



(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 201341401 A

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 10 月 16 日

(21)申請案號：102100422

(22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 01 月 07 日

(51)Int. Cl. : C07K16/18 (2006.01)

A61K47/48 (2006.01)

(30)優先權：2012/01/09 美國

61/584,675

(71)申請人：寇夫克斯技術愛爾蘭有限公司 (愛爾蘭) COVX TECHNOLOGIES IRELAND
LIMITED (IE)

愛爾蘭

(72)發明人：羅倫特 奧莉薇爾 LAURENT, OLIVIER ALEXANDRE (FR) ; 李麗施 LEE, ALICE (US) ; 布雷斯頓 李查 PRESTON, RICHARD RYAN (US) ; 土默第 大衛 TUMELTY, DAVID (US) ; 余維紅 YU, WEI HONG (US) ; 巴特 艾伯希吉特 BHAT, ABHIJIT S. (IN) ; 坦普茲克羅瑟爾 安娜 TEMPCZYK-RUSSELL, ANNA (US)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：58 項 圖式數：32 共 528 頁

(54)名稱

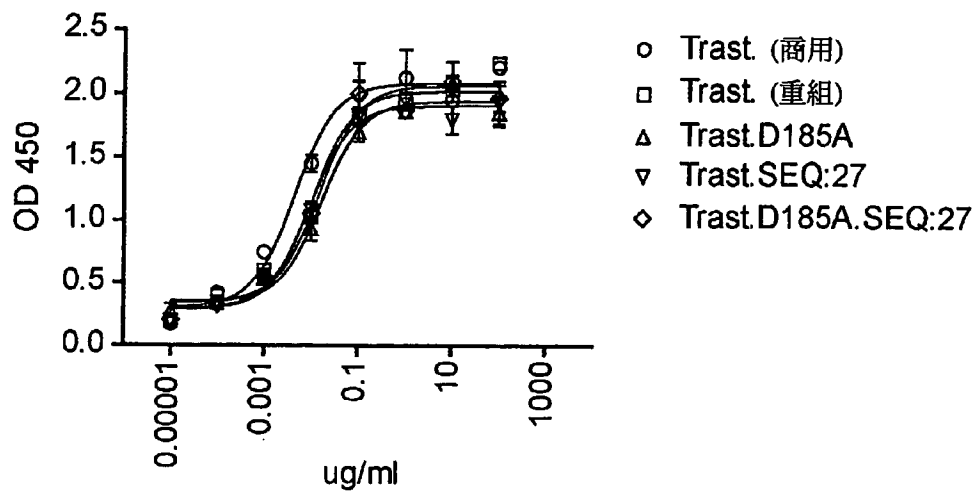
突變抗體及其共軛

MUTANT ANTIBODIES AND CONJUGATION THEREOF

(57)摘要

本發明關於一種多肽，其包含 7 個藉由連接胺基酸之鏈被依序連在一起之 β 股 A、B、C、D、E、F 及 G，及依序位於 β 股 E 及 F 之間的 EF 鏈上之第一 α 螺旋，其中該等 β 股係經安排以形成包含 β 股 A、B、D 及 E 之第一 β 摺板，以及包含 β 股 C、F 及 G 之第二 β 摺板，該第一及第二 β 摺板係經共價鍵結合以形成第一 Ig 結構域；其中在 β 股 E 及 F 之間的 EF 鏈包含序列 X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - K^5H^6 (SEQ ID NO: 98)，且 X^1 、 X^3 及 X^4 各自獨立為任何胺基酸殘基，其特徵在於 X^2 係選自 A、G、I、V、L、R、S、T、Q、P、N、M、H 及 W，亦關於該多肽之醫藥上可接受之鹽、立體異構物、互變異構物、溶劑合物及前藥。

圖 9A





(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 201341401 A

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 10 月 16 日

(21)申請案號：102100422

(22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 01 月 07 日

(51)Int. Cl. : C07K16/18 (2006.01)

A61K47/48 (2006.01)

(30)優先權：2012/01/09 美國

61/584,675

(71)申請人：寇夫克斯技術愛爾蘭有限公司 (愛爾蘭) COVX TECHNOLOGIES IRELAND
LIMITED (IE)

愛爾蘭

(72)發明人：羅倫特 奧莉薇爾 LAURENT, OLIVIER ALEXANDRE (FR) ; 李麗施 LEE, ALICE (US) ; 布雷斯頓 李查 PRESTON, RICHARD RYAN (US) ; 土默第 大衛 TUMELTY, DAVID (US) ; 余維紅 YU, WEI HONG (US) ; 巴特 艾伯希吉特 BHAT, ABHIJIT S. (IN) ; 坦普茲克羅瑟爾 安娜 TEMPCZYK-RUSSELL, ANNA (US)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：58 項 圖式數：32 共 528 頁

(54)名稱

突變抗體及其共軛

MUTANT ANTIBODIES AND CONJUGATION THEREOF

(57)摘要

本發明關於一種多肽，其包含 7 個藉由連接胺基酸之鏈被依序連在一起之 β 股 A、B、C、D、E、F 及 G，及依序位於 β 股 E 及 F 之間的 EF 鏈上之第一 α 螺旋，其中該等 β 股係經安排以形成包含 β 股 A、B、D 及 E 之第一 β 摺板，以及包含 β 股 C、F 及 G 之第二 β 摺板，該第一及第二 β 摺板係經共價鍵結合以形成第一 Ig 結構域；其中在 β 股 E 及 F 之間的 EF 鏈包含序列 X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - K^5H^6 (SEQ ID NO: 98)，且 X^1 、 X^3 及 X^4 各自獨立為任何胺基酸殘基，其特徵在於 X^2 係選自 A、G、I、V、L、R、S、T、Q、P、N、M、H 及 W，亦關於該多肽之醫藥上可接受之鹽、立體異構物、互變異構物、溶劑合物及前藥。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

突變抗體及其共軛

Mutant antibodies and conjugation thereof

【技術領域】

本發明係關於一種多肽，尤其是一種多功能抗體及其共軛。

【先前技術】

發展雙功能治療劑具有放大組合式治療策略之高度潛力。雙功能治療劑可藉由一種治療實體調節二種不同的途徑以提供組合式治療之好處。此外，雙功能治療劑亦可從不同途徑之間的協同性獲得好處，且相較於單一功能劑顯示增加之活性。另外，雙功能治療劑可提供減少製造、儲存及運送成本方面之好處，同時減少給予病患之治療劑數量及簡化投藥方案。

在本說明書中提及任何技藝並不是也不應被視為以任何形式承認或建議該提及之技藝形成該普通一般知識之部分。

【發明內容】

本發明提供一種多肽，其包含抗體恆定結構域，該抗

體恆定結構域包含當該抗體恆定結構域與 SEQ ID NO:6 之序列排比時，在對應 SEQ ID NO:6 之位置 80 及 81 的位置之殘基 K 及 H，且其特徵為該抗體恆定結構域在對應 SEQ ID NO:6 之位置 77 的位置另包含選自 A、G、I、V、L、R、S、T、Q、P、N、M、H 及 W 之殘基。

在一些態樣中，本發明提供包含 SEQ ID NO:98（及此處描述之屬於 SEQ ID NO:98 之範圍內的所有序列）之抗體恆定結構域，其中當該恆定結構域序列係與 SEQ ID NO:6 排比時，SEQ ID NO:98 在該恆定結構域上之位置對應 SEQ ID NO:6 之殘基 76 至 81。

序列可藉由結構排比加以排比（若已知該二個多肽之結構），或可藉由序列排比加以排比；當使用序列排比時，該方法係較佳地利用已知結構之同源性多肽的結構知識擴充。

本發明提供一種多肽，其包含抗體輕鏈恆定結構域，該抗體恆定結構域包含根據卡巴編號之殘基 K188 及 H181，且其特徵為該抗體恆定結構域在對應根據卡巴編號之位置 185 的位置另包含選自 A、G、I、V、L、R、S、T、Q、P、N、M、H 及 W 之殘基。

本發明提供一種多肽，其包含免疫球蛋白結構域，該免疫球蛋白結構域包含 7 個藉由連接胺基酸之鏈被依序連在一起之 β 股 A、B、C、D、E、F 及 G，其中該等 β 股係經安排以形成包含 β 股 A、B、D 及 E 之第一 β 摺板，以及包含 β 股 C、F 及 G 之第二 β 摺板，該第一及第二 β 摺

板係經共價鍵結合；其中 β 股 E 及 F 係藉由 EF 鏈連接，且該 EF 鏈包含序列： $X^1-X^2-X^3-X^4-K^5-H^6$ (SEQ ID NO:98)，且其中 X^1 、 X^3 及 X^4 各自獨立為任何胺基酸殘基，且特徵在於 X^2 係選自 A、G、I、V、L、R、S、T、Q、P、N、M、H 及 W，以及該多肽之醫藥上可接受之鹽、立體異構物、互變異構物、溶劑合物及前藥。

X^2 可能選自 A、G、I、L、R、S、T、P、N 及 M (SEQ ID NO:99)。 X^2 可能選自 A、G、I、L、S、T、P 及 M (SEQ ID NO:100)。在一些態樣中，該 EF 鏈包含選自 SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:102 或 SEQ ID NO:103 之序列。 X^2 可能選自 A、G、I、V、L、R、S、T、Q、N、P 及 M (SEQ ID NO:123)。 X^2 可能選自 A、G、I、V、L、R、S、T、P 及 M (SEQ ID NO:124)。 X^2 可能選自 A、G、I、V、L、S、T 及 M (SEQ ID NO:125)。 X^2 可能選自 A、G、I、L、S、T 及 M (SEQ ID NO:126)。 X^2 可能為 S 或 T。 X^2 可能為 A 或 G。 X^2 可能為 I 或 L。此處所述之 X^2 的選擇亦可能適用於本發明之抗體恆定結構域，其中位置 X^2 對應 SEQ ID NO:6 之殘基 77，或根據卡巴編號之輕鏈恆定結構域之殘基 185。

在一些態樣中，該 EF 鏈包含選自下列之序列：

SEQ ID NO:98, SEQ ID NO:99, SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:115, SEQ ID NO:116, SEQ ID NO:117, SEQ ID NO:123, SEQ ID NO:124, SEQ ID NO:125, 及 SEQ ID NO:126,
且可能另外選自 SEQ ID NO:170, SEQ ID NO:171, SEQ ID

NO:172, SEQ ID NO:173, SEQ ID NO:174, SEQ ID NO:175, SEQ ID NO:176, SEQ ID NO:177, SEQ ID NO:178, SEQ ID NO:179, SEQ ID NO:180, SEQ ID NO:181, SEQ ID NO:182, SEQ ID NO:183, SEQ ID NO:184, SEQ ID NO:185, SEQ ID NO:186, SEQ ID NO:187, SEQ ID NO:188, SEQ ID NO:189, SEQ ID NO:190, SEQ ID NO:191, SEQ ID NO:192, SEQ ID NO:193, SEQ ID NO:194, SEQ ID NO:195, SEQ ID NO:196, SEQ ID NO:197, SEQ ID NO:198, SEQ ID NO:199, SEQ ID NO:200, SEQ ID NO:201, SEQ ID NO:202, SEQ ID NO:203, SEQ ID NO:204, SEQ ID NO:205, SEQ ID NO:206, SEQ ID NO:207, SEQ ID NO:208, SEQ ID NO:209, SEQ ID NO:210, SEQ ID NO:211, SEQ ID NO:212, SEQ ID NO:213, SEQ ID NO:214, SEQ ID NO:215, SEQ ID NO:216, SEQ ID NO:217, SEQ ID NO:218, SEQ ID NO:219, SEQ ID NO:220, SEQ ID NO:221, SEQ ID NO:222, SEQ ID NO:223, 及 SEQ ID NO:224。

在一些態樣中，當比較 SEQ ID NO:10 之殘基 75 至 79 或比較 SEQ ID NO:6 時，彼等之間可能具有單一殘基差異。在一些態樣中，當比較 SEQ ID NO:10 之殘基 75 至 79 或比較 SEQ ID NO:6 時，彼等之間可能具有至多二個殘基差異。在一些態樣中，當比較 SEQ ID NO:10 之殘基 75 至 79 或比較 SEQ ID NO:6 時，彼等之間可能具有至多二個殘基差異。在一些態樣中，當比較 SEQ ID NO:10 之殘基 75 至 79 或比較 SEQ ID NO:6 時，彼等之間可能具有至多 4 個殘基差異。在一些態樣中，當比較 SEQ ID NO:10 之殘基 75 至 79 或比較 SEQ ID NO:6 時，彼等之間可能具有至多二個非連續殘基差異。在一些態樣中，當比較 SEQ ID NO:10 之殘基 75 至 79 或比較 SEQ ID NO:6 時，彼等之間可能具有至多三個非連續殘基差異。

在一些態樣中，當比較 SEQ ID NO:10 之殘基 76 至 79 或比較 SEQ ID NO:6 時，彼等之間可能具有單一殘基差異。在一些態樣中，當比較 SEQ ID NO:10 之殘基 76 至

79 或比較 SEQ ID NO:6 時，彼等之間可能具有至多 2 個殘基差異。在一些態樣中，當比較 SEQ ID NO:10 之殘基 76 至 79 或比較 SEQ ID NO:6 時，彼等之間可能具有至多 3 個殘基差異。在一些態樣中，當比較 SEQ ID NO:10 之殘基 76 至 79 或比較 SEQ ID NO:6 時，彼等之間可能具有至多 4 個殘基差異。在一些態樣中，當比較 SEQ ID NO:10 之殘基 76 至 79 或比較 SEQ ID NO:6 時，彼等之間可能具有至多二個非連續殘基差異。

該多肽可能包含位於該 EF 鏈上之 EF α 螺旋。在一些態樣中，SEQ ID NO:98 之殘基 X^1 、 X^2 、 X^3 及 X^4 之一或多者包含該 EF α 螺旋之部分。在一些態樣中，SEQ ID NO:98 之殘基 X^1 、 X^2 、 X^3 及 X^4 之二或多者包含該 EF α 螺旋之部分。在一些態樣中，SEQ ID NO:98 之殘基 X^1 、 X^2 、 X^3 及 X^4 之三或多者包含該 EF α 螺旋之部分。在一些態樣中，SEQ ID NO:98 之所有殘基 X^1 、 X^2 、 X^3 及 X^4 包含該 EF α 螺旋之部分。在一些態樣中，SEQ ID NO:98 之殘基 K^5 及 H^6 不形成 α 螺旋之部分。此處所述之 X^1 、 X^2 、 X^3 、 X^4 、 K^5 及 H^6 之選擇亦可適用於本發明之抗體恆定結構域，其中位置 X^1 、 X^2 、 X^3 、 X^4 、 K^5 及 H^6 對應 SEQ ID NO:6 之殘基 76、77、78、79、800 及 81，或根據卡巴編號之輕鏈恆定結構域之位置 184、185、186、187、188 及 189。

在一些態樣中，該 EF 鏈包含選自下列之序列：

SEQ ID NO:99, SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:115, SEQ ID NO:116, SEQ ID NO:117, SEQ ID NO:118, SEQ ID NO:123, SEQ ID NO:124, SEQ ID NO:125, SEQ ID NO:126, SEQ ID NO:170, SEQ ID NO:171, SEQ ID NO:172, SEQ ID NO:173, SEQ ID NO:174, SEQ ID NO:175, SEQ ID NO:176, SEQ ID NO:177, SEQ ID NO:178, SEQ ID NO:179, SEQ ID NO:180, SEQ ID NO:181, SEQ ID NO:182, SEQ ID NO:183, SEQ ID NO:184, SEQ ID NO:185, SEQ ID NO:186, SEQ ID NO:187, SEQ ID NO:188, SEQ ID NO:189, SEQ ID NO:190, SEQ ID NO:191, SEQ ID NO:192, SEQ ID NO:193, SEQ ID NO:194, SEQ ID NO:195, SEQ ID NO:196, SEQ ID NO:197, SEQ ID NO:198, SEQ ID NO:199, SEQ ID NO:200, SEQ ID NO:201, SEQ ID NO:202, SEQ ID NO:203, SEQ ID NO:204, SEQ ID NO:205, SEQ ID NO:206, SEQ ID NO:207, SEQ ID NO:208, SEQ ID NO:209, SEQ ID NO:210, SEQ ID NO:211, SEQ ID NO:212, SEQ ID NO:213, SEQ ID NO:214, SEQ ID NO:215, SEQ ID NO:216, SEQ ID NO:217, SEQ ID NO:218, SEQ ID NO:219, SEQ ID NO:220, SEQ ID NO:221, SEQ ID NO:222, SEQ ID NO:223, 及 SEQ ID NO:224。

在本發明之一些態樣中，以及在本說明書中特別提到所有在對應 X^1 之殘基位置具有變化之序列時，根據上述序列之 X^1 可能選自 A、I、V、L、G、P、F、W、Y、S、T、C、M、N、Q、K、R、H、E 及 D。在一些態樣中， X^1 可能選自 A、I、V、L、G、F、W、Y、S、T、C、M、N、Q、K、R、H、E 及 D。在一些態樣中， X^1 可能選自 A、I、V、L、F、W、Y、S、T、C、M、N、Q、K、R、H、E 及 D。在一些態樣中， X^1 可能選自 A、I、V、L、F、W、Y、S、T、M、N、Q、K、R、H、E 及 D。在一些態樣中， X^1 可能選自 A、I、V、L、S、T、M、N、Q、K、R、H、E 及 D。在一些態樣中， X^1 可能選自 A、I、V、L、S、T、M、N、Q、R、H、E 及 D。 X^1 可能選自 A、I、V、L、S、T、M、N、Q、E 及 D。 X^1 可能選自 A、I、V、L、S、T、M、N、Q、E 及 D。此處所述之 X^1

之選擇亦可適用於本發明之抗體恆定結構域，其中位置 X^1 對應 SEQ ID NO:6 之殘基 76，或根據卡巴編號之輕鏈恆定結構域之殘基 184。

在本發明之一些態樣中，以及在本說明書中特別提到所有在對應 X^3 之殘基位置具有變化之序列時，根據上述序列之 X^3 可能選自 A、I、V、L、G、P、F、W、Y、S、T、C、M、N、Q、K、R、H、E 及 D。 X^3 可能選自 A、I、V、L、G、F、W、Y、S、T、C、M、N、Q、K、R、H、E 及 D。 X^3 可能選自 A、I、V、L、F、W、Y、S、T、C、M、N、Q、K、R、H、E 及 D。 X^3 可能選自 A、I、V、L、F、W、Y、S、T、M、N、Q、K、R、H、E 及 D。 X^3 可能選自 I、L、F、W、Y、S、T、M、N、Q、K、R、H、E 及 D。 X^3 可能選自 I、L、F、W、Y、M、N、Q、K、R、H、E 及 D。 X^3 可能選自 I、L、F、W、Y、N、Q、E 及 D。 X^3 可能選自 I、L、F、W 及 Y。 X^3 可能選自 F、W 及 Y。 X^3 可能選自 W 及 Y。此處所述之 X^3 之選擇亦可適用於本發明之抗體恆定結構域，其中位置 X^3 對應 SEQ ID NO:6 之殘基 78，或根據卡巴編號之輕鏈恆定結構域之殘基 186。

在本發明之一些態樣中，以及在本說明書中特別提到所有在對應 X^4 之殘基位置具有變化之序列時，根據上述序列之 X^4 可能選自 A、I、V、L、G、P、F、W、Y、S、T、C、M、N、Q、K、R、H、E 及 D。 X^4 可能選自 A、I、V、L、G、P、F、W、Y、S、T、M、N、Q、K、R、

H、E 及 D。X⁴ 可能選自 A、I、V、L、G、F、W、Y、S、T、M、N、Q、K、R、H、E 及 D。X⁴ 可能選自 A、I、V、L、F、W、Y、S、T、M、N、Q、K、R、H、E 及 D。X⁴ 可能選自 A、I、V、L、G、S、T、M、N、Q、K、R、H、E 及 D。X⁴ 可能選自 A、I、V、L、S、T、M、N、Q、K、R、H、E 及 D。X⁴ 可能選自 I、L、S、T、M、N、Q、K、R、E 及 D。X⁴ 可能選自 S、T、M、N、Q、K、R、E 及 D。X⁴ 可能選自 S、T、N、Q、K、R、E 及 D。X⁴ 可能選自 N、Q、K、R、E 及 D。X⁴ 可能選自 N、Q、K、R 及 E。X⁴ 可能選自 Q、K 及 E。此處所述之 X⁴ 之選擇亦可適用於本發明之抗體恆定結構域，其中位置 X⁴ 對應 SEQ ID NO:6 之殘基 79，或根據卡巴編號之輕鏈恆定結構域之殘基 187。

在一些態樣中，該 EF 鏈係介於 6 至 12 個殘基長度。在一些態樣中，該 EF 鏈係介於 7 至 12 個殘基長度。在一些態樣中，該 EF 鏈係介於 8 至 12 個殘基長度。在一些態樣中，該 EF 鏈係介於 9 至 12 個殘基長度。在一些態樣中，該 EF 鏈係介於 6 至 11 個殘基長度。在一些態樣中，該 EF 鏈係介於 6 至 10 個殘基長度。在一些態樣中，該 EF 鏈係介於 6 至 9 個殘基長度。在一些態樣中，該 EF 鏈係介於 7 至 11 個殘基長度。在一些態樣中，該 EF 鏈係介於 7 至 10 個殘基長度。在一些態樣中，該 EF 鏈係介於 8 至 10 個殘基長度。

該 EF 鏈可能包含 α 螺旋（EF α 螺旋）。該 EF α

螺旋之第一個殘基可能位於該 EF 鏈之前 3 個殘基內。該 EF α 螺旋之第一個殘基可能位於該 EF 鏈之前 2 個殘基內。該 EF α 螺旋之第一個殘基可能位於該 EF 鏈之殘基內。該 EF α 螺旋可能包含 SEQ ID NO:98 或此處所述之屬於 SEQ ID NO:98 之範圍內的對應序列之一者之至少殘基 X^1 及 X^2 。在一些態樣中，對應 SEQ ID NO:98 之殘基 K^5 及 H^6 不在該 α 螺旋之內。在一些態樣中，對應 SEQ ID NO:6 之位置 80 及 81 的殘基 KH 不在該 α 螺旋之內。在本發明之一些關於抗體恆定結構域之態樣中，對應 SEQ ID NO:6 之位置 77 之殘基位於 α 螺旋之內。

在一些態樣中，本發明之免疫球蛋白結構域（其可能為輕鏈恆定(CL)結構域）另包含位於 β 股 C 及 D 之間的連接鏈（CD 鏈）上之殘基 D、E、Q 或 N。在一些態樣中，該 CL 結構域另包含位於該 CD 鏈上之殘基 D、E、Q 或 N，該殘基之位置允許彼之胺基酸側鏈與 SEQ ID NO:98 之 K^5 或 H^6 之側鏈的至少一者交互作用。在一些態樣中，該多肽包含位於對應 SEQ ID NO:10 或在一些態樣中根據 BLAST 序列排比之 SEQ ID NO:6 的位置 43 之位置的 D、E、Q 或 N 殘基。在一些態樣中，該殘基係 D、E 或 N。在一些態樣中，該殘基係 D 或 E。在一些態樣中，該殘基係 D 或 N。

在一些態樣中，該等 β 股 C 及 D 係藉由 CD 鏈連接，該 CD 鏈包含 CD 模體 (motif) C^1 - C^2 - C^3 - C^4 (SEQ ID NO:255)，其中 C^1 、 C^2 、 C^3 及 C^4 之各者可為任何胺基

酸，或於下進一步說明。該 CD 模體可能選自 SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251、SEQ ID NO:252 及 SEQ ID NO:253，該 CD 模體始於該 CD 鏈之第一或第二殘基。在一些態樣中，該 CD 模體始於該 CD 鏈之第一殘基。在一些態樣中，該 CD 模體始於該 CD 鏈之第二殘基。較佳地，該 CD 模體不形成 α 螺旋之部分。

在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^1 可能選自 A、I、L、G、V、M、P、S、T、F、Y、W、N、Q、D 及 E。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^1 可能選自 I、L、V、M、P、F、Y 及 W。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^1 可能選自 I、L、V、P、F、Y 及 W。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^1 可能選自 I、L、V、P、F 及 W。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^1 可能選自 I、L、V、F 及 W。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^1 可能選自 I、L 及 V。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^1 可能選自 L 及 V。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^1 可能為 V。此處所述之 CD 模體之 C^1 的選擇亦可適用於本發明之抗體恆定結構域，其中該 CD 模體之位置 C^1 對應 SEQ ID NO:6 之殘基 42，或根據卡巴編號之輕鏈恆定結構域之殘基 150。

在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^2 可能選自 A、I、L、G、V、M、P、S、T、F、Y、W、N、Q、D 及 E。

在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^2 可能選自 A、I、L、G、V、M、P、S、T、F、Y、W、N、Q、D 及 E。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^2 可能選自 A、I、L、G、V、M、P、S、T、N、Q、D 及 E。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^2 可能選自 A、I、L、V、M、P、S、T、N、Q、D 及 E。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^2 可能選自 M、P、S、T、N、Q、D 及 E。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^2 可能選自 S、T、N、Q、D 及 E。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^2 可能選自 N、Q、D 及 E。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^2 可能為 D。此處所述之 CD 模體之 C^2 的選擇亦可適用於本發明之抗體恆定結構域，其中該 CD 模體之位置 C^2 對應 SEQ ID NO:6 之殘基 43，或根據卡巴編號之輕鏈恆定結構域之殘基 151。

在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^3 可能選自 A、I、L、G、V、M、P、S、T、F、Y、W、N、Q、D 及 E。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^3 可能選自 A、I、L、G、V、M、P、S、T、F、Y、W、N、Q、D 及 E。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^3 可能選自 A、I、L、G、V、M、P、S、T、N、Q、D 及 E。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^3 可能選自 A、I、L、V、M、P、S、T、N、Q、D 及 E。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^3 可能選自 M、P、S、T、N、Q、D 及 E。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^3 可能選自 S、T、N、Q、D 及 E。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^3 可能選自 N、Q、D 及 E。在

一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^3 可能為 N。此處所述之 CD 模體之 C^3 的選擇亦可適用於本發明之抗體恆定結構域，其中該 CD 模體之位置 C^3 對應 SEQ ID NO:6 之殘基 44，或根據卡巴編號之輕鏈恆定結構域之殘基 152。

在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^4 可能選自 A、I、L、G、V、M、P、S、T、F、Y、W、N、Q、D 及 E。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^4 可能選自 A、I、L、G、V、M、P、S、T、F、Y、W、N、Q、D 及 E。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^4 可能選自 A、I、L、G、V、M、P、S、T、N、Q、D、E、K、R 及 H。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^4 可能選自 A、I、L、V、G、M、P、S、T、N、Q、D 及 E。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^4 可能選自 A、I、L、V、G、S、T、N、Q、D 及 E。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^4 可能選自 A、V、Q 及 S。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^4 可能選自 A 及 S。在一些態樣中，該 CD 模體之殘基 C^4 可能為 A。此處所述之 CD 模體之 C^4 的選擇亦可適用於本發明之抗體恆定結構域，其中該 CD 模體之位置 C^4 對應 SEQ ID NO:6 之殘基 45，或根據卡巴編號之輕鏈恆定結構域之殘基 153。

在一些態樣中，該 CD 鏈係介於 6 至 12 個殘基長度。在一些態樣中，該 CD 鏈係介於 7 至 12 個殘基長度。在一些態樣中，該 CD 鏈係介於 8 至 12 個殘基長度。在一些態樣中，該 CD 鏈係介於 9 至 12 個殘基長

度。在一些態樣中，該 CD 鏈係介於 6 至 11 個殘基長度。在一些態樣中，該 CD 鏈係介於 6 至 10 個殘基長度。在一些態樣中，該 CD 鏈係介於 6 至 9 個殘基長度。在一些態樣中，該 CD 鏈係介於 7 至 11 個殘基長度。在一些態樣中，該 CD 鏈係介於 7 至 10 個殘基長度。在一些態樣中，該 CD 鏈係介於 8 至 10 個殘基長度。

該免疫球蛋白結構域可為抗體結構域。該抗體結構域可為抗體恆定結構域。該抗體恆定結構域可為重鏈恆定(CH)結構域或輕鏈恆定(CL)結構域。抗體 CH 結構域可能選自 $CH\alpha 1$ 、 $CH\alpha 2$ 、 $CH\alpha 3$ 、 $CH\delta 1$ 、 $CH\delta 2$ 、 $CH\delta 3$ 、 $CH\epsilon 1$ 、 $CH\epsilon 2$ 、 $CH\epsilon 3$ 、 $CH\epsilon 4$ 、 $CH\gamma 1$ 、 $CH\gamma 2$ 、 $CH\gamma 3$ 、 $CH\mu 1$ 、 $CH\mu 2$ 、 $CH\mu 3$ 及 $CH\mu 4$ 。

在一些態樣中，本發明之免疫球蛋白結構域係哺乳動物來源（不論用於產製任何人工突變或經其他方式工程化之版本之方法）。該等哺乳動物物種可為人、小鼠、兔、大鼠、嚙齒動物、豬、牛、綿羊、山羊、驢、馬、駱駝、靈長動物、猴、犬或貓。本發明之免疫球蛋白結構域及其他蛋白質如抗體或與抗體連接之蛋白質可經人化。

在一些態樣中，本發明包含突變免疫球蛋白結構域，其中突變係定義為序列經工程化處理或改變成與彼之天然典型序列不同之序列，因此本發明之多肽的某些實施態樣特別排除屬於該定義範圍內之天然發生之序列。因此在一些態樣中，本發明關於包含 EF 鏈之本發明之多肽，該 EF 鏈與彼等之天然發生之對應序列不同。

本發明之抗體結構域可能特別排除一或多種天然 IgA 重鏈恆定結構域 ($CH\alpha 1$ 、 $CH\alpha 2$ 、 $CH\alpha 3$) (源自一或多種選自婆羅洲猩猩 (Bornean orangutan) 及紅毛猩猩 (*Pongo pygmaeus*) 之物種)，及／或一或多種天然 IgM 重鏈恆定結構域 ($CH\mu 1$ 、 $CH\mu 2$ 、 $CH\mu 3$ 及 $CH\mu 4$) (源自一或多種選自小鼠、大鼠、馬、家馬 (*Equus caballus*)、裸隱鼠 (*Heterocephalus glaber*)、蝙蝠及大棕蝙蝠 (*Eptesicus fuscus*) 之物種)，及／或一或多種天然 IgE 重鏈恆定結構域 ($CH\epsilon 1$ 、 $CH\epsilon 2$ 、 $CH\epsilon 3$ 及 $CH\epsilon 4$) (源自一或多種選自人、黑猩猩、猴、赤猴 (*Erythrocebus patas*)、小鼠、大鼠、蝙蝠、印度犬果蝠 (*Cynopterus sphinx*)、綿羊、綿羊 (*Ovis aries*)、針鼯及澳洲針鼯 (*Tachyglossus aculeatus*) 之物種)。

在一些態樣中，一或多種選自 $CH\alpha 1$ 、 $CH\alpha 2$ 、 $CH\alpha 3$ 、 $CH\delta 1$ 、 $CH\delta 2$ 、 $CH\delta 3$ 、 $CH\epsilon 1$ 、 $CH\epsilon 2$ 、 $CH\epsilon 3$ 、 $CH\epsilon 4$ 、 $CH\gamma 1$ 、 $CH\gamma 2$ 、 $CH\gamma 3$ 、 $CH\mu 1$ 、 $CH\mu 2$ 、 $CH\mu 3$ 及 $CH\mu 4$ 之重鏈恆定結構域 (源自選自人、小鼠、兔、大鼠、齧齒動物、豬、牛、綿羊、山羊、驢、馬、駱駝、靈長動物、猴、犬或貓之物種之一或多者) 被特別排除。

在一些態樣中，本發明提供一種免疫球蛋白結構域，其可為輕鏈恆定 (CL) 結構域，其包含 7 個藉由胺基酸之鏈被依序連在一起之 β 股 A、B、C、D、E、F 及 G，其中該等 β 股係經安排以形成包含 β 股 A、B、D 及 E 之第一 β 摺板，以及包含 β 股 C、F 及 G 之第二 β 摺板，該第一及

第二 β 摺板係經共價鍵結合；其中在 β 股 E 及 F 之間的鏈包含序列 $X^1-X^2-X^3-X^4-K^5H^6$ (SEQ ID NO:98)，且 X^1 、 X^3 及 X^4 各自獨立為任何胺基酸殘基，其特徵在於 X^2 係選自 A、G、I、V、L、R、S、T、Q、P、N、M、H 及 W，亦關於該多肽之醫藥上可接受之鹽、立體異構物、互變異構物、溶劑合物及前藥。本發明亦提供包含本發明之 CL 結構域之醫藥組成物及樣本。在一些態樣中， α 螺旋係依序位於 β 股 E 及 F 之間的連接鏈上。

在某種程度上，本發明之態樣係基於意外發現，我們發現與位於免疫球蛋白結構域（可能是輕鏈恆定(CL)結構域）之 EF 鏈上的反應性 KH 基之定點共軛，因為上游 3 個胺基酸殘基突變而改善，該突變消除酸性殘基如 D 或 E 之存在，且避免導入芳香殘基 F 或 Y 或其他可能的共軛位點如 K 或 C。

移植本發明之序列至該 EF 鏈上可授予增加之共軛專一性給免疫球蛋白結構域，特別是 CL 結構域。此可用於當共軛連接子及／或效應物部分至免疫球蛋白結構域上，通常為 CL 結構域及特別是抗體及抗體之抗原結合部位。因此，在一些態樣中，本發明關於一新穎類型之多功能抗體共軛物(MAC)，其包含經由連接子與連接子及／或效應物部分共價共軛之抗體（或彼之抗原結合部位），其特徵為該抗體或彼之抗原結合部位包含本發明之多肽，且該連接子係與 SEQ ID NO:98 之 K^5 的側鏈之 ϵ -胺基共價連接。

在一些態樣中，本發明之免疫球蛋白結構域（可能為 CL 結構域）係與輕鏈可變(VL)結構域連接。該等結構域一起可能形成抗體輕鏈。

在一些態樣中，該第一及第二 β 摺板之間的共價鍵係雙硫鍵。在一些態樣中，該雙硫鍵係位於 β 股 B 及 F 之間。

該 CL 結構域可為輕鏈恆定 κ (CL κ)，且可能為大鼠、小鼠、猴、兔、山羊、綿羊、牛、豬、馬、驢、犬、貓或人來源。在一些態樣中，該 CL κ 包含選自下列之序列：

SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:106, SEQ ID NO:119, SEQ ID NO:120, SEQ ID NO:121, 及 SEQ ID NO:122。

在一些態樣中，該 CL κ 包含藉由中間序列連續相連之由 SEQ ID NO:225 所定義之 N 端部分及由 SEQ ID NO:226 所定義之 C 端部分，該中間序列係選自 SEQ ID NO:99,

SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:115, SEQ ID NO:116, SEQ ID NO:117, SEQ ID NO:118, SEQ ID NO:123, SEQ ID NO:124, SEQ ID NO:125, SEQ ID NO:126, SEQ ID NO:170, SEQ ID NO:171, SEQ ID NO:172, SEQ ID NO:173, SEQ ID NO:174, SEQ ID NO:175, SEQ ID NO:176, SEQ ID NO:177, SEQ ID NO:178, SEQ ID NO:179, SEQ ID NO:180, SEQ ID NO:181, SEQ ID NO:182, SEQ ID NO:183, SEQ ID NO:184, SEQ ID NO:185, SEQ ID NO:186, SEQ ID NO:187, SEQ ID NO:188, SEQ ID NO:189, SEQ ID NO:190, SEQ ID NO:191, SEQ ID NO:192, SEQ ID NO:193, SEQ ID NO:194, SEQ ID NO:195, SEQ ID NO:196, SEQ ID NO:197, SEQ ID NO:198, SEQ ID NO:199, SEQ ID NO:200, SEQ ID NO:201, SEQ ID NO:202, SEQ ID NO:203, SEQ ID NO:204, SEQ ID NO:205, SEQ ID NO:206, SEQ ID NO:207, SEQ ID NO:208, SEQ ID NO:209, SEQ ID NO:210, SEQ ID NO:211, SEQ ID NO:212, SEQ ID NO:213, SEQ ID NO:214, SEQ ID NO:215, SEQ ID NO:216, SEQ ID NO:217, SEQ ID NO:218, SEQ ID NO:219, SEQ ID NO:220, SEQ ID NO:221, SEQ ID

NO:222, SEQ ID NO:223, 及 SEQ ID NO:224 。

該免疫球蛋白結構域可為 CL λ 結構域，且可能包含選自下列之序列：SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:141、SEQ ID NO:144、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:236、SEQ ID NO:237、SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:239、SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:243 及 SEQ ID NO:244。在一些態樣中，該 CL λ 結構域包含選自下列之序列：SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:143、SEQ ID NO:236、SEQ ID NO:237、SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:239、SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:243 及 SEQ ID NO:244。

該 CL λ 可能包含由 SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230、SEQ ID NO:231、SEQ ID NO:232 或 SEQ ID NO:233 之一者所定義之 N'端部分，該 N'端部分係藉由中間序列與由 SEQ ID NO:234 或 SEQ ID NO:235 所定義之 C'端部分連續相連，該中間序列係選自 SEQ ID NO:99, SEQ

ID NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:115, SEQ ID NO:116, SEQ ID NO:117, SEQ ID NO:118, SEQ ID NO:123, SEQ ID NO:124, SEQ ID NO:125, SEQ ID NO:126, SEQ ID NO:170, SEQ ID NO:171, SEQ ID NO:172, SEQ ID NO:173, SEQ ID NO:174, SEQ ID NO:175, SEQ ID NO:176, SEQ ID NO:177, SEQ ID NO:178, SEQ ID NO:179, SEQ ID NO:180, SEQ ID NO:181, SEQ ID NO:182, SEQ ID NO:183, SEQ ID NO:184, SEQ ID NO:185, SEQ ID NO:186, SEQ ID NO:187, SEQ ID NO:188, SEQ ID NO:189, SEQ ID NO:190, SEQ ID NO:191, SEQ ID NO:192, SEQ

ID NO:193, SEQ ID NO:194, SEQ ID NO:195, SEQ ID NO:196, SEQ ID NO:197, SEQ ID NO:198, SEQ ID NO:199, SEQ ID NO:200, SEQ ID NO:201, SEQ ID NO:202, SEQ ID NO:203, SEQ ID NO:204, SEQ ID NO:205, SEQ ID NO:206, SEQ ID NO:207, SEQ ID NO:208, SEQ ID NO:209, SEQ ID NO:210, SEQ ID NO:211, SEQ ID NO:212, SEQ ID NO:213, SEQ ID NO:214, SEQ ID NO:215, SEQ ID NO:216, SEQ ID NO:217, SEQ ID NO:218, SEQ ID NO:219, SEQ ID NO:220, SEQ ID NO:221, SEQ ID NO:222, SEQ ID NO:223, 及 SEQ ID NO:224。

在一些其中該免疫球蛋白結構域包含 CL λ 結構域之實施態樣中，該結構域可能另包含如此處所述之 CD 模體。

在一些其中該免疫球蛋白結構域包含 CH γ 1 結構域之實施態樣中，該結構域可能另包含如此處所述之 CD 模體。

在一些其中該免疫球蛋白結構域包含 CH γ 2 結構域之實施態樣中，該結構域可能另包含如此處所述之 CD 模體。

在一些其中該免疫球蛋白結構域包含 CH γ 3 結構域之實施態樣中，該 EF 鏈之殘基 X² 可能不是 R；在一些態樣中，該 EF 鏈序列選自 SEQ ID NO:100, SEQ ID

NO:103, SEQ ID NO:117, SEQ ID NO:125, SEQ ID NO:203, SEQ ID NO:204, SEQ ID NO:205, SEQ ID NO:206, SEQ ID NO:207, SEQ ID NO:208, SEQ ID NO:209, SEQ ID NO:210, SEQ ID NO:211, SEQ ID NO:212, SEQ ID NO:213, SEQ ID NO:214, SEQ ID NO:215, SEQ ID NO:216, SEQ ID NO:217, SEQ ID NO:218, SEQ ID NO:219, SEQ ID NO:220, SEQ ID NO:221, SEQ ID NO:222, SEQ ID NO:223, 及 SEQ ID NO:224。

在一些態樣中，本發明之 CH γ 3 結構域之 CD 鏈可能另包含如此處所述之 CD 模體。

當與一適用與效應物部分共軛之連接子共軛時，SEQ ID NO:98 之 K⁵ 的側鏈之 ϵ -胺基可能與該連接子共價連

接。

就某種程度而言，本發明係基於意外發現，也就是使 CL κ -D⁷⁷ 突變成 A、G、I、V、L、R、S、T、Q、P、N、M、H 或 W 之一者提供與 CL κ -K⁸⁰ 共軛之專一性程度顯著增加。

該效應物部分與抗體之輕鏈恆定結構域之反應係特別理想，以最小化或防止對該抗體之 Fc 部分與 Fc 受體（諸如 Fc γ R 及 FcRn）之結合或該抗體與彼之個別標靶之結合之任何干擾。相反地，該個別效應物部分與抗體之 Fc 部分之共軛可能降低該抗體於體內之半衰期及／或彼與該免疫系統交互作用之能力（效應物功能）。效應物部分於抗體之重鏈可變區(VH)或輕鏈可變區(VL)中之共軛帶來減少該抗體與彼之同源物結合之風險。

該效應物部分與該 CL κ 或該輕鏈恆定 λ (CL λ) 結構域之優先共軛簡化 MAC 同型之產生，因為其允許該抗體之重鏈恆定(CH)結構域之同型轉換且不影響該效應物部分與該抗體之共軛部位。

連接子及／或效應物部分可能與 CL κ -K⁸⁰ 之側鏈共價連接（例如選自 SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:120、SEQ ID NO:121 及 SEQ ID NO:122 之序列）。該 CL 係位於典型抗體之可形成例如對位區、FcRn 結合結構域、絞鏈區、FcR 結合結構域之一部分的重要區域以外；此提供好處，即優先地連接這些部位相較於該 MAC 係與該效應物

部分共軛時，可限制對抗體-抗原交互作用之干擾量。

在一些態樣中，該 CL κ 區域包含 SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:119、SEQ ID NO:120、SEQ ID NO:121 或 SEQ ID NO:122 之至少殘基 62 至 103。在一些態樣中，CL κ -x⁸² 可為任何胺基酸。在一些態樣中，CL κ -x⁸² 可能選自 K、R、G、A、V、L、I、S、T、C、M、N、Q、D、E、H、F、W 及 Y。在一些態樣中，CL κ -x⁸² 可能為 G、A、V、L 或 I。在一些態樣中，CL κ -x⁸² 可能為 K、R、N 或 Q。在一些態樣中，CL κ -x⁸² 可能為 D 或 E。在一些態樣中，CL κ -x⁸² 可能為 K、R、G、A、V、L、I、N 或 Q。在一些態樣中，CL κ -x⁸² 可能為 D 或 E。在一些態樣中，CL κ -x⁸² 可能為 K、R、G、A、V、L、I、N、Q、D 或 E。在一些態樣中，CL κ -x⁸² 可能為 D 或 E。在一些態樣中，CL κ -x⁸² 可能為 H、F、W 或 Y。在一些態樣中，CL κ -x⁸² 不是脯胺酸。在一些態樣中，CL κ -x⁸² 係 K。在一些態樣中，CL κ -x⁸² 係 R。

在一些態樣中，本發明之抗體或彼之抗原結合部位包含與兩條輕鏈上之 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 共軛之效應物部分。在一些態樣中，該效應物部分僅與一條輕鏈上之 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 共軛。在一些態樣中，該效應物部分僅與 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 共軛。在一些態樣中，該效應物部分係與一條輕鏈上之 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 及該抗體或彼之抗

原結合部位之一個其他位置共軛。在一些態樣中，該效應物部分係與一條輕鏈上之 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 及該抗體或彼之抗原結合部位之 2 個其他位置共軛。在一些態樣中，該效應物部分係與一條輕鏈上之 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 及該抗體或彼之抗原結合部位之 3 個其他位置共軛。在一些態樣中，該效應物部分係與兩條輕鏈上之 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 及一個其他位置共軛。在一些態樣中，該效應物部分係與兩條輕鏈上之 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 及 2 個其他位置共軛。在一些態樣中，該效應物部分係與兩條輕鏈上之 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 及 3 個其他位置共軛。

在一些態樣中，本發明關於經突變之免疫球蛋白(Ig)結構域，其包含對應 SEQ ID NO:10 或 SEQ ID NO:6 之位置 77 的該經突變之 Ig 結構域內之經取代之殘基，其中該經取代之殘基係選自 A, G, I, V, L, R, S, T, M, Q, N, P, H 及 W，惟其該經突變之 Ig 結構域在對應 SEQ ID NO:10 或 SEQ ID NO:6 之位置 80 及 81 另分別包含殘基 K 及 H。在一些態樣中，該經突變之 Ig 結構域包含選自下列之序列：SEQ ID NO:38、39、40、41、42、44、46、47、49、50、51、52、54、98、99、100、101,102、103、104、105、106、107、108、109、115、116、117、119、120、121、122、123、124、125 及 126。

Deposited 在一些態樣中，本發明提供一種載體及核酸、由該等載體及核酸編碼之多肽、包含由該等載體及核酸編碼之多肽之組成物，以及由該等核酸及載體表現之多肽如下：

<u>材料</u>	<u>SEQ ID NO:</u>
hCLk-Km(3)-D77A	37
h38C2-[LC-D185A]	254

載體 hCLk-Km(3)-D77A 係 TA 選殖載體，其具有編碼人輕鏈恆定 κ (Km(3))結構域且帶有 D77A 突變之多核苷酸 DNA 插入物（如 SEQ ID NO:37 所示），載體 h38C2-[LC-D185A]係編碼帶有 D77A 突變之人化 38C2 輕鏈之多核苷酸 DNA 插入物（如 SEQ ID NO:254 所示）。

在一些態樣中，本發明提供經分離之宿主細胞，其重組產製本發明之免疫球蛋白結構域，或本發明之包含免疫球蛋白結構域之蛋白質或抗體。本發明提供經分離之多核苷酸，其包含編碼本發明之蛋白質、結構域及抗體之核苷酸序列，以及包含該等多核苷酸之載體。在一些態樣中，本發明提供產製抗體、免疫球蛋白結構域或蛋白質之方法，該方法包含在導致該抗體、免疫球蛋白結構域或蛋白質產製之條件下培養宿主細胞，以及自該宿主細胞或培養物分離該抗體、免疫球蛋白結構域或蛋白質。

在一些態樣中，本發明提供包含選自下列之序列之多肽： SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID

NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78, SEQ ID NO:94, SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:106, SEQ ID NO:119, SEQ ID NO:120, SEQ ID NO:121, SEQ ID NO:122, SEQ

ID NO:127, SEQ ID NO:128, SEQ ID NO:129, SEQ ID NO:134, SEQ ID NO:135, SEQ ID NO:140, SEQ ID NO:141, SEQ ID NO:142, SEQ ID NO:143, SEQ ID NO:144, SEQ ID NO:148, SEQ ID NO:149, SEQ ID NO:150, SEQ ID NO:151, SEQ ID NO:156, SEQ ID NO:158, SEQ ID NO:159, SEQ ID NO:160, SEQ ID NO:161, SEQ ID NO:163, SEQ ID NO:165, SEQ ID NO:167, SEQ ID NO:168, SEQ ID NO:169, SEQ ID NO:236, SEQ ID NO:237, SEQ ID NO:238, SEQ ID NO:239, SEQ ID NO:240, SEQ ID NO:241, 及 SEQ ID NO:254, 或與上述序列之一或多者具有至少約 85%、或至少約 90%、或至少約 95%、或至少約 96%、或至少約 97%、或至少約 98%、或至少約 99%一致性之多肽。

● 本發明之樣本及組成物

● 在一些態樣中，本發明提供包含本發明之 CL 結構域之抗體或彼之抗原結合部位之組成物或樣本，該 CL 結構域與效應物部分共價共軛，其中在該組成物或樣本中至少約 50%之效應物部分係與 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 共軛。在一些態樣中，其係至少約 60%。在一些態樣中，其係至少約 70%。在一些態樣中，其係至少約 80%。在一些態樣中，其係至少約 90%。

● 在一些態樣中，本發明提供包含本發明之 CL 結構域之抗體或彼之抗原結合部位之組成物（或樣本），其中至少約 50%之抗體包含與至少一輕鏈上之 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 共軛連接之效應物部分。在一些態樣中，其係至少約 60%。在一些態樣中，其係至少約 70%。在一些態樣中，其係至少約 80%。在一些態樣中，其係至少約 90%。在一些態樣中，該效應物部分與二條輕鏈恆定區上之 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 共價共軛。

在一些態樣中，本發明提供包含本發明之 CL 結構域之抗體或彼之抗原結合部位之組成物（或樣本），該 CL 結構域與效應物部分共價共軛，其中至少約 30%之該樣本包含經共軛於每抗體約 2 個位置之效應物部分，且其中至少一個效應物部分共軛部位係 SEQ ID NO:98 之 K⁵。在某些態樣中，該量係約 40%。在某些態樣中，該量係約 50%。在某些態樣中，該量係約 60%。在某些態樣中，該量係約 70%。在某些態樣中，該量係約 80%。在某些態樣中，該量係約 90%。在某些態樣中，該量係約 95%。在某些態樣中，該量係約 99%。

在一些態樣中，本發明提供包含本發明之 CL 結構域之抗體或彼之抗原結合部位之組成物（或樣本），該 CL 結構域與效應物部分共價共軛，其中至少約 30%之該樣本包含經共軛於每抗體約 3 個位置之效應物部分，且其中至少 2 個效應物部分共軛部位係在各輕鏈上之 SEQ ID NO:98 之 K⁵。在某些態樣中，該量係約 40%。在某些態樣中，該量係約 50%。在某些態樣中，該量係約 60%。在某些態樣中，該量係約 70%。在某些態樣中，該量係約 80%。在某些態樣中，該量係約 90%。在某些態樣中，該量係約 95%。在某些態樣中，該量係約 99%。

在一些態樣中，本發明提供包含本發明之 CL 結構域之抗體或彼之抗原結合部位之組成物（或樣本），其中至少 50%之輕鏈分子係於 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 處與至少一個效應物部分共軛。在一些態樣中，其係至少約 60%。在一

些態樣中，其係至少約 65%。在一些態樣中，其係至少約 70%。在一些態樣中，其係至少約 75%。在一些態樣中，其係至少約 80%。在一些態樣中，其係至少約 85%。在一些態樣中，其係至少約 90%。在一些態樣中，其係至少約 95%。

在一些態樣中，本發明提供包含本發明之 CL 結構域之抗體或彼之抗原結合部位之組成物（或樣本），該 CL 結構域於 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 處與效應物部分共軛，其中至少約 70%之重鏈分子不與該效應物部分共軛。在某些態樣中，該量係約 75%。在某些態樣中，該量係約 80%。在某些態樣中，該量係約 85%。在某些態樣中，該量係約 90%。在某些態樣中，該量係約 95%。在某些態樣中，該量係約 99%。在某些態樣中，實質上所有重鏈分子皆不與該效應物部分共軛。

在某些態樣中，該未經共軛之個別輕鏈片段之量具有選自約 1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50 或 55%之下限及選自約 5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55 或 60%之上限。在某些態樣中，在一個位置經共軛之個別輕鏈片段之量具有選自約 25、30、35、40、45、50 或 55%之下限及選自約 30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90 或 95%之上限。在某些態樣中，在二個位置經共軛之個別輕鏈片段之量具有選自約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、5、10、15、20 或 25%之下限及選自約 5、16、7、8、9、5、10、15、

20、25、30、35 或 40%之上限。

在某些態樣中，該未經共軛之個別重鏈片段之量具有選自約 50、55、60、65、70、75 或 80%之下限及選自約 60、65、70、75、80、85、90、95 或 99%之上限。在某些態樣中，在一個位置經共軛之個別重鏈片段之量具有選自約 1、2、5、10、15、20 或 25%之下限及選自約 5、10、15、20、25、30、35、40 或 50%之上限。在某些態樣中，在二個位置經共軛之個別重鏈片段之量具有選自約 0、1、2、3、4、5、10 或 15%之下限及選自約 2、3、4、5、10、15 或 20%之上限。

在某些態樣中，在本發明之樣本或組成物中每抗體之共軛數具有選自約 0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.55、1.6、1.65、1.7、1.75、1.8、1.85、1.9、1.95 或 2 之下限及選自約 1.6、1.7、1.75、1.8、1.85、1.9、1.95、2.0、2.05、2.1、2.15、2.2、2.25、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.5、4.0、4.5 或 5 之上限。在某些態樣中，在本發明之樣本或組成物中每抗體之共軛數係介於約 1.5 至約 2.5。在某些態樣中，在本發明之樣本或組成物中每抗體之共軛數係介於約 1.6 至約 2.4。在某些態樣中，在本發明之樣本或組成物中每抗體之共軛數係介於約 1.7 至約 2.3。在某些態樣中，在本發明之樣本或組成物中每抗體之共軛數係介於約 1.8 至約 2.2。在某些態樣中，在本發明之樣本或組成物中每抗體之共軛數係選自約 1.5、約 1.55、約 1.6、約

1.65、約 1.7、約 1.75、約 1.8、約 1.85、約 1.9、約 1.95、約 2.0、約 2.05、約 2.1、約 2.15、約 2.2、約 2.25、約 2.3、約 2.4 或約 2.5 之量。在某些態樣中，該量係約 1.7。在某些態樣中，該量係約 1.8。在某些態樣中，該量係約 1.9。在某些態樣中，該量係約 2。在某些態樣中，該量係約 2.1。在某些態樣中，該量係約 2.1。在某些態樣中，該量係約 2.3。

在本發明之某些態樣中，每抗體之共軛數係小於 2，其中該抗體族群中至少 50%僅具有每抗體單一共軛。這些樣本係有利的，因為它們允許額外之共軛反應以剩餘之 CL κ 部位為目標。在某些態樣中，在本發明之樣本或組成物中每抗體之共軛數係介於約 0.5 至約 1.5。在某些態樣中，在本發明之樣本或組成物中每抗體之共軛數係介於約 0.6 至約 1.4。在某些態樣中，在本發明之樣本或組成物中每抗體之共軛數係介於約 0.7 至約 1.3。在某些態樣中，在本發明之樣本或組成物中每抗體之共軛數係介於約 0.8 至約 1.2。在某些態樣中，在本發明之樣本或組成物中每抗體之共軛數係介於約 0.9 至約 1.1。

本發明的好處之一在於依照試劑及反應條件（特別是脫離基酯及連接子：抗體之莫耳比），本發明之組成物及樣本可經產製為具有定義數量之效應物部分相對於定義數量之抗體。此特別可用於當平衡該效應物部分及抗體之相對反應性及治療窗時。而且在某些情況中，增加每抗體之肽或其他活性部分的數量超過一定閾值可能不會導致增加

之標靶結合或治療效應。因此，能夠控制與每抗體共軛之肽的數量係為有用，而且藉此可引導共軛之位置以最小化 Fc 或結合位點之干擾。因此在某些情況中，本發明之允許減少共軛之態樣，特別是僅與單一 CL κ -K⁸⁰ 共軛者可具有優點。另外，雖然與 CL κ -K⁸⁰ 之共軛係可靠且緊密，與其他抗體表面離胺酸共軛（各具有稍微不同的反應性及 pI）可形成在不恰當或不規則之時間釋放經共軛之分子經共軛之抗體之異質性樣本，如在循環期間及在藉由抗體辨識以遞送該效應物部分至該標靶（或藉由辨識該效應物部分以遞送該抗體至該標靶）之前。當使用毒素（即具有殺滅腫瘤及腫瘤細胞之潛力的細胞毒性劑），此特別不佳。

在一些態樣中，該毒素係耳抑素(auristatin)，其係天然產物海兔毒素(dolastatin) 10 (MMAD)之衍生物。代表性耳抑素包括 MMAE（N-甲基纈胺酸-纈胺酸-dolaisoleuine-dolaproline-降麻黃鹼）及 MMAF（N-甲基纈胺酸-纈胺酸-dolaisoleuine-dolaproline-苯丙胺酸）。

在一些態樣中，該抗體以和該效應物部分相同途徑內之不同標靶為目標。在一些態樣中，該抗體以和該效應物部分不同之標靶為目標。

在一些態樣中，用來共軛之抗體的 VH 及 VL 可能可用於腫瘤學之領域中。適當之抗體包括：利妥昔單抗(Rituximab) (RituxanTM)，一種嵌合性 IgG1 κ 、抗 CD20 抗體，用於治療癌及特別是非霍奇金氏淋巴瘤還有類風濕

性關節炎；西妥昔單抗(Cetuximab) (ErbixTM)，一種嵌合性 IgG1 κ 、抗 EGF 受體抗體，用於治療癌，特別是結腸癌、頭頸癌。

在一些態樣中，用來共軛之抗體可能用於自體免疫及其他免疫疾病之領域中。適當之抗體包括：英利昔單抗(Infliximab) (RemicadeTM)，一種嵌合性 IgG1 κ 、抗 TNF α 抗體，用於治療類風溼性關節炎、潰瘍性結腸炎、克隆氏(Crohn's)症、牛皮癬、乾癬性關節炎及關節粘連性脊椎炎；阿達木單抗(Adalimumab) (HumiraTM)，一種人 IgG1 κ 、抗 TNF α 抗體，用於治療類風溼性關節炎、克隆氏症、牛皮癬、乾癬性關節炎、幼年型自發性關節炎及關節粘連性脊椎炎；那他珠單抗(Natalizumab) (TysabriTM)，一種人化 IgG4 κ 抗 α 4 整合素抗體，用於治療多發性硬化症、類風溼性關節炎、牛皮癬、幼年型自發性關節炎、乾癬性關節炎、關節粘連性脊椎炎、克隆氏症；奧馬珠單抗(Omalizumab) (XolairTM)，一種人化 IgG1 κ 、抗 IgE 抗體，用於治療過敏性氣喘；蘭尼單抗(Ranibizumab) (LucentisTM)，一種人化 IgG1 κ 、抗 VEGF 抗體，用於治療濕性 AMD；及帕利珠單抗(Palivizumab) (SynagisTM)，一種人化 IgG1 κ 、抗 RSV 抗體，用於治療感染性疾病，包括呼吸道融合病毒。

在一些態樣中，本發明之化合物及組成物可被用於治療該等上述提及之狀況。

效應物部分

該效應物部分可為治療劑、蛋白質、肽、核酸、適體 (aptamer)、小分子、蛋白質促效劑、蛋白質拮抗劑、代謝調節劑、荷爾蒙、毒素、生長因子或其他調節性蛋白質，或可為診斷劑諸如可被輕易地檢測或看見之酶，諸如辣根過氧化酶。

在一些態樣中，該效應物部分可為蛋白質或肽，且可與該連接子經由肽連接殘基連接。該蛋白質或肽可包含胺基端加蓋基團 R^1 及羧基端加蓋基團 R^2 之一或二者。 R^1 可能是 CH_3 、 $C(O)CH_3$ 、 $C(O)CH_3$ 、 $C(O)CH_2CH_3$ 、 $C(O)CH_2CH_2CH_3$ 、 $C(O)CH(CH_3)CH_3$ 、 $C(O)CH_2CH_2CH_2CH_3$ 、 $C(O)CH(CH_3)CH_2CH_3$ 、 $C(O)C_6H_5$ 、 $C(O)CH_2CH_2(CH_2CH_2O)_{1-5}Me$ 、二氯苯甲醯基 (DCB)、二氟苯甲醯基 (DFB)、吡啶基羧酸酯 (PyC) 或醯胺基-2-PEG、胺基保護基、脂質脂肪酸基或碳水化合物。 R^2 可能是 OH 、 NH_2 、 $NH(CH_3)$ 、 $NHCH_2CH_3$ 、 $NHCH_2CH_2CH_3$ 、 $NHCH(CH_3)CH_3$ 、 $NHCH_2CH_2CH_2CH_3$ 、 $NHCH(CH_3)CH_2CH_3$ 、 NHC_6H_5 、 $NHCH_2CH_2OCH_3$ 、 $NHOCH_3$ 、 $NHOCH_2CH_3$ 、羧基保護基、脂質脂肪酸基或碳水化合物。

該蛋白質或肽連接殘基可為 K 、 K_{SH} 、離胺酸同源物、Dap、Dab、Orn、R、C、含硫醇殘基、S、T、Y、D、E、N 或 Q。該蛋白質或肽可經由該 N 端胺基酸之胺基端與該連接子連接。該蛋白質或肽可經由該 C 端胺基酸

之羧基端與該連接子連接。額外之胺基酸殘基可被添加至該 N 或 C 端以作為連接殘基，不論經由該胺基酸之側鏈或該胺基或羧基端連接。

連接子

在本發明之關於具有效應物部分之共軛物的態樣中，特別是製備共軛物及 MAC 之方法中，將了解的是本發明同樣適用於具有連接子但無效應物部分之共軛物。例如利用該等共軛物作為中間物，以用於製備本發明之效應物部分-連接子-多肽共軛物。

本發明之效應物部分（諸如小分子、適體、核酸、蛋白質或肽）可藉由連接子以與該抗體或彼之抗原結合部位共價連接。該連接子可藉由該肽連接殘基之側鏈的胺基與該肽共價連接。此可為離胺酸殘基。在一些實施態樣中，該連接殘基係硫醇攜帶殘基，諸如 Cys 或 K_{SH} 且該連接子係經由該連接殘基之末端硫醇基團與該肽共價連接。

該連接子可為直鏈或分歧（以允許每共軛加成(CA)與超過一個效應物部分共軛），及可任意選擇地包括一或多個碳環基或雜環基。連接子長度可被視為在該效應物部分與抗體之間的直鏈原子之數量，有環狀基團諸如芳香環及類似者以採取沿著該環之最短路徑計算。在一些實施態樣中，該連接子具有介於 5 至 15 個原子之直鏈片段，在其他實施態樣中 15 至 30 個原子，在仍其他實施態樣中 30 至 50 個原子，在仍其他實施態樣中 50 至 100 個原子，及

在仍其他實施態樣中 100 至 200 個原子。在一些實施態樣中，該連接子之長度係具有選自 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、120、130、140、150、160、170、180、190 之下限及選自 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、120、130、140、150、160、170、180、190 或 200 之上限之範圍。

其他連接子考量包括對該形成之化合物之物理或藥物動力學性質之影響，諸如溶解性、親脂性、親水性、疏水性、穩定性（較穩定或較不穩定及較多或較少之預定降解）、剛性、柔韌性、免疫原性、調節抗體結合、被納入微胞或脂質體之中的能力及類似者。

該連接子可為肽基連接子。在一些實施態樣中，該肽基連接子可為介於 3 至 20 個胺基酸長，諸如重複單一胺基酸殘基（例如聚甘胺酸）或胺基酸殘基之組合以得到給予該效應物部分之有利表現或藥物動力學之肽連接子。與活化基團之存在最為相容之肽基連接子可能缺乏離胺酸及組胺酸殘基。SEQ ID NO:79 係示範性肽基連接子。

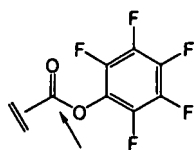
或者，該連接子可為非肽基連接子。這種類型之連接子的典型範例將為該些以各種長度之直鏈或支鏈烴或聚乙二醇為基礎者。這些連接子可能併入其他基團以影響溶解

性、剛性、等電點，諸如芳香或非芳香環、鹵素、酮、醛、酯、磺醯基、磷酸鹽基等。

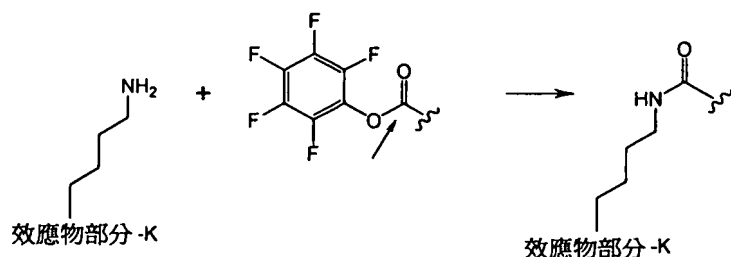
在本發明之一些態樣中，該連接子可包含式： $-X^1-Y^1-Z-$ ；其中 X^1 係與該效應物部分連接之基團（例如經由肽連接殘基）， Y^1 係間隔子區，且 Z 係與抗體（例如抗 IGF1R 抗體）上之離胺酸殘基之側鏈連接之基團。在一些態樣中，當不與抗體連接時該連接子可為式 $X^1Y^1Z^*$ ，其中 Z^* 係脫離基，以使當與抗體共軛時，該脫離基 Z^* 與該抗體之共軛部位反應以形成該經共軛之連接子 X^1Y^1Z 。

X^1 之選擇要能讓該效應物部分之連接採用特定方向性共價連接策略（例如經由肽連接殘基）。在一些態樣中， X^1 可選自 $COOH$ 、異氰酸酯、異硫氰酸酯、醯基疊氮、磺酸、磺醯基鹵化物、醛、酮、環氧化物、碳酸酯、芳基化試劑、亞胺酸酯、胺基及順丁烯二醯亞胺基團。舉例來說，當該肽連接殘基包含親核基時， X^1 可為親電子基，且反之亦然。舉例來說，若該肽連接殘基側鏈包含胺基，諸如 K、H、鳥胺酸、Dap 或 Dab， X^1 可為 $COOH$ 或其他類似之反應性親電子劑，例如異氰酸酯、異硫氰酸酯、醯基疊氮、磺酸、磺醯基鹵化物、醛、酮、環氧化物、碳酸酯、芳基化試劑或亞胺酸酯。若該肽連接殘基係 D 或 E， X^1 可包含親核基，諸如胺基。這些策略中之任一者允許在該 X^1 基團與該肽連接殘基之間藉由醯胺鍵形成策略形成共價鍵結。舉例來說，當 X^1 係 $COOH$ 時，其可能被活化成為五氟苯基酯。在此情況中，與肽連接肽上之

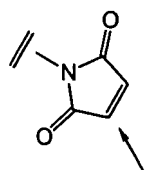
胺基反應導致醯胺鍵形成，而該五氟苯酚係脫離基（其可被稱為 X^1 ）。



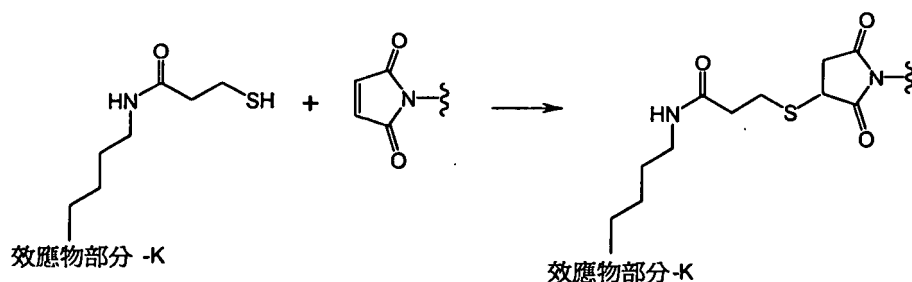
箭頭表示與該肽連接殘基連接之點，該平行線代表與該連接子之 Y^1 基團連接之點。



當該肽連接基團係 C、C 之同源物或其他含硫醇基之殘基（諸如 K_{SH} ）時， X^1 可包含順丁烯二醯亞胺基，此允許硫醇-順丁烯二醯亞胺添加反應策略以共價連接該 X^1 基團與該肽連接殘基。在一些態樣中， X^1 可為順丁烯二醯亞胺：

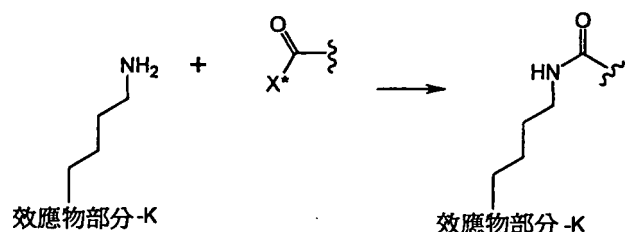


其中該箭頭表示與該肽連接殘基連接之點，該平行線代表與該連接子之 Y^1 基團連接。為了命名之簡單起見，本發明所描述之利用順丁烯二醯亞胺基建構之連接子被稱為含順丁烯二醯亞胺連接子，其可以 MAL 表示，即使在建構該連接子之後，該順丁烯二醯亞胺基通常被轉換成琥珀醯亞胺環。



在一些態樣中，該連接殘基係 K_{SH} 且該 X^1 基團係順丁烯二醯亞胺。

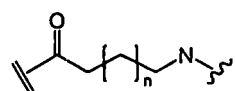
在一些態樣中， X^1 可包含五氟苯基酯活化之羧基官能基，其可與該肽上之離胺酸側鏈形成醯胺。



在一些態樣中， X^1 可包含硫醇基，此允許在該肽連接殘基與 X^1 基團之間形成雙硫鍵。

在一些實施態樣中， Y^1 係可生物相容之連接鏈，包括任何選自 C、H、N、O、P、S、F、Cl、Br 及 I 之原子，且可包含一或多種胺基酸、聚合物或團聯共聚物。 Y^1 可被選擇以提供介於 2 至 100 個原子之該連接子之整體長度。 Y^1 可被選擇以使該連接子之整體長度係介於 5 至 30 個原子。 Y^1 可被選擇以使該連接子之整體長度係 15 至 25 個原子。 Y^1 可被選擇以使該連接子之整體長度係介於約 17 至約 19 個原子。

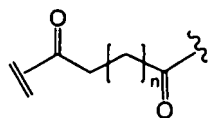
在一些態樣中， Y^1 可為胺基烷酸，諸如：



其中 $n = 0$ 至 20，在一些態樣中 1 至 10，在一些態樣中 1

至 5，在一些態樣中 1，以及在一些態樣中 2。

在一些態樣中， Y^1 可為烷二酸，諸如：



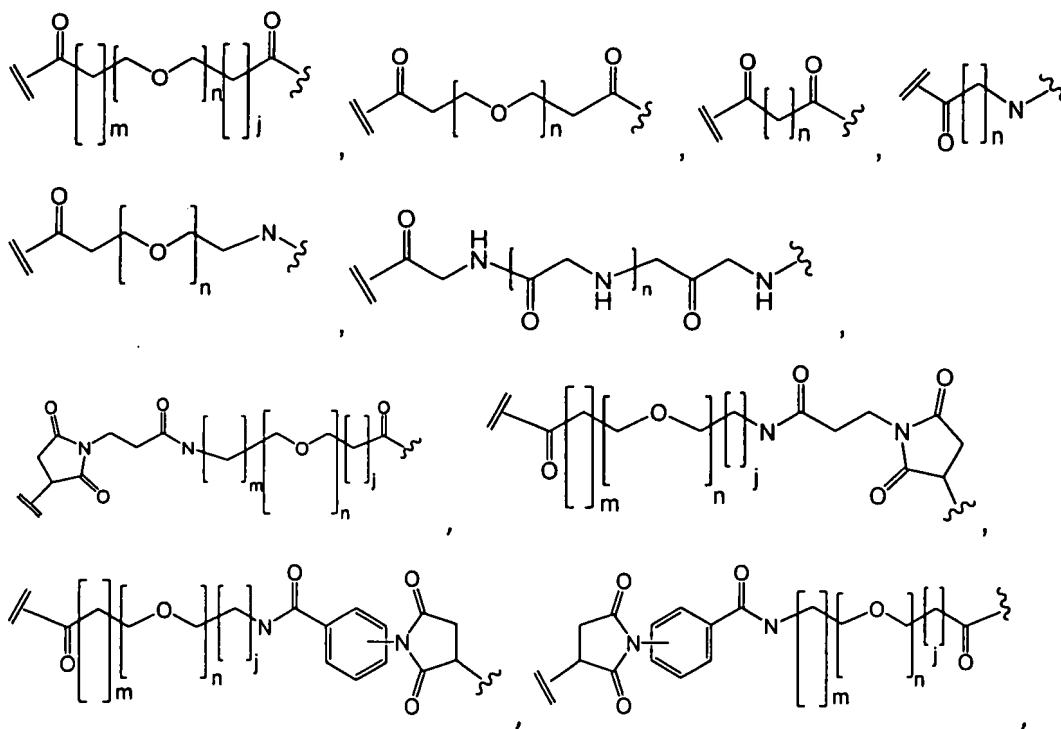
其中 $n = 0$ 至 20，在一些態樣中 1 至 10，在一些態樣中 1 至 5，在一些態樣中 1，以及在一些態樣中 2。

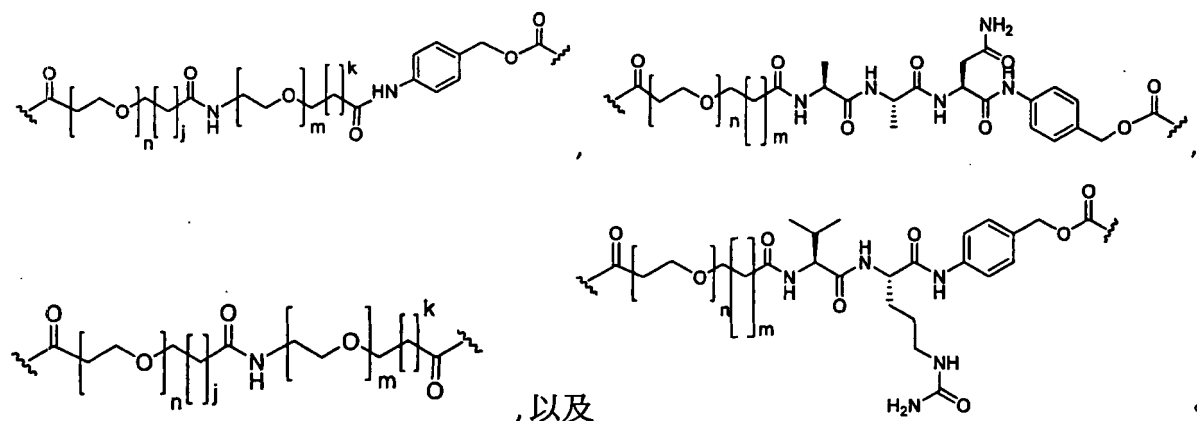
在某些態樣中， Y^1 可為聚甘胺酸，諸如：



其中 $n = 0$ 至 10，在一些態樣中 1 至 10，在一些態樣中 1 至 5，在一些態樣中 1，以及在一些態樣中 2。

在一些態樣中， Y^1 、 X^1-Y^1 、 Y^1-Z 及 X^1-Y^1-Z 可能選自下列：





其中 m 、 n 、 j 及 k 係各自獨立地 0 至 30。在一些態樣中 $n=1$ 至 10，在一些態樣中 $n=1$ 至 5。在一些態樣中， n 數值之範圍的下限係選自 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 及 20，且 n 數值之範圍的上限係選自 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 及 30。 N 可為 1。 N 可為 2。 N 可為 3。 N 可為 4。 N 可為 5。 N 可為 6。在一些態樣中 $m=1$ 至 10，在一些態樣中 $m=1$ 至 5。在一些態樣中， m 數值之範圍的下限係選自 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 及 20，且 m 數值之範圍的上限係選自 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 及 30。 M 可為 1。 M 可為 2。 M 可為 3。 M 可為 4。 M 可為 5。 M 可為 6。在一些態樣中 $j=1$ 至 10，在一些態樣中 $j=1$ 至 5。在一些態樣中， j 數值之範圍的下限係選自 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、

18、19 及 20，且 j 數值之範圍的上限係選自 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 及 30。 J 可為 1。 J 可為 2。 J 可為 3。 J 可為 4。 J 可為 5。 J 可為 6。在一些態樣中 $k=1$ 至 10，在一些態樣中 $k=1$ 至 5。在一些態樣中， k 數值之範圍的下限係選自 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 及 20，且 k 數值之範圍的上限係選自 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 及 30。 K 可為 1。 K 可為 2。 K 可為 3。 K 可為 4。 K 可為 5。 K 可為 6。在一些態樣中， Y^1 之整體長度不超過 200 個原子。在一些態樣中， Y^1 之整體長度不超過 150 個原子。在一些態樣中， Y^1 之整體長度不超過 100 個原子。在一些態樣中， Y^1 之整體長度不超過 50 個原子。在一些態樣中， Y^1 之整體鏈長度之範圍以原子數而言具有選自 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55 及 60 之下限及選自 5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95 及 100 之上限。在一些態樣中，該 X^1Y^1Z 連接子可能與上述之 Y^1 基團相同。在一些態樣中，該波浪線連接該 X^1 基團。在一些態樣中，該平行線連接該 X^1 基團。在一些態樣中，該波浪線連接該 Z 基團。在一些態樣中，該平行線連接該 Z 基團。在一些態

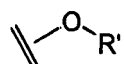
樣中，該波浪線連接 $CL\ \kappa\text{-}K^{80}$ 之側鏈。在一些態樣中，該平行線連接 $CL\ \kappa\text{-}K^{80}$ 之側鏈。在一些態樣中，該波浪線連接該效應物部分。在一些態樣中，該平行線連接該效應物部分。在一些態樣中，該波浪線或平行線之一者係該連接子之可切割部分(Φ)之連接點。

脫離基

Z^* 可被選擇以使得與該抗體上之離胺酸側鏈連接得以採用特定方向性共價連接策略。舉例來說， Z 可為 $COOH$ 或另一類似之反應性親電子劑以利用多種可能的醯胺鍵形成策略中之一者與該表面離胺酸側鏈之 ε -胺基反應。

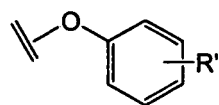
在某些態樣中， Z^* 可被用於形成活性酯。活性酯與胺連接，因此可與該抗體之離胺酸側鏈的 ε -胺基共軛。該能使活性酯形成之 Z 羧基官能基將存在於 Y 基團之末端。該活性酯之醇基或酚基官能基在共軛反應期間作為脫離基 Z^* ，得以經由產生醯胺以與該抗體上之離胺酸側鏈連接。

在一些實施態樣中，該 Z^* 基團包含下式之結構：



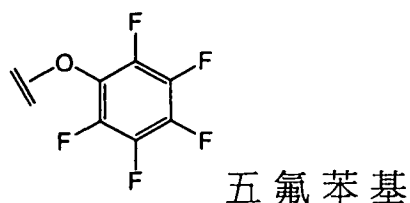
其中 R' 係脂肪族或芳香族基。

在一些實施態樣中，該 Z^* 基團係為下式：



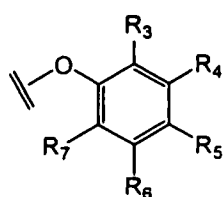
其中 $R' =$ 單獨或經組合之 F 、 Cl 、 Br 或 I 中之任一者、

硝基、氰基或三氟甲基，且可以介於 1 至 5 之量存在。在一些實施態樣中， R^1 可為鹵素，且可存在 4 或 5 個鹵素原子。在一些實施態樣中，可能有 4 個 R^1 原子。在一些實施態樣中，可能有 5 個 R^1 原子。在一些實施態樣中， Z^* 可能為四氟苯基。在一些實施態樣中， Z^* 可能包含下式：



其中該平行線代表與該連接子之 Y^1 部分連接之點。

在一些實施態樣中， Z^* 可包含下式：



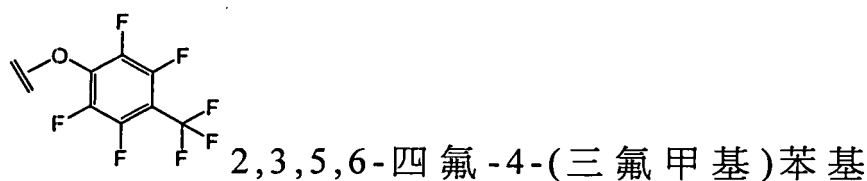
其中 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 及 R^7 係各自獨立選自 F、Cl、H 及式 $CR^8R^9R^{10}$ ，以使得 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 及 R^7 之不超過二者係 H，且 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 及 R^7 之一者係 $CR^8R^9R^{10}$ ，且 R^8 、 R^9 及 R^{10} 係各自獨立選自 F、Cl 及 H 以使得 R^8 、 R^9 及 R^{10} 之不超過一者可能為 H，且其中該平行線代表與該連接子之 Y^1 部分連接之點。在一些態樣中，該基團 $CR^8R^9R^{10}$ 係位於 R^4 、 R^5 或 R^6 之一處。在一些態樣中，該基團 $CR^8R^9R^{10}$ 係位於 R^5 。

在一些態樣中， R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 及 R^7 係各自獨立選自 F、Cl、H 及式 $CR^8R^9R^{10}$ ，以使得 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 及 R^7 之不超過一者係 H，且 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 及 R^7 之一者係

$CR^8R^9R^{10}$ 。在一些態樣中， R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 及 R^7 係各自獨立選自 F、Cl 及式 $CR^8R^9R^{10}$ 且一者係 $CR^8R^9R^{10}$ 。

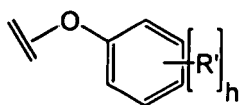
在一些態樣中， R^3 、 R^4 、 R^6 及 R^7 各自為 F。在一些態樣中， R^8 、 R^9 及 R^{10} 係各自獨立選自 F 及 Cl。在一些態樣中， R^8 、 R^9 及 R^{10} 各自為 F。

在一些實施態樣中， Z^* 可包含下式：

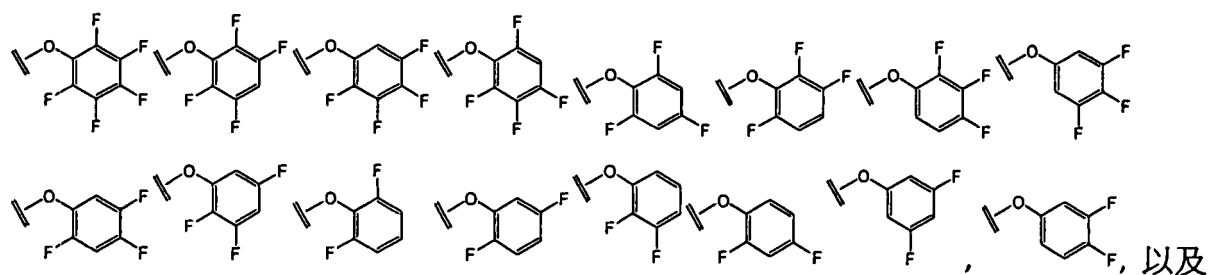


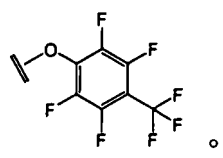
其中該平行線代表與該連接子之 Y^1 部分連接之點。

在一些態樣中，該 Z^* 基團係為下式：

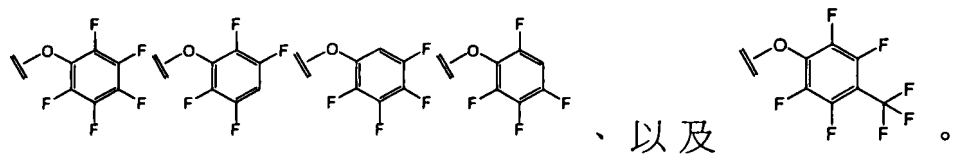


其中 $R' =$ 單獨或經組合之 F、Cl、Br 或 I 中之任一者、硝基、氰基或三氟甲基，且 $h=1$ 、2、3、4 或 5。在一些實施態樣中， R^1 可能為鹵素。在一些實施態樣中， R^1 係 F 或 Cl，且 $h=4$ 或 5。在一些實施態樣中， R^1 係 F 或 Cl，且 $h=5$ 。在一些實施態樣中， R^1 係 F，且 $h=2$ 、3、4 或 5。在一些實施態樣中， R^1 係 F，且 $h=3$ 、4 或 5。在一些實施態樣中， R^1 係 F，且 $h=4$ 或 5。在一些實施態樣中， R^1 係 F，且 $h=5$ 。在一些態樣中， Z^* 可選自下列：

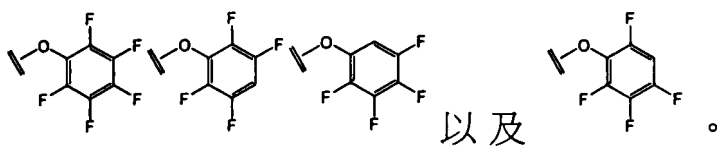




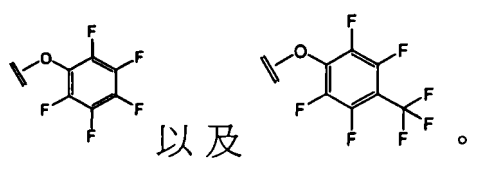
在一些態樣中，Z*可選自下列：



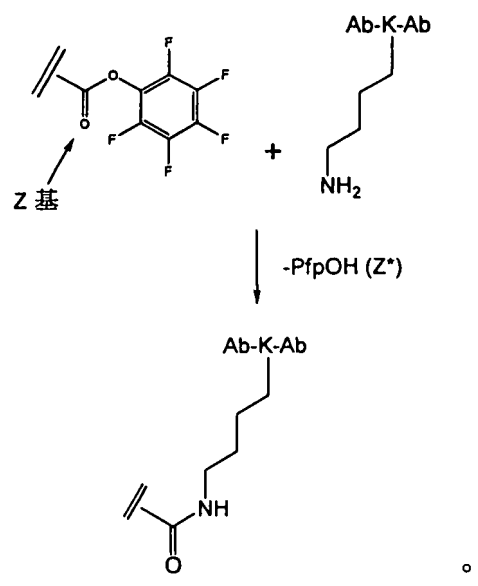
在一些態樣中，Z*可選自下列：



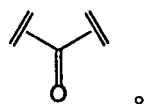
在一些態樣中，Z*可選自下列：



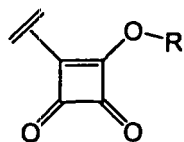
以該等活性酯而言，該脫離基係 Z*且該 Z 基團本身係與該 Y¹ 基連接之羰基。當與該抗體反應時，該 Z*基形成醯胺，如下所示：



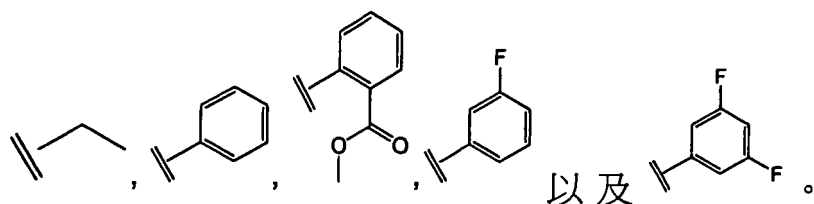
在一些實施態樣中，Z 係



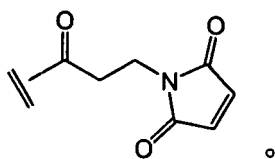
在一些實施態樣中，該 Z*基團包含方酸鹽酯諸如



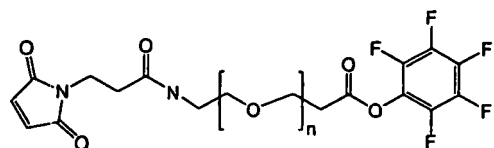
其中 R = 脂肪族基或經取代之芳香族基，且可選自：



在一些實施態樣中，該 Z 基團包含順丁烯二醯亞胺基：

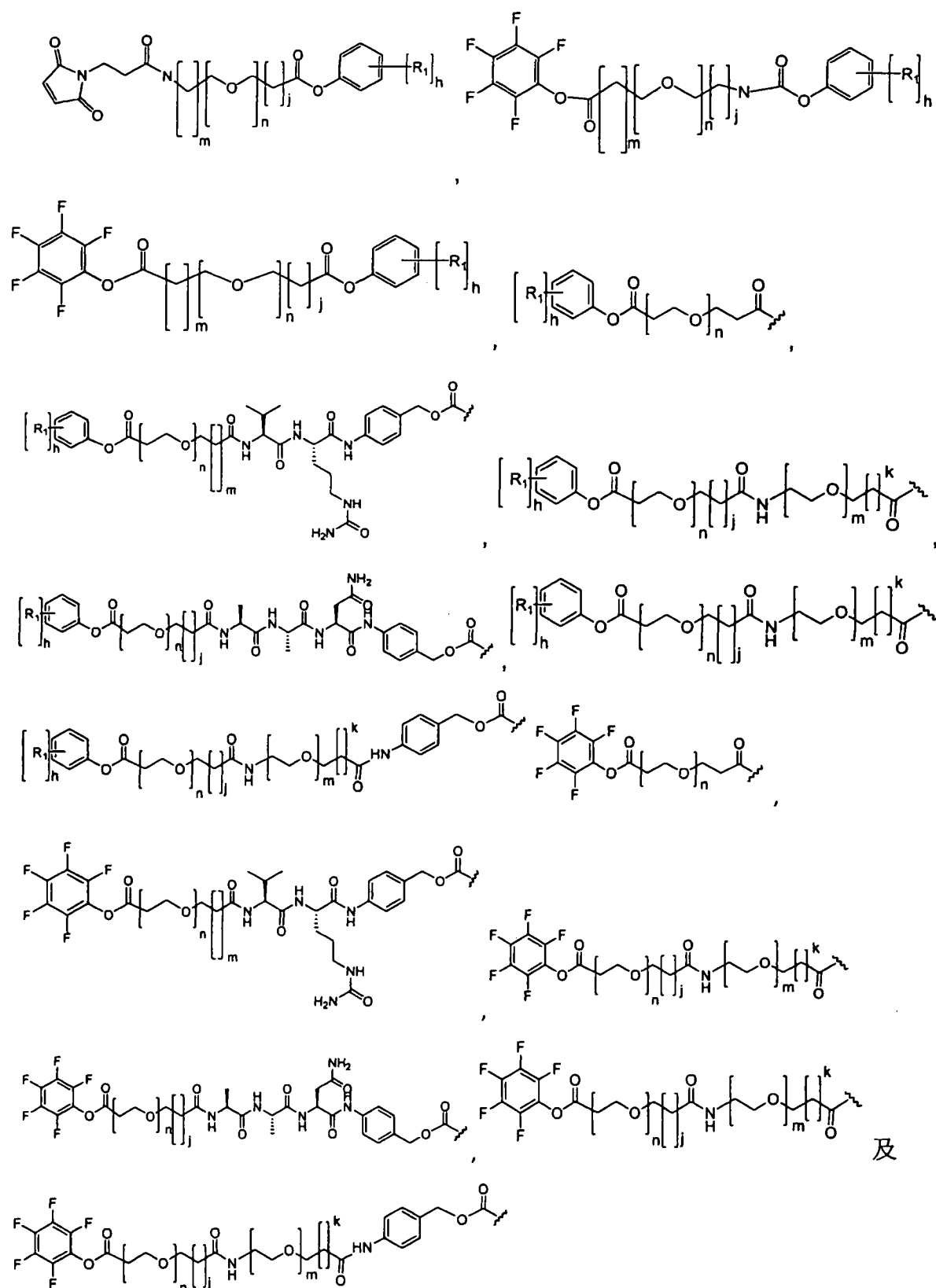


在一些態樣中，該 X¹*Y¹Z*連接子包含下列結構之順丁烯二醯亞胺-PEG-PFP 酯：



其中 n = 1 至 12。在一些態樣中，n=1 至 5。在一些態樣中，n=2。在一些態樣中，n=1。

在一些態樣中，該 X¹*Y¹Z*連接子包含選自下列之結構：

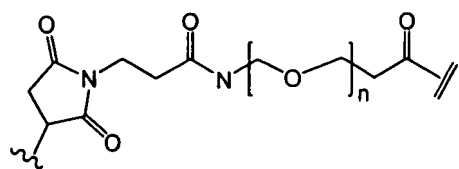


其中 m、n 及 j 各自獨立為 0 至 30，R1 係 F 且 h=2、3、4 或 5。在一些態樣中 n=1 至 10，在一些態樣中 n=1 至 5。在一些態樣中，n 數值之範圍的下限係選自 0、1、2、3、

4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 及 20，且 n 數值之範圍的上限係選自 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 及 30。 N 可為 1。 N 可為 2。 N 可為 3。 N 可為 4。 N 可為 5。 N 可為 6。在一些態樣中 $m=1$ 至 10，在一些態樣中 $m=1$ 至 5。在一些態樣中， m 數值之範圍的下限係選自 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 及 20，且 m 數值之範圍的上限係選自 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 及 30。 M 可為 1。 M 可為 2。 M 可為 3。 M 可為 4。 M 可為 5。 M 可為 6。在一些態樣中 $j=1$ 至 10，在一些態樣中 $j=1$ 至 5。在一些態樣中， j 數值之範圍的下限係選自 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 及 20，且 j 數值之範圍的上限係選自 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 及 30。 J 可為 1。 J 可為 2。 J 可為 3。 J 可為 4。 J 可為 5。 J 可為 6。在一些態樣中 $k=1$ 至 10，在一些態樣中 $k=1$ 至 5。在一些態樣中， k 數值之範圍的下限係選自 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 及 20，且 k 數值之範圍的上限係選自 2、3、4、5、6、7、8、9、10、

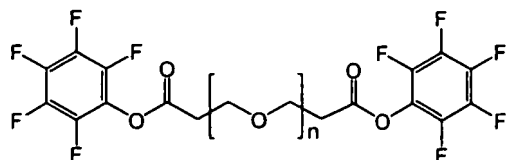
11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 及 30。K 可為 1。K 可為 2。K 可為 3。K 可為 4。K 可為 5。K 可為 6。在一些態樣中， Y^1 之整體長度不超過 200 個原子。在一些態樣中， Y^1 之整體長度不超過 150 個原子。在一些態樣中， Y^1 之整體長度不超過 100 個原子。在一些態樣中， Y^1 之整體長度不超過 50 個原子。在一些態樣中， Y^1 之整體鏈長度之範圍以原子數而言具有選自 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55 及 60 之下限及選自 5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95 及 100 之上限。

在一些態樣中，該 MAC 包含下式之 X^1Y^1Z 連接子：



$n=2$ 。

在一些態樣中，該 X^1*Y^1Z* 連接子包含下式之 PEG-雙-五氟苯基酯：

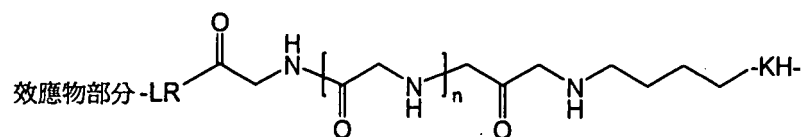
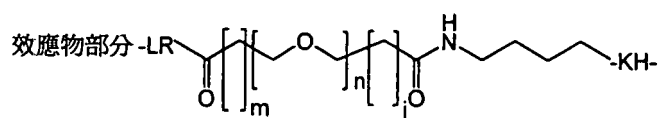
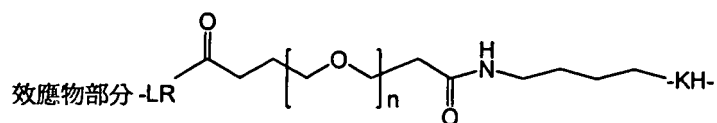
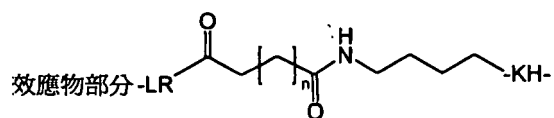
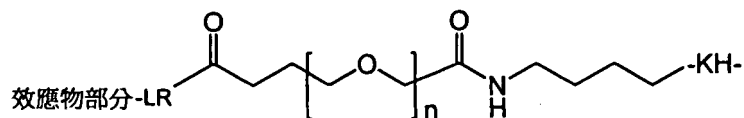
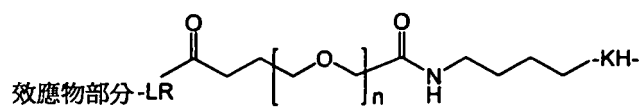
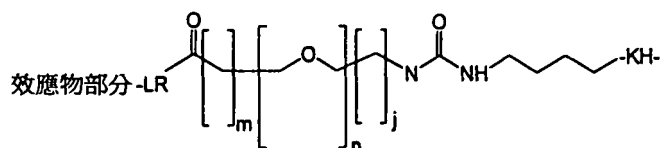
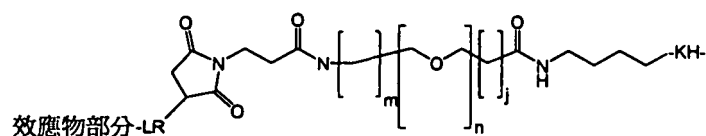
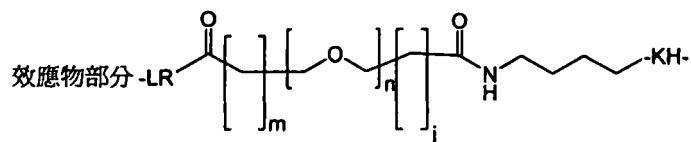


其中 $n = 1$ 至 25。在一些態樣中， $n=1$ 至 20。在一些態樣中， $n=1$ 至 10。在一些態樣中， $n=4$ 。N=3，在一些態樣中， $n=1$ 。

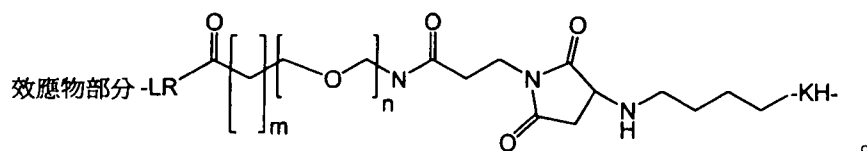
在一些態樣中，該 MAC 包含經共軛至每抗體之 2

肽。在一些態樣中，一肽係與該抗體或彼之抗原結合片段之 2 個 CL κ -K⁸⁰ 殘基之各者共軛。

在一些態樣中，本發明之多肽包含選自下列之式：



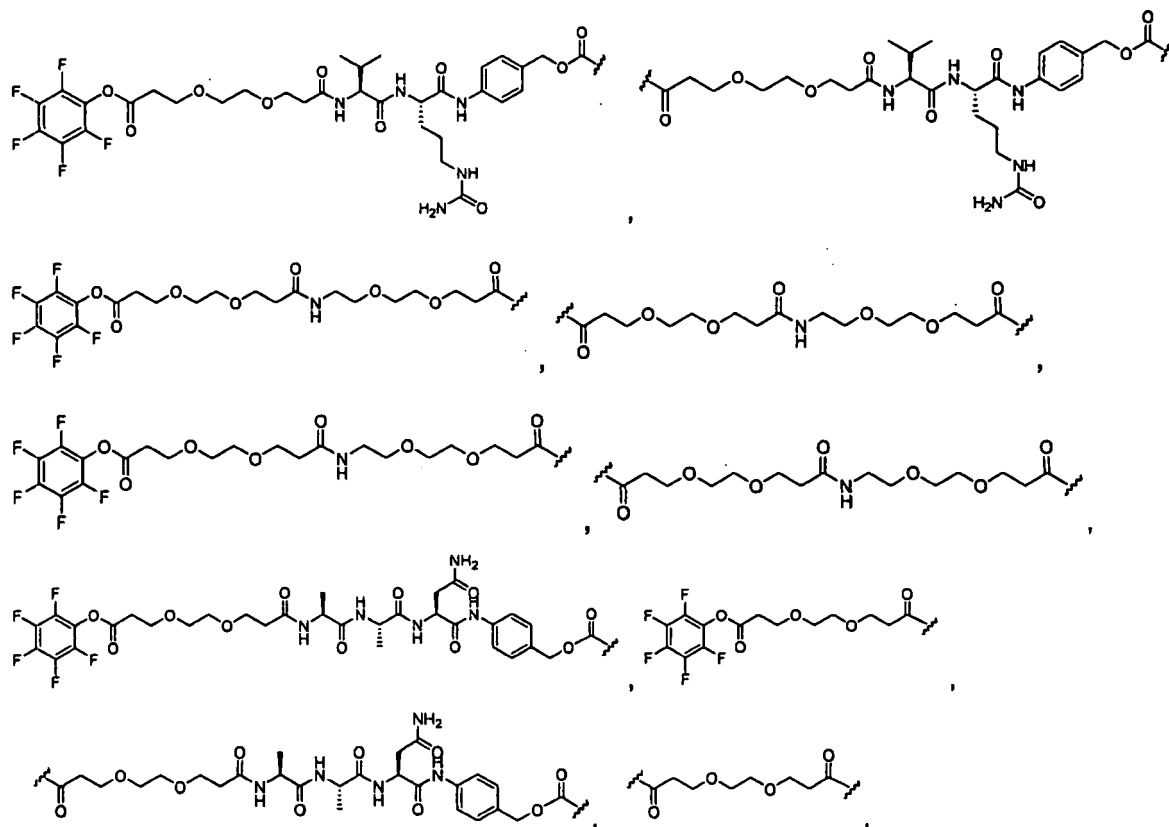
，及

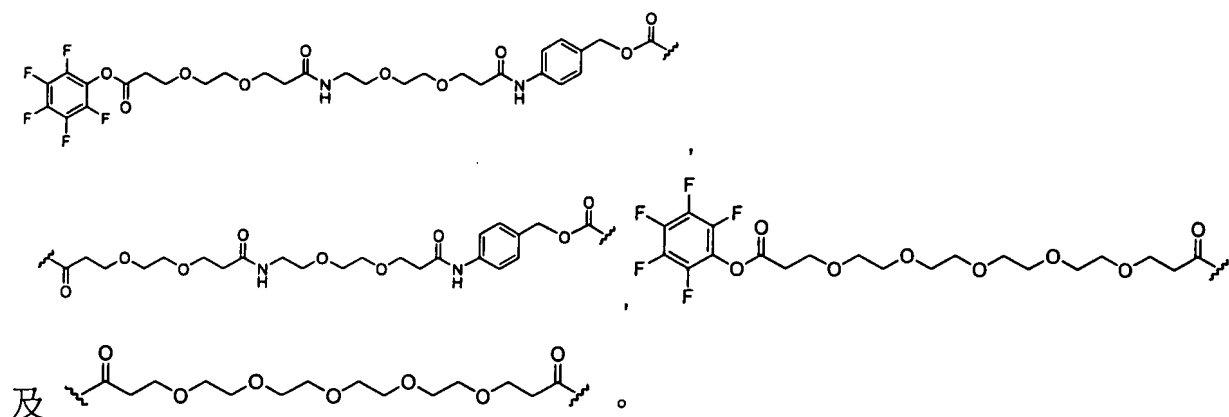


其中 -KH- 係連接至 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 的側鏈之共價連接，效應物部分 -LR 係與該效應物部分之共價連接，且 m、n 及 j 各自獨立為 0 至 30。在一些態樣中 n=1 至 10，在一些態樣中 n=1 至 5。在一些態樣中，n 數值之範圍的下限係選自 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 及 20，且 n 數值之範圍的上限係選自 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 及 30。N 可為 1。N 可為 2。N 可為 3。N 可為 4。N 可為 5。N 可為 6。在一些態樣中 m=1 至 10，在一些態樣中 m=1 至 5。在一些態樣中，m 數值之範圍的下限係選自 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 及 20，且 m 數值之範圍的上限係選自 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 及 30。M 可為 1。M 可為 2。M 可為 3。M 可為 4。M 可為 5。M 可為 6。在一些態樣中 j=1 至 10，在一些態樣中 j=1 至 5。在一些態樣中，j 數值之範圍的下限係選自 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 及 20，且 j 數值之範圍的上限係選自 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 及 30。J 可為 1。
 J 可為 2。J 可為 3。J 可為 4。J 可為 5。J 可為 6。在一些態樣中， Y^1 之整體長度不超過 200 個原子。在一些態樣中， Y^1 之整體長度不超過 150 個原子。在一些態樣中， Y^1 之整體長度不超過 100 個原子。在一些態樣中， Y^1 之整體長度不超過 50 個原子。在一些態樣中， Y^1 之整體鏈長度之範圍以原子數而言具有選自 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55 及 60 之下限及選自 5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95 及 100 之上限。

在一些態樣中，該連接子係選自下列：



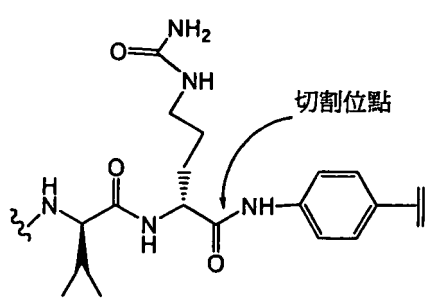


可切割之連接子

在一些態樣中，本發明提供包含「不可切割」之連接子之如此處所述的 MAC。在其他態樣中，本發明提供包含「可切割」之連接子之 MAC。此處所使用之用語「可切割之連接子」係描述一種可快速切割之連接子，其係經設計以藉由細胞內或細胞外酶或 pH 或氧化還原環境之改變時降解以在所欲位置釋放其所連接之物。舉例來說，可切割之連接子可能較佳地在血漿、血液或血清中穩定，且在細胞內環境中較不穩定。

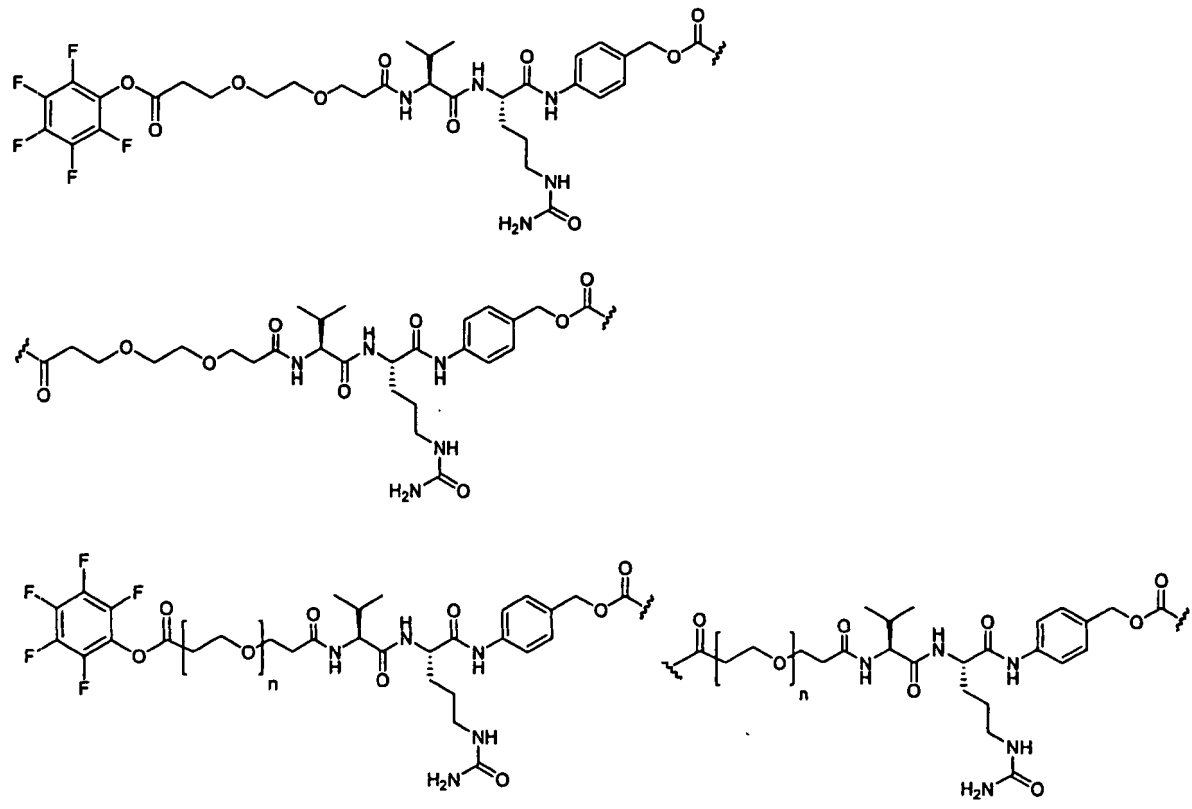
可切割之連接子可藉由添加可切割之部分 (Φ) 至該連接子之 Y^1 部分（或 P^1 部分，當該連接子係用於酶催化性抗體結合位點）以形成。因此，該連接子可能具有式 $X^1-\Phi-Y^1-Z$ 、 $X^1-\Phi-Y^1-Z^*$ 及 $P^1-\Phi-Q^1-W^1$ 。

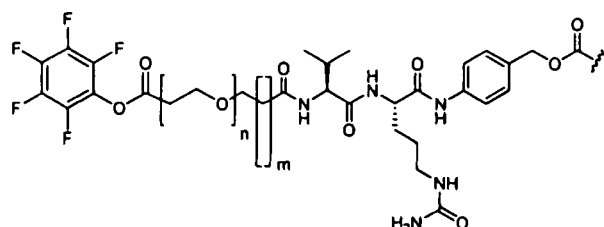
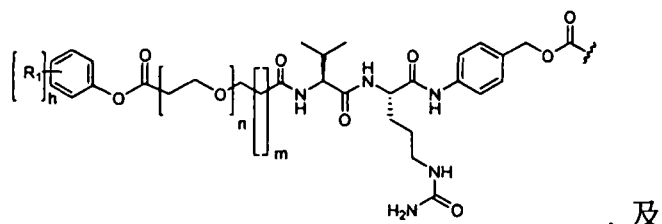
連接子之可切割部分的一代表性範例係纈胺酸-瓜胺酸-對胺基苯甲基胺基甲酸酯 (VitCitABC)，其係由細胞內蛋白酶如組織蛋白酶 B 切割。



其中該波浪線通常表示與該連接子之 Y^1 (或 Q^1) 部分連接之點，且該平行線表示與該連接子之 X^1 (或 P^1) 部分或甚至與該效應物部分本身連接之點。在一些態樣中，當然該波浪線可能表示與該 X^1 或 P^1 連接子部分 (或效應物部分) 之連接點，且該平行線可能表示與該連接子之 Y^1 或 Q^1 部分之連接點。

因此，在一些態樣中，本發明提供下式之連接子：





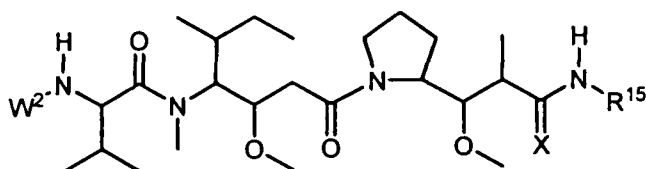
其中 m 、 n 及 j 各自獨立為 0 至 30， R_1 係 F 且 $h=2$ 、3、4 或 5。在一些態樣中 $n=1$ 至 10，在一些態樣中 $n=1$ 至 5。在一些態樣中， n 數值之範圍的下限係選自 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 及 20，且 n 數值之範圍的上限係選自 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 及 30。 N 可為 1。 N 可為 2。 N 可為 3。 N 可為 4。 N 可為 5。 N 可為 6。在一些態樣中 $m=1$ 至 10，在一些態樣中 $m=1$ 至 5。在一些態樣中， m 數值之範圍的下限係選自 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 及 20，且 m 數值之範圍的上限係選自 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 及 30。 M 可為 1。 M 可為 2。 M 可為 3。 M 可為 4。 M 可為 5。 M 可為 6。在一些態樣中 $j=1$ 至 10，在一些態樣中 $j=1$ 至 5。在一些態樣中， j 數值之範圍的下

