連接子可具有一或多個Gly-Gly-Ser-Gly(GGSG) (SEQ ID NO：95)序列(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9或10或更多個GGSG(SEQ ID NO：95)序列)。連接子之實例可包括甘胺酸聚合物(G)n、甘胺酸-絲胺酸聚合物(包括，例如，(GS)n、(GGS)n、(GSGGS)n(SEQ ID NO：159)以及(GGGS)n(SEQ ID NO：102)，其中n為至少1之整數)、甘胺酸-丙胺酸聚合物、丙胺酸-絲胺酸聚合物以及發明所屬技術領域中已知的其他可撓連接子。甘胺酸和甘胺酸-絲胺酸聚合物可能是相對非結構化的，因此也許能作為組分之間的中性連接。甘胺酸甚至比丙胺酸更能接近顯著上更多的phi-psi空間，並且比具有較長側鏈的殘基受到明顯較少的限制(參見Scheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142(1992))。例示性可撓連接子包括下列一或多者之組合：GGSG(SEQ ID NO：95)、GGSGG(SEQ ID NO：96)、GSGSG(SEQ ID NO：97)、GSGGG(SEQ ID NO：98)、

GGGSG(SEQ ID NO：99)、GSSSG(SEQ ID NO：100)、GSSGGSGGSGG(SEQ ID NO：101)、GGGS(SEQ ID NO：102)、GGGSGGGS(SEQ ID NO：103)、GGGSGGGSGGGS(SEQ ID NO：104)、GGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO：105)、GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO：106)、GGGGSGGGGS(SEQ ID NO：107)、GGGGS(SEQ ID NO：108)、GS, GGGGSGS(SEQ ID NO：109)、GGGGSGGGGSGGGGSGS(SEQ ID NO：110)、GGSLDPKGGGGS(SEQ ID NO：111)、PKSCDKTHTCPPCPAPELLG(SEQ ID NO：112)、SKYGPPCPPCPAPEFLG(SEQ ID NO：113)、GKSSGSGSESKS(SEQ ID NO：114)、GSTSGSGKSSEGKG(SEQ ID NO：115)、GSTSGSGKSSEGSGSTKG(SEQ ID NO：116)、GSTSGSGKPGSGEGSTKG(SEQ ID NO：117)、GSTSGSGKPGSSEGST(SEQ ID NO：118)、GGGSSGGS(SEQ ID NO：119)、GGGGSGGGGSS(SEQ ID NO：120)、GGGSSGGSGGSSGGS(SEQ ID NO：121)以及GSTSGSGKPGSSEGST(SEQ ID NO：122)。

【0145】連接子之實例可進一步包括與本文中所述的例示性連接子至少70%相同(例如，至少72%、至少74%、至少75%、至少76%、至少78%、至少80%、至少82%、至少84%、至少85%、至少86%、至少88%、至少90%、至少92%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同)。發明所屬技術領域中具有通

常知識者將認知到，可活化分子的設計可包括全部或部分可撓之連接子，使得連接子可包括可撓連接子以及賦予較不可撓的結構之一或多個部分，以提供所欲的可活化分子結構。

【0146】於一些具體例中，可活化分子可包括一、二、三、四、五、六、七、八、九或十個連接子序列(例如，本文中所述或發明所屬技術領域中已知的任何例示性連接子序列中之相同或不同的連接子序列)。於一些具體例中，連接子可包含sulfo-SIAB、SMPB以及sulfo-SMPB，其中該連接子與一級胺巯基反應。

半衰期延長部分(EM)

【0147】可活化分子可進一步包含半衰期延長部分(EM)。於一些實例中，半衰期延長部分可為血清半衰期延長部分，亦即，能夠延長附接至EM之分子的血清半衰期。

【0148】於一些實例中，EM可包含抗體之可結晶片段區(Fc域)。例如，EM可為IgG(例如，IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)之Fc域。於一些實例中，EM可包含由兩個Fc域所形成之二聚體。Fc域可為野生型肽或突變體。例如，EM可包含由兩個Fc域突變體所形成之二聚體。於此等情況下，兩個Fc域突變體可為Fc域臼突變體和Fc域杵突變體。杵和臼突變體可彼此交互作用以促進兩個Fc域之二聚化。於一些具體例中，杵和臼突變體可包含在兩個Fc域之間的

介面內(例如，於CH3域中)的一或多種胺基酸修飾。於一個實例中，修飾包含一個IgG Fc域中之胺基酸取代T366W和視需要之胺基酸取代S354C以及另一個IgG Fc域中之胺基酸取代T366S、L368A、Y407V和視需要之Y349C(根據EU編號系統編號)。Fc突變體之實例亦包括SEQ ID NO：123至124。

【0149】Fc域突變體之實例亦包括彼等於美國專利第7,695,936號中所述者，其係以引用方式整體納入本文中。於一個實例中，修飾包含一個IgG Fc域中之胺基酸取代T366Y，以及另一個IgG Fc域中之胺基酸取代Y407T。於一個實例中，修飾包含一個IgG Fc域中之胺基酸取代T366W，以及另一個IgG Fc域中之胺基酸取代Y407A。於一個實例中，修飾包含一個IgG Fc域中之胺基酸取代F405A，以及另一個IgG Fc域中之胺基酸取代T394W。於一個實例中，修飾包含一個IgG Fc域中之胺基酸取代T366Y和F405A，以及另一個IgG Fc域中之胺基酸取代T394W和Y407T。於一個實例中，修飾包含一個IgG Fc域中之胺基酸取代T366W和F405W，以及另一個IgG Fc域中之胺基酸取代T394S和Y407A。於一個實例中，修飾包含一個IgG Fc域中之胺基酸取代F405W和Y407A，以及另一個IgG Fc域中之胺基酸取代T366W和T394S。於一個實例中，修飾包含一個IgG Fc域中之胺基酸取代F405W，以及另一個IgG Fc域中之胺基酸取代T394S。Fc域中之突變位置係依據EU編號系統編號。IgG Fc域可包含SEQ ID NO：

125至128(IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)之序列。在此等序列中，胺基酸1至107相應於EU編號341至447。

【0150】於一些實例中，Fc域突變體可具有降低之效應功能。此類Fc域之實例包括彼等US20190135943中所揭示者，其係以引用方式整體納入本文中。

【0151】EM之另外的實例包括免疫球蛋白(例如，IgG)、血清白蛋白(例如，人類血清白蛋白(HSA)、hexa-hat GST(麩胱甘肽S-轉移酶)麩胱甘肽親和力、鈣調蛋白結合肽(CBP)、鏈球菌-標籤、纖維素結合域、麥芽糖結合蛋白、S-肽標籤、幾丁質結合標籤、免疫反應表位、表位標籤、E2Tag、HA表位標籤、Myc表位、FLAG表位、AU1和AU5表位、Glu-Glu表位、KT3表位、IRS表位、Btag表位、蛋白激酶-C表位以及VSV表位。

【0152】於一些具體例中，包含EM之可活化分子的血清半衰期比與可活化分子實質上相同但不包含EM之對應的分子的血清半衰期長，例如，可活化分子之pK比參考分子之pK長。於一些實例中，經EM活化之分子可具有比參考對應的分子的血清半衰期長至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、2倍、4倍、6倍、8倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100 倍的血清半衰期。於一些具體例中，當向生物體投予時，具有EM之可活化分子的血清半衰期可為至少15天、12天、11天、10天、9天、8天、7天、6天、5天、4天、3天、2天、1天、20小時、18小時、16小時、14

小時、12小時、10小時、8小時、6小時、4小時、3小時、2小時或1小時。

接合劑

【0153】於一些態樣中，本揭露提供接合之多肽。於一些具體例中，接合之多肽包含與一或多種劑接合之本文中之含有CM之多肽，例如，促進遞送至感興趣的細胞或組織之靶向部分、治療劑(例如，抗腫瘤劑，諸如，化療劑或抗腫瘤劑)、毒素或其片段。劑可與可活化分子之組分接合。於一些具體例中，接合之多肽為抗體-藥物接合物(ADC)，其包含與藥物接合之抗體或其抗原結合片段。於一些實例中，抗體或其抗原結合片段可經由本文中所揭示之CM與藥物接合。於一些實例中，抗體或其抗原結合片段可為可活化抗體或其抗原結合片段(例如，經由CM與MM偶合)，其進一步與藥物接合(例如，經由可切割或不可切割之接合連接子)。

【0154】術語「劑」在本文中表示化學化合物、化學化合物之混合物、生物大分子或由生物材料製成之提取物。劑之實例包括毒素、微管抑制劑、核酸損傷劑、多拉司他汀、阿里他汀、美登木素生物鹼、多卡黴素、卡奇黴素或其組合。

【0155】於一些具體例中，可活化分子與細胞毒性劑接合，例如，毒素(例如，細菌、真菌、植物或動物來源之酵素活性毒素或其片段)或放射性同位素。

【0156】細胞毒性劑之實例包括可與可活化分子多拉司他汀以及其衍生物接合之細胞毒劑(例如，阿里他汀E、AFP、單甲基阿里他汀D (MMAD)、單甲基阿里他汀F(MMAF)、單甲基阿里他汀E(MMAE)、去甲基阿里他汀E(DMAE)、阿里他汀F、去甲基阿里他汀F(DMAF)、多拉司他汀16(DmJ)、多拉司他汀16(Dpv)、阿里他汀衍生物(例如，阿里他汀酪胺、阿里他汀喹啉酮)、美登木素生物鹼(例如，DM-1、DM-4)、美登木素生物鹼衍生物、多卡黴素、α-瓢菌素、渦輪他汀(turbostatin)、苯他汀(phenstatin)、羥苯他汀(hydroxyphenstatin)、海綿他汀5(spongistatin 5)、海綿他汀7、哈利他汀1(halistatin 1)、哈利他汀2、哈利他汀3、鹵康姆斯汀(halocomstatin)、吡咯并苯并咪唑類(PBI)、西柏斯汀6(cibrostatin6) 、多沙利馮(doxaliform)、西馬多丁(cemadotin)類似物(CemCH2-SH)、假單孢菌屬毒素A(PES8)變異體、假單孢菌屬毒素A(ZZ-PE38)變異體、ZJ-101、蒽環素(anthracycline)、多柔比星(doxorubicin)、道諾黴素(daunorubicin)、苔蘚蟲素(bryostatin)、喜樹鹼(camptothecin)、7-取代之喜樹鹼、11-二氟亞甲基二氧基喜樹鹼、康柏達司塔汀類(combretastatins)、去溴海兔毒素(debromoaplysiatoxin)、卡哈拉利德-F(KahaMide-F)、圓皮海綿內酯(discodermolide)以及海鞘素類(Ecteinascidins)。於一些具體例中，劑為DM1或DM4。於一些具體例中，劑為多卡黴素或其衍生物。於一些具體例中，劑為卡奇黴素或其衍生

物。於一些具體例中，劑為吡咯并苯并二吖呼。

【0157】可與可活化分子接合之酵素活性毒素之實例包括白喉毒素、來自綠膿桿菌之外毒素A鏈、蓖蔴毒蛋白A鏈、相思子素A鏈、葫蓮根毒蛋白(modeccin)A鏈、α-帚曲毒蛋白(sarcin)、油桐(Aleuriies fordii)蛋白、香石竹(dianthin)蛋白、美洲商陸(Phytolaca Americana)蛋白(例如，PAPI、PAPII以及PAP-8)、苦瓜抑制物、麻瘋樹毒蛋白(curcin)、巴豆毒蛋白(crotirs)、肥皂草(sapaonaria officinalis)抑制物、白樹毒蛋白(geionin)、米托黴素(mitogeliin)、局限曲菌素(restrictocin)、酚黴素(phenomycin)、新黴素以及新月毒素(tricothecenes)。各種放射性核種可用於製造放射性接合之分子。放射性核種之實例包括^{212}Bi、^{131}I、^{131}In、^{90}Y以及^{186}Re。

【0158】可與可活化分子接合之抗腫瘤劑之實例包括：阿德力黴素(adriamycin)、塞魯比汀(cerubidine)、博來黴素(bleomycin)、阿爾克蘭(alkeran)、維爾班(velban)、安可平(oncovin)、氟尿嘧啶、胺甲喋呤(methotrexate)、沙奧特帕(thiotepa)、比生群(bisantrene)、能滅瘤(novantrone)、硫鳥嘌呤(thioguanine)、甲基苄肼(procarabizine)以及阿糖胞苷(cytarabine)。

【0159】可與可活化分子接合之抗病毒劑之實例包括無環鳥糞核苷(acyclovir)、維拉A(vira A)以及阿曼他定(symmetrel)。可與可活化分子接合之抗真菌劑之實例包括：奈黴素(nystatin)。可與可活化分子接合之偵測試劑之

實例包括：螢光黃以及其衍生物、螢光異硫氰酸鹽(FITC)。可與可活化分子接合之抗菌劑之實例包括：胺基苷類、鏈黴素、新黴素、康黴素、艾米康絲菌素(amikacin)、建它黴素(gentamicin)以及泰百黴素(tobramycin)。可與可活化分子接合之3β,16β,17α-三羥基膽甾-5-烯-22-酮16-O-(2-O-4-甲氧基苯甲醯基-β-D-木糖哌喃糖苷基)-(1-- > 3)-(2-O-乙醯基-α-L-阿拉伯哌喃醣苷)(OSW-1)之實例包括：O6-苯甲基鳥嘌呤之s-硝苯甲基氧基羰基衍生物、拓樸異構酶抑制劑、半星芒體(hemiasterlin)、三尖杉鹼(cephalotaxine)、高三尖杉酯鹼(homoharringionine)、吡咯并苯并二吖呼二聚體(PBD)、經官能化之吡咯并苯并二吖呼類(functionalized pyrrolobenzodiazepenes)、卡奇黴素類(calcicheamicins)、鬼臼毒素類(podophyiitoxins)、紫杉烷類(taxanes)以及長春花生物鹼類(vinca alkoids)。可與可活化分子接合之放射性藥劑之實例包括^{123}I、^{89}Zr、^{125}I、^{131}I、^{201}Tl、^{62}Cu、^{18}F、^{68}Ga、^{13}N、^{15}O、^{38}K、^{82}Rb、^{111}In、^{133}Xe、^{11}C以及^{99m}Tc(鎝)。可與可活化分子接合之重金屬包括：鋇、金以及鉑。可與可活化分子接合之抗黴漿菌劑之實例包括：泰樂菌素(tylosine)、奇黴素(spectinomycin)、鏈黴素B、安比西林、胺苯磺胺(sulfanilamide)、多黏菌素(polymyxin)以及氯黴素(chloramphenicol)。

【0160】於一些具體例中，劑為核酸損傷劑，諸如，DNA烷化劑或DNA嵌入劑，或其他DNA損傷劑。

【0161】可接合之劑的額外的實例包括彼等下表1中者。

表1：例示性用於接合之藥劑

細胞毒劑	
阿里他汀類	渦輪抑素
阿里他汀E	苯他汀類
單甲基阿里他汀 D (MMAD)	羥苯他汀
單甲基阿里他汀 E (MMAE)	海綿他汀5
去甲基阿里他汀 E (DMAE)	海綿他汀7
阿里他汀F	哈利他汀1
單甲基阿里他汀 F (MMAF)	哈利他汀2
去甲基阿里他汀 F (DMAF)	哈利他汀3
阿里他汀衍生物，例如，其醯胺	經修飾之苔蘚蟲素
阿里他汀酯胺	鹵康姆斯汀類
阿里他汀喹啉	吡咯并苯并咪唑類(PBI)
多拉司他汀類	西柏斯汀6
多拉司他汀衍生物	多沙利馮
多拉司他汀16 DmJ	蒽環素類似物
多拉司他汀16 Dpv	
美登木素生物鹼，例如，DM-1；DM-4	
美登木素衍生物	西馬多丁類似物 (CemCH2-SH)
多卡黴素	假單胞菌毒素A(PE38)變異體
多卡黴素衍生物	假單胞菌毒素A(ZZ-PE38)變異體
α-瓢菌素	ZJ-101
蒽環素藥物	OSW-1
多柔比星	O6-苯甲基鳥嘌呤4-硝基苯甲氧基羰基衍生物
道諾黴素	拓樸異構酶抑制劑
苔蘚蟲素	半星芒體
喜樹鹼	三尖杉鹼
喜樹鹼衍生物	高三尖杉酯鹼
7-取代之喜樹鹼	吡咯并苯并二吖呼二聚體(PBD)
10,11-二氟亞甲基二氧基喜樹鹼	經官能化之吡咯并苯并二吖呼類
康柏達司塔汀類	卡奇黴素類
去溴海兔毒素	鬼臼毒素類
卡哈拉利德-F	紫杉烷類
圓皮海綿內酯	長春花生物鹼類
海鞘素類	

	可接合之偵測試劑
抗病毒劑	螢光黃以及其衍生物
無環鳥嘌核苷	螢光異硫氰酸鹽(FITC)
維拉A	
阿曼他定	**放射性藥劑**
	^{125}I
抗真菌劑	^{131}I
奈黴素	^{89}Zr
	^{111}In
額外的抗腫瘤劑	^{123}I
阿德力黴素	^{131}I
塞魯比汀	^{99}mTc(鎝)
博來黴素	^{201}Tl
阿爾克蘭	^{133}Xe
維爾班	^{11}C
安可平	^{62}Cu
氟尿嘧啶	^{18}F
胺甲喋呤	^{68}Ga
沙奧特帕	^{13}N
比生群	^{15}O
能滅瘤	^{38}K
硫鳥嘌呤	^{82}Rb
甲基苄肼	
阿糖胞苷	
	重金屬
抗菌劑	鋇
胺基苷類	金
鏈黴素	鉑
新黴素	
康黴素	**抗黴漿菌劑**
艾米康絲菌素	泰樂菌素
建它黴素	奇黴素
泰百黴素	
鏈黴素B	奈米粒子
奇黴素	
安比西林	
胺苯磺胺	
多黏菌素	
氯黴素	

【0162】於一些具體例中，可活化分子包含訊息肽。若包含多個多肽，則可活化分子可包含多個訊息肽，例如，多個多肽之各者具有的一個訊息肽。訊息肽可為存在於目的地為分泌途徑的新合成之蛋白質的末端(例如，N端或C端)的肽(例如，10至30個胺基酸長)。於一些具體例中，訊息肽可經由間隔子與可活化分子接合。於一些具體例中，間隔子可在訊息肽之不存在下與可活化分子接合。

【0163】發明所屬技術領域中具有通常知識者將認知到，種類繁多的可能的劑可與本文中所述的任何可活化分子接合。該等劑可由接合連接子與可活化分子之另一組分接合。接合可包括與兩個分子結合的任何化學反應，只要可活化分子和另一部分保留各自的活性即可。接合可包括許多化學機制，例如，共價結合、親和力結合、嵌入、配位結合以及複合。於一些具體例中，結合可為共價結合。共價結合可藉由現有側鏈之直接縮合或藉由併入外部橋接分子而達成。許多二價或多價連接劑可用於本文中所述的任何可活化分子之接合。例如，接合可包括有機化合物，諸如，硫酯、碳二亞胺、琥珀醯亞胺酯、戊二醛、重氮苯以及六亞甲基二胺。於一些具體例中，可活化分子可包括或以其他方式引入一或多個非天然胺基酸殘基以提供適合接合之位點。

【0164】於一些具體例中，劑係藉由二硫鍵(例如，半胱胺酸分子上之二硫鍵)附接至可活化分子。由於許多癌症自然釋放高水平的麩胱甘肽(其為一種還原劑)，癌組

織微環境中存在的麩胱甘肽可還原二硫鍵，且隨後在遞送部位釋放該劑。

【0165】於一些具體例中，當劑在標靶部位(例如，患病組織(例如，癌組織))內於補體之存在下與其標靶結合時，切割該劑附接至連接子之醯胺或酯鍵，導致活化形式之活性劑的釋放。當向個體投予此等劑時，可完成劑在標靶部位(例如，患病組織(例如，癌組織))之遞送和釋放。此等劑可能有效地在活體內遞送本文中所述的任何劑。

