



(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 201310033 A1

(43) 公開日：中華民國 102 (2013) 年 03 月 01 日

(21) 申請案號：101110443 (22) 申請日：中華民國 101 (2012) 年 03 月 26 日

(51) Int. Cl. : **G01N33/50 (2006.01)** **G01N33/566 (2006.01)**
C40B30/04 (2006.01) **C40B40/10 (2006.01)**

(30) 優先權：2011/03/24 美國 61/467,256
2011/05/31 美國 61/491,717
2012/01/06 美國 61/583,881

(71) 申請人：歐科製藥有限公司 (美國) OPKO PHARMACEUTICALS, LLC (US)
美國

(72) 發明人：穆拉 姆萊利達 雷迪 MOOLA, MURALIDHAR REDDY (US) ; 席可 潔西卡
SCHILKE, JESSICA (US)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：21 項 圖式數：59 共 153 頁

(54) 名稱

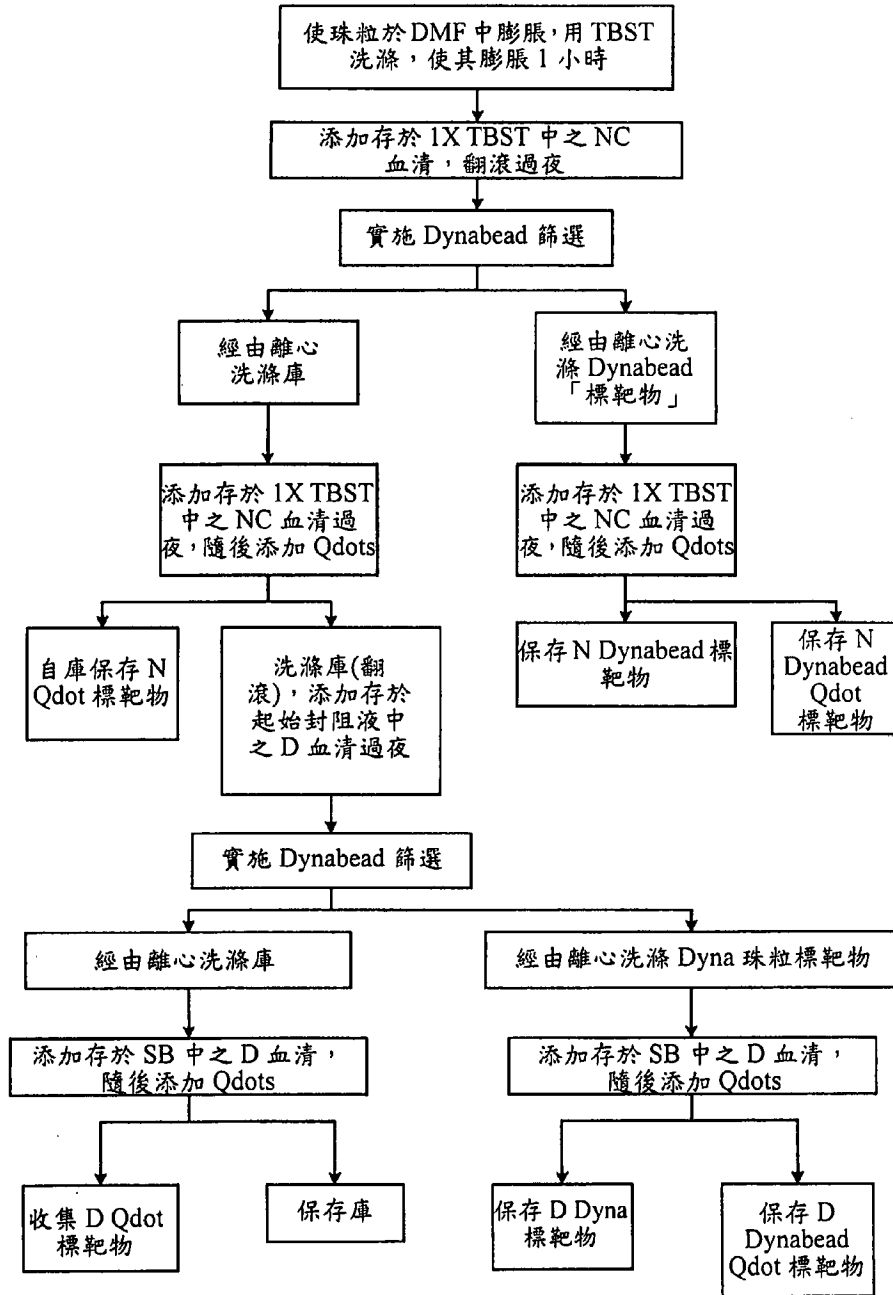
使用配位體庫之診斷及治療方法

DIAGNOSTIC AND TREATMENT METHODS USING A LIGAND LIBRARY

(57) 摘要

本發明係關於使用配位體庫之診斷及治療方法。具體而言，本發明係關於使用配位體庫來診斷或檢測藥物誘發之反應，包括藥物不良反應、副作用、藥物抗性及治療功效。本發明進一步關於鑑別與藥物誘發反應相關之生物標記及提供個人化醫學治療。

TentaGel 篩選流程圖





(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 201310033 A1

(43) 公開日：中華民國 102 (2013) 年 03 月 01 日

(21) 申請案號：101110443 (22) 申請日：中華民國 101 (2012) 年 03 月 26 日

(51) Int. Cl. : **G01N33/50 (2006.01)** **G01N33/566 (2006.01)**
C40B30/04 (2006.01) **C40B40/10 (2006.01)**

(30) 優先權：2011/03/24 美國 61/467,256
2011/05/31 美國 61/491,717
2012/01/06 美國 61/583,881

(71) 申請人：歐科製藥有限公司 (美國) OPKO PHARMACEUTICALS, LLC (US)
美國

(72) 發明人：穆拉 姆萊利達 雷迪 MOOLA, MURALIDHAR REDDY (US) ; 席可 潔西卡
SCHILKE, JESSICA (US)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：21 項 圖式數：59 共 153 頁

(54) 名稱

使用配位體庫之診斷及治療方法

DIAGNOSTIC AND TREATMENT METHODS USING A LIGAND LIBRARY

(57) 摘要

本發明係關於使用配位體庫之診斷及治療方法。具體而言，本發明係關於使用配位體庫來診斷或檢測藥物誘發之反應，包括藥物不良反應、副作用、藥物抗性及治療功效。本發明進一步關於鑑別與藥物誘發反應相關之生物標記及提供個人化醫學治療。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於使用配位體庫及源自其之活性化合物的診斷及治療方法。具體而言，本發明係關於使用配位體庫來發現用於測定疾病生物標記性質的配位體及診斷或檢測藥物誘發之反應，包括藥物不良反應、副作用、藥物抗性及其治療功效。本發明進一步係關於鑑別與藥物誘發之反應相關之生物標記及提供個人化醫學治療。

[相關申請案之交互參照]

本申請案主張分別於2011年3月24日、2011年5月31日及2012年1月6日提出申請之美國臨時專利申請案61/467,256、61/491,717及61/583,881的優先權，所有案件之全文皆以引用方式併入本文中。

【先前技術】

小分子微陣列成為組合化學中之愈來愈重要之工具。該等陣列通常係藉由以下方式產生：首先在適宜珠粒樹脂上合成組合庫，將珠粒分至微量滴定板之孔中，且隨後自珠粒釋放化合物。隨後將所得溶液機械點樣至化學修飾之載玻片上以使源自庫之分子共價附接至表面。或者，存在在陣列表面上原位合成某些種類之化合物的方法。迄今為止，小分子微陣列之最常見應用已作為庫篩選之多用途平臺，通常目標為針對所感興趣之給定蛋白質鑑別小分子配位體。

美國專利公開案2007/0003954揭示使用小分子微陣列之蛋白質及抗體譜。本申請案揭示結合配位體結合部分之配

位體，其中該等配位體佈置成合成分子之陣列，其用於篩選生物標記及分子指紋。本文所述具體陣列包括(例如)具有7680種結合至陣列之不同化合物之類肽微陣列。在該揭示內容中，利用珠粒庫作為初始構件來製造類肽，隨後將其轉移至在微陣列上具有可定址位置之微陣列以篩選生物流體。篩選可在複合生物混合物中之任一特定蛋白質之陣列上產生獨特圖案或分子指紋。以引用方式併入本文中之美國專利申請案2010/0303805揭示某些可用於針對與中樞神經系統病症相關之生物標記篩選生物流體的類肽及診斷陣列。用於形成其中陣列之其中所揭示特定單體亦可用於本發明之新篩選方法中，前提係庫放大至(例如)介於大於100 K至150 MM間之珠粒/類肽或珠粒/配位體的遠更大數量。

本申請案之發明者已發現顯著更大珠粒庫(相對於基於微陣列篩選抗體生物標記或基於珠粒篩選細胞)在恰當條件下可用於直接篩選複合生物試樣以發現藥物反應相關性生物標記以及結合該等配位體結合部分之配位體的顯著更大彙集。此顯著更大彙集包括顯著改進數量之高親和性配位體，其用作診斷工具以及潛在療法。

【發明內容】

在一個實施例中，本發明提供配位體庫。在一例示性實施例中，本發明提供大的基於珠粒之隨機配位體庫，其包括隨機類肽配位體庫。

在另一實施例中，本發明提供用於診斷個體之藥物誘發

之反應的方法，該方法包含：自該個體獲得生物試樣；針對該試樣篩選配位體庫；鑑別該試樣中之一或多個標記與該庫中之一或多個配位體的結合特性；及確定該一或多個標記是否與該藥物誘發之反應相關，藉此診斷該個體之該藥物誘發之反應。在一個例示性實施例中，該藥物誘發之反應係不良反應。在另一例示性實施例中，該藥物誘發之反應係副作用。在另一例示性實施例中，該藥物誘發之反應係對該藥物具有抗性。在另一例示性實施例中，該藥物誘發之反應係其治療功效，包括劑量功效。

在另一實施例中，本發明提供用於治療個體之疾病的方法，該方法包含：自該個體獲得生物試樣；針對該試樣篩選配位體庫；鑑別該試樣中之一或多個標記與該庫中之一或多個配位體的結合特性；確定該一或多個標記是否與治療該疾病之藥物的反應相關；基於該一或多個標記對該反應之間相關聯之確定，向該個體投與該藥物，藉此治療該個體之該疾病。

在另一實施例中，本發明提供用於檢測個體中藥物不良反應的風險之方法，該方法包含：自該個體獲得生物試樣；針對該試樣篩選配位體庫；鑑別該試樣中之一或多個標記與該庫中之一或多個配位體的結合特性；及確定該一或多個標記是否與該風險相關，藉此檢測該個體中該藥物之該不良反應之風險。

在另一實施例中，本發明提供用於描繪一或多個個體對用以治療疾病之藥物之反應的方法，該方法包含：自該個

體獲得生物試樣；針對該試樣篩選配位體庫；鑑別該試樣中之一或多個標記與該庫中之一或多個配位體的結合特性；及確定該一或多個標記是否與對該藥物之該反應相關，藉此描繪該一或多個個體對用以治療該疾病之該藥物之該反應。

在另一實施例中，本發明提供用於鑑別與治療疾病之藥物誘發之反應相關之標記的方法，該方法包含：自個體獲得生物試樣；針對該生物試樣篩選配位體庫；確定該試樣中之標記與該庫中之配位體的結合特性；及確定該標記是否與治療該疾病之該藥物誘發之反應相關，藉此鑑別與治療該疾病之該藥物誘發之反應相關的該標記。

在另一實施例中，本發明提供用於鑑別與藥物治療疾病之反應相關之標記的方法，該方法包含：自一或多個對治療該疾病之該藥物呈現該反應之個體獲得第一組生物試樣；自一或多個對治療該疾病之該藥物不呈現該反應之個體獲得第二組生物試樣；針對該第一及第二生物試樣篩選隨機配位體庫；確定該第一及第二生物試樣之間一或多個標記與庫中之配位體之結合差異；及鑑別與對治療該疾病之該藥物之該反應相關的標記。在一例示性實施例中，標記係能夠結合至類肽配位體之自體抗體。

本發明之其他特徵及優點自下列實施方式實例及圖示將顯而易見。然而，應理解，實施方式及具體實例在指示本發明之較佳實施例時僅係以圖解說明方式給出，此乃因彼等熟習此項技術者自此實施方式將明瞭本發明之精神及範

疇內之各種改變及修改。

【實施方式】

在以下實施方式中，闡述多種具體細節以徹底理解本發明。然而，彼等熟習此項技術者應理解，可在無該等具體細節之情況下實踐本發明。在其他情況下，未詳細闡述熟知之方法、程序及組份，以避免淡化本發明。

本發明涵蓋配位體庫及其用途。具體而言，本發明涵蓋分子篩選、醫藥蛋白質組學、診斷、治療及隨機庫之其他用途。

在一個實施例中，本發明提供用於個人化醫療之配位體庫。本文所用術語「個人化醫療」可係指使用測試(或診斷)以靶向患者最可能自其受益之藥物(或療法)，或鑑別可能處於來自該療法之損害風險的患者。在藥物或診斷產品在美國及大多數其他國家中銷售之前，其安全性及功效經歷嚴格監管審查。在個人化醫療之診斷情形下，此將可能需要測試接受藥物之患者之組織或體液以確定其對療法之反應與特定標記之存在之間是否存在關聯。因此，在一個實施例中，本發明提供用於診斷對藥物治療個體之疾病之反應的方法，該方法包含：自該個體獲得生物試樣；針對該試樣篩選配位體庫；鑑別該試樣中之一或多個標記與該庫中之一或多個配位體的結合特性；及確定該一或多個標記是否與對該藥物之該反應相關，藉此診斷對該藥物治療該個體之該疾病之該反應。反應之實例包括但不限於不良反應、副作用、藥物抗性及治療功效(包括劑量功效)。

不良藥物反應係藥物研發規劃之低成功率的主要原因(進入人類臨床測試之四種化合物中小於一種最終由美國食品藥物管理局(FDA)批准使用)。藥物誘發之疾病或毒性對藥物研發者呈遞一系列獨特挑戰，此乃因該等反應經常不可自臨床前研究預測且不可在涉及少數量之個體之早期臨床試驗中檢測到。在臨床研發之晚期檢測到該等效應時，其經常導致藥物研發規劃終止。在藥物儘管具有一定毒性但仍獲批准時，其臨床用途通常嚴重受限於甚至可能在小群組患者中出現不良反應。該化合物成為一線療法之可能性較小(除非無競爭產品)。使用本發明之臨床實驗可改進涉及少數量個體之研究中的可能毒性反應之預測。本發明之方法可快速獲得幹預之可能之未來毒性效應的預測。因此，在另一實施例中，本發明提供用於檢測個體中藥物不良反應的風險之方法，該方法包含：自該個體獲得生物試樣；針對該個體篩選配位體庫；鑑別該試樣中之一或多個標記與該庫中之一或多個配位體的結合特性；及確定該一或多個標記是否與該風險相關，藉此檢測該個體中該藥物之該不良反應之風險。

本發明部分係基於以下令人吃驚之發現：結合類肽之生物標記之組合可用於個別化患者中之療法。由於響應藥物之高個體間變化，本發明之分析方法尤其有利，此乃因其利用慮及多重分析決定簇(例如，結合類肽之生物標記)之結合特性之差別的組合策略來確定患者中之疾病是否具有響應具體藥物或藥物組合治療之高可能性。若患者分類為

反應者，則隨後可產生適於該患者之投藥方案以達成治療功效而不誘發毒性副作用。因此，分類為反應者之患者可得到藥物誘發之療法之全部益處，而不經歷與該療法相關之副作用。類似地，已進行藥物治療之患者可經歷毒性副作用降低，而不因隨後投與藥物損害治療功效。同樣，可監測已進行藥物治療之患者以評定是否已出現對藥物之抗性且是否應投與替代療法。

因此，本發明之方法能夠治療個體之疾病，該方法包含：自該個體獲得生物試樣；針對該個體篩選配位體庫；鑑別該試樣中之一或多個標記與該庫中之一或多個配位體的結合特徵；確定該一或多個標記是否與治療該疾病之藥物反應相關；基於該一或多個標記與該反應之間相關聯之確定，向該個體投與該藥物，藉此治療該個體之該疾病。在另一實施例中，本發明提供監測個體之藥物治療，該方法包含：自該個體獲得生物試樣；針對該個體篩選配位體庫；鑑別該試樣中之一或多個標記與該庫中之一或多個配位體的結合特徵；確定該一或多個標記是否與治療該疾病之藥物反應相關；基於該一或多個標記對該反應之間相關聯之確定，向該個體投與該藥物，藉此監測該個體之該藥物之治療。

在另一實施例中，本發明提供用於醫藥蛋白質組學及鑑別與藥物反應相關之標記的配位體庫。因此，在一個實施例中，本文提供一種用於鑑別與治療疾病之藥物誘發反應相關之標記的方法，該方法包含：自個體獲得生物試樣；

針對該生物試樣篩選配位體庫；測定該試樣中之標記與該庫中之配位體的結合特徵；及測定該標記是否與治療該疾病之該藥物誘發之反應相關，藉此鑑別與治療該疾病之該藥物誘發之反應相關的該標記。在一個例示性實施例中，藥物反應係患者對藥物、其劑量或不良反應之反應。

在一個實施例中，使用本發明配位體庫鑑別生物標記之一或多個推定標靶物(hits)或先導物(leads)。生物試樣可獲自一個體或多數個體(例如患者群體或亞群體)。在一些實施例中，第一組生物試樣可獲自多數呈現反應(例如藥物誘發之反應或對疾病之反應)之個體，第二組生物試樣可獲自多數不呈現反應之個體。可針對第一組及第二組生物試樣篩選配位體庫。可測定第一組及第二組生物試樣之間一或多個標記與庫中之一或多個配位體的結合特徵之差別。基於結合特徵之差別，可鑑別生物標記之推定標靶物或先導物。在一些實施例中，推定標靶物或先導物係識別與反應(例如患者對藥物之反應、對疾病之反應及對特定疾病階段之反應)相關之抗原之自體抗體的生物標記。

在一個實施例中，對於鑑別生物標記之推定標靶物或先導物而言，可使用基於珠粒之大的隨機類肽配位體庫，其具有約350 K至約250 MM範圍內之類肽配位體。初始隨機庫篩選中鑑別之生物標記之推定標靶物或先導物隨後可用於隨後篩選中以針對試樣篩選本文所論述診斷或搭配診斷。

在一些實施例中，在隨後篩選中驗證推定標靶物或先導

物。在一個實施例中，用於初始篩選中之相同配位體庫可用於驗證隨後篩選中。在另一實施例中，不同配位體庫（不同於用於初始篩選中者）可用於驗證隨後篩選中。

在一個實施例中，在初始篩選中鑑別與第一特徵（例如，對疾病之反應）相關之推定標靶物或先導物且所鑑別推定標靶物或先導物用於針對試樣篩選以確定其與第二特徵（例如，對藥物之反應）之關聯。在一個實施例中，在初始篩選中鑑別與疾病相關之推定標靶物或先導物且所鑑別推定標靶物或先導物用於針對試樣篩選以驗證並確定與該疾病之具體階段的關聯。

在一些實施例中，可在基於珠粒之裝置上使用大的隨機配位體庫實施用於鑑別推定標靶物之初始篩選，且可使用任一平臺（例如微陣列）使用非隨機或隨機配位體庫實施用於診斷或搭配診斷（companion diagnostic）之隨後篩選。

在一個實施例中，在用於診斷或搭配診斷之隨後篩選中，可針對第一配位體庫實施第一篩選且可針對第二配位體庫實施隨後篩選，其中第一配位體庫包含第一組配位體且第二配位體庫包含第二組配位體。在一個實例中，篩選第一配位體庫以鑑別與疾病相關之標記，且在隨後篩選中篩選第二配位體庫以鑑別與藥物誘發之反應相關之標記。

在一個實例中，推定標靶物或先導物用於在藥物治療之前收集之患者試樣中的第一篩選中，以確定其與疾病之關聯。在藥物治療之後，可自患者收集試樣，且在一個實施例中，用於預治療群組中之相同推定標靶物可用於鑑別彼

等具有特定疾病階段或對藥物治療具有反應性攻擊之患者。在另一實施例中，不同推定標靶物可用於監測藥物相關性副作用或治療效應，其係由於藥物投與且不必與預治療性質相關聯或相關。在一些實施例中，另一隨機庫可用於發現可能與藥物治療相關之額外生物標記。

本文所用術語「藥物」可係指任一藥物，包括但不限於合成無機或有機化合物、蛋白質、肽、多糖及其他糖、脂質、DNA及RNA核酸序列、反義寡核苷酸、抗體、受體配位體、酵素、黏著肽、抗原、激素、生長因子、核酶及逆轉錄病毒載體。

本發明涵蓋彼等熟習此項技術者已知之任一適宜藥物。該等藥物列舉於以下中：The Merck Index；Physicians' Desk Reference, PDR Network, 2011版(2010年12月1日)；美國專利7,932,294、及美國專利公開案20060046967、20110274695、20110269722、20110269709及20060205674，其全文皆以引用方式併入本文中。

在一個實施例中，該藥物係選自以下類別/群組中之一或多者：抗生素、鎮靜藥、安眠藥、抗抑鬱劑、抗精神病藥、抗躁狂藥、鎮痛藥、解熱藥、抗偏頭疼劑、抗驚厥藥、用於帕金森氏症(parkinsonism)及運動障礙之藥物、用於癡呆症之藥物、止吐藥、用於眩暈之藥物、CNS刺激劑活化劑、抗感染眼製劑、抗發炎、抗過敏製劑、抗青光眼藥物、用於治癒眼疾病之製劑、耳製劑、鼻製劑、口咽製劑、抗心律失常藥物、抗高血壓藥、 α/β -阻斷劑、通道阻

斷劑、ACE抑制劑、血管緊張素II受體拮抗劑、利尿劑、抗心絞痛藥、硝酸鹽、鈣通道阻斷劑。用於心臟衰竭及休克之藥物、血管舒張劑、促凝劑、抗凝血劑、血栓溶解劑、抗血小板藥物、呼吸刺激劑、鎮咳藥、祛痰藥、溶黏痰藥、減充血藥、抗組胺劑、平喘藥；抗潰瘍藥、抗分泌藥、H.sub.2受體拮抗劑、質子幫浦I抑制劑、前列腺素類似物、抗酸藥、鎮痙藥、改變腸運動之藥物、止瀉藥、抗運動藥物、抗微生物藥物、作用於膽囊之藥物、尿道抗感染藥、利尿劑、尿道鎮痛藥、鎮痙藥、作用於尿道及陰道之抗感染藥物、作用於子宮之藥物、用於前列腺肥大之藥物、 α 阻斷劑、抗雄激素類、用於勃起功能障礙之藥物、殺精子藥、非激素避孕藥、潤膚劑、去角質劑、局部抗感染藥、局部抗真菌藥、局部殺寄生蟲藥、局部類固醇、用於尋常瘡瘡之局部藥物、用於牛皮癬、色素沉著病症之藥物、及抗皮脂溢藥、非類固醇抗發炎藥(NSAID)、COX-2抑制劑、抗關節炎劑、免疫抑制劑、局部鎮痛藥、肌肉鬆弛劑、神經肌肉藥物、青黴素(Penicillin)抗生素、頭孢菌素(Cephalosporin)抗生素、喹諾酮、氟喹諾酮抗生素、大環內酯(Macrolide)抗生素、氯黴素(Chloramphenicol)、四環素(Tetracycline)抗生素、磺醯胺、抗厭氧菌藥(Antianaerobics)、甲硝唑(Metronidazole)、抗結核藥、抗麻風藥、抗真菌藥、抗原蟲藥、驅腸蟲藥、抗感染藥、抗瘧疾藥、抗病毒藥、合成代謝藥、雄性類固醇、皮質類固醇、雌激素、孕激素及激素類避孕藥、生育劑、促激素及

相關藥物、甲狀腺及抗甲狀腺藥物、抗糖尿病藥及抗血糖過高藥、維生素、胺基酸、抗肥胖藥物、降血脂藥、纖維酸衍生物、他汀類藥物 (statins)、HMG CoA 還原酶抑制劑、菸酸基團、用於痛風之藥物、影響骨代謝之藥物、雙膦酸鹽、抗癌藥、烷基化試劑、細胞毒性抗生素、抗代謝物、阿糖胞苷、氟達濱 (Fludarbine)、5-氟尿嘧啶 (5-Fluorouracil)、巯基嘌呤、硫鳥嘌呤、長春花生物鹼、依託泊苷 (Etoposide)、紫杉烷、拓撲異構酶 I 抑制劑、細胞毒性免疫抑制劑、免疫刺激劑、細胞保護劑、胺磷汀 (Amifostine)、雌激素、孕激素、激素拮抗劑、抗贅瘤藥、抗過敏藥、非鎮靜性抗組胺藥、西替利嗪 (Cetirizine)、地氯雷他定 (Desloratadine)、特非那定 (Terfenadine)、非索非那定 (Fexofenadine)、鎮靜性組胺藥、組胺受體阻斷劑、局部麻醉劑、靜脈內麻醉劑、吸入麻醉劑及肌肉鬆弛劑。

在另一實施例中，藥物選自下表 1 中所列舉藥物中之一或多者。

表 1. 市場上之品牌藥物之選擇實例

通用名	商標名	適應症
阿托伐他汀 (Atorvastatin)	Lpitor®	膽固醇
(氯吡格雷 (Clopidrogel))	Plavix®	動脈粥樣硬化
依那西普 (Etanercept)	Enbrel®	RA、JRA、Ps、PsA、AS
氟替卡松沙美特羅 (Fluticasone Salmeterol)	Advair®	哮喘
英利昔單抗 (Infliximab)	Remicade®	RA, UC、CD、Ps、PsA、AS

纈沙坦(Valsartan)	Diovan®	高血壓
利妥昔單抗(Ritoximab)	Rituxan®	NHL、RA
埃索美拉唑(Esomeprazole)	Nexium®	潰瘍
貝伐珠單抗(Bevacizumab)	Avastin®	結腸癌
阿立哌唑(Aripiprazole)	Ability®	精神分裂症
曲司佐單抗(Trastuzumab)	Herceptin®	乳癌
奧蘭紫平(Olanzapine)	Zyprexa®	精神分裂症
喹硫平(Quetiapine)	Seroquel®	精神分裂症
阿達木單抗(Adalimumab)	Hamira®	RA, Ps. JIA、PsA、AS、CD
孟魯司特(Ontelukast)	Singulair®	哮喘
依諾肝素(Enoxaparin)	Lovenox®	抗凝血劑DVT
艾拉法辛(Venlafaxine)	Effexor®	抑鬱症
吡格列酮(Pioglitazone)	Actos®	糖尿病
坎地沙坦(Candesartan)	Atacand®、 Bloopress®	高血壓
依地普蘭(Escitalopram)	Lexapro®、 Ciprallex®	抑鬱症
格拉替雷(Glatiramer)	Copaxone®	多發性硬化

NHL非霍奇金氏淋巴瘤(Non Hodgkin's Lymphoma)、RA類風濕性關節炎、JRA幼年型類風濕性關節炎、JIA幼年型特發性關節炎、

Ps牛皮癬、PsA牛皮癬關節炎、CD克羅恩氏病(Crohn's Disease)；UC潰瘍性結腸炎、AS強直性脊柱炎。

在另一實施例中，藥物選自以下中之一或多者：阿巴卡韋(Abacavir)、阿立哌唑(Aripiprazole)、三氧化二砷、阿托西汀(Atomoxetine)、阿托伐他汀、硫唑嘌呤、博賽潑維(Boceprevir)、布妥昔單抗維達汀(Brentuximab Vedotin)、白消安(Busulfan)、卡培他濱(Capecitabine)、卡馬西平(Carbamazepine)、卡立普多(Carisoprodol)、卡維地洛

(Carvedilol)、塞來考昔(Celecoxib)、西土西單抗(Cetuximab) (1)、西土西單抗(2)、西維美林(Cevimeline)、氯氮卓(Chlordiazepoxide)及阿米替林(Amitriptyline)、氯喹(Chloroquine)、西酞普蘭(Citalopram) (1)、西酞普蘭(2))、氯巴佔(Clobazam)、氯米芬(Clomiphene)、氯米帕明(Clomipramine)、氯吡格雷(Clopidogrel)、氯氮平(Clozapine)、可待因(Codeine)、克裏唑替尼(Crizotinib)、胺苯砒(Dapsone)、達沙替尼(Dasatinib)、地昔帕明(Desipramine)、地氯雷他定及偽麻黃鹼(Pseudoephedrine)、右蘭索拉唑(Dexlansoprazole) (1)、右蘭索拉唑(2)、右美沙芬(Dextromethorphan)及奎尼丁(Quinidine)、地西洋(Diazepam)、多塞平(Doxepin)、屈螺酮(Drospirenone)及炔雌醇(Ethinyl Estradiol)、埃羅替尼(Erlotinib)、伊索派唑(Esomeprazole)、氟尿嘧啶、氟西汀(Fluoxetine)、氟西汀及奧蘭紫平(Olanzapine)、氟比洛芬(Flurbiprofen)、氟伏沙明(Fluvoxamine) (1)、氟伏沙明(2)、氟伏沙明(3)、氟維司群(Fulvestrant)、加蘭他敏(Galantamine)、吉非替尼(Gefitinib) (1)、吉非替尼(2)、伊洛培酮(Iloperidone)、伊馬替尼(Imatinib) (1)、伊馬替尼(2)、伊馬替尼(3)、伊馬替尼(4)、丙米嗪(Imipramine)、英達特羅(Indacaterol)、伊立替康(Irinotecan)、異山梨醇及肼屈嗪(Hydralazine)、拉帕替尼(Lapatinib)、來那度胺(Lenalidomide)、馬拉維諾(Maraviroc)、巯基嘌呤(Mercaptopurine)、美托洛爾(Metoprolol)、美維庫鉍(Mivacurium)、莫達非尼

(Modafinil) (1)、莫達非尼(2)、萘法唑酮(Nefazodone)、奈非那韋(Nelfinavir)、尼羅替尼(Nilotinib) (1)、尼羅替尼(2)、去甲替林(Nortriptyline)、奧美拉唑(Omeprazole)、帕尼單抗(Panitumumab) (1)、帕尼單抗(2)、泮托拉唑(Pantoprazole)、帕羅西汀(Paroxetine)、聚乙二醇干擾素 α -2b、奮乃靜(Perphenazine)、苯妥英(Phenytoin)、匹莫齊特(Pimozide)、普拉格雷(Prasugrel)、普伐他汀(Pravastatin)、普羅帕酮(Propafenone)、普萘洛爾(Propranolol)、普羅替林(Protriptyline)、奎尼丁(Quinidine)、雷貝拉唑(Rabeprazole)、拉布立酶(Rasburicase)、利福平(Rifampin)、異菸酸肼(Isoniazid)、吡嗪醯胺(Pyrazinamide)、維思通(Risperidone)、苯基乙酸鈉及苯甲酸鈉、苯基丁酸鈉、他莫昔芬(Tamoxifen)、替拉瑞韋(Telaprevir)、特比萘芬(Terbinafine)、丁苯那嗪(Tetrabenazine)、硫烏嘌吟、硫利達嗪(Thioridazine)、替卡格雷(Ticagrelor)、噻嗎洛爾(Timolol)、噻托溴銨(Tiotropium)、托特羅定(Tolterodine)、托西莫單抗(Tositumomab)、曲馬朵(Tramadol)及對乙醯胺基酚(Acetaminophen)、曲司佐單抗、維A酸(Tretinoin)、曲米帕明(Trimipramine)、丙戊酸、威羅菲尼(Vemurafenib)、艾拉法辛、伏立康唑(Voriconazole)、殺鼠靈(Warfarin) (1)及殺鼠靈(2)。

在另一實施例中，本發明包含對靶向已知藥物靶標之藥物的搭配診斷。在另一實施例中，本發明包含對進行臨床試驗之藥物靶標的搭配診斷。進行臨床試驗之藥物靶標之

實例包括但不限於巴品珠單抗(Bapineuzumab)、索拉珠單抗(Solanezumab)、靜脈注射免疫球蛋白 (IVIg)、拉曲吡啶(Latrepiridine) (地美本(Dimebon))、Scyllo-肌醇/ELND 005、亞甲藍(Methylthioninium chloride) (Rember)、CERE-110、PBT2、達夫奈肽(Davenutide)/AL-108、BMS-708163、PF-04494700/TTP488、替德古西(Tideglusib)/NP-12 (Nypta)、貝利木單抗(Belimumab)、阿他西普(Atacicept)、馬帕木單抗(Mapatumumab)、阿普單抗(Apomab)、杜拉樂明(Dulanermin)、奧達卡替(Odanacatib)、A MG-785、DG-041、OC-000459、PLX-4032、LX-1031及LX-1032。

一或多種試樣組份(例如，生物標記)之結合性質可用於預測、診斷、評定或治療彼等熟習此項技術者已知之任一疾病。術語「疾病」或「病況」通常為業內公認且指示在通常認為異常之個體或患者中存在體徵及/或症狀。可基於病理攻擊診斷疾病或病況並對其進行分類。體徵可包括諸如變化等疾病之任一客觀證據，該等變化藉由患者之身體檢查或診斷測試之結果而明顯。症狀係疾病或患者之病況之主觀證據，即，不同於正常功能、感覺或外觀之異常情況之患者知覺，其可包括但不限於身體失能、發病、疼痛及不同於個體所經歷正常情況之其他變化。各種疾病或病況包括但不限於彼等在標準醫藥手冊(其包括但不限於營養、對抗療法、順勢療法及骨科醫藥手冊)中分類者。在本發明之某些態樣中，疾病或病況選自由標準文本中所列舉類型之疾病組成之群，該等標準文本例如Harrison's

Principles of Internal Medicine，第14增補版(Fauci等人編輯，McGraw Hill, 1997)、或Robbins Pathologic Basis of Disease，第6增補版(Cotran等人編輯，W B Saunders公司，1998)、或Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV，第4增補版(American Psychiatric Press, 1994)、或其他教科書，其全文併入本文中。該等疾病亦列舉於美國專利公開案2007/0003954及2011/0092384中，其全文併入本文中。

疾病或病況之實例包括但不限於癌症、自體免疫性疾病、發炎疾病、傳染性疾病、神經變性疾病、心血管疾病、細菌感染、病毒感染、真菌感染、朊病毒感染、生理狀態、污染狀態或一般健康。

本發明之隨機配位體庫篩選方法可使用結合特性以區分疾病或其狀態之不同形式，包括疾病前狀態或疾病狀態之嚴重程度。舉例而言，該等方法可用於測定癌症之轉移狀態或對藥劑或疾病狀態之易感性。在一些實施例中，本發明包括用於評定存於癌症中或與其相關之配位體結合部分的方法及組合物，該癌症係例如但不限於乳癌、肺癌、前列腺癌、子宮頸癌、頭頸癌、睪丸癌、卵巢癌、皮膚癌、腦癌、胰腺癌、肝癌、胃癌、結腸癌、直腸癌、食道癌、淋巴瘤及白血病。

在一些實施例中，本發明包括用於評定存於自體免疫性疾病中之配位體結合部分的方法及組合物，該等自體免疫性疾病係例如但不限於重症肌無力、慢性活動性肝炎、原

發性膽汁性肝硬化、擴張型心肌病症、心肌炎、I型自身免疫多內分泌腺症候群(APS-I)、自體免疫性肝炎、囊性纖維化血管炎、獲得性甲狀旁腺功能減退、肺出血-腎炎症候群、克羅恩氏病、冠狀動脈疾病、落葉型天皰瘡、尋常天皰瘡、格林-巴利症候群(Guillain-Barre syndrome)、I型糖尿病、僵體症候群、羅斯莫森腦炎(Rasmussen encephalitis)、自體免疫性胃炎、艾迪生病(Addison disease)、胰島素低血糖症候群(希拉特氏病(Hirata disease))、B型胰島素抗藥性、棘皮症、全身性紅斑狼瘡(SLE)、惡性貧血、難治性萊姆關節炎(treatment-resistant Lyme arthritis)、多神經病、多發性硬化、脫髓鞘疾病、風濕熱、特應性皮炎、原發性膽汁性肝硬變、格雷夫斯氏病(Graves disease)、自體免疫性甲狀腺功能減退、白癜風、甲狀腺相關性眼病、自體免疫性甲狀腺炎、自體免疫性橋本氏甲狀腺炎(autoimmune Hashimoto thyroiditis)、腹腔病、ACTH缺乏症、肌炎、皮肌炎、多發性肌炎、修格蘭症候群(Sjogren syndrome)、全身性硬化症、進行性全身性硬化症、硬皮病、硬斑病、原發性抗磷脂症候群、大皰性類天皰瘡、妊娠期皰疹、癩痕性類天皰瘡、慢性特發性蕁麻疹、結締組織症候群、壞死性及新月體性腎小球腎炎(NCGN)、全身性血管炎、韋格納氏肉芽腫病(Wegener granulomatosis)、丘-施二氏症候群(Churg-Strauss syndrome)、多肌炎、雷諾症候群(Raynaud syndrome)、慢性肝病、內臟利什曼病(visceral leishmaniasis)、自體免疫

性 C1 缺陷、膜增殖性腎小球腎炎(MPGN)、凝血時間延長、自體免疫性血小板減少性紫癜、免疫缺陷、動脈粥樣硬化、神經元病、副腫瘤性天皰瘡、副腫瘤性僵體症候群、副腫瘤性腦脊髓炎、亞急性自主神經病變、癌症相關視網膜病變、副腫瘤性斜視眼陣攣-肌陣攣共濟失調、下位運動神經元症候群、蘭伯特-伊頓肌無力症候群(Lambert-Eaton myasthenic syndrome)及副腫瘤性小腦變性。

在一個實施例中，本發明包括用於評定存於傳染性疾病中之配位體結合部分的方法及組合物，該等傳染性疾病係例如但不限於獲得性免疫缺陷症候群(AIDS)、炭疽熱、肉毒桿菌病、布魯桿菌病、軟下疳、衣原體(Chlamydial)感染、霍亂、球孢菌病、隱孢子蟲病、環孢子蟲感染、白喉、埃裏希體病(Ehrlichiosis)、蟲媒病毒腦炎、出血性埃希氏大腸桿菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)、賈第蟲病(Giardiasis)、淋病、流感嗜血桿菌病、漢森病(Hansen's disease)(麻風)、漢坦病毒肺症候群(Hantavirus pulmonary syndrome)、溶血性尿毒癥症候群、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、人類免疫缺陷病毒(HIV)、軍團桿菌病(Legionellosis)、利斯特菌病(Listeriosis)、萊姆病(Lyme disease)、瘧疾、麻疹、腦膜炎球菌疾病、流行性腮腺炎、百日咳(pertussis, whooping cough)、鼠疫、麻痺型脊髓灰質炎(小兒麻痺症)、鸚鵡熱(Psittacosis, parrot fever)、Q熱、狂犬病、洛磯山斑疹熱、風疹、先天性風疹

症候群、沙門菌病 (Salmonellosis)、嚴重急性呼吸道症候群 (SARS)、細菌性痢疾、天花、鏈球菌病 (侵襲性組 A)、鏈球菌中毒性休克症候群 (STSS)、鏈球菌性肺炎、梅毒、破傷風、中毒性休克症候群、旋毛蟲病、結核病、土拉菌病 (Tularemia)、傷寒、萬古黴素敏感性減低金黃色葡萄球菌 (Vancomycin-Intermediate/Resistant Staphylococcus aureus)、水痘、黃熱病、變異之庫賈氏病 (variant Creutzfeldt-Jakob disease, vCJD)、登革熱 (Dengue fever)、埃博拉出血熱 (Ebola hemorrhagic fever)、棘球蚴病 (泡狀棘球蚴病)、亨德拉病毒感染 (Hendra virus infection)、人類猴痘、A 型流感、H5N1 (禽流感)、拉沙熱 (Lassa fever)、馬爾堡出血熱 (Marburg hemorrhagic fever)、尼帕病毒 (Nipah virus)、奧尼昂尼昂熱 (O'nyong-nyong fever)、裂谷熱、委內瑞拉馬腦炎 (Venezuelan equine encephalitis) 及西尼羅病毒 (West Nile virus)。

本發明之配位體庫可用於篩選任一疾病階段，例如，疾病早期或疾病晚期。

在又一實施例中，本發明包括用於評定存於神經變性疾病中之配位體結合部分的方法及組合物，該等神經變性疾病係例如但不限於中風、低血容性休克、創傷性休克、再灌注損傷、多發性硬化、AIDS、相關性癡呆症；神經元毒性、阿茲海默氏病 (Alzheimer's disease)、頭創傷、成人呼吸疾病 (ARDS)、急性脊髓損傷、亨廷頓氏病 (Huntington's disease) 及帕金森氏病 (Parkinson's

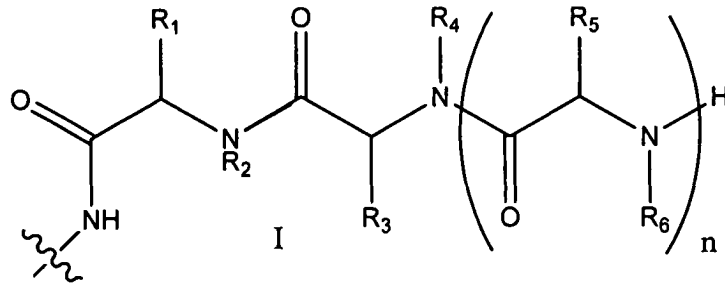
Disease)。

本發明包含組合物，該組合物包含選自以下之化合物之顆粒庫：類肽、肽、寡聚物、小分子及任一天然或合成製得之分子，且可將其置於載體系統(例如珠粒或小顆粒)上。

根據本發明，提供包含結合可指示藥物反應之抗體之類肽的組合物及檢測含有抗體之試樣中之抗體的方法，該方法包含使含有抗體之試樣與上面黏附有類肽之載體接觸。配位體庫可包括式1化合物，其中胺側鏈或 α 碳上之R基團獨立地選自由以下組成之群：氫；烷基；烯丙基；甲基；乙基；正丙基；異丙基；正丁基；異丁基；正丁基胺；第二丁基；第三丁基；戊基；己基；異戊基；芳基；雜芳基；呋喃基；吡啶基；噻吩基；噻唑基；咪唑基；異噁唑基；噁唑基；胡椒基；吡唑基；吡咯基；吡嗪基；吡啶基；間二氮苯基；嘧啶基；嘌呤基；吡啶基；苯并呋喃基；苯并噻吩基；苯并三唑基；苯并噁唑基；喹啉；異噁唑基；異喹啉環烷基；烯基；環烯基；苯基；吡啶基；甲氧基乙基；(R)-甲基苄基； C_{0-6} 烷基芳基； C_{0-6} 烷基雜芳基； C_{0-6} 烷基，其經選自以下之基團取代：OH、SH、鹵素、 OR^{15} 、 $COOR^{15}$ 、 NR^{15} (其中 R^{15} 係選自由H或 C_{1-6} 烷基或 C_{1-6} 炔基組成之群)或 R^{16} (其中 R^{16} 係選自由H或 C_{1-6} 炔基組成之群)； OC_{1-6} 烷基； C_{2-6} 烯基； C_{2-6} 炔基； C_{2-6} 烯基；及 C_{2-6} 炔基-包括美國臨時專利申請案61/467,256中之表1及2中所述之一或多個化學基團，該案件之全文以引用方式

併入本文中。

在一個實施例中，本發明之配位體庫可包含載體上之式 I 化合物，



其中 R_1 係選自富電子之胺基酸側鏈 Y；

且 R_2 - R_6 獨立地選自由以下組成之群：H、 $-C_1$ - C_6 烷基、 $-C_1$ - C_6 烷基 SCH_3 、 $-C_0$ - C_6 烷基 C_2 - C_6 烯基、 $-C_0$ - C_6 烷基 C_2 - C_6 炔基、 $-C_1$ - C_6 $COOH$ 、 $-C_1$ - C_6 烷基 OH 、 $-C_1$ - C_6 烷基 $N(R)_2$ 、 $-C_3$ - C_8 環烷基、 $-C_1$ - C_6 烷基芳基、 $-C_1$ - C_6 烷基雜芳基、 $-C_1$ - C_6 烷基 $NC(O)C_1$ - C_6 烷基、 $-C_1$ - C_6 烷基環醯胺，其中該等芳基或雜芳基中之任一者可獨立地經 $-OH$ 、 Cl 、 F 、 Br 、 $-OCH_3$ 、 $-SO_2NH_2$ 或 $-O-CH_2-O$ 取代。

用於篩選複合生物流體之隨機配位體庫(例如配位體庫)的化合物全面闡述於美國臨時專利申請案 61/467,256 及 61/491,717 中，該等案件之全文以引用方式併入本文中。

在適當實驗條件下，本發明之大配位體庫可直接用於生物流體中以篩選生物標記且無需使用較少載體成員(例如約 100,000 個或更少)或不需在篩選生物流體之前將該等類肽或配位體轉移至微陣列。另外，配位體庫亦可用於篩選尤其與特定細胞表面標記相關之基於細胞之受體。與先前方法不同，本發明允許在配位體結合試劑篩選或細胞受體

篩選中納入較大數量之珠粒/樹脂且因此納入較大庫以直接篩選複合生物試樣。

如先前關於微陣列系統所述，幾乎任一分子或化合物皆可用於構建隨機珠粒或樹脂基庫。該等「分子」或「化合物」可包括天然產物或人造化合物或合成源分子。該等分子來源可來自生物系統以及非生物源來源。出於在本發明中所主張條件下使用大珠粒庫初始篩選之目的之較佳配位體部分係由亞單體製得，該等亞單體係選自任一已知單體胺及任一已知乙酸鹵化物或經取代乙酸鹵化物。舉例而言，全文以引用方式併入本文中之美國臨時專利申請案 61/467,256 中的表 1 提供單取代胺上之大量 R 基團。

在一些實施例中，單體及/或亞單體選自由以下組成之群：半胱胺酸、甘胺酸、甲硫胺酸、烯丙基胺、乙醇胺、異丁基胺、二胺基丁烷、甲基苄基胺(外消旋或對映異構體)、胡椒基胺、環己基胺、3,4-二甲氧基苯乙基胺、苄基胺、N-(2-胺基乙基)乙醯胺、N-(3-胺基丙基)-2-吡咯啉酮、4-(2-胺基乙基)苯磺醯胺或糠基胺。