限係選自 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 及 20，且 j 數值之範圍的上限係選自 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 及 30。J 可為 1。J 可為 2。J 可為 3。J 可為 4。J 可為 5。J 可為 6。在一些態樣中 $k=1$ 至 10，在一些態樣中 $k=1$ 至 5。在一些態樣中， k 數值之範圍的下限係選自 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 及 20，且 k 數值之範圍的上限係選自 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 及 30。K 可為 1。K 可為 2。K 可為 3。K 可為 4。K 可為 5。K 可為 6。在一些態樣中， Y^1 之整體長度不超過 200 個原子。在一些態樣中， Y^1 之整體長度不超過 150 個原子。在一些態樣中， Y^1 之整體長度不超過 100 個原子。在一些態樣中， Y^1 之整體長度不超過 50 個原子。在一些態樣中， Y^1 之整體鏈長度之範圍以原子數而言具有選自 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45、50、55 及 60 之下限及選自 5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95 及 100 之上限。

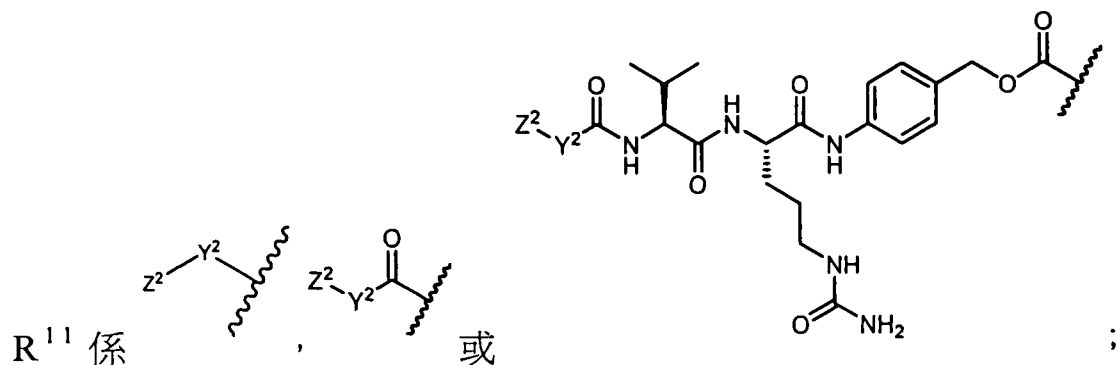
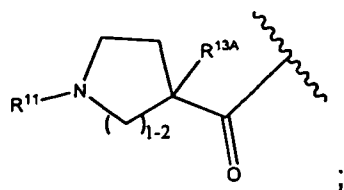
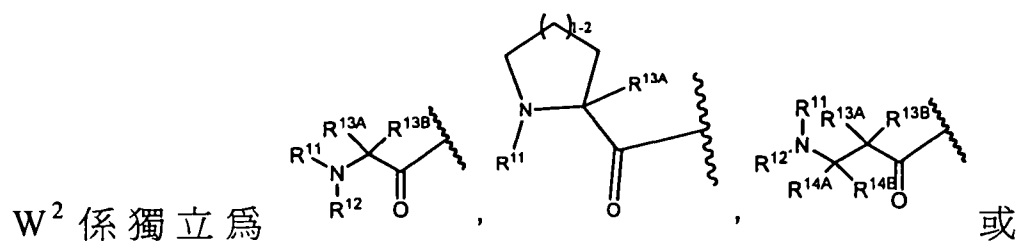
使用基於耳抑素(Auristatin)之載荷藥物

基於耳抑素之效應物部分亦可被用於本發明之標靶共軛技術，其中該標靶共軛技術係與適當連接子技術組合使用。特別地，有用之載荷藥物包括該些於 PCT/IB2012/056224 揭示者，包括所有醫藥上可接受之鹽、水合物及游離鹼形式。

因此，下列效應物部分及連接子可被用於本發明之態樣中：

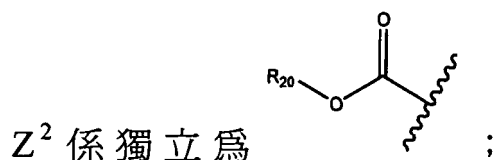


或彼之醫藥上可接受之鹽或溶劑合物，其中每次出現時，



Y^2 係獨立為 $-C_2-C_{20}$ 伸烷基-、 $-C_2-C_{20}$ 雜伸烷基-、 $-C_3-C_8$ 碳環基-、-伸芳基-、 $-C_3-C_8$ 雜環基-、 $-C_1-C_{10}$ 伸烷

基-伸芳基-、-伸芳基- C_1-C_{10} 伸烷基、- C_1-C_{10} 伸烷基-(C_3-C_8 碳環基)-、-(C_3-C_8 碳環基)- C_1-C_{10} 伸烷基-、- C_1-C_{10} 伸烷基-(C_3-C_8 雜環基)-或-(C_3-C_8 雜環基)- C_1-C_{10} 伸烷基-；



R^{12} 係氫、 C_1-C_8 烷基或 C_1-C_8 鹵烷基；

R^{13A} 及 R^{13B} 係下列任一者：

(i) R^{13A} 係氫、 C_1-C_8 烷基、 C_1-C_8 鹵烷基、 C_3-C_8 碳環基、 C_1-C_{10} 雜環基、芳基、雜芳烷基、芳烷基或鹵素；且

R^{13B} 係 C_1-C_8 烷基、 C_1-C_8 鹵烷基、 C_3-C_8 碳環基、 C_1-C_{10} 雜環基、芳基、雜芳烷基、芳烷基或鹵素；或

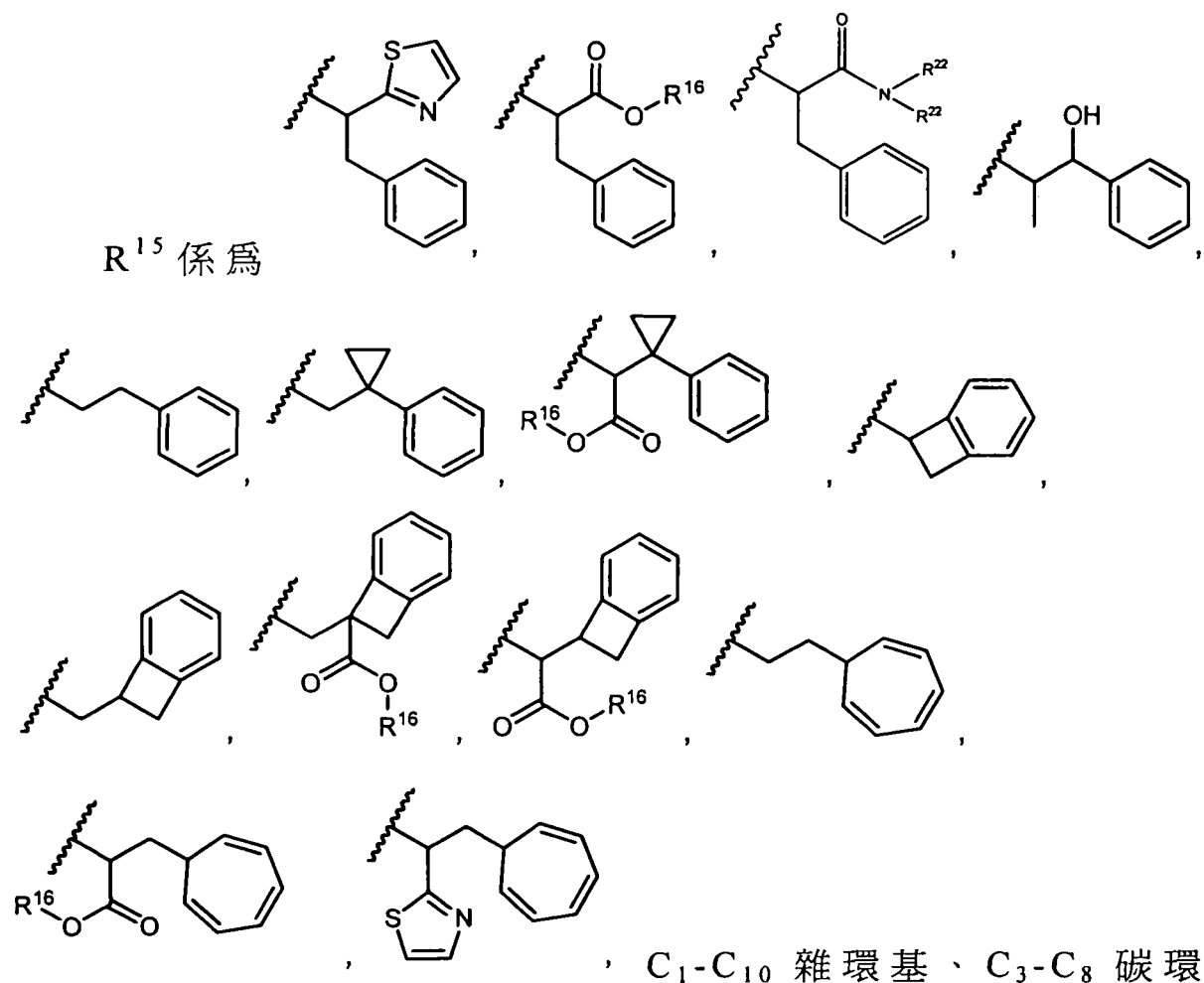
(ii) R^{13A} 及 R^{13B} 一起為 C_2-C_8 伸烷基或 C_1-C_8 雜伸烷基；

R^{14A} 及 R^{14B} 係下列任一者：

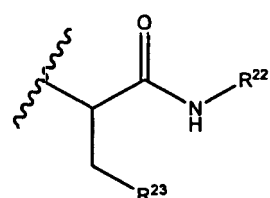
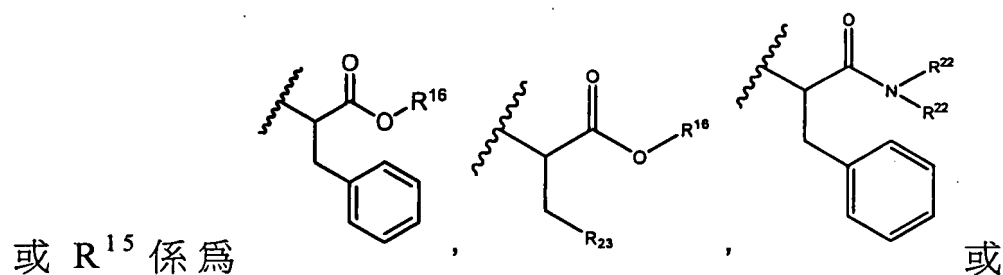
(i) R^{14A} 係氫、 C_1-C_8 烷基、 C_1-C_8 鹵烷基、 C_3-C_8 碳環基、 C_1-C_{10} 雜環基、芳基、雜芳烷基或芳烷基；且

R^{14B} 係氫、 C_1-C_8 烷基、 C_1-C_8 鹵烷基、 C_3-C_8 碳環基、 C_1-C_{10} 雜環基、芳基、雜芳烷基或芳烷基；或

(ii) R^{14A} 及 R^{14B} 一起為 C_2-C_8 伸烷基或 C_1-C_8 雜伸烷基；



基及 C_6-C_{14} 芳基，上述基團可任意選擇地經 1、2、3、4 或 5 個獨立選自 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_1-C_8$ 烷基- $N(R')_2$ 、 $-C_1-C_8$ 烷基- $C(O)R'$ 、 $-C_1-C_8$ 烷基- $C(O)OR'$ 、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、 $-C(O)R'$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)N(R')_2$ 、 $-NHC(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-OH$ 、鹵素、 $-N_3$ 、 $-N(R')_2$ 、 $-CN$ 、 $-NHC(=NH)NH_2$ 、 $-NHCONH_2$ 、 $-S(=O)_2R'$ 及 $-SR'$ 之基團取代，其中各 R' 係獨立選自氫、 C_1-C_8 烷基及未經取代之芳基，或二個 R' 可一起與彼等所連接之氮形成 C_1-C_{10} 雜環基；



，上述基團可任意選擇地經 1、2、3、4 或 5 個獨立選自 C_1 - C_8 烷基、 $-C_1$ - C_8 烷基- $N(R')$ ₂、 $-C_1$ - C_8 烷基- $C(O)R'$ 、 $-C_1$ - C_8 烷基- $C(O)OR'$ 、 $-O$ -(C_1 - C_8 烷基)、 $-C(O)R'$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)N(R')$ ₂、 $-NHC(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-OH$ 、鹵素、 $-N_3$ 、 $-N(R')$ ₂、 $-CN$ 、 $-NHC(=NH)NH_2$ 、 $-NHCONH_2$ 、 $-S(=O)_2R'$ 、 $-SR'$ 及伸芳基- R' 之基團取代，其中各 R' 係獨立選自氫、 C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_8 雜環基、 C_1 - C_{10} 伸烷基- C_3 - C_8 雜環基及芳基，或二個 R' 可一起與彼等所連接之氮形成 C_1 - C_{10} 雜環基；

R^{16} 係氫、 $-C_1$ - C_8 烷基、 $-C_2$ - C_8 烯基、 $-C_2$ - C_8 炔基或 $-C_1$ - C_8 鹵烷基；

R^{22} 係氫、 C_1 - C_4 烷基、 C_1 - C_{10} 雜環基或 C_6 - C_{14} 芳基；

R^{23} 係 C_1 - C_{10} 雜環基；且

R^{17} 每次出現時係獨立選自 F、Cl、I 及 Br；

R^{20} 係-芳基、 $-C_1$ - C_{10} 伸烷基-芳基，其中在包含芳基之 R^{10} 上的芳基係經 $[R^{17}]_h$ 取代；

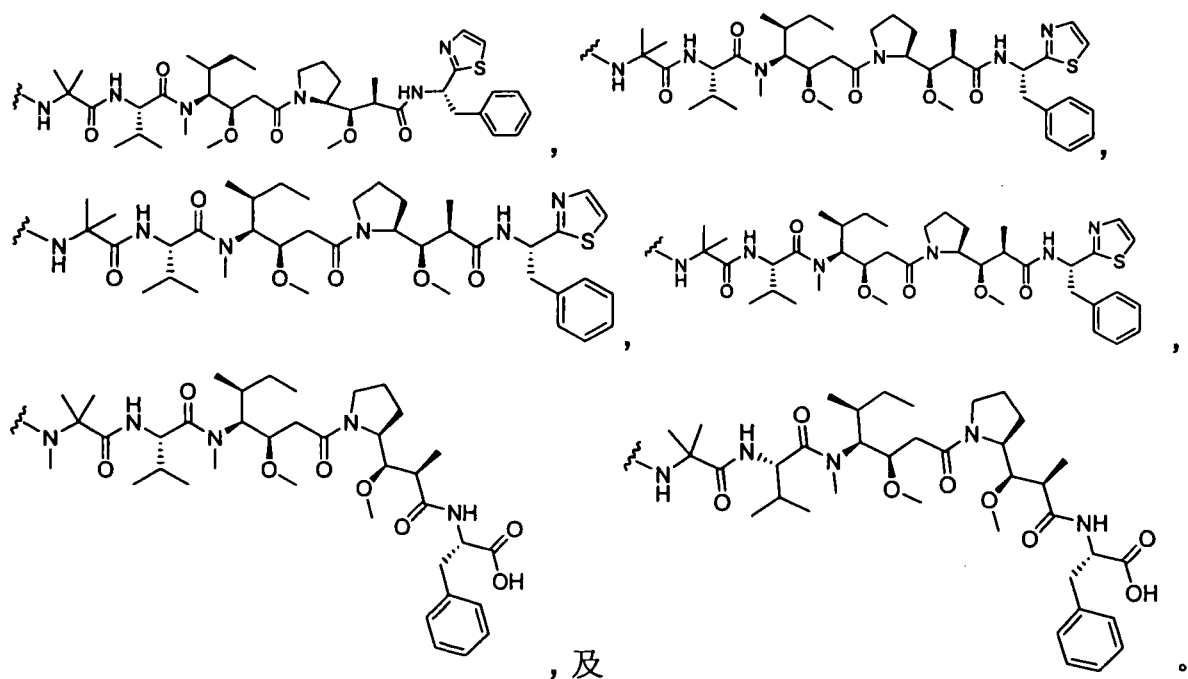
h 係 5；且

X 係 O 或 S；

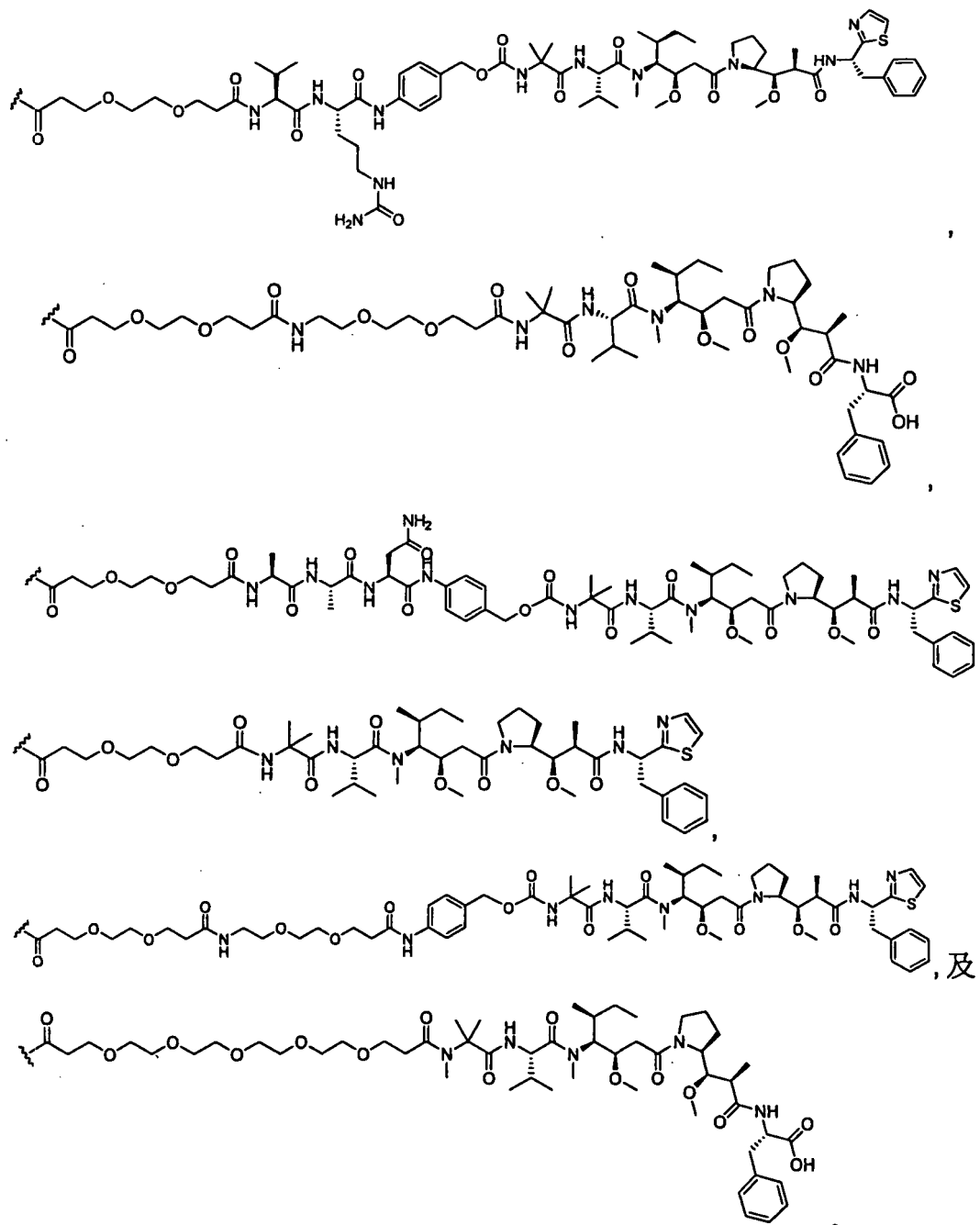
惟其當 R^{13A} 係氫時，X 係 S。

在一些態樣中，該效應物部分可選自表 73。在一些態樣中，該效應物部分係毒素 #54。在一些態樣中，該效應物部分係毒素 #115。在一些態樣中，該效應物部分係毒素 #69。

在一些態樣中，該效應物部分當與本發明之連接子共軛時包含選自下列之式：



與可用於本發明之連接子共軛之效應物部分包括基於耳抑素之毒素-連接子，如 PCT/IB2012/056224 所揭示者。在一些態樣中，本發明之毒素-連接子可選自下列：

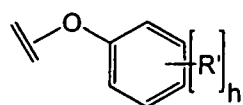


共軛方法

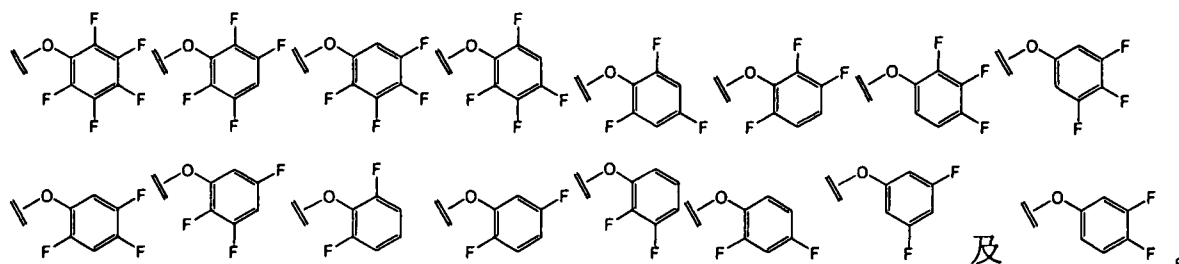
在一些態樣中，本發明提供一種用於製備多功能抗體共軛物(MAC)之方法，該 MAC 包含抗體或彼之抗原結合部位，該抗體經由連接子與至少一個效應物部分共價共軛，該連接子與 SEQ ID NO:98 (或此處揭示之屬於 SEQ

ID NO:98 範圍內之 SEQ ID) 之 K^5 的側鏈連接，或與抗體恆定結構域上之殘基 K 的側鏈連接（其中 K 的位置對應 SEQ ID NO:6 之殘基 77，或根據卡巴編號之輕鏈恆定結構域之殘基 185）；

該方法包含共價連接該效應物部分與末端為下式之脫離基 Z^* 之連接子：

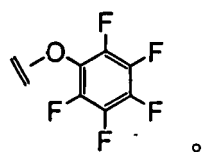


其中 R^1 係單獨或經組合之 F、Cl、Br 或 I 中之任一者、硝基、氰基或三氟甲基且 $h=1, 2, 3, 4$ 或 5 ，及使該如此形成之效應物部分-連接子-脫離基複合體與該抗體以介於約 $3.5:1$ 至約 $4.5:1$ 之效應物部分：抗體之莫耳比反應。在一些態樣中，該莫耳比係約 $3.7:1$ 至約 $4.3:1$ 。在一些實施態樣中， R^1 可能為鹵素。在一些實施態樣中， R^1 係 F 或 Cl，且 $h=4$ 或 5 。在一些實施態樣中， R^1 係 F 或 Cl，且 $h=5$ 。在一些實施態樣中， R^1 係 F，且 $h=2, 3, 4$ 或 5 。在一些實施態樣中， R^1 係 F，且 $h=3, 4$ 或 5 。在一些實施態樣中， R^1 係 F，且 $h=4$ 或 5 。在一些實施態樣中， R^1 係 F，且 $h=5$ 。在一些態樣中， Z^* 可選自下列：

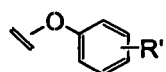


R^1 可能以介於 3 至 5 之量存在。可能有 3 個 R^1 基團。 R^1 可能以介於 4 至 5 之量存在。可能有 4 個 R^1 基

團。可能有 5 個 R^1 基團。 R^1 可能是氟。 R^1 可能是氯。 R^1 可能是溴。該脫離基可能包含下式：



在一些態樣中，本發明提供製備 MAC 之方法，其中該 MAC 包含與至少一個效應物部分共價連接之抗體（或彼之片段），該效應物部分與額外標靶（諸如肽、小分子、適體、核酸分子或蛋白質）結合，其中該效應物部分包含具有 PFP 脫離基之連接子，該 PFP 脫離基能與該抗體之表面離胺酸殘基的 ϵ -胺基反應。在一些態樣中，本發明提供用於共軛效應物部分（諸如肽）與包含 SEQ ID NO:98 之本發明之 CL 結構域之方法，該方法包含使該效應物部分與包含下式之脫離基之連接子共軛：



其中 R^1 係單獨或經組合之 F、Cl、Br 或 I 中之任一者、硝基、氰基、三氟甲基且可以介於 1 至 5 之量存在，及使該脫離基與 SEQ ID NO:98 之 K^5 之側鏈反應。

在一些態樣中，該方法包含使抗體或彼之抗原結合部分與效應物部分組合，其中該效應物部分係與包含 PFP 脫離基之連接子共價連接。

在一些態樣中，該效應物部分：抗體之莫耳比係介於約 2.5 至約 4.6:1。在本發明之一些態樣中，該莫耳比係約 3.7:1 至約 4.3:1。在本發明之一些態樣中，該效應物部分：抗體之莫耳比係約 4:1。在一些態樣中，該莫耳比係

介於約 2:1 至約 7:1。在一些態樣中，該莫耳比係介於約 3:1 至約 6:1。在一些態樣中，該莫耳比係介於約 3:1 至約 7:1。在一些態樣中，該莫耳比係介於約 3:1 至約 5:1。

在本發明之態樣中，若希望每抗體具有少於 1.5 共軛（例如當需要單一效應物部分時），該莫耳比可介於約 1:1 至約 6:1，其中該緩衝液包含濃度至少為 0.02M 之 HEPES。該 HEPES 之濃度可介於約 0.1M 至約 1M。該 HEPES 之濃度可介於約 0.1M 至約 0.5M。在本發明之態樣中，若希望每抗體具有少於 1.5 共軛（例如當需要單一效應物部分時），該莫耳比可介於約 1:1 至約 3:1。

在一些態樣中，該較佳之莫耳比係一範圍，該範圍具有選自約 1、約 1.2、約 1.4、約 1.5、約 1.6、約 1.8、約 2、約 2.2、約 2.4、約 2.5、約 2.6、約 2.8、約 3、約 3.2、約 3.3、約 3.4、約 3.5、約 3.6、約 3.7、約 3.8、約 3.9、約 4.0、約 4.1、約 4.2、約 4.3、約 4.4、約 4.5、約 4.6、約 4.7、約 4.8、約 4.9、約 5、約 5.2、約 5.4、約 5.5、約 5.6、約 5.8、約 6、約 6.2、約 6.4、約 6.5、約 6.6、約 6.8、約 7、約 7.3、約 7.5、約 7.7、約 8、約 8.5、約 9、約 9.5 或約 10 比 1 之下限，及選自約 1.5、約 1.6、約 1.8、約 2、約 2.2、約 2.4、約 2.5、約 2.6、約 2.8、約 3、約 3.2、約 3.3、約 3.4、約 3.5、約 3.6、約 3.7、約 3.8、約 3.9、約 4.0、約 4.1、約 4.2、約 4.3、約 4.4、約 4.5、約 4.6、約 4.7、約 4.8、約 4.9、約 5、約 5.2、約 5.4、約 5.5、約 5.6、約 5.8、約 6、約 6.2、約

6.4、約 6.5、約 6.6、約 6.8、約 7、約 7.3、約 7.5、約 7.7、約 8、約 8.5、約 9、約 9.5、約 10 或約 15 比 1 之上限。

在一些態樣中，本發明另包含使該效應物部分與蛋白質一起共軛至少約 30 分鐘。在一些態樣中，該期間係至少約 60 分鐘。在一些態樣中，該期間係至少約 2 小時。在一些態樣中，本發明另包含使該效應物部分與抗體在約 4°C 至約 40°C 之間共軛。在一些態樣中，本發明另包含使該效應物部分與抗體在約 10°C 至約 30°C 之間共軛。在一些態樣中，本發明另包含使該效應物部分與抗體在約 15°C 至約 30°C 之間共軛。在一些態樣中，該反應係於約 18°C 至約 25°C 進行。在一些態樣中，該反應係於約 22°C 進行。在一些態樣中，該反應係於約室溫中進行。

在一些態樣中，該共軛反應發生在介於約 pH 6.5 至約 pH 8.0 之間。在一些態樣中，該共軛反應發生在介於約 pH 6.75 至約 pH 8.0 之間。在一些態樣中，該共軛反應發生在約 pH 7.7。在一些態樣中，該共軛反應發生在約 pH 7。在一些態樣中，該共軛反應發生在約 pH 7.2。在一些態樣中，該共軛反應發生在約 pH 7.5。在一些態樣中，該共軛反應發生在 pH 數值之範圍之間，該範圍之下限係選自 5.5、6、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9 或 8，該範圍之上限係選自 6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、

8.0、8.5 或 9。

在一些態樣中，該 pH 可為低於 6.5；此特別適用於需要每抗體少於約 1.5 共軛之應用中。在一些態樣中，該 pH 係介於約 5.5 至約 6.5。

在一些態樣中，該鹽濃度可低於約 0.2M。該鹽可為鹵化鹽 (F、Cl、Br、I) 且可包含金屬諸如 Li、Na、K、Be、Mg、Ca。該鹽可為 NaCl。該鹽可為 KCl。可使用上述之鹽約 0.1M 之濃度以限制每抗體共軛之速率及/或數量。該鹽濃度可介於約 0 至約 0.1M。該鹽濃度可介於約 0 至約 0.5M。該鹽濃度可介於約 0 至約 0.3M。

在一些態樣中，本發明之方法包含調製該抗體或彼之抗原結合部分於約 pH 5.5 之調製緩衝液中。該調製緩衝液可為醋酸鈉及海藻糖緩衝液。此緩衝液具有不包含任何一級胺之好處，因此有利於 pH 之調整。該抗體可以約 15 至約 25 mg.ml⁻¹ 之量存在。在一些態樣中，該抗體可以 20 mg.ml⁻¹ 之量存在。

該調製緩衝液之 pH 可被調整至約 pH 7.2 至約 pH 8.0；在一些實施態樣中，該調製緩衝液可被調整至 pH 7.7。該調製緩衝液之 pH 可利用磷酸鹽緩衝液調整。該磷酸鹽緩衝液可為介於約 40mM 至約 80mM 之濃度。該磷酸鹽緩衝液可為介於約 10mM 至約 200mM 之濃度。

在一些態樣中，該抗體在與該效應物部分/連接子與脫離基 Z* 共軛反應期間之濃度可為一範圍，其中該範圍之下限係選自約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、約 10、約

15、約 20、約 30 及約 4040 mg.ml^{-1} ，且該範圍之上限係選自約 7、約 8、約 9、約 10、約 15、約 20、約 30、約 40、約 50、約 60、約 70、約 80、約 90、約 100、約 150、約 200、約 500 mg.ml^{-1} 。

該效應物部分可被重構為至少約 2 mg.ml^{-1} 之濃度。該效應物部分可在使用前於經稀釋之丙二醇中被重構為約 5 至約 20 mg.ml^{-1} 之濃度，且在一些實施態樣中可為 10 mg.ml^{-1} 之濃度。

該共軛反應可能藉由組合該抗體或彼之抗原結合部位與該效應物部分，其莫耳比為 4 莫耳之效應物部分對 1 莫耳之抗體，並於約 18°C 至約 25°C 培養約 2 至約 24 小時加以實施。在一些實施態樣中，抗體與效應物部分之間的共軛反應於室溫中進行 2 小時。在一些實施態樣中，該共軛反應係至少約 2 小時。在一些實施態樣中，該共軛反應係至少約 30 分鐘。

該反應可被淬熄及調整至約 pH 5.0 至約 pH 6.0。在一些實施態樣中，該經淬熄之反應可被調整至 pH 5.5。此可利用例如約 pH 4.0 之琥珀酸鹽及甘胺酸緩衝液達成。此緩衝液具有優於其他較常見緩衝液諸如 TRIS 或其他胺基酸緩衝液之好處。該琥珀酸鹽有助於防止滲濾時之聚集及沉澱（會對該共軛分子施加應力），甘胺酸含有額外之一級胺。

該反應可經濃縮，且未反應之效應物部分、相關物種（諸如其中該連接子藉由與水溶劑之反應被水解之肽）及

其他該反應混合物之未反應元件（如 PFP）可藉由滲濾移除，例如使用 50 kDa 之膜或大小排除層析至琥珀酸鹽、甘胺酸、氯化鈉及海藻糖緩衝液（pH 5.5 於 30 mg.ml⁻¹）。

在一些態樣中，該方法可能包含共軛效應物部分與 CL κ -K⁸⁰。在一些態樣中，本發明包含共軛效應物部分與 Ig 結構域，該共軛包含使該 CL λ 突變以在 β 股 E 及 F 之間的 EF 連接鏈環上包含 SEQ ID NO:98、連接連接子至該效應物部分（該連接子包含如此處定義之脫離基 Z*）以及使該效應物部分-連接子-脫離基複合物與 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 的側鏈反應。

本發明之醫藥組成物

本發明提供包含 MAC 及醫藥上可接受之載劑之醫藥組成物。本發明所使用之「醫藥上可接受之載劑」包括任何及所有生理上可互容之溶劑、分散媒質、塗料、抗細菌劑、抗真菌劑、等滲劑、吸收遲延劑及類似者。醫藥上可接受之載劑之實例包括一或多種水、鹽水、磷酸鹽緩衝鹽水、葡萄糖、甘油、乙醇及類似者及彼等之組合，且可包括等滲劑，例如在該組成物中之糖、多元醇諸如甘露醇、山梨醇或氯化鈉。醫藥上可接受之材料諸如微量之輔助材料（諸如濕潤劑、乳化劑、保存劑或緩衝劑），其能增加該抗體或抗體部分之置架時間或有效性。

本發明之組成物可呈現各種形式。這些形式包括例如

液體、半固體及固體劑型，諸如液體溶液(例如注射用及輸注用溶液)、分散液、懸浮液、錠劑、丸劑、粉劑、脂質體及栓劑。該較佳之形式依所欲之投予模式及治療應用而定。典型較佳之組成物係呈注射或輸注溶液之形式，諸如類似該些用於人之通常以抗體進行被動性免疫接種所使用之組成物。該較佳之投予模式係非經腸投予(例如靜脈內、皮下、腹膜內、肌肉內)。在較佳之實施態樣中，該抗體係藉由靜脈內輸注或注射投予。在另一較佳之實施態樣中，該抗體係藉由肌肉內或皮下注射投予。

該醫藥組成物可能另包含其他成分，諸如抗腫瘤劑或顯影劑。本發明之另一態樣提供套組，該套組包含本發明之 MAC 及醫藥組成物，該 MAC 及醫藥組成物包含該等抗體。套組除了該 MAC 或醫藥組成物之外，還可包括診斷劑或治療劑。套組亦可包括診斷或治療方法之使用說明。在一些實施態樣中，該套組包括抗體或彼之醫藥組成物及診斷劑。在其他實施態樣中，該套組包括抗體或彼之醫藥組成物及一或多種治療劑，諸如額外之抗癌劑、抗腫瘤劑或化學治療劑。

本發明之該等劑及化合物可與醫藥上可接受之載劑(如鹽水、林格(Ringer)氏液、葡萄糖溶液及類似者)組合。特定給藥方案(即劑量、時間及重複性)將依特定個體及該個體之醫學病史而定。

可接受之載劑、賦形劑或穩定劑在所採用之劑量及濃度下對接受者不具毒性，可能包括例如緩衝劑諸如磷酸

鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；鹽諸如氯化鈉；抗氧化劑包括抗壞血酸及甲硫胺酸；保存劑（諸如十八基二甲基苄基氯化銨、六甲氯胺、氯化苄甲烴銨、氯化苄乙氧銨、酚醇、丁醇、苄醇、烷基對羥苯甲酸酯類諸如對羥苯甲酸甲酯或對羥苯甲酸丙酯、兒茶酚、間苯二酚、環己醇、3-戊醇及間甲酚）；低分子量（小於約 10 個殘基）多肽；蛋白質諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物諸如聚乙烷基吡咯烷酮；胺基酸諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺酸、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、雙醣及其他碳水化合物包括葡萄糖、甘露糖或葡聚糖；螯合劑諸如 EDTA；糖類諸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇；鹽形成反離子諸如鈉；金屬複合物（例如鋅蛋白質複合物）；及／或非離子性界面活性劑諸如 TWEENTM、PLURONICSTM 或聚乙二醇(PEG)。

含有本發明之化合物之脂質體系以該領域已知之方法製備，諸如美國專利第 4,485,045 及 4,544,545 號中所述者。循環時間延長之脂質體系揭露於美國專利第 5,013,556 號。特別有用之脂質體可利用逆相蒸發方法以包含磷脂醯膽鹼、膽固醇及 PEG-衍生性磷脂醯乙醇胺(PEG-PE)之脂質組成物產製。脂質體被擠壓通過定義孔徑大小之濾網以產生具有所欲直徑之脂質體。

該活性成分亦可被包封於藉由例如凝聚技術或藉由界面聚合化所製備之微膠囊中，例如分別於羥甲基纖維素或明膠微膠囊及聚-(異丁烯酸甲酯)微膠囊中、於膠體藥物遞

送系統中（例如脂質體、白蛋白微球、微乳化液、奈米微粒及奈米微囊）或於巨乳化液中。該等技術係揭示於 Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed., Mack Publishing (2000)。

持續釋放性製劑可被製備。持續釋放製劑之適當實例包括含有該抗體之固相疏水性聚合物之半透性基體，該基體係呈形狀物件之形式（例如膜或微膠囊）。持續釋放基體之實例包括聚酯、水凝膠（例如聚(2-羥乙基-甲基丙烯酸酯)或聚乙烯醇）、聚交酯（美國專利第 3,773,919 號）、L-麩胺酸及 7 乙基-L-麩胺酸鹽之共聚物、不可降解之乙烯-乙酸乙烯酯、可降解之乳酸-乙醇酸共聚物諸如 LUPRON DEPOT™（由乳酸-乙醇酸共聚物及柳菩林 (leuprolide acetate) 所組成之注射型微球）、蔗糖乙酸異丁酸酯及聚-D-(-)-3-羥丁酸。

欲用於體內投予之調製劑必須為無菌。此可輕易地藉由例如無菌過濾膜之過濾達成。本發明之治療性化合物通常被置放於具有無菌接口之容器中，例如具有可被皮下注射針穿刺之塞子的靜脈溶液袋或小瓶。

適當之乳液可利用自商業途徑獲得之脂質乳液製備，如 Intralipid™、Liposyn™、Infonutrol™、Lipofundin™ 及 Lipiphysan™。該活性成分可被溶解於預先混合之乳液組成物中，或者可被溶解於油中（例如大豆油、紅花籽油、棉花籽油、芝麻油、玉米油或杏仁油）再與磷脂（例如卵磷脂、大豆磷脂或大豆卵磷脂）及水混合以形成乳

液。將瞭解的是可添加其他成分例如甘油或葡萄糖以調整該乳液之張力。適當之乳液通常將含有最高 20% 例如介於 5 至 20% 之油。該脂肪乳液可包含介於 0.1 至 1.0 μm ，特別是 0.1 至 0.5 μm 之脂肪液滴，且具有介於 5.5 至 8.0 之 pH。

該乳液組成物可為該些藉由混合本發明之化合物與 IntralipidTM 或彼之成份（大豆油、卵磷脂、甘油及水）所製備者。

用於吸入或噴入之組成物包括在醫藥上可接受之水性或有機溶劑中之溶液及懸浮液，或彼等之混合物，以及粉末。該液體或固體組成物可能包含如前述之適當之醫藥上可接受之賦形劑。在一些實施態樣中，該組成物係以經口或經鼻呼吸途徑投予以提供局部或系統性效應。在較佳無菌之醫藥上可接受之溶劑中之組成物可藉由使用氣體加以噴霧化。經噴霧化之溶液可從噴霧裝置直接吸入，或該霧化裝置可與面罩、帷幕或間歇性正壓呼吸器連接。溶液、懸浮液或粉末組成物可自裝置較佳地經口或經鼻投予，該裝置以適當方式遞送調製劑。

本發明之化合物及組成物可與已建立之治療一起使用以治療相關適應症。實例包括用於治療血管生成疾病特別是癌之 5-氟尿嘧啶、伊立替康 (irinotecan)、草酸鉑 (oxilaplatin)、西妥昔單抗 (cetuximab)、舒尼替尼 (sunitinib) 及利妥昔單抗 (rituximab)。其他實例包括蘭尼單抗 (ranibizumab)、英利昔單抗 (infliximab)、阿達木單抗

(adalimumab)、那他珠單抗(natalizumab)、奧馬珠單抗(omalizumab)及帕利珠單抗(palivizumab)。

本發明之治療性方法

本發明亦提供治療性方法。治療性方法包含投予本發明之化合物或組成物至需要該化合物或組成物之個體。

本發明提供使用本發明之化合物或本發明之醫藥組成物於抑制或減少血管生成或於治療或預防與血管生成病狀有關之疾病或症狀之方法。本發明提供抑制或減少血管生成或治療或預防與血管生成病狀有關之疾病或症狀之方法，該方法包含投予治療有效劑量之本發明之化合物及組成物至病患。本發明亦提供遞送或投予本發明之化合物及組成物之方法及使用本發明之化合物及組成物之治療方法。本發明亦提供治療癌之方法，該方法包含投予治療有效量之本發明之化合物或醫藥組成物至個體。本發明所使用之血管生成媒介之狀況係一種藉由異常血管生成活性所造成之狀況或一種其中調節血管生成活性之化合物具有治療用途之狀況。可利用本發明之化合物及組成物治療及/或診斷之疾病和狀況包括癌、關節炎、高血壓、腎疾病、牛皮癬、與眼疾病、感染或手術介入有關之眼睛的血管生成、黃斑變性、糖尿病視網膜病及類似者。

更特別地，當用於本發明時，「癌」之實例包括肺癌(NSCLC 及 SCLC)、頭頸癌、卵巢癌、結腸癌、直腸癌、前列腺癌、肛門區域之癌、胃癌、乳癌、腎癌、輸尿管

癌、腎盂癌、甲狀腺癌、膀胱癌、腦癌、腎細胞癌、中樞神經系統(CNS)之癌、CNS之腫瘤、原發性CNS淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、脊軸腫瘤、口咽癌、咽下癌、食道癌、胰癌、肝癌、膽囊癌、膽管癌、小腸癌、尿道癌、淋巴瘤、或一或多種前述癌之組合。又更特別地，當用於本發明時，「癌」之實例包括選自下列之癌：肺癌（NSCLC及SCLC）、乳癌、卵巢癌、結腸癌、直腸癌、前列腺癌、肛門區域之癌或一或多種前述癌之組合。

在其他實施態樣中，本發明之醫藥組成物關於非癌性過度增生性疾病諸如但不限於年齡相關性黃斑變性、血管成形術後之再狹窄及牛皮癬。在另一實施態樣中，本發明關於用於治療需要活化IGF1R及/或Ang2之哺乳動物之醫藥組成物，其中該醫藥組成物包含治療有效量之本發明之活化抗體及醫藥上可接受之載劑。本發明之醫藥組成物可被用於治療骨質疏鬆症、脆弱性(frailty)或其中該哺乳動物分泌太少活性生長激素或無法對生長激素反應之病狀。

此處所使用之藥物、化合物或醫藥組成物之「有效劑量」或「有效量」係指足以造成任一或多種有益或所欲結果之量。就預防性用途而言，有益或所欲結果包括消除或減少疾病之風險、減輕疾病之嚴重性或延遲疾病之開始，包括該疾病之生化學、組織學及/或行為學之症狀、在該疾病發展期間所表現之彼之併發症及中間病理學表型。就治療性用途而言，有益或所欲結果包括諸如減少腫瘤大小、

減少擴散、減少腫瘤之血管、減少一或多種癌或其他與增加血管生成有關之疾病之症狀、降低治療該疾病所需之其他藥物之劑量、提高其他藥物之效應、及/或延緩病患之疾病進程之臨床結果。有效劑量可分一或多次投予。就本發明之目的而言，藥物、化合物或醫藥組成物之有效劑量係足以直接或間接完成預防性或治療性治療之量。如在臨床上所了解的，藥物、化合物或醫藥組成物之有效劑量可能與或可能不與另一藥物、化合物或醫藥組成物組合達到。因此，「有效劑量」可在投予一或多種治療劑之情況中被考慮，且可考慮給予有效量之單一劑（配合一或多種其他劑），若可能或能達成所欲之結果。

「個體」或「對象」係哺乳動物，更佳者係人。哺乳動物亦包括但不限於農場動物、競賽動物、寵物、靈長動物及馬。

有利地，治療性投予本發明之化合物導致減少血管生成及/或在癌之例中穩定或減少之腫瘤體積。較佳地，腫瘤體積相較於投予本發明之 MAC 之前係至少減少約 10% 或約 15%。更佳地，腫瘤體積相較於投予該 MAC 之前係至少減少約 20%。又更佳地，腫瘤體積相較於投予該 MAC 之前係至少減少 30%。有利地，腫瘤體積相較於投予該 MAC 之前係至少減少 40%。更有利地，腫瘤體積相較於投予該 MAC 之前係至少減少 50%。非常有利地，腫瘤體積相較於投予該 MAC 之前係至少減少 60%。最佳地，腫瘤體積相較於投予該 MAC 之前係至少減少 70%。

根據本發明之方法投予本發明之化合物可為連續性或間歇性，依例如接受者之生理狀況、該投藥之目的係治療性或預防性、及該領域之技藝人士所知之其他因素而定。本發明之化合物之投予可為實質上連續一段預先決定之時間，或可為一系列之間隔劑量。

抗體

免疫球蛋白(Ig)結構域係一種蛋白質結構域，其係由 7 至 9 個反平行 β 股排列成具有希臘回紋拓撲學之二個 β 摺板組成之 2 層三明治。 β 股係通常 3 至 10 個胺基酸長之多肽鏈片段，其主鏈係呈幾乎完全伸展之構型。B 摺板係由 β 股側接組成，以形成大抵扭轉打摺之摺板，該等 β 股藉由至少二或三個主鏈氫鍵側接。該主鏈在二個 β 摺板之間重複交換。通常，其模式為（摺板 1 中之 N 端 β 髮夾）-（摺板 2 中之 β 髮夾）-（摺板 1 中之 β 髮夾）-（摺板 2 中之 C 端 β 髮夾）。在摺板之間跨越形成 X 形，以使得該 N 端及 C 端髮夾面對面。Ig 超家族之成員被發現於不同功能之數百種蛋白質當中。像是抗體、大肌肉激酶肌彈性蛋白(titin)及受體酪胺酸激酶。類 Ig 結構域可能與蛋白質-蛋白質及蛋白質-配體交互作用有關。

α 螺旋是一種向右捲曲或旋轉之胺基酸構型，其中每個主鏈 N-H 基捐贈氫鍵給前四個殘基之胺基酸的主鏈 C=O 基。此二級結構有時亦稱為典型寶林-康瑞-布萊森 (Pauling-Corey-Branson) α 螺旋。在蛋白質的局部結構

類型中， α 螺旋最規則且最可自序列預測，也最為常見。

「免疫球蛋白(Ig)」係四聚體分子。在天然發生之免疫球蛋白中，各四聚體係由二對相同之多肽鏈對組成，各對具有一條「輕鏈」(約 25 kDa) 及一條「重鏈」(約 50 至 70 kDa)。

各鏈之胺基端部分包括約 100 至 110 個或更多胺基酸之可變區，該可變區主要負責辨識抗原。各鏈之羧基端部分定義主要負責效應功能之恆定區。人輕鏈被分成 κ 及 λ 輕鏈。重鏈被分成 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ ，且分別定義該抗體之同型為 IgA、IgD、IgE、IgG 及 IgM。在輕鏈及重鏈之內，該可變區及恆定區係由約 12 或更多個胺基酸之「J」區連接，而重鏈亦包括約 10 或更多個胺基酸之「D」區。各輕鏈/重鏈對之可變區形成該抗體結合部位，因此完整之免疫球蛋白具有 2 個結合部位。

抗體分子中之各結構域皆有類似結構，即二個互相緊密靠近之 β 摺板形成經壓縮之反平行 β 桶形結構。此保守性結構被稱為免疫球蛋白(Ig)折疊。恆定結構域之 Ig 折疊包含緊密靠近之 3 股 β 摺板與 4 股 β 摺板，各板之間由鏈分開；這些鏈通常包含 α 螺旋、圈環、轉彎及在二個 β 摺板之間稱為 β 髮夾的短急轉彎。

免疫球蛋白鏈皆展現相同之一般性結構，其中相對保守之架構區(FR)係由 3 個亦稱為互補決定區或 CDR 之超變異區連接。來自各對之 2 條鏈的 CDR 係由架構區排比，使其能與特定表位結合。從 N 端至 C 端，輕鏈及重

鏈皆包含結構域 FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3 及 FR4。胺基酸之分配至各結構域係根據卡巴(Kabat)之 Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 及 1991))之定義。

在特定抗體中組成 CDR 之胺基酸殘基之特性可利用該領域廣為周知之方法加以測定。舉例來說，抗體 CDR 可被識別為最早由卡巴等人定義之超變異區(Kabat et al., 1992, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, NIH, Washington D.C.)。CDR 之位置亦可能被識別為最早由柯西亞等人所描述之結構性環圈結構(Chothia et al., 1989, Nature 342:877-883)。其他識別 CDR 之方法包括「AbM 定義」(其係卡巴法及柯西亞法之折衷，源自利用牛津分子(Oxford Molecular)之 AbM 抗體模型軟體(現為 Accelrys®))，或如 MacCallum et al., 1996, J. Mol. Biol., 262:732-745 所述以觀察到之抗原接觸為基礎之 CDR 的「接觸定義」。在此處稱為 CDR 之「構形定義」之另一方法中，CDR 之位置可能被鑑別為對抗原結合造成焓貢獻之殘基(Makabe et al., 2008, Journal of Biological Chemistry, 283:1156-1166)。其他 CDR 邊界定義可能仍不嚴格遵守上述方法中之一者，但將與至少部分之卡巴 CDR 重疊，不過它們可能根據特定殘基或殘基群或甚至整個 CDR 不顯著影響抗原結合之預測或實驗結果被縮短或延長。此處所使用之 CDR 可能指由該領域已知

之任何方法(包括多種方法之組合)所定義之 CDR。此處所使用之方法可利用根據這些方法中任一者所定義之 CDR。以任何包含超過一種 CDR 之給定實施態樣而言，該 CDR (或該抗體之其他殘基)可根據卡巴、柯西亞、延長、AbM、接觸及/或構形定義中任一者加以定義。

CL κ 及 CL λ 結構域之殘基的編號可能不同。舉例來說，CL κ 之編號可始於根據卡巴編號之 LC-R¹⁰⁸ (例如 SEQ ID NO:2 之 R¹⁰⁸)，或根據卡巴編號之 LC-T¹⁰⁹ (例如 SEQ ID NO:2 之 T¹⁰⁹)。此處使用之編號規則係由 Swiss-Prot 小組 (Swiss Institute of Bioinformatics 之一部分) 提供，其始於 LC-T¹⁰⁹。將了解的是，若使用不同的編號系統，本發明之特定殘基之編號將隨之調整。LC 係指輕鏈。

「抗體」係指完整之免疫球蛋白或彼之與該完整抗體競爭特異性結合之抗原結合部位。抗原結合部位可藉由重組 DNA 技術或藉由酶或化學切割完整抗體加以產製。抗原結合部位包括尤其是 Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、dAb、互補決定區(CDR)片段、單鏈抗體(scFv)、嵌合抗體、雙價單鏈抗體、單鏈噬菌體抗體、雙價抗體以及包含至少一部分之免疫球蛋白之多肽，該部分之免疫球蛋白足以授予特異性抗原結合至該多肽。Fab 片段係由 VL、VH、CL 及 CH I 結構域組成之單價片段；F(ab')₂ 片段係包含二個 Fab 片段之雙價片段，該二個 Fab 片段由絞鏈區之雙硫鍵連接；Fd 片段係由 VH 及 CH1 結構域組成；Fv 片段係由

一抗體單臂之 VL 及 VH 結構域組成；以及 dAb 片段係由 VH 結構域或 VL 結構域組成（例如人、駱駝科(camelid)或鯊魚）。

通常，提到抗體將被視為亦提到彼之抗原結合部位，特別是可能包括在抗體的 E 及 F β 股之間包含 SEQ ID NO:98 的抗原結合部位。

單鏈抗體(scFv)係其中 VL 及 VH 區係經配對以經由合成性連接子形成單價分子之抗體，該合成性連接子使它們得以被產製成為單一蛋白質鏈。雙價抗體係雙價、雙特異性之抗體，其中 VH 及 VL 結構域係表現於單一多肽鏈上，但使用過短以防止該同一鏈上之兩個結構域配對之連接子，藉此強迫該等結構域與另一鏈之互補結構域配對並產生兩個抗原結合部位。一或多個 CDR 可被共價或非共價地併入分子之中以使其成為免疫黏附素。免疫黏附素可納入該 CDR 以作為較大多肽鏈之部分，可共價連接該 CDR 與另一多肽鏈，或可非共價地併入該 CDR。該等 CDR 使該免疫黏附素得以與受到關注之特定抗原特異性結合。

哺乳動物輕鏈有二種類型 κ 及 λ ，在任何給定抗體分子中只有一種類型存在。人體所產生的 κ 分子大約是 λ 分子的二倍，但在其他哺乳動物中，此比例可能有所不同。每個游離輕鏈分子在單一多肽鏈中包含大約 220 個胺基酸，該多肽鏈係經折疊以形成恆定區及可變區結構域。

在 B 細胞發展期間，在 DNA 層級之重組事件連接單

一個可變(V)區段與聯結(J)區段，恆定區(C)區段係於稍後藉由 RNA 層級之剪接加入。重組許多不同的 V 區段與多個 J 區段提供廣泛範圍之抗原辨識。額外多變性係藉由連接區多變性達成，其係由末端去氧核糖核酸轉移酶隨機添加核苷酸所致，以及藉由體細胞超突變達成，其發生於 B 細胞在脾及淋巴結中之成熟期間。恆定區 κ (CL κ) 係由單一基因編碼，然而恆定區 λ (CL λ) 係由多重基因編碼然後進行裁剪。多種與 CL λ 之特定多形性有關之標誌係為已知：例如 IgCL λ 1 (Mcg 標誌)、IGLC2 - IgCL λ 2 (Kern-Oz-標誌)、IgCL λ 3 (Kern-Oz+標誌) 及 IgCL λ 7。熟悉該項技藝者可輕易建立目前在人 CL λ 鏈中已識別之所有多形性。SEQ ID NO:93 納入許多目前已識別之多形性。本發明之序列包含 CL κ 與 CL λ 及一般抗體之其他已知多形性。二個多形性基因座已被識別於 CL κ 、CL κ -V/A⁴⁵ 及 CL κ -L/V⁸³。目前已經識別之三種多型性為：Km(1)：CL κ -V⁴⁵/L⁸³；Km(1,2)：CL κ -A⁴⁵/L⁸³；及 Km(3)：CL κ -A⁴⁵/V⁸³。

抗體可能具有一或多個結合部位。若有一個以上之結合部位，該等結合部位可能彼此相同或可能不同。舉例來說，天然發生之免疫球蛋白具有 2 個相同之結合部位，單鏈抗體或 Fab 片段具有一個結合部位，然而「雙特異性」或「雙功能性」抗體具有 2 個不同的結合部位。

「經分離之抗體」係(1)不與天然相關之成份相關之抗體，包括其他在彼之天然狀態下伴隨彼之天然相關之抗

體，(2)不含其他來自該相同物種之蛋白質之抗體，(3)由天然不表現該抗體之細胞表現之抗體，或由來自不同物種之細胞表現之抗體，或(4)不發生於天然中之抗體。

用語「人抗體」包括所有具有一或多個衍生自人免疫球蛋白序列之可變區及恆定區之抗體。在本發明之某些實施態樣中，該抗 IGF1R 抗體之所有可變及恆定結構域係衍生自人免疫球蛋白序列（全人抗體）。人化抗體係衍生自非人物種之抗體，其中在該重鏈及輕鏈之架構及恆定結構域中之某些胺基酸係經突變以避免或廢除於人之免疫反應。或者，人化抗體可藉由融合來自人抗體之恆定結構域與非人物種之可變結構域加以產製。

用語「嵌合抗體」係指包含來自一抗體之一或多個區域及來自一或多種其他抗體之一或多個區域之抗體。

用語「表位」包括任何能與免疫球蛋白或 T 細胞受體特異性結合之蛋白質決定簇。表位決定簇通常係由分子之化學活性表面基團組成，諸如胺基酸或糖側鏈，且通常具有特定三維結構特徵以及特定電荷特徵。抗體被稱為與抗原特異性結合，當該解離常數係 $<1\mu\text{M}$ ，較佳地 $<100\text{nM}$ 且更佳地 $<10\text{nM}$ 。

用語多功能抗體共軛物或 MAC 係指本發明所定義之與至少一個效應物部分共價共軛之抗體或彼之抗原結合部位，該效應物部分與標靶結合。該效應物部分可為肽、小分子、蛋白質、核酸分子、毒素、適體、或抗原結合抗體或彼之片段。提到與肽之共軛及在本說明書各處所提及之

類似者通常適用於與蛋白質及（抗原結合）抗體或彼之片段之共軛。

預期全人抗體可最小化小鼠或小鼠衍生性單株抗體 (Mab) 所固有之免疫原性及過敏反應，因此增加該投予抗體之療效及安全性。全人抗體之使用可被預期在慢性及復發性人疾病諸如發炎及癌之治療上提供實質好處，其可能需要重複之抗體投予。在另一實施態樣中，本發明提供包含抗體之 MAC，該抗體不與補體結合。

此外，融合抗體可被產製，其中兩個（或多個）單鏈抗體係彼此相連。這可被用於若想在單一多肽鏈上產製雙價或多價抗體或想產製雙特異性抗體。

一種類型之衍生化抗體係藉由交聯 2 或多個抗體產製（相同類型或不同類型；以產製例如雙特異性抗體之抗體）。適當之交聯劑包括該些具有 2 個由適當間隔子分開之不同反應基之雜雙官能者（例如 m-順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基-N-羥基琥珀醯亞胺酯）或同型雙官能者（例如二琥珀醯亞胺基辛二酸酯）。

另一類型之衍生化抗體係經標示之抗體。可用於衍生化本發明之抗體或抗體部分之檢測劑包括螢光化合物，包括螢光素、螢光素異硫氰酸酯、玫瑰紅、5-二甲基胺基-1-萘磺醯基氯化物、藻紅素、鑷系磷光體及類似者。抗體亦可藉由可用於檢測之酶標示，諸如辣根過氧化酶、半乳糖苷酶、螢光素酶、鹼性磷酸酶、葡萄糖氧化酶及類似者。當抗體係利用可檢測之酶標示時，其係藉由添加額外試劑

加以檢測，其中該酶使用該額外試劑以產生可被分辨之反應產物。舉例來說，當該劑辣根過氧化酶存在時，添加過氧化氫及二胺基聯苯胺導致可被檢測之有色反應產物。抗體亦可利用生物素標示，並經由間接測量抗生物素蛋白或鏈黴抗生物素蛋白之結合加以檢測。抗體可利用磁性劑標示，諸如釷。抗體亦可利用預先測定之多肽表位標示，該多肽表位係由二級報告子（例如白胺酸拉鍊對序列、二級抗體之結合位點、金屬結合結構域、表位標籤）辨識。在一些實施態樣中，標記係藉由各種長度之間隔臂連接以減少潛在之空間位阻。

該抗體亦可利用化學基團衍生化，諸如聚乙二醇 (PEG)、甲基、乙基、或糖基。這些基團可被用於增進該抗體之生物特性，例如增加血清半衰期或增加組織結合。

抗體特異性

在一些包含抗原結合結構域之實施態樣中，該抗原結合結構域（例如但不限於具有所有 6 個 CDR 之抗體可變區，或與抗體可變區具有至少 90%一致性之相等區）係選自：阿巴伏單抗 (abagovomab)、阿巴西普 (abatacept) (ORENCIA®)、阿昔單抗 (abciximab) (REOPRO®, c7E3 Fab)、阿達木單抗 (adalimumab) (HUMIRA®)、阿德木單抗 (adecatumumab)、阿來組單抗 (alemtuzumab) (CAMPATH®、MabCampath 或 Campath-1H)、阿妥莫單抗 (altumomab)、阿非莫單抗 (afelimomab)、麻安莫單抗

(anatumomab mafenatox)、阿尼圖莫單抗(anetumumab)、安廬金珠單抗(anrukizumab)、阿泊珠單抗(apolizumab)、阿西莫單抗(arcitumomab)、阿塞珠單抗(aselizumab)、阿利珠單抗(atlizumab)、阿托木單抗(atorolimumab)、巴品珠單抗(bapineuzumab)、巴利昔單抗(basiliximab)(SIMULECT®)、巴維昔單抗(bavituximab)、貝妥莫單抗(bectumomab)(LYMPHOSCAN®)、貝利丹抗(belimumab)(LYMPHO-STAT-B®)、柏替木單抗(bertilimumab)、貝西索單抗(besilesomab)、 β cept (ENBREL®)、貝伐珠單抗(bevacizumab)(AVASTIN®)、比西單抗-溴烯比妥(biciromab brallobarbitol)、比佛珠單抗-美登素(bivatuzumab mertansine)、貝倫妥單抗-維多汀(brentuximab vedotin)(ADCETRIS®)、卡那單抗(canakinumab)(ACZ885)、美坎珠單抗(cantuzumab mertansine)、卡羅單抗(capromab)(PROTASCINT®)、卡妥索單抗(catumaxomab)(REMOV AB®)、西利珠單抗(cedelizumab)(CIMZIA®)、賽妥珠單抗(certolizumab pegol)、西妥昔單抗(cetuximab)(ERBITUX®)、克立昔單抗(clenoliximab)、達西珠單抗(dacetuzumab)、達昔單抗(dacliximab)、達利珠單抗(daclizumab)(ZENAP AX®)、地諾單抗(denosumab)(AMG 162)、地莫單抗(detumomab)、阿托度單抗(dorlimomab aritox)、多利昔單抗(dorlixizumab)、丹圖木單抗(duntumumab)、杜利木單抗(durimulumab)、杜木路單抗(durmulumab)、依美昔單抗

(ecromeximab)、依庫珠單抗(eculizumab) (SOLIRIS®)、埃巴單抗(edobacomab)、依決洛單抗(edrecolomab) (Mab17-1A、PANOREX®)、依法利珠單抗(efalizumab) (RAPTIVA®)、依芬古單抗(efungumab) (MYCOGRAB®)、艾西莫單抗(elsilimomab)、培戈賴莫單抗(enlimomab pegol)、西艾匹莫單抗(epitumomab cituxetan)、依法利珠單抗(efalizumab)、依匹莫單抗(epitumomab)、依帕珠單抗(epratuzumab)、厄利珠單抗(erlizumab)、厄妥索單抗(ertumaxomab) (REXOMUN®)、埃達珠單抗(etaracizumab) (etaratuzumab、VITAXIN®、ABEGRIN™)、艾偉單抗(exbivirumab)、法索單抗(fanolesomab) (NEUTROSPEC®)、法拉莫單抗(faralimomab)、非維珠單抗(felvizumab)、芳妥珠單抗(fontolizumab) (HUZAF®)、加利昔單抗(galiximab)、羅氏單抗(gantenerumab)、加維莫單抗(gavilimomab) (ABX-CBL(R))、吉妥單抗(gemtuzumab ozogamicin) (MYLOTARG®)、戈利木單抗(golimumab) (CNTO 148)、魯昔單抗(gomiliximab)、伊巴珠單抗(ibalizumab) (TNX-355)、替伊莫單抗(ibritumomab tiuxetan) (ZEVALIN®)、伊戈伏單抗(igovomab)、英西單抗(imciromab)、英利昔單抗(infliximab) (REMICADE®)、伊諾莫單抗(inolimomab)、伊珠單抗奧加米星(inotuzumab ozogamicin)、伊匹單抗(ipilimumab) (YERVOY®、MDX-010)、伊妥木單抗(iratumumab)、凱利昔單抗(keliximab)、拉貝珠單抗(labetuzumab)、來馬索單

抗(lemalesomab)、來布珠單抗(lebrilizumab)、樂德木單抗(lerdelimumab)、來沙木單抗(lexatumumab) (HGS-ETR2、ETR2-ST01)、來昔木單抗(lexitumumab)、利偉單抗(libivirumab)、林妥珠單抗(lintuzumab)、魯卡木單抗(lucatumumab)、魯昔單抗(lumiliximab)、馬帕木單抗(mapatumumab) (HGS-ETR1、TRM-I)、馬司莫單抗(maslimomab)、馬妥珠單抗(matuzumab) (EMD72000)、美泊利單抗(mepolizumab) (BOSATRIA®)、美替木單抗(metelimumab)、米拉珠單抗(milatuzumab)、明瑞莫單抗(minretumomab)、米妥莫單抗(mitumomab)、莫羅木單抗(morolimumab)、莫維珠單抗(motavizumab) (NUMAX™)、莫羅單抗(muromonab) (OKT3)、他那可單抗(nacolomab tafenatox)、他那莫單抗(naptumomab estafenatox)、那他珠單抗(natalizumab) (TYSABRI®、ANTEGREN®)、奈巴庫單抗(nebacumab)、奈瑞莫單抗(nerelimomab)、尼妥珠單抗(nimotuzumab) (THERACIM hR3®、THERA-CIM-hR3®、THERALOC®)、疏諾莫單抗(nofetumomab merpentan) (VERLUMA®)、奧克利丹抗(ocrelizumab)、奧度莫單抗(odulimumab)、歐福杜單抗(ofatumumab)、奧馬珠單抗(omalizumab) (XOLAIR®)、奧戈伏單抗(oregovomab) (OVAREX®)、奧昔珠單抗(otelixizumab)、帕吉昔單抗(pagibaximab)、帕利珠單抗(palivizumab) (SYNAGIS®)、帕尼單抗(panitumumab) (ABX-EGF、VECTIBIX®)、帕考珠單抗(pascolizumab)、潘圖莫單抗

(pemtumomab) (THERAGYN®)、帕妥珠單抗(pertuzumab) (2C4、OMNITARG®)、培克珠單抗(pexelizumab)、平妥單抗(pintumomab)、彭尼珠單抗(ponezumab)、普利昔單抗(priliximab)、普托木單抗(pritumumab)、來尼珠單抗(ranibizumab) (LUCENTIS®)、拉巴庫單抗(raxibacumab)、瑞加偉單抗(regavirumab)、瑞利珠單抗(reslizumab)、利妥昔單抗(rituximab) (RITUXAN®、MabTHERA®)、羅維珠單抗(rovelizumab)、盧利珠單抗(ruplizumab)、沙妥莫單抗(satumomab)、司偉單抗(sevirumab)、西羅珠單抗(sibrotuzumab)、西利珠單抗(siplizumab) (MEDI-507)、索土珠單抗(sontuzumab)、司他蘆單抗(stamulumab) (Myo-029)、硫索單抗(sulesomab) (LEUKOSCAN®)、他珠單抗(tacatuzumab tetraxetan)、他度珠單抗(tadocizumab)、他利珠單抗(talizumab)、帕他普莫單抗(taplutumomab paptox)、特非珠單抗(tefibazumab) (AUREXIS®)、阿替莫單抗(telimomab aritox)、替奈昔單抗(teneliximab)、替利珠單抗(teplizumab)、替西莫單抗(ticilimumab)、托珠單抗(tocilizumab) (ACTEMRA®)、托利珠單抗(toralizumab)、妥司莫單抗(tositumomab)、曲妥珠單抗(trastuzumab) (HERCEPTIN®)、曲美木單抗(tremelimumab) (CP-675,206)、西莫白介素單抗(tucotuzumab celmoleukin)、妥偉單抗(tuvirumab)、烏珠單抗(urtoxazumab)、優特克單抗(ustekinumab) (CNTO 1275)、伐利昔單抗(vapaliximab)、維妥珠單抗

(veltuzumab)、維帕莫單抗(vepalimomab)、維西珠單抗(visilizumab) (NUVION®)、伏洛昔單抗(volociximab) (M200)、伏妥莫單抗(votumumab) (HUMASPECT®)、扎魯木單抗(zalutumumab)、扎木單抗(zanolimumab) (HuMAX-CD4)、齊拉木單抗(ziralimumab)或阿佐莫單抗(zolimomab aritox)。

在一些包含抗原結合結構域之實施態樣中，該抗原結合結構域包含具有 6 個 CDR 之重鏈及輕鏈可變結構域及／或與選自前述之抗體競爭結合。在一些包含抗原結合結構域之實施態樣中，該抗原結合結構域與和前述抗體相同之表位結合。在一些包含抗原結合結構域之實施態樣中，該抗原結合結構域包含具有所有 6 個 CDR 之重鏈及輕鏈可變結構域，且與前述抗體之相同抗原結合。

在一些包含抗原結合結構域之實施態樣中，該抗原結合結構域包含具有所有 6 個 CDR 之重鏈及輕鏈可變結構域，且與選自下列之抗原特異性結合：PDGFR α 、PDGFR β 、PDGF、VEGF、VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E、VEGF-F、VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、FGF、FGF2、HGF、KDR、flt-1、FLK-1、Ang-2、Ang-1、PLGF、CEA、CXCL13、Baff、IL-21、CCL21、TNF- α 、CXCL12、SDF-I、bFGF、MAC-I、IL23p19、FPR、IGFBP4、CXCR3、TLR4、CXCR2、EphA2、EphA4、蝶素 B2 (EphrinB2)、EGFR (ErbB1)、HER2 (ErbB2 或 p185neu)、HER3 (ErbB3)、HER4

(ErbB4 或 tyro2) 、 SC1 、 LRP5 、 LRP6 、 RAGE 、 s100A8 、 s100A9 、 Nav1.7 、 GLP1 、 RSV 、 RSV F 蛋白 、 流感 HA 蛋白 、 流感 NA 蛋白 、 HMGB1 、 CD16 、 CD19 、 CD20 、 CD21 、 CD28 、 CD32 、 CD32b 、 CD64 、 CD79 、 CD22 、 ICAM-I 、 FGFR1 、 FGFR2 、 HDGF 、 EphB4 、 GTR 、 β 澱粉樣 、 hMPV 、 PIV-I 、 PIV-2 、 OX40L 、 IGFBP3 、 cMet 、 PD-I 、 PLGF 、 中性胜肽酶(Neprolysin) 、 CTD 、 IL-18 、 IL-6 、 CXCL-13 、 IL-IR1 、 IL-15 、 IL-4R 、 IgE 、 PAI-I 、 NGF 、 EphA2 、 uPARt 、 DLL-4 、 α v β 5 、 α v β 6 、 α 5 β 1 、 α 3 β 1 、 干擾素受體第一型及第二型 、 CD19 、 ICOS 、 IL-17 、 因子 II 、 Hsp90 、 IGF 、 IGF-I 、 IGF-II 、 CD19 、 GM-CSFR 、 PIV-3 、 CMV 、 IL-13 、 IL-9 及 EBV 。

在一些包含抗原結合結構域之實施態樣中，該抗原結合結構域與 TNF 超家族之成員（受體或配體）特異性結合。各種分子包括但不限於腫瘤壞死因子 α （“TNF- α ”）、腫瘤壞死因子 β （“TNF- β ”）、淋巴毒素 α （“LT- α ”）、CD30 配體、CD27 配體、CD40 配體、4-1 BB 配體、Apo-1 配體（亦稱為 Fas 配體或 CD95 配體）、Apo-2 配體（亦稱為 TRAIL）、Apo-3 配體（亦稱為 TWEAK）、骨保護因子(OPG)、APRIL、RANK 配體（亦稱為 TRANCE）、TALL-I（亦稱為 BlyS、BAFF 或 THANK）、DR4、DR5（亦稱為 Apo-2、TRAIL-R2、TR6、Tango-63、hAPO8、TRICK2 或 KILLER）、DR6、

DcR1、DcR2、DcR3（亦稱為 TR6 或 M68）、CAR1、HVEM（亦稱為 ATAR 或 TR2）、GITR、ZTNFR-5、NTR-I、TNFL1、CD30、LTBr、4-1BB 受體及 TR9。

在一些包含抗原結合結構域之實施態樣中，該抗原結合結構域能與選自下列之一或多種標靶結合：5T4、ABL、ABCB5、ABCF1、ACVR1、ACVR1B、ACVR2、ACVR2B、ACVRL1、ADORA2A、聚集蛋白多醣 (Aggrecan)、AGR2、AICDA、AIFI、AIG1、AKAP1、AKAP2、AMH、AMHR2、血管生成素(ANG)、ANGPT1、ANGPT2、ANGPTL3、ANGPTL4、膜聯蛋白 A2 (Annexin A2)、ANPEP、APC、APOC1、AR、芳香酶、ATX、AX1、AZGP1（鋅-a-糖蛋白）、B7.1、B7.2、B7-H1、BAD、BAFF、BAG1、BAI1、BCR、BCL2、BCL6、BDNF、BLNK、BLR1 (MDR15)、BIyS、BMP1、BMP2、BMP3B (GDF10)、BMP4、BMP6、BMP7、BMP8、BMP9、BMP11、BMP12、BMPR1A、BMPR1B、BMPR2、BPAG1（網蛋白）、BRCA1、C19orf10 (IL27w)、C3、C4A、C5、C5R1、CANT1、CASP1、CASP4、CAV1、CCBP2 (D6 / JAB61)、CCL1 (1-309)、CCL11（嗜酸性球趨化因子 (eotaxin)）、CCL13 (MCP-4)、CCL15 (MIP-Id)、CCL16 (HCC-4)、CCL17 (TARC)、CCL18 (PARC)、CCL19 (MIP-3b)、CCL2 (MCP -1)、MCAF、CCL20 (MIP-3a)、CCL21 (MEP-2)、SLC、遷離蛋白(exodus-2)、CCL22(MDC / STC-I)、CCL23 (MPIF- I)、CCL24 (MPIF-2 / eotaxin-2)、

CCL25 (TECK) 、 CCL26(eotaxin-3) 、 CCL27 (CTACK / ILC) 、 CCL28 、 CCL3 (MIP-Ia) 、 CCL4 (MIP-Ib) 、 CCL5(RANTES) 、 CCL7 (MCP-3) 、 CCL8 (mcp-2) 、 CCNA1、CCNA2、CCND1、CCNE1、CCNE2、CCR1 (CKR1 / HM145) 、 CCR2 (mcp- IRB / RA) 、 CCR3 (CKR3 / CMKBR3) 、 CCR4 、 CCR5(CMKBR5 / ChemR13) 、 CCR6 (CMKBR6 / CKR-L3 / STRL22 / DRY6) 、 CCR7 (CKR7 / EBI1) 、 CCR8 (CMKBR8 / TER1 / CKR-L1) 、 CCR9 (GPR-9-6) 、 CCRL1 (VSHK1) 、 CCRL2 (L-CCR) 、 CD164 、 CD19 、 CD1C 、 CD20 、 CD200 、 CD-22 、 CD24 、 CD28 、 CD3 、 CD33 、 CD35 、 CD37 、 CD38 、 CD3E 、 CD3G 、 CD3Z 、 CD4 、 CD40 、 CD40L 、 CD44 、 CD45RB 、 CD46 、 CD52 、 CD69 、 CD72 、 CD74 、 CD79A 、 CD79B 、 CD8 、 CD80 、 CD81 、 CD83 、 CD86 、 CD105 、 CD137 、 CDH1 (E-鈣黏素) 、 CDCP1CDH10 、 CDH12 、 CDH13 、 CDH18 、 CDH19 、 CDH20 、 CDH5 、 CDH7 、 CDH8 、 CDH9 、 CDK2 、 CDK3 、 CDK4 、 CDK5 、 CDK6 、 CDK7 、 CDK9 、 CDKN1A (p21Wapl/Cipl) 、 CDKN1B (p27Kipl) 、 CDKN1C 、 CDKN2A (p16INK4a) 、 CDKN2B 、 CDKN2C 、 CDKN3 、 CEBPB 、 CER1 、 CHGA 、 CHGB 、 幾丁酵素(Chitinase) 、 CHST10 、 CKLFSF2 、 CKLFSF3 、 CKLFSF4 、 CKLFSF5 、 CKLFSF6 、 CKLFSF7 、 CKLFSF8 、 CLDN3 、 CLDN7 (緊密連接蛋白 -7) 、 CLN3 、 CLU (簇蛋白(clusterin)) 、 CMKLR1 、 CMKOR1 (RDC1) 、 CNR1 、 COL1 8A1 、

COL1A1.COL4A3、COL6A1、CR2、Cripto、CRP、CSF1 (M-CSF)、CSF2 (GM-CSF)、CSF3 (GCSF)、CTLA4、CTL8、CTNNB1 (b-連環蛋白)、CTSB (組織蛋白酶 B)、CX3CL1 (SCYD1)、CX3CR1 (V28)、CXCL1(GRO1)、CXCL10 (IP-10)、CXCL11 (I-TAC / IP-9)、CXCL12 (SDF1)、CXCL13、CXCL 14、CXCL 16、CXCL2 (GR02)、CXCL3 (GR03)、CXCL5 (ENA-78 / LIX)、CXCL6 (GCP-2)、CXCL9 (MIG)、CXCR3 (GPR9/CKR-L2)、CXCR4、CXCR6 (TYMSTR /STRL33 / Bonzo)、CYB5、CYC1、Cyr61、CYSLTR1、c-Met、DAB2IP、DES、DKFZp451J0118、DNCL1、DPP4、E2F1、ECGF15EDG1、EFNA1、EFNA3、EFNB2、EGF、ELAC2、ENG、內皮糖蛋白、ENO1、EN02、EN03、EPHA1、EPHA2、EPHA3、EPHA4、EPHA5、EPHA6、EPHA7、EPHA8、EPHA9、EPHA10、EPHB1、EPHB2、EPHB3、EPHB4、EPHB5、EPHB6、蝶素-A1、蝶素-A2、蝶素-A3、蝶素-A4、蝶素-A5、蝶素-A6、蝶素-B1、蝶素-B2、EPHRTN-B3、EPHB4,EPG、ERBB2 (Her-2)、EREG、ERK8、雌激素受體、ESR1、ESR2、F3 (TF)、FADD、法尼基轉移酶 (farnesyltransferase)、FasL、FASNf、FCER1A,FCER2、FCGR3A、FGF、FGF1 (aFGF)、FGF10、FGF1 1、FGF12、FGF12B、FGF13、FGF14、FGF16、FGF17、FGF18、FGF19、FGF2 (bFGF)、FGF20、FGF21 (如 mimAb1)、FGF22、

FGF23、FGF3 (int-2)、FGF4 (HST)、FGF5、FGF6 (HST-2)、FGF7 (KGF)、FGF8、FGF9、FGFR3、FIGF (VEGFD)、FIL1(EPSILON)、FBL1 (ZETA)、FLJ12584、FLJ25530、FLRT1 (纖維粘連蛋白)、FLT1、FLT-3、FOS、FOSL1(FRA-I)、FY (DARC)、GABRP (GABAa)、GAGEB1、GAGEC1、GALNAC4S-6ST、GATA3、GD2、GD3、GDF5、GDF8、GFII、GGT1、GM-CSF、GNAS1、GNRH1、GPR2 (CCR10)、GPR31、GPR44、GPR81 (FKSG80)、GRCC10 (C10)、BMP 拮抗劑 1 (gremlin)、GRP、GSN (膠溶素 (Gelsolin))、GSTP1、HAVCR2、HDAC、HDAC4、HDAC5、HDAC7A、HDAC9、刺蝟分子 (Hedgehog)、HGF、HIF1A、HIP1、組織胺及組織胺受體、HLA-A、HLA-DRA、HM74、HMOX1、HSP90、HUMCYT2A、ICEBERG、ICOSL、ID2、IFN-a、IFNA1、IFNA2、IFNA4、IFNA5、EFNA6、BFNA7、IFNB1、IFNgamma、IFNW1、IGBP1、IGF1、IGF1R、IGF2、IGFBP2、IGFBP3、IGFBP6、DL-I、IL10、IL1ORA、IL1ORB、IL-1、IL1R1 (CD121a)、IL1R2(CD121b)、IL-IRA、IL-2、IL2RA (CD25)、IL2RB(CD122)、IL2RG(CD132)、IL-4、IL-4R(CD123)、IL-5、IL5RA(CD125)、IL3RB(CD131)、IL-6、IL6RA (CD126)、IR6RB(CD130)、IL-7、IL7RA(CD127)、IL-8、CXCR1 (IL8RA)、CXCR2 (IL8RB/CD128)、IL-9、IL9R (CD129)、IL-10、IL10RA(CD210)、IL10RB(CDW210B)、

IL-11、IL1 IRA、IL-12、IL-12A、IL-12B、IL-12RB1、IL-12RB2、IL-13、IL13RA1、IL13RA2、IL14、IL15、IL15RA、IL16、IL17、IL17A、IL17B、IL17C、IL17R、IL18、IL18BP、IL18R1、IL18RAP、IL19、IL1A、IL1B、IL1F10、IL1F5、IL1F6、IL1F7、IL1F8、IL1F9、IL1HY1、IL1R1、IL1R2、IL1RAP、IL1RAPL1、IL1RAPL2、IL1RL1、IL1RL2、IL1RN、IL2、IL20、IL20RA、IL21R、IL22、IL22R、IL22RA2、IL23、IL24、IL25、IL26、IL27、IL28A、IL28B、IL29、IL2RA、IL2RB、IL2RG、IL3、IL30、IL3RA、IL4、IL4R、IL6ST (糖蛋白 130)、ILK、INH A、INHBA、INSL3、INSL4、IRAK1、IRAK2、ITGA1、ITGA2、ITGA3、ITGA6 (α 6 整合素)、ITGAV、ITGB3、ITGB4 (β 4 整合素)、JAK1、JAK3、JTB、JUN、K6HF、KAI1、KDR、KIM-1、KITLG、KLF5 (GC Box BP)、KLF6、KLK10、KLK12、KLK13、KLK14、KLK15、KLK3、KLK4、KLK5、KLK6、KLK9、KRT1、KRT19 (角蛋白 19)、KRT2A、KRTHB6 (頭髮特異性第二型角蛋白)、LAMA5、LEP (瘦體素)、Lingo-p75、Lingo-Troy、LPS、LRP5、LRP6、LTA (TNF- β)、LTB、LTB4R (GPR16)、LTB4R2、LTBR、MACMARCKS、MAG 或 Omgp、MAP2K7 (c-Jun)、MCP-I、MDK、MIB1、中期因子蛋白、MIF、MISRII、MJP-2、MK、MKI67 (Ki-67)、MMP2、MMP9、MS4A1、MSMB、MT3 (金屬硫黏連蛋白-

Ui (metallothionectin-Ui))、mTOR、MTSS1、MUC1 (黏液素)、MYC、MYD88、NCK2、神經黏蛋白(neurocan)、神經調節蛋白 1 (neuregulin-1)、神經纖毛蛋白 1 (neuropilin-1)、NFKB1、NFKB2、NGFB (NGF)、NGFR、NgR-Lingo、NgR-Nogo66 (Nogo)、NgR-p75、NgR-Troy、NME1 (NM23A)、NOTCH、NOTCH1、N0X5、NPPB、NROB1、NR0B2、NR1D1、NR1D2、NR1H2、NR1H3、NR1H4、NR1I2、NR1I3、NR2C1、NR2C2、NR2E1、NR2E3、NR2F1、NR2F2、NR2F6、NR3C1、NR3C2、NR4A1、NR4A2、NR4A3、NR5A1、NR5A2、NR6A1、NRP1、NRP2、NT5E、NTN4、OCT-1、ODZ1、OPN1、OPN2、OPRD1、P2RX7、PAP、PART1、PATE、PAWR、PCA3、PCDGF、PCNA、PDGFA、PDGFB、PDGFRA、PDGFRB、PECAM1、peg-天冬醯胺酶、PF4 (CXCL4)、神經叢蛋白 B2 (Plexin B2) (PLXNB2)、PGF、PGR、磷酸黏蛋白(phosphacan)、PIAS2、PI3 激酶、PIK3CG、PLAU (uPA)、PLG5PLXDC1、PKC、PKC- β 、PPBP (CXCL7)、PPID、PRI、PRKCQ、PRKDI、PRL、PROC、PROK2、pro-NGF、鞘脂激活蛋白原(prosaposin)、PSAP、PSCA、PTAFR、PTEN、PTGS2 (COX-2)、PTN、RAC2 (P21Rac2)、RANK、RANK 配體、RARB、RGS1、RGS13、RGS3、RNFI10 (ZNF144)、Ron、R0B02、RXR、選凝素(selectin)、S100A2、S100A8、S100A9、SCGB 1D2 (親脂素 B (lipophilin B))、SCGB2A1 (乳腺球蛋白 2

(mammaglobin 2))、SCGB2A2 (乳腺球蛋白 1)、SCYE1 (內皮細胞單核球活化細胞激素)、SDF2、SERPENA1、SERPINA3、SERPINB5 (乳腺絲胺酸蛋白酶抑制劑 (maspin))、SERPINE1 (PAI-I)、SERPINF1、SHIP-I、SHIP-2、SHB1、SHB2、SHBG、SfcAZ,SLC2A2、SLC33A1、SLC43A1、SLIT2、SPP1、SPRR1B (Spr1)、ST6GAL1、STAB1、STAT6、STEAP、STEAP2、SULF-1、Sulf-2、TB4R2、TBX21、TCP10、TDGF1、TEK、TGFA、TGFB1、TGFB1I1、TGFB2、TGFB3、TGFB1、TGFBRI、TGFBRI2、TGFBRI3、TH1L、THBS1 (血小板反應素 1 (thrombospondin-1))、THBS2/THBS4、THPO、TIE (Tie-1)、TIMP3、組織因子、TIKI2、TLR10、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6JLR7、TLR8、TLR9、TM4SF1、TNF、TNF-a、TNFAIP2 (B94)、TNFAIP3、TNFRSF11A、TNFRSF1A、TNFRSF1B、TNFRSF21、TNFRSF5、TNFRSF6 (Fas)、TNFRSF7、TNFRSF8、TNFRSF9、TNFSF10 (TRAIL)、TNFSF11 (TRANCE)、TNFSF12 (AP03L)、TNFSF13 (April)、TNFSF13B、TNFSF14 (HVEM-L)、TNFSF15 (VEGI)、TNFSF18、TNFSF4 (OX40 配體)、TNFSF5 (CD40 配體)、TNFSF6 (FasL)、TNFSF7 (CD27 配體)、TNFSF8 (CD30 配體)、TNFSF9 (4-1BB 配體)、TOLLIP、類 toll 受器、TLR2、TLR4、TLR9、TOP2A (拓撲異構酶 IIa)、TP53、TPM1、TPM2、TRADD、TRAF1、TRAF2、

TRAF3、TRAF4、TRAF5、TRAF6、TRKA、TREM1、TREM2、TRPC6、TROY、TSLP、TWEAK、酪胺酸酶、uPAR、VEGF、VEGFB、VEGFC、多功能蛋白聚糖(versican)、VHL C5、VLA-4、Wnt-1、XCL1(淋巴細胞趨化因子)、XCL2(SCM-Ib)、XCR1(GPR5 / CCXCR1)、YY1及ZFPM2。

酶催化抗體

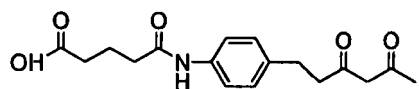
在本發明之某些態樣中，該 MAC 包含酶催化抗體，或彼之抗原結合部分。在某些態樣中，該抗體可為醛醇縮酶抗體。

專利 US2006205670 之內容係藉由參照方式併入本發明，特別是段落[0153]至[0233]，其中描述抗體、有用之片段及彼之變體及修飾、結合部位及 CDR、抗體製備、表現、人化、胺基酸修飾、糖基化、ADCC、CDC、增加抗體之血清半衰期、表現載體、哺乳動物宿主系統、及摺疊和其他抗體技術之元件。

本發明所使用之「結合位點」(亦稱為抗體結合位點)係指與適當抗原之決定簇(或結構類似蛋白質)結合(或可與之結合)之免疫球蛋白或 Ig 結構域之區域。該用語通常包括 CDR 及鄰近之與抗原結合有關之架構殘基。

本發明所使用之「醛醇縮酶抗體」係指包含當未被阻礙時(例如藉由共軛)，該結合位點部分酶催化在脂肪族酮捐贈者與醛接受體之間的醛醇添加反應之抗體。醛醇縮酶抗

體能藉由以包括下式之 1,3 二酮半抗原之免疫原免疫接種免疫反應性動物加以產製：



該 1,3 二酮半抗原係與載體蛋白耦合，且該抗體在彼之結合位點另具有含有反應性 ϵ -胺基之離胺酸。醛醇縮酶抗體之其他特徵為彼等之酶催化活性會受到 1,3-二酮半抗原之抑制，藉由在該 1,3-二酮半抗原與該酶催化抗體之離胺酸的 ϵ -胺基之間形成複合體。

如某些實施態樣中所討論的，可被用於製備本發明之 MAC、組成物及樣本之某些抗體可包含在該抗體結合位點中之反應性側鏈。反應性側鏈可為天然存在，或可藉由突變被放置於抗體中。該抗體結合部位之反應性殘基可與該抗體相關，諸如當該殘基係由存在於最先被識別為製備該抗體之淋巴樣細胞中之核酸所編碼。或者，該胺基酸殘基可藉由故意突變該 DNA 以編碼該特定殘基產生。該反應性殘基可為非天然殘基，藉由例如使用如此處所述之獨特密碼子、tRNA 及胺基醯基-tRNA 之生物合成性併入產生。在另一方法中，該胺基酸殘基或彼之反應性功能基團（例如親核性胺基或氫硫基）可與該抗體結合部位中之胺基酸殘基連接。因此，本發明所使用之「經由抗體之結合部位中之胺基酸殘基」發生之與抗體之共價鍵接可指與抗體結合部位之胺基酸殘基直接鍵接，或經由與抗體連接部位之胺基酸殘基的側鏈連接之化學基團鍵接。在一些實施態樣中，該胺基酸係半胱胺酸，且該側鏈之反應性基團係氫

硫基。在其他實施態樣中，該胺基酸殘基係離胺酸，且該側鏈之反應性基團係該 ϵ -胺基。在一些實施態樣中，該胺基酸係根據卡巴編號之位於重鏈上之 K⁹³。在一些實施態樣中，該胺基酸係根據 SEQ ID NO:65 及 66 之編號的 h38C2 上之 HC-K⁹⁹。

酶催化抗體係具有包含一或多個反應性胺基酸側鏈之適當結合部位之抗體來源。該等抗體包括醛醇縮酶抗體、 β 內醯胺酶抗體、酯酶抗體、及醯胺酶抗體。

一個實施態樣包含醛醇縮酶抗體，諸如小鼠單株抗體 mAb 33F12 及 mAb 38C2 (彼之 VL 及 VH 包含 SEQ ID NO:68 及 69)，以及適當之嵌合及人化版本之該等抗體(例如 h38C2IgG1: SEQ ID NO:64 及 65 和 h38C2-IgG2: SEQ ID NO:64 及 66)。在較佳之態樣中，重鏈如 SEQ ID NO:65 或 SEQ ID NO:66 係與和本發明之包含 SEQ ID NO:98 之 CL 結構域之一者融合的 h38C2 VL (SEQ ID NO:67)一起使用。

小鼠 mAb 38C2 (及 h38C2)具有靠近但在 HCDR3 以外之反應性離胺酸且係新類型之酶催化抗體之原型，該新類型之酶催化抗體係藉由反應性免疫及機械性模擬天然醛醇縮酶加以產製。其他可被使用之醛醇縮酶酶催化抗體包括由下列雜交瘤產製之抗體：雜交瘤 85A2 (具有 ATCC 登錄號 PTA-1015)、雜交瘤 85C7 (具有 ATCC 登錄號 PTA-1014)、雜交瘤 92F9 (具有 ATCC 登錄號 PTA-1017)、雜交瘤 93F3 (具有 ATCC 登錄號 PTA-823)、雜交瘤 84G3 (具

有 ATCC 登錄號 PTA-824)、雜交瘤 84G11 (具有 ATCC 登錄號 PTA-1018)、雜交瘤 84H9 (具有 ATCC 登錄號 PTA-1019)、雜交瘤 85H6 (具有 ATCC 登錄號 PTA-825)、雜交瘤 90G8 (具有 ATCC 登錄號 PTA-1016)。經由反應性離胺酸，這些抗體利用天然醛醇縮酶之烯胺機制酶催化醛醇及逆向醛醇反應。

本發明之化合物亦可能藉由連接標靶劑與反應性半胱胺酸形成，諸如該些於硫酯酶及酯酶催化抗體之結合部位中所發現者。含反應性胺基酸之抗體可藉由該領域廣為周知之方法製備，包括使抗體結合部位殘基突變以編碼該反應性胺基酸，或以包含該反應基之連接子化學衍生抗體結合部位中之胺基酸側鏈。

該抗體可為人化抗體。當本發明之化合物係與抗體之結合部位共價連接且該等抗體係經人化時，很重要的是該等抗體經人化以保留對 W 基之高度連接親和性。各種形式之人化小鼠醛醇縮酶抗體皆被考慮。一種實施態樣使用人化醛醇縮酶酶催化抗體 h38c2 IgG1 或具有人恆定結構域 CL κ 及 CH γ ₁ 之 h38c2 Fab。人種系 VL κ 基因 DPK-9 及人 J κ 基因 JK4 被用來作為人化 m38c2 之 κ 輕鏈可變結構域之架構，且人種系基因 DP-47 及人 JH 基因 JH4 被用來作為人化 m38c2 之重鏈可變結構域之架構。圖 8A 顯示 m38c2、h38c2 及人種系之可變輕鏈及重鏈之間的序列排比。h38c2 可能利用 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 恆定結構域，包括彼等之任何同種異型。另一實施態樣使用嵌合性

抗體，其包含 h38c2 之可變結構域（VL 及 VH）（SEQ ID NO: 67 及 68）和來自 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 抗體之恆定結構域，該 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 抗體包含本發明之在 β 股 E 及 F 之間包含 SEQ ID NO:98 之多肽。該 LC 可能包含 SEQ ID NO:254。該抗體可能是全長抗體、Fab、Fab'、F(ab')₂、VH、VL、雙價抗體或迷你抗體，其包含源自 h38c2 之 VH 及 VL 結構域。該抗體可為包含來自 h38c2 之 VL 及 VH 結構域和選自 IgG1、IgG2、IgG3 及 IgG4 之恆定結構域之抗體。該抗體可為包含來自人 IgG、IgA、IgM、IgD、或 IgE 抗體之恆定區之人化版本之小鼠醛醇縮酶抗體。I 在另一實施態樣中，該抗體係嵌合性抗體，其包含來自小鼠醛醇縮酶抗體之 VL 及 VH 區（例如 SEQ ID NO:69 及 70）和來自人 IgG、IgA、IgM、IgD 或 IgE 抗體之恆定區，其包含本發明之在 β 股 E 及 F 之間包含 SEQ ID NO:98 之多肽。在其他實施態樣中，該抗體係全人版本之小鼠醛醇縮酶抗體，其包含來自天然或自然人 IgG、IgA、IgM、IgD、或 IgE 抗體之多肽序列。

一實施態樣使用 h38c2 F(ab')₂。h38c2 F(ab')₂ 可藉由蛋白水解消化 h38c2 IgG1 加以產製。

本發明所使用之「藥物動力學」係指經投予之化合物在不同時間之血清濃度。藥物藥效學係指經投予之化合物在標靶及非標靶組織中在不同時間下之濃度，及對該標靶組織（例如療效）及非標靶組織（例如毒性）之影響。在例如藥物動力學或藥物藥效學上之進步可針對特定標靶劑或生物

劑設計，諸如藉由使用不穩定鍵接或藉由修飾任何連接子之化學特性(例如改變可溶性、電荷及類似者)。用語「 K_{off} 」係指抗體自該抗體/抗原複合體解離之解離速率常數。用語「 K_d 」係指特定抗體-抗原交互作用之解離常數。

在某些態樣中，本發明提供本發明之化合物、樣本、組成物及醫藥組成物之醫藥上可接受之鹽、立體異構物、互變異構物、溶劑合物及前藥。

酶催化性抗體連接子

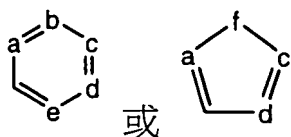
某些適合用於連接標靶劑(TA)與酶催化性抗體之結合部位的連接子(酶催化性抗體連接子：CAb 連接子)係揭示於 US2009098130，彼之內容藉由參照方式併入本發明。用語「標靶劑」係用於本發明以區別用語「效應物部分」，但很明顯的是，與 CAb 連接子之末端連接以作為 TA 或與 MAC 連接子之末端連接以作為效應物部分之分子種類可互相交換。特別是，在 US2009098130 中關於 CAb 連接子之通式、特定 CAb 連接子結構、CAb 連接子之合成以及不同元件 P^1 、 Q^1 及 W^1 之組合(其中分別被分類為 X、Y 及 Z 基團)之特定及一般性描述之態樣係包括於本發明中。

該 CAb 連接子可為線性或分歧，且可任意選擇地包括一或多個碳環或雜環基團。CAb 連接子長度可被視為直鏈原子之數量，有環狀基團諸如芳香環及類似者以沿著該環之最短路徑計算。在一些實施態樣中，該 CAb 連接子

具有介於 5 至 15 個原子之直鏈片段，在其他實施態樣中 15 至 30 個原子，在仍其他實施態樣中 30 至 50 個原子，在仍其他實施態樣中 50 至 100 個原子，及在仍其他實施態樣中 100 至 200 個原子。其他 CAb 連接子考量包括對該形成之化合物之物理或藥物動力學性質之影響，諸如溶解性、親脂性、親水性、疏水性、穩定性（較穩定或較不穩定及較多或較少之預定降解）、剛性、柔韌性、免疫原性、調節抗體結合、被納入微胞或脂質體之中的能力及類似者。

在某些態樣中，該 CAb 連接子可與該 TA 連接殘基之側鏈共價連接。該連接子可能包含下式： $P^1-Q^1-W^1$ ；其中 P^1 係生物相容性連接鏈，其包括任何選自 C、H、N、O、P、S、F、Cl、Br 及 I 之原子且可包含聚合物或團聯共聚物，當該連接子係線性時， P^1 係與該連接殘基共價連接（經由適當之側鏈、胺基端或羧基端）； Q^1 係可任意選擇地存在之辨識基團，其包含至少一環狀結構；且 W^1 係連接部分，其包含與抗體之結合部位中之胺基酸側鏈之共價連接。

當存在時， Q^1 可能具有可經任意取代之結構：



其中 a、b、c、d 及 e 係獨立地碳或氮；f 係碳、氮、氧或硫； Q^1 係以任 2 個足夠價數之環位置獨立地與 P^1 及 W^1 連接；且 a、b、c、d、e 或 f 中不超過 4 者係同時為氮且較

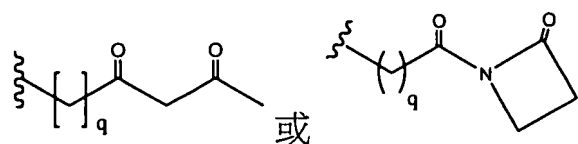
佳地在環結構中之 a、b、c、d 及 e 係各自為碳。在某些態樣中， Q^1 可為苯基。雖然不希望被任何理論束縛，當能相信該 Q^1 基團可幫助放置(positioning)該反應基至適當之抗體結合部位以使該 W^1 基團可與反應性胺基酸側鏈反應。

該 CAb 連接子可經設計以使其包含能夠與巨分子（諸如抗體、蛋白質或彼之片段）共價或非共價地形成鏈接之反應基。該反應基係經選擇以與特定結合部位中之反應殘基使用。舉例來說，用於由醛醇縮酶抗體修飾之化學部分可為酮、二酮、 β 內醯胺、活性酯鹵酮、內酯、酐、順丁烯二醯亞胺、 α -鹵乙醯胺、環己基二酮、環氧化物、醛、脒、胍、亞胺、烯胺、磷酸酯、膦酸酯、環氧化物、氮丙啶、硫環氧化物、經掩蔽或保護之二酮（例如縮酮）、內醯胺、鹵酮、醛及類似者。

在一些實施態樣中， W^1 在與抗體之結合部位中之殘基的側鏈共軛之前包括一或多個 $C=O$ 基團，該等 $C=O$ 基團係經排列以形成氮雜環丁酮、二酮、醯基 β 內醯胺、活性酯、鹵酮、環己基二酮基、醛、順丁烯二醯亞胺、經活化之烯、經活化之炔、或一般而言包含易受親核或親電子取代之脫離基之分子。其他基團可包括內酯、酐、 α -鹵乙醯胺、亞胺、醯肼或環氧化物。可與抗體之結合部位中之反應性親核基（例如離胺酸或半胱胺酸側鏈）共價結合之示範性連接子親電子反應基包括醯基 β -內醯胺、簡單二酮、琥珀醯亞胺活性酯、順丁烯二醯亞胺、含連接子之

鹵乙醯胺、鹵酮、環己基二酮、醛、脘、胍、亞胺、烯胺、磷酸酯、麟酸酯、環氧化物、氮丙啶、硫環氧化物、經掩蔽或保護之二酮（例如縮酮）、經掩蔽或保護之內醯胺、經掩蔽或保護之磺酸酯、經掩蔽或保護之類似者、經掩蔽之 $C=O$ 基團諸如亞胺、縮酮、縮醛及任何其他已知之親電子基。在某些實施態樣中，該反應基包括一或多個 $C=O$ 基團，該等 $C=O$ 基團係經排列以形成醯基 β -內醯胺、簡單二酮、琥珀醯亞胺活性酯、順丁烯二醯亞胺、含連接子之鹵乙醯胺、鹵酮、環己基二酮、或醛。 W^1 可為經取代之烷基、經取代之環烷基、經取代之芳基、經取代之芳烷基、經取代之雜環基、或經取代之雜環烷基，其中至少一個取代基係 1,3-二酮部分、醯基 β -內醯胺、活性酯、 α -鹵酮、醛、順丁烯二醯亞胺、內酯、酞、 α -鹵乙醯胺、胺、醯肼或環氧化物。在某些態樣中，該 W^1 基係與巨分子支架共價連接，該巨分子支架可提供本發明之肽增加之半衰期。在某些態樣中，該 W^1 基若存在係與抗體之結合部位共價連接。

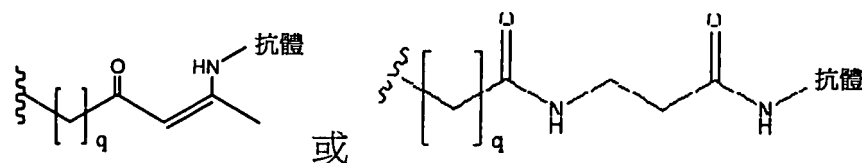
在某些態樣中，在（例如與抗體之結合部位）共軛之前， W^1 具有下列結構：



其中 $q=0$ 至 5。 q 可為 1 或 2。 q 可為 1。在其他態樣中， q 可為 2。

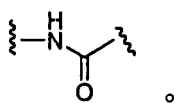
在某些態樣中，在與抗體結合部位共軛後， W^1 具有

下列結構：



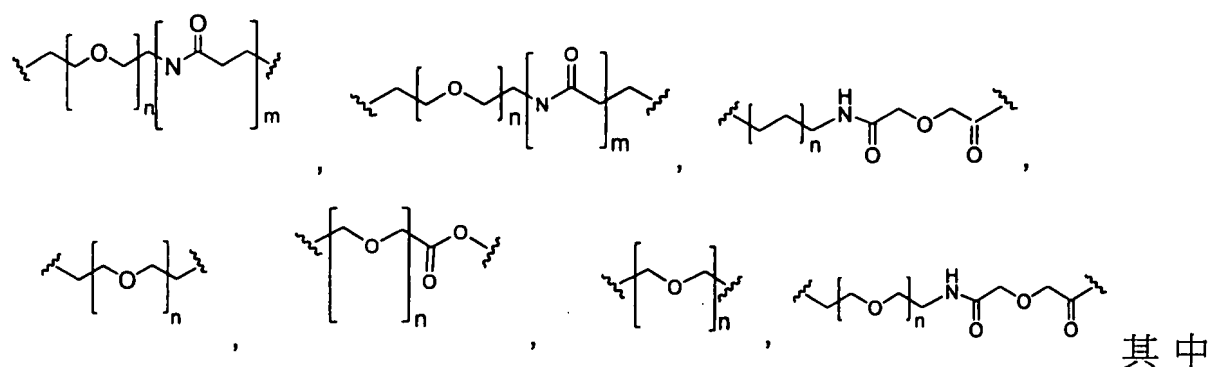
其中 $q=0$ 至 5 且抗體-N-係與抗體之結合部位中之側鏈結合之共價鍵。 q 可為 1 或 2 。 q 可為 1 。在其他態樣中， q 可為 2 。

P^1 可為包含三個成份之基團： P^1p - P^1s - P^1y ，其中 P^1p 係經特別適配以能與標靶劑結合之基團， P^1s 係 P^1 基團之間隔子區，且 P^1y 係經適配以與該 W^1 基結合之基團。在某些態樣中， P^1y 係選自醯胺鍵、烯胺鍵、或胍鹽鍵。 P^1y 可經選擇以提供鄰近（在二個原子以內）該 Q^1 基團之氫分子。雖然不希望被理論束縛，當能相信該 H 原子可幫助該 Q^1 基團經由 H-鍵交互作用辨識疏水袋，特別是關於酶催化抗體（諸如 h38C2）之結合槽之輸水袋。因此該醯胺鍵舉例來說可具有方向性以使該 NH 基直接與該 Q^1 基結合，使該 NH 基之 H 用於氫鍵接。或者，醯胺之 $C=O$ 基團可與該 Q^1 基團結合，其中該 NH 基之 H 鄰近該 Q^1 基團約 2 個原子，但仍可被用於 H 鍵接。在一些實施態樣中， P^1y 係不存在。在一些實施態樣中，該 P^1y 基團具有下式：



在某些態樣中， P^1s 係經選擇以使 P^1s 不提供任何過度反應之基團。 P^1s 可被選擇以提供介於 2 至 15 個原子之

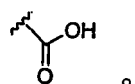
該 P^1 基之整體長度。 P^1 s 可被選擇以使該 P^1 基之整體長度係介於 2 至 10 個原子。 X^1 基可被選擇以使該 P^1 基之整體長度係 4 至 8 個原子。 P^1 基可被選擇以使該 P^1 基之整體長度係 5 個原子。 P^1 基可被選擇以使該 P^1 基之整體長度係 6 個原子。在某些態樣中， P^1 基可包含下式其中之一者：



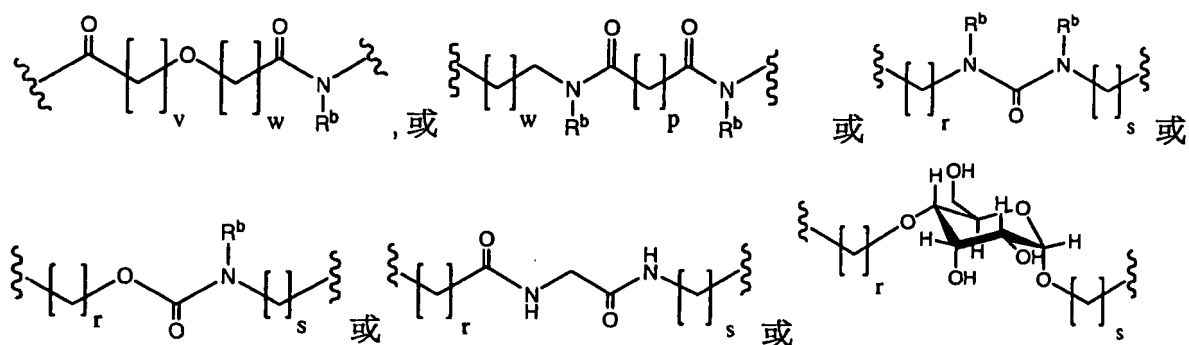
$n=1$ 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 或 10 ，且 m 係存在或不存在； n 可為 1 、 2 、 3 、 4 、 5 或 6 ； n 可為 1 、 2 、 3 或 4 ； n 可為 1 ； n 可為 2 ； n 可為 3 ； n 可為 4 。

P^1p 係經理想地選擇以使得與標靶分子之連接殘基（TA 連接殘基）之連接採取特定方向性共價連接策略，標靶分子如肽、蛋白質、小分子、核酸或適體。舉例來說，當該 TA 連接殘基包含親核基時， P^1p 可為親電子基，且反之亦然。舉例來說，若該 TA 連接殘基側鏈包含胺基，諸如 K、H、Y、鳥胺酸、Dap 或 Dab， Xp 可為 COOH，或其他類似之反應性親電子劑。若該 TA 連接殘基係 D 或 E， P^1p 可能包含親核基，諸如胺基。這些策略中之任一者允許在該 P^1p 基與該 TA 連接殘基之間藉由醯胺鍵形成策略形成共價鍵結。當該 TA 連接基團係胺基

時， P^1p 可能包含下式：

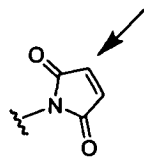


P^1 可為可任選地存在之生物相容性聚合物或團聯共聚物。 P^1 可具有下列結構：

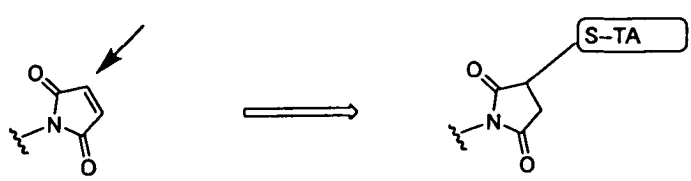


其中 p 係 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、32、43、44、或 45； w 、 r 、及 s 係各自獨立地 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20；且 R^b 每次出現時係獨立地氫、經取代或未經取代之 C_{1-10} 烷基、經取代或未經取代之 C_{3-7} 環烷基- C_{1-6} 烷基、或經取代或未經取代之芳基- C_{1-6} 烷基。

