I825834

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 (11)證書號數：TW I825834 B

(45)公告日： 中華民國 112 (2023) 年 12 月 11 日

(21)申請案號：111125421 (22)申請日： 中華民國 106 (2017) 年 03 月 02 日

(51)Int. Cl.： *A61K47/68 (2017.01)* *A61K31/357 (2006.01)*
A61K39/395 (2006.01) *C07K16/28 (2006.01)*
C07K16/32 (2006.01) *A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2016/03/02 美國 62/302,562

(71)申請人：日商衛材 R&D 企管股份有限公司 (日本) EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD. (JP)
日本

(72)發明人：艾爾本 厄爾 F ALBONE, EARL F. (US)；鄭 新 CHENG, XIN (US)；古內惠司 FURUUCHI, KEIJI (JP)；上中俊光 UENAKA, TOSHIMITSU (JP)；卡斯特 丹尼爾 W CUSTAR, DANIEL W. (US)；李 靜 LI, JING (US)；馬將德 烏特帕爾 MAJUMDER, UTPAL (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

US 5622929 US 5874064
US 8586714B2 US 2014/0037617A1
WO 2014/089335A2

審查人員：張榮興

申請專利範圍項數：33 項 圖式數：23 共 483 頁

(54)名稱

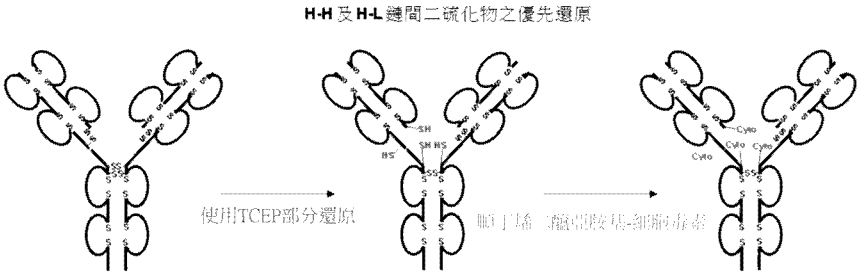
基於艾日布林之抗體-藥物結合物及使用方法

(57)摘要

本發明揭示結合於諸如葉酸受體 α 之人類腫瘤學抗原標靶及/或提供抗微管蛋白藥物活性之連接子毒素及抗體-藥物結合物。該等連接子毒素及抗體-藥物結合物包含艾日布林藥物部分且可內化至表現標靶抗原之細胞。本發明進一步關於用於治療癌症之方法及組合物，其藉由投與本文提供之抗體-藥物結合物。

Linker toxins and antibody-drug conjugates that bind to human oncology antigen targets such as folate receptor alpha and/or provide anti-tubulin drug activity are disclosed. The linker toxins and antibody-drug conjugates comprise an eribulin drug moiety and can be internalized into target antigen-expressing cells. The disclosure further relates to methods and compositions for use in the treatment of cancer by administering the antibody-drug conjugates provided herein.

指定代表圖：



【圖1】

專利案號：111125421
原申請案號：106106901
I825834

公告本
分割案

【發明摘要】

【中文發明名稱】

基於艾日布林之抗體-藥物結合物及使用方法

【英文發明名稱】

ERIBULIN-BASED ANTIBODY-DRUG CONJUGATES AND METHODS OF USE

【中文】

本發明揭示結合於諸如葉酸受體α之人類腫瘤學抗原標靶及/或提供抗微管蛋白藥物活性之連接子毒素及抗體-藥物結合物。該等連接子毒素及抗體-藥物結合物包含艾日布林藥物部分且可內化至表現標靶抗原之細胞。本發明進一步關於用於治療癌症之方法及組合物，其藉由投與本文提供之抗體-藥物結合物。

【英文】

Linker toxins and antibody-drug conjugates that bind to human oncology antigen targets such as folate receptor alpha and/or provide anti-tubulin drug activity are disclosed. The linker toxins and antibody-drug conjugates comprise an eribulin drug moiety and can be internalized into target antigen-expressing cells. The disclosure further relates to methods and compositions for use in the treatment of cancer by administering the antibody-drug conjugates provided herein.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