乙酸鹵化物及/或 R 取代之乙酸鹵化物(其中 R 選自任一胺基酸側鏈或包括單取代胺上之彼等基團或變量之任一其他基團)亦用作亞單體。或者，可使任一胺及任一乙酸鹵化物之組合反應以形成單體，隨後使其與正生長之類肽鏈上之另一反應單體反應以形成本發明之寡聚物。

可如下製備類肽之組合庫：可藉由首先向載體或載體上之連接體中添加保護胺基酸製備半胱胺酸或甲硫胺酸單體

胺基酸附接至載體或載體或樹脂或珠粒上之連接體的類肽。在添加該胺基酸(或可在寡聚物或具有該寡聚物之診斷劑中用作功能或其他目的之任一期望胺基酸)之後，可使用標準肽化學法或使用溴乙酸(或 α 取代溴乙酸或類似反應物)及單取代胺(其中胺經R基團取代)之亞單體添加剩餘單體。R基團可選自任一已知經取代類肽，其包括彼等闡述於(例如)美國專利公開案第2010/0303805號或第2010/0303835號中者及/或彼等闡述於Zuckermann及各種Kodadek公開案中者，該等案件之全文以引用方式併入本文中。較佳胺係彼等選自本文所列舉庫者，其中向每一庫中添加特定單體胺以構建1-250 MM珠粒或樹脂庫。較佳庫尺寸在1 MM至50 MM珠粒或樹脂範圍內，該等珠粒或樹脂上具有該等多種化合物。

製造每一類肽之方法通常涉及(1)在載體(包括載體上之可選連接體)上製備胺基酸反應物；(2)使該載體上之胺基酸部分與醯基鹵(例如溴乙酸或氯乙酸)反應以形成鹵化衍生物，(3)使鹵化衍生物與單取代胺反應以形成醯胺及(4)重複步驟(2)及(3)以形成類肽。通常在大庫中製備含有甲硫胺酸之類肽。通常在期望較大規模量之高親和性類肽時及在初始篩選大珠粒或樹脂庫後，製造含有半胱胺酸之類肽。在用於初始篩選複合生物流體(例如血清)之大珠粒庫中，無需或不需微陣列篩選通常必需之長PEG連接體。PEG連接體可在珠粒或樹脂上，前提係其係小於約10個單體單元之短連接體。在包含小於約50微米(例如10微米)之

珠粒或 tentagel 珠粒的診斷套組中，可使用短 PEG 連接體 (例如介於 2 至 10 個 PEG 單體之間) 或更長 PEG 寡聚物。

用於實施寡聚物構建過程中之每一步驟之條件利用諸如 DMF 或乙腈或二氯甲烷等溶劑。三氟乙酸用於解離目的且六氫吡啶或另一適宜鹼用作溴衍生物與胺之間之反應中的鹼。各種保護基團用於製備胺基酸反應物。在一較佳實施例中，二胺基丁烷用作毗鄰類肽 C 末端處之半胱胺酸殘基之鏈中的第一胺亞單體。在該過程之第一步驟中，將所選珠粒或樹脂 (以克或毫克量表示) 膨脹於適宜溶劑 (例如 DMF) 中。若珠粒經該珠粒上之反應胺上之保護基團「保護」，則重複添加鹼溶液 (例如六氫吡啶)，隨後用 DMF 洗滌以使珠粒去保護。在使珠粒去保護時或若最初利用珠粒 (例如 tentagel 珠粒)，則可使其與適宜胺基酸 (例如半胱胺酸或甲硫胺酸，在氮上經 Fmoc 或另一適宜保護基團保護且在硫上經 Trt (三苯基甲基) 保護且以足夠莫耳量以與每一珠粒反應) 在適宜溶劑 (例如 DMF) 中反應。向燒杯 (或管或燒瓶) 中之珠粒溶液中添加 HBTU (六氟磷酸四甲基脲鎘鹽) (偶合試劑) 及 4-甲基嗎啉 (鹼) 以及經保護胺基酸並於室溫下振盪以在樹脂上 (或在樹脂上之連接體上) 形成 Fmoc/Trt 保護之胺基酸。在溶劑 (例如 DMF) 中多次洗滌珠粒。隨後使用適宜試劑使 Fmoc 基團去保護，該試劑允許胺基酸之胺與另一反應物 (例如另一經保護胺基酸或亞單體 (例如溴乙酸) 及活化劑 (例如 DIC (3-異丙基碳化二亞胺)) 在適宜溶劑中在加熱 (微波，同時攪拌) 下反應。隨後多次洗滌所得珠

粒且隨後在加熱下用適宜溶劑中之期望單體胺(稍微莫耳過量)對其進行處理。多次洗滌所得珠粒且隨後用選擇之溴乙酸及胺重複處理以構建寡聚物及寡聚物庫。可使用三氟乙酸使類肽自珠粒解離。包含較佳實施例之類肽(例如彼等具有毗鄰單體之半胱胺酸之類肽，該單體具有1-基-正丁基胺)之一種替代或另一適宜過程包括在C末端上構建具有兩個胺基酸之類肽，之後進一步包括添加亞單體過程中構建之單體中之任一者的過程，其中第二胺基酸係離胺酸。此進一步包括選擇任一單體或亞單體以製造 α 取代溴乙酸亞單體，其中碳取代基可選自典型胺基酸側鏈以在反應物反應後形成 α 取代類肽，其中R基團發現於類肽鏈上之碳或類肽鏈上之氮之一者或二者上。 α 碳或氮上之取代基可為如本文所列舉之幾乎任一取代基。

小分子之組合庫可購得或使用業內已知之方法製得。舉例而言，參見Eichler等人，1995；Cho等人，1999；LePiaie等人，2002；Ostergaard及Holm，1997；Yang等人，1999)。另外，美國專利第6,344,334號及出版物Gallop等人，(1994)，Gordon等人，(1994)；Thompson及Eilman(1996)亦係該等分子及庫之來源。

肽之組合庫可購得或使用業內已知之方法製得。舉例而言，參見Stewart及Young (1984)；Tam等人(1983)；Merrifield (1986)；及Barany及Merrifield (1979)，其各自以引用方式併入本文中。

核酸(包括RNA或DNA)之組合庫可購得或使用業內已知

之方法製得。寡糖之組合庫可購得或使用業內已知之方法製得。

在每一情況下，可向載體樹脂或珠粒中添加「配位體」或隨機配位體以形成在本文所述條件下可使用之篩選庫以篩選複合生物流體中之生物標記。較佳配位體係類肽配位體。

除構建及/或使用該等庫外，可需要或期望表徵、純化及/或合成或重新合成任一該配位體。該等方法已為業內已知且包括全部純化方法，例如經由層析方式之HPLC或經由化學方式之純化方法；表徵方法，例如質譜或NMR或該等方法中之任一者之組合。該等方法進一步闡述於(例如)美國專利公開案2007/0003954中，其以引用方式併入本文中。在該等情形下，任一該純化配位體可稱作化合物或實質上純化化合物。

在本發明之初始篩選方法中，利用珠粒及/或樹脂作為使寡聚物以可操作方式與該載體偶合之載體構件。在診斷套組或具有該初始篩選之「標靶物」或「推定標靶物」之其他套組中，載體系統可拓寬至幾乎任一載體系統，其包括微陣列或任一已知診斷平臺。在該等情形下，需要確保該等套組或具有推定標靶物之其他載體系統亦具有或適於具有檢測器或檢測方法以允許檢測配位體結合部分附接至配位體之該等配位體。較佳檢測方法包括(例如)ELISA或涉及使用經標記二級抗體之其他方法。

載體可由任一適宜材料製造。用於製造該等載體之材料

可包括(例如)玻璃、塑膠、陶瓷或聚合樹脂或珠粒。載體亦可包括諸如鎳、黃銅、鋼或其他金屬或金屬混合物等材料。載體亦可經調節以具有連接體及/或其他構件以結合或連接至配位體或配位體上之活性基團或與其反應。該等基團亦闡述於美國專利公開案第2007/0003954號中。在本發明中，其上鍵結有個別配位體或個別配位體鍵結至連接體且隨後鍵結至該載體之樹脂或珠粒的數量之範圍為大於100 K至約1.5億(MM)。本發明之初始篩選方法中利用之較佳數量範圍介於1 MM與2 MM配位體/樹脂之間。

對於本發明之大配位體篩選方法而言，TentaGel®樹脂最佳。該等樹脂係由低交聯聚苯乙烯基質組成之接枝共聚物，聚乙二醇(PEG或FOB)接枝於該基質上。TentaGel樹脂有市售(Rapp Polymere GmbH)。由於PECS係具有疏水及親水性質之「變色龍(cameleon)型」聚合物，故接枝共聚物顯示經修飾化學性質。根據製造商，原則上存在兩種在經修飾聚苯乙烯基質上引入PEG的方式。最簡單固定程序係根據典型醚合成經由PEG之末端羥基中的一者將PEG偶合至氯甲基化聚苯乙烯或使用其他雙官能PEG以偶合至固體載體上。製造商發現，借助於基質上逐步直接設定PEG步驟之陰離子接枝共聚，分子質量高達2萬道耳頓之PEG鏈固定於官能化交聯聚苯乙烯上。證明PEG鏈為約2000-3000道耳頓之接枝共聚物在動力學速率、流動性、膨脹性及樹脂容量方面最佳。由於無藉由任何聚合技術得到具有10個以上環氧乙烷單元之單分散PEG的程序，故理論上無法將

具有10個以上環氧乙烷單元之單分散PEG鏈引入樹脂或藉由於聚苯乙烯主鏈上直接聚合得到單分散PEG（單分散定義為：無任一分子量分佈之PEG）。該等接枝共聚物係壓力穩定的且可用於間歇過程中以及在連續流動條件下使用。共聚物含有約50-70% PEG (w/w)。該等聚合物之性質由PEG之性質高度決定且與聚苯乙烯基質相對。

對於藉由「一珠粒一化合物」方法設定化學庫或肽庫，知曉可在特定量之樹脂內獲得之珠粒之數量以及單一珠粒之容量係基本的。表1概述一些粒徑且使其與單一珠粒之相應容量相關。計算係基於TentaGel珠粒之典型載量，其在0.25-0.3 mmol/g範圍內。對於分析表徵而言，在珠粒上測序需要至少5 pmol結合樹脂之肽。為估計庫之最佳樹脂量(其可為以經濟方式操作者)，必須考慮珠粒尺寸及珠粒容量。關於分散過程之均一性及動力學速率以及對於單一珠粒分析及單一珠粒定量，所有珠粒均顯示極窄尺寸分佈。

樹脂	尺寸[μm]	珠粒/g	容量/珠粒
TentaGel NH ₂	750 μm	4.62×10^3	65 nmol
TentaGel NH ₂	500 μm	1.5×10^4	19 nmol
TentaGel NH ₂	300 μm	6.4×10^4	4 nmol
TentaGel NH ₂	200 μm	2.15×10^5	1.3 nmol
TentaGel NH ₂	130 μm	8.87×10^5	280-330 pmol
TentaGel NH ₂	90 μm	2.86×10^6	80-100 pmol
TentaGel M NH ₂	35 μm	4.55×10^7	5.5 pmol
TentaGel M NH ₂	20 μm	2.4×10^8	1.0 pmol
TentaGel M NH ₂	10 μm	1.95×10^9	0.13 pmol

粒徑、珠粒數量/克樹脂及容量/單一珠粒的相關性。單

一珠粒容量之計算係基於0.25-0.3 mmol/g樹脂之容量。

可獲得若干類型之TentaGel樹脂，根據其應用其顯示適用性質：

TentaGel S樹脂：

PEG間隔劑經由烷基連接附接至聚苯乙烯主鏈。此連接對酸或鹼不敏感。此類型之樹脂係用於肽合成、固相有機合成或組合化學法之標準類型之樹脂。

TentaGel PAP樹脂：

PEG經由苄基醚連接附接至聚苯乙烯主鏈。此苄基醚連接對苛刻的酸條件(如100% TFA或TFA/FMSBr之混合物)敏感。

該等尤其適用樹脂用於固定程序或合成PEG修飾之衍生物(PEG附接產物)。使用苛刻的酸條件將PEG間隔劑與合成化合物一起自固體載體解離以藉由施加固相條件得到可溶性PEG修飾化合物(例如PEG修飾肽)。

TentaGel N樹脂：

PEG間隔劑經由苄基醚連接附接至聚苯乙烯主鏈。該等適用樹脂在寡核苷酸化學法中用於小規模及大規模寡核苷酸合成。與CPG玻璃相比，容量增加K倍。

由於TentaGel樹脂係自聚苯乙烯及聚乙二醇構成之共聚物，故必須考慮兩種基礎聚合物之化學及物理化學性質。

PEG本身係吸濕聚合物。自文獻已知，PEG酯並不十分穩定且易於水解。根據儲存條件及儲存時間，PEG本身可沿聚醚鏈經氧化以形成過氧化物或酯。因此，酸處理或經

鹼處理會使所形成PEG-酯水解，其產生少量「PEG-洩漏」。此洩露可由MS或NMR注意為最終產物中之PEG信號及雜質。此化學行為對於所有PEG-及基於PEG之聚合物係真實的。

TentaGel S :	「S」意指標準樹脂，適於大量應用，可用於間歇及流經系統。
TentaGel R :	特別適於研究目的合成之樹脂。該樹脂顯示膨脹體積增加，但較不耐壓力。極適於大肽及困難序列。
TentaGel HL :	TentaGel之此高負載型式組合顯著更高容量與TentaGel樹脂之優點。
TentaGel MB :	TentaGel Macrobeads係由基於TentaGel技術之非凡的大顆粒直徑及高容量來強調且針對單一珠粒合成及單一珠粒分析進行設計。
TentaGel N :	此樹脂類型係針對自動大規模寡核苷酸合成來研究。
TentaGel J :	此樹脂類型已研發用於聚合免疫偶聯物。
TentaGel M :	此TentaGel之10 μm、20 μm、30 μm微球形狀及其單分散性可應用於自動分選器中，以產生巨大庫、高速合成等。
TentaGel B :	係雙官能TentaGel樹脂，其中珠粒之外表面上之反應位點以正交方式保護成位於珠粒及混雜樹脂之內部體積中的反應位點用於依序解離。

除TentaGel珠粒外，可利用其他樹脂及/或顆粒以每個珠粒庫構建一個配位體。舉例而言，可利用輕微交聯聚苯乙烯樹脂或聚醯胺樹脂。接合基材與樹脂珠粒之基團可為固相合成之基本部分。連接體係專門保護基團，因為在大部分時間中，連接體將佔用官能基，僅在合成結束時才使其重新出現。連接體必須不能受用於修飾或延伸附接化合物之化學方法的影響。且最後，解離步驟應容易進行且產生良好產率。最佳連接體必須可以定量產率附接且解離。

在某些態樣中，載體可為珠粒、板、試條、過濾器、膜、針或孔。檢測可包含RIA、FIA、ELISA、西方點漬、流式細胞術、FRET或表面電漿共振。

羧酸連接體

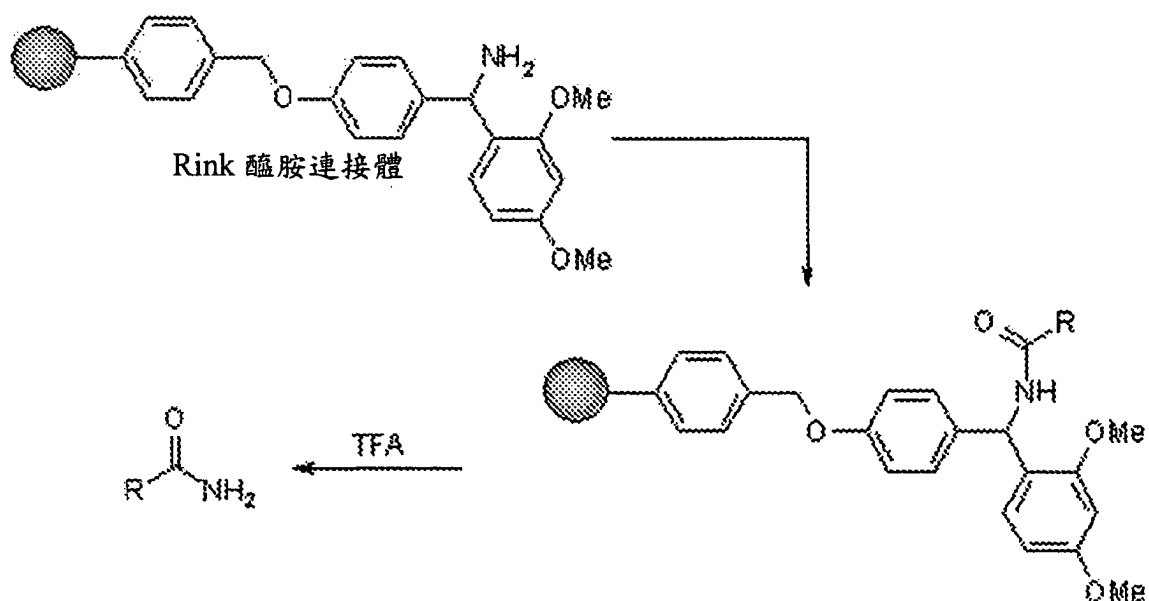
用於肽合成之第一連接基團的名字係固相合成之父(the father of solid phase synthesis)的名字。Merrifield樹脂係經氣甲基官能化之交聯聚苯乙烯。羰基藉由用存於DMF中之甲酸鉍親核取代氯化物來附接。通常藉由氟化氫達成解離以再生羧酸。

用於羧酸之第二類連接體係Wang連接體。此連接體通常附接至交聯聚苯乙烯、TentaGel及聚丙烯醯胺以形成Wang樹脂，其係針對肽羧酸之合成使用Fmoc保護策略設計，且由於活化苯甲醇設計，可用TFA解離羧酸產物。已研發酸更不穩定形式之Wang樹脂。SA.SRIN樹脂具有與Wang連接體相同之結構，但增加甲氧基以使酸催化解離期間形成之碳正離子穩定。

甲醯胺連接體

對於在固相上生成一級甲醯胺而言，rink連接體通常較佳，對於本發明，在自本發明之初級篩選製造或重新合成標靶物或推定標靶物時，利用此連接體。在該等情形下，半胱胺酸係與rink連接體反應之第一單體且隨後該過程涉及後續單體添加以構建寡聚物或後續亞單體化學法以構建寡聚物。rink連接體之較大酸敏感性係由於兩個額外供電子甲氧基。在一級甲醯胺之生成中，起始材料附接至呈羧

酸形式之連接體且在合成修飾後用TFA自樹脂解離。



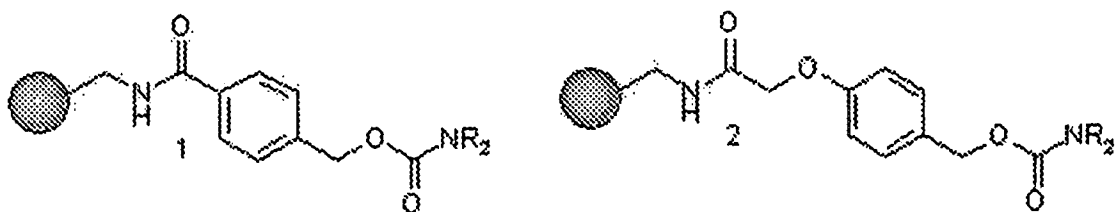
使用Rink樹脂以在TFA催化之解離後產生甲醯胺。

醇連接體

Thompson及Ellmann已研發基於四氫吡喃基(THP)保護基團之羥基連接體。所有類型之醇皆易於添加至二氫吡喃中且所得THP保護基團對強鹼穩定，但在酸下容易解離。此連接體附接至Merrifield樹脂。對於許多雜原子而言，三苯甲基係良好酸不穩定保護基團。在 β -巯基酮之庫之合成中，三苯甲基用於錨固醇。

胺基甲酸酯及胺連接體

胺基甲酸酯連接體已用於合成在尋找錐蟲寄生蟲感染之抑制劑中製備之576個聚胺之組合庫。研究兩個連接體。一者基於羥基甲基苯甲酸1，且另一者已添加供電子基團2。後者可藉由TFA解離，而第一者可在強酸性條件下解離。



最近已針對三級胺之生成研發極有用之連接體。(三級胺通常用於藥物分子中。)藉由邁克爾(Michael)加成將一級及二級胺引入連接體。胺可經烷基化以產生結合樹脂之四級銨離子。在略鹼性條件下，出現霍夫曼消除(Hoffmann elimination)以產生高純度之三級胺。

無痕跡連接體

在一些情形下，起始材料以一種形式(例如羧酸)裝載於樹脂上，且以另一形式(例如甲醯胺)解離。若靶化合物需要釋放功能，則此係完全可接受的。(肽常常含有羧酸或甲醯胺。)然而，對低分子量非肽之組合庫之興趣的增長已激發對新類型之連接體的需要。該等連接體在解離後顯示非特異性功能。由於最終化合物之檢查揭示無與固相之連接點之痕跡，稱作無痕跡連接體。

試樣

如先前所論述，本發明過程中製備用於分析之複合生物流體包括或可包括潛在生物標記之宿主，該等生物標記包括在細胞(非黏附性細胞，包括T細胞或其他免疫效應細胞)、微生物、蛋白質、肽、脂質、多糖、小分子、有機分子、無機分子、生物分子上表現之標記且包括該複雜環境中之任何可檢測或可反應部分。在一較佳實施例中，該

等標記係抗體且具體而言係由於疾病或病況生成之抗體。在一較佳實施例中，體液(例如血清、血漿、唾液或其他流體)或源自患者或動物或有機體之試樣係該等標記之來源。每一試樣或組織或源自生物或源自環境或自其獲得之試樣經調節或處理或稀釋或以其他方式操作以將該試樣暴露於使用對該等生物標記具有親和性之推定標靶物或配位體之初始篩選或任一後續篩選。按照本文列舉之方法稀釋試樣以提供或允許背景值或噪音與信號之間的足夠不同，該等信號與配位體與配位體結合部分之結合相關。

將配位體/載體暴露於該等試樣所需之時間及/或條件取決於特定試樣及其他因素。本文進一步闡述對於所主張本發明之方法較佳之條件。在幾乎所有情形下，在生物流體暴露於大配位體庫及/或源自該庫之配位體或套組後，利用洗滌或洗脫步驟及其他調節方式。利用水溶液，包括緩衝溶液，例如 HEPES 緩衝液、Tris 緩衝液或磷酸鹽緩衝鹽水。亦可用吸收能量之材料處理載體系統以有利於使「複合物」自載體表面解吸附或離子化。亦利用化學方式以使配位體-配位體結合部分複合物自載體去偶或移除。

用於檢測載體上之配位體-配位體結合部分複合物之檢測方法包括光度及非光度方式。該等方法包括確保該過程包括用以檢測並量測吸光度、螢光、折射率、偏振或光散射的方法。該等方法包括直接及/或間接方式以量測該等參數。涉及螢光之方法包括免疫方法中之螢光標識，例如 ELISA 或夾心分析。涉及折射率之方法包括表面電漿共振

(SPR)、光柵耦合方法(例如,感測器均勻光柵耦合器、詢問波長光學感測器(WIOS)及啣啣光柵耦合器)、共振反射鏡及干涉式技術。涉及偏振之方法包括橢偏測量術。亦可使用光散射方法。用於標識及/或分離及/或檢測之其他方式亦可包括磁方式。均可使用磁共振成像、氣相離子譜、MRI。

所生成數據之分析通常涉及所檢測生物標記相對於對照或參照信號之定量。可藉由任一適宜方式分析數據。可利用電腦及電腦程式以產生並分析數據。珠粒及/或其他載體可經電腦編碼或編碼用於鑑別目的。數據分析包括在分析或檢測方法之特定條件下之信號強度之分析。可用可檢測部分標記或放射性標記或標識配位體、配位體結合部分或參照部分及/或二次檢測部分。熟習此項技術者可評估具有疾病相關生物標記之生物流體試樣與不含該等標記之對照或健康患者試樣之間的差別及/或不同。熟習此項技術者亦可按照本文所述方法確定假陽性或對照試樣中發現或可能發現之其他標靶物之存在,以考慮及/或移除該等「標靶物」,且熟習此項技術者可按照本文所述方法繼續確定或發現患有任一疾病或病況之患者試樣中疾病相關生物標記的過程。在所有情形下,該等標靶物之「檢測」係由檢測配位體結合部分(例如疾病相關生物標記或其他標記)與配位體庫(例如本文所述者)中之配位體的結合完成。

與本文所述疾病及/或病況相關之生物標記將視所評估特定患者或動物或其他生物體之疾病及/或病況之特定階

段而變化。預期該等配位體(其係本文所述推定標靶物及化合物)在大多數情形下模擬天然抗原，其起始免疫反應及/或第一情況下形成抗體或免疫細胞。本發明及本文所主張且所述之篩選方法不需知曉特定抗原或對該抗原反應所生之抗體。然而，該等配位體除可用於本文所述篩選及診斷方法外，本身亦可用作疫苗或藥物候選物。因此，本發明包括化合物及醫藥組合物。

類肽篩選：

為篩選一珠粒一化合物(OBOC)組合類肽庫，製備數萬至數百萬具有類肽之珠粒且隨後使其與複合生物試樣混合。初始複合生物試樣較佳係對照試樣且隨後針對患病複合生物試樣處理及/或篩選經已「移除」對照標靶物之配位體庫處理的後續複合生物試樣。隨後檢測、鑑別並分離及/或表徵與至少一個疾病相關性生物標記相互作用之配位體/珠粒。在一較佳實施例中，使用Tentagel篩選方案，其包含(1)珠粒製備，(2)複合生物流體之篩選及(3)標靶物之檢測。

肽篩選：

為篩選一珠粒一化合物(OBOC)組合肽庫，製備數萬至數百萬具有肽之珠粒且隨後遵循本文所述方法使其與複合生物試樣混合。隨後鑑別並分離與疾病相關性生物標記相互作用之珠粒用於化合物結構確定。舉例而言，可使用經紅色螢光染料標記之鏈黴抗生物素(SA)作為探針蛋白及使用COPAS BIO-珠粒流體分選設備以分開螢光與非螢光珠

粒來實施OBOC肽庫篩選。參見Manmi等人，*J. Comb. Chem.*, 2009, 11 (1), 第146至150頁。可使用之紅色染料係ATTO 590及德克薩斯紅(Texas Red)。在將庫與SA紅色螢光染料偶聯物一起培育後，獲得因肽-SA相互作用引起之陽性珠粒。藉由基質輔助之雷射解吸附離子化飛行時間質譜(MALDI-TOF MS)分析珠粒。因此，可以類似於本文所述方法使用肽庫與類肽，其中初始對照生物流體試樣用於自起始化合物庫移除任何配位體/珠粒標靶物且其中庫之剩餘成員則用於篩選患病複合生物流體試樣中之任何標靶物。該等標靶物係推定標靶物，其隨後繼續存於任何診斷套組中。

可以類似方式使用本文所述方法篩選珠粒或載體上之任一配位體。除類肽或肽外，該等配位體包括核酸寡聚物、多糖、小分子及/或其任一組合，其可構建成庫且在本文所列舉條件下用於篩選複合生物流體。

套組及診斷工具

本發明所述化合物或組合物中之任一者均可進一步用於臨床或實驗室背景中之診斷套組中。該等套組之範圍可為簡單重點照護診斷分析至複雜且多工儀器或探針。載體系統及包圍核心載體/配位體系統之「包裝」可選自當前商業套組，其經設計以包括經重新合成且安裝於該等適宜平臺上之推定目及或標靶物或其可用於新設計之診斷套組中。套組通常將附有所有適宜試劑及使用該等套組以篩選及/或診斷套組設計所針對之特定疾病或病況的說明書。

任一該套組或方法將包含至少一種按照本文所列舉方法篩選之推定標靶物或配位體。此配位體或複數個配位體可選自同一配位體或包含本發明化合物之配位體之混合物。配位體可基於其對一種特定疾病狀態或一組或一系列疾病或病況之疾病相關性生物標記的親和性加以選擇。較佳配位體係類肽配位體。套組亦將含有使醫師診斷特定疾病或病況及具體標記特定套組及疾病狀態或病況的說明書。因此，本發明包括套組之組合，該套組包括使用本文所揭示庫中之任一者及/或已知按照本文所列舉具體方法自初始篩選發現之所有其基本組份(例如推定類肽或配位體)及標記說明書。亦設想本文所揭示之特定過程及方法及材料可在熟練的操作人員監督下用於臨床及實驗室背景中。套組及/或儀器或設備包含對疾病相關性抗體及/或細胞具有特异性之配位體，例如類肽。「套組」可包含完整診斷套組及或篩選套組，或「套組」可包含含有或包含以下之組份或亞組份：診斷類肽、經由該等類肽發現並表徵之抗體或天然抗原，該等天然抗原經發現並純化及/或由於與自體抗體相互作用並自其發現來表徵。該等抗體及純化抗原構成本發明之一部分。

在一個實施例中，本文提供用於疾病診斷之套組。在另一實施例中，本文提供用於治療疾病之套組。該套組可包含配位體庫、用於針對篩選生物試樣篩選配位體庫之檢測試劑、用於篩選之佐劑及包裝插頁。包裝插頁可包括用於實施診斷步驟之說明書、用於確定藥物投與之說明書及用

於基於確定投與藥物之說明書。在一些實施例中，套組可包括包裝插頁，其係由FDA或其他國家之藥物批准機構批准之標籤。

本發明之配位體庫用於發現並確定結合至疾病相關性生物標記之配位體。該等配位體隨後用於上文大體闡述之套組及/或方法中以評定、篩選或診斷疾病狀態或病況。該等診斷方法通常涉及篩選並發現疾病相關性生物標記，其包含抗體及/或其他生物標記。如上文所述，可在適宜柱上使用本發明配位體進一步鑑別並表徵該等抗體以自血液試樣脫出或移除該等抗體。抗體又可用於探測並發現與該抗體相關之天然抗原。因此，本發明包括抗體及與該等抗體相關之純化抗原，且其係使用本發明方法發現、分離並表徵。

在第一情況下，應針對患者試樣評定套組及/或用於篩選及/或診斷疾病狀態或病況之其他方式。該等患者試樣可源自正常對照試樣或患者試樣，其中該患者已鑑別為患有或懷疑患有該疾病或病況之患者。除疾病相關性生物標記「存在」外，患者可具有與疾病相關之其他症狀。患者可處於疾病之早期，可根本未患有疾病或病況或可處於特定疾病之晚期。在任一臨床情況下及在適當指導及控制下，可以盲法方式提供患者及臨床試樣且隨後使用本發明化合物進行評定。在揭盲之後，隨後分析由於篩選生成之數據，以關於任一特定患者或患者群發現或未發現統計上顯著結果或與已知或基礎數據的相關性。本發明包含篩選

疾病或病況之存在的方法，其包含(1)用本發明之至少一種化合物自患者篩選生物試樣；(2)在相同條件下使用該至少一種化合物篩選對照生物試樣及(3)比較健康對照數據對患者數據以確定疾病相關性生物標記之存在或不存在。可針對具有本發明之至少一種化合物之套組或診斷探針篩選患有或懷疑患有疾病X之一組患者或患者試樣且關於每一患者生成之數據可根據基本情況用於確認或驗證疾病狀態或病況或其不存在。本文生成之該等數據可與關於特定患者已知之全部資訊組合使用以評定患者之病況並為提供治療選擇之從業醫師提供指導。由於任一該篩選生成之「資訊」可用於臨床實驗背景中以評定接受藥物療法之個別患者。因此，本發明包括評定臨床實驗進展之方法，其包含使用根據本文所述方法實施之篩選。在一較佳實施例中，本發明係關於篩選或診斷早期疾病狀態之方法，其包含使用本文所主張篩選或化合物以檢測疾病相關性生物標記。本發明尤其可用於早期疾病干預情況中，其中預計可在疾病侵襲性進展之前充分進行該等生物標記之檢測。在另一情況中，預計心血管疾病及/或代謝疾病以及神經疾病之早期干預可救命並防止或用於防止該等疾病進一步發展而無需早期醫療干預或治療。

本發明亦包括增加對照或標準溶液與含有疾病相關性生物標記之複合生物流體之間的差別的分辨力或效率的方法。舉例而言，方法包括用緩衝液及/或調節劑(例如埃希氏大腸桿菌裂解物及/或離胺酸)預調節或預處理或預阻斷

系統/血清。

在又一實施例中，提供治療懷疑患有疾病之個體的方法，其包含(a)使該患者之含有抗體之試樣與一或多種上面黏附有類肽之載體接觸，該類肽包含本文所列舉之式之類肽，(b)檢測結合至該等類肽之抗體；及(c)基於步驟(b)之結果作出治療決定。該方法可進一步包含自個體獲得該試樣。該方法亦可進一步包含：若結合至類肽之抗體大於針對對照無病患者觀察到者，則針對獲得該試樣之個體作出疾病之診斷。該方法亦可進一步包含針對該個體作出治療決定。可使試樣與本文所列舉之式之一種以上類肽接觸。出於診斷多發性疾病狀態或病況之目的，可使試樣與多工平臺接觸。載體可為珠粒、板、試條、過濾器、膜、針或孔。試樣可為血液、血清、唾液或CSF。檢測可包含RIA、FLA、ELISA、西方點漬、流式細胞術、FRET或表面電漿共振。

又一實施例係關於自生物流體分離之抗體組合物，其可指示疾病，在某些實施例中，抗體係藉由使具有該等抗體之試樣與類肽組合物接觸來分離，該類肽組合物特異性結合可指示疾病或與疾病相關之抗體。抗體可自另一非抗體及非D特異性組份移除、分離或純化。抗體隨後可自類肽捕獲試劑洗滌及/或解離。

在某些實施例中，使自本文所述方法中發現之類肽製得之類肽陣列與補充有細菌裂解物(例如埃希氏大腸桿菌裂解物)之生物試樣雜交。生物試樣包括對照試樣及具有中

樞神經系統病症之標記之試樣。舉例而言，用雜交室覆蓋微陣列載玻片並用1X TBST (50 mM Tris(pH 8.0)、150 mM NaCl、0.1% Tween20)平衡約15分鐘。隨後用細菌裂解物以至少、至多或約0.5、1、1.5、2 mg/ml裂解物之濃度封阻載玻片。移除裂解物並將載玻片與細菌裂解物中之約1毫升生物試樣(具有5、10、15、20或25 Dg/ml之近似蛋白濃度，包括所有範圍及其之間之值)在輕柔振盪下一起培育。隨後用1X TBST洗滌微陣列並使其與經標記抗IgG抗體雜交(例如，以1:400稀釋)。隨後用適當緩衝液洗滌載玻片。使用離心機(例如，以1500 rpm旋轉5 min)使載玻片乾燥並在微陣列掃描儀上使用(例如)635-nm雷射以100%功率及600或650光電倍增管增益掃描。因此，本發明亦係關於減少診斷分析中之背景抗血清噪音之方法，其包含用埃希氏大腸桿菌裂解物處理對照血漿試樣及患病試樣及使該等試樣與類肽或配位體陣列接觸。據信此方法可用於支持任一陣列之處理，在比較對照試樣與患病試樣情況下，該陣列用於檢測並區分血清中之抗體。

本發明涵蓋，本文所述任一方法或組合物可根據本文所述任一其他方法或組合物來實踐。

在申請專利範圍及/或說明書中，詞語「一(a或an)」在與術語「包含」連用時可意指「一」，但亦與「一或多」、「至少一」及「一或一以上」之含義吻合。

本發明涵蓋，此說明書中所論述之任一實施例可根據本發明之任一方法或組合物來實踐，且反之亦然。此外，本

發明之組合物及套組可用於實施本發明之方法。

在整個本申請案中，術語「約」用於表明一數值包括用於測定該數值之裝置、方法之固有誤差差異或各研究個體之間存在之差異。

應理解，經由本文所列舉方法發現之推定標靶物或類肽中之任一者亦可為治療藥物或疫苗候選物。因此，本發明係關於發現藥物候選物或疫苗之方法，其包含按照本文所述方法使用篩選。

提供以下實例以更全面地闡釋本發明之較佳實施例。然而，其無論如何不應視為限制本發明之寬範疇。

實例

實例1：庫製備

類肽合成之方案(Cyst-類肽或甲硫胺酸-類肽)

以下實例證實如何產生本發明之類肽庫。用於該實例中之材料包括反應燒瓶或燒杯、塑膠管道、10-15個具有針之3 ml注射器、乳膠手套、10-15個15 ml聚丙烯測試管及具有溶劑安全尖端之微量移液管(1000 μ l)、玻璃移液管及樹脂珠粒。所利用之化學品及/或試劑包括N,N二甲基甲醯胺、溴乙酸(BMA)、無水二甲基甲醯胺、六氫吡啶、乙腈、3-二異丙基碳化二亞胺(DIC)、三氟乙酸、5(6)-羧基螢光素、二氯甲烷(DCM)及4-甲基嗎啉(NMM)。亦使用用於每一庫製備中之各種胺以及HBTU(六氟磷酸四甲基脲鎘鹽)及三乙基矽烷。

類肽製備

使用下式計算用於該過程中之每一胺之濃度：

$$V = FW/d/1000 \times 2M \times 5 \text{ ml}$$

程序：

步驟 1

使樹脂珠粒膨脹。

(a) 將 250 毫克樹脂珠粒置於清潔之乾燥反應燒瓶中且向珠粒中添加 5 ml 含水 DMF，該等珠粒可在 1 小時或更短時間內膨脹。隨後在真空下用 DMF 多次洗滌珠粒 (2 或 3X)。

步驟 2

在使用「未經保護珠粒」(例如 Tenta-Gel) 時，省略步驟 (b)、(c) 及 (d)。

以下過程中使用 20% 六氫吡啶(鹼)溶液，其使用無水 DMF 作為溶劑，

在使用「經保護珠粒」時，進行包含步驟 (b)、(c) 及 (d) 之以下過程 2 次。

(b) 向經保護珠粒中添加 2.5 ml 20% 六氫吡啶溶液；

(c) 在添加六氫吡啶後，將反應燒瓶置於設定為 200 rpm 及 25°C 下之振盪器/培育箱中達 20 分鐘。

(d) 隨後用含水 DMF 使用 5 ml DMF 將反應燒瓶洗滌 8-10 次。

亦製備以下溶液：

存於無水 DMF 中之 468 mg Fmoc-Cys(Trt)-OH (2 ml 體積) (溶液 A)。

161.6 mg NMM，存於無水 DMF 中，2 ml

向NMM小瓶中添加303.2 mg HBTU (溶液B)。

添加HBTU/NMM及Fmoc-Cys

向珠粒中添加各自1 ml溶液A及溶液B-(HBTU/NMM)及Fmoc-Cys(Trt)-OH)並振盪1小時。

將珠粒於DMF中洗滌5-10次。

將溶液A及B之剩餘1 ml溶液添加至珠粒中，將該等珠粒振盪1小時之時段且隨後再次於DMF中洗滌5-10次。

亦製備以下溶液：

20%六氫吡啶(存於無水DMF中)

2 M溴乙酸

50% DIC/A. DMF

2 M每一胺溶液

將以下步驟(a)、(b)及(c)實施2次，添加2.5 ml 20%六氫吡啶溶液；(b)於25°C下以200 rpm振盪反應燒瓶且隨後(c)將珠粒用DMF洗滌8X至10X。

製備10 ml 2 M溴乙酸溶液。

亦製備10 ml 50% 3.2 M DIC/無水DMF (v/v)之溶液。

為每一庫中之且針對每一庫之每一胺製備2 M胺溶液。

對於類肽合成，每次使用1 ml 2 M儲存溶液，在類肽鏈上增加胺。

步驟3

向反應容器中添加1 ml溴乙酸；

(b)隨後添加1 ml 50% DIC/DMF溶液且將所得溶液(c)以10%功率微波處理15秒。

將步驟(c)實施2次，在一系列微波處理之間使燒瓶來回渦旋。

在每一微波處理步驟後形成白色沈澱。隨後將珠粒用DMF洗滌8-10次。

步驟4

依序向含有前一步驟中之溴中間體之反應燒瓶中添加1 ml第一胺且振盪容器以使胺均勻地分佈於珠粒上。隨後以10%功率使用微波達15秒(共2次)來起始反應。隨後將反應珠粒用含水DMF洗滌8-10次。

重複步驟3及4直至添加所有胺以製造靶類肽為止。

步驟5

隨後將珠粒用二氯甲烷(DCM)洗滌3次並使其乾燥。

步驟6

隨後使用95% TFA溶液(5 ml)使類肽自珠粒解離。隨後收集離開珠粒之類肽，用溶劑(CH₃CN及水)洗滌該等珠粒以移除殘餘類肽。使用氫氣體移除任何殘餘TFA。若需要，隨後凍乾並表徵並純化該等類肽。

端視任一特定珠粒組合物所需之量而定，可根據需要修飾上文指定之反應條件。

圖1-5大體證實如何針對疾病(例如AD診斷、胰腺癌診斷及狼瘡)製備本發明之庫。一般而言，經由使用標準肽化學法之一系列步驟將具有胺部分之珠粒連接至胺基酸殘基，隨後使其與具有鹵化物基團之活化羧基部分反應，該鹵化物基團隨後與具有R基團之單體胺反應。如圖中所示

重複循環之步驟2及3以產生具有1 MM至2 MM不同配位體之大類肽庫。製備於Tentagel樹脂或珠粒上之初始篩選庫通常在鏈中具有甲硫胺酸胺基酸作為第一單體。本發明者使用該胺基酸以有利於自不具有解離連接體之珠粒或樹脂解離。用於構建含有半胱胺酸之類肽的Rink樹脂具有無需或不需使用甲硫胺酸作為第一胺基酸的連接體。通常在初始篩選發現推定標靶物後重新合成含有半胱胺酸之類肽。半胱胺酸硫基團允許類肽鏈與(例如)另一反應部分在診斷平臺基材上反應。重新合成之類肽亦含有1-基-正丁基胺基部分作為鏈中胺基酸胺之後之第一側鏈。據信此基團對於展示類肽及使類肽在含水溶液中增溶係必需的。

實例2：一般篩選方法

使附接至所選類肽之160微米Tentagel珠粒在DMF中膨脹過夜。隨後將珠粒在反應容器中用Millipore水洗滌10次，同時劇烈振盪。每次添加新鮮Millipore水，且在第10次洗滌時，將珠粒以150-200 rpm振盪過夜。次日，以相同方式用1X TBST洗滌珠粒並將其以150-200 rpm振盪至少3小時。

隨後將珠粒均勻地分至15 ml圓錐形管中，每個管約0.5克，存於1X TBST中。移除TBST，且向每一管中添加4 ml經稀釋正常人類血清。以奈米微滴滴加於1X TBST中製得之血清儲液以得到20 $\mu\text{g/ml}$ 之期望濃度。於4°C下在黑暗中將含有血清及珠粒之管翻滾過夜。隨後自管移液出血清，並更換為4 ml 1X TBST。隨後緩慢反轉管以隨後重新懸浮

珠粒，且隨後使其沉降。移除TBST並再添加兩次，總共三次TBST洗滌。

隨後藉由每1 ml 1X TBST製備5 μ l山羊抗人類igG Qdot 655製備二級抗體溶液。在自珠粒移除最後一次TBST添加時，添加4 ml Qdot溶液，且於4°C下在黑暗中將珠粒翻滾2小時。隨後使珠粒沉降，且移除Qdot溶液。隨後將珠粒用4 ml 1X TBST洗滌三次。隨後將珠粒倒入在含有DAPI濾色器之UV顯微鏡下觀察的透明Petri盤中。移除染紅色之所有珠粒。

在完成首次篩選後，將珠粒重新倒入15 ml圓錐形管中，並在下次血清試樣添加之前於4°C下翻滾至少4小時。隨後以與正常血清添加相同之方式向珠粒添加患病血清，只是於PBS起始封阻液中而非1X TBST中稀釋血清。然而，在1X TBST中製備初始儲液以利用nanodrop獲得適當濃度。血清添加及二級抗體添加與正常血清相同。

在移除患病「標靶物」時，將其彙集於1.5 ml eppendorf管中，且於95°C下於1% SDS中加熱25-30分鐘。隨後自管移除SDS，並更換為Millipore水。隨後於4°C下將珠粒翻滾15分鐘。隨後將水更換為新鮮水，且將珠粒再翻滾15分鐘。隨後移除水並更換為50/50乙腈/水溶液並再翻滾15分鐘。隨後將珠粒分離至96孔板中之個別孔中並使其乾燥。

製造20-30 mg溴化氰、500 μ l乙腈、400 μ l冰醋酸、及100 μ l Millipore水之溶液，且向含有標靶物珠粒之每一孔中添加20 μ l溶液。覆蓋該板並使其以100 rpm振盪16小

時。隨後移除蓋，並自孔蒸發解離溶液。隨後將標靶物點至MSMS板上並使用4800 MALDI/TOF/FOF分析儀測序。

圖6提供本文所揭示並主張之篩選方法的通用示意圖。

實例3：診斷對治療疾病之藥物之反應

向15毫升圓錐形管中添加500毫克160微米Tentagel珠粒(JC3B庫)。向管中添加5毫升DMF，並使珠粒靜置過夜以膨脹。次日，自管移液出DMF並更換為5毫升1X TBST。將管反轉以混合，且隨後使珠粒沉降至底部並移除1X TBST。添加5毫升1X TBST並再移除5次。

藉由向管中添加4毫升PBS起始封阻液並向同一管中添加各自7 μ l四種單獨藥物治療試樣來製備正常血清試樣。向經洗滌珠粒中添加血清並使珠粒及血清於4°C下在黑暗中翻滾過夜。第二天早上，自翻滾器移除珠粒並在自管移液出血清之前使其沉降。向管中添加4毫升1X TBST，並將管反轉以進行混合。隨後自管移液出TBST並更換為4毫升新鮮1X TBST並再次移除。