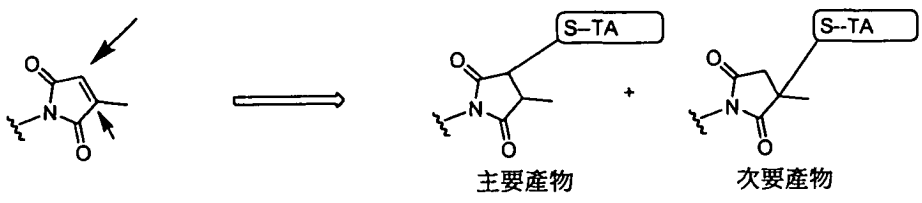
當該 TA 連接殘基係 C、C 之同源物或其他含硫醇基之殘基時， P^1p 可包含順丁烯二醯亞胺基（或類似者），此允許硫醇-順丁烯二醯亞胺添加反應策略得以共價連接該 P^1p 基團與該 TA 連接殘基。在一些態樣中， P^1p 亦可包含硫醇基，此允許在該 TA 連接殘基與 P^1p 基之間形成雙硫鍵。在一些態樣中， P^1p 可為順丁烯二醯亞胺：



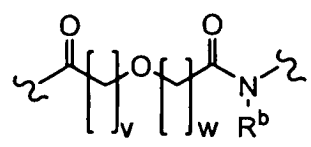
其中該箭頭表示與該標靶分子連接之點，該平行線代表與該連接子之 Q¹ 基連接。當與該標靶分子連接之點包含半胱氨酸殘基或其他帶硫醇側鏈時，該共軛之機制可如下圖：



在一些態樣中，該 P¹p 基團包含經取代之順丁烯二醯亞胺：

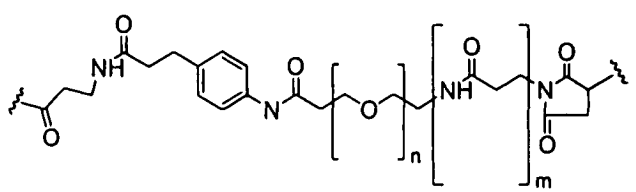


在一些態樣中，P¹ 係



其中 v 及 w 係經選擇以使 X¹ 之主鏈長度係 6 至 12 個原子。

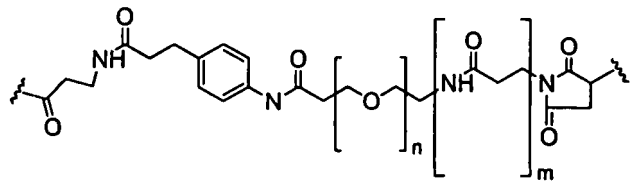
在一些態樣中，該 TA 連接子係為下式：



其中 n=1、或 2、或 3、或 4、5、6、7、8、9 或 10；n 可為 1、2、3、4、5、或 6；n 可為 1；n 可為 2；n 可為 3；

n 可為 4。M 可能不存在。M 可能存在。

在一些態樣中，TA 連接子係為下式：



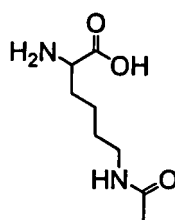
其中 n=1、或 2、或 3、或 4、5、6、7、8、9 或 10；n 可為 1、2、3、4、5、或 6；n 可為 1；n 可為 2；n 可為 3；n 可為 4。M 可能不存在。M 可能存在。

在一些態樣中，該 CA 連接子之 P¹ 部分可被用來作為 Y¹、X¹-Y¹、Y¹-Z 及 X¹-Y¹-Z，作為本發明之 MAC 之連接子的部分。

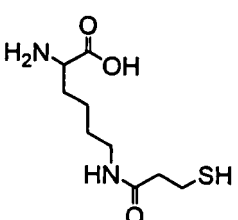
肽及蛋白質

醯基離胺酸，或

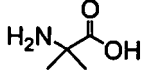
K_{ac} (又名AcK)係指：



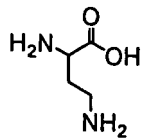
K_{SH} 係指：



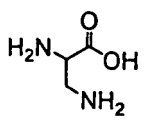
Aib (2-胺基異丁酸):



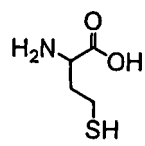
二胺基丁酸(Dab)



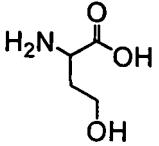
二胺基丙酸(Dap)



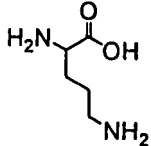
同半胱氨酸



同絲氨酸



鳥氨酸



一般來說，與此處所描述之細胞培養、組織培養、分子生物學、免疫學、微生物學、基因學以及蛋白質及核酸化學和雜交有關所使用之命名法及技術係該領域所廣為週知且經常使用者。本發明之方法及技術通常根據該領域所廣為周知之習用方法進行，除非另外說明否則如同本說明書各處引述及討論之各種一般性及更具體之參考文獻所述。本發明所使用之 20 種天然或習用之胺基酸及彼等之縮寫遵照 IUPAC 單字母及三字母代碼。「多肽」、「肽」及「蛋白質」可交換使用，以指涉胺基酸殘基之聚合物。本發明所使用之這些用語適用於胺基酸聚合物，其中一或多種胺基酸殘基係對應天然發生之胺基酸的人工化學類似物。這些用語亦適用於天然發生之胺基酸聚合物。胺基酸可呈 L 形式或 D 形式，只要該肽之結合及其他所欲特徵係經維持。多肽可為單體或多體。

除非另外以“D”字首標明（例如 D-Ala 或 N-Me-D-Ile），或以小寫字母形式表示例如 a、i、l（為 Ala、Ile、Leu 之 D 型式），否則在本說明書及隨附之權利要求中所描述之肽中的胺基酸及胺醯基殘基之 α -碳的立體化學係天然或“L”構型。

所有肽序列係根據普遍接受之慣例書寫，其中該 α -N 端胺基酸殘基係在左側且該 α -C 端胺基酸係在右側。本發明所使用之用語「N 端」係指肽中之胺基酸的游離 α -胺基，且用語「C 端」係指肽中之胺基酸的游離 α -羧酸端。在 N 端具有基團之肽係指在該 N 端胺基酸殘基之 α -胺基

氮上帶有基團之肽。在 N 端具有基團之胺基酸係指在該 α -胺基氮上帶有基團之胺基酸。

本發明所使用之「鹵」、「鹵素」或「鹵化物」係指 F、Cl、Br 或 I。

本發明所使用之「生物活性」係指化合物、組成物或其他混合物於活體內之活性，或在活體內投予化合物、組成物或其他混合物時導致之生理反應。因此生物活性包含該化合物、組成物及混合物之治療效應、診斷效應及醫藥活性。

本發明所使用之用語「生物相容性」係指生物惰性或不與細胞內及細胞外生物分子起反應且不具毒性之物。

用語「烷基」本身或作為另一用語之部分時，係指具有該所示數量之碳原子的直鏈或分歧飽和烴（例如「C₁-C₈」烷基係指具有自 1 至 8 個碳原子之烷基）。當碳原子數量未指明時，該烷基具有自 1 至 8 個碳原子。代表性直鏈 C₁-C₈ 烷基包括但不限於甲基、乙基、n-丙基、n-丁基、n-戊基、n-己基、n-庚基及 n-辛基；分歧 C₁-C₈ 烷基包括但不限於異丙基、-二級丁基、-異丁基、-三級丁基、-異戊基及 -2-甲基丁基；不飽和 C₂-C₈ 烷基包括但不限於乙烯基、烯丙基、1-丁烯基、2-丁烯基、異丁烯基、1-戊烯基、2-戊烯基、3-甲基-1-丁烯基、2-甲基-2-丁烯基、2,3-二甲基-2-丁烯基、1-己基、2-己基、3-己基、乙炔基、丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基、1-戊炔基、2-戊炔基及 3-甲基-1-丁炔基。

用語「經取代之烷基」係指其中一或多個與碳或氫之鍵結係經與非氫及非碳原子之鍵結取代之烷基，該非氫及非碳原子諸如但不限於在鹵化物中之鹵素原子諸如 F、Cl、Br、及 I；在諸如羥基、烷氧基、芳氧基及酯基之基團中之氧原子；在諸如硫醇基、烷基及芳基硫化物基團、砒基、磺醯基及亞砒基之基團中之硫原子；在諸如胺、醯胺、烷胺、二烷胺、芳胺、烷芳胺、二芳胺、N-氧化物、醯亞胺及烯胺之基團中之氮原子；在諸如三烷基矽烷基、二烷基芳基矽烷基、烷基二芳基矽烷基、及三芳基矽烷基之基團中之矽原子；及其他在各種其他基團中之雜原子。經取代之烷基亦包括其中一或多個與碳或氫原子之鍵結係經與雜原子之鍵結取代之基團，該雜原子諸如在羰基、羧基、及酯基中之氧；在諸如亞胺、肟、腙、及肟之基團中之氮。經取代之烷基包括(除其他者外)其中一或多個與碳或氫原子之鍵結係經一或多個與氟原子之鍵結取代之烷基。經取代之烷基中之一個實例係三氟甲基及其他包含三氟甲基之烷基。其他烷基包括該些其中一或多個與碳或氫原子之鍵結係由與氧原子之鍵結取代者，以使該經取代之烷基包含羥基、烷氧基、芳氧基或雜環氧基。其他烷基還包括具有胺、烷基胺、二烷基胺、芳基胺、(烷基)(芳基)胺、二芳基胺、雜環基胺、(烷基)(雜環基)胺、(芳基)(雜環基)胺、或二雜環基胺基團之烷基。

用語「未經取代之烷基」係指如上述定義之二價未經取代之烷基。因此亞甲基、伸乙基及伸丙基各自為未經取代

之伸烷基之實例。用語「經取代之烷基」係指如上述定義之二價經取代之烷基。經取代或未經取代之低級伸烷基具有自 1 至約 6 個碳。

用語「未經取代之環烷基」係指環狀烷基諸如環丙基、環丁基、環戊基、環己基、環庚基、環辛基、及如上述經直鏈及支鏈烷基取代之該等環。該用語亦包括多環烷基諸如但不限於金剛烷基、降冰片基及雙環[2.2.2]辛基、類似者、及如上述經直鏈及支鏈烷基取代之該等環。因此，該用語將包括甲基環己基及他者。該用語不包括含有雜原子之環狀烷基。未經取代之環烷基可與該母體化合物中之一或多個碳原子、氧原子、氮原子、及/或硫原子鍵結。在一些實施態樣中，未經取代之環烷基具有自 3 至 20 個碳原子。在其他實施態樣中，該等未經取代之烷基具有自 3 至 8 個碳原子，在其他實施態樣中，該等基團具有自 3 至 7 個碳原子。

用語「經取代之環烷基」具有和經取代之烷基相對於未經取代之烷基之意義相同的相對於未經取代之環烷基之意義。因此，該用語包括但不限於氧環己基、氮環己基、羥環戊基及氮甲基環己基。

用語「芳基」本身或作為另一用語之部分時，係指 6 至 20 個碳原子之經取代或未經取代之單價碳環芳香族烴自由基，其係藉由自主體芳香環系統之單一碳原子移除一個氫原子衍生。典型芳基包括但不限於衍生自苯、經取代之苯、萘、蒽、聯苯及類似物之自由基。經取代之碳環芳香

基（例如芳基）可經下列 1 或多個（較佳地 1 至 5 個）基取代： C_1-C_8 烷基、 $-O-(C_1-C_8 \text{ 烷基})$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR'$ 、 $-C(O)N(R')_2$ 、 $-NHC(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-OH$ 、鹵素、 $-N_3$ 、 $-NH_2$ 、 $-NH(R')$ 、 $-N(R')_2$ 及 $-CN$ ；其中各 R' 係獨立選自 $-H$ 、 C_1-C_8 烷基及未經取代之芳基。在一些實施態樣中，經取代之碳環芳香族基可另包含下列一或多者： $-NHC(=NH)NH_2$ 、 $-NHCONH_2$ 、 $-S(=O)_2R'$ 及 $-SR'$ 。「伸芳基」係對應之雙價部分。

用語「經取代之烷基」係指其中一或多個氫原子各自獨立被取代基取代之烷基。典型取代基包括但不限於： $-X$ 、 $-R$ 、 $-O-$ 、 $-OR$ 、 $-SR$ 、 $-S^+$ 、 $-NR_2$ 、 $-NR_3$ 、 $=NR$ 、 $-CX_3$ 、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-N=C=O$ 、 $-NCS$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $=N_2$ 、 $-N_3$ 、 $-NRC(=O)R$ 、 $-C(=O)NR_2$ 、 $-SO_3^-$ 、 $-SO_3H$ 、 $-S(=O)_2R$ 、 $-OS(=O)_2OR$ 、 $-S(=O)_2NR$ 、 $-S(=O)R$ 、 $-OP(=O)(OR)_2$ 、 $-P(=O)(OR)_2$ 、 $-PO_3^{2-}$ 、 PO_3H_2 、 $-AsO_2H_2$ 、 $-C(=O)R$ 、 $-C(=O)X$ 、 $-C(=S)R$ 、 $-CO_2R$ 、 $-CO_2^-$ 、 $-C(=S)OR$ 、 $-C(=O)SR$ 、 $-C(=S)SR$ 、 $-C(=O)NR_2$ 、 $-C(=S)NR_2$ 或 $-C(=NR)NR_2$ ，其中各 X 係獨立地鹵素： $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 或 $-I$ ；且各 R 係獨立地 $-H$ 、 C_1-C_{20} 烷基、 C_1-C_{20} 雜烷基、 C_6-C_{20} 芳基、 C_3-C_8 雜環基、保護基或前藥部分。如上所述之芳基、伸烷基及雜伸烷基亦可能經類似取代。

用語「芳烷基」本身或作為其他用語之部分時，係指經如上定義之芳基取代之如上定義之烷基。

用語「伸烷基」本身或作為其他用語之部分時，係指該所述數量之碳原子（通常 1 至 18 個碳原子）的飽和之分歧或直鏈或環狀烴基，且具有藉由自主體烷之相同或二個不同的碳原子移除二個氫原子所衍生之二個單價自由基中心。典型伸烷基自由基包括但不限於亞甲基(-CH₂-)、1,2-伸乙基(-CH₂CH₂-)、1,3-伸丙基(-CH₂CH₂CH₂-)、1,4-伸丁基(-CH₂CH₂CH₂CH₂-)及該類似物。「C₁-C₁₀」直鏈伸烷基係一具有式-(CH₂)₁₋₁₀-之直鏈、飽和烴基。C₁-C₁₀ 伸烷基之實例包括亞甲基、伸乙基、伸丙基、伸丁基、伸戊基、伸己基、伸庚基、伸辛基、伸壬基及伸癸基。

用語「雜伸烷基」本身或作為另一取代基之部分時，係指衍生自雜烷基（如上討論）之二價基。以雜伸烷基而言，雜原子亦可佔據該鏈末端之一端或二端。

用語「C₃-C₈雜環基」本身或作為另一用語之部分時，係指一價經取代或未經取代之芳香族或非芳香族單環、雙環或三環之環系統，其具有自 3 至 8 個碳原子（亦稱為環件）及一至四個獨立選自 N、O、P 或 S 之雜原子環件，藉由自主體環系統之一個環原子移除一個氫原子衍生。在該雜環基中之一或多個 N、C 或 S 原子可經氧化。包括該雜原子之環可為芳香性或非芳香性。除非另外說明，該雜環基係以任何雜原子或碳原子與彼之側基連接導致穩定結構。C₃-C₈雜環基之代表性實例包括但不限於四氫呋喃基、氧雜環丁烷基、哌喃基、吡咯啉基、哌啉基、苯并呋喃基、苯并噻吩、吲哚基、苯并吡啶基、吡咯基、苯硫基（噻

吩)、呋喃基、噻唑基、咪唑基、吡唑基、三唑基、喹啉基、嘧啶基、吡啶基、吡啶酮基、吡并基、嗒并基、異噻唑基、異噁唑基及四唑基。 C_3 - C_8 雜環基可經最多7個基取代，包括但不限於 C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_8 雜烷基、 $-OR'$ 、芳基、 $-C(O)R'$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR'$ 、 $-C(O)N(R')_2$ 、 $-NHC(O)R'$ 、 $-S(=O)_2R'$ 、 $-S(O)R'$ 、鹵素、 $-N_3$ 、 $-NH_2$ 、 $-NH(R')$ 、 $-N(R')_2$ 及 $-CN$ ；其中各 R' 係獨立選自 $-H$ 、 C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_8 雜烷基及芳基。在一些實施態樣中，經取代之雜環基亦可另包含下列一或多者： $-NHC(=NH)NH_2$ 、 $-NHCONH_2$ 、 $-S(=O)_2R'$ 及 $-SR'$ 。「雜環(Heterocyclo)」係對應之雙價部分。

用語「 C_3 - C_8 碳環基」本身或作為另一用語之部分，係指3-、4-、5-、6-、7-或8-元之一價、經取代或未經取代、飽和或未飽和之非芳香性單環或雙環碳環，其係藉由自主體環系統之一環原子移除一個氫原子衍生。代表性 C_3 - C_8 碳環基包括但不限於環丙基、環丁基、環戊基、環戊二烯基、環己基、環己烯基、1,3-環己二烯基、1,4環己二烯基、環庚基、1,3環庚二烯基、1,3,5-環庚三烯基、環辛基、環辛二烯基、雙環(111)戊烷及雙環(222)辛烷。 C_3 - C_8 碳環基可不經取代或經最多7個基取代，包括但不限於 C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_8 雜烷基、 $-OR'$ 、芳基、 $-C(O)R'$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR'$ 、 $-C(O)N(R')_2$ 、 $-NHC(O)R'$ 、 $-S(=O)_2R'$ 、 $-S(=O)R'$ 、 $-OH$ 、鹵素、 $-N_3$ 、 $-NH_2$ 、 $-NH(R')$ 、 $-N(R')_2$ 及 $-CN$ ；其中各 R' 係獨立選

自 -H、 C_1 - C_8 烷基、 C_1 - C_8 雜烷基及芳基。「 C_3 - C_8 碳環基 (carbocyclo)」係該對應之二價部分。

用語「雜芳烷基」本身或作為其他用語之部分時，係指經如上定義之芳香性雜環基取代之如上定義之烷基。「雜芳環 (Heteroaraclo)」係對應之雙價部分。

「大約 (about 或 approximately)」一語當與可測量之數字變數一起使用時，係指該所示之變數值及屬於該所示值之實驗誤差內（例如平均值之 95% 信賴區間）或該所示值之 10% 以內（以較大者為準）之所有變數值。

此處所使用之「連接鏈」或「鏈」係指呈現除了 β 股以外之任何三級結構形式之胺基酸序列，該三級結構形式連接免疫球蛋白結構域之個別 β 股。該用語包含 α 螺旋、轉彎、圈環及 β 髮夾之結構性模體 (motif)。用語「 α 螺旋」、「轉彎」、「圈環」及「 β 髮夾」具有彼等在該領域通常具有之意義，得以區別該四種不同的三維結構模體。

該領域已知之用語「一致性」係指二或多個多肽分子或二或多個核酸分子的序列之間之關係，其係藉由比較該等序列決定。在該領域中，「一致性」亦指多肽或核酸分子序列之間的序列相關性程度，視情況可由核苷酸或胺基酸序列串之間的匹配狀況決定。「一致性」測量二或多個序列之間完全相符之百分比，其中的缺口排比係由特定電腦程式之數學模式（演算法）處理。

用語「類似性」係相關概念，但與「一致性」不同的是，其係指包括完全相符與保守性取代相符之類似性的計量。

由於保守性取代適用於多肽但不適用核酸分子，因此類似性僅用於多肽序列比較。若二個多肽序列在例如 20 個胺基酸中具有 10 個相同的胺基酸，其餘皆為非保守性取代，則一致性與類似性百分比皆為 50%。在上例中，若其餘的 5 個位置為保守性取代，則一致性百分比仍為 50%，但類似性百分比為 75%（20 中的 15）。因此，當包含保守性取代時，二個多肽序列之間的類似性程度將高於該二個序列的一致性程度。

用語「保守性胺基酸取代」係指以非天然殘基取代天然胺基酸殘基，該取代對該位置之胺基酸殘基的極性或電荷沒有影響或影響極小。例如，保守性取代係由任何其他非極性殘基取代多肽中之非極性殘基所致。

結構排比

結構排比通常是用於蛋白質有時用於 RNA 序列，其使用關於該蛋白質或 RNA 分子之二級和三級結構的資訊以幫助排比序列。這些方法被用於排比二或多個序列，通常產生局部排比；然而，由於它們依賴結構資訊之可得性，因此只能用於已知彼等之對應結構之序列（通常經由 X 光結晶學或 NMR 光譜分析得知）。由於蛋白質和 RNA 結構相較於序列在演化上皆比較保守，因此對於關係非常遙遠及偏離嚴重以致於序列比較無法可靠偵測彼等之類似性的序列而言，結構排比可較為可靠。當蛋白質中之一者沒有可用之結構資料時，仍可進行比較，只要有一種或較

佳地多種關係密切之蛋白質的結構資料，像是不同物種之免疫球蛋白，特別是不同物種及亞型之抗體恆定結構域。

結構排比被用來作為評估基於同源性之蛋白質結構預測之排比的「黃金標準」，因為它們明確地排比結構類似之蛋白質序列之區域，而不是完全依賴序列資訊。

DALI 方法或稱距離矩陣排比是一種基於片段之建構結構排比之方法，其根據查詢序列中連續六肽之間的接觸類似性模式進行。該方法可產生成對排比或多重排比，並識別查詢序列於蛋白質資料庫(Protein Data Bank, PDB)中之結構鄰居。其已被用於建構 FSSP 結構排比資料庫（根據蛋白質結構－結構排比之摺疊分類或結構類似蛋白質之家族）。DALI 網站伺服器可於 EBI DALI 存取，FSSP 係位於 Dali 資料庫(The Dali Database)。

SSAP（序列結構排比程式）是一種基於動態規劃之結構排比方法，其使用結構空間中之原子對原子載體作為比較點。該法已自彼之原始說明擴充，以包含多重排比以及成對排比，且被用於建構蛋白質摺疊之 CATH（類型、結構、拓撲學、同源性）階層式資料庫分類。CATH 資料庫可於 CATH 蛋白質結構分類(Protein Structure Classification)存取。

結構排比之組合式延伸方法藉由使用局部幾何，對欲分析之二個蛋白質的短片段進行排比以產生成對結構排比，然後組合該等片段成為較大排比。根據像是剛體根平均平方距離、殘基距離、局部二級結構及周圍環境特徵如

殘基鄰居疏水性之計量，產生稱為「排比片段對」之局部排比，並用於建立在預先定義之臨界標準內代表所有可能的結構排比之類似性矩陣。接著追蹤該矩陣內自一蛋白質結構狀態至另一狀態之途徑，藉由一次延伸該生長排比之一個片段。最理想之該途徑定義該組合式延伸排比。實施該方法及提供蛋白質資料庫(Protein Data Bank)中之結構的成對排比之資料庫的網站伺服器係位於 Combinatorial Extension 網站。

序列排比

若不可能進行本發明之序列的結構排比，例如因為缺乏標靶序列 NMR 或結晶結構資料時，即可使用序列排比。技藝人士熟悉序列排比工具（如 BLAST、CLUSTAL 及其他該等技藝人士所知者，如此處所述者），且能排比序列，尤其是根據已知結構模體之抗體恆定結構域序列，特別是因為已有許多針對不同亞型及物種之免疫球蛋白結構域、抗體及特別是抗體恆定結構域之示範性結構試驗存在。

電腦對序列排比之處理通常分成二類：整體排比及局部排比。計算整體排比是一種形式之整體最佳化，其「迫使」排比橫跨所有查詢序列之全長。相反地，局部排比識別在長序列內具有類似性之區域，該長序列整體來說通常普遍多變。局部排比通常較佳，但可能比較不容易計算，因為還要識別類似性區域。許多電腦演算法已被應用於序

列排比問題。這些包括緩慢但正式正確之方法，如動態規劃，也包括有效率之啟發式演算法或概率式方法，該等方法係設計用於大規模之資料庫搜索，不保證找到最佳匹配。

整體排比企圖排比每個序列中之每個殘基，最適合用於查詢組中之序列類似且具有大致相同之大小。一般性整體排比技術係 Needleman-Wunsch 演算法，其係基於動態規劃。局部排比比較適合用於不相似但懷疑具有類似性區域或在彼等之較大上下文序列內具有類似序列模體之序列。Smith-Waterman 演算法係一般性局部排比方法，其亦根據動態規劃。

成對序列排比方法被用來尋找最佳匹配片段（局部）或整體排比二個查詢序列。三種產生成對排比之主要方法係點矩陣方法、動態規劃法及單字法(word method)；然而，多重序列排比技術亦可排比序列對。雖然每種方法都具有各自之優缺點，但三種成對方法都難以處理低資訊內容之高重複性序列，特別是當兩個排比序列中之重複數不同時。一種量化給定成對排比之利用性的方式係「最大獨特匹配」(MUM)，或發生於二個查詢序列中之最長子序列。較長之 MUM 序列通常反應較密切相關性。測定一致性及／或類似性之較佳方法係經設計以給予測試序列間之最大匹配。測定一致性及類似性之方法被編纂於公眾可用之電腦程式中。用於測定二個序列之間的一致性及類似性之較佳電腦程式方法包括但不限於 GCG 程式套裝軟體，

包括 GAP (Devereux et al., Nuc. Acids Res. 12: 387 (1984); Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, WI)、BLASTP、BLASTN 及 FASTA (Atschul et al., J. Mol. Biol. 215: 403-10 (1990))。BLAST X 程式可供大眾使用，來源為美國國家生物技術資料中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 及其他來源 (Altschul et al., BLAST Manual (NCB NLM NIH, Bethesda, MD); Altschul et al., 1990, supra)。著名之 Smith Waterman 演算法亦可被用來測定一致性。

舉例來說，使用電腦演算法 GAP (Genetics Computer Group)，對二個欲測定序列一致性百分比之多肽進行排比以最佳匹配彼等之個別胺基酸（由該演算法測定之「匹配跨距 (matched span)」）。缺口開放罰分（其係經計算為 3X 平均對角；「平均對角」係所使用之比較矩陣的對角之平均值；「對角」係由該特定比較矩陣分配給每個完美胺基酸匹配之得分或數字）及缺口延伸罰分（通常為 0.1X 缺口開放罰分）以及比較矩陣如 PAM 250 或 BLOSUM 62 被用來與該演算法一起使用。用於多肽序列比較之較佳參數包括下列：演算法：Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443-53 (1970). 比較矩陣：BLOSUM 62 from Henikoff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 89:10915-19 (1992)。

其他示範性演算法、缺口開放罰分、缺口延伸罰分、比較矩陣、類似性閥值等可由該領域之技藝人士使用，包

括該些於 Program Manual, WisconsinPackage, Version 9, September, 1997 中所述者。特定選擇將取決於所欲進行之特定比較，例如 DNA 對 DNA、蛋白質對蛋白質、蛋白質對 DNA，以及該比較是否介於給定之序列對之間（此例通常使用 GAP 或 BestFit）或介於一序列與序列之大型資料庫之間（此例偏好 FASTA 或 BLASTA）。

序列表

SEQ	說明	序列
1	重鏈 2.12.1.fx 畫底線處為 CDR	QVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS DYYMSWIRQA PGKGLEWVS <u>Y</u> ISSSGSTRDY ADSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCVRD <u>G</u> VETTFYYYYY GMDVWGQGT VTVSSASTKG PSVFPLAPCS RSTSESTAAL

		GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSSN FGTQTYTCNV DHKPSNTKVD KTVKRCCEVE CPPCPAPPVA GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVQFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQF NSTFRVSVL TVVHQDWLNG KEYKCKVSNK GLPAPIEKTI SKTKGQPREP QVYTLPPSRE EMTKNQVSLT CLVKGFPYSD IAVEWESNGQ PENNYKTTPP MLDSGGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFS CS VMHEALHNNY TQKSLSLSPGK
2	輕鏈 2.12.1.fx 畫底線處為 CDR	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIR RDLGWYQQKP GKAPKRLIYA ASRLQSGVPS RFGSGSGSTE FTLTISSLQP EDFATYYCLO HNNYPRTFGQ GTKLVIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSSTLT LSKADYEKKH VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGE C
3	HC 可變區 2.12.1.fx	QVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS DYYMSWIRQA PGKGLEWVS ISSGSTRDY ADSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNLSRAED TAVYYCVRDG VETTFYYYYY GMDVWGQGT VT
4	HC 恆定區 2.12.1.fx	VSSASTKG PSVFPLAPCS RSTSESTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSSN FGTQTYTCNV DHKPSNTKVD KTVKRCCEVE CPPCPAPPVA GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVQFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQF NSTFRVSVL TVVHQDWLNG KEYKCKVSNK GLPAPIEKTI SKTKGQPREP QVYTLPPSRE EMTKNQVSLT CLVKGFPYSD IAVEWESNGQ PENNYKTTPP MLDSGGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFS CS VMHEALHNNY TQKSLSLSPGK
5	LC 可變區 2.12.1.fx	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIR RDLGWYQQKP GKAPKRLIYA ASRLQSGVPS RFGSGSGSTE FTLTISSLQP EDFATYYCLO HNNYPRTFGQ GTKLVIKR
6	人 CL κ 1-106 (Km(3) $X^{45}=A/X^{93}=V$ K^{80} 為粗體及畫底線者 2.12.1.fx	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVCLLNN FYPREKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
7	人 CL κ 1-106 Km(1,2) $X^{45}=A/X^{93}=L$ K^{80} 為粗體及畫底線者	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVCLLNN FYPREKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HKLYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
8	人 CL κ 1-106 (Km(1) $X^{45}=V/X^{93}=L$ K^{80} 為粗體及畫底線者	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVCLLNN FYPREKVQW KVDNLQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HKLYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
9	hCL κ 1-106 X^{82} =任何 AA $X^{45}=V/A$ $X^{93}=L/V$	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVCLLNN FYPREKVQW KVDN $\times$ LQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK H $\times$ xYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
10	人 CL κ 1-106 $X^{45}=V/A$ $X^{93}=L/V$	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVCLLNN FYPREKVQW KVDN $\times$ LQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK H $\times$ xYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
11	人 CL κ 1-106 X^{82} =任何 aa	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVCLLNN FYPREKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK H $\times$ vYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
12	人 CL κ . $K^{80}R$	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVCLLNN FYPREKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
13	人 CL κ . $K^{82}R$	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVCLLNN FYPREKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HRVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
14	人 CL κ . $K^{80}R/K^{82}R$	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVCLLNN FYPREKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HRVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
15	人 CL κ . $D^{43}A$	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVCLLNN FYPREKVQW KVANALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
16	人 CL κ . $K^{80}A$	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVCLLNN FYPREKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEA HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
17	人 CL κ . $H^{81}A$	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVCLLNN FYPREKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK AKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
18	人 CL κ . $K^{82}A$	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVCLLNN FYPREKVQW KVDNALQSGN

		SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HAVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
19	人 CLk.D ⁴³ A/H ⁶¹ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK AKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
20	人 CLk.K ⁴¹ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW AVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
21	人 CLk.V ⁴² A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KADNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
22	人 CLk.N ⁴⁴ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
23	人 CLk.L ⁴⁶ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNAAQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
24	人 CLk.Q ⁴⁷ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALASGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
25	人 CLk.S ⁴⁸ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQAGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
26	人 CLk.N ⁵⁰ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGA SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
27	ANG 2 結合肽 X1=COCH ₃ X3 及 x10 = K _{ac} X24=NH ₂	xQxYQPLDEx DKTLYDQFML QQGx
28	人 CLk.L ⁷³ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTASKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
29	人 CLk.S ⁷⁴ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLAKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
30	人 CLk.K ⁷⁵ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSAADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
31	人 CLk.Y ⁷⁸ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADAEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
32	人 CLk.E ⁷⁹ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYAK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
33	人 CLk.H ⁸¹ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK AKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
34	人 CLk.V ⁸³ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HKAYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
35	人 CLk.Y ⁸⁴ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HKVAACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
36	人 CLk.R ¹⁰³ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNAGEC
37	人 CLk.D ⁷⁷ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKAAYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
38	人 CLk.D ⁷⁷ G	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN

		SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKAGYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
39	人 CLk.D ⁷⁷ V	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKAVYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
40	人 CLk.D ⁷⁷ L	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKALYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
41	人 CLk.D ⁷⁷ I	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKAIYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
42	人 CLk.D ⁷⁷ P	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKAPYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
43	人 CLk.D ⁷⁷ F	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKAFYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
44	人 CLk.D ⁷⁷ W	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKAWYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
45	人 CLk.D ⁷⁷ Y	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKAYYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
46	人 CLk.D ⁷⁷ H	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKAHYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
47	人 CLk.D ⁷⁷ M	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKAMYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
48	人 CLk.D ⁷⁷ C	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKACYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
49	人 CLk.D ⁷⁷ S	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKASYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
50	人 CLk.D ⁷⁷ T	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKATYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
51	人 CLk.D ⁷⁷ Q	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKAQYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
52	人 CLk.D ⁷⁷ N	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKANYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
53	人 CLk.D ⁷⁷ E	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKAEYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
54	人 CLk.D ⁷⁷ R	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKARYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
55	人 CLk.D ⁷⁷ K	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKAKYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
56	人 CLk.D ⁴³ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
57	人 CLλ	GQPKAAPSVT LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKADSSPVK AGVETTPSK QSNKYAASS YLSLTPEQWK SHRSYSCQVT HEGSTVEKTV APTEC
58	mCLκ	ADAAPTVSIF PPSSEQLTSG GASVVCFLNN FYPRDINVKW KIDGSRQNG VLNSWTDQDS KDSTYSMSST LTLTKDEYER HNSYTCEATH KTSTSPIVKS FNRNEC

59	hAb λ 測試 LC 輕鏈恆定區 (λ)	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVET TTPSKQSNKNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSQCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
60	hAb λ 測試-λ κ	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
61	hAb λ 測試-λ κ J	KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
62	hAbλ 測試 S ³¹ H/H ³² S	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVET TTPSKQSNKNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSQCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
63	2.12.1.fx Fab HC	QVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS DYYMSWIRQA PGKGLEWVS ISSSGSTRDY ADSVKGRFTI SRDNANKSLY LQMNSLRAED TAVYYCVRDG VETTFYYYYY GMDVWGQGT VTVSSASTKG PSVFPLAPCS RSTSESTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPPSN FGTQTYTCNV DHKPSNTKVD KTKVERKCCVE
64	h38C2-IgG1 LC	ELQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSLL HTYGSPYLNW YLQKPGQSPK LLIYKVSNNRF SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAV YFCSQGTSLP YTFGGGKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSSTYS SSSLTSLKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNREGC
65	h38C2-IgG1 HC	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYWMSWVRQS PEKGLEWVSE IRLRSDNYAT HYAESVKGRT TISRDNSKNT LYLMNSLRA EDTGIYYCKT YFYFSFYWGQ GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVTVTP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKRVKPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAP EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
66	h38C2-IgG2 HC	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYWMSWVRQS PEKGLEWVSE IRLRSDNYAT HYAESVKGRT TISRDNSKNT LYLMNSLRA EDTGIYYCKT YFYFSFYWGQ GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PCSRSTSEST AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVTVTP SSNFGTQTYT CNVDHKPSNT KVDKTVKRC CVCPPCPAP PVAGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCV VDVSHEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTFRV SVLTVVHQDW LNKKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKTKGQP REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPMLDSDGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPGK
67	VL h38C2	ELQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSLL HTYGSPYLNW YLQKPGQSPK LLIYKVSNNRF SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAV YFCSQGTSLP YTFGGGKVE IKR
68	VH h38C2	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYWMSWVRQS PEKGLEWVSE IRLRSDNYAT HYAESVKGRT TISRDNSKNT LYLMNSLRA EDTGIYYCKT YFYFSFYWGQ GTLVTVSS
69	VL m38C2	DVVMQTPLS LPVRLGDQAS ISCRSSQSLL HTYGSPYLNW YLQKPGQSPK LLIYKVSNNRF SGVPSRFSGS GSGTDFTLRI SRVEAEDLGV YFCSQGTSLP YTFGGGKLE IK
70	VH m38C2	EVQLVESGGG LVQPGGTMKL SCEISGLTFR NYWMSWVRQS PEKGLEWVAE IRLRSDNYAT HYAESVKGRT TISRDNSKNT LYLMNSLRA EDTGIYYCKY YFYFSFYWGQ GTLVTVSA
71	Trastuzumab HC	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFNIK DTYIHVVRQA PGKGLEWVAR IYPTNGYTRY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCSRWG GDGFYAMDYWGQGTSLTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKEP KSCDKHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLT LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
72	Trastuzumab VH	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFNIK DTYIHVVRQA PGKGLEWVAR IYPTNGYTRY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCSRWG

		GDGFYAMDYW GQGTLTVVSS
73	Trastuzumab CH	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVDS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSGDSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
74	Trastuzumab LC	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVN TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASFLYSGVPS RFGSGRSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYTPPTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSK STYLSSTLT LSKADYEKKH VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEK
75	Trastuzumab VL	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVN TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASFLYSGVPS RFGSGRSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYTPPTFGQ GTKVEIKR
76	Trastuzumab CL	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
77	Trastuzumab D77A CL	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKAA _Y EK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
78	Trastuzumab D77x CL X45=V/A; X77= A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W; X83=V/L	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDN _x LQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLKAA _x YEK HK _x YACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
79	(Gly, Ser),	GGGGSGGGG SGGGGG
80	测试肽-1	GRGDSPK
81	测试肽-2	DVPKSDQFVG LM
82	切割例	SKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS
83	胰蛋白酶切割 产物 1	ADYEK HK
84	胰蛋白酶切割 产物 2	HKVYACEVTH QGLSSPVTK
85	2.12.1.fx.LC.FOR	CAA CAA GAT CTG CCA CCA TGG ACA TGA GGG T
86	2.12.1.fx.LC.REV	CAA CAG CTA GCC TAA CAC TCT CCC CTG TTG A
87	L181A.FOR	CAA CAG GTC TCG GCC AGC AAA GCA GAC TAC GAG AA
88	L181A.REV	CAA CAG GTC TCC TGG CCG TCA GGG TGC TGC TGA G
89	TRAST.VL.FOR	CAA CAG GTC TCA GAT CTG CCA CCA TGG GAT GGA GC
90	TRAST.VL.REV	CAA CAG GTC TCA TCC GCT TGA TTT CCA CCT TG
91	TRAST.CL.D185A.FOR	CAA CAG GTC TCA CGG ACC GTG GCC GCT CC
92	TRAST.CL.D185A.REV	CAA CAG CTA GCC TAT CAG CAC TCG CCC CG
93	CL λ 一致 X6=N/A; X8=S/T; x23=K/S/R/Q/E; x37=A/V; X39=T/K; X46=S/G; x49=V/A/I; x50=K/E; x51=A/T; x57=T/K/A; x65=K/R/N; x80=K/Q; x83=K/R; x88=Q/L; x103=A/T	GQPKAxPxVT LFPPSSEELQ ANxATLVCLI SDFYPGxVxV AWKADxSPxx xGVETT _x PSK QSNNxYAASS YLSLTPEQWx SHxSYSCxVT HEGSTVEKTV APxECS
94	CL λ 一致 S81K X6=N/A; X8=S/T; x23=K/S/R/Q/E; x37=A/V; X39=T/K; X46=S/G; x49=V/A/I; x50=K/E; x51=A/T;	GQPKAxPxVT LFPPSSEELQ ANxATLVCLI SDFYPGxVxV AWKADxSPxx xGVETT _x PSK QSNNxYAASS YLSLTPEQWx KHxSYSCxVT HEGSTVEKTV APxECS

	x57=T/K/A; x65=K/R/N; x80=K/Q; x83=K/R; x88=Q/L; x103=A/T	
95	CLλ一致 K80X/S81K X6=N/A; X8=S/T; x23=K/S/R/Q/E; x37=A/V; X39=T/K; X46=S/G; x49=V/A/I; x50=K/E; x51=A/T; x57=T/K/A; x65=K/R/N; x80= G·A· I·L·V·S·T·M·N·Q· F·Y·W·D 或 E; x83=K/R; x88=Q/L; x103=A/T	GQPKAxPxVT LFPPSSEELQ ANxATLVCLI SDFYPGxVxV AWKADxSPxx xGVETTxxPSK QSNNxYAASS YLSLTPEQWx KHxSYSCxVT HEGSTVEKTV APxECS
96	CLλ一致 E77x/ S81Δ X6=N/A; X8=S/T; x23=K/S/R/Q/E; x37=A/V; X39=T/K; X46=S/G; x49=V/A/I; x50=K/E; x51=A/T; x57=T/K/A; x65=K/R/N; x ⁷⁷ = R/L/S/G/Q/P/N/V/I/T/ M; x83=K/R; x88=Q/L; x103=A/T	GQPKAxPxVT LFPPSSEELQ ANxATLVCLI SDFYPGxVxV AWKADxSPxx xGVETTxxPSK QSNNxYAASS YLSLTPxQWx -HxSYSCxVT HEGSTVEKTV APxECS
97	CLλ一致 E ⁷⁷ x/K ⁸⁰ X/S ⁸¹ K X6=N/A; X8=S/T; x23=K/S/R/Q/E; x37=A/V; X39=T/K; X46=S/G; x49=V/A/I; x50=K/E; x51=A/T; x57=T/K/A; x65=K/R/N; x ⁷⁷ = R· L·S·G·Q·P·N·V· I·T 及 M x80= G·A·I·L·V·S· T·M·N·Q·F·Y·W·D 或 E; x83=K/R; x88=Q/L; x103=A/T	GQPKAxPxVT LFPPSSEELQ ANxATLVCLI SDFYPGxVxV AWKADxSPxx xGVETTxxPSK QSNNxYAASS YLSLTPxQWx KHxSYSCxVT HEGSTVEKTV APxECS
98	X ¹ =任何 aa; X ² =A·G·I· V·L·R·S·T·Q·P·N· M·H·W; X ³ =任何 aa; X ⁴ = 任何 aa	xxxxKH
99	X ¹ =任何 aa; X ² =A·G· I·L·R·S·T·P·N· M; X ³ =任何 aa; X ⁴ = 任何 aa	xxxxKH
100	X ¹ =任何 aa; X ² =A·G· I·L·S·T·P·M; X ³ = 任何 aa; X ⁴ =任何 aa	xxxxKH
101	X ³ =A·G·I·V·L·R·S· T·Q·P·N·M·H·W	KAxYEKH
102	X ³ =A·G·I·L·R·S·T· P·N·M	KAxYEKH
103	X ³ =A·G·I·L·S·T·P· M	KAxYEKH

104	hCLκ 1-106 X ⁴⁵ =V/A X ⁷⁷ =A·G·I·V·L·R·S· S·T·Q·P·N·M·H·W·; X ⁸² =任何AA; X ⁸³ =L/V	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDN x LQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKAXYEK HxxYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
105	hCLκ 1-106 X ⁴⁵ =V/A X ⁷⁷ =A·G·I·L·R·S· T·P·N·M; X ⁸² =任何AA; X ⁸³ =L/V	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDN x LQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKAXYEK HxxYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
106	hCLκ 1-106 X ⁴⁵ =V/A X ⁷⁷ =A·G·I·L·S·T· P·M; X ⁸² =任何AA; X ⁸³ =L/V	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDN x LQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKAXYEK HxxYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
107	人 CLk.D ⁴³ E	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVENALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
108	人 CLk.D ⁴³ N	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVNNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
109	人 CLk.D ⁴³ L	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVLNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
110	人 CLk.H ⁸¹ N	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK NKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
111	人 CLk.H ⁸¹ Q	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK QKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
112	人 CLk.H ⁸¹ Y	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK YKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
113	人 CLk.H ⁸¹ W	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK WKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
114	人 CLk.H ⁸¹ F	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADYEK FKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
115	X ¹ =任何aa; X ² =任何aa; X ³ =A·G·I·V·L·R·S· T·Q·P·N·M·H·W; X ⁴ = 任何aa; X ⁵ =任何aa	xxxxxKH
116	X ¹ =任何aa; X ² =任何aa; X ³ =A·G·I·L·R·S·T· P·N·M; X ⁴ =任何aa; X ⁵ = 任何aa	xxxxxKH
117	X ¹ =任何aa; X ² =任何aa; X ³ =A·G·I·L·S·T·P· M; X ⁴ =任何aa; X ⁵ =任何aa	xxxxxKH
118	X ¹ =任何aa; X ² =任何aa; X ³ =A·G·I·V·L·R·S· T·Q·P·N·M·H·W; X ⁴ = 任何芳香性氨基酸; X ⁵ =任何aa	xxxxxKH
119	hCLκ 1-106 x43=D·E·	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDN x LQSGN

	N·Q; X ⁴⁵ =V/A; x76=任何 aa; x ⁷⁷ = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H·W; x78=任何 aa; x79=任何 aa; X ⁸² =任何 AA; X ⁸³ =L/V	SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKxxxxK HxxYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
120	hCLκ 1-106 x43=D·E·N·Q; X ⁴⁵ =V/A; x76=任何 aa; x ⁷⁷ = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H·W; x78=任何芳香性 aa; x79=任何 aa; X ⁸² =任何 AA; X ⁸³ =L/V	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDN _x LQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKxxxxK HxxYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
121	hCLκ 1-106 x43=D·E·N·Q; X ⁴⁵ =V/A; x76=任何 aa; x ⁷⁷ = A·G·I·L·S·T·P·M; x78=任何 aa; x79=任何 aa; X ⁸² =任何 AA; X ⁸³ =L/V	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDN _x LQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKxxxxK HxxYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
122	hCLκ 1-106 x43=D·E·N·Q; X ⁴⁵ =V/A; x76=任何 aa; x ⁷⁷ = A·G·I·L·S·T·P·M; x78=任何芳香性 aa; x79=任何 aa; X ⁸² =任何 AA; X ⁸³ =L/V	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDN _x LQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKxxxxK HxxYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
123	X ¹ =任何 aa; X ² =A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M; X ³ =任何 aa; X ⁴ =任何 aa	xxxxKH
124	X ¹ =任何 aa; X ² =A·G·I·V·L·R·S·T·P·M; X ³ =任何 aa; X ⁴ =任何 aa	xxxxKH
125	X ¹ =任何 aa; X ² =A·G·I·V·L·S·T·M; X ³ =任何 aa; X ⁴ =任何 aa	xxxxKH
126	X ¹ =任何 aa; X ² =A·G·I·L·S·T·M; X ³ =任何 aa; X ⁴ =任何 aa	xxxxKH
127	κ 輕鍵 D ⁴⁵ A/D ⁷⁷ A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KV _A NALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKA _A YEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
128	人 CLk D77A/H81A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKA _A YEK <u>A</u> KVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
129	人 CLk D43A/D77A/H81A	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KV _A NALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKA _A YEK <u>A</u> KVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
130	兔 CLκ	RDPVAPTCLI FPPAADQVAT GTVTIVCVAN KYFPDVTVTW EV <u>D</u> GTTQTG IENSKTPQNS ADCTYNLSST LTLTSTQYNS <u>H</u> KEYTCKVTQ GTTSVVQSFN RGDC
131	兔恒定重鍵 rCH	GQPKAPSVFP LAPCCGDTPS STVTLGCLVK GYLPEPVTVT WNSGTLTNGV RTFPSVRQSS GLYLSSSVVS VTSSSQPVTC NVAHPATNTK VDKTVAPSTC SKPTCPPPEL LGGPSVFIFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSQDDPEVQ FTWYINNEQV RTARPPLREQ QFNSTIRVVS TLPIAHQDWL RGKEFKCKVH

		NKALPAPIEK TISKARGQPL EPKVYTMGPP REELSSRSVS LTCMINGFYP SDISVEWEKN GKAEDNYKTT PAVLSDSGSY FLYSKLSVPT SEWQRGDVFT CSVMHEALHN HYTQKSISRS PGK
132	Trastuzumab -兔 k1 嵌合物 (可變結構域) rTrast-LC	<u>DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVN TAVAWYQQKPKAPKLLIYS</u> <u>ASFLYSGVPS RFGSGRSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYTTPPTFGQ</u> <u>GTHVEIKRDP VAPTVLIFPP AADQVATGTV TIVCVANKYF PDVTVTWEVD</u> <u>GTTQTGTGIEN SKTPQNSADC TYNLSSTLT L TSTQYNHKE YTCKVTQGT</u> <u>SVVQSFNRGD C</u>
133	Trastuzumab -兔 IgG 嵌合物 (可變結構域) rTrast-HC	<u>EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFNIK DTIYHWVRQA PGKGLEWVAR</u> <u>IYPTNGYTRY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCSRWG</u> <u>GDGFYAMDYWGQGTLTIVSS GQPKAPSVFP LAPCCGDTPS STVTLGCLVK</u> <u>GYLPEPVTVT WNSGTLTNGV RTFSPVRQSS GLYSLSSVVS VTSSSQPVTC</u> <u>NVAHPATNTK VDKTVA PSTC SKPTCPPPEL LGGPSVFIFP PKPKDTLMIS</u> <u>RTPEVTCVVV DVSQDDPEVQ FTWYINNEQV RTARPPLEQ QFNSTIRVVS</u> <u>TLPIAHQDWL RGKEFKCKVH NKALPAPIEK TISKARGQPL EPKVYTMGPP</u> <u>REELSSRSVS LTCMINGFYP SDISVEWEKN GKAEDNYKTT PAVLSDSGSY</u> <u>FLYSKLSVPT SEWQRGDVFT CSVMHEALHN HYTQKSISRS PGK</u>
134	兔 CL κ -S80K	RDPVAPTCLI FPPAADQVAT GTVTIVCVAN KYFPDVTVTW EVDGTTQTG IENSKTPQNS ADCTYNLSST LTLTSTQYNK HKEYTCKVTQ GTTSVVQSFN RGDC
135	Trastuzumab -兔 k1 嵌合物 S188K (可變結構域) rTrastLC-[rCL κ -S80K]	<u>DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVN TAVAWYQQKPKAPKLLIYS</u> <u>ASFLYSGVPS RFGSGRSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYTTPPTFGQ</u> <u>GTHVEIKRDP VAPTVLIFPP AADQVATGTV TIVCVANKYF PDVTVTWEVD</u> <u>GTTQTGTGIEN SKTPQNSADC TYNLSSTLT L TSTQYNKHKE YTCKVTQGT</u> <u>SVVQSFNRGD C</u>
136	hIL22 LC	QAVLTQPPSV SGAPGQRVTI SCTGSSSNIG AGYGVHWYQQ LPGTAPKLLI YGDSNRPSGV PDRFSGSKSG TSASLAITGL QAEDADYYC QSYDNLSGY VFGGGTQLTV LGQPKAAPSV TLFPPSSEEL QANKATLVCL ISDFYPGAVT VAWKADSSPV KAGVETTTTPS QSNKNKYAAS SYLSLTPEQW KSHRSYSQCQV THEGSTVEKT VAPTECS
137	hIL22 HC	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYYMHWVRQA PGQGLEWVGW INPYTGSAFY AQKFRGRVTM TRDTSISTAY MELSLRLSDD TAVYYCAREP EKFDSDSDV WGRGTLVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCDKHTC PPCPAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRE EMTKNQVSLT CLVKGFPYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTTP VLDSGGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K
138	hIL22 VL	QAVLTQPPSV SGAPGQRVTI SCTGSSSNIG AGYGVHWYQQ LPGTAPKLLI YGDSNRPSGV PDRFSGSKSG TSASLAITGL QAEDADYYC QSYDNLSGY VFGGGTQLTV L
139	hIL22 λ 恒定	GQPKAAPSVT LFPSSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKADSSPVK AGVETTTTPSK QSNKNKYAASS YLSLTPEQWK SHRSYSQCQT HEGSTVEKT VAPTECS
140	hIL22-[CLA-S ⁸¹ K]	GQPKA APSVTLFPPS SEELQANKAT LVCLISDFYP GAVTVAWKAD SSPVKAGVET TTPSKQSNK YAASSYLSLT PEQWK K HRSY SCQVTHEGST VEKTVAPECS S
141	hIL22- [CLA-Q ⁷⁹ A /S ⁸¹ K]	GQPKA APSVTLFPPS SEELQANKAT LVCLISDFYP GAVTVAWKAD SSPVKAGVET TTPSKQSNK YAASSYLSLT PE A WK K HRSY SCQVTHEGST VEKTVAPECS S

142	hIL22-[CLA-A ⁴⁴ V/S ⁹¹ K]	GQPKA APSVTLFPPS SEELQANKAT LVCLISDFYP GAVTVAWKVD SSPVKAGVET TTPSKQSNK YAASSYLSLT PEQWK K HRSY SCQVTHEGST VEKTVAPTEC S
143	hIL22- [CLA-A ⁴⁴ V/Q ⁷⁸ A/S ⁹¹ K]	GQPKA APSVTLFPPS SEELQANKAT LVCLISDFYP GAVTVAWKVD SSPVKAGVET TTPSKQSNK YAASSYLSLT PE A WK K HRSY SCQVTHEGST VEKTVAPTEC S
144	hIL22- [CLA-λ ⁷⁶⁻⁸⁴ /145]	GQPKA APSVTLFPPS SEELQANKAT LVCLISDFYP GAVTVAWKAD SSPVKAGVET TTPSKQSNK YAASSYLSLT KAAYEKHKV Y SCQVTHEGST VEKTVAPTEC S
145	CLk 9-aa 圈環	KAAYEKHKV
146	Trastuzumab LC K188A (可變結構域)	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVN TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASFLYSGVPS RFSGSRSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYTTPTPTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSTLT LSKADYE A HK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEK
147	hIGg1-CH1	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHNKPS NTKVDKKV
148	hIGg1-CH1-m1	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSEKHKV YICNVNHNKPS NTKVDKKV
149	hIGg1-CH1-m1-D44	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSD G ALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSE E KHK VYICNVNHNKPS NTKVDKKV
150	hIGg1-CH1-m2	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSY E KHK VYICNVNHNKPS NTKVDKKV
151	hIGg1-CH1-m2-D44	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSD G ALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSY E KH K V YICNVNHNK PSNTKVDKKV
152	hIGg1-CH1 Δ片段	LGTQT
153	M1 插入片段	EKKHV
154	M2 插入片段	YEKKHV
155	hIGg1-CH2	APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK
156	hIGg1-CH2m	APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWL K HKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK
157	hIGg1-H3	GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVNHE ALHNHYTQKS LSLSPGK
158	hIGg1-CH3m	GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRW Q KH NVFSCSVNHE ALHNHYTQKS LSLSPGK
159	Trastuzumab CH1-m2	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFNIK DTYIHVWRQA PGKGLEWVAR IYPTNGYTRY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCSRWG GDGFYAMDYV GQGTLVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSY E KHK VYICNVNHNKPS NTKVDKKVE PKSCDKHTC PPCAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRE EMTKNQVSLT CLVKGFPYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTTP VLDSGDSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K
160	Trastuzumab CH1-m1-D44	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFNIK DTYIHVWRQA PGKGLEWVAR IYPTNGYTRY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCSRWG GDGFYAMDYV GQGTLVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSD G ALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSE E KHK VYICNVNHNKPS NTKVDKKVE PKSCDKHTC PPCAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRE EMTKNQVSLT CLVKGFPYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTTP

		VLDSDGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K
161	Trastuzumab CH1-m2-D44	<u>EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFNIK DTYIHVWRQA PGKGLEWVAR</u> <u>IYPTNGYTRY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCSRWG</u> <u>GDGFYAMDYW GQGTLLTVSS</u> ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSDGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSY <u>EKH</u> KYYICNVNHNK PSNTKVDKKV EPKSCDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKKEYCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR EEMTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTP PVLDSGDSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK
162	Trastuzumab CH2m	<u>EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFNIK DTYIHVWRQA PGKGLEWVAR</u> <u>IYPTNGYTRY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCSRWG</u> <u>GDGFYAMDYW GQGTLLTVSS</u> ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHNKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWL <u>KHK</u> EYCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
163	Trastuzumab CH3m	<u>EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFNIK DTYIHVWRQA PGKGLEWVAR</u> <u>IYPTNGYTRY ADSVKGRFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCSRWG</u> <u>GDGFYAMDYW GQGTLLTVSS</u> ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHNKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW <u>QKHN</u> VFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
164	Ex4 同系物x2係 Aib X14=KSH	HxEGTFTSDL SKQ <u>x</u> EEEA VR LFIEWLKNGG PSSGAPPPS
165	hIgG1-CH1- T78K/Q79K/CD 圈環 交換	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WKVDNALATS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTPSSS <u>EKH</u> KYYICNVNHNK PSNTKVDKKV
166	hIgG1-CH1-CD插入	KVDNALA
167	hIgG1-CH2m- D82A/N85K/G86H	APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QAWL <u>KH</u> KEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK
168	hIgG1-CH3m-CD1/EF	GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WEVDGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSAWQ <u>KH</u> NVFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSPGK
169	hIgG1-CH3m-CD2/EF	GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WELEGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSAWQ <u>KH</u> NVFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSPGK
170	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E, G, P. X ² =A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E, G, P; X ⁴ = A, V, L, I, F,	xxxxKH X1 X3 X4 不是 cys

	W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E, G, P;	
171	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E, G. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E, G; X ⁴ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E, G;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 Cys, Pro
172	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 Cis, Pro, Gly
173	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X3 不是 A 或 V
174	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = L, I, F, W, Y, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X3 不是 A 或 V, S 或 T
175	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = L, I, F, W, Y, N, Q, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X3 不是 A, V, S 或 T, M, K, R, H
176	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q,	xxxxKH

	K, R, H, D, E. X^2 = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X^3 = L, I, F, W, Y, X^4 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	X1 X3 X4 不是 C, P, G X3 不是 C, G, P, A, V, S 或 T, M, K, R, H, N, Q, D, 或 E;
177	X^1 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X^2 = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X^3 = L, I, F, W, Y, X^4 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X3 是 Y 或 W
178	X^1 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X^2 = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X^3 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E; X^4 = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X4 不是 F, Y, W
179	X^1 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X^2 = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X^3 = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, D, E; X^4 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X4 不是 F, W, Y, H
180	X^1 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X^2 = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X^3 = L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E; X^4 = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X3 不是 A 或 V X4 不是 F, Y, W
181	X^1 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X^2 = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X^3 = L, I, F, W, Y, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X3 不是 A 或 V, S 或 T X4 不是 F, Y, W

	X ⁴ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	
182	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = L, I, F, W, Y, N, Q, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X3 不是 A, V, S 或 T, M, K, R, H X4 不是 F, Y, W, 或 H
183	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = L, I, F, W, Y, X ⁴ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X3 不是 C, G, P, A, V, S 或 T, M, K, R, H, N, Q, D, 或 E; X4 不是 F, Y, W, 或 H
184	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = L, I, F, W, Y, X ⁴ = N, Q, K, R, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X3 是 Y 或 W X4 是 E, K, D, R, N, 或 Q.
185	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = N, Q, K, R, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X4 是 E, K, D, R, N, 或 Q.
186	X ¹ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X1 不是芳香性
187	X ¹ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = A, V, L, I, F,	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X1 不是芳香性或 K

	W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	
188	X ¹ = A, V, L, I, S, T, M, N. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 c, p, g X1 不是芳香性或 K, 或帶電荷
189	X ¹ = A, V, L, I, M. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X1 是親水性
190	X ¹ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X1 不是芳香性 X4 不是 F, Y, W
191	X ¹ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X1 不是芳香性 X4 不是 F, W, Y, H
192	X ¹ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X1 不是芳香性 X3 不是 A 或 V X4 不是 F, Y, W
193	X ¹ = A, V, L, I, S,	xxxxKH

	T, M, N, Q, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = L, I, F, W, Y, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	X1 X3 X4 不是 C, P, G X1 不是芳香性或 K X3 不是 A 或 V, S 或 T X4 不是 F, Y, W
194	X ¹ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = L, I, F, W, Y, N, Q, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, D, E;	xxxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X1 不是芳香性, K 或帶電荷 X3 不是 A, V, S 或 T, M, K, R, H X4 不是 F, Y, W, 或 H
195	X ¹ = A, V, L, I. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = L, I, F, W, Y, X ⁴ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, D, E;	xxxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X1 是親水性 X3 不是 C, G, P, A, V, S 或 T, M, K, R, H, N, Q, D, 或 E; X4 不是 F, Y, W, 或 H
196	X ¹ = A, V, L, I. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = L, I, F, W, Y, X ⁴ = N, Q, K, R, D, E;	xxxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X1 是親水性 X3 是 Y 或 W X4 是 E, K, D, R, N, 或 Q.
197	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H. X ³ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X2 不是 W X4 不是 F, Y, W
198	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W. X ³ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X2 不是 W X4 不是 F, W, Y, H
199	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E, G, P.	xxxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G

	$X^2 = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W.$ $X^3 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E, G, P;$ $X^4 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E, G, P;$	X^2 不是 W
200	$X^1 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E, G.$ $X^2 = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W.$ $X^3 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E, G;$ $X^4 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E, G;$	xxxxxKH $X^1 X^3 X^4$ 不是 C, P, G X^2 不是W
201	$X^1 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E.$ $X^2 = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W.$ $X^3 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;$ $X^4 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;$	xxxxxKH $X^1 X^3 X^4$ 不是 C, P, G X^2 不是W
202	$X^1 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E.$ $X^2 = A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W.$ $X^3 = L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;$ $X^4 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;$	xxxxxKH $X^1 X^3 X^4$ 不是 C, P, G X^2 不是W X^3 不是 A 或 V
203	$X^1 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E.$ $X^2 = A, G, V, S, T, Q, P, N, M, H.$ $X^3 = L, I, F, W, Y, M, N, Q, K, R, H, D, E;$ $X^4 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;$	xxxxxKH $X^1 X^3 X^4$ 不是 C, P, G X^2 不是 W, I, L, R X^3 不是 A 或 V, S 或 T
204	$X^1 = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E.$ $X^2 = A, G, V, S, T, Q, P, N, M, H.$ $X^3 = L, I, F, W, Y, N, Q, D, E;$	xxxxxKH $X^1 X^3 X^4$ 不是 C, P, G X^2 不是 W, I, L, R X^3 不是 A, V, S 或 T, M, K, R, H

	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	
205	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, S, T, P, M. X ³ = L, I, F, W, Y, X ⁴ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X2 是 A, G, P, S, T, M X3 不是 C, G, P, A, V, S 或 T, M, K, R, H, N, Q, D, 或 E;
206	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, S, T, P, M. X ³ = L, I, F, W, Y, X ⁴ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X2 是 A, G, P, S, T, M X3 是 Y 或 W
207	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, S, T, P, M. X ³ = L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X2 是 A, G, P, S, T, M X3 不是 A 或 V X4 不是 F, Y, W
208	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, S, T, P, M. X ³ = L, I, F, W, Y, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X2 是 A, G, P, S, T, M X3 不是 A 或 V, S 或 T X4 不是 F, Y, W
209	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, S, T, P, M. X ³ = L, I, F, W, Y, N, Q, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X2 是 A, G, P, S, T, M X3 不是 A, V, S 或 T, M, K, R, H X4 不是 F, Y, W, 或 H
210	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, S, T, P, M. X ³ = L, I, F, W, Y, X ⁴ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X2 是 A, G, P, M, S, T X3 不是 C, G, P, A, V, S 或 T, M, K, R, H, N, Q, D, 或 E; X4 不是 F, Y, W, 或 H
211	X ¹ = A, V, L, I, F,	xxxxKH

	W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, S, T, P, M. X ³ = L, I, F, W, Y, X ⁴ = N, Q, K, R, D, E;	X1 X3 X4 不是 C, P, G X2 是 A, G, P, M, S, T X3 是 Y 或 W X4 是 E, K, D, R, N, 或 Q.
212	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, S, T, Q, P, N, M, H. X ³ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = N, Q, K, R, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X2 不是 W 或 R, X4 是 E, K, D, R, N, 或 Q.
213	X ¹ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, S, T, Q, P, N, M, H. X ³ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G W2 不是 W 或 R X1 不是芳香性
214	X ¹ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, S, T, Q, P, N, M, H. X ³ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X1 不是芳香性或 K X2 不是 W 或 R
215	X ¹ = A, V, L, I, S, T, M, N. X ² = A, G, I, V, L, S, T, Q, P, N, M, H. X ³ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X1 不是芳香性或 K, 或帶電荷 X2 不是 W 或 R
216	X ¹ = A, V, L, I, M. X ² = A, G, I, V, L, S, T, Q, P, N, M, H. X ³ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X1 是親水性 X2 不是 W 或 R
217	X ¹ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, I, V, L, S, T, Q, P, N, M, H.	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X1 不是芳香性 X2 不是 W 或 R

	$X^3 = A, V, L, I, F,$ $W, Y, S, T, M, N, Q,$ $K, R, H, D, E;$ $X^4 = A, V, L, I, S,$ $T, M, N, Q, K, R, H,$ $D, E;$	X_4 不是 F, Y, W
218	$X^1 = A, V, L, I, S,$ $T, M, N, Q, K, R, H,$ $D, E.$ $X^2 = A, G, I, V, L,$ $S, T, Q, P, N, M, H.$ $X^3 = A, V, L, I, S,$ $T, M, N, Q, K, R, D,$ $E;$ $X^4 = A, V, L, I, F,$ $W, Y, S, T, M, N, Q,$ $K, R, H, D, E;$	xxxxxKH $X_1 X_3 X_4$ 不是 C, P, G X_1 不是芳香性 X_2 不是 W, 或 R X_4 不是 F, W, Y, H
219	$X^1 = A, V, L, I, S,$ $T, M, N, Q, K, R, H,$ $D, E.$ $X^2 = A, G, I, V, L,$ $S, T, Q, P, N, M, H.$ $X^3 = L, I, F, W, Y,$ $S, T, M, N, Q, K, R,$ $H, D, E;$ $X^4 = A, V, L, I, S,$ $T, M, N, Q, K, R, H,$ $D, E;$	xxxxxKH $X_1 X_3 X_4$ 不是 C, P, G X_1 不是芳香性 不是 W 或 R X_3 不是 A 或 V X_4 不是 F, Y, W
220	$X^1 = A, V, L, I, S,$ $T, M, N, Q, R, H, D,$ $E.$ $X^2 = A, G, I, V, L,$ $S, T, Q, P, N, M, H.$ $X^3 = L, I, F, W, Y,$ $M, N, Q, K, R, H, D,$ $E;$ $X^4 = A, V, L, I, S,$ $T, M, N, Q, K, R, H,$ $D, E;$	xxxxxKH $X_1 X_3 X_4$ 不是 C, P, G X_1 不是芳香性或 K X_2 不是 W 或 R X_3 不是 A 或 V, S 或 T X_4 不是 F, Y, W
221	$X^1 = A, V, L, I, S,$ $T, M, N, Q.$ $X^2 = A, G, S, T, M.$ $X^3 = L, I, F, W, Y,$ $N, Q, D, E;$ $X^4 = A, V, L, I, S,$ $T, M, N, Q, K, R, D,$ $E;$	xxxxxKH $X_1 X_3 X_4$ 不是 C, P, G X_1 不是芳香性, K 或帶電荷 X_2 是 A, G, P, S, T, M X_3 不是 A, V, S 或 T, M, K, R, H X_4 不是 F, Y, W, 或 H
222	$X^1 = A, V, L, I.$ $X^2 = A, G, S, T, M.$ $X^3 = L, I, F, W, Y,$ $X^4 = A, V, L, I, S,$ $T, M, N, Q, K, R, D,$ $E;$	xxxxxKH $X_1 X_3 X_4$ 不是 C, P, G X_1 是親水性 X_2 是 A, G, P, S, T, M X_3 不是 C, G, P, A, V, S 或 T, M, K, R, H, N, Q, D, 或 E; X_4 不是 F, Y, W, 或 H
223	$X^1 = A, V, L, I.$ $X^2 = A, G, S, T, M.$ $X^3 = L, I, F, W, Y,$ $X^4 = N, Q, K, R, D,$ $E;$	xxxxxKH $X_1 X_3 X_4$ 不是 C, P, G X_2 是 A, G, P, S, T, M X_1 是親水性

		X3 是 Y 或 W X4 是 E, K, D, R, N, 或 Q.
224	X ¹ = A, V, L, I, F, W, Y, S, T, M, N, Q, K, R, H, D, E. X ² = A, G, S, T, M. X ³ = L, I, F, W, Y, N, Q, D, E; X ⁴ = A, V, L, I, S, T, M, N, Q, K, R, D, E;	xxxxKH X1 X3 X4 不是 C, P, G X2 是 A, G, P, S, T, M X3 不是 A, V, S 或 T, M, K, R, H X4 不是 F, Y, W, 或 H
225	hCLx 1-75 x42=V, I, L, x43=D, E, N, Q; X ⁴⁵ =V/A; x75= 任何氨基酸	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYFPREAKVQW KxxN _x LQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSLST LTLsx
226	hCLx 81-106 X ¹ = 任何 AA; X ² =L/V	xYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
227	CLλ 一致 1-76 X6=N/A; X8=S/T; x23=K/S/R/Q/E; x37=A/V; X39=T/K; X46=S/G; x49=V/A/I; x50=K/E; x51=A/T; x57=T/K/A; x65=K/R/N;	GQPKAxPxVT LFPPSSEELQ ANxATLVCLI SDFYPGxVxV AWKADxSPxx xGVETT _x PSK QSNNxYAASS YLSLTP
228	CLλ 一致 1-76, x44 inc A X6=N/A; X8=S/T; x23=K/S/R/Q/E; x37=A/V; X39=T/K; X44 是 A, V, I, L X46=S/G; x49=V/A/I; x50=K/E; x51=A/T; x57=T/K/A; x65=K/R/N;	GQPKAxPxVT LFPPSSEELQ ANxATLVCLI SDFYPGxVxV AWKx _D SPxx xGVETT _x PSK QSNNxYAASS YLSLTP
229	CLλ 一致 1-76, X44 不是 A X6=N/A; X8=S/T; x23=K/S/R/Q/E; x37=A/V; X39=T/K; x44= V, I L X46=S/G; x49=V/A/I; x50=K/E; x51=A/T; x57=T/K/A; x65=K/R/N;	GQPKAxPxVT LFPPSSEELQ ANxATLVCLI SDFYPGxVxV AWKx _D SPxx xGVETT _x PSK QSNNxYAASS YLSLTP
230	CLλ 一致 1-76, X44 =V X6=N/A; X8=S/T; x23=K/S/R/Q/E; x37=A/V; X39=T/K; X46=S/G; x49=V/A/I; x50=K/E; x51=A/T; x57=T/K/A; x65=K/R/N;	GQPKAxPxVT LFPPSSEELQ ANxATLVCLI SDFYPGxVxV AWKVDxSPxx xGVETT _x PSK QSNNxYAASS YLSLTP
231	CLλ 1-76 X44 是 A, V, I, L	GQPKAAPSVT LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKx _D SSPVK AGVETTTPSK QSNNKYAASS YLSLTP
232	CLλ 1-76 X44 是 V, I, L	GQPKAAPSVT LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKx _D SSPVK AGVETTTPSK QSNNKYAASS YLSLTP

233	CLΛ 1-76 X44 是 V	GQPKAAPSVT LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKVDSSPVK AGVETTTTSPK QSNKYAASS YLSLTP
234	CLΛ 一致 83-103 x1=K/R; x6=Q/L; x21=A/T	xSYSCxVTHE GSTVEKTVAP xECS
235	CLΛ 83-103	RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TECS
236	CLΛ 一致 S81K, x44= AVIL, X6=N/A; X8=S/T; x23=K/S/R/Q/E; x37=A/V; X39=T/K; x44 A, V, I, L X46=S/G; x49=V/A/I; x50=K/E; x51=A/T; x57=T/K/A; x65=K/R/N; Q78=A/Q x80=K/Q; x83=K/R; x88=Q/L; x103=A/T	GQPKAxPxVT LFPPSSEELQ ANxATLVCLI SDFYPGxVxV AWKxDxSPxx xGVETTxxPSK QSNNxYAASS YLSLTPExWx KHxSYSCxVT HEGSTVEKTV APxECS
237	CLΛ 一致 S81K, x44= VIL, X6=N/A; X8=S/T; x23=K/S/R/Q/E; x37=A/V; X39=T/K; x44 V, I, L X46=S/G; x49=V/A/I; x50=K/E; x51=A/T; x57=T/K/A; x65=K/R/N; X78=A/Q x80=K/Q; x83=K/R; x88=Q/L; x103=A/T	GQPKAxPxVT LFPPSSEELQ ANxATLVCLI SDFYPGxVxV AWKxDxSPxx xGVETTxxPSK QSNNxYAASS YLSLTPExWx KHxSYSCxVT HEGSTVEKTV APxECS
238	CLΛ 一致 S81K, x44= V, X6=N/A; X8=S/T; x23=K/S/R/Q/E; x37=A/V; X39=T/K; X46=S/G; x49=V/A/I; x50=K/E; x51=A/T; x57=T/K/A; x65=K/R/N; x78=A/Q x80=K/Q; x83=K/R; x88=Q/L; x103=A/T	GQPKAxPxVT LFPPSSEELQ ANxATLVCLI SDFYPGxVxV AWKVDxSPxx xGVETTxxPSK QSNNxYAASS YLSLTPExWx KHxSYSCxVT HEGSTVEKTV APxECS
239	CLΛ 一致 S81K, x44= AVIL, A78 X6=N/A; X8=S/T; x23=K/S/R/Q/E; x37=A/V; X39=T/K; x44 A, V, I, L X46=S/G; x49=V/A/I; x50=K/E; x51=A/T; x57=T/K/A; x65=K/R/N; x80=K/Q; x83=K/R; x88=Q/L; x103=A/T	GQPKAxPxVT LFPPSSEELQ ANxATLVCLI SDFYPGxVxV AWKxDxSPxx xGVETTxxPSK QSNNxYAASS YLSLTPEAWx KHxSYSCxVT HEGSTVEKTV APxECS
240	CLΛ 一致 S81K, X44= VIL, A78 X6=N/A; X8=S/T; x23=K/S/R/Q/E; x37=A/V; X39=T/K; x44 V, I, L X46=S/G; x49=V/A/I;	GQPKAxPxVT LFPPSSEELQ ANxATLVCLI SDFYPGxVxV AWKxDxSPxx xGVETTxxPSK QSNNxYAASS YLSLTPEAWx KHxSYSCxVT HEGSTVEKTV APxECS

	x50=K/E; x51=A/T; x57=T/K/A; x65=K/R/N; x80=K/Q; x83=K/R; x88=Q/L; x103=A/T	
241	CLΛ 一致 S81K, x44= V, A78 X6=N/A; X8=S/T; x23=K/S/R/Q/E; x37=A/V; X39=T/K; X46=S/G; x49=V/A/I; x50=K/E; x51=A/T; x57=T/K/A; x65=K/R/N; x80=K/Q; x83=K/R; x88=Q/L; x103=A/T	GQPKAxPxVT LFPPSSEELQ ANxATLVCLI SDFYPGxVxV AWKVDxSPxx xGVETTxxPSK QSNNxYAASS YLSLTPEAWx KHxSYSCxVT HEGSTVEKTV APxECS
242	CLΛ X44 是 A, V, I, L X78 是 A.	GQPKAAPSVT LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKxDSPPVK AGVETTTPSK QSNNKYAASS YLSLTPExWK KHRSYSCQVT HEGSTVEKTV APTECS
243	CLΛ X44 是 V, I, L X78 是 A	GQPKAAPSVT LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKxDSPPVK AGVETTTPSK QSNNKYAASS YLSLTPExWK KHRSYSCQVT HEGSTVEKTV APTECS
244	CLΛ X44 是 V X78 是 A	GQPKAAPSVT LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV AWKVDSSPVK AGVETTTPSK QSNNKYAASS YLSLTPExWK KHRSYSCQVT HEGSTVEKTV APTECS
245	CD 模體 (motif) X1 是 V, I 或 L X2 是 D, N, Q, E X3, x4 是任何 AA	xxxx
246	CD 模體 (motif) X1 是 V 或 I X2 是 D, N, Q, E X3, x4 是任何 AA	xxxx
247	CD 模體 (motif) X2 是 D, N, Q, E X3, x4 是任何 AA	Vxxx
248	CD 模體 (motif) X1 是 V, I 或 L X2 是 D, 或 N X3, x4 是任何 AA	xxxx
249	CD 模體 (motif) X1 是 V, I 或 L X2 是 Q 或 E X3, x4 是任何 AA	xxxx
250	CD 模體 (motif) X1 是 V, I 或 L X3, x4 是任何 AA	xDxx
251	CD 模體 (motif) X3, x4 是任何 AA	VDxx
252	CD 模體 (motif) X3, x4 是任何 AA	LExx
253	CD 模體 (motif) X3, x4 是任何 AA	IExx
254	h38C2- [LC-D185A]	ELQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCRSSQSLI HTYGSPYLNW YLQKPGQSPK LLIYKVSNNF SGVPSRFSGS GSGTDFTLTIT SSLQPEDFAV YFCSQGTHLP YTFGGGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYFPREK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKSTYSL SSTLTLSKAA YEKHKVYACE

		VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
255	CD 模體 (motif) X1, x2, x3, x4 = 任何胺基酸	XXXX

【圖式簡單說明】

圖 1：MAC 之完整分子量質譜分析顯示多重肽係與抗 IGF1R 抗體 2.12.1.fx 連接。圖 1A：抗 IGF1R 抗體 2.12.1.fx 之質譜分析資料。圖 1B 至 1D：MAC-2 之質譜分析資料，其顯示 3 個不同批次之重複試驗。

圖 2：2.12.1.fx (IGF1R)及 3 批 MAC-2 (MAC)之質譜分析，其中雙硫鍵係經還原。圖 2A：2.12.1.fx (IGF1R)輕鏈之質譜分析資料。圖 2B：2.12.1.fx (IGF1R)重鏈之質譜分析資料。圖 2C：MAC-2 輕鏈(批號 1)之質譜分析資料。圖 2D：MAC-2 重鏈(批號 1)之質譜分析資料。圖 2E：MAC-2 輕鏈(批號 2)之質譜分析資料。圖 2F：MAC-2 重鏈(批號 2)之質譜分析資料。圖 2G：MAC-2 輕鏈(批號 3)之質譜分析資料。圖 2H：MAC-2 重鏈(批號 3)之質譜分析資料。

圖 3A：抗體 2.12.1.fx 之輕鏈之胺基酸序列，其中胰凝乳酶切割位點以黑點標示。包含 Lys 殘基(可能共軛之位點)之胰凝乳酶切割片段係以自 N 端之編號標示。該輕鏈之 Y15 片段係以底線標示。圖 3B：抗體 2.12.1.fx 之重鏈之胺基酸序列，其中胰凝乳酶切割位點以黑點標示。包含 Lys 殘基(可能共軛之位點)之胰凝乳酶切割片段係以自

N 端之編號標示。

圖 4A：經共軛之含離胺酸之肽：輕鏈 Y15 的質譜分析資料，其顯示未經共軛之抗 IGF1R 抗體 2.12.1.fx (IGF1r)與 MAC-2 (MAC)之質譜分析資料，另顯示 Y15 片段之圖式。圖 4B：未經共軛之輕鏈 Y15 片段之質譜分析資料，其顯示未經共軛之抗 IGF1R 抗體 2.12.1.fx (IGF1r)與 MAC-2 (MAC)之質譜分析資料，另顯示 Y15 片段之圖式。

圖 5A：該 2.12.1.fx 之胰蛋白酶切割片段之選擇離子 LCMS 層析資料。圖 5B：當 LC-K¹⁸⁸ 係經 MAC-2 之 ABP 修飾時，該胰蛋白酶切割片段之選擇離子 LCMS 層析資料。

圖 6A：該 2.12.1.fx 之胰蛋白酶切割片段之選擇離子 LCMS 層析資料。圖 6B：當 LC-K¹⁹⁰ 係經 MAC-2 之 ABP 修飾時，該胰蛋白酶切割肽之選擇離子 LCMS 層析資料。

圖 7A：完整 MAC-2 之質譜圖。圖 7B：MAC-2 經還原之重鏈之質譜。圖 7C：MAC-2 經還原之輕鏈之質譜。

圖 8A：m38c2、h38c2 及人種系之可變結構域的胺基酸序列排比。架構區(FR)及互補決定區(CDR)系根據卡巴(Kabat)等人之定義。星號標示在 m38c2 與 h38c2 之間或在 h38c2 與該人種系序列之間的不同。

圖 8B：小鼠輕鏈 κ 恆定區(mCL κ)、人輕鏈 κ 恆定區(hCL κ)及人輕鏈 λ 恆定區(hCL λ)之胺基酸序列排比。在 mCL κ 與 hCL κ 之間和 hCL κ 與 hCL λ 之間的不同係以星

號顯示，保守性取代則以十字表示。 β 股 A 至 G 係畫底線者。在 β 股 A 及 B 之間的轉彎和 β 股 E 及 F 之間的 α 螺旋各以斜體表示。在第一 β 摺板（由 β 股 ABDE 組成；單底線）與第二 β 摺板（由 β 股 CGF 組成，雙底線）之間的雙硫鍵形成半胱氨酸係以 § 表示。人序列中已知之多形性基因座係以粗體表示。

圖 9A：Trastuzumab 及 trastuzumab-[CL κ -D¹⁸⁵A]與 [PEG₅-K¹¹-SEQ:27]共軛之產物和 HER2 受體結合之結合 ELISA 資料。圖 9B：Trastuzumab 及 trastuzumab-[CL κ -D¹⁸⁵A]與 MMAD 毒素共軛之產物和 HER2 受體結合之結合 ELISA 資料。

圖 10A：免疫球蛋白恆定結構域之代表圖，顯示 7 個 β 股形成二個 β 摺板。圖 10B：近看 β 摺板 E 及 F 之間的 α 螺旋。

圖 11：CL κ 基於結晶結構之最小化彩帶圖，其顯示在由 3D 結構產生之整體立體「結合口袋」內之鹵苯基酯反應性「結合部位」（小 X 形）。B 股係經標示。

圖 12：CL κ 「結合口袋」基於結晶結構之最小化彩帶圖，顯示 CL κ -D⁷⁷及 CL κ -D⁴³（棍模型）與 CL κ -H⁸¹N ϵ 或 N δ 形成氫鍵，原子距離以 Å 表示。

圖 13A 及 13B：CL κ 及 CL κ -D⁷⁷A 突變「結合口袋」基於結晶結構之最小化彩帶圖。CL κ 和 CL κ -D⁷⁷A 二者的 CL κ -D⁴³之羰基氧與 CL κ -H⁸¹之 N δ 之間的距離有 1Å 之差異，表示在 CL κ -D⁷⁷A 突變物中主要為催化活化性

CL κ -H⁸¹ 互變異構物 N δ 。此外，該模型構建識別 CL κ -D⁷⁷A 突變物之口袋的整體大小明顯增加，如圖所示。圖 13C：互相重疊之 CL κ （灰色）與 CL κ -D⁷⁷A 突變物（黑色）「結合口袋」基於結晶結構之彩帶圖。在 CL κ -D⁷⁷A 突變物中，CL κ -H⁸¹ 藉由氫鍵交互作用被拉向靠近 CL κ -D⁴³，因為 CL κ -D⁷⁷A 無法與 CL κ -H⁸¹ 之 N ϵ 形成氫鍵。

圖 14：CL κ 「結合口袋」基於結晶結構之最小化彩帶圖。結合位點以小 X 形表示。顯示與 CL κ -H⁸¹ 之 π 電子堆疊交互作用，以維持咪唑環位於相對於該插入之鹵苯基酯受質而言之最佳位置。

圖 15A 及 15B：CL κ 及 CL λ 「結合口袋」基於結晶結構之最小化彩帶圖。圖 15A 顯示 CL κ -V⁴² 與 CL κ -H⁸¹ 之間的 π 電子交互作用，此有助於維持 CL κ -H⁸¹ 咪唑環與 N ϵ 電子對位於催化反應期間之親核攻擊所需的平面上。CL κ -H⁸¹ 咪唑環之中心與 CL κ -V⁴² 上各氫原子之間的距離係 2.8Å，允許強交互作用。在圖 15B 中，CL λ -A⁴⁹ 位於距離 CL λ -H⁸²（在圖中以 H81 表示以利清楚比較）4.2Å 處。此距離被模型構建為可能太遠以致於無法對 CL λ -H⁸² 之位置或互變異構形式產生顯著影響。

圖 16：hCH λ 1、hCH λ 2、hCH λ 3、hCL κ 及 hCL λ 之序列排比。CL κ 之 β 股係以畫底線區域表示。 α 螺旋係以斜體表示。

圖 17：hCH λ 1、hCH λ 2、hCH λ 3、hCL κ 及 hCL λ

序列根據最小化 3D 同源性之基於結晶結構排比。β 股係以方框區域表示，α 螺旋以波浪框表示。對應 CL κ -V⁴²、CL κ -D⁴³、CL κ -D⁷⁷、CL κ -K⁸⁰ 及 CL κ -H⁸¹ 之關鍵殘基係以垂直橫跨序列之長方形虛線框表示。產生此排比之結構域的結晶結構模型構建顯示在 hCH λ 1、hCH λ 2、hCH λ 3 及 hCL λ 結構域中之 D β 股有短斷裂。其他模型構建及結晶結構分析顯示，大部分（若非所有）抗體恆定結構域包含 7 個 β 股，且該 D β 股係連續性。此處模型構建之二個 D β 股因此被標示為 D' 及 D"。圖 18B 至 31B 繪示 CL λ 及 CH γ 結構域係經導向以使得 D β 股位於該結構朝向下之左下方，且抵靠著 E β 股。D' 及 D" β 股可一起被視為佔據大約與 CL κ D β 股相同之相對位置（β 股 D 及 D'、D" 標示於圖 18 以作為參考點）。

圖 18：hCL κ (A) 及 hCL λ (B) 結構域基於結晶結構之最小化彩帶圖。

圖 19：hCL κ (A) 及 WT-hCH γ 1 (B) 結構域基於結晶結構之最小化彩帶圖。

圖 20：hCL κ (A) 及 WT-hCH γ 1 (B) 結構域基於結晶結構之最小化彩帶圖，顯示重要殘基之側鏈位置。

圖 21：hCL κ (A) 及 hCH γ 1-m1-D44 突變(B) 結構域基於結晶結構之最小化彩帶圖，顯示重要殘基之側鏈位置。

圖 22：hCL κ (A) 及 hCH γ 1-T78K/Q79H/CD 圈環交換突變(B) 結構域基於結晶結構之最小化彩帶圖，顯示重要殘基之側鏈位置。

圖 23：hCL κ (A)及 WT-hCH γ 2 (B)結構域基於結晶結構之最小化彩帶圖。

圖 24：hCL κ (A)及 WT-hCH γ 2 (B)結構域基於結晶結構之最小化彩帶圖，顯示重要殘基之側鏈位置。

圖 25：hCL κ (A)及 hCH γ 2m 突變(B)結構域基於結晶結構之最小化彩帶圖，顯示重要殘基之側鏈位置。

圖 26：hCL κ (A)及 hCH γ 2m-D⁸²A 突變(B)結構域基於結晶結構之最小化彩帶圖，顯示重要殘基之側鏈位置。

圖 27：hCL κ (A)及 WT-hCH γ 3 (B)結構域基於結晶結構之最小化彩帶圖。

圖 28：hCL κ (A)及 WT-hCH γ 3 (B)結構域基於結晶結構之最小化彩帶圖，顯示重要殘基之側鏈位置。

圖 29：hCL κ (A)及 hCH γ 3m 突變(B)結構域基於結晶結構之最小化彩帶圖，顯示重要殘基之側鏈位置。

圖 30：hCL κ (A)及 hCH γ 3m CD/EF 突變(B)結構域基於結晶結構之最小化彩帶圖，顯示重要殘基之側鏈位置。

圖 31：hCL κ (A)及 hCH γ 3m CD/EF-m2 突變(B)結構域基於結晶結構之最小化彩帶圖，顯示重要殘基之側鏈位置。

圖 32A 及 32B：CH γ 1、CH γ 2 及 CH γ 3 與彼等之個別突變及建議突變，以及與 CL κ 及 CL λ 之排比。

【實施方式】

爲了使本發明更易於瞭解，提出下列實施例。這些實施例係僅爲了說明之目的，不應被視爲以任何方式限制本發明之範圍。

說明共軛加成(CA)及平均 CA

在抗體支架上之共軛加成(CA)係利用質譜分析之完整質量計量測量。在共軛時，該完整產物之整體質量隨著該經共軛之肽、毒素等之質量及加成次數增加。若發生多次加成，可在質譜上觀察到共軛物形式之分布，且該觀察到之各共軛形式之信號強度產生定量量測。此分析通常以表格呈現，其中列出各 CA 形式佔所有觀察到之 CA 形式的百分比。平均 CA（例如存在支架上之 CA 的整體數目）係說明平均共軛負載之額外值。以下提供 2 個共軛藥物製品之實例。例 1 具有平均分布之 CA，平均 CA=2.00。例 2 之分布大幅偏向 2 CA 之存在，其他共軛形式之量極少。二例之平均 CA 類似（2.13 與 2.00）；然而，例 1 是異質性較高之由多種共軛形式組成之製品，而例 2 是主要包含 2 CA 之均質性較高之製品。

	0 CA %	1 CA %	2 CA %	3 CA %	4 CA %	平均 CA
例 1	11	22	33	22	11	2.00
例 2	2	4	77	12	5	2.13

表 1

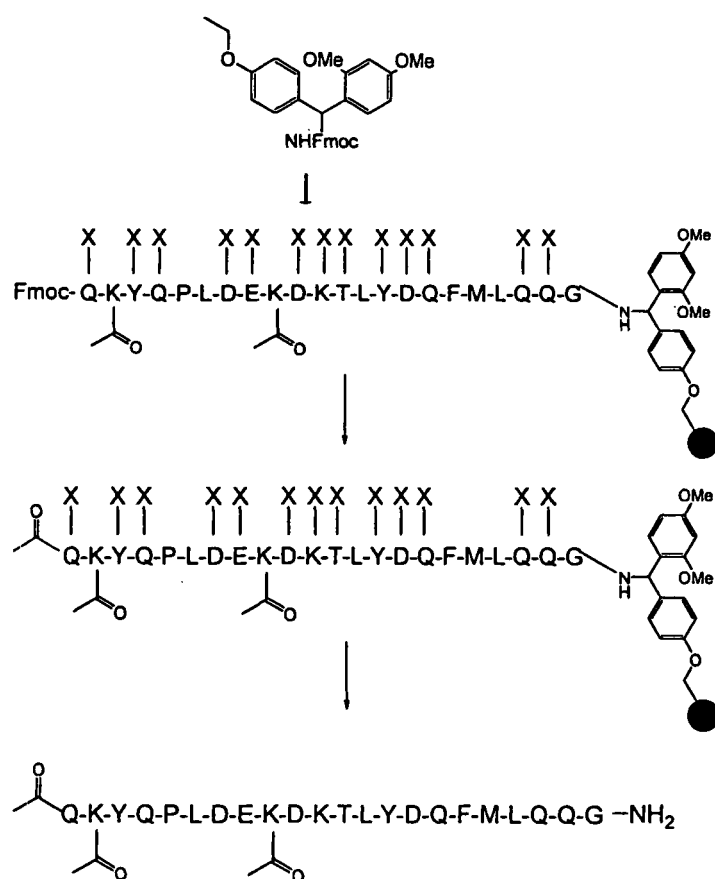
類似分析處理亦可能在雙硫鍵已經還原以產生游離輕鏈及重鏈之抗體支架上進行。測量經共軛之輕鏈／重鏈之完整質量可提供有關 CA 在這些個別子單位上之位置的資訊。

解釋與 CL κ -K⁸⁰ 之方向性共軛

爲了測定藥物共軛物與抗體支架之定點連接，製作一肽地圖。肽地圖係蛋白質序列之詳細分析，其特徵化該經共軛之藥物製品在經蛋白水解消化後產生之肽。當蛋白質被消化，所產生之肽即藉由逆相液體層析質譜檢測 (RPLC/MS) 分析。共軛加成在個別胺基酸殘基上之存在被觀察到爲相較於未經共軛之肽的對應質量位移。此過程在多個經多重共軛加成共軛之抗體上重複，該共軛係利用 PFP 反應酯進行以針對離胺酸殘基。（資料顯示於下及 WO2012007896 中，該案之內容整體納入此處。）在這些試驗中，有以下一致之觀察：1) 共軛加成較常見於 LC（相較於 HC），2) CL κ -K⁸⁰ 係特別較佳之經修飾之殘基，3) LC 及 HC 兩者上之多個其他位置亦經修飾，但每個替代位點僅經低量修飾。簡言之，鹵-苯基酯共軛導致較佳之 CL κ -K⁸⁰ 修飾，其他共軛以低量分布於多重殘基。因此，共軛過程通常經最佳化以產生高量之 2 個共軛加成之 %CA 值，因爲此有利於產生完全共軛各 LC 之單一位置之製品。雖然 0-1 共軛之 %CA 量上升導致較佳之 CL κ -K⁸⁰ 修飾，但這些共軛形式亦代表顯著量之未反應之

支架。平均 CA 值顯著高於 2 之製品顯示有不是針對離散殘基之共軛加成存在。當 HC 及 LC 被還原及分開分析時，1 CA 之 % 值表示在單一 LC 上之共軛 %，因此是與該 CL κ -K⁸⁰ 殘基共軛之效率的可靠指標。

實施例 1 示範合成本發明所使用之肽

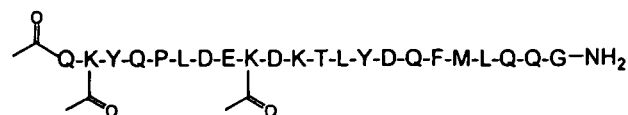


SEQ ID NO:27

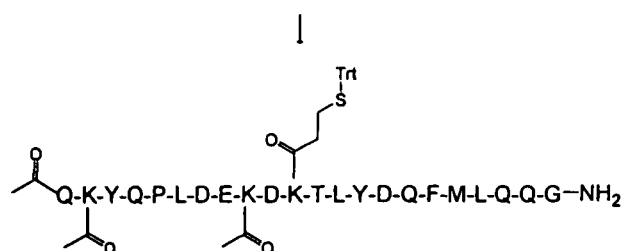
圖示 1 利用 Fmoc 化學固相合成肽鏈（以典型 Ang2 結合肽 (ABP) SEQ ID NO:27 為例）。TFA/水/苯酚/三異丙基矽烷(90:4:4:2)。Rink 醯胺樹脂。利用 Fmoc 化學進行固相肽合成 (SPPS) 之步驟：(i) 以 20% 哌啶 /DMF 移除 Fmoc，(ii) 胺基酸耦合；HBTU：胺基酸：HOBt：NMM 相對於樹脂胺裝載之比係 5:5:5:20。使用之溶劑係 NMP，

(iii)重複各胺基酸耦合之步驟。X =不耐酸之側鏈保護基。完成組裝受到完全保護、與樹脂結合之肽：

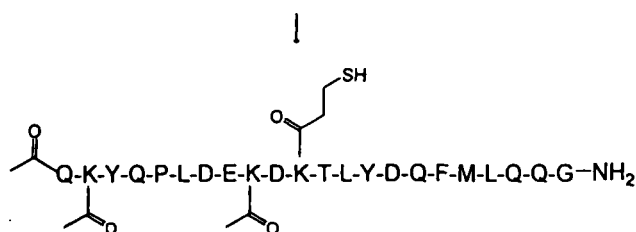
肽-硫醇-連接子化合物之合成



SEQ ID NO:27



SEQ ID NO:27-K_{SH}¹¹-Trt



SEQ ID NO:27-K_{SH}¹¹

圖示 2：合成 SEQ ID NO:27-K_{SH}¹¹ (K¹¹ 經連接殘基 K_{SH} 取代)。

S-三苯甲基-巰基丙酸/HBTU/NMM (相對於肽之比為 5:5:10)。

經三苯甲基保護之硫醇 Ang2 肽中間產物。TFA/DCM/TIPS (比例為 5:93:2)。帶硫醇 Ang2 修飾肽。

Ang2 結合肽 (ABP; SEQ ID NO:27) (284 mg, 0.1 mmol)係經攪拌溶解於二甲基甲醯胺 (0.5 ml)。S-三苯甲基-巰基丙酸(MPA, 62 mg, 約 0.125 mmol)、HBTU (48 mg, 0.125 mmol)及 N-甲基嗎啉(0.025 ml, 0.25 mmol)被分開攪拌於 DMF 中(0.5 ml) 5 分鐘直到溶解。該 ABP 溶

液及活化之 MPA 溶液被混合在一起 2 小時。該反應之進程係由 LCMS 監測。2 小時後，緩慢添加該溶液至冰冷之醚(40 ml)以沉澱該 ABP-S-三苯甲基-MPA 產物。過濾收集白色之沉澱物然後乾燥。接著使該固體殘餘物溶解於三氟乙酸之二氯甲烷(1:10, 10 ml)溶液中，並添加 0.050 ml 之三異丙基矽烷(TIPS)攪拌 1 小時。該溶液在減壓下蒸發至淡黃油狀，接著藉由添加冰冷醚以沉澱該粗硫醇肽。離心收集該產物並於真空中乾燥。將該殘餘物溶解於 50%水性乙腈，然後冷凍乾燥以產製該粗硫醇肽(HPLC 分析約具 80%之純度)。該粗硫醇肽係經半製備 HPLC 純化以產製 145 mg 之 SEQ ID NO:27-K_{SH}¹¹。

產製 Ang-2 結合肽-硫醇中間產物

肽鏈組裝係以 0.1 mmol 之等級進行。該使用之樹脂係 Fmoc-Rink-PL 樹脂(150 mg, 0.67 mmol/g 取代)。標準 Fmoc 化學方法被用來組裝該肽。以 20%之哌啶/DMF 移除 Fmoc 共 3 x 5 分鐘，所有樹脂清洗步驟使用 DMF。爲了併入胺基酸，每個殘基採用單一耦合步驟，使用 HBTU/HOBt/NMM 活化 2 小時期間。該連接殘基(K_{SH})被併入爲 Fmoc-Lys(N^ε-巯基丙酸酯-S-Trt)-OH。在鏈組裝時，該 N 端 Fmoc 基團被移除且該肽基樹脂藉由乙醯化加蓋。該終樹脂係以 DCM 清洗並於真空中隔夜乾燥。

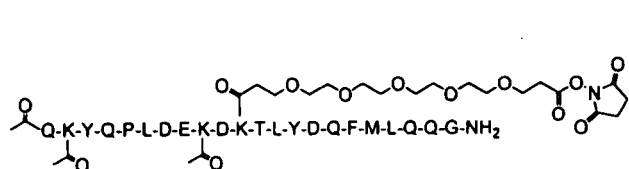
酸解移除保護基及自該樹脂切除該肽係利用 TFA/水/二硫蘇糖醇/三異丙基矽烷之混合液(比例 90:4:4:2, 5 ml)

進行 2 小時。該溶液係自該樹脂過濾，該樹脂利用另外 5 ml 之純 TFA 清洗。該經組合之過濾液被蒸發成為漿狀，然後添加冰冷之醚以沉澱白色粉末。離心收集該粉末，接著將之溶解於 50% 水性乙腈 (20 ml)，冷凍及凍乾隔夜。

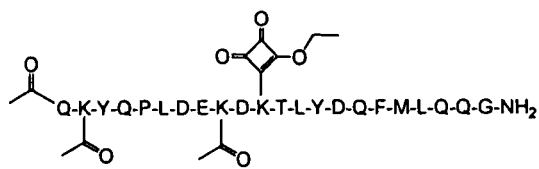
製備型 HPLC 管柱係利用稀釋水性 TFA 及乙腈預先平衡。將粗產物 ABP-硫醇中間體 (即以 K_{SH} 作為連接殘基之 ABP) 溶解於 DMF (3 ml)，接著使之吸附至管柱上，施用乙腈之稀釋 TFA 溶液梯度洗脫。自動依質量收集組分 ($M = 1465$)。來自該管柱之洗脫液係由 UV 監測，所獲得之組分係由分析型 RP-HPLC 分析。

實施例 2 共軛策略

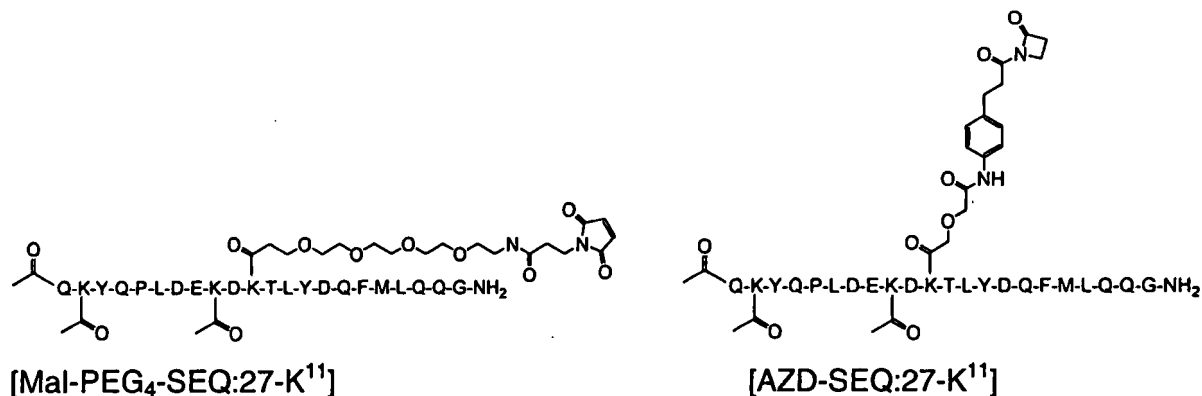
五種不同的共軛策略被考慮用於共軛肽至抗體 (示範性結構係利用 SEQ ID NO:27- K_{SH}^{11} 及 2.12.1.fx 顯示) (完整細節提供於 PCT/US2011/053092 之實施例中，2011 年 7 月 11 日提出，彼之內容藉此被整體納入)。簡言之，NHS 酯、順丁烯二醯亞胺、方酸酯、AZD 及鹵-苯基酯皆被研究以作為發展與抗體方向性共軛之可能機轉。



[NHS-PEG₅-SEQ:27-K¹¹]



[方酸酯-SEQ:27-K¹¹]



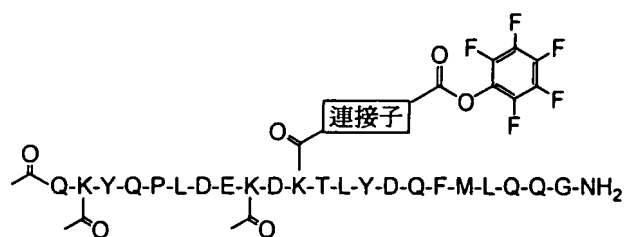
NHS 酯的問題在於緩慢轉換成游離酸形式，其中該 NHS 酯被轉換成不活化之羧基。結論是雖然使用 NHS 酯獲得某些成功，但該形成之 NHS 酯的水不安定性似乎限制彼等於後續共軛反應之應用。NHS-PEG₂-MAL 之進一步測試顯示於下（包含 Z*基 Z13）。

乙基方酸酯與游離硫醇共軛良好，但與蛋白質及抗體上之游離胺共軛不良，除非 pH 在 9 以上。

通常，順丁烯二醯亞胺活化肽不與缺乏內源性硫醇（源自游離半胱胺酸側鏈）或用其他化學方法（例如經由 Traut's 試劑）導入之硫醇的蛋白質或抗體共軛。

AZD 與抗體胺基反應緩慢，嘗試將 pH 增加至 7-9 產生低量之共軛及高量之 AZD 水解（爲了增加抗體表面離胺酸之親核性，降低彼等之電荷，因爲表面離胺酸之 pKa 係約 9.1 至 11.2）。

實施例 3 合成五氟苯基酯(PFP)



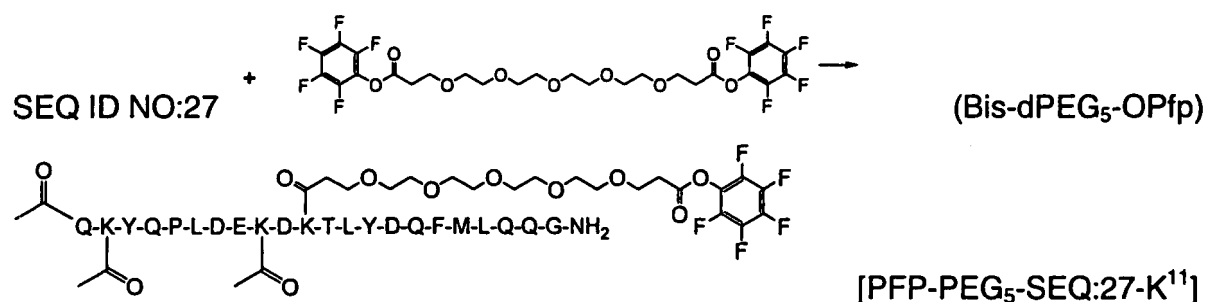
本發明亦提供使用五氟苯基(PFP; $Z^* = Z1$)酯以形成相對穩定之效應物部分-連接子複合物。該方法具有一些優於其他方法之好處，包括該 PFP 基團可簡單地自穩定活化之肽產物被導入溶液中，該 PFP 基團本身可利用標準 HPLC 方法純化，而不會有 PFP 酯水解。

本發明提供一種合成途徑，藉此途徑使活化之酯基團(諸如 PFP)可藉由化學選擇性反應(使用硫醇/順丁烯二醯亞胺化學)或藉由使用雙活性酯試劑與在該肽上之側鏈離胺酸直接耦合，該活化之酯基團與該肽側鏈形成醯胺但留下另一端作為活性酯。

在一些實施態樣中，該策略可為雙-酸 PEG，其中各酸經活化為 PFP 酯。在含有某些鹼之有機溶液中，該雙-PFP 連接子之末端與該離胺酸之 N- ϵ -胺基側鏈於該所需之繫鏈位置反應以形成穩定之醯胺鍵接，而另一端維持另一 PFP 基團。此策略之一個可能的問題在於形成肽二聚體之可能性，其中肽將被添加至存在於該連接子各端之各個 PFP 基團上。在某些態樣中，本發明藉由改變化學計量及加入個別肽與雙-PEG-PFP 連接子以克服此添加問題。本發明所提供之一個解決方案係使溶液中含有過量之雙-Pfp 連接子，緩慢添加肽至溶液中，以使連接子之量永遠超過肽之量。藉由使連接子與肽之比介於約 3.7:1 至約 4.3:1，

或在一些實施態樣中約 4:1，該所需之 PFP 活化之肽可被合成且無二聚體存在。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]之合成圖示係顯示於下之圖示 3。

合成 [PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]



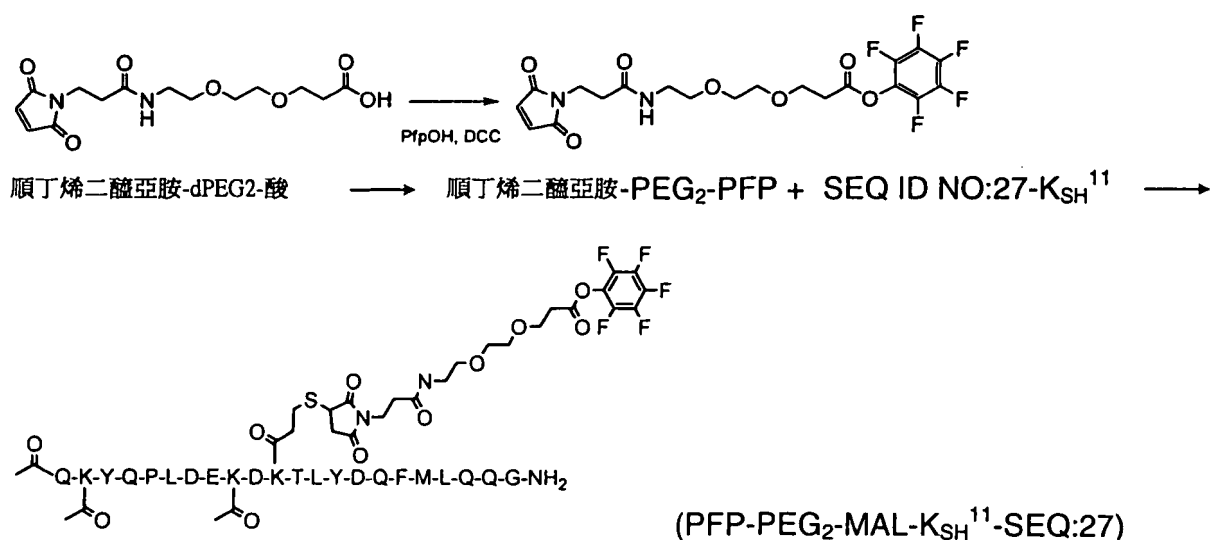
圖示 3 合成 [PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]

使雙 -dPEG₅-酸 (1 mmol, 338 mg) 溶解於脫水二氯甲烷 (5 ml) 中，接著添加五氟苯酚 (2 mmol, 368 mg) 與二環己基碳二醯亞胺 (1 mmol, 208 mg)。該溶液於室溫中攪拌隔夜。之後，過濾去除細白之二環己基脲副產物，該濾液經蒸發乾燥以得到淡黃色輕質油。以 TLC 及 HPLC 分析顯示具有正確 MS = 670 之純產物。此產物係用於下一步驟無須進一步純化。該產物在 -20°C 下可維持數個月之穩定。

使 SEQ ID NO:27 (730 mg) 溶解於脫水二甲基甲醯胺 (8 ml) 中，並添加 N-甲基嗎啉 (0.05 ml)。取一等分純 bis-dPEG₅-OPfp 試劑 (0.5 ml) 裝入玻璃小瓶 (20 ml)。隨著劇烈攪拌，將該 SEQ ID NO:27/NMM 溶液在 2 小時內以 4 x 2 ml 等分添加至該 bis-dPEG₅-OPfp 試劑中，接著該終混

合物再攪拌 1 小時。轉換成[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]產物之過程係由分析型 HPLC 監測。當該反應結束時，該溶液藉由半製備型 HPLC 在 1" C8 管柱上過濾及直接純化。該最純之組分(分析型 HPLC 顯示 > 95%)係經組合及冷凍乾燥以得到 400 mg (產率 48%)之終[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]肽-連接子產物。類似機轉可被用於產製[PFP-PEG₂-MAL-K_{SH}¹¹-SEQ:27] (見圖示 4)。

合成 [PFP-PEG₂-K_{SH}¹¹-SEQ:27]



圖示 4 合成 [PFP-PEG₂-MAL-K_{SH}¹¹-SEQ:27]

將順丁烯二醯亞胺-dPEG₂-酸 (328 mg, 1 mmol, Quanta Biodesign)、五氟苯酚 (0.103 ml, 1 mmol, PFP) 及二環己基碳二醯亞胺 (206 mg, 1 mmol, DCC) 溶解於乾 DCM (10 ml) 中，在室溫下攪拌 1 小時。過濾移除該形成之細白沉澱物(DCU 副產物)，該濾液在真空中蒸發至乾燥。獲得高產率之細白粉末產物 (490 mg, 定量)。分析型