【0166】於一些具體例中，一或多種劑係經由接合連接子與可活化分子之組分(例如，AM)接合。接合連接子可為連接劑和可活化分子之肽或化學部分。於一些實例中，接合連接子可為可切割的(例如，由酵素，諸如，蛋白酶)。於一些實例中，接合連接子可為不可切割的(例如，不能由酵素(諸如，蛋白酶)切割)。於一些具體例中，接合連接子可為不可由補體系統的酵素切割的。於一些具體例中，存在二或更多個接合連接子。二或更多個接合連接子可為相同的，亦即，可切割的或不可切割的。二或更多個接合連接子可為不同的，亦即，至少一個可切割的和至少一個不可切割的。例如，劑可在沒有補體活化的情況下釋放，因為補體活化最終會裂解標靶細胞。在此類具體例中，將接合物及/或劑遞送至標靶細胞(例如，激素、酵素、皮質類固醇、神經傳導物質或基因)。此外，接合連接子可能對血清蛋白酶之切割有輕微易感性，且接合物及/或劑於標靶部位緩慢釋放。

【0167】於一些具體例中，劑係經由馬來醯亞胺己醯基-纈胺酸-瓜胺酸連接子或馬來醯亞胺PEG-纈胺酸-瓜胺酸連接子與可活化分子之組分接合。於一些具體例中，劑係經由馬來醯亞胺己醯基-纈胺酸-瓜胺酸連接子與可活化分子之組分接合。於一些具體例中，劑係經由馬來醯亞胺PEG-纈胺酸-瓜胺酸連接子與可活化分子之組分接合。於一些具體例中，劑為經由馬來醯亞胺PEG-纈胺酸-瓜胺酸-對胺基苯甲氧基羰基連接子與可活化分子之組分接合的單甲基阿里他汀D(MMAD)，且此連接子有效負載構築體為vc-MMAD。於一些具體例中，劑係經由馬來醯亞胺PEG-纈胺酸-瓜胺酸-對胺基苯甲氧基羰基連接子與可活化分子之組分接合的單甲基阿里他汀E(MMAE)，且此連接子有效負載構築體為vc-MMAE。

【0168】於一些具體例中，可將劑設計成使得劑被遞送至標靶部位(例如，疾病組織(例如，癌組織))，但不釋放接合物及/或劑。

【0169】於一些具體例中，劑可直接或經由胺基酸(例如，D-胺基酸)、肽、含有硫醇之部分或其他有機化合物間接附接至AM，該等有機化合物可經修飾以包括可隨後由本文中所述的方法用於附接至AM之官能基。

【0170】於一些具體例中，可活化分子包括劑的至少一個接合點。於一些具體例中，所有可能的接合點均可用於與劑接合。於一些具體例中，一或多個接合點可包括涉及二硫鍵之硫原子、涉及鏈間二硫鍵之硫原子、涉及鏈間

硫鍵之硫原子(但不包括涉及鏈內二硫鍵之硫原子)及/或半胱胺酸或其他含有硫原子之胺基酸殘基之硫原子。於此等情況下，殘基可天然存在於蛋白質構築體結構中，或者可使用包括定點誘變、化學轉化或非天然胺基酸之錯誤併入(mis-incorporation)之方法併入蛋白質構築體中。

【0171】本揭露亦提供用一或多種接合劑製備可活化分子之方法與材料。於一些具體例中，可活化分子可經修飾以包括一或多個鏈間二硫鍵。例如，二硫鍵可在暴露於還原劑(諸如，但不限於TCEP、DTT或β-巰基乙醇)之後經歷還原。於一些情況下，二硫鍵之還原可能僅為部分的。如本文中所用，術語部分還原是指可活化分子與還原劑接觸，且所有可能的接合位點的一部分經歷還原(例如，並非所有二硫鍵經還原)的情況。於一些具體例中，若小於99%(例如，小於98%、97%、96%、95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%)的所有可能的接合位點減少，則可活化分子可在與還原劑接觸之後部分還原。於一些具體例中，具有一或多個鏈間二硫鍵還原之可活化分子可與和游離硫醇有反應的藥物接合。

【0172】本揭露亦提供用於將治療劑與可活化分子上的特定位置接合之方法和材料。於一些具體例中，可修飾可活化分子，使得治療劑可與在可活化分子上的特定位置的可活化分子接合。例如，可活化分子可以促進與可活化分子接合之方式部分還原。在此等情況下，可活化分子之

部分還原可以可活化分子中之接合位點不被還原的方式發生。於一些具體例中，可選擇可活化分子上的(多個)接合位點，以促進劑在蛋白質構築體上的特定位置的接合。各種因素可影響用還原劑處理之後之可活化分子的「還原水平」。例如，但不限於，還原劑與可活化分子之比率、培養時間長度、培養溫度及/或還原反應溶液之pH可能需要最佳化，以用本文中所述的方法和材料達成可活化分子之部分還原。任何適當的因素組合(例如，還原劑與可活化分子之比率、與還原劑一起培養的時間和溫度及/或還原劑之pH)可用以達成可活化分子之部分還原(例如，可能的接合位點之一般還原或在特定接合位點之還原)。

【0173】還原劑與可活化分子之有效比率可為以允許與劑接合的方式至少部分(亦即，部分或完全)還原可活化分子(例如，可能的接合位點之一般還原或在特定結合位點之還原)之任何比率。於一些具體例中，還原劑與可活化分子之比率可於約20：1至1：1、10：1至1：1、9：1至1：1、8：1至1：1、7：1至1：1、6：1至1：1、5：1至1：1、4：1至1：1、3：1至1：1、2：1至1：1、20：1至1：1.5、10：1至1：1.5、9：1至1：1.5、8：1至1：1.5、7：1至1：1.5、6：1至1：1.5、5：1至1：1.5、4：1至1：1.5、3：1至1：1.5、2：1至1：1.5、1.5：1至1：1.5或1：1至1：1.5的範圍內。

【0174】用還原劑處理可活化分子的有效培養時間和溫度可為以允許劑與可活化分子接合的方式至少部分還原

可活化分子的任何時間和溫度(例如，可能的接合位點之一般還原或在特定接合位點之還原)。於一些具體例中，用於處理可活化分子的培養時間和溫度可於37℃下約1小時至37℃下約12小時的範圍內(或其中之任何次範圍)。

【0175】用還原劑處理可活化分子的還原反應的有效pH可為以允許可活化分子與劑接合的方式至少部分還原可活化分子的任何pH(例如，可能的接合位點之一般還原或在特定接合位點之還原)。

【0176】當部分還原之可活化分子與含有硫醇之劑接觸時，該劑可與可活化分子中之鏈間硫醇接合。可使用含有硫醇之試劑(例如，半胱胺酸或N-乙醯基半胱胺酸)以包括硫醇的方式修飾劑。例如，以還原劑與可活化分子之所欲比率，與還原劑(例如，TEPC)於約37℃下培養約1小時之後，可部分還原可活化分子。還原劑與可活化分子之有效比率可為以允許含有硫醇之劑接合的方式部分還原位於可活化分子中之至少兩個鏈間二硫鍵之任何比率(例如，可能的接合位點之一般還原或在特定接合位點之還原)。

【0177】於一些具體例中，可活化分子可由還原劑以避免還原任何鏈內二硫鍵的方式還原。於一些具體例中，可活化分子可由還原劑以避免還原任何鏈內二硫鍵且還原至少一個鏈間二硫鍵的方式還原。

【0178】於一些具體例中，劑可為可偵測部分，諸如，例如，標誌(label)或其他標記(marker)。例如，劑可為或包括經放射性標示之胺基酸、可由標記之抗生物素蛋

白偵測之一或多個生物素基部分(例如，含有可由光學或量熱方法偵測之螢光標記或酶活性之鏈親和素)、一或多種放射性同位素或放射性核種、一或多種螢光標誌、一或多種酵素標誌及/或一或多種化學發光劑。於一些具體例中，可偵測部分可由間隔子分子附接。於一些具體例中，可偵測標誌可包括顯像劑、對比劑、酵素、螢光標誌、發色團、染料、一或多種金屬離子或以配體為底質之標誌。於一些具體例中，顯像劑可包含放射性同位素。於一些具體例中，放射性同位素可為銦或鎝。於一些具體例中，顯像劑可包含碘、釓或氧化鐵。於一些具體例中，酵素可包含辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶或β-半乳糖苷酶。於一些具體例中，螢光標誌可包括黃色螢光蛋白(YFP)、青色螢光蛋白(CFP)、綠色螢光蛋白(GFP)、經修飾之紅色螢光蛋白(mRFP)、紅色螢光蛋白tdimer2(RFP tdimer2)、HCRED或銪衍生物。於一些具體例中，發光標誌可包含N-甲基吖啶鎓(N-methylacrydium)衍生物。於一些具體例中，標誌可包含Alexa Fluor®標誌，諸如，Alex Fluor® 680或Alexa Fluor® 750。於一些具體例中，以配體為底質之標誌可包含生物素、抗生物素蛋白、鏈親和素或一或多種半抗原。

【0179】可偵測標誌之另外的實例亦包括各種酵素、輔基、螢光材料、發光材料、生物發光材料以及放射性材料。合適的酵素之實例包括辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶、β-半乳糖苷酶或乙醯膽鹼酯酶；合適的輔基複合物之實例包括鏈親和素/生物素和抗生物素蛋白/生物素；合適的螢

光材料之實例包括繖形酮(umbelliferone)、螢光黃、螢光異硫氰酸鹽、玫瑰紅、二氯三哄胺螢光黃、丹磺醯氯(dansyl chloride)或藻紅素；發光材料之實例包括發光胺(luminol)；生物發光材料之實例包括螢光素酶、螢光素以及水母素(aequorin)，以及合適的放射性材料之實例包括125I、131I、35S或3H。

【0180】於一些具體例中，可使用碳水化合物部分、巯基、胺基或羧酸酯基將劑與可活化分子接合。於一些具體例中，劑可經由本文中所述的連接子及/或CM與可活化分子接合。於一些具體例中，劑可與可活化分子中之半胱胺酸或離胺酸接合。於一些具體例中，劑可與可活化分子之另一個殘基(諸如，彼等本文中所揭示之殘基)接合。

【0181】於一些具體例中，各種雙官能蛋白質-偶合劑可用以將劑與可活化分子結合，包括N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫醇)丙酸酯(SPDP)、亞胺基硫烷(IT)、亞胺酯之雙官能衍生物(例如，二亞胺代己二酸二甲酯鹽酸鹽(dimethyl adipimidateHCL)、活性酯類(例如，辛二酸二琥珀醯亞胺酯)、醛類(例如，戊二醛)、雙-疊氮基化合物(例如，雙(對-疊氮基苯甲醯基)己二胺)、雙-重氮鎓衍生物(例如，雙-(對-重氮鎓苯甲醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(例如，2,6-二異氰酸甲苯酯)以及雙-活性氟化合物(例如，1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。例如，蓖蔴毒蛋白免疫毒素可如Vitetta et al., Science 238: 1098 (1987)中所述而製備。於一些具體例中，碳-14-標示之1-異硫氰酸基苯甲基-3-甲基

二伸乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)螯合劑可用以將放射性核種與可活化分子接合。(參見例如WO94/11026)。

【0182】合適的接合連接子亦包括彼等文獻中所述者。(參見例如Ramakrishnan, S. et al., Cancer Res. 44:201-208 (1984)，其描述MBS(M-馬來醯亞胺基苯甲醯基-N-羥基琥珀醯亞胺酯)之使用。亦參見美國專利案第5,030,719號，其描述透過寡肽與可活化分子偶合之鹵化乙醯基醯肼衍生物之使用。於一些具體例中，合適的接子包括：(i)EDC(1-乙基-3-(3-二甲基胺基-丙基)碳二亞胺鹽酸鹽；(ii) SMPT(4-琥珀醯亞胺基氧基羰基-α-甲基-α-(2-吡啶基-二硫基)-甲苯(Pierce Chem. Co., Cat. (21558G)；(iii) SPDP(琥珀醯亞胺基-6[3-(2-吡啶基二硫基)丙醯胺基]己酸酯(Pierce Chem. Co., Cat #21651G)；(iv)Sulfo-LC-SPDP(磺酸基琥珀醯亞胺基6[3-(2-吡啶基二硫基)-丙醯胺]己酸酯(Pierce Chem. Co. Cat. #2165-G)；以及(v)與EDC接合之sulfo-NHS(N-羥基磺酸基-琥珀醯亞胺：Pierce Chem. Co., Cat. #24510)。額外的例示性連接子包括SMCC、sulfo-SMCC、SPDB或sulfo-SPDB。

【0183】用於附接至還原之可活化分子的例示性接合連接子包括彼等具有能夠與還原之抗體或片段的巯基反應的某些反應性基團者。此類反應性基團包括反應性鹵烷基(包括，例如，鹵乙醯基)、對汞苯甲酸酯基和能夠進行Michael型加成反應之基團(包括，例如，Mitra and Lawton, 1979, J. Amer. Chem. Soc. 101: 3097-3110中所述

類型之馬來醯亞胺和基團)。

【0184】用於附接至既不氧化也不還原之可活化分子的例示性接合連接子包括彼等具有能夠與可活化分子中之未經修飾之離胺酸殘基中存在的一級胺基反應的某些官能基者。此類反應性基團包括NHS羧酸酯或碳酸酯、sulfo-NHS羧酸酯或碳酸酯、4-硝基苯基羧酸酯或碳酸酯、五氟苯基羧酸酯或碳酸酯、醯基咪唑、異氰酸酯以及異硫氰酸酯，以及用於甲醯胺形成之其他脫水劑。於此等情況下，存在於合適的接合連接子中之官能基包括一級和二級胺、肼、羥胺以及醯肼。

【0185】在接合連接子附接至可活化分子之前或之後，劑可附接至該接合連接子。於某些應用中，首先製造與可活化分子-接合連接子中間體(其中接合連接子不含締合劑)可為所欲的。取決於特定的應用，特定的劑可接著共價附接至接合連接子。於一些具體例中，AM首先附接至MM、CM以及相關之連接肽，接著附接至接合連接子以用於接合目的。

【0186】於特定的具體例中，使用具有多個用於附接至劑之位點的支鏈接合連接子。對於多位點接合連接子，單一共價附接至可活化分子可導致能夠於一些位點結合劑之可活化分子-連接子中間體。此等位點可為醛基或巰基或任何可附接至劑之化學位點。

【0187】於一些具體例中，較高的比活性(或劑與可活化分子之更高比率)可藉由在可活化分子上的複數個位

點附接單一位點接合連接子而達成。可由兩種方法中之任一者將此複數個位點引入可活化分子中。首先，可在相同可活化分子中產生多個醛基及/或巯基。其次，可將具有多個功能位點之支鏈接合連接子附接至可活化分子之醛或巯基，以隨後附接至接合連接子。支鏈接合連接子或多位點接合連接子之功能位點可為醛基或巯基，或者可為可附接至接合連接子之任何化學位點。可藉由合併此兩種方法而獲得更高的比活性，亦即，在可活化分子上的幾個位點附接多位點接合連接子。

【0188】易感於補體系統之酵素(諸如，但不限於，u-胞漿素原活化物、組織胞漿素原活化物、胰蛋白酶、胞漿素或另一種具有蛋白水解活性之酵素)切割的肽接合連接子可用於本揭露之一個具體例。根據本揭露之一種方法，劑係經由易感於補體之切割的接合連接子附接。此抗體係選自能夠活化補體之類別。因此，抗體-劑接合物活化補體級聯，並且在標靶部位釋放劑。根據本揭露之另一種方法，劑係經由易感於由具有蛋白水解活性之酵素(諸如，u-胞漿素原活化物、組織胞漿素原活化物、胞漿素或胰蛋白酶)切割之接合連接子附接。此等可切割之接合連接子可用於接合之可活化分子，該等可活化分子包括細胞外毒素(例如，透過非限制性實例之表1所示之任何細胞外毒素)。

【0189】可切割之連接子序列之非限制性實例包括本文中所揭示或以引用方式納入本文中之任何可切割序列以

及表2中所提供之例示性序列。

表2：例示性用於接合之接合連接子序列

可切割序列的類型	胺基酸序列
可切割胞漿素之序列	
原尿激酶	PRFKIIGG (SEQ ID NO：129)
	PRFRIIGG (SEQ ID NO：130)
TGFβ	SSRHRRALD (SEQ ID NO：131)
胞漿素原	RKSSIIIRMRDVVL (SEQ ID NO：132)
葡萄球菌激酶	SSSFDKGKYKKGDDA (SEQ ID NO：133)
	SSSFDKGKYKRGDDA (SEQ ID NO：134)
可切割Xa因子之序列	IEGR (SEQ ID NO：135)
	IDGR (SEQ ID NO：136)
	GGSIDGR (SEQ ID NO：137)
可切割MMP之序列	
明膠酶 A	PLGLWA (SEQ ID NO：138)
可切割膠原蛋白酶之序列	
小牛皮膚膠原蛋白(α1(I)鏈)	GPQGIAGQ (SEQ ID NO：139)
小牛皮膚膠原蛋白(α2(I)鏈)	GPQGLLGA (SEQ ID NO：140)
牛軟骨膠原蛋白(α1(II)鏈)	GIAGQ (SEQ ID NO：141)
人類肝臟膠原蛋白(α1(III)鏈)	GPLGIAGI (SEQ ID NO：142)
人類α_2M	GPEGLRVG (SEQ ID NO：143)
人類PZP	YGAGLGVV (SEQ ID NO：144)
	AGLGVVER (SEQ ID NO：145)
	AGLGISST (SEQ ID NO：146)
大鼠α_1M	EPQALAMS (SEQ ID NO：147)
	QALAMSAI (SEQ ID NO：148)
大鼠α_2M	AAYHLVSQ (SEQ ID NO：149)
	MDAFLESS (SEQ ID NO：150)
大鼠α_1I_3(2J)	ESLPVVAV (SEQ ID NO：151)
大鼠α_1I_3(27J)	SAPAVESE (SEQ ID NO：152)
人類纖維母細胞膠原蛋白酶	DVAQFVLT (SEQ ID NO：153)
(自溶切割)	VAQFVLTE (SEQ ID NO：154)
	AQFVLTEG (SEQ ID NO：155)
	PVQPIGPQ (SEQ ID NO：156)

【0190】此外，劑可經由二硫鍵(例如，半胱胺酸分子上的二硫鍵)附接至可活化分子。由於許多腫瘤自然釋放高水平之麩胱甘肽(其為一種還原劑)，這可還原二硫鍵

且隨後在遞送部位釋放該劑。於一些具體例中，會修飾CM之還原劑亦會修飾接合之可活化分子的接合連接子。

【0191】於一些具體例中，可能需要透過最佳化劑與可活化分子之間的間距構築接合連接子。這可藉由使用一般結構之接合連接子來完成：

$$W\text{-}(CH_2)n\text{-}Q$$

其中

W為-NH-CH_2-或-CH_2-；

Q為胺基酸、具有2至20個胺基酸之多肽；以及

n為0至20之整數。

【0192】於一些具體例中，接合連接子可包含間隔子元件和可切割元件。間隔子元件作為將可切割元件定位成遠離可活化分子之核心，使得負責切割之酵素更輕易接近可切割元件。前述某些支鏈連接子可作為間隔子元件。