隨後藉由向4毫升1X TBST中添加50 μ l充分混合之山羊抗人類IgG DYNA珠粒來製備DYNA-珠粒溶液。隨後向經洗滌珠粒中添加混合物。隨後於4°C下在黑暗中使珠粒翻滾2小時。

在不洗滌珠粒下，實施DYNA珠粒篩選。將管放入磁體夾具中並用1X TBST填充至滿溢。將磁體及管緩慢攪拌2分鐘，且使珠粒於磁體夾具中沉降。小心移除TBST及沉降到底部之游離珠粒，磁體勿接觸附接至側面之標靶物珠

粒，並更換為新鮮1X TBST。將該過程重複兩至三次，直至不可再看到附接至管之側面的珠粒為止。隨後將標靶物珠粒組合至一個管中。

將剩餘非標靶物珠粒分至15毫升管中，反轉並快速脈衝離心。移除上清液並更換為新鮮1X TBST。重複此過程6-8次直至珠粒/TBST溶液中不再看到DYNA珠粒為止。以相同方式洗滌標靶物珠粒。

將珠粒重新組合至15 ml管中，並以與前述相同之方式向珠粒中添加正常血清，並於4°C下在黑暗中使其翻滾過夜。另外，向1毫升PBS起始封阻液中添加3毫升每一四種正常試樣，且向DYNA珠粒「標靶物」珠粒管中添加此溶液。次日，以與正常血清添加相同之方式洗滌珠粒。

於4毫升1X TBST (20 μ l Qdot，存於1 ml 1X TBST中，針對「標靶物」管)中稀釋20 μ l山羊抗人類IgG Quantum Dot 655，並將其添加至珠粒中。於4°C下在黑暗中將溶液翻滾2小時。將標靶物及非標靶物管用1X TBST洗滌4次並在UV顯微鏡下篩選亮紅色珠粒。將剩餘珠粒在4毫升1X TBST中翻滾1小時，並以與正常血清試樣相同之方式添加疾病或藥物治療之血清試樣。以與前述相同之方式實施此篩選及Qdot添加。隨後在MALDI TOF/TOF質譜儀上對標靶物進行測序。

實例4：利用單一量測之微陣列數據

如美國專利公開案第2010/0303805號中所述製備微陣列，該案件以引用方式併入本文中。用雜交室覆蓋微陣列

載玻片並用1X TBST (50 mM Tris (pH 8.0)、150 mM NaCl、0.1% Tween20)平衡15分鐘。隨後於4°C下將載玻片用1 ml封阻緩衝液封阻1小時。移除封阻緩衝液並於4°C下在輕柔振盪下將載玻片與1 ml血清(20 mg/ml)一起培育16小時。在替代方法中，於4°C下將載玻片用1 ml埃希氏大腸桿菌裂解物(1.5 mg/ml)封阻1小時。移除埃希氏大腸桿菌裂解物並於4°C下在輕柔振盪下將載玻片與埃希氏大腸桿菌裂解物(1.5 mg/ml)中之1 ml血清(15 mg/ml)一起培育18小時。隨後將微陣列用1X TBST洗滌3次並於4°C下在定軌振盪器上與Alexa-647標記之抗IgG抗體(5 mg/ml)雜交2小時。自微陣列載玻片移出腔式盒並先後用1X TBST (3×15 min)及0.1X TBST(1×10)洗滌。隨後將載玻片在離心機(5 min，以1500 RPM)上乾燥並在微陣列掃描儀(Gene Pix Autoloader 4200)上藉由使用635-nm雷射以100%功率及600或650光電倍增管增益掃描。藉由Gene Fix Pro 6.0軟體及Genespring軟體分析所有掃描圖像。

實例5：ELISA方案

自Thermo Scientific獲得96孔馬來醯亞胺活化板，並將其用400 µl/孔洗滌緩衝液(0.1 M磷酸鈉、0.15 M氯化鈉、0.05% Tween 20，pH 7.2)使用來自Beckman Coulter之板洗滌器洗滌三次。將感興趣之類肽於PBS結合緩衝液(0.1 M磷酸鈉、0.15 M氯化鈉、10 mM EDTA，pH 7.2)中稀釋至10 mM，並向適當孔中添加200 µl類肽溶液。隨後於室溫下在黑暗中將板培育2小時，同時以500 rpm振盪。隨後使

用板洗滌器自孔抽吸類肽溶液，並用400 μ l/孔洗滌緩衝液再次洗滌三次。將L-半胱胺酸HCL: H₂O (Thermo Scientific)於結合緩衝液中稀釋至10 μ g/ml，並每孔添加200 μ l。隨後於室溫下在黑暗中將板培育1小時同時以500 rpm振盪，並洗滌三次。向孔中添加200 μ l StartingBlock™ (PBS)封阻緩衝液(Thermo Scientific)並於4°C下在黑暗中將板培育1小時，同時以500 rpm振盪。將板用板洗滌器洗滌三次，並藉由自1:200向下連續稀釋於結合緩衝液中製備血清試樣。使用nano-drop (Thermo Scientific)取1:200濃度之試樣儲液，以確保其相同。在製備下一稀釋之前旋轉每一稀釋試樣。向板中添加血清(患病及正常)之200 μ l適當稀釋液、以及無血清之結合緩衝液作為對照。將血清於室溫下在黑暗中培育2小時，同時以500 rpm振盪。再次洗滌板，並向適當孔中添加200 μ l存於結合緩衝液中之1:30,000山羊抗人類IgG HRP (MilHpore)稀釋液，並於室溫下在黑暗中培育30分鐘，同時以500 rpm振盪。將板洗滌三次，並向每一孔中添加100 μ l TMB (3,3',5,5'-四甲基聯苯胺)溶液，且在試驗臺上於黑暗中使顏色顯影30分鐘。添加100 μ l 2 M硫酸終止溶液以終止反應，且在450之吸光率下使用板讀數器對孔進行讀數。

因此，在每一情形下且關於每一藥物治療，本發明方法可用於快速發現與藥物反應(例如，不良反應、藥物抗性及治療劑量功效)相關之生物標記及結合至該等標記之配位體。該等配位體(配位體之此較大集合)可用於多重診斷

及/或治療目的。診斷平臺包括微陣列、基於珠粒之方法及ELISA系統。上述利用之條件構成本發明之重要態樣。該等條件包括血清之稀釋範圍以及珠粒上或孔中之特定類肽之濃度及檢測方法。珠粒上具有類肽之珠粒的數量可端視特定測試套組或篩選套組而有所變化。該等數量亦可端視珠粒/配位體是否用於本文列舉之初始篩選方案及方法中及/或是否基於高親和性配位體之發現用於測試套組中而有所變化。

彼等熟習此項技術者應瞭解，可對上述實施例作出改變而不背離其廣泛發明概念。因此，應理解，本發明並不限於所揭示特定實施例，而是意欲涵蓋屬於本發明之精神及範疇之修改，如由隨附申請專利範圍所定義。

【圖式簡單說明】

圖1展示用於篩選阿茲海默氏病血清試樣之Tentagel珠粒之庫(KN1B)的製備之基本化學示意圖。圖1A展示自作為反應物之具有胺基之聚苯乙烯珠粒開始(可在珠粒與末端胺基之間形成PEG或等效或替代連接體)。圖1B展示珠粒上呈甲硫胺酸形式之起始胺基酸，且隨後使其反應形成B中所示化合物。圖1C展示用於形成化合物之寡聚物庫之亞單體(單體胺及鹵乙酸)。

圖2展示亦用於篩選阿茲海默氏病血清試樣之Tentagel珠粒之庫(JC3B)的製備之基本化學示意圖。圖1A展示自作為反應物之具有胺基之聚苯乙烯珠粒開始(可在珠粒與末端胺基之間形成PEG或等效或替代連接體)。圖1B展示珠粒

上呈甲硫胺酸形式之起始胺基酸，且隨後使其反應形成B中所示化合物，圖1C展示用於形成化合物之寡聚物庫之亞單體(單體胺及鹵乙酸)。JC3B亦用於篩選胰腺癌血清。

圖3展示用於篩選阿茲海默氏病血清試樣之Tentagel珠粒之庫(JC4B)的製備之基本化學示意圖。圖1A展示自作為反應物之具有胺基之聚苯乙烯珠粒開始(可在珠粒與末端胺基之間形成PEG或等效或替代連接體)。圖1B展示珠粒上呈甲硫胺酸形式之起始胺基酸，且隨後使其反應形成B中所示化合物。圖1C展示用於形成化合物之寡聚物庫之亞單體(單體胺及鹵乙酸)。

圖4展示用於篩選阿茲海默氏病血清試樣之Tentagel珠粒之庫(JC5B)的製備之基本化學示意圖。圖1A展示自作為反應物之具有胺基之聚苯乙烯珠粒開始(可在珠粒與末端胺基之間形成PEG或等效或替代連接體)。圖1B展示珠粒上呈甲硫胺酸形式之起始胺基酸，且隨後使其反應形成B中所示化合物。圖1C展示用於形成化合物之寡聚物庫之亞單體(單體胺及鹵乙酸)。JC5B單體包括異丁基胺、2-甲氧基乙基胺、二胺基丁烷、糠基胺、環己基胺、R-甲基苄基胺、胡椒基胺及4-(胺基乙基)苯磺醯胺。

圖5展示用於篩選血清試樣之Tentagel珠粒之庫(JC7B)的製備之基本化學示意圖。圖3A展示自作為反應物之具有胺基之聚苯乙烯珠粒開始(可在珠粒與末端胺基之間形成PEG或等效或替代連接體)。圖1B展示珠粒上呈甲硫胺酸形式之起始胺基酸，且隨後使其反應形成B中所示化合物。圖

1C展示用於形成化合物之寡聚物庫之亞單體(單體胺及鹵乙酸)。

圖6展示使用類肽配位體之珠粒庫篩選複合生物試樣之本發明方法的示意圖。

圖7展示在製備用於篩選阿茲海默氏病正常對照血清試樣及患阿茲海默氏病血清試樣之類肽庫(JOB)中添加QDot後的正常對照(NC) Dyna珠粒標靶物。揀出該等標靶物並將剩餘結合配位體之珠粒用於基於疾病之篩選中。

圖8展示來自移除NC標靶物之後之阿茲海默氏病患者血液試樣之患病血清的Tentagel珠粒篩選。標靶物係以紅色展示，其係結合至血清中之疾病相關性生物標記(抗體)之Qdot二級抗體，該二級抗體結合至經由PEG連接體連接至珠粒之類肽。

圖9展示使用SDS洗滌及QDOT添加之後之正常對照試樣(NC 030093)之重現性測試。箭頭展示所挑揀NC類肽標靶物用於測序。

圖10展示使用SDS洗滌及QDOT添加之後之正常對照試樣(NC 050047)之重現性測試。

圖11展示使用SDS洗滌及QDOT添加之後之患病試樣之重現性測試。

圖12展示選自JC3B庫之阿茲海默氏病篩選之推定標靶物的類肽序列。C末端係在圖表之右側且N末端係在左側。

圖13展示來自JC3B庫之阿茲海默氏病篩選之較佳高親和性標靶物的化學結構，在此實例中，所示結構具有半胱胺

酸殘基且在初步篩選中測定初始標靶物之結構後重新合成。JC3B庫含有類似類肽但其在C末端上具有甲硫胺酸殘基而非半胱胺酸殘基。

圖14展示溶液中之高親和性配位體(ADTG1)對微陣列載體上之ADTG-1-ADTG-42之間的競爭實驗。競爭實驗展示鍵結至同一抗體之存於溶液中之ADTG1，該抗體可結合至微陣列上之類肽ADTG-1、ADTG14、ADTG24、ADTG25、ADTG31、ADTG35及ADTG40。對每一類肽實施類似實驗以發現四組類肽，其結合至四種不同阿茲海默氏病自體抗體。

圖15展示四組不同類肽，其結合至阿茲海默氏病篩選中之不同自體抗體。圖上之每一組在頂部處具有較高親和性黏合劑。

圖16A展示使用Plaag1 (JC3B-1)類肽之患者集合的AD測試數據(盲)且圖16B展示使用Plaag2 (JC3B-21)之同一AD患者集合的測試數據(盲)。每一類肽呈遞於微陣列上。

圖17A展示使用Plaag3 (JC3B-7)類肽之患者集合的AD測試數據(盲)且圖17B展示使用Plaag4 (3C3B-5)之同一AD患者集合的測試數據(盲)。每一類肽呈遞於微陣列上。

圖18A展示使用Plaag5 (JC3B-R8)類肽之患者集合的AD測試數據(盲)且圖18B展示使用Plaag6 (JC3B-R 12)之同一AD患者集合的測試數據(盲)。每一類肽呈遞於微陣列上。

圖19A展示使用Plaag1-6實施之測試之相同患者集合中的ADP2之微陣列數據。圖19B展示使用Plaag4與相同患者

組之比較數據。數據展示利用相同患者集合中之先前鑑別之ADP2與新鑑別之Plaag4達成之結果之間的明顯相關性。

圖20A展示使用Plaag1-6實施之測試之相同患者集合中的ADP3之微陣列數據，圖20B展示使用Plaag2與相同患者組之比較數據。數據展示利用相同患者集合中之先前鑑別ADP3與新鑑別Plaag2達成之結果之間的明顯相關性。

圖21展示以40 µg/ml之患病AD血清對健康對照(彙集)比較中的TentaGel珠粒上之Plaag5 (推定標靶物5或JC3B-R8)之驗證。

圖22A展示使用QDot 655及使用JC5B庫之胰腺癌篩選中的類肽標靶物。圖22B及C展示使用QDot 655之標靶物之確認(箭頭指向標靶物)。

圖23展示胰腺類肽標靶物驗證且利用QDot 655對正常血清添加比較患病血清添加及檢測。

圖24展示藉由混合AD標記及PC標記之標靶物驗證。數據展示檢測到PC標記，但在胰腺癌血清(血清1)中之AD類肽珠粒上無可檢測之抗體。

圖25展示來自JC3B庫之胰腺癌篩選標靶物序列。

圖26展示來自JC5B庫之胰腺癌篩選標靶物序列。

圖27A、B及C展示SLE(狼瘡)篩選之結果。A係正常對照且B及C係來自兩個不同組1及2之SLE血清。箭頭指向標靶物。

圖28展示來自KN1B庫之SLE標靶物。C末端係在圖表之

右側。

圖 29 展示類肽 KN1B-20 之標靶物驗證。組 1 係濃度為約 0.374 mg/ml 之彙集患病血清 (左圖) (標靶物以紅色示於珠粒上)。無病彙集血清 (中心圖) 係以約 0.378 mg/ml 之濃度提供且極右圖展示無血清對照。

圖 30 展示使用兩種不同結合方法以不同類肽濃度使用螢光素標籤的 SLE (狼瘡) 類肽中之一者與 ELISA 板之結合/檢測。

圖 31 展示不同濃度下之板結合 KN1B-20-生物素-螢光素對溶液中之游離 KN1B-20-生物素之間的競爭分析。隨著游離 KN1B-20-生物素之濃度自結合對游離之等莫耳濃度增加，出現信號阻尼。

圖 32 展示具有不同濃度之類肽之 ELISA 板且明確展示患病血清 (AD) (P 第 1 行) 與正常對照血清 (第 3 行) 之間的差別 [1:200, 每一孔加倍稀釋至 1:400、1:800、1:1,600、1:3,200、1:6,400、1:12,800]。箭頭指向 1X TBST 緩衝液中之 1:800 稀釋。孔中之類肽濃度係 10 mM。圖 32 亦展示區分患病血清與對照血清之 TentaGel 珠粒平臺的驗證。

圖 33 展示 10 mM ADP3 及 AD 血清對對照血清之不同稀釋下的 ELISA 板。箭頭指向 1:800 稀釋。

圖 34 展示 10 mM SLE-KNJ B-20 及 AD 血清對對照血清之不同稀釋下的 ELISA 板。箭頭指向 1:800 稀釋。

圖 35 展示以不同血清稀釋使用於結合緩衝液中製備之 10 mM ADP3 的 AD 血清 ELISA 圖。在 1:200 至約 1:10,000 之稀

釋範圍內正常血清與患病血清分開。起始稀釋係1:200 (第1組AD血清為.394 mg/ml及無病血清為.386 mg/ml)。

圖36展示以不同血清稀釋使用於結合緩衝液中製備之10 mM KN1B-20的SLE血清ELISA圖。在1:200至約1:10,000之稀釋範圍內正常血清與患病血清分開。起始稀釋係1:200 (第1組SLE血清為.375 mg/ml及無病血清為.396 mg/ml)。

圖37展示以不同血清稀釋使用於DMSO中製備之1.0 mM KN1B-20的SLE血清ELISA圖。在1:200至約1:10,000之稀釋範圍內正常血清與患病血清分開。起始稀釋係1:200 (第1組SLE血清為.367 mg/ml及無病血清為.322 mg/ml)。

圖38展示用於Tentagel珠粒標靶物驗證之FACS平臺。

圖39展示不同血清濃度(100 $\mu\text{g/ml}$ 至1,000 $\mu\text{g/ml}$)下及響應利用抗DNP標記之二級抗體處理的具有乙醯基之珠粒與具有2,5-二硝基苯基(DNP)之珠粒之間的分離程度。平均螢光強度(MFI)分離在1,000 $\mu\text{g/ml}$ 血清之較高稀釋下最大。

圖40展示1,000 $\mu\text{g/ml}$ 血清濃度下游離乙醇胺-DNP與DNP (在板上)與抗DNP抗體結合之間存在直接競爭。

圖41展示來自彙集正常對照血清及彙集AD血清之結合ADP3之抗-抗體。數據展示在20 $\mu\text{g/ml}$ 及140 $\mu\text{g/ml}$ 之血清濃度範圍下使用兩種不同二級抗體(山羊抗人類Dylight 649及山羊抗人類Alexa 647)具有良好分離。

圖42展示於不同血清濃度範圍下減去背景後正常對照及AD血清之結合的ADP3自體抗體。在小於20 $\mu\text{g/ml}$ 至1.20

$\mu\text{g/ml}$ 或更大之最大血清濃度範圍下分離程度顯著。

圖 43 及 44 展示 SLE(狼瘡)重新合成之類肽配位體標靶物的結構。

圖 45 展示 $10\ \mu\text{m}$ Tentagel 珠粒上之 ADP3 之製備及隨後使用 CNBr 裂解以及質譜讀取所示內酯。

圖 46 展示不同濃度下來自正常對照及阿茲海默氏病血清之結合 ADP3 之自體抗體。將珠粒用 1X TBST 預阻斷 3 小時且隨後使用山羊抗人類 Alexa 647 二級抗體檢測。

圖 47 展示不同血清濃度下來自正常對照及阿茲海默氏病血清之結合 ADP3 之自體抗體且亦展示 DNP 值。

圖 48 及 49 展示使用預阻斷條件(例如埃希氏大腸桿菌裂解物及離胺酸)之正常對照對阿茲海默氏病血清的結合 ADP3 之自體抗體。

圖 50 展示用於微陣列中之類肽對彼等置於 ELISA 板上之類肽之製備及其之間之不同的簡單示意圖。如何製造類肽微陣列之示意圖：將個別珠粒隔離至微量滴定之孔中且自珠粒解離類肽以製得濃縮儲存溶液。注意，每一孔現將含有單一種類之類肽。隨後將幾千種類肽點至化學修飾之顯微鏡載玻片上以使其共價結合至表面。可高度可再現地自單一合成庫產生幾千個載玻片。ELISA 產生係類似的，只是表面上無 PEG 鏈，但 ELISA 板上之類肽之密度可與其在微陣列上不同。

圖 51 展示於 1:800 之血清稀釋下使用連接至二級抗體之辣根過氧化物酶之正常對照與患病血清之間具有明顯不同

的ELISA實驗，該二級抗體檢測疾病相關性抗體-類肽複合物。添加無色基材且在與結合HRP酶反應時改變顏色(藍色)。

圖 52 展示於患病血清(A)對正常血清(B)之不同血清稀釋下的ELISA測試中比較不同AD類肽的滴定數據。正常血清中無信號強度，但隨著濃度自1:12,800增加至1:200，所有AD類肽明顯不同且存在強度。

圖 53 提供驗證處於不同阿茲海默氏病階段之AD患者(或未患病者)之非盲試樣組的臨床診斷對自相同患者血清試樣(盲)獲得且針對ADP3類肽篩選以檢測疾病相關性抗體的數據之間的相關性之圖。所示結果係來自 Mayo Clinic Jacksonville之血漿試樣的盲法研究。UND=未確定。圖係得自取單一血清濃度(1:800)稀釋。讀數>1視為陽性，讀數介於1與0.7之間視為未確定且讀數低於0.7視為陰性。

圖 54 提供驗證處於不同阿茲海默氏病階段之AD患者(或未患病者)之非盲試樣組的臨床診斷對自相同患者血清試樣(盲)獲得且針對本發明之不同AD類肽(圖係9種類肽之結果之平均值)篩選以檢測疾病相關性抗體的數據之間的相關性之圖。所示結果係來自 Mayo Clinic Jacksonville之血漿試樣的盲法研究。UND=未確定。圖係得自取單一血清濃度(1:800)稀釋。讀數>3視為陽性，讀數介於1與0.7之間視為未確定且讀數低於0.7視為陰性。

圖 55 提供驗證處於不同阿茲海默氏病階段之AD患者(或未患病者)之非盲試樣組的臨床診斷對自相同患者血清試

樣(盲)獲得且針對本發明之不同AD類肽篩選以檢測疾病相關性抗體的數據之間的相關性之圖。所示結果係來自Mayo Clinic Jacksonville之血漿試樣的盲法研究。UND=未確定。圖係得自取單一血清濃度(1:800)稀釋。讀數>1視為陽性，讀數介於1與0.7之間視為未確定且讀數低於0.7視為陰性。數據亦展示對其他癡呆症之性能，其中標記MCI/抑鬱症試樣且亦標記路易體癡呆(Lewis Body Dementia)試樣。數據展示至少3個MCI患者之血清試樣中由本發明之AD選擇性類肽捕獲之抗體的可檢測量高於1。

圖56A-D提供關於患者之試樣之亞群的數據，該等患者在使用多種AD類肽之Opko Health類肽診斷分析對在揭盲時提供此資訊之後之臨床診斷之間存在不一致。圖56A展示如針對臨床上患病但Opko類肽Plaag4低於1.0(單一點下UND；滴定AD為陽性)之患者所示之類肽ADP3及其他類肽的數據。對於AD而言，所有其他Opko類肽均呈陽性(即，高於1.0)。圖56B展示在目前診斷為正常(非癡呆)之患者中，所有Opko類肽對疾病相關性抗體呈陽性，此表明預AD。圖56C展示於任一稀釋程度下在臨床診斷為患有AD之患者中Opko AD類肽均不展示高於1之強度(表明此患者具有另一其他形式之癡呆症)。圖56D展示在臨床陽性AD患者中，多種Opko AD類肽並不對疾病相關性抗體呈陽性但兩種類肽(Plaag6及Plaag4)呈陽性，因此於單一點下UND且甚至滴定後UND。

圖57展示自先前AD試樣使用經ADP3點樣之微陣列生成

之集群圖。在微陣列數據及使用 ELISA 平臺產生之數據中，患病對對照試樣之間存在明顯相關性。圖 57 亦展示 ADP3 類肽係針對與阿茲海默氏病而非帕金森氏病或狼瘡 (SLE) 相關之疾病相關性抗體選擇。

圖 58 提供使用總共 106 個測試血清試樣之 ELISA 分析的概述。

圖 59 提供 Plaag7-9 之化學結構。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號： 101110443

※申請日： 101.02.28

※IPC 分類： G01N33/56 (2006.01)
G01N33/566 (2006.01)
C40B30/64 (2006.01)
C40B40/10 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

使用配位體庫之診斷及治療方法

DIAGNOSTIC AND TREATMENT METHODS USING A LIGAND
LIBRARY

二、中文發明摘要：

本發明係關於使用配位體庫之診斷及治療方法。具體而言，本發明係關於使用配位體庫來診斷或檢測藥物誘發之反應，包括藥物不良反應、副作用、藥物抗性及治療功效。本發明進一步關於鑑別與藥物誘發反應相關之生物標記及提供個人化醫學治療。

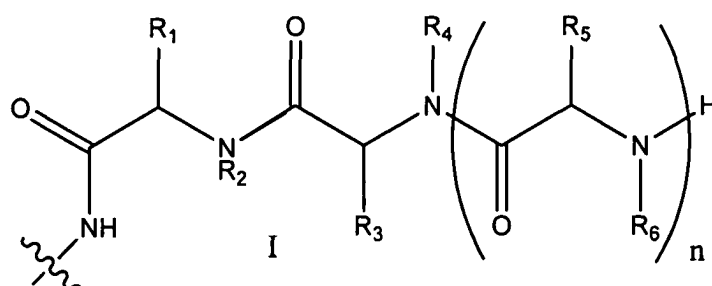
三、英文發明摘要：

The invention relates to diagnostic and treatment methods using a ligand library. Specifically, the invention relates to using a ligand library to diagnose or detect a drug induced response, including drug adverse reaction, side effects, drug resistance, and therapeutic efficacy. The invention further relates to identifying biomarkers associated with a drug induced response and providing a personalized medical treatment.

七、申請專利範圍：

1. 一種用於診斷個體中藥物誘發之反應的活體外方法，該方法包含：對獲自該個體之生物試樣篩選配位體庫；鑑別該試樣中之一或多個標記與該庫中之一或多個配位體的結合特徵；及確定該一或多個標記是否與該藥物誘發之反應相關，藉此診斷該個體中該藥物誘發之反應。
2. 如請求項1之方法，其中該反應係該藥物之副作用、對該藥物之不良反應、對該藥物之抗性或該藥物之治療劑量功效。
3. 如請求項1之方法，其中該藥物係表1中所列藥物中之至少一者。
4. 如請求項1之方法，其進一步包含測定該個體對該藥物之治療或療法反應或不反應的步驟。
5. 如請求項1之方法，其中該藥物誘發之反應係與疾病或該疾病之階段相關。
6. 如請求項1之方法，其中該疾病係癌症、自體免疫疾病、發炎疾病、傳染性疾病、神經變性疾病或心血管疾病。
7. 如請求項6之方法，其中該癌症疾病係乳癌、肺癌、前列腺癌、子宮頸癌、頭頸癌、睪丸癌、卵巢癌、皮膚癌、腦癌、胰腺癌、肝癌、胃癌、結腸癌、直腸癌、食道癌、淋巴瘤或白血病。
8. 如請求項6之方法，其中該自體免疫疾病係狼瘡、重症肌無力、多發性硬化、發作性睡病、類風濕性關節炎、

- 腎炎、查加斯病 (Chagas disease)、硬皮病或修格蘭氏病 (Sjogren's disease)。
9. 如請求項 6 之方法，其中該傳染性疾病係感染病毒、細菌或真菌之結果。
 10. 如請求項 6 之方法，其中該神經變性疾病係阿茲海默氏病 (Alzheimer's disease)、癡呆症或庫賈氏病 (Creutzfeld-Jacob disease)。
 11. 如請求項 1 之方法，其中該配位體庫包含多數配位體，該等配位體係於早期初始篩選中鑑別或係基於對該等配位體結合標記之已知反應性預先選擇。
 12. 如請求項 1 之方法，其中該配位體庫係類肽庫。
 13. 如請求項 1 之方法，其中該庫包含式 I 化合物，



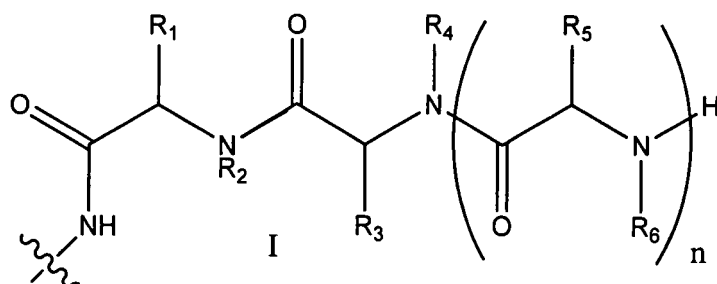
其中 R_1 係選自富電子之胺基側鏈 Y；

R_2 係選自 H；

R_3 至 R_6 獨立地選自由以下組成之群：H、 $-C_1-C_6$ 烷基、 $-C_1-C_6$ 烷基 SCH_3 、 $-C_0-C_6$ 烷基 C_2-C_6 烯基、 $-C_0-C_6$ 烷基 C_2-C_6 炔基、 $-C_1-C_6$ $COOH$ 、 $-C_1-C_6$ 烷基 OH 、 $-C_1-C_6$ 烷基 $N(R)_2$ 、 $-C_3-C_8$ 環烷基、 $-C_1-C_6$ 烷基芳基、 $-C_1-C_6$ 烷基雜芳基、 $-C_1-C_6$ 烷基 $NC(O)C_1-C_6$ 烷基、 $-C_1-C_6$ 烷基環醯胺，其中該等芳基或雜芳基中之任一者可獨立地經

-OH、Cl、F、Br、-OCH₃、-SO₂NH₂或-O-CH₂-O-取代。

14. 如請求項1之方法，其中該庫包含式I化合物，



其中該等化合物係由包含使用選自由以下組成之群之反應物的方法產生：

(A) 糠基胺；3,4-二甲氧基乙醇胺；苄基胺；N-(2-胺基乙基)乙醯胺；N-(3-胺基丙基)-2-吡咯啉酮；乙醇胺；甘胺酸；二胺基丁烷；烯丙基胺；胡椒基胺；甲基苄基胺；異丁基胺；4-(2-胺基乙基)苯磺醯胺或環己基胺；或

(B) 甲氧基乙基胺；胡椒基胺；環己基胺；二胺基丁烷；甲基苄基胺；異丁基胺；糠基胺或4-(2-胺基乙基)苯磺醯胺；或

(C) 糠基胺、乙醇胺；甘胺酸；二胺基丁烷；烯丙基胺；胡椒基胺；甲基苄基胺；異丁基胺或4-(2-胺基乙基)苯磺醯胺；或

(D) 糠基胺、N-(2-胺基乙基)乙醯胺；N-(3-胺基乙基)-2-吡咯啉酮；乙醇胺；甘胺酸；二胺基丁烷；烯丙基胺；胡椒基胺；甲基苄基胺；異丁基胺；4-(2-胺基乙基)苯磺醯胺；或

(E) 半胱胺酸、甘胺酸、烯丙基胺、乙醇胺、異丁基胺、甲基苄基胺、胡椒基胺、甲硫胺酸、環己基胺、

3,4-二甲氧基苯乙基胺、苜基胺、N-(2-胺基乙基)乙醯胺、N-(3-胺基丙基)-2-吡咯啉酮、4-(2-胺基乙基)苯磺醯胺及糠基胺；且

其中，

R₁係選自由-(C₁-C₆)SCH₃組成之群；

R₂係選自H；

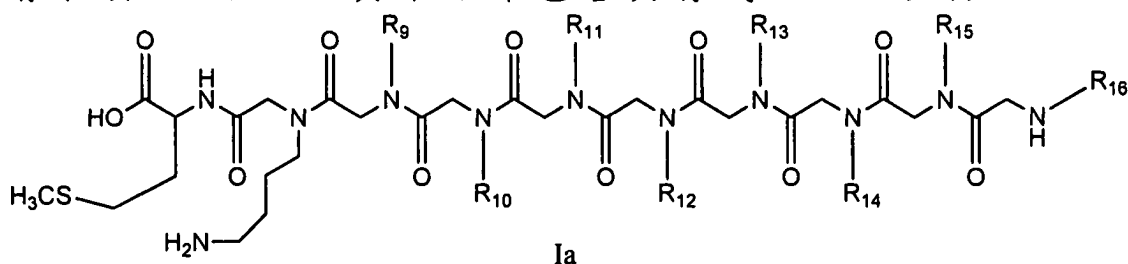
R₃及R₅獨立地選自由以下組成之群：H、-C₁-C₆烷基、-C₁-C₆烷基SCH₃、-C₀-C₆烷基C₂-C₆烯基、-C₀-C₆烷基C₂-C₆炔基、-C₁-C₆COOH、-C₁-C₆烷基OH、-C₁-C₆烷基N(R)₂、-C₃-C₈環烷基、-C₁-C₆烷基芳基、-C₁-C₆烷基雜芳基、-C₁-C₆烷基NC(O)C₁-C₆烷基、-C₁-C₆烷基環醯胺，其中該等芳基或雜芳基中之任一者可獨立地經-OH、Cl、F、Br、-OCH₃、-SO₂NH₂或-O-CH₂-O-取代；

R₄係選自由糠基或-(C₁-C₆烷基)NR₇R₈組成之群，

R₆係選自由以下組成之群：H、1-基-烯丙基、1-基-2-羥基乙基、異丁基、1-基-正丁基胺、甲基苜基、胡椒基、環己基、1-基-2-(3,4-二甲氧基苯基)乙基、苜基、1-基-2-(乙醯胺)乙基、1-基-3-2-吡咯啉酮、1-基-2-(4-苯磺醯胺)乙基或糠基，及

n係3至11。

15. 如請求項1之方法，其中該庫包含具有式Ia之化合物



其中該化合物係選自由式Ia化合物組成之群，其中，

(a) R₉係正丁基胺；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係胡椒基；R₁₂係甲基苄基；R₁₃係胡椒基；R₁₄係甲基苄基；R₁₅係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)且R₁₆係1-基-2-甲氧基乙基；

(b) R₉係1-基-正丁基胺；R₁₀係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)；R₁₁係1-基-正丁基胺；R₁₂係環己基；R₁₃係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₄係1-基-2,2-二甲基乙基(異丁基)；R₁₅係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)且R₁₆係甲基苄基；

(c) R₉係1-基-正丁基胺；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係胡椒基；R₁₂係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)；R₁₃係1-基-正丁基胺；R₁₄係甲基苄基；R₁₅係甲基苄基且R₁₆係環己基；

(d) R₉係胡椒基；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係異丁基；R₁₂係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)；R₁₃係甲基苄基；R₁₄係環己基；R₁₅係異丁基且R₁₆係1-基-正丁基胺；

(e) R₉係1-基-正丁基胺；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係甲基苄基；R₁₂係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₃係環己基；R₁₄係環己基；R₁₅係甲基苄基且R₁₆係胡椒基；

(f) R₉係胡椒基；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係異丙基；R₁₂係異丙基；R₁₃係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₄係環己基；R₁₅係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)且R₁₆係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)；

(g) R₉係1-基-正丁基胺；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係胡椒基；R₁₂係甲基苄基；R₁₃係胡椒基；R₁₄係甲基苄

基；R₁₅係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基且R₁₆係環己基；

(h) R₉係1-基-正丁基胺；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係甲基苄基；R₁₂係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₃係環己基；R₁₄係環己基；R₁₅係甲基苄基且R₁₆係胡椒基；

(i) R₉係1-基-正丁基胺；R₁₀係甲基苄基；R₁₁係甲基苄基；R₁₂係1-基-正丁基胺；R₁₃係1-基-正丁基胺；R¹⁴係環己基；R¹⁵係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基且R¹⁶係環己基；

(j) R₉係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基；R₁₀係甲基苄基；R₁₁係甲基苄基；R₁₂係環己基；R₁₃係1-基-正丁基胺；R₁₄係甲基苄基；R₁₅係異丁基且R₁₆係1-基-正丁基胺；

(k) R₉係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₀係異丁基；R₁₁係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基；R₁₂係胡椒基；R₁₃係1-基-正丁基胺；R₁₄係環己基；R₁₅係甲基苄基且R₁₆係1-基-2-甲氧基乙基；

(l) R₉係1-基-正丁基胺；R₁₀係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基；R₁₁係1-基-正丁基胺；R₁₂係環己基；R₁₃係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₄係異丁基；R₁₅係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基且R₁₆係甲基苄基；

(m) R₉係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係1-基-正丁基胺；R₁₂係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₃係甲基苄基；R₁₄係1-基-正丁基胺；R₁₅係糠基且R₁₆係糠基；

(n) R₉係環己基；R₁₀係環己基；R₁₁係1-基-正丁基胺；R₁₂係糠基；R₁₃係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₄係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₅係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基且R₁₆係糠

基；

(o) R_9 係 1-基-正丁基胺； R_{10} 係胡椒基； R_{11} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{12} 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{13} 係甲基苄基； R_{14} 係 1-基-正丁基胺； R_{15} 係 1-基-2-甲氧基乙基且 R_{16} 係甲基苄基；

(p) R_9 係環己基； R_{10} 係環己基； R_{11} 係胡椒基； R_{12} 係 1-基-正丁基胺； R_{13} 係 1-基-正丁基胺； R_{14} 係 1-基-正丁基胺； R_{15} 係 1-基-正丁基胺且 R_{16} 係異丁基；

(q) R_9 係胡椒基； R_{10} 係 1-基-正丁基胺； R_{11} 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{12} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{13} 係胡椒基； R_{14} 係 1-基-正丁基胺； R_{15} 係甲基苄基且 R_{16} 係甲基苄基；

(r) R_9 係甲基苄基； R_{10} 係甲基苄基； R_{11} 係甲基苄基； R_{12} 係 1-基-正丁基胺； R_{13} 係胡椒基； R_{14} 係 1-基-正丁基胺； R_{15} 係胡椒基且 R_{16} 係 1-基-正丁基胺；

(s) R_9 係 1-基-正丁基胺； R_{10} 係 1-基-正丁基胺； R_{11} 係甲基苄基； R_{12} 係 1-基-正丁基胺； R_{13} 係甲基苄基； R_{14} 係甲基苄基； R_{15} 係 1-基-2-甲氧基乙基且 R_{16} 係胡椒基；

(t) R_9 係甲基苄基； R_{10} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{11} 係 1-基-正丁基胺； R_{12} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{13} 係異丁基； R_{14} 係 1-基-正丁基胺； R_{15} 係甲基苄基且 R_{16} 係 1-基-2-甲氧基乙基；

(u) R_9 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{10} 係 1-基-正丁基胺； R_{11} 係異丁基； R_{12} 係異丁基； R_{13} 係環己基； R_{14} 係 1-基-

正丁基胺；R₁₅係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基且R₁₆係環己基；

(v) R₉係異丁基；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係1-基-正丁基胺；R₁₂係甲基苄基；R₁₃係1-基-正丁基胺；R₁₄係1-基-正丁基胺；R₁₅係胡椒基且R₁₆係胡椒基；

(w) R₉係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基；R₁₀係異丁基；R₁₁係甲基苄基；R₁₂係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₃係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基；R₁₄係異丁基；R₁₅係1-基-2-甲氧基乙基且R₁₆係環己基；

(x) R₉係糠基；R₁₀係糠基；R₁₁係胡椒基；R₁₂係環己基；R₁₃係胡椒基；R₁₄係1-基-正丁基胺；R₁₅係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基且R₁₆係環己基；

(y) R₉係胡椒基；R₁₀係胡椒基；R₁₁係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₂係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₃係1-基-正丁基胺；R₁₄係1-基-正丁基胺；R₁₅係1-基-正丁基胺且R₁₆係1-基-2-甲氧基乙基；

(z) R₉係胡椒基；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係異丁基；R₁₂係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基；R₁₃係甲基苄基；R₁₄係環己基；R₁₅係異丁基且R₁₆係1-基-正丁基胺；

(aa) R₉係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基；R₁₀係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基；R₁₁係甲基苄基；R₁₂係甲基苄基；R₁₃係1-基-正丁基胺；R₁₄係1-基-正丁基胺；R₁₅係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基且R₁₆係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基；

(bb) R₉係1-基-正丁基胺；R₁₀係1-基-2-甲氧基乙基；

R_{11} 係 1-基-正丁基胺； R_{12} 係異丁基； R_{13} 係環己基； R_{14} 係 1-基-正丁基胺； R_{15} 係 1-基-正丁基胺且 R_{16} 係胡椒基；

(cc) R_9 係環己基； R_{10} 係甲基苄基； R_{11} 係環己基； R_{12} 係胡椒基； R_{13} 係 1-基-正丁基胺； R_{14} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{15} 係 1-基-正丁基胺且 R_{16} 係 1-基-2-甲氧基乙基；

(dd) R_9 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{10} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{11} 係 1-基-正丁基胺； R_{12} 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{13} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{14} 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{15} 係異丁基且 R_{16} 係環己基；

(ee) R_9 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{10} 係甲基苄基； R_{11} 係 1-基-正丁基胺； R_{12} 係 1-基-正丁基胺； R_{13} 係胡椒基； R_{14} 係異丁基； R_{15} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)且 R_{16} 係 1-基-正丁基胺；

(ff) R_9 係 1-基-正丁基胺； R_{10} 係甲基苄基； R_{11} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{12} 係甲基苄基； R_{13} 係 1-基-正丁基胺； R_{14} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{15} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)且 R_{16} 係環己基；

(gg) R_9 係 1-基-正丁基胺； R_{10} 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{11} 係 1-基-正丁基胺； R_{12} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{13} 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{14} 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{15} 係 1-基-正丁基胺且 R_{16} 係甲基苄基；

(hh) R_9 係環己基； R_{10} 係環己基； R_{11} 係甲基苄基； R_{12} 係 1-基-正丁基胺； R_{13} 係甲基苄基； R_{14} 係環己基； R_{15} 係

甲基苄基且 R_{16} 係 1-基-正丁基胺；

(ii) R_9 係 1-基-正丁基胺； R_{10} 係糠基； R_{11} 係甲基苄基； R_{12} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{13} 係糠基； R_{14} 係環己基； R_{15} 係甲基苄基且 R_{16} 係環己基；

(jj) R_9 係 1-基-正丁基胺； R_{10} 係甲基苄基； R_{11} 係 1-基-正丁基胺； R_{12} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{13} 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{14} 係甲基苄基； R_{15} 係 1-基-2-甲氧基乙基且 R_{16} 係異丁基；

(kk) R_9 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{10} 係 1-基-正丁基胺； R_{11} 係 1-基-正丁基胺； R_{12} 係甲基苄基； R_{13} 係甲基苄基； R_{14} 係環己基； R_{15} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)且 R_{16} 係甲基苄基；

(ll) R_9 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{10} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{11} 係 1-基-正丁基胺； R_{12} 係 1-基-正丁基胺； R_{13} 係甲基苄基； R_{14} 係 1-基-正丁基胺； R_{15} 係甲基苄基且 R_{16} 係 1-基-正丁基胺；

(mm) R_9 係 1-基-正丁基胺； R_{10} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{11} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{12} 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{13} 係 1-基-正丁基胺； R_{14} 係環己基； R_{15} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)且 R_{16} 係甲基苄基；

(nn) R_9 係 1-基-正丁基胺； R_{10} 係 1-基-正丁基胺； R_{11} 係胡椒基； R_{12} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{13} 係 1-基-正丁基胺； R_{14} 係甲基苄基； R_{15} 係甲基苄基且 R_{16} 係環己基；

(oo) R_9 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{10} 係 甲基苄基；
 R_{11} 係 甲基苄基； R_{12} 係 1-基-正丁基胺； R_{13} 係 甲基苄基；
 R_{14} 係 胡椒基； R_{15} 係 1-基-正丁基胺 且 R_{16} 係 1-基-2-甲氧基乙基；

(pp) R_9 係 胡椒基； R_{10} 係 1-基-正丁基胺； R_{11} 係 1-基-正丁基胺；
 R_{12} 係 甲基胺； R_{13} 係 胡椒基； R_{14} 係 1-基-正丁基胺；
 R_{15} 係 胡椒基 且 R_{16} 係 1-基-2-甲氧基乙基；

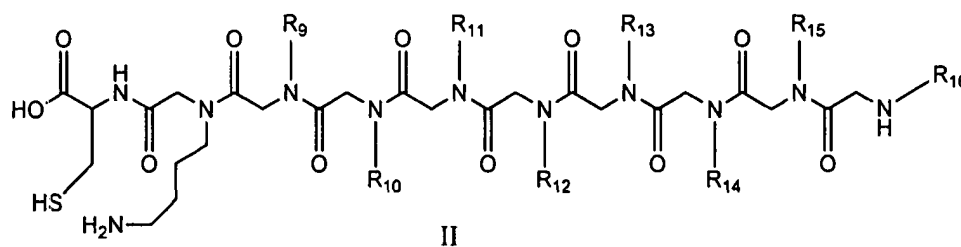
(qq) R_9 係 環己基； R_{10} 係 環己基； R_{11} 係 糠基； R_{12} 係 1-基-2-甲氧基乙基；
 R_{13} 係 異丁基； R_{14} 係 環己基； R_{15} 係 甲基苄基 且 R_{16} 係 甲基苄基；

(rr) R_9 係 胡椒基； R_{10} 係 1-基-正丁基胺； R_{11} 係 異丁基；
 R_{12} 係 異丁基； R_{13} 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{14} 係 環己基；
 R_{15} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基) 且 R_{16} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)；

(ss) R_9 係 環己基； R_{10} 係 環己基； R_{11} 係 1-基-正丁基胺；
 R_{12} 係 甲基苄基； R_{13} 係 1-基-正丁基胺； R_{14} 係 甲基苄基；
 R_{15} 係 環己基 且 R_{16} 係 胡椒基；

及其醫藥上可接受之鹽。

16. 如請求項 1 之方法，其中該庫包含下式之化合物：



其中該化合物係選自由式 II 化合物組成之群，其中，

(a) R₉係正丁基胺；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係胡椒基；R₁₂係甲基苄基；R₁₃係胡椒基；R₁₄係甲基苄基；R₁₅係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基且R₁₆係1-基-2-甲氧基乙基；

(b) R₉係1-基-正丁基胺；R₁₀係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基；R₁₁係1-基-正丁基胺；R₁₂係環己基；R₁₃係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₄係1-基-2,2-二甲基乙基(異丁基)；R₁₅係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基且R₁₆係甲基苄基；

(c) R₉係1-基-正丁基胺；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係胡椒基；R₁₂係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基；R₁₃係1-基-正丁基胺；R₁₄係甲基苄基；R₁₅係甲基苄基且R₁₆係環己基；

(d) R₉係胡椒基；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係異丁基；R₁₂係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基；R₁₃係甲基苄基；R₁₄係環己基；R₁₅係異丁基且R₁₆係1-基-正丁基胺；