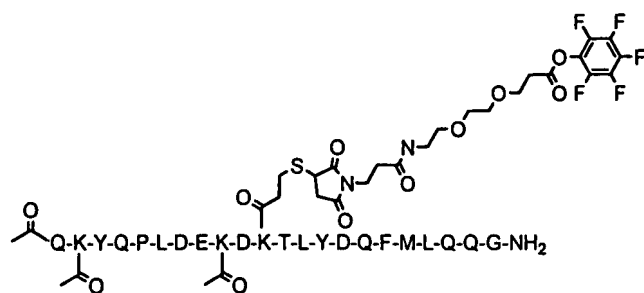
HPLC 顯示純度係 $> 95\%$; MS 顯示 $[M+H]^+ = 495$ 。

SEQ ID NO:27- K_{SH}^{11} 之樣本(30-40 mg)係經溶解於無水 DMF (2 ml)。添加順丁烯二醯亞胺-PEG₂-PFP (20 mg) 與 N-甲基嗎啉 (5 mL)。該反應在室溫下攪拌進行，以 HPLC 監測以得知產物形成之時間進程。自起始肽完全轉換成 PFP 活化產物可在前 2 小時內觀察到。該溶液係經過濾，該產物尖峰藉由半製備型 HPLC 直接分離。在各例中，該產物在冷凍乾燥後被分離至約 40%之產率。

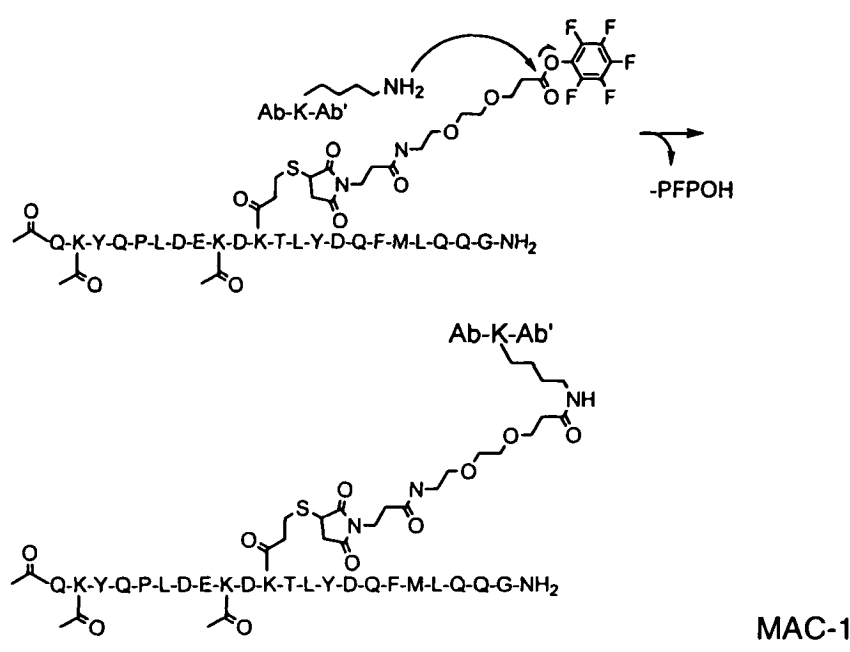
實施例 4 抗體共軛

MAC-1 及 MAC-2 示範性抗體-效應物部分共軛物係藉由共軛該抗體 2.12.1.fx (SEQ ID NO:1 及 SEQ ID NO:2) 與 Ang2 結合肽(SEQ ID NO:27)製備。MAC-1 包含與[PFP-PEG₂-MAL- K_{SH}^{11} -SEQ:27] 共軛之 2.12.1.fx 以產生 2.12.1.fx-[PEG₂-MAL- K_{SH}^{11} -SEQ:27]，MAC-2 包含與 [PFP-PEG₅- K^{11} -SEQ:27]共軛之 2.12.1.fx 以產生 2.12.1.fx-[PEG₅- K^{11} -SEQ:27]。

MAC-1 之產製

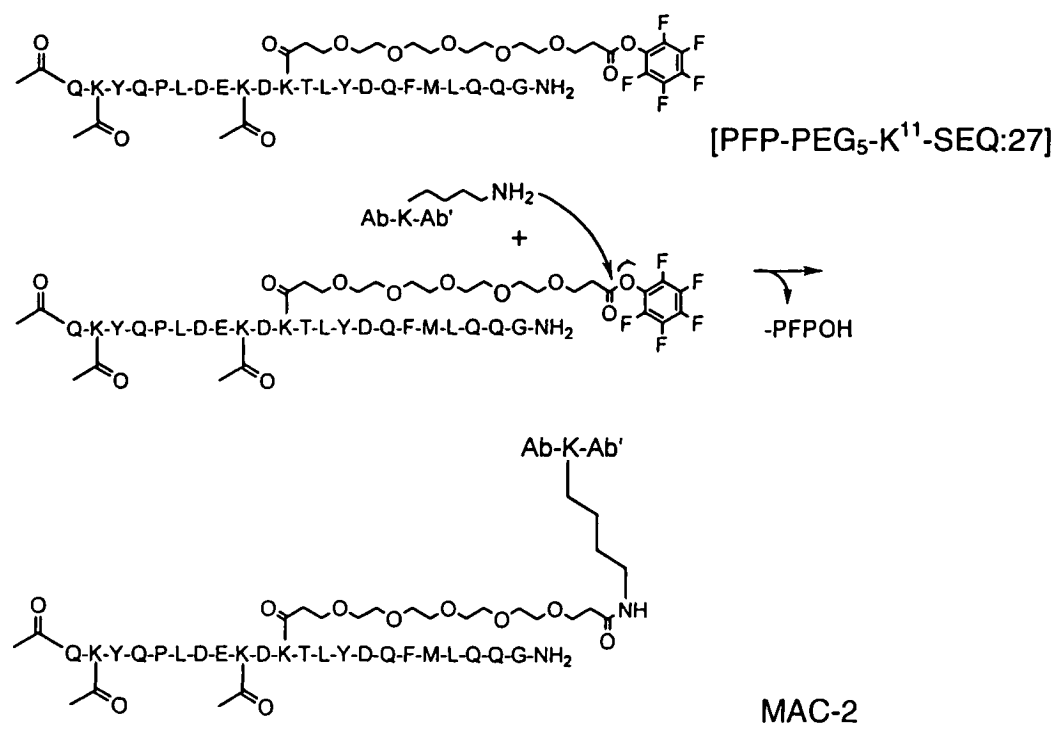


[PFP-PEG₂-MAL- K_{SH}^{11} -SEQ:27]



圖示 5：[PFP-PEG₂-MAL-K_{SH}¹¹-SEQ:27]與抗體之離胺酸側鏈(Ab-K-Ab)之反應：其中該抗體係 2.12.1.fx，該 MAC 係 MAC-1。

MAC-2 之產製



圖示 6：[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]與抗體之離胺酸側鏈(Ab-K-Ab)之反應：其中該抗體係 2.12.1.fx，該 MAC 係 MAC-2。

計算各 MAC 之樣本中每個 2.12.1.fx 抗體之肽共軛數 (見表 2)。

	共軛加成 (CA) (%)					
	0	1	2	3	4	平均 CA
MAC-1	3	26	42	25	3	1.97
MAC-2	2	20	47	26	5	2.12

表 2 MAC-1 與 MAC-2 之共軛特性

實施例 5 最佳化 PFP 基底共軛之條件

進行一系列測試以建立引導共軛之理想反應條件。在各反應共軛結束時，該反應係利用琥珀酸鹽及甘胺酸緩衝液淬熄，降低 pH 值至約 5.5 並淬熄任何游離之肽或肽/連接子。MAC-2 分析係藉由測量該 MAC 之完整分子量 (MW)進行，在經由大小排除層析管柱分離蛋白質與鹽及賦形劑之後，利用電噴灑飛行時間質譜儀檢測該 MAC 之完整分子量。

溫度

2.12.1.fx 抗體係利用磷酸鹽緩衝液在 pH 7.7 下調整至 18 mg.ml⁻¹，終濃度為 0.06M 磷酸鈉。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]係經重構於丙二醇溶液至 10 mg.ml⁻¹。[PFP-PEG₅-

K¹¹-SEQ:27]被添加至 2.12.1.fx (莫耳比為 4.3:1)，允許在 18、22 或 25°C 反應 2 小時。結果如表 3 所示。

	CA (%)					
溫度	0	1	2	3	4	平均 CA
18C	1	16	51	23	8	2.21
22C	3	15	57	21	5	2.11
25C	2	12	53	25	7	2.24

表 3 4.3:1 之肽：抗體於 0.06M 磷酸鹽中之反應溫度

反應 pH

2.12.1.fx 抗體係經磷酸鹽緩衝液調整至 pH 6.5、6.75、7.0、7.25、7.5、7.75 或 8.0 之 18 mg.ml⁻¹，磷酸鹽緩衝液之終濃度為 0.06M 磷酸鈉。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]係經重構於丙二醇溶液至 10 mg.ml⁻¹。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]被添加至 2.12.1.fx (莫耳比為 4.3:1)，允許在室溫反應 2 小時。結果顯示於表 4。

	CA (%)					
pH	0	1	2	3	4	平均 CA
6.5	7	42	41	9	0	1.51
6.75	3	31	52	12	3	1.83
7.0	3	24	53	16	4	1.94
7.25	2	18	54	22	5	2.12
7.5	2	12	57	23	7	2.23
7.75	3	15	55	22	6	2.15
8.0	1	14	52	29	4	2.21

表 4 4.3:1 之肽：抗體於 0.06M 磷酸鈉緩衝液中之 pH

2.12.1.fx 係經 HEPES 緩衝液調整至 pH 7.0、7.5 及 8.0 之 2 mg.ml⁻¹，HEPES 緩衝液之終濃度為 0.02M。

[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]係經重構於 DMSO 至 10 mg.ml⁻¹。
[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]被添加至 2.12.1.fx (莫耳比為 5:1)，允許在室溫反應隔夜。結果顯示於表 5。共軛量在 pH 8.0 以上下降。

	ABP 加成 (%)					
pH	0	1	2	3	4	平均 CA
7	2	21	41	28	4	2.03
7.5	3	22	44	26	5	2.08
8	9	30	42	17	2	1.73

表 5 5:1 之肽：抗體於 0.02M HEPES 緩衝液中之 pH

共軛反應之期間

2.12.1.fx 係利用磷酸鹽緩衝液調整至 pH 7.7 之 18 mg.ml⁻¹，該磷酸鹽緩衝液終濃度為 0.06M 磷酸鈉。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]係經重構於丙二醇溶液至 10 mg.ml⁻¹。以 4.3:1 之莫耳比添加[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]至 2.12.1.fx 抗體，允許反應在室溫下進行 30、60、120、180、240、300、或 2400 分鐘(表 6)。

	CA (%)					
時間 (分鐘)	0	1	2	3	4	平均 CA
30	6	38	44	13	0	1.64
60	1	22	52	21	3	2.02
120	0	15	50	29	6	2.24
180	1	12	51	31	5	2.28
240	1	9	51	33	5	2.33
300	1	9	50	35	5	2.35
2400	1	10	48	35	6	2.35

表 6 4.3:1 之肽：抗體於 0.06M 磷酸鈉中之共軛反應期間

肽與蛋白質之莫耳比

2.12.1.fx 係利用 HEPES 緩衝液在 pH 7.5 下調整至 18 mg.ml^{-1} ，終濃度為 0.2M HEPES。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 係經重構於丙二醇溶液至 10 mg.ml^{-1} 。以 1:1、2:1、3:1、4:1、及 5:1 之莫耳比添加 [PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 至 2.12.1.fx (表 7)，允許反應在室溫下進行至少 2 小時，但是高濃度之 HEPES 緩衝液導致降低共軛。

肽:2.12.1.fx	CA (%)								平均 CA
	0	1	2	3	4	5	6	7	
1:1	80	20	0	0	0	0	0	0	0.20
2:1	60	35	5	0	0	0	0	0	0.45
3:1	39	49	12	0	0	0	0	0	0.73
4:1	27	51	19	3	0	0	0	0	0.98
5:1	11	47	37	5	0	0	0	0	1.36

表 7 於 0.2M HEPES 中莫耳比 1:1 至 5:1 之肽與蛋白質

2.12.1.fx 係利用磷酸鹽緩衝液在 pH 7.7 下調整至 18 mg.ml^{-1} ，終濃度為 0.06M 磷酸鈉。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 係經重構於丙二醇溶液至 10 mg.ml^{-1} 。以 5:1、7:1、10:1、12:1、及 15:1 之莫耳比添加 [PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 至 2.12.1.fx (表 8)，允許反應在室溫下進行 2 小時以產製具有較高共軛量之 MAC。

肽:2.12.1.fx	CA (%)								平均 CA
	0	1	2	3	4	5	6	7	
7:1	1	1	29	39	17	10	2	0	3.06
10:1	1	1	18	33	25	19	3	0	3.49
12:1	3	1	11	22	26	26	8	3	3.92
15:1	1	2	9	19	23	32	12	3	4.22

表 8 於 0.06 M 磷酸鈉中莫耳比 7:1 至 15:1 之肽與蛋白質

爲了進一步最佳化 2.12.1.fx 與 [PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 之莫耳比，2.12.1.fx 係利用磷酸鹽緩衝液調整至 18 mg.ml⁻¹ pH 7.7，終濃度爲 0.06M 磷酸鈉。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 係經重構於丙二醇溶液至 10 mg.ml⁻¹。以 2.5、2.8、3.1、3.4、3.7、4.0、4.3、或 4.6:1 之莫耳比(表 9)添加 [PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 至 2.12.1.fx 抗體，允許反應在室溫下進行 2 小時。

肽:2.12.1.fx	CA (%)								平均 CA
	0	1	2	3	4	5	6	7	
2.5:1	14	53	30	4	0	0	0	0	1.25
2.8:1	10	45	37	8	0	0	0	0	1.43
3.1:1	7	39	45	8	0	0	0	0	1.53
3.4:1	5	40	44	11	0	0	0	0	1.61
3.7:1	4	25	51	15	5	0	0	0	1.92
4.0:1	2	26	55	15	2	0	0	0	1.89
4.3:1	1	24	55	16	4	0	0	0	1.98
4.6:1	2	19	56	19	5	0	0	0	2.08

表 9 於 0.06 M 磷酸鈉中莫耳比 2.5:1 至 4.6:1 之肽與蛋白質

2.12.1.fx 係利用 HEPES 緩衝液調整至 2 mg.ml⁻¹ pH 7.0，終濃度爲 0.02M 之 HEPES。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 係經重構於 DMSO 至 10 mg.ml⁻¹。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]

被添加至 2.12.1.fx，莫耳比為 5、6、7、8 及 10:1，允許在室溫反應隔夜。結果顯示於表 10。

肽:2.12.1.fx	CA (%)								平均 CA
	0	1	2	3	4	5	6	7	
5:1	2	21	49	24	4	0	0	0	2.07
6:1	2	15	42	32	9	0	0	0	2.31
7:1	1	11	34	42	13	0	0	0	2.57
8:1	0	9	32	42	16	1	0	0	2.68
10:1	0	4	21	47	25	4	0	0	3.07

表 10 於 0.02M HEPES 中莫耳比 5:1 至 10:1 之肽與蛋白質

2.12.1.fx 於不同蛋白質濃度下之共軛特性

不同濃度之 2.12.1.fx 與 [PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 之共軛特性係經分析。2.12.1.fx 係經濃縮至 > 50mg/mL，利用 20 mM 醋酸鈉、200 mM 海藻糖 pH 5.5 稀釋至所欲濃度，並添加 60 mM 磷酸鈉 pH 7.7。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 係利用 50% 丙二醇重懸，以 4.3:1 莫耳比與該抗體混合，允許在室溫下反應隔夜。所有樣本係經稀釋至 2 mg/ml，藉由大小排除層析-質譜分析 (SEC-MS) 分析完整之共軛蛋白質，以測定該蛋白質之共軛形式的數目及定量。此技術測量各種蛋白質形式之分子量；多重共軛部位被視為藉由肽之質量差異所分開之不同信號。多重共軛物種之相對定量係由測量該信號強度進行。表 11 顯示 2.12.1.fx 在不同之抗體濃度時與肽之共軛特性。當抗體濃度 10 mg/mL 至 50 mg/mL 時，該共軛發生在介於 0 至 5 加成之分布，平均為 1.8 或更高加成。當抗體濃度 0.5 至 5 mg/mL 時，該共軛

發生在介於 0 至 3 加成之分布，平均為 1.5 或更低加成。

抗體 濃度 (mg/ml)	CA (%)						平均 CA
	0	1	2	3	4	5	
0.5	65	32	3	-	-	-	0.37
1	44	44	12	-	-	-	0.67
5	10	41	40	8	-	-	1.45
10	3	30	47	17	2	1	1.87
15	1	24	51	20	3	1	2.02
20	1	16	57	22	2	1	2.11
30	2	20	55	20	3	1	2.04
40	2	21	53	22	2	0	2.04
50	2	19	50	24	4	1	2.11

表 11 抗體濃度之影響

反應緩衝液選擇

2.12.1.fx 係利用碳酸鈉、硼酸鈉、或磷酸鈉緩衝液調整至 18 mg.ml^{-1} pH 7.7，終濃度為 0.05M 磷酸鈉。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]係經重構於丙二醇溶液至 10 mg.ml^{-1} 。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]被添加至 2.12.1.fx，莫耳比為 1、2、3、4 或 5:1，允許在室溫反應 2 小時。低反應 pH 導致減少之共軛量(表 12)。

緩衝液	CA (%)					平均 CA
	0	1	2	3	4	
50mM 碳酸鈉 pH 7.4	2	24	48	26	0	1.98
50mM 硼酸鈉 pH 7.0	1	17	45	31	5	2.20
50mM 磷酸鈉 pH 7.0	10	48	38	4	0	1.36

表 12 緩衝液及 pH 改變

2.12.1.fx 係利用硼酸鈉及磷酸鈉緩衝液調整至 18 mg.ml^{-1} pH 7.5、7.7 及 8.0，緩衝液終濃度為 0.04M。

[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 係經重構於丙二醇溶液至 10 mg.ml⁻¹ 並以莫耳比 4.3:1 添加至 2.12.1.fx，允許在室溫反應 2 小時(表 13)。

	CA (%)					
緩衝液	0	1	2	3	4	平均 CA
磷酸鹽, pH 7.5	1	21	53	21	3	2.02
磷酸鹽, pH 7.7	0	15	50	29	6	2.26
磷酸鹽, pH 8.0	1	14	52	29	4	2.21
硼酸鹽, pH 7.5	46	44	10	0	0	0.64
硼酸鹽, pH 7.7	22	51	23	4	0	1.09
硼酸鹽, pH 8.0	1	17	48	30	4	2.19

表 13 緩衝液及 pH 改變

2.12.1.fx 係利用磷酸鹽緩衝液調整至 18 mg.ml⁻¹ pH 7.7，緩衝液終濃度為 0.04M、0.06M、或 0.08M 磷酸鈉。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 係經重構於丙二醇溶液至 10 mg.ml⁻¹。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 被添加至 2.12.1.fx (莫耳比為 4.3:1)，允許在室溫反應 2 小時。結果顯示於表 14。

	CA (%)					
磷酸鹽在 pH 7.7 下之濃度 (mM)	0	1	2	3	4	平均 CA
40	2	23	54	16	4	1.95
60	2	28	51	15	4	1.91
80	2	29	51	13	4	1.86

表 14 磷酸鹽之濃度

緩衝液組成份對共軛之影響

丙二醇：2.12.1.fx 係利用磷酸鹽緩衝液調整至 18

mg.ml⁻¹ pH 7.7，終濃度為 0.06 M 磷酸鈉。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]係經重構於丙二醇溶液至 20 mg.ml⁻¹ (5%丙二醇於共軛反應中)。以 4.3:1 之莫耳比添加[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]至 2.12.1.fx，並添加額外之 0 至 15%丙二醇(丙二醇之最終百分比為 5、10、15、及 20%)，允許反應於室溫下進行 2 小時。結果顯示於表 15。

丙二醇百分比 (%)	CA (%)					平均 CA
	0	1	2	3	4	
5	2	18	55	20	5	2.08
10	2	20	53	21	5	2.09
15	2	23	49	20	5	2.01
20	4	23	50	19	4	1.96

表 15 丙二醇於 0.06M 磷酸鈉中之百分比

NaCl : 2.12.1.fx 係利用 HEPES 緩衝液在有或無 0.14M 氯化鈉存在時調整至 2 mg.ml⁻¹ pH 7.0，終濃度為 0.02M HEPES。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]係經重構於 DMSO 至 10 mg.ml⁻¹。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]被添加至 2.12.1.fx (莫耳比為 5:1)，允許在室溫反應隔夜。在氯化鈉存在時，共軛量降低(表 16)。

氯化鈉之 濃度 (mM)	ABP 加成 (%)					平均 CA
	0	1	2	3	4	
0	2	21	41	28	4	2.03
0.14	9	34	42	14	1	1.64

表 16 氯化鈉於 0.02 M HEPES 中之濃度

HEPES : 2.12.1.fx 係利用 HEPES 緩衝液調整至 2 mg.ml^{-1} pH 7.0 , 緩衝液終濃度為 0.2 M 及 0.02 M 。 [PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]係經重構於 50%丙二醇至 10 mg.ml^{-1} 。 [PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]被添加至 2.12.1.fx (莫耳比為 5:1) , 允許在室溫反應 2 小時。結果顯示於表 17 。共軛量在 0.2M HEPES 緩衝液中減少。

	ABP 加成 (%)					
HEPES 之濃度 (mM)	0	1	2	3	4	平均 CA
0.02	2	35	47	16	0	1.77
0.2	21	49	26	4	0	1.13

表 17 HEPES 濃度

DMSO : 2.12.1.fx 係利用磷酸鈉緩衝液調整至 15 mg.ml^{-1} pH 7.7 , 緩衝液終濃度為 0.06 M , 並添加 DMSO 至終濃度 30% 。 [PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]係經重構於丙二醇溶液至 10 mg.ml^{-1} 。 [PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]被添加至 2.12.1.fx (莫耳比為 4:1) , 允許在室溫反應 2 小時。結果顯示於表 18 。

	ABP 加成 (%)					
DMSO 之百分比	0	1	2	3	4	平均 CA
0	3	28	49	14	6	1.92
30	8	28	32	22	10	1.98

表 18 於 0.06M 磷酸鈉中之 DMSO

共軛反應參數之討論

當效應物部分(在此實施例中為肽)與抗體之莫耳比係

降至低於約 3.5:1 時，共軛量係經減少，如表 9 所示。另外，表 10 顯示增加該莫耳比導致增加之共軛量。增加每抗體之肽數通常減少該抗體(本例中為 2.12.1 fx)與彼之抗原(本例中為 IGF1R 受體)之結合有效性，因此肽與抗體之莫耳比係經最佳化以最大化抗體與抗原之結合和肽與同源物之結合二者。

也發現改變共軛緩衝液可改變共軛模式。含胺賦形劑通常較不適合，因為它們可與 PFP 基團反應。緩衝液諸如碳酸鹽及硼酸鹽可被用於共軛，但不被使用，因為它們的 pKa (硼酸之 pKa 約為 9，碳酸鹽具有二個 pKa 為約 6 及約 11)與 MAC-1 和 MAC-2 之最佳共軛 pH 7.7 相差太遠(表 12)。共軛量不僅取決該反應之化學條件，也與時間有關。在 2 小時後，大部分之 PFP 活化之肽已經與該抗體反應或該 PFP Z*已經水解(表 6)。

該 PFP 活化之肽/連接子快速地與離胺酸側鏈胺基反應。在 pH 6.5 至 8 之磷酸鹽緩衝液中進行共軛，以藉由降低該抗體表面離胺酸之電荷(該蛋白質表面上之離胺酸的 pKa 係約 9.1 至 11.2)而增加彼等之親核性，如表 4 及 5 所示。

MAC-1 及 MAC-2 之理想共軛條件係如下述：
2.12.1.fx 抗體係利用磷酸鹽緩衝液調整至 pH 7.7，終濃度為 0.06M 磷酸鈉。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]係經重構於丙二醇溶液至 10 mg.ml⁻¹ (反應中之終丙二醇濃度係 10%)。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]被添加至 2.12.1.fx 抗體 (莫耳比

為 4.3:1)，允許在室溫反應 2 小時。該反應係利用琥珀酸鹽及甘胺酸緩衝液淬熄，降低 pH 值至約 6.0 並淬熄任何游離之肽。在一些態樣中，該反應可經濃縮，且肽相關物種(諸如其中該連接子藉由與水溶劑之反應被水解之肽)及該反應混合物之其他元件(諸如 PFP)可藉由滲濾移除，例如使用 50 kDa 之膜或大小排除層析至琥珀酸鹽、甘胺酸、氯化鈉及海藻糖緩衝液 (pH 5.5) 於 30 毫克/毫升。

上列之共軛條件係經變化以決定各方法參數之範圍。參數範圍係根據可能發生在共軛期間之變化設定，及/或經擴張直到觀察到超過 10%之物種族群變化。表 19 摘列導致 MAC-2 類似共軛特性之參數。

測試參數	測試範圍	所欲範圍	理想
溫度	18-25°C	18-25°C	室溫
反應 pH	6.5 至 8.0	pH 7.25-8.0	7.7
反應期間	30-2400 分鐘	180- 2400 分鐘	>約 2 小時
肽與抗體之莫耳比	2.5 至 4.6	3.7:1 至 4.3:1	4.3:1
添加至反應之 2.12.1.fx 濃度	0.5 至 50 mg/mL	10 至 50 mg/mL	20mg/mL
反應緩衝液中之磷酸鹽濃度	40 至 80mM	40-80mM	60mM
丙二醇之終濃度	5 至 20%	5-20%	10 %

表 19 MAC-2 之最佳化處理參數

實施例 6 共軛肽在抗體上之位置

MAC-2 藥物產物分子係由 1 至 4 個 [PEG₅-K¹¹-SEQ:27]分子與 2.12.1.fx 抗體連接組成。此係藉由測量該 MAC-2 之完整分子量(MW)加以測定，在經由大小排除層析管柱分離蛋白質與鹽及賦形劑之後，利用電噴灑飛行時間質譜儀檢測該 MAC-2 之完整分子量。顯示該 2.12.1.fx 及 3 批 MAC-2 之 MW 的質譜資料係如圖 2 所示。圖 1A

顯示在共軛前之 2.12.1.fx。此為顯示單一 MW 之一致分子。該 MAC-2 批量顯示與 2.12.1.fx 共軛之肽之分布；觀察到介於 1 至 4 個共軛加成(CA)。各種形式之相對量在不同批次之間係為一致，在各批次中最常見之形式具有 2 個與個別 2.12.1.fx 抗體連接之肽(SEQ ID NO:27)。

藉由還原 2.12.1.fx 抗體中之雙硫鍵，輕鏈及重鏈被分開觀察。雙硫鍵還原係藉由以 20mM 之三(2-羧基乙基)膦(TCEP)處理該完整之 2.12.1.fx 抗體進行。該形成之重鏈及輕鏈之混合物係如上述分析完整分子量。圖 2 顯示之資料提供關於 ABP 在 2.12.1.fx 上之位置的證據。大部分在 MAC-2 批次中之輕鏈(>65%)係經共軛。大部分經共軛之輕鏈包含 1CA。亦有較低量觀察到 2CA。幾乎所有被觀察之重鏈(>90%)係未經修飾，這表示很少經共軛之肽係位於重鏈上。

肽圖譜被用來測定準確之共軛位置。步驟如下：利用 8M 鹽酸胍使一等分之 MAC-2 變性，雙硫鍵係由 TCEP 還原，該形成之半胱胺酸硫醇基係經碘乙醯胺烷化。此經處理之蛋白質樣本接著利用蛋白酶胰凝乳酶消化(1:125 蛋白酶：MAC 重量比)。該形成之胰凝乳酶消化肽在經由 C8 液體層析管柱分離之後，分別藉由質譜分析檢測。藉由此項技術，MAC-2 之重鏈及輕鏈在圖 3 中之序列所示之位置(黑點)被胰凝乳酶消化成片段。接著利用液體層析質譜分析(LC-MS)檢測各肽之 MW，以測定哪一個離胺酸係由經共軛之肽所修飾。若片段係經共軛肽連接之修飾，彼之

MW 將隨之移動。

重鏈之片段 Y1、Y6、Y9、Y10、Y20、Y25、Y26、Y29、Y32、Y33、Y34、Y37、Y40 及 Y43 包含 Lys 殘基。其中，在 Y6、Y10、Y25、Y33 及 Y37 檢測到肽共軛。輕鏈之片段 Y3、Y10、Y11、Y12、Y13、Y14、Y15 及 Y16 包含 Lys 殘基。其中，在 Y3、Y13 及 Y15 檢測到共軛。

被稱為 Y15 之輕鏈片段(自輕鏈 N 端數來第 15 個胰凝乳酶消化片段)被發現根據圖 4 所示之資料共軛。在 MAC 中明顯地檢測到該經修飾之 Y15 之 MW。在未經共軛之 2.12.1.fx 樣本中，並無經修飾之 Y15 片段之證據。在 MAC-2 與 2.12.1.fx 兩者中皆觀察到未經修飾之 Y15 片段。此片段之強度在 2.12.1.fx 樣本中較高，因為此整體片段係以未經共軛之形式存在。當此片段被共軛至 MAC-2 中時，該觀察到之未經修飾之 Y15 之量降低，即在圖 4 中可見較小面積之波峰。

在 MAC-2 中之輕鏈片段 Y15 上所觀察到之[SEQ:27-K¹¹-PEG5]共軛之量係藉由測量未經修飾之 Y15 之減少波峰面積預測。在正常化該信號強度以使未經共軛之 2.12.1.fx 顯示 100%之後，3 個獨立批次之 MAC-2 分別顯示 17%、27%及 22%之未經共軛之 Y15 片段。

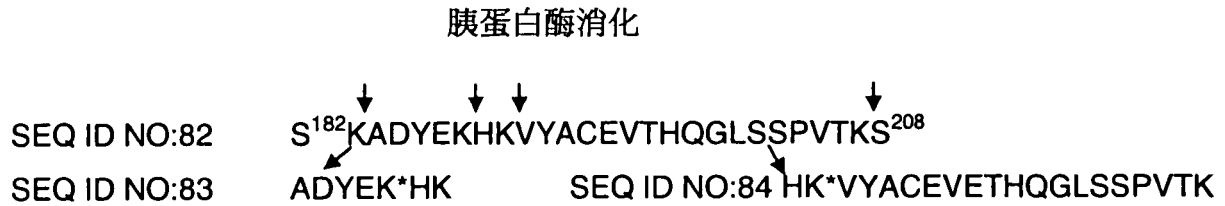
該觀察到之 Y15 於 MAC 樣本中之強度係經正常化至 Y15 於 2.12.1.fx 樣本中之強度。在 MAC-2 中介於 75 至 85%之 Y15 片段係經測定為經修飾。由於 MAC-2 主要包

含 1 至 2 個共軛加成，這表示大部分在 MAC-2 中之共軛係位於輕鏈片段 Y15 的 2 個 K 殘基中之一者(LC-K¹⁸⁸ 或 LC-K¹⁹⁰)。片段 Y15 在 2.12.1.fx 序列中之位置係如圖 3 所示。

胰蛋白酶消化被用於區別 LC-K¹⁸⁸ 及 LC-K¹⁹⁰ (胰蛋白酶對於 K 及 R 之 C 端具有特異性)。由於胰蛋白酶不消化經共軛之 K 殘基，因此該酶消化依照哪一個 K 殘基被共軛而產生不同的肽長度。檢查來自經胰蛋白酶消化之 MAC-2 的 LCMS 資料提供該肽與 LC-K¹⁸⁸ 特異性連接之證據。未觀察到經修飾之 LC-K¹⁹⁰ 之證據。

MAC-2 係如上述利用 TCEP 還原及鹽酸胍變性。利用 Tris 消化緩衝液將該蛋白質濃度調整至 2mg/ml 及 pH 調整至 7.8。經純化之胰蛋白酶以 1:125 蛋白酶：MAC 重量比被添加，並於 30℃培養 4 小時。樣本儲存於-20℃直到進行 LCMS 分析。片段樣本係利用水/乙腈+ 0.1% TFA 移動相在 C18 逆相管柱上分離。片段之檢測係利用 UV 214nm 及 ESI-TOF 質譜分析二者進行。所有資料分析皆利用 MassLynx 軟體進行。

當胰蛋白酶消化 MAC-2 時所形成的片段係依肽共軛之位點而定。離胺酸係共軛之標靶殘基。圖 1 至 4 之資料顯示肽結合之主要位點係 LC-K¹⁸⁸ 或 LC-K¹⁹⁰。下面圖示顯示可能在共軛時發生在 2.12.1.fx-[LC-K¹⁸⁸]或 2.12.1.fx-[LC-K¹⁹⁰]之胰蛋白酶消化反應。



該兩個有問題之可能的消化片段之化學結構如下：

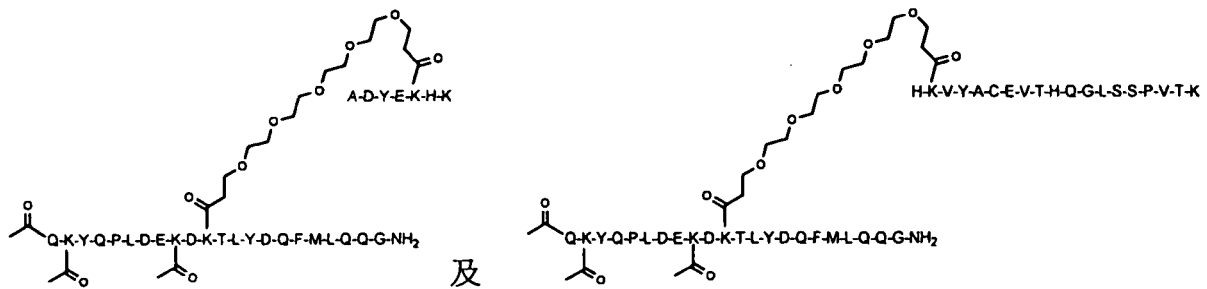


圖 5 顯示當 LC-K¹⁸⁸ 係與該肽共軛時，該胰蛋白酶消化肽之選擇離子 LCMS 層析資料。圖 6 顯示當 LC-K¹⁹⁰ 係經共軛肽修飾時，該胰蛋白酶消化片段之選擇離子 LCMS 層析資料。這些資料指出，只有 LC-K¹⁸⁸ 係經共軛；此情況導致在 MAC-2 中檢測到顯著信號，但在 2.12.1.fx 對照實驗中並無信號存在。來自 LC-K¹⁹⁰ 之修飾的結果不提供任何相較於陰性對照具有獨特性之資料。

和預期不同的是，該肽/連接子似乎優先與 2.12.1.fx 之輕鏈的 LC-K¹⁸⁸ 連接。意外的好處是該 2.12.1.fx 抗體之 Fc 部分不受影響。測試顯示該導致之 MAC-2 之 PK 大約等於未經共軛之 2.12.1.fx 之 PK。混雜、非特異地與抗體上之多重位點共軛可導致 PK 降低之產物。由 MAC-1 及 MAC-2 所示範之本發明之方向性共軛提供最小化一些可由混雜、非特異性共軛造成之可能有害效應(包括降低 PK)之好處。LC-K¹⁸⁸ 係與 CL κ -K⁸⁰ (即 SEQ ID NO:6 之 K⁸⁰)相同之殘基，因為輕鏈(LC)包含可變區及 κ 輕鏈恆定

區 (CL κ)。

爲了建立該方法之可再現性，重複進行該實驗。MAC-2 係經稀釋至 2 mg/ml，藉由大小排除層析-質譜分析 (SEC-MS) 分析完整之共軛蛋白質，以測定該蛋白質之共軛形式的數目及定量。此技術測量各種蛋白質形式之分子量；多重共軛部位被視爲藉由經共軛之肽/連接子之質量差異所分開之不同信號。多重共軛物種之相對定量係由測量該信號強度進行。圖 7A 顯示 MAC-2 之代表性質譜；用於定量之計算係如表 20 所示。該完整 MAC-2 之平均共軛加成係利用下式計算爲 2.11：SUMPRODUCT (共軛加成數 (CA)，每 CA 百分比)。此實施例顯示肽之共軛發生爲介於 0 至 4 個肽加成之分布，最大形式係 2 個肽加成，且肽加成之平均數爲 2.11。由多人重複分析顯示該共軛特性係一致且可再現地。

共軛加成	預期質量	強度	百分比
0	149210	1615	1%
1	152350	20533	17%
2	155490	69395	56%
3	158630	27708	22%
4	161770	4818	4%
		124069	100%

表 20 共軛加成之加權平均值：2.11

肽共軛之程度係在 2.12.1.fx 之輕鏈及重鏈上分開檢測。MAC-2 係經變性，利用鹽酸胍及二硫蘇糖醇及還原雙硫鍵。該形成之游離輕鏈及重鏈係利用 LCMS 分析以測定各自之共軛特性。圖 7B 及 7C 顯示各鏈之代表性質譜；用於定量之計算係如表 21 所示。該經還原之重鏈

MAC-2 之平均共軛加成(平均 CA)係經計算為 0.14，且該經還原之輕鏈 MAC-2 之平均 CA 係經計算為 0.86，使用下式計算：SUMPRODUCT (共軛加成數(CA)，每 CA 百分比)。這些資料顯示在輕鏈上之共軛位置數較高；最常見之輕鏈形式包含一個肽加成，且該輕鏈包含平均 0.86 個肽加成。在重鏈上之共軛被觀察到顯著較低之量。由多人重複分析此實驗顯示該共軛特性係一致且可再現地。

質量 (Da)	共軛加成	物種	強度	百分比	平均 CA
51020	0	HC	102093	86%	
54165	1	HC + (1x) ABP-1	16204	14%	
總 HC			118297	100%	0.14
23584	0	LC	19752	21%	
26729	1	LC + (1x) ABP-1	68757	72%	
29874	2	LC + (2x) ABP-2	6561	7%	
總 LC			95070	100%	0.86

表 21 識別特定共軛位置之 MAC-2 之肽圖譜特徵

MAC-2 係經二硫蘇糖醇之還原，且半胱胺酸殘基係由碘乙醯胺之羧基甲基化加以烷化。使用胰凝乳酶進行蛋白水解消化。溶液中經消化之片段係利用液體層析質譜(LCMS)分析。各片段在 C18 HPLC 管柱中分離，彼等之正確質量係於四級棒飛行時間(Q-ToF)質譜儀中測量。所得之片段質量被用於識別未經修飾之片段或經共軛肽修飾之片段。此實驗係藉由聚焦於包含離胺酸殘基之胰凝乳酶消化片段加以評估，因為這些是肽共軛之可能位點。表 22 顯示所有該等片段之表列。空白代表未利用該項技術檢測之片段。被觀察到具有肽修飾物之檢測片段被認為是

潛在的共軛位點。

表 17 之表格欄位解釋如下：

片段編號：自 N 端之胰凝乳酶消化片段編號；聯合片段 (例如 Y1-2) 表示遺失切割位點。

開始/結束：自 N 端之片段位置之編號

肽質量(Da)：列示片段之理論質量，單位道爾頓。

滯留時間(對照/分析)：在 LCMS 片段圖譜實驗中層析滯留/洗脫之時間。

MS 信號強度(對照/分析)：由 MS 觀察到之觀察信號之強度。

質量誤差- ppm (對照/分析)：片段之理論與觀察質量之比較；數值>10，特別是越接近零(0)顯示越高之質量正確性。

修飾物：該片段之潛在共價加成；肽為 Lys 殘基之抗體結合片段，CAM 為半胱胺酸殘基之羧基甲基化。

星號表示經修飾(例如共軛)版本之個別片段。

Pep 表示經共軛之肽。

肽與 Y15 片段之方向性共軛係藉由定量該共軛量顯示。下列分析在各個被觀察到在該 2.12.1.fx 參照產物之肽圖譜實驗中具有共軛之肽片段上進行。該觀察到之未經修飾之肽於該未經共軛之對照(2.12.1.fx 抗體支架-無共軛)相較於經共軛之參照產物(MAC-2)之信號強度之比例係顯示於表 23。使用該未經修飾之信號是因為可以直接比較各樣本中相同之肽信號。舉例來說，未經共軛之肽將預期

在對照與產物樣本中具有相同之觀察信號強度，因此導致 1 之比例。共軛將導致產物樣本中未經修飾肽之觀察量減少，其將以超過 1 之比例表示。表 23 中之資料進一步被正常化以校正該對照與產物之間的樣本及實驗差異。表 23 顯示輕鏈肽 Y15 相較於其他各種共軛肽係以顯著較高之量共軛。這表示共軛以方向性方式發生且不隨機分布在 K 殘基之間。

片段編號	開始	結束	肽質量(Da)	滯留時間		MS 信號強度		質量誤差 (ppm)		修飾物
				對照	分析物	對照	分析物	對照	分析物	
Y1	1	27	2617.3533							
Y1-2	1	29	2865.4695							
Y5-6	34	47	1657.8398							
Y6	37	47	1253.688	19.2	19.2	516640	583534	1.9	-1.1	
Y6-7	37	50	1602.8518	22.1	22.1	26537	37988	-1.6	-2.2	
Y6-7*	37	50	3295.7017		21.8		6316		-19.4	Pep(1)
Y8-9	51	68	1931.9337	16.5	16.5	60894	85742	-2.2	0.4	
Y9	61	68	878.461	11.3	11.3	376224	412997	0	-1	
Y9-10	61	80	2241.1501							
Y10	69	80	1380.6997	13.3	13.3	261813	299847	-1.1	0.7	
Y10*	69	80	3073.5498		23.4		6350		-8.7	Pep (1)
Y10-011	69	94	2972.4661							
Y19-20	111	157	4748.2773							
Y20	116	157	4160.0405							
Y20-21	116	166	5202.5527							
Y20-21*	116	166	5316.5957	34.1		6445		0.5		CAM(2)
Y24-25	202	245	4702.2109							
Y25	207	245	4151.9722							
Y25*	207	245	4437.0796	20.9	20.9	1495322	1800079	1.1	-3.1	CAM(5)
Y25*	207	245	6129.9297		24.4		6652		-4.5	CAM(5) Pep(1)
Y25-26	207	279	7985.9092							
Y26	246	279	3851.9478							
Y26-27	246	281	4152.0698							

表 22 MAC-2 重鏈參照產物之肽圖譜特徵

片段 編號	開始	結束	肽質量 (Da)	滯留時間		MS 信號強度		質量誤差 (ppm)		修飾物
				對照	分析物	對照	分析物	對照	分析物	
Y28-29	282	300	2245.1128							
Y29	283	300	2082.0493	14.6	14.6	20665	16662	-0.6	-3.8	
Y29-30	283	304	2531.2405							
Y31-32	305	323	2241.1907							
Y32	318	323	722.3599	7.9	7.9	93966	96639	0.1	2.6	
Y32	318	323	722.3599	17.7	18.4	37943	12802	11.4	30.6	
Y32	318	323	722.3599	18.4		11761		23.8		
Y32-33	318	353	4028.188							
Y33	324	353	3323.8386	20		5422		3.1		
Y33*	324	353	3380.8601	19.7	19.7	2196329	2497507	-2.5	-3.1	CAM(1)
Y33*	324	353	5073.71		24		5973		1.3	CAM(1) Pep(1)
Y33-34	324	376	5883.1577							
Y34	354	376	2577.3293							
Y34-35	354	385	3637.8159							
Y34-35*	354	385	3694.8374	33	32.9	10095	20682	1.9	-2.4	CAM(1)
Y36-37	386	408	2527.0808							
Y37	396	408	1394.6388	19.6	19.6	62942	71902	-0.9	-0.4	
Y37-38	396	409	1541.7072	25.1	25.1	827336	878570	0	-1.9	
Y37-38*	396	409	3234.5571		29.7		7749		-5.3	Pep(1)
Y39-40	410	421	1494.8195							
Y40	412	421	1218.672	15.8	15.8	77917	88243	-0.3	-1.6	
Y40-41	412	427	1891.9905	20.3	20.3	107513	149676	0.2	-2	
Y42-43	428	450	2525.1792							
Y43	441	450	1016.5502							

表 22(接上) MAC-2 重鏈參照產物之肽圖譜特徵

片段編號	開始	結束	肽質量 (Da)	滯留時間		MS 信號強度		質量誤差 (ppm)		修飾物
				對照	分析物	對照	分析物	對照	分析物	
Y2-3	36	49	1688.9725	16.2	16.2	145374	170451	-1.7	-2.6	
Y2-3*	36	49	3381.8225		24.2		7192		-9.2	Pep(1)
Y3	37	49	1525.9093	15.5	15.5	331068	393638	-2.7	-2.9	
Y3*	37	49	3218.7593		24		28193		-9	Pep(1)
Y3-4	37	62	2882.6355							
Y9-10	88	116	3244.729							
Y10	99	116	1871.0992							
Y10-11	99	139	4331.335							
Y11	117	139	2478.2463		22.8		47035		-5.9	
Y11-12	117	148	3635.8445							
Y12	140	148	1175.6088							
Y12-13	140	173	3886.8245							
Y13	149	173	2729.2263	13.1	13.1	1140556	1218022	-1.1	0.1	
Y13*	149	173	4422.0762		21.4		8424		-6.5	Pep(1)
Y13-14	149	186	4095.9243							
Y14	174	186	1384.7086							
Y14-15	174	192	2169.1318							
Y15	187	192	802.4337	7.5	7.5	275639	62720	-1.9	-0.2	
Y15*	187	192	2495.2837		20.9		936267		-9.8	Pep(1)
Y15-16	187	209	2574.29							
Y16	193	209	1789.8668	18.7		5400		4.4		
Y16*	193	209	1846.8883	18.1	18.1	169490	235914	-1.7	-2.5	CAM(1)
Y16-17	193	214	2349.0842	17.8		9211		0.1		

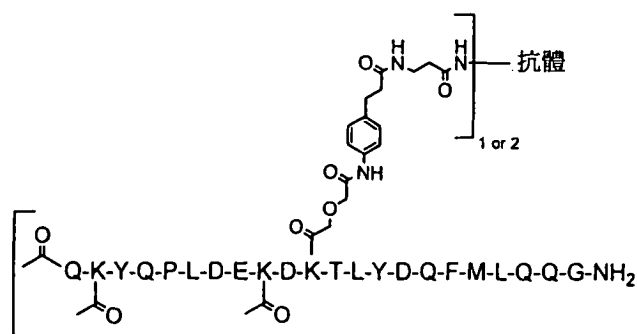
表 22 MAC-2 輕鏈參照產物之肽圖譜特徵

片段	未經修飾之強度比：對照/分析-正常化
輕鏈 Y3	1.000
輕鏈 Y13	1.112
輕鏈 Y15	5.218
重鏈 Y6	0.831
重鏈 Y10	1.038
重鏈 Y25	0.988
重鏈 Y33	1.045
重鏈 Y37	1.120

表 23 肽與輕鏈上之 Y15 片段的方向性共軛

實施例 7 MAC 產物之效價

MAC-1 及 MAC-2 之體外及體內試驗的完整細節係提供於 PCT/US2011/053092 (WO2012/007896)之實施例。在某些實施例中，Ang2-h38C2-IgG1 被用來作為對照。Ang2-h38C2 之產製及結構在專利 WO2008056346 中有詳細說明(為化合物 43)，該專利之內容併入本發明，特別參照有關化合物 43 之產製之態樣。簡言之，該結構如下：



其中該連接子係與抗體之結合部位之 HC-K⁹⁹ (根據卡巴編號之 K⁹³)之 ϵ -胺基共價連接，且該抗體係 h38C2-IgG1 (SEQ ID NO:64 及 65) (WO2008/056346 之 SEQ ID NO:189 及 SEQ ID NO:190)。

簡言之，MAC-1 及 MAC-2 能與 Ang2 結合並防止其與 Tie2 結合（如 Ang2 競爭試驗所示），而且 MAC-1 及

MAC-2 皆具有和親代抗 IGF1R 抗體(2.12.1.fx)類似之與 IGF1 競爭 IGF1R 結合之活性(表 24)。令人意外的是，相較於 Ang2-h38c2，MAC-1 及 MAC-2 皆顯示競爭結合 Ang2 之能力增加。因此，與有限之 Ang2 肽共軛似乎不改變該抗體之固有結合及抑制作用，在有些情況改善該效應物部分之活性。

測試該 MAC 下調在人結腸癌細胞系 Colo205 上之 IGF1R 量之能力。細胞係於培養基中以 MAC 化合物滴定處理 3 小時。收集該些細胞，利用流式細胞分析測定 IGF1R 之表面表現。測定 IGF1R 下調相較於陰性對照 hIgG2 之百分比(表 23)。

	Ang2 IC ₅₀ (nM)	IGF1R IC ₅₀ (nM)	IGF1R 磷酸化 IC ₅₀ (nM)	% IGF1R 下調
MAC-1	0.092 ± 0.049	5.1 ± 1.1	150.7 ± 59.6	43 ± 5
MAC-2	0.057 ± 0.022	6.1 ± 1.1	91.4 ± 40.2	50 ± 5
2.12.1.fx 抗體	nd	3.8 ± 0.8	48.7 ± 14.0	48 ± 3
Ang2-h38c2-IgG1	0.582 ± 0.242	nd	nd	nd

表 24 MAC-1 及 MAC-2 結合與調節 IGF1R 及 Ang2 之能力

也顯示的是，每抗體共軛 2 個肽對於 IGF1R 自體磷酸化及下調之效應係最佳的，每抗體共軛超過或少於 2 個肽皆減弱該 MAC 達成這些功能之能力。

爲了評估每抗體之肽的數目對於 2.12.1.fx 調節 IGF1R 活性之能力的影響，2 個 MAC-1 樣本係經製備，其中該反應條件係經設定以提供減少之共軛(MAC-1 低)或增加之共軛(MAC-1 高)(表 25)。分析該等樣本下調及磷酸化 IGF1R 之能力(表 25)。MAC-1 高相較於 MAC-1 低在有

效調節 IGF1R 途徑之能力上有顯著差異。相較於每抗體共軛約 2 個或少於 2 個肽，每抗體共軛超過約 2 個肽限制該 MAC 抑制 IGF1R 自體磷酸化及誘導 IGF1R 下調之二種功能活性。因此，為了有效地以一種雙功能實體同時調節二種不同的生物途徑，每抗體共軛約 2 個肽可能理想(依肽及標靶之藥物動力學特性而定)。

	Ang2 IC ₅₀ (nM)	% IGF1R 下調	磷酸化 IGF1R IC ₅₀ (nM)	CA (%)						平均 CA
				0	1	2	3	4	5	
MAC-1 低	0.103	32 ± 1	12.8	14	42	32	12	0	0	1.42
MAC-1 高	0.035	9 ± 2	>300	0	4	19	41	32	5	3.18
2.12.1.fx	nd	36 ± 3	3.5							
Ang2- h38c2-IgG1	0.252	nd	nd							

表 25 MAC-1 高及 MAC-1 低之分析

實施例 8 活體內藥物動力學

PK 試驗係利用雄性 Swiss Webster 小鼠及 2 隻公長尾獼猴 (*Macaca fascicularis*) 進行。PK 試驗之完整細節係提供於 PCT/US2011/053092 之實施例。在小鼠中，MAC-1 及 MAC-2 顯示與親代抗 IGF1R 抗體類似之駐留時間， β 期半衰期為 383 至 397 小時。MAC-1 及 MAC-2 Ang2 結合能力顯示與 Ang2-h38c2 類似之駐留時間，在小鼠單一劑量 IV 試驗中 $T^{1/2}$ 為 105 至 120 小時。在長尾獼猴中，MAC-2 顯示比該親代抗 IGF1R 抗體稍微較短之駐留時間， $T^{1/2}$ 為 100.4 小時。MAC-2 Ang2 結合能力顯示與 Ang2-h38c2 類似之駐留時間， $T^{1/2}$ 為 97.8 小時。

化合物 (mg.Kg ⁻¹)	小鼠 β -T $\frac{1}{2}$ (hr)		猴 T $\frac{1}{2}$ (hr)	
	Ang2	IGF1R	Ang2	IGF1R
Ang2-h38c2, (10)	95.2	--	95.3	--
α -IGF1R 抗體, (10), (5)	--	390	--	146.4
MAC-1, (10)	105	383	NT	NT
MAC-2, (10)	120	397	97.8	100.4

表 26 經 IV 投予 MAC 10 mg/mkg 於小鼠及長尾獼猴之單一劑量 PK。 α -IGF1R 抗體於小鼠之劑量 10 mg/kg，猴之劑量為 5 mg/kg。NT：未測試。

實施例 9 活體內藥理學

MAC-2 之抗腫瘤活性係於 Colo205 (人結腸腺癌)或 MDA-MB-435 (黑色素瘤)異種移植模型中評估。腫瘤試驗之完整細節係提供於 PCT/US2011/053092 (WO2012/007896)之實施例。每週投予 Ang2-h38c2 或抗 IGF1R 抗體(2.12.1.fx)抑制 Colo205 腫瘤生長。每周投予 Ang2-h38c2 與抗 IGF1R 抗體之組合顯示在抑制 Colo205 腫瘤生長上之加成好處。每周單獨投予 MAC-2 顯示與該組合類似之好處。在不同的試驗中，MAC-2 劑量依賴性地抑制 Colo205 腫瘤生長及終腫瘤重量。

在第 28 天，MAC-2 (10 mg/kg，一周一次)相較於載劑治療組顯著減少經化合物治療後之腫瘤微血管密度(~42%)，證實 MAC-2 治療之抗血管生成活性。

爲了探討 MAC-2 在活體內是否同時以 Ang2 及 IGF1R 爲標靶，在二個經載劑、Ang2-h38c2、IGF1R 抗體(2.12.1.fx)或 MAC-2 (劑量反應介於 0.3 mg/kg 至 10 mg/kg)治療之獨立 Colo205 異種移植腫瘤中評估 MAC-2 對 Ang2 及 IGF1R 表現量之影響。結果顯示相較於載劑治

療組，MAC-2 治療以劑量依賴方式(1、3 及 10 mg/kg)顯著減少 Ang2 及 IGF1R 免疫反應性。MAC-2 對 IGF1R 量之影響類似在 IGF1R 拮抗抗體所觀察到之結果。此外，磷酸化 IGF1R 之量在經 MAC-2 治療之動物的腫瘤中係經減少。這些資料顯示 MAC-2 治療影響 Colo205 異種移植模型中之 Ang2 及 IGF1R 途徑。MAC-2 治療不影響體重增加，小鼠在整個試驗期間呈現良好健康狀況。MAC-2 之抗腫瘤療效亦在 MDA-MB-435 黑色素瘤異種移植模型中評估。每周投予 MAC-2 (3 及 20 mg/kg IP)導致 MDA-MB-435 模型中之腫瘤生長顯著減少 40% (第 67 天)。因此，MAC-2 在二個不同之人異種移植腫瘤模型中顯示顯著抗腫瘤療效。

實施例 10 各種抗體之肽共軛特性

多種不同抗體與肽之共軛特性係經分析，分別使用 SEQ ID NO:27 及 PEG₅ 作為示範性肽及連接子。所有測試抗體皆為具有清楚抗原交互作用定義及特徵之人或全人化 IgG 抗體。hAb λ 測試包含 CL λ (hIL22: SEQ ID NO:136 及 137)，然而 2.12.1.fx、mAb κ 測試 1 (IgG2 抗 Alk1 抗體，如 US7537762 所揭示，以參照方式併入此處)、h38C2-IgG1 (SEQ ID NO:64 及 65)和 h38C2-IgG2 (SEQ ID NO:64 及 66)各包含 CL κ。各抗體經緩衝液交換為 20mM HEPES，pH 7.0，濃縮成 5 至 20mg/mL。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]係利用 50%丙二醇重懸，以 4.3:1 莫耳比與相關抗

體混合，允許在室溫下至少反應 2 小時。所有樣本係經稀釋至 2mg/ml，藉由大小排除層析-質譜分析(SEC-MS)分析完整之共軛蛋白質，以測定該蛋白質之共軛形式的數目及定量。此技術測量各種蛋白質形式之分子量；多重肽共軛部位被視為藉由結合肽之質量差異所分開之不同信號。多重肽共軛物種之相對定量係由測量該信號強度進行。表 22 顯示各種抗體之肽共軛特性。

以包含 CL κ 之抗體而言，肽共軛發生在介於 0 至 4 個肽加成之分布，最大形式為 2 至 3 個肽加成。相對地，以包含 CL λ 之抗體(hAb λ 測試)而言，肽之共軛發生在介於 0 至 4 個肽加成之分布，最大形式為 1 至 2 個肽加成。

肽共軛之程度係在輕鏈及重鏈上分開檢測。各樣本係經變性，並利用鹽酸胍及二硫蘇糖醇還原雙硫鍵。該形成之游離輕鏈及重鏈係利用 LCMS 分析以測定各自之共軛特性。在各種抗體之輕鏈及重鏈上之肽共軛特性係顯示於表 27。在 2.12.1.fx 和 hAb κ 測試 1 上之資料顯示共軛位置在輕鏈上較多；含量最多之輕鏈形式包含 1 個肽加成。在重鏈上之共軛被觀察到顯著較低之量。在 h38C2-IgG1 及 h38C2-IgG2 上，輕鏈及重鏈上所觀察到之共軛量類似，稍微偏向輕鏈上之共軛。在含 CL λ 之抗體(hAb λ 測試；包含 SEQ ID NO:136 及 137)上，大部分之共軛發生在重鏈上，在輕鏈上觀察到低量之共軛。

抗體	CA (%)					平均 CA	輕鏈 %CA			重鏈 %CA		
	0	1	2	3	4		0	1	2	0	1	2
2.12.1.fx	1	15	53	26	5	2.2	20	70	9	84	16	0
hAbλTest	10	37	37	11	6	1.66	95	5	0	74	22	4
hAbκTest1	7	10	35	27	14	2.55	11	74	14	87	13	0
h38C2 IgG1	1	3	28	55	13	2.75	49	46	4	70	30	0
h38C2 IgG2	4	6	31	44	15	2.6	61	35	4	73	27	0

表 27 各種抗體之共軛特性

抗體 2.12.1.fx、hAb λ 測試及 hAb κ 測試 1 中之各者係在共軛之後檢測，以測定共軛加成對於抗體支架保留彼之受體結合能力之影響(相較於天然 mAb) (表 28)。結果顯示肽與測試抗體之方向性共軛似乎不改變該抗體之結合。

抗體	抗原結合	
	天然 (IC ₅₀ , nM)	天軛後 (IC ₅₀ , nM)
2.12.1.fx	3.2	5.7
hAbλTest	0.4	1.7
hAbκTest1	59	53

表 28 An 抗體在共軛前後與個別天然抗原之結合

實施例 11 IgG2-κ 抗體之肽共軛特性

具有 39 聚體肽之 IgG2 κ 抗體(hAB κ 測試 2)之共軛特性係經分析(SEQ ID NO:164)。該抗體被濃縮成 8mg/mL，並經緩衝液交換至 40mM HEPES pH 8.0。該肽係利用 100% DMSO 重懸，以 5.0:1 莫耳比與該抗體混合，允許在室溫下反應隔夜。所有樣本係經稀釋至 2mg/ml，藉由大小排除層析-質譜分析(SEC-MS)分析完整之共軛蛋白質，以測定該蛋白質之共軛形式的數目及定量。此技術測量各種蛋白質形式之分子量；多重肽共軛部位被視為藉由

肽之質量差異所分開之不同信號。多重肽共軛物種之相對定量係由測量該信號強度進行。表 29 顯示具有 39 聚體肽之 hAb κ 測試 2 肽共軛特性。肽共軛發生在介於 0 至 4 個 CA 之分布，平均為 2.03 CA，且與 CL κ -K⁸⁰ 上之方向性共軛一致。

抗體 支架	結合肽	%CA					平均 CA
		0	1	2	3	4	
hAb κ Test2	39 聚體肽	1	22	53	18	5	2.03

表 29 39 聚體肽與 hAb κ Test2 之共軛特性

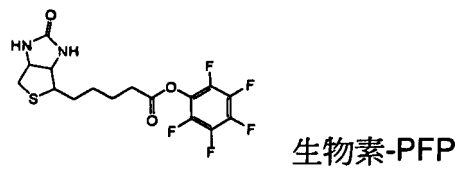
在分開之實驗中，該 39 聚體肽係藉由上述之 MAL-PEG2-PFP，以不同莫耳濃度與 h38C2-IgG2 共軛。此外，測定與該 39 聚體之同源受體之結合。結果(表 30)顯示與 CL κ -K⁸⁰ 之方向性共軛一致。另外，增加每抗體之肽平均數不會大幅增加與該標靶之整體結合。此顯示在某些情況中，增加每抗體之共軛可能不會增加標靶結合，這是本發明的好處之一；控制每抗體共軛之肽數目有助於達成每單位肽之最大標靶結合。

39 聚體肽: h38C2-IgG2 莫耳比	CA (%)				平均 共軛數	肽標靶: EC50 (nM)
	0	1	2	3		
2:1	57	32	10	0	0.52	0.99
2.5:1	19	56	25	0	1.06	1.06
4:1	20	25	35	20	1.55	1.01
5:1	0	16	45	40	2.26	0.82

表 30 39 聚體肽與 H38C2-IgG2 之共軛特性

實施例 12 生物素與 2.12.1.fx Fab 之共軛

2.12.1.fx 之 Fab 區 (SEQ ID NO:4 及 64) 與 PFP-生物素之共軛特性係經分析。抗體 Fab 被濃縮至 20mg/mL，經緩衝液交換至 20mM 醋酸鈉+200mM 海藻糖 pH 5.5，添加 60mM 磷酸鈉 pH 7.7。PFP-生物素係利用 100% DMSO 重懸，以連續莫耳比與該抗體混合後允許在室溫下反應隔夜。所有樣本係經稀釋至 2 mg/ml，藉由大小排除層析-質譜分析 (SEC-MS) 分析完整之共軛蛋白質，以測定該共軛形式之數目及定量。此技術測量各種蛋白質形式之分子量；多重共軛部位被視為藉由經共軛之肽之質量差異所分開之不同信號。多重共軛物種之相對定量係由測量該信號強度進行。表 31 顯示不同莫耳比之 2.12.1.fx Fab 與 PFP-生物素之共軛特性。該共軛隨著莫耳比之增加發生在介於 0 至 2 加成之分布。每抗體較低之分子數係與較早結果一致，根據所使用之莫耳比。此顯示本方法藉由改變反應參數以控制共軛量之彈性。



結合肽	肽:抗體 莫耳比	%CA				平均 CA
		0	1	2	3	
生物素-PFP	1:1	54	46	-	-	0.46
生物素-PFP	1.5:1	42	51	7	-	0.65
生物素-PFP	2:1	34	55	10	-	0.76
生物素-PFP	3:1	28	55	17	-	0.88
生物素-PFP	4:1	21	46	26	8	1.21

表 31 生物素與 2.12.1.fx Fab 之共軛特性

實施例 12 生物素與 h38C2-IgG1 之共軛

抗體 h38C2-IgG1 以 HEPES 緩衝液 pH 7.5 調整至 20 mg/mL，終濃度為 0.02 M。生物素-PFP 經水重構為 10 mg/mL，以 5:1 之莫耳比被添加至 h38C2-IgG1，允許在室溫下反應 2 小時。該未經反應之 PFP-生物素藉由大小排除層析移除，並經緩衝液交換至組胺酸、甘胺酸及蔗糖緩衝液 pH 6.5。該樣本係經稀釋至 2 mg/ml，藉由大小排除層析-質譜分析(SEC-MS)分析完整之共軛蛋白質，以測定該蛋白質之共軛形式的數目及定量。表 32 顯示 h38C2-IgG1 與生物素-PFP 之共軛特性。h38C2-IgG1 之共軛發生在介於 0 至 3 CA 之分布，平均為 1.1 共軛。在理想化該反應條件後，有可能增加共軛。h38C2-IgG1 上之 VH-K⁹⁹ (根據卡巴編號為 K⁹³) 當與該催化抗體測試化合物 CATC-1 反應並經由逆向層析分析時，其反應性係經證實為 > 95%。

抗體	0	1	2	3	平均 CA
h38C2-IgG1	16	61	20	3	1.1

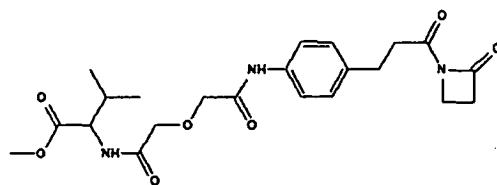


表 32: 生物素與 h38C2-IgG1 之共軛

CATC-1

實施例 13 2.12.1.fx 及 CL κ -K⁸⁰、CL κ -K⁸² 突變物之共軛特性

根據肽圖譜，在 Y15 片段上有二個 Lys。爲了區別活性共軛位點，CL κ -K⁸⁰ 及 CL κ -K⁸² 被分別或一起突變成 R。測試抗體 2.12.1.fx 之突變物係根據 QuickChange 定點突變形成套組(Stratagene®)所述之方法產製。突變藉由寡核苷酸引子導入並以 DNA 定序證實。該經突變之單株抗體被暫時表現於 HEK 293 細胞，利用蛋白質 A 親和性管柱純化。該經純化之單株抗體可利用 MS 加以特徵化。SEQ ID NO:12、13 及 14 顯示該突變 CL κ 序列。

該抗體經緩衝液交換至 0.02M HEPES 緩衝液 pH 7.5 或 6.5，濃度爲 2 mg/mL。若 pH 爲 6.5，該抗體接著被添加 60mM 磷酸鈉 pH 7.7。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]係利用 50%丙二醇重懸，以 4.3:1 莫耳比與該蛋白質混合，允許在室溫下反應隔夜。所有樣本係經稀釋至 2 mg/ml，藉由大小排除層析-質譜分析(SEC-MS)分析完整之共軛蛋白質，以測定該蛋白質之共軛形式的數目及定量。此技術測量各種蛋白質形式之分子量；多重共軛部位被視爲藉由經

共軛之蛋白質之質量差異所分開之不同信號。多重蛋白質共軛物種之相對定量係由測量該信號強度進行。表 33 顯示未經修飾之 2.12.1.fx、2.12.1.fx-[CL κ -K⁸⁰R] (CL κ : SEQ ID NO:12)、2.12.1.fx-[CL κ -K⁸²R] (CL κ : SEQ ID NO:13)、及 2.12.1.fx-[CL κ -K⁸⁰R-K⁸²R] (CL κ : SEQ ID NO:14)之共軛特性。CL κ -K⁸⁰R 突變顯示減少共軛。CL κ -K⁸²R 和未經共軛之 2.12.1.fx 具有類似共軛。MAC-2 之共軛係低於在其他測試中觀察到者，因為使用組合之 HEPES/磷酸鹽緩衝液。

輕鏈 SEQ ID NO:		CA (%)					平均 CA
		0	1	2	3	4	
6	MAC-2	14	49	31	5	1	1.29
12	K80R	82	14	4	0	0	0.22
13	K82R	11	46	36	6	0	1.37
14	K80R / K82R	51	37	9	3	0	0.63

表 33 2.12.1.fx、K⁸⁰及 R⁸² 突變物之共軛特性

實施例 14 闡明在 K⁸⁰ 之方向性共軛基轉

CL κ -H⁸¹ 側鏈非常靠近 CL κ -K⁸⁰ 之 ϵ -胺基。由於 His 通常與質子轉移反應有關，因此 CL κ -H⁸¹ 非常有可能為 CL κ -K⁸⁰ 共軛所需。為了研究 CL κ -H⁸¹ 與 CL κ -K⁸⁰ 定點共軛之相關性，藉由 CL κ -H⁸¹A 突變消除咪唑環。CL κ -D⁴³A 及 CL κ -D⁴³A/H⁸¹A 突變被製備以研究 CL κ -D⁴³ 於定點共軛之角色以及 CL κ -D⁴³ 及 CL κ -H⁸¹ 之組合效應。

突變係根據 QuickChange 定點突變形成套組

(Stratagene®)中之說明產製。突變藉由寡核苷酸引子導入並以 DNA 定序證實。該經突變之單株抗體被暫時表現於 HEK 293 細胞，利用蛋白質 A 親和性管柱純化。該經純化之單株抗體可利用 MS 加以特徵化。下列 2.12.1.fx 1 CL κ 突變物係經產製：CL κ -D⁴³A (SEQ ID NO:15)、CL κ -K⁸⁰A (SEQ ID NO:16)、CL κ -H⁸¹A (SEQ ID NO:17)、CL κ -K⁸²A (SEQ ID NO:18)及 CL κ -D⁴³A/H⁸¹A (SEQ ID NO:19)。

這些抗體各自經緩衝液交換至 20mM 醋酸鈉、200mM 海藻糖 pH 5.5，濃度為 20mg/ml。該等蛋白質接著被添加 60mM 磷酸鈉 pH 7.7。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]係利用 50% 丙二醇重懸，以 4.3:1 莫耳比與該抗體混合，允許在室溫下反應隔夜。所有樣本係經稀釋至 2mg/ml，藉由大小排除層析-質譜分析(SEC-MS)分析完整之共軛蛋白質，以測定該蛋白質之共軛形式的數目及定量。此技術測量各種蛋白質形式之分子量；多重共軛部位被視為藉由經共軛之肽之質量差異所分開之不同信號。多重共軛物種之相對定量係由測量該信號強度進行。

表 34 顯示 2.12.1.fx、2.12.1.fx-[CL κ -D⁴³A]、2.12.1.fx-[CL κ -K⁸⁰A]、2.12.1.fx-[CL κ -H⁸¹A]、2.12.1.fx-[CL κ -K⁸²A]以及 2.12.1.fx-[CL κ -D⁴³A/H⁸¹A]突變物之共軛特性。所有突變物相較於該未經修飾之 2.12.1.fx 抗體皆顯示減少之平均共軛量，除了 CL κ -K⁸⁰A 以外，其維持方向性共軛。

共軛之程度係在輕鏈及重鏈上分開檢測。各樣本係經變性，並利用鹽酸胍及二硫蘇糖醇還原雙硫鍵。該形成之游離輕鏈及重鏈係利用 LCMS 分析以測定各自之共軛特性。在 2.12.1.fx 及突變物之輕鏈及重鏈上之共軛特性係顯示於表 34。所有表中列示之突變物顯示相較於該未經修飾之 2.12.1.fx 在輕鏈上減少之共軛量，除了 CL κ -K⁸⁰A 以外。該等突變物之重鏈共軛量係與該未經修飾之 2.12.1.fx 類似。相較於個別 WT 之 1-LC%顯示於右欄，如表 34 所示。

輕鏈 SEQ ID NO:	突變物	CA (%)					平均 CA	輕鏈 CA%			輕鏈 平均 CA- 輕鏈	重鏈 CA %			重鏈 平均 CA- 重鏈	1 輕 鏈 WT %
		0	1	2	3	4		0	1	2		0	1	2		
6	MAC-2	1	15	53	26	5	2.2	23	69	8	0.85	86	14	0	0.14	
15	D ⁴³ A	17	38	31	14	0	1.41	68	30	1	0.33	79	21	0	0.21	43
16	K ⁸⁰ A	56	31	10	4	0	0.61	89	11	0	0.11	91	9	0	0.09	16
17	H ⁸¹ A	34	44	17	6	0	0.95	89	11	0	0.11	78	22	0	0.22	16
18	K ⁸² A	9	7	31	37	16	2.42	8	77	15	1.06	83	17	0	0.17	111
19	D ⁴³ A/ H ⁸¹ A	34	39	18	9	0	1.02	83	17	0	0.17	87	13	0	0.13	25

表 34 MAC-2 與 K⁸⁰A、D⁴³ 及 H⁸¹ 突變物之共軛特性

實施例 15 λ / κ 取代

在 hAb λ 測試 1 中之 CL λ (SEQ ID NO:136 及 137) 係經 CL κ 取代以測定此是否能增加輕鏈定點共軛之量、方向性及/或控制。該 CL λ /CL κ 結構域取代雜合建構體係利用重疊 PCR 產製。VL λ 及 CL κ 係分別利用 hAb λ 測試及 κ 單株抗體輕鏈作為模板以經 PCR 擴增。這 2 種 PCR 產物係經混合以作為模板；在重疊 PCR 反應中使用 hAb λ 測試 1 前置引子及 CL κ 反置引子以擴增該全長

hAb λ 測試 VL/CL κ DNA。該雜合抗體建構體被暫時表現於 HEK 293 細胞，利用蛋白質 A 親和性管柱純化。該經純化之抗體可利用 MS 加以特徵化。該 hAb λ 測試 CL κ 雜合體與彼之同源配體之結合類似該天然之 mAb (hAb λ 測試)(表 35)。SEQ ID NO:59、60 及 61 係來自 hAb λ 測試、hAb λ 測試- $\lambda \kappa$ (含 λJ)、及 hAb λ 測試- $\lambda \kappa J$ (含 κJ)之輕鏈固定區。

hAb λ 測試1 突變物	輕鏈 SEQ ID NO:	抑制 IL22 與抗原結合 (IC ₅₀ , nM)
hAb λ Test (對照)	59	0.4
hAb λ 測試- $\lambda\kappa$	60	0.3
hAb λ 測試- $\lambda\kappa J$	61	0.3

表 35 λ / κ 取代之抗體：抗原結合

實施例 16 hAb λ 測試 1 突變物：模體修飾

爲了了解短模體“KH”是否足以在該 CL λ 之對應區域中形成 MAC，使在 hAb λ 測試中之殘基 CL λ ^{81/82} 簡單序列交換以製備在 K⁸⁰ 旁放進組胺酸之突變物，因此“K⁸⁰S⁸¹H⁸²”變成“K⁸⁰H⁸¹S⁸²”。突變係根據 QuickChange 定點突變形成套組(斯壯特基(Stratagene)公司)中之說明產製。突變藉由寡核苷酸引子導入並以 DNA 定序證實。該突變抗體建構體被暫時表現於 HEK 293 細胞，利用蛋白質 A 親和性管柱純化。該經純化之抗體可利用 MS 加以特徵化。該 hAb λ 測試-[CL λ -S⁸¹H/H⁸²S] (CL: SEQ ID NO:62)突變物與彼之配體之結合和該母體 hAb λ 測試抗體一樣有效(表 36)。

hAbλ測試1 突變物	輕鏈 SEQ ID NO:	配體結合 (IC ₅₀ , nM)
hAbλ測試 (對照)	59	0.3
hAbλ測試-S ⁸¹ H/H ⁸² S	62	0.4

表 36 hAbλ測試-S⁸¹H/H⁸²S.

實施例 17 hAb λ 測試 1 突變物之共軛特性

各種抗體(hAb λ 測試、hAb λ 測試-λ κ、hAb λ 測試-λ κ J 及 hAb λ 測試-[CL λ -S⁸¹H/H⁸²S])經緩衝液交換至 20mM 醋酸鈉、200m 海藻糖 pH 5.5，濃度為 20mg/ml。該等蛋白質接著被添加 60mM 磷酸鈉 pH 7.7。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]係利用 50%丙二醇重懸，以 4.3:1 莫耳比與該抗體混合，允許在室溫下反應隔夜。所有樣本係經稀釋至 2mg/ml，藉由大小排除層析-質譜分析(SEC-MS)分析完整之共軛蛋白質，以測定該蛋白質之共軛形式的數目及定量。此技術測量各種蛋白質形式之分子量；多重肽共軛部位被視為藉由肽之質量差異所分開之不同信號。多重肽共軛物種之相對定量係由測量該信號強度進行。表 37 顯示在 2 種 LC 交換雜合體(λ κ 及 λ κ J-前者包括 λ J 片段，後者包括 κ J 片段)中共軛之整體量係經增加。該共軛量隨著 hAb λ 測試對照之平均 CA 增加，分別自 1.66 增加至 2.19 (λ κ)及 2.53 (λ κ J)。該突變物相較於天然序列具有很少效應，顯示該“KH”模體不足以用於 MAC 形成。

肽共軛之程度係在輕鏈及重鏈上分開檢測(表 37)。各樣本係經變性，並利用鹽酸胍及二硫蘇糖醇還原雙硫鍵。該形成之游離輕鏈及重鏈係利用 LCMS 分析以測定各自之

共軛特性。在該還原分析中，天然 hAb λ 測試之輕鏈僅具有 5%之 1CA，但是 hAb λ 測試-λ κ 及 hAb λ 測試-λ κ J 分別戲劇性地跳到 58% 1CA 及 63% 1CA。該 LC 交換對於 HC 共軛之量的影響很小，維持相對固定(λ κ J 除外，其中 HC 共軛呈中度增加)。同樣地，該突變物相較於天然序列具有很少效應，顯示該“KH”模體不足以用於 MAC 形成。相較於個別 WT 之 1-LC%顯示於右欄，如表 37 所示。

hAbλ 測試 突變物	輕鏈 SEQ ID NO:	CA (%)					平均 CA	輕鏈 CA%			平均 CA- LC	重鏈 CA %			平均 CA- HC	1LC WT%
		0	1	2	3	4		0	1	2		0	1	2		
hAbλ 測試	59	10	37	37	11	6	1.66	95	5	0	0.05	74	22	4	0.3	
hAbλ 測試- λκ	60	3	18	43	29	7	2.19	42	58	0	0.58	78	22	0	0.22	1160
hAbλ 測試- λκJ	61	2	11	34	36	17	2.53	33	63	4	0.71	64	36	0	0.36	1260
hAbλ 測試- S ⁸¹ H/H ⁸² S	62	7	34	37	16	6	1.79	82	18	0	0.18	79	21	0	0.21	360

表 37 hAb λ測試突變物之共軛特性

這些共軛形式之受體結合特性亦經評估以測定與 [PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]共軛對於該些經共軛之抗體仍能與彼等之配體結合之能力的影響(表 38)。

與 SEQ ID NO:27 共軛之 hAbλ 測試 1 突變物	輕鏈 SEQ ID NO:	抑制 IL22 與抗原結合 (IC ₅₀ , nM)
hAbλ測試	59	1.7
hAbλ 測試-λκ	60	1.5
hAbλ 測試-λκJ	61	1.6
hAbλ 測試 1-S ⁸¹ H/H ⁸² S	62	1.6

表 38 抗體之 λ 之抗體：抗原結合

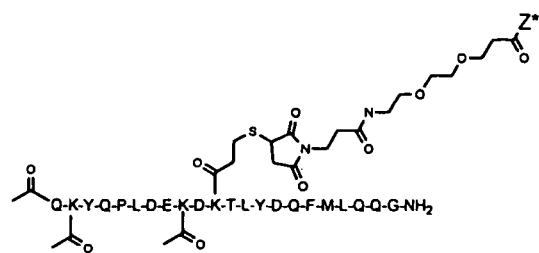
實施例 18 利用不同脫離基產製 MAC

爲了探討活性酯脫離基之活化程度及/或結構在定義該方向性共軛效應時是否重要，合成一系列[PFP-PEG₂-MAL-K_{SH}¹¹-SEQ:27]之選擇性活化之酯類似物。該共軛產物之分布係由該完整共軛物之 MS 檢測，且肽加成至輕鏈及重鏈之程度亦在還原該完整共軛物及分開該等輕鏈及重鏈後由 MS 測定。

該選擇性活化之酯的結構與命名係如下所述。該選擇性活化之肽係利用與上述相同之策略及方法合成。簡言之，各種經活化之基團被併入 MAL-PEG₂-Z* 連接子之中，其中 Z*代表取代 PFP 之新的脫離基。爲了合成上述化合物，經純化之 ABP-硫醇肽(即具有 K_{SH} 作爲連接殘基之 ABP)之樣本(30 至 40 mg)被溶解於脫水 DMF (2 ml) 中。添加 MAL-PEG₂-Z* (20 mg)與 N-甲基嗎啉(5 mL)。該反應在室溫下攪拌進行，以 HPLC 監測以得知產物形成之時間進程。自起始肽完全轉換成活化酯連接之 ABP 產物可在前 2 至 6 小時內觀察到。該溶液係經過濾，該產物尖峰藉由半製備型 HPLC 直接分離。該產物係經分離，在冷凍乾燥後產率介於大約 30 至 50%。

該等共軛反應係於標準條件下進行。簡言之，該 2.12.1.fx 抗體溶液係利用磷酸鈉 pH 7.7 稀釋 2.12.1.fx 溶液至終濃度 0.06M 加以製備。分開地，該肽溶液係藉由溶解該肽於丙二醇至 20 mg/ml，接著以水稀釋此溶液至 10

mg/ml 加以製備。在共軛反應中，該肽與抗體溶液係以 4:1 莫耳比混合訂明之時間。在時間進程之試驗中，共軛溶液之樣本係在不同之時間點淬熄，藉由混合該共軛反應之樣本與 40 mM 琥珀酸、200 mM 甘胺酸 pH 4.0 之溶液 (1:1, v/v)達成。共軛反應之時間進程由 HPLC 監測。SEQ ID NO:27 被用來作為示範性肽。



Z*-PEG₂-MAL-K_{SH}¹¹-SEQ:27

	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	Z6	Z7	Z8	Z9	Z10	Z11	Z12
CA	PFP	2,3,4 TFP	2,3,6 TFP	2,3,6 TCP	2,6 DCP	2,4 DCN	5,7 DCQ	NH5 NB2,3 DCI	2HI 1,3 D	4NP	2,6- DFP	1 NAP
0	3	32	17	100	81	38	73	34	20	41	50	100
1	34	45	43	0	19	45	25	40	36	42	39	0
2	51	20	30	0	0	16	2	18	31	15	11	0
3	12	3	11	0	0	2	0	5	12	3	0	0

表 39 24 小時後之反應性酯-完整共軛

表 39 顯示在共軛反應開始後 24 小時該完整共軛物之終產物分布。結果顯示有些酯完全不反應 (Z4、Z12)，其他酯反應緩慢 (例如 Z5)，然而有些達到 PFP (Z1)之效果 (例如 Z3)。

共軛動力學

各種終共軛物於不同時間之加成速率係顯示於表

39、40、41 及 42。0CA 代表未經衍生化之 2.12.1.fx 抗體，而 1、2 或 3CA 代表在各個檢測之時間期間加成 1、2 或 3 個肽至該 2.12.1.fx 抗體。

0CA	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	Z6	Z7	Z8	Z9	Z10	Z11	Z12
時間 (小時)	PFP	2,3,4 TFP	2,3,6 TFP	2,3,6 TCP	2,6 DCP	2,4 DCN	5,7 DCQ	NH5 NB2,3 DCI	2HI 1,3 D	4NP	2,6- DFP	1 nap
0	84	97	94	100	100	100	100	95	95	96	100	100
1	5	83	58	100	100	95	96	43	24	79	93	100
2	4	75	40	100	100	89	93	42	20	67	88	100
4	4	62	27	100	96	81	88	40	20	54	79	100
24	3	32	17	100	81	38	73	34	20	41	50	100

表 40 產生 0 CA 之不同 Z*基團的共軛動力學

1CA	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	Z6	Z7	Z8	Z9	Z10	Z11	Z12
時間 (小時)	PFP	2,3,4 TFP	2,3,6 TFP	2,3,6 TCP	2,6 DCP	2,4 DCN	5,7 DCQ	NH5 NB2,3 DCI	2HI 1,3 D	4NP	2,6- DFP	1 nap
0	16	3	6	0	0	0	0	5	5	5	0	0
1	38	17	36	0	0	5	4	39	39	21	8	0
2	37	25	45	0	0	11	7	39	38	29	12	0
4	33	34	43	0	4	19	12	42	39	37	21	0
24	34	45	43	0	19	45	25	40	36	42	39	0

表 41 產生 1 CA 之不同 Z*基團的共軛動力學

2CA	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	Z6	Z7	Z8	Z9	Z10	Z11	Z12
時間 (小時)	PFP	2,3,4 TFP	2,3,6 TFP	2,3,6 TCP	2,6 DCP	2,4 DCN	5,7 DCQ	NH5 NB2,3 DCI	2HI 1,3 D	4NP	2,6- DFP	1 nap
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	49	0	6	0	0	0	0	15	27	0	0	0
2	50	0	14	0	0	0	0	16	30	4	0	0
4	52	4	25	0	0	0	0	15	29	9	0	0
24	51	20	30	0	0	16	2	18	31	15	11	0

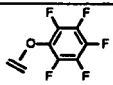
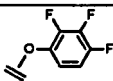
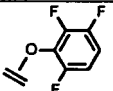
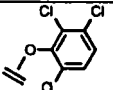
表 42 產生 2 CA 之不同 Z*基團的共軛動力學

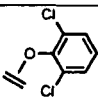
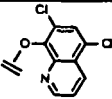
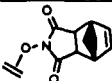
3CA	Z1	Z2	Z3	Z4	Z5	Z6	Z7	Z8	Z9	Z10	Z11	Z12
時間 (小時)	PFP	2,3,4 TFP	2,3,6 TFP	2,3,6 TCP	2,6 DCP	2,4 DCN	5,7 DCQ	NH5 NB2,3 DCI	2HI 1,3 D	4NP	2,6- DFP	1 nap
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	8	0	0	0	0	0	0	3	11	0	0	0
2	10	0	2	0	0	0	0	3	12	0	0	0
4	12	0	5	0	0	0	0	4	12	0	0	0
24	12	3	11	0	0	2	0	5	12	3	0	0

表 43 產生 3 CA 之不同 Z*基團的共軛動力學

輕鏈及重鏈分布

各種替代性活化之酯的肽共軛程度係在輕鏈及重鏈上分開檢測。各樣本係經變性，並利用鹽酸胍及二硫蘇糖醇還原雙硫鍵。該形成之游離輕鏈及重鏈係利用 LCMS 分析以測定各自之共軛特性。在 2.12.1.fx 及突變物之輕鏈及重鏈上之肽共軛特性係顯示於表 44。幾乎所有列於表中之經活化之肽相較於使用 PFP (Z1)之化合物顯示在輕鏈上減少之共軛量，除了 2,3,6-三氟苯基(Z3)以外，其顯示類似之共軛量。衍生自 N-羥基琥珀醯亞胺(NHS)之經活化之酯，即 N-羥基-5-降冰片烯-2,3-二羧酸醯亞胺及 2-羥基-異吲哚啉-1,3-二酮(Z8 及 Z9)顯示較高傾向之重鏈衍生化。

Z* #	Z* 名稱	Z* 結構	共軛加成物之時間進程 [粗體之分開 24 小時實驗]	在 24 小時之還原共軛																																										
1	五氟基 苯基		<table><tr><th>CA</th><th>0</th><th>1</th><th>2</th><th>4</th><th>24</th></tr><tr><td>0</td><td>84</td><td>5</td><td>4</td><td>4</td><td>3</td></tr><tr><td>1</td><td>16</td><td>38</td><td>37</td><td>33</td><td>34</td></tr><tr><td>2</td><td>0</td><td>49</td><td>50</td><td>52</td><td>51</td></tr><tr><td>3</td><td>0</td><td>8</td><td>10</td><td>12</td><td>12</td></tr></table>	CA	0	1	2	4	24	0	84	5	4	4	3	1	16	38	37	33	34	2	0	49	50	52	51	3	0	8	10	12	12	<table><tr><th>LC</th><th>LC+ 1CA</th><th>L+ 2CA</th></tr><tr><td>30</td><td>64</td><td>7</td></tr><tr><th>HC</th><th>HC+ 1CA</th><th>HC+ 2CA</th></tr><tr><td>94</td><td>6</td><td>-</td></tr></table>	LC	LC+ 1CA	L+ 2CA	30	64	7	HC	HC+ 1CA	HC+ 2CA	94	6	-
CA	0	1	2	4	24																																									
0	84	5	4	4	3																																									
1	16	38	37	33	34																																									
2	0	49	50	52	51																																									
3	0	8	10	12	12																																									
LC	LC+ 1CA	L+ 2CA																																												
30	64	7																																												
HC	HC+ 1CA	HC+ 2CA																																												
94	6	-																																												
2	2,3,4-三 氟基-苯 基		<table><tr><th>CA</th><th>0</th><th>1</th><th>2</th><th>4</th><th>24</th></tr><tr><td>0</td><td>97</td><td>83</td><td>75</td><td>62</td><td>32</td></tr><tr><td>1</td><td>3</td><td>17</td><td>25</td><td>34</td><td>45</td></tr><tr><td>2</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>4</td><td>20</td></tr><tr><td>3</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>3</td></tr></table>	CA	0	1	2	4	24	0	97	83	75	62	32	1	3	17	25	34	45	2	0	0	0	4	20	3	0	0	0	0	3	<table><tr><th>LC</th><th>LC+ 1CA</th><th>L+ 2CA</th></tr><tr><td>59</td><td>41</td><td>-</td></tr><tr><th>HC</th><th>HC+ 1CA</th><th>HC+ 2CA</th></tr><tr><td>94</td><td>6</td><td>-</td></tr></table>	LC	LC+ 1CA	L+ 2CA	59	41	-	HC	HC+ 1CA	HC+ 2CA	94	6	-
CA	0	1	2	4	24																																									
0	97	83	75	62	32																																									
1	3	17	25	34	45																																									
2	0	0	0	4	20																																									
3	0	0	0	0	3																																									
LC	LC+ 1CA	L+ 2CA																																												
59	41	-																																												
HC	HC+ 1CA	HC+ 2CA																																												
94	6	-																																												
3	2,3,6-三 氟基-苯 基		<table><tr><th>CA</th><th>0</th><th>1</th><th>2</th><th>4</th><th>24</th></tr><tr><td>0</td><td>94</td><td>58</td><td>40</td><td>27</td><td>17</td></tr><tr><td>1</td><td>6</td><td>36</td><td>45</td><td>43</td><td>43</td></tr><tr><td>2</td><td>0</td><td>6</td><td>14</td><td>25</td><td>30</td></tr><tr><td>3</td><td>0</td><td>0</td><td>2</td><td>5</td><td>11</td></tr></table>	CA	0	1	2	4	24	0	94	58	40	27	17	1	6	36	45	43	43	2	0	6	14	25	30	3	0	0	2	5	11	<table><tr><th>LC</th><th>LC+ 1CA</th><th>L+ 2CA</th></tr><tr><td>30</td><td>64</td><td>7</td></tr><tr><th>HC</th><th>HC+ 1CA</th><th>HC+ 2CA</th></tr><tr><td>90</td><td>10</td><td>-</td></tr></table>	LC	LC+ 1CA	L+ 2CA	30	64	7	HC	HC+ 1CA	HC+ 2CA	90	10	-
CA	0	1	2	4	24																																									
0	94	58	40	27	17																																									
1	6	36	45	43	43																																									
2	0	6	14	25	30																																									
3	0	0	2	5	11																																									
LC	LC+ 1CA	L+ 2CA																																												
30	64	7																																												
HC	HC+ 1CA	HC+ 2CA																																												
90	10	-																																												
4	2,3,6-三 氯基-苯 基		<table><tr><th>CA</th><th>0</th><th>1</th><th>2</th><th>4</th><th>24</th></tr><tr><td>0</td><td>100</td><td>100</td><td>100</td><td>100</td><td>100</td></tr><tr><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td></tr><tr><td>2</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td></tr><tr><td>3</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td></tr></table>	CA	0	1	2	4	24	0	100	100	100	100	100	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	<table><tr><th>LC</th><th>LC+ 1CA</th><th>L+ 2CA</th></tr><tr><td>95</td><td>5</td><td>-</td></tr><tr><th>HC</th><th>HC+ 1CA</th><th>HC+ 2CA</th></tr><tr><td>100</td><td>-</td><td>-</td></tr></table>	LC	LC+ 1CA	L+ 2CA	95	5	-	HC	HC+ 1CA	HC+ 2CA	100	-	-
CA	0	1	2	4	24																																									
0	100	100	100	100	100																																									
1	0	0	0	0	0																																									
2	0	0	0	0	0																																									
3	0	0	0	0	0																																									
LC	LC+ 1CA	L+ 2CA																																												
95	5	-																																												
HC	HC+ 1CA	HC+ 2CA																																												
100	-	-																																												

5	2,6 二氯 基-苯基		<table><tr><th>CA</th><th>0</th><th>1</th><th>2</th><th>4</th><th>24</th></tr><tr><td>0</td><td>100</td><td>100</td><td>100</td><td>96</td><td>81</td></tr><tr><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>4</td><td>19</td></tr><tr><td>2</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td></tr><tr><td>3</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td></tr></table>	CA	0	1	2	4	24	0	100	100	100	96	81	1	0	0	0	4	19	2	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	<table><tr><th>LC</th><th>LC+</th><th>L+</th></tr><tr><td></td><td>1CA</td><td>2CA</td></tr><tr><td>89</td><td>11</td><td>-</td></tr><tr><th>HC</th><th>HC+</th><th>HC+</th></tr><tr><td></td><td>1CA</td><td>2CA</td></tr><tr><td>100</td><td>-</td><td>-</td></tr></table>	LC	LC+	L+		1CA	2CA	89	11	-	HC	HC+	HC+		1CA	2CA	100	-	-
CA	0	1	2	4	24																																															
0	100	100	100	96	81																																															
1	0	0	0	4	19																																															
2	0	0	0	0	0																																															
3	0	0	0	0	0																																															
LC	LC+	L+																																																		
	1CA	2CA																																																		
89	11	-																																																		
HC	HC+	HC+																																																		
	1CA	2CA																																																		
100	-	-																																																		
6	2,4 二氯 萘		<table><tr><th>CA</th><th>0</th><th>1</th><th>2</th><th>4</th><th>24</th></tr><tr><td>0</td><td>100</td><td>95</td><td>89</td><td>81</td><td>38</td></tr><tr><td>1</td><td>0</td><td>5</td><td>11</td><td>19</td><td>45</td></tr><tr><td>2</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>16</td></tr><tr><td>3</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>2</td></tr></table>	CA	0	1	2	4	24	0	100	95	89	81	38	1	0	5	11	19	45	2	0	0	0	0	16	3	0	0	0	0	2	<table><tr><th>LC</th><th>LC+</th><th>L+</th></tr><tr><td></td><td>1CA</td><td>2CA</td></tr><tr><td>66</td><td>34</td><td>-</td></tr><tr><th>HC</th><th>HC+</th><th>HC+</th></tr><tr><td></td><td>1CA</td><td>2CA</td></tr><tr><td>95</td><td>5</td><td>-</td></tr></table>	LC	LC+	L+		1CA	2CA	66	34	-	HC	HC+	HC+		1CA	2CA	95	5	-
CA	0	1	2	4	24																																															
0	100	95	89	81	38																																															
1	0	5	11	19	45																																															
2	0	0	0	0	16																																															
3	0	0	0	0	2																																															
LC	LC+	L+																																																		
	1CA	2CA																																																		
66	34	-																																																		
HC	HC+	HC+																																																		
	1CA	2CA																																																		
95	5	-																																																		
7	5,7-二氯 喹啉-8- 基		<table><tr><th>CA</th><th>0</th><th>1</th><th>2</th><th>4</th><th>24</th></tr><tr><td>0</td><td>100</td><td>96</td><td>93</td><td>88</td><td>73</td></tr><tr><td>1</td><td>0</td><td>4</td><td>7</td><td>12</td><td>25</td></tr><tr><td>2</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>2</td></tr><tr><td>3</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td></tr></table>	CA	0	1	2	4	24	0	100	96	93	88	73	1	0	4	7	12	25	2	0	0	0	0	2	3	0	0	0	0	0	<table><tr><th>LC</th><th>LC+</th><th>L+</th></tr><tr><td></td><td>1CA</td><td>2CA</td></tr><tr><td>92</td><td>8</td><td>-</td></tr><tr><th>HC</th><th>HC+</th><th>HC+</th></tr><tr><td></td><td>1CA</td><td>2CA</td></tr><tr><td>95</td><td>5</td><td>-</td></tr></table>	LC	LC+	L+		1CA	2CA	92	8	-	HC	HC+	HC+		1CA	2CA	95	5	-
CA	0	1	2	4	24																																															
0	100	96	93	88	73																																															
1	0	4	7	12	25																																															
2	0	0	0	0	2																																															
3	0	0	0	0	0																																															
LC	LC+	L+																																																		
	1CA	2CA																																																		
92	8	-																																																		
HC	HC+	HC+																																																		
	1CA	2CA																																																		
95	5	-																																																		
8	N-羟基- 5-降冰 片烯- 2,3-二羧 酸酐亞 胺		<table><tr><th>CA</th><th>0</th><th>1</th><th>2</th><th>4</th><th>24</th></tr><tr><td>0</td><td>95</td><td>43</td><td>42</td><td>40</td><td>38</td></tr><tr><td>1</td><td>5</td><td>39</td><td>39</td><td>42</td><td>40</td></tr><tr><td>2</td><td>0</td><td>15</td><td>16</td><td>15</td><td>18</td></tr><tr><td>3</td><td>0</td><td>3</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td></tr></table>	CA	0	1	2	4	24	0	95	43	42	40	38	1	5	39	39	42	40	2	0	15	16	15	18	3	0	3	3	4	5	<table><tr><th>LC</th><th>LC+</th><th>L+</th></tr><tr><td></td><td>1CA</td><td>2CA</td></tr><tr><td>77</td><td>23</td><td>-</td></tr><tr><th>HC</th><th>HC+</th><th>HC+</th></tr><tr><td></td><td>1CA</td><td>2CA</td></tr><tr><td>82</td><td>18</td><td>-</td></tr></table>	LC	LC+	L+		1CA	2CA	77	23	-	HC	HC+	HC+		1CA	2CA	82	18	-
CA	0	1	2	4	24																																															
0	95	43	42	40	38																																															
1	5	39	39	42	40																																															
2	0	15	16	15	18																																															
3	0	3	3	4	5																																															
LC	LC+	L+																																																		
	1CA	2CA																																																		
77	23	-																																																		
HC	HC+	HC+																																																		
	1CA	2CA																																																		
82	18	-																																																		

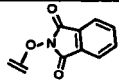
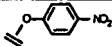
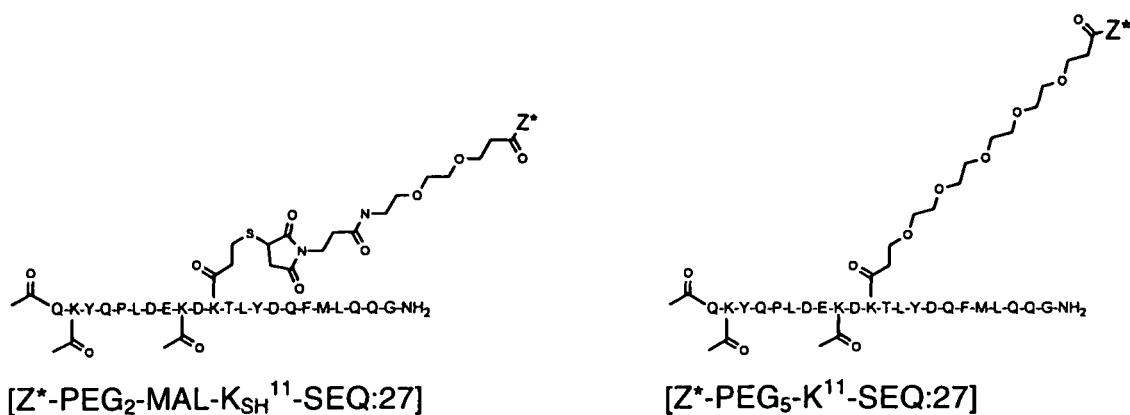
9	2-羥基-異吲哚啉-1,3-二酮		<table><tr><th>CA</th><th>0</th><th>1</th><th>2</th><th>4</th><th>24</th></tr><tr><td>0</td><td>95</td><td>24</td><td>20</td><td>20</td><td>20</td></tr><tr><td>1</td><td>5</td><td>39</td><td>38</td><td>39</td><td>36</td></tr><tr><td>2</td><td>0</td><td>27</td><td>30</td><td>29</td><td>31</td></tr><tr><td>3</td><td>0</td><td>11</td><td>12</td><td>12</td><td>12</td></tr></table>	CA	0	1	2	4	24	0	95	24	20	20	20	1	5	39	38	39	36	2	0	27	30	29	31	3	0	11	12	12	12	<table><tr><th>LC</th><th>LC+ 1CA</th><th>L+ 2CA</th></tr><tr><td>70</td><td>30</td><td>-</td></tr><tr><th>HC</th><th>HC+ 1CA</th><th>HC+ 2CA</th></tr><tr><td>50</td><td>50</td><td>-</td></tr></table>	LC	LC+ 1CA	L+ 2CA	70	30	-	HC	HC+ 1CA	HC+ 2CA	50	50	-
CA	0	1	2	4	24																																									
0	95	24	20	20	20																																									
1	5	39	38	39	36																																									
2	0	27	30	29	31																																									
3	0	11	12	12	12																																									
LC	LC+ 1CA	L+ 2CA																																												
70	30	-																																												
HC	HC+ 1CA	HC+ 2CA																																												
50	50	-																																												
10	4-硝基-苯基		<table><tr><th>CA</th><th>0</th><th>1</th><th>2</th><th>4</th><th>24</th></tr><tr><td>0</td><td>96</td><td>79</td><td>67</td><td>54</td><td>41</td></tr><tr><td>1</td><td>5</td><td>21</td><td>29</td><td>37</td><td>42</td></tr><tr><td>2</td><td>0</td><td>0</td><td>4</td><td>9</td><td>15</td></tr><tr><td>3</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>3</td></tr></table>	CA	0	1	2	4	24	0	96	79	67	54	41	1	5	21	29	37	42	2	0	0	4	9	15	3	0	0	0	0	3	<table><tr><th>LC</th><th>LC+ 1CA</th><th>L+ 2CA</th></tr><tr><td>68</td><td>32</td><td>-</td></tr><tr><th>HC</th><th>HC+ 1CA</th><th>HC+ 2CA</th></tr><tr><td>92</td><td>8</td><td>-</td></tr></table>	LC	LC+ 1CA	L+ 2CA	68	32	-	HC	HC+ 1CA	HC+ 2CA	92	8	-
CA	0	1	2	4	24																																									
0	96	79	67	54	41																																									
1	5	21	29	37	42																																									
2	0	0	4	9	15																																									
3	0	0	0	0	3																																									
LC	LC+ 1CA	L+ 2CA																																												
68	32	-																																												
HC	HC+ 1CA	HC+ 2CA																																												
92	8	-																																												
11	2,6-二氟基苯基		<table><tr><th>CA</th><th>0</th><th>1</th><th>2</th><th>4</th><th>24</th></tr><tr><td>0</td><td>100</td><td>93</td><td>88</td><td>79</td><td>50</td></tr><tr><td>1</td><td>0</td><td>8</td><td>12</td><td>29</td><td>39</td></tr><tr><td>2</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>11</td></tr><tr><td>3</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td></tr></table>	CA	0	1	2	4	24	0	100	93	88	79	50	1	0	8	12	29	39	2	0	0	0	0	11	3	0	0	0	0	0													
CA	0	1	2	4	24																																									
0	100	93	88	79	50																																									
1	0	8	12	29	39																																									
2	0	0	0	0	11																																									
3	0	0	0	0	0																																									
12	1-萘基		<table><tr><th>CA</th><th>0</th><th>1</th><th>2</th><th>4</th><th>24</th></tr><tr><td>0</td><td>100</td><td>100</td><td>100</td><td>100</td><td>100</td></tr><tr><td>1</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td></tr><tr><td>2</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td></tr><tr><td>3</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td><td>0</td></tr></table>	CA	0	1	2	4	24	0	100	100	100	100	100	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0													
CA	0	1	2	4	24																																									
0	100	100	100	100	100																																									
1	0	0	0	0	0																																									
2	0	0	0	0	0																																									
3	0	0	0	0	0																																									

表 44 活化酯之摘要結果

實施例 19

其他選擇性活化酯之實例係顯示於表 45。一些 PFP 酯之類似物的共軛時間進程係經檢測。藉由減少在 PFP 中之氟基團的數目及位置，較少反應性活化酯形式可被合成及檢測。2,3,5,6-四氟苯基酯及 2,4,6-三氟苯基酯皆在與

[PEG₂-MAL-K_{SH}¹¹-SEQ:27] 共軛後測試。1-羥基-吡咯啉-2,5-二酮(NHS)係與 [PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 共軛。



在 2 小時共軛後，這些較不活化形式相較於 PFP 給予 2.12.1.fx 較低之整體共軛。NHS 基團亦顯示較低之整體共軛。包含 NHS 及 PFP 之肽係與 2.12.1.fx 共軛。該還原形式係經分析以了解在 2 小時之分布。PFP 顯示高出許多之輕鏈衍生化傾向(77%整體至 LC，僅 6%至重鏈)，相較於 1-羥基-吡咯啉-2,5-二酮(NHS)顯示 31%整體至 LC，但 34%至重鏈。

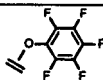
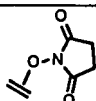
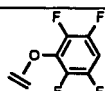
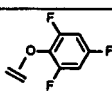
	名稱	結構	在 2 小時之 CA		經還原分析活化酯在 2 小時之共軛																	
1	五氟基 苯基		CA	2 小 時	<table><tr><th>LC</th><th>LC+ 1CA</th><th>LC+ 2CA</th><th>HC</th><th>HC+ 1CA</th><th>HC+ 2CA</th></tr><tr><td>23</td><td>72</td><td>5</td><td>94</td><td>6</td><td>0</td></tr></table>						LC	LC+ 1CA	LC+ 2CA	HC	HC+ 1CA	HC+ 2CA	23	72	5	94	6	0
LC	LC+ 1CA	LC+ 2CA	HC	HC+ 1CA	HC+ 2CA																	
23	72	5	94	6	0																	
			0	3																		
			1	40																		
			2	42																		
			3	14																		
			4	1																		
13	1-羥基- 吡咯啉- 2,5-二 酮 (NHS)		CA	2 小 時	<table><tr><th>LC</th><th>LC+ 1CA</th><th>LC+ 2CA</th><th>HC</th><th>HC+ 1CA</th><th>HC+ 2CA</th></tr><tr><td>70</td><td>28</td><td>3</td><td>66</td><td>31</td><td>3</td></tr></table>						LC	LC+ 1CA	LC+ 2CA	HC	HC+ 1CA	HC+ 2CA	70	28	3	66	31	3
LC	LC+ 1CA	LC+ 2CA	HC	HC+ 1CA	HC+ 2CA																	
70	28	3	66	31	3																	
			0	18																		
			1	44																		
			2	24																		
			3	12																		
			4	3																		
14	2,3,5,6- 四氟苯 基		CA	2 小 時																		
			0	21																		
			1	44																		
			2	29																		
			3	5																		
			4	2																		
15	2,4,6-三 氟苯基		CA	2 小 時																		
			0	80																		
			1	27																		
			2	2																		
			3	0																		
			4	0																		

表 45 選擇性活化酯之其他實例

化合物 Z1 至 Z15 代表各種不同結構類型之活性酯。考慮氟化芳香族活性酯之系列，其在該芳香環周圍具有不同的氟原子數目及取代模式(化合物 Z1、Z2、Z3、Z11、

Z14 及 Z15)及考慮彼等之結構如何影響彼等對蛋白質衍生化之反應性及傾向當具有啓發性。當該五氟苯基(Z1)反應已到達完成時，這些衍生物之抗體共軛的動力學可被方便地在 2 小時時間點比較。隨著該環周圍之氟取代之量增加，整體共軛之量增加且未反應抗體隨之減少。反應速率係與該氟化苯酚脫離基之 pK_a 直接相關，最酸之苯酚產生較高之反應速率。共軛速率係 $Z1 > Z14 > Z3 > Z15 > Z2 > Z11$ 。氟取代模式之細微效應可藉由比較化合物 Z2、Z3 及 Z15 了解。

活性酯之結構亦顯著影響該共軛反應之方向性。通常，該氟化芳香酯顯示對輕鏈衍生化之明顯傾向(主要如前所述之 CL κ -K⁸⁰)。相反地，有些基於 N-羥基琥珀醯亞胺衍生物之酯(Z8、Z9 及 Z13)顯示較低偏好，通常觀察到較高量之重鏈衍生化。

實施例 20

MAC-1 (介於該肽與 PFP 活化基團之間的 PEG₂-MAL-巰丙基連接子)與 MAC-2 (介於該肽與 PFP 活化基團之間的直鏈 PEG₅ 連接子)之共軛速率係經檢測。表 46 比較這些活化肽與 2.12.1x。結果顯示該等活化肽在衍生化之速率及程度上之作用非常類似，雖然彼等具有稍微不同之連接子結構。

實施例 21 連接子長度之效應

[illegible]

2.12.1.fx 係與[PFP-PEG_n-K¹¹-SEQ:27]共
軔

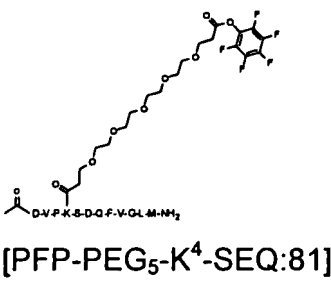
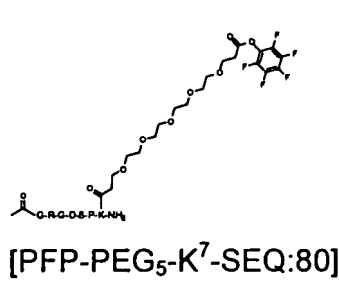
869668

實施例 22 替代性肽序列之共軛

爲了證實本發明對於其他肽序列之適用性，SEQ ID NO:80 及 SEQ ID NO:81 (測試肽 -1 及 -2)被共軛。SEQ ID NO:80 及 81 係與[PFP-PEG₅]共軛，然後與 2.12.1.fx 共軛，條件爲先前用於[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]反應之理想化條件。該共軛特性及 LC/HC 共軛之分析結果係顯示於表 48。SEQ ID NO:80 及 SEQ ID NO:81 二者皆顯示與該輕鏈方向性共軛。進一步分析 LC/HC 分布時，觀察到具有和 MAC-2 類似之特性，即約 70% LC 衍生化及少於 10%之 HC 衍生化。

SEQ ID NO:	% CA					輕鏈 %CA			重鏈 %CA		
	0	1	2	3	4	LC	LC + 1	LC + 2	HC	HC + 1	HC + 2
27	2	24	55	17	3	24	65	11	91	9	-
80	11	39	43	8	0	32	68	-	95	5	-
81	8	35	48	10	0	29	71	-	94	6	-

表 48 SEQ ID NO 80 及 SEQ ID NO:81 之共軛特性



實施例 23 肽共軛分析摘要

肽圖譜實驗係於一系列蛋白質/共軛物組合上進行，目的是爲了確認導致在抗體輕鏈上之 CL κ -K⁸⁰ 的方向性共軛之重要參數。表 49 列出該進行之肽圖譜實驗之結

果。每種試驗參數使用先前描述之肽圖譜方法。***表示高量之與 CL κ -K⁸⁰ 之方向性共軛。**表示較低程度，*表示仍有觀察到方向性共軛，但可能顯示差異，諸如較緩慢之反應條件，較少之整體共軛，或平均僅一個輕鏈，因此可能比較適合特殊狀況，諸如產製具有介於每抗體 0.5 至 1.5 個肽(舉例來說)之 MACs。 -表示這些反應條件似乎不利於在 CL κ -K⁸⁰ 之方向性共軛。