【0193】貫穿此討論，應理解，接合連接子附接至劑(或間隔子元件附接至可切割元件或可切割元件附接至劑)不需要特定的附接或反應模式。提供具有合適穩定性和生物相容性的產物的任何反應是可接受的。

【0194】於一些具體例中，當釋放劑係所欲時，使用作為可活化補體之一類抗體的可活化分子。所得接合物保留結合抗原和活化補體級聯的能力。因此，根據本揭露之此具體例，將劑連結可切割之接合連接子或可切割元件之一端，並且將接合連接基之另一端附接至可活化分子上的特定位點。例如，若劑具有羥基或胺基，則其可分別經由

酯或醯胺鍵附接至肽、胺基酸或其他適當選擇的接合連接子的羧基端。例如，此類劑可經由碳二亞胺反應附接至連接子肽。若劑含有會干擾附接至接合連接子之官能基，則可在附接之前封阻此等干擾官能基，並在製造產物接合物或中間體後解封。接著，直接或在進一步修飾後使用連接子的相對或胺基端以與能夠活化補體之可活化分子結合。

【0195】接合連接子(或接合連接子之間隔子元件)可具有任何所欲長度，其一端可共價附接至可活化分子上的特定位點。接合連接子或間隔子元件之另一端可附接至胺基酸或肽接合連接子。

【0196】因此，當此等接合物在補體之存在下與抗原結合時，將切割將劑附接至連接子之醯胺或酯鍵，導致劑以其活性形式釋放。當向個體投予此等接合物時，將在標靶部位完成劑的遞送和釋放，並且對於藥劑、抗生素、抗代謝物、抗增殖劑等之活體內遞送特別有效。

【0197】於一些具體例中，在沒有補體活化的情況下釋放劑係所欲的，因為補體級聯的活化將最終裂解標靶細胞。因此，當應該在不殺死標靶細胞的情況下完成劑的遞送和釋放時，此方法係有用的。當將細胞介質(諸如，激素、酵素、皮質類固醇、神經傳導物質、基因或酵素)遞送至標靶細胞係所欲時，這就是目標。可藉由將劑經由對血清蛋白酶之切割輕度易感之連接子附接至無法活化補體之可活化分子，而製備此等接合物。當向個人投予此接合物時，抗原-抗體複合物將快速形成，而劑的切割將緩慢

發生，因此導致化合物在標靶部位釋放。

【0198】於一些具體例中，可活化分子可使用某些生化交聯劑與一或多種治療劑接合。交聯劑形成將兩個不同分子的官能基連接在一起之分子橋。為了以逐步的方式連接兩種不同的蛋白質，可使用異型雙功能交聯劑來消除不需要的均聚物形成。

【0199】可由溶酶體蛋白酶切割的肽基接合連接子亦為有用的，例如，Val-Cit、Val-Ala或其他二肽。另外，可使用在溶酶體之低pH環境中可切割的酸不穩定之接合連接子，例如：雙唾液酸醚(bis-sialyl ether)。其他合適的接合連接子包括組織蛋白酶不穩定之受質，特別是彼等在酸性pH下展現最佳功能者。

【0200】表3中提及例示性異型雙功能交聯劑。

表3：例示性異型雙功能交聯劑

異型雙功能交聯劑			
連接子	對下列者有反應	優點和應用	交聯後之間隔臂長度(埃)
SMPT	一級胺 巰基	更高的穩定性	11.2 Å
SPDP	一級胺 巰基	硫醇化 可切割之交聯	6.8 Å
LC-SPDP	一級胺 巰基	延伸之間隔臂	15.6 Å
sulfo-LC-SPDP	一級胺 巰基	延伸之間隔臂 水溶性	15.6 Å
SMCC	一級胺 巰基	穩定的馬來醯亞胺反應基 酵素-抗體接合 半抗原-載體蛋白接合	11.6 Å
sulfo-SMCC	一級胺 巰基	穩定的馬來醯亞胺反應基 水溶性 酵素-抗體接合	11.6 Å
MBS	一級胺 巰基	酵素-抗體接合 半抗原-載體蛋白接合	9.9 Å
sulfo-MBS	一級胺 巰基	水溶性	9.9 Å
SIAB	一級胺 巰基	酵素-抗體接合	10.6 Å
sulfo-SIAB	一級胺 巰基	水溶性	10.6 Å
SMPB	一級胺 巰基	延伸之間隔臂 酵素-抗體接合	14.5 Å
sulfo-SMPB	一級胺 巰基	延伸之間隔臂 水溶性	14.5 Å
EDE/sulfo-NHS	一級胺 羧基	半抗原-載體接合	0
ABH	碳水化合物 非選擇性	與糖基反應	11.9 Å

【0201】於一些具體例中，可將劑設計成使得劑被遞送至標靶，但不被釋放。這可藉由將劑直接或經由不可切割之接合連接子附接至可活化分子而完成。

【0202】此等不可切割之接合連接子可包括胺基酸、肽、D-胺基酸或其他可經修飾以包括官能基之有機化合物，該等官能基可隨後藉由本文中所述的方法而用於附接至可活化分子。

【0203】於一些具體例中，化合物可附接至不活化補體之可活化分子。當使用無法活化補體之可活化分子時，可使用易感於活化之補體切割的接合連接子或使用不易感於活化之補體切割的連接子而完成此附接。

【0204】本文中所揭示之含有CM之多肽亦可調配為免疫脂質體。含有抗體之脂質體係藉由發明所屬技術領域中已知的方法製備，諸如，於Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985)；Hwang et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980)；以及美國專利第4,485,045和4,544,545號中所述。具有增加之循環時間的脂質體係於美國專利第5,013,556號中揭示。特別有用的脂質體可由反相蒸發法，用包含磷脂醯膽鹼、膽固醇以及衍生自PEG之磷脂醯乙醇胺(PEG-PE)之脂質組成物所產生。將脂質體擠壓通過限定孔徑之過濾器，以產生具有所欲直徑之脂質體。可活化分子之組分可經由二硫鍵-交換反應與脂質體接合，如Martin et al., J. Biol. Chem., 257: 286-288 (1982)中所述。

【0205】上述劑可含有具有不同屬性之組分，因此導致具有不同物理化學性質之接合物。例如，羧酸烷基酯之sulfo-NHS酯比芳香族羧酸酯之sulfo-NHS酯更穩定。含有

NHS酯之連接子比sulfo-NHS酯更難溶。又，SMPT含有立體阻礙之二硫鍵，並且可形成具有增加之穩定性的接合物。二硫鍵聯通常比其他鍵聯更不穩定，因為在活體外切割二硫鍵，導致可用的接合物較少。特別地，Sulfo-NHS可增強碳二亞胺偶合之穩定性。當碳二亞胺偶合(諸如，EDC)與sulfo-NHS合併使用時，形成比單獨的碳二亞胺偶合反應更抗水解之酯。

【0206】發明所屬技術領域中具有通常知識者將認知到，種類繁多的可能的劑可與本揭露之可活化分子接合。(參見，例如，“Conjugate Vaccines”, Contributions to Microbiology and Immunology, J. M. Cruse and R. E. Lewis, Jr (eds), Carger Press, New York, (1989)，其係以引用方式整體納入本文中)。一般而言，劑(例如，細胞毒性劑)與可活化分子之有效接合可由將劑與可活化分子結合的同時也允許該劑和該可活化分子保留功能性之任何化學反應完成。

核酸和載體

【0207】於一些態樣中，本揭露進一步提供核酸，其包含編碼本文中之含有CM之多肽和多肽複合物(例如，可活化分子)或其組分或片段之序列。核酸可包含CM之編碼序列。核酸可進一步包含可活化分子中的其他組分(例如，AM、MM、EM及/或(多個)連接子)之編碼序列。在可活化分子包含多個多肽的情況下，核酸可包含多個多肽之

編碼序列。於一些實例中，多肽中之一者之編碼序列係包含在核酸分子中，並且多肽中之另一者之編碼序列係包含在另一個核酸分子中。於一些實例中，多個多肽中之二或更多者之編碼序列係包含在相同核酸分子中。

【0208】除非另有說明，否則「編碼蛋白質之核酸序列」包括彼此為簡併版本且因此編碼相同胺基酸序列之所有核苷酸序列。術語「核酸」是指單股或雙股形式之去氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)或其組合。除非特別限制，否則該術語涵蓋含有天然核苷酸之已知類似物的核酸，該類似物具有與參考核苷酸類似之結合性質。除非另有說明，否則特別的核酸序列亦隱含地涵蓋互補序列以及明確地指出的序列。於一些具體例中，核酸為DNA。於一些具體例中，核酸為RNA。

【0209】可由發明所屬技術領域中已知的標準技術(諸如，定點誘變和聚合酶連鎖反應(PCR)介導之誘變)，將修飾引入核苷酸序列。保守性胺基酸取代為其中胺基酸殘基係經具有類似側鏈之胺基酸殘基替換者。具有類似側鏈之胺基酸殘基家族已於發明所屬技術領域中定義。此等家族包括：具有酸性側鏈之胺基酸(例如，天冬胺酸和麩胺酸)、具有鹼性側鏈之胺基酸(例如，離胺酸、精胺酸以及組胺酸)、非極性胺基酸(例如，丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸以及色胺酸)、不帶電荷之極性胺基酸(例如，甘胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、半胱胺酸、絲胺酸、蘇胺酸以及酪胺

酸)、親水性胺基酸(諸如，精胺酸、天冬醯胺酸、天冬胺酸、麩醯胺酸、麩胺酸、組胺酸、離胺酸、絲胺酸以及蘇胺酸)、疏水性胺基酸(例如，丙胺酸、半胱胺酸、異白胺酸、白胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、色胺酸、酪胺酸以及纈胺酸)。其他胺基酸家族包括：脂肪族-羥基胺基酸(例如，絲胺酸和蘇胺酸)、醯胺家族(例如，天冬醯胺酸和麩醯胺酸)、脂肪族家族(例如，丙胺酸、纈胺酸、白胺酸以及異白胺酸)以及芳香族家族(例如，苯丙胺酸、色胺酸以及酪胺酸)。

【0210】本揭露進一步提供包含本文中所述的任何核酸之載體和載體組。發明所屬技術領域中的技術人員將能夠選擇合適的載體或載體組(例如，表現載體)以製造本文中所述的任何可活化分子，以及使用該等載體或載體組表現本文中所述的任何可活化分子。例如，在選擇載體或載體組時，可選擇使得(多個)載體可能需要能夠嵌入細胞的染色體中及/或在其中複製之細胞的類型。本文中亦描述可用以製造可活化分子之例示性載體。如本文中所用，術語「載體」是指能夠誘導重組蛋白(例如，第一或第二單體)在細胞(例如，本文中所述的任何細胞)中表現之多核苷酸。「載體」能夠將核酸和其片段遞送入宿主細胞中，並且包括調節序列(例如，啟動子、增強子、聚腺苷酸訊息)。外源性多核苷酸可插入表現載體中以被表現。術語「載體」亦包括人工染色體、質體、逆轉錄病毒以及桿狀病毒載體。

【0211】用於構築包含本文中所述的任何核酸且適合轉化細胞(例如，哺乳動物細胞)的合適載體之方法為發明所屬技術領域中眾所周知的。參見，例如，Sambrook et al., Eds. “Molecular Cloning: A Laboratory Manual,” 2nd Ed., Cold Spring Harbor Press, 1989和Ausubel et al., Eds. “Current Protocols in Molecular Biology,” Current Protocols, 1993。

【0212】載體之實例包括質體、轉位子、黏質體以及病毒載體(例如，任何腺病毒載體(例如，pSV或pCMV載體)、腺相關病毒(AAV)載體、慢病毒載體以及逆轉錄病毒載體)，以及任何Gateway®載體。例如，載體可包括足夠的用於表現之順式作用元件；用於表現之其他元件可由宿主哺乳動物細胞或於活體外表現系統中提供。技術人員將能夠選擇合適的載體和哺乳動物細胞來製造本文中所述的任何可活化分子。

【0213】於一些具體例中，含有CM之多肽可使用重組DNA技術和在真核或原核物種中之表現而生物合成地製造。

細胞

【0214】於一些態樣中，本揭露提供包含本文中所述的任何載體或核酸之重組宿主細胞。細胞可用以製造本文中所述的含有CM之多肽(例如，可活化分子)。於一些具體例中，細胞可為動物細胞、哺乳動物細胞(例如，人類細

胞)、嚙齒動物細胞(例如，小鼠細胞、大鼠細胞、倉鼠細胞或豚鼠細胞)、非人類之靈長類細胞、昆蟲細胞、細菌細胞、真菌細胞或植物細胞。於一些具體例中，細胞可為真核細胞。如本文中所用，術語「真核細胞」是指具有明顯(distinct)的膜結合之核的細胞。此類細胞可包括例如哺乳動物(例如，嚙齒動物、非人類之靈長類動物或人類)、昆蟲、真菌或植物細胞。於一些具體例中，真核細胞為酵母細胞，諸如，釀酒酵母。於一些具體例中，真核細胞為高等真核生物，諸如，哺乳動物、鳥類、植物或昆蟲細胞。哺乳動物細胞之非限制性實例包括中國倉鼠卵巢(CHO)細胞和人類胚胎腎細胞(例如，HEK293細胞)。於一些具體例中，細胞可為原核細胞，例如，大腸桿菌細胞。

【0215】將核酸和載體(例如，本文中所述的任何載體或任何載體組)引入細胞之方法為發明所屬技術領域中已知的。可用以將核酸引入細胞之方法之實例包括：脂轉染、轉染、磷酸鈣轉染、陽離子聚合物轉染、病毒轉導(例如，腺病毒轉導、慢病毒轉導)、奈米粒子轉染以及電穿孔。

【0216】於一些具體例中，引入步驟包括將載體(例如，本文中所述的任何載體或載體組)引入細胞中，該載體包括編碼構成本文中所述的任何可活化分子之單體的核酸。

組成物和套組

【0217】本揭露亦提供包含本文中所述的含有CM之多肽(例如，可活化分子或接合之多肽)之組成物和套組。組成物和套組可進一步包含一或多種賦形劑、載劑、試劑、使用可活化分子所需的說明書。

【0218】於一些具體例中，組成物可為醫藥組成物，其包含含有CM之多肽、其衍生物、片段、類似物以及同系物。醫藥組成物可包含含有CM之多肽和醫藥上可接受之載劑。如本文中所用，術語「醫藥上可接受之載劑」旨在包括與藥物投予相容的任何和所有溶劑、分散介質、塗層、抗菌和抗真菌劑、等滲劑和吸收延遲劑等。合適的載劑係描述於最新版本的Remington's Pharmaceutical Sciences中(其為發明所屬技術領域中的標準參考文本)，其係以引用方式納入本文中。此類載劑或稀釋劑的合適實例包括水、鹽水、林格氏溶液、右旋糖溶液以及5%人類血清白蛋白。亦可使用脂質體和非水媒劑(例如，不揮發油)。醫藥活性物質之此類介質和劑之用途為發明所屬技術領域中眾所周知的。除非任何傳統介質或劑與活性化合物不相容，否則考慮其在組成物中之使用。補充活性化合物亦可摻入組成物中。

【0219】醫藥組成物可調配成與其預期的投予途徑相容。投予途徑之實例包括腸胃外，例如，靜脈內、皮內、皮下、口服(例如，吸入)、經皮(例如，局部)、經黏膜以及直腸投予。用於腸胃外、皮內或皮下施用之溶液或懸浮液可包括一或多種下列組分：無菌稀釋劑(諸如，注射用

水、鹽溶液、不揮發油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他合成溶劑)；抗菌劑，諸如，苯甲醇或對羥基苯甲酸甲酯；抗氧化劑，諸如，抗壞血酸或亞硫酸氫鈉；螯合劑，諸如，乙二胺四乙酸(EDTA)；緩衝劑，諸如，乙酸鹽、檸檬酸鹽或磷酸鹽，以及用於調節張力之劑(諸如，氯化鈉或右旋糖)。pH值可用酸或鹼(諸如，鹽酸或氫氧化鈉)來調節。腸胃外製劑可於由玻璃或塑膠所製成的安瓿中、一次性注射器或多劑量小瓶中封裝。於一些情況下，本文中所述的任何可活化分子與防止從體內快速消除之載劑(例如，持續和控制釋放之調配物，包括植入物和微膠囊化遞送系統)一起製備。可使用生物可降解、生物相容之聚合物，例如，乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯、聚乳酸-共-乙醇酸以及聚乳酸。用於製備此類醫藥組成物和調配物之方法對於發明所屬技術領域中的技術人員而言是顯而易見的。例如，可活化分子可被包埋在例如由凝聚技術或由介面聚合製備之微膠囊中，例如，分別在膠體藥物遞送系統中之羥甲基纖維素或明膠-微膠囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊(例如，脂質體、白蛋白微球、微乳液、奈米粒子以及奈米膠囊)或巨乳液中。

【0220】可製備持續釋放之製劑。持續釋放之製劑之合適實例包括固體疏水性聚合物之半透性基質，該固體疏水性聚合物含有含有CM之多肽，該等基質係成形物件之形式，例如，薄膜或微膠囊。持續釋放之基質之實例包括

聚酯、水凝膠(例如，聚(甲基丙烯酸2-羥乙酯)或聚(乙烯醇))、聚丙交酯、L-麩胺酸以及γ-乙基-L-麩胺酸之共聚物、不可降解之乙烯-乙酸乙烯酯、可降解之乳酸-乙醇酸共聚物(例如，由乳酸-乙醇酸共聚物和乙酸柳菩林(leuprolide acetate)所組成之可注射微球)以及聚-D-(-)-3-羥基丁酸。雖然聚合物(諸如，乙烯-乙酸乙烯酯和乳酸-乙醇酸)能夠釋放分子超過100天，某些水凝膠釋放蛋白質的時期較短。

【0221】於一些具體例中，適合注射使用之醫藥組成物包括無菌水溶液(水可溶處)或分散液以及用於臨時製備無菌可注射溶液或分散液的無菌粉末。對於靜脈內投予，合適的載劑包括生理食鹽水、抑菌水、充當非離子界面活性劑之Cremophor® EL (CAS No.61791-12-6)(BASF, Parsippany, N.J.)(其為聚氧乙基化三酸甘油酯之混合物，係藉由使莫耳比為1：35之蓖麻油與環氧乙烷反應而得)或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)。組成物可為無菌的且應該是流體且具有促進輕易注射之黏度。組成物在製造和儲存的條件下可為穩定的，並且可防止微生物(諸如，細菌和真菌)的污染作用。載劑可為溶劑或分散介質，其含有例如水、乙醇、多元醇(例如，甘油、丙二醇以及液體聚乙二醇等)以及其適當的混合物。對於分散的顆粒組成物，可例如藉由在粒子上使用塗層(諸如，卵磷脂)，以及在分散液的情況下藉由維持所需的粒子尺寸以及藉由使用表面活性劑而維持適當的流動性。於一些具體例中，醫藥組成物可進一步

包含一或多種抗菌劑及/或抗菌和抗真菌劑，例如，對羥基苯甲酸酯類、三氯丁醇、苯酚、抗壞血酸、硫柳汞等。於一些具體例中，組成物中可包括等滲劑，例如，糖、多元醇(諸如，甘露醇、山梨醇等)，以及鹽類(諸如，例如，氯化鈉等)。可藉由在組成物中包括延遲吸收的劑(例如，單硬脂酸鋁和明膠)來產生可注射組成物之延遲吸收。