(e) R₉係1-基-正丁基胺；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係甲基苄基；R₁₂係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₃係環己基；R₁₄係環己基；R₁₅係甲基苄基且R₁₆係胡椒基；

(f) R₉係胡椒基；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係異丙基；R₁₂係異丙基；R₁₃係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₄係環己基；R₁₅係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基且R₁₆係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基；

(g) R₉係1-基-正丁基胺；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係胡椒基；R₁₂係甲基苄基；R₁₃係胡椒基；R₁₄係甲基苄基；R₁₅係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基且R₁₆係環己基；

(h) R_9 係 1-基-正丁基胺； R_{10} 係 1-基-正丁基胺； R_{11} 係 甲基苄基； R_{12} 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{13} 係 環己基； R_{14} 係 環己基； R_{15} 係 甲基苄基 且 R_{16} 係 胡椒基；

(i) R_9 係 1-基-正丁基胺； R_{10} 係 甲基苄基； R_{11} 係 甲基苄基； R_{12} 係 1-基-正丁基胺； R_{13} 係 1-基-正丁基胺； R_{14} 係 環己基； R_{15} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基) 且 R_{16} 係 環己基；

(j) R_9 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{10} 係 甲基苄基； R_{11} 係 甲基苄基； R_{12} 係 環己基； R_{13} 係 1-基-正丁基胺； R_{14} 係 甲基苄基； R_{15} 係 異丁基 且 R_{16} 係 1-基-正丁基胺；

(k) R_9 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{10} 係 異丁基； R_{11} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{12} 係 胡椒基； R_{13} 係 1-基-正丁基胺； R_{14} 係 環己基； R_{15} 係 甲基苄基 且 R_{16} 係 1-基-2-甲氧基乙基；

(l) R_9 係 1-基-正丁基胺； R_{10} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{11} 係 1-基-正丁基胺； R_{12} 係 環己基； R_{13} 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{14} 係 異丁基； R_{15} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基) 且 R_{16} 係 甲基苄基；

(m) R_9 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{10} 係 1-基-正丁基胺； R_{11} 係 1-基-正丁基胺； R_{12} 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{13} 係 甲基苄基； R_{14} 係 1-基-正丁基胺； R_{15} 係 糠基 且 R_{16} 係 糠基；

(n) R_9 係 環己基； R_{10} 係 環己基； R_{11} 係 1-基-正丁基胺； R_{12} 係 糠基； R_{13} 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{14} 係 1-基-2-甲氧基乙基； R_{15} 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基) 且 R_{16} 係 糠基；

(o) R₉係1-基-正丁基胺；R₁₀係胡椒基；R₁₁係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基；R₁₂係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₃係甲基苄基；R₁₄係1-基-正丁基胺；R₁₅係1-基-2-甲氧基乙基且R₁₆係甲基苄基；

(p) R₉係環己基；R₁₀係環己基；R₁₁係胡椒基；R₁₂係1-基-正丁基胺；R₁₃係1-基-正丁基胺；R₁₄係1-基-正丁基胺；R₁₅係1-基-正丁基胺且R₁₆係異丁基；

(q) R₉係胡椒基；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₂係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基；R₁₃係胡椒基；R₁₄係1-基-正丁基胺；R₁₅係甲基苄基且R₁₆係甲基苄基；

(r) R₉係甲基苄基；R₁₀係甲基苄基；R₁₁係甲基苄基；R₁₂係1-基-正丁基胺；R₁₃係胡椒基；R₁₄係1-基-正丁基胺；R₁₅係胡椒基且R₁₆係1-基-正丁基胺；

(s) R₉係1-基-正丁基胺；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係甲基苄基；R₁₂係1-基-正丁基胺；R₁₃係甲基苄基；R₁₄係甲基苄基；R₁₅係1-基-2-甲氧基乙基且R₁₆係胡椒基；

(t) R₉係甲基苄基；R₁₀係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基；R₁₁係1-基-正丁基胺；R₁₂係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基；R₁₃係異丁基；R₁₄係1-基-正丁基胺；R₁₅係甲基苄基且R₁₆係1-基-2-甲氧基乙基；

(u) R₉係1-基-2-甲氧基乙基；R₁₀係1-基-正丁基胺；R₁₁係異丁基；R₁₂係異丁基；R₁₃係環己基；R₁₄係1-基-正丁基胺；R₁₅係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基且R₁₆係環己

基；

(v) R_9 係異丁基； R_{10} 係1-基-正丁基胺； R_{11} 係1-基-正丁基胺； R_{12} 係甲基苄基； R_{13} 係1-基-正丁基胺； R_{14} 係1-基-正丁基胺； R_{15} 係胡椒基且 R_{16} 係胡椒基；

(w) R_9 係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{10} 係異丁基； R_{11} 係甲基苄基； R_{12} 係1-基-2-甲氧基乙基； R_{13} 係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{14} 係異丁基； R_{15} 係1-基-2-甲氧基乙基且 R_{16} 係環己基；

(x) R_9 係糠基； R_{10} 係糠基； R_{11} 係胡椒基； R_{12} 係環己基； R_{13} 係胡椒基； R_{14} 係1-基-正丁基胺； R_{15} 係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)且 R_{16} 係環己基；

(y) R_9 係胡椒基； R_{10} 係胡椒基； R_{11} 係1-基-2-甲氧基乙基； R_{12} 係1-基-2-甲氧基乙基； R_{13} 係1-基-正丁基胺； R_{14} 係1-基-正丁基胺； R_{15} 係1-基-正丁基胺且 R_{16} 係1-基-2-甲氧基乙基；

(z) R_9 係胡椒基； R_{10} 係1-基-正丁基胺； R_{11} 係異丁基； R_{12} 係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{13} 係甲基苄基； R_{14} 係環己基； R_{15} 係異丁基且 R_{16} 係1-基-正丁基胺；

(aa) R_9 係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{10} 係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{11} 係甲基苄基； R_{12} 係甲基苄基； R_{13} 係1-基-正丁基胺； R_{14} 係1-基-正丁基胺； R_{15} 係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)且 R_{16} 係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)；

(bb) R_9 係1-基-正丁基胺； R_{10} 係1-基-2-甲氧基乙基； R_{11} 係1-基-正丁基胺； R_{12} 係異丁基； R_{13} 係環己基； R_{14}

係1-基-正丁基胺； R_{15} 係1-基-正丁基胺且 R_{16} 係胡椒基；

(cc) R_9 係環己基； R_{10} 係甲基苄基； R_{11} 係環己基； R_{12} 係胡椒基； R_{13} 係1-基-正丁基胺； R_{14} 係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{15} 係1-基-正丁基胺且 R_{16} 係1-基-2-甲氧基乙基；

(dd) R_9 係1-基-2-甲氧基乙基； R_{10} 係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{11} 係1-基-正丁基胺； R_{12} 係1-基-2-甲氧基乙基； R_{13} 係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{14} 係1-基-2-甲氧基乙基； R_{15} 係異丁基且 R_{16} 係環己基；

(ee) R_9 係1-基-2-甲氧基乙基； R_{10} 係甲基苄基； R_{11} 係1-基-正丁基胺； R_{12} 係1-基-正丁基胺； R_{13} 係胡椒基； R_{14} 係異丁基； R_{15} 係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)且 R_{16} 係1-基-正丁基胺；

(ff) R_9 係1-基-正丁基胺； R_{10} 係甲基苄基； R_{11} 係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{12} 係甲基苄基； R_{13} 係1-基-正丁基胺； R_{14} 係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{15} 係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)且 R_{16} 係環己基；

(gg) R_9 係1-基-正丁基胺； R_{10} 係1-基-2-甲氧基乙基； R_{11} 係1-基-正丁基胺； R_{12} 係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)； R_{13} 係1-基-2-甲氧基乙基； R_{14} 係1-基-2-甲氧基乙基； R_{15} 係1-基-正丁基胺且 R_{16} 係甲基苄基；

(hh) R_9 係環己基； R_{10} 係環己基； R_{11} 係甲基苄基； R_{12} 係1-基-正丁基胺； R_{13} 係甲基苄基； R_{14} 係環己基； R_{15} 係甲基苄基且 R_{16} 係1-基-正丁基胺；

(ii) R₉ 係 1-基-正丁基胺；R₁₀ 係 糠基；R₁₁ 係 甲基苄基；R₁₂ 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)；R₁₃ 係 糠基；R₁₄ 係 環己基；R₁₅ 係 甲基苄基且 R₁₆ 係 環己基；

(jj) R₉ 係 1-基-正丁基胺；R₁₀ 係 甲基苄基；R₁₁ 係 1-基-正丁基胺；R₁₂ 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)；R₁₃ 係 1-基-2-甲氧基乙基；R₁₄ 係 甲基苄基；R₁₅ 係 1-基-2-甲氧基乙基且 R₁₆ 係 異丁基；

(kk) R₉ 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)；R₁₀ 係 1-基-正丁基胺；R₁₁ 係 1-基-正丁基胺；R₁₂ 係 甲基苄基；R₁₃ 係 甲基苄基；R₁₄ 係 環己基；R₁₅ 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)且 R₁₆ 係 甲基苄基；

(ll) R₉ 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)；R₁₀ 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)；R₁₁ 係 1-基-正丁基胺；R₁₂ 係 1-基-正丁基胺；R₁₃ 係 甲基苄基；R₁₄ 係 1-基-正丁基胺；R₁₅ 係 甲基苄基且 R₁₆ 係 1-基-正丁基胺；

(mm) R₉ 係 1-基-正丁基胺；R₁₀ 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)；R₁₁ 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)；R₁₂ 係 1-基-2-甲氧基乙基；R₁₃ 係 1-基-正丁基胺；R₁₄ 係 環己基；R₁₅ 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)且 R₁₆ 係 甲基苄基；

(nn) R₉ 係 1-基-正丁基胺；R₁₀ 係 1-基-正丁基胺；R₁₁ 係 胡椒基；R₁₂ 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)；R₁₃ 係 1-基-正丁基胺；R₁₄ 係 甲基苄基；R₁₅ 係 甲基苄基且 R₁₆ 係 環己基；

(oo) R₉ 係 1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)；R₁₀ 係 甲基苄基；

R_{11} 係甲基苄基； R_{12} 係1-基-正丁基胺； R_{13} 係甲基苄基；
 R_{14} 係胡椒基； R_{15} 係1-基-正丁基胺且 R_{16} 係1-基-2-甲氧基乙基；

(pp) R_9 係胡椒基； R_{10} 係1-基-正丁基胺； R_{11} 係1-基-正丁基胺； R_{12} 係甲基胺； R_{13} 係胡椒基； R_{14} 係1-基-正丁基胺； R_{15} 係胡椒基且 R_{16} 係1-基-2-甲氧基乙基；

(qq) R_9 係環己基； R_{10} 係環己基； R_{11} 係糠基； R_{12} 係1-基-2-甲氧基乙基； R_{13} 係異丁基； R_{14} 係環己基； R_{15} 係甲基苄基且 R_{16} 係甲基苄基；

(rr) R_9 係胡椒基； R_{10} 係1-基-正丁基胺； R_{11} 係異丁基； R_{12} 係異丁基； R_{13} 係1-基-2-甲氧基乙基； R_{14} 係環己基； R_{15} 係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)且 R_{16} 係1-基-2-(4(苯磺醯胺)乙基)；

(ss) R_9 係環己基； R_{10} 係環己基； R_{11} 係1-基-正丁基胺； R_{12} 係甲基苄基； R_{13} 係1-基-正丁基胺； R_{14} 係甲基苄基； R_{15} 係環己基且 R_{16} 係胡椒基；

及其醫藥上可接受之鹽。

17. 如請求項1之方法，其中該配位體庫係基於珠粒之配位體庫，其包含多數珠粒，具有配位體結合至該等珠粒。
18. 如請求項1之方法，其中藉由陣列實施該篩選。
19. 如請求項18之方法，其中該陣列係微陣列、顯微鏡載玻片、板、晶片或珠粒群體。
20. 如請求項18之方法，其中該陣列包含具有表面之固體基材；多數配位體結合至該基材，各配位體包含穩定結合

至該基材表面之錨區段、類肽區段及連接並分離該錨區段與類肽區段之連接體區段。

21. 如請求項18之方法，其中該陣列包含介於約1000個與100,000個之間之不同配位體。

八、圖式：

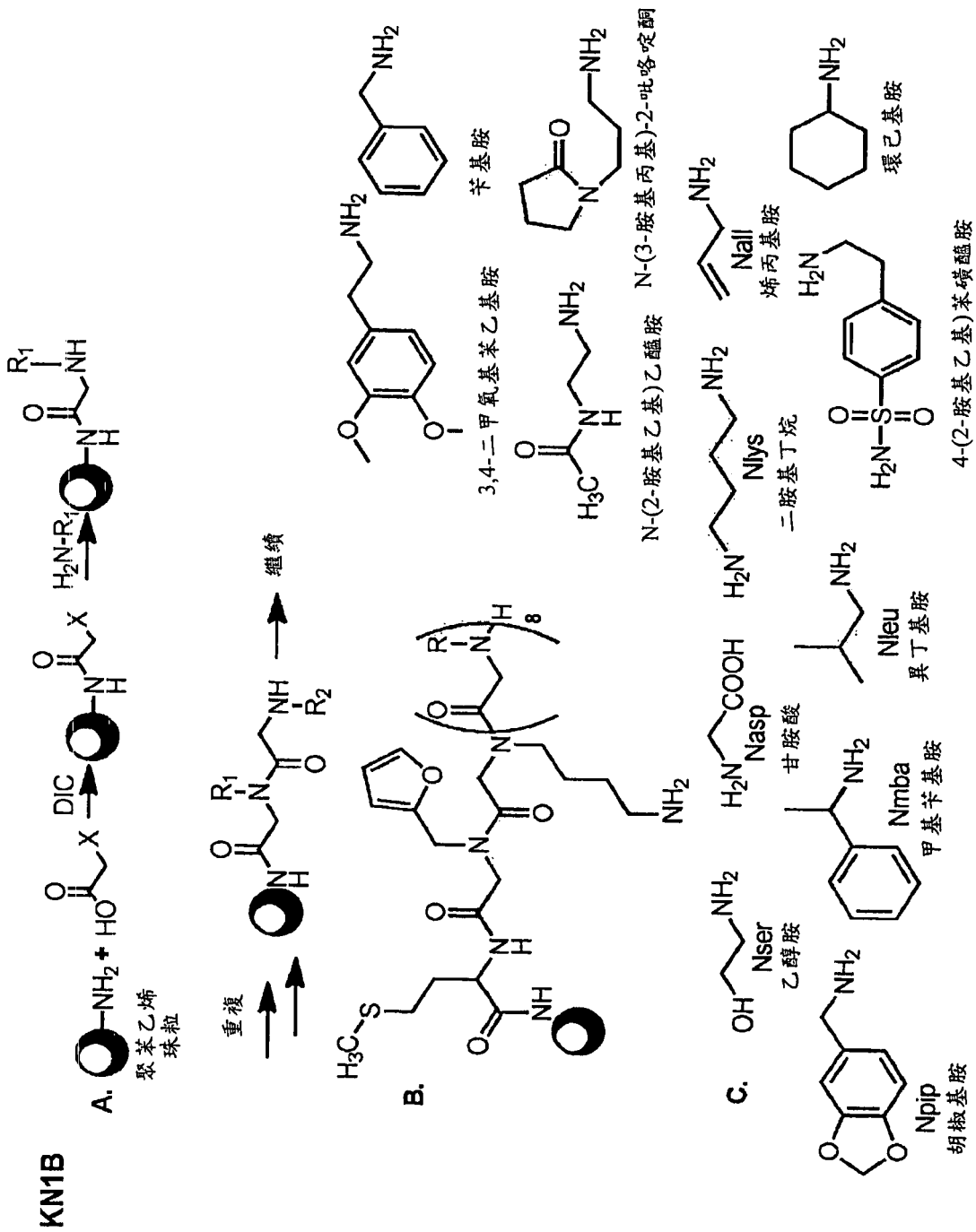


圖 1

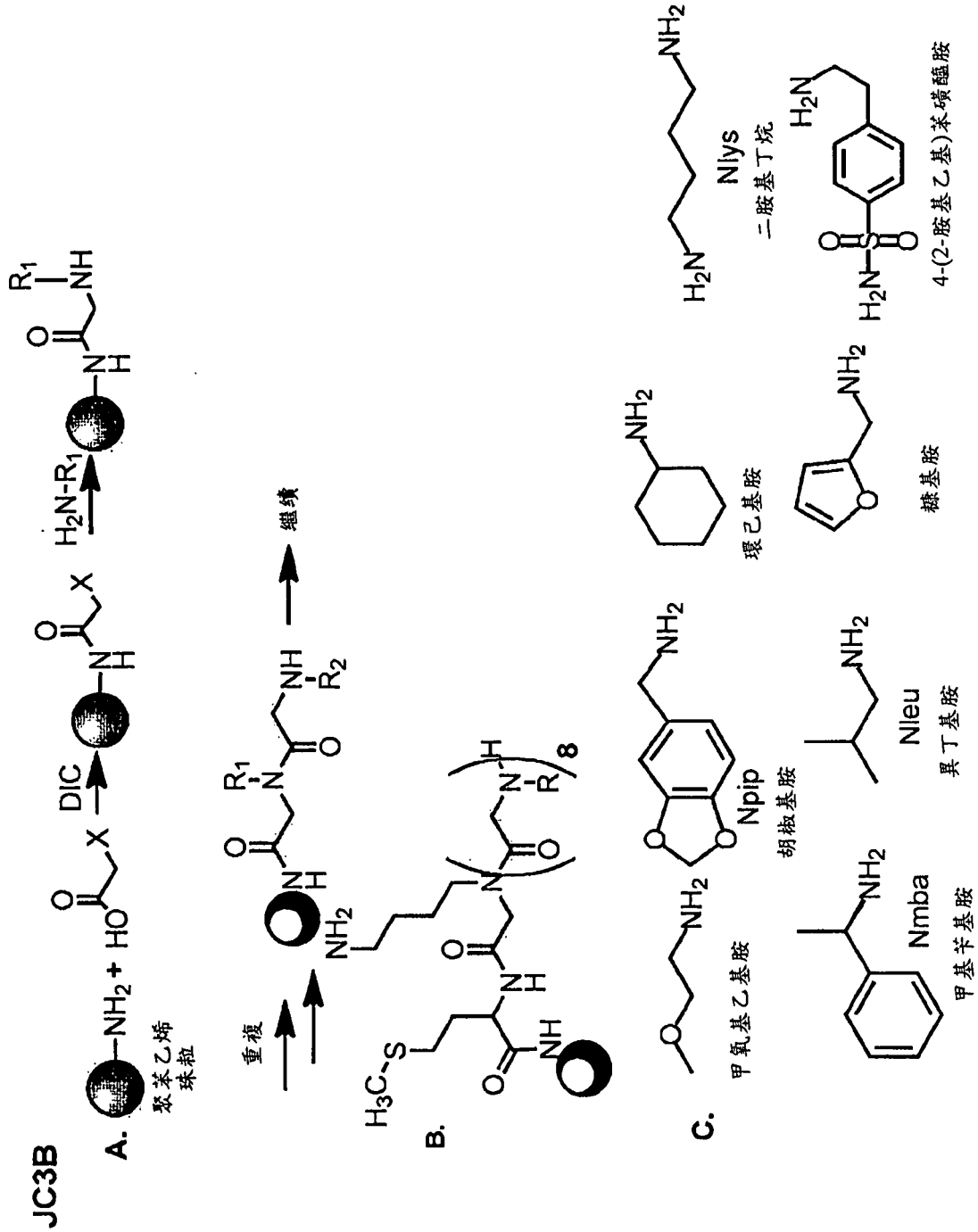


圖2

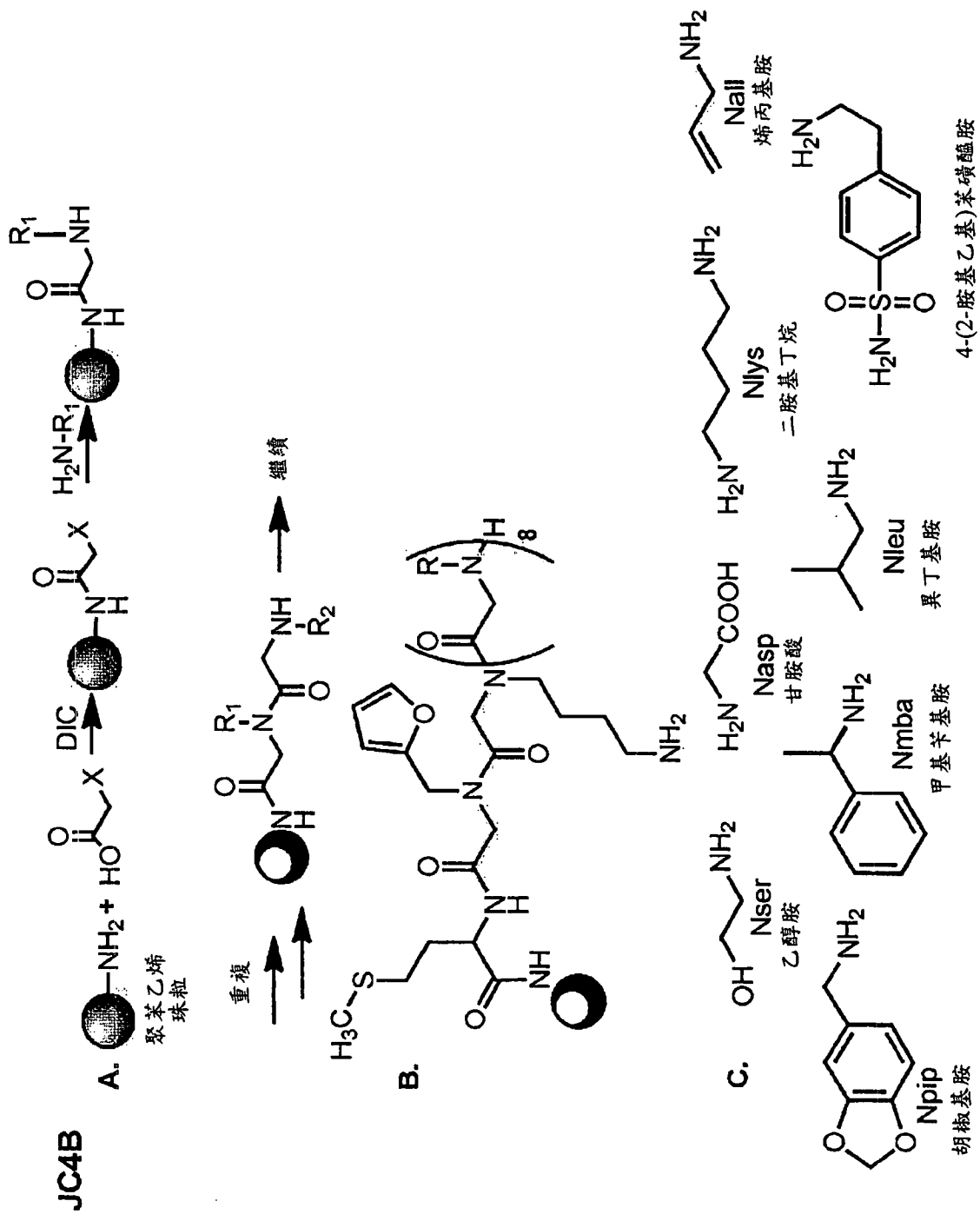


圖3

JC5B

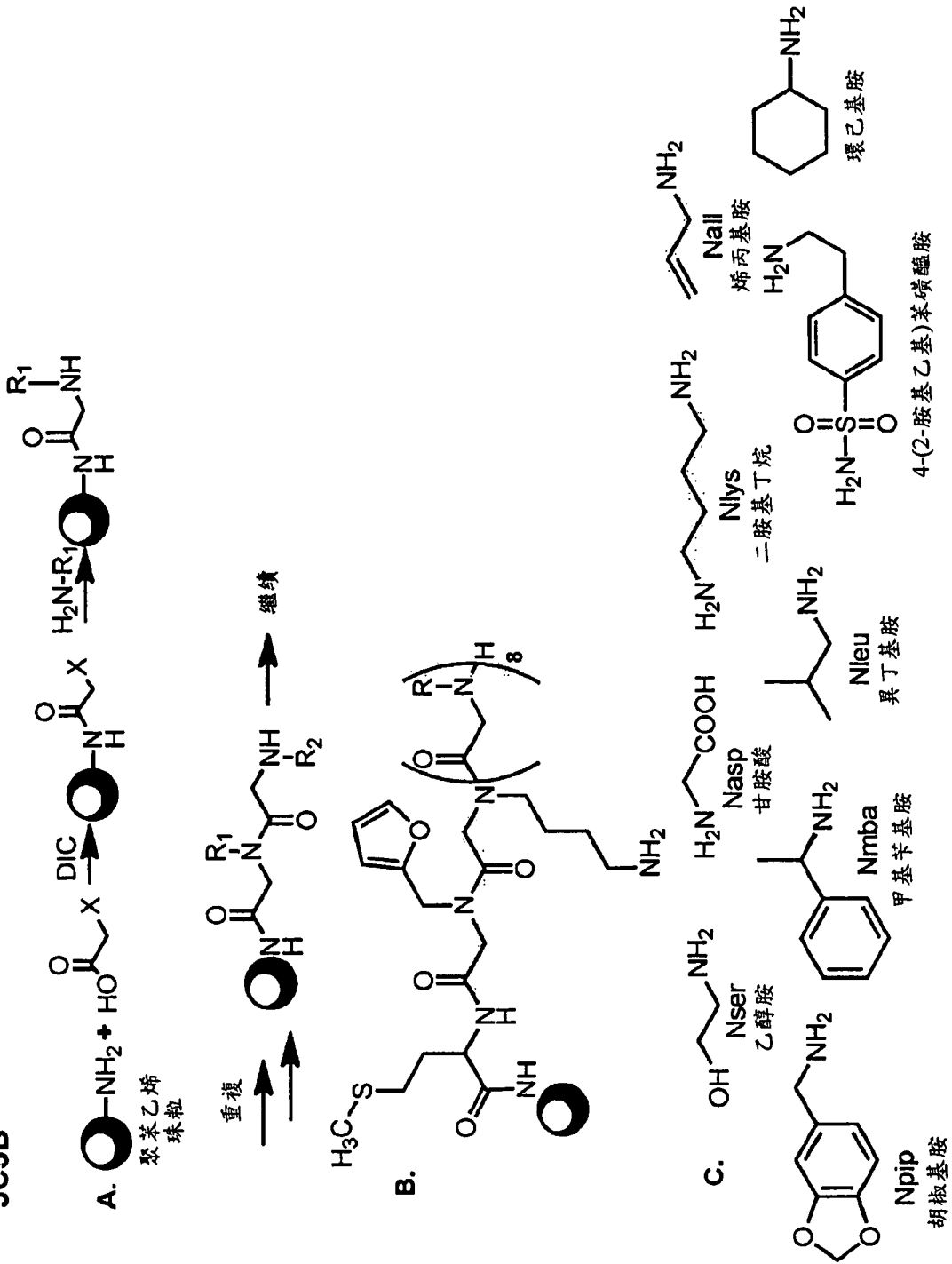


圖4

JC7B

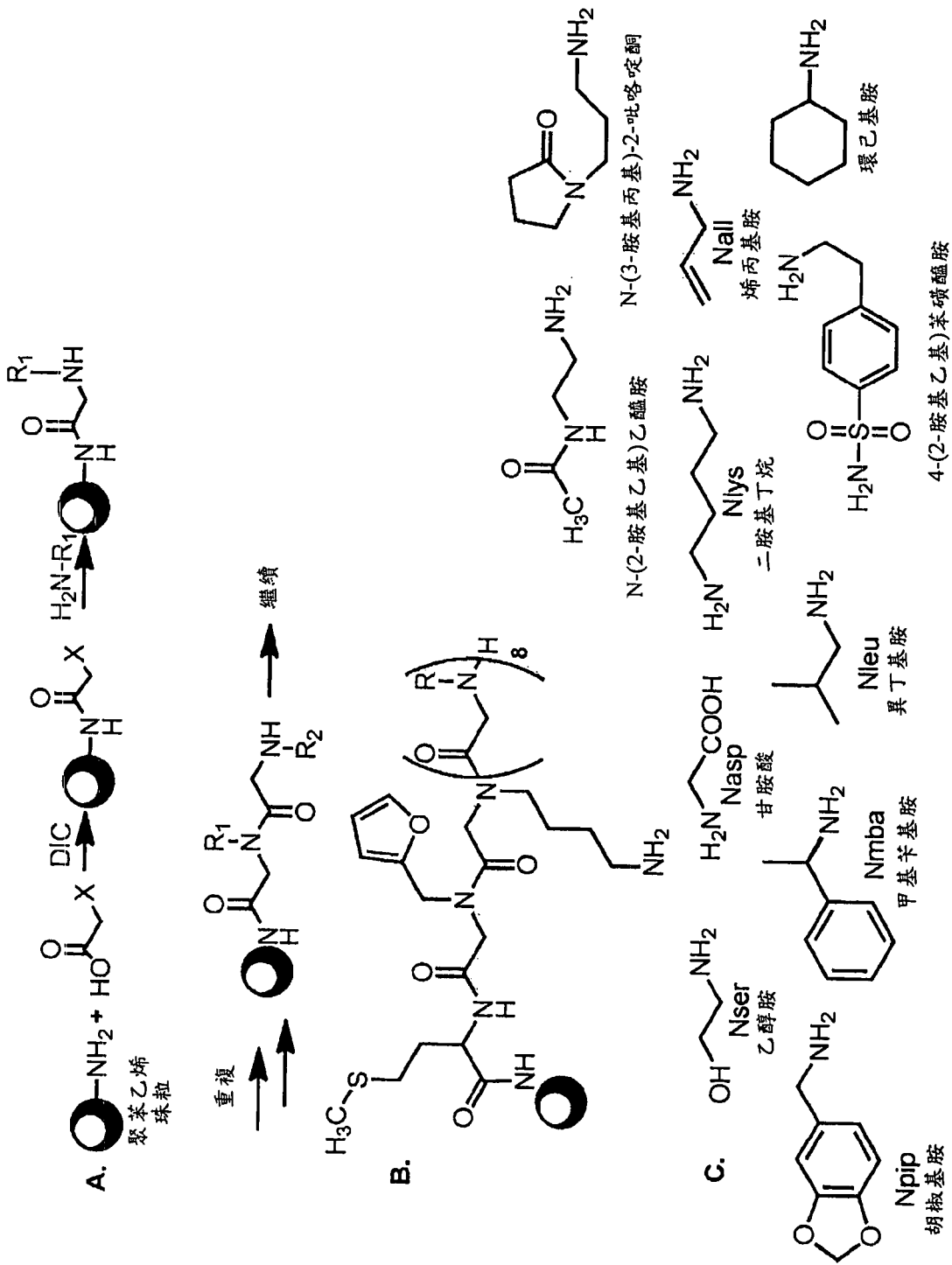


圖5

TentaGel 篩選流程圖

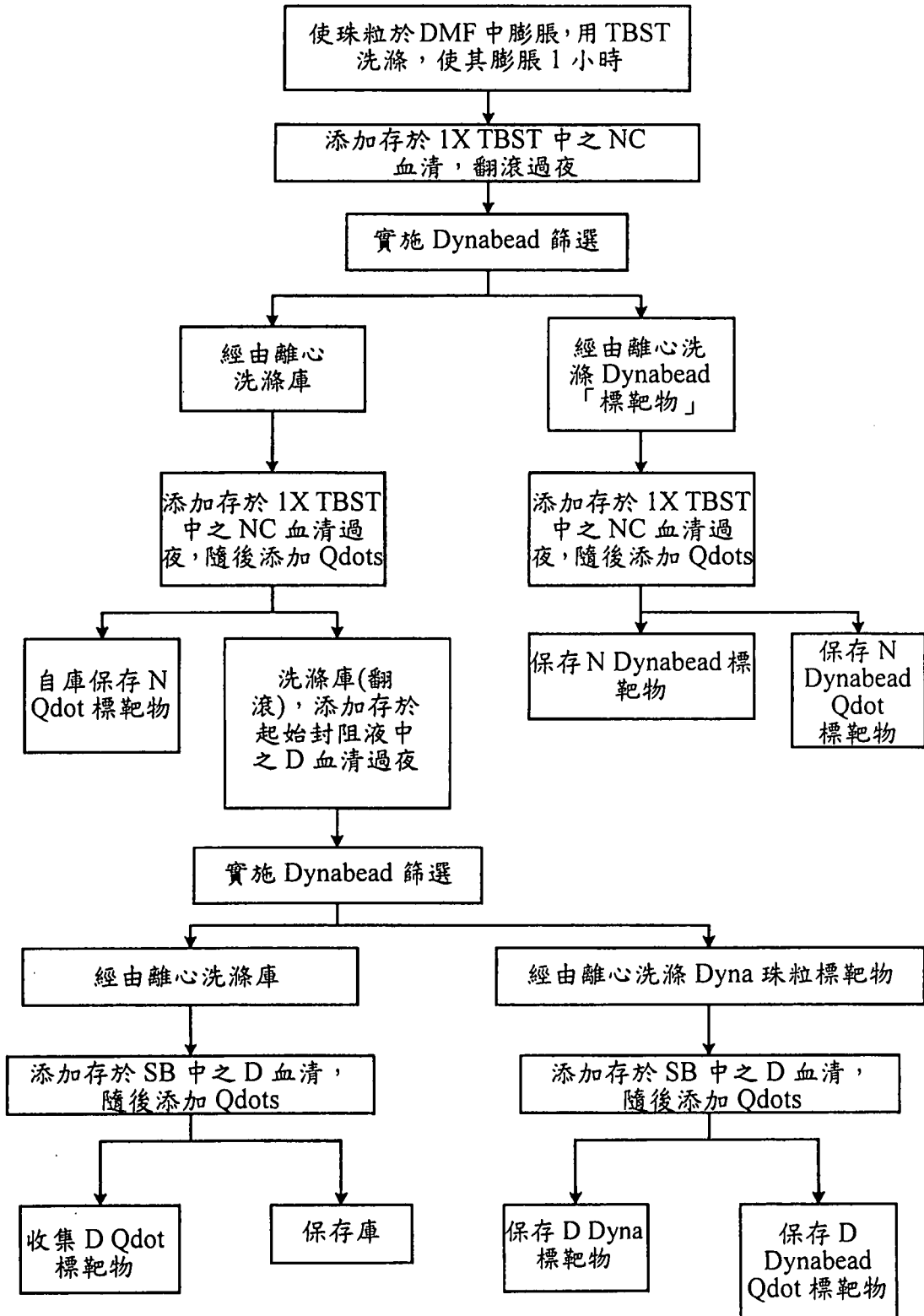
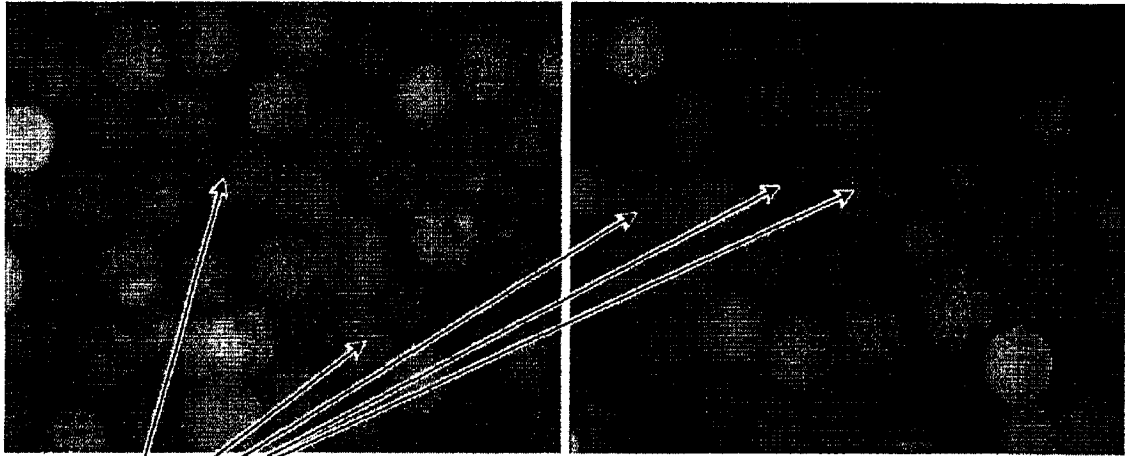


圖6

Qdot 添加後之 JC3B 庫 NC Dynabead 標靶物



挑揀「標靶物」

圖 7

利用患病血清篩選之 TentaGel 庫

挑揀「標靶物」

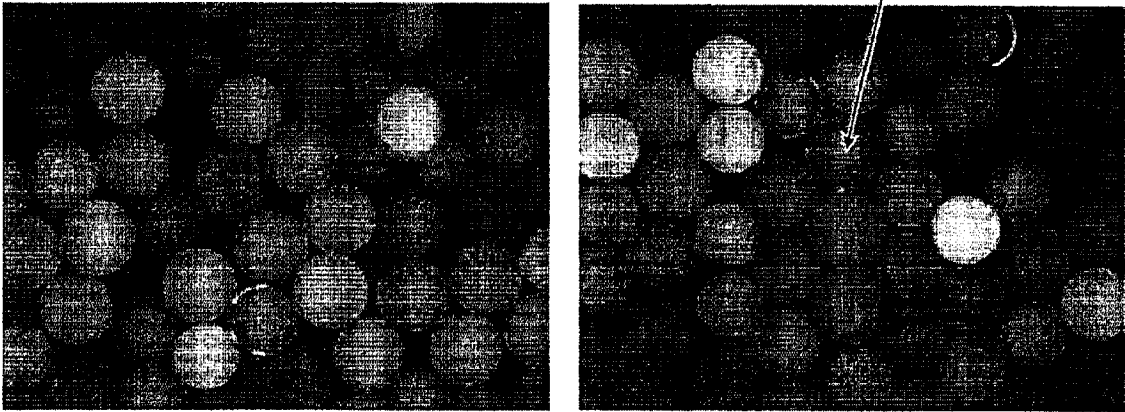
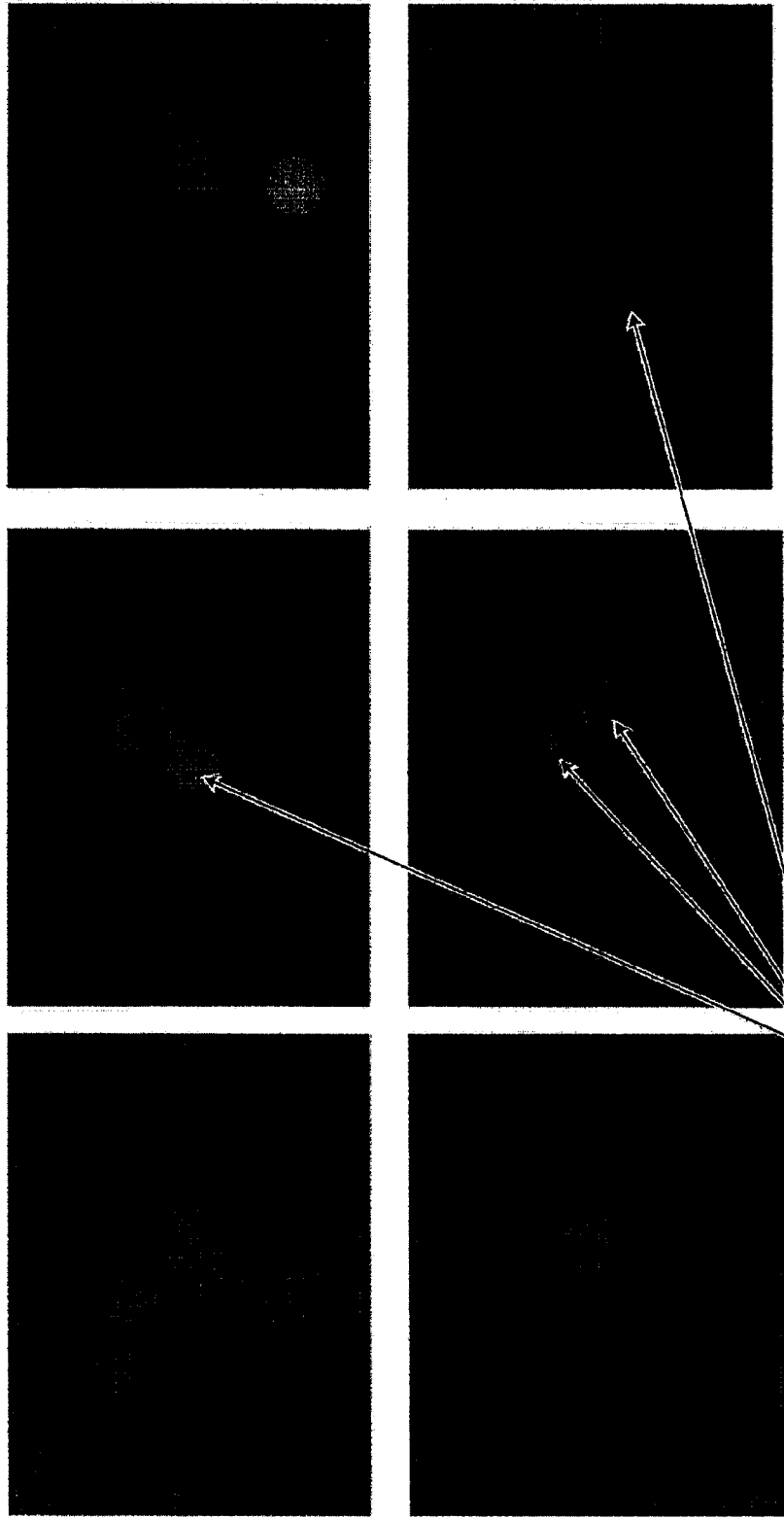


圖 8

重現性測試(SDS 洗滌及 Qdot 添加之後之 NC 試樣 030093)



經挑揀以測序

圖9

重現性測試(SDS 洗滌及 Qdot 添加之後之 NC 試樣 050047)

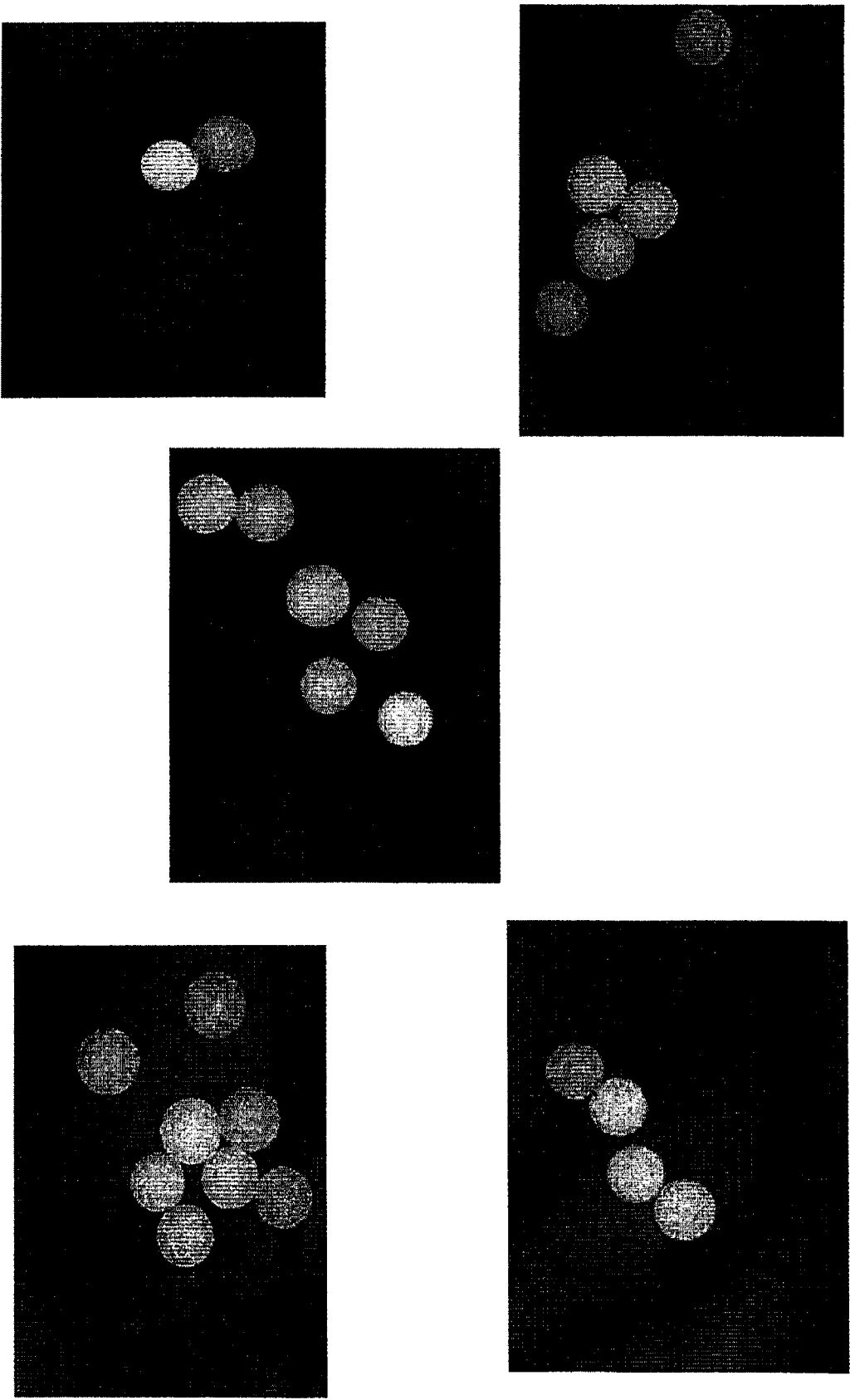
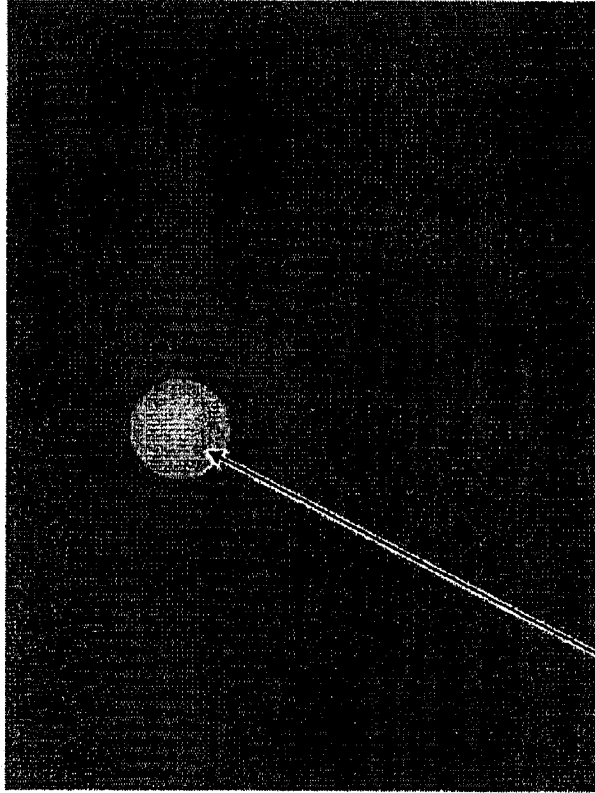
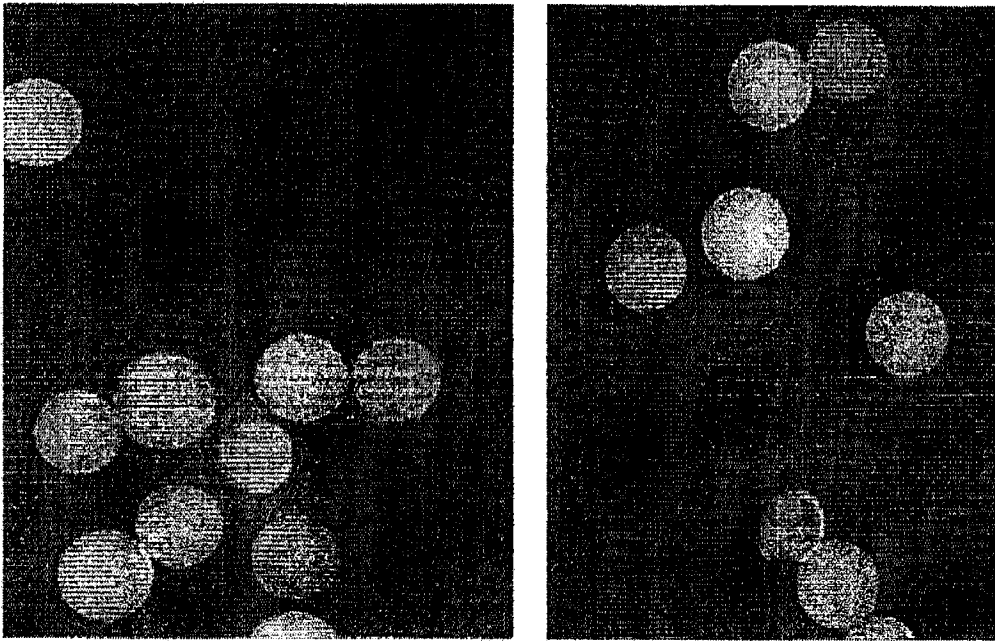