由於 CL κ -K⁸⁰ 被觀察到是在 MAC-2 中之方向性共軛之位置，研究替代性參數之肽圖譜試驗以此位置為焦點。各種參數之詳細肽圖譜資料並未包括，但是在其他 K 殘基之顯著共軛量並未被觀察到，且對於其他 MAC 之觀察係與在 CL κ -K⁸⁰ 之方向性共軛一致。

2.12.1.fx 之 CL κ -K⁸⁰R 及 CL κ -K⁸⁰A 突變導致喪失在此位點之方向性共軛；顯示此特定殘基之必要角色。CL κ -K⁸²R 及 CL κ -K⁸²A 突變不阻礙甚至可能增進與 CL κ -K⁸⁰ 之方向性共軛。對於所檢測之其他試驗參數而言，至少一部分之輕鏈恆定區亞型被觀察到對於方向性共軛具有顯著影響；至少一部分之該輕鏈亞型 κ 係經測定為必要的。與 CL λ 亞型共軛(使用示範性 λ 包含抗體 hAb λ 測試 1)並不顯示方向性共軛。當該 hAb λ 測試 1 之 CL λ 係經突變成 CL κ ，即恢復在 K⁸⁰ 之方向性共軛。

抗體	LC	與 MAC1/2 比較 之突變/差異	SEQ ID NO	連接子	Z*	方向性共軛
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂ -MAL	PFP	***
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₅	PFP	***
2.12.1.fx Fab	κ		27	PEG ₅	PFP	***
h38C2-IgG1	κ		27	PEG ₅	PFP	***
h38C2-IgG2	κ		27	PEG ₅	PFP	***
hAbλ 測試	λ	K ⁸⁰ SH	27	PEG ₅	PFP	-
hAbκ 測試 1	κ		27	PEG ₅	PFP	***
hAbκ 測試 3	κ		39 聚體	PEG ₅	PFP	***
hAbλ 測試	λκ		27	PEG ₅	PFP	***
hAbλ 測試	λκJ		27	PEG ₅	PFP	***
2.12.1.fx	κ	K ⁸⁰ R	27	PEG ₅	PFP	-
2.12.1.fx	κ	K ⁸² R	27	PEG ₅	PFP	***
2.12.1.fx	κ	K ⁸⁰ R/R ⁸² R	27	PEG ₅	PFP	-
2.12.1.fx	κ	D ⁴³ A	27	PEG ₅	PFP	**
2.12.1.fx	κ	K ⁸⁰ A	27	PEG ₅	PFP	-
2.12.1.fx	κ	H ⁸¹ A	27	PEG ₅	PFP	-
2.12.1.fx	κ	K ⁸² A	27	PEG ₅	PFP	***
2.12.1.fx	κ	D ⁴³ A/H ⁸¹ A	27	PEG ₅	PFP	-
hAbλ 測試 1	λ	S ⁸¹ H/H ⁸² S	27	PEG ₅	PFP	-
2.12.1.fx	κ		39 聚體	PEG ₅	PFP	***
2.12.1.fx	κ		80	PEG ₅	PFP	***
2.12.1.fx	κ		81	PEG ₅	PFP	***
h38C2-IgG2	κ		39 聚體	PEG ₅	PFP	***
2.12.1.fx Fab	κ		生物素	PEG ₅	PFP	***
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂ -MAL	PFP	***
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂ -MAL	2,3,4 TFP (2)	**
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂ -MAL	2,3,6 TFP (3)	**
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂ -MAL	2,3,6 TCP (4)	-
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂ -MAL	2,6 DCP (5)	-
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂ -MAL	2,4 DCN (6)	*
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂ -MAL	5,7 DCQ (7)	-
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂ -MAL	NH-5-N2,3DI (8)	*
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂ -MAL	2Hi1,3 DIO (9)	*
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂ -MAL	4NP (10)	**
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂ -MAL	2,6 DFP (11)	**
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂ -MAL	NAP (12)	-
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂ -MAL	1HP 2,5D (13)	*
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂ -MAL	2,3,5,6 TFP (14)	**
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂ -MAL	2,4,6 TFP (15)	**
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂ -MAL	方酸酯	*
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂ -MAL	AZD	*
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂₋₁₇	PFP	***
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₁₇₋₂₁	PFP	**
2.12.1.fx	κ		27	PEG ₂₅	PFP	**

表 49 在 CLκ-K⁸⁰ 之方向性共軛摘要實施例 24 檢查 CLκ-D⁷⁷

檢查在 3-D 結構中與 CLκ-K⁸⁰ 幾何靠近之殘基。初步結晶結構分析指出，CLκ-D⁷⁷ 可能與 CLκ-K⁸⁰ 形成鹽橋，此可能影響 CLκ-K⁸⁰ 之方向性共軛。爲了研究 CLκ-

D⁷⁷ 對於 CL κ -K⁸⁰ 共軛之影響，將 2.12.1.fx 上之 CL κ -D⁷⁷ 突變成 CL κ -A⁷⁷ 以產製 2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A] (SEQ ID NO:37 之 CL κ)。CL κ -D⁷⁷A 突變係根據 QuickChange 定點突變形成套組 (Stratagene®) 所述之方法於抗體輕鏈上產生。突變藉由寡核苷酸引子導入並以 DNA 定序證實。2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A] 被暫時表現於 HEK 293 細胞，利用蛋白質 A 親和性管柱純化。該經純化之單株抗體可利用 MS 加以特徵化。

2.12.1.fx 及 2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A] (1 mg 反應大小) 係利用磷酸鹽緩衝液調整至 18 mg/ml pH 7.7，終濃度 0.06M 磷酸鈉。示範性測試肽-連接子對 [PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 係以丙二醇溶液重構至 10 mg/ml。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 被添加至抗體（莫耳比為 4.3:1），允許在室溫反應 2 小時。該經共軛之產物係經稀釋至 2mg/ml，藉由大小排除層析-質譜分析 (SEC-MS) 分析完整之共軛蛋白質，以測定該蛋白質之共軛形式的數目及定量。多種肽-連接子共軛物種之相對定量係由測量該信號強度進行。

表 50 比較 [2.12.1.fx]-[PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 與 [2.12.1.fx]-[CL κ -D⁷⁷A]-[PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 之共軛特性。[2.12.1.fx]-[PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 之共軛特性發生為介於 0 至 4 個肽加成之分布，最多者為 2 個肽加成，平均肽加成數為 2.16。當支架蛋白之殘基 CL κ -D⁷⁷ 突變成 CL κ -A⁷⁷ 時，該特性改變；肽加成之平均數上升至 2.38，且觀察到顯著較少之單一肽加成。此結果顯示單點突變 CL κ -D⁷⁷A 具有增加該支

架之整體共軛之效果。在二種條件下，重複分析(n=3)顯示觀察到之共軛特性是可再現的。

肽共軛之程度係在 2.12.1.fx 及 2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A] 之輕鏈及重鏈上分開檢測。該經產製之 MAC 係經變性，並利用鹽酸胍及二硫蘇糖醇還原雙硫鍵。該形成之游離輕鏈及重鏈係利用 LCMS 分析以測定各自之共軛特性。表 50 顯示 2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A]之輕鏈上的平均共軛係高於 2.12.1.fx；2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A]之平均共軛加成數係 1.15，2.12.1.fx 為 0.85。此外，2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A]中未檢測到未經共軛之輕鏈。在重鏈上之共軛被觀察到顯著較低之量。2.12.1.fx 及 2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A]中之大部分觀察到之重鏈皆未經共軛；特別是 2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A]之重鏈。這些結果顯示 CL κ -D⁷⁷A 突變改變輕鏈使其顯著易於發生共軛。多位科學家重複分析此實驗之結果係顯示於表 50，表示該共軛特性係一致且可再現地。

抗體	Ab % CA					平均 CA	輕鏈%CA			平均 CA	重鏈%CA		平均 CA
	0	1	2	3	4		0	1	2		0	1	
野生型													
Rep1	1	17	56	22	4	2.11	21	72	7	0.86	86	14	0.14
Rep2	2	14	54	25	5	2.18	25	67	8	0.83	85	15	0.15
Rep3	2	13	55	25	6	2.2	23	69	8	0.85	85	15	0.15
Av.Rep	2	15	55	24	5	2.16	23	69	8	0.85	85	15	0.15
StdDev	1	2	1	2	1	0.05	2	3	1	0.02	1	1	0.01
D ⁷⁷ A													
Rep1	5	4	54	30	8	2.32	0	84	16	1.16	94	6	0.06
Rep2	6	4	43	36	12	2.44	0	85	15	1.15	94	6	0.06
Rep3	3	3	56	31	7	2.37	0	86	14	1.14	94	6	0.06
AvRep	5	4	51	32	9	2.38	0	85	15	1.15	94	6	0.06
StdDev	2	1	7	3	3	0.06	0	1	1	0.01	0	0	0.00

表 50 分析 [PEG₅-K¹¹-SEQ:27]與 Abs 2.12.1.fx (WT)及 2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A]之共軛。Rep=重複。AvReps 係三次重複試驗之結果的平均值，標準差顯示於下 (StdDev)。Ab% CA 顯示每抗體共軛加成百分比，其後為每抗體平均 CA。經還原之輕鏈及重鏈分析也一併顯示，即各鏈之個別平均 CA。CL κ -D⁷⁷A 顯示相較於天然 CL κ，其 LC % 1CA 物種之比率為 123%。

實施例 25 2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A]-[SEQ:27-K¹¹-PEG5]重鏈及輕鏈參照產物之肽圖譜特徵

經 2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A]-[PEG₅-K¹¹-SEQ:27]共軛之抗體係經二硫蘇糖醇還原，半胱胺酸殘基係由碘乙醯胺之羧基甲基化加以烷化。使用胰凝乳酶進行蛋白水解消化。溶液中經消化之片段係利用液體層析質譜(LCMS)分析。各片段在 C18 HPLC 管柱中分離，彼等之正確質量係於四級棒飛行時間(Q-ToF)質譜儀中測量。所得到之片段質量被用於識別未經修飾之片段或經 [PEG₅-K¹¹-SEQ:27]共軛基

修飾之片段。此實驗著眼於包含離胺酸殘基因此是肽共軛之可能位點的胰凝乳酶消化片段。表 51 及 52 分別列出重鏈及輕鏈上之所有該等片段。空白欄位表示未利用該項技術檢測之片段。被觀察到具有 [PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 修飾物之檢測片段被認為是肽共軛之可能位點。

利用 LCMS 肽圖譜分析 2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A]-[PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 產物檢測到 2 個 [PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 共軛片段。這二個共軛片段存在於 2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A] 抗體之輕鏈上。相較之下，在 2.12.1.fx-[PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 中檢測到 8 個與 [PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 共軛之片段。

整體來說，這些結果顯示在 CL κ -D⁷⁷A 突變物中之較少共軛位點有上升之共軛量，可能表示相較於未突變之抗體增加共軛專一性。另外，結構分析顯示 CL κ -D⁷⁷ 殘基與該經識別之主要共軛位點 CL κ -K⁸⁰ 非常靠近 (<10 Ås)。推測靜電交互作用(可能是鹽橋)可能存在於 CL κ -D⁷⁷ 之羧酸與 CL κ -K⁸⁰ 之一級胺之間。CL κ -D⁷⁷A 突變將擾亂該靜電交互作用，導致 CL κ -K⁸⁰ 上之反應性胺更為暴露及更容易與本發明之反應性酯共軛。雖然後續分析加上精密模型幫助建立更完整之反應位點狀況，且顯示 CL κ -D⁷⁷ 之影響主要是經由其與 CL κ -H⁸¹ 之交互作用，最初假設 CL κ -D⁷⁷ 與 CL κ -K⁸⁰ 之間的交互作用有助於強調 CL κ -D⁷⁷ 殘基之重要性。

在 2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A]-[PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 產物中觀察到之共軛位點係輕鏈胰凝乳酶片段 Y3 及 Y15。分析

這些片段之信號強度顯示帶有 $\text{CL}\kappa\text{-K}^{80}$ 殘基之片段 Y15 係主要共軛部位。片段 Y15 僅被觀察到為經 $[\text{PEG}_5\text{-K}^{11}\text{-SEQ:27}]$ 修飾之片段，其信號強度非常高（1118572 計數，表 52），然而並未觀察到未經修飾形式之 Y15，表示所有或幾乎所有 Y15 片段均以經修飾之形式存在。片段 Y3 被觀察到有經 $[\text{PEG}_5\text{-K}^{11}\text{-SEQ:27}]$ 修飾及未經修飾之形式；2.12.1.fx- $[\text{PEG}_5\text{-K}^{11}\text{-SEQ:27}]$ 及 2.12.1.fx- $[\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{A}]$ - $[\text{PEG}_5\text{-K}^{11}\text{-SEQ:27}]$ 中之未經修飾之 Y3 信號強度係於 15% 以內。經 $[\text{PEG}_5\text{-K}^{11}\text{-SEQ:27}]$ 修飾之 Y3 被觀察到相對較低之量（9737 計數，表 52）。

表 51 及 52 之表格欄位解釋如下：

片段編號：自 N 端之胰凝乳酶消化片段編號；聯合片段 (例如 Y1-2) 表示遺失切割位點。

開始/結束：自 N 端之片段位置之編號

片段質量 (Da)：列示片段之理論質量，單位道爾頓。

滯留時間 (對照/分析)：在 LCMS 肽圖譜實驗中層析滯留/洗脫之時間。

MS 信號強度 (對照/分析)：由 MS 觀察到之觀察信號之強度。質量誤差 - ppm (對照/分析)：肽片段之理論與觀察質量之比較；越接近零 (0) 顯示越高之質量正確性。滯留時間、MS 信號強度及質量誤差之對照蛋白質係 2.12.1.fx- $[\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{A}]$ ，在各例中之分析蛋白質係 2.12.1.fx- $[\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{A}] + [\text{PEG}_5\text{-K}^{11}\text{-SEQ:27}]$ 。

修飾物：片段之可能共價加成物； $[\text{PEG}_5\text{-K}^{11}\text{-SEQ:27}]$ 為離

胺酸殘基之抗體結合肽，CAM 為半胱胺酸殘基之羧基甲基化。

片段編號	開始	結束	片段質量(Da)	滯留時間		MS 信號強度		質量誤差(ppm)		修飾物
				對照	分析物	對照	分析物	對照	分析物	
Y1	1	27	2617.3533							
Y1-2	1	29	2865.4695							
Y5-6	34	47	1657.8398							
Y6	37	47	1253.688	19.2	19.2	516640	548267	1.9	0	
Y6-7	37	50	1602.8518	22.1	22.1	26537	31229	-1.6	-2	
Y8-9	51	68	1931.9337	16.5	16.5	60894	82459	-2.2	0.5	
Y9	61	68	878.461	11.3	11.4	376224	403402	0	-0.3	
Y9-10	61	80	2241.1501							
Y10	69	80	1380.6997	13.3	13.3	261813	286406	-1.1	0.3	
Y10-011	69	94	2972.4661							
Y19-20	111	157	4748.2773							
Y20	116	157	4160.0405							
Y20-21	116	166	5202.5527							
Y20-21*	116	166	5316.5957	34.1	34.1	6445	8275	0.5	-5.7	CAM(2)
Y24-25	202	245	4702.2109							
Y25	207	245	4151.9722							
Y25*	207	245	4437.0796	20.9	20.9	1495322	1771622	1.1	0.7	CAM(5)
Y25-26	207	279	7985.9092							
Y26	246	279	3851.9478							
Y26-27	246	281	4152.0698							
Y28-29	282	300	2245.1128							
Y29	283	300	2082.0493	14.6	14.6	20665	18618	-0.6	-0.2	
Y29-30	283	304	2531.2405							
Y31-32	305	323	2241.1907							
Y32	318	323	722.3599	7.9	7.9	93966	81618	0.1	3	

表 51 2.12.1.fx-[CLK-D''A]-[PEG5-K¹¹-SEQ:27] 重鏈參考產物之肽圖譜特徵

片段 編號	開始	結束	肽質量 (Da)	滯留時間		MS 信號強度		質量誤差(ppm)		修飾物
				對照	分析物	對照	分析物	對照	分析物	
Y32	318	323	722.3599	17.7	18.4	37943	11371	11.4	27.1	
Y32	318	323	722.3599	18.4		11761		23.8		
Y32-33	318	353	4028.188							
Y33	324	353	3323.8386	20		5422		3.1		
Y33*	324	353	3380.8601	19.7	19.7	2196329	2374835	-2.5	-3.8	CAM(1)
Y33-34	324	376	5883.1577							
Y34	354	376	2577.3293							
Y34-35	354	385	3637.8159							
Y34-35*	354	385	3694.8374	33	33	10095	10026	1.9	-2	CAM(1)
Y36-37	386	408	2527.0808							
Y37	396	408	1394.6388	19.6	19.6	62942	65871	-0.9	-1.6	
Y37-38	396	409	1541.7072	25.1	25.1	827336	874876	0	-3.8	
Y39-40	410	421	1494.8195							
Y40	412	421	1218.672	15.8	15.8	77917	78774	-0.3	0.2	
Y40-41	412	427	1891.9905	20.3	20.3	107513	150305	0.2	0.1	
Y42-43	428	450	2525.1792							
Y43	441	450	1016.5502							

表 51(續) 2.12.1.fx-[CLK-D''A]-[PEG₅-K¹¹]-SEQ:27] 重鏈參考產物之肽圖譜特徵

片段編號	開始	結束	肽質量(Da)	滯留時間		MS 信號強度		質量誤差(ppm)		修飾物
				對照	分析物	對照	分析物	對照	分析物	
Y2-3	36	49	1688.9725	16.2	16.2	145374	172582	-1.7	-1.1	
Y3	37	49	1525.9093	15.5	15.5	331068	390175	-2.7	-2.4	
Y3*	37	49	3218.7593		24		9737		-6.8	[SEQ:27-K11-PEG5](1)
Y3-4	37	62	2882.6355							
Y9-10	88	116	3244.729							
Y10	99	116	1871.0992							
Y10-11	99	139	4331.335							
Y11	117	139	2478.2463		22.8		61217		-1.7	
Y11*	117	139	2535.2678		21.5		5127		-16.8	CAM(1)
Y11-12	117	148	3635.8445							
Y12	140	148	1175.6088							
Y12-13	140	173	3886.8245							
Y13	149	173	2729.2263	13.1	13.1	1140556	1153543	-1.1	-1.8	
Y13-14	149	186	4051.9346							
Y14	174	186	1340.7188							
Y14-15	174	192	2125.1418							
Y15	187	192	802.4337	7.5		275639		-1.9		
Y15*	187	192	2495.2837		20.9		1118572		-6.3	[SEQ:27-K11-PEG5](1)
Y15-16	187	209	2574.29							
Y16	193	209	1789.8668	18.7		5400		4.4		
Y16*	193	209	1846.8883	18.1	18.1	169490	246823	-1.7	-2.2	CAM(1)
Y16-17	193	214	2349.0842	17.8		9211		0.1		

表 52 2.12.1.fx-[CLK-D''A]-[PEG5-K¹¹-SEQ:27] 輕鏈參考產物之肽圖譜特徵

實施例 26 檢查 CL κ -D⁷⁷ 突變

2.12.1.fx 抗體之 CL κ -D⁷⁷ 係經突變成除了 CL κ -D⁷⁷A 突變以外之其他 18 種胺基酸之各者。CL κ -D⁷⁷G (SEQ ID NO:38)、CL κ -D⁷⁷L (SEQ ID NO:40)、CL κ -D⁷⁷S (SEQ ID NO:49)、CL κ -D⁷⁷E (SEQ ID NO:53)及 CL κ -D⁷⁷R (SEQ ID NO:54)突變物係根據 QuickChange 定點突變形成套組(Stratagene®)之說明製備。突變藉由寡核苷酸引子導入並以 DNA 定序證實。在 CL κ -D⁷⁷ 位點上之其他 13 種突變物 (CL κ -D⁷⁷V (SEQ ID NO:39)、CL κ -D⁷⁷I (SEQ ID NO:41)、CL κ -D⁷⁷P (SEQ ID NO:42)、CL κ -D⁷⁷F (SEQ ID NO:43)、CL κ -D⁷⁷W (SEQ ID NO:44)、CL κ -D⁷⁷Y (SEQ ID NO:45)、CL κ -D⁷⁷H (SEQ ID NO:46)、CL κ -D⁷⁷M (SEQ ID NO:47)、CL κ -D⁷⁷C (SEQ ID NO:48)、CL κ -D⁷⁷T (SEQ ID NO:50)、CL κ -D⁷⁷Q (SEQ ID NO:51)、CL κ -D⁷⁷N (SEQ ID NO:52)、CL κ -D⁷⁷K (SEQ ID NO:55)) 係根據 Quick PCR 選殖套組(BPS Bioscience)之說明製備。突變係藉由寡核苷酸引子導入，然後被選殖至經 *Bgl*III 及 *Nhe*I 切割之 p2.12.1.fxP4 修飾載體(Invitrogen)。插入 DNA 係經 DNA 定序證實。該經突變之單株抗體被暫時表現於 HEK 293 細胞，利用蛋白質 A 親和性管柱純化。該經純化之單株抗體可利用 MS 加以特徵化。

2.12.1.fx 及 2.12.1.fx 突變物係利用磷酸鹽緩衝液調整至 18 mg/ml pH 7.7，終濃度 0.06 M 磷酸鈉。[PFP-

PEG₅-K¹¹-SEQ:27]係經重構於丙二醇溶液至 10 mg/ml。以 4.3:1 之莫耳比添加肽/連接子至抗體，允許反應在室溫下進行 2 小時。

表 53 描述 CL κ -D⁷⁷ 突變物之整體共軛特性。CL κ -D⁷⁷C 因為導入一游離半胱胺酸而聚集，結果無法判讀。突變 CL κ -D⁷⁷W、CL κ -D⁷⁷M、CL κ -D⁷⁷H、CL κ -D⁷⁷Q、CL κ -D⁷⁷N 及 CL κ -D⁷⁷V 相較於野生型 2.12.1.fx 不改變整體共軛特性。突變 CL κ -D⁷⁷F、CL κ -CL κ -D⁷⁷K、CL κ -D⁷⁷Y 及 CL κ -D⁷⁷E 降低整體共軛量。突變 CL κ -D⁷⁷P、CL κ -D⁷⁷I、CL κ -D⁷⁷T、CL κ -D⁷⁷R、CL κ -D⁷⁷L、CL κ -D⁷⁷S 及 CL κ -D⁷⁷G 增加共軛量。

分析經還原之 LC 及 HC 發現只有突變 CL κ -D⁷⁷F、CL κ -D⁷⁷K、CL κ -D⁷⁷Y、CL κ -D⁷⁷E 及 CL κ -D⁷⁷C 導致減少輕鏈上之共軛量。CL κ -D⁷⁷M、CL κ -D⁷⁷H、CL κ -D⁷⁷Q、CL κ -D⁷⁷N、CL κ -D⁷⁷W 及 CL κ -D⁷⁷V 的輕鏈上之共軛量增加（及重鏈上之共軛稍微減少）。突變 CL κ -D⁷⁷P、CL κ -D⁷⁷I、CL κ -D⁷⁷T、CL κ -D⁷⁷R、CL κ -D⁷⁷L、CL κ -D⁷⁷S 及 CL κ -D⁷⁷G 藉由減少未經共軛之輕鏈量而增加輕鏈共軛量。CL κ -D⁷⁷K 增加輕鏈上之 2 共軛量，因為導入另一離胺酸（可能的共軛未點）。

抗體	Ab % CA					平均 CA	輕鏈%CA			平均 CA	重鏈%CA		平均 CA	1LC WT %
	0	1	2	3	4		0	1	2		0	1		
野生型	1	16	54	24	4	2.14	19	69	13	0.94	88	12	0.12	
D ⁷⁷ R	6	12	41	26	15	2.33	8	87	5	0.96	94	6	0.06	126
D ⁷⁷ L	5	5	53	28	10	2.33	1	88	11	1.11	91	9	0.09	127
D ⁷⁷ E	8	27	39	18	8	1.90	32	57	10	0.78	84	16	0.78	82
D ⁷⁷ S	5	6	47	29	12	2.36	0	92	8	1.08	94	6	0.06	133
D ⁷⁷ G	7	7	44	28	13	2.34	0	91	9	1.09	92	8	0.08	131
野生型	2	24	50	21	3	1.99	24	66	10	0.85	90	10	0.1	
D ⁷⁷ Q	2	10	78	10		1.96	15	81	4	0.88	96	4	0.04	122
D ⁷⁷ P	3	4	63	24	7	2.26	5	88	7	1.02	96	4	0.04	133
D ⁷⁷ K	9	30	36	17	8	1.84	34	45	21	0.86	93	7	0.07	68
D ⁷⁷ N	3	8	79	11		1.98	11	83	6	0.94	96	4	0.04	125
D ⁷⁷ Y	28	41	19	11		1.14	54	42	4	0.51	89	11	0.11	63
D ⁷⁷ V	6	10	63	21		1.98	13	79	9	0.96	95	5	0.05	119
D ⁷⁷ I	3	4	63	24	7	2.27	6	85	9	1.03	93	7	0.07	128
D ⁷⁷ T	3	11	59	18	9	2.17	8	88	4	0.97	95	5	0.05	133
野生型	4	30	44	20	3	1.88	28	63	10	0.82	89	11	0.11	
D ⁷⁷ M	4	15	67	14		1.90	16	81	3	0.87	96	4	0.04	132
D ⁷⁷ F	21	42	24	13		1.29	54	42	4	0.49	86	14	0.14	66
D ⁷⁷ H	5	16	60	19		1.92	16	75	9	0.93	94	6	0.06	119
野生型	5	36	47	12		1.66	30	60	10	0.8	90	10	0.1	
D ⁷⁷ W	8	29	46	18		1.73	20	75	4	0.84	91	9	0.09	125
D ⁷⁷ C							60	37	2	0.42	95	5	0.05	61

表 53 CL κ -D⁷⁷ 突變成其他胺基酸之共軛分析（表中之資料根據在共軛反應期間所使用之蛋白質之量分開，或因為共軛反應設定在不同時間）。在 0.5 及 0.25 mg/ml 測試樣本得到之共軛量降低是因為抗體量低。Ab % CA 顯示每抗體共軛加成百分比，其後為每抗體平均 CA。也顯示經還原之輕鏈及重鏈分析及每鏈之個別平均 CA。相較於個別 WT 樣本之 1-LC% 的百分比係顯示於右欄：以 D⁷⁷Q 為例，1-LC% 之值 81 係該實驗檢測之個別 WT 1-LC% 之值 69 的 126%。所有樣本皆以 1mg Ab 檢測，除了包括 D⁷⁷M、D⁷⁷F 及 D⁷⁷H 之樣本(0.5mg)和包括 D⁷⁷W 及 D⁷⁷C 之樣本(0.25mg)。

實施例 27 其他 CH κ 區突變對共軛之影響

除了 CL κ -D⁷⁷A 以外，距離 CL κ -K⁸⁰ 10Å 以內之其他殘基經突變成丙胺酸：CL κ -K⁴¹A (SEQ ID NO:20)、V⁴²A (SEQ ID NO:21)、CL κ -D⁴³A (SEQ ID NO:56)、CL κ -N⁴⁴A (SEQ ID NO:22)、CL κ -L⁴⁶A (SEQ ID NO:23)、CL κ -Q⁴⁷A (SEQ ID NO:24)、CL κ -S⁴⁸A (SEQ ID NO:25)、CL κ -N⁵⁰A (SEQ ID NO:26)、CL κ -L⁷³A (SEQ ID NO:28)、CL κ -S⁷⁴A (SEQ ID NO:29)、CL κ -K⁷⁵A (SEQ ID NO:30)、CL κ -Y⁷⁸A (SEQ ID NO:31)、CL κ -E⁷⁹A (SEQ ID NO:32)、CL κ -H⁸¹A (SEQ ID NO:33)、CL κ -V⁸³A (SEQ ID NO:34)、CL κ -Y⁸⁴A (SEQ ID NO:35)及 CL κ -R¹⁰³A (SEQ ID NO:36)也被突變成 Ala。CL κ -D⁴³A 及 CL κ -H⁸¹A 之資料係於實施例 14 中討論。

L⁷³A 突變係利用三方接合法導入 2.12.1.fx CL κ 。對 2.12.1.fx-LC 之 5'端具專一性之引子(2.12.1.fx.LC.FOR: SEQ ID NO:85)及包含該所欲之 L⁷³A 突變之反置引子(L181A.REV:SEQ ID NO:88)被用於 PCR 以擴增該 2.12.1.fx-LC 之第一半，利用 2.12.1.fx-LC DNA 作為 PCR 模板。此 PCR 片段接著利用限制酶 *Bgl*III 及 *Bsa*I 消化。包含 CL κ -L⁷³A 突變之前置引子(L181A.FOR:SEQ ID NO:87)與對 2.12.1.fx-LC 之 3'端具專一性之反置引子(2.12.1.fx.LC.REV:SEQ ID NO:86)被配對用於 PCR 以擴增該帶有突變之 2.12.1.fx-LC DNA 片段之第二半，利用 2.12.1.fx-LC DNA 作為 PCR 模板。此 PCR 片段接著利用

限制酶 *BsaI* 及 *NheI* 消化。這二個經限制酶消化之 PCR 片段與經 *BglII* 及 *NheI* 切割之 p2.12.1.fxP4 修飾質體 (Invitrogen®) 接合。該插入之序列係經 DNA 定序證實。2.12.1.fx-[CL κ -L⁷³A] (即包含 SEQ ID NO:28) 被暫時表現於 HEK 293 細胞，利用蛋白質 A 親和性管柱純化。該經純化之單株抗體可利用 MS 加以特徵化。

CL κ -V⁴²A 及 CL κ -K⁷⁵A 突變係藉由重疊 PCR 產製。突變物藉由寡核苷酸引子導入。對 2.12.1.fx-LC 之 5' 端具專一性之引子 (2.12.1.fx.LC.FOR) 與帶有所欲突變之反置引子配對，而帶有所欲突變之前置引子與對 2.12.1.fx 輕鏈之 3' 端具專一性之反置引子 (2.12.1.fx.LC.FOR) 配對以用於使用 2.12.1.fx-LC 作為模板之 2.12.1.fx-LC DNA 片段 PCR 擴增。這 2 種 PCR 產物係經混合以作為模板；在重疊 PCR 反應中使用 2.12.1.fx-LC 前置引子及反置引子以擴增該具有所欲突變之全長 2.12.1.fx-LC DNA。此 PCR 片段接著利用限制酶 *BglII* 及 *NheI* 消化。該等經消化之 PCR 產物與經 *BglII* 及 *NheI* 切割之 p2.12.1.fxP4 修飾質體 (Invitrogen®) 接合。該插入之序列係經 DNA 定序證實。該經突變之單株抗體被暫時表現於 HEK 293 細胞，利用蛋白質 A 親和性管柱純化。該經純化之單株抗體可利用 MS 加以特徵化。

其他突變係根據 QuickChange 定點突變形成套組 (Stratagene®) 中之說明在 2.12.1.fx-LC 上產製。突變藉由寡核苷酸引子導入並以 DNA 定序證實。該經突變之單株

抗體被暫時表現於 HEK 293 細胞，利用蛋白質 A 親和性管柱純化。該經純化之單株抗體可利用 MS 加以特徵化。

2.12.1.fx 及 2.12.1.fx 突變物 (1 mg 反應大小) 係利用磷酸鹽緩衝液調整至 18 mg/ml pH 7.7，終濃度 0.06 M 磷酸鈉。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]係經重構於丙二醇溶液至 10 mg/ml。以 4.3:1 之莫耳比添加肽/連接子至該抗體，允許反應在室溫下進行 2 小時。

表 54 比較 2.12.1.fx-[PEG₅-K¹¹-SEQ:27]與 2.12.1.fx-[CL κ -突變]-[PEG₅-K¹¹-SEQ:27]之共軛特性。2.12.1.fx-[PEG₅-K¹¹-SEQ:27]之共軛特性發生為介於 0 至 4 個肽加成之分布，最多者為 2 個肽加成。當支架蛋白質中之殘基突變成 Ala 時，其共軛特性改變；[PEG₅-K¹¹-SEQ:27]加成之平均數不是減少 (CL κ -V⁴²A、CL κ -L⁴⁶A、CL κ -S⁷⁴A、CL κ -Y⁷⁸A 及 CL κ -Y⁸⁴A)就是增加 (CL κ -Q⁴⁷A、CL κ -N⁵⁰A 及 CL κ -D⁷⁷A/E⁷⁹A 雙突變體)，相較於彼等之對應 2.12.1.fx-[PEG₅-K¹¹-SEQ:27]對照組。當比較 CL κ -D⁷⁷A/E⁷⁹A 與 CL κ -E⁷⁹A 之共軛特性時，抗體之平均[PEG₅-K¹¹-SEQ:27]加成的顯著增加主要是由 CL κ -D⁷⁷A 突變所致。

[PEG₅-K¹¹-SEQ:27]共軛之程度係於 2.12.1.fx 及 2.12.1.fx-[CL κ -突變]之輕鏈及重鏈上分開檢測。該 MAC 係經變性，並利用鹽酸胍及二硫蘇糖醇還原雙硫鍵。該形成之游離輕鏈及重鏈係利用 LCMS 分析以測定各自之共軛特性。表 54 顯示在 2.12.1.fx-[CL κ -Q⁴⁷A]及-[CL κ -N⁵⁰A]之輕鏈上的 1CA 高於 2.12.1.fx。平均 CA 為 0.84 及

0.85，相較於 2.12.1.fx 抗體之 0.78。CL κ -Q⁴⁷A 及 CL κ -N⁵⁰A 突變皆具有超過 70%之 1CA，相較於 2.12.1.fx 野生型抗體具有 59%之 1CA。除此之外，這二個突變之未經共軛之輕鏈量自野生型抗體之 31%減少至 22%及 19%。V⁴²A 減少輕鏈共軛之量。平均輕鏈 CA 係 0.45，包含 59%之未經共軛之輕鏈及 37%之 1CA。相較於個別 WT 之 1-LC%顯示於右欄，如表 54 所示。

重複 CL κ -V⁴²A、CL κ -Q⁴⁷A 及 CL κ -N⁵⁰A 與[PEG₅-K¹¹-SEQ:27]之共軛，結果顯示下表底部。CL κ -Q⁴⁷A 及 CL κ -N⁵⁰A 之輕鏈共軛量上升以及 CL κ -V⁴²A 減少輕鏈共軛皆由完整及經還原之 LC-MS 分析證實。整體來說，共軛資料顯示 CL κ -V⁴²、CL κ -D⁴³ 及 CL κ -H⁸¹ 皆會影響 CL κ -K⁸⁰ 之 PFP 方向性共軛。

抗體	AB % CA					平均 CA	輕鏈%CA			平均 CA	重鏈%CA		平均 CA	ILC WT %
	0	1	2	3	4		0	1	2		0	1		
野生型	5	40	43	10	2	1.63	31	59	9	0.78	90	10	0.1	
K ⁴¹ A	6	32	49	10	2	1.70	28	65	7	0.78	90	10	0.1	110
V ⁴² A	26	45	21	8		1.11	59	37	4	0.45	90	10	0.1	63
N ⁴⁴ A	9	37	40	10	4	1.6	31	63	6	0.75	93	7	0.07	107
L ⁴⁶ A	14	42	35	9		1.4	35	62	3	0.68	95	5	0.05	105
Q ⁴⁷ A	6	27	53	9	4	1.78	22	73	5	0.84	95	5	0.05	124
S ⁴⁸ A	6	34	46	9	4	1.72	34	59	7	0.73	93	7	0.07	100
N ⁵⁰ A	4	23	56	13	4	1.89	19	76	4	0.85	95	5	0.05	129
L ⁷³ A	12	36	33	13	7	1.69	41	55	3	0.62	87	13	0.13	93
S ⁷⁴ A	11	42	39	7		1.43	35	61	5	0.7	96	4	0.04	103
K ⁷⁵ A	12	38	41	9		1.48	35	62	3	0.68	93	7	0.07	105
D ⁷⁷ A														
-E ⁷⁹ A	3	7	71	15	4	2.1	5	87	8	1.04	95	5	0.05	147
V ⁸³ A														
-	9	35	39	11	6	1.7	33	61	6	0.73	86	14	0.14	103
野生型	2	23	49	22	4	2.03	34	60	5	0.71	81	19	0	
E ⁷⁹ A	6	13	51	24	6	2.12	21	73	6	0.86	85	15	0	122
R ¹⁰³ A	4	18	51	20	6	2.06	23	70	7	0.83	82	18	0	117
野生型	1	17	51	25	5	2.16	14	77	9	0.96	84	16	0.16	
D ⁷⁷ A	4	6	60	23	7	2.23	0	86	13	1.13	92	8	0.08	112
V ⁴² A	13	28	29	21	9	1.86	49	42	9	0.61	86	14	0.14	55
Q ⁴⁷ A	6	7	58	21	9	2.2	8	85	7	0.99	91	9	0.09	110
N ⁵⁰ A	7	8	51	25	9	2.2	10	81	9	0.99	90	10	0.1	105

表 54 與[SEQ:27-K¹¹-PEG5]共軛之 2.12.1.fx 變異體的共軛分析，顯示在輕鏈 K⁸⁰ 10 Å 內之胺基酸突變。Ab% CA 顯示每抗體共軛加成百分比，其後為每抗體平均 CA。經還原之輕鏈及重鏈分析也一併顯示，即各鏈之個別平均 CA。相較於個別 WT 之 1-LC%顯示於右欄，如表 53 所示。

實施例 28 分析 CLκ-D⁴³A 及 CLκ-H⁸¹A 突變體

為了測定 CLκ-D⁴³ 之電荷、氫鍵或大小對於 CLκ-K⁸⁰ 方向性共軛是否重要，CLκ-D⁴³ 係分別突變為 CLκ-D⁴³E (SEQ ID NO:107)、CLκ-D⁴³N (SEQ ID NO:108)及 CLκ-D⁴³L (SEQ ID NO:109)。該等突變物係根據

QuickChange 定點突變形成套組 (Stratagene®) 中之說明在 2.12.1.fx 抗體輕鏈上產製。突變藉由寡核苷酸引子導入並以 DNA 定序證實。該經突變之單株抗體被暫時表現於 HEK 293 細胞，利用蛋白質 A 親和性管柱純化。該經純化之單株抗體可利用 MS 加以特徵化。

類似地，爲了評估 CL κ -H⁸¹ 之角色，對測試抗體 2.12.1.fx 之下列突變版本進行評估：CL κ -H⁸¹N (SEQ ID NO:110)、CL κ -H⁸¹Q (SEQ ID NO:111)、CL κ -H⁸¹Y (SEQ ID NO:112)、CL κ -H⁸¹W (SEQ ID NO:113) 及 CL κ -H⁸¹F (SEQ ID NO:114)。

2.12.1.fx 抗體及 2.12.1.fx-[CL κ -突變]-抗體 (1 mg 反應大小) 係利用磷酸鹽緩衝液調整至 18 mg/ml pH 7.7，終濃度 0.06 M 磷酸鈉。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 係經重構於丙二醇溶液至 10 mg/ml。以 4.3:1 之莫耳比添加肽/連接子至抗體，允許反應在室溫下進行 2 小時。

CL κ -D⁴³N 具有與該野生型抗體類似之整體共軛及輕鏈量 (表 55)。CL κ -D⁴³E 及 CL κ -D⁴³L 顯示減少之整體共軛量及輕鏈共軛量。

CL κ -H⁸¹N、CL κ -H⁸¹Q、CL κ -H⁸¹Y、CL κ -H⁸¹W 及 CL κ -H⁸¹F 突變顯示減少之整體共軛量及輕鏈共軛量，顯示咪唑環係 PFP 方向性共軛所需。該共軛反應不牽涉 π -堆疊交互作用或與該咪唑環之 N ϵ 2 或 N δ 1 形成之氫鍵。

抗體	Ab % CA					平均 CA	輕鏈%CA			平均 CA	重鏈%CA			平均 CA	1LC WT %
	0	1	2	3	4		0	1	2		0	1	2		
野生型	2	23	49	22	4	2.03	34	60	5	0.71	81	19	0	0.19	
D ⁴³ N	7	24	39	21	8	2.00	34	59	7	0.73	84	16	0	0.16	98
D ⁴³ L	14	33	34	19	0	1.57	55	40	5	0.50	74	26	0	0.26	67
D ⁴³ E	9	33	37	17	4	1.75	44	48	8	0.63	74	26	4	0.34	80
H ⁸¹ N	32	41	20	7	0	1.04	84	16	0	0.16	70	26	5	0.35	27
H ⁸¹ Q	29	40	21	11	0	1.14	82	17	1	0.19	73	27	0	0.27	28
H ⁸¹ Y	27	40	24	8	0	1.14	80	20	0	0.20	70	26	4	0.35	33
H ⁸¹ W	29	45	19	8	0	1.05	85	15	0	0.15	69	26	5	0.36	25
H ⁸¹ F	13	41	30	15	0	1.48	79	21	0	0.21	70	30	0	0.30	35

表 55 與[PEG₅-K¹¹-SEQ:27]共軛之 2.12.1.fx 變異體（WT 係 2.12.1.1fx）。Ab % CA 顯示每抗體共軛加成百分比，其後為每抗體平均 CA。經還原之輕鏈及重鏈分析也一併顯示，即各鏈之個別平均 CA。相較於個別 WT 之 1-LC% 顯示於右欄，如表 53 所示。

實施例 29 利用不同反應酯之 2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A]共軛

2.12.1.fx 及 2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A]係利用不同反應酯與[PEG₅-K¹¹-SEQ:27]共軛（見實施例 18 及 19）（結果顯示於表 56）。在使用所有不同的活化酯中，2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A]突變相較於 wt 2.12.1.fx 在共軛時產生較高量之完整平均 CA。另一清楚的趨勢為，在野生型 2.12.1.fx 中之 0 及 1 CA 的量，在使用每種活化酯之 2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A]突變體中皆明顯降低，且使用大部分活化酯之 2 CA 之量增加，除了 Z9 以外。

還原 LC/HC 分析之結果顯示更明顯之比較 2.12.1.fx 及 2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A]共軛結果之趨勢。在各例中，未

衍生化 LC 之程度降低，在某些例中大幅降低。此伴隨 LC 上之 1 CA 的量共同增加，同樣發生於各種不同的活化酯，因此整體來說 LC 上衍生化之平均量增加。在 LC 之整體趨勢為 1CA 增加之量係 0CA 減少之量，因為各例中所存在之 2CA 的量實質上未改變。

至於 HC，另一明顯趨勢為使用各活化酯時，已經低量之 1CA 衍生化被進一步降低。此趨勢之例外為唯一非酚酯之 Z9。相較於其他酚酯，此酯對 CL κ -K⁸⁰之方向性共軛的影響極少，而且 LC 及 HC 衍生化之量皆類似，只有 2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A]突變稍微增進該方向性。整體來說，在使用不同活化酯時，2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A]突變提供相較於天然 2.12.1.fx 增進方向性 LC 共軛之明顯證據。

Z#	抗體	Ab % CA					平均 CA	Δ	LC %				平均 CA	0	1	2	平均 CA	1LC WT%
		0	1	2	3	4			0	1	2	平均 CA						
1	野生型	1	17	51	25	5	2.16	0.07	14	77	9	0.96	84	16			0.16	
	D ⁷⁷ A	4	6	60	23	7	2.23		0	86	13	1.13	92	8			0.08	112
2	野生型	15	43	33	9		1.36	0.72	49	49	3	0.54	84	16			0.16	
	D ⁷⁷ A	7	14	53	19	8	2.09		16	81	3	0.87	90	10			0.1	33
10	野生型	23	44	26	7		1.18	0.73	60	38	2	0.42	81	19			0.19	
	D ⁷⁷ A	6	27	43	18	6	1.91		29	67	4	0.74	89	11			0.11	176
3	野生型	7	32	39	18	5	1.82	0.43	44	48	7	0.63	79	21			0.21	
	D ⁷⁷ A	6	11	46	25	12	2.25		12	79	9	0.97	90	10			0.1	165
6	野生型	15	46	30	9		1.34	0.71	41	52	7	0.66	88	12			0.12	
	D ⁷⁷ A	6	21	44	20	9	2.05		18	73	8	0.9	93	7			0.07	140
9	野生型	7	29	35	21	8	1.94	0.26	57	34	9	0.51	56	34	10		0.54	
	D ⁷⁷ A	10	19	29	27	15	2.20		47	44	9	0.63	61	32	7		0.46	129

表 56 2.12.1.fx.-[CL κ -D⁷⁷A]利用不同的反應酯共軛至 [PEG₅-K¹¹-SEQ:27]之分析（見實施例 26 及 27）。Ab % CA 顯示每抗體共軛加成之整體百分比，也顯示經還原之輕鏈及重鏈分析(LC % CAN、HC % CA)，Δ表示 WT 與 D¹⁸⁵A 突變物之 Ab % CA 結果之間的差異。相較於個別 WT 之 1-LC%顯示於右欄，如表 53 所示。

實施例 30 曲妥珠單抗(Ttrastuzumab) (Herceptin®)共軛

爲了證實由 CL κ -D⁷⁷ 突變所造成之與 CL κ -K⁸⁰ 之方向性共軛增進可應用於其他包含 CL κ 之抗體，D⁷⁷A 突變也被插入曲妥珠單抗(trastuzumab) (hTrast)之 CL κ 。Trastuzumab 輕鏈及重鏈 DNA 係根據 Drug Bank 編號 DB00072 (BIOD00098、BTD00098)之胺基酸序列合成。

hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]突變物係於二步驟產製。首先，D⁷⁷A 突變係根據 QuickChange 定點突變形成套組 (Stratagene®)所述之方法於抗體輕鏈上產生。突變藉由寡核苷酸引子導入並以 DNA 定序證實。Trastuzumab 之 VL

係與具有 D⁷⁷A 突變之抗體的 CL 連接。引子對 TRAST.VL.FOR (SEQ ID NO:89)及 TRAST.VL.REV (SEQ ID NO:90)被用來擴增 trastuzumab VL。該 PCR 片段利用 *Bgl*III 及 *Bsa*I 消化。引子對 TRAST.CL.D185A.FOR (SEQ ID NO:91)及 TRAST.CL.D185.A.REV (SEQ ID NO:92)被用來擴增具有 D⁷⁷A 突變之 CL。該形成之 PCR 片段利用 *Bsa*I 及 *Nhe*I 消化。經限制酶消化之 PCR 片段與經 *Bgl*III 及 *Nhe*I 切割之 p2.12.1.fxP4 修飾質體(Invitrogen®)接合。該插入之序列係經 DNA 定序證實。該經突變之單株抗體被暫時表現於 HEK 293 細胞，利用蛋白質 A 親和性管柱純化。該經純化之單株抗體可利用 MS 加以特徵化。

Trastuzumab 及 hTrast-[CL κ -D⁷⁷A] (1 mg 反應大小)係利用磷酸鹽緩衝液調整至 18 mg/ml pH 7.7，終濃度 0.06 M 磷酸鈉。[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]係經重構於丙二醇溶液至 10 mg/ml。以 4.3:1 之莫耳比添加肽/連接子至抗體，允許反應在室溫下進行 2 小時。

表 57 比較 trastuzumab-[PEG₅-K¹¹-SEQ:27]與 hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]-[PEG₅-K¹¹-SEQ:27]之共軛特性。Trastuzumab-[PEG₅-K¹¹-SEQ:27]之共軛特性發生為介於 0 至 4 個肽加成之分布，平均肽加成數為 1.75。該特性在 D⁷⁷A 突變後改變；肽加成之平均數上升至 2.18，且觀察到顯著較少之 0 及 1 肽加成之整體量。此結果顯示單點突變 CL κ -D⁷⁷A 具有增加該支架之整體共軛之效果，如在測試抗體 2.12.1.fx 中所示。

經還原之輕鏈及重鏈分析顯示，hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]之輕鏈上的平均共軛高於未經修飾之 trastuzumab；hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]之平均輕鏈共軛加成數係 1.01，trastuzumab 則為 0.70。此外，hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]中之未經共軛之輕鏈顯著減少。在重鏈上之共軛被觀察到顯著較低之量。Trastuzumab 及 hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]中之大部分觀察到之重鏈皆未經共軛；特別是 hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]之重鏈。這些結果顯示 CL κ -D⁷⁷A 突變改變輕鏈使其顯著易於發生共軛。

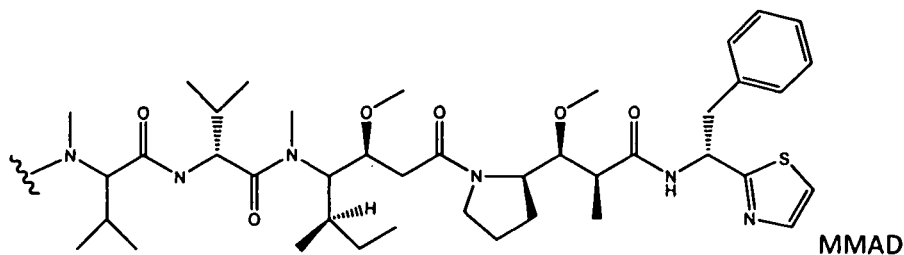
抗體	Ab% CA					平均	輕鏈%CA			平均	重鏈%CA		平均
野生型	0	1	2	3	4	CA	0	1	2	CA	0	1	CA
Rep1	6	33	42	15	5	1.80	35	65	ND	0.65	85	15	0.15
Rep2	7	34	39	14	6	1.79	26	74	ND	0.74	84	16	0.16
Rep3	9	38	38	11	5	1.65	30	70	ND	0.7	82	18	0.18
Av.Rep	7	35	40	13	5	1.75	30	70		0.70	84	16	0.16
StdDev	2	3	2	2	1	0.08	5	5		0.05	2	2	0.02
D ⁷⁷ A							5	92	3	0.99	94	6	0.06
Rep1	4	5	66	20	6	2.19	1	94	5	1.04	91	9	0.09
Rep2	3	5	65	21	6	2.22	3	95	2	0.99	94	6	0.06
Rep3	3	8	69	17	4	2.12	3	94	3	1.01	93	7	0.07
AvRep	3	6	67	19	5	2.18	2	2	2	0.03	2	2	0.02
StdDev	1	2	2	2	1	0.05	5	92	3	0.99	94	6	0.06

表 57 分析 [PEG₅-K¹¹-SEQ:27] 與 Abs trastuzumab (WT) 及 hTrast-[CL κ -D⁷⁷A] 之共軛。Rep=重複。AvReps 係三次重複試驗之結果的平均值，標準差顯示於下(StdDev)。Ab % CA 顯示每抗體共軛加成百分比，其後為每抗體平均 CA。亦顯示經還原之輕鏈及重鏈分析。

實施例 31 Trastuzumab 與 MMAD 之共軛

表 58 比較 trastuzumab-[PEG₅-MMAD] (耳抑素

(Auristatin)衍生物) 與 hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]-[PEG₅-MMAD]
之共軛特性。



Trastuzumab-[PEG₅-MMAD]之共軛特性發生為每抗體介於 0 至 4 個共軛之分布，最多者為 2 個共軛之形式，平均共軛數為 1.65。當 CL κ -D⁷⁷A 突變時，共軛之平均數上升至 2.00，且觀察到顯著較少之 0 及 1 MMAD 加成之整體量。此結果顯示單點突變 CL κ -D⁷⁷A 具有增加該支架之整體共軛之效果，且此技術適用於抗體毒素共軛模型。

經還原之重鏈及輕鏈分析顯示，hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]之輕鏈上的平均共軛高於未經修飾之 trastuzumab；hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]之平均輕鏈共軛加成數係 0.88，trastuzumab 則為 0.56。此外，hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]中之未經共軛之輕鏈顯著減少。在重鏈上之共軛被觀察到顯著較低之量。Trastuzumab 及 hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]中之大部分觀察到之重鏈皆未經共軛；特別是 hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]之重鏈。這些結果顯示 CL κ -D⁷⁷A 突變改變輕鏈使其顯著易於發生共軛。

與 MMAD 共軛之 MMAD	CA 百分比						輕鏈%CA				重鏈%CA				1LC WT %
	0	1	2	3	4	平均 CA	0	1	2	平均 CA	0	1	平均 CA		
WT	8	35	42	13	2	1.65	45	54	1	0.56	76	23	0.23		
D ⁷⁷ A	1	16	65	16	1	2.00	11	88		0.88	84	14	0.14		163

表 58 [PEG₅-MMAD]與 trastuzumab (WT)及 hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]共軛之分析，亦顯示經還原之 LC 及 HC 分析。Ab% CA 顯示每抗體共軛加成百分比，其後為每抗體平均 CA。亦顯示經還原之輕鏈及重鏈分析。相較於個別 WT 之 1-LC% 顯示於右欄，如表 53 所示。

實施例 32 經共軛之 trastuzumab 結合標靶之能力

利用 Her2 結合 ELISA 試驗，研究未經共軛與經 [PEG₅-K¹¹-SEQ:27]或[PEG₅-MMAD]共軛之 trastuzumab 及 hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]和 Her2 受體結合之能力。半孔 ELISA 板係經 1ug/ml 之 Fc-ErbB2 融合蛋白於 PBS 中包覆，在 4℃ 隔夜培養。ELISA 板經 KPL 清洗液清洗 3 次，之後在室溫中以 Superblock 封閉 1 小時。用 Superblock 製備樣本之 10 倍連續稀釋液，最高濃度為 100 μg/ml。添加樣本至孔槽，在室溫中培養孔板 1 小時。用 KPL 清洗緩衝液清洗孔盤 3 次。結合樣本係藉由與 1:1000 稀釋之抗人 Fab-HRP 二級抗體在室溫中培養 1 小時檢測。孔盤再次用 KPL 清洗液清洗 3 次，以 TMB 受質檢測 HRP。用 2M H₂SO₄ 停止反應，在 Spectramax 孔盤讀取儀上測量 450 nm 之 OD 值。

圖 9A 及 9B 顯示商用 trastuzumab、自可用序列產製之 trastuzumab、hTrast-[CL κ -D⁷⁷A] 以及與 [PEG₅-K¹¹-SEQ:27]或 [PEG₅-MMAD]結合之 trastuzumab 及 hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]皆展現類似之 Her2 結合特徵。這些結果顯示共軛（主要發生在 CL κ -K⁸⁰）不會顯著干擾天然抗體之受體結合功能。

實施例 33 比較 PFP 與 NHS 共軛策略

Trastuzumab 係利用二種不同策略與 [PEG₅-MMAD]共軛：使用 PFP 酯(Z1)作為 Z*基方向性共軛至 CL κ -K⁸⁰（產製 trastuzumab-[5PEG-MMAD]），或使用 NHS（Z13；產製 trastuzumab-[MMAD]_n），此在抗體上導致較廣泛之共軛模式，投予至大鼠以比較該等抗體藥物共軛物之耐受性。二種共軛物皆以 10、30 及 100 mg/kg 單次快速濃注劑量給予。在一周試驗期間，所有投予 10 及 30 mg/kg 劑量之二種共軛物的動物皆存活，無顯著體重減輕。然而，100 mg/kg 劑量組顯示隨機共軛(Z13)與定點選擇性共軛至 CL κ -K⁸⁰ (Z1)之間的明顯差異。在 100 mg/kg 劑量之隨機共軛組（NHS 共軛）中，超過 50%之動物在一周試驗期間內死亡，然而所有 100 mg/kg 劑量之定點選擇性共軛組（PFP 共軛）中之動物存活而無顯著體重減輕（表 59）。這表示與 CL κ -K⁸⁰ 優先共軛可能提供相較於傳統「隨機」方式更為可靠之共軛效應物部分之機轉，因為與多個表面離胺酸殘基共軛可能使效應物部分產生較不可

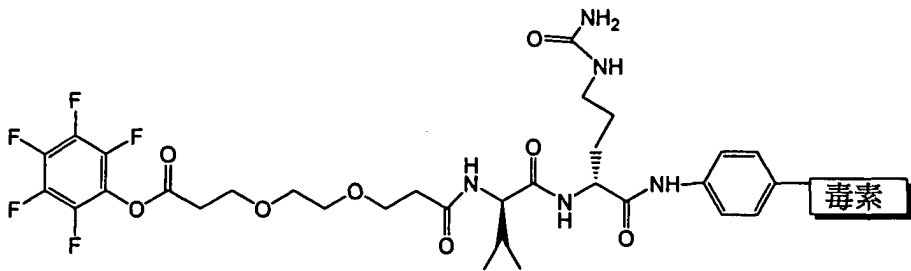
靠之切割及降解模式。

共軛物	共軛類型	劑量(mg/Kg)	存活百分比
Trastuzumab-[PEG ₅ -MMAD]	PFP	10	100
		30	100
		100	100
Trastuzumab-[MMAD] _n	NHS	10	100
		30	100
		100	50

表 59 定點選擇共軛毒素改善抗體藥物共軛物之耐受性。比較利用 Z1 及 Z13 作為 Z*基共軛之 trastuzumab-[PEG₅-MMAD]於大鼠之耐受性。

實施例 34 與毒素及可切割連接子共軛之 h38C2

標靶肽係利用如此處所述之式 P-Q-W 之連接子與 CL κ -D⁷⁷A 突變版本之催化抗體 h38C2 (HC = SEQ ID NO:65 及 LC = SEQ ID NO:37 及 67) 的結合位點共軛，該連接子以 β 內醯胺基作為 W 基以和 SEQ ID NO:65 之 K⁹⁹ 的側鏈形成共價連接。此共軛抗體然後與示範性耳抑素基底毒素之 PFP 活化酯共軛，該示範性耳抑素基底毒素與纈胺酸-瓜胺酸-對胺基苯甲基胺基甲酸酯可切割連接子連接 ([PFP-PEG₂-ValCitABC-毒素])。



觀察到之共軛物分布主要為每抗體支架 2 至 3 個毒素 (表 60)。此共軛物之試管內細胞毒性試驗顯示在

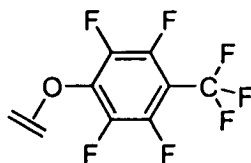
AU565 細胞系 (IC₅₀ = 0.4 nM) 及 OVCAR5 細胞系 (IC₅₀=0.2 nM) 具有有效抗增生效果。

	共軛加成 (CA) (%)						平均 CA
	0	1	2	3	4	5	
PFP-PEG ₂ -ValCitABC- 毒素	4	8	31	29	18	10	2.8

表 60 與[PFP-PEG₂-ValCitABC- 毒素]共軛之 h38C2 的共軛特性

實施例 35

以三氟甲基取代該對位氟原子之 PFP 結構類似物被用於製備衍生基 Z*；2,3,5,6-四氟基-4-(三氟甲基)苯基 (Z16)：



2,3,5,6-四氟基-4-(三氟甲基)苯基

此被用於產製 Z16-PEG₅ 連接子，該連接子係與測試肽 SEQ ID NO:27 共軛，並與測試抗體 2.12.1.fx 共軛測試。與其他測試 Z*基不同的是，此衍生基給予共軛物與天然 2.12.1.fx 稍微較高之共軛量（相較於 2.12.1.fx-[CLκ-D⁷⁷A]），但使用 Z16 基之二種共軛物之完整共軛量皆高於使用該對應之 PFP (Z1)類似物者（整體平均 CA 相較於 Z1 大約增加 10%）。使用 Z16 時，天然 2.12.1.fx 及 2.12.1.fx-[CLκ-D⁷⁷A]共軛皆顯示相等量之 1CA，此量低於在天然 2.12.1.fx 與[PFP-PEG₅-K¹¹-SEQ:27]共軛所觀察到者：以其他共軛來說，D⁷⁷A 相較於該對應之天然抗體通常減少 1CA 之量。整體來說，這些結果顯示脫離基

D16 比 Z1 (PFP)更具反應性（表 61）。

Z16 脫離基顯示對天然 2.12.1.fx 及 2.12.1.fx-[CLκ - D⁷⁷A]抗體大約相等之衍生化，且二例中未衍生之 LC 的量皆很少。同樣地，使用 Z*16 相較於 Z1 增加 LC 及 HC 衍生化之整體量。脫離基 Z16 似乎是比较 PFP 更具活性之活性酯，但有可能是因為 CF₃ 基提供靠近 CLκ -K⁸⁰ 區域之額外交互作用，因此也驅使反應性及優先衍生化 LC。

Z*	2.12 .1.fx	Ab %CA					平均 CA	Δ	輕鏈%CA			平均 CA- LC	重鏈% CA		平均 CA- HC	1LC WT%
		0	1	2	3	4			0	1	2		0	1		
1	野生型	1	17	51	25	5	2.16		14	77	9	0.96	84	16	0.16	
1	D ⁷⁷ A	4	6	60	23	7	2.23	0.07	0	86	13	1.13	92	8	0.08	112
16	WT	4	4	44	36	12	2.48		5	83	12	1.07	81	19	0.19	
16	D ⁷⁷ A	9	9	31	33	18	2.43	0.05	1	79	20	1.2	89	11	0.11	95

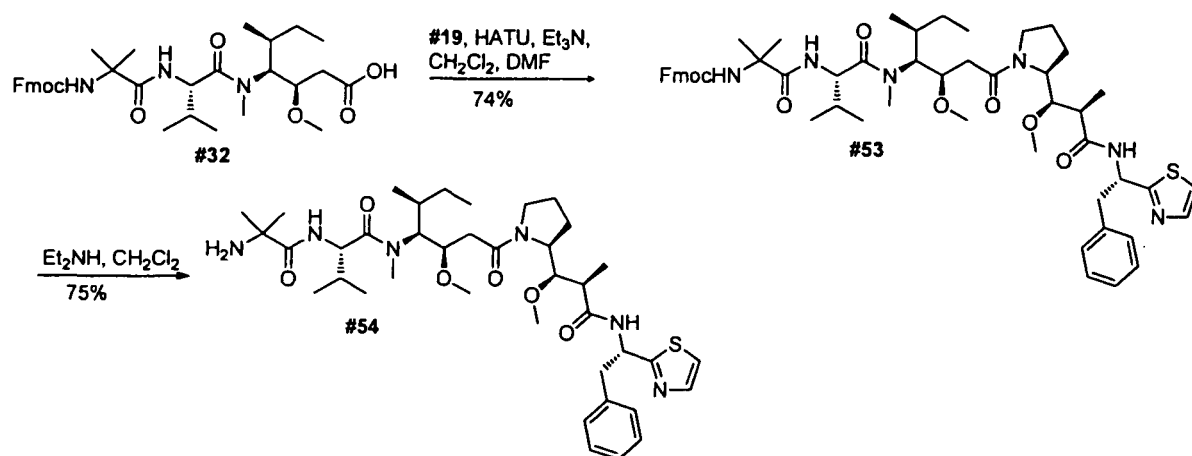
表 61 2.12.1.fx 及 2.12.1.fx.-[CLκ -D⁷⁷A]利用不同的反應性 Z*基 Z1 及 Z16 共軛至[PEG₅-K¹¹-SEQ:27]之分析。Ab % CA 顯示每抗體之整體共軛加成百分比，也顯示經還原之輕鏈及重鏈分析（LC % CA、HC % CA）。Δ 顯示 WT 與 D¹⁸⁵A 突變之 Ab % CA 結果的差異。相較於個別 WT 之 1-LC%顯示於右欄，如表 53 所示。

實施例 36 合成毒素 0101

毒素 0101（圖示中之#54）之實驗

製備 2-甲基丙胺鹽基-N-[(3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-羰基-3-{[(1S)-2-苯基-1-(1,3-

噻唑-2-基)乙基]胺基}丙基]吡咯啉-1-基}-5-甲基-1-羰基庚-4-基]-N-甲基-L-纈胺醯胺(#54)



步驟 1：合成 *N*-[(9*H*-芴-9-基甲氧基)羰基]-2-甲基丙胺醯基-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-羰基-3-[(1*S*)-2-苯基-1-(1,3-噻唑-2-基)乙基]胺基}丙基]吡咯啉-1-基}-5-甲基-1-羰基庚-4-基]-*N*-甲基-L-纈胺醯胺(#53)。根據一般程序 D (如下)，自#32 (2.05 g, 2.83 mmol, 1 eq.)於二氯甲烷(20 mL, 0.1 M)及 *N,N*-二甲基甲醯胺(3 mL)中，與該胺#19 ((2*R*,3*R*)-3-甲氧基-2-甲基-*N*-[(1*S*)-2-苯基-1-(1,3-噻唑-2-基)乙基]-3-[(2*S*)-吡咯啉-2-基]丙醯胺，三氟乙酸鹽) (2.5 g, 3.4 mmol, 1.2 eq.)、HATU (1.29 g, 3.38 mmol, 1.2 eq.)及三甲胺(1.57 mL, 11.3 mmol, 4 eq.)合成該所欲之粗製物質，該粗製物質藉由矽膠層析純化(梯度：0%至 55%丙酮於庚烷中)，產製固體狀之#53 (2.42 g, 74%)。LC-MS： *m/z* 965.7 [M+H⁺]，987.6 [M+Na⁺]，滯留時間 = 1.04 分鐘；HPLC (程序 A)： *m/z* 965.4 [M+H⁺]，滯留時間 = 11.344 分鐘 (純度 > 97%)；¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)假設為旋轉異構體

之混合物的特徵信號： δ 7.86-7.91 (m, 2H), [7.77 (d, $J=3.3$ Hz)和 7.79 (d, $J=3.2$ Hz),共 1H], 7.67-7.74 (m, 2H), [7.63 (d, $J=3.2$ Hz)和 7.65 (d, $J=3.2$ Hz),共 1H], 7.38-7.44 (m, 2H), 7.30-7.36 (m, 2H), 7.11-7.30 (m, 5H), [5.39 (ddd, $J=11.4, 8.4, 4.1$ Hz)和 5.52 (ddd, $J=11.7, 8.8, 4.2$ Hz),共 1H], [4.49 (dd, $J=8.6, 7.6$ Hz)和 4.59 (dd, $J=8.6, 6.8$ Hz),共 1H], 3.13, 3.17, 3.18 和 3.24 (4 s,共 6H), 2.90 和 3.00 (2 br s,共 3H), 1.31 和 1.36 (2 br s,共 6H), [1.05 (d, $J=6.7$ Hz)和 1.09 (d, $J=6.7$ Hz),共 3H]。

步驟 2：合成 2-甲基丙胺鹽基-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-甲氧基-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-甲氧基-2-甲基-3-羰基-3-{[(1*S*)-2-苯基-1-(1,3-噻唑-2-基)乙基]胺基}丙基]吡咯啉-1-基}-5-甲氧基-1-羰基庚-4-基]-*N*-甲基-*L*-纈胺鹽基(#54)

根據一般程序 A (如下)，自 #53 (701 mg, 0.726 mmol)於二氯甲烷中(10 mL, 0.07 M)合成該所欲之粗製物質，該粗製物質藉由矽膠層析純化(梯度：0%至 10%甲醇於二氯甲烷中)。該殘餘物係經二乙基醚及庚烷稀釋，並於真空中濃縮以得到白色固體狀之#54 (406 mg, 75%)。LC-MS： m/z 743.6 [$M+H^+$]，滯留時間= 0.70 分鐘；HPLC (程序 A)： m/z 743.4 [$M+H^+$]，滯留時間= 6.903 分鐘(純度> 97%)； 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6)假設為旋轉異構體之混合物的特徵信號： δ [8.64 (br d, $J=8.5$ Hz)和 8.86 (br d, $J=8.7$ Hz),共 1H], [8.04 (br d, $J=9.3$ Hz)和 8.08 (br d, $J=9.3$ Hz),共 1H], [7.77 (d, $J=3.3$ Hz)和 7.80 (d,

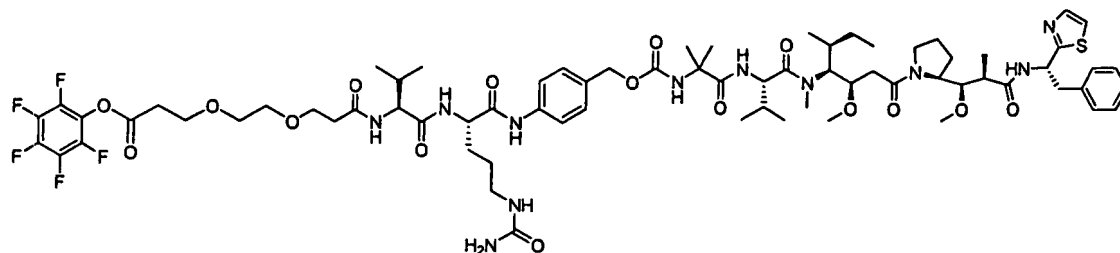
$J=3.2$ Hz), 共 1H], [7.63 (d, $J=3.3$ Hz) 和 7.66 (d, $J=3.2$ Hz), 共 1H], 7.13-7.31 (m, 5H), [5.39 (ddd, $J=11, 8.5, 4$ Hz) 和 5.53 (ddd, $J=12, 9, 4$ Hz), 共 1H], [4.49 (dd, $J=9, 8$ Hz) 和 4.60 (dd, $J=9, 7$ Hz), 共 1H], 3.16, 3.20, 3.21 和 3.25 (4 s, 共 6H), 2.93 和 3.02 (2 br s, 共 3H), 1.21 (s, 3H), 1.13 和 1.13 (2 s, 共 3H), [1.05 (d, $J=6.7$ Hz) 和 1.10 (d, $J=6.7$ Hz), 共 3H], 0.73-0.80 (m, 3H)。

一般程序 A：利用二乙胺移除 Fmoc。在含 Fmoc 之化合物的二氯甲烷溶液中添加等量之二乙胺。反應過程藉由 LC-MS (或 HPLC 或 TLC) 監測；該反應通常在三小時內完成。在真空中移除溶劑，該殘餘物用庚烷共沸三次。該殘餘物接著用二氯甲烷及少量甲醇稀釋，然後被減少至矽，以矽膠層析純化，利用於二氯甲烷中之甲醇洗脫以得到該所欲之物質。

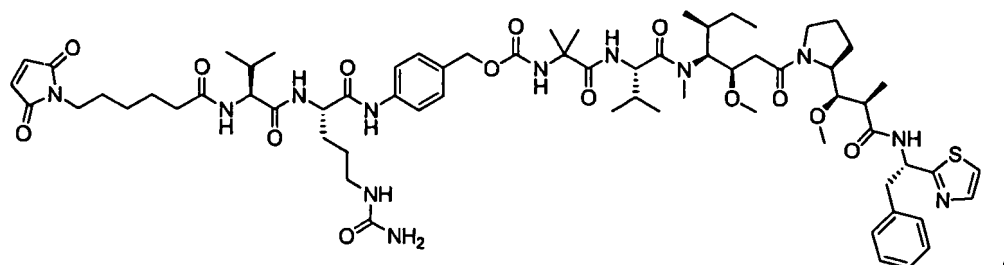
一般程序 D：與 *O*-(7-吡啶并三唑-1-基)-*N,N,N',N'*-四甲基脲六氟磷酸酯(HATU)偶合。在胺(1 eq.)及酸(1.1 eq.)於二氯甲烷：*N,N*-二甲基甲醯胺 (4:1, 0.3 M 於胺中) 之攪拌溶液中，添加 HATU (1.2 eq.)，然後再添加 Et_3N (3 eq.)。反應過程藉由 LC-MS (或 HPLC 或 TLC) 監測；該反應通常在三小時內完成。在真空中移除溶劑。殘餘物用庚烷共沸三次，接著少量乙酸乙酯稀釋，然後被減少至矽，以矽膠或逆相層析純化。

實施例 37 製備包含 mAb hu08 及毒素 0101 之 MAC

Hu08 係人抗 IL-13R α 2 抗體，在 US61/723,545 中有完整敘述，該案之內容以參照方式納入此處。包含 CL κ - D⁷⁷A 突變之突變版本的 hu08 係根據標準程序產製(hu08-[CL κ -D77A])。毒素-0101 (#54：實施例 36) 係與可切割之連接子共軛以形成下列結構：



然後該毒素-連接子係根據此處所述之技術與 hu08-[CL κ - D77A]共軛。化合物 hu08-vc-0101 係經產製，導致多個毒素-0101 經由下列連接子-毒素-0101 物種與該抗體 hu08 非專一性共軛：



試管內細胞毒性試驗

表現 IL-13R α 2 抗原之細胞系及陰性對照細胞系與漸增濃度之 hu08-[CL κ -D⁷⁷A]一起培養。經過四天後，檢測培養之存活性。IC₅₀ 值係藉由邏輯非線性回歸計算並以 ng Ab/mL 表示。

資料顯示，hu08-vc0101 及 hu08-[CL κ 40, -D⁷⁷A]皆能有效拮抗該測試之 IL-13R α 2 陽性細胞系 (PC3MM2 及

A375)，其 IC_{50} 係自 2.5 至 7.9 ng Ab/mL（表 62）。不論 hu08-vc0101 或 hu08-[CL κ -D⁷⁷A]皆對 IL-13R α 2 陰性細胞系 H460 無活性，而非 IL-13R α 2 結合對照 hIgG8.84-vc0101 對任何測試細胞系皆無活性。

ADC	毒素：抗體	IC_{50} (ng Ab/mL)		
		PC3MM2	A375	H460
hu08-vc-0101	3.2	2.5	3.8	>400000
hu08-[CL κ -D ⁷⁷ A]-0101	1.9	4.9	7.9	>400000
hIgG8.8-vc-0101	3.7	>400000	>400000	>400000

表 62 hu08-[CL κ -D⁷⁷A]-0101 之試管內細胞毒性試驗

Cys 突變 ADC 之皮下異種移植模型

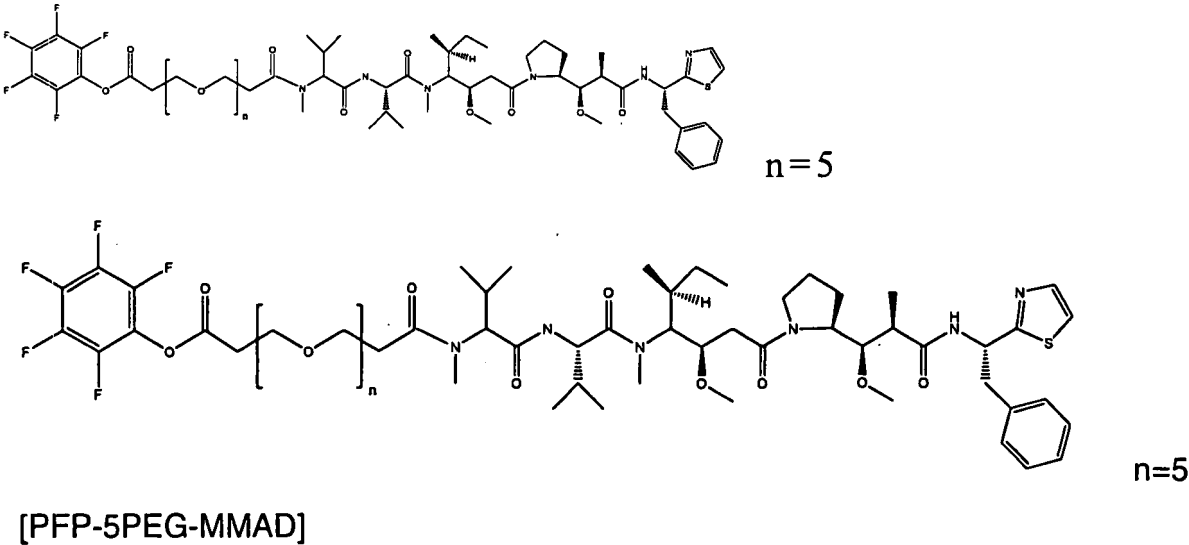
無胸腺（裸）母鼠接受皮下注射 PC3MM2 腫瘤細胞。分期腫瘤大約 0.1 至 0.3 g 之小鼠（n = 8 至 10 小鼠／治療組）經靜脈投予每 4 天一次共 4 次之正常鹽水（載劑）或 MAC-0001。化合物係根據 Ab 含量投予。每周至少測量一次腫瘤，彼等之大小(mm² +/- SEM)係由下式計算： $mm^3 = 0.5 \times (\text{腫瘤寬度}^2) \times (\text{腫瘤長度})$ 。表 63 之資料顯示 hu08-[CL κ -D⁷⁷A]-0101 抑制 PC3MM2 異種移植之生長。

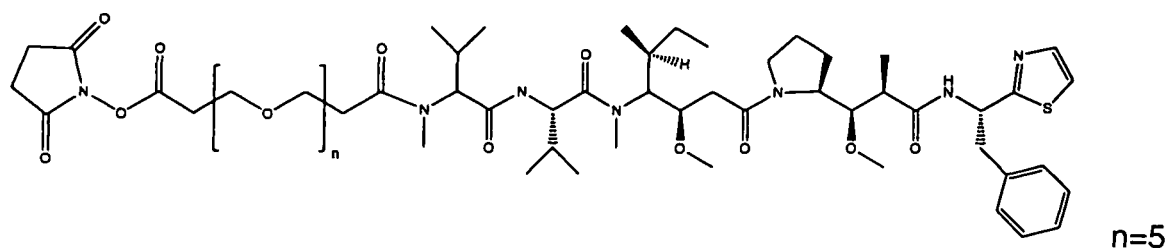
ADC	劑量 單一 劑量	PC3MM2 異種移植，腫瘤體積 (mm ³ ±SEM)									
		第 0 天	第 5 天	第 8 天	第 12 天	第 15 天	第 20 天	第 30 天	第 41 天	第 55 天	第 77 天
載具	0	325 ± 9	590 ± 41	782 ± 79	1140 ± 142	GT	GT	GT	GT	GT	GT
hu08-[CLκ-D ⁷⁷ A]-0101	1.5	328 ± 49	393 ± 96	352 ± 106	432 ± 124	556 ± 236	732 ± 305	GT	GT	GT	GT
hu08-vc-0101	1.5	333 ± 12	431 ± 40	281 ± 25	299 ± 32	362 ± 47	450 ± 58	956 ± 166	GT	GT	GT

表 63 GT= 因為腫瘤體積過大終止該組試驗

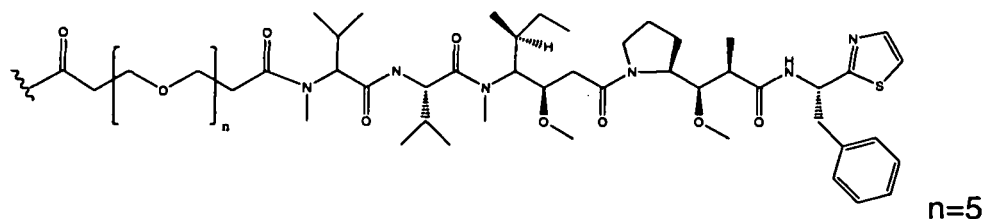
實施例 38 Trastuzumab MMAD 共軛物活性

製備三種 trastuzumab 共軛物：trastuzumab-[5PEG-MMAD]、hTrast-[CLκ-D⁷⁷A]-[5PEG-MMAD]及 trastuzumab-(MMAD)_n，其中 MMAD 係與 5PEG 連接子連接，以 Z13 (NHS)作為脫離基，且以非方向性共軛技術與 trastuzumab 共軛，導致 MMAD 與 trastuzumab 表面離胺酸之非專一性共軛（見實施例 30-33）





[NHS-5PEG-MMAD]



-[5PEG-MMAD]

這三種 mAb 共軛物係於大鼠探索性毒性試驗中評估，其中動物接受各種 ADC 之靜脈單次快速濃注，劑量為 0（載劑）、10、30 及 100 mg/kg（5 隻公鼠／組），然後觀察 14 天。毒性評估包括每天臨床觀察、每周體重測量及剖檢日之臨床病理評估。動物在第 15 天安樂死，收集選擇組織進行顯微鏡檢查。此外，在投藥後大約 0.0833（5 分鐘）、6、24（第 2 天）、48（第 3 天）、72（第 4 天）、96（第 5 天）、168（第 8 天）及 312（第 14 天）小時自所有動物收集血液樣本，分析抗體-共軛物及 trastuzumab 抗體濃度。

結果

三種共軛物在任何給定劑量之血漿暴露量（根據 AUC）整體來說類似。100 mg/kg 之 hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]-[5PEG-MMAD]、trastuzumab-[5PEG-MMAD]及 trastuzumab-(MMAD)_n 的 AUC(0-312)分別為 177000、

174000 及 139000 ng•h/mL。hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]-[5PEG-MMAD]及 trastuzumab-[5PEG-MMAD]的所有劑量皆呈臨床耐受良好。然而，以 100 mg/kg 投予之 trastuzumab-(MMAD)_n 造成明顯臨床徵候，5 隻大鼠中的 1 隻在第 8 天提前安樂死。此組中的其他大鼠出現脫水及體重增加減少。

臨床病理學的改變在 hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]-[5PEG-MMAD]及 trastuzumab-[5PEG-MMAD]整體來說類似，包括特別是 ≥ 10 或 ≥ 30 mg/kg 造成輕微紅血球(RBC)量減少（RBC 數、血紅素及／或血容比）及 100 mg/kg 造成天門冬胺酸轉胺酶 (AST) 輕微上升。RBC 量改變在 trastuzumab-(MMAD)_n 較為明顯，且與骨髓中紅血球系細胞減少有關。其他值得注意之 trastuzumab-(MMAD)_n 於 100 mg/kg 之相關性臨床病理學改變包括血小板數中度減少及 ALT、AST、ALP 及總膽紅素輕微增加。

hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]-[5PEG-MMAD] 及 trastuzumab-[5PEG-MMAD]之顯微鏡檢結果整體來說類似，包括肺泡組織細胞增生症／肺部發炎、肝臟小膽管退化及骨髓碎片體（含細胞碎片）巨噬細胞增加。一些組織中的有絲分裂增加及角膜單細胞壞死被認為是微管蛋白抑制之藥物媒介效應，導致有絲分裂停止及細胞凋亡。相反地，trastuzumab-(MMAD)_n 投予與較為顯著之顯微組織改變有關，包括腎臟腎小管退化／壞死及腎小球病變；肝臟單細胞壞死、膽管退化及增生和小葉中心壞死／纖維化；肺泡

組織細胞增生症／肺部發炎；骨髓碎片體巨噬細胞增加、造血細胞退化／數量減少及骨質溶解；脾臟邊緣區細胞減少。特別注意的是，肝臟小葉中心纖維化伴隨正常小葉結構受損和顯示早期、更廣泛之治療相關性肝細胞受損之可修復之改變一致。此外，藥物媒介增加之有絲分裂及／或單細胞壞死在許多組織中發現。

簡言之，hTrast-[CL κ -D⁷⁷A]-[5PEG-MMAD]及trastuzumab-[5PEG-MMAD]的所有劑量皆耐受良好（10、30 及 100 mg/kg），顯示整理類似之毒性資料。Trastuzumab-(MMAD)_n 投予導致 100 mg/kg 組中之提早死亡，且與顯著標靶器官毒性有關，特別是肝、腎、肺及骨髓。

實施例 39 CL κ 及 CL λ 之模型構建

圖 10A 繪示免疫球蛋白之輕鏈恆定結構域折疊，其包含緊密靠近之 3 股 β 摺板與 4 股 β 摺板。該摺疊係藉由各 β 摺板之 β 股之間的氫鍵、內部相對 β 摺板之殘基之間的疏水性鍵結以及 β 摺板之間的雙硫鍵穩定。該 3 股 β 摺板包含 β 股 C、F 及 G，4 股 β 摺板具有 β 股 A、B、E 及 D。字母 A 至 G 表示沿著該 Ig 摺疊之胺基酸序列的該等 β 股之依序位置。連接各 β 股與其後之 β 股的是胺基酸連接鏈，其可能包含或不含轉彎(A/B)或 α 螺旋(E/F)（圖 10B）。

圖 8B 沿著小鼠 CL κ 、人 CL κ 及人 CL λ 之一級序列

繪示二級結構。在 CL κ 及 CL λ 之 β 股 E 及 F 之間的 EF 連接鏈具有相同的二級結構，其係由 α 螺旋區的 5 至 6 個殘基 (CL κ -K⁷⁵-K⁸⁰ 及 CL λ -P⁷⁶-S⁸¹) 組成，然後為 2 至 3 個胺基酸轉彎 (CL κ -H⁸¹-K⁸² 及 CL λ -H⁸²-S⁸⁴) (圖 8B 及 10)。CD 連接鏈將結構相等之天冬胺酸 (CL κ -D⁵³, CL λ -D⁴⁵) 的側鏈帶靠近 EF 鏈 (大約 3.5 Å)，使 CL κ -D⁵³ 得以與 CL κ -H⁸¹ 之咪唑環交互作用。

CL λ 之模型構建及與 CL κ 之比較顯示，CL λ -D⁴⁵ 與 CL λ -H⁸² 之咪唑環以相同方式合作，將 CL λ -S⁸¹ 突變成 CL λ -K⁸¹ 重建類似於在 CL κ 上之局部環境，因此允許與 CL λ 之方向性共軛。

因此，本發明亦提供包含下列突變之一者之 CL λ 結構域：CL λ -S⁸¹K 及 CL λ -K⁸⁰x/S⁸¹K，其中 x 係除了 P、K、R 或 H 以外之任何胺基酸，其中編號係根據 SEQ ID NO:93。在一些態樣中，本發明提供包含 K⁸¹ 或 x⁸⁰/K⁸¹ 之新穎 CL λ 結構域，其中 x 係 G、A、I、L、V、S、T、M、N、Q、F、Y、W、D 或 E 之一者。在一些態樣中，本發明亦提供包含選自 SEQ ID NO:94 及 SEQ ID NO:95 之序列的 CL λ 結構域。

模型構建亦顯示 CL λ -E⁷⁷ 可用於和 CL λ -K⁸⁰ 或 CL λ -K⁸¹ 形成鹽橋，其方式與 CL κ -D⁷⁷ 和 CL κ -K⁸⁰ 形成鹽橋之方式相同。因此，使 CL λ -E⁷⁷ 突變成 R、L、S、G、Q、P、N、V、I、T 及 M 之任一者可能有助於在 CL λ -K⁸⁰ CL λ 當 S⁸¹ Δ (即刪除 S⁸¹) 或 CL λ -K⁸¹ 之方向性共軛。因此，

本發明亦提供包含選自 SEQ ID NO:96及 SEQ ID NO:97之序列的 CL κ 結構域。

實施例 40 CL κ -K⁸⁰ 共軛機轉之模型構建 結構及序列說明

2.12.1.fx及 h38C2-[CL κ -D⁷⁷A]之 Fab結構域的結晶結構被用於構建 CL κ -K⁸⁰對鹵苯酚（如 PFP）／酯媒介性共軛之反應專一性的模型。由多種不同抗體的共軛經驗以及早期模型構建分析得知，模型構建僅需集中於 CL κ ，因為抗體之其他部分似乎對共軛機轉展現非常少（若有的話）之影響。

計算分析

電腦計算之目的係釐清 CL κ -K⁸⁰ 與使該位點優先傾向 PFP-酯共軛反應之交互作用殘基的關鍵屬性。自結晶結構選擇 CL κ 及 CL κ -D⁷⁷A 之 3-D 座標之後（根據包含該些已被識別為對方向性共軛為重要之殘基的座標），該等座標係經標準計算程序處理，如蛋白質製備、連接氫原子及力場參數分配。

氫原子根據該計算之 pKa 值及 pI（蛋白質游離電位）被分配至個別 3D CL κ 結構域上之所有胺基酸原子。pKa 係一給定之可滴定胺基酸於中性 pH（氫濃度之負對數）下質子化狀態之值，該值考慮到蛋白質鏈中胺基酸之影響 (*Spassov; A fast and accurate computational approach*

to protein ionization. *Protein Science* 2008, 17, 1955-1970)。這些計算之結果係顯示於表 64。

可滴定之殘基	計算 pKa	標準 pKa
CLκ-D ¹⁴	3.315	3.65
CLκ-D ⁴³	3.324	3.65
CLκ-D ⁵⁹	3.667	3.65
CLκ-D ⁶²	4.411	3.65
CLκ-D ⁷⁷	3.307	3.65
CLκ-E ¹⁵	3.93	4.25
CLκ-E ³⁵	3.906	4.25
CLκ-E ⁵³	4.604	4.25
CLκ-E ⁵⁷	4.284	4.25
CLκ-E ⁷⁹	3.636	4.25
CLκ-E ⁸⁹	4.244	4.25
CLκ-Y ³²	10.276	10.07
CLκ-Y ⁶⁵	11.847	10.07
CLκ-Y ⁷⁸	11.844	10.07
CLκ-Y ⁸⁴	14	10.07
CLκ-H ⁸¹	7.22	6.0
CLκ-H ⁹⁰	6.126	6.0
CLκ-K ¹⁸	11.057	10.53
CLκ-K ³⁷	10.761	10.53
CLκ-K ⁴⁰	10.505	10.53
CLκ-K ⁶¹	10.852	10.53
CLκ-K ⁷⁵	10.952	10.53
CLκ-K ⁸⁰	11.119	10.53
CLκ-K ⁸²	10.451	10.53
CLκ-K ⁹⁹	10.706	10.53
CLκ-R ³⁴	13.428	12.48
CLκ-R ¹⁰³	14	12.48

表 64 CLκ 中之胺基酸殘基的 pKa 值

氫原子係根據原子價數被添加至所有可滴定之胺基酸及其餘胺基酸之 pKa 值。這些計算顯示 CLκ-H⁸¹ 在 pH 7.0-7.4 (生理 pH) 未質子化。此觀察與假設之催化反應機轉一致，其中 CLκ-H⁸¹ 作為親核催化劑。通常認為，當 pH 下降至約 pH 6.5-7.0 時共軛會隨之降低，因為 CLκ-H⁸¹ 將被質子化。當 pH 上升至約 7.4，可預期較高之整體共軛量，

因爲其他殘基（特別是離胺酸）變得更具反應性而導致整體共軛反應，因此我們可預期方向效應將隨pH上升而增加喪失。此與在實施例4表4所示之pH試驗觀察到的結果相關。

最小化

CHARMm [Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics]是一種能量最小化技術，此技術用於使 3-D 結構達成平衡位置，並找出彼之原子結構之最佳幾何位置。CHARMm 被用於進行 1000 步最陡下降最小化之 SMART Minimizer 的第一步，均方根梯度耐受爲 3 [Kcal/(mol*Å)]，之後以 0.01 之均方根梯度之共軛梯度法最小化。在能量改變方面，3[Kcal/(mol*Å)]之耐受性被應用於最小化週期內之平均梯度。最陡下降法使分子靠至最近距離，共軛梯度法改善最後獲得之構型。使用 Momany Rone 電荷（如 *Momany & Rone; Validation of the general purpose QUANTA 3.2/CHARMm force field. Comp.Chem. 1992, 13, 888-900* 中所述）。CL κ 之最小化結構與非最小化結構比較有 1Å 之差異。

CL κ 結構域與 PFP-PEG2 之間的複合物

在 PFP 酯與 CL κ 及 CL κ -D⁷⁷A 結構域之間的個別複合物係於電腦上建造以更加了解各自之交互作用。利用 Accelrys 程序 *Define and Edit Binding Site* (Discovery

Studio software version DS3.5)進行 3D CL κ 結構域之結構分析顯示可被稱為「結合口袋」之區域，位於 CD 及 EF 連接鏈之間且在 CL κ -K⁸⁰ 以下，如圖 11 所示。此口袋係由位於 CL κ -K⁷⁵-E⁷⁹（在 EF 連接鏈上之 EF α 螺旋）、CL κ -K⁸⁰-K⁸²（在 EF 連接鏈上之 EF 圈環）及 CL κ -V⁴²（在 CD 連接鏈上之 CD 圈環）之胺基酸形成，以得到催化反應所需之形狀及靜電特性。

為了要測量口袋大小，在前述最小化之 CL κ 結構使用 *Define and Edit Binding Site* 程序。此程序需要定義 CL κ 結構域為受體，以在其上使用空間填滿方法來計算孔穴大小及評估其與特定大小之分子（如 PFP）結合之適合性。受體之結合位點可以許多方式表現，例如球形或在此球形周圍之殘基表列。為了定義結合位點，首先將該受體映射至網格。在該受體原子之給定距離內之網格點被標示為被該受體佔據，因此不適合作為配體原子之位置。有二種方法可識別結合位點。第一種使用「橡皮擦」演算法以根據該受體之形狀識別位點。第二種使用被已知配體佔據之體積，該配體已經位於活性位點 (*Venkatachalam et al Fit: a novel method for the shape-directed rapid docking of ligands to protein active sites. J. Mol. Graph. Model 2003, 21, 289-307*)。

執行程序之後，結合位點被識別為一組位於包含該考慮分子之網格上之點。此定義允許測量該結合位點之大小及形狀，以符合作為結合位點之資格。將 PFP-PEG2 手動

嵌合至周圍有經實驗識別為具有催化反應重要性之胺基酸圍繞之位點。這些胺基酸係 $CL\kappa-K^{80}$ 、 $CL\kappa-H^{81}$ 、 $CL\kappa-D^{43}$ 及其他距離 $CL\kappa-K^{80}$ 10Å 內之胺基酸（顯示於表 54）。

在各 $CL\kappa$ 結構域及 PFP 酯之間的初步複合物係利用 QM/MM 雜化法最小化，應用 $CL\kappa$ 結構域之 CHARMM 力場及 PFP 酯之 QM 計算。該 PFP 酯在放置前先利用第一 CHARMM，然後利用 QM/MM 方法最小化，在 QM/MM 方法中，該 PFP 酯被當作 QM 系統處理。該結構係利用上述之 CHARMM 最小化程序最小化。

在複合物之最小化方面，使用 QM/MM 雜化程序，其中量子力學(QM)計算產生有關當與 WT 或經突變之蛋白質交互作用時電子密度改變之資訊，讓我們得知周圍環境對於 PFP 酯電子密度之影響以及彼對共軛反應之易感性。QM/MM 程序係一雜化方法，其中分子系統被分成二區：第一區是中間區域 PFP 酯，此區由 QM 計算處理，第二區是外部區域 $CL\kappa$ 結構域，其係由分子力學(MM)方法處理。

QM 處理產生較高程度之理論，相較於傳統力場技術能模型構建額外現象，舉例來說，化學反應發生之處或極化效應在何處扮演重要角色。其餘大部分之結構利用力場 $CL\kappa$ 描述。該二區被允許交互作用之方式以及總 QM/MM 能量被如何評估決定所採用之特定 QM/MM 程序。此方法中之能量計算係由三個基本部分組成：PFP 酯之 QM 能量

(E_{QM})、CD-kappa (E_{MM})及這二個系統之間的交互作用能量 (E_{QMMM})。使用公式 $E_{tot} = E_{QM} + E_{MM} + E_{QM/MM}$ 。

就 QM 區之電子密度與力場點電荷之間的庫倫交互作用而言，此應用中之 QM/MM 方法總是採用電子埋入法。這表示力場原子之部分電荷進入 QM 計算以作為外部電位，藉以相對於真空中之 QM 計算，極化 QM 電子密度，以產生在 QM 密度與點電荷之間的靜電交互作用能量。和 QM/MM 方法中靜電交互作用之處理不同的是，凡得瓦 (van der Waals)交互作用完全以古典力學處理。這表示必須在模擬中決定所有原子之適當力場參數。凡得瓦 QM/MM 交互作用能量（及力）是 CHARMM 模擬伺服器能量之一部分，被列為輸出檔案中之分開用語。

計算

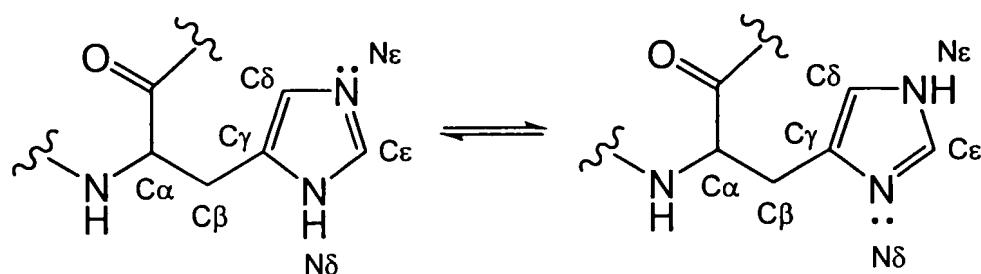
自共軛期間及共軛之後的試管內實驗觀察之總效應可藉由電腦計算技術建構模型，利用逐步近似描述該現象為：

1. PFP 結合口袋大小 - PFP 酯之結合及方向。
2. 蛋白質穩定性 - 特別是 PFP 結合口袋之穩定性。
3. CL κ -H⁸¹ 之咪唑環的互變異構化。
4. 方向性 PFP 置放。
5. PFP 酯與 CL κ 之間的初步交互作用。
6. 催化性胺基酸各者之反應性。

模型構建結果

識別 CL κ 結構域中之結合口袋允許模型構建及嵌合置放 PFP 酯。在 PFP 酯被模型建構為嵌合至個別 CL κ 結合位點之後，該複合物之 3-D 結構利用雜化法 QM/MM 最小化。在此方法中，PFP 酯被定義為 QM 系統，CL κ 結構域則藉由 MM 方法處理。在最小化該複合物之後，CL κ 與 PFP 酯之間的分子間交互作用網路被揭示。此網路係由分子間氫鍵、疏水性交互作用與 π -電子堆疊形成。所有這些力似乎皆與負責 PFP 酯至 CL κ -K⁸⁰ 之方向性放置及共軛之網路的形成有關。該複合物之最小化結構顯示 CL κ -H⁸¹ 係重要的催化性胺基酸。

已知組胺酸側鏈中之咪唑部分可在酶反應中作為催化性胺基酸，其中該咪唑作為親核基，在酶催化過渡狀態期間形成醯基咪唑 [*J Phys Chem B. 2011 Oct 20;115(41):11895-901.Epub 2011 Sep 23*]。也知的是，組胺酸之咪唑環可經互變異構化，端賴是 N δ 或 N ϵ 原子與 H 鍵結：

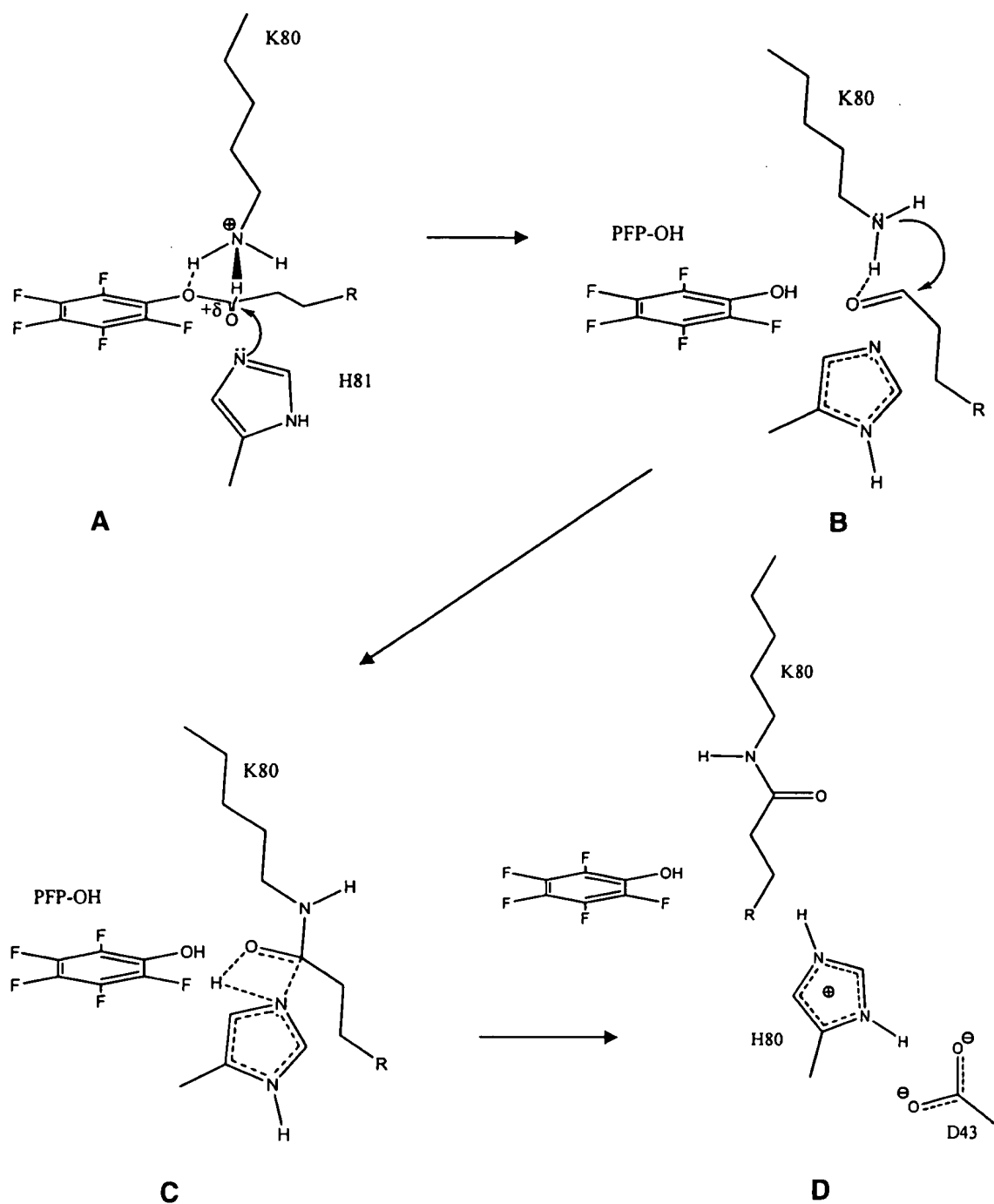


圖示 I 互變異構物形式 N δ

互變異構物形式 N ϵ

CL κ -H⁸¹ 於 PFP 結合口袋中之空間位置指向需要 N δ 互變異構形式之咪唑環 CL κ -H⁸¹ 以親核攻擊 PFP 酯

之羰基碳。其亦顯示 $N\epsilon$ 上之孤對電子必須與 PFP 酯基之羰基碳在同一平面上。此在 $CL\kappa-H^{81}$ 之咪唑環係呈 $N\delta$ 互變異構形式時是可能的（見圖示 II）。該互變異構平衡可由鄰近氫接受體胺基酸之氫鍵交互作用控制。有二個天冬胺酸殘基 $CL\kappa-D^{77}$ 及 $CL\kappa-D^{43}$ 鄰近 $CL\kappa-H^{81}$ ，二者似乎皆控制 $CL\kappa-H^{81}$ 咪唑環之互變異構狀態。



圖示 II A：初步分子間複合物係於 $\text{CL } \kappa\text{-K}^{80}$ 、PFP 酯及 $\text{CL } \kappa\text{-H}^{81}$ 之間形成。B-C：具有醯基咪唑及 PFP 醇之過渡狀態。C：共軛反應之產物。

圖 12 繪示 $\text{CL } \kappa\text{-H}^{81}$ 、 $\text{CL } \kappa\text{-D}^{43}$ 及 $\text{CL } \kappa\text{-D}^{77}$ 之 3D 配置，同時標示天冬胺酸之氧原子和咪唑環之氮原子之間的

距離。在 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{43}$ 與 $\text{CL}\kappa\text{-H}^{81}$ 之間的氫鍵結促進及穩定該催化活化性互變異構形式 $\text{N}\delta$ ，然而與 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}$ 形成氫鍵將促進催化不活化性形式之 $\text{CL}\kappa\text{-H}^{81}\text{N}\epsilon$ 。除了在 $\text{CL}\kappa\text{-H}^{81}\text{N}\delta$ 與 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{O}\delta$ （帶負電）和 $\text{CL}\kappa\text{-H}^{81}\text{N}\epsilon$ 與 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{O}\delta$ 之間形成的氫鍵以外， $\text{CL}\kappa\text{-H}^{81}\text{N}\delta$ 可與 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}$ 主鏈之羰基氧形成氫鍵。此最後的交互作用穩定該催化活化性構型 $\text{CL}\kappa\text{-K}^{81}\text{N}\delta$ ，使其能進行酶催化。從此處討論之突變分析及計算分析得知， $\text{CL}\kappa\text{-K}^{81}$ 反應性之理想構型關於與 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{43}$ 經由 $\text{N}\delta$ 之氫鍵結，因為此穩定能將氫 $\text{H}\epsilon$ 自 $\text{CL}\kappa\text{-K}^{80}\text{N}\epsilon$ 轉移之活化構型。因此另外二種 $\text{CL}\kappa\text{-K}^{81}$ 互變異構形式最有可能在催化反應中較不活化或失活。

模型構建 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{A}$ 突變之效應

如野生型模型中所示，在 $[\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{A}]$ 結構域中， $\text{CL}\kappa\text{-H}^{81}$ 與 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{43}$ 經由該咪唑 $\text{N}\delta$ 原子形成氫鍵，暴露出 $\text{N}\epsilon$ 處之電子對以親核攻擊 PFP-PEG2 分子之酯基的羰基碳（圖示 III）。圖 13A、13B 及 13C 繪示 $\text{CL}\kappa$ 及 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{A}$ 結構域模型之結晶結構比較，並顯示 $\text{CL}\kappa\text{-H}^{81}$ 於 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{A}$ 突變物中之空間位置位移。

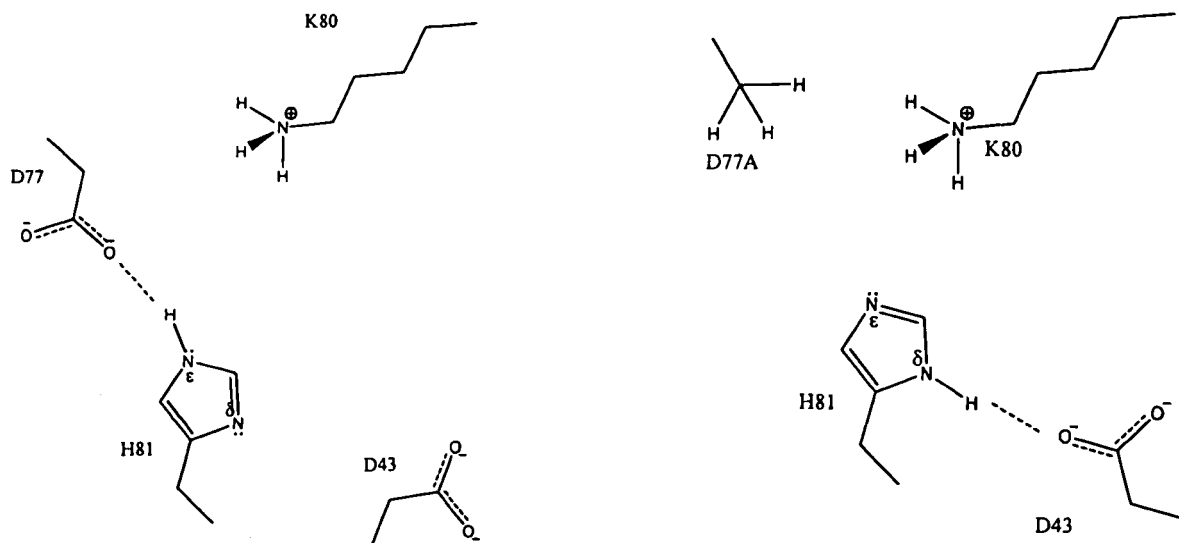


圖 III 本圖顯示 CL κ -D⁷⁷A 突變對 CL κ -H⁸¹ 提供 N ϵ 孤電子對之能力的影響。

CL κ -D⁷⁷ 之突變

模型構建顯示 CL κ -D⁷⁷ 突變將對 CL κ -K⁸⁰ 之共軛率造成顯著影響。對與 PFP 複合之 CL κ 結構域進行一系列 QM/MM 計算，其中 CL κ -D⁷⁷ 係經突變成所有其他天然胺基酸（CL κ -D⁷⁷C 除外）。

模型構建及實驗分析顯示 CL κ -D⁷⁷ 可能與 PFP 結合且改變參予催化反應之 PFP 部分之酯原子上不利之電子密度。CL κ -D⁷⁷A 突變接著將藉由允許該 PFP 酯之反應性原子上之電子密度更佳地分布以改善共軛率。

分析在 CL κ -D⁷⁷ 之突變物上進行的計算結果顯示，表現最好的突變物（就共軛效率而言）可能是該些無法與 PFP 形成氫鍵之小型疏水性胺基酸。因此模型構建資料顯示突變 CL κ -D⁷⁷G、CL κ -D⁷⁷P、CL κ -D⁷⁷M、CL κ -D⁷⁷L、CL κ -D⁷⁷I、CL κ -D⁷⁷A 及 CL κ -D⁷⁷V 將改善方向

性共軛。如實施例 26 所示，此藉由實驗測試證實。所有突變成疏水性胺基酸之 $\text{CL}\kappa^{77}$ 突變物對於 $\text{CL}\kappa\text{-H}^{81}$ 之互變異構平衡沒有影響，因此 $\text{CL}\kappa\text{-H}^{81}$ 保持 $\text{N}\delta$ 互變異構形式，進而改善共軛效率。

模型構建亦指出，根據 QM/MM 計算，大部分親水性胺基酸相較於 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}$ 可能導致較高之蛋白質穩定性；並特別指出突變 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{S}$ 及 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{T}$ ，還有 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{Q}$ 、 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{N}$ 、 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{H}$ 及 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{R}$ 可能改善方向性共軛。如實施例 26 所示，此亦藉由實驗測試證實。

除了交互作用能量及修飾電荷分布以外，最強之交互作用及較低之共軛率見於 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{F}$ 及 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{Y}$ 突變。該模型顯示，這些芳香族胺基酸之側鏈直接插入結合口袋，可能與 PFP 基發生 π -電子堆疊交互作用，因此改變 PFP 基之方向性置放。此外，芳香性胺基酸可立體阻礙 PFP，防止類似野生型蛋白質中可能的結合模式，因此不良地影響方向性置放 PFP 基及導致降低之共軛率。有趣的是，該模型指出 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{W}$ 之側鏈佔據和 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{F}$ 及 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{Y}$ 之芳香性側鏈稍微不同之空間位置，即 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{W}$ 吡啶基位於結合口袋之外，因此預期不會干擾鹵苯基酯之空間接近結合口袋。此模型也預測保守性突變，例如 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{E}$ 可能具有對 $\text{CL}\kappa\text{-H}^{81}$ 之互變異構形式類似之效應，但是因為側鏈較大，在結合口袋中產生額外之立體干擾。突變成 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{C}$ 或 $\text{CL}\kappa\text{-D}^{77}\text{K}$ 也被預測會干擾該位點之反應性。

CL κ -D⁷⁷ 傾向氫原子存在咪唑環之 N ϵ 上，然而 CL κ -D⁷⁷A 傾向維持氫原子在位置 N δ 處。胺基酸在此位點之空間分布顯示 CL κ -H⁸¹ 於催化反應中之重要功能 N δ 互變異構形式使得 N ϵ 得以親核攻擊酯基之羰基碳，進一步促進方向性共軛。