【0222】於一些具體例中，醫藥組成物可包含無菌可注射溶液。無菌可注射溶液可藉由將所需量的活性化合物與如上列舉的成分中之一者或組合(如需要)摻入適當的溶劑中，然後過濾滅菌而製備。一般而言，分散液可藉由將活性化合物摻入無菌媒劑中而製備，該無菌媒劑含有基礎分散介質和來自彼等如上列舉者之所需的其他成分。在用於製備無菌可注射溶液之無菌粉末的情況下，製備方法為產生來自其先前無菌過濾之溶液的活性成分加上任何額外所需成分的粉末之真空乾燥和冷凍乾燥。

【0223】於一些具體例中，醫藥組成物可包含口服組成物。口服組成物可包括惰性稀釋劑或可食用載劑。口服組成物可於明膠膠囊中封裝或壓製成錠劑。為了口服治療投予之目的，活性化合物可與賦形劑併入，並且以錠劑、喉錠或膠囊之形式使用。口服組成物亦可使用用作漱口水的流體載劑製備，其中將流體載劑中之化合物口服施用，並且漱口以及咳出或吞嚥。醫藥上相容之黏合劑及/或佐劑材料可作為組成物的一部分而包括在內。錠劑、丸劑、膠囊、喉錠等可含有任何下列成分或類似性質的化合物：

黏合劑，諸如，微晶纖維素、黃著膠或明膠；賦形劑(諸如，澱粉或乳糖)、崩解劑(諸如，海藻酸、Primojel®(羥基乙酸澱粉鈉)或玉米澱粉)；潤滑劑，諸如，硬脂酸鎂；助流劑，諸如，膠體二氧化矽；甜味劑，諸如，蔗糖或糖精；或調味劑，諸如，薄荷、水楊酸甲酯或橙子調味劑。

【0224】於一些具體例中，可調配用於吸入投予之醫藥組成物。例如，化合物可以氣溶膠噴霧之形式從含有合適的推進劑(例如，氣體，諸如，二氧化碳)之壓力容器或分配器或噴霧器遞送。

【0225】於一些具體例中，可調配用於全身性投予之醫藥組成物。例如，全身性投予可為以靜脈內以及以經黏膜或經皮的方式。對於經黏膜或經皮投予，可在調配物中使用適合欲滲透的屏障的滲透劑。此類滲透劑通常為發明所屬技術領域中已知的，並且包括例如用於經黏膜投予之去污劑、膽鹽以及夫西地酸衍生物。經黏膜投予可通過使用鼻噴霧劑或栓劑來完成。對於經皮投予，活性化合物可調配成發明所屬技術領域中公知的軟膏、油膏、凝膠或霜劑。

【0226】於一些具體例中，醫藥組成物可以用於直腸遞送之栓劑(例如，使用傳統栓劑底質，諸如，可可脂和其他甘油酯)或滯留灌腸劑之形式製備。

【0227】於一個具體例中，醫藥組成物可用保護化合物免於從體內快速消除之載劑製備，諸如，控制釋放之調配物，包括植入物和微囊化遞送系統。可使用生物可降

解、生物相容之聚合物，諸如，乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯、聚乳酸-共-乙醇酸以及聚乳酸。用於製備此類醫藥調配物之方法將對於發明所屬技術領域中的技術人員而言是顯而易見的。

【0228】將口服或腸胃外組成物調配成劑量單位形式以達成投予之容易度和劑量之均勻性可為有利的。本文中所用的劑量單位形式是指適合作為欲治療之個體的單一劑量之物理上離散的單位；各單位含有經計算以產生所欲治療效果的預定量的活性化合物以及所需的醫藥載劑。本揭露之劑量單位形式的規格可由活性化合物的獨特特性和欲達成之特定治療效果以及調合(compounding)此類活性化合物以治療個人之領域中固有的限制所規定且直接取決於彼等。

【0229】於一些具體例中，組成物(例如，醫藥組成物)可視需要地與投予說明一起包括於容器、小瓶、注射器、注射筆、包裝或分配器中。

【0230】本文中亦提供套組，其包括本文中所述的任何含有CM之多肽(例如，可活化分子或接合之多肽)、包括本文中所述的任何多肽之任何組成物或包括本文中所述的任何多肽之任何醫藥組成物。除了本文中所述的多肽之外，亦提供包括一或多種第二治療劑之套組。(多種)第二治療劑可以與本文中之多肽分開的劑量投予形式提供。替代地，(多種)第二治療劑可與本文中之多肽一起調配。

【0231】本文中所述的任何套組可包括用於使用本文

中所述的任何組成物(例如，醫藥組成物)及/或任何含有CM之多肽(例如，可活化分子或接合之多肽)之說明書。於一些具體例中，套組可包括用於進行本文中所述的任何方法之說明書。於一些具體例中，套組可包括至少一劑本文中所述的任何組成物(例如，醫藥組成物)。於一些具體例中，套組可提供用於投予本文中所述的任何醫藥組成物之注射器。

【0232】本文中亦提供由本文中所述的任何方法製造的含有CM之多肽(例如，可活化分子或接合之多肽)。亦提供包含由本文中所述的任何方法製造的任何多肽之組成物(例如，醫藥組成物)。本文中亦提供包括至少一劑本文中所述的任何組成物(例如，醫藥組成物)之套組。

製造含有CM多肽之方法

【0233】本文中提供製造本文中所述的含有CM之多肽(例如，可活化分子或接合之多肽)之方法，其包括：(a)在足以製造含有CM之多肽的條件下，在液體培養基中培養本文中所述的任何重組宿主細胞；以及(b)從該宿主細胞及/或該液體培養基回收含有CM之多肽。

【0234】培養細胞之方法為發明所屬技術領域中眾所周知的。於一些具體例中，細胞可在有利於細胞增殖、細胞分化以及細胞生長的條件下於活體外維持。例如，可藉由使細胞(例如，本文中所述的任何細胞)與細胞培養基接觸而培養重組細胞，該細胞培養基包括足以支持細胞生存

力和生長的必需生長因子和補充物。

【0235】於一些具體例中，方法可進一步包括單離回收之含有CM之多肽(例如，可活化分子或接合之多肽)。含有CM之多肽的單離可使用任何用於分離蛋白質物種的分離或純化技術進行，例如，親和力標籤式(affinity tag-based)蛋白質純化(例如，多組胺酸(His)標籤、麩胱甘肽-S-轉移酶標籤等)、硫酸銨沉澱、聚乙二醇沉澱、尺寸排阻層析術、配體-親和力層析術(例如，蛋白A層析術)、離子交換層析術(例如，陰離子或陽離子)、疏水交互作用層析術等。

【0236】本文中所述的組成物和方法可能涉及允許在可活化分子之MM和AM之間形成二硫鍵之非還原或部分還原的條件之使用。

【0237】於一些具體例中，該方法進一步包括將單離之多肽調配成醫藥組成物。各種製劑為發明所屬技術領域中已知的，並且在本文中描述。可調配本文中所述的任何單離之多肽以用於任何投予途徑(例如，靜脈內、瘤內、皮下、皮內、口服(例如，吸入)、經皮(例如，局部)、經黏膜或肌肉內)。

使用含有CM之多肽之方法

【0238】於一些態樣中，本揭露進一步提供使用本文中之含有CM之多肽之方法。於一些具體例中，本揭露提供治療個體之疾病(例如，癌症(例如，本文中所述的任何

癌症))之方法，其包括向該個體投予治療有效量的本文中所述的任何多肽(例如，可活化分子或接合之多肽)。於一些具體例中，本揭露提供預防個體之疾病、延遲該疾病之進展、治療該疾病、減輕該疾病之症狀或以其他方式改善該疾病之方法，其係藉由向有需求之個體投予治療有效量的本文中所述的多肽(例如，可活化分子或接合之多肽)。術語「治療」是指改善病症之至少一個症狀。於一些具體例中，所治療的病症可為癌症或自體免疫疾病或改善癌症或自體免疫疾病之至少一個症狀。如本文中所用，術語「個體」是指任何哺乳動物。於一些具體例中，個體為貓科動物(例如，貓)、犬科動物(例如，狗)、馬科動物(例如，馬)、兔、豬、嚙齒動物(例如，小鼠、大鼠、倉鼠或天竺鼠)、非人類之靈長類(例如，猿猴(例如，猴子(例如，狒狒、狨猴))或人猴(例如，黑猩猩、大猩猩、紅毛猩猩或長臂猿))或人類。於一些具體例中，個體為人類。術語個體和患者在本文中可互換地使用。於一些具體例中，個體先前已被鑑定或診斷為患有疾病(例如，癌症(例如，本文中所述的任何癌症))。

【0239】本揭露之治療有效量的含有CM之多肽(例如，可活化分子或接合之多肽)通常有關達成治療目標所需的量。如上述，這可能是AM與其標靶之間的結合交互作用，其在某些情況下，干擾標靶的功能。需要投予的量將另外取決於多肽對其特定標靶之結合親和力，並且亦將取決於從被投予多肽之其他個體的自由體積耗盡該投予之

多肽的速率。作為非限制性實例，本揭露之多肽的治療有效投藥的常見範圍可為約0.001、0.01、0.1、0.3、0.5、0.7、0.8、0.9、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45或50 mg/kg體重或更高。與傳統可活化分子相比且與傳統抗體相比，本揭露之多肽的結構使得減少向個體投予之多肽的劑量是可能的。例如，與相應的傳統治療性分子之相應的劑量相比，以單位劑量為基準計之投予劑量或劑量方案期間之總劑量可減少10%、20%、30%、40%或50%。

【0240】常見的投藥頻率可為例如每日、每週、每兩週或每月一次或兩次。

【0241】治療之功效係用診斷或治療特定病症的任何已知方法確定。用於篩選具有所欲特異性的多肽之方法包括，但不限於，酵素連結免疫吸附測定法(ELISA)和發明所屬技術領域中已知的其他免疫介導技術。

【0242】於另一個具體例中，將針對二或更多個標靶之多肽用於有關標靶的定位及/或定量之領域內已知的方法中(例如，用於測量在適當的生理樣本內之一或多個標靶的水平、用於診斷方法、用於使蛋白質顯像等)。於給定的具體例中，將含有衍生自抗體之抗原結合域的針對二或更多個標靶之多肽或其衍生物、片段、類似物或同系物用作藥理活性化合物(後文中稱為「治療劑」)。

【0243】於此等方法和用途之任何具體例中使用的含有CM之多肽可於疾病的任何階段投予。例如，可向罹患

從早期到轉移的任何階段的癌症患者投予此類多肽。於一些具體例中，可向罹患或易感於與異常標靶表現及/或活性相關之疾病或病症的個體投予含有CM之多肽以及其調配物。

【0244】可使用發明所屬技術領域中已知的多種方法中之任一者鑑定罹患或易感於與異常標靶表現及/或活性相關之疾病或病症之個體。例如，可使用多種臨床及/或實驗室試驗(諸如，身體檢查和血液、尿液及/或糞便分析)中之任一者評估健康狀況，而辨識罹患癌症或其他腫瘤病況的個體。例如，可使用多種臨床及/或實驗室試驗(諸如，身體檢查及/或體液分析，例如，血液、尿液及/或糞便分析)中之任一者評估健康狀況，而辨識罹患發炎及/或發炎性病症之個體。

【0245】於一些具體例中，若達成多個實驗室或臨床目標中之任一者，則向罹患與異常標靶表現及/或活性相關之疾病或病症之患者投予多肽可被認為是成功的。例如，若與疾病或病症相關之一或多個症狀減輕、減少、抑制或不會進展到進一步(亦即，惡化)的狀態，則向罹患與異常標靶表現及/或活性相關之疾病或病症之患者投予多肽可被認為是成功的。若疾病或病症進入緩解或沒有進展到進一步(亦即，惡化)的狀態，則向罹患與異常標靶表現及/或活性相關之疾病或病症之患者投予多肽可被認為是成功的。

【0246】如本文中所用，術語「治療」包括降低個體

(例如，本文中所述的任何個體)之疾病(例如，癌症(例如，本文中所述的任何癌症))之一或多個(例如，1、2、3、4或5個)症狀或徵象的嚴重性、頻率或數量。於疾病為癌症之一些具體例中，治療導致患有癌症之個體之降低癌症生長、抑制癌症進展、抑制癌症轉移或降低癌症復發之風險。

【0247】於一些具體例中，CM包含在病況或患病組織中具有活性(例如，上調或以其他方式不調節)的蛋白酶之受質。例示性病況包括，例如，癌症(例如，其中患病組織為腫瘤組織)和發炎性或自體免疫病況(例如，其中患病組織為發炎組織)。於一些具體例中，CM包含細胞外蛋白酶之受質。於一些具體例中，CM包含細胞內蛋白酶之受質。於一些具體例中，CM為細胞內蛋白酶和細胞外蛋白酶之受質。於一些具體例中，疾病可為癌症。於一些具體例中，個體可能已被鑑定或診斷為患有癌症。癌症之實例包括：實性腫瘤、血液腫瘤、肉瘤、白血病(例如，髮樣細胞白血病、慢性淋巴球性白血病(CLL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性骨髓性白血病(CML)、急性淋巴球性白血病(ALL))、胃癌、泌尿上皮癌、肺癌、腎細胞癌、胃和食道癌、胰臟癌、前列腺癌、腦癌、大腸癌、骨癌、肺癌、乳癌、大腸直腸癌、卵巢癌、非小細胞肺癌(NSCLC)、鱗狀細胞頭頸癌、子宮內膜癌、膀胱癌、子宮頸癌以及肝細胞癌。前述癌症之轉移亦可根據本文中所述的方法來治療或預防。

【0248】於一些具體例中，疾病可為自體免疫疾病或疾況。於一些具體例中，個體可能已被鑑定或診斷為患有自體免疫疾病或病況或處於發展自體免疫疾病或病症的提高的風險中。自體免疫疾病之實例包括第1型糖尿病、類風濕性關節炎(RA)、乾癬/乾癬性關節炎、多發性硬化症、全身性紅斑性狼瘡、發炎性腸道疾病(例如，克隆氏症、潰瘍性結腸炎)、慢性發炎或移植排斥(例如，於腎臟、肝臟或心臟移植)、自體免疫疾病、傳染病、慢性發炎或移植排斥。於一些具體例中，疾病為心血管疾患。於一些具體例中，疾病為神經退化性疾患。

【0249】於一些具體例中，本文中之方法可導致個體之癌症之一或多個症狀的數量、嚴重性或頻率之降低(例如，與治療前個體之癌症的一或多個症狀的數量、嚴重性或頻率相比)。

【0250】方法可進一步包含向個體投予一或多種額外的劑。於一些具體例中，含有CM之多肽(例如，可活化分子或接合之多肽)可在治療期間及/或之後與一或多種額外的劑組合投予。於一些具體例中，可將多肽調配成單一治療性組成物，並且可同時投予多肽和(多種)額外的劑。替代地，多肽和(多種)額外的劑可彼此分離，例如，各自調配成個別的治療性組成物，並且同時投予多肽和額外的劑，或者於治療方案期間的不同時間投予多肽和額外的劑。例如，可在投予額外的劑之前、在投予額外的劑之後或以交替的方式投予多肽。多肽和(多種)額外的劑可以單

一劑量或多劑量投予。

【0251】本文中之一或多種多肽可與一或多種消炎藥物、免疫抑制劑或代謝或酵素抑制劑共同調配及/或共同投予。於一些具體例中，本文中之一或多種多肽可與一或多種其他類型的多肽合併。

【0252】本揭露亦提供偵測個體或樣本中之切割劑及/或標靶之存在或不存在之方法。此類方法可包含(i)使個體或生物樣本與可活化分子接觸，其中該可活化分子包括位於在CM切割後釋放之可活化分子的一部分之可偵測標誌，以及(ii)測量該個體或生物樣本中之活化之分子的水平，其中該個體或生物樣本中之活化之分子之可偵測水平表示切割劑、標靶或切割劑和標靶兩者不存在及/或不充分存在於該個體或生物樣本中，使得該可活化分子之標靶結合及/或蛋白酶切割無法於該個體或生物樣本中偵測，以及其中該個體或生物樣本中的降低之可偵測水平之活化之分子表示切割劑和標靶存在於該個體或生物樣本中。

【0253】此類偵測方法可修改成亦提供對切割時能夠與可活化分子之AM結合之標靶之存在或不存在的偵測。因此，測定法可修改成評估切割劑之存在或不存在以及感興趣的標靶之存在或不存在。可藉由如上述可活化分子之可偵測標誌之存在及/或增加而偵測切割劑之存在或不存在，並且可藉由偵測標靶-AM複合物(例如，藉由使用可偵測地標示之抗標靶抗體)而偵測標靶之存在或不存在。

【0254】於一些具體例中，可活化分子亦可用於原位

顯像以驗證可活化分子之活化，例如，由蛋白酶切割及與特定標靶之結合。原位顯像為一種能夠定位生物樣本(諸如，細胞培養物或組織切片)中之蛋白水解活性和標靶之技術。使用此技術，基於可偵測標誌(例如，螢光標誌)之存在來確認與給定標靶之結合和蛋白水解活性兩者是可能的。

【0255】此等技術可用於衍生自疾病部位(例如，腫瘤組織)或健康組織之任何冷凍細胞或組織。此等技術對於新鮮細胞或組織樣本亦為有用。

【0256】於此等技術中，可活化分子可用可偵測標誌標示。可偵測標誌可為螢光染料(例如，螢光團、螢光異硫氰酸鹽(FITC)、異硫氰酸玫瑰紅(TRITC)、Alexa Fluor®標誌)、近紅外線(NIR)染料(例如，Qdot®奈米晶體)、膠體金屬、半抗原、放射性標記、生物素以及擴增試劑(諸如，鏈親和素)或酵素(例如，辣根過氧化酶或鹼性磷酸酶)。

【0257】對已與標示之可活化分子一起培養的樣本中之標誌的偵測表示該樣本含有標靶且含有對可活化分子之CM具有特異性之蛋白酶。於一些具體例中，蛋白酶之存在可使用廣譜蛋白酶抑制劑(例如，彼等本文中所述者)及/或藉由使用對蛋白酶具有特異性之劑(例如，對蛋白酶間質蛋白酶(matriptase)具有特異性且抑制間質蛋白酶之蛋白水解活性之抗體，諸如，A11)確認；參見，例如，國際公開案第WO 2010/129609號，2010年11月11日公開。使用廣

譜蛋白酶抑制劑(諸如，彼等本文中所述者)及/或藉由使用更具選擇性的抑制劑之相同方法可用以鑑定對可活化分子之CM具有特異性之蛋白酶。於一些具體例中，可使用對標靶具有特異性之劑(例如，另一種抗體)來確認標靶之存在，或者可偵測標誌可與未標示之標靶競爭。於一些具體例中，可使用未標示之可活化分子，並且由標示之二級抗體或更複雜的偵測系統偵測。

【0258】類似的技術亦可用於活體內顯像，其中個體(例如，哺乳動物，包括人類)中之螢光訊號之偵測表示疾病部位含有標靶且含有對可活化分子之CM具有特異性之蛋白酶。

【0259】此等技術亦可用於套組及/或作為試劑，其係基於可活化分子中之蛋白酶特異性CM而偵測、鑑定或表徵多種細胞、組織以及生物體中之蛋白酶活性。

【0260】可偵測標誌之降低之水平可為例如至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65 %、70%、75%、80%、85%、90%或95%，或實質上100%的降低。於一些具體例中，可偵測標誌可與多肽之組分(例如，AM)接合。於一些具體例中，可使用與活化之蛋白特異性地結合之第二試劑完成測量個體或樣本中之多肽水平，其中該試劑包含可偵測標誌。第二試劑可為包含可偵測標誌之抗體。