圖10

重現性測試(SDS 洗滌及 Qdot 添加之後之患病試樣)



下次血清添
加/SDS 洗滌
之前移除

圖11

所選推定標靶
物之化學結構

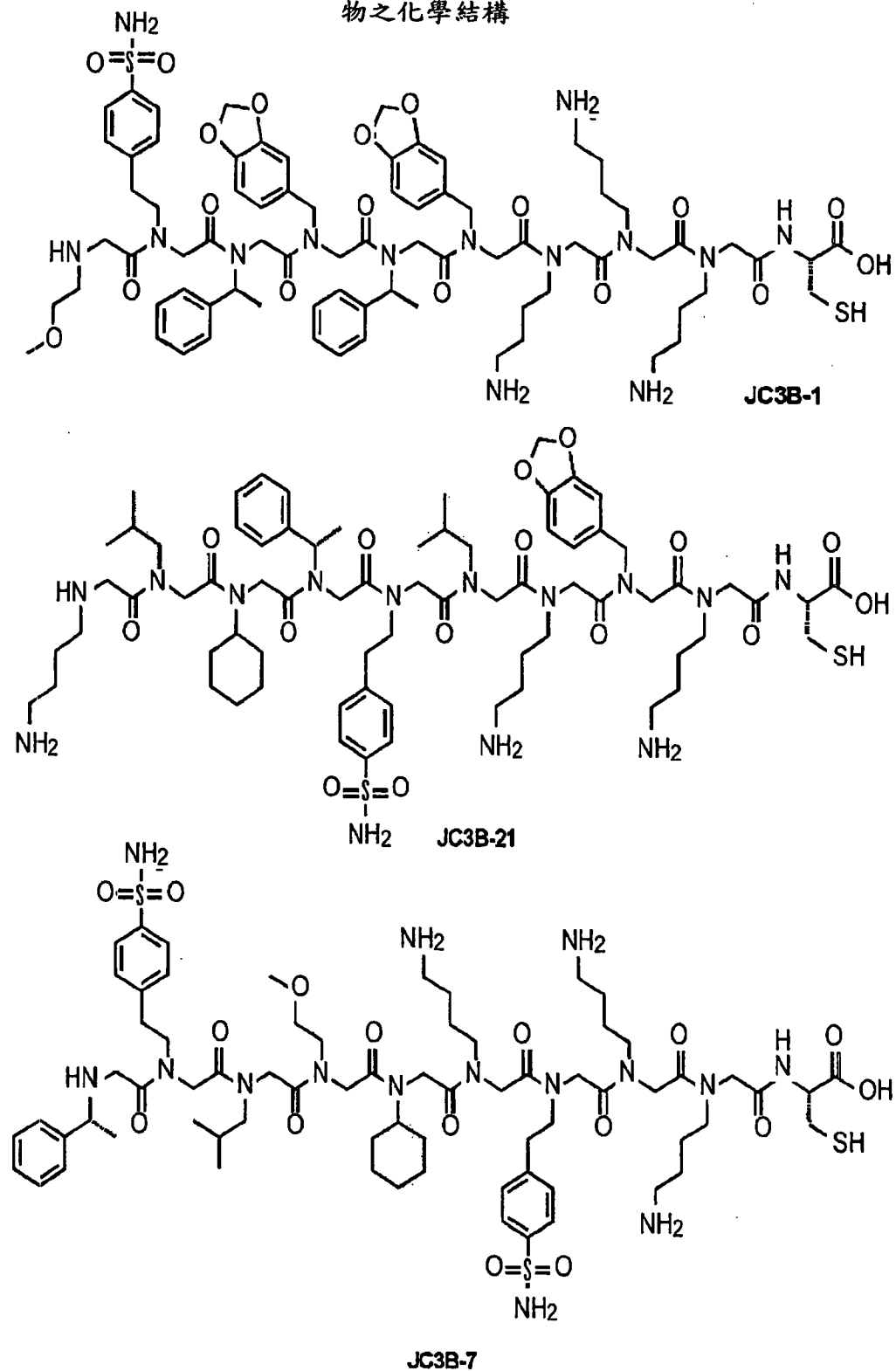
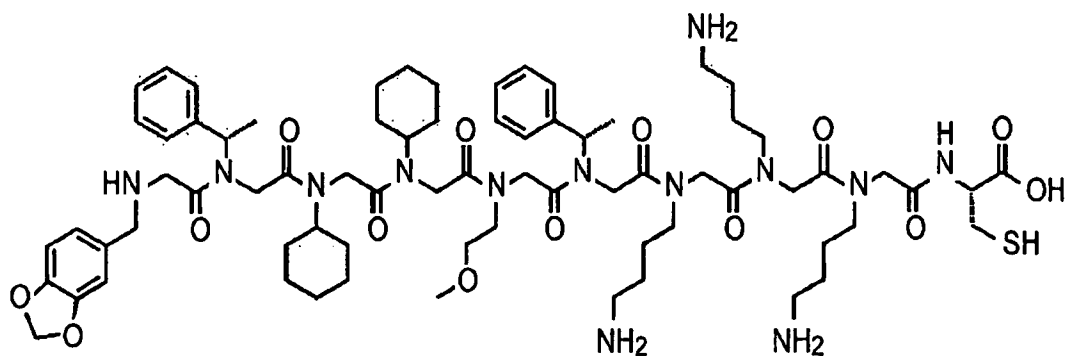
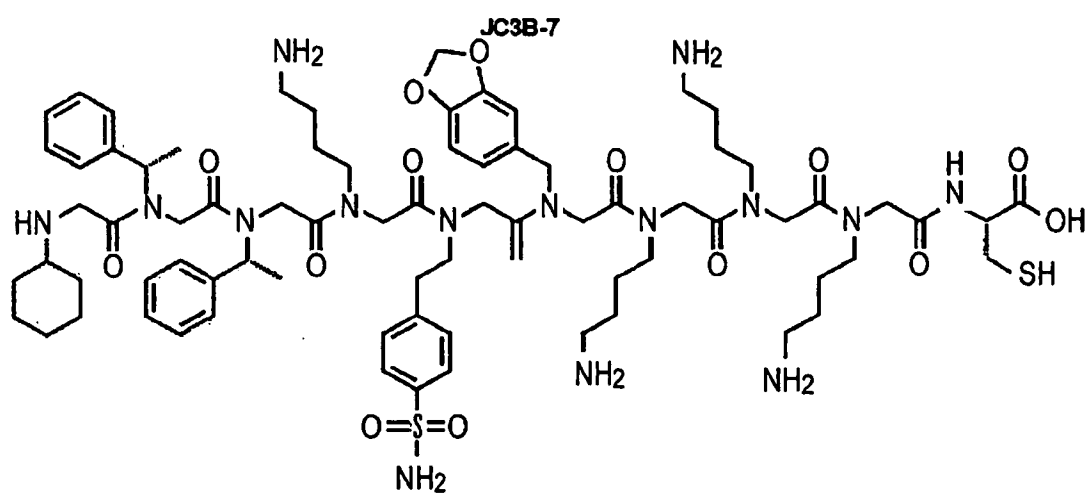