實施例 41 基於 CL κ 及 CL κ -D⁷⁷A 之模型的預測模型構建

分析突變對於蛋白質穩定性及對於與 PFP 酯之交互作用強度的影響以識別 CL κ 最重要及最具反應性之突變物。要進行此計算實驗，選擇在 CL κ -K⁸⁰ 之 C α 碳 10Å 距離內之重要胺基酸並加以分析（CL κ -K⁸⁰ 及 CL κ -H⁸¹ 除外，因為對這些殘基為各有獨特要求）。

對於許多或大部份經模型構建以用於 PFP 與 CL κ 或 CL κ -D⁷⁷A 共軛之突變而言，將了解在某些應用中，適當的是取代或保留會減少 PFP 於 CL κ 或 CL κ -D⁷⁷A 共軛之殘基，因為可能想要減少或增加口袋大小；像是當使用較大或較小之鹵苯酚作為 Z1 基，或是當特定免疫球蛋白結構域之精準幾何學似乎值得該特性。

CL κ -K⁷⁵

藉由 QM/MM 計算，此殘基似乎對天然或 CL κ -D⁷⁷A 突變物中之 CL κ -K⁸⁰ 的共軛反應性不具任何直接影響。

CL κ -A⁷⁶

CL κ -A⁷⁶位於 α 螺旋之起點，且在包含 CL κ -D⁷⁷之氫鍵結羧基與 CL κ -S⁷⁴之羥基的平面之上。此位置允許具有較大側鏈之胺基酸與 CL κ -D⁷⁷交互作用，它們可能對共軛反應有正面影響，特別是該些具有親水性基能形成氫鍵者。大部分在此殘基之胺基酸取代被預期對共軛不具影響，特別是 CL κ -S⁷⁴A、CL κ -S⁷⁴D、CL κ -S⁷⁴E、CL κ -S⁷⁴I、CL κ -S⁷⁴L、CL κ -S⁷⁴M、CL κ -S⁷⁴F、CL κ -S⁷⁴W及 CL κ -S⁷⁴V。其他可提供氫鍵結機會之殘基被預期可增進共軛，包括 CL κ -S⁷⁴R、CL κ -S⁷⁴N、CL κ -S⁷⁴Q、CL κ -S⁷⁴H及 CL κ -S⁷⁴K，影響較少者為 CL κ -S⁷⁴S、CL κ -S⁷⁴T及 CL κ -S⁷⁴Y。雖然擾亂 α 螺旋之殘基可能對方向性共軛至 CL κ -K⁸⁰有某種程度之負面影響（如 CL κ -S⁷⁴G及 CL κ -S⁷⁴P），但方向性共軛不可能被廢除，只會被減少。導入半胱胺酸將可能在表現時帶來形成聚集體之風險。

CL κ -Y⁷⁸

CL κ -Y⁷⁸係位於 α 螺旋上，其面對結合口袋之相反方向。CL κ -Y⁷⁸與周圍胺基酸有一些疏水性交互作用，並支持 CL κ 結構。因此，較小側鏈（Ala、Ser、Thr 及 Val）或該些會影響 α 螺旋之穩定性或形成的胺基酸（Gly、Pro）比較可能不良影響與 CL κ -K⁸⁰之共軛反應，但是不預期這些突變會直接干擾 CL κ -K⁸⁰的反應性，因此該等突變可能不一定會廢除方向性共軛。此外，CL κ -Y⁷⁸似乎

與 CL κ -R¹⁰³ 之側鏈交互作用，因此疏水性或帶負電側鏈將被預期有利於共軛以促進此交互作用（Asn、Asp、Gln、Glu、Phe 及 Trp）。其他側鏈不預期會影響共軛反應（Arg、His、Ile、Leu、Lys 及 Met）。

CL κ -E⁷⁹

模型構建顯示，CL κ -E⁷⁹ 之側鏈係指向該結合位點之相反方向。此外，CL κ -E⁷⁹ 似乎與 CL κ -K⁷⁵ 之側鏈形成鹽橋。根據模型構建，假設此位置之大部分胺基酸取代將不影響共軛反應（Asn、Asp、Gln、His、Met、Phe、Ser、Thr、Tyr 及 Trp）。小型親水性或帶電殘基可能有利於共軛反應（Ala、Arg、Ile、Leu、Lys 及 Val），而該些影響 α 螺旋之穩定性或形成之殘基（Gly、Pro）可能不良地影響與 CL κ -K⁸⁰ 之共軛反應，但不一定會廢除方向性共軛。

CL κ -V⁸³

由實驗資料及 QM/MM 計算看來，此殘基似乎對 CL κ -K⁸⁰ 之共軛反應無直接影響。

	A ⁷⁶	D ⁷⁷	Y ⁷⁸	E ⁷⁹
G	0	+++	--	-
P	0	+++	--	-
A	野生型	++	-	+
V	0	+	-	+
L	0	++	0	+
I	0	++	0	+
M	0	+++	0	0
F	0	---	+	0
W	0	+	+	0
Y	+	---	野生型	0
T	+	+++	-	0
S	+	+++	-	0
N	++	++	+	0
Q	++	++	+	0
D	0	野生型	+	0
E	0	--	+	野生型
H	++	++	0	0
R	++	++	0	+
K	++	--	0	+

表 65 某些 CL κ 殘基突變對 CL κ -K⁸⁰ 方向性共軛之影響

其他模型構建

CL κ - V⁴²

CL κ - V⁴² 係位於 β 股 C 之末端及 CD 圈環之起點。仔細檢查結構，觀察到 CL κ - V⁴² 係位於 CL κ - H⁸¹ 之咪唑環之下方（圖 14 及 15）。爲了要測定 CL κ - H⁸¹ 與 CL κ -

V^{42} 之間的交互作用之性質，計算咪唑環之質心的 x 、 y 、 z 座標，然後測量該經計算之質心與 $CL\kappa - V^{42}$ 之氫原子 $H\delta$ 之間的距離。此 $2.9\text{\AA}$ 之距離顯示該咪唑環上之 π -電子與 $CL\kappa - V^{42}$ 之氫 $H\delta$ 的直接交互作用。此交互作用因此似乎強烈影響 $CL\kappa - H^{81}$ 於口袋中之理想位置，互變異構平衡移向 $N\delta$ 互變異構物。因此雖然非必要，但 $CL\kappa - V^{42}$ 之存在對於方向性共軛有正面影響。這些分析係經實驗資料證實，其中發現 $CL\kappa - V^{42}A$ 突變造成共軛率下降（表 54）。模型構建顯示 $CL\kappa - V^{42}I$ 可能能夠協助 $CL\kappa - H^{81}$ 咪唑環之置放以利於方向性共軛，雖然該稍微較大之側鏈會減少整體結合口袋大小。在許多情況中，此口袋大小之減少可能不會對方向性共軛之機械性有顯著影響。 $CL\kappa - V^{42}L$ 也可能能夠協助該 $CL\kappa - H^{81}$ 咪唑環之置放。

$CL\kappa - D^{43}$

$CL\kappa - D^{43}$ 係位於 CD 圈環。在天然 $CL\kappa$ 中， $CL\kappa - D^{43}$ 似乎與 $CL\kappa - H^{81}$ 及 $CL\kappa - K^{82}$ 之主鏈交互作用，導致蛋白質安定性。在 $CL\kappa$ 之結晶結構上並未識別到 $CL\kappa - H^{81}$ 之 $H\delta$ 與 $CL\kappa - D^{43}$ 之羧基之間的氫鍵。這可能表示 $CL\kappa - D^{43}$ 對於 $CL\kappa - H^{81}$ 之 $N\delta$ 催化活性形式的互變異構平衡僅展現極小影響。然而，實驗分析 2.12.1.fx-[$CL\kappa - D^{43}A$]突變物顯示，此殘基突變對於方向性共軛有顯著抑制效應。和整體模型一起考慮時，可能是因為 $CL\kappa - H^{81}$ 在催化活性及非活性形式之間交替，當其交替時在 $CL\kappa -$

D^{43} 與 $CL\kappa -D^{77}$ 之間形成氫鍵，而移除 $CL\kappa -D^{43}$ 殘基消除將 $CL\kappa -H^{81}$ 推向活性 $N\delta$ 互變異構物之一種力。

分析 $CL\kappa -D^{77}A$ 結晶結構顯示在氫 $N\delta$ 與 $CL\kappa -D^{43}$ 羧基之間有定義良好之氫鍵。這表示 $CL\kappa -D^{77}A$ 突變之最顯著的效應之一係穩定化 $CL\kappa -H^{81}$ 之催化有利性互變異構形式 $N\delta$ ，如圖 13 及 14 所示。最後， $CL\kappa -D^{43}$ 與 $CL\kappa -H^{81}$ 之近距離將使 $CL\kappa -D^{43}$ 能參與催化反應，以在假設性反應機轉（圖示 III）之最後步驟作為氫原子接受者。因此 $CL\kappa -D^{43}$ 在天然 $CL\kappa$ 及 $CL\kappa -D^{77}A$ 突變物中之角色似乎在於穩定 $CL\kappa -H^{81}$ 之催化活性 $N\delta$ 互變異構形式及參與催化反應以作為氫原子接受者。

模型構建之分析強烈建議 PFP 分子於天然 $CL\kappa$ 中之結合係由 $CL\kappa -H^{81}$ 之互變異構形式控制，因此此結合之親和性係由該互變異構平衡常數之狀態控制。 $N\delta$ 互變異構形式之存在允許在 $N\epsilon$ 上之孤電子對親核攻擊 PFP 之羰基（圖示 III）。

$CL\kappa -D^{43}$ 係藉由作為氫離子接受體參與催化反應（圖示 III）。 $CL\kappa -D^{43}$ 在電腦上突變成所有 19 種胺基酸，在最後系列的計算突變物中，WT 蛋白質（包含 $CL\kappa -D^{43}$ ）產生最高之與 $CL\kappa -PFP$ 酯複合物交互作用能量， $CL\kappa -D^{43}N$ 也被預測為具有類似鏈長度且能與 $CL\kappa -H^{81}$ $N\delta$ 形成氫鍵，因此有助於 $CL\kappa -H^{81}$ 之催化活性互變異構形式 $N\delta$ 。其他可能是可接受之取代的殘基係 $CL\kappa -D^{43}E$ 、 $CL\kappa -D^{43}Q$ 及 $CL\kappa -D^{43}S$ ，這些殘基能與 $CL\kappa -H^{81}$ 形成所

欲之氫鍵，但可能具有不是稍微太大就是太小之鏈長度，因此無法提供用於共軛 $CL\kappa$ 與 PFP 之理想大小，但可能比較適合用於最佳化非 $CL\kappa$ 免疫球蛋白結構域以與 PFP 方向性共軛，或最佳化 Ig 結構域以用於與不同的鹵苯基酯共軛。

$CL\kappa - N^{44}$

$CL\kappa - N^{44}$ 係位於 CD 圈環。彼之側鏈朝向外側、遠離 PFP 結合口袋之方向，似乎對共軛反應不具有任何作用或影響。QM/MM 計算預測極性胺基酸及該些帶有負電側鏈之胺基酸可能增進蛋白質穩定性，因為與 $CL\kappa - K^{41}$ （也位於口袋外）之假定交互作用。

$CL\kappa - L^{46}$

根據實驗資料以及我們 QM/MM 計算之結果， $CL\kappa - L^{46}A$ 突變對於共軛速率具有相對中性之影響。 $CL\kappa - L^{46}A$ 係位於 PFP 結合口袋之外，但因為彼之側鏈的大小，其可能有利於口袋形狀。因為位於口袋之外，所以也可以和位於口袋外之胺基酸交互作用。根據 QM/MM 計算，突變成大型親水性側鏈可能因為和 $CL\kappa - Q^{39}$ 交互作用及支持 PFP 口袋之形狀而增加蛋白質穩定性。

$CL\kappa - Q^{47}$

$CL\kappa - Q^{47}A$ 突變增進共軛速率。根據模型構建計算，

此突變可能藉由增加 PFP 結合位點之大小展現效應，因此正面影響複合物形成及蛋白質穩定性。根據 QM/MM 計算，具有較大側鏈之胺基酸可能會稍微負面影響共軛。因此，突變成 CL κ -Q⁴⁷A、CL κ -Q⁴⁷G、CL κ -Q⁴⁷V、CL κ -Q⁴⁷I、CL κ -Q⁴⁷L、CL κ -Q⁴⁷T、CL κ -Q⁴⁷S、CL κ -Q⁴⁷N、CL κ -Q⁴⁷D、CL κ -Q⁴⁷H、CL κ -Q⁴⁷P 或 CL κ -Q⁴⁷E 可能具有益處或中性；然而突變成 CL κ -Q⁴⁷W、CL κ -Q⁴⁷F、CL κ -Q⁴⁷Y 或 CL κ -Q⁴⁷K 可能對 PFP 共軛至 CL κ 結構域有些許負面影響。如前所述，將了解在某些應用中，可能希望減少口袋大小，像是當使用較小鹵苯酚作為 Z1 基，或是當特定免疫球蛋白結構域之精準幾何學似乎值得該特性。

CL κ -S⁴⁸

根據實驗資料，CL κ -S⁴⁸A 突變增進共軛率：模型構建指出此現象最有可能的原因是因為口袋靜電特性改變。因此在此位置之疏水性胺基酸將可能對方向性共軛具有正面影響。因此，下列突變可能特別較佳：CL κ -S⁴⁸A、CL κ -S⁴⁸G、CL κ -S⁴⁸V、CL κ -S⁴⁸I、CL κ -S⁴⁸L、CL κ -S⁴⁸P 及 CL κ -S⁴⁸M。其他突變也可能可被耐受。

實施例 42 CL κ -D⁷⁷A 之雙重及三重突變

抗體 2.12.1.fx 被用於測試 CL κ 區域進一步突變之影響。如前所述，殘基編號係根據彼等在 CL κ 內之位置

(例如 SEQ ID NO:6)。在 2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A]抗體上之 CL κ -D⁴³ 及 CL κ -H⁸¹ 各自突變成丙胺酸以了解共軛機轉。突變物係根據 QuickChange 定點突變形成套組 (Stratagene) 中之說明在 2.12.1.fx 輕鏈上產製。抗體 2.12.1.fx、2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A] (包含 SEQ ID NO:37 之 CL κ)、2.12.1.fx-[CL κ -D⁴³A] (包含 SEQ ID NO:15 之 CL κ)、2.12.1.fx、2.12.1.fx-[CL κ -D⁴³A/D⁷⁷A] (包含 SEQ ID NO:127 之 CL κ)、2.12.1.fx-[CL κ -D⁷⁷A/H⁸¹A] (包含 SEQ ID NO:128 之 CL κ) 及 2.12.1.fx-[CL κ -D⁴³A/D⁷⁷A/H⁸¹A] (包含 SEQ ID NO:129 之 CL κ) 被暫時表現於 HEK 293 細胞，利用蛋白質 A 親和性管柱純化。該經純化之單株抗體可利用 MS 加以特徵化。

該等經表現之抗體係經緩衝液交換至 20mM 醋酸鈉、200mM 海藻糖 pH 5.5，濃度為 20mg/ml。該等抗體溶液接著被添加 60mM 磷酸鈉 pH 7.7。[PEG₅-K¹¹-SEQ:27] (ABP) 係利用 50%丙二醇重懸，以 4.3:1 莫耳比與蛋白質混合，允許在室溫下反應隔夜。所有樣本係經稀釋至 2mg/ml，藉由大小排除層析-質譜分析 (SEC-MS) 分析完整之共軛蛋白質，以測定該蛋白質之共軛形式的數目及定量。此技術測量各種蛋白質形式之分子量；多重 ABP 共軛部位被視為藉由 ABP 之質量差異所分開之不同信號。多重 ABP 共軛物種之相對定量係由測量該信號強度進行。共軛加成百分比之結果顯示於表 66。

	CLκ SEQ ID	%CA					
		0	1	2	3	4	平均 CA
2.12.1.fx	6	1	15	53	26	5	2.2
D ⁷⁷ A	37	2	3	56	32	7	2.39
D ⁴³ A	15	17	38	31	14	0	1.41
D ⁴³ A/D ⁷⁷ A	127	4	21	46	21	7	2.06
D ⁷⁷ A/H ⁸¹ A	128	33	38	20	10	0	1.07
D ⁴³ A/D ⁷⁷ A/H ⁸¹ A	129	25	40	28	7	0	1.18

表 66 2.12.1.fx-[CLκ-突變物] 與 ABP 之完整共軛分析

ABP 共軛之程度係在 2.12.1.fx 及 2.12.1.fx-[CLκ 突變物]之輕鏈及重鏈上分開檢測。MAC 係經變性，並利用鹽酸胍及二硫蘇糖醇還原雙硫鍵。該形成之游離輕鏈及重鏈係利用 LCMS 分析以測定各自之共軛特性（表 67）。

	CLκ SEQ ID	輕鏈 %CA			平均 CA- 輕鏈	重鏈 %CA		平均 CA- 重鏈	1LC WT%
		0	1	2		0	1		
2.12.1.fx	6	23	69	8	0.85	86	14	0.14	
D ⁷⁷ A	37	1	92	7	1.06	97	3	0.03	133
D ⁴³ A	15	68	30	1	0.33	79	21	0.21	43
D ⁴³ A/D ⁷⁷ A	127	24	64	12	0.88	90	10	0.1	93
D ⁷⁷ A/H ⁸¹ A	128	72	28	0	0.28	85	15	0.15	41
D ⁴³ A/D ⁷⁷ A/H ⁸¹ A	129	76	20	4	0.28	87	13	0.13	29

表 67 2.12.1.fx-[CLκ -突變物]與 ABP 之經還原之重鏈及輕鏈共軛分析。相較於個別 WT 之 1-LC%顯示於右欄，如表 67 所示。

這些結果係與 His 互變異構物假設一致。在 CLκ - D⁷⁷A 突變物中，CLκ -D⁴³ 穩定 CLκ -H⁸¹ 之催化活性互變

異構物，因此允許 $\text{CL } \kappa\text{-K}^{80}$ 更接受 PFP 酯且更具反應性。相反地，在 $\text{CL } \kappa\text{-D}^{43}\text{A}$ 突變物中， $\text{CL } \kappa\text{-D}^{77}$ 穩定 $\text{CL } \kappa\text{-H}^{81}$ 之不活化互變異構物，因此導致減少在 $\text{CL } \kappa\text{-K}^{80}$ 觀察到之方向性共軛。在雙重突變 $\text{CL } \kappa\text{-D}^{43}\text{A/D}^{77}\text{A}$ 中， $\text{CL } \kappa\text{-H}^{81}$ 與 $\text{CL } \kappa\text{-D}^{43}$ 或 $\text{CL } \kappa\text{-D}^{77}$ 之間並無交互作用，因此該雙重突變比較像野生型 $\text{CL } \kappa$ 。

實施例 43 兔 $\text{CL } \kappa$ 分析

兔抗體輕鏈 κ 區 ($\text{rCL } \kappa$) 和其他免疫球蛋白具有相同的 3D 結構。 $\text{rCL } \kappa$ 具有位置 151 之 Asp (卡巴編號)、位置 188 之 Ser 及位置 189 之 His ($\text{rCL } \kappa\text{-D}^{43}$ 、 $\text{rCL } \kappa\text{-S}^{80}$ 、 $\text{rCL } \kappa\text{-H}^{81}$)。假設 $\text{rCL } \kappa\text{-S}^{80}\text{K}$ 突變可能產生供 PFP 方向性共軛之反應位點。要驗證此一假設，二種曲妥珠單抗 (trastuzumab) 兔嵌合抗體係經建構。mAb 「rTrast」 (兔 trastuzumab) 包含與 $\text{rCL } \kappa$ 及兔重鏈恆定區 (rCH) (分別為 SEQ ID NO:130 及 131) 融合之 trastuzumab 的 VL 及 VH 結構域 (分別為 SEQ ID NO:75 及 72)，以產製全長 rTrast-LC (SEQ ID NO:132) 及 rTrast-HC (SEQ ID NO:133)。

$\text{rTrast-}[\text{rCL } \kappa\text{-S}^{80}\text{K}]$ 包含與 $\text{rCL } \kappa\text{-S}^{80}\text{K}$ (SEQ ID NO:134) 及兔重鏈恆定區 (rCH) (SEQ ID NO:131) 融合之 trastuzumab 的 VL 及 VH 結構域 (分別為 SEQ ID NO:75 及 72)，以產製全長 $\text{rTrast-LC-}[\text{rCL } \kappa\text{-S}^{80}\text{K}]$ (SEQ ID NO:135) 及 rTrast-HC (SEQ ID NO:133)。

兔 IgG 重鏈及 κ 1 輕鏈係利用 PCR 分別自質體 pFUSE-CHIg-rG 及 pFUSE2ss-CLIg-rk1 (Invivogen) 產製，其具有和 trastuzumab 可變結構域及載體重疊之末端。Trastuzumab VH 及 VL 係利用 PCR 自合成性基因產製，其具有和載體及兔恆定結構域重疊之末端。PCR 產物係與經 *Bgl*III 及 *Nhe*I 切割之 pCEP4 修飾載體 (Invitrogen) 混合，遵照 Quick PCR 選殖套組 (BPS Bioscience) 所述之程序進行。插入 DNA 係經 DNA 定序證實。rCL κ -S⁸⁰K 突變係根據 Quick PCR 選殖套組 (BPS Bioscience) 所述之程序產製。突變係藉由寡核苷酸引子導入，然後被選殖至經 *Bgl*III 及 *Nhe*I 切割之 pCEP4 修飾載體 (Invitrogen)。插入 DNA 係經 DNA 定序證實。

該嵌合性單株抗體被暫時表現於 HEK 293 細胞，利用蛋白質 A 親和性管柱純化。該經純化之單株抗體可利用 MS 加以特徵化。該等抗體之各者係經緩衝液交換至 20mM 醋酸鈉、200mM 海藻糖 pH 5.5，濃度 20mg/ml，然後添加 60mM 磷酸鈉 pH 7.7。[PEG₅-K¹¹-SEQ:27] (ABP) 係利用 50% 丙二醇重懸，以 4.3:1 莫耳比與蛋白質混合，允許在室溫下反應隔夜。所有樣本係經稀釋至 2mg/ml，藉由大小排除層析-質譜分析 (SEC-MS) 分析完整之共軛蛋白質，以測定該蛋白質之共軛形式的數目及定量。此技術測量各種蛋白質形式之分子量；多重 ABP 共軛部位被視為藉由 ABP 之質量差異所分開之不同信號。多重 ABP 共軛物種之相對定量係由測量該信號強度進行。

ABP 共軛之程度係在抗體之輕鏈上檢測。MAC 係經變性，並利用鹽酸胍及二硫蘇糖醇還原雙硫鍵。該形成之游離輕鏈及重鏈係利用 LCMS 分析以測定各自之共軛特性（表 68）。

	%CA				平均 CA	輕鏈 %CA			平均 CA- 輕鏈	1LC WT%
	0	1	2	3		0	1	2		
rTrast	58	24	19	0	0.61	56	38	6	0.5	
rTrast-[rCLκ-S ⁸⁰ K]	10	25	54	11	1.657	18	73	8	0.89	192

表 68 與 ABP 共軛之兔嵌合抗體的完整共軛及經還原之輕鏈分析

rCL κ -S⁸⁰K 突變顯著增加總共軛（0.61 至 1.657）及輕鏈上之 1CA（38%至 73%）。此結果顯示方向性共軛位點可在源自非人物種之 CL κ 鏈上產生，只要關鍵殘基 CL κ -K⁸⁰H⁸¹ 存在該免疫球蛋白上即可。相較於個別 WT 之 1-LC%顯示於右欄，如表 68 所示。

實施例 44 λ 鏈

如上實施例 10 所示，hCL λ 並不展現與 PFP 酯之方向性共軛。hCL λ 與 hCL κ 在 hCL κ -D⁴³ (CL λ -D⁴⁵)及 hCL κ -H⁸¹ (CL λ -H⁸²)享有序列一致性，在 hCL κ -K⁸⁰ 處則為絲胺酸(CL λ -S⁸¹)。假設 CL λ -S⁸¹K 突變能使 PFP 與 CL λ -S⁸¹K 殘基共軛。

比較 CL κ 與 CL λ 之結晶結構（圖 17 及 18），CL κ -V⁴² 係位於該假定 PFP 結合口袋之底部，然而在 CL λ 中之對應殘基係 CL λ -A⁴⁴。如上之討論，CL κ -V⁴²A

突變對於方向性共軛有負面影響，可能是因為 CL κ -V⁴² 穩定 CL κ -H⁸¹ 之咪唑環的方向之能力。模型構建顯示 CL λ -A⁴⁴V 突變應在 CL λ -H⁸² 上展現類似效應。

如在實施例 10 及實施例 15 至 17 中，單株抗人 IL22 抗體 (hIL22) 被用來作為包含 CL λ 之示範性抗體。hIL22 包含 SEQ ID NO:136 及 137 (分別為 hIL22-LC 及 hIL22-HC)，以及包含 SEQ ID NO:138 之輕鏈可變區 (hIL22-CL λ -VL)。

一些突變版本之 hIL22 係經產製，以評估各種 CL λ 突變對方向性共軛之影響。所有 hIL22 突變抗體皆包含 SEQ ID NO:137 (hIL22-HC) 及 SEQ ID NO:138 (hIL22-CL λ -VL)。

hIL22-[LKJ] 包含如實施例 15 所述之 λ / κ 交換，且包含 SEQ ID NO:61 之 CL。hIL22-[CL λ -S⁸¹K] 包含 CL λ -S⁸¹K 之單殘基交換，且包含 SEQ ID NO:140。hIL22-[CL λ -Q⁷⁸A /S⁸¹K] 包含圈環中之雙重突變，且包含 SEQ ID NO:141。hIL22-[CL λ -A⁴⁴V/S⁸¹K] 包含 CL λ -S⁸¹K 殘基交換，還有在「結合口袋」底部之 CL λ -A⁴⁴V 突變，且包含 SEQ ID NO:142。hIL22-[CL λ -A⁴⁴V/Q⁷⁸A/S⁸¹K] 包含二個圈環突變 CL λ -Q⁷⁸A 及 CL λ -S⁸¹K，以及「結合口袋」CL λ -A⁴⁴V 突變，且包含 SEQ ID NO:143。所有點突變係根據 QuickChange 定點突變形成套組 (Stratagene) 中之說明在 hIL22-LC 上產製。突變藉由寡核苷酸引子導入並以 DNA 定序證實。

hIL22-[CL λ - λ^{76-84} /145]包含插入之 SEQ ID NO:145 以取代 CL λ E-F 圈環，其係位於自 CL λ -P⁷⁶（包含在內）至 CL λ -S⁸³（包含在內）。SEQ ID NO:145 包含序列 KAAYEKHKV，其對應自[CL κ -D⁷⁷A]-K⁷⁵（包含在內）至 [CL κ -D⁷⁷A]-K⁸²（包含在內）之 [CL κ -D⁷⁷A] E-F 圈環（即介於 β 股 E 及 F）。

hIL22-[CL λ - λ^{76-84} / 145]係藉由重疊 PCR 產製。突變物藉由寡核苷酸引子導入。對 hIL22-LC 之 5'端具專一性之引子與編碼 SEQ ID NO:145 之反置引子配對，以及編碼 SEQ ID NO:145 之前置引子與對 IL22-LC 之 3'端具專一性之反置引子配對以用於 PCR 擴增帶有 CL κ E-F 圈環之 DNA 片段，使用 IL22-LC 作為模板。這 2 種 PCR 產物係經混合以作為模板；在重疊 PCR 反應中使用 IL22-LC 前置引子及反置引子以擴增該具有 SEQ ID NO:145 之全長 IL22-LC DNA。此 PCR 片段接著利用限制酶 *Bgl*III 及 *Nhe*I 消化。該等經消化之 PCR 產物與經 *Bgl*III 及 *Nhe*I 切割之 pCEP4 修飾質體(Invitrogen)接合。

該經突變之單株抗體被暫時表現於 HEK 293 細胞，利用蛋白質 A 親和性管柱純化。該經純化之單株抗體可利用 MS 加以特徵化。

該等抗體之各者係經緩衝液交換至 20mM 醋酸鈉、200mM 海藻糖 pH 5.5，濃度 20mg/ml，然後添加 60mM 磷酸鈉 pH 7.7。[PEG₅-K¹¹-SEQ:27] (ABP)係利用 50%丙二醇重懸，以 4.3:1 莫耳比與蛋白質混合，允許在室溫下反應

隔夜。所有樣本係經稀釋至 2mg/ml，ABP 共軛之程度係於抗體之輕鏈及重鏈上分開檢測。該 MAC 係經變性，並利用鹽酸胍及二硫蘇糖醇還原雙硫鍵。該形成之游離輕鏈及重鏈係利用 LCMS 分析以測定各自之共軛特性（表 69）。

與 ABP 共軛之 Ab	CL SEQ ID	輕鏈 %CA				重鏈 %CA			
		0	1	2	Ave LC	0	1	2	Ave HC
2.12.1.fx	6	15	79	6	0.91	93	7	0	0.07
2.12.1.fx-CLκ-D ⁷⁷ A	37	0	92	8	1.08	98	2	0	0.02
Trastuzumab - WT	76	32	66	2	0.7	83	17	0	0.17
Trastuzumab - CLκ-D ⁷⁷ A	77	0	95	5	1.05	90	10	0	0.1
hIL22	136	100	0	0	0	76	22	2	0.26
hIL22-[LKJ]	61	55	45	0	0.45	79	21	0	0.21
hIL22-[CLλ-S ⁸¹ K]	140	69	31	0	0.31	80	20	0	0.2
hIL22-[CLλ-Q ⁷⁸ A/S ⁸¹ K]	141	89	11	0	0.11	85	15	0	0.15
hIL22-[CLλ-A ⁴⁴ V/S ⁸¹ K]	142	48	52	0	0.52	87	13	0	0.13
hIL22-[CLλ-A ⁴⁴ V/Q ⁷⁸ A/S ⁸¹ K]	143	30	70	0	0.7	82	18	0	0.18
hIL22-[CLλ-λ ⁷⁶⁻⁸⁴ /145]	144	83	17	0	0.34	82	18	0	0.2

表 69 λ 抗體及突變物之經還原之重鏈及輕鏈共軛分析

單點突變 CL λ -S⁸¹K使 PFP得以共軛至 CL λ。CL λ -S⁸¹K突變物上之 LC% 1CA自 0%增加至 31%（相較於未經突變之 hIL22），其中在該新產生之共軛位點發生之共軛加成似乎多過該抗體上任何其他單一位點。肽圖譜試驗證實共軛事件係發生於 CL λ -S⁸¹K（表 70）。

蛋白鏈	肽	平均 Δ (%共軛, n=3)
hIL22-[CL λ -S ⁸¹ K]-CL	SEQ ID NO:140, 殘基 80-85	54 $\pm$ 10
hIL22-[CL λ -S ⁸¹ K]-HC	SEQ ID NO: 137, 殘基 96-103	21 $\pm$ 10
hIL22-[CL λ -S ⁸¹ K]-HC	SEQ ID NO: 137, 殘基 95-103	19 $\pm$ 10

表 70 hIL22-[CL λ -S⁸¹K]-CL 之肽圖譜試驗摘要

參照表 69，組合 CL λ -S⁸¹K 及 CL λ -A⁴⁴V 突變 (hIL22-[CL λ -A⁴⁴V/S⁸¹K])進一步增加輕鏈 1CA 至 52%。

有趣的是，雖然 CL λ -Q⁷⁸A/ CL λ -S⁸¹K 雙重突變確實增加 CL λ -S⁸¹K 相較於 WT CL λ 之共軛（1CA 自 0%至 11%），但該增加不像單點突變 CL λ -S⁸¹K 之顯著。此與模型相關良好：突變 CL κ -D⁷⁷ 之效應係移除介於 CL κ -D⁷⁷ 與 CL κ -H⁸¹ 之間的氫鍵，這使得 CL κ -H⁸¹ 得以回復成催化性互變異構 N δ 形式。CL κ -D⁷⁷ 之對應位置係 CL λ -Q⁷⁸，模型構建及突變分析皆顯示該位置不會對 CL λ -H⁸² 有限制效應。綜合上述，這表示 CL λ -Q⁷⁸A 對方向性共軛之減少效應可能是由結合口袋之大小及形狀改變造成。

然而最令人意外的是三重突變 CL λ -A⁴⁴V/Q⁷⁸A/S⁸¹K 之結果。藉由 1CA%測量之方向性共軛增加至 70%；達到通常在天然 CL κ 結構域觀察到之共軛量。

這些結果及分析係藉由在圈環交換 (hIL22-[CL λ - λ ⁷⁶⁻⁸⁴/145])中所觀察到類似的方向性共軛量證實。

整體來說，這些資料顯示 CL λ -Q⁷⁸A 突變不增加 CL λ -S⁸¹K 共軛之方向性，倘若結合口袋之大小及形狀係

經適配於所使用之特定 Z 基。另外，CL λ 突變物之結果顯示方向性共軛位點可在 CL κ 以外之免疫球蛋白上產生，惟其模體 KH 係存在於正確的 3D 位置。理所當然地，結合口袋必須具有適當大小及形狀以配合所使用之特定鹵苯基酯，且如此處所示，額外特性像是對應 CL κ - V⁴²、CL κ - D⁴³ 及 CL κ - D⁷⁷ 之殘基存在或不存在可顯著改變特定免疫球蛋白結構域及鹵苯基酯中之該 KH 模體的方向性共軛之速率及最佳化。雖然 PFP 被用於這些實施例中，但很明顯的是可選擇其他具有可接受量之方向性共軛的 Z 基，並且利用合理之模型構建技術，以在該所欲之 Z 基、該結合口袋之大小及維持活性結合口袋所需之特定突變之間達到平衡。

實施例 45 在 CH 結構域上重建 PFP 共軛位點

抗體之 CH 結構域亦包含免疫球蛋白結構。在如實施例 40 及 41 所述之模型構建該等結構域之前，假設移動共軛模體至其他 CH 結構域之 EF 連接鏈的 EF 圈環部分將允許方向性共軛。CH γ 1 (SEQ ID NO:147)、CH γ 2 (SEQ ID NO:155)、CH γ 3 (SEQ ID NO:158)、CL κ (SEQ ID NO:6)及 CL λ (SEQ ID NO:57)結構域之序列排比係如圖 16 所示。

製作二個 CH1 結構域之突變版本。

在 hCH γ 1-m1 中，序列 LGTQT (SEQ ID NO:152) (其對應 SEQ ID NO:147 之殘基 L⁷⁶-T⁸⁰) 係經移除，並

以 EKHKV (SEQ ID NO:153) (其對應 CL κ 之 E⁷⁹-V⁸³) 取代。該形成之突變 hCH γ 1-m1 包含 SEQ ID NO:148。

在 hCH γ 1-m2 中，序列 LGTQT (SEQ ID NO:152) (其對應 SEQ ID NO:147 之殘基 L⁷⁶-T⁸⁰) 係經移除，並以 YEKHKV (SEQ ID NO:154) (其對應 CL κ 之 Y⁷⁸-V⁸³) 取代。該形成之突變 hCH γ 1-m2 包含 SEQ ID NO:150。該額外之 Y 殘基係經納入以使該 hCH γ 1-m2 序列與 CL κ 序列之排比更佳。

序列排比顯示 hCH γ 1 缺乏對應 CL κ -D⁴³ 之 Asp 殘基。因此，另外產製二個突變物；其中 hCH γ 1-m1 及 hCH γ 1-m2 各者皆在 CH γ 1-S⁴³ 與 CH γ 1-G⁴⁴ 之間另外插入一 Asp 殘基，產生二個新的突變物 hCH γ 1-m1-D⁴⁴ (SEQ ID NO:149)及 hCH γ 1-m2-D⁴⁴ (SEQ ID NO:151)。

產製 hCH γ 2 (SEQ ID NO:155)之突變版本，其中 SEQ ID NO:155 之殘基 N⁸⁵G⁸⁶ 係經 KH 取代以產製 hCH γ 2-m (SEQ ID NO:156)。序列排比顯示 hCH γ 2 (SEQ ID NO:155)在可能對應 CL κ -D⁴³ 之位置包含 Asp 殘基 (D⁵⁰)。

產製 hCH γ 3 (SEQ ID NO:157)之突變版本，其中 SEQ ID NO:157 之殘基 Q⁷⁹G⁸⁰ 係經 KH 取代以產製 hCH γ 3-m (SEQ ID NO:158)。序列排比顯示 hCH γ 3 (SEQ ID NO:155)在可能對應 CL κ -D⁴³ 之位置包含 Asn 殘基 (N⁴⁴)。

曲妥珠單抗(trastuzumab)被用來作為本試驗之模型抗

體。所有 hTrast-CH γ 突變物皆表現[CL κ -K⁸⁰A]突變，因此共軛事件將優先發生在該測試 CH γ 結構域。hTrast-LC-[CL κ -K⁸⁰A] (SEQ ID NO:146)突變係根據 QuickChange 定點突變形成套組(Stratagene)中之說明產製。

在 CH γ 結構域上之突變係利用重疊 PCR 產製。突變物藉由寡核苷酸引子導入。對 trastuzumab HC 之 5'端具專一性之引子與帶有所欲突變之反置引子配對，以及帶有所欲突變之前置引子與對 trastuzumab HC 之 3'端具專一性之反置引子配對以用於 PCR 擴增 DNA 片段，使用 trastuzumab HC 作為模板。這 2 種 PCR 產物係經混合以作為模板；在重疊 PCR 反應中使用 trastuzumab 重鏈前置引子及反置引子以擴增該具有所欲突變之全長 trastuzumab HC DNA。此 PCR 片段接著利用限制酶 *Bgl*III 及 *Nhe*I 消化。該等經消化之 PCR 產物與經 *Bgl*III 及 *Nhe*I 切割之 pCEP4 修飾質體(Invitrogen)接合。

該帶有突變之 trastuzumab 抗體被暫時表現於 HEK 293 細胞，利用蛋白質 A 親和性管柱純化。該經純化之單株抗體可利用 MS 加以特徵化。

該等經表現之抗體係經緩衝液交換至 20mM 醋酸鈉、200mM 海藻糖 pH 5.5，濃度為 20mg/ml。該等蛋白質接著被添加 60mM 磷酸鈉 pH 7.7。ABP 係利用 50%丙二醇重懸，以 4.3:1 莫耳比與該蛋白質混合，允許在室溫下反應隔夜。所有樣本係經稀釋至 2mg/ml，藉由大小排除層析-質譜分析(SEC-MS)分析完整之共軛蛋白質，以測定該蛋

白質之共軛形式的數目及定量。此技術測量各種蛋白質形式之分子量；多重 ABP 共軛部位被視為藉由 ABP 之質量差異所分開之不同信號。多重 ABP 共軛物種之相對定量係由測量該信號強度進行。

Ab +ABP	%CA				平均 CA
	0	1	2	3	
hTrast	1	16	56	24	2.112
hTrast-[CLk-D77A]	0	1	62	34	2.338
hTrast-[CLk-K80A]	48	41	10	2	0.665
hTrast-[CLk-K ⁸⁰ A]/CHy1-m1	23	48	24	5	1.107
hTrast-[CLk-K ⁸⁰ A]/CHy1-m2	24	48	24	4	1.087
hTrast-[CLk-K ⁸⁰ A]/CHy1-m1-D ⁴⁴	33	49	17	1	0.854
hTrast-[CLk-K ⁸⁰ A]/CHy1-m2-D ⁴⁴	41	45	12	2	0.746
hTrast-[CLk-K ⁸⁰ A]/CHy2m	45	44	9	3	0.694
hTrast-[CLk-K ⁸⁰ A]/CHy3m	40	44	13	3	0.78

表 71 hTrast 抗體及 CHy 結構域突變物之完整共軛分析

ABP 共軛之程度係在 trastuzumab 及 trastuzumab 突變物之輕鏈及重鏈上分開檢測。MAC 產物係經變性，並利用鹽酸胍及二硫蘇糖醇還原雙硫鍵。該形成之游離輕鏈及重鏈係利用 LCMS 分析以測定各鏈之共軛特性（表 72）。

	輕鏈 %CA				重鏈 %CA				1HC WT%
	0	1	2	平均 CA- 輕鏈	0	1	2	平均 CA- 重鏈	
hTrast	32	66	2	0.7	83	17	0	0.17	N/A
hTrast-[CLκ-D ⁷⁷ A]	0	95	5	1.05	90	10	0	0.1	N/A
hTrast-[CLκ-K ⁸⁰ A]	98	2	0	0.02	79	21	0	0.21	
hTrast-[CLκ-K ⁸⁰ A]/CHγ1-m1	99	1	0	0.01	64	31	5	0.41	148
hTrast-[CLκ-K ⁸⁰ A]/CHγ1-m2	98	2	0	0.02	62	32	6	0.44	152
hTrast-[CLκ-K ⁸⁰ A]/CHγ1-m1-D ⁴⁴	97	3	0	0.03	74	24	2	0.28	114
hTrast-[CLκ-K ⁸⁰ A]/CHγ1-m2-D ⁴⁴	97	3	0	0.03	73	24	3	0.3	114
hTrast-[CLκ-K ⁸⁰ A]/CHγ2m	99	1	0	0.01	75	23	2	0.27	110
hTrast-[CLκ-K ⁸⁰ A]/CHγ3m	100	0	0	0	70	27	3	0.33	129

表 72 hTrast 抗體及 CH γ 結構域突變物之經還原之重鏈、輕鏈共軛分析相較於個別 WT 樣本之 1-HC%的百分比係顯示於右欄，如表 53 所示，雖然在此實施例中，hTrast-[CL κ -K⁸⁰A] HC 1CA 被當作 WT 之數據。

hTrast-[CL κ -K⁸⁰A]/CH γ 1-m1 及 hTrast-[CL κ -K⁸⁰A]/CH γ 1-m2 之總共軛相較於 hTrast-[CL κ -K⁸⁰A]係自 0.66 CA 增加至~1CA；且這二種突變物之 HC 1CA 自 21% 增加至 31%，增加大約 150%。此支持我們的假設，即方向性共軛可藉由導入 KH 模體以導入除了 CL κ 及 CL λ 以外之免疫球蛋白結構域。

在 hTrast-[CL κ -K⁸⁰A]/CH γ 2m 上之總共軛也有增加，但程度低於CH γ 1突變物。比較CH γ 1及CH γ 2之序列顯示在對應CL κ -D⁷⁷之殘基處，CH γ 1包含Ser，CH γ 2包含Asp。這可能表示類似CH γ 2結構域中之CL κ -D⁷⁷突變的突變可能增加共軛程度。

此外，CH γ 3 HC 上之共軛增加雖然明顯，但相較於

CH γ 1 結構域突變仍屬中度。CH γ 3 結構域序列似乎包含對應 CL κ -D77 位置之 Arg 及對應 CL κ -D⁴³ 位置之 Ser。

另外，hTrast-[CL κ -K⁸⁰A]/CH γ 1-m1-D⁴⁴ 及 hTrast-[CL κ -K⁸⁰A]/CH γ 1-m2-D⁴⁴ 之 CA% HC 顯示非常意外之結果，也就是在 hTrast-[CL κ -K⁸⁰A]/CH γ 1-m1 及 hTrast-[CL κ -K⁸⁰A]/CH γ 1-m2 皆觀察到之明顯共軛增加，從增加為大約 WT 的 150%至僅大約為 WT 的 114%。

解釋性假設認為根據在 3D 免疫球蛋白結構中發現之結果，圖 17 之序列排比可能不正確地排比個別殘基。

實施例 46 模型構建免疫球蛋白折疊

因此，hCH γ 1、hCH γ 2 及 hCH γ 3 結構域之結晶結構係得自「蛋白質資料庫(Protein Data Bank)」，該資料庫係由 Rutgers, the State University of New Jersey, Center for Integrative Proteomics Research, the San Diego Supercomputer Center (SDSC) and Skaggs School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, San Diego 維護。hCH λ 1 之結構係基於 3dv 之 X 光結構，可自蛋白質資料庫獲得。hCH λ 2 之結構係基於 2dts 之 X 光結構，可自蛋白質資料庫獲得。hCH λ 3 之結構係基於 2dts 之 X 光結構，可自蛋白質資料庫獲得。hCL λ 之結構係基於 4fgh 之 X 光結構，可自蛋白質資料庫獲得。

同源性排比係經產製，其根據結構排比序列（圖 17）。CL κ 及 hCH γ 1-m1 之結晶結構比較（圖 19）顯示

hCH γ -CD 連接鏈包含一短 α 螺旋。模型構建指出此 CD α 螺旋呈現天然 S⁴³ 及側鏈遠離結合口袋之 hTrast-[CL κ -K⁸⁰A]/CH γ 1-m1-D44 Asp 插入 (圖 20 及 21)，添加 CH γ 1-D⁴⁴ 增加該 CD α 螺旋之大小及延伸該 CD α 螺旋。此外，該模型指出 CH γ 1-Q⁷⁹H 殘基不是位於最理想平面導向，因此降低彼參與 PFP 與鄰近 CH γ 1-T⁷⁸K 之間的反應之能力 (圖 21)。

比較圖 22 中之 CL κ 及 CH γ 1-m1-D44 結構域顯示，口袋形狀可藉由移除 CD 連接鏈上之 CD α 螺旋並以圈環結構取代加以最佳化。因此，突變 CH γ 1 結構域 SEQ ID NO:165 係經模型構建及最小化。SEQ ID NO:165 包含 CH γ 1-m1 突變物之 CH γ 1-T⁸⁴K/Q⁷⁹H 雙重突變，以及以 KVDNALA (SEQ ID NO:166) 取代自 CH γ 1-N⁴² (包含在內) 至 CH γ 1-L⁴⁶ (包含在內) 之 CH γ 1 CD 連接鏈；SEQ ID NO:166 對應 CL κ 結構域 (SEQ ID NO:6) 之殘基，有添加一個額外的 Ala 殘基。圖 22 所顯示之模型構建結果指出 CH γ 1-Q⁷⁹H 佔據更平坦之方向，由 CD 連接鏈上該經導入之 Val 殘基協助。將此殘基突變成 Leu 或 Ile 可能提供進一步穩定化該咪唑環，因為較長側鏈能拉近與該 H 殘基之間隙，該間隙比天然 CL κ 中之距離更長。很明顯的，該模型放置該鄰近 Asp 殘基於相對 CH γ 1-Q⁷⁹H 而言適當之方向及距離，以有利於 δ -互變異構形式及促進增加之 CH γ 1-T⁷⁸K 之反應性。

類似模型構建係於 CH γ 2 及 CH γ 3 結構域上進行。

圖 24 包含 CL κ 及 CH γ 2 之關鍵 WT 殘基。雖然 CH γ 2-D⁴⁹ 及 CH γ 2-D⁵⁰ 似乎位於正確位置及方向以協助方向性共軛，但 CH γ 2-D⁸² 佔據 3D 模型中甚至更靠近 CH γ 2-G⁸⁶H 之位置，藉此有利於 ϵ -互變異構形式及減少 CH γ 2-N⁸⁵K 之反應性。此模型建議 CH γ 2-D⁸² 殘基可能解釋在 CH γ 2m 突變物中觀察到相對較低之方向性共軛增加。圖 26 示範 CH γ 2 之建議突變物的最小化模型：其包含 CH γ 2-D⁸²A/N⁸⁵K/G⁸⁶H (SEQ ID NO:167)。可觀察到立即差異：該咪唑環呈現更平坦之方向且與 CH γ 2-D⁵⁰ 相距適當距離以偏向形成 δ -互變異構物，另外 CH γ 2-D⁸²A 突變打開結合口袋，可能導致減少對 PFP 接近之立體抑制。

圖 27 至 29 顯示 CL κ 與 CH γ 3 WT 及 CH γ 3m 突變物之對應比較。該模型建議雖然沒有殘基使 CH γ 3-G⁸⁰H 偏向 ϵ -互變異構形式，但 CH γ 3-Q⁷⁹K 用於共軛之可得性可能受到 CH γ 3-R⁷⁶ 長側鏈之立體阻礙。圖 30 示範 CH γ 3 之第一建議突變物 hCH3 γ m-CD1/EF 之最小化模型，其包含突變 CH γ 3-S⁴³V/N⁴⁴D/R⁷⁶A/Q⁷⁹K/G⁸⁰H (SEQ ID NO:168)。該模型差異可在圖 30B 中輕易發現：結合口袋之可用性被打開，且減少對反應性離胺酸之立體干擾。

從圖 30B 之模型結構中的側鏈距離看來，CH γ 3-S⁴³V 或 CH γ 3-N⁴⁴D 與 CH γ 3-G⁸⁰H 交互反應之程度，不可能和 CL κ 中之對應殘基相同。因此，CH γ 3 之第二建議突變物 hCH3 γ m-CD2/EF 亦經最小化及模型構建，其包含突變 CH γ 3-S⁴³L/N⁴⁴E/R⁷⁶A/Q⁷⁹K/G⁸⁰H (SEQ ID

NO:169)。在 CD 連接鏈上導入具有較長側鏈之適當殘基（以 $\text{CH}\gamma\text{3-S}^{43}\text{L}$ 取代 $\text{CH}\gamma\text{3-S}^{43}\text{V}$ ，以 $\text{CH}\gamma\text{3-N}^{44}\text{E}$ 取代 $\text{CH}\gamma\text{3-E}^{44}\text{D}$ ）係經模型構建，以具有和 $\text{CL}\kappa$ 有較大結構類似性之結合口袋（圖 31），以及在 $\text{CH}\gamma\text{3-N}^{44}\text{E}$ 和 $\text{CH}\gamma\text{3-G}^{80}\text{H}$ 之間相較於在 $\text{CH}\gamma\text{3-N}^{44}\text{D}$ 和 $\text{CH}\gamma\text{3-G}^{80}\text{H}$ 之間較可能形成氫鍵結。

$\text{CH}\gamma$ 結構域及突變物之序列和 $\text{CL}\kappa$ 及 $\text{CL}\lambda$ 排比（圖 32）。

本發明因此已經參考上述之代表性實施態樣加以廣泛地揭示及說明。該領域之技藝人士當能了解，可對本發明進行各種修飾而不背離彼之精神及範圍。所有公開資料、專利申請案及發證專利係以參照方式納入本發明，如同各個分開之公開資料、專利申請案或發證專利特別地且個別地明示以參照方式整體納入。在藉由參照方式納入之文本中所包含之定義若與本揭示中之定義有所衝突者將被排除。

當能了解的是本發明之某些特徵爲了清楚說明之目的而在分開之實施態樣之上下文中描述者，亦有可能在單一實施態樣中組合提供。相反地，本發明之各種特徵爲了簡便起見而在單一實施態樣之上下文中描述者，亦有可能分開或在任何適當之亞組合中提供。

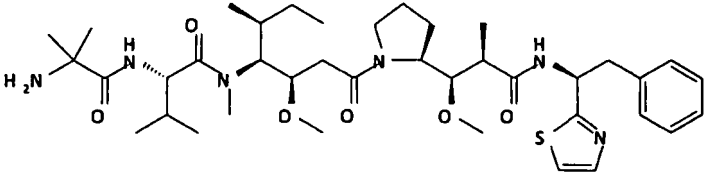
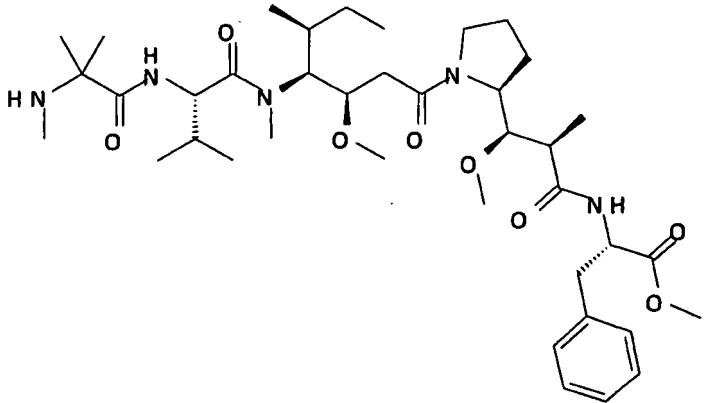
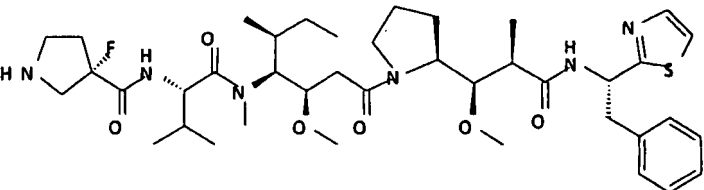
特別考慮的是關於本發明之一個實施態樣所討論之任何限制可能適用於本發明之任何其他實施態樣。另外，本發明之任何組成物可能被用於本發明之任何方法，且本發

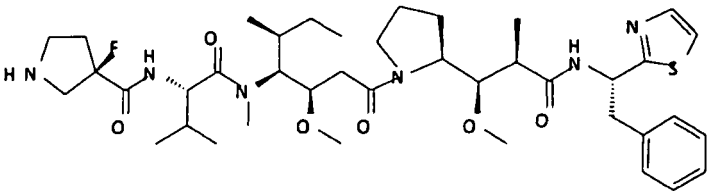
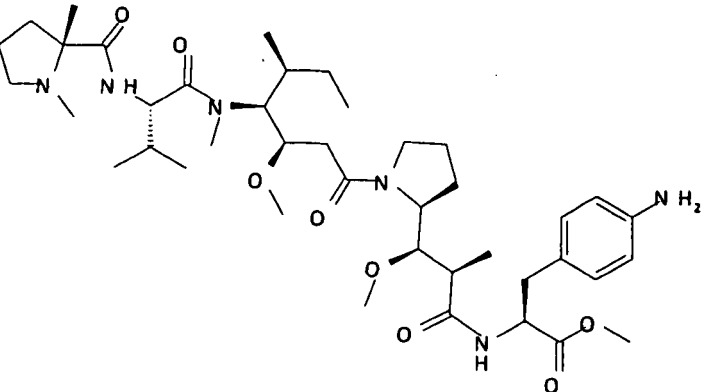
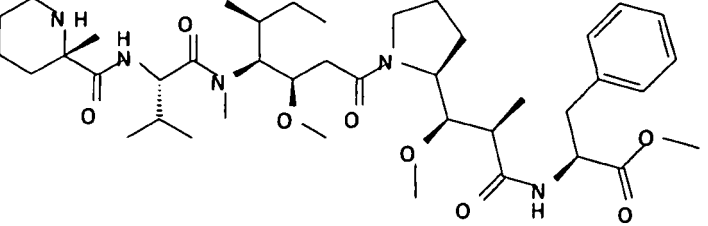
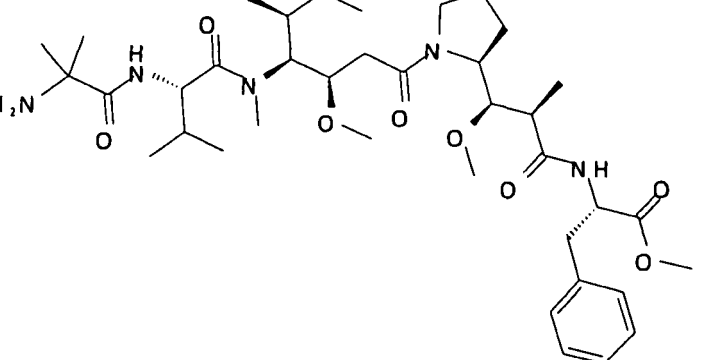
明之任何方法可被用於產製或利用本發明之任何組成物。特別是，在申請專利範圍中所描述之本發明之任何態樣，其單獨或與一或多種額外之申請專利範圍及/或該說明書之態樣組合，被了解係可與在其他申請專利範圍及/或說明書及/或序列表及/或圖式之處所列示之本發明之其他態樣組合。

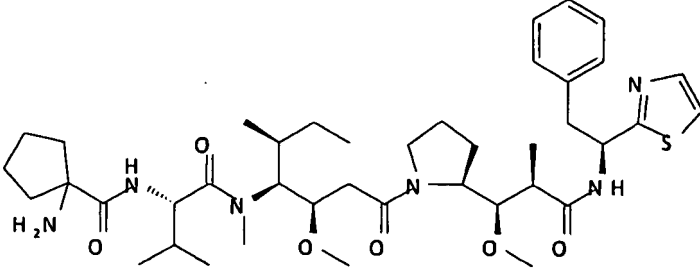
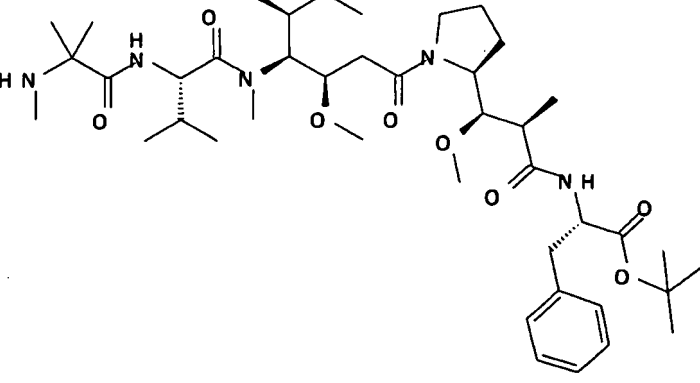
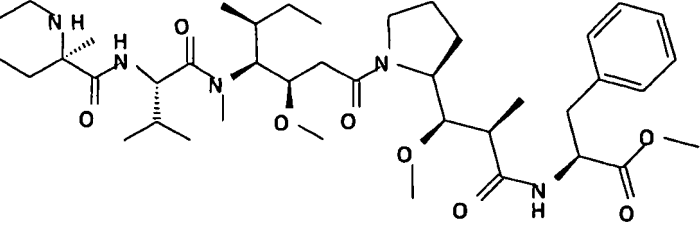
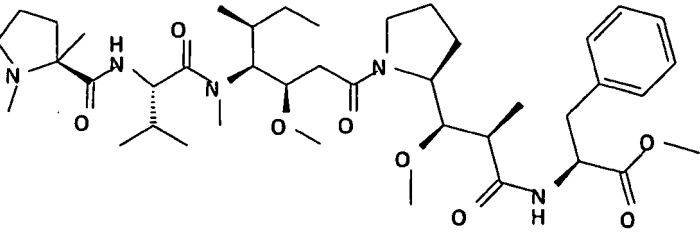
只要在此處說明之特定實例不屬於發明之範圍內，可明確地放棄該特定實例之專利權。

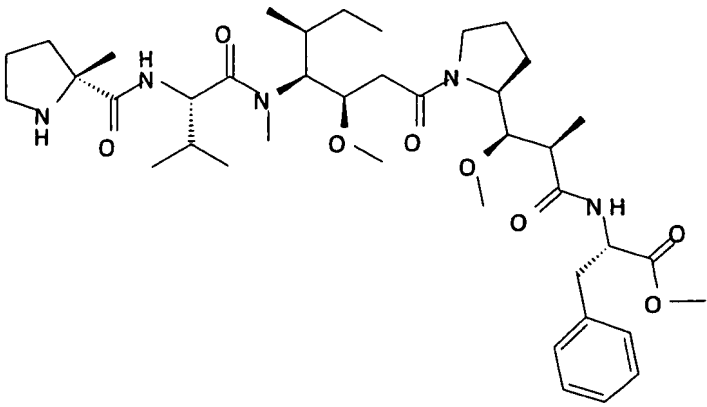
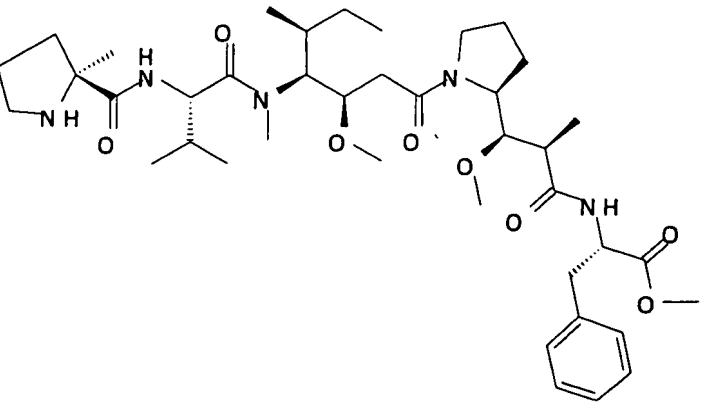
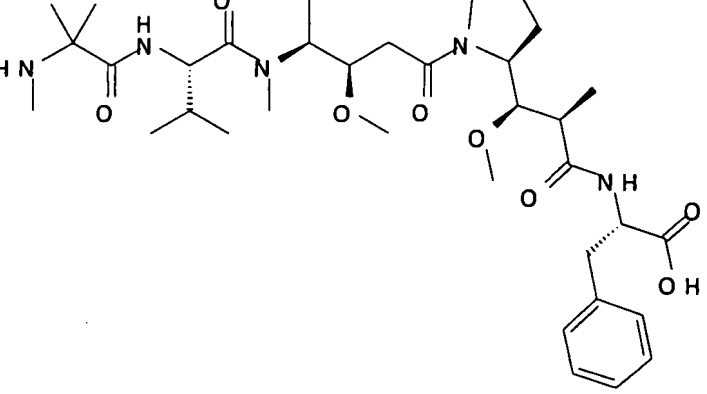
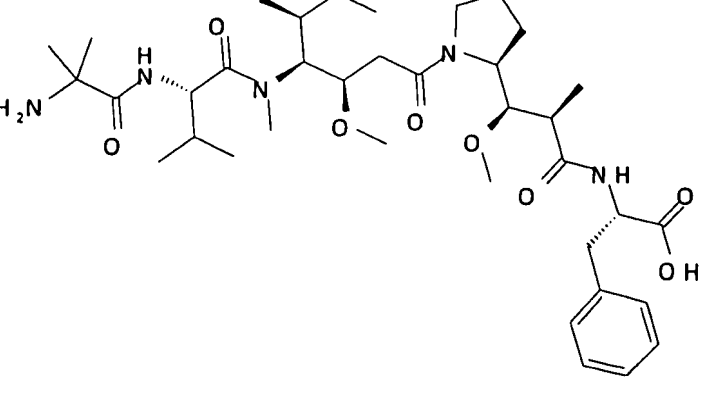
在申請專利範圍中使用用語“或”係用來代表“及/或”，除非明確地指出僅代表選擇性或該選擇性係具有互相排除性，雖然該揭示支持僅代表選擇性及“及/或”之定義。在本說明書所使用之“一”或“一者”可代表一或多者，除非另外清楚地說明。如在本發明之申請專利範圍中所使用者，當與「包含」這個用語一起使用時，用語「一」或「一者」可能代表一者或超過一者。本發明所使用之“另一者”可代表至少第二者或更多。除非此處另外加以定義，關於本發明所使用之科學性及技術性用語應具有該領域之一般技藝人士所通常了解之意義。另外，除非內文另外要求，單數用語應包括複數意義且複數用語應包括單數意義。用語“包含/含有”及用語“具有/包括”當參照本發明用於此處時係用來表明所述之特徵、整數、步驟或成分之存在，但不排除一或多種其他特徵、整數、步驟、成分或彼等之族群之存在或加入。

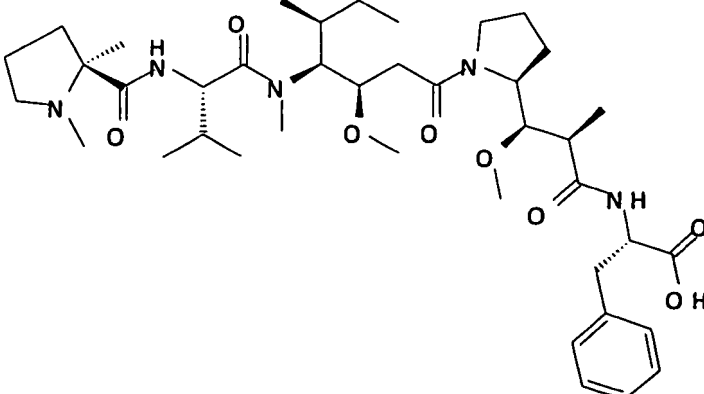
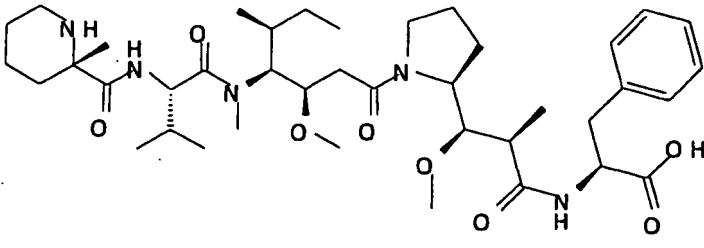
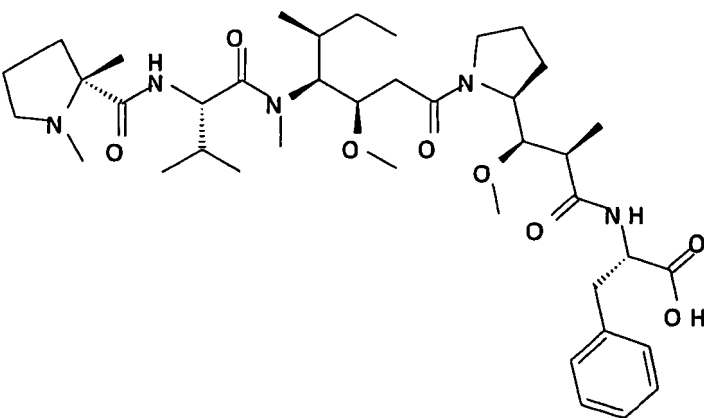
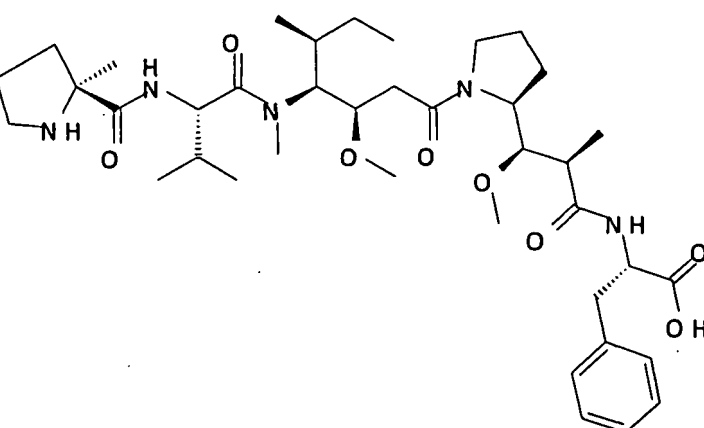
毒素
#

毒素 #	IUPAC 名稱	結構
#54	2- 甲 基 丙 胺 醯 基 -N- [(3R,4S,5S)-3- 甲 氧 基 -1- {(2S)-2-[(1R,2R)-1- 甲 氧 基 - 2-甲基-3-側氧基-3-{[(1S)-2- 苯基-1-(1,3-噻唑-2-基)乙基] 胺基}丙基]吡咯啉-1-基}-5- 甲基-1-側氧基庚-4-基]-N-甲 基-L-纈胺醯胺(#54)	
#226	N,2- 二 甲 基 丙 胺 醯 基 -N- [(3R,4S,5S)-3- 甲 氧 基 -1- {(2S)-2-[(1R,2R)-1- 甲 氧 基 - 3-{[(2S)-1-甲氧基-1-側氧基- 3-苯基丙醯-2-基]胺基}-2-甲 基-3-側氧基丙基]吡咯啉-1- 基}-5- 甲 基 -1-側氧基庚-4- 基]-N- 甲 基 -L- 纈 胺 醯 胺 (#226)	
#194	N,2-{[(3S)-3- 氟 基 吡 咯 啉 -3- 基]羰基}-N-[(3R,4S,5S)-3-甲 氧 基 -1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1- 甲 氧 基 -2-甲 基 -3-側 氧 基 -3- {[(1S)-2- 苯 基 -1-(1,3-噻 唑 -2- 基)乙基]胺基}丙基]吡咯啉- 1-基}-5-甲 基 -1-側 氧 基 庚 -4- 基]-N-甲 基 -L-纈 胺 醯 胺，三 氟乙酸鹽(#194)	

#192	N,2-[[[(3R)-3-氟基吡咯啉-3-基]羰基]-N-[(3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基-3-[[[(1S)-2-苯基-1-(1,3-噻唑-2-基)乙基]胺基]丙基]吡咯啉-1-基]-5-甲基-1-側氧基庚-4-基]-N-甲基-L-纈胺醯胺，三氟乙酸鹽(#192)	
#201	1,2-二甲基-D-脯胺醯基-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(4-胺基苯基)-1-甲氧基-1-側氧基丙-2-基]胺基]-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基]吡咯啉-1-基]-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基]-N-甲基-L-纈胺醯胺，甲酸鹽(#201)	
#158	N-[(2R,3R)-3-甲氧基-3-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-3-甲氧基-5-甲基-4-[甲基(N-[(2S)-2-甲基吡啶-2-基]羰基)-L-異纈胺醯基]胺基]庚醯基]吡咯啉-2-基]-2-甲基丙醯基]-L-苯丙胺酸酯，三氟乙酸鹽(#158)	
#70	2-甲基丙胺醯基-N-[(3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-甲氧基-3-[(2S)-1-甲氧基-1-側氧基-3-苯基丙醯-2-基]胺基]-2-甲基-3-側氧基丙基]吡咯啉-1-基]-5-甲基-1-側氧基庚-4-基]-N-甲基-L-纈胺醯胺(#70)	

#47	N²-[(1-胺基環戊基)羰基]-N-[(3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基-3-[[[(1S)-2-苯基-1-(1,3-噻唑-2-基)乙基]胺基]丙基]吡咯啉-1-基]-5-甲基-1-側氧基庚-4-基]-N-甲基-L-纈胺醯胺(#47)	
#130	N,2-二甲基丙胺醯基-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(2S)-1-三級-丁氧基-1-側氧基-3-苯基丙-2-基]胺基]-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基]吡咯啉-1-基]-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基]-N-甲基-L-纈胺醯胺(#130)	
#159	甲基 N-{(2R,3R)-3-甲氧基-3-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-3-甲氧基-5-甲基-4-[甲基(N-{[(2R)-2-甲基哌啶-2-基]羰基]-L-異纈胺醯基)胺基]庚醯基]吡咯啉-2-基]-2-甲基丙醯基}-L-苯丙胺酸酯，三氟乙酸鹽(#159)	
#209	1,2-二甲基-L-脯胺醯基-N-[(3R,4S,5S)-3-甲氧基-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-甲氧基-3-[(2S)-1-甲氧基-1-側氧基-3-苯基丙醯-2-基]胺基]-2-甲基-3-側氧基丙基]吡咯啉-1-基]-5-甲基-1-側氧基庚-4-基]-N-甲基-L-纈胺醯胺，三氟乙酸鹽(#209)	

#131	2- 甲基 -D- 脯胺 醯 基 -N-[(3R,4S,5S)-3- 甲 氧 基 -1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1- 甲 氧 基 -3-{[(2S)-1-甲氧基-1-側氧基-3-苯基丙醯-2-基]胺基}-2-甲基-3-側氧基丙基]吡咯啉-1-基}-5-甲基-1-側氧基庚-4-基]-N-甲基-L-纈胺醯胺，三氟乙酸鹽(#131)	
#117	2- 甲基 -L- 脯胺 醯 基 -N-[(3R,4S,5S)-3- 甲 氧 基 -1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1- 甲 氧 基 -3-{[(2S)-1-甲氧基-1-側氧基-3-苯基丙醯-2-基]胺基}-2-甲基-3-側氧基丙基]吡咯啉-1-基}-5-甲基-1-側氧基庚-4-基]-N-甲基-L-纈胺醯胺，三氟乙酸鹽(#117)	
#115	N,2- 二 甲 基 丙 胺 醯 基 -N-[(1S,2R)-4-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S)-1-羧基-2-苯基乙基]胺基}-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基]吡咯啉-1-基}-2-甲氧基-1-[(1S)-1-甲基丙基]-4-側氧基丁基]-N-甲基-L-纈胺醯胺，三氟乙酸鹽(115)	
#69	2- 甲 基 丙 胺 醯 基 -N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S)-1-羧基-2-苯基乙基]胺基}-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基]吡咯啉-1-基}-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基]-N-甲基-L-纈胺醯胺(#69)	

#151	1,2-二甲基-L-脯胺醯基-N- {(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)- 3-[(1S)-1-羧基-2-苯基乙基] 胺基}-1-甲氧基-2-甲基-3-側 氧基丙基]吡咯啉-1-基}-2-甲 氧基-1-[(1S)-1-甲基丙基]-4- 側氧基丁基}-N-甲基-L-纈胺 醯胺(#151)	
#162	N-[(2R,3R)-3-甲氧基-3- [(2S)-1-[(3R,4S,5S)-3-甲氧 基-5-甲基-4-[甲基(N-[(2S)- 2-甲基哌啶-2-基]羰基)-L-異 纈胺醯基)胺基]庚醯基]吡咯 啉-2-基]-2-甲基丙醯基]-L- 苯丙胺酸，三氟乙酸鹽 (#162)	
#153	1,2-二甲基-D-脯胺醯基-N- {(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)- 3-[(1S)-1-羧基-2-苯基乙基] 胺基}-1-甲氧基-2-甲基-3-側 氧基丙基]吡咯啉-1-基}-2-甲 氧基-1-[(1S)-1-甲基丙基]-4- 側氧基丁基}-N-甲基-L-纈胺 醯胺(#153)	
#118	2-甲基-L-脯胺醯基-N- [(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R, 2R)-3-[(1S)-1-羧基-2-苯基 乙基]胺基}-1-甲氧基-2-甲 基-3-側氧基丙基]吡咯啉-1- 基]-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧 基庚-4-基]-N-甲基-L-纈胺 醯胺，三氟乙酸鹽(#118)	

#217	N-{(2R,3R)-3-[(2S)-1-{(3R,4S,5S)-4-[(N-{(3R)-3- 氟 基吡咯啉-3-基]羰基)-L-異纈胺醯基)(甲基)胺基]-3-甲氧基-5-甲基庚醯基}吡咯啉-2-基]-3-甲氧基-2-甲基丙醯基}-L-苯丙胺酸，三氟乙酸鹽 (#217)	
#112	2- 甲 基 丙 胺 醯 基 -N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S,2R)-1-羥基-1-苯基丙-2-基]胺基}-1-甲氧基-2-甲基-3-側氧基丙基]吡咯啉-1-基}-3-甲氧基-5-甲基-1-側氧基庚-4-基]-N-甲基-L-纈胺醯胺(#112)	
	MMAD 波狀線顯示連接子連接之典型位置。在非共軛形式中，該波狀線通常與 H 原子連接。	
	MMAE 波狀線顯示連接子連接之典型位置。在非共軛形式中，該波狀線通常與 H 原子連接。	
	MMAF 波狀線顯示連接子連接之典型位置。在非共軛形式中，該波狀線通常與 H 原子連接。	

序列表

<110> 寇夫克斯技術愛爾蘭有限公司(CovX Technologies Ireland Limited)
<120> 突變抗體及其共軛
<130> PC71862A
<150> US61/584,675
<151> 2012-01-09
<160> 255
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成性Igfr單株抗體
<400> 1

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Arg Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Asp Gly Val Glu Thr Thr Phe Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
100 105 110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
130 135 140
Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145 150 155 160
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
165 170 175
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
180 185 190
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys
195 200 205

Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu
210 215 220

Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 2
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性Igfr單株抗體

<400> 2

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Arg Asp
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Asn Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Val Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 3
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性Igfr單株抗體

<400> 3

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Arg Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Asp Gly Val Glu Thr Thr Phe Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
115 120

<210> 4
<211> 329
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 4

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
1 5 10 15

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
35 40 45

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
50 55 60

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly
65 70 75 80

Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
85 90 95

Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
115 120 125

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
130 135 140

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
145 150 155 160

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
165 170 175

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His
180 185 190

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
195 200 205

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
210 215 220

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
225 230 235 240

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
245 250 255

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
260 265 270

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
275 280 285

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
290 295 300

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
305 310 315 320

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 5
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性Igfr單株抗體

<400> 5

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Arg Asp
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Asn Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Val Ile Lys Arg
100 105

<210> 6
<211> 106

<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 6
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 7
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 7
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80
His Lys Leu Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 8
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 8
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Val Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Leu Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 9
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (45)..(45)
<223> X = V或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (82)..(82)
<223> X = 任何氨基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = L或V

<400> 9

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Xaa Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Xaa Xaa Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 10
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (45)..(45)
<223> X = V或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = L或V

<400> 10
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Xaa Leu Gln Ser
35 40 45
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80
His Lys Xaa Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 11
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (82)..(82)
<223> X = 任何氨基酸

<400> 11
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Xaa Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 12
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 12

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Arg
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 13
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 13

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Arg Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 14
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 14

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Arg
65 70 75 80

His Arg Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 15
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 15

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Ala Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 16
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 16

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Ala
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 17
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 17

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

Ala Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 18
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 18

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Ala Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 19
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 19

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Ala Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

Ala Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 20
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 20

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Ala Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 21
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 21

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Ala Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 22
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 22

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Ala Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 23
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 23

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Ala Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 24
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 24

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Ala Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 25
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 25

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ala
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 26
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 26

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Ala Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 27
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ang2結合肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = COCH3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = Kac

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (10)..(10)
<223> X = Kac

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (24)..(24)
<223> X = NH2

<400> 27
Xaa Gln Xaa Tyr Gln Pro Leu Asp Glu Xaa Asp Lys Thr Leu Tyr Asp
1 5 10 15

Gln Phe Met Leu Gln Gln Gly Xaa
20

<210> 28
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 28

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Ala Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 29
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 29
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ala Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 30
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本
<400> 30

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Ala Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 31
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本
<400> 31

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Ala Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 32
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 32

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Ala Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 33
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 33

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

Ala Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 34
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本
<400> 34

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Ala Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 35
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本
<400> 35

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Ala Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 36
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 36

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Ala Gly Glu Cys
100 105

<210> 37
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 37

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Ala Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 38
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 38

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Gly Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 39
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 39

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Val Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 40
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 40

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Leu Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 41
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 41

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Ile Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 42
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 42

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Pro Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 43
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 43

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Phe Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 44
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 44

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Trp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 45
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 45

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Tyr Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 46
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 46

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala His Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 47
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 47

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Met Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 48
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 48

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Cys Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 49
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 49

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Ser Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 50
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 50

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Thr Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 51
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 51

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Gln Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 52
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本
<400> 52

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asn Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 53
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本
<400> 53

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Glu Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 54
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 54

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Arg Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 55
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 55

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Lys Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 56
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 56

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Ala Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 57
<211> 105
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 57

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys
100 105

<210> 58
<211> 106
<212> PRT
<213> 家鼠(Mus musculus)
<400> 58

Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
1 5 10 15

Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln
35 40 45

Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg
65 70 75 80

His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro
85 90 95

Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
100 105

<210> 59
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 59

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 60
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人κ及λ之融合

<400> 60

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 61
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人κ及λ之融合

<400> 61

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
1 5 10 15

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
20 25 30

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
35 40 45

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
50 55 60

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
65 70 75 80

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
85 90 95

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
100 105 110

Asn Arg Gly Glu Cys
115

<210> 62
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人κ及λ之融合

<400> 62

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

His Ser Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 63
<211> 230
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Igfr單株抗體

<400> 63

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Arg Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Asp Gly Val Glu Thr Thr Phe Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
130 135 140

Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145 150 155 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
165 170 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
180 185 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys
195 200 205

Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu
210 215 220

Arg Lys Cys Cys Val Glu
225 230

<210> 64
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 64

Glu Leu Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Thr
20 25 30

Tyr Gly Ser Pro Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Ser Gln Gly
85 90 95

Thr His Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 65
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 65

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Glu Ile Arg Leu Arg Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Lys Thr Tyr Phe Tyr Ser Phe Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 66
 <211> 444
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成性單株抗體

<400> 66

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Glu Ile Arg Leu Arg Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
 50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Lys Thr Tyr Phe Tyr Ser Phe Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys
 210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 67
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 67

Glu Leu Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Thr
20 25 30

Tyr Gly Ser Pro Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Ser Gln Gly
85 90 95

Thr His Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 68
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 68

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Glu Ile Arg Leu Arg Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Lys Thr Tyr Phe Tyr Ser Phe Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 69
<211> 112
<212> PRT
<213> 家鼠(Mus musculus)

<400> 69

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Arg Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Thr
20 25 30

Tyr Gly Ser Pro Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Gly
85 90 95

Thr His Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 70
<211> 118
<212> PRT
<213> 家鼠(Mus musculus)
<400> 70

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Met Lys Leu Ser Cys Glu Ile Ser Gly Leu Thr Phe Arg Asn Tyr
20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Glu Ile Arg Leu Arg Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Lys Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Arg
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Lys Tyr Tyr Phe Tyr Ser Phe Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 71
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性单株抗体
<400> 71

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 72
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 72

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 73
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成性單株抗體

<400> 73

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 74
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 74

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 75
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 75

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 76
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 76

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 77
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 77

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Ala Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 78
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (45)..(45)
<223> X = V或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (77)..(77)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = V或L

<400> 78

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Xaa Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Xaa Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Xaa Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 79
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性肽

<400> 79

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 80
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性肽

<400> 80

Gly Arg Gly Asp Ser Pro Lys
1 5

<210> 81
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性肽

<400> 81

Asp Val Pro Lys Ser Asp Gln Phe Val Gly Leu Met
1 5 10

<210> 82
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性肽

<400> 82

Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr
1 5 10 15

His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
20 25

<210> 83
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性肽

<400> 83

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
1 5

<210> 84
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性肽

<400> 84

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
1 5 10 15

Val Thr Lys

<210> 85
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性引子

<400> 85
caacaagatc tgccaccatg gacatgaggg t 31

<210> 86
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性引子

<400> 86
caacagctag cctaacactc tcccctgttg a 31

<210> 87
<211> 35
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性引子

<400> 87
caacaggctc cggccagcaa agcagactac gagaa 35

<210> 88
<211> 34
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>		
<223>	合成性引子	
<400>	88	
	caacagggtct cctggccgtc aggggtgctgc tgag	34
<210>	89	
<211>	35	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成性引子	
<400>	89	
	caacagggtct cagatcigcc accatgggat ggagc	35
<210>	90	
<211>	32	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成性引子	
<400>	90	
	caacagggtct catccgcttg atttccacct tg	32
<210>	91	
<211>	29	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成性引子	
<400>	91	
	caacagggtct cacggaccgt ggccgctcc	29
<210>	92	
<211>	29	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成性引子	
<400>	92	
	caacagctag cctatcagca ctgcctccg	29
<210>	93	
<211>	106	
<212>	PRT	
<213>	智人(Homo sapiens)	
<220>		
<221>	MISC_FEATURE	
<222>	(6)..(6)	
<223>	X = N或A	
<220>		
<221>	MISC_FEATURE	
<222>	(8)..(8)	
<223>	X = S或T	
<220>		
<221>	MISC_FEATURE	
<222>	(23)..(23)	
<223>	X = K、S、R、Q或E	

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (37)..(37)
<223> X = A或V

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (39)..(39)
<223> X = T或K

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (46)..(46)
<223> X = S或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(49)
<223> X = V、A或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(50)
<223> X = K或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(51)
<223> X = A或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (57)..(57)
<223> X = T、K或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (65)..(65)
<223> X = K、R或N

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (80)..(80)
<223> X = K或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = K或R

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (88)..(88)
<223> X = Q或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (103)..(103)
<223> X = A或T

<400> 93

Gly Gln Pro Lys Ala Xaa Pro Xaa Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Xaa Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Xaa Val Xaa Val Ala Trp Lys Ala Asp Xaa Ser Pro
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Gly Val Glu Thr Thr Xaa Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Xaa Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Xaa
65 70 75 80

Ser His Xaa Ser Tyr Ser Cys Xaa Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Xaa Glu Cys Ser
100 105

<210> 94
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> X = N或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> X = S或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (23)..(23)
<223> X = K · S · R · Q或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (37)..(37)
<223> X = A或V

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (39)..(39)
<223> X = T或K

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (46)..(46)
<223> X = S或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(49)
<223> X = V · A或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(50)
<223> X = K或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(51)
<223> X = A或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (57)..(57)
<223> X = T · K或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (65)..(65)
<223> X = K · R或N

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (80)..(80)
<223> X = K或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = K或R

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (88)..(88)
<223> X = Q或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (103)..(103)
<223> X = A或T

<400> 94

Gly Gln Pro Lys Ala Xaa Pro Xaa Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Xaa Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Xaa Val Xaa Val Ala Trp Lys Ala Asp Xaa Ser Pro
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Gly Val Glu Thr Thr Xaa Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Xaa Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Xaa
65 70 75 80

Lys His Xaa Ser Tyr Ser Cys Xaa Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Xaa Glu Cys Ser
100 105

<210> 95
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> X = N或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> X = S或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (23)..(23)
<223> X = K、S、R、Q或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (37)..(37)
<223> X = A或V

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (39)..(39)
<223> X = T或K

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (46)..(46)
<223> X = S或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(49)
<223> X = V·A或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(50)
<223> X = K或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(51)
<223> X = A或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (57)..(57)
<223> X = T·K或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (65)..(65)
<223> X = K·R或N

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (80)..(80)
<223> X = G·A·I·L·V·S·T·M·N·Q·F·Y·W·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = K或R

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (88)..(88)
<223> X = Q或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (103)..(103)
<223> X = A或T

<400> 95

Gly Gln Pro Lys Ala Xaa Pro Xaa Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Xaa Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Xaa Val Xaa Val Ala Trp Lys Ala Asp Xaa Ser Pro
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Gly Val Glu Thr Thr Xaa Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Xaa Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Xaa
65 70 75 80

Lys His Xaa Ser Tyr Ser Cys Xaa Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Xaa Glu Cys Ser
100 105

<210> 96
<211> 105
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> X = N或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> X = S或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (23)..(23)
<223> X = K · S · R · Q或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (37)..(37)
<223> X = A或V

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (39)..(39)
<223> X = T或K

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (46)..(46)
<223> X = S或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(49)
<223> X = V · A或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(50)
<223> X = K或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(51)
<223> X = A或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (57)..(57)
<223> X = T · K或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (65)..(65)
<223> X = K · R或N

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (77)..(77)
<223> X = R · L · S · G · Q · P · N · V · I · T或M

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (82)..(82)
<223> X = K或R

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (87)..(87)
<223> X = Q或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (102)..(102)
<223> X = A或T

<400> 96

Gly Gln Pro Lys Ala Xaa Pro Xaa Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Xaa Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Xaa Val Xaa Val Ala Trp Lys Ala Asp Xaa Ser Pro
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Gly Val Glu Thr Thr Xaa Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Xaa Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Xaa Gln Trp Lys
65 70 75 80

His Xaa Ser Tyr Ser Cys Xaa Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
85 90 95

Lys Thr Val Ala Pro Xaa Glu Cys Ser
100 105

<210> 97
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> X = N或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> X = S或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (23)..(23)
<223> X = K · S · R · Q或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (37)..(37)
<223> X = A或V

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (39)..(39)
<223> X = T或K

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (46)..(46)
<223> X = S或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(49)
<223> X = V、A或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(50)
<223> X = K或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(51)
<223> X = A或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (57)..(57)
<223> X = T、K或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (65)..(65)
<223> X = K、R或N

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (77)..(77)
<223> X = R、L、S、G、Q、P、N、V、I、T或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (80)..(80)
<223> X = G、A、I、L、V、S、T、M、N、Q、F、Y、W、D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = K或R

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (88)..(88)
<223> X = Q或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (103)..(103)
<223> X = A或T

<400> 97

Gly Gln Pro Lys Ala Xaa Pro Xaa Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Xaa Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Xaa Val Xaa Val Ala Trp Lys Ala Asp Xaa Ser Pro
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Gly Val Glu Thr Thr Xaa Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Xaa Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Xaa Gln Trp Xaa
65 70 75 80

Lys His Xaa Ser Tyr Ser Cys Xaa Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Xaa Glu Cys Ser
100 105

<210> 98
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 基於IgG圈環之合成性肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A、G、I、V、L、R、S、T、Q、P、N、M、H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何胺基酸

<400> 98
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 99
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 基於IgG圈環之合成性肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A、G、I、L、R、S、T、P、N或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何胺基酸

<400> 99
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 100
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 基於IgG圈環之合成性肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A、G、I、L、S、T、P或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何胺基酸

<400> 100

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 101
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 基於IgG圈環之合成性肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A、G、I、V、L、R、S、T、Q、P、N、M、H或W

<400> 101

Lys Ala Xaa Tyr Glu Lys His
1 5

<210> 102
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 基於IgG圈環之合成性肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A、G、I、L、R、S、T、P、N或M

<400> 102

Lys Ala Xaa Tyr Glu Lys His
1 5

<210> 103
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 基於IgG圈環之合成性肽

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> X = A、G、I、L、S、T、P或M

<400> 103

Lys Ala Xaa Tyr Glu Lys His
 1 5

<210> 104
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人CLk之突變版本

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (45)..(45)
 <223> X = V或A

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (77)..(77)
 <223> X = A、G、I、V、L、R、S、T、Q、P、N、M、H或W

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (82)..(82)
 <223> X = 任何胺基酸

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (83)..(83)
 <223> X = L或V

<400> 104

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Xaa Leu Gln Ser
 35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Xaa Tyr Glu Lys
 65 70 75 80

His Xaa Xaa Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 105
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (45)..(45)
<223> X = V或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (77)..(77)
<223> X = A、G、I、L、R、S、T、P、N或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (82)..(82)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = L或V

<400> 105
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Xaa Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Xaa Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Xaa Xaa Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 106
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (45)..(45)
<223> X = V或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (77)..(77)
<223> X = A、G、I、L、S、T、P或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (82)..(82)
<223> X = 任何氨基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = L或V

<400> 106
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Xaa Leu Gln Ser
35 40 45
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Xaa Tyr Glu Lys
65 70 75 80
His Xaa Xaa Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 107
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突变版本
<400> 107

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Glu Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 108
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 108

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asn Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 109
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 109

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Leu Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 110
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

Asn Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 111
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 111

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

Gln Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 112
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 112

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

Tyr Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 113
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 113

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

Trp Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 114
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 114

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

Phe Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 115
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 基於IgG圈環之合成性肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A、G、I、V、L、R、S、T、Q、P、N、M、H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何胺基酸

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> X = 任何胺基酸

<400> 115

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 116
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 基於IgG圈環之合成性肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A、G、I、L、R、S、T、P、N或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> X = 任何胺基酸

<400> 116

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 117
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 基於IgG圈環之合成性肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A、G、I、L、S、T、P或M

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> X = 任何胺基酸

<400> 117

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 118
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 基於IgG圈環之合成性肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A·G·I·L·V·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何芳香性胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> X = 任何胺基酸

<400> 118

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 119
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (43)..(43)
<223> X = D·E·N或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (45)..(45)
<223> X = V或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (76)..(76)

<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (77)..(77)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (78)..(78)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (79)..(79)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (82)..(82)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = L或V

<400> 119

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Xaa Asn Xaa Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Lys
65 70 75 80

His Xaa Xaa Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 120
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (43)..(43)
<223> X = D·E·N或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (45)..(45)
<223> X = V或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (76)..(76)
<223> X = 任何氨基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (77)..(77)
<223> X = A、G、I、V、L、R、S、T、Q、P、N、M、H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (78)..(78)
<223> X = 任何芳香性氨基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (79)..(79)
<223> X = 任何氨基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (82)..(82)
<223> X = 任何氨基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = L或V

<400> 120

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Xaa Asn Xaa Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Lys
65 70 75 80

His Xaa Xaa Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 121
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (43)..(43)
<223> X = D、E、N或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (45)..(45)
<223> X = V或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (76)..(76)
<223> X = 任何氨基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (77)..(77)
<223> X = A·G·I·L·S·T·P或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (78)..(78)
<223> X = 任何氨基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (79)..(79)
<223> X = 任何氨基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (82)..(82)
<223> X = 任何氨基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = L或V

<400> 121

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Xaa Asn Xaa Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Lys
65 70 75 80

His Xaa Xaa Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 122
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (43)..(43)
<223> X = D·E·N或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (45)..(45)
<223> X = V或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (76)..(76)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (77)..(77)
<223> X = A、G、I、L、S、T、P或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (78)..(78)
<223> X = 任何芳香性胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (79)..(79)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (82)..(82)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = L或V

<400> 122

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Xaa Asn Xaa Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Lys
65 70 75 80

His Xaa Xaa Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 123
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 基於IgG圈環之合成性肽

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A、G、I、L、V、R、S、T、Q、P、N或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何胺基酸

<400> 123
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 124
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 基於IgG圈環之合成性肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A、G、I、V、L、R、S、T、P或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何胺基酸

<400> 124
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 125
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 基於IgG圈環之合成性肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)
<223> X = A、G、I、V、L、S、T或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何胺基酸

<400> 125
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 126
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 基於IgG圈環之合成性肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A、G、I、L、S、T或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何胺基酸

<400> 126
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 127
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 127
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Ala Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Ala Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 128
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 128

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Ala Tyr Glu Lys
65 70 75 80

Ala Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 129
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<400> 129

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Ala Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Ala Tyr Glu Lys
65 70 75 80

Ala Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 130
<211> 104
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 兔CLk

<400> 130

Arg Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu Ile Phe Pro Pro Ala Ala Asp
1 5 10 15

Gln Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile Val Cys Val Ala Asn Lys Tyr
20 25 30

Phe Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu Val Asp Gly Thr Thr Gln Thr
35 40 45

Thr Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro Gln Asn Ser Ala Asp Cys Thr
50 55 60

Tyr Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Ser Thr Gln Tyr Asn Ser
65 70 75 80

His Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr Gln Gly Thr Thr Ser Val Val
85 90 95

Gln Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys
100

<210> 131
<211> 323
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 兔重鏈恆定區

<400> 131

Gly Gln Pro Lys Ala Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Cys Gly
1 5 10 15

Asp Thr Pro Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
20 25 30

Leu Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Thr Leu Thr Asn
35 40 45

Gly Val Arg Thr Phe Pro Ser Val Arg Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Ser Val Thr Ser Ser Ser Gln Pro Val Thr Cys
65 70 75 80

Asn Val Ala His Pro Ala Thr Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Ala
85 90 95

Pro Ser Thr Cys Ser Lys Pro Thr Cys Pro Pro Pro Glu Leu Leu Gly
100 105 110

Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
115 120 125

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
130 135 140

Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Thr Trp Tyr Ile Asn Asn Glu Gln Val
145 150 155 160

Arg Thr Ala Arg Pro Pro Leu Arg Glu Gln Gln Phe Asn Ser Thr Ile
165 170 175

Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile Ala His Gln Asp Trp Leu Arg Gly
180 185 190

Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val His Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
195 200 205

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln Pro Leu Glu Pro Lys Val
210 215 220

Tyr Thr Met Gly Pro Pro Arg Glu Glu Leu Ser Ser Arg Ser Val Ser
225 230 235 240

Leu Thr Cys Met Ile Asn Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ser Val Glu
245 250 255

Trp Glu Lys Asn Gly Lys Ala Glu Asp Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Ala
260 265 270

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Ser Val
275 280 285

Pro Thr Ser Glu Trp Gln Arg Gly Asp Val Phe Thr Cys Ser Val Met
290 295 300

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Ile Ser Arg Ser
305 310 315 320

Pro Gly Lys

<210> 132
<211> 211
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 曲妥珠單抗(trastuzu單株抗體)-兔kl嵌合體

<400> 132

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Asp Pro Val Ala
100 105 110

Pro Thr Val Leu Ile Phe Pro Pro Ala Ala Asp Gln Val Ala Thr Gly
115 120 125

Thr Val Thr Ile Val Cys Val Ala Asn Lys Tyr Phe Pro Asp Val Thr
130 135 140

Val Thr Trp Glu Val Asp Gly Thr Thr Gln Thr Thr Gly Ile Glu Asn
145 150 155 160

Ser Lys Thr Pro Gln Asn Ser Ala Asp Cys Thr Tyr Asn Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Thr Ser Thr Gln Tyr Asn Ser His Lys Glu Tyr Thr
180 185 190

Cys Lys Val Thr Gln Gly Thr Thr Ser Val Val Gln Ser Phe Asn Arg
195 200 205

Gly Asp Cys
210

<210> 133

<211> 443

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 曲妥珠單抗(trastuzu單株抗體)-兔IgG嵌合體

<400> 133

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gln Pro Lys Ala Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Cys Gly Asp Thr Pro Ser Ser Thr Val Thr
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Leu Pro Glu Pro Val Thr Val Thr
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Thr Leu Thr Asn Gly Val Arg Thr Phe Pro Ser Val
165 170 175

Arg Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Ser Val Thr
180 185 190

Ser Ser Ser Gln Pro Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Thr Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Ala Pro Ser Thr Cys Ser Lys Pro Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Thr
260 265 270

Trp Tyr Ile Asn Asn Glu Gln Val Arg Thr Ala Arg Pro Pro Leu Arg
275 280 285

Glu Gln Gln Phe Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile
290 295 300

Ala His Gln Asp Trp Leu Arg Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val His
305 310 315 320

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Arg
325 330 335

Gly Gln Pro Leu Glu Pro Lys Val Tyr Thr Met Gly Pro Pro Arg Glu
340 345 350

Glu Leu Ser Ser Arg Ser Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Asn Gly Phe
355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Lys Asn Gly Lys Ala Glu
370 375 380

Asp Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Ala Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr
385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Ser Val Pro Thr Ser Glu Trp Gln Arg Gly
405 410 415

Asp Val Phe Thr Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
420 425 430

Thr Gln Lys Ser Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 134
<211> 104
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 兔CLk之突變版本

<400> 134

Arg Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu Ile Phe Pro Pro Ala Ala Asp
1 5 10 15

Gln Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile Val Cys Val Ala Asn Lys Tyr
20 25 30

Phe Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu Val Asp Gly Thr Thr Gln Thr
35 40 45

Thr Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro Gln Asn Ser Ala Asp Cys Thr
50 55 60

Tyr Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Ser Thr Gln Tyr Asn Lys
65 70 75 80

His Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr Gln Gly Thr Thr Ser Val Val
85 90 95

Gln Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys
100

<210> 135
<211> 211
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 曲妥珠單抗(trastuzu單株抗體)-兔kl嵌合體

<400> 135

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Asp Pro Val Ala
100 105 110

Pro Thr Val Leu Ile Phe Pro Pro Ala Ala Asp Gln Val Ala Thr Gly
115 120 125

Thr Val Thr Ile Val Cys Val Ala Asn Lys Tyr Phe Pro Asp Val Thr
130 135 140

Val Thr Trp Glu Val Asp Gly Thr Thr Gln Thr Thr Gly Ile Glu Asn
145 150 155 160

Ser Lys Thr Pro Gln Asn Ser Ala Asp Cys Thr Tyr Asn Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Thr Ser Thr Gln Tyr Asn Lys His Lys Glu Tyr Thr
180 185 190

Cys Lys Val Thr Gln Gly Thr Thr Ser Val Val Gln Ser Phe Asn Arg
195 200 205

Gly Asp Cys
210

<210> 136
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 136

Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Gly Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asp Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Asn Ser
85 90 95

Leu Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 137
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 137

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Tyr Thr Gly Ser Ala Phe Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Arg Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Pro Glu Lys Phe Asp Ser Asp Asp Ser Asp Val Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 138
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 138

Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Gly Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asp Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Asn Ser
85 90 95

Leu Ser Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 139
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 139

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 140
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人κ及λ之融合

<400> 140

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Lys His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 141
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人κ及λ之融合

<400> 141

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Ala Trp Lys
65 70 75 80

Lys His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 142
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人κ及λ之融合

<400> 142

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Val Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Lys His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 143
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人κ及λ之融合

<400> 143

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Val Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Ala Trp Lys
65 70 75 80

Lys His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 144
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人κ及λ之融合

<400> 144

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Lys Ala Ala Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 145
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 源自人λ鏈之合成性序列

<400> 145

Lys Ala Ala Tyr Glu Lys His Lys Val
1 5

<210> 146
<211> 214
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成性單株抗體

<400> 146

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Ala His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 147

<211> 98

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成性單株抗體

<400> 147

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Lys Val

<210> 148
<211> 98
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 148

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Glu Lys His Lys Val
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Lys Val

<210> 149
<211> 99
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 149

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Asp Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Glu Lys His Lys
65 70 75 80

Val Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val

<210> 150
<211> 99
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體
<400> 150

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Tyr Glu Lys His Lys
65 70 75 80

Val Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val

<210> 151
<211> 100
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體
<400> 151

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Asp Gly Ala Leu Thr
35 40 45
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Tyr Glu Lys His
65 70 75 80
Lys Val Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
85 90 95
Asp Lys Lys Val
100

<210> 152
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> hIGgl-CH1區段移除

<400> 152

Leu Gly Thr Gln Thr
1 5

<210> 153
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> M1插入物

<400> 153

Glu Lys His Lys Val
1 5

<210> 154
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> M2插入物

<400> 154

Tyr Glu Lys His Lys Val
1 5

<210> 155
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 155

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100 105 110

<210> 156
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 156

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80
Gln Asp Trp Leu Lys His Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100 105 110

<210> 157
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 157

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
1 5 10 15
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
100 105

<210> 158
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 158

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
1 5 10 15
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Lys His
65 70 75 80
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
100 105

<210> 159
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 159

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 160
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 160

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Asp Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Glu Lys His Lys Val Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 290 295 300
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 161
<211> 452
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 161

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Asp Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly Lys
450

<210> 162
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 162

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Lys His Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 163
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 163

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Lys His Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 164
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 艾塞那肽(Exendin 4)之合成性類似物

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = Aib

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (14)..(14)
<223> X = KSH

<400> 164

His Xaa Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Xaa Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 165
<211> 100
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 165

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Ala
35 40 45

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Glu Lys His
65 70 75 80

Lys Val Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
85 90 95

Asp Lys Lys Val
100

<210> 166
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性Ig CD圈環序列

<400> 166

Lys Val Asp Asn Ala Leu Ala
1 5

<210> 167
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 167

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Ala Trp Leu Lys His Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100 105 110

<210> 168
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 168

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
1 5 10 15

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Val Asp Gly Gln Pro Glu
35 40 45
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Ala Trp Gln Lys His
65 70 75 80
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
100 105

<210> 169
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性單株抗體

<400> 169

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
1 5 10 15
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Leu Glu Gly Gln Pro Glu
35 40 45
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Ala Trp Gln Lys His
65 70 75 80
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
100 105

<210> 170
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A · V · L · I · F · W · Y · S · T · M · N · Q · K · R · H · D · E · G或P

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D·E·G或P

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D·E·G或P

<400> 170
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 171
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D·E或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D·E或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D·E或G

<400> 171
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 172
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)

<223> X = A · V · L · I · F · W · Y · S · T · M · N · Q · K · R · H · D或E

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X = A · V · L · I · F · W · Y · S · T · M · N · Q · K · R · H · D或E

<400> 172

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 173

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> Ig EF圈環

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> X = A · V · L · I · F · W · Y · S · T · M · N · Q · K · R · H · D或E

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> X = A · G · I · V · L · R · S · T · Q · P · N · M · H或W

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> X = L · I · F · W · Y · S · T · M · N · Q · K · R · H · D或E

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X = A · V · L · I · F · W · Y · S · T · M · N · Q · K · R · H · D或E

<400> 173

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 174

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> Ig EF圈環

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> X = A · V · L · I · F · W · Y · S · T · M · N · Q · K · R · H · D或E

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> X = A · G · I · V · L · R · S · T · Q · P · N · M · H或W

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> X = L · I · F · W · Y · M · N · Q · K · R · H · D或E

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X = A · V · L · I · F · W · Y · S · T · M · N · Q · K · R · H · D或E

<400> 174
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 175
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W·Y·N·Q·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 175
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 176
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W或Y

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 176
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 177
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W或Y

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 177
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 178
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 178
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 179
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 179
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 180
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 180
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 181
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)
<223> X = V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W·Y·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 181
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 182
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W·Y·N·Q·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·D或E

<400> 182
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 183
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)

<223> X = A · G · I · V · L · R · S · T · Q · P · N · M · H或W

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> X = L · I · F · W或Y

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X = A · V · L · I · S · T · M · N · Q · K · R · D或E

<400> 183

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 184

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> Ig EF圈環

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> X = A · V · L · I · F · W · Y · S · T · M · N · Q · K · R · H · D或E

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> X = A · G · I · V · L · R · S · T · Q · P · N · M · H或W

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> X = L · I · F · W或Y

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X = N · Q · K · R · D或E

<400> 184

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 185

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> Ig EF圈環

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> X = A · V · L · I · F · W · Y · S · T · M · N · Q · K · R · H · D或E

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> X = A · G · I · V · L · R · S · T · Q · P · N · M · H或W

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> X = A · V · L · I · F · W · Y · S · T · M · N · Q · K · R · H · D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = N·Q·K·R·D或E

<400> 185
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 186
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 186
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 187
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 187
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 188
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A、V、L、I、S、T、M或N

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A、G、I、V、L、R、S、T、Q、P、N、M、H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A、V、L、I、F、W、Y、S、T、M、N、Q、K、R、H、D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A、V、L、I、F、W、Y、S、T、M、N、Q、K、R、H、D或E

<400> 188
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 189
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A、V、L、I或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A、G、I、V、L、R、S、T、Q、P、N、M、H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> ..(3)
<223> X = A、V、L、I、F、W、Y、S、T、M、N、Q、K、R、H、D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A、V、L、I、F、W、Y、S、T、M、N、Q、K、R、H、D或E

<400> 189
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 190
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 190
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 191
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 191
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 192
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 192

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 193
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W·Y·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 193

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 194
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)

<223> X = A · V · L · I · S · T · M · N或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A · G · I · V · L · R · S · T · Q · P · N · M · H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L · I · F · W · Y · N · Q · D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A · V · L · I · S · T · M · N · Q · K · R · D或E

<400> 194

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 195
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A · V · L或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A · G · I · V · L · R · S · T · Q · P · N · M · H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L · I · F · W或Y

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A · V · L · I · S · T · M · N · Q · K · R · D或E

<400> 195

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 196
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A · V · L或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A · G · I · V · L · R · S · T · Q · P · N · M · H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L · I · F · W或Y

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = N · Q · K · R · D或E

<400> 196
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 197
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A · V · L · I · F · W · Y · S · T · M · N · Q · K · R · H · D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = G · I · V · L · R · S · T · Q · P · N · M或H

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A · V · L · I · F · W · Y · S · T · M · N · Q · K · R · H · D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A · V · L · I · S · T · M · N · Q · K · R · H · D或E

<400> 197
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 198
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A · V · L · I · F · W · Y · S · T · M · N · Q · K · R · H · D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = G · I · V · L · R · S · T · Q · P · N · M · H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A · V · L · I · S · T · M · N · Q · K · R · D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 198

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 199
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D·E·G或P

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D·E·G或P

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D·E·G或P

<400> 199

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 200
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D·E或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D·E或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D·E或G

<400> 200

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 201
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 201

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 202
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·R·S·T·Q·P·N·M·H或W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 202

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 203

<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·V·S·T·Q·P·N·M或H

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W·Y·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 203
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 204
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·V·S·T·Q·P·N·M或H

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X =L·I·F·W·Y·N·Q·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 204
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 205
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·S·T·P或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W或Y

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 205
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 206
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·S·T·P或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W或Y

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 206
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 207
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·S·T·P或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 207

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 208
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·S·T·P或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W·Y·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 208

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 209
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·S·T·P或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W·Y·N·Q·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·D或E

<400> 209
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 210
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·S·T·P或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W或Y

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·D或E

<400> 210
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 211
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·S·T·P或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W或Y

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = N·Q·K·R·D或E

<400> 211

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 212
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·S·T·Q·P·N·M或H

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = N·Q·K·R·D或E

<400> 212

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 213
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·S·T·Q·P·N·M或H

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 213

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 214
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·S·T·Q·P·N·M或H

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 214

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 215
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M或N

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·S·T·Q·P·N·M或H

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 215

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 216
<211> 6

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·S·T·Q·P·N·M或H

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 216
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 217
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·S·T·Q·P·N·M或H

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 217
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 218
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·S·T·Q·P·N·M或H

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 218

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 219
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A·G·I·V·L·S·T·Q·P·N·M或H

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L·I·F·W·Y·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·H·D或E

<400> 219

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 220
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·R·H·D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A、G、I、V、L、S、T、Q、P、N、M或H

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L、I、F、W、Y、M、N、Q、K、R、H、D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A、V、L、I、S、T、M、N、Q、K、R、H、D或E

<400> 220

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 221
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A、V、L、I、S、T、M、N或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A、G、S、T或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L、I、F、W、Y、N、Q、D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A、V、L、I、S、T、M、N、Q、K、R、D或E

<400> 221

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 222
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A、V、L或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A、G、S、T或M

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L、I、F、W或Y

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = A、V、L、I、S、T、M、N、Q、K、R、D或 E

<400> 222
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 223
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A、V、L或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A、G、S、T或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L、I、F、W或Y

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = N、Q、K、R、D或E

<400> 223
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 224
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig EF圈環

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = A、V、L、I、F、W、Y、S、T、M、N、Q、K、R、H、D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = A、G、S、T或M

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = L、I、F、W、Y、N、Q、D或E

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)
<223> X = A·V·L·I·S·T·M·N·Q·K·R·D或E

<400> 224
Xaa Xaa Xaa Xaa Lys His
1 5

<210> 225
<211> 75
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (42)..(42)
<223> X = V·I或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (43)..(43)
<223> X = D·E·N或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (45)..(45)
<223> X = V或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (75)..(75)
<223> X = 任何胺基酸

<400> 225
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Xaa Xaa Asn Xaa Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Xaa
65 70 75

<210> 226
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CLk之突變版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)
<223> X = L或V

<400> 226

Xaa Xaa Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
1 5 10 15

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
20 25

<210> 227
<211> 76
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CL λ 之版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> X = N或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> X = S或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (23)..(23)
<223> X = K、S、R、Q或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (37)..(37)
<223> X = A或V

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (39)..(39)
<223> X = T或K

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (46)..(46)
<223> X = S或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(49)
<223> X = V、A或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(50)
<223> X = K或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(51)
<223> X = A或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (57)..(57)
<223> X = T、K或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (65)..(65)
<223> X = K、R或N

<400> 227
Gly Gln Pro Lys Ala Xaa Pro Xaa Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15
Glu Glu Leu Gln Ala Asn Xaa Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30
Phe Tyr Pro Gly Xaa Val Xaa Val Ala Trp Lys Ala Asp Xaa Ser Pro
35 40 45
Xaa Xaa Xaa Gly Val Glu Thr Thr Xaa Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60
Xaa Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro
65 70 75

<210> 228
<211> 76
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CL λ之版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> X = N或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> X = S或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (23)..(23)
<223> X = K、S、R、Q或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (37)..(37)
<223> X = A或V

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (39)..(39)
<223> X = T或K

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (44)..(44)
<223> X = A、V、I或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (46)..(46)
<223> X = S或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(49)
<223> X = V、A或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(50)
<223> X = K或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(51)
<223> X = A或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (57)..(57)
<223> X = T、K或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (65)..(65)
<223> X = K、R或N

<400> 228

Gly Gln Pro Lys Ala Xaa Pro Xaa Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Xaa Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Xaa Val Xaa Val Ala Trp Lys Xaa Asp Xaa Ser Pro
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Gly Val Glu Thr Thr Xaa Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Xaa Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro
65 70 75