【0261】於一些具體例中，含有CM之多肽亦可用於偵測患者樣本中之標靶，並且因此可用作診斷劑。例如，

多肽可用於活體外測定法(例如，ELISA)，以偵測患者樣本中之標靶水平。例如，多肽可固定在固體支撐體(例如，微量滴定盤之(多個)孔)上。固定之多肽可作為可存在於試樣中之任何標靶之捕獲蛋白。在使固定之多肽與患者樣本接觸之前，可淋洗且用封阻劑(諸如，乳蛋白或白蛋白)處理固體支撐體以防止分析物之非特異性吸附。

【0262】於一些具體例中，基於在活體外診斷測定中使用多肽所獲得的結果，可基於標靶蛋白(例如，抗原)之表現水平來確定個體的疾病階段。對於給定的疾病，可從被診斷為處於疾病進展的各個階段及/或處於疾病的治療性處理的各個點的個體採集血液樣本。使用為了進展的各個階段或療法提供統計學上顯著的結果之樣本群體，指定可被認為是各個階段的特徵的標靶蛋白(例如，抗原)之濃度範圍。

【0263】本文中之多肽亦可用於診斷及/或顯像方法。於一些具體例中，此類方法可為活體外方法。於一些具體例中，此類方法可為活體內方法。於一些具體例中，此類方法可為原位方法。於一些具體例中，此類方法可為離體方法。例如，具有CM之多肽可用以偵測能夠切割CM之酵素之存在或不存在。此類多肽可用於診斷劑，其可包括酶活性之活體內偵測(例如，定性或定量)(或者，於一些具體例中，增加之還原電位的環境，諸如，可提供二硫鍵還原的環境)，該活體內偵測係通過給定宿主生物體之給定細胞或組織中的活化之抗體(亦即，由多肽切割所產生

之抗體)之所測蓄積。活化之蛋白之此類蓄積不僅表示組織表現酶活性(或取決於CM的本質之增加之還原電位),亦表示組織表現與活化之蛋白結合之標靶。於一些實例中,多肽可用於用不依賴標靶結合之測定法偵測蛋白酶活性,例如,定量離體酶譜(QZ)測定法,如Howng et al., "Novel Ex Vivo Zymography Approach for Assessment of Protease Activity in Tissues with Activatable Antibodies," Pharmaceutics. 2021 Sep 2; 13(9):1390中所述,其係以引用方式整體納入本文中。

【0264】例如,可選擇CM作為在腫瘤部位、在病毒或細菌感染部位、在生物限制部位(例如,膿腫、在器官中等)等發現的蛋白酶之蛋白酶受質。AM可為與標靶蛋白(例如,抗原)結合者。使用發明所屬技術領域中的技術人員熟悉的方法,可偵測標誌(例如,螢光標誌或放射性標誌或放射性示蹤劑)可與多肽之AM或其他區域接合。合適的可偵測標誌可在前述篩選方法的背景及後文中提供額外的具體實例中討論。使用對疾病狀態的蛋白質或肽具有特異性之AM及在感興趣的疾病組織中有升高之活性的蛋白酶,相對於其中CM特異性酵素不以可偵測之水平存在或以低於疾病組織中之水平存在或為無活性(例如,呈酶原形式或與抑制劑複合)之組織,多肽可以展現與疾病組織有增加之結合速率。由於小蛋白質和肽被腎臟過濾系統從血液中快速清除,並且由於對CM具有特異性之酵素不以可偵測之水平存在(或在非疾病組織中以較低水平存在,

或以非活性構形存在)，疾病組織中的活化之蛋白的蓄積相對於非疾病組織可能增強。

【0265】於一些具體例中，含有CM之多肽可用於活體內顯像，其中在個體(例如，哺乳動物，包括人類)中偵測到螢光訊號表示疾病部位含有標靶且含有對多肽之CM具有特異性之蛋白酶。活體內顯像可用以辨識或以其他方式細化適合用本揭露之多肽治療的患者群體。例如，對於標靶和切割所測試之多肽之CM中的受質之蛋白酶(例如，在疾病部位蓄積之活化之蛋白)兩者測試呈陽性的患者被辨識為用包含此類CM之此類多肽治療的合適候選者。同樣地，測試呈陰性的患者可被辨識為另一種療法形式的合適候選者(亦即，不適合用所測試之多肽之治療)。於一些具體例中，此類相對第一多肽測試呈陰性的患者可用包含不同CM之其他多肽測試，直到鑑定出適合治療的多肽(例如，包含由患者在疾病部位切割之CM之多肽)。

【0266】於一些具體例中，原位顯像可用以辨識要治療哪些患者之方法。例如，在原位顯像中，多肽可用以篩選患者樣本以辨識彼等在適當位置(例如，在腫瘤部位)具有(多種)適當的蛋白酶和(多個)標靶的患者。於一些具體例中，將原位顯像用以辨識或以其他方式細化適合用本揭露之多肽治療的患者群體。例如，對於標靶和切割所測試之多肽之CM中的受質之蛋白酶(例如，在疾病部位蓄積之活化之蛋白)兩者測試呈陽性的患者被辨識為用包含此類CM之此類多肽治療的合適候選者。同樣地，在標靶和切

割所測試之多肽中使用之CM之蛋白酶中之任一者或兩者測試呈陰性的患者可被鑑定為另一種療法形式的合適候選者(亦即，不適合用所測試之多肽治療)。於一些具體例中，此類相對第一多肽測試呈陰性的患者可用包含不同CM之其他多肽測試，直到鑑定出適合治療的多肽(例如，包含由患者在疾病部位切割之CM之多肽)。

【0267】本申請案亦提供下列編號之陳述中所闡述的態樣和具體例：

【0268】陳述1. 一種單離之多肽，其包含可切割部分(CM)，該可切割部分(CM)包含胺基酸序列AIALY(SEQ ID NO：5)，其中該CM為蛋白酶之受質。根據本揭露，單離之多肽為一種分子，其中蛋白酶對CM之切割導致該分子的一部分或組分與該分子的其餘部分分離。於本揭露之一些態樣中，蛋白酶對CM之切割活化分子。於一些態樣中，單離之多肽為一種其中多種蛋白酶切割CM之分子。於一些態樣中，單離之多肽為一種其中MMP2切割CM之分子。於一些態樣中，單離之多肽為一種其中MM9切割CM之分子。於一些態樣中，單離之多肽為一種其中MMP14切割CM之分子。於一些態樣中，單離之多肽為一種其中MMP2、MMP9以及MMP14中之兩者或全部切割CM之分子。於一些態樣中，單離之多肽為一種分子，其中CM之%切割率為至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%或100%，例如，至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%或100%可由

MMP2、MMP9以及MMP14中之任一者、或MMP2、MMP9以及MMP14中之任兩者、或MMP2、MMP9以及MMP14中各者切割。根據本揭露，單離之多肽為一種具有高活體內穩定性，使得其在血漿中不被切割之分子，如活體內投予7天後之小於60%、小於50%、小於40%或小於25%的活體內活化所證明。根據本揭露之具體例，單離之多肽為一種包含具有大於5.0×10^{2} $M^{-1}s^{-1}$之k_{cat}/K_M($M^{-1}s^{-1}$)的CM之分子。

【0269】陳述2. 陳述1之單離之多肽，其中該CM包含胺基酸序列AIALYA(SEQ ID NO：2)。

【0270】陳述3. 陳述1之單離之多肽，其中該CM包含胺基酸序列AIALYAD(SEQ ID NO：1)。

【0271】陳述4. 一種單離之多肽，其包含可切割部分(CM)，該可切割部分(CM)包含選自SEQ ID NO：1至14之胺基酸序列，其中該CM為蛋白酶之受質。根據本揭露，單離之多肽為一種分子，其中蛋白酶對CM之切割導致該分子的一部分或組分與該分子的其餘部分分離。於本揭露之一些態樣中，蛋白酶對CM之切割活化分子。於一些態樣中，單離之多肽為一種其中多種蛋白酶切割CM之分子。於一些態樣中，單離之多肽為一種其中MMP2切割CM之分子。於一些態樣中，單離之多肽為一種其中MMP9切割CM之分子。於一些態樣中，單離之多肽為一種其中MMP14切割CM之分子。於一些態樣中，單離之多肽為一種其中MMP2、MMP9以及MMP14中之兩者或全部切割CM

之分子。於一些態樣中，單離之多肽為一種分子，其中CM之%切割率為至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%或100%，例如，至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%或100%可由MMP2、MMP9以及MMP14中之任一者、或MMP2、MMP9以及MMP14中之任兩者、或MMP2、MMP9以及MMP14中各者切割。根據本揭露，單離之多肽為一種具有高活體內穩定性，使得其在血漿中不被切割之分子，如活體內投予7天後之小於60%、小於50%、小於40%或小於25%的活體內活化所證明。根據本揭露之具體例，單離之多肽為一種包含具有大於5.0×10^2 $M^{-1}s^{-1}$之k_{cat}/K_M($M^{-1}s^{-1}$)的CM之分子。

【0272】陳述5. 陳述1至4中之任一者之單離之多肽，其中該單離之多肽為一種可活化分子，並且進一步包含與標靶特異性地結合之活性部分(AM)。根據本揭露，單離之多肽可為一種具有高活體內穩定性，使得其在血漿中不被切割之分子，如活體內投予7天後之小於25%的活體內活化所證明。根據本揭露，單離之多肽可為一種具有25x、40x、41x、50x、75x、100x、150x、200x或更高的遮蔽效率之可活化分子。根據本揭露，可活化分子可由MMP2、MMP9以及MMP14中之一者、兩者或全部活化。根據本揭露，可活化分子可活化至具有至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%或100%，例如，至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少

90%或至少95%或100%的可由MMP2、MMP9以及MMP14中之任一者、或MMP2、MMP9以及MMP14中之任兩者、或MMP2、MMP9以及MMP14中各者切割之切割率百分比的程度。於一些態樣中，單離之多肽為一種可活化分子，其中在MMP2之存在下的CM之%切割率為至少50%、65%以及至多100%。於一些態樣中，單離之多肽為一種可活化分子，其中CM之%切割率較SEQ ID NO：78之%切割率改善2x或更多(參見，例如，實施例2)。根據本揭露，相較於包含相同活性部分(AM)之對應的「活化之」分子與相同標靶之結合，可活化分子展現與標靶的減弱之結合。

【0273】陳述6. 陳述5之單離之多肽，其中該AM為抗體或其抗原結合片段。

【0274】陳述7. 陳述6之單離之多肽，其中該抗原結合片段係選自由Fab片段、$F(ab')_2$片段、scFv、scAb、dAb、單域重鏈抗體以及單域輕鏈抗體所組成之群組。

【0275】陳述8. 陳述5之單離之多肽，其中該AM為治療性大分子。

【0276】陳述9. 陳述5之單離之多肽，其中該AM為細胞介素。

【0277】陳述10.陳述5之單離之多肽，其中該AM為嵌合抗原受體。

【0278】陳述11. 陳述5至10中之任一者或組合之單離之多肽，其中該AM與該CM偶合。

【0279】陳述12. 陳述11之單離之多肽，其中該AM

直接與該CM偶合。

【0280】陳述13. 陳述11之單離之多肽，其中AM係經由連接肽間接與CM偶合。

【0281】陳述14. 陳述5至13中之任一者或組合之單離之多肽，進一步包含遮蔽部分(MM)。

【0282】陳述15.陳述14之單離之多肽，其中該MM與該AM結合之解離常數大於該AM與該標靶結合之解離常數。

【0283】陳述16. 陳述14或15之單離之多肽，其中該MM為2至40個胺基酸長。

【0284】陳述17. 陳述14至16中之任一者或組合之單離之多肽，其中該MM係通過非特異性交互作用(諸如，立體阻礙)干擾AM與其結合配偶體之結合，視需要地其中該MM位於該可活化分子中，使得該可活化分子之三級或四級的結構允許該MM通過基於電荷之交互作用來遮蔽該AM，視需要地其中該MM為白蛋白(例如，人類血清白蛋白(HSA))、可結晶片段(Fc)域、抗體恆定域(例如，CH域)、聚合物(例如，支鏈或多臂聚乙二醇(PEG))、潛伏相關蛋白(LAP)以及立體干擾AM-標靶交互作用之任何多肽或其他部分，視需要地其中該MM可募集立體干擾AM-標靶交互作用之大蛋白質結合配偶體，視需要地其中該MM為與白蛋白結合之抗體或其片段，視需要地其中該MM包含AM之同源受體的全長或AM結合片段或突變蛋白、AM結合抗體以及其片段(例如，多株抗體、重組抗體、人類

抗體、人源化抗體、單鏈可變片段(scFv)、單域抗體(諸如，重鏈可變域(VH)、輕鏈可變域(VL)、駱駝科動物型奈米抗體之可變域(VHH)或dAb)，視需要地其中該MM為模擬抗體結合及/或結構之非免疫球蛋白蛋白質，該結構係諸如，抗運載蛋白、阿非林、親和抗體分子、親和蛋白、阿非廷、阿爾法體、高親和力多聚體、經設計錨蛋白重複蛋白、非諾爾、孔尼茲域肽、單體以及基於其他工程改造之支架(諸如，SpA、GroEL、纖維連接蛋白、脂質運載蛋白以及CTLA4支架)之結合域，視需要地其中該MM為藉由與水溶性聚合物接合而修飾之肽(諸如，聚烷基二醇，例如，聚乙二醇(PEG))，視需要地其中該MM為與具有長血清半衰期之蛋白質(諸如，HSA、免疫球蛋白或轉鐵蛋白)結合，或與再循環至細胞膜的受體(諸如，FcRn或轉鐵蛋白受體)結合之抗體或抗原結合域。

【0285】陳述18. 陳述14至17中之任一者或組合之單離之多肽，其中該MM與該CM偶合，使得該單離之多肽包含從N端到C端之結構排列如下：MM-CM-AM或AM-CM-MM。

【0286】陳述19. 陳述18之單離之多肽，其中該MM直接與該CM偶合。

【0287】陳述20. 陳述18之單離之多肽，其中該MM係經由連接肽間接與該CM偶合。

【0288】陳述21. 陳述14至20中之任一者或組合之單離之多肽，其中該單離之多肽包含第一連接肽(LP1)和第

二連接肽(LP2)，以及其中該單離之多肽具有從N端到C端之結構排列如下：MM-LP1-CM-AM、MM-CM-LP1-AM、MM-LP1-CM-LP2-AM或AM-LP2-CM-LP1-MM。

【0289】陳述22. 陳述21之單離之多肽，其中該LP1和LP2彼此不相同。

【0290】陳述23. 陳述21之單離之多肽，其中該LP1和LP2彼此相同。

【0291】陳述24. 陳述21至23中之任一者之單離之多肽，其中該LP1和LP2各為1至20個胺基酸長之肽。

【0292】陳述25. 陳述1至24中之任一者或組合之單離之多肽，其中該CM為基質金屬蛋白酶(MMP)之受質。

【0293】陳述26. 陳述25中之單離之多肽，其中該MMP為MMP2、MMP9以及MMP14。陳述25之單離之多肽，其中該MMP為MMP2。陳述25之單離之多肽，其中該MMP為MMP9。陳述25之單離之多肽，其中該MMP為MMP14。

【0294】陳述27. 陳述26之單離之多肽，其中MMP2對該CM之切割的該k_{cat}/K_M為至少1×10^3 $M^{-1}s^{-1}$，視需要地在37℃下，於50 mM Tris-HCl(pH 7.5)、10 mM $CaCl_2$、150 mM NaCl、0.05% (w/v) Brij-35中。

【0295】陳述28.陳述26之單離之多肽，其中MMP2對該CM之切割的該k_{cat}/K_M為至少1×10^4 $M^{-1}s^{-1}$，視需要地在37℃下，於50 mM Tris-HCl(pH 7.5)、10 mM $CaCl_2$、150 mM NaCl、0.05% (w/v) Brij-35中。

【0296】陳述29. 陳述26至28中之任一者或組合之單離之多肽，其中MMP9對該CM之切割的該k_{cat}/K_M為至少1×10^2 $M^{-1}s^{-1}$，視需要地在37℃下，於50 mM Tris-HCl(pH 7.5)、10 mM $CaCl_2$、150 mM NaCl、0.05% (w/v) Brij-35中。

【0297】陳述30. 陳述26至29中之任一者或組合之單離之多肽，其中MMP9對該CM之切割的該k_{cat}/K_M為至少1×10^3 $M^{-1}s^{-1}$，視需要地在37℃下，於50 mM Tris-HCl(pH 7.5)、10 mM $CaCl_2$、150 mM NaCl、0.05% (w/v) Brij-35中。

【0298】陳述31. 陳述25至30中之任一者或組合之單離之多肽，其中MMP14對該CM之切割的該k_{cat}/K_M為至少1×10^2 $M^{-1}s^{-1}$，視需要地對於MMP14為在37℃下，於50 mM HEPES(pH 6.8)、10 mM $CaCl_2$、0.5 mM $MgCl_2$、0.05% (w/v) Brij-35中。

【0299】陳述32. 陳述26至31中之任一者或組合之單離之多肽，其中MMP14對該CM之切割的該k_{cat}/K_M為至少1×10^3 $M^{-1}s^{-1}$，視需要地對於MMP14為在37℃下，於50 mM HEPES(pH 6.8)、10 mM $CaCl_2$、0.5 mM $MgCl_2$、0.05% (w/v) Brij-35中。

【0300】陳述33. 陳述5至32中之任一者或組合之單離之多肽，其中該AM為與EGFR結合之抗體或抗原結合片段，並且該MM包含SEQ ID NO：82之胺基酸序列。

【0301】陳述34. 一種單離之多肽，其包含與EGFR

結合之抗體或其抗原結合片段(AB)、包含SEQ ID NO：82之遮蔽部分(MM)以及可切割部分(CM)，其中該AB係經由該CM與該MM偶合。

【0302】陳述35. 一種單離之多肽，其包含可切割部分(CM)，該可切割部分(CM)包含SEQ ID NO：1至14之任一者的具有一胺基酸突變之胺基酸序列，其中該CM為蛋白酶之受質。

【0303】陳述36. 一種單離之多肽，其包含可切割部分(CM)，該可切割部分(CM)包含SEQ ID NO：1至14之任一者的具有二胺基酸突變之胺基酸序列，其中該CM為蛋白酶之受質。

【0304】陳述37. 一種單離之多肽，其包含可切割部分(CM)，該可切割部分(CM)包含SEQ ID NO：1至14之任一者的具有三胺基酸突變之胺基酸序列，其中該CM為蛋白酶之受質。

【0305】陳述38. 一種單離之多肽，其包含可切割部分(CM)，該可切割部分(CM)包含SEQ ID NO：1至14之任一者的具有四胺基酸突變之胺基酸序列，其中該CM為蛋白酶之受質。

【0306】陳述39. 陳述1至38中之任一者或組合之單離之多肽，進一步包含一或多個額外的CM，視需要地其中該受質中之第一CM的至少一部分與第二CM的至少一部分重疊，使得一或多個胺基酸屬於兩個CM。

【0307】陳述40. 一種多肽複合物，其包含陳述1至

39中之任一者或組合之一或多種單離之多肽。

【0308】陳述41. 一種接合之多肽，其包含與劑接合之陳述1至39中之任一者或組合之單離之多肽。

【0309】陳述42. 陳述41之接合之多肽，其中該劑係經由接合連接子與單離之多肽接合。

【0310】陳述43. 陳述42之接合之多肽，其中該接合連接子為可切割的。

【0311】陳述44. 陳述42之接合之多肽，其中接合連接子為不可切割的。

【0312】陳述45. 陳述43之接合之多肽，其中該接合連接子包含選自SEQ ID NO：1至14之胺基酸序列。

【0313】陳述46. 陳述41至45中之任一者或組合之接合之多肽，其中該劑為毒素、微管抑制劑、核酸損傷劑、多拉司他汀、阿里他汀、美登木素生物鹼、多卡黴素、卡奇黴素或彼等之組合。