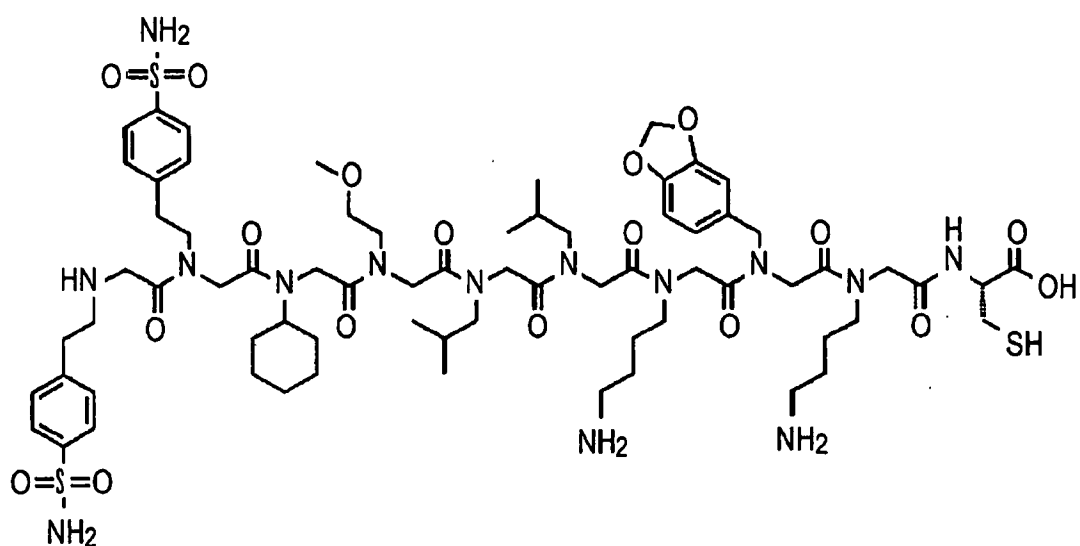
圖 13A



JC3B-3



JC3B-R8



JC3B-R12

圖 13B

競争實驗

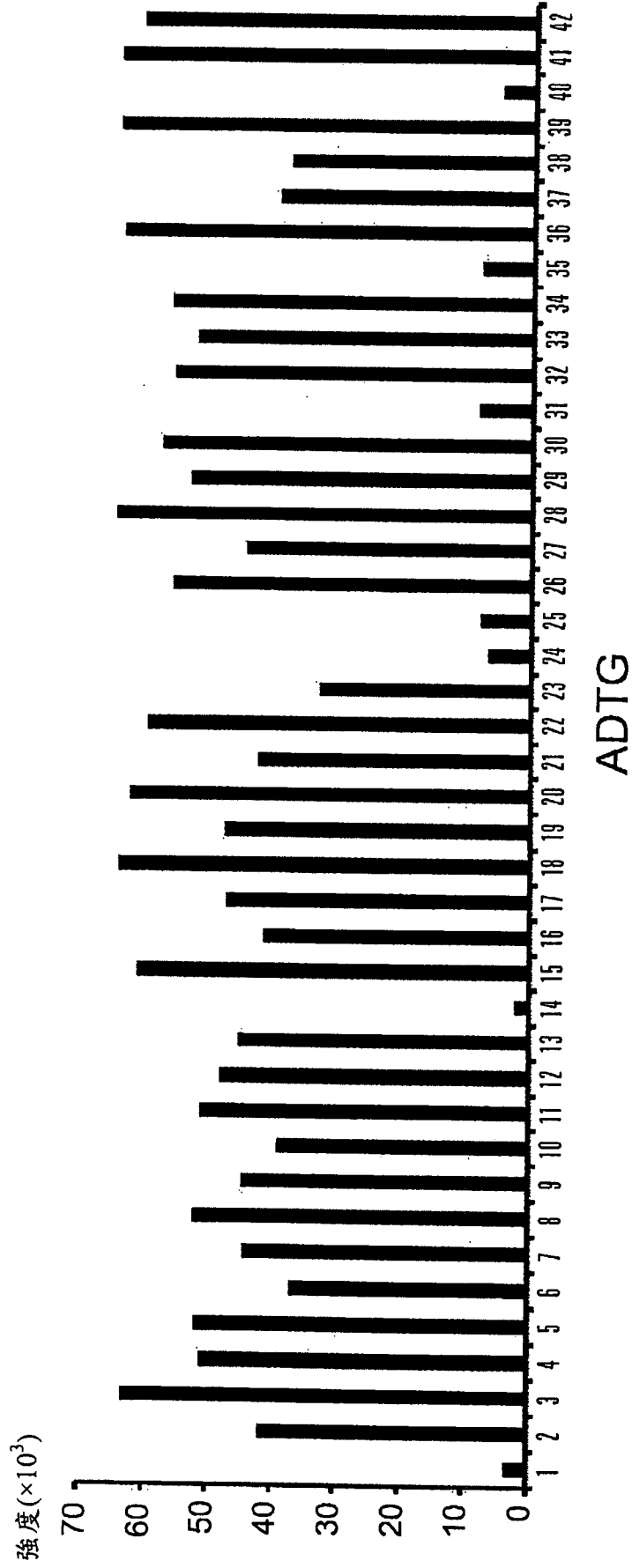


圖14

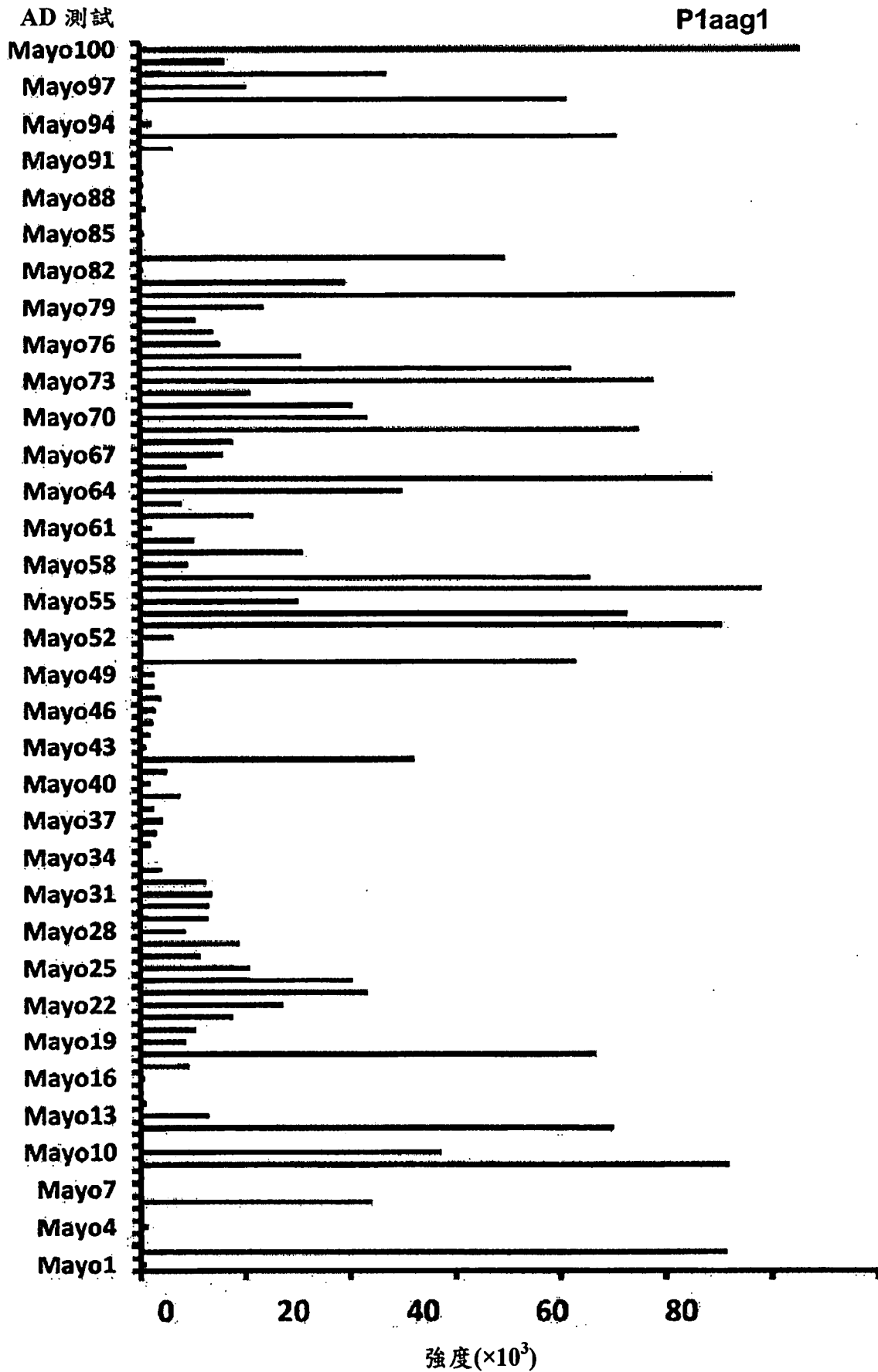


圖 16A

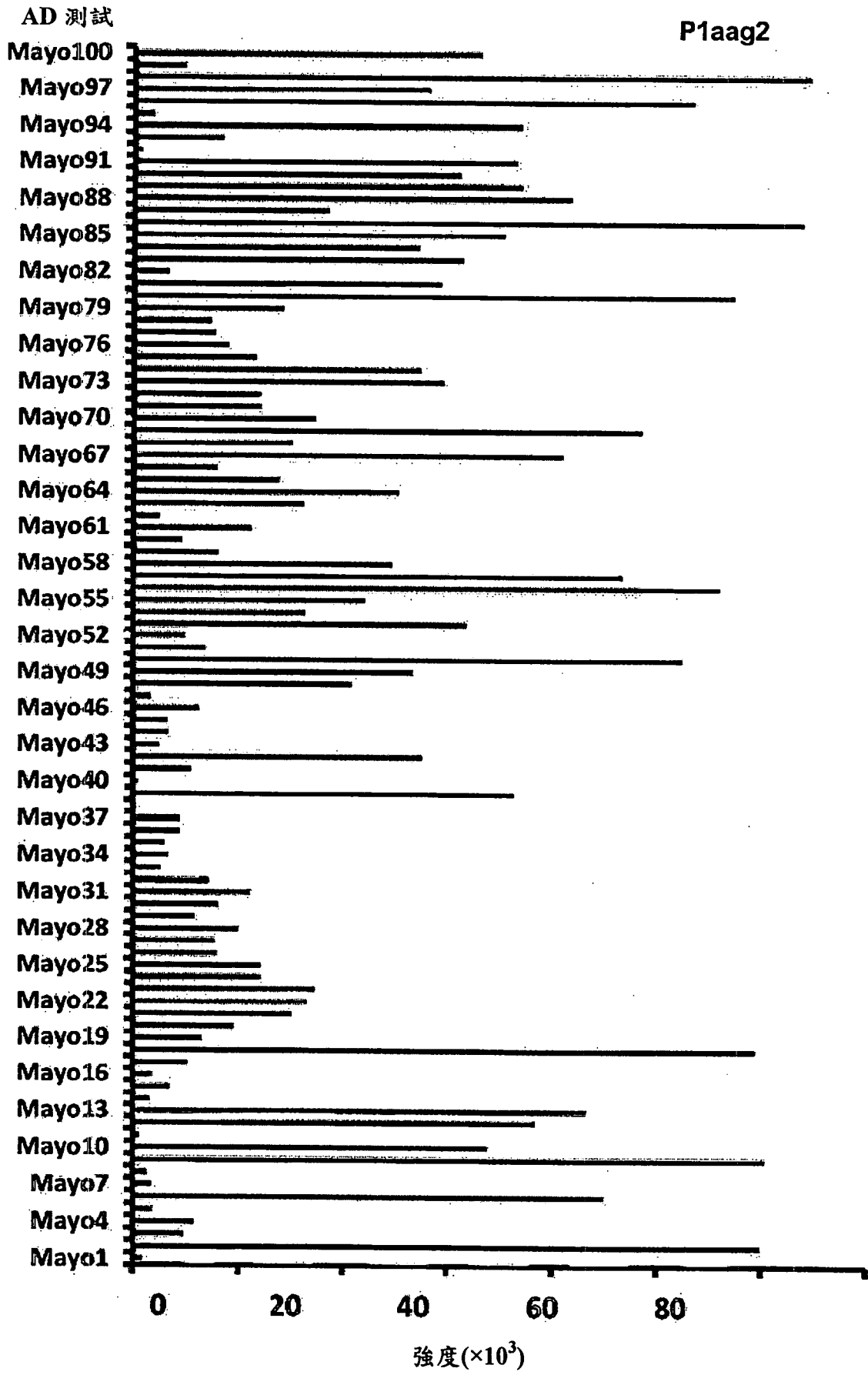


圖 16B

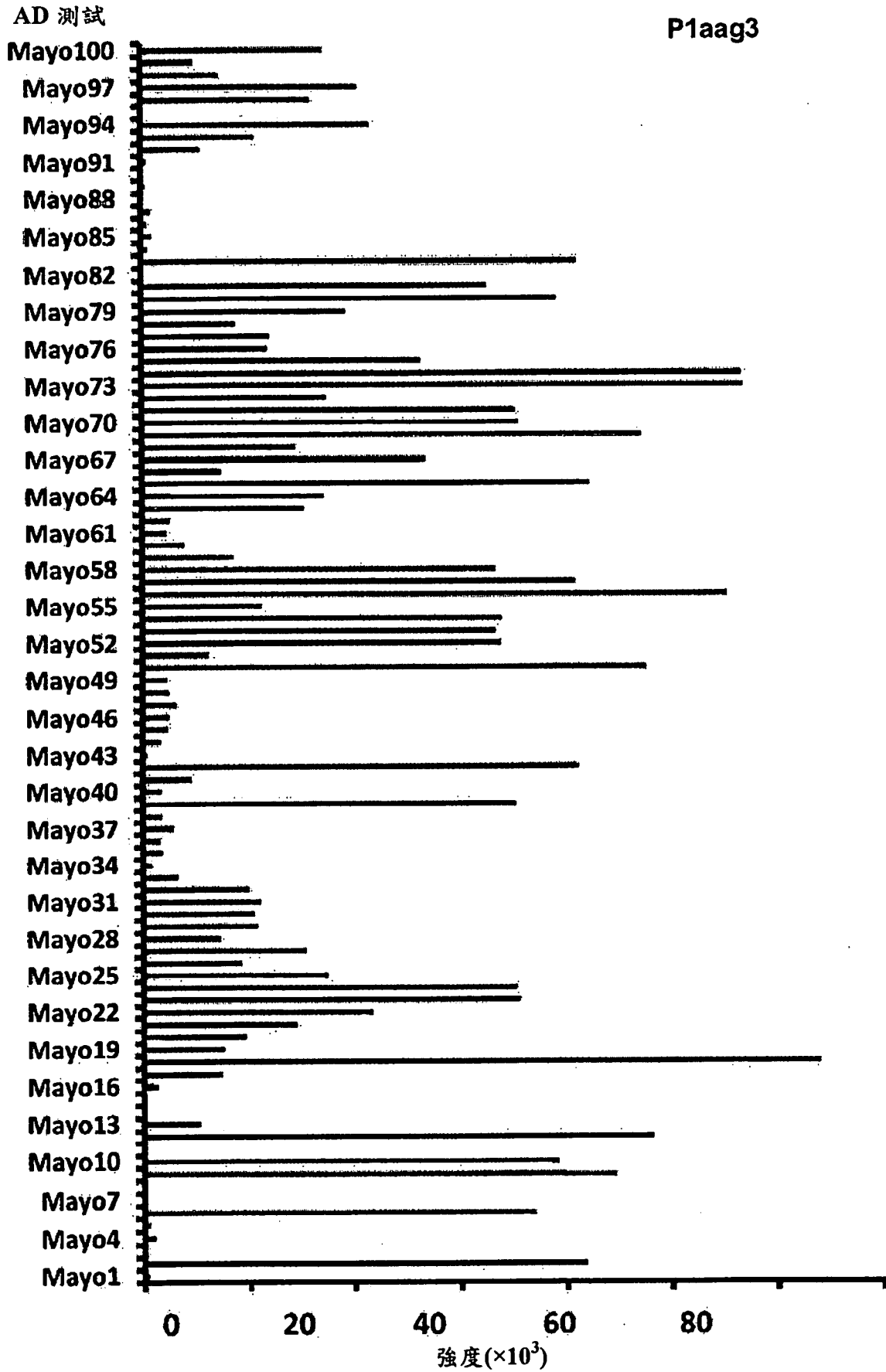


圖 17A

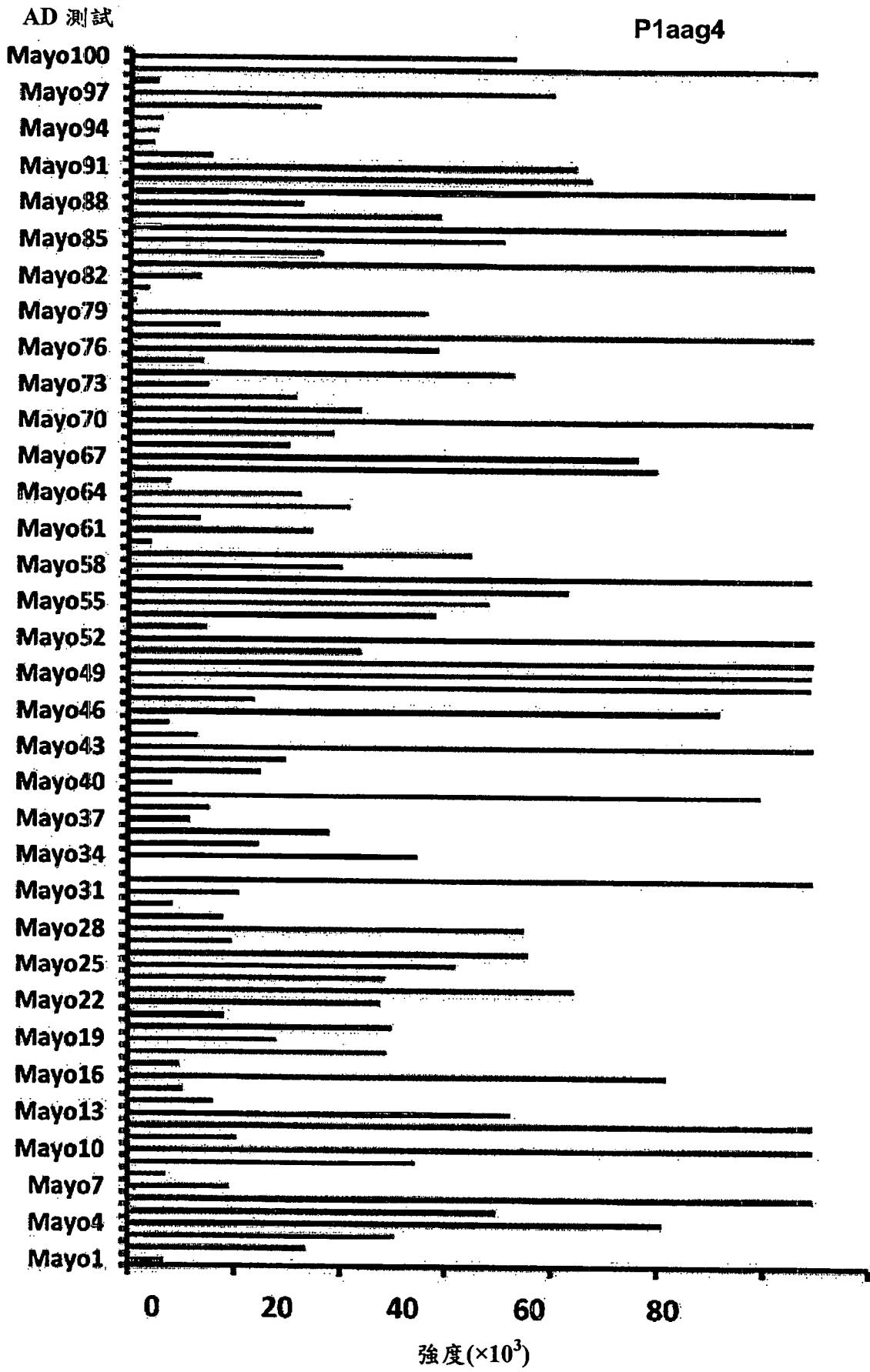


圖 17B

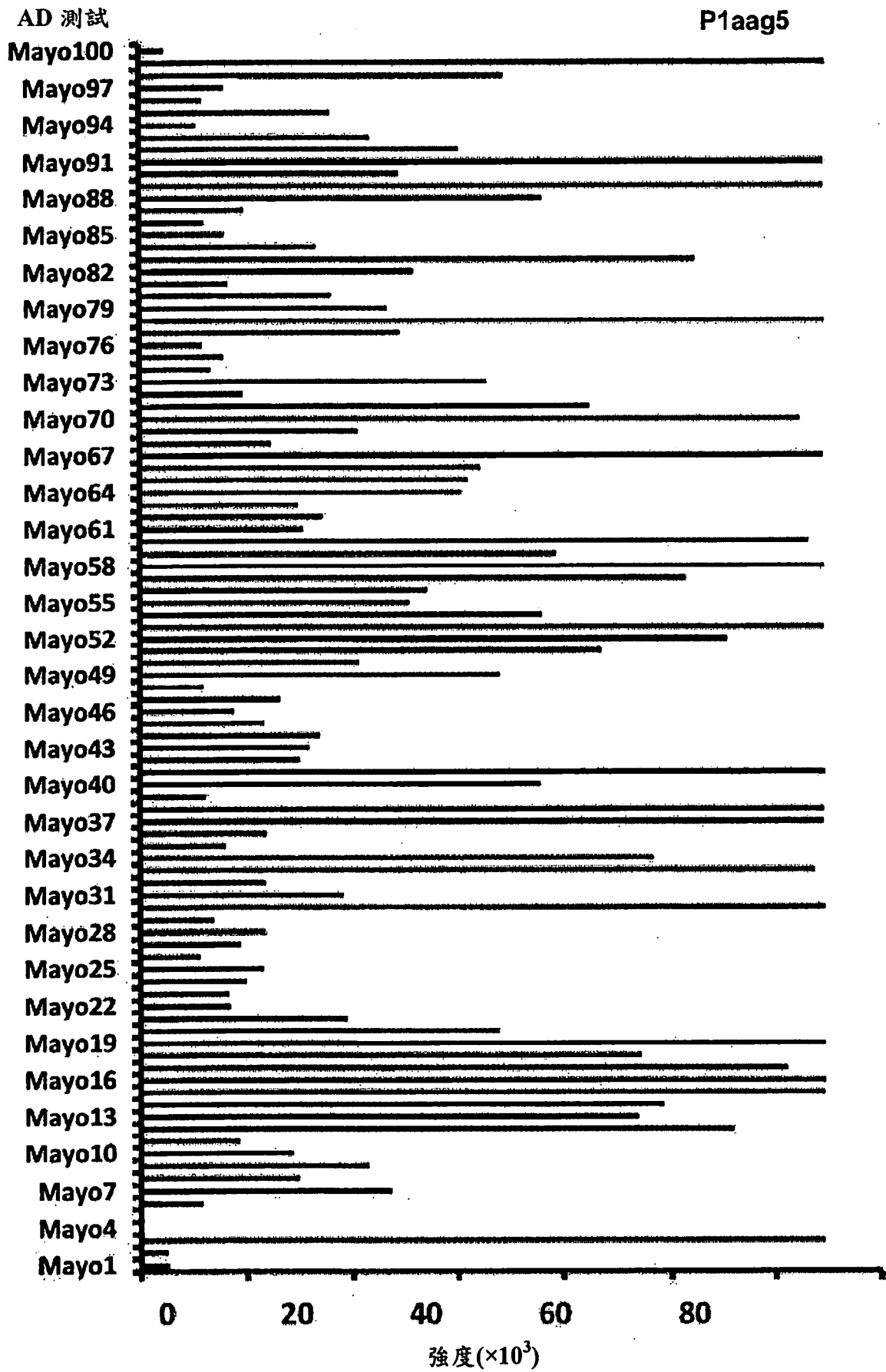


圖 18A

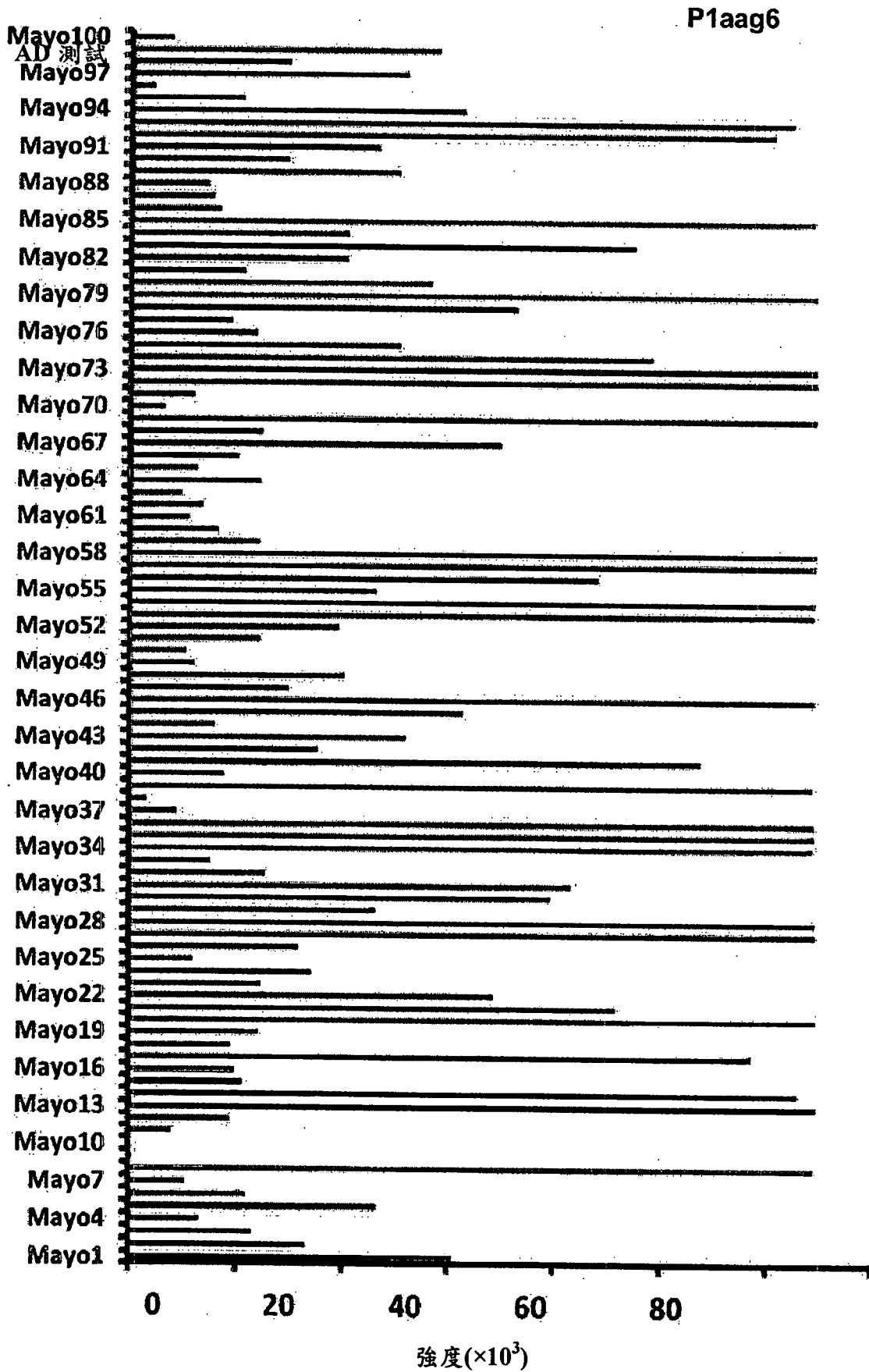


圖 18B

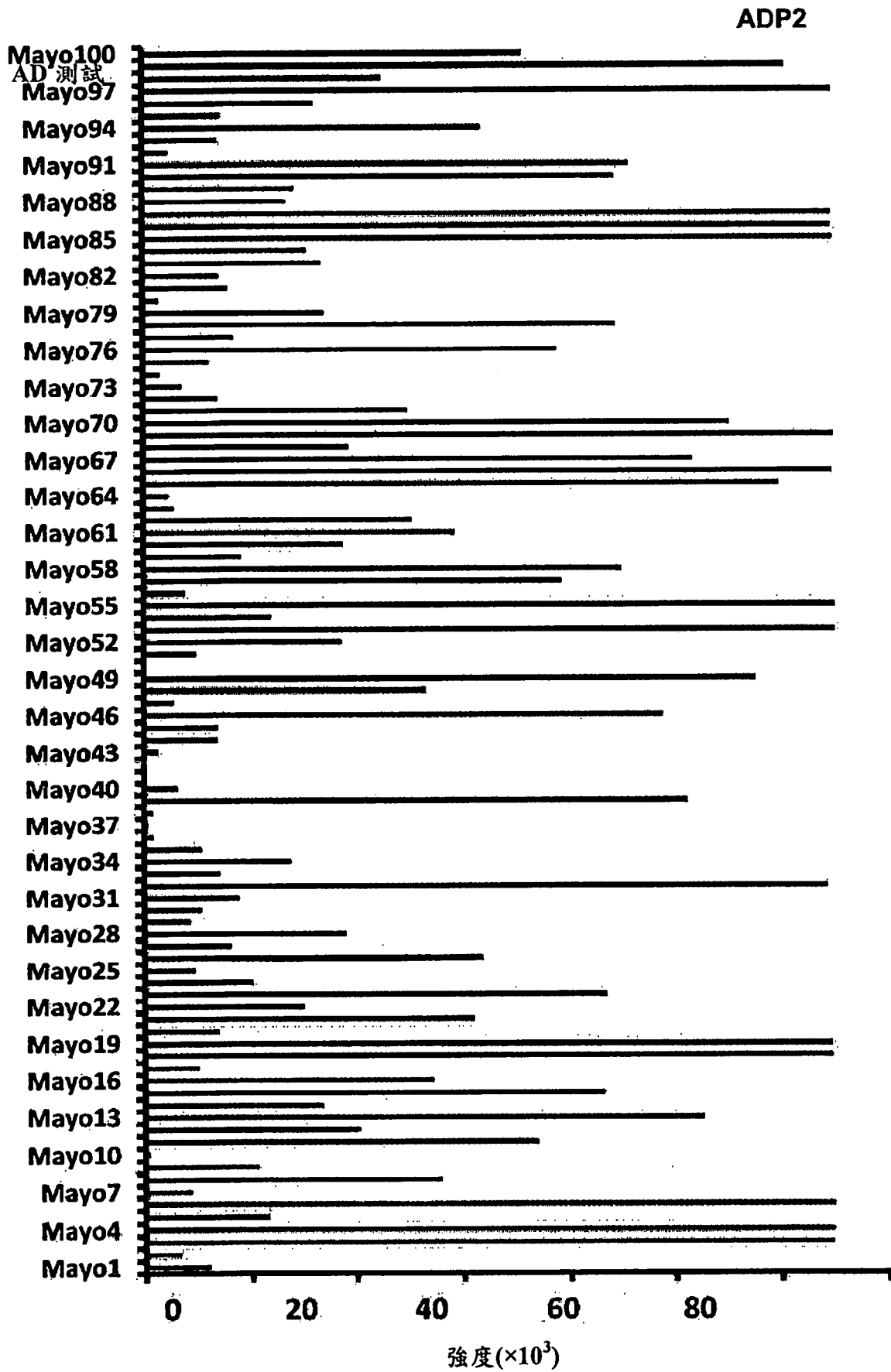


圖 19

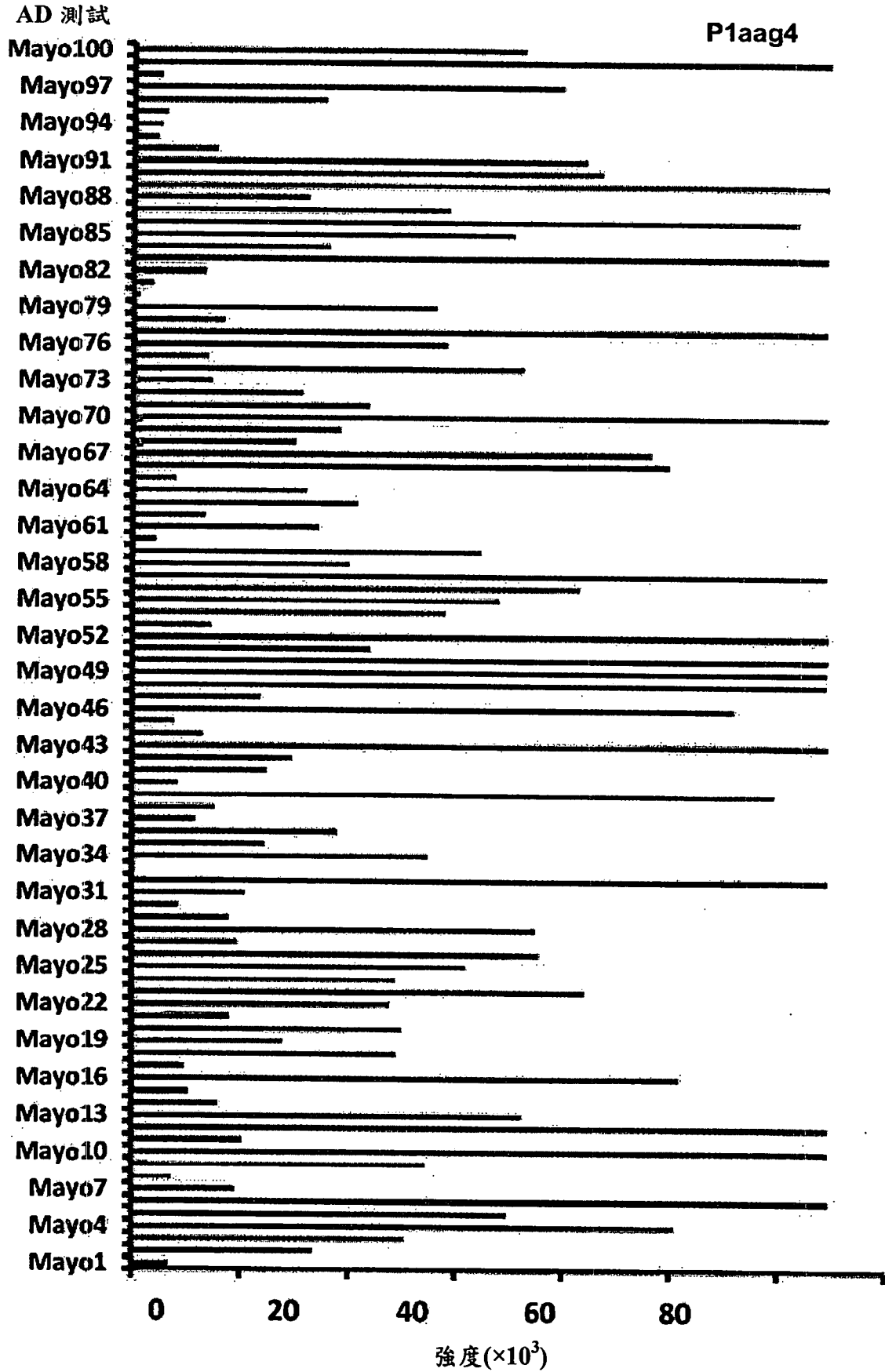


圖 19B

AD 測試

ADP3

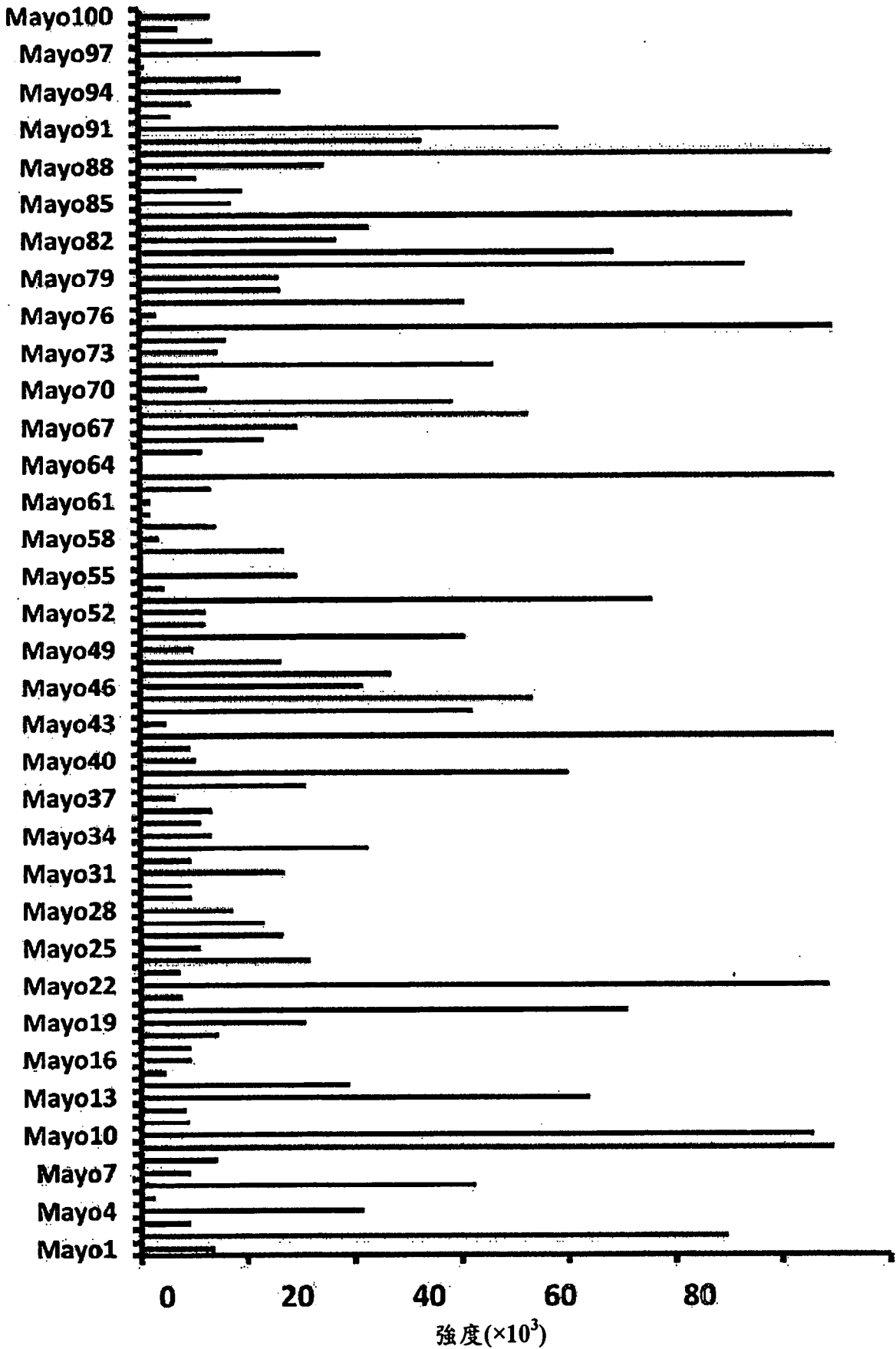


圖 20A

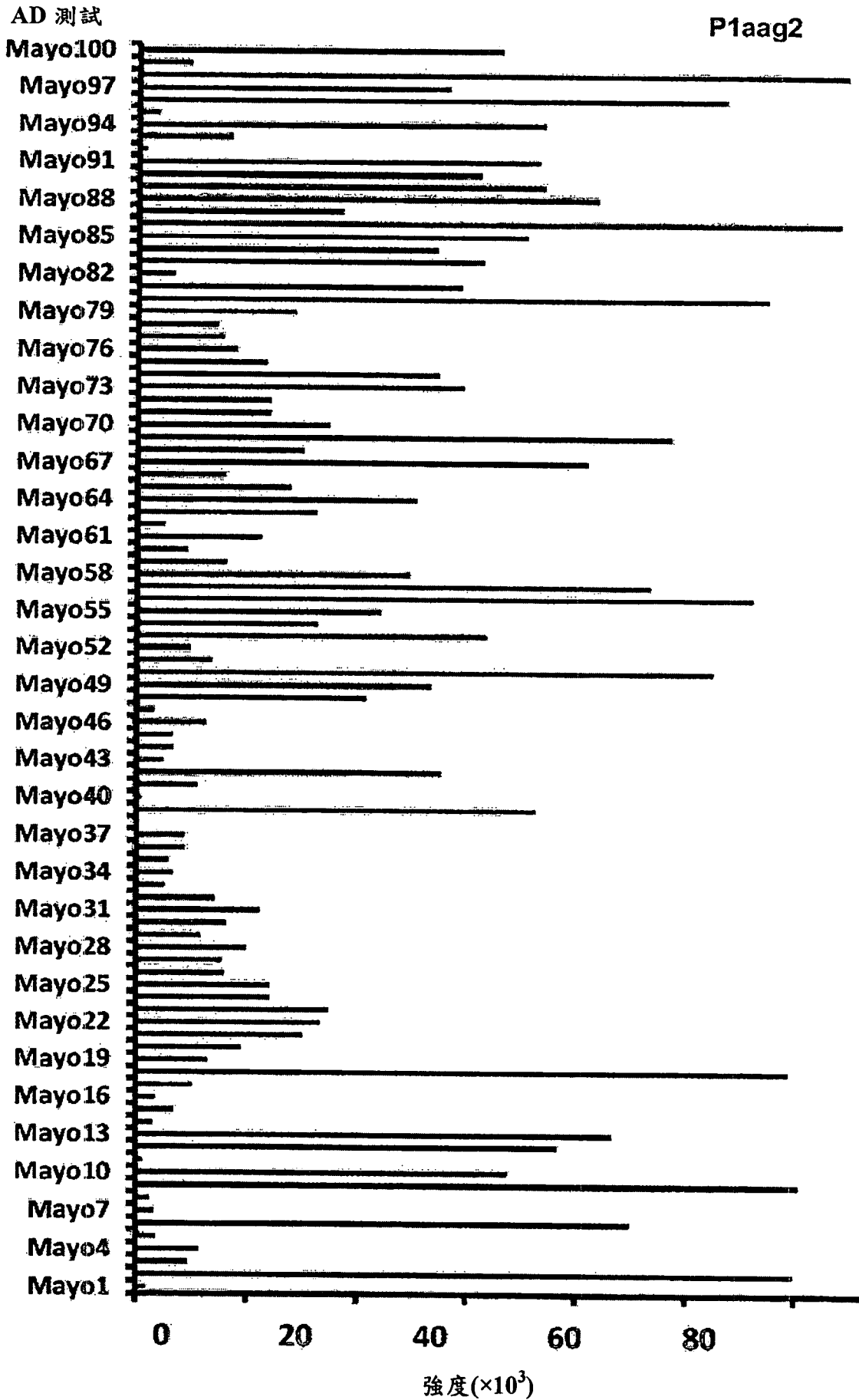
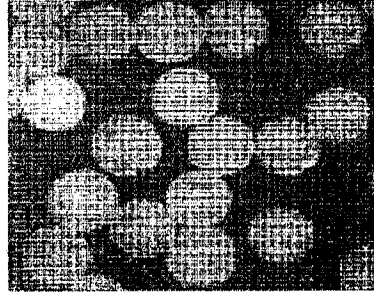
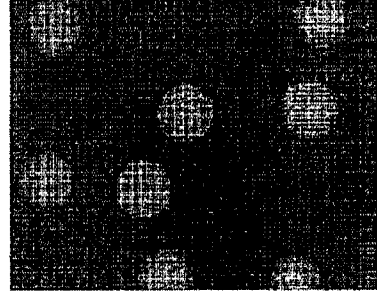


圖 20B

針對 TentaGel 珠粒之驗證



D 30144 40ug/ml



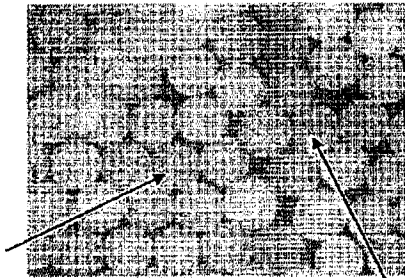
NC 6 彙集之 40 ug/ml

140um

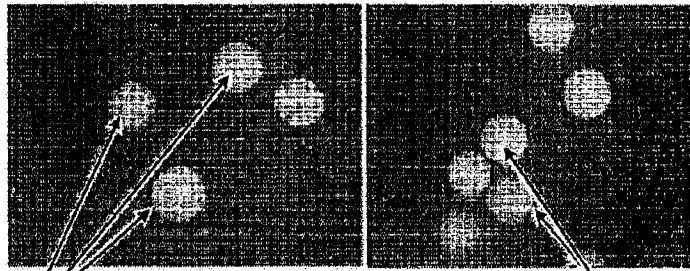
注意：針對 TentaGel 珠粒之驗證可作為比色測試用於重點照護

圖21

JCSB 標靶物



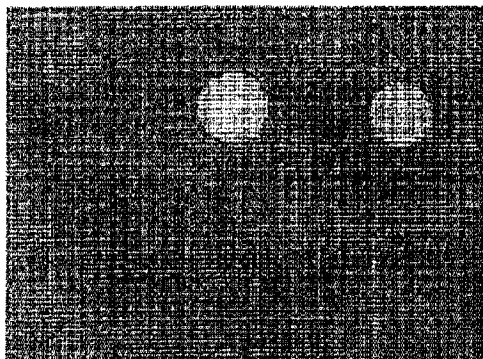
-患病血清添加之後之 Qdot 655 標靶物
-用 Qdot 655 檢測



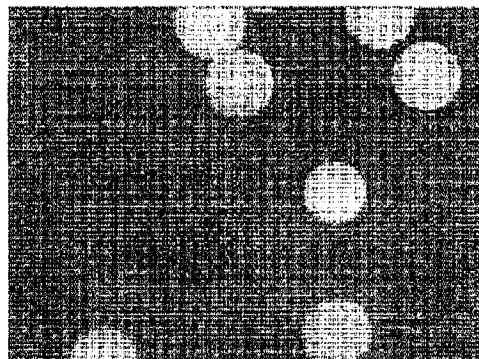
-使用 Qdot 655 之標靶物之再確認

圖22

標靶物驗證



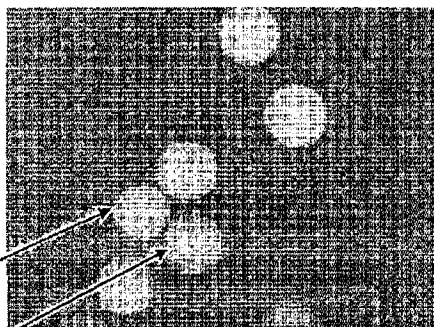
患病血清添加之後
-用 Qdot 655 檢測



正常血清添加之後
-用 Qdot 655 檢測

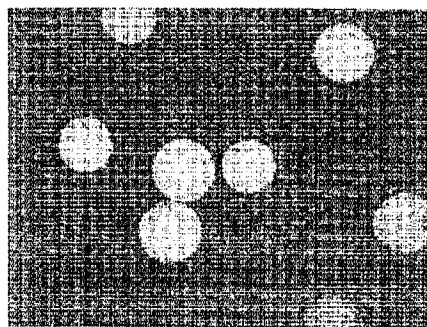
圖23

藉由混合之標靶物驗證



AD 標記
PC 標記

血清 1
-用 Qdot 655 檢測



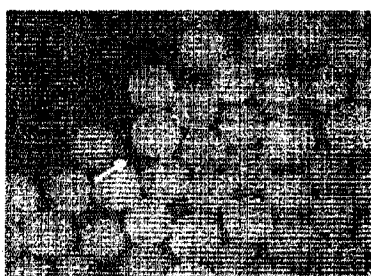
血清 2
-用 Qdot 655 檢測

圖24

SLE 庫篩選



A. 正常對照血清



B. SLE 血清-第 1 組



C. SLE 血清-第 2 組

圖 27

類肽 KN1B-20 之標靶物驗證

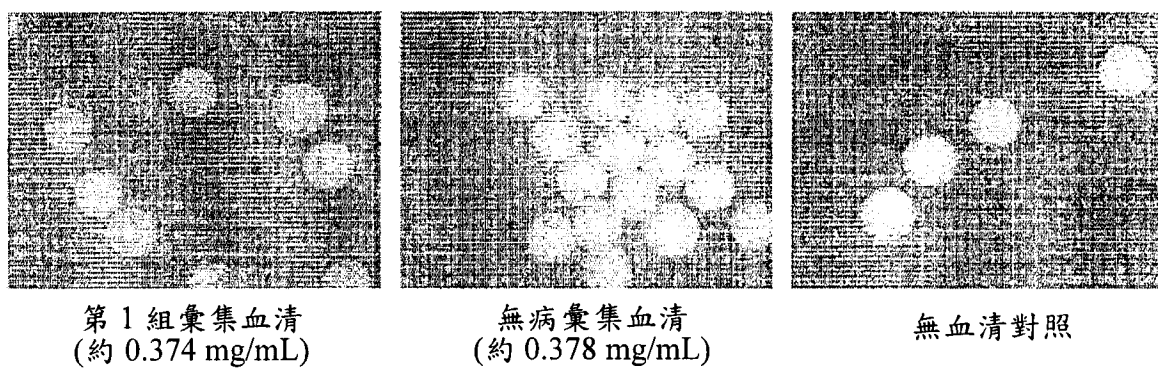


圖 29

ELISA

KN1B-20-生物素-螢光素與 ELISA 板之結合



494 激發/520 發射

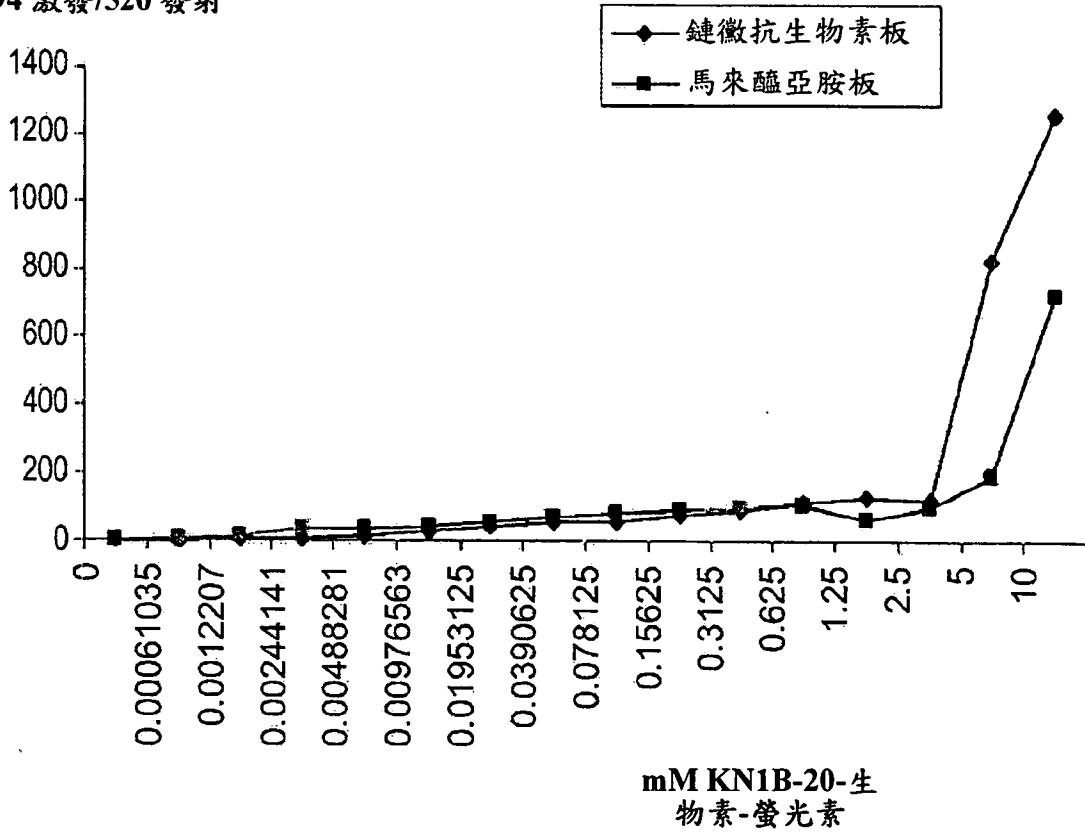


圖 30

競爭分析

• 1 mM KN1B-20-生物素-螢光素對 0、1、5、10 及 50 mM KN1B-20-生物素

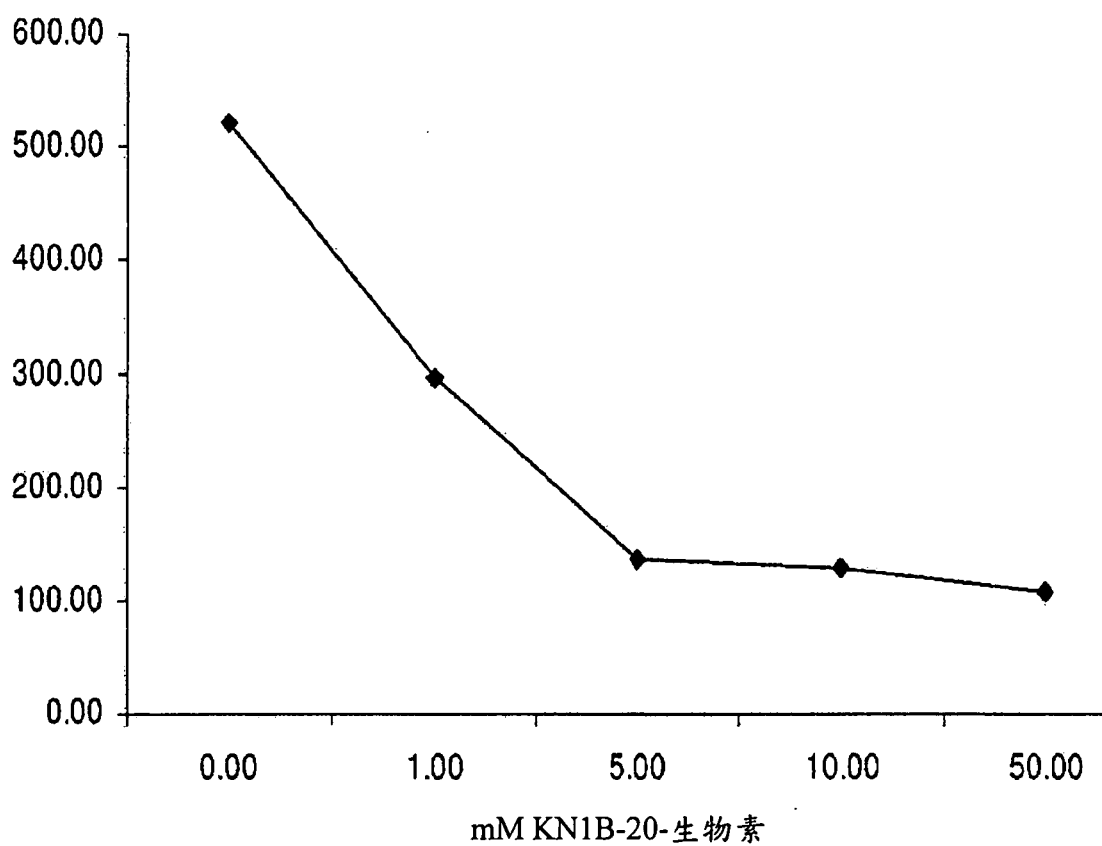
494 nm 激發/
520 nm 發射

圖31

ELISA 及 TentaGel 平臺上之類肽之驗證

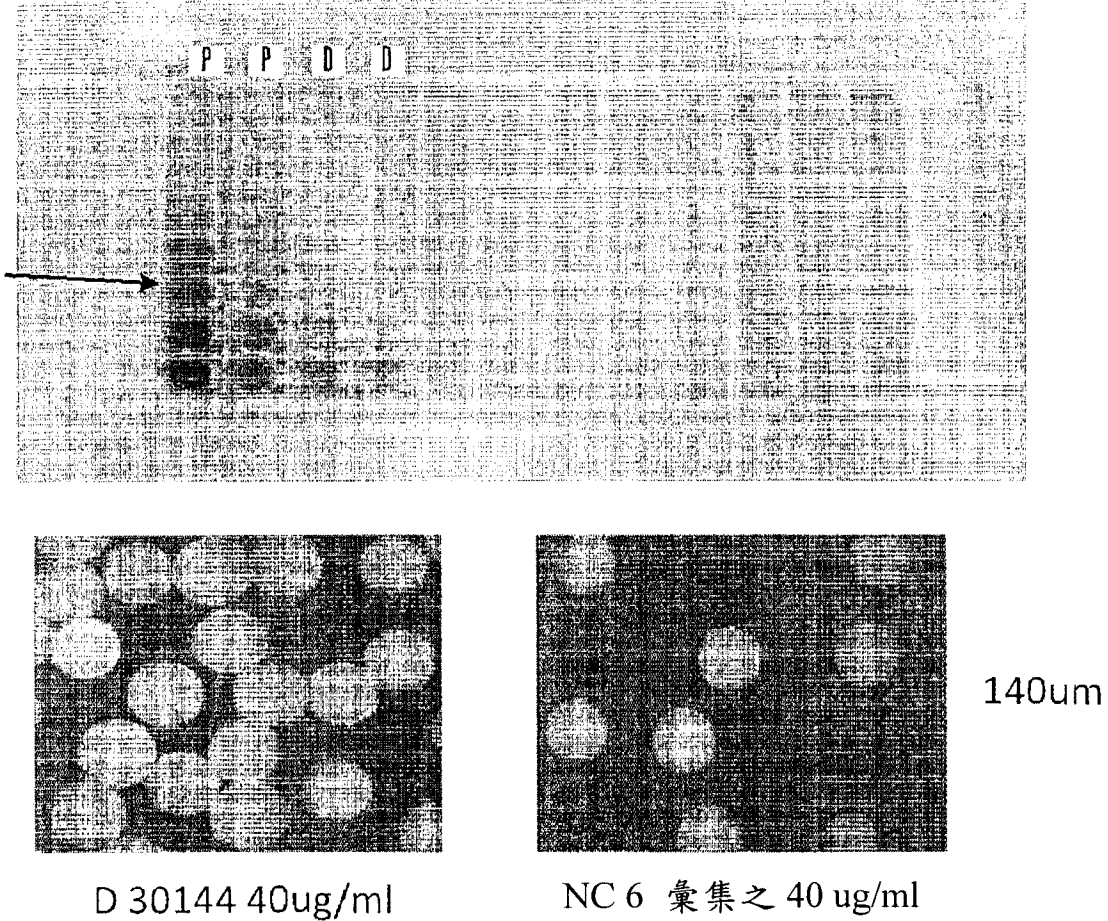


圖32

利用 10 mM ADP3 之 ELISA

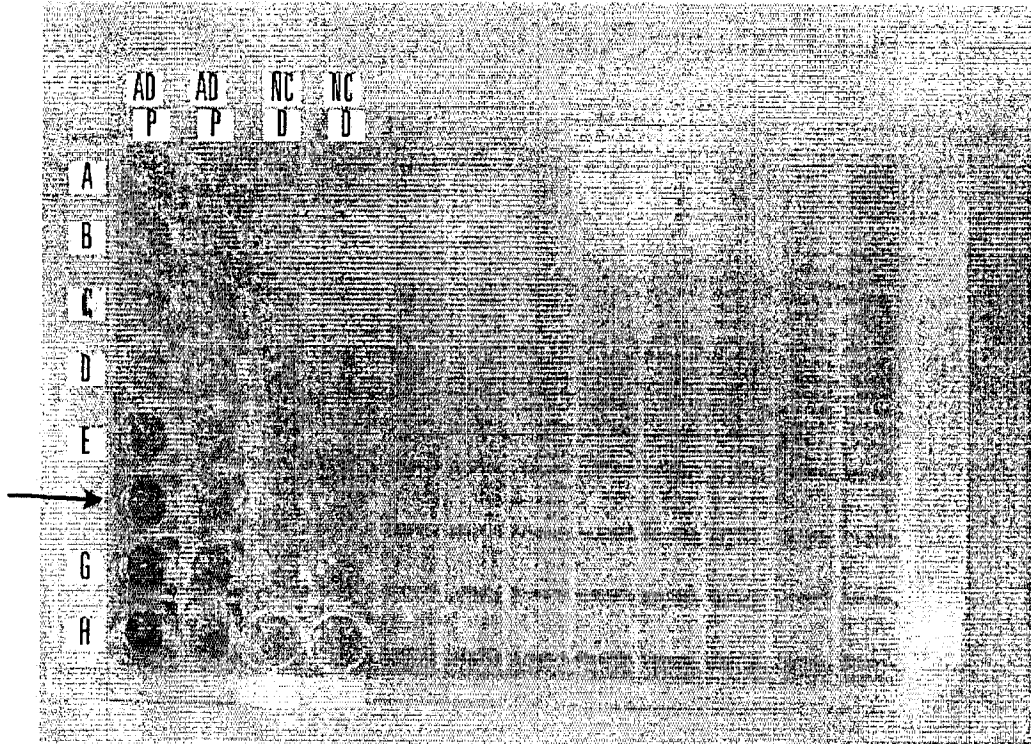


圖33

利用 10 mM SLE-KN1B-20 之 ELISA

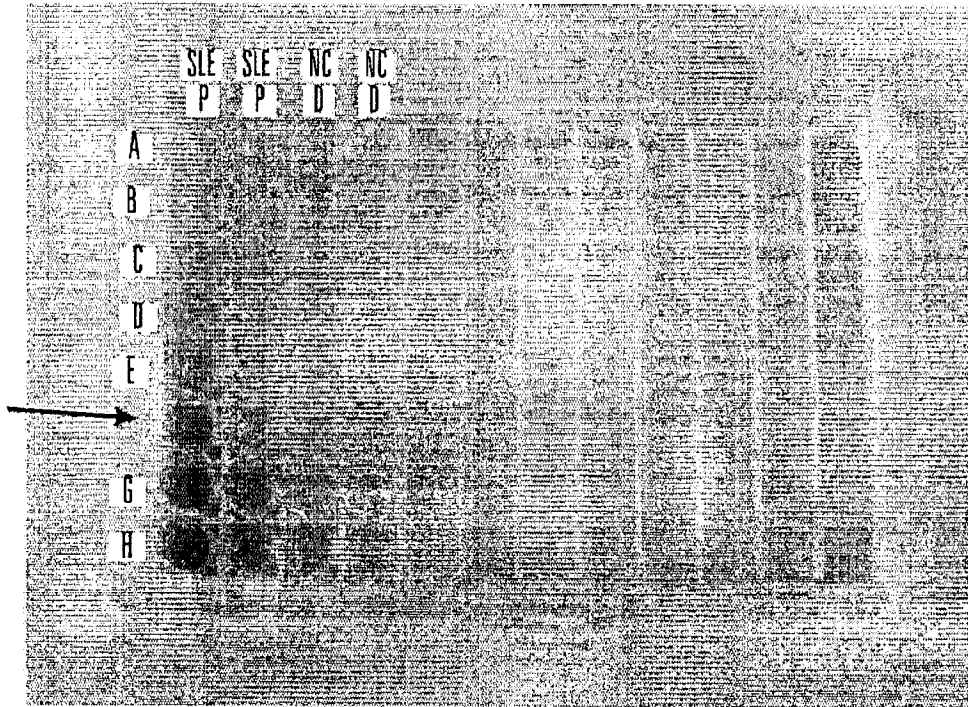
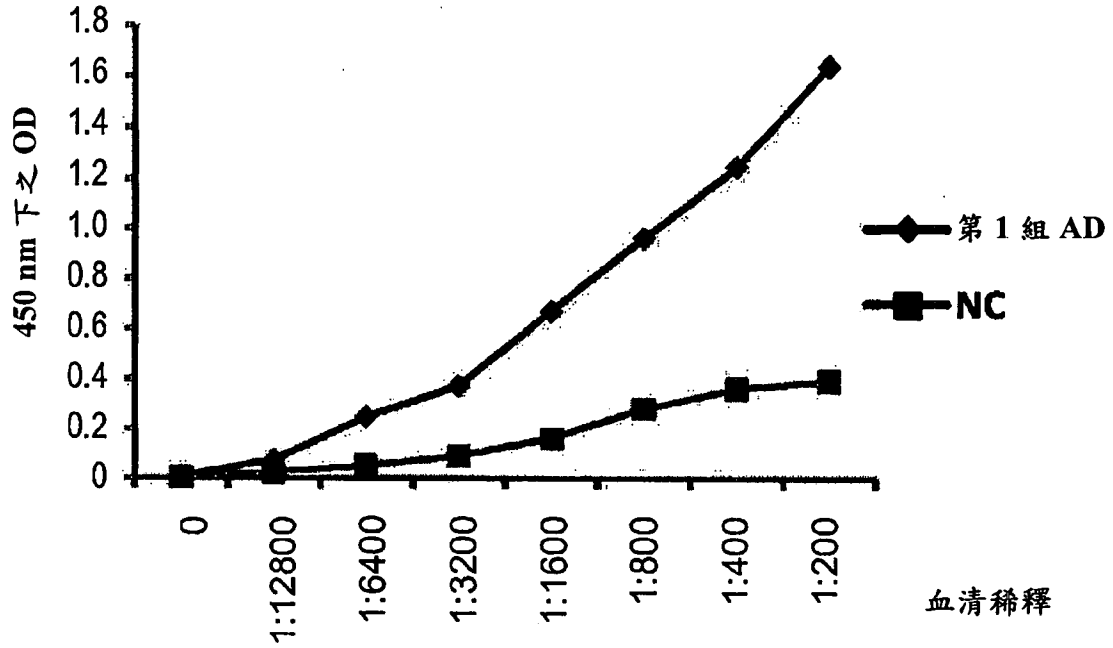


圖34

利用 10 mM ADP3 (於結合緩衝液中製備) 之 AD 血清 ELISA



起始稀釋(1:200)

於約 0.394 mg/mL 下之第 1 組 AD 血清

於約 0.386 mg/mL 下之無病血清

圖 35

利用 10 mM KN1B-20 (於結合緩衝液中製備) 之 SLE 血清 ELISA



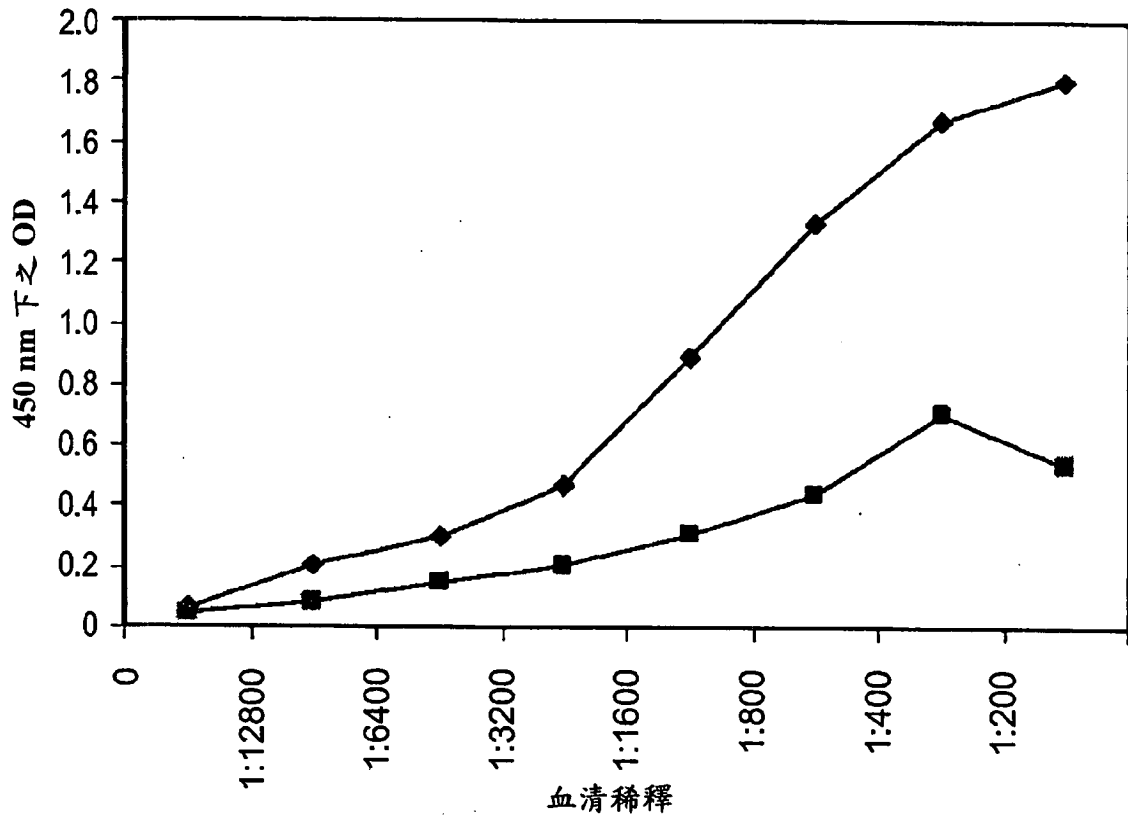
起始稀釋(1:200)

於約 0.375 mg/mL 下之第 1 組 SLE 血清

於約 0.396 mg/mL 下之無病血清

圖36

利用 10 mM KN1B-20 (於 DMSO 中
製備)之 SLE 血清 ELISA



起始稀釋(1:200)
於約 0.367 mg/mL 下之第 1 組 SLE 血清
於約 0.322 mg/mL 下之無病血清

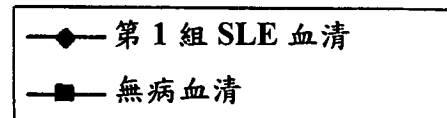


圖37

用於 TentaGel 珠粒標靶物驗證之 FACS 平臺

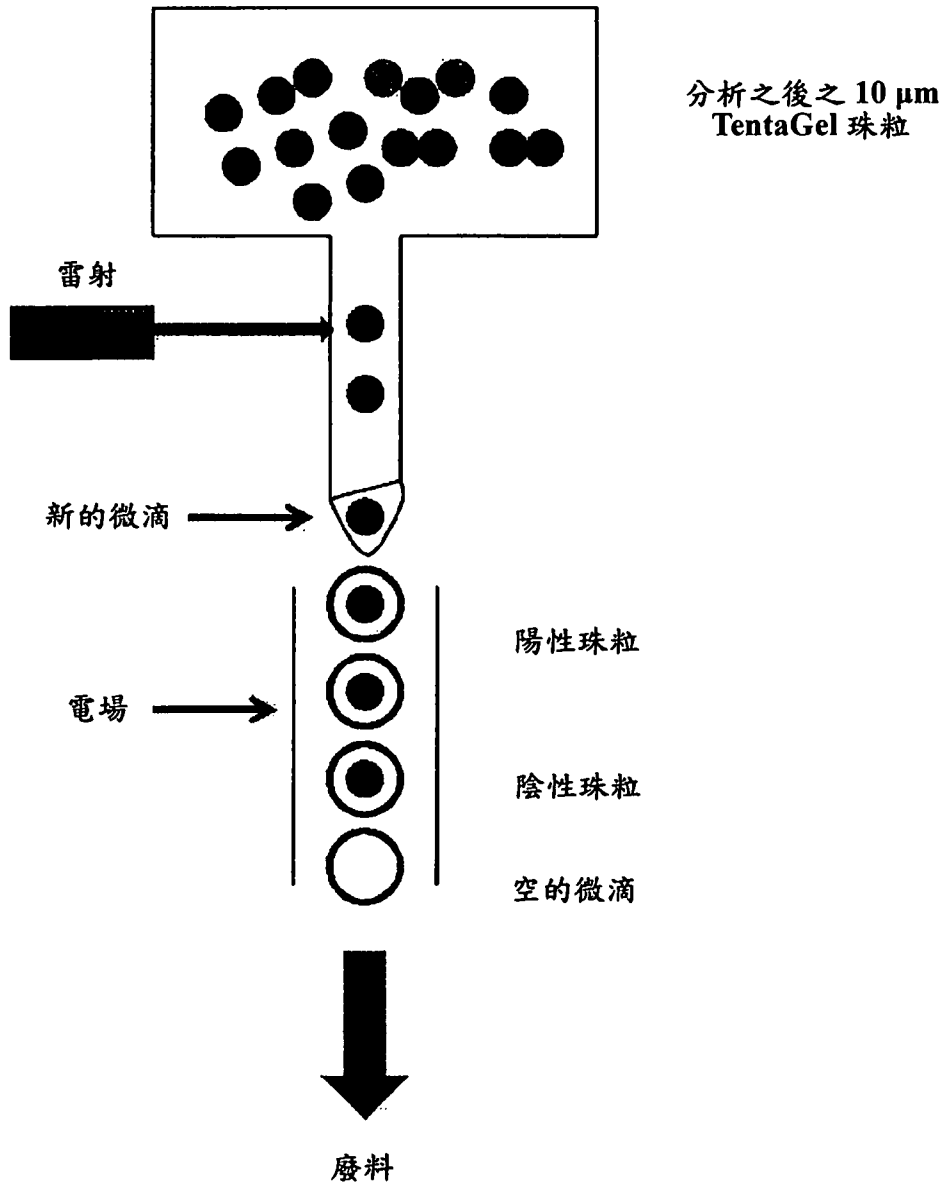


圖 38

模型研究:2,5-二硝基苯基(DNP)與抗
DNP 抗體之結合

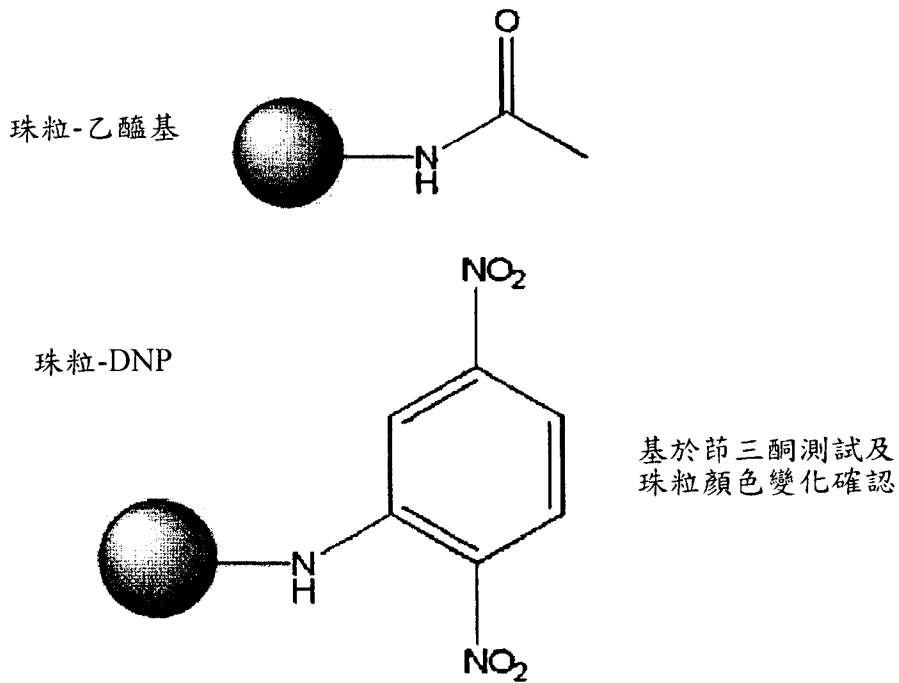
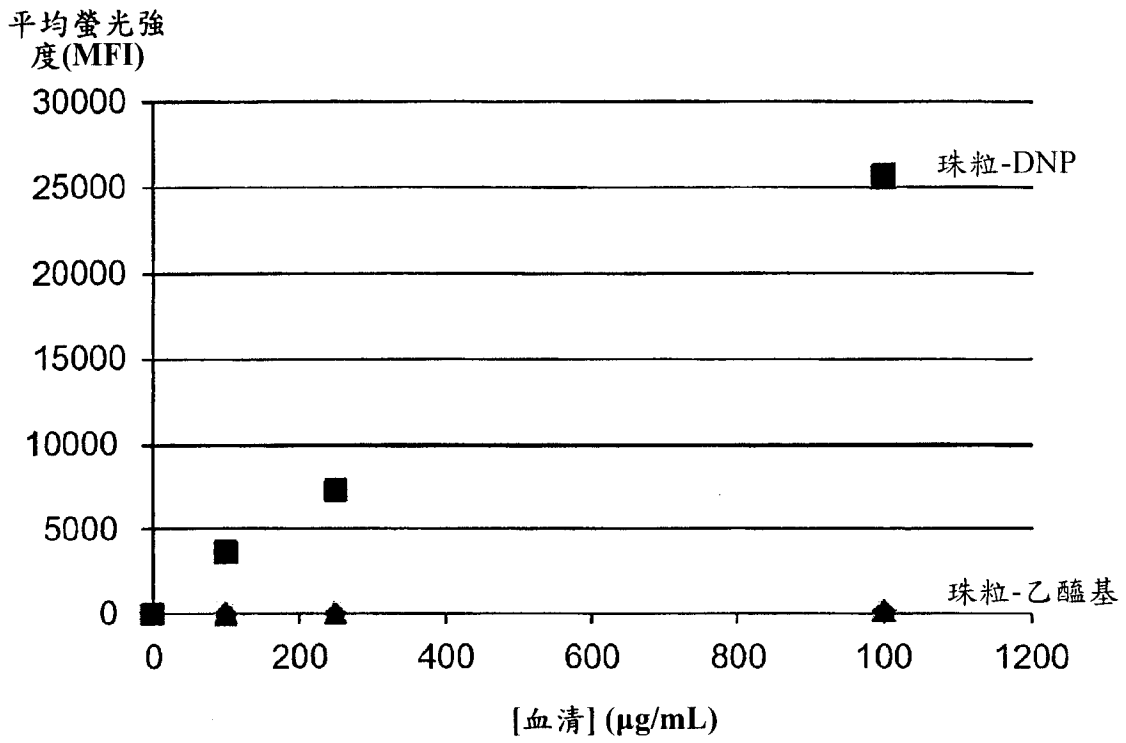


圖39

乙醇胺-DNP 競爭 DNP 與抗 DNP 抗體之結合

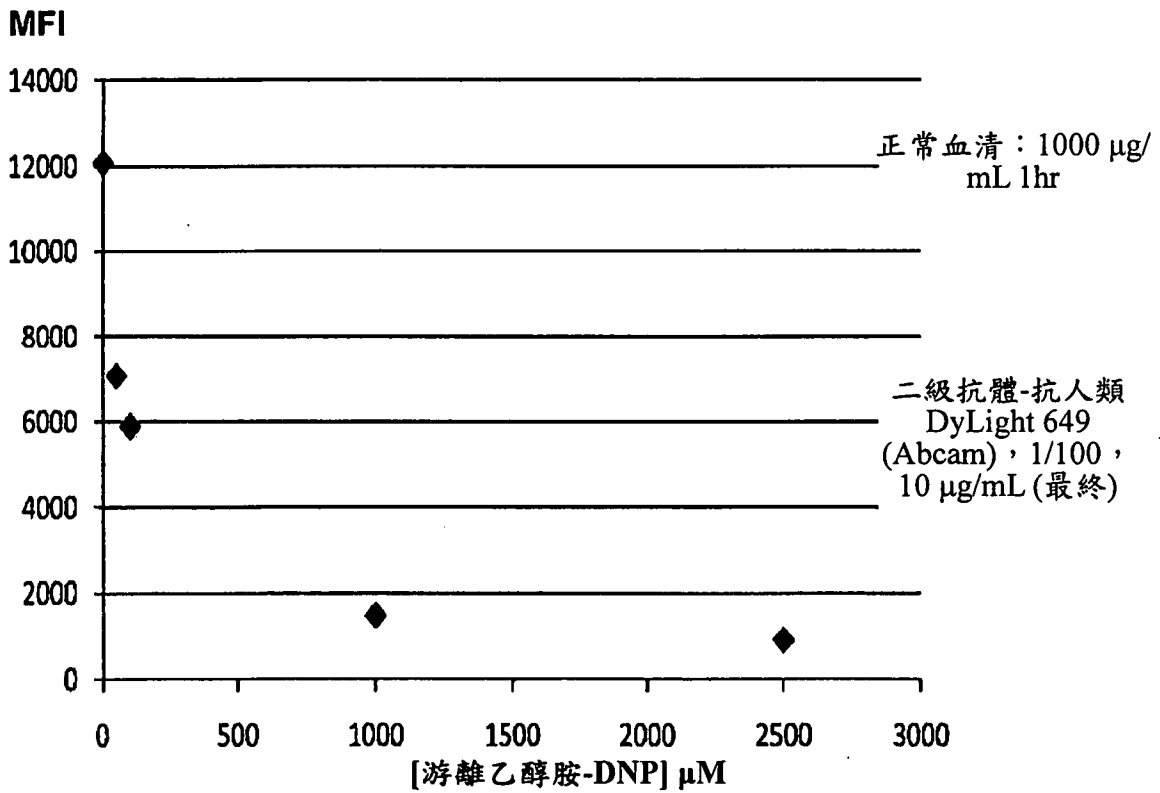
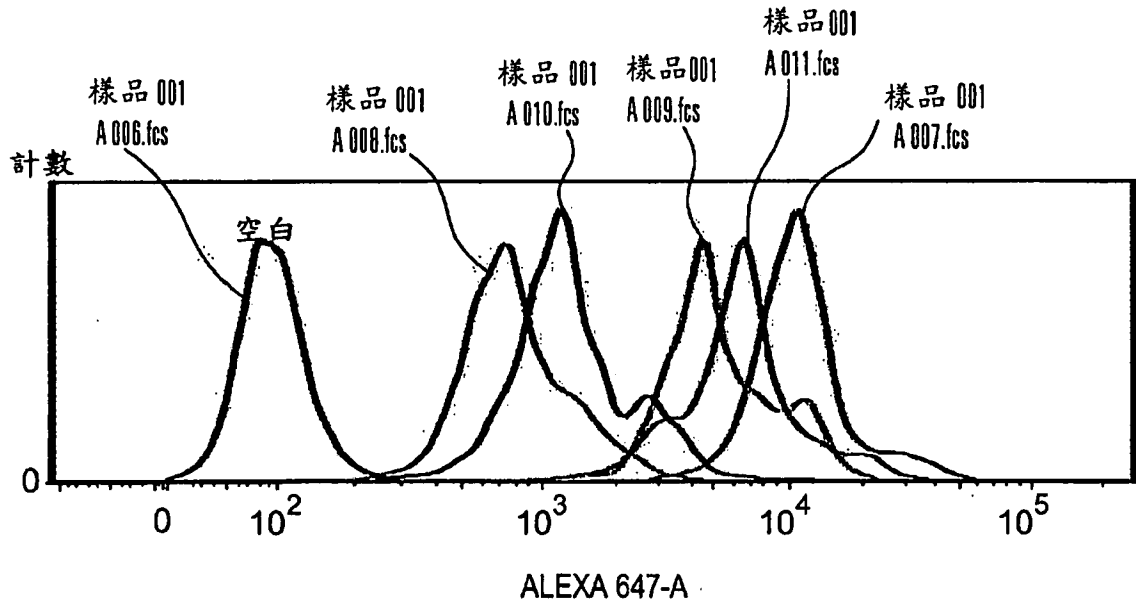