<210> 229
<211> 76
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CL λ之版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> X = N或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> X = S或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (23)..(23)
<223> X = K、S、R、R、Q或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (37)..(37)
<223> X = A或V

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (39)..(39)
<223> X = T或K

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (44)..(44)
<223> X = V、I或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (46)..(46)
<223> X = S或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(49)
<223> X = V、A或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(50)
<223> X = K或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(51)
<223> X = A或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (57)..(57)
<223> X = T、K或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (65)..(65)
<223> X = K、R或N

<400> 229

Gly Gln Pro Lys Ala Xaa Pro Xaa Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Xaa Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Xaa Val Xaa Val Ala Trp Lys Xaa Asp Xaa Ser Pro
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Gly Val Glu Thr Thr Xaa Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Xaa Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro
65 70 75

<210> 230
<211> 76
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CL λ 之版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> X = N或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> X = S或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (23)..(23)
<223> X = K、S、R、Q或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (37)..(37)
<223> X = A或V

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (39)..(39)
<223> X = T或K

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (46)..(46)
<223> X = S或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(49)
<223> X = V、A或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(50)
<223> X = K或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(51)
<223> X = A或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (57)..(57)
<223> X = T、K或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (65)..(65)
<223> X = K、R或N

<400> 230
Gly Gln Pro Lys Ala Xaa Pro Xaa Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15
Glu Glu Leu Gln Ala Asn Xaa Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30
Phe Tyr Pro Gly Xaa Val Xaa Val Ala Trp Lys Val Asp Xaa Ser Pro
35 40 45
Xaa Xaa Xaa Gly Val Glu Thr Thr Xaa Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60
Xaa Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro
65 70 75

<210> 231
<211> 76
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CL λ 之版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (44)..(44)
<223> X = A、V、I或L

<400> 231
Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15
Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30
Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Xaa Asp Ser Ser Pro
35 40 45
Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60
Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro
65 70 75

<210> 232
<211> 76
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CL λ之版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (44)..(44)
<223> X = V·I或L

<400> 232
Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15
Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30
Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Xaa Asp Ser Ser Pro
35 40 45
Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60
Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro
65 70 75

<210> 233
<211> 76
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CL λ之版本

<400> 233
Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15
Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Val Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro
65 70 75

<210> 234
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CL λ 之版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = K或R

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> X = Q或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (21)..(21)
<223> X = A或T

<400> 234

Xaa Ser Tyr Ser Cys Xaa Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
1 5 10 15

Thr Val Ala Pro Xaa Glu Cys Ser
20

<210> 235
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CL λ 之版本

<400> 235

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
1 5 10 15

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
20

<210> 236
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CL λ 之版本

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)
<223> X = N或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> X = S或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (23)..(23)
<223> X = K、S、R、Q或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (37)..(37)
<223> X = A或V

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (39)..(39)
<223> X = T或K

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (44)..(44)
<223> X = A、V、I或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (46)..(46)
<223> X = S或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(49)
<223> X = V、A或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(50)
<223> X = K或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(51)
<223> X = A或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (57)..(57)
<223> X = T、K或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (65)..(65)
<223> X = K、R或N

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (78)..(78)
<223> X = A或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (80)..(80)
<223> X = K或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = K或R

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (88)..(88)

<223> X = Q或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (103)..(103)
<223> X = A或T

<400> 236

Gly Gln Pro Lys Ala Xaa Pro Xaa Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Xaa Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Xaa Val Xaa Val Ala Trp Lys Xaa Asp Xaa Ser Pro
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Gly Val Glu Thr Thr Xaa Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Xaa Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Xaa Trp Xaa
65 70 75 80

Lys His Xaa Ser Tyr Ser Cys Xaa Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Xaa Glu Cys Ser
100 105

<210> 237
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CL λ 之版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> X = N或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> X = S或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (23)..(23)
<223> X = K、S、R、Q或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (37)..(37)
<223> X = A或V

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (39)..(39)
<223> X = T或K

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (44)..(44)
<223> X = V、I或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (46)..(46)
<223> X = S或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(49)
<223> X = V · A或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(50)
<223> X = K或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(51)
<223> X = A或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (57)..(57)
<223> X = T · K或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (65)..(65)
<223> X = K · R或N

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (78)..(78)
<223> X = A或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (80)..(80)
<223> X = K或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = K或R

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (88)..(88)
<223> X = Q或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (103)..(103)
<223> X = A或T

<400> 237

Gly Gln Pro Lys Ala Xaa Pro Xaa Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Xaa Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Xaa Val Xaa Val Ala Trp Lys Xaa Asp Xaa Ser Pro
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Gly Val Glu Thr Thr Xaa Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Xaa Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Xaa Trp Xaa
65 70 75 80

Lys His Xaa Ser Tyr Ser Cys Xaa Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Xaa Glu Cys Ser
100 105

<210> 238
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CL λ之版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> X = N或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> X = S或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (23)..(23)
<223> X = K、S、R、Q或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (37)..(37)
<223> X = A或V

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (39)..(39)
<223> X = T或K

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (46)..(46)
<223> X = S或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(49)
<223> X = V、A或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(50)
<223> X = K或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(51)
<223> X = A或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (57)..(57)
<223> X = T、K或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (65)..(65)
<223> X = K、R或N

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (78)..(78)

<223> X = A或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (80)..(80)
<223> X = K或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = K或R

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (88)..(88)
<223> X = Q或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (103)..(103)
<223> X = A或T

<400> 238

Gly Gln Pro Lys Ala Xaa Pro Xaa Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Xaa Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Xaa Val Xaa Val Ala Trp Lys Val Asp Xaa Ser Pro
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Gly Val Glu Thr Thr Xaa Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Xaa Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Xaa Trp Xaa
65 70 75 80

Lys His Xaa Ser Tyr Ser Cys Xaa Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Xaa Glu Cys Ser
100 105

<210> 239
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CL λ之版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> X = N或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> X = S或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (23)..(23)
<223> X = K、S、R、Q或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (37)..(37)
<223> X = A或V

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (39)..(39)
<223> X = T或K

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (44)..(44)
<223> X = A、V、I或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (46)..(46)
<223> X = S或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(49)
<223> X = V、A或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(50)
<223> X = K或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(51)
<223> X = A或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (57)..(57)
<223> X = T、K或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (65)..(65)
<223> X = K、R或N

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (80)..(80)
<223> X = K或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = K或R

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (88)..(88)
<223> X = Q或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (103)..(103)
<223> X = A或T

<400> 239

Gly Gln Pro Lys Ala Xaa Pro Xaa Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Xaa Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Xaa Val Xaa Val Ala Trp Lys Xaa Asp Xaa Ser Pro
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Gly Val Glu Thr Thr Xaa Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Xaa Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Ala Trp Xaa
65 70 75 80

Lys His Xaa Ser Tyr Ser Cys Xaa Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Xaa Glu Cys Ser
100 105

<210> 240
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CL λ之版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> X = N或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> X = S或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (23)..(23)
<223> X = K、S、R、Q或E

<220>
<221> misc_feature
<222> (37)..(37)
<223> Xaa可為任何天然發生之胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (39)..(39)
<223> X = T或K

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (44)..(44)
<223> X = V、I或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (46)..(46)
<223> X = S或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(49)
<223> X = V、A或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(50)
<223> X = K或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(51)

<223> X = A或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (57)..(57)
<223> X = T、K或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (65)..(65)
<223> X = K、R或N

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (80)..(80)
<223> X = K或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = K或R

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (88)..(88)
<223> X = Q或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (103)..(103)
<223> X = A或T

<400> 240

Gly Gln Pro Lys Ala Xaa Pro Xaa Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Xaa Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Xaa Val Xaa Val Ala Trp Lys Xaa Asp Xaa Ser Pro
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Gly Val Glu Thr Thr Xaa Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Xaa Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Ala Trp Xaa
65 70 75 80

Lys His Xaa Ser Tyr Ser Cys Xaa Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Xaa Glu Cys Ser
100 105

<210> 241
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CL λ之版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> X = N或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> X = S或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (23)..(23)
<223> X = K · S · R · Q或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (37)..(37)
<223> X = A或V

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (39)..(39)
<223> X = T或K

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (46)..(46)
<223> X = S或G

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(49)
<223> X = V · A或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(50)
<223> X = K或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(51)
<223> X = A或T

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (57)..(57)
<223> X = T · K或A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (65)..(65)
<223> X = K · R或N

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (80)..(80)
<223> X = K或Q

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (83)..(83)
<223> X = K或R

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (88)..(88)
<223> X = Q或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (103)..(103)
<223> X = A或T

<400> 241

Gly Gln Pro Lys Ala Xaa Pro Xaa Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Xaa Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30
Phe Tyr Pro Gly Xaa Val Xaa Val Ala Trp Lys Val Asp Xaa Ser Pro
35 40 45
Xaa Xaa Xaa Gly Val Glu Thr Thr Xaa Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60
Xaa Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Ala Trp Xaa
65 70 75 80
Lys His Xaa Ser Tyr Ser Cys Xaa Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95
Glu Lys Thr Val Ala Pro Xaa Glu Cys Ser
100 105

<210> 242
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CL λ之版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (44)..(44)
<223> X = A·V·I或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (78)..(78)
<223> X = A

<400> 242

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15
Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30
Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Xaa Asp Ser Ser Pro
35 40 45
Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60
Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Xaa Trp Lys
65 70 75 80
Lys His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95
Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 243
<211> 106
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人CL λ之版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (44)..(44)
<223> X = V·I或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (78)..(78)
<223> X = A

<400> 243

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15
Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30
Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Xaa Asp Ser Ser Pro
35 40 45
Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60
Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Xaa Trp Lys
65 70 75 80
Lys His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95
Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 244
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人CL λ之版本

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (78)..(78)
<223> X = A

<400> 244

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15
Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30
Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Val Asp Ser Ser Pro
35 40 45
Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Xaa Trp Lys
65 70 75 80

Lys His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 245
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig CD圈環序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = V、I或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = D、N、Q或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何胺基酸

<400> 245
Xaa Xaa Xaa Xaa
1

<210> 246
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig CD圈環序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = V或I

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = D、N、Q或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)

<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(4)
<223> X = 任何胺基酸

<400> 246

Xaa Xaa Xaa Xaa
1

<210> 247
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig CD圈環序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = D、N、Q或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何胺基酸

<400> 247

Val Xaa Xaa Xaa
1

<210> 248
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig CD圈環序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = V、I或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = D或N

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何胺基酸

<400> 248

Xaa Xaa Xaa Xaa
1

<210> 249
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig CD圈環序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = V·I或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = Q或E

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何胺基酸

<400> 249
Xaa Xaa Xaa Xaa
1

<210> 250
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig CD圈環序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = V·I或L

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = 任何胺基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何胺基酸

<400> 250
Xaa Asp Xaa Xaa
1

<210> 251
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig CD圈環序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = 任何氨基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何氨基酸

<400> 251
Val Asp Xaa Xaa
1

<210> 252
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig CD圈環序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = 任何氨基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何氨基酸

<400> 252
Leu Glu Xaa Xaa
1

<210> 253
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ig CD圈環序列

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = 任何氨基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何氨基酸

<400> 253
Ile Glu Xaa Xaa
1

<210> 254
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> h38C2 LC-D185A

<400> 254

Glu Leu Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Thr
20 25 30
Tyr Gly Ser Pro Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Ser Gln Gly
85 90 95
Thr His Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Ala Tyr Glu
180 185 190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 255
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成性

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X = 任何氨基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X = 任何氨基酸

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X = 任何氨基酸

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X = 任何氨基酸

<400> 255

Xaa Xaa Xaa Xaa
1

發明摘要

※申請案號：102100422

※申請日：102 年 01 月 07 日

※IPC 分類：

C07K 16/18 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

突變抗體及其共軛

Mutant antibodies and conjugation thereof

【中文】

本發明關於一種多肽，其包含 7 個藉由連接胺基酸之鏈被依序連在一起之 β 股 A、B、C、D、E、F 及 G，及依序位於 β 股 E 及 F 之間的 EF 鏈上之第一 α 螺旋，其中該等 β 股係經安排以形成包含 β 股 A、B、D 及 E 之第一 β 摺板，以及包含 β 股 C、F 及 G 之第二 β 摺板，該第一及第二 β 摺板係經共價鍵結合以形成第一 Ig 結構域；其中在 β 股 E 及 F 之間的 EF 鏈包含序列 $X^1-X^2-X^3-X^4-K^5H^6$ (SEQ ID NO:98)，且 X^1 、 X^3 及 X^4 各自獨立為任何胺基酸殘基，其特徵在於 X^2 係選自 A、G、I、V、L、R、S、T、Q、P、N、M、H 及 W，亦關於該多肽之醫藥上可接受之鹽、立體異構物、互變異構物、溶劑合物及前藥。

【 英文 】

The present invention relates to a polypeptide comprising 7 β -strands A, B, C, D, E, F, and G sequentially connected together by connecting chains of amino acids, and a first α -helix sequentially located on the EF chain between β -strands E and F, wherein the β -strands are arranged so as to form a first β -sheet comprising β -strands A, B, D, and E, and a second β -sheet comprising β -strands C, F and G, said first and second β -sheets being covalently bonded together so as to form a first Ig domain; wherein the EF chain between β -strands E and F comprises the sequence X^1 - X^2 - X^3 - X^4 -K⁵H⁶ (SEQ ID NO:98), and X^1 , X^3 and X^4 are each independently any amino acid residue, characterized in that X^2 is selected from the group consisting of A, G, I, V, L, R, S, T, Q, P, N, M, H, W, and pharmaceutically acceptable salts, stereoisomers, tautomers, solvates, and prodrugs thereof

申請專利範圍

1.一種多肽，其包含免疫球蛋白結構域，該免疫球蛋白結構域包含 7 個藉由連接胺基酸之鏈被依序連在一起之 β 股 A、B、C、D、E、F 及 G，

其中該等 β 股係經安排以形成包含 β 股 A、B、D 及 E 之第一 β 摺板，以及包含 β 股 C、F 及 G 之第二 β 摺板，該第一及第二 β 摺板係經共價鍵結合，

其中 β 股 E 及 F 係藉由 EF 鏈連接，且該 EF 鏈包含序列：

$X^1-X^2-X^3-X^4-K^5-H^6$ (SEQ ID NO:98)，且其中 X^1 、 X^3 及 X^4 各自獨立為任何胺基酸殘基，且

特徵在於 X^2 係選自 A、G、I、V、L、R、S、T、Q、P、N、M、H 及 W，以及

該多肽之醫藥上可接受之鹽、立體異構物、互變異構物、溶劑合物及前藥。

2.如申請專利範圍第 1 項所述之多肽，其中該 EF 鏈包含選自下列之序列：SEQ ID NO:99, SEQ ID

NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:115, SEQ ID NO:116, SEQ ID NO:117, SEQ ID NO:118, SEQ ID NO:123, SEQ ID NO:124, SEQ ID NO:125, SEQ ID NO:126, SEQ ID NO:170, SEQ ID NO:171, SEQ ID NO:172, SEQ ID NO:173, SEQ ID NO:174, SEQ ID NO:175, SEQ ID NO:176, SEQ ID NO:177, SEQ ID NO:178, SEQ ID NO:179, SEQ ID NO:180, SEQ ID NO:181, SEQ ID NO:182, SEQ ID NO:183, SEQ ID NO:184, SEQ ID NO:185, SEQ ID NO:186, SEQ ID NO:187, SEQ ID NO:188, SEQ ID NO:189, SEQ ID NO:190, SEQ ID NO:191, SEQ ID NO:192, SEQ ID NO:193, SEQ ID NO:194, SEQ ID NO:195, SEQ ID NO:196, SEQ ID NO:197, SEQ ID NO:198,

SEQ ID NO:199, SEQ ID NO:200, SEQ ID NO:201, SEQ ID NO:202, SEQ ID NO:203, SEQ ID NO:204, SEQ ID NO:205, SEQ ID NO:206, SEQ ID NO:207, SEQ ID NO:208, SEQ ID NO:209, SEQ ID NO:210, SEQ ID NO:211, SEQ ID NO:212, SEQ ID NO:213, SEQ ID NO:214, SEQ ID NO:215, SEQ ID NO:216, SEQ ID NO:217, SEQ ID NO:218, SEQ ID NO:219, SEQ ID NO:220, SEQ ID NO:221, SEQ ID NO:222, SEQ ID NO:223, 及 SEQ ID NO:224。

3.如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之多肽，其中該 EF 鏈係介於 6 至 12 個殘基長度。

4.如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之多肽，其中該 EF 鏈係介於 7 至 11 個殘基長度。

5.如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之多肽，其中該 EF 鏈係介於 8 至 10 個殘基長度。

6.如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之多肽，其中該 EF 鏈包含 α 螺旋。

7.如申請專利範圍第 6 項所述之多肽，其中在該 EF 鏈上之 α 螺旋包含殘基 X^1 及 X^2 。

8.如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之多肽，其中 β 股 C 及 D 係藉由 CD 鏈連接，該 CD 鏈包含選自 SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251、SEQ ID NO:252 及 SEQ ID NO:253 之 CD 模體 (motif)，該 CD 模體始於該 CD 鏈之第一或第二殘基。

9.如申請專利範圍第 8 項所述之多肽，其中該 CD 模體係 SEQ ID NO:251。

10.如申請專利範圍第 8 項所述之多肽，其中該 CD 模體不形成 α 螺旋之部分。

11.如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之多肽，其中 β 股 C 及 D 係藉由 CD 鏈連接，且該 CD 鏈係介於 6 至 12 個殘基長度。

12.如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之多肽，其中該免疫球蛋白結構域係抗體恆定結構域。

13.一種多肽，其包含抗體恆定結構域，該抗體恆定結構域包含當該抗體恆定結構域與 SEQ ID NO:6 之序列排比時，在對應 SEQ ID NO:6 之位置 80 及 81 的位置之殘基 K 及 H，且其特徵為該抗體恆定結構域在對應 SEQ ID NO:6 之位置 77 的位置另包含選自 A、G、I、V、L、R、S、T、Q、P、N、M、H 及 W 之殘基，及該多肽之醫藥上可接受之鹽、立體異構物、互變異構物、溶劑合物及前藥。

14.如申請專利範圍第 13 項所述之多肽，其在對應 SEQ ID NO:6 之殘基 42 的位置另包含選自 V、I 及 L 之殘基。

15.如申請專利範圍第 1 至 2 及 13 至 14 項中任一項所述之多肽，其在對應 SEQ ID NO:6 之殘基 43 的位置另包含選自 D、E、N 及 Q 之殘基。

16.如申請專利範圍第 1 至 2 及 13 至 14 項中任一項所述之多肽，其中在對應 SEQ ID NO:6 之殘基 42 及 43 的位置之殘基不呈 α 螺旋形式。

17.如申請專利範圍第 1 至 2 及 13 至 14 項中任一項所述之多肽，其中 X^2 或在對應 SEQ ID NO:6 之殘基 77 的

位置之殘基係選自 A、G、I、L、R、S、T、P、N 及 M。

18.如申請專利範圍第 1 至 2 及 13 至 14 項中任一項所述之多肽，其中 X²或在對應 SEQ ID NO:6 之殘基 77 的位置之殘基係選自 A、G、I、L、S、T、P 及 M。

19.如申請專利範圍第 1 至 2 及 13 至 14 項中任一項所述之多肽，其中 X²或在對應 SEQ ID NO:6 之殘基 77 的位置之殘基係選自 A、G、S、T、P 或 M。

20.如申請專利範圍第 1 至 2 及 13 至 14 項中任一項所述之多肽，其中該多肽係哺乳動物抗體恆定結構域。

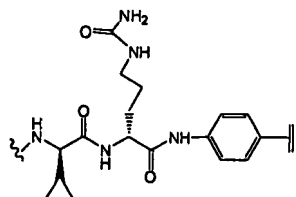
21.如申請專利範圍第 17 項所述之多肽，其中該哺乳動物抗體恆定結構域係人化或人結構域。

22.如申請專利範圍第 20 項所述之多肽，其中該恆定結構域係與抗體可變結構域連接。

23.如申請專利範圍第 1 至 2 及 13 至 14 項中任一項所述之多肽，其中 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 的側鏈之 ϵ -胺基，或位於對應 SEQ ID NO:6 之殘基 80 的位置之 K 的側鏈之 ϵ -胺基，係與連接子共價連接。

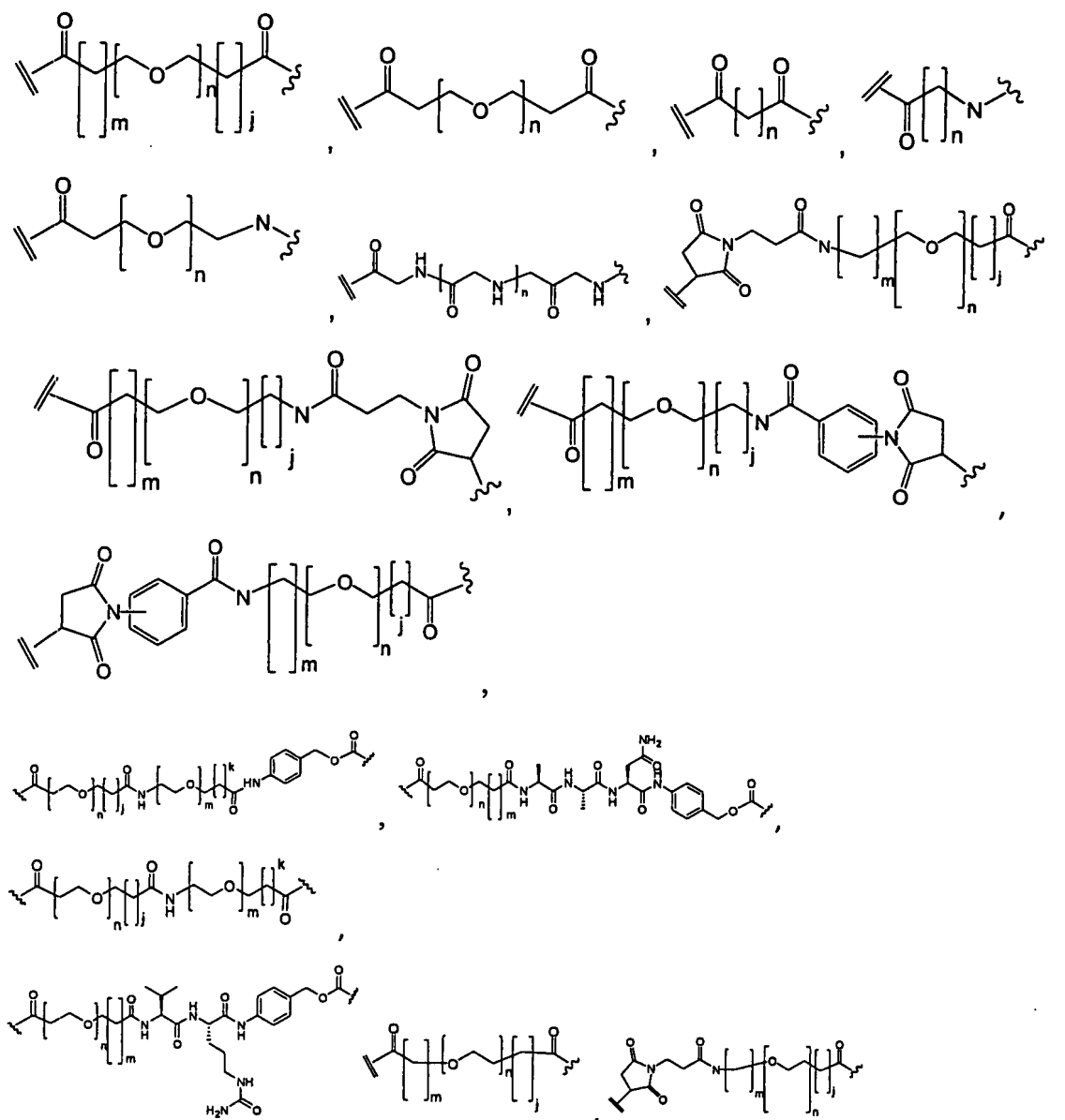
24.如申請專利範圍第 23 項所述之多肽，其中該連接子包含選自 X¹-Y¹-Z¹、X¹- Φ -Y¹-Z¹ 及 X¹-Y¹- Φ -Z 之式，其中 Φ 係可切割之基團，X¹ 係與至少一個效應物部分 (effector moiety) 可共價連接之基團，Y¹ 係線性或分支連接鏈，且 Z 係與 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 的側鏈之 ϵ -胺基或位於對應 SEQ ID NO:6 之殘基 80 的位置之 K 的側鏈之 ϵ -胺基共價連接之基團。

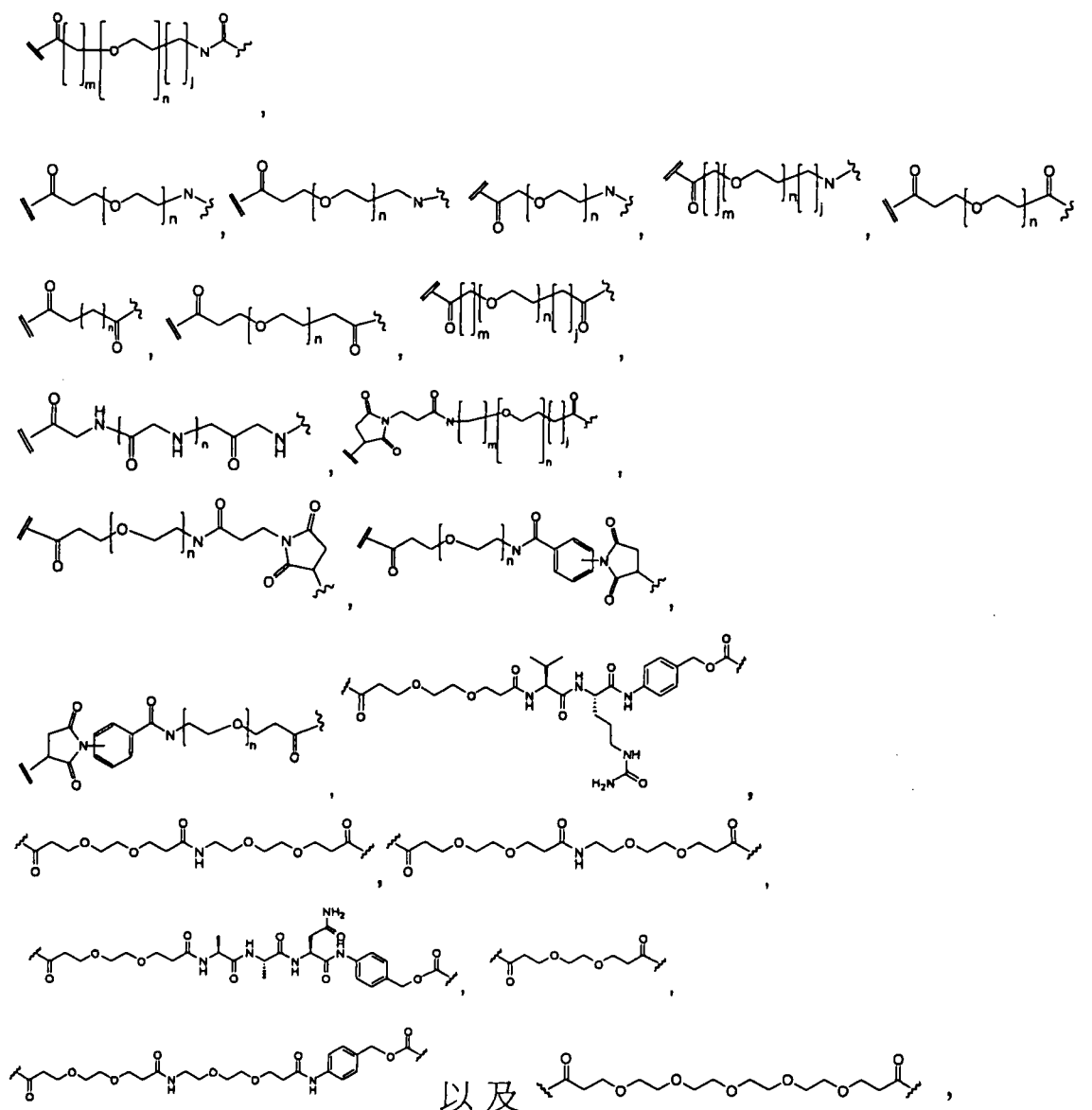
25.如申請專利範圍第 24 項所述之多肽，其中該可切割之基團 Φ 係存在，且具有式



其中該波浪線及平行線各表示與適當之 X^1 、 Y^1 或 Z^1 基團連接之點。

26.如申請專利範圍第 24 項所述之多肽，其中該連接子係選自下列：





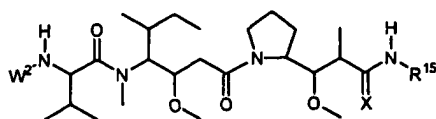
其中 m 、 n 、 j 及 k 係各自獨立之範圍，該範圍之下限係選自 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20，該範圍之上限係選自 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 或 30，且其中該連接子之整體長度不超過 200 個原子。

27.如申請專利範圍第 23 項所述之多肽，其中該連接子之整體長度不超過 150 個原子。

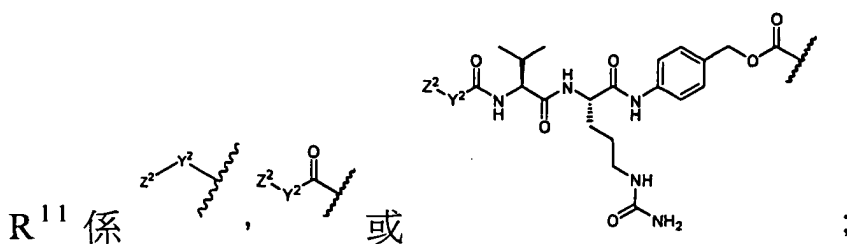
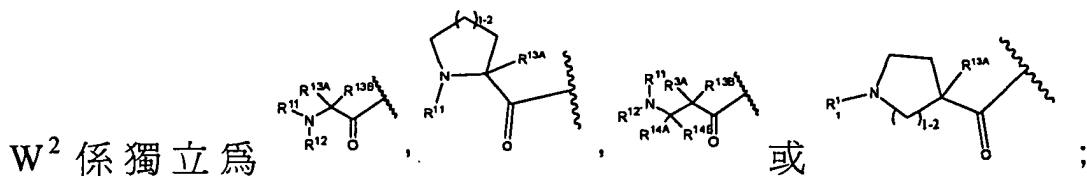
28.如申請專利範圍第 27 項所述之多肽，其中該連接子之整體長度不超過 60 個原子。

29.如申請專利範圍第 24 項所述之多肽，其中該效應物部分係治療劑、蛋白質、肽、核酸、適體(aptamer)、小分子、蛋白質促效劑、蛋白質拮抗劑、代謝調節劑、荷爾蒙、毒素、生長因子或診斷劑。

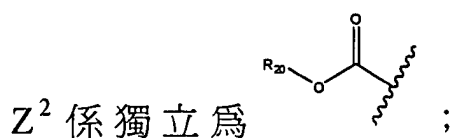
30.如申請專利範圍第 29 項所述之多肽，其中該效應物部分係毒素，且包含式：



或彼之醫藥上可接受之鹽或溶劑合物，其中每次出現時，



Y^2 係獨立為 $-C_2-C_{20}$ 伸烷基-、 $-C_2-C_{20}$ 雜伸烷基-、 $-C_3-C_8$ 碳環基-、 $-伸芳基-$ 、 $-C_3-C_8$ 雜環基-、 $-C_1-C_{10}$ 伸烷基-伸芳基-、 $-伸芳基-C_1-C_{10}$ 伸烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 伸烷基- $(C_3-C_8$ 碳環基)-、 $-(C_3-C_8$ 碳環基)- C_1-C_{10} 伸烷基-、 $-C_1-C_{10}$ 伸烷基- $(C_3-C_8$ 雜環基)-或 $-(C_3-C_8$ 雜環基)- C_1-C_{10} 伸烷基-；



R^{12} 係氫、 C_1-C_8 烷基或 C_1-C_8 鹵烷基；

R^{13A} 及 R^{13B} 係下列任一者：

(iii) R^{13A} 係氫、 C_1-C_8 烷基、 C_1-C_8 鹵烷基、 C_3-C_8 碳環基、 C_1-C_{10} 雜環基、芳基、雜芳烷基、芳烷基或鹵素；且

R^{13B} 係 C_1-C_8 烷基、 C_1-C_8 鹵烷基、 C_3-C_8 碳環基、 C_1-C_{10} 雜環基、芳基、雜芳烷基、芳烷基或鹵素；或

(iv) R^{13A} 及 R^{13B} 一起為 C_2-C_8 伸烷基或 C_1-C_8 雜伸烷基；

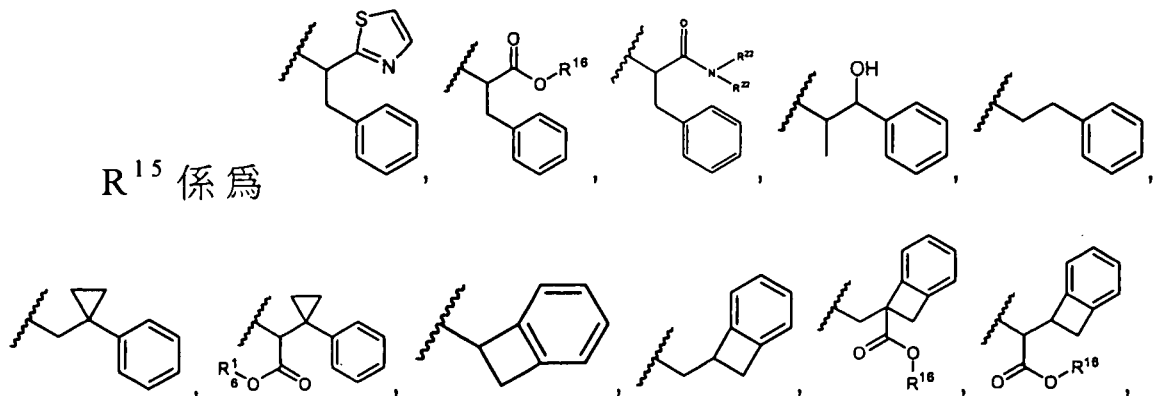
R^{14A} 及 R^{14B} 係下列任一者：

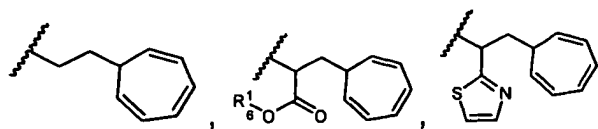
(iii) R^{14A} 係氫、 C_1-C_8 烷基、 C_1-C_8 鹵烷基、 C_3-C_8 碳環基、 C_1-C_{10} 雜環基、芳基、雜芳烷基或芳烷基；且

R^{14B} 係氫、 C_1-C_8 烷基、 C_1-C_8 鹵烷基、 C_3-C_8 碳環基、 C_1-C_{10} 雜環基、芳基、雜芳烷基或芳烷基；或

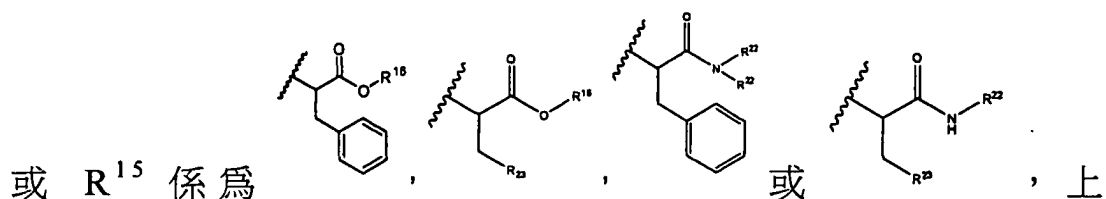
(iv) R^{14A} 及 R^{14B} 一起為 C_2-C_8 伸烷基或 C_1-C_8 雜伸烷基；

R^{15} 係為





, C_1-C_{10} 雜環基、 C_3-C_8 碳環基及 C_6-C_{14} 芳基，上述基團可任意選擇地經 1、2、3、4 或 5 個獨立選自 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_1-C_8$ 烷基- $N(R')$ ₂、 $-C_1-C_8$ 烷基- $C(O)R'$ 、 $-C_1-C_8$ 烷基- $C(O)OR'$ 、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、 $-C(O)R'$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)N(R')$ ₂、 $-NHC(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-OH$ 、鹵素、 $-N_3$ 、 $-N(R')$ ₂、 $-CN$ 、 $-NHC(=NH)NH_2$ 、 $-NHCONH_2$ 、 $-S(=O)_2R'$ 及 $-SR'$ 之基團取代，其中各 R' 係獨立選自氫、 C_1-C_8 烷基及未經取代之芳基，或二個 R' 可一起與彼等所連接之氮形成 C_1-C_{10} 雜環基；



上述基團可任意選擇地經 1、2、3、4 或 5 個獨立選自 C_1-C_8 烷基、 $-C_1-C_8$ 烷基- $N(R')$ ₂、 $-C_1-C_8$ 烷基- $C(O)R'$ 、 $-C_1-C_8$ 烷基- $C(O)OR'$ 、 $-O-(C_1-C_8$ 烷基)、 $-C(O)R'$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)OR'$ 、 $-C(O)N(R')$ ₂、 $-NHC(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-OH$ 、鹵素、 $-N_3$ 、 $-N(R')$ ₂、 $-CN$ 、 $-NHC(=NH)NH_2$ 、 $-NHCONH_2$ 、 $-S(=O)_2R'$ 、 $-SR'$ 及伸芳基- R' 之基團取代，其中各 R' 係獨立選自氫、 C_1-C_8 烷基、 C_1-C_8 雜環基、 C_1-C_{10} 伸烷基- C_3-C_8 雜環基及芳基，或二個 R' 可一起與彼等所連接之氮形成 C_1-C_{10} 雜環基；

R^{16} 係氫、 $-C_1-C_8$ 烷基、 $-C_2-C_8$ 烯基、 $-C_2-C_8$ 炔基或-

C₁-C₈ 鹵烷基；

R²² 係氫、C₁-C₄ 烷基、C₁-C₁₀ 雜環基或 C₆-C₁₄ 芳基；

R²³ 係 C₁-C₁₀ 雜環基；且

R¹⁷ 每次出現時係獨立選自 F、Cl、I 及 Br；

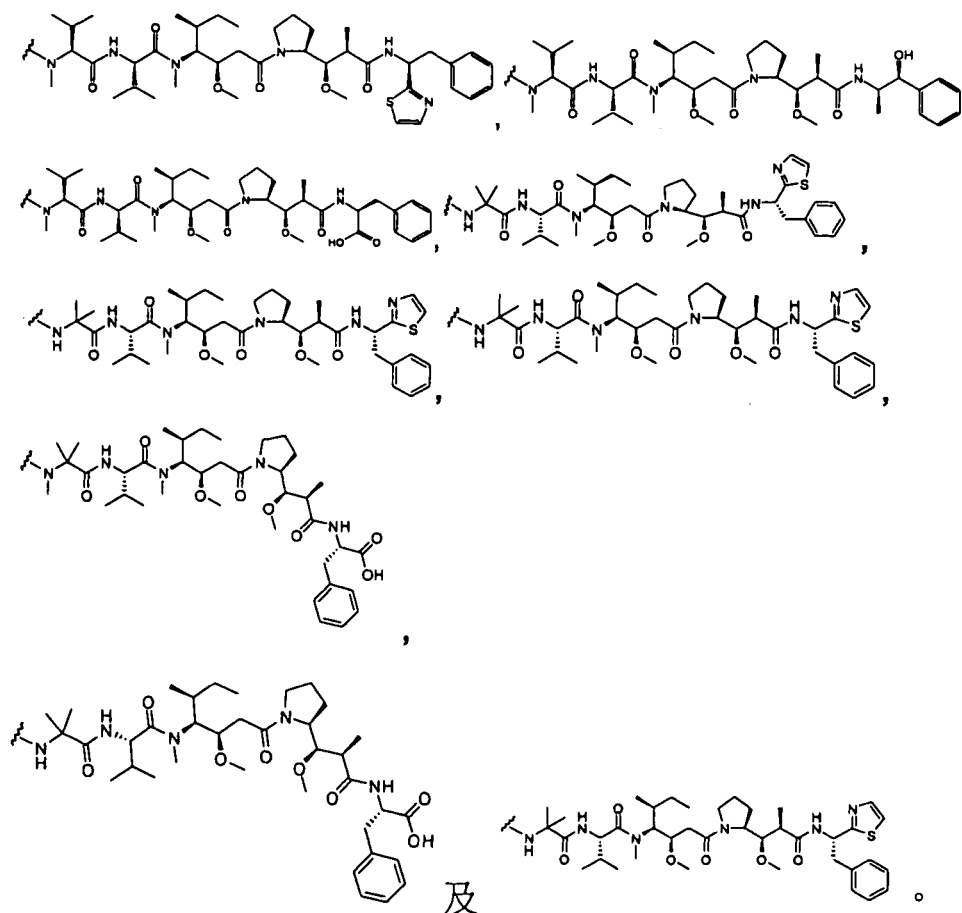
R²⁰ 係-芳基、-C₁-C₁₀ 伸烷基-芳基，其中在包含芳基之 R¹⁰ 上的芳基係經[R¹⁷]_h 取代；

h 係 5；且

X 係 O 或 S；

惟其當 R^{13A} 係氫時，X 係 S。

31.如申請專利範圍第 30 項所述之多肽，其中該效應物部分係毒素，且係選自下列：



32.如申請專利範圍第 24 項所述之多肽，其中該至少

一個效應物部分係蛋白質或肽。

33.如申請專利範圍第 32 項所述之多肽，其中該連接子之 X^1 基團係與該蛋白質或肽之胺基端、羧基端或肽連接殘基的側鏈共價連接。

34.如申請專利範圍第 33 項所述之多肽，其中該肽連接殘基係選自 K、R、C、T、Y、S、Dap、Dab、K_{SH}、K 之同源物或 C 之同源物。

35.如申請專利範圍第 34 項所述之多肽，其中該連接殘基係 K。

36.如申請專利範圍第 1 至 2 及 13 至 14 項中任一項所述之多肽，其中該多肽包含抗體輕鏈恆定(CL)結構域。

37.如申請專利範圍第 36 項所述之多肽，其中該 CL 結構域係 κ 結構域(CL κ)。

38.如申請專利範圍第 37 項所述之多肽，其中該 CL κ 包含選自下列之序列：SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:106, SEQ ID NO:119, SEQ ID NO:120, SEQ ID NO:121, 及 SEQ ID NO:122。

39.如申請專利範圍第 37 項所述之多肽，其中該 CL κ 包含藉由中間序列連續相連之由 SEQ ID NO:225 所定義之 N 端部分及由 SEQ ID NO:226 所定義之 C 端部分，該中間序列係選自 SEQ ID NO:99, SEQ ID

NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:115, SEQ ID NO:116, SEQ ID NO:117, SEQ ID NO:118, SEQ ID NO:123, SEQ ID NO:124, SEQ ID NO:125, SEQ ID NO:126, SEQ ID NO:170, SEQ ID NO:171, SEQ ID NO:172, SEQ ID NO:173, SEQ ID NO:174, SEQ ID NO:175, SEQ ID NO:176, SEQ ID NO:177, SEQ ID NO:178, SEQ ID NO:179, SEQ ID NO:180, SEQ ID NO:181, SEQ ID NO:182, SEQ ID NO:183, SEQ ID NO:184, SEQ ID NO:185, SEQ ID NO:186, SEQ ID NO:187, SEQ ID NO:188, SEQ ID NO:189, SEQ ID NO:190, SEQ ID NO:191, SEQ ID NO:192, SEQ ID NO:193, SEQ ID NO:194, SEQ ID NO:195, SEQ ID NO:196, SEQ ID NO:197, SEQ ID NO:198, SEQ ID NO:199, SEQ ID NO:200, SEQ ID NO:201, SEQ ID NO:202, SEQ ID NO:203, SEQ ID NO:204, SEQ ID NO:205, SEQ ID NO:206, SEQ ID NO:207, SEQ ID NO:208, SEQ ID NO:209, SEQ ID NO:210, SEQ ID NO:211, SEQ ID NO:212, SEQ ID NO:213, SEQ ID NO:214, SEQ ID NO:215, SEQ ID NO:216, SEQ ID NO:217, SEQ ID NO:218, SEQ ID NO:219, SEQ ID NO:220, SEQ ID NO:221, SEQ ID NO:222, SEQ ID NO:223, 及 SEQ ID NO:224。

40.如申請專利範圍第 36 項所述之多肽，其中該 CL 結構域係 λ 結構域 (CL λ)。

41.如申請專利範圍第 40 項所述之多肽，其中該 CL λ 包含選自下列之序列： SEQ ID NO:60, SEQ ID

NO:61, SEQ ID NO:141, SEQ ID NO:144, SEQ ID NO:143, SEQ ID NO:236, SEQ ID NO:237, SEQ ID NO:238, SEQ ID NO:239, SEQ ID NO:240, SEQ ID NO:241, SEQ ID NO:242, SEQ ID NO:243, 及 SEQ ID NO:244。

42.如申請專利範圍第 40 項所述之多肽，其中該 CL λ 包含由 SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230、SEQ ID NO:231、SEQ ID NO:232 或 SEQ ID NO:233 之一者所定義之 N' 端部分，該 N' 端部分係藉由中間序列與由 SEQ ID NO:234 或 SEQ ID NO:235 所定義之 C' 端部分連續相連，該中間序列係選自 SEQ ID

NO:99, SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:115, SEQ ID NO:116, SEQ ID NO:117, SEQ ID NO:118, SEQ ID NO:123, SEQ ID NO:124, SEQ ID NO:125, SEQ ID NO:126, SEQ ID NO:170, SEQ ID NO:171, SEQ ID NO:172, SEQ ID NO:173, SEQ ID NO:174, SEQ ID NO:175, SEQ ID NO:176, SEQ ID NO:177, SEQ ID NO:178, SEQ ID NO:179, SEQ ID NO:180, SEQ ID NO:181, SEQ ID NO:182, SEQ ID NO:183, SEQ ID NO:184, SEQ ID NO:185, SEQ ID NO:186, SEQ ID NO:187, SEQ ID NO:188, SEQ ID NO:189, SEQ ID NO:190, SEQ ID NO:191, SEQ ID NO:192, SEQ ID NO:193, SEQ ID NO:194, SEQ ID NO:195, SEQ ID NO:196, SEQ ID NO:197, SEQ ID NO:198, SEQ ID NO:199, SEQ ID NO:200, SEQ ID NO:201, SEQ ID NO:202, SEQ ID NO:203, SEQ ID NO:204, SEQ ID NO:205, SEQ ID NO:206, SEQ ID NO:207, SEQ ID NO:208, SEQ ID NO:209, SEQ ID NO:210, SEQ ID NO:211, SEQ ID NO:212, SEQ ID NO:213, SEQ ID NO:214, SEQ ID NO:215, SEQ ID NO:216, SEQ ID NO:217, SEQ ID NO:218, SEQ ID NO:219, SEQ ID NO:220, SEQ ID NO:221, SEQ ID NO:222, SEQ ID NO:223, 及 SEQ ID NO:224。

43.如申請專利範圍第 1 至 2 及 13 至 14 項中任一項所述之多肽，其包含選自下列之序列：SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78, SEQ ID NO:94, SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:106, SEQ ID NO:119, SEQ ID NO:120, SEQ ID NO:121, SEQ ID NO:122, SEQ ID NO:127, SEQ ID NO:128, SEQ ID NO:129, SEQ ID NO:134, SEQ ID NO:135, SEQ ID NO:140, SEQ ID NO:141, SEQ ID NO:142, SEQ ID NO:143, SEQ ID NO:144, SEQ ID NO:148, SEQ ID NO:149, SEQ ID NO:150, SEQ ID NO:151, SEQ ID NO:156, SEQ ID NO:158, SEQ ID NO:159, SEQ ID NO:160, SEQ ID NO:161, SEQ ID NO:163, SEQ ID NO:165, SEQ ID NO:167, SEQ ID NO:168, SEQ ID NO:169, SEQ ID NO:236, SEQ ID NO:237, SEQ ID NO:238, SEQ ID NO:239, SEQ ID NO:240, SEQ ID NO:241, 及 SEQ ID NO:254, 或與上述序列具有至少約 85%一致性之多肽。

44.一種包含如申請專利範圍第 24 至 43 項中任一項所述之多肽的組成物，其中該組成物或樣本中之至少約 70%之連接子係與 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 的側鏈之 ϵ -胺基共軛，或與位於對應 SEQ ID NO:6 之殘基 80 的位置之 K 的側鏈之 ϵ -胺基共軛。

45.一種包含複數個如申請專利範圍第 24 至 43 項中任一項所述之多肽的組成物，其中至少約 70%之多肽包含與 SEQ ID NO:98 之 K⁵ 的側鏈之 ϵ -胺基，或與位於對應 SEQ ID NO:6 之殘基 80 的位置之 K 的側鏈之 ϵ -胺基共價連接之連接子。

46.一種抗體或彼之抗原結合部位，其中該抗體包含如申請專利範圍第 1 至 45 項中任一項所述之多肽。

47.如申請專利範圍第 46 項所述之抗體，其中該抗體係全長抗體、Fab、Fab'、F(ab')₂、V_H、雙價抗體或迷你抗體。

48.如申請專利範圍第 46 至 47 項中任一項所述之抗體，其中該抗體包含源自選自下列之抗體的 V_H 及 V_L 結構域：h38C2、利妥昔單抗(rituximab)、西妥昔單抗(cetuximab)、英利昔單抗(infliximab)、阿達木單抗(adalimumab)、那他珠單抗(natalizumab)、奧馬珠單抗(omalizumab)、蘭尼單抗(ranibizumab)、曲妥珠單抗(trastuzumab)及帕利珠單抗(palivizumab)。

49.一種醫藥組成物，其包含如申請專利範圍第 1 至 43 項中任一項所述之多肽、如申請專利範圍第 44 或 45

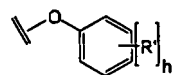
項中任一項所述之組成物，或如申請專利範圍第 46 至 48 項中任一項所述之抗體，且另包含可接受之載劑。

50.一種核酸，其編碼如申請專利範圍第 1 至 22 項中任一項所述之多肽，或如申請專利範圍第 46 至 48 項中任一項所述之抗體。

51.一種宿主細胞，其包含如申請專利範圍第 50 項所述之核酸。

52.一種載體，其包含如申請專利範圍第 50 項所述之核酸。

53.一種用於製備多功能抗體共軛物(MAC)之方法，該 MAC 包含如申請專利範圍第 23 至 43 項中任一項所述之多肽或如申請專利範圍第 44 至 45 項中任一項所述之組成物，該方法包含共價連接該連接子與下式之脫離基 Z*：



其中 R¹ 係 F 或 Cl，h=2、3、4 或 5，及使該連接子-Z*基團與該多肽反應。

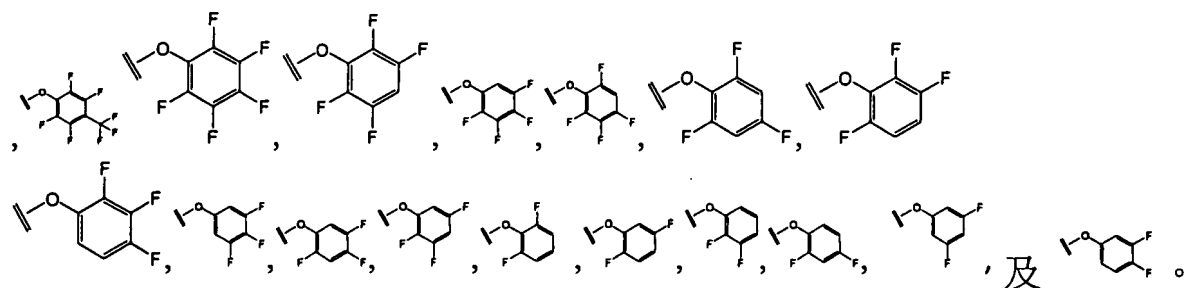
54.如申請專利範圍第 53 項所述之方法，其中 R¹ 係 F。

55.如申請專利範圍第 53 或 54 項所述之方法，其中 h=3、4 或 5。

56.如申請專利範圍第 53 或 54 項所述之方法，其中 h=4 或 5。

57.一種用於製備多功能抗體共軛物(MAC)之方法，該 MAC 包含如申請專利範圍第 23 至 43 項中任一項所述之

多肽或如申請專利範圍第 44 至 45 項中任一項所述之組成物，該方法包含共價連接該連接子與選自下列之脫離基 Z*：



58.如申請專利範圍第 53 或 57 項所述之方法，其中 Z*具有下式：

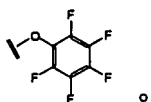


圖 式

圖 1A

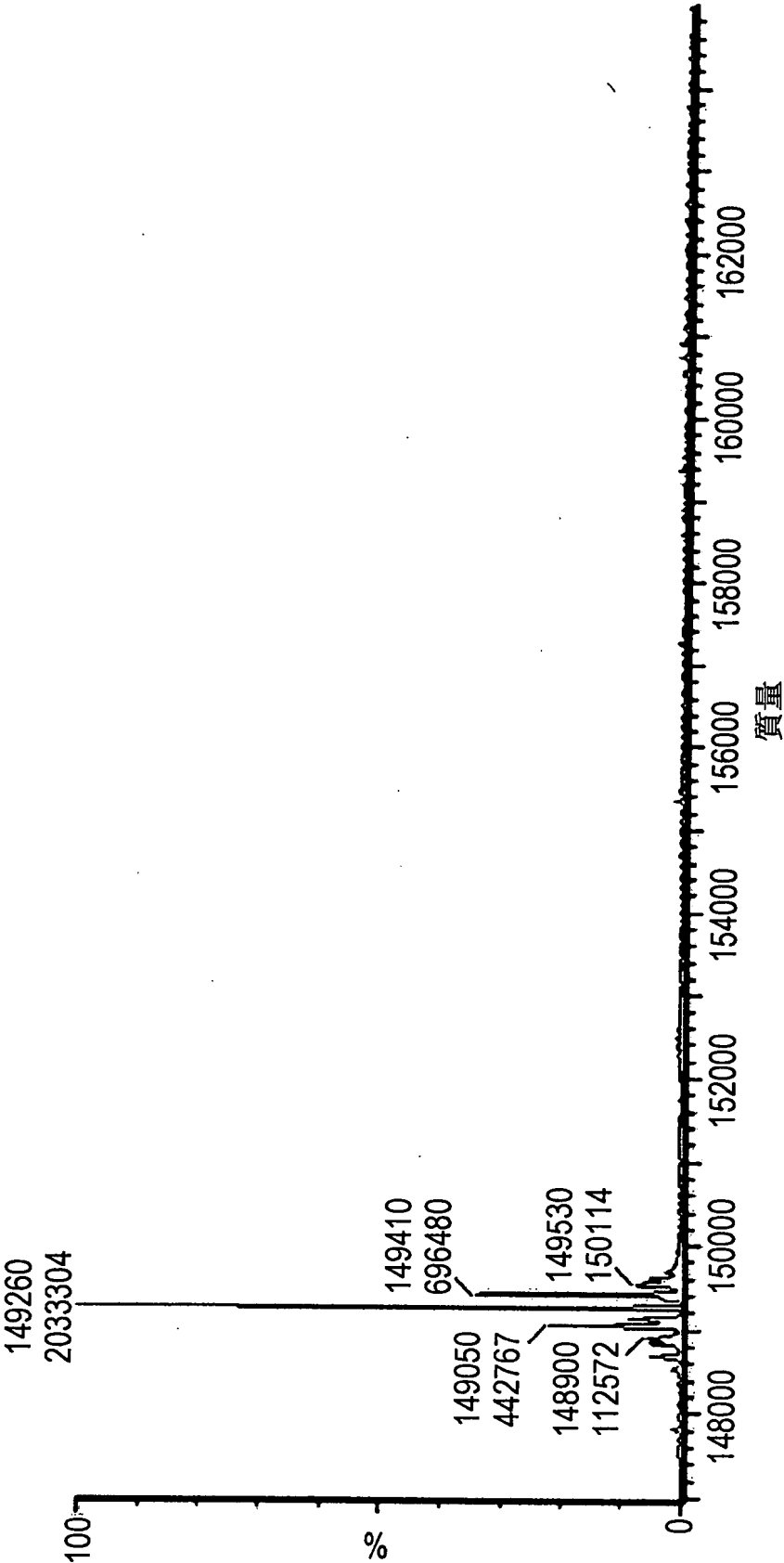


圖 1B

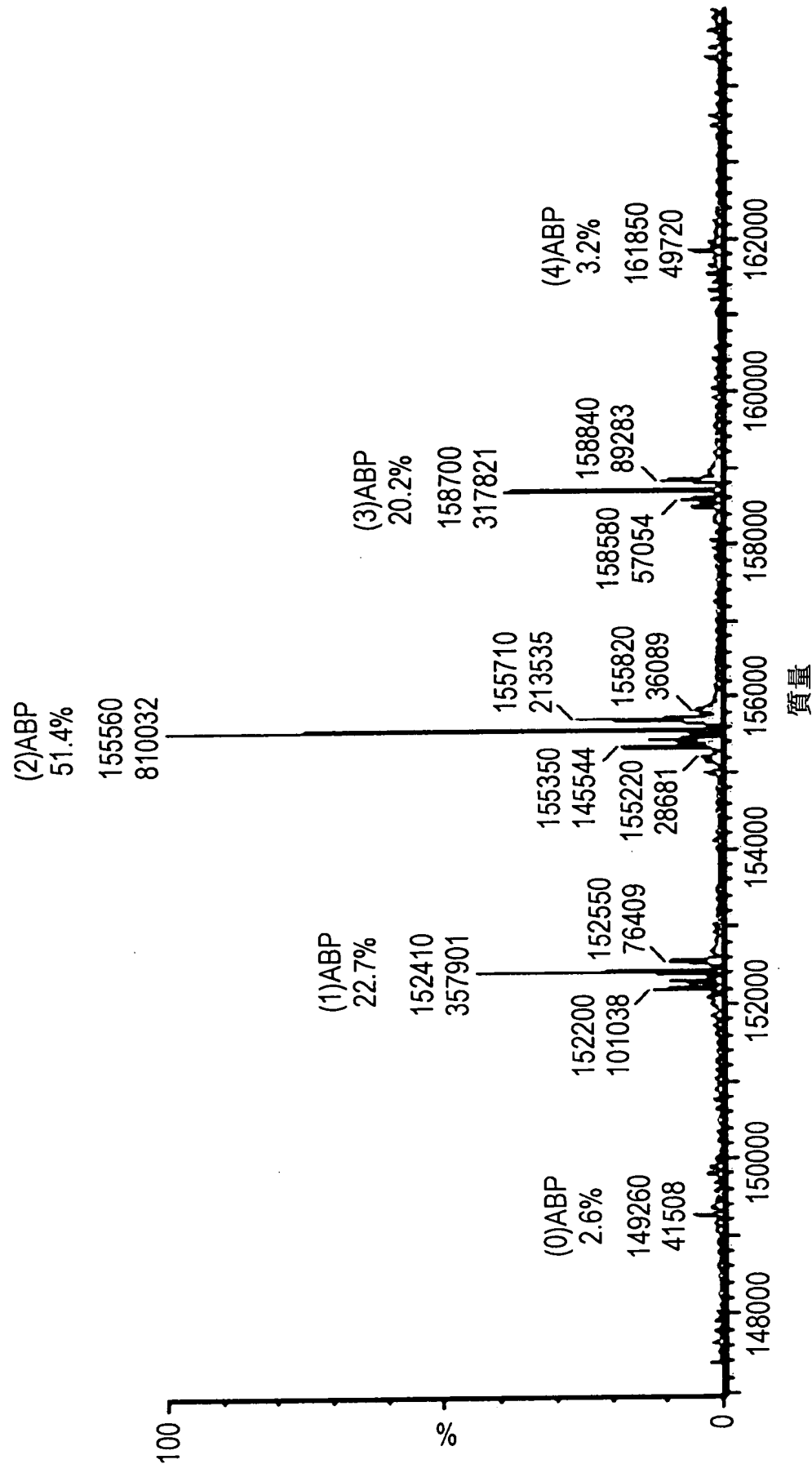


圖 1C

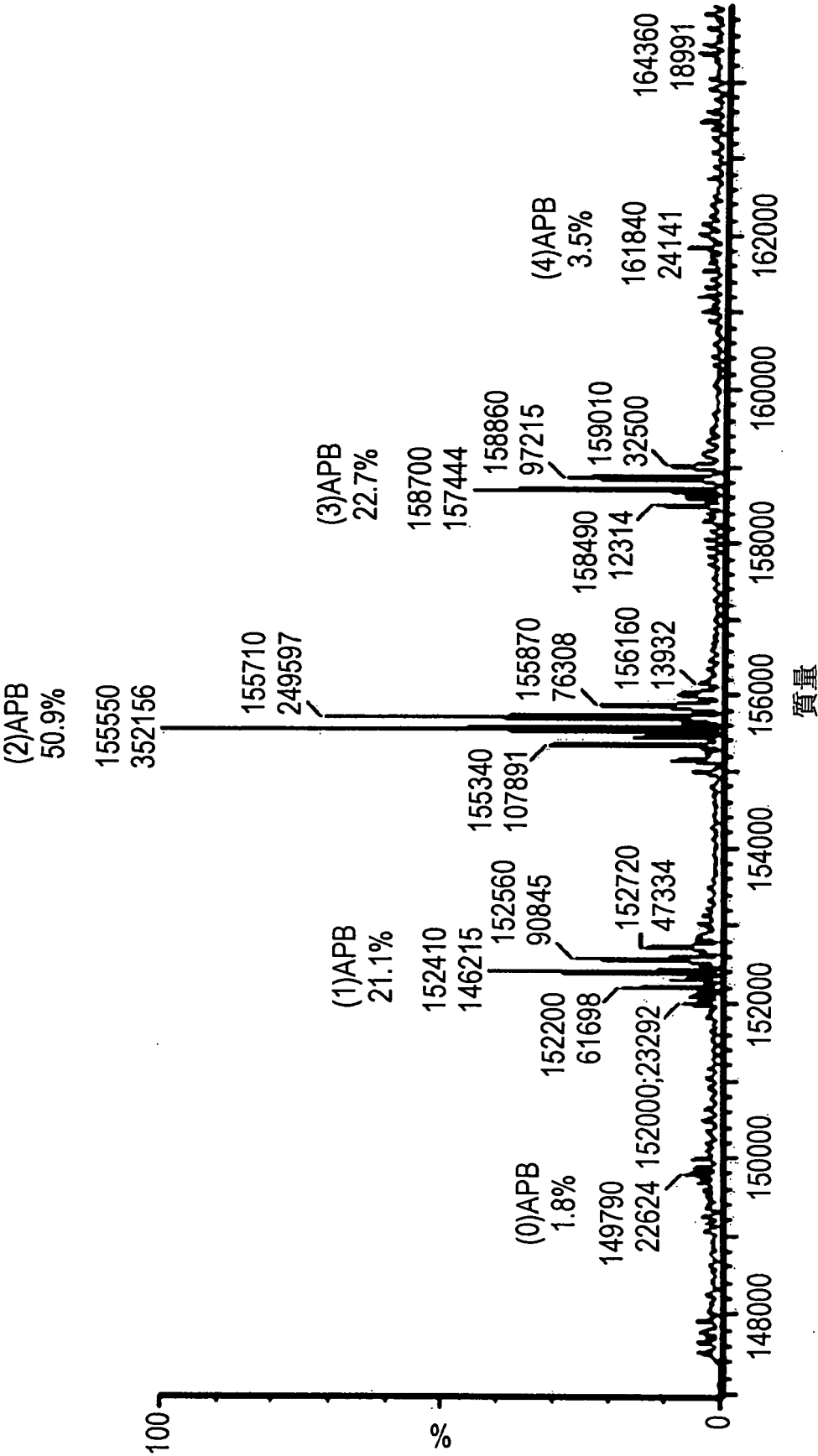


圖 1D

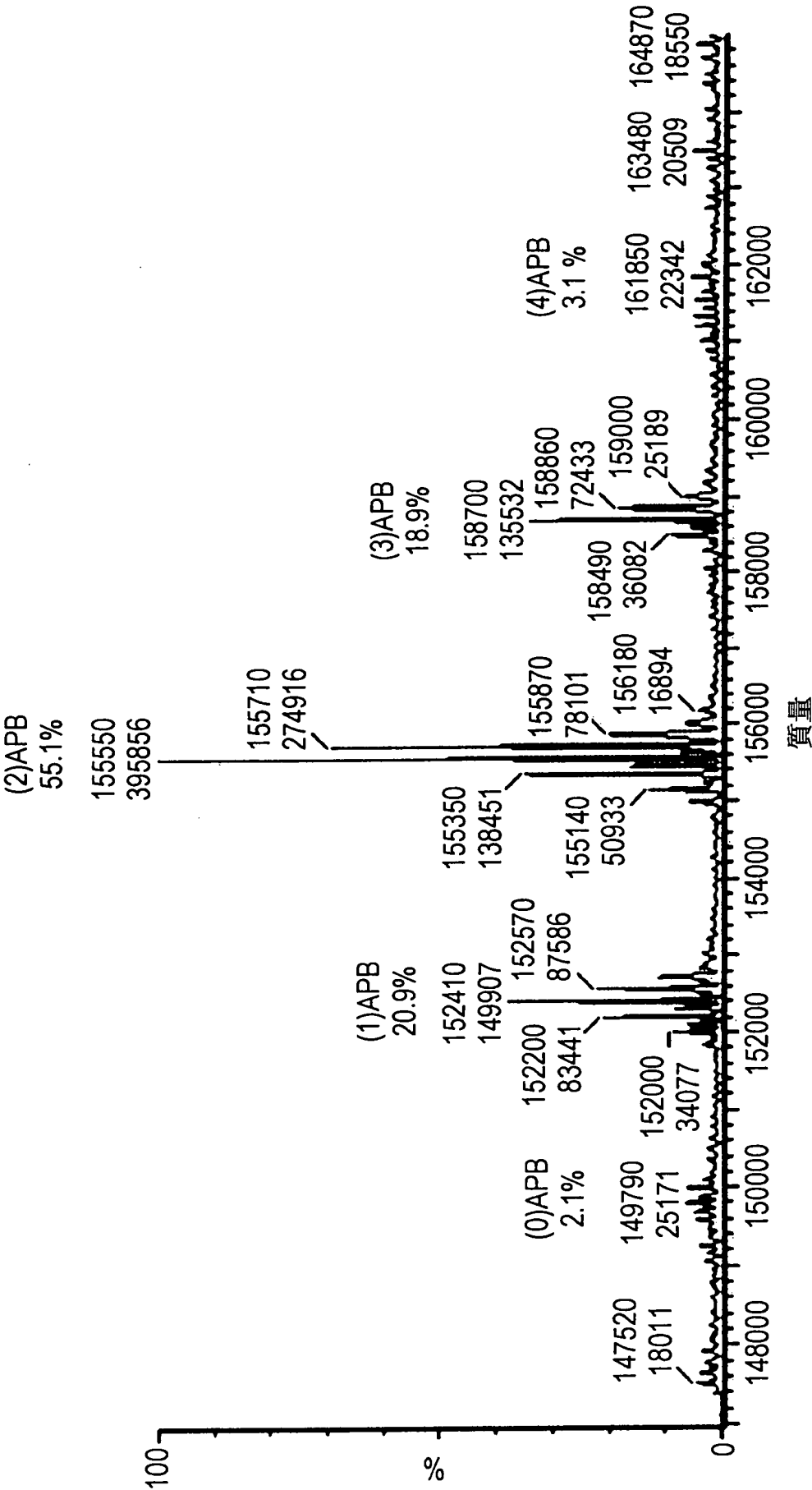


圖 2A

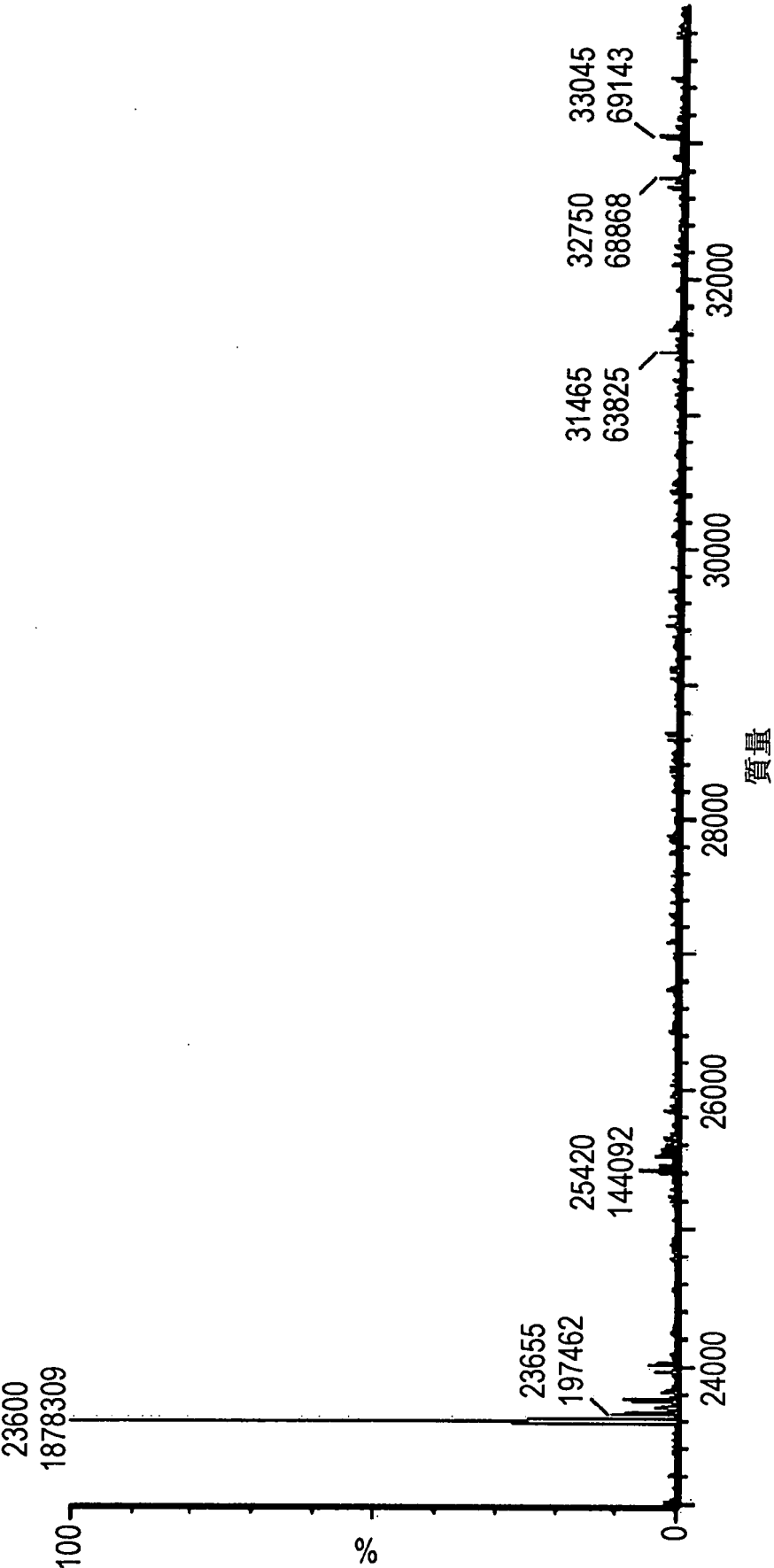


圖 2B

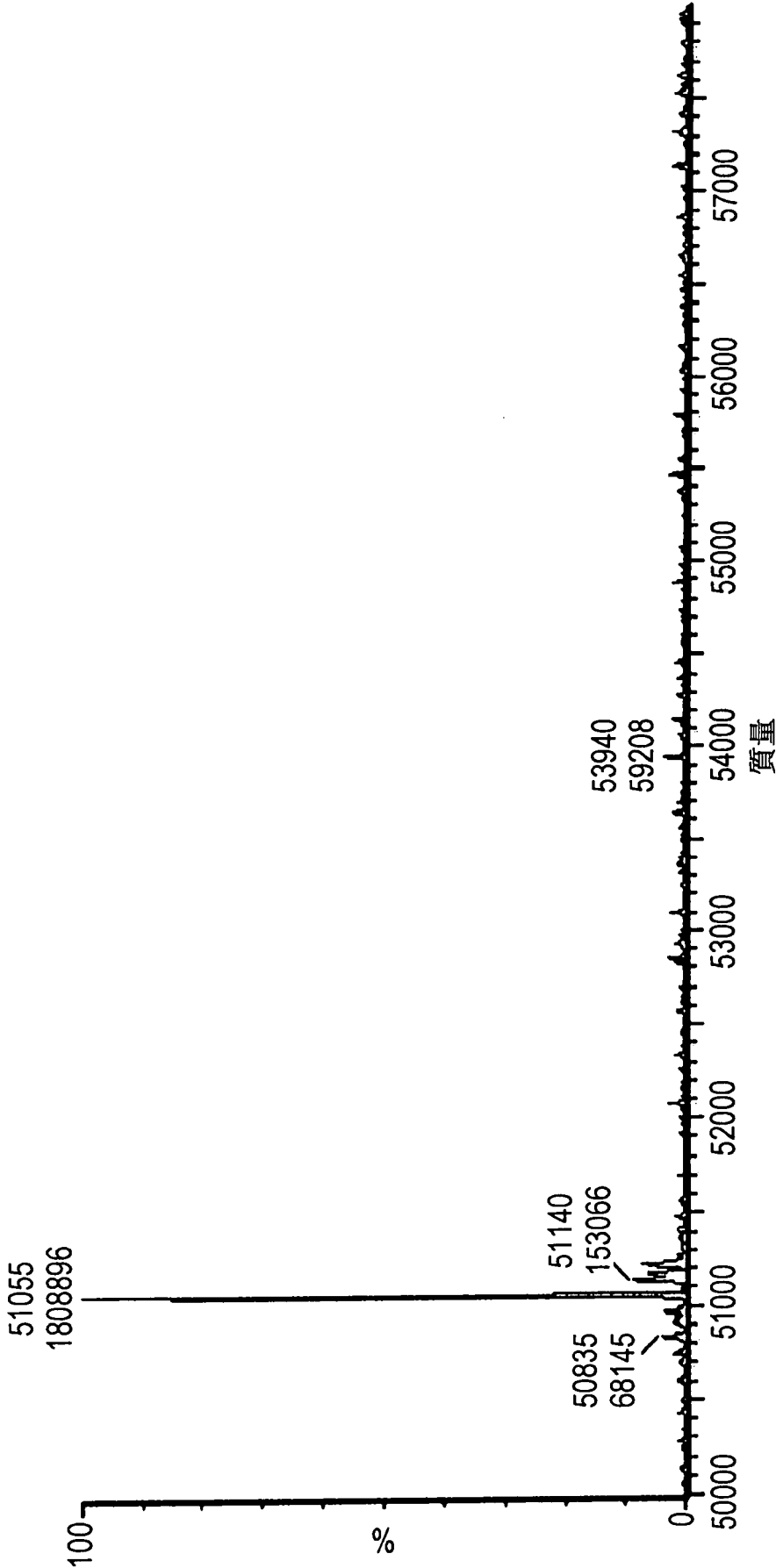


圖 2C

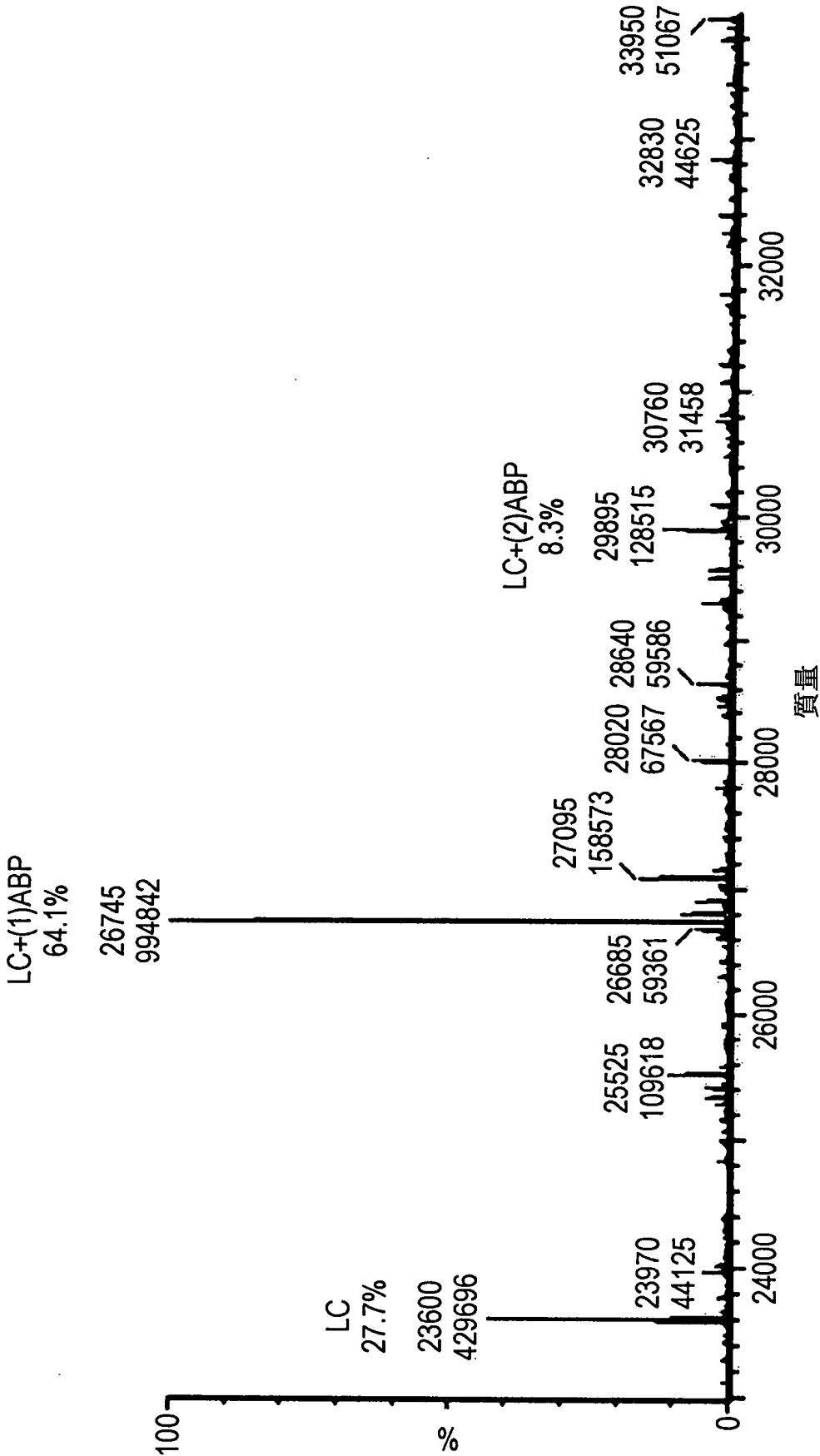


圖 2D

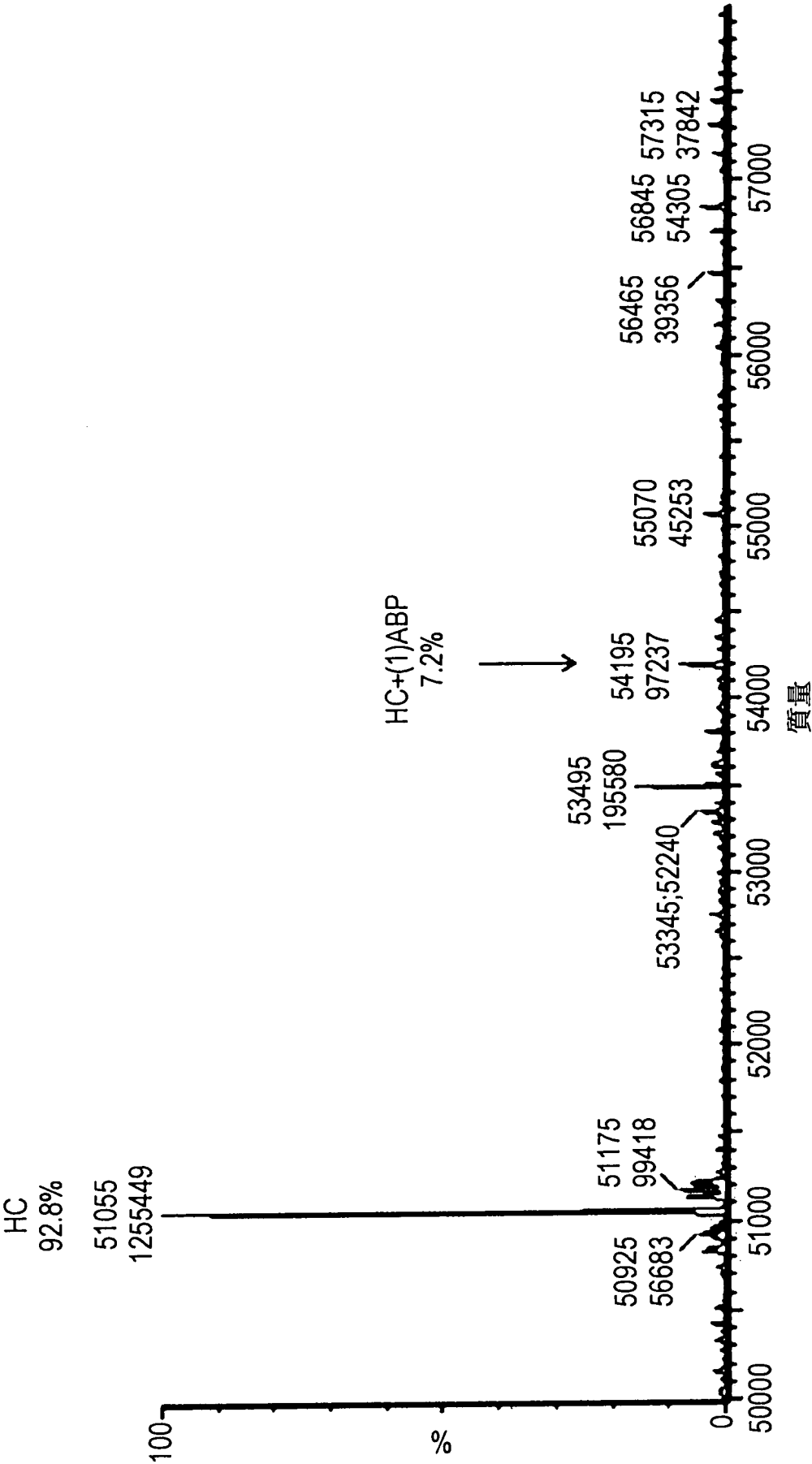


圖 2E

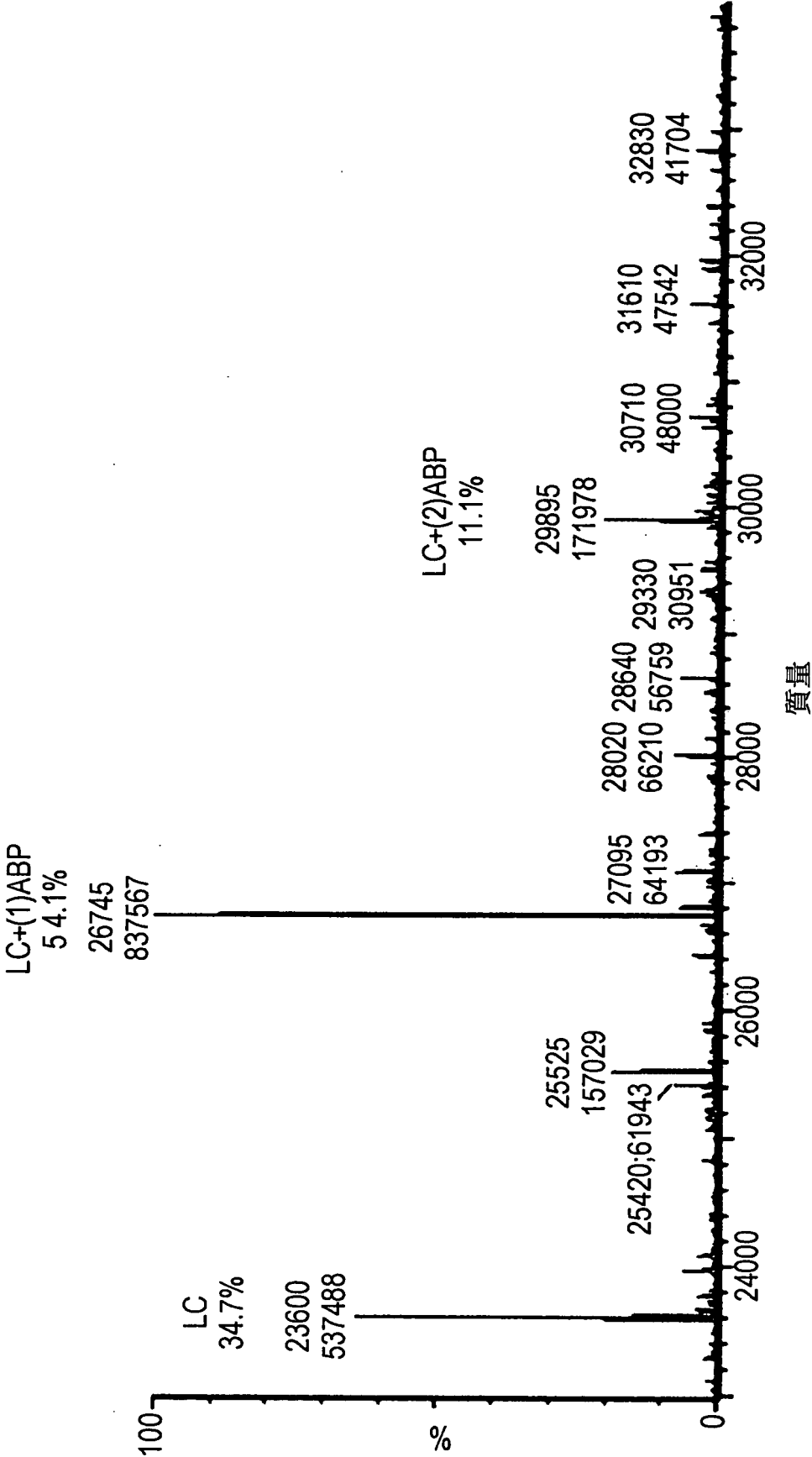


圖 2F



圖 2G

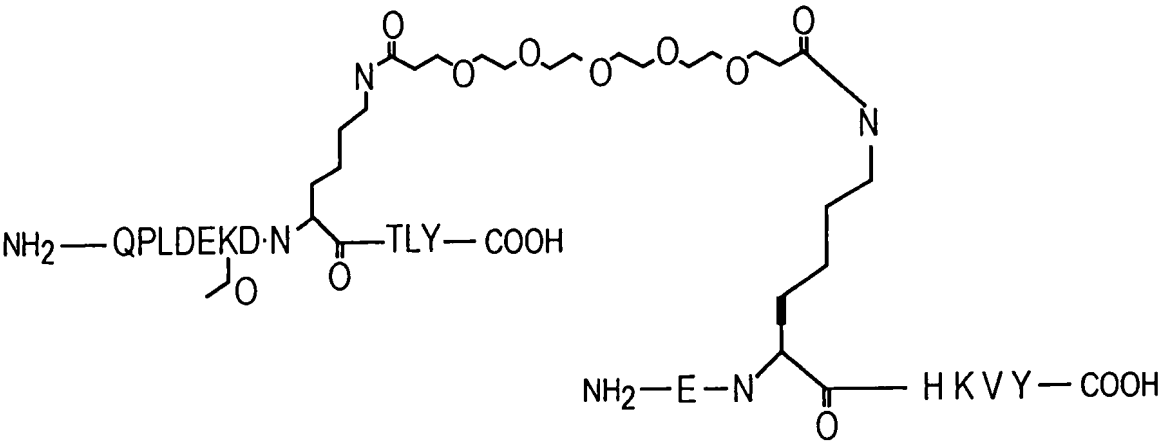
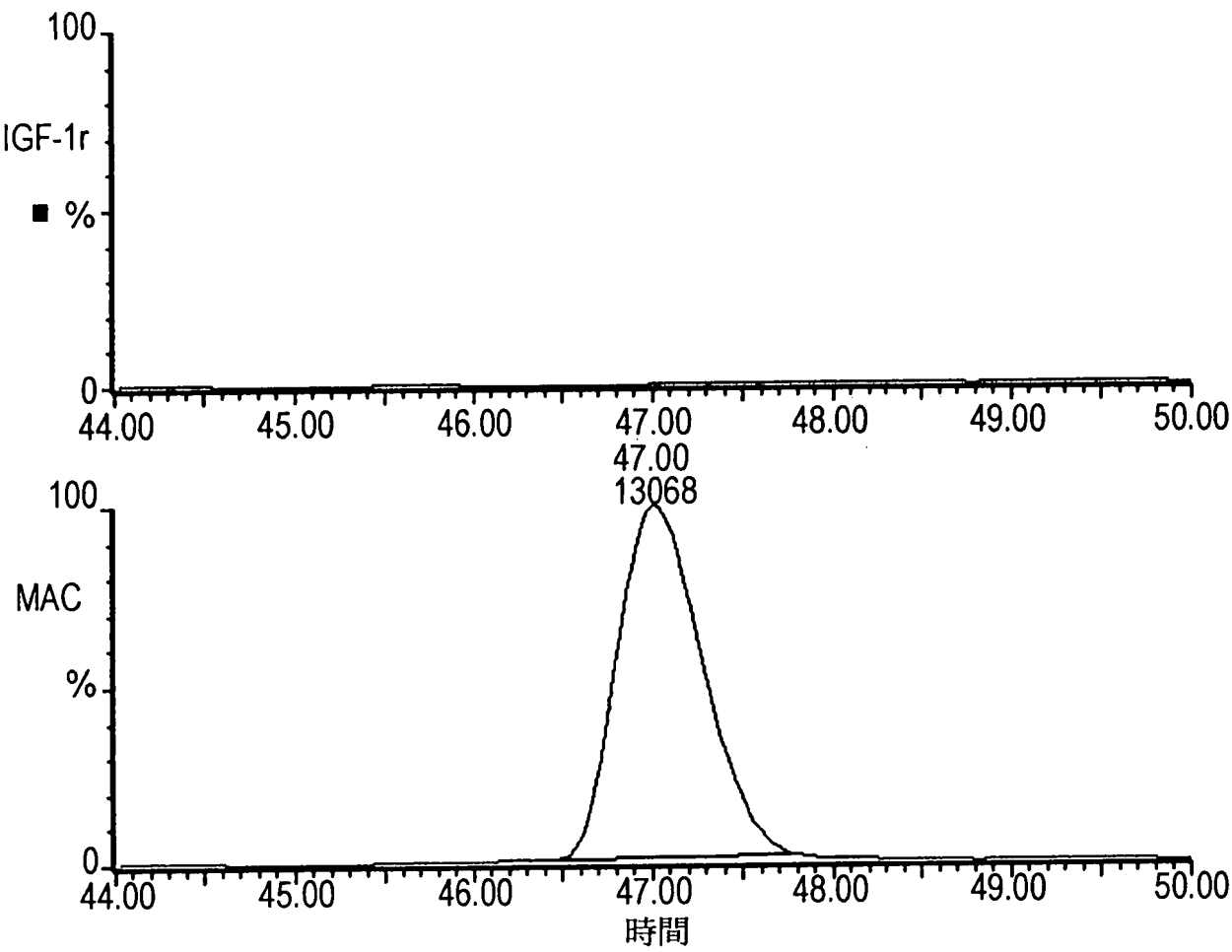


圖 2H



圖 4A

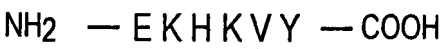
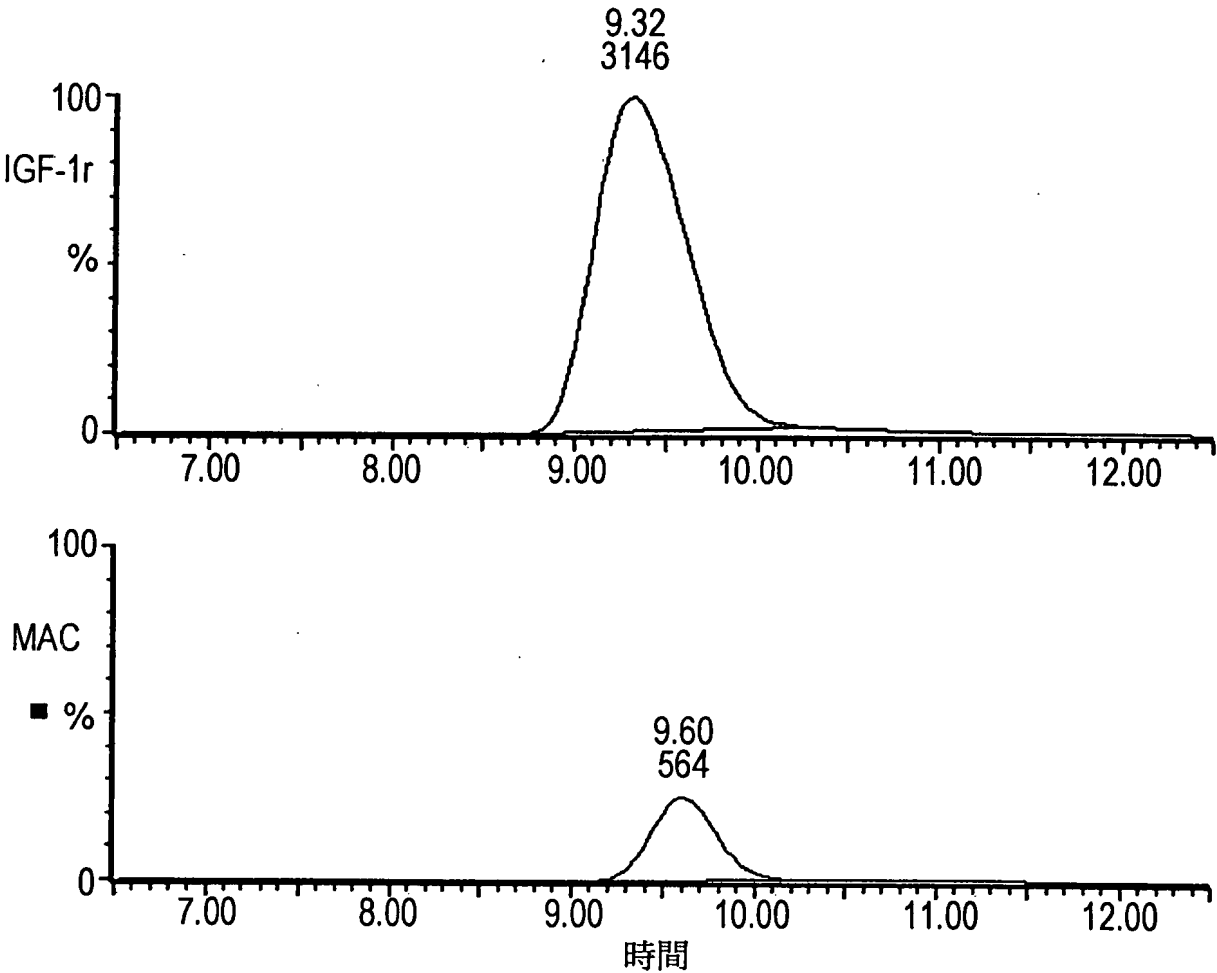
Y15 離子層析：經修飾之肽



經修飾之 Y15
分子量 = 2496.82

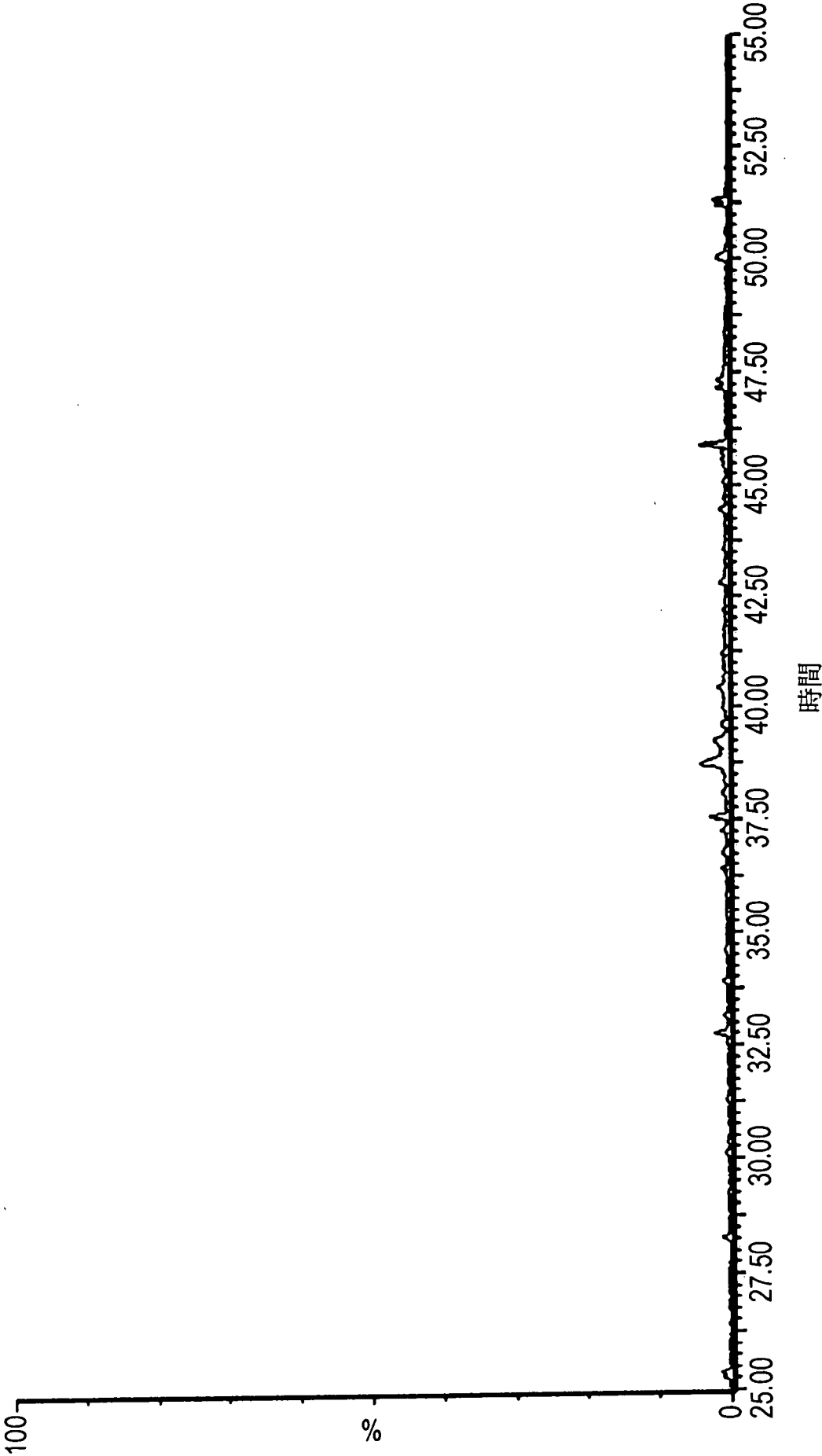
圖 4B

Y15 離子層析：未經修飾之肽



未經修飾之Y15
分子量 = 802.94

圖 5A



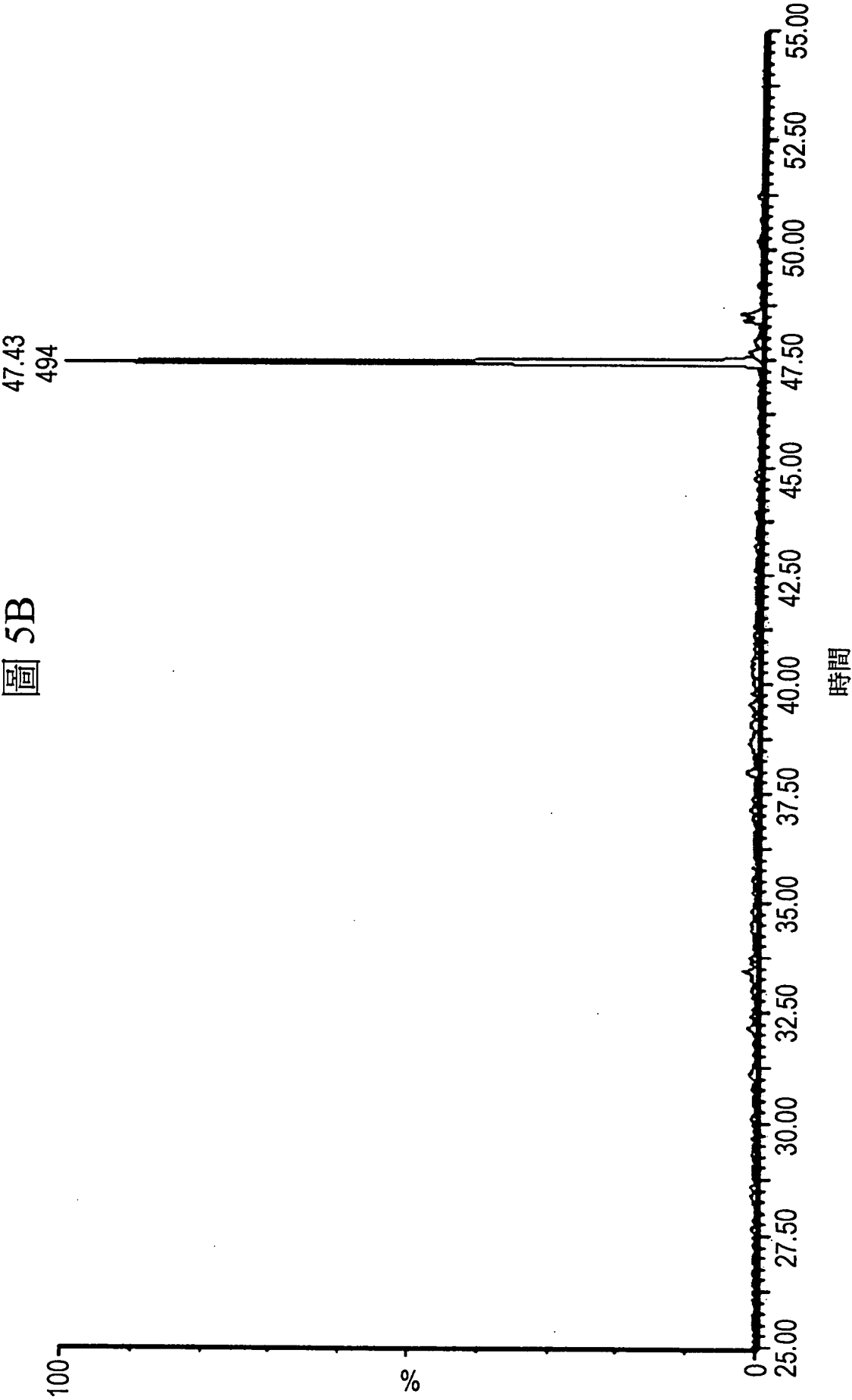


圖 6A

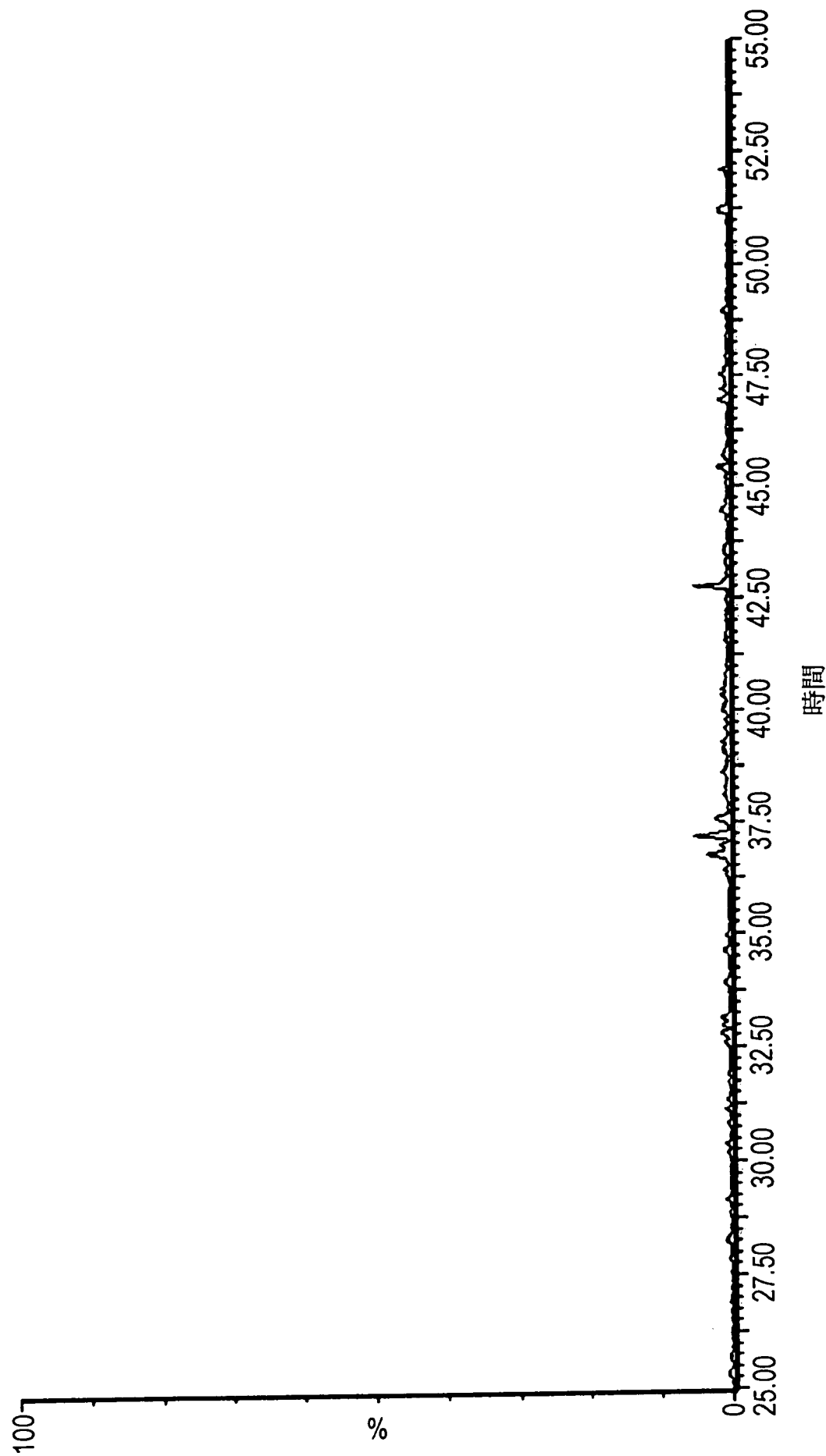


圖 6B

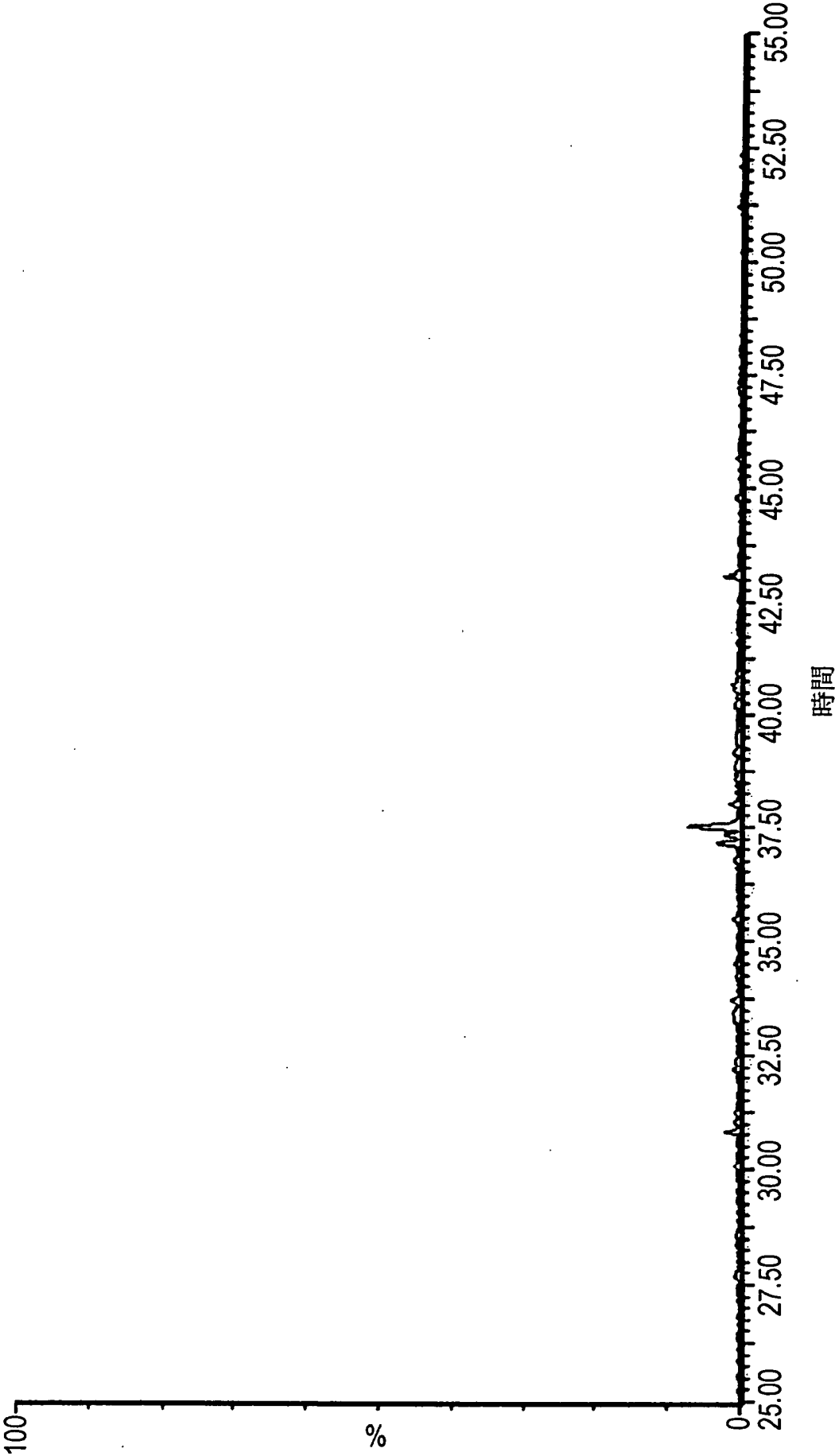


圖 7A

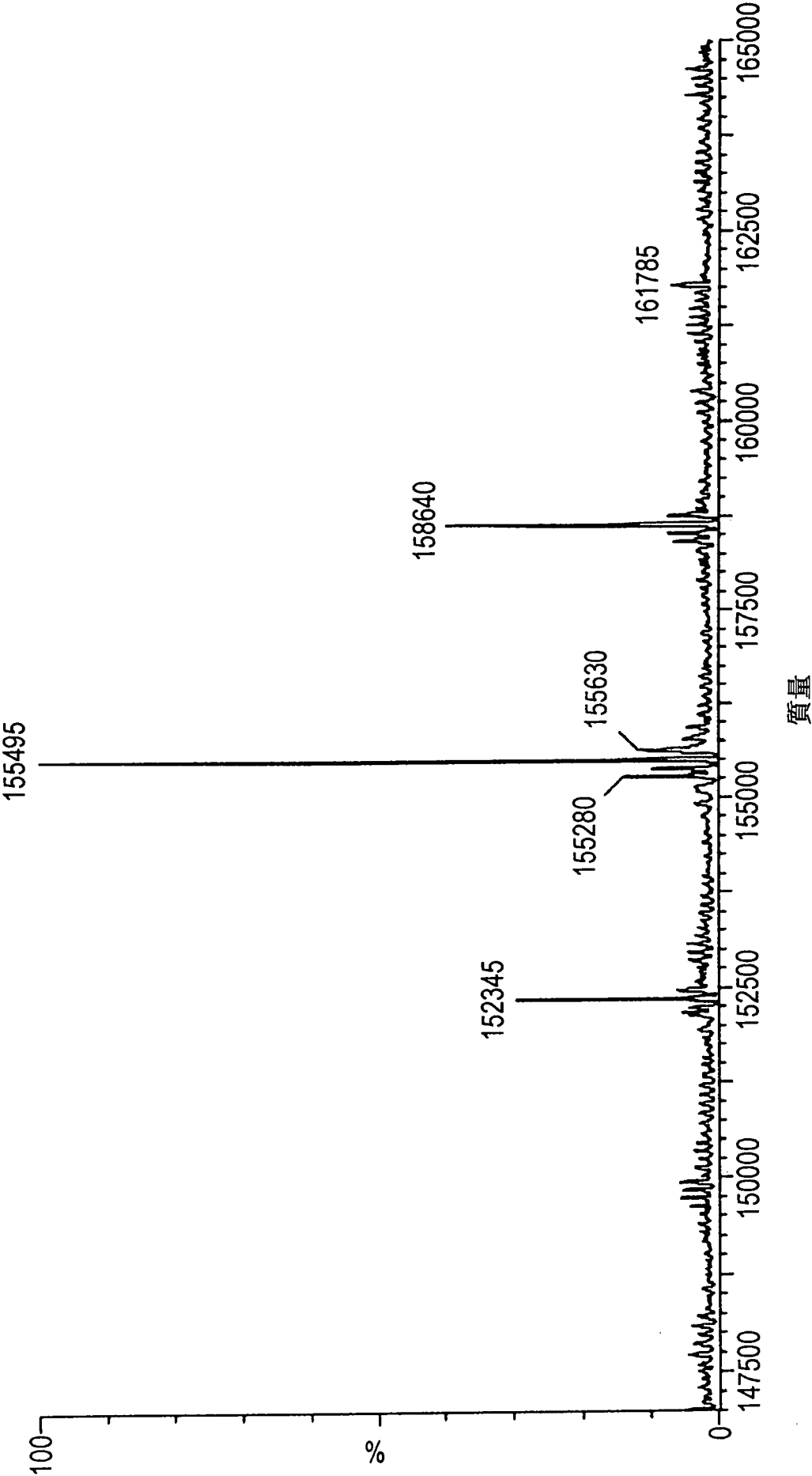


圖 7B

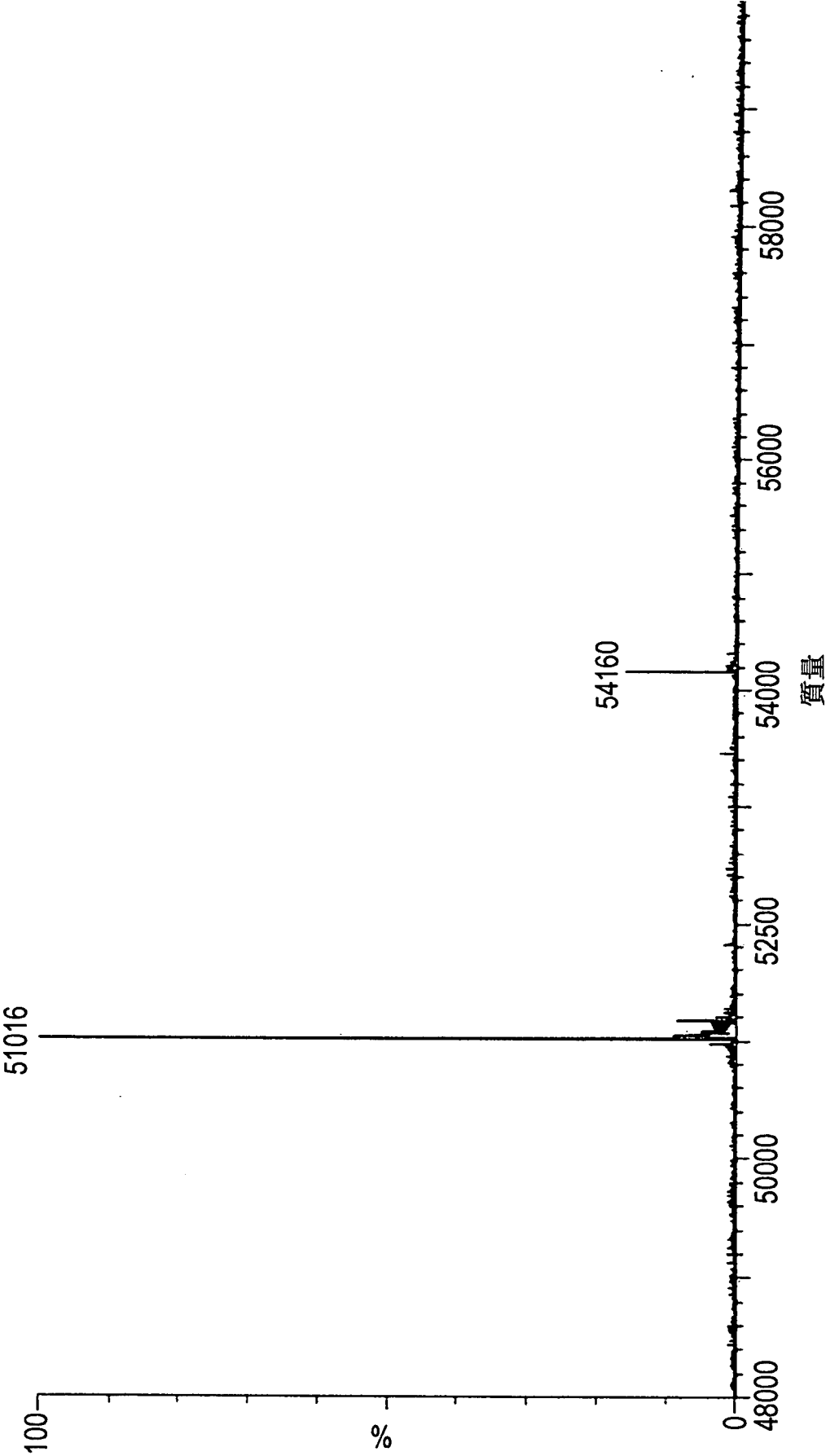
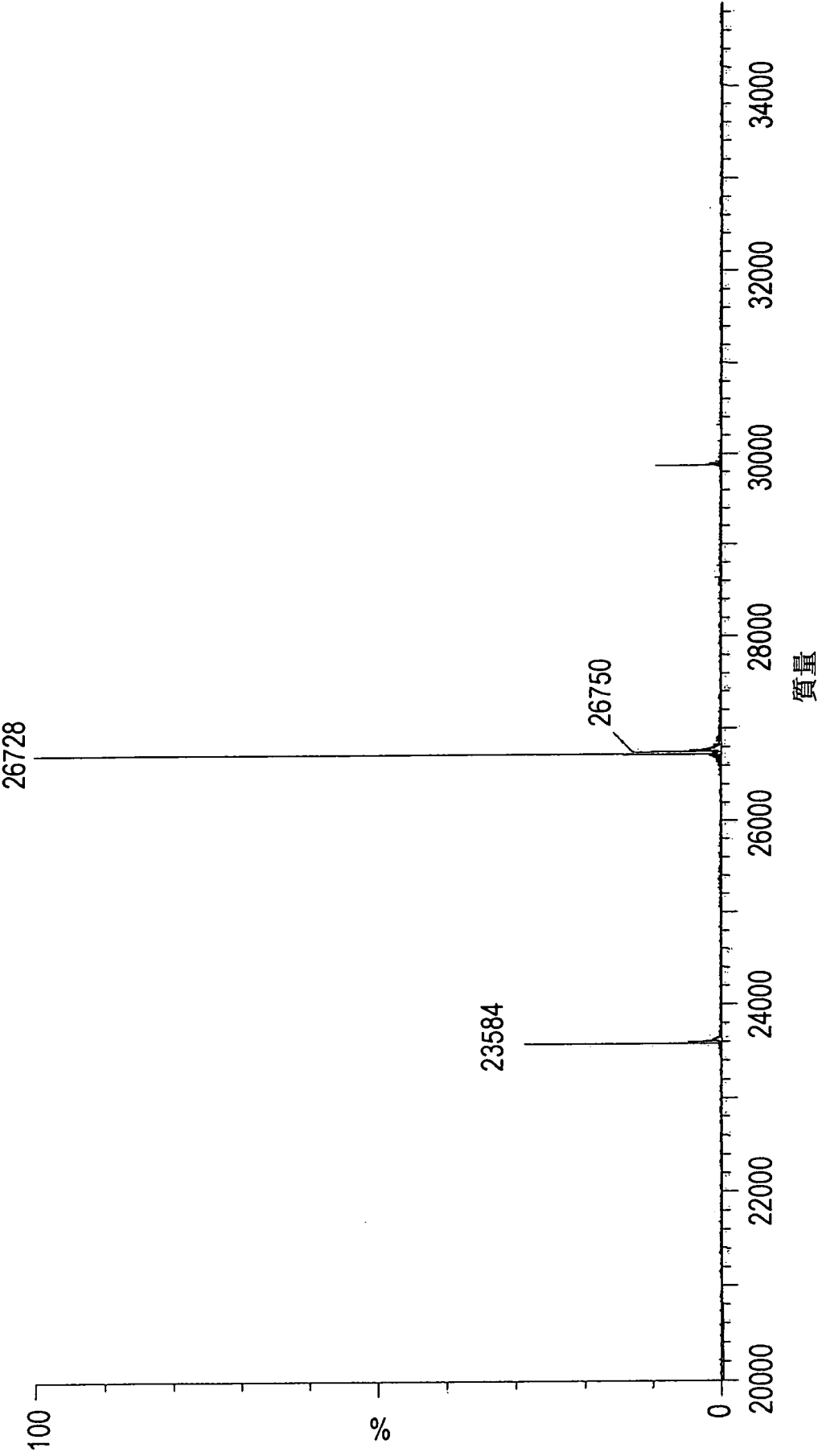