【0314】陳述47. 一種組成物，其包含陳述1至39中之任一者或組合之單離之多肽、陳述40之多肽複合物或陳述41至46中之任一者或組合之接合之多肽及載劑。

【0315】陳述48. 陳述47之組成物，其中該載劑為醫藥上可接受之載劑。

【0316】陳述49. 陳述47或48之組成物，其包含額外的劑。

【0317】陳述50. 陳述49之組成物，其中該額外的劑為治療劑。

【0318】陳述51. 一種單離之核酸分子，其係編碼陳述1至39中之任一者或組合之單離之多肽。

【0319】陳述52. 一種載體，其包含陳述51之單離之核酸分子。

【0320】陳述53. 一種細胞，其包含陳述1至39中之任一者或組合之單離之多肽、或陳述50之單離之核酸分子、或陳述52之載體。

【0321】陳述54. 一種製造含有可切割部分(CM)之單離之多肽或可活化分子之方法，該方法包含表現和回收包含陳述1至39中之任一者或組合之單離之多肽的多肽，視需要地其中該多肽為可活化分子。

【0322】陳述55. 一種治療個體之疾病或病症、減輕該疾病或病症之症狀或延遲該疾病或病症之進展之方法，其包含向該個體投予治療有效量的陳述1至39中之任一者或組合之單離之多肽，陳述40之多肽複合物、陳述41至46中之任一者或組合之接合之多肽、陳述47至50中之任一者之組成物、陳述51之核酸分子、陳述52之載體或陳述 53之細胞。給予個體陳述1至39中之任一者或組合之單離之多肽、陳述40之多肽複合物、陳述41至46中之任一者或組合之接合之多肽、陳述47至50中之任一者之組成物、陳述51之核酸分子、陳述52之載體或陳述53之細胞係視需要地與額外的劑一起用作藥劑或用於療法，視需要地用於治療癌症、感染、發炎性疾患、心血管疾患、神經退化性疾患或自體免疫疾患，該額外的劑視需要地為治療劑。給予個

體陳述1至39中之任一者或組合之單離之多肽、陳述40之多肽複合物、陳述41至46中之任一者或組合之接合之多肽、陳述47至50中之任一者之組成物、陳述51之核酸分子、陳述52之載體或陳述53之細胞以治療癌症。給予個體陳述1至39中之任一者或組合之單離之多肽、陳述40之多肽複合物、陳述41至46中之任一者或組合之接合之多肽、陳述47至50中之任一者之組成物、陳述51之核酸分子、陳述52之載體或陳述53之細胞以治療感染。給予個體陳述1至39中之任一者或組合之單離之多肽、陳述40之多肽複合物、陳述41至46中之任一者或組合之接合之多肽、陳述47至50中之任一者之組成物、陳述51之核酸分子、陳述52之載體或陳述53之細胞以治療發炎性疾患。給予個體陳述1至39中之任一者或組合之單離之多肽、陳述40之多肽複合物、陳述41至46中之任一者或組合之接合之多肽、陳述47至50中之任一者之組成物、陳述51之核酸分子、陳述52之載體或陳述53之細胞以治療心血管疾患。給予個體陳述1至39中之任一者或組合之單離之多肽、陳述40之多肽複合物、陳述41至46中之任一者或組合之接合之多肽、陳述47至50中之任一者之組成物、陳述51之核酸分子、陳述52之載體或陳述53之細胞係以治療神經退化性疾患。給予個體陳述1至39中之任一者或組合之單離之多肽、陳述40之多肽複合物、陳述41至46中之任一者或組合之接合之多肽、陳述47至50中之任一者之組成物、陳述51之核酸分子、陳述52之載體或陳述53之細胞以治療自體免疫疾患。

【0323】陳述56. 陳述55之方法，其中該疾病為癌症、感染、發炎性疾患、心血管疾患、神經退化性疾患或自體免疫疾患。

【0324】陳述57. 一種套組，其包含陳述1至39中之任一者或組合之單離之多肽、陳述40之多肽複合物、陳述41至46中之任一者或組合之接合之多肽、或陳述47至50中之任一者之組成物。

【0325】陳述58. 陳述1至39中之任一者或組合之單離之多肽、陳述40之多肽複合物、陳述41至46中之任一者或組合之接合之多肽、或陳述47至50中之任一者之組成物於製造用於治療疾病或病症之藥劑之用途。

【0326】陳述59. 陳述58之用途，其中該疾病或病症為癌症、感染、發炎性疾患、心血管疾患、神經退化性疾患或自體免疫疾患。

【0327】陳述60. 一種檢測或診斷個體之疾病或健康狀況之方法，其包含：使陳述1至39中之任一者或組合之單離之多肽、陳述40之多肽複合物、陳述41至46中之任一者或組合之接合之多肽、或陳述47至50中之任一者之組成物與來自該個體之樣本接觸；以及測量該單離之多肽之切割水平，從而檢測或診斷該個體之該疾病或健康狀況。

【0328】陳述61. 陳述60之方法，其中該疾病為癌症、感染、發炎性疾患、心血管疾患、神經退化性疾患或自體免疫疾患。

實施例

實施例1：可活化抗體和基質金屬蛋白酶(MMP)之可切割部分

【0329】本文中提供之研究描述作為基質金屬蛋白酶(MMP)受質之例示性CM和包括該等例示性CM之例示性可活化抗體。

【0330】構築例示性可活化抗體，使得各者包括表4所列之CM中之一者。例示性可活化抗體(其序列係列於表5中)包括抗體或其抗原結合片段(AB)，其係基於與表皮生長因子受體(EGFR)特異性地結合之小鼠/人類嵌合單株抗體。例示性可活化抗體亦包括與AB之輕鏈的N端偶合之原域。各原域包括遮蔽部分(MM)和可切割部分(CM)，並且CM包括至少一個表4之MMP受質序列。

表4：例示性具有基質金屬蛋白酶(MMP)受質之CM

名稱	序列	SEQ ID NO：
7000	AIALYAD	1
7001	AIALYA	2

表5：可活化抗體

分子名稱	輕鏈EGFR遮蔽物	輕鏈CM	蛋白質敘述(輕鏈/重鏈)
CX-122	CISPRGCPDGPYVMY (SEQ ID NO: 81)	2001 (SEQ ID NO: 78)	C225v5 3954 2001 (SEQ ID NO: 83 / SEQ ID NO: 84)
AA w/5007	CISPRGCPDGPYVMY (SEQ ID NO: 81)	5007 (SEQ ID NO: 80)	C225v5 3954 5007 (SEQ ID NO: 87 / SEQ ID NO: 88)
CX-229	CISPRGCLDGPYVMY (SEQ ID NO: 82)	3001 (SEQ ID NO: 79)	C225v5 3954 3001 (SEQ ID NO: 89/ SEQ ID NO: 84)
CTX-028	CISPRGCPDGPYVMY (SEQ ID NO: 81)	1001 (SEQ ID NO: 75)	C225v5 3954 1001 (SEQ ID NO: 91 / SEQ ID NO: 92)
AA w/7000	CISPRGCPDGPYVMY (SEQ ID NO: 81)	7000 (SEQ ID NO: 1)	C225v5 3954 7000 (SEQ ID NO: 73 / SEQ ID NO: 84)
ProC1589	CISPRGCPDGPYVMY (SEQ ID NO: 81)	7001 (SEQ ID NO: 2)	C225v5 3954 7001 (SEQ ID NO: 74 / SEQ ID NO:84)

實施例2：具有例示性CM之可活化抗體之活體外切割率

【0331】本文中提供之研究評估含有可由基質金屬蛋白酶(MMP)切割之例示性CM之可活化抗體之活體外切割率。

【0332】在MMP2、MMP9以及MMP14之存在下測量具有本揭露之CM以及對照CM 2001(WO2016/118629)和CM 1001(WO2016/048329)之可活化抗體之切割率。將各可活化抗體(500 nM)與10 nM的指定的單一蛋白酶於37℃下培養1.5小時。人類重組蛋白酶係購自R&D Systems：MMP2(目錄號：902-MP)、MMP9(目錄號：911-MP)以及MMP14(目錄號：918-MP)。MMP係根據廠商說明書活

化。以活性位點滴定測定蛋白酶濃度。在下列緩衝液進行MMP2和MMP9之活性測定：50 mM Tris-HCl、10 mM $CaCl_2$、150 mM NaCl、0.05% (w/v) Brij-35，pH 7.5中。使用50 mM HEPES (pH 6.8)、10 mM $CaCl_2$、0.5 mM $MgCl_2$進行MMP14之活性測定。培養後，使用Wes™ Western Blot儀器(Protein Simple)，以毛細管電泳免疫測定法確定各種蛋白酶酵素是否存在切割產物。對於毛細管電泳免疫測定法，使用A110UK山羊抗人類IgG抗體(American Qualex)和抗山羊二級抗體(Jackson ImmunoResearch)。藉由使用Compass軟體(Protein Simple)定量相應於切割之可活化抗體的較高遷移率之多肽的部分，而確定切割之可活化抗體之部分。可活化抗體之部分以及因此由各特定蛋白酶切割之CM在表6A中以「切割率百分比」呈現。

【0333】表6A之例示性結果顯示CM 7000(AIALYAD，SEQ ID NO：1)和CM 7001(AIALYA，SEQ ID NO：2)展現對於MMP9為大於10%且對於MMP2為大於50%之活化百分比。

【0334】此外，進行了例示性研究以確定具有指定之蛋白酶酵素的指定之CM的切割動力學(亦即，k_{cat}/K_M(M^{-1} s^{-1}))。此活體外研究之結果係總結於表6B。

【0335】表6B之結果顯示本揭露之受質顯示由MMP2、MMP9以及MMP14酵素進行之切割率的範圍。此等例示性結果亦顯示對於MMP9和MMP2之活體外切割率，CM 7000(AIALYAD，SEQ ID NO：1)具有大於1×10^3

M^{-1} s^{-1}之k_{cat}/K_M(M^{-1} s^{-1})。此等例示性結果亦顯示對於MMP2、MMP9以及MMP14之活體外切割率，CM 7001(AIALY，SEQ ID NO：2)具有大於1×10^3 M^{-1} s^{-1}之k_{cat}/K_M(M^{-1} s^{-1})。此等例示性結果亦顯示對於MMP2之活體外切割率，CM 7000和7001具有大於1×10^4 M^{-1} s^{-1}之k_{cat}/K_M(M^{-1} s^{-1})。

表6A：具有例示性CM之可活化抗體之*活體*外活化

可活化抗體之CM	受質	切割率 (%) 1.5h		
		MMP2	**MMP9**	**MMP14**
2001	ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 78)	32.9	-	56.3
7000	AIALYAD (SEQ ID NO: 1)	54.4	16.0	7.5
7001	AIALYA (SEQ ID NO: 2)	65.3	17.3	17.0

註：「-」表示低於定量限值。

表6B：具有例示性CM之可活化抗體之*活體*外活化

可活化抗體之CM	受質 (SEQ ID NO)	k_{cat}/K_M (M^{-1} s^{-1})		
		MMP2	**MMP9**	**MMP14**
2001	ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 78)	5.08 E+03	-	1.21 E+04
1001	ISSGLLSS (SEQ ID NO: 75)	6.4 E+03	-	7.3 E+03
7000	AIALYAD (SEQ ID NO: 1)	1.10 E+04	2.00 E+03	8.47 E+02
7001	AIALYA (SEQ ID NO: 2)	1.62 E+04	2.73 E+03	2.16 E+03

註：「-」表示低於定量限值。

實施例3：具有例示性CM之可活化抗體之活體內穩定性

【0336】本文中提供之研究評估具有CM 7000

(AIALYAD；SEQ ID NO：1)和CM 7001(AIALYA；SEQ ID NO：2)之本揭露之可活化抗體之活體內穩定性。

【0337】此例示性研究係藉由向小鼠投予一劑可活化抗體，接著由毛細管電泳免疫測定法測量血漿中的切割之可活化抗體而測量含有本揭露之受質之可活化抗體之穩定性。將穩定性與具有對照CM 2001、3001以及5007之可活化抗體相比。

【0338】於此研究中，向約7至8週齡之nu/nu小鼠腹腔內投予劑量為10 mg/kg的指定之測試物件。投予7天之後，由心臟穿刺而採集末梢血液，並且在採集後1小時內加工成血漿。將採集之樣本於磷酸鹽緩衝鹽水溶液中以1：50 稀釋且變性，並且使用Wes™ Western Blot規程(Protein Simple)，用A110UK山羊抗人類IgG抗體(American Qualex)和抗山羊二級抗體(Jackson ImmunoResearch)用以分析。藉由使用Compass軟體(Protein Simple)定量相應於切割之可活化抗體的較高遷移率之多肽的部分，而測定切割之可活化抗體的部分。此等例示性測定法之結果係總結於表7。

【0339】此等例示性結果顯示具有CM 7001和CM 7000之可活化抗體展現與具有對照CM 2001(ISSGLLSGRSDNH；SEQ ID NO：78)之可活化抗體相當之活體內穩定性，以及與CM 5007(APRSALAHGLF；SEQ ID NO：80)和CM 3001(AVGLLAPPGGLSGRSDNH；SEQ ID NO：79)相比改善的活體內穩定性。

表7：具有例示性CM之可活化抗體之*活體*內穩定性

可活化抗體之CM	CM (SEQ ID NO)	*活體內之* % 活化 (nu/nu, 第7天)
2001	ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 78)	32.1
3001	AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 79)	63.0
5007	APRSALAHGLF (SEQ ID NO: 80)	56.2
7000	AIALYAD (SEQ ID NO: 1)	37.0
7001	AIALYA (SEQ ID NO: 2)	38.2

實施例4：具有例示性CM之可活化抗體之遮蔽效率

【0340】本文中提供之研究評估具有CM 7000 (AIALYAD；SEQ ID NO：1)之本揭露之可活化抗體之活體外遮蔽效率。

【0341】在此研究中，使用固相結合測定法(ELISA)來證明包括本揭露之CM之抗EGFR可活化抗體與重組EGFR之結合親和力。測量對具有本揭露之指定的CM之可活化抗體之EGFR的結合親和力，並且與未遮蔽之對照c225v5抗體(SEQ ID NO：157和158)相比。此等例示性結果之總結係顯示於圖1和表8。

【0342】此等例示性結果顯示，與具有對照CM 2001(ISSGLLSGRSDNH；SEQ ID NO：78)之可活化抗體相比，CM 7000(SEQ ID NO：1)係藉由增加可活化抗體中之遮蔽部分之表觀遮蔽效率(apparent masking efficiency)而具有效果。

表8.可活化抗體之*活體*外結合活性與遮蔽效率

測試物件	以nM計之K_D	遮蔽效率
C225 7000	27.79	139x
C225 2001	7.30	37x
C225 Ab	0.20	1x

實施例5：具有例示性CM之抗EGFR可活化抗體之活體內功效

【0343】本文中提供之研究使用小鼠H292(人類肺癌細胞系)異種移植模式評估具有CM 7000(AIALYAD；SEQ ID NO：1)之本揭露之可活化抗體的活體內功效。

【0344】於此研究中，6至8週齡雌性nu/nu小鼠之H292(衍生自人類肺癌之細胞系)皮下異種移植腫瘤生長至124至210 mm^3之平均體積。H292 細胞系對抗EGFR抗體西妥昔單抗有反應。接著，將小鼠隨機分為各8隻小鼠之群組，並且在第1天向各組腹膜內投藥9 mg/kg的指定之測試物件。如圖2A所示，針對投予測試物件之後的各時間點繪製平均腫瘤體積±SEM。用具有CM 7000或對照CM 2001的活化之抗體或用西妥昔單抗或免疫球蛋白(IVIG)對照治療各小鼠。

【0345】如圖2B所示，使用指定之可活化抗體進行瘤內活化測定法。投藥7天之後，從小鼠採集腫瘤。將腫瘤組織用含有HALT蛋白酶抑制劑混合物(cocktail)(Thermo Fisher)和EDTA之免疫沉澱緩衝液(Pierce)裂解，並且使用Barocycler(Pressure Bioscience)裂解。將Wes™ Western

Blot儀器(Protein Simple)以及A110UK山羊抗人類IgG抗體(American Qualex)和抗山羊二級抗體(Jackson ImmunoResearch)用以分析樣本。藉由定量相應於切割之可活化抗體的較高遷移率之多肽的部分，而測定切割之可活化抗體的部分。此等例示性測定法之結果係總結於圖2B。

【0346】如圖2A所示，具有CM 7000之可活化抗體展現比具有對照CM 2001之可活化抗體更高且與缺少原域之西妥昔單抗類似的活體內功效。

【0347】如圖2B所示，具有CM 7000之可活化抗體係由腫瘤中存在的蛋白酶切割，導致抗體之活化。

實施例6：衍生自患者之腫瘤樣本中的蛋白酶活性之評估

【0348】使用定量酶譜(QZ)測定法評估衍生自患者之腫瘤樣本中之蛋白酶活性。參見Howng, B. et al. "Novel Ex Vivo Zymography Approach for Assessment of Protease Activity in Tissues with Activatable Antibodies," Pharmaceutics 2021, 13(9), 1390。將具有CM 7000(AIALYAD；SEQ ID NO：1)之本揭露之可活化抗體用以分析膽管癌、胰臟癌以及三陰性乳癌(TNBC)患者之腫瘤組織樣本。

【0349】評估12 μm厚之腫瘤切片中之蛋白酶活性。將ImmEdge Hydrophobic Barrier Pen(Vector Laboratories)用以在組織樣本周圍畫出疏水性屏障以維持組織上的液

體，接著將玻片與40 μg/mL未遮蔽之對照c225v5抗體在由150 mM Tris HCl pH 7.4、5 mM $CaCl_2$、100 μM $ZnCl_2$以及0.005% Tween-20所組成之緩衝液(QZ測定緩衝液)中於室溫下培養30分鐘。接著，將在QZ緩衝液中以40 μg/mL製備之等體積的經AF647標示之c225抗體直接加到含有緩衝液之組織上以形成混合物，並且以20 μg/mL之最終濃度於37℃下之加濕室中培養48小時。

【0350】培養48小時之後，從各培養之混合物收集上清液，並且轉移至96孔PCR盤之孔中以毛細管電泳進行測定。將各上清液樣本與四份樣本的含有2-β-巰基乙醇之Pico Sample Buffer(Perkin Elmer)和一份的Pico Sample Buffer混合，接著於95℃下加熱10分鐘。使用LabChip GXII Touch™系統(Perkin Elmer)和HT Pico Protein Express 100規程(Perkin Elmer)，評估各上清液樣本之組成。將Protein Pico Assay Reagent Kit (Perkin Elmer #760498)之規程用以設定Protein Express Assay LabChips(Perkin Elmer #760499)。藉由使用LabChip GX Reviewer軟體(Perkin Elmer)定量相應於切割之可活化抗體的較高遷移率之多肽的部分，而測定骨髓細胞上清液中的切割之可活化抗體的部分。

【0351】如圖3A至3C所示，在膽管癌腫瘤組織中觀察到與具有對照CM 2001、5007或3001之可活化抗體相比，具有CM 7000之可活化抗體中有更高的LC活化。在胰臟癌腫瘤組織中觀察到具有CM 7000之可活化抗體與具有

對照CM 2001、5007以及3001之可活化抗體有水平相當之LC活化。在TNBC腫瘤組織中觀察到CM 7000之LC活化水平與對照CM 2001和5007之活化水平相當。