圖 40

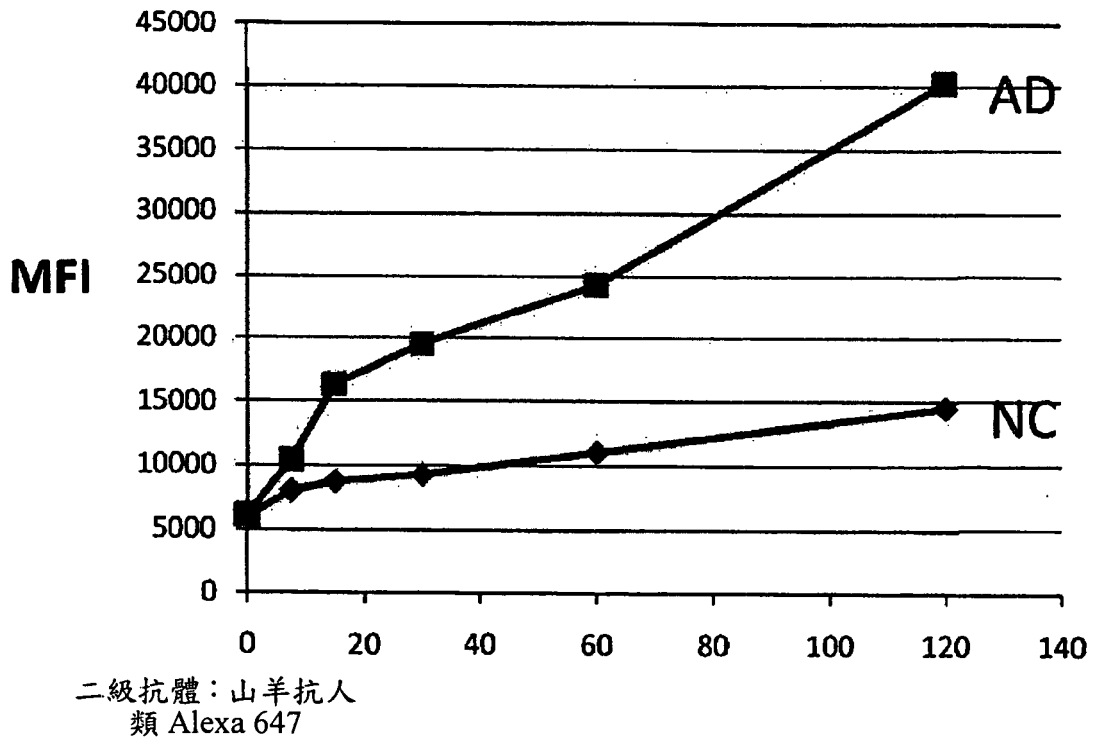
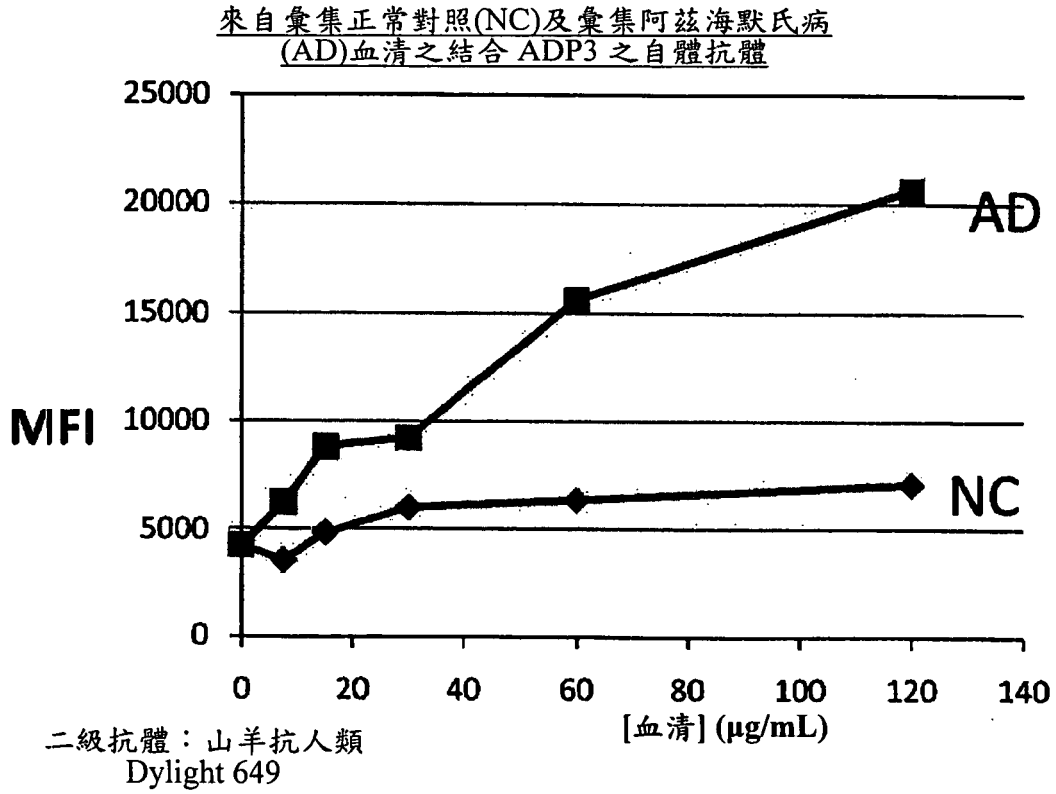


圖41A

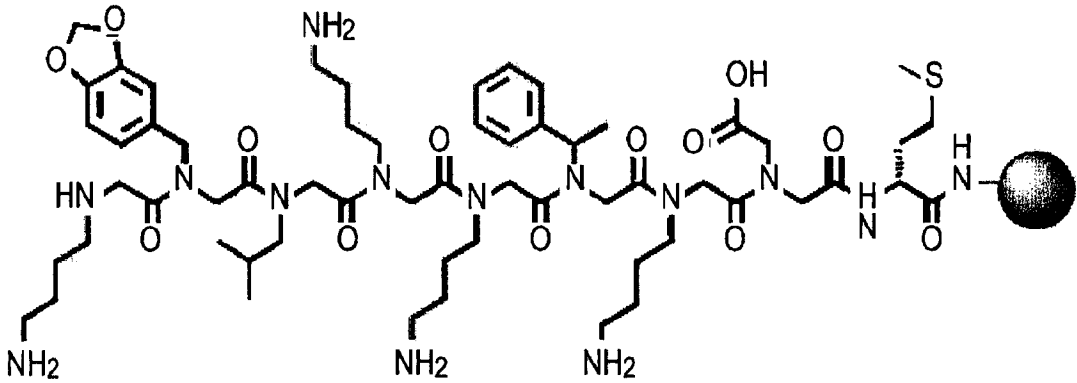


圖 41B

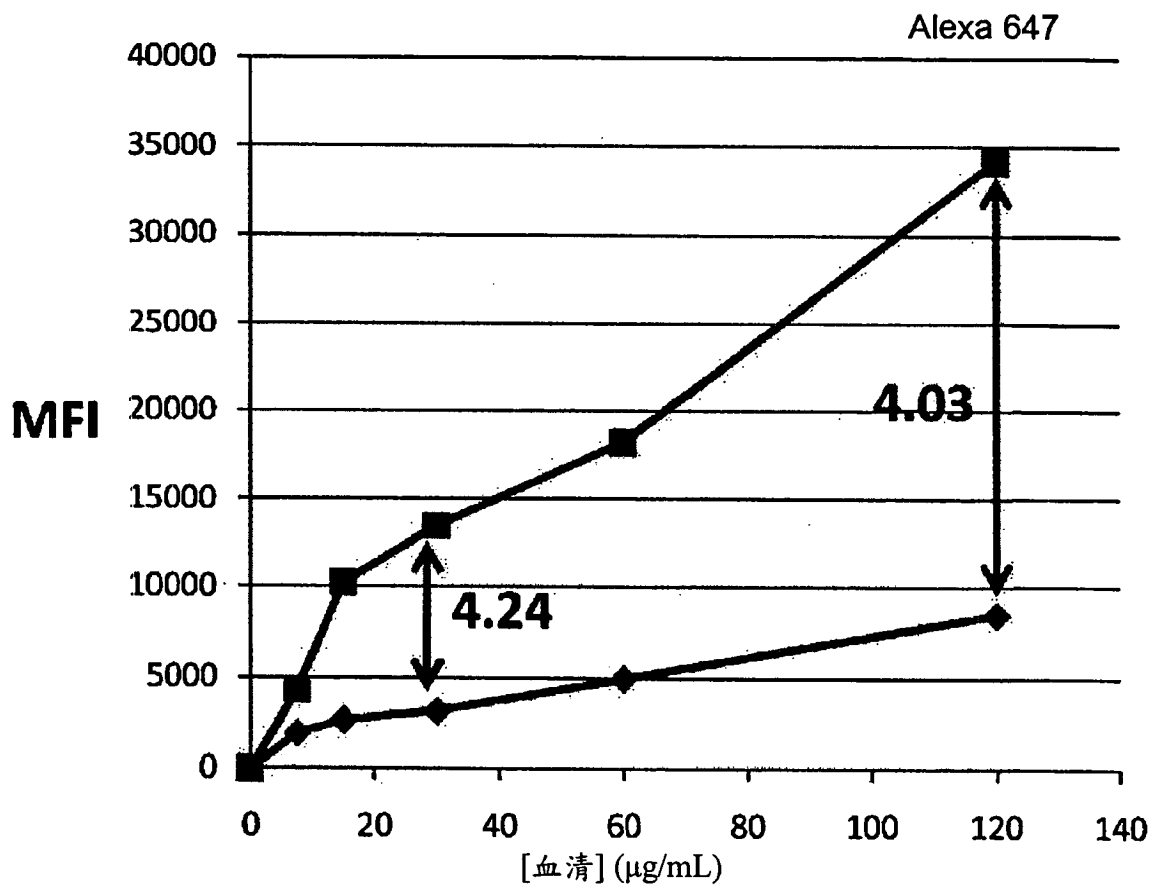
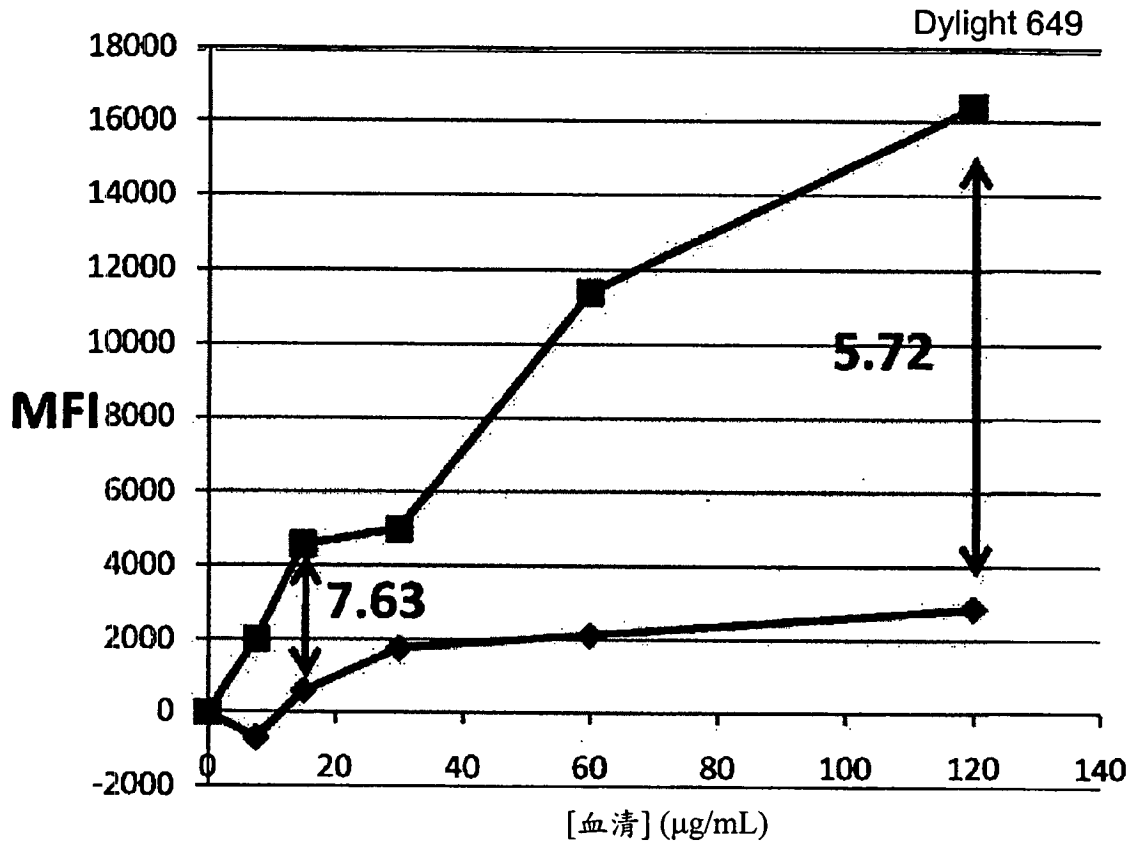


圖 42

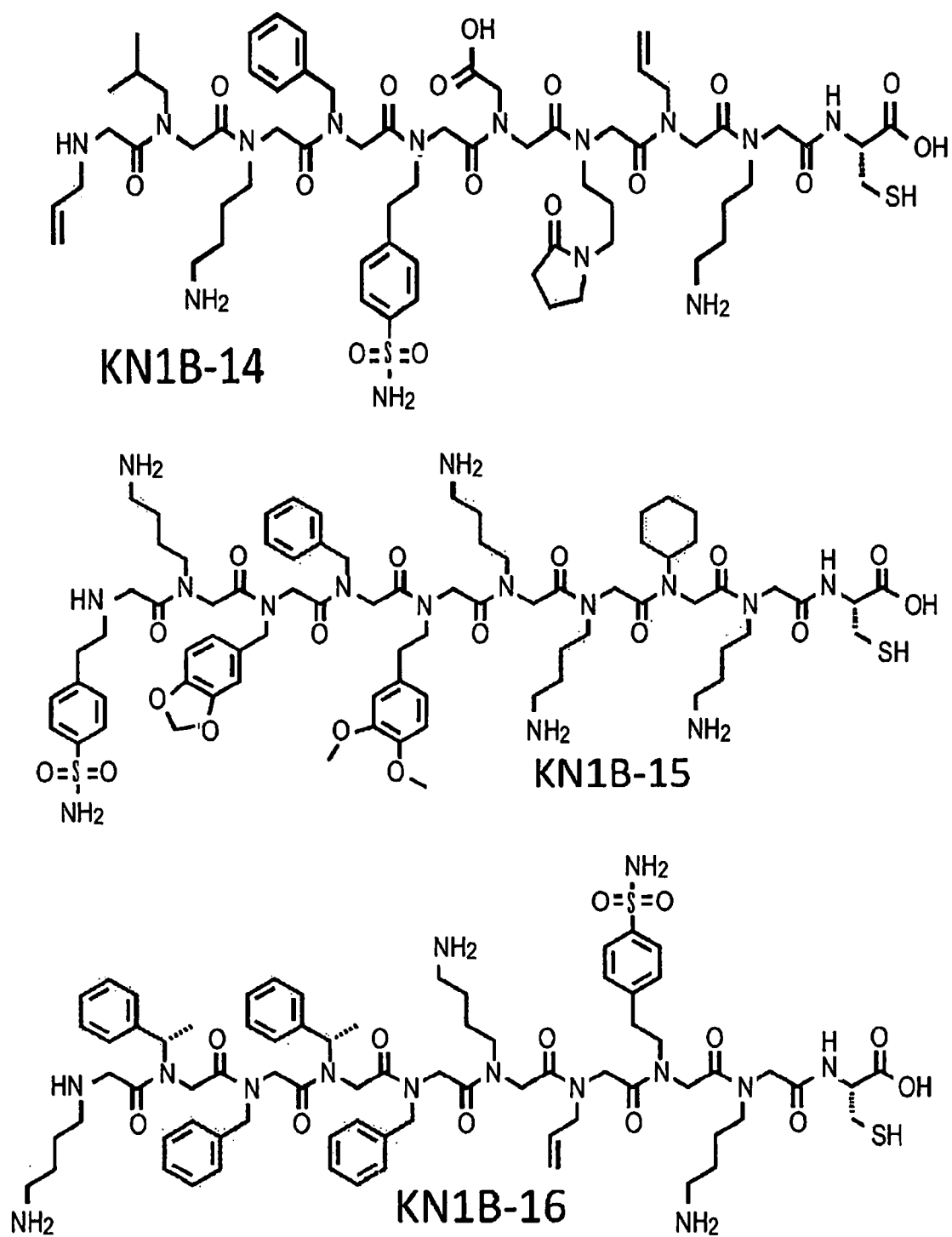


圖 43A

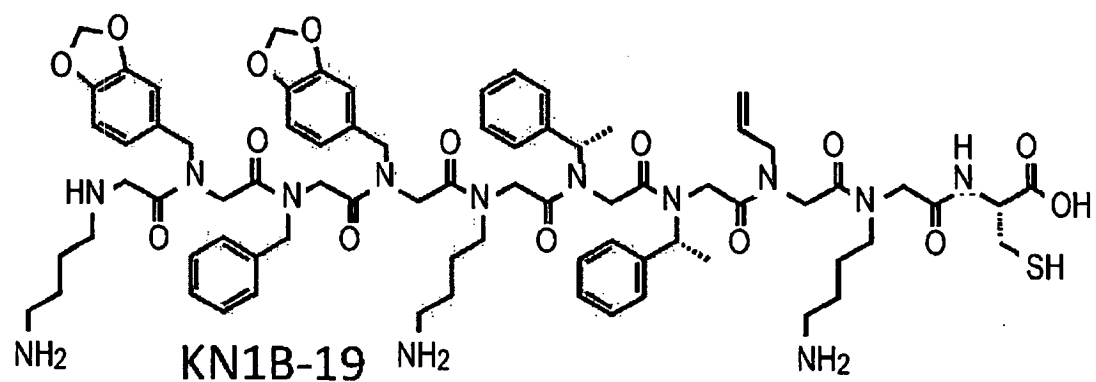
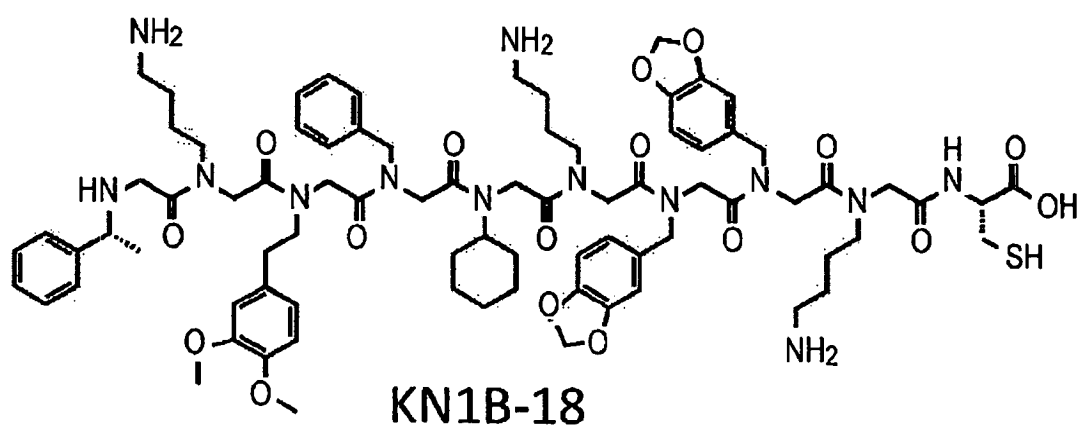
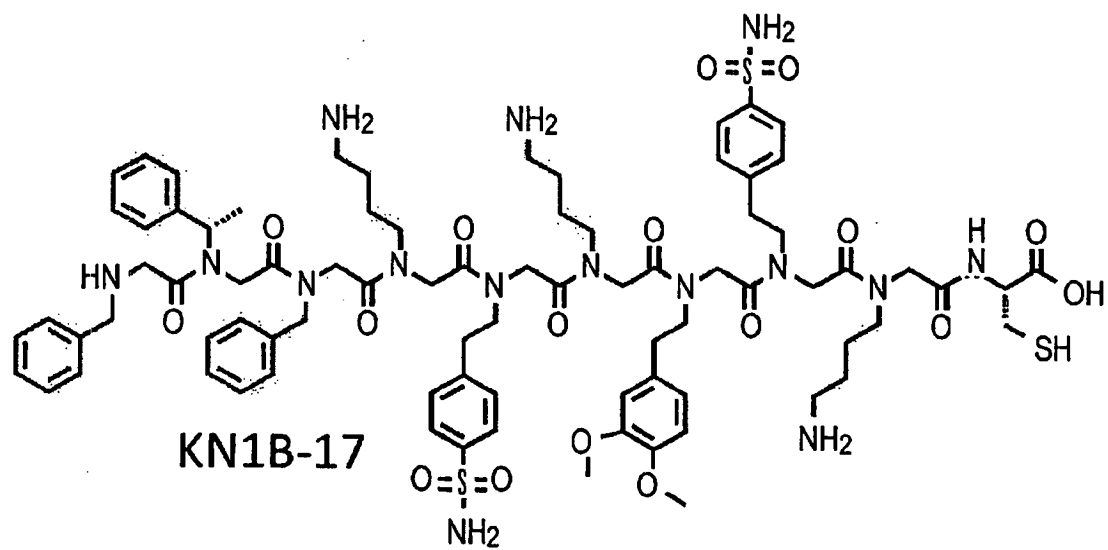


圖 43B

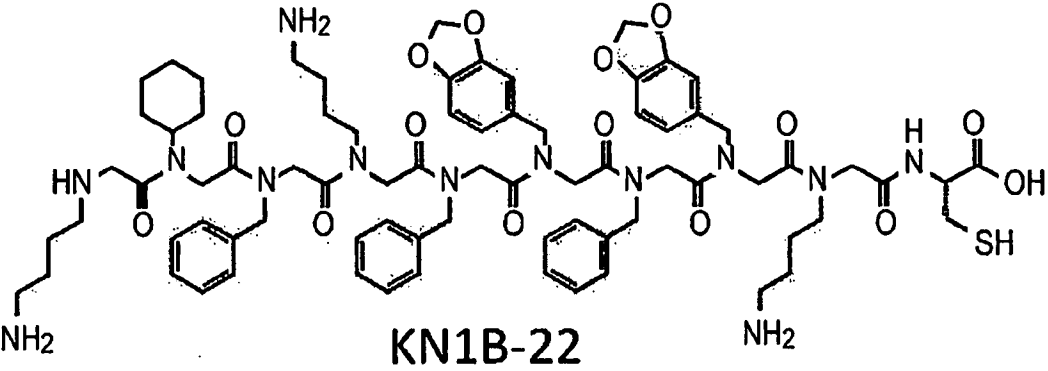
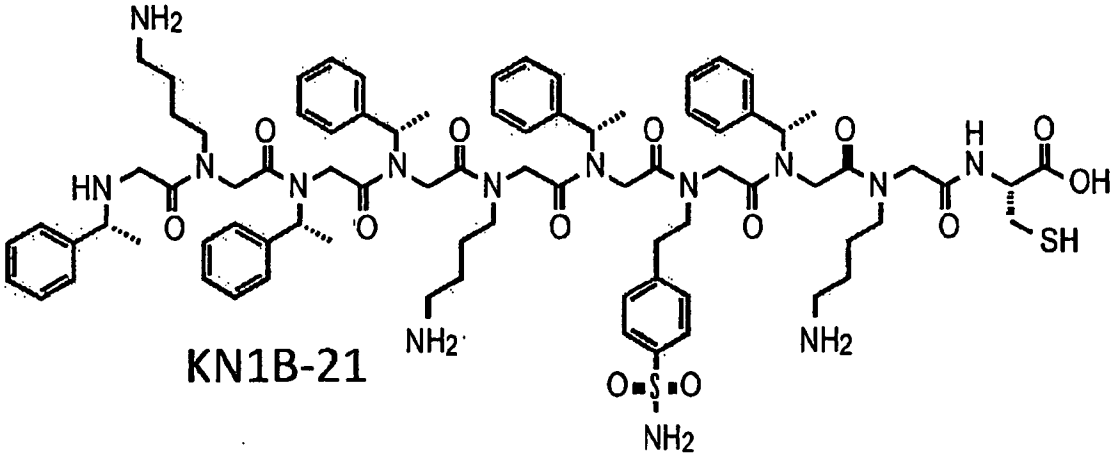
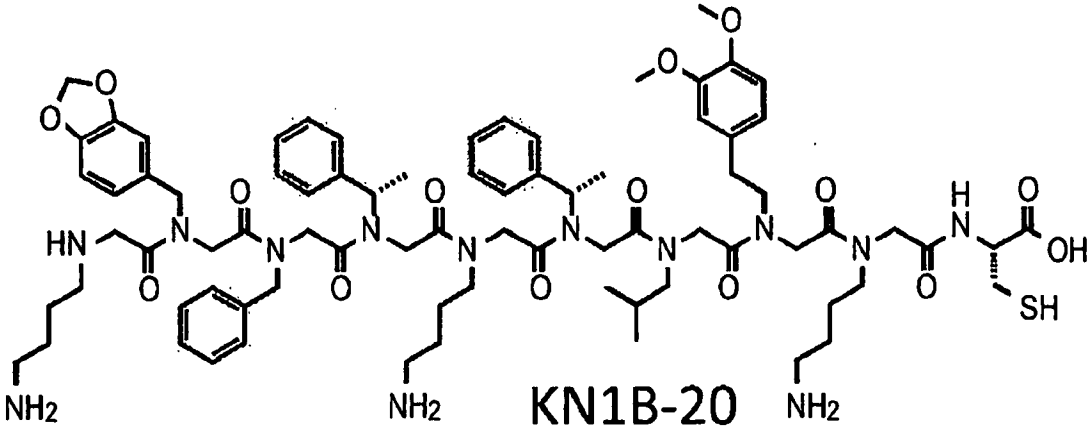
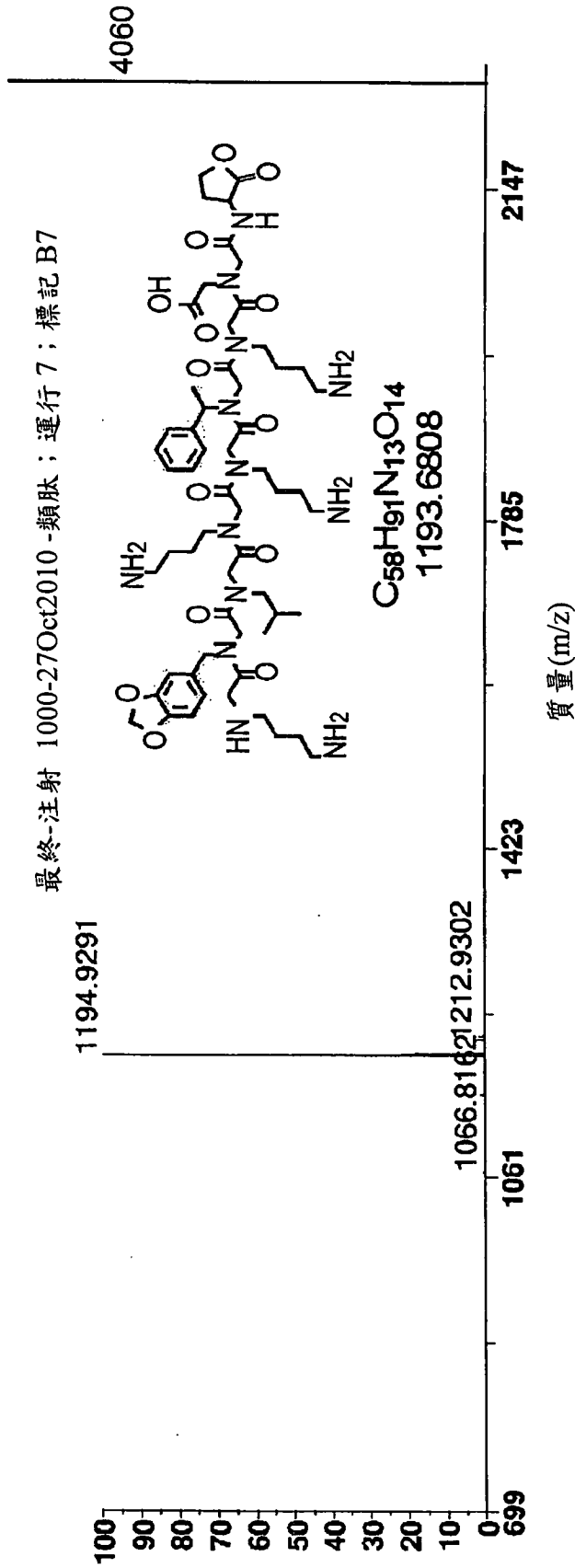
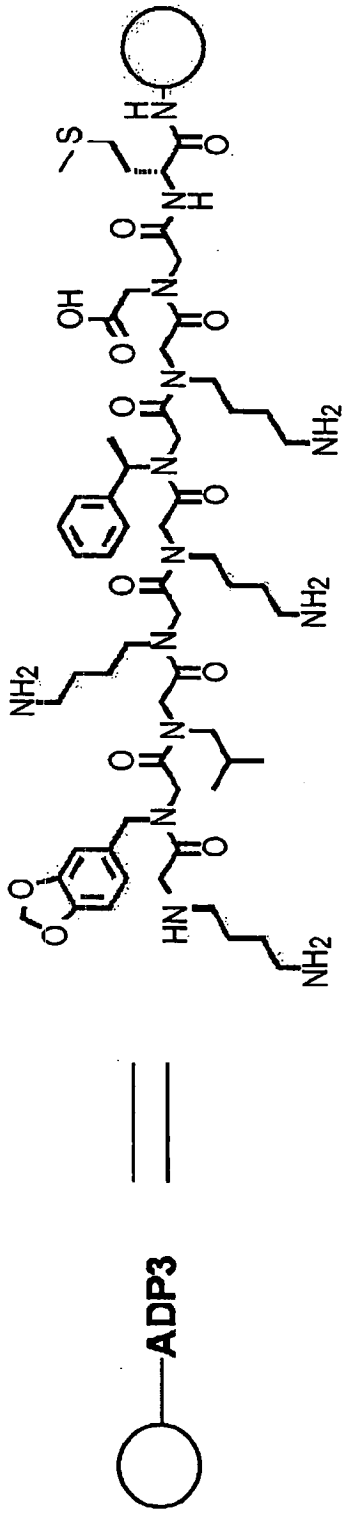


圖 44

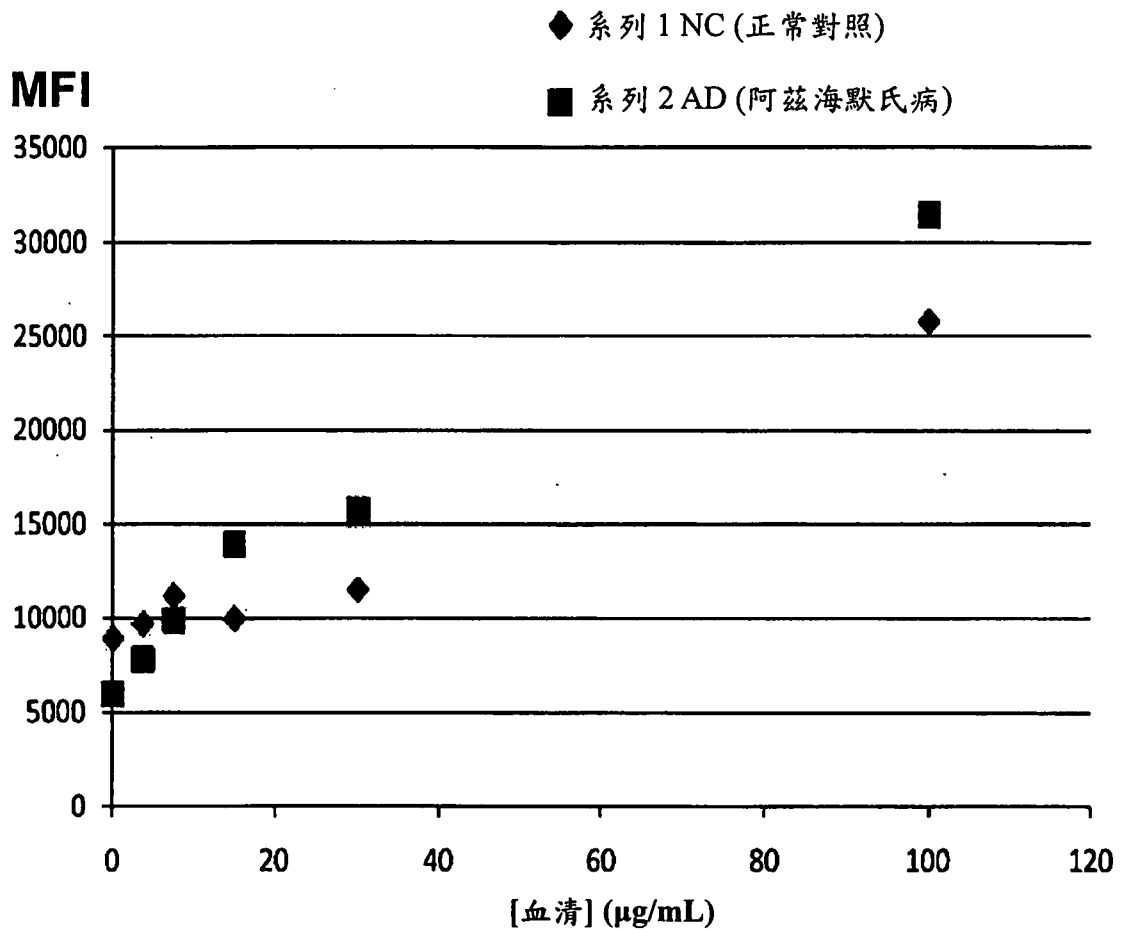
10 μm TentaGel 珠粒上之 ADP3 之製備



ADP3-直接 在 10 μm TentaGel 珠粒上合成並藉由 CNBr 解離

圖 45

來自正常對照及阿茲海默氏病血清之結合 ADP3 之自體抗體



將珠粒預封阻 3 hr
1XTBST+山羊抗人類 Alexa 647

[血清] (µg/mL)	0	3.75	7.5	15	30	100
NC	8956	9732	11195	9992	11516	25772
AD	6023	7841	9896	13928	15713	31489

圖 46

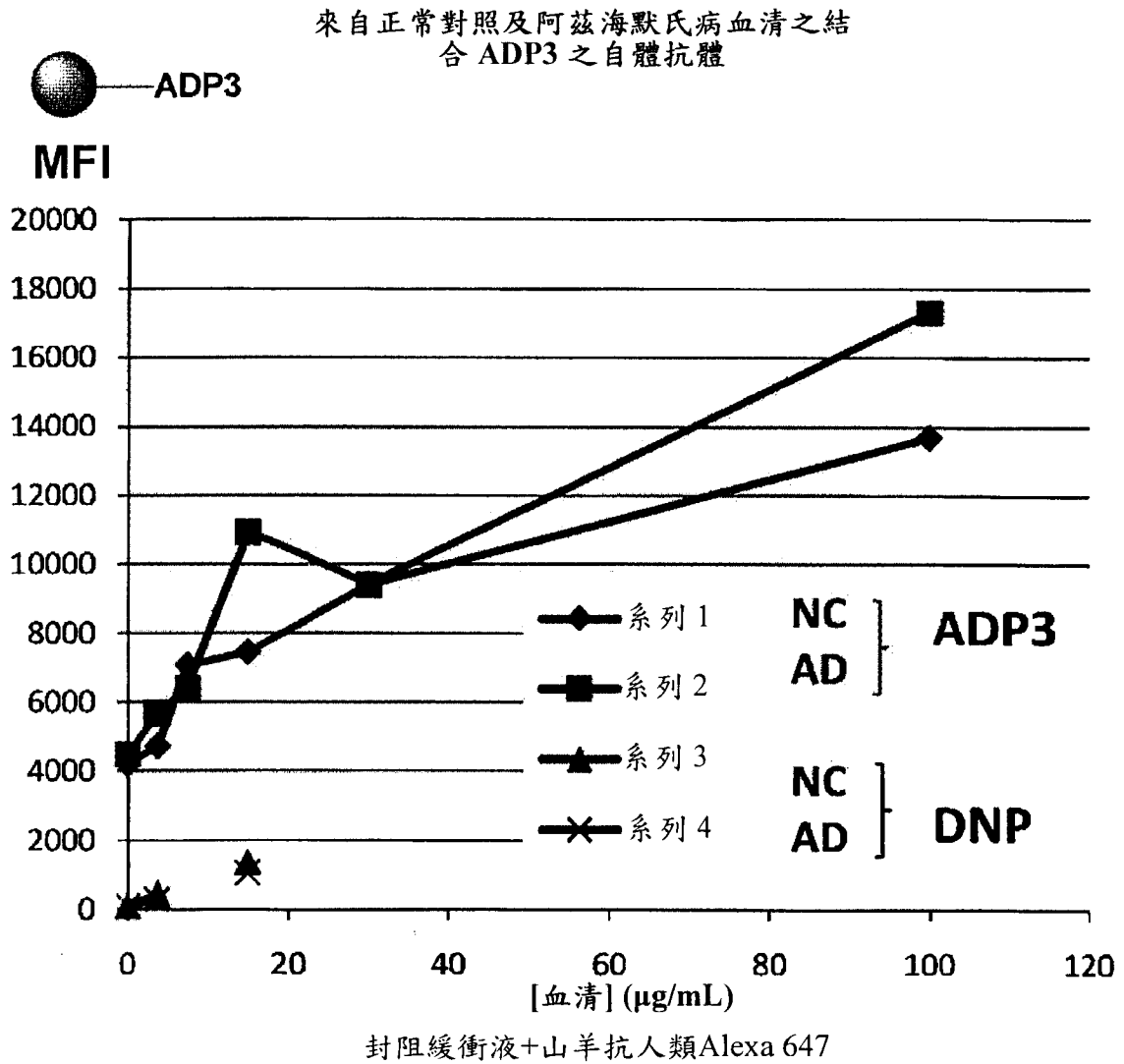
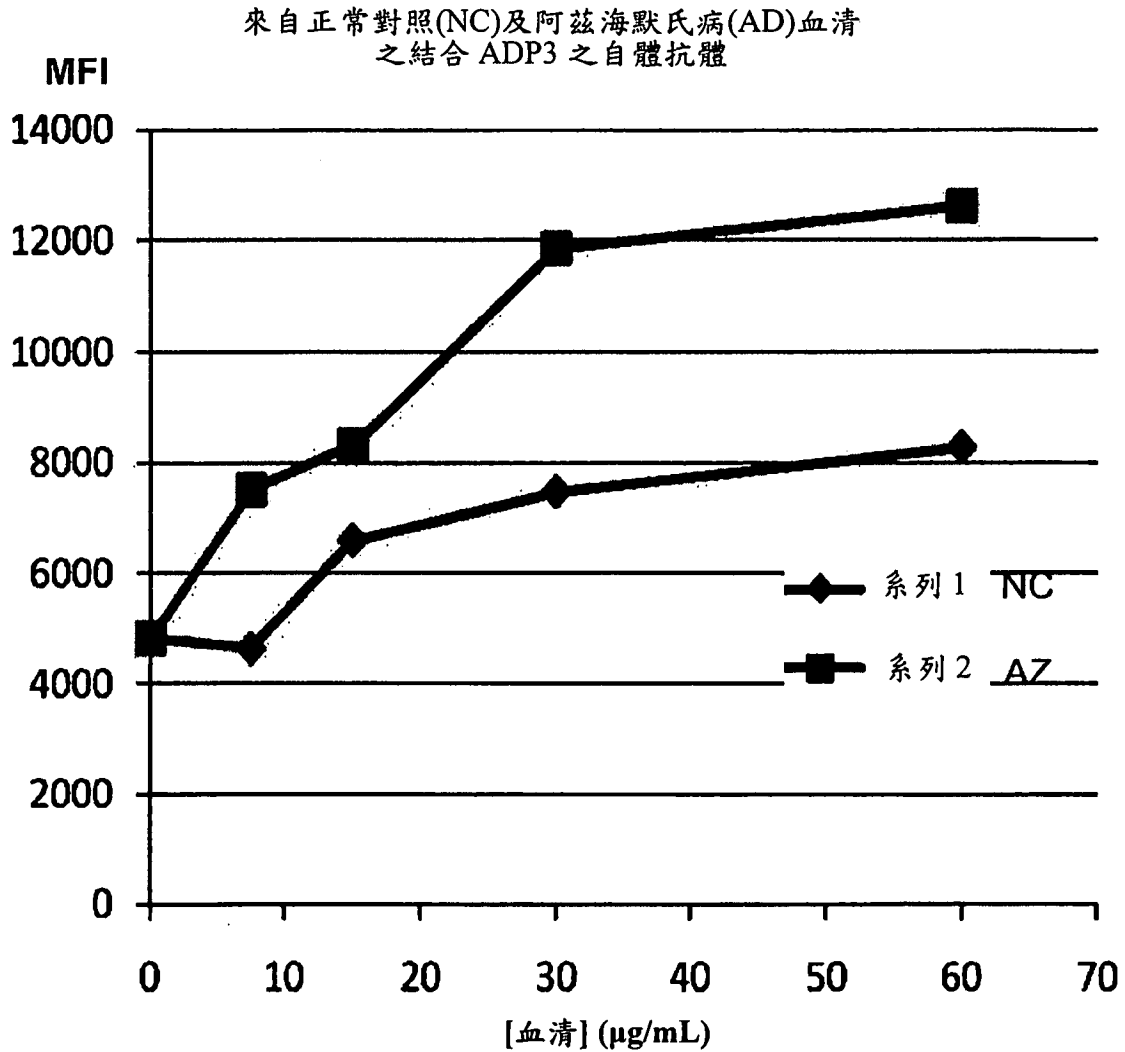