圖 7C



8A

VL

	Fr1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
	1	3	4	5	7	9	1
12345678901234567890123	45678901abcde234	567890123456789	0123456	7890123456789012345678	901234567	8901234567	0
m38c2	DVNMQTPLSLPVLGDQASISC	RSSQSLHTYGPSYIN	WYLQPGQSPKLLIY	KVSNRFS	GVPDRFSGSGGTDFTLRISKVEAEDLGYYFC	SQGTHTLPYT	FGGGTKVEIK
	*** * * * * *** * * *						*
h38c2	ELQMTQSPSSLSASVGDRTVITC	RSSQSLHTYGPSYIN	WYLQPGQSPKLLIY	KVSNRFS	GVPDRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFAVYFC	SQGTHTLPYT	FGGGTKVEIK
	**	* *****	* **	** ***	* * *	* * * * *	*
DPK-9	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITC	RASQSISS-----YIN	WYQKPGKAPKLLIY	AASLQ	GVPDRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFAVYFC	QQSYSSTP	LT
JK4							FGGGTKVEIK

VH

	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
	1	3	4	5	7	9	1
123456789012345678901234567890	1ab2345	67890123456789	012abc3456789012345	67890123456789012345	67890123456789012345678901234	567890123	1
m38c2	EVKLIVESGGGVQPGGTMKLSCEISGLTER	N--YVMS	WVRQSPKGLWVA	EIRLRSDNYATHYAESVKG	KFTISRDDSKSRUYLQWNSLRTEDTGIYYCKY	YFY-SFSY	WGQGTLLTVSSA
	* *** ** * *		*		* * *	*	*
h38c2	EVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGFTFS	N--YVMS	WVRQSPKGLWVS	EIRLRSDNYATHYAESVKG	RFTISRDNKNTLYLQWNSLRTEDTGIYYCKT	YFY-SFSY	WGQGTLLTVSS
	*	* *	* *	* ** * * *	** **	** *	*
DP-47	EVQLLESGGGVQPGGSLRLSCAASGFTFS	S--YAMS	WVRQAPKGLWVS	AISG--SGGSTYYADSVKG	RFTISRDNKNTLYLQWNSLRTEDTAVYYCAK		
JH4							YFDY WGQGTLLTVSS

8B

	<u>A</u>	<u>B</u>	<u>C</u>	<u>D</u>	
mCLκ	--ADAAPTVSIF	PPSSEQLTSG	GASVVCFLNN	FYPRDINVKW	KIDGSERQNG
	** + *	* *	*	*** *	VLNSWTDQDS
				+ *** *	*** * +
hCLκ	--TVAAPSVFIF	PPSDEQLKSG	TASVVCLLNN	FYPREAKVQW	KVDNALQSGN
	**	* * * * *	* * * * *	*****	SQESVTEQDS
	**	++	++	*****	*** + * * * * *
hCLλ	GQPKAAPSVTLF	PPSSEELQAN	KATLVCLISD	FYPGAVTVAW	KADSSPVKAG
					-VETTPPSKQ

	<u>E</u>	<u>F</u>	<u>G</u>	
mCLκ	KDSTYSMSST	LTLTKEYER	HNSYTCEATH	KTSTSPIVKS
	*	+ * + +	* *	*** + + *
hCLκ	KDSTYSLSST	LTLSKADYEK	HKVYACEVTH	QGLSSPVTKS
	* + * *	* + * * * + * *	* + * * * +	*****
hCLλ	SNNKYAASSY	LSLTPEQW-K	HRSYSCQVTH	EG-ST-VEKT
				VAPTEC

§

圖 9A

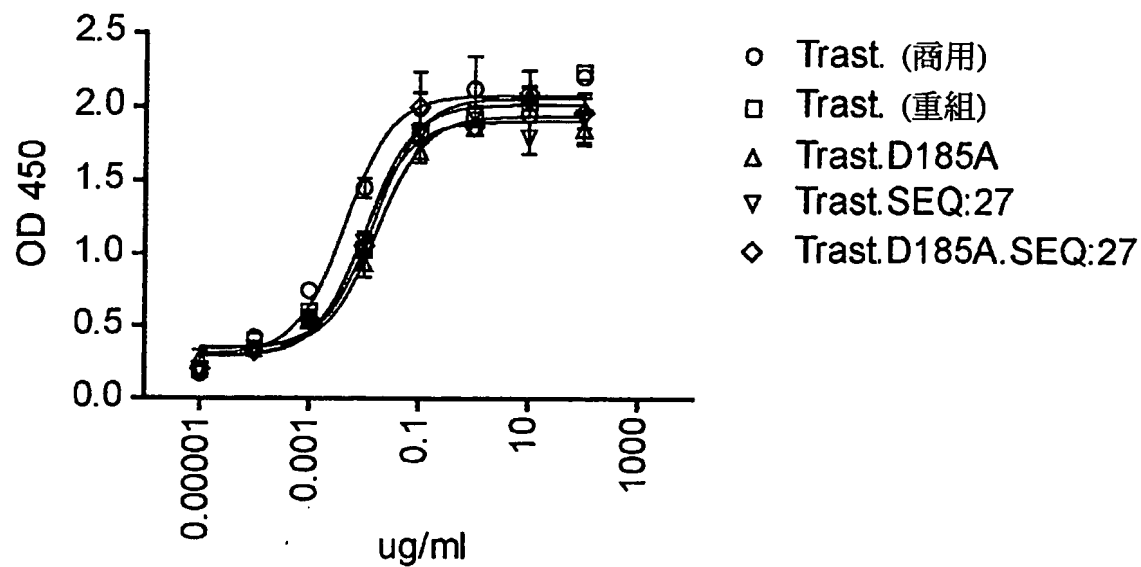
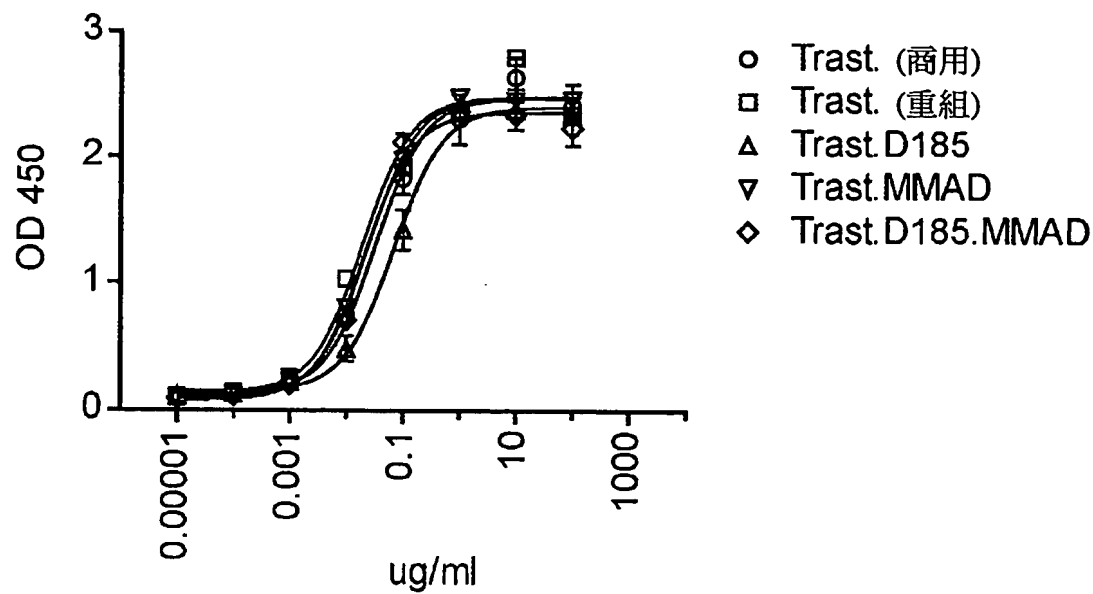


圖 9B



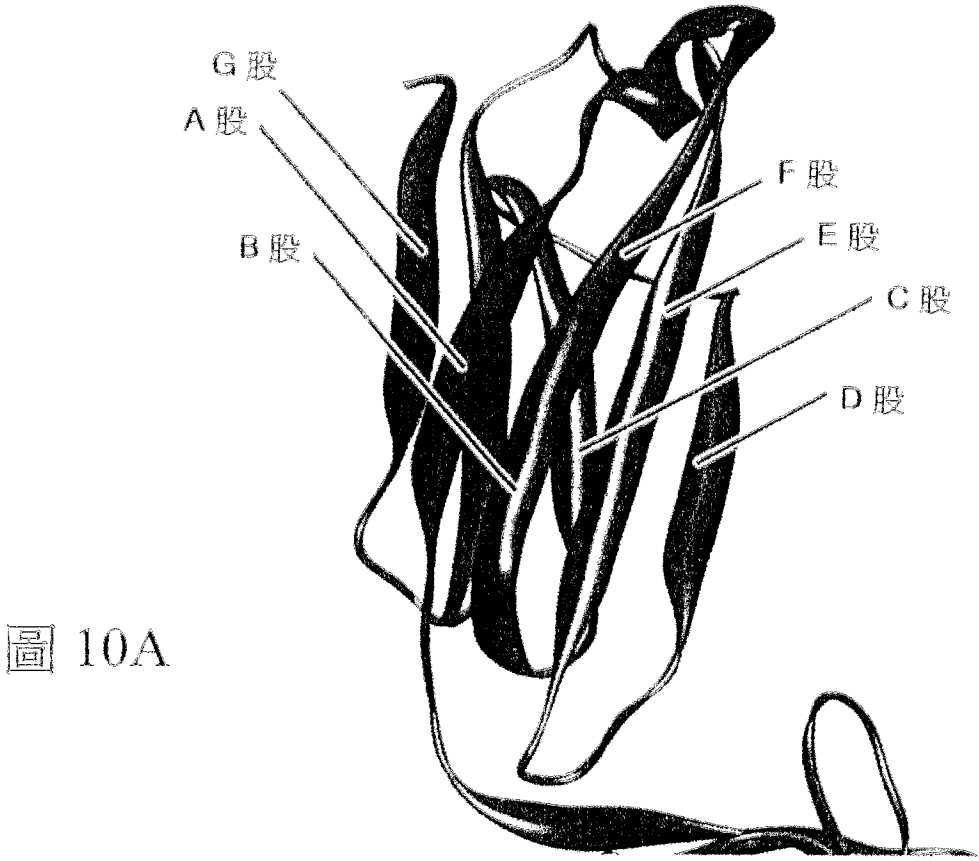


圖 10A

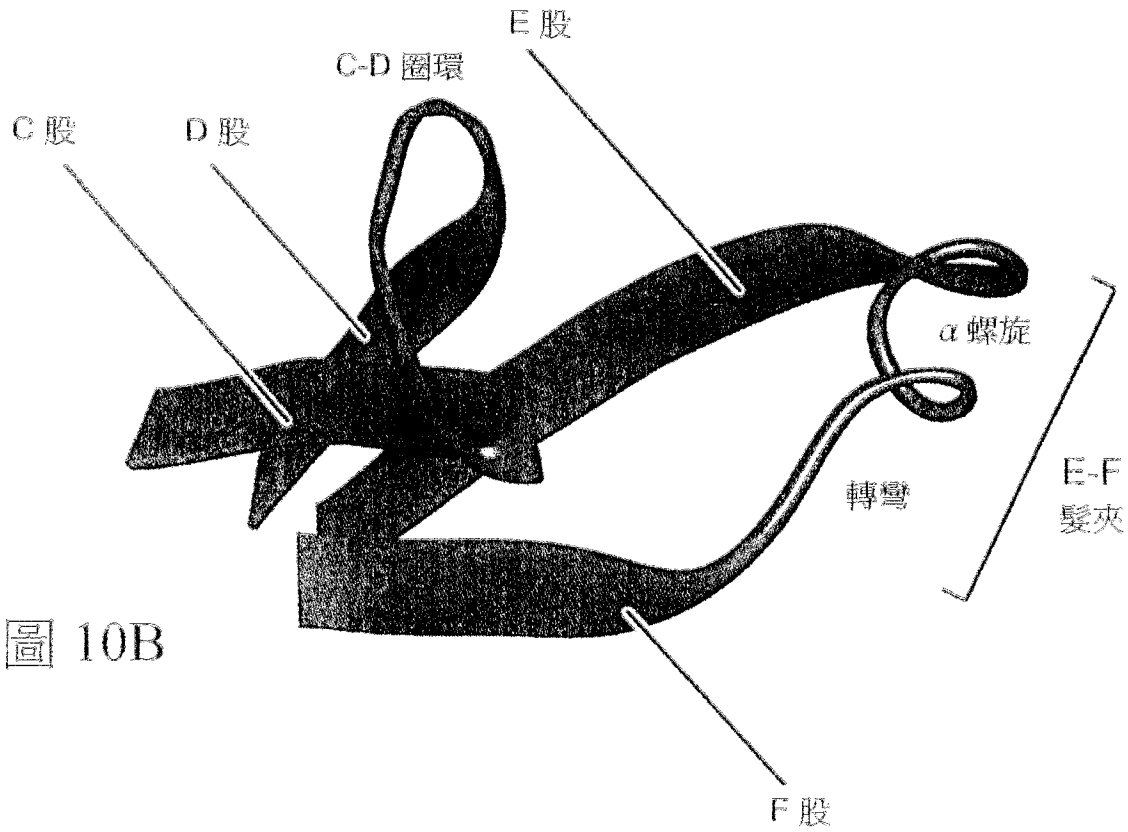


圖 10B

圖 11

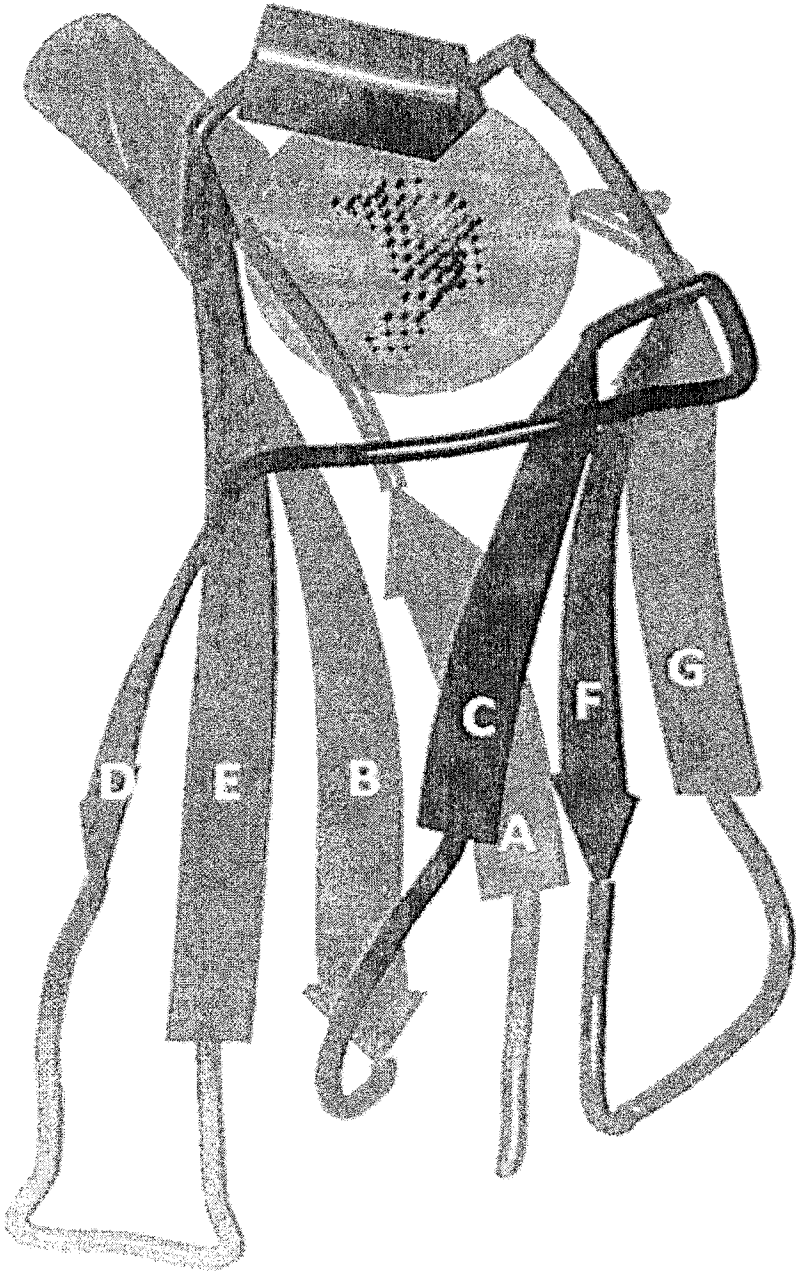


圖 12

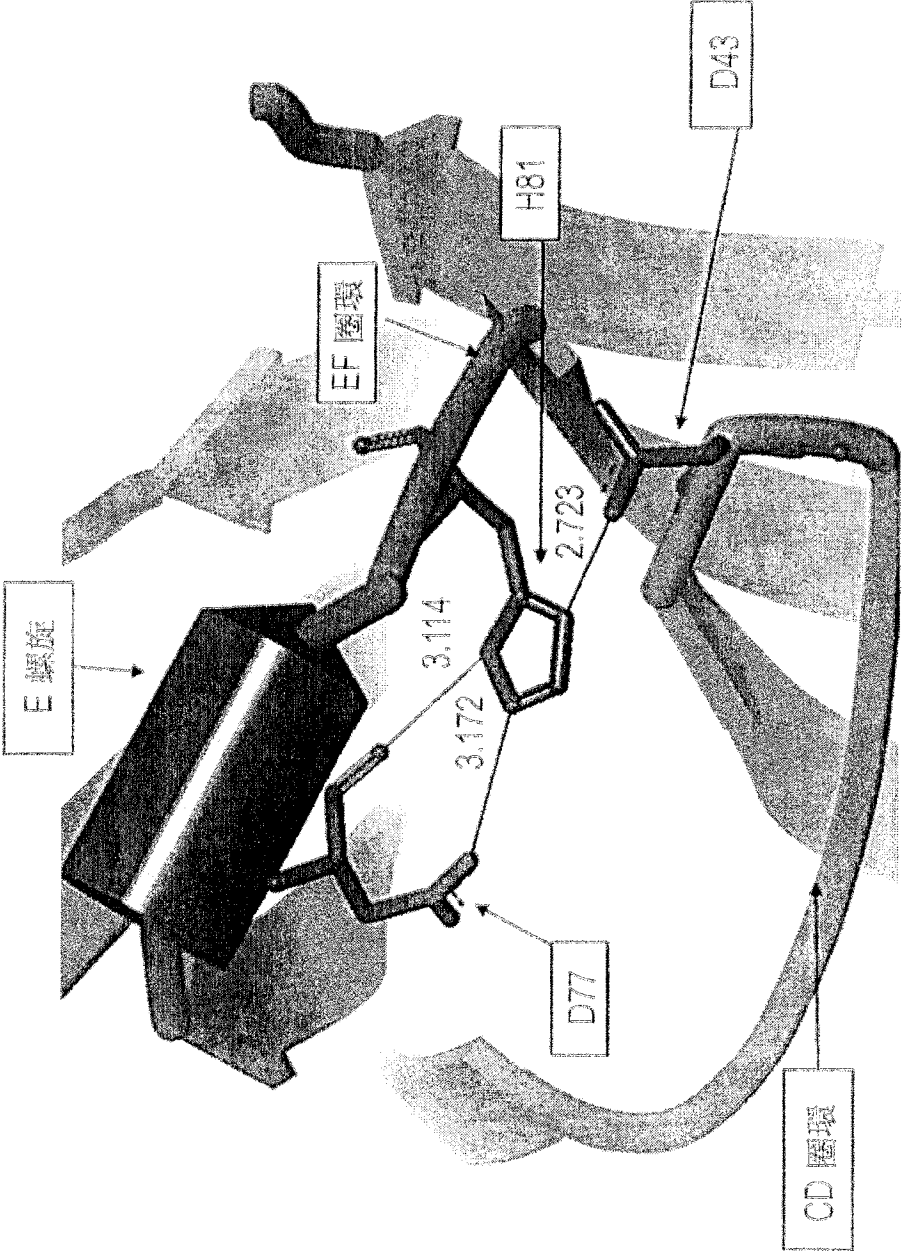


圖 13B

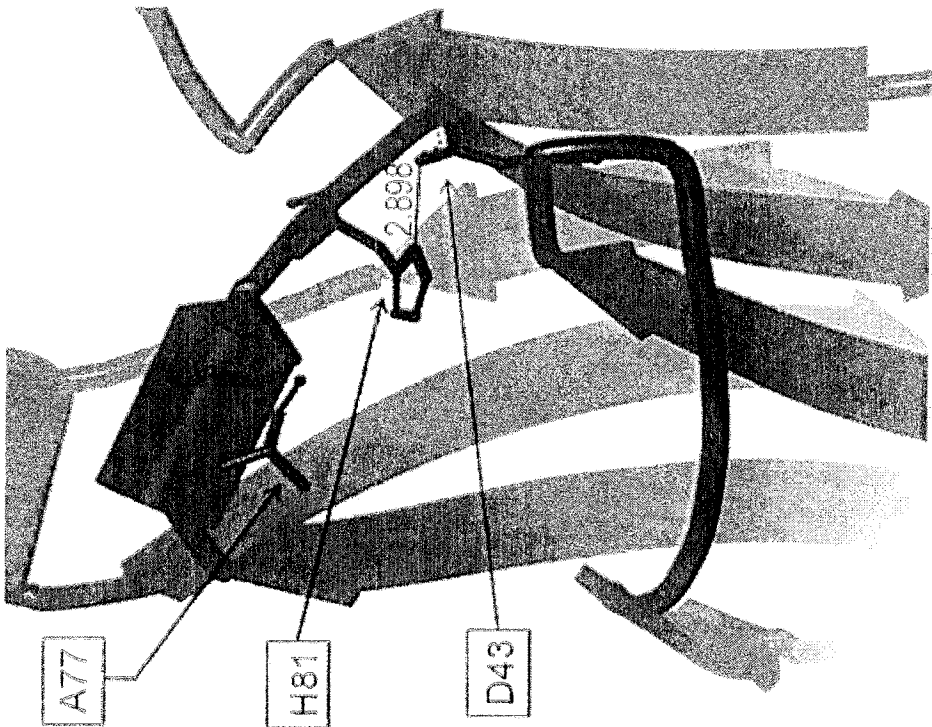


圖 13A

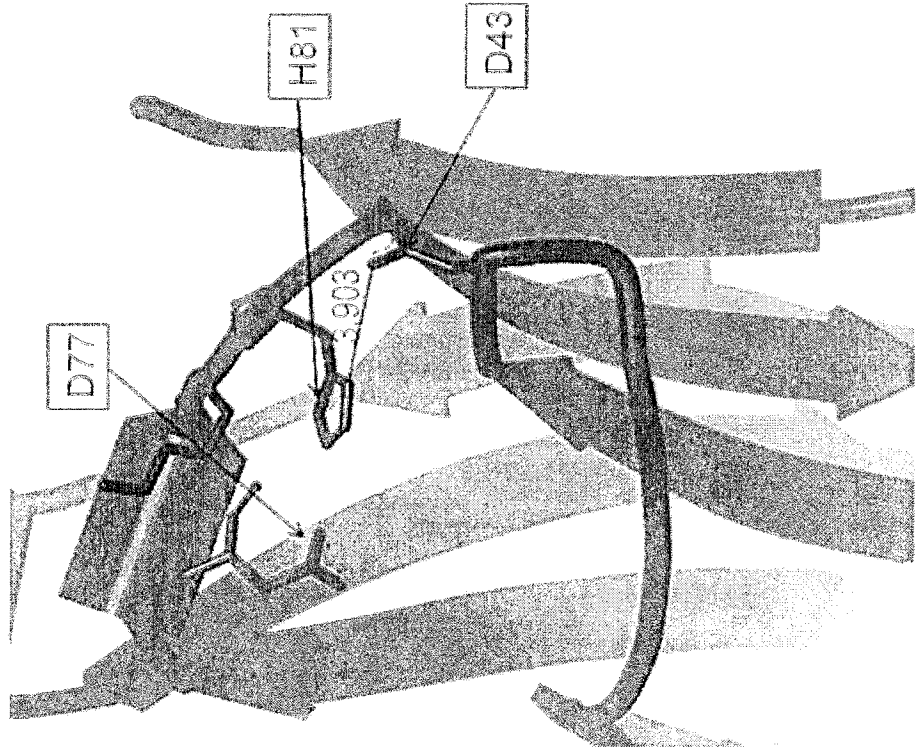


圖 13C

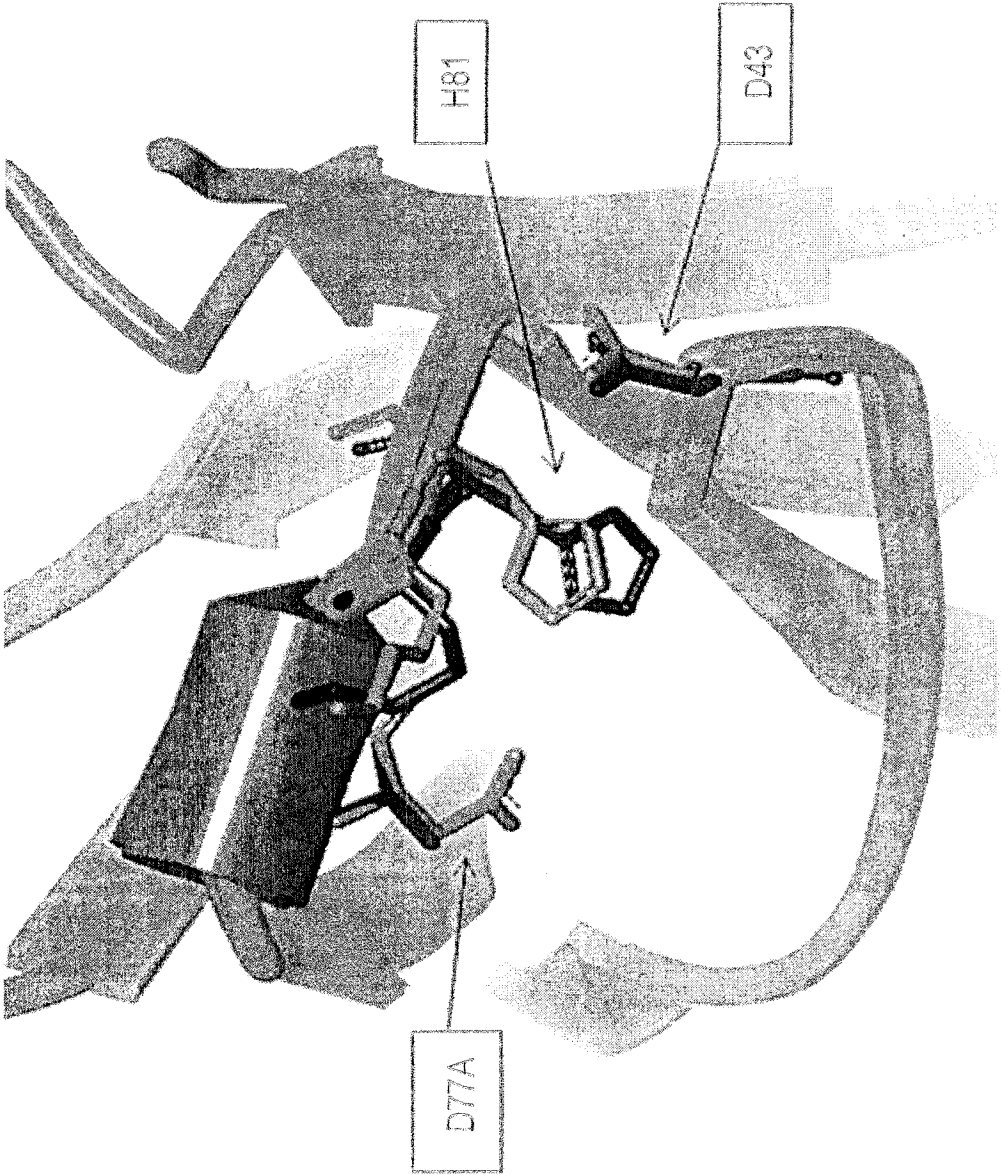


圖 14

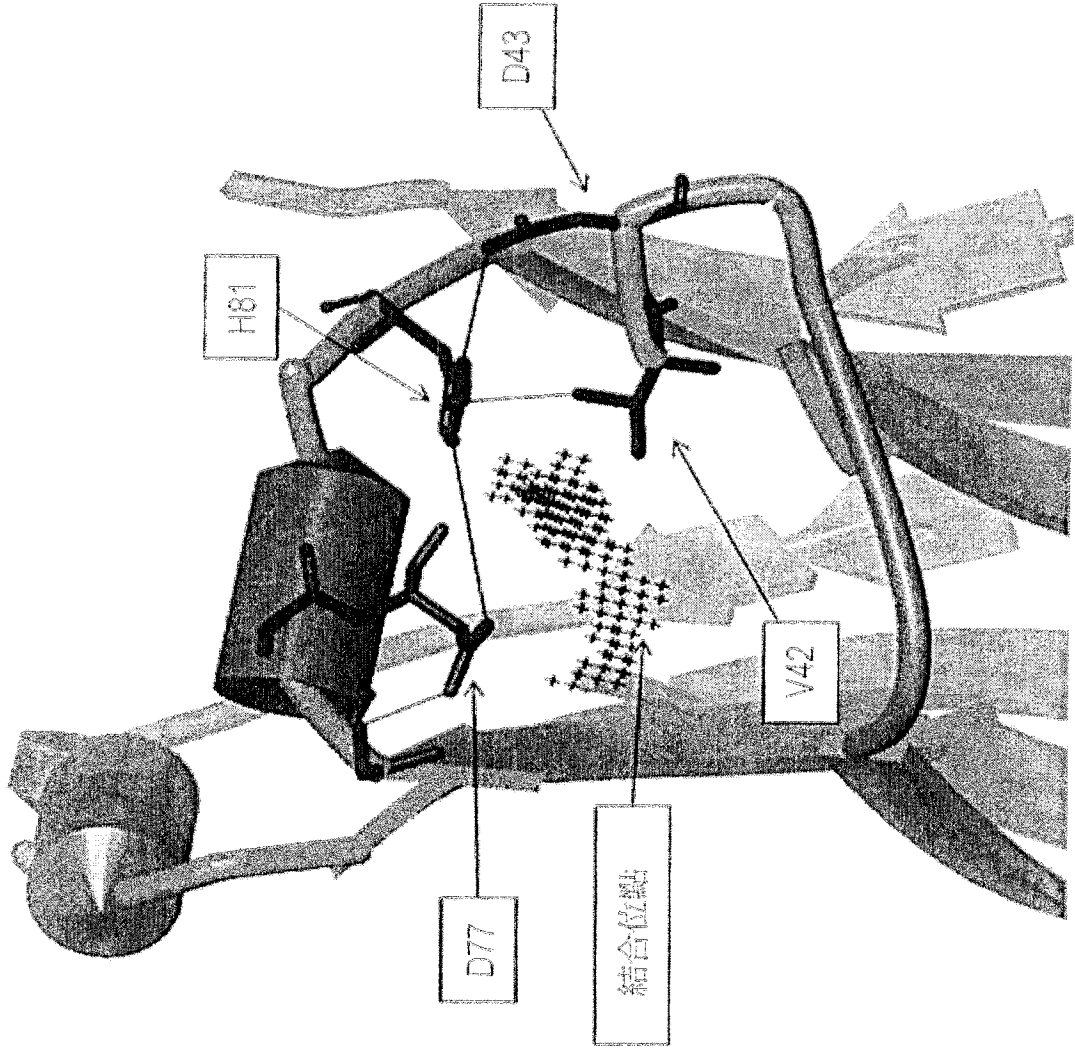


圖 15A

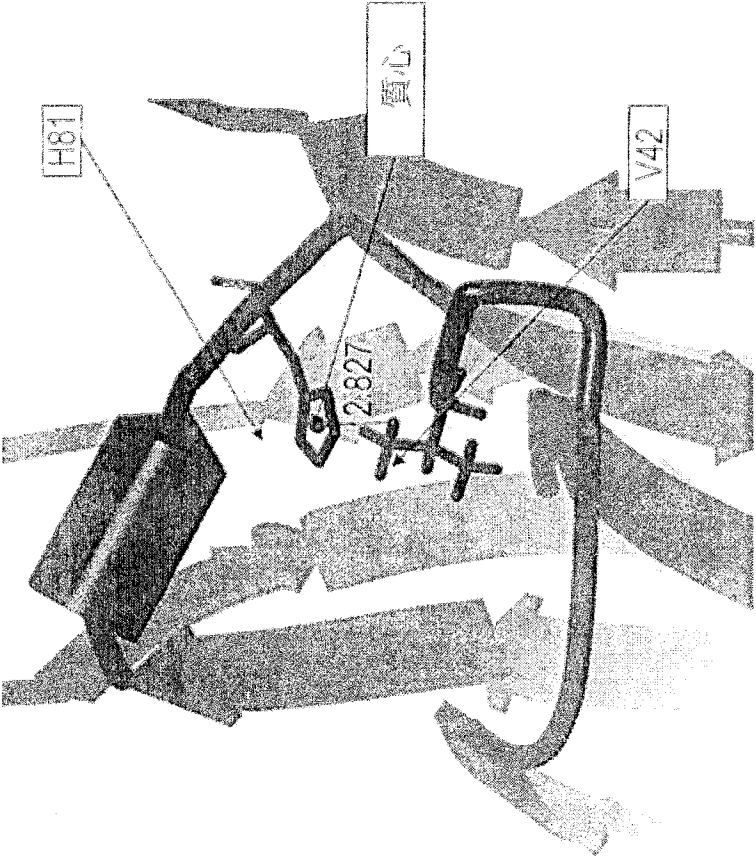
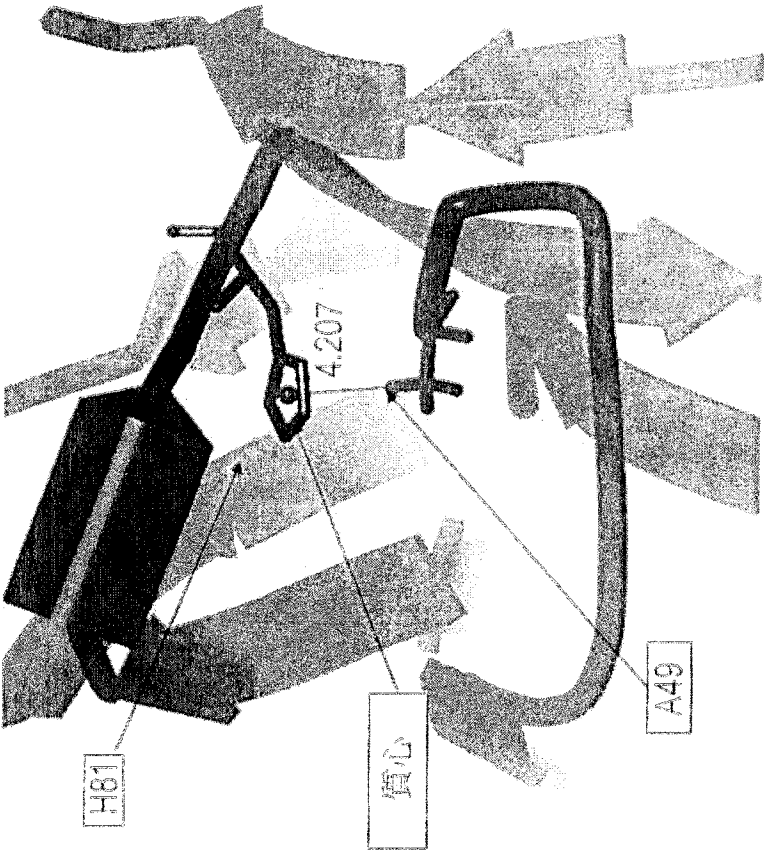


圖 15B



16

	A	B	C	D
hCHλ1	-----AST--KGPSVFPL	APSSKST--SGG	TAAAGCLVKD	YFPEPVTVSW NS---GALTSG-- VHTFPAVLQS
hCHλ2	-----APELLGGPSVFLF	PPKPKDTLMISR	TPEVTCVVVD	VSHEDPEVKF NWYVDGVEVHN AKTKPREEQY
hCHλ3	-----GQP--REPQVYTL	PPSREEM--TKN	QVSLTCLVKG	FYPSDIAVEW E----SNGQPENN YKTTPPVLD S
hCLκ	-----TVAAPT V FIF	PPSDEQL--KSG	<u>TASVVCLLNN</u>	<u>FYPREAKVQW</u> K-- <u>VDNALQSGN</u> <u>SQESVTEQDS</u>
	* * *	*	*	*
hCLλ	QLTVLGQPK-AAPSVTLF	PPSSEEL--QAN	KATLVCLISD	FYPGAVTVAW K-ADSSPVKAG VETTPSKQS
hCHλ1			F	G
hCHλ2			-SGLYSLSSV VTVPSSS-LG	TQTYICNVNH KPSNTKVDKK VEPKSC-
hCHλ3			-NSTYRVVSV LTVLHQDWLN	GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAK--
hCLκ			-DGSFFLYSK LTVDKSRWQQ	GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSL----
hCLλ			KDSTYSLSST <u>LTLSKADYEK</u>	<u>HKVYACEVTH</u> <u>QGLSSPVTKS</u> <u>FNRGEC-</u>
			-NNKYAASSY LSLTPEQWKS	HRSYSCQVTH EG--STVEKT VAPTECS

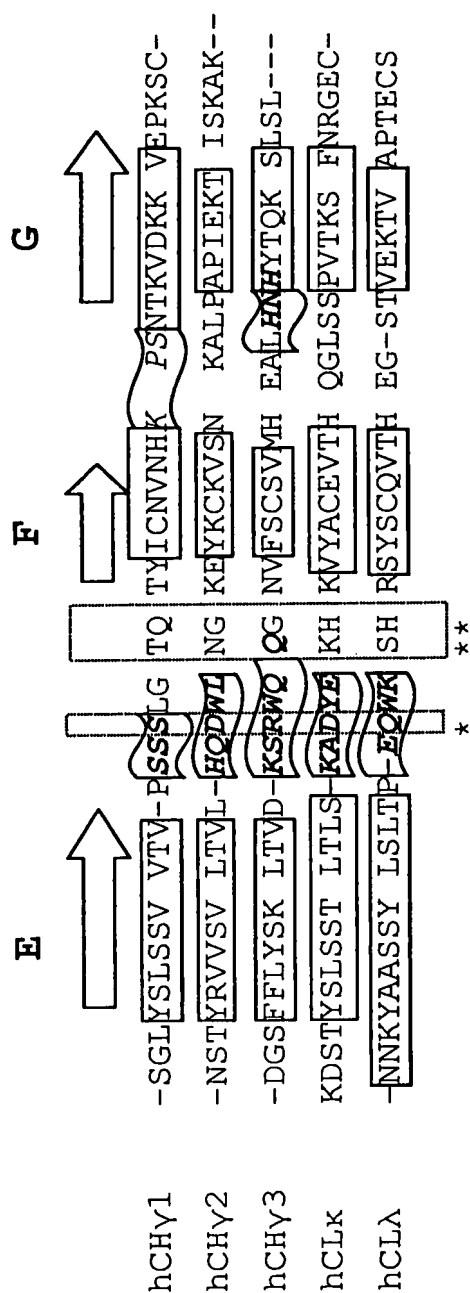


圖 18B

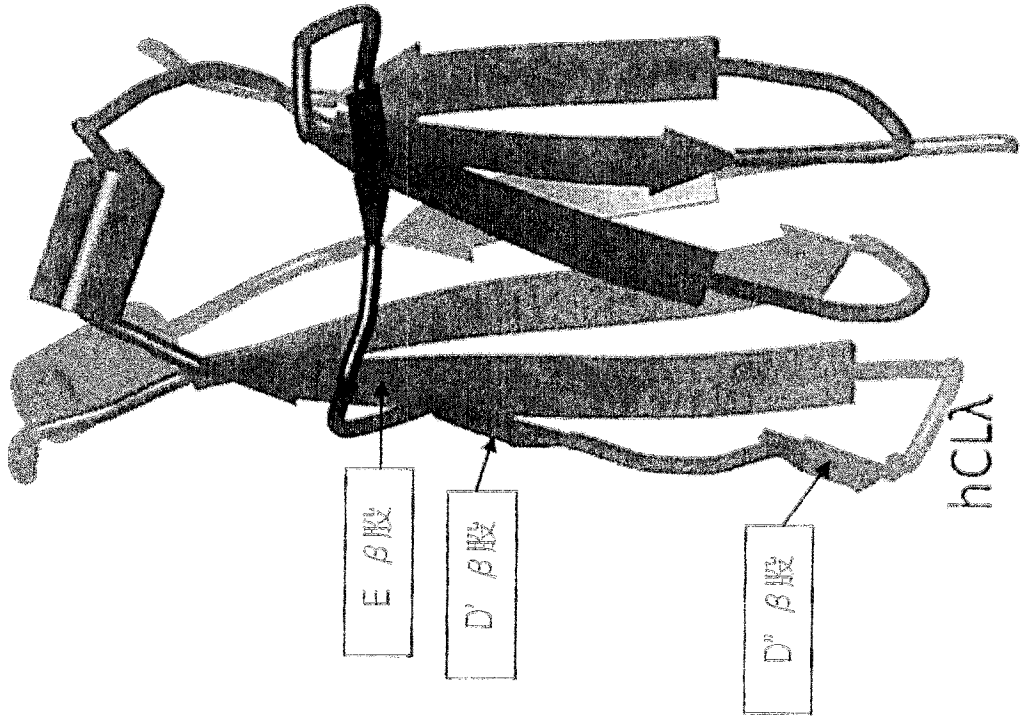


圖 18A

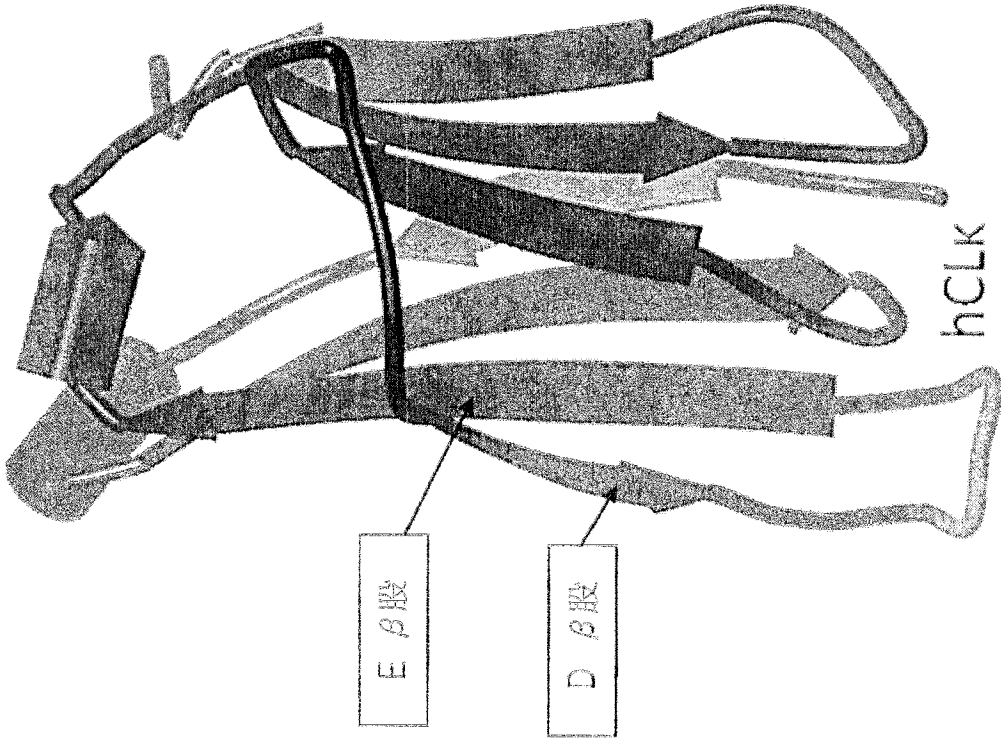


圖 19A

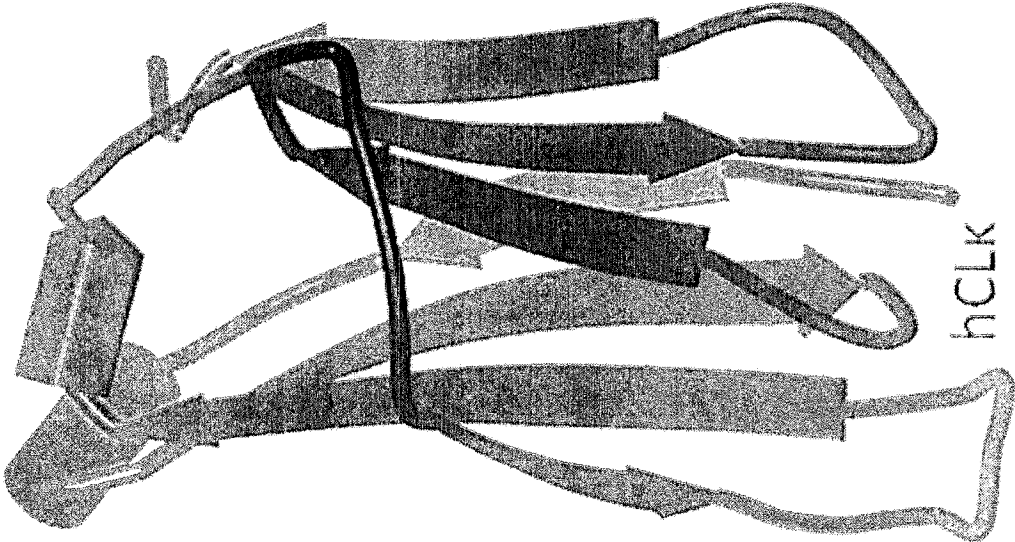


圖 19B

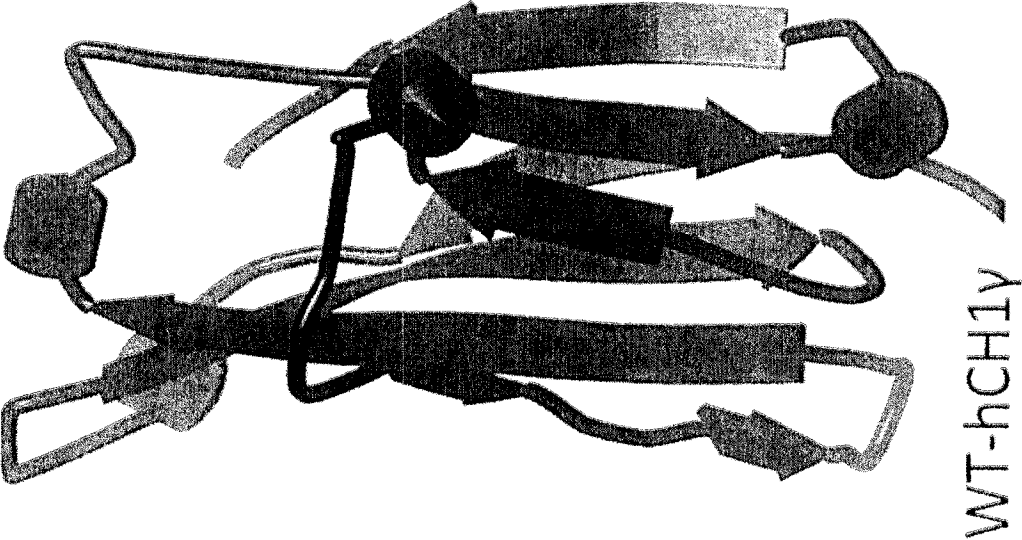


圖 20A

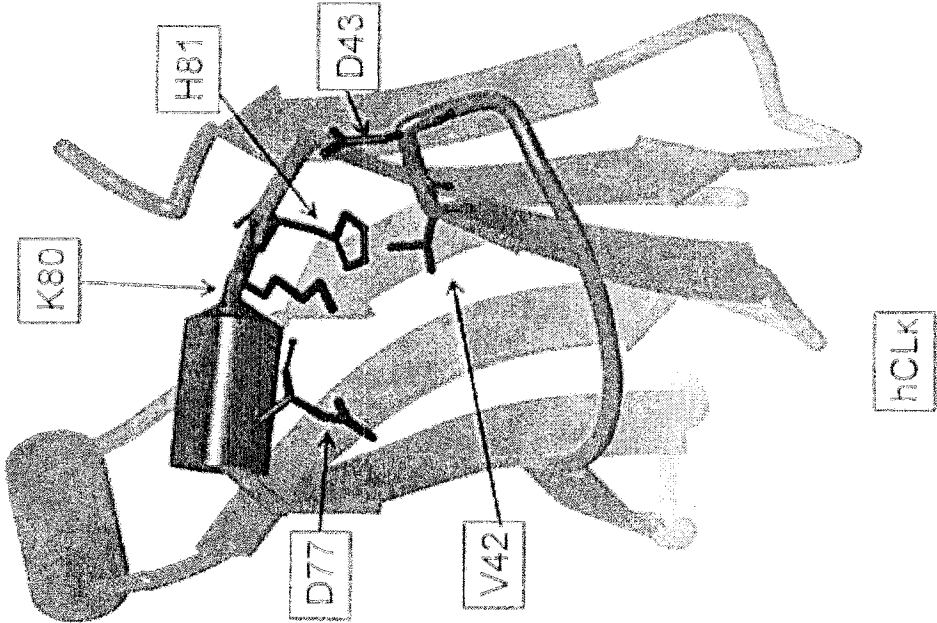


圖 20B

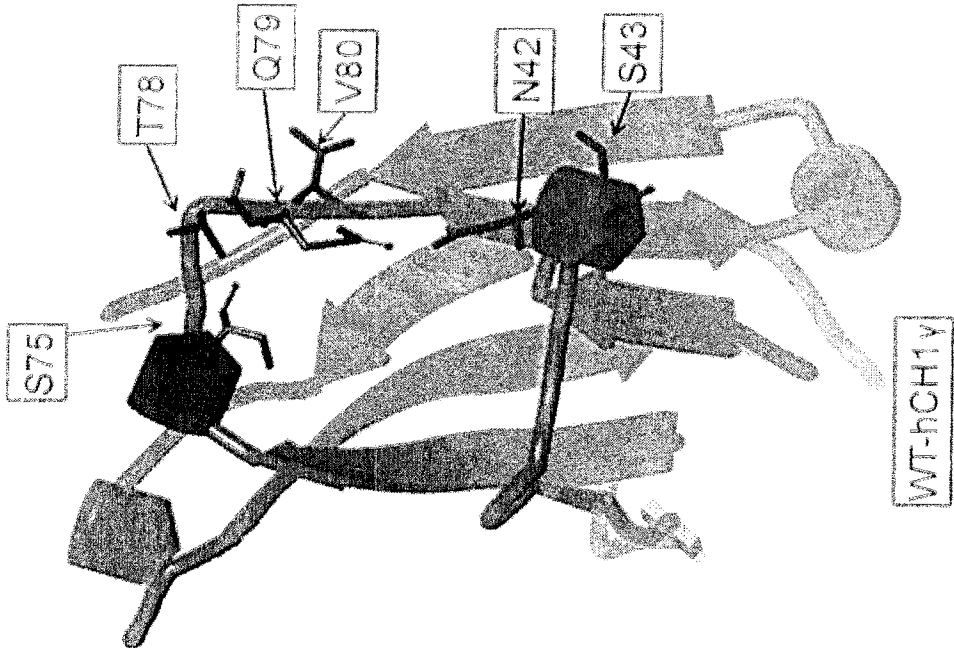


圖 21A

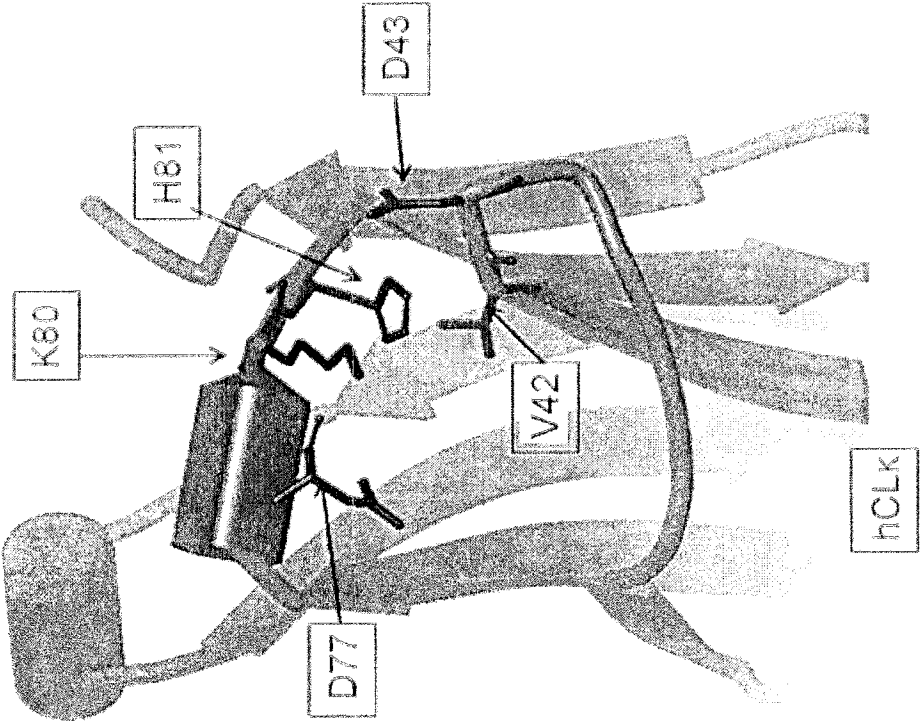


圖 21B

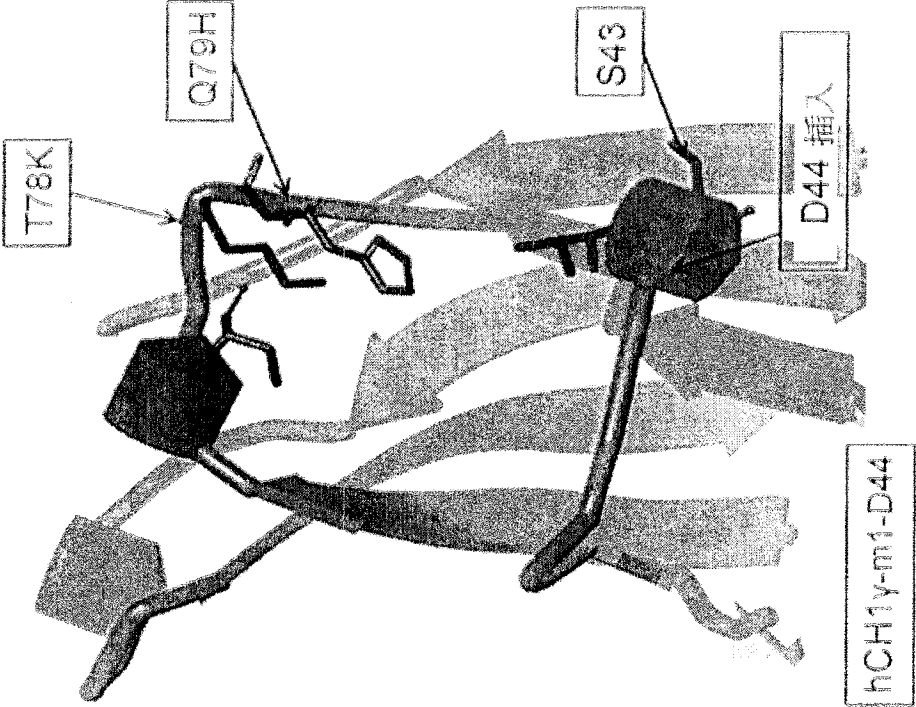


圖 22A

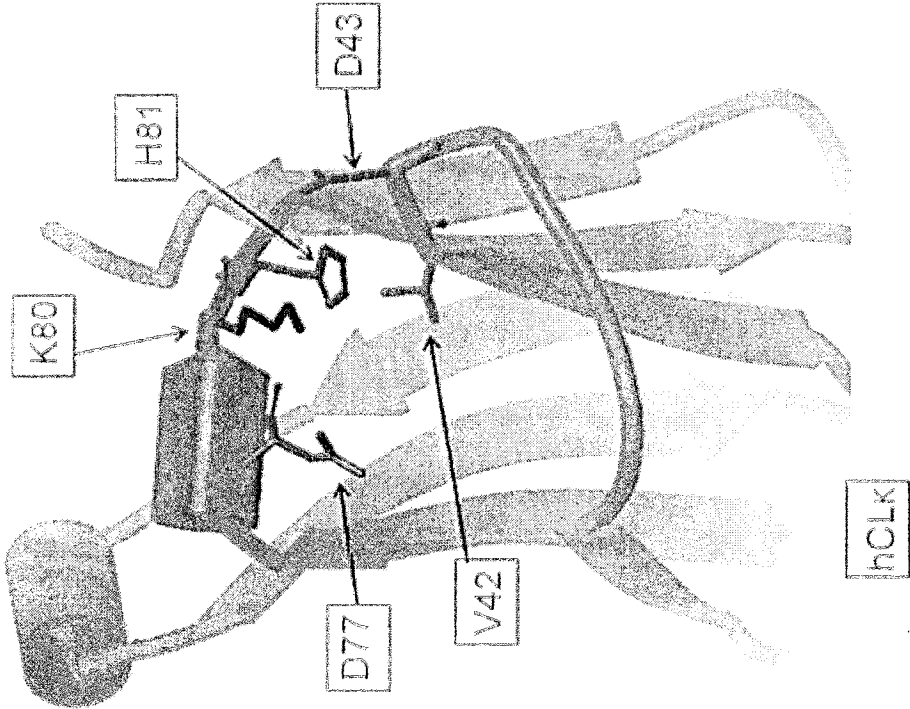


圖 22B

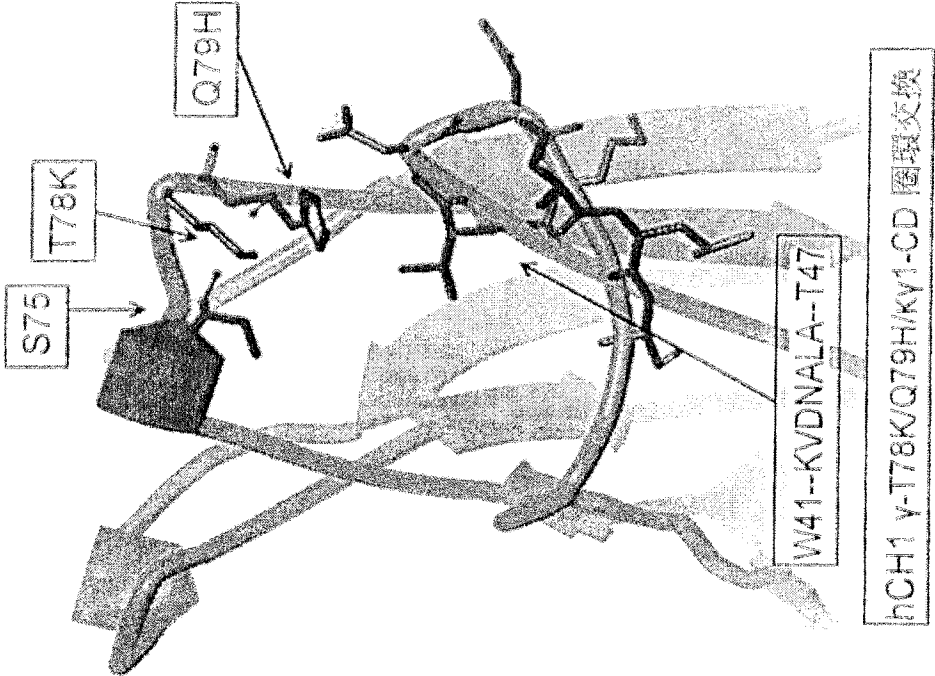
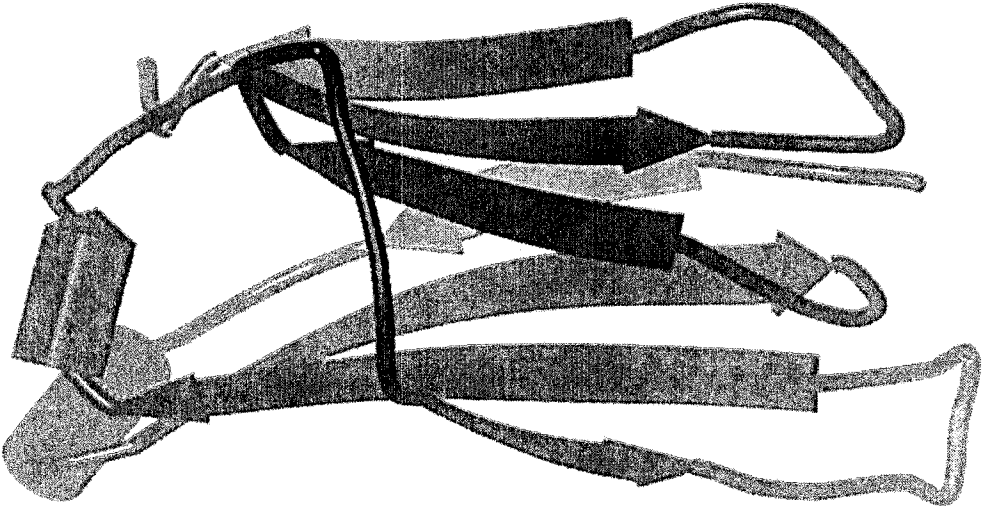
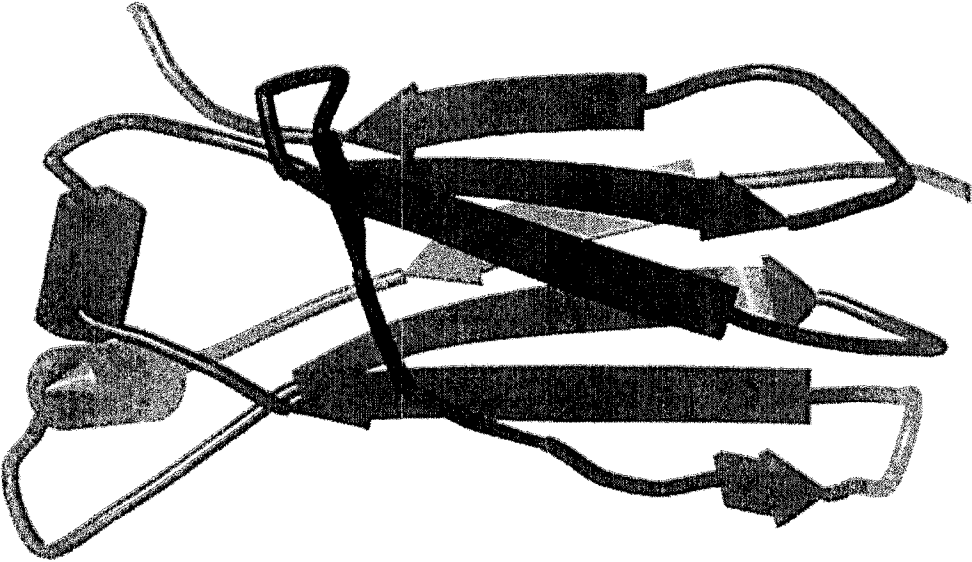


圖 23A



hCL

圖 23B



WT-hCH2 Y

圖 24A

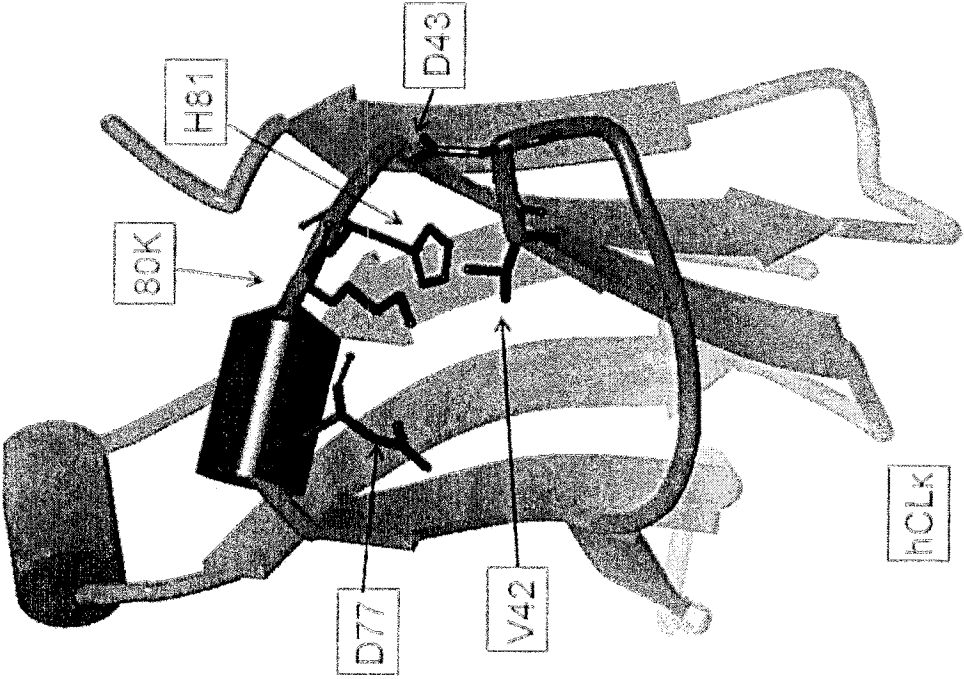


圖 24B

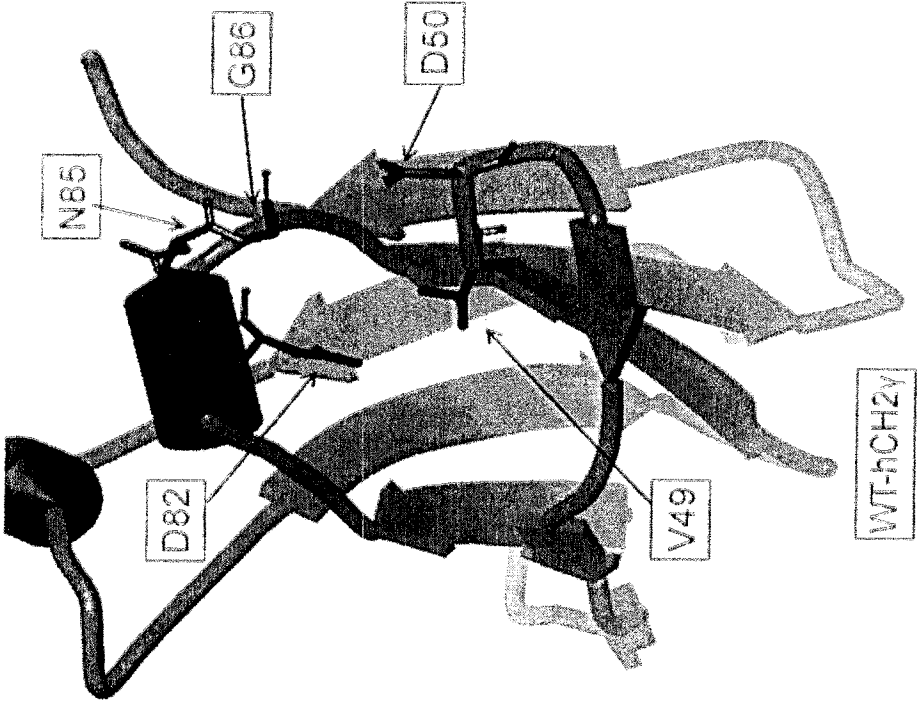


圖 25A

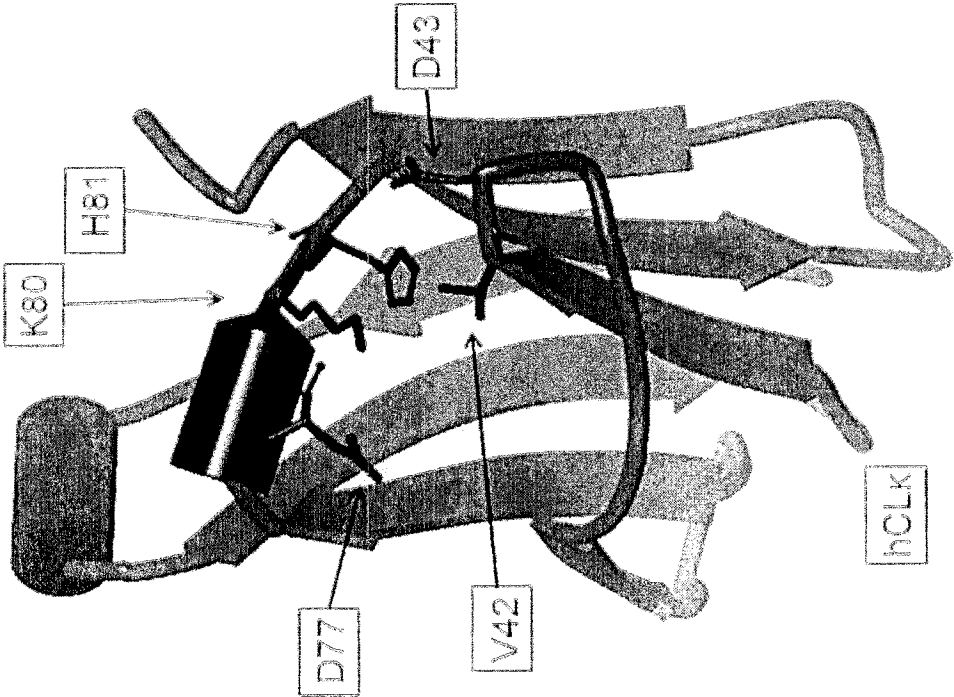


圖 25B

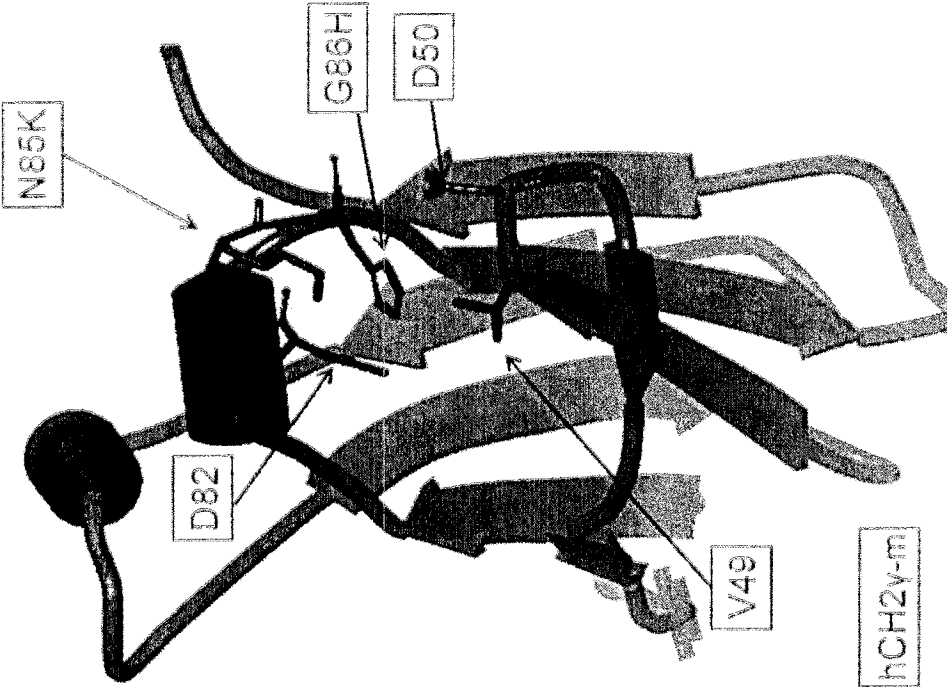


圖 26A

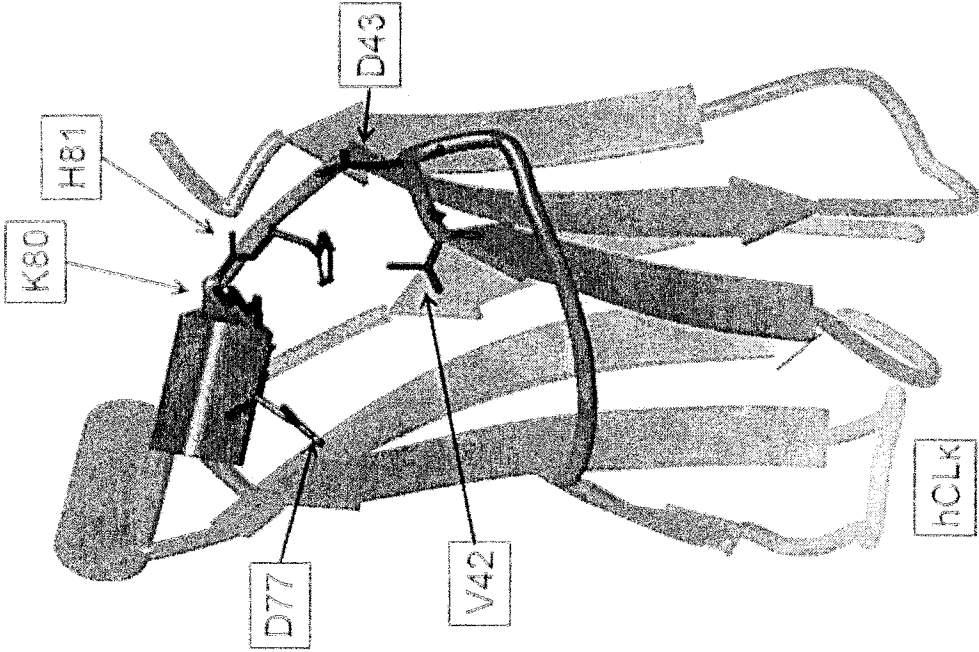


圖 26B

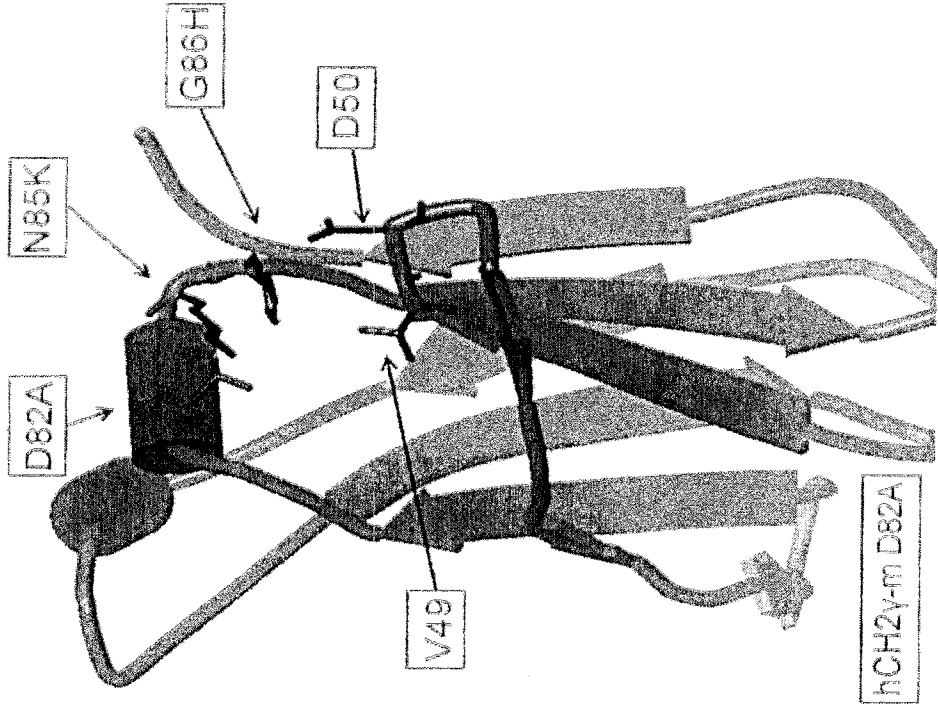


圖 27A

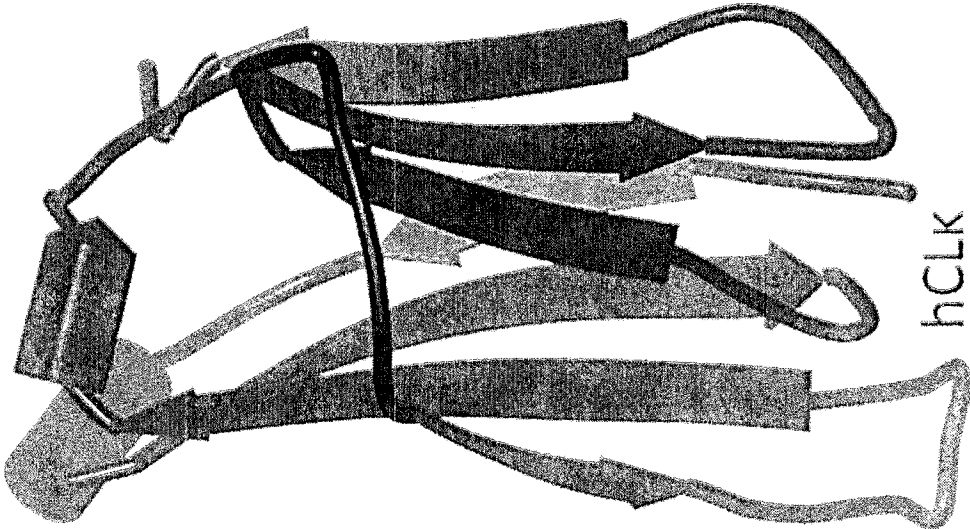


圖 27B

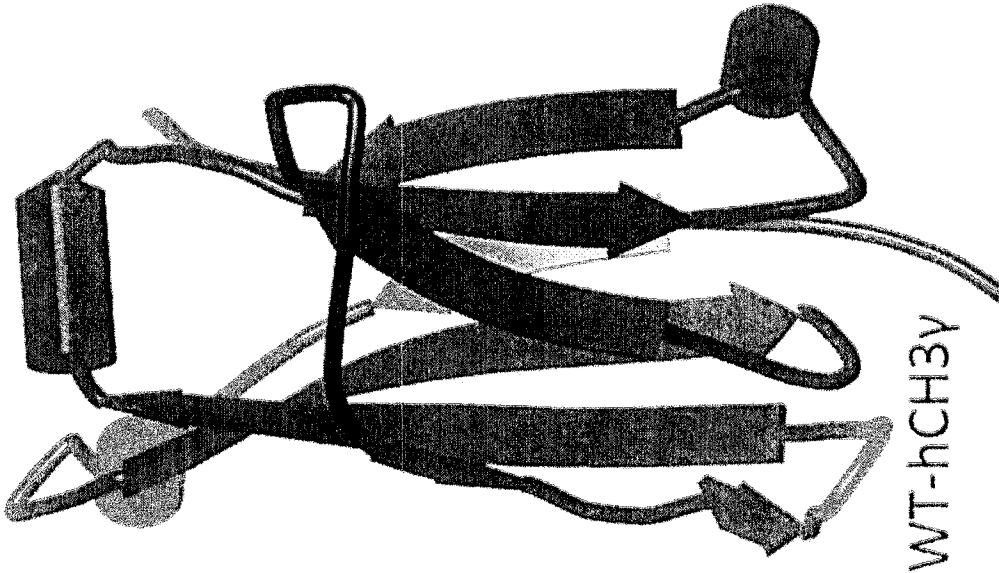


圖 28A

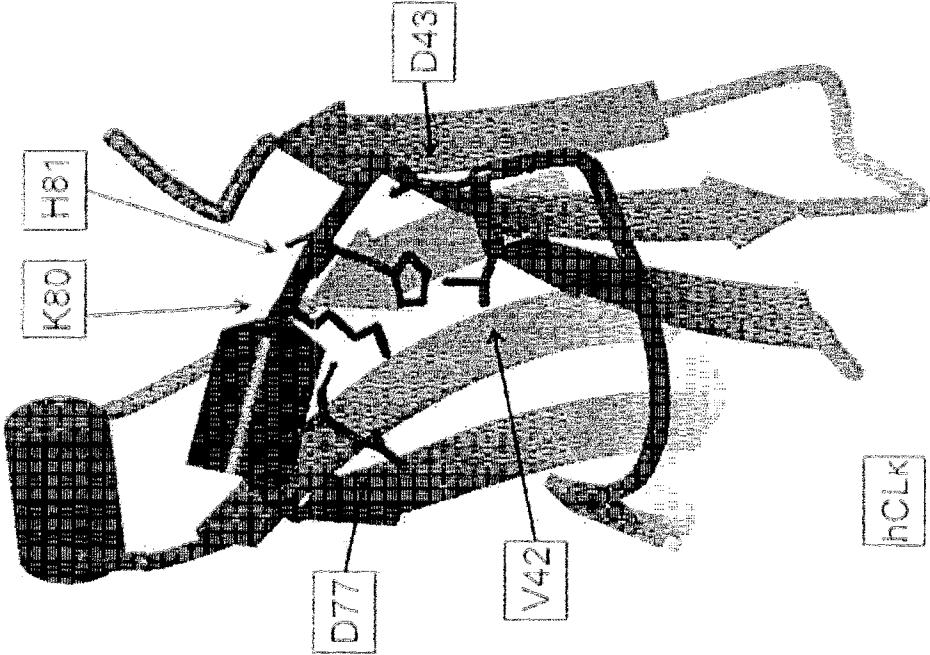


圖 28B

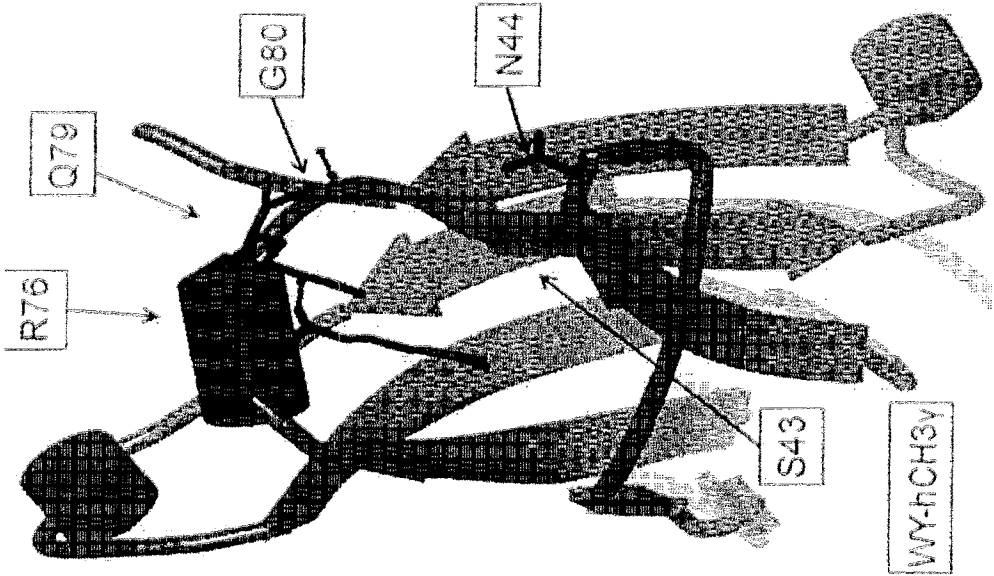


圖 29A

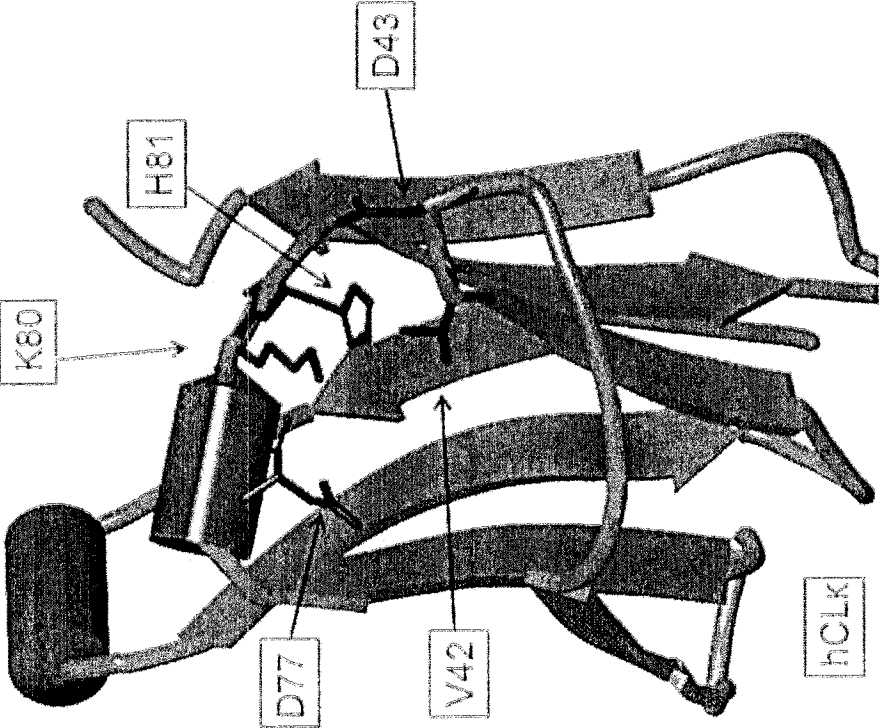


圖 29B

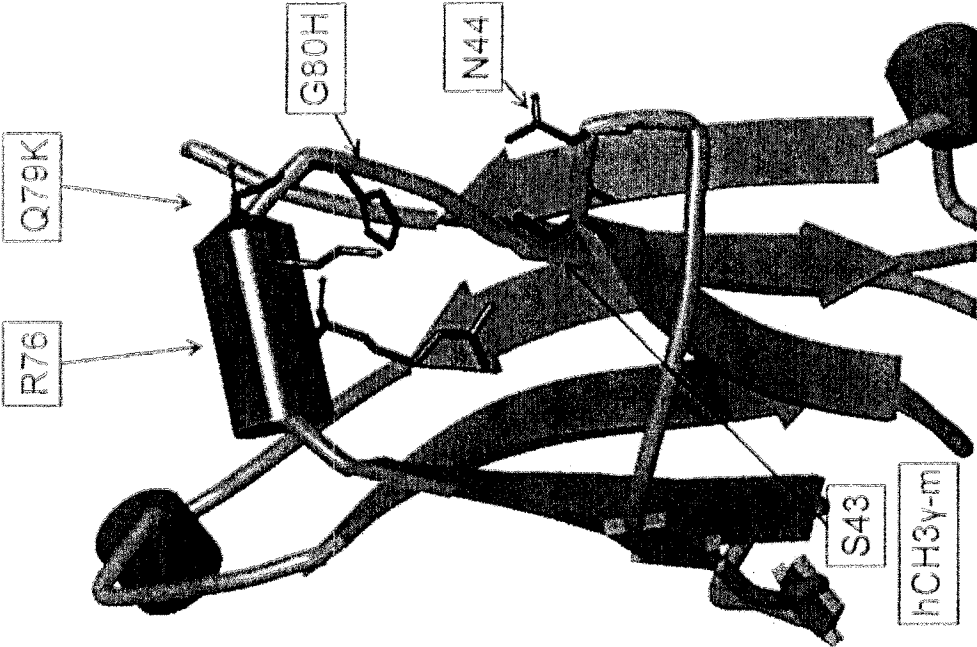


圖 30A

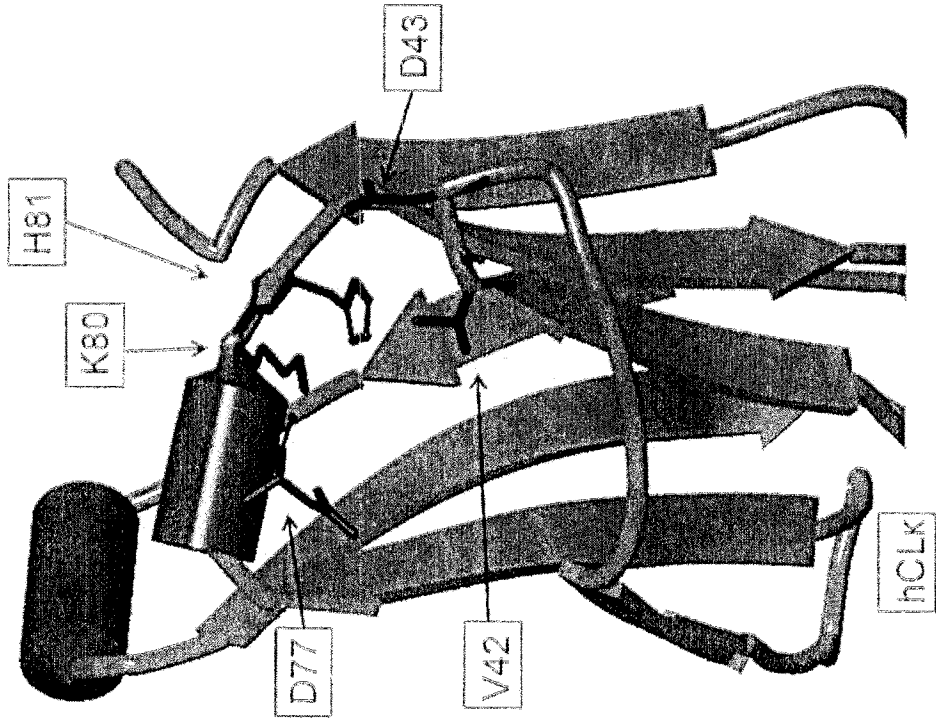


圖 30B

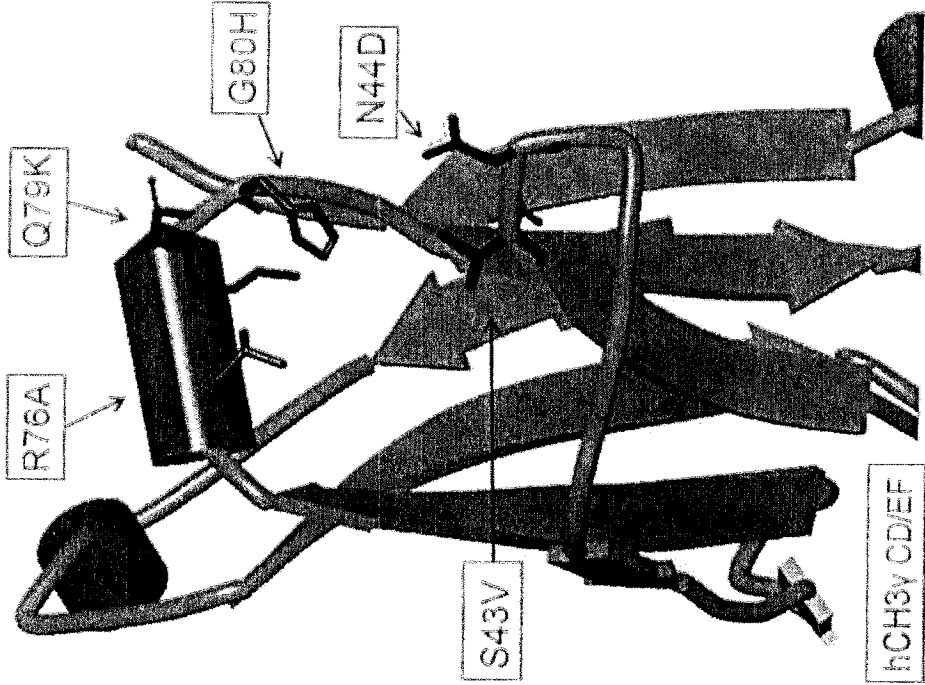


圖 31A

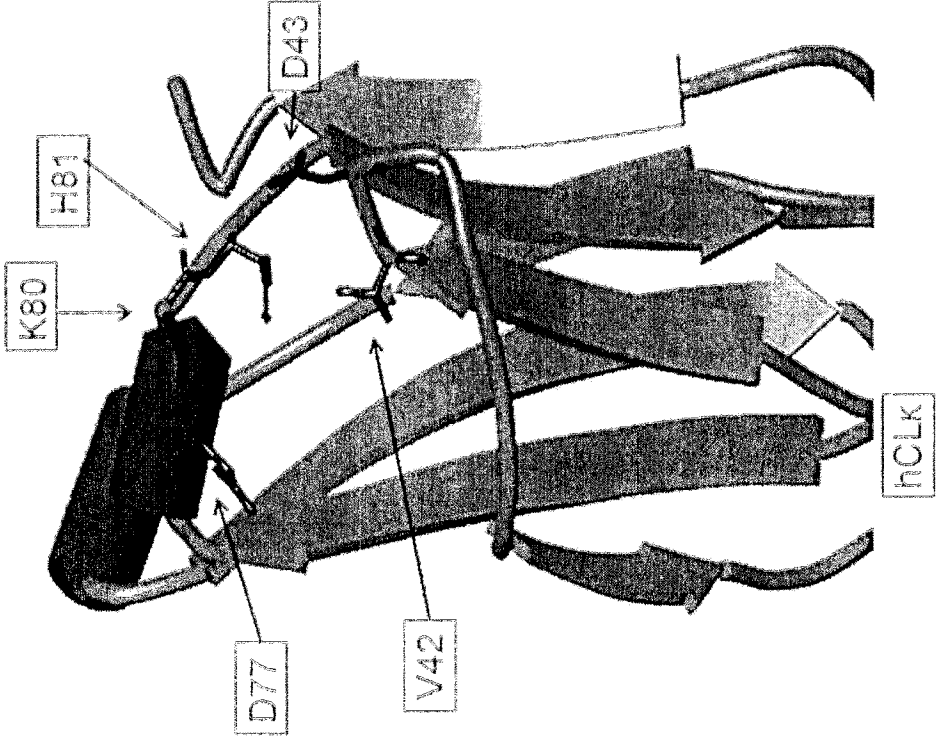


圖 31B

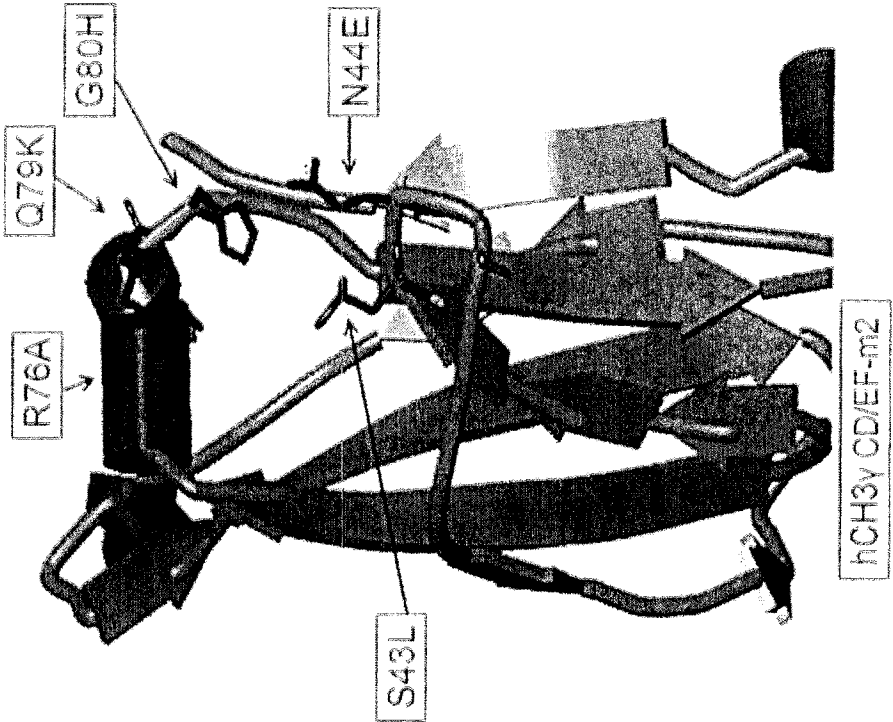
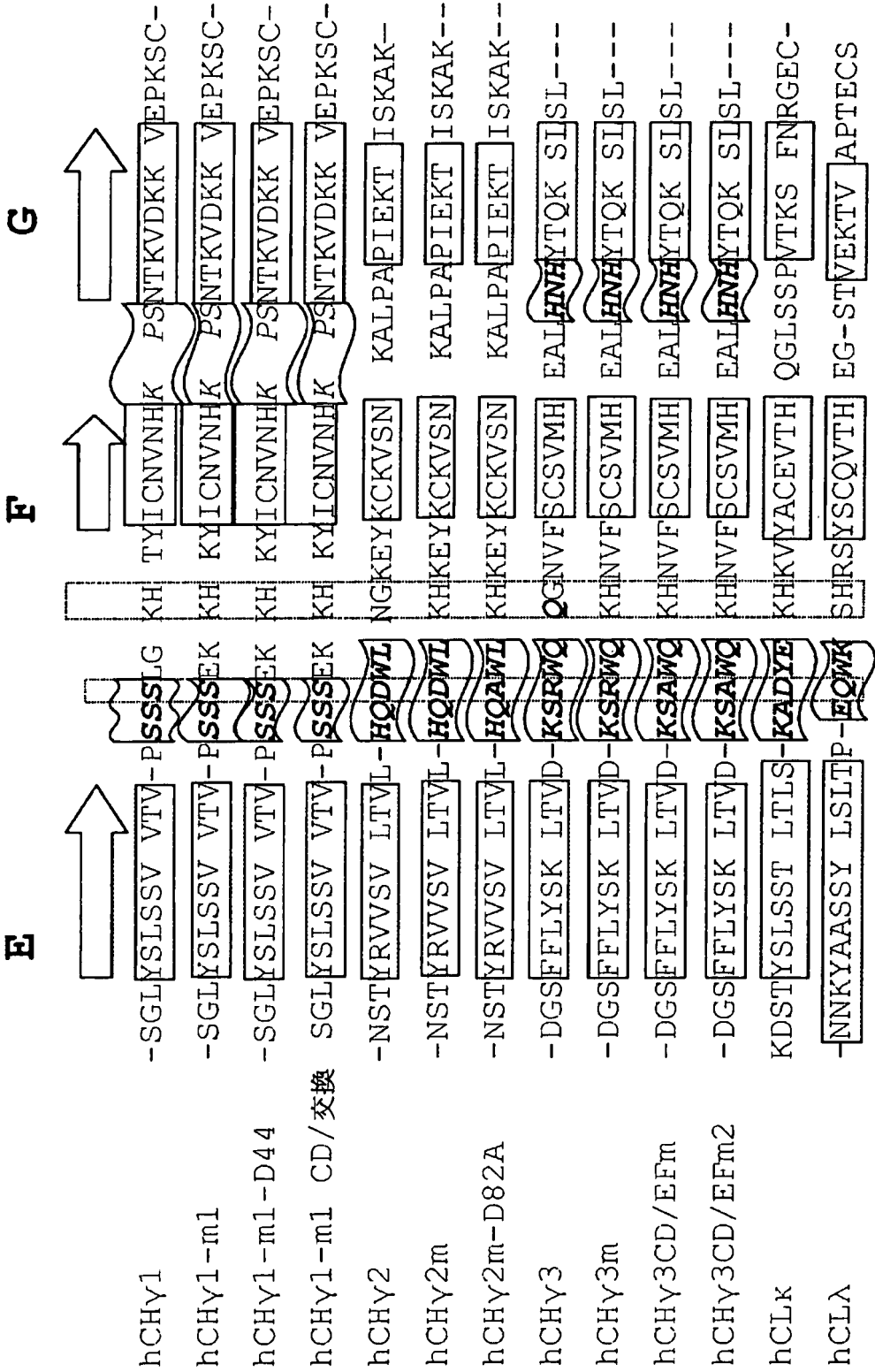


圖 32B



【代表圖】

【本案指定代表圖】：第(9A)圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：無