實施例7：衍生自患者之急性骨髓性白血病「液體腫瘤」樣本中之例示性抗EGFR可活化抗體之原位活化

【0352】本文中提供之研究係使用QA測定法以人類急性骨髓性白血病(AML)樣本評估具有CM 7000(AIALYAD；SEQ ID NO：1)和CM 7001(AIALYA；SEQ ID NO：2)之本揭露之例示性可活化抗體的原位切割。冷凍的AML骨髓單核細胞(BMMC)係購自Discovery Life Sciences。將細胞以每孔83,000個細胞之密度平板接種於無血清RPMI培養基中，並且與在無血清RPMI培養基中製備之80 μg/mL之等體積的未遮蔽之對照c225v5抗體一起於室溫下培養30 min。接著加入在無血清RPMI培養基中以40 μg/mL製備之等體積的經AF647標示之c225可活化抗體以形成混合物，並且以20 μg/mL之最終濃度於37℃下培養24小時。通過300 x *g*離心5 min使細胞粒化(pelletized)。從各培養之混合物收集上清液，並且轉移至96孔PCR盤之孔中以毛細管電泳進行測定。將各上清液樣本與四份樣本的含有2-β-巰基乙醇之Pico Sample Buffer(Perkin Elmer)和一份的Pico Sample Buffer混合，且接著於95℃下加熱10分鐘。使用LabChip® GXII Touch™系統(Perkin Elmer)和HT Pico Protein Express 100規程(Perkin Elmer)，以毛細管電泳測

量受質切割。將Protein Pico Assay Reagent Kit (Perkin Elmer #760498)之規程用以設定Protein Express Assay LabChips(Perkin Elmer #760499)。藉由使用LabChip® GX Reviewer軟體(Perkin Elmer)定量相應於切割之可活化抗體的較高遷移率之多肽的部分，而測定AML BMMC上清液中的切割之可活化抗體的部分。

【0353】如圖4所示，在AML BMMC中觀察到與具有對照CM 2001、5007或3001之可活化抗體相比，具有CM 7000和7001之可活化抗體有高LC活化。

實施例8：肽探針切割測定法中之例示性CM的活體外切割率

【0354】本文中提供之研究評估用基質金屬蛋白酶(MMP) 2 (MMP2)、MMP9以及MMP14之CM的切割動力學(亦即，pM/s和k_{cat}/K_M(M^{-1} s^{-1}))。CM AIALY(SEQ ID NO：5)係以內部淬滅之肽探針形式呈現，而不是以可活化抗體形式包括在內。於內部淬滅之探針中，CM序列位於7-甲氧基香豆素-4-乙醯基(MCA)螢光團和2,4-二硝基苯基(DNP)淬滅劑之間，使得CM序列之切割產生螢光訊號。如表9所示，探針具有下列設計：(MCA)-Gly-Ser-Ala-Ile-Ala-Leu-Tyr-Gly-Gly-Ser-Lys(DNP)-*D*-Arg(SEQ ID NO: 160)。將20 μM內部淬滅之肽探針和20 nM MMP2、MMP9或MMP14用以測量切割速率(pM/s)。在37℃下，以96或384孔盤形式於下列緩衝液中測定切割動力學(亦即，pM/s

和k_{cat}/K_M(M^{-1} s^{-1}))：對於MMP2和MMP9用50 mM Tris-HCl (pH 7.5)、10 mM $CaCl_2$、150 mM NaCl、0.05%(w/v) Brij-35，或對於MMP14用50 mM HEPES(pH 6.8)、10 mM $CaCl_2$、0.5 mM $MgCl_2$、0.05%(w/v) Brij-35。於Infinite 200 PRO (Tecan)多模式讀盤儀(螢光激發波長為320 nm，且發射波長為405 nm)上測定切割動力學。

【0355】表9提供例示性CM AIALY(SEQ ID NO：5)用MMP2、MMP9以及MMP14之例示性探針切割速率(pM/s)。表10提供例示性CM AIALY(SEQ ID NO：5)用MMP2、MMP9以及MMP14之例示性k_{cat}/K_M(M^{-1} s^{-1})值。

表9. 具有例示性CM之多肽探針的*活體*外活化(pM/s)

探針 CM 序列	探針切割 (pM/s)		
	MMP2	**MMP9**	**MMP14**
AIALY (SEQ ID No: 5)	135	87.7	145

表10. 具有例示性CM之多肽探針之*活體*外活化(k_{cat}/K_M)

探針 CM 序列	探針切割 (k_{cat}/K_M)		
	MMP2	**MMP9**	**MMP14**
AIALY (SEQ ID No: 5)	3.9×10^4	4.1×10^4	4.8×10^3

【0356】此等例示性結果顯示CM AIALY(SEQ ID NO：5)可由MMP(MMP2、MMP9以及MMP14)切割，其中k_{cat}/K_M(M^{-1} s^{-1})大於4.0×10^3 M^{-1} s^{-1}。此等結果進一步證明AIALY(SEQ ID NO：5)係本揭露之CM之MMP切割所需的最小核心。

表11.例示性序列

SEQ ID NO	註	序列
1	7000	AIALYAD
2	7001	AIALYA
3	7002	AIALYADG
4	7003	AIALYAG
5	7004	AIALY
6	7005	AIAL
7	7006	SAIALYAD
8	7007	SAIALYA
9	7008	RSAIALYAD
10	7009	RSAIALYA
11	7012	AIALYAH
12	7010	AIALYADH
13	7011	AIALYADHQ
14	7013	AIALYAHQ
15至72	刻意留空	
73	AA w/7000 輕鏈	QGQSGQG**CISPRGCPDGPYVMY**GGGSSGGS**AIALYA** **D**GGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIH WYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLS INSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	AA w/7000 重鏈	與 SEQ ID NO:84相同
74	ProC1589 - 輕鏈	QGQSGQG**CISPRGCPDGPYVMY**GGGSSGGS**AIALYA** GGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHW YQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSI NSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	ProC1589 - 重鏈	與 SEQ ID NO:84 相同
75	1001	ISSGLLSS
76	1004	AVGLLAPP

77	0001	LSGRSDNH
78	2001	ISSGLLSGRSDNH
79	3001	AVGLLAPPGGLSGRSDNH
80	5007	APRSALAHGLF
81	EGFR 遮蔽物	CISPRGCPDGPYVMY
82	EGFR 遮蔽物	CISPRGCLDGPYVMY
83	CX-122 - 輕鏈	QGQSGQ**CISPRGCPDGPYVMY**GSSGGSGGSGGSG**ISS GLLSGRSDNH**GSSGTQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCR ASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSG SGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGT KLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
84	CX-122 - 重鏈	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWV RQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNS KSQVFFKMNSLQSQDTAIYYCARALTYYDYEFAYWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
85	CX-023 - 輕鏈	QGQSGQ**CISPRGCPDGPYVMY**GSSGGSGGSGGSG**LS GRSDNH**GSSGTQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSI GTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSG TDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLEL KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
86	CX-023 - 重鏈	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWV RQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNS KSQVFFKMNSLQSQDTAIYYCARALTYYDYEFAYWG QGTLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK

87	AA w/5007 - 輕鏈	QGQSGQ**CISPRGCPDGPYVMY**GGGSSGGS**APRSALA HGLF**GGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGT NIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDF TLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
88	AA w/5007 - 重鏈	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWV RQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNS KSQVFFKMNSLQSQDTAIYYCARALTYYDYEFAYWG QGTLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
89	CX-229 - 輕鏈	QGQSGQ**CISPRGCLDGPYVMY**GSSGGSGGSGGSG**AV GLLAPPGGLSGRSDNH**GSSGTQILLTQSPVILSVSPGE RVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESIS GIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWP TTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
	CX-229 – 重鏈	與 SEQ ID NO: 84 相同
90	刻意留空	
91	CTX-028 - 輕鏈	QGQSGQ**CISPRGCPDGPYVMY**GSSGGSGGSGGSG**ISS GLLSS**GSSGTQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIG TNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGT DFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
92	CTX-028 - 重鏈	QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGSSGGSGGSGGSGISSG LLSSGSSGTQILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGT NIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDF TLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

93	刻意留空	
94	刻意留空	
95	連接肽	GGSG
96	連接肽	GGSGG
97	連接肽	GSGSG
98	連接肽	GSGGG
99	連接肽	GGGSG
100	連接肽	GSSSG
101	連接肽	GSSGGSGGSGG
102	連接肽	GGGS
103	連接肽	GGGSGGGS
104	連接肽	GGGSGGGSGGGS
105	連接肽	GGGGSGGGGSGGGGS
106	連接肽	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
107	連接肽	GGGGSGGGGS
108	連接肽	GGGGS
109	連接肽	GGGGSGS
110	連接肽	GGGGSGGGGSGGGGSGS
111	連接肽	GGSLDPKGGGGS
112	連接肽	PKSCDKTHTCPPCPAPELLG
113	連接肽	SKYGPPCPPCPAPEFLG
114	連接肽	GKSSGSGSESKS
115	連接肽	GSTSGSGKSSEGKG
116	連接肽	GSTSGSGKSSEGSGSTKG
117	連接肽	GSTSGSGKPGSGEGSTKG
118	連接肽	GSTSGSGKPGSSEGST
119	連接肽	GGGSSGGS
120	連接肽	GGGGSGGGGSS
121	連接肽	GGGSSGGSGGSSGGS
122	連接肽	GSTSGSGKPGSSEGST
123	Fc域臼突變體	ESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS SIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSQEEMTKNQVSLSCA VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL VSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSLG *註：Fc可進一步包含在C端之離胺酸殘基(K)。
124	Fc域杵突變體	GSSKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE

		EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCQEEMTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLG* *註：Fc可進一步包含在C端之離胺酸殘基(K)。
125	人類IgG1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG* *註：Fc可進一步包含在C端之離胺酸殘基(K)。
126	人類IgG2	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFG TQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVV HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESN GQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG* *註：Fc可進一步包含在C端之離胺酸殘基(K)。
127	人類IgG3	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRVELKTPLGDTTHTCPR CPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTP PPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TFRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNIFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPG* *註：Fc可進一步包含在C端之離胺酸殘基(K)。
128	人類IgG4	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREP

		QVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG* *註：Fc可進一步包含在C端之離胺酸殘基(K)。
129		PRFKIIGG
130		PRFRIIGG
131		SSRHRRALD
132		RKSSIIIRMRDVVL
133		SSSFDKGKYKKGDDA
134		SSSFDKGKYKRGDDA
135		IEGR
136		IDGR
137		GGSIDGR
138		PLGLWA
139		GPQGIAGQ
140		GPQGLLGA
141		GIAGQ
142		GPLGIAGI
143		GPEGLRVG
144		YGAGLGVV
145		AGLGVVER
146		AGLGISST
147		EPQALAMS
148		QALAMSAI
149		AAYHLVSQ
150		MDAFLESS
151		ESLPVVAV
152		SAPAVESE
153		DVAQFVLT
154		VAQFVLTE
155		AQFVLTEG
156		PVQPIGPQ
157	未遮蔽之對照 **c225v5**抗體重鏈	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWV RQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNS KSQVFFKMNSLQSQDTAIYYCARALTYYDYEFAYWG QGTLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK

		LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
158	未遮蔽之對照 **c225v5**抗體輕鏈	QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQR TNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVES EDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

其他具體例

【0357】應理解，雖然本發明已結合其實施方式進行描述，先前描述旨在闡釋，而不是限制本發明之範疇(其係由所附申請專利範圍之範疇所界定)。其他態樣、優點以及修飾係在下列申請專利範圍的範疇內。

【0358】本文中提及的所有刊物、專利申請案、專利以及其他參考文獻均係以引用方式整體納入。若有矛盾，將以本說明書(包括定義)為準。此外，章節標題、材料、方法以及實施例僅為闡釋性的，並不旨在限制。

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"  dtdVersion="V1_3"
fileName="895522序列表.xml" softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.3.0"
productionDate="2024-01-05">
 <ApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>112128641</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2023-07-31</FilingDate>
 </ApplicationIdentification>
 <ApplicantFileReference>CYTX-092-TW</ApplicantFileReference>
 <EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>63/370,021</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2022-08-01</FilingDate>
 </EarliestPriorityApplicationIdentification>
 <ApplicantName languageCode="zh">美商ＣＹＴＯＭＸ生物製藥公司</ApplicantName>
 <ApplicantNameLatin>CYTOMX THERAPEUTICS, INC.</ApplicantNameLatin>
 <InventorName languageCode="zh">法西傑瓦  歐加</InventorName>
 <InventorNameLatin>Olga Vasiljeva</InventorNameLatin>
 <InventionTitle languageCode="zh">蛋白酶可切割部分及其使用方法</InventionTitle>
 <InventionTitle languageCode="en">PROTEASE-CLEAVABLE MOIETIES AND METHODS OF
USE THEREOF</InventionTitle>
 <SequenceTotalQuantity>160</SequenceTotalQuantity>
 <SequenceData sequenceIDNumber="1">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q1">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>AIALYAD</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q2">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>AIALYA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="3">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q3">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AIALYADG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q4">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
```

```
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AIALYAG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q5">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AIALY</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="6">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q6">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AIAL</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q7">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SAIALYAD</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
 <INSDSeq>
```

```
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q8">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SAIALYA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q9">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>RSAIALYAD</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q10">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RSAIALYA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q11">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AIALYAH</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q12">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AIALYADH</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q13">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AIALYADHQ</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q14">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>AIALYAHQ</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="15">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
   <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="16">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
   <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="17">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
   <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="18">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
```

```
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="20">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="21">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="22">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="23">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
```

```
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="24">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="26">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="27">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="28">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
```

```
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="29">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="30">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="31">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="32">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="33">
 <INSDSeq>
```

```
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="34">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="35">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="36">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="37">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="38">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="39">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="40">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="41">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="42">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="43">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="44">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="45">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="46">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="47">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="48">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="49">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="50">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="51">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="52">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="53">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="54">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="55">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="56">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="57">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
```

```
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="58">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="59">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="60">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="61">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="62">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
```

```
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="63">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="64">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="65">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="66">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="67">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
```

```
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="68">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="69">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="70">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="71">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="72">
 <INSDSeq>
```

```
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="73">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>255</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..255</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q15">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QGQSGQGCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSAIALYADGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSF
SCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAG
TKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="74">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>254</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..254</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q16">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QGQSGQGCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSAIALYAGGGSQILLTQSPVILSVSPGERVSFS
CRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGT
KLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="75">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q17">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ISSGLLSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="76">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q18">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>AVGLLAPP</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="77">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q19">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>LSGRSDNH</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="78">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q20">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ISSGLLSGRSDNH</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="79">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q21">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>AVGLLAPPGGLSGRSDNH</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="80">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q22">

```
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>APRSALAHGLF</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="81">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q23">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>CISPRGCPDGPYVMY</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="82">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q24">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>CISPRGCLDGPYVMY</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="83">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>266</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..266</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q25">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
```

<INSDSeq_sequence>QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGSSGGSGGSGGSGISSGLLSGRSDNHGSSGTQILLTQSPVI
LSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQ
NNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="84">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>449</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..449</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q26">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTP
FTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSQDTAIYYCARALTYYDYEFAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_seq
uence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="85">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>261</INSDSeq_length>

```
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..261</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q27">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGSSGGSGGSGGSGLSGRSDNHGSSGTQILLTQSPVILSVSP
GERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWP
TTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="86">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>449</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..449</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q28">
```

```
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTP
FTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSQDTAIYYCARALTYYDYEFAYWGQGTLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_seq
uence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="87">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>258</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..258</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q29">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGGGSSGGSAPRSALAHGLFGGGSQILLTQSPVILSVSPGER
VSFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTF
GAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST
LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq_sequence>
```

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="88">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>449</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..449</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q30">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTP
FTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSQDTAIYYCARALTYYDYEFAYWGQGTLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_seq
uence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="89">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>271</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..271</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q31">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QGQSGQCISPRGCLDGPYVMYGSSGGSGGSGGSGAVGLLAPPGGLSGRSDNHGSSGTQILLT
QSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIAD
YYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="90">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="91">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>261</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..261</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
```

```
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q32">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGSSGGSGGSGGSGISSGLLSSGSSGTQILLTQSPVILSVSP
GERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWP
TTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="92">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>261</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..261</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q33">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QGQSGQCISPRGCPDGPYVMYGSSGGSGGSGGSGISSGLLSSGSSGTQILLTQSPVILSVSP
GERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWP
TTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL
```

```
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="93">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
   <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="94">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
   <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="95">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q34">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
```

```
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGSG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="96">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q35">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGSGG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="97">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q36">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GSGSG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="98">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q37">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GSGGG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="99">
 <INSDSeq>
```

```
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q38">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGSG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="100">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q39">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GSSSG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="101">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q40">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GSSGGSGGSGG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="102">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q41">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="103">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q42">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGSGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="104">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q43">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGSGGGSGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="105">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q44">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGGGSGGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="106">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q45">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="107">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q46">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="108">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q47">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
```

```
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="109">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q48">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGGSGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="110">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q49">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGGSGGGGSGGGGSGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="111">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q50">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGSLDPKGGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="112">
 <INSDSeq>
```

```
  <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q51">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>PKSCDKTHTCPPCPAPELLG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="113">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q52">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>SKYGPPCPPCPAPEFLG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="114">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q53">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GKSSGSGSESKS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="115">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
    <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q54">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GSTSGSGKSSEGKG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="116">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q55">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GSTSGSGKSSEGSGSTKG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="117">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q56">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GSTSGSGKPGSGEGSTKG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="118">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q57">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GSTSGSGKPGSSEGST</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="119">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q58">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGSSGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="120">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q59">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGGSGGGGSS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="121">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q60">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
```

```
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGSSGGSGGSSGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="122">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q61">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GSTSGSGKPGSSEGST</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="123">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>229</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..229</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
```

```
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q62">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>229</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q63">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>May be absent</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSQEEMTK
NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSLGK</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="124">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>230</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..230</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q64">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>230</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q65">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>May be absent</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GSSKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCQEEMT
KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSLGK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="125">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>330</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..330</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q66">
```