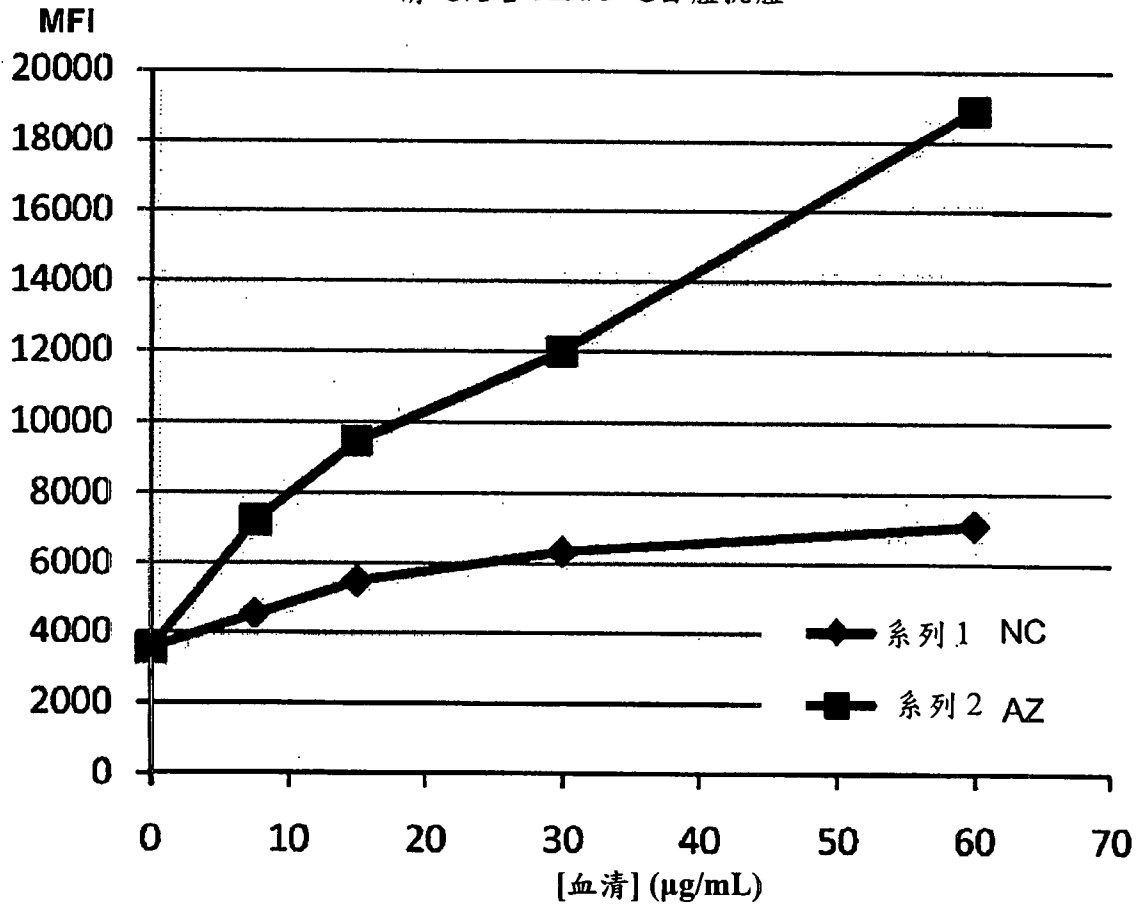
圖 47



1. 於埃希氏大腸桿菌裂解物+ 0.5%離胺酸中預封阻 3 hr
2. 封阻緩衝液+山羊抗人類 Alexa 647

圖 48

來自正常對照(NC)及阿茲海默氏病(AD)血清之結合 ADP3 之自體抗體



1. 於埃希氏大腸桿菌裂解物+1%離胺酸中預封阻 3 hr
2. 封阻緩衝液+山羊抗人類 Alexa 647

圖 49

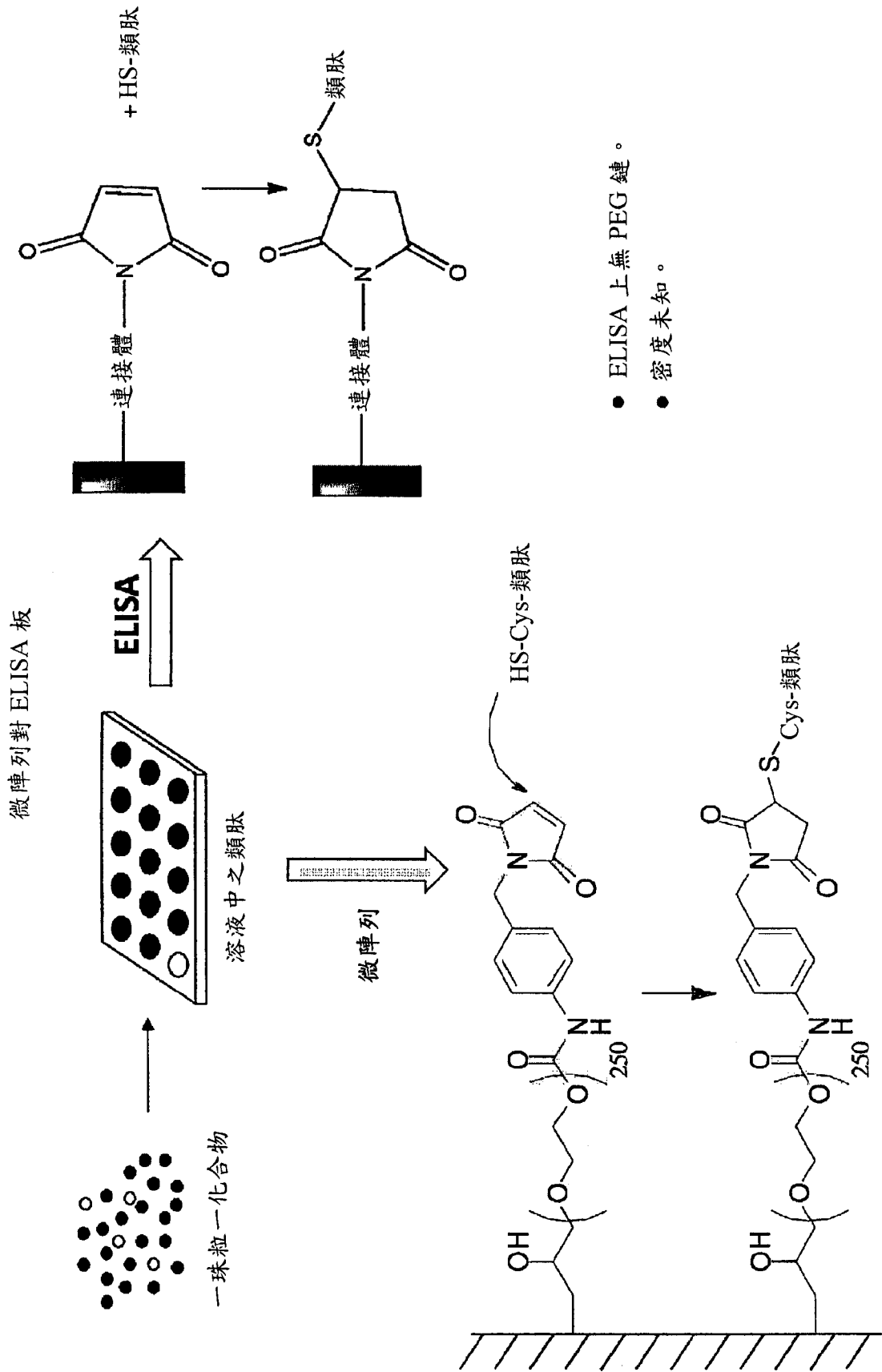
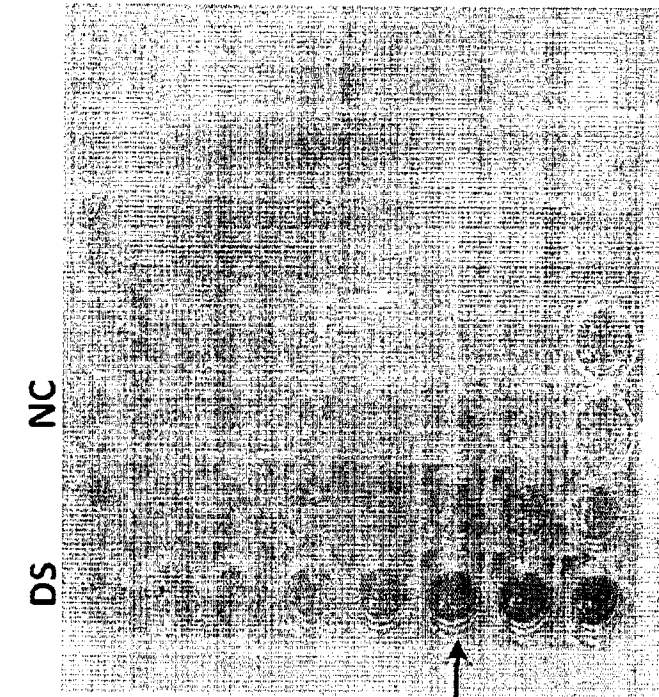
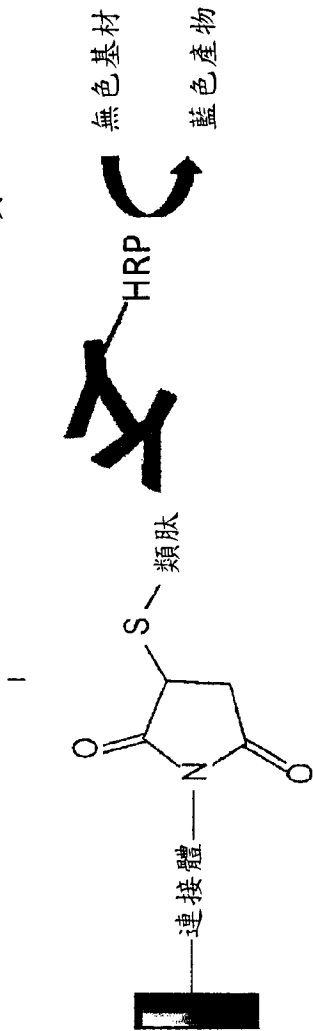
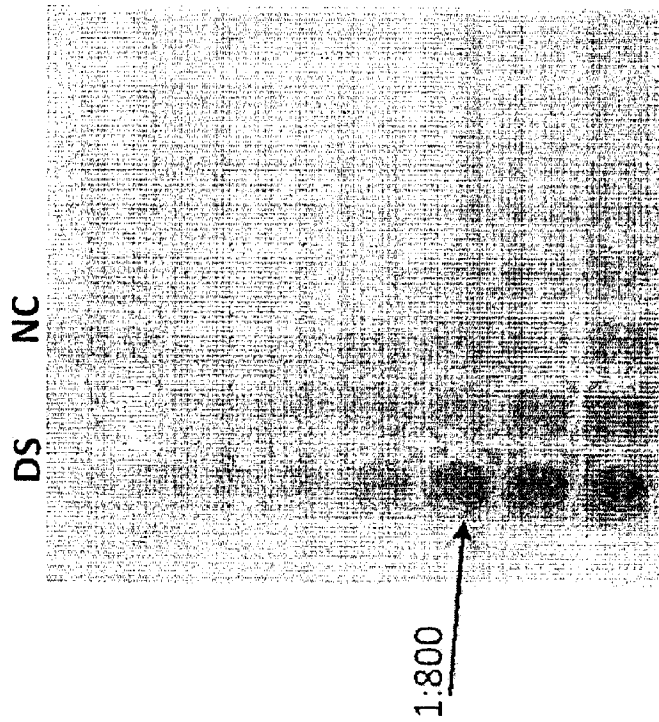


圖 50

ELISA 實驗



實驗 2



實驗 1

圖 51

滴定數據-臨床診斷與 Opko 測試之間一致

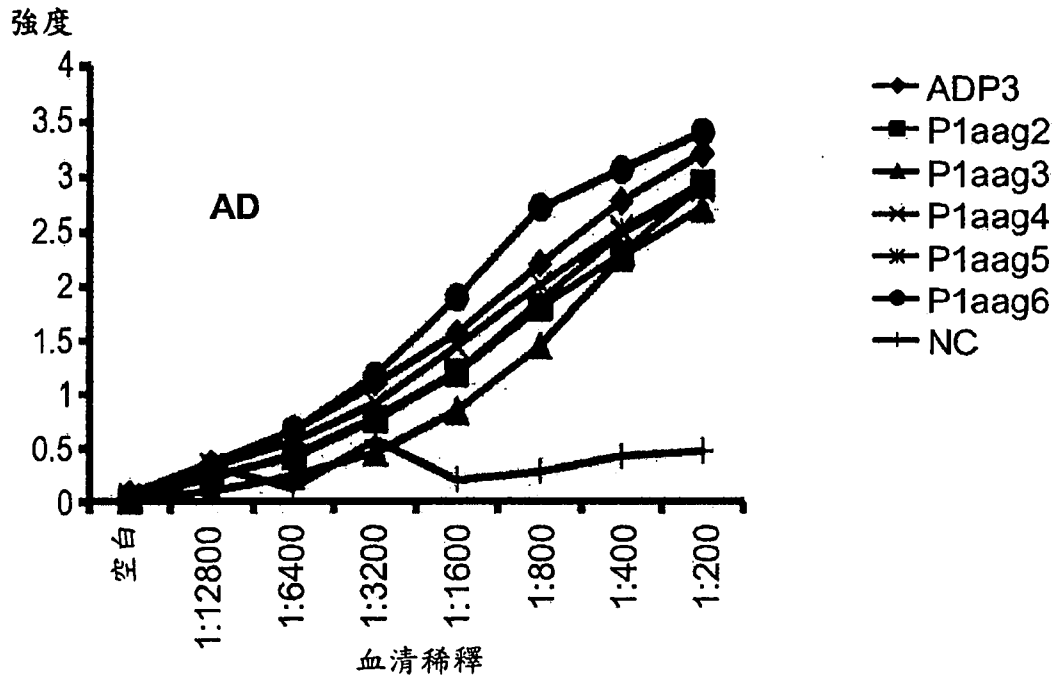


圖 52A

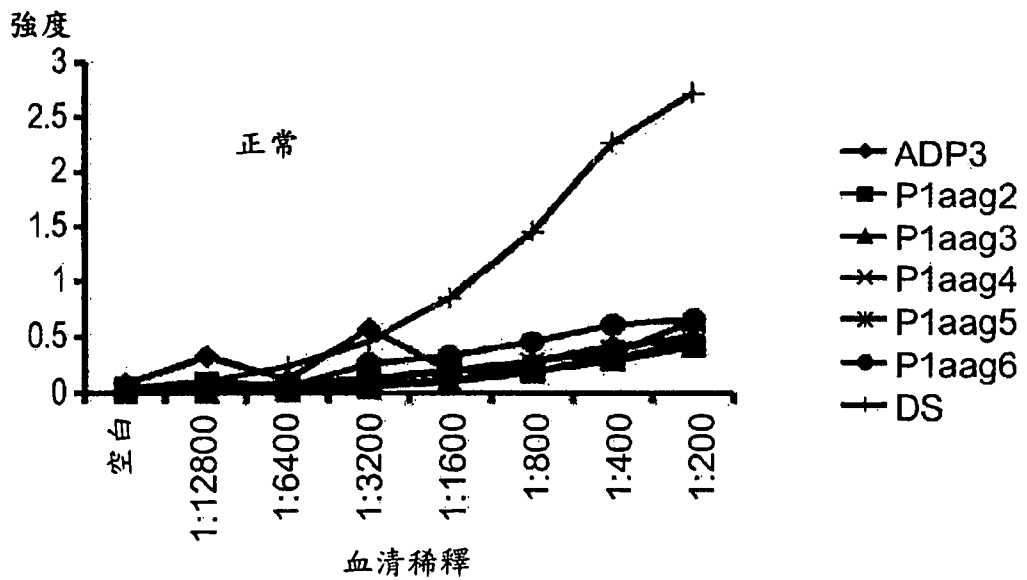


圖 52B

ELISA 平臺上之 ADP3 之驗證

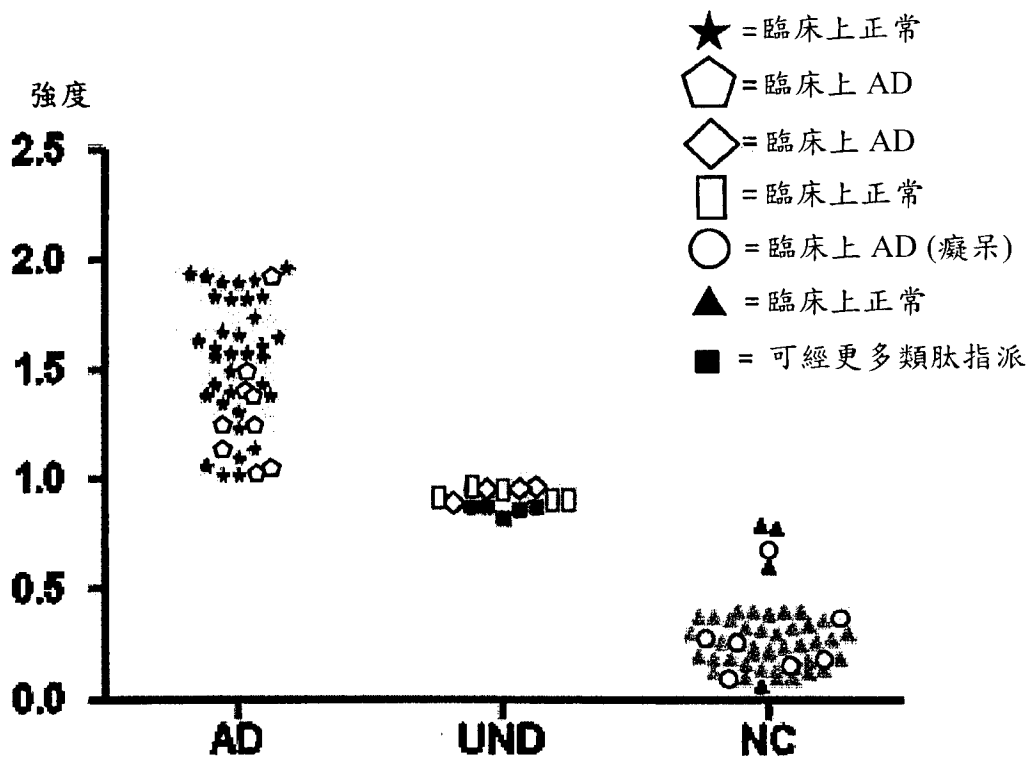


圖 53

ELISA 平臺上作為阿茲海默氏病之選擇性標記的類肽 (P1aag1-9) 之驗證

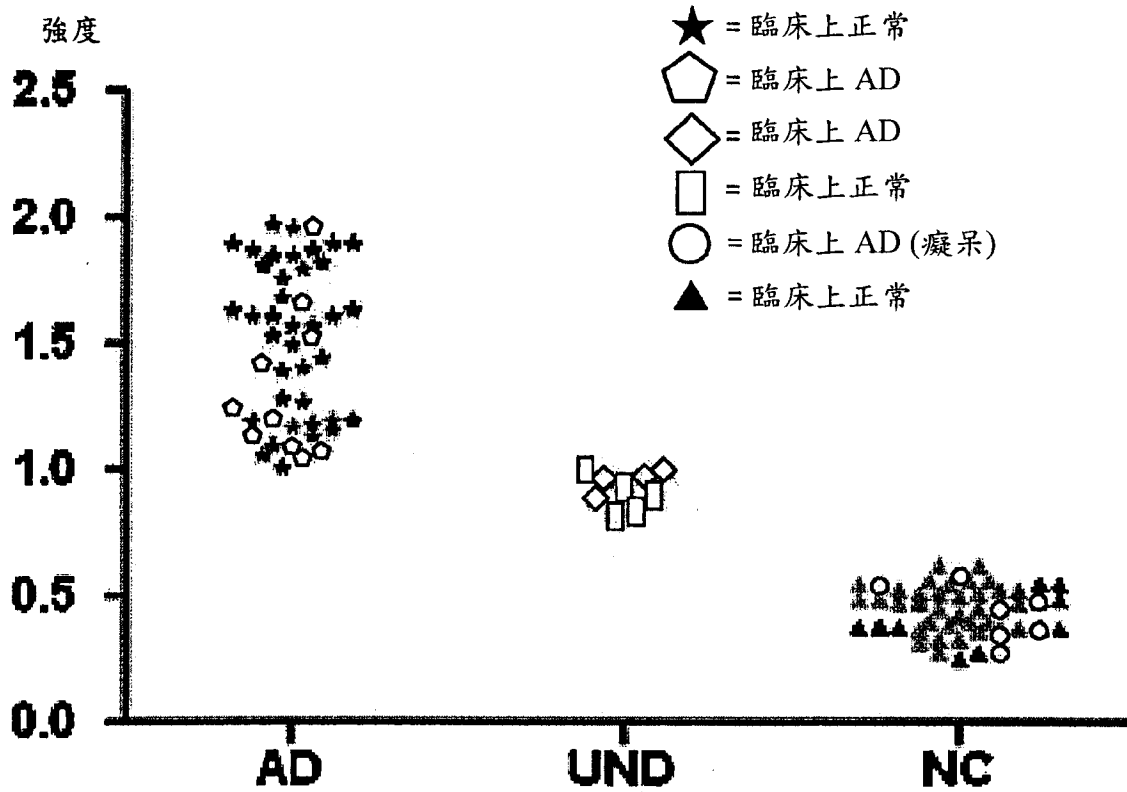


圖 54

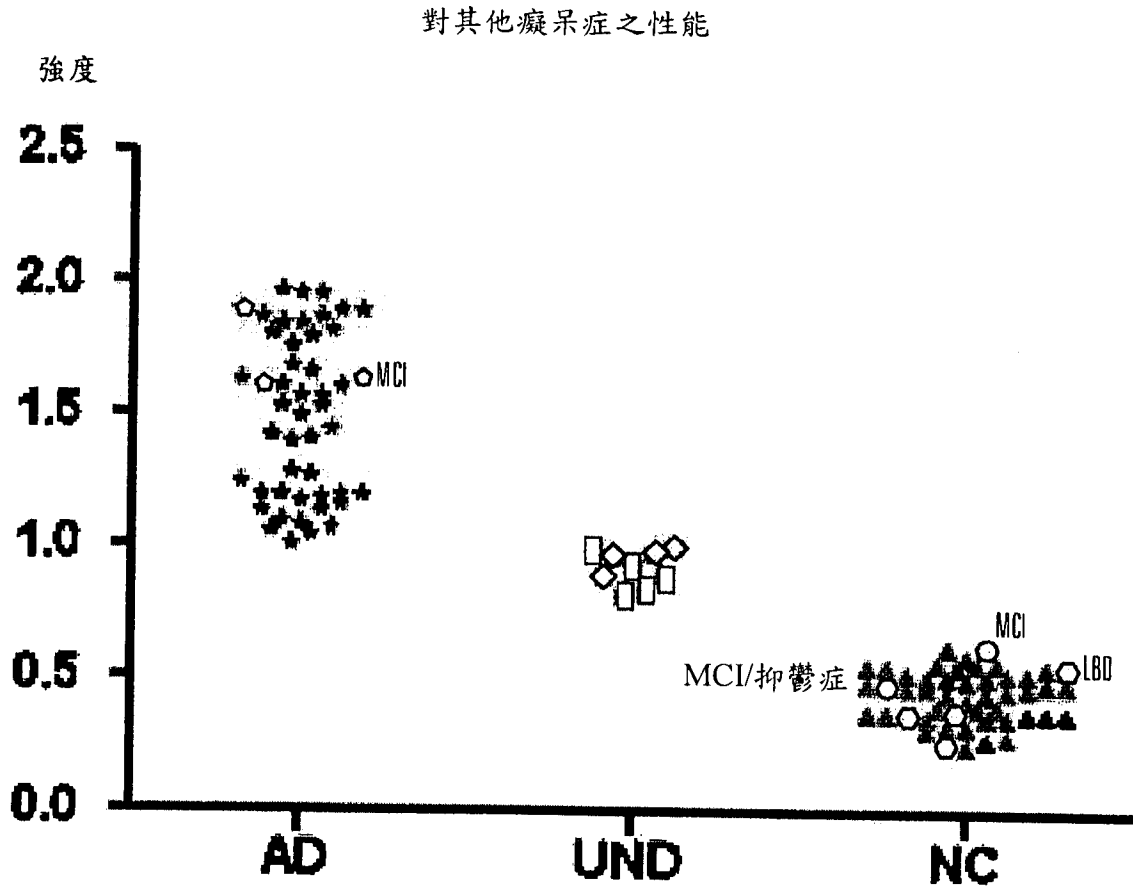
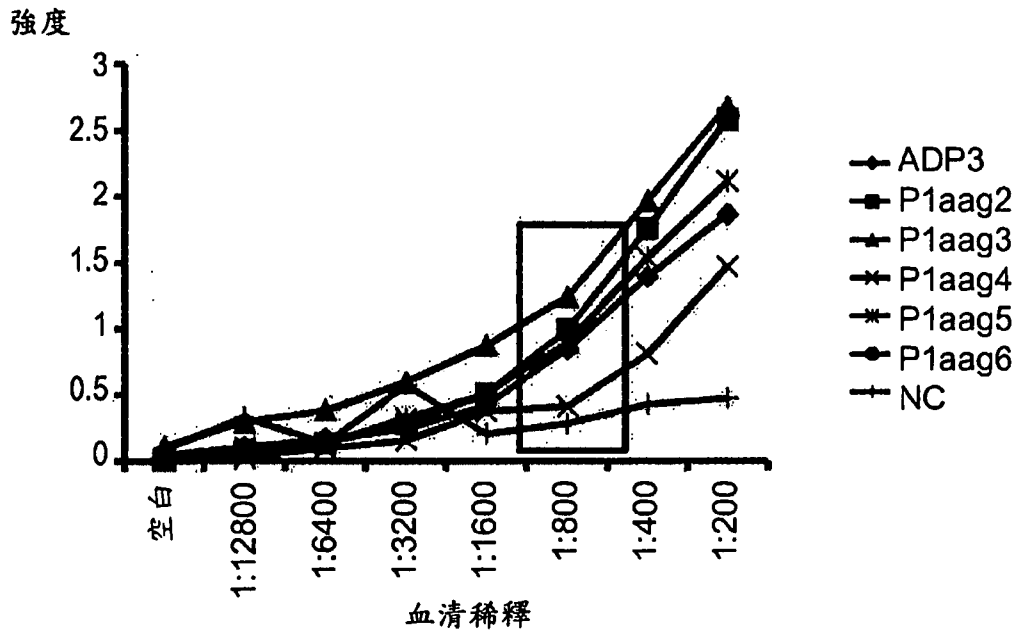


圖 55

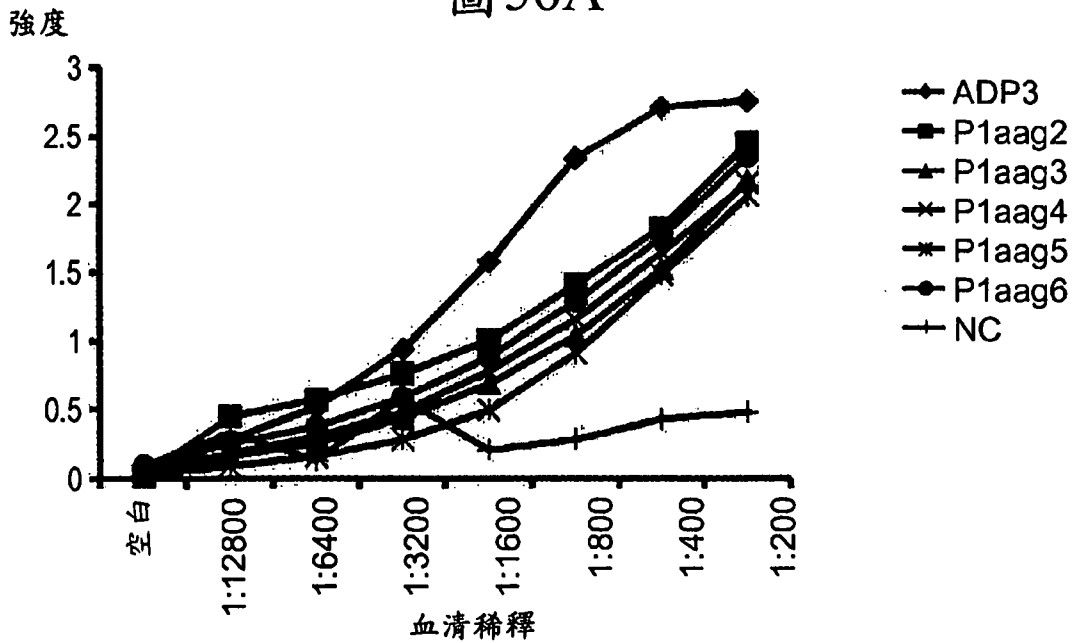
臨床診斷與 Opko 測試之間不一致



臨床上患病

Opko：單一點下 UND。滴定：AD

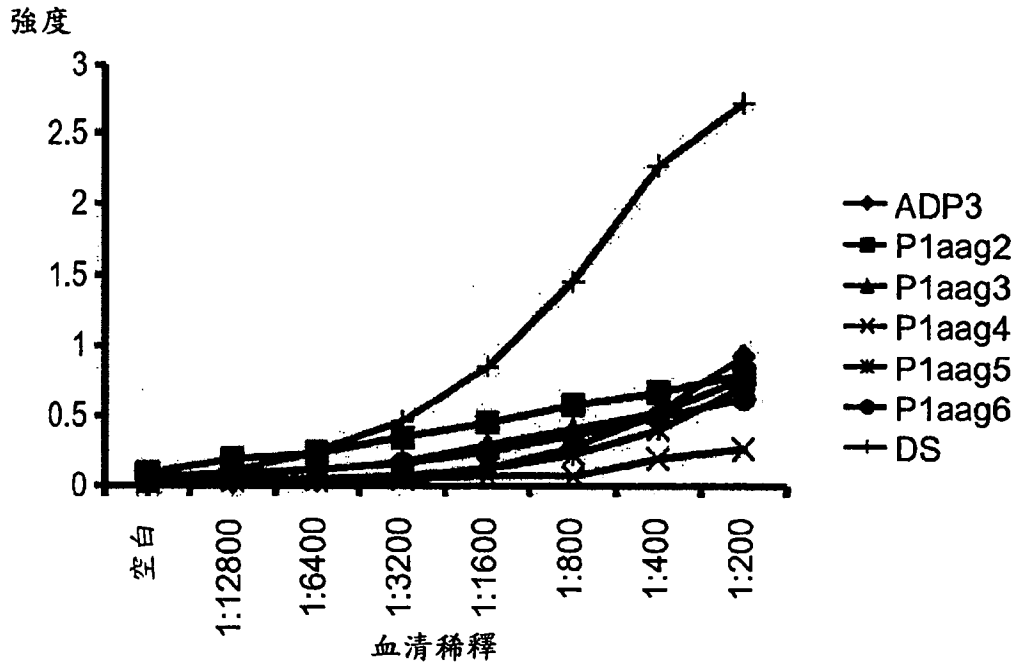
圖 56A



臨床上正常(非癡呆)

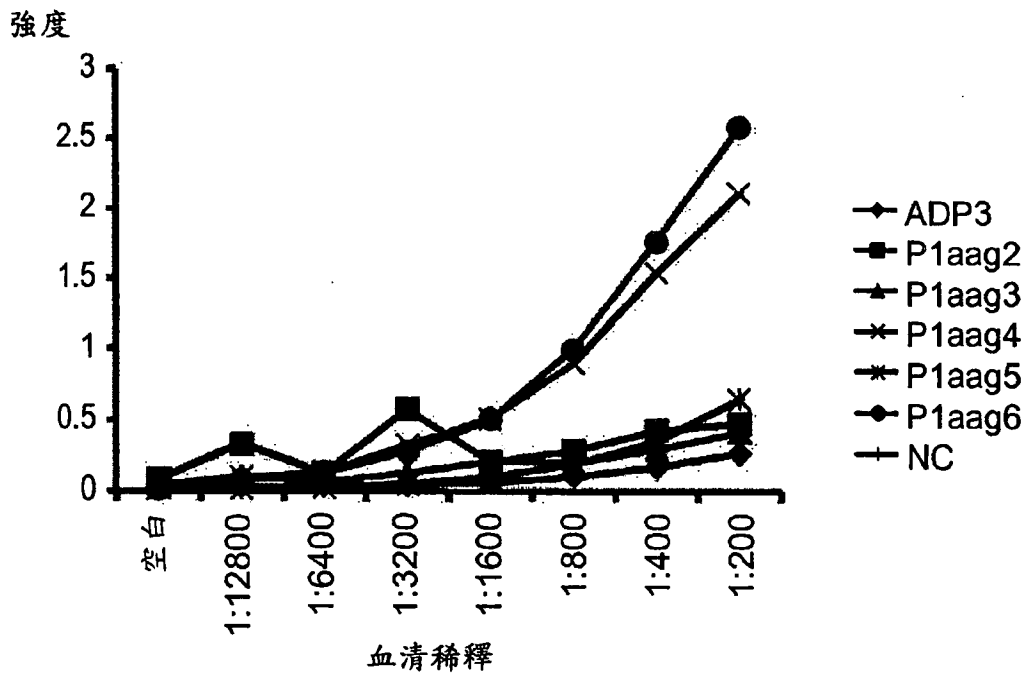
Opko：即使在單一點下預 AD

圖 56B



臨床上 AD (癡呆)
Opko : 並非AD。應為其他癡呆症

圖 56C



臨床上 AD
Opko : 於單一點下 UND。即使滴定後亦 UND。

圖 56D

剩餘部分：血清+微陣列

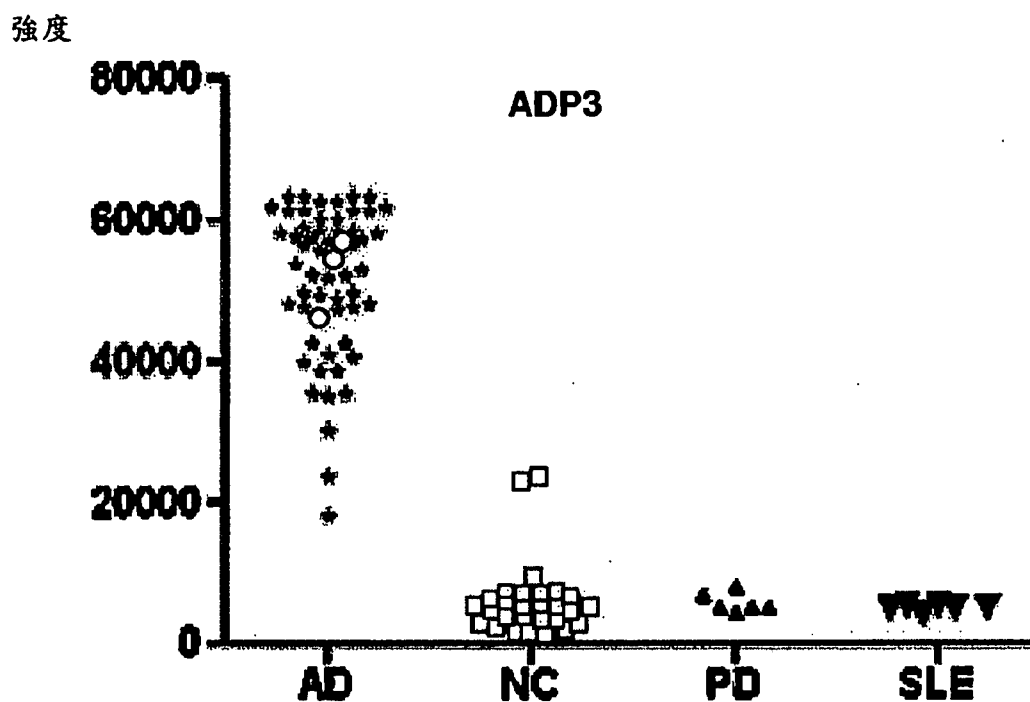


圖 57

ELISA 分析之概述

總測試血漿試樣= 106

臨床診斷	吾人之預測	差別
49 名阿茲海默氏病	42	7 (14%)
57 名正常	47	10 (17%)

圖 58

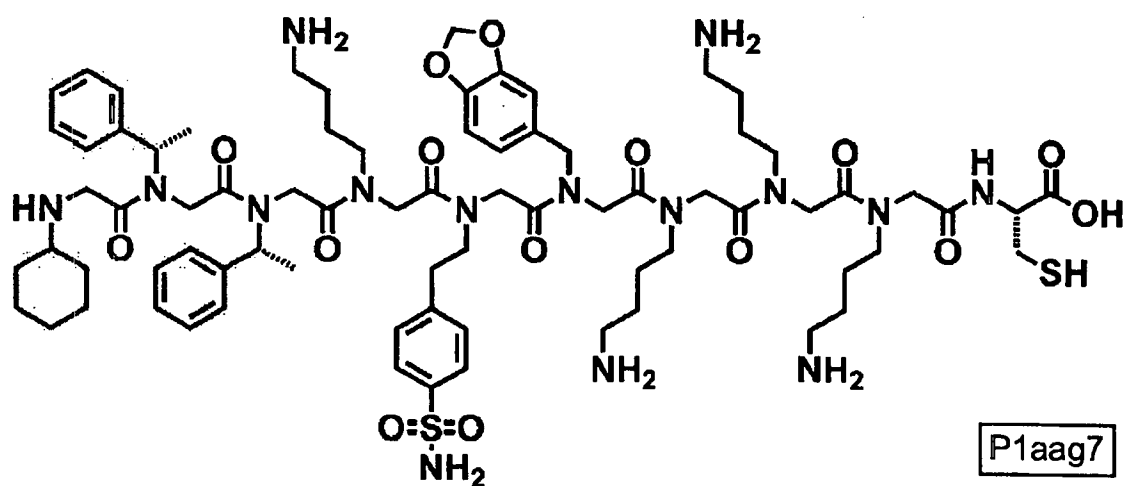


圖 59A

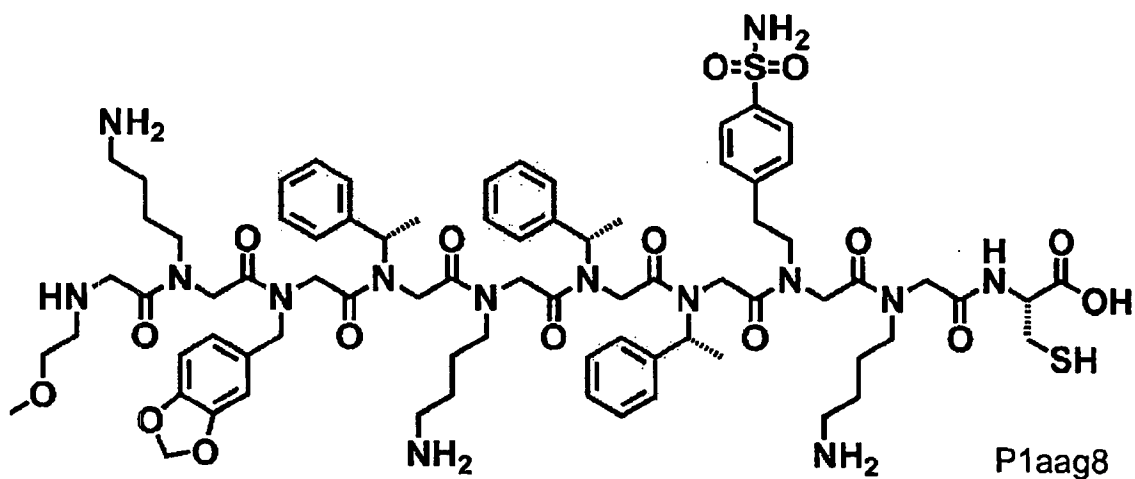


圖 59B

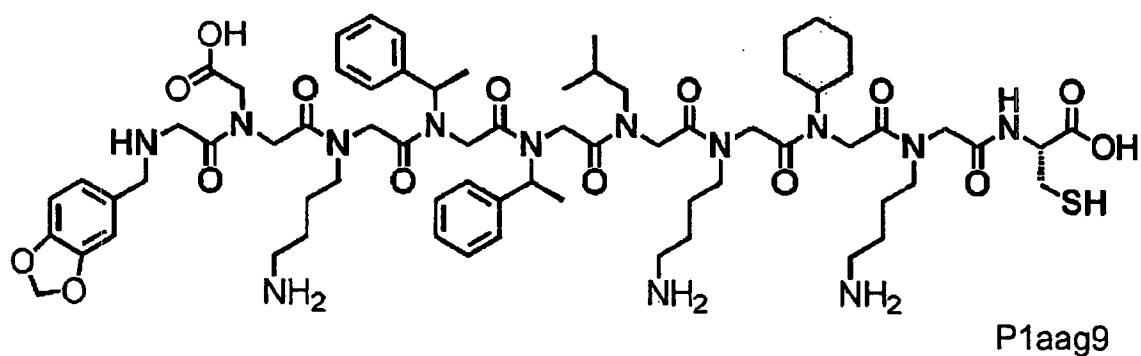


圖 59C

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(6)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

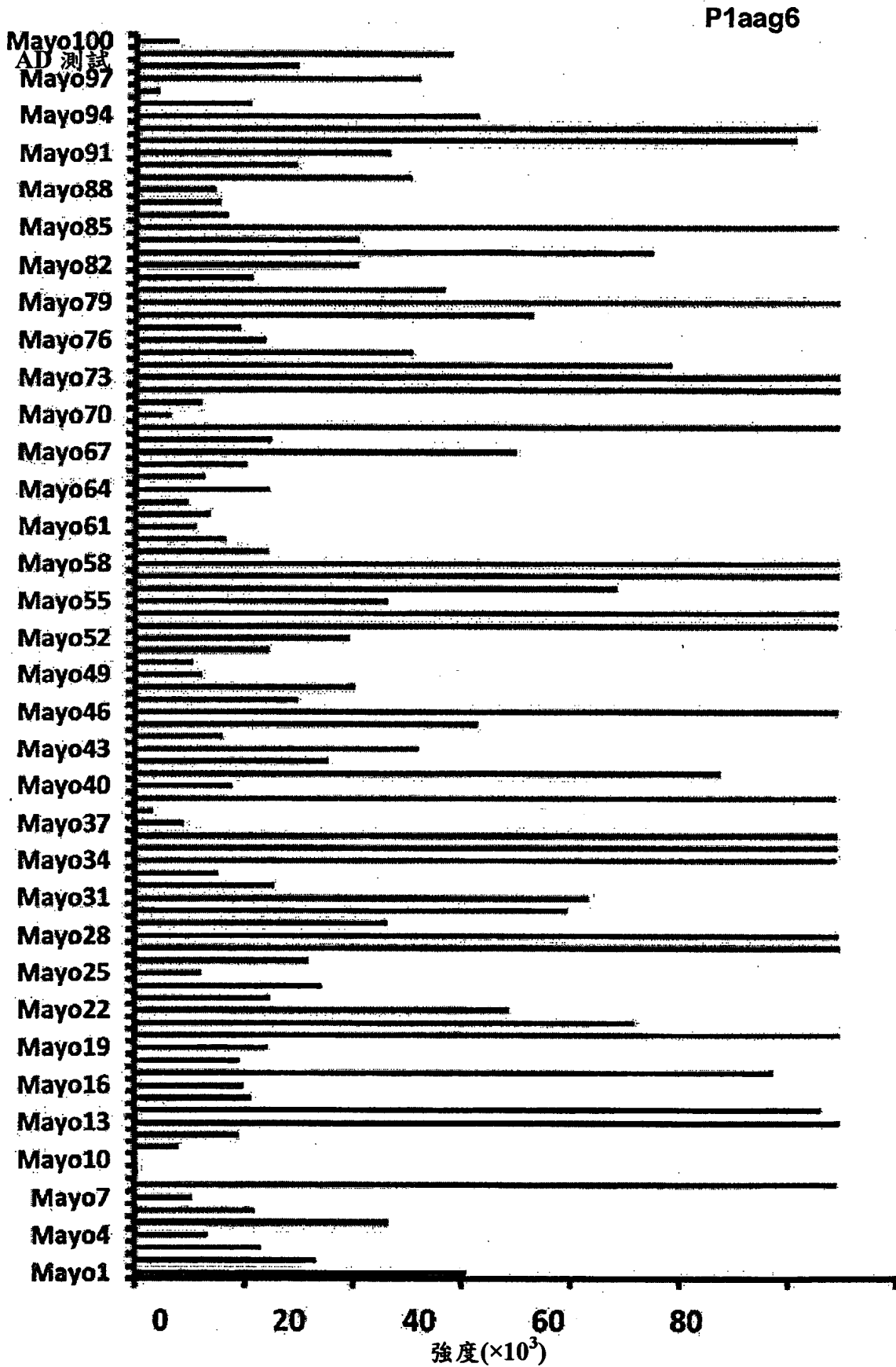


圖 18B

修正
補充
101年10月19日

ADP2

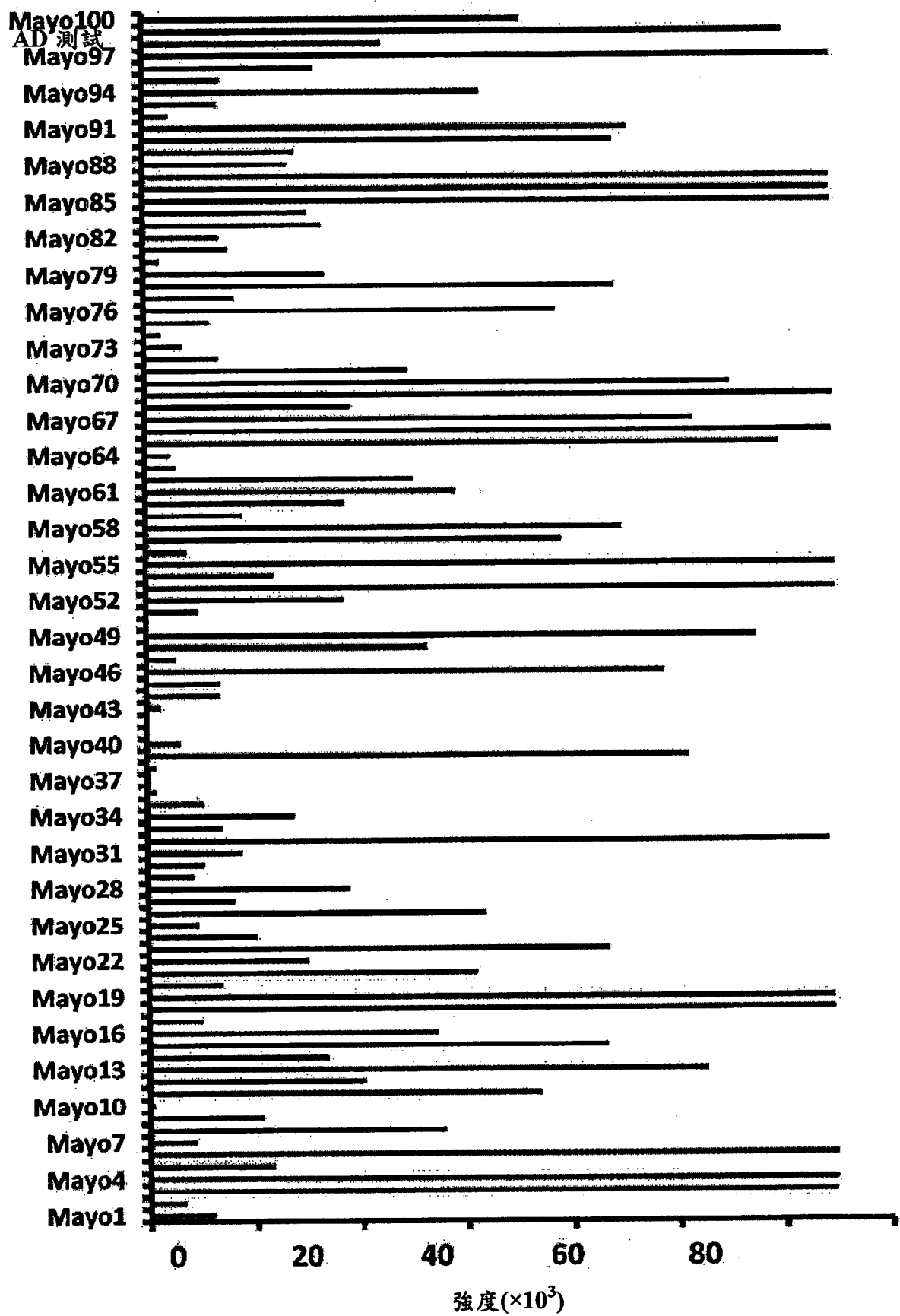


圖 19A