```
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>330</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q67">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>May be absent</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="126">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>326</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..326</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q68">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>326</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q69">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>May be absent</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="127">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>377</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..377</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q70">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>377</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q71">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>May be absent</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRVELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCP
RCPEPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTFRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK</INS
DSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="128">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>327</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..327</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q72">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>327</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q73">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>May be absent</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV
FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="129">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q74">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>PRFKIIGG</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="130">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q75">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>PRFRIIGG</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="131">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q76">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>SSRHRRALD</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="132">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q77">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>RKSSIIIRMRDVVL</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="133">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q78">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SSSFDKGKYKKGDDA</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="134">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q79">

```
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SSSFDKGKYKRGDDA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="135">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q80">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>IEGR</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="136">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q81">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>IDGR</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="137">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q82">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
```

```
  <INSDSeq_sequence>GGSIDGR</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="138">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q83">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>PLGLWA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="139">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q84">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GPQGIAGQ</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="140">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q85">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GPQGLLGA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="141">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
```

```
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q86">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GIAGQ</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="142">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q87">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GPLGIAGI</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="143">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q88">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GPEGLRVG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="144">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q89">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>YGAGLGVV</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="145">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q90">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>AGLGVVER</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="146">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q91">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AGLGISST</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="147">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q92">
```

```
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>EPQALAMS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="148">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q93">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QALAMSAI</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="149">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q94">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>AAYHLVSQ</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="150">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q95">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
```

```
  <INSDSeq_sequence>MDAFLESS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="151">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q96">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ESLPVVAV</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="152">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q97">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SAPAVESE</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="153">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q98">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>DVAQFVLT</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="154">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
```

```
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q99">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>VAQFVLTE</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="155">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q100">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>AQFVLTEG</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="156">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q101">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>PVQPIGPQ</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="157">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>449</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..449</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q102">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTP
FTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSQDTAIYYCARALTYYDYEFAYWGQGTLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_seq
uence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="158">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q103">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRF
SGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="159">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q104">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GSGGS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="160">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q105">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q106">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>7-methoxycoumarin-4-acetyl
glycine</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>11</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q107">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>2,4-dinitrophenyl lysine</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>12</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier id="q108">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>D-amino acid</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GSAIALYGGSKR</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種單離之多肽，其包含可切割部分(CM)，該可切割部分(CM)包含胺基酸序列AIALY (SEQ ID NO：5)，其中該CM為蛋白酶之受質。

【請求項2】如請求項1之單離之多肽，其中該CM包含胺基酸序列AIALYA(SEQ ID NO：2)或AIALYAD(SEQ ID NO：1)。

【請求項3】一種單離之多肽，其包含可切割部分(CM)，該可切割部分(CM)包含選自SEQ ID NO：1至14之胺基酸序列，其中該CM為蛋白酶之受質。

【請求項4】一種單離之多肽，其包含可切割部分(CM)，該可切割部分(CM)包含SEQ ID NO：1至14中任一者之具有一胺基酸或二胺基酸突變之胺基酸序列，其中該CM為蛋白酶之受質。

【請求項5】如請求項1至4中任一項之單離之多肽，其中該單離之多肽為可活化分子且進一步包含與標靶特異性結合之活性部分(AM)。

【請求項6】如請求項5之單離之多肽，其中該AM為抗體或其抗原結合片段。

【請求項7】如請求項6之單離之多肽，其中該抗原結合片段係選自由Fab片段、$F(ab')_2$片段、scFv、scAb、dAb、單域重鏈抗體及單域輕鏈抗體所組成之群組。

【請求項8】如請求項5之單離之多肽，其中該AM為治療性大分子。

【請求項9】如請求項5之單離之多肽，其中該AM為細胞介素或嵌合抗原受體。

【請求項10】如請求項5至9中任一項之單離之多肽，其中該AM與該CM偶合。

【請求項11】如請求項10之單離之多肽，其中該AM直接與該CM偶合。

【請求項12】如請求項10之單離之多肽，其中該AM係經由連接肽間接與該CM偶合。

【請求項13】如請求項5至12中任一項之單離之多肽，其進一步包含遮蔽部分(MM)。

【請求項14】如請求項13之單離之多肽，其中該MM與該AM結合之解離常數大於該AM與該標靶結合之解離常數。

【請求項15】如請求項13或14之單離之多肽，其中該MM為2至40個胺基酸長。

【請求項16】如請求項13至15中任一項之單離之多肽，其中該MM與該CM偶合以使該單離之多肽包含從N端到C端之結構排列如下：MM-CM-AM或AM-CM-MM。

【請求項17】如請求項16之單離之多肽，其中該MM直接與該CM偶合。

【請求項18】如請求項16之單離之多肽，其中該MM係經由連接肽間接與該CM偶合。

【請求項19】如請求項13至16和18中任一項之單離之多肽，其中該單離之多肽包含第一連接肽(LP1)和第二連

接肽(LP2)，且其中該單離之多肽具有從N端到C端之結構排列如下：MM-LP1-CM-LP2-AM或AM-LP2-CM-LP1-MM。

【請求項20】如請求項19之單離之多肽，其中該LP1和LP2彼此不相同。

【請求項21】如請求項19之單離之多肽，其中該LP1和LP2彼此相同。

【請求項22】如請求項19至21中任一項之單離之多肽，其中LP1和LP2各為1至20個胺基酸長之肽。

【請求項23】如請求項1至22中任一項之單離之多肽，其中該CM為基質金屬蛋白酶(MMP)之受質。

【請求項24】如請求項23之單離之多肽，其中該MMP為MMP2、MMP9或MMP14。

【請求項25】如請求項24之單離之多肽，其中MMP2對該CM之切割的k_{cat}/K_M為至少1×10^3 $M^{-1}s^{-1}$。

【請求項26】如請求項24之單離之多肽，其中MMP2對該CM之切割的k_{cat}/K_M為至少1×10^4 $M^{-1}s^{-1}$。

【請求項27】如請求項24至26中任一項之單離之多肽，其中MMP9對該CM之切割的k_{cat}/K_M為至少1×10^2 $M^{-1}s^{-1}$。

【請求項28】如請求項24至26中任一項之單離之多肽，其中MMP9對該CM之切割的k_{cat}/K_M為至少1×10^3 $M^{-1}s^{-1}$。

【請求項29】如請求項24至28中任一項之單離之多肽，其中MMP14對該CM之切割的k_{cat}/K_M為至少1×10^2 $M^{-1}s^{-1}$。

【請求項30】如請求項24至29中任一項之單離之多肽，其中MMP14對該CM之切割的k_{cat}/K_M為至少1×10^3 $M^{-1}s^{-1}$。

【請求項31】如請求項1至30中任一項之單離之多肽，其進一步包含一或多個額外的可切割部分，視需要地其中該CM的至少一部分與第二可切割部分的至少一部分重疊。

【請求項32】一種多肽複合物，其包含與第二單離之多肽結合的一或多種如請求項1至31中任一項之單離之多肽。

【請求項33】一種接合之多肽，其包含與劑接合之如請求項1至31中任一項之單離之多肽。

【請求項34】如請求項33之接合之多肽，其中該劑係經由接合連接子與該單離之多肽接合。

【請求項35】如請求項34之接合之多肽，其中該接合連接子為可切割的。

【請求項36】如請求項34之接合之多肽，其中該接合連接子為不可切割的。

【請求項37】如請求項34之接合之多肽，其中該接合連接子包含選自SEQ ID NO：1至14之胺基酸序列。

【請求項38】如請求項33至37中任一項之接合之多肽，其中該劑為毒素、微管抑制劑、核酸損傷劑、多拉司他汀、阿里他汀、美登木素生物鹼、多卡黴素、卡奇黴素或彼等之組合。

【請求項39】一種組成物，其包含如請求項1至31中任一項之單離之多肽、如請求項32之多肽複合物或如請求項33至38中任一項之接合之多肽及載劑。

【請求項40】如請求項39之組成物，其中該載劑為醫藥上可接受之載劑。

【請求項41】如請求項39或40之組成物，其包含額外的劑。

【請求項42】如請求項41之組成物，其中該額外的劑為治療劑。

【請求項43】一種單離之核酸分子，其編碼如請求項1至31中任一項之單離之多肽。

【請求項44】一種載體，其包含如請求項43之單離之核酸分子。

【請求項45】一種細胞，其包含如請求項1至31中任一項之單離之多肽、如請求項43之單離之核酸分子或如請求項44之載體。

【請求項46】一種製造含有可切割部分(CM)之可活化分子之方法，該方法包含表現和回收可活化分子，該可活化分子包含如請求項1至31中任一項之單離之多肽。

【請求項47】一種治療個體之疾病或病症、減輕該疾病或病症之症狀或延遲該疾病或病症之進展之方法，其包含向該個體投予治療有效量的如請求項1至31中任一項之單離之多肽、如請求項32之多肽複合物、如請求項33至38中任一項之接合之多肽、如請求項39至42中任一項之組成

物、如請求項43之核酸分子、如請求項44之載體或如請求項45之細胞。

【請求項48】如請求項47之方法，其中該疾病為癌症、感染、發炎性疾患、心血管疾患、神經退化性疾患或自體免疫疾患。

【請求項49】如請求項1至31中任一項之單離之多肽、如請求項32之多肽複合物、如請求項33至38中任一項之接合之多肽、如請求項39至42中任一項之組成物、如請求項43之核酸分子、如請求項44之載體或如請求項45之細胞，其係視需要地與額外的劑一起用作藥劑或用於治療，視需要地用於治療癌症、感染、發炎性疾患、心血管疾患、神經退化性疾患或自體免疫疾患，該額外的劑視需要地為治療劑。

【請求項50】一種檢測或診斷個體之疾病或健康狀況之方法，其包含：

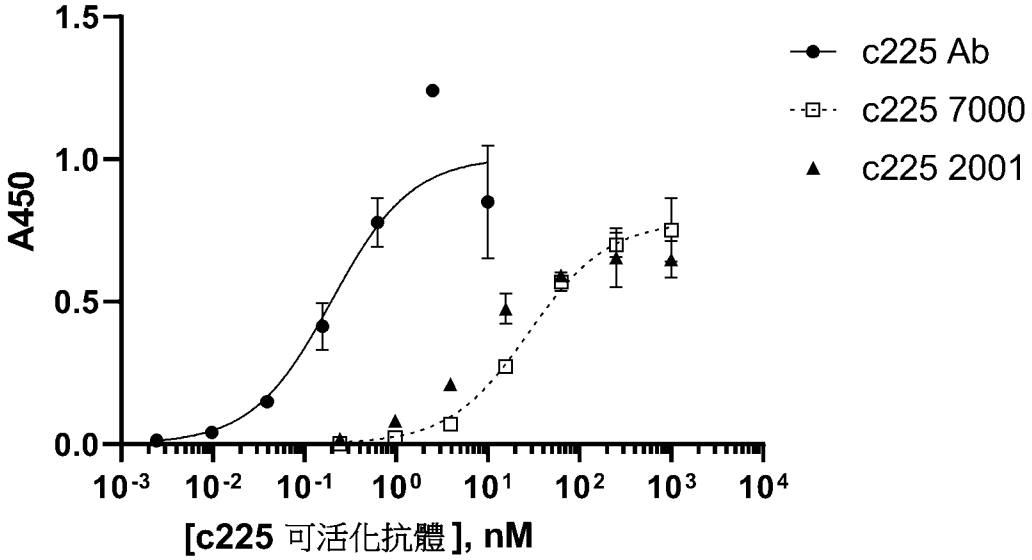
使如請求項1至31中任一項之單離之多肽、如請求項32之多肽複合物、如請求項33至38中任一項之接合之多肽或如請求項39至42中任一項之組成物與來自該個體之樣本接觸；及

測量該單離之多肽之切割水平，從而檢測或診斷該個體之該疾病或健康狀況。

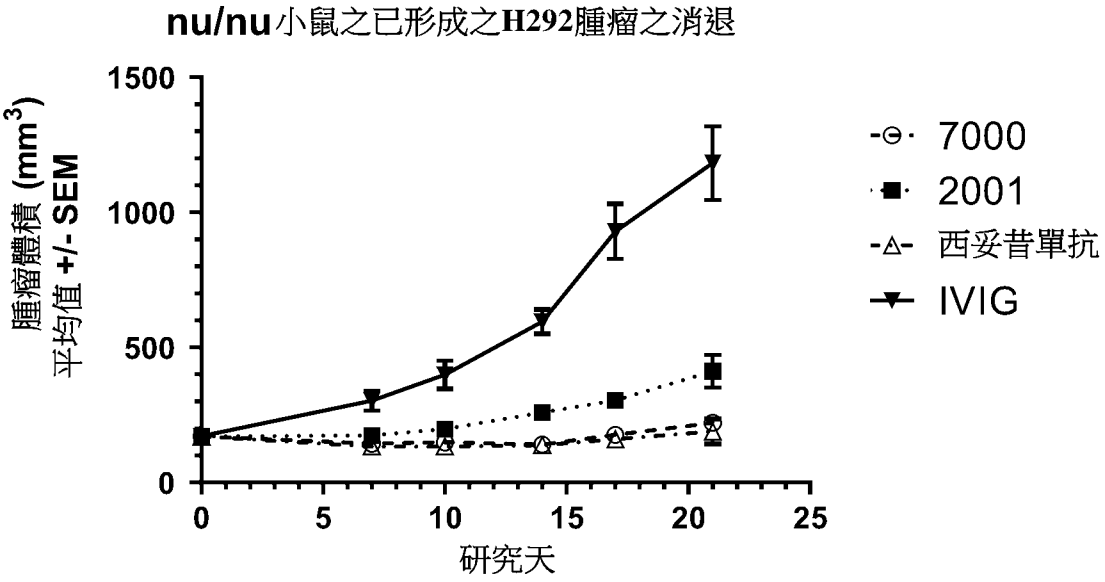
【請求項51】如請求項49之方法，其中該疾病為癌症、感染、發炎性疾患、心血管疾患、神經退化性疾患或自體免疫疾患。

【發明圖式】

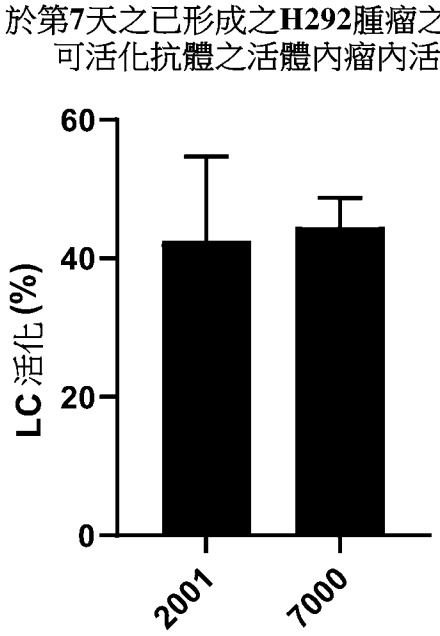
具有例示性受質之抗**EGFR**可活化抗體之活體外遮蔽效率



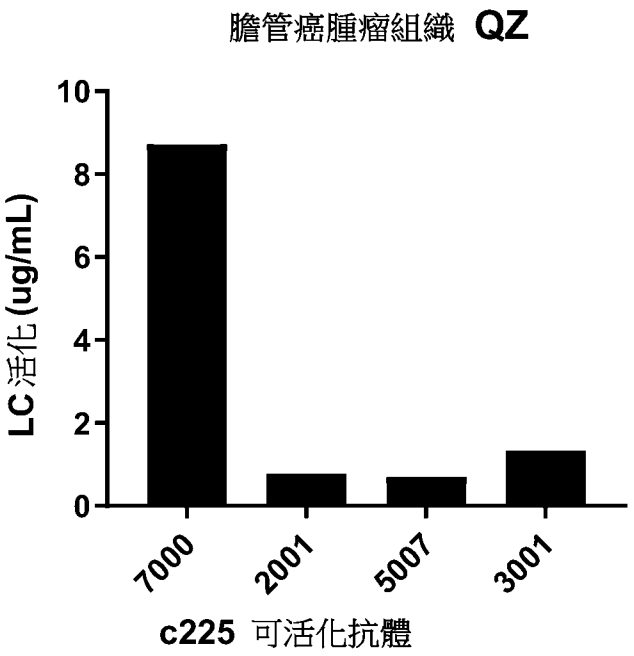
【圖 1】


nu/nu小鼠之已形成之H292腫瘤之消退
腫瘤體積 (mm3)
平均值 +/- SEM
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
研究天
7000
2001
西妥昔單抗
IVIG

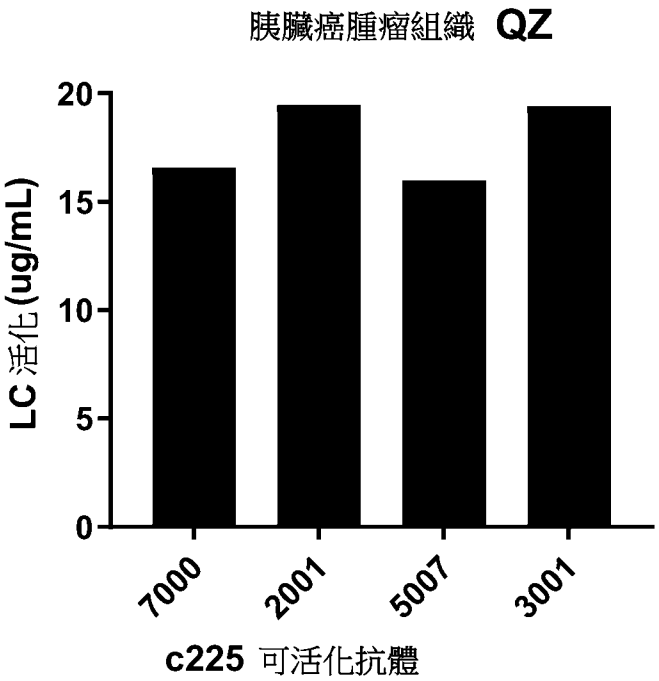
【圖 2A】


於第7天之已形成之H292腫瘤之c225
可活化抗體之活體內瘤內活化
LC 活化 (%)
60
40
20
0
2001
7000

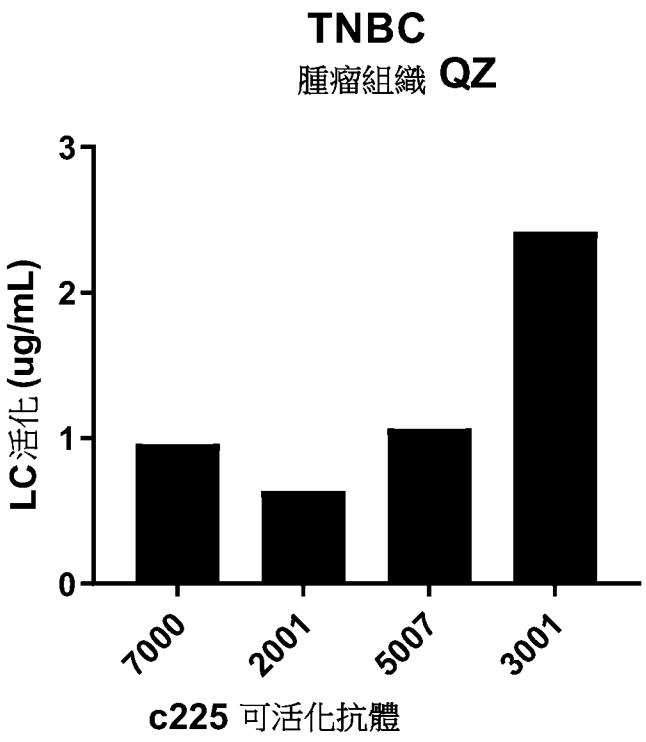
【圖 2B】


膽管癌腫瘤組織 QZ
LC活化(ug/mL)
10
8
6
4
2
0
7000
2001
5007
3001
c225 可活化抗體

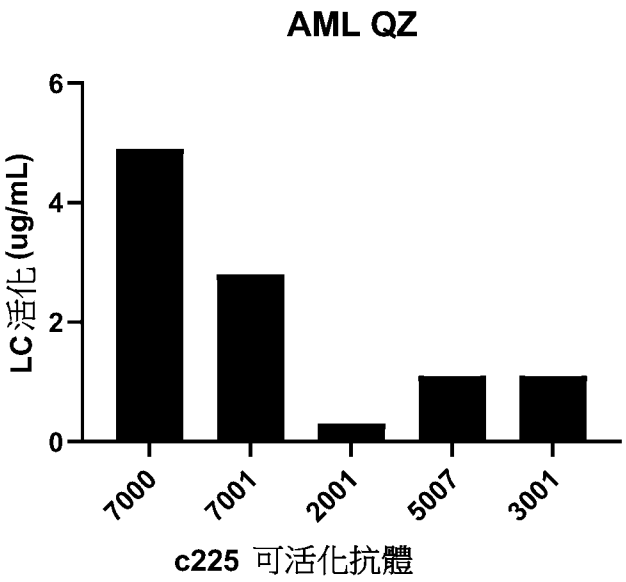
【圖 3A】


胰臟癌腫瘤組織 QZ
LC活化(ug/mL)
20
15
10
5
0
7000
2001
5007
3001
c225 可活化抗體

【圖 3B】


TNBC
腫瘤組織 QZ
LC活化 (ug/mL)
3
2
1
0
7000
2001
5007
3001
c225 可活化抗體

【圖 3C】


AML QZ
LC活化 (ug/mL)
6
4
2
0
7000
7001
2001
5007
3001
c225 可活化抗體

【圖 4】