基於艾日布林之抗體-藥物結合物及使用方法

【英文發明名稱】

ERIBULIN-BASED ANTIBODY-DRUG CONJUGATES AND METHODS OF USE

【技術領域】

本發明係關於結合諸如葉酸受體α之人類腫瘤學抗原標靶及/或提供抗微管蛋白藥物活性之抗體藥物結合物(ADC)。本發明進一步關於可用於治療及診斷表現葉酸受體α及/或藉由破壞微管蛋白可治療之癌症的方法及組合物。

【先前技術】

癌症為全世界致病率及死亡率之主要原因之一，其中2012年大約1400萬例新病例及820萬例癌症相關死亡。癌症死亡之最常見原因為以下癌症：肺癌(159萬例死亡)；肝癌(745,000例死亡)；胃癌(723,000例死亡)；結腸直腸癌(694,000例死亡)；乳癌(521,000例死亡)；及食管癌(400,000例死亡)。預計新癌症病例之數目在未來二十年間上升約70%，每年達大約2200萬個新癌症病例(World Cancer Report 2014)。

微管為與包括細胞內遷移及轉運、細胞信號傳導及維持晶胞形狀之多種細胞功能相關的有力細絲狀細胞骨架蛋白質。微管亦在有絲分裂細胞分裂中藉由形成染色體分成兩個子細胞所需之有絲分裂紡錘體而起關鍵作用。所有細胞中微管之生物功能大部分由其聚合動力學調節，此藉由α及β微管蛋白二聚物可逆、非共價添加在微管兩端進行。此動力學行為及所產生之對微管長度之控制為有絲分裂紡錘體之適當

功能所不可缺少的。甚至微管動力學之微小改變亦可牽涉軸檢查點，抑制有絲分裂時細胞週期進展，且隨後引起細胞死亡(Mukhtar等人(2014) Mol. Cancer Ther. 13:275-84)。由於其快速細胞分裂，所以與正常細胞相比，癌細胞一般對結合於微管蛋白且破壞其正常功能之化合物更敏感。出於此理由，微管蛋白抑制劑及其他靶向微管之藥劑有望成為治療癌症之類別藥物(Dumontet及Jordan (2010) Nat. Rev. Drug Discov. 9:790-803)。

葉酸受體α (FRA)為一種結合葉酸鹽之經甘油磷脂醯肌醇(GPI)連接之膜蛋白。雖然未充分瞭解FRA在正常及癌組織之生物學中之作用，但其在高百分比之上皮細胞來源之卵巢癌上(O'Shannessy等人(2013)Int. J. Gynecol. Pathol. 32(3):258-68)，以及在一定百分比之非小細胞肺癌中(Christoph等人(2014)Clin. Lung Cancer15(5):320-30)過度表現。FRA在正常組織中亦具有有限表現。此等特性使得FRA成為癌症免疫療法之吸引人之標靶。

原致癌基因人類表皮生長因子受體2 (*HER 2*)編碼屬於人類表皮生長因子受體(EGFR)家族之跨膜酪胺酸激酶受體(King等人(1985) Science 229:974-6)。HER 2之過度表現能夠基本上活化生長因子信號傳導路徑，諸如PI3K-AKT-mTOR路徑，因此用作若干類型癌症(包括接近20%侵襲性乳癌)之致瘤驅動因子(Slamon等人(1989) Science 244:707-12；Gajria及Chandarlapaty (2011) Expert Rev. Anticancer Ther. 11:263-75)。鑑於HER 2擴增介導轉型之表現型，HER 2為癌症治療之另一有希望之標靶。

【發明內容】

本發明部分提供具有針對腫瘤細胞之生物活性的新穎化合物。化

合物可抑制哺乳動物中腫瘤生長，且可用於治療人類癌症患者。

更特定而言，本發明係關於能夠結合、內化及殺死腫瘤細胞(例如表現FRA之腫瘤細胞)之抗體-藥物結合物化合物。揭示包含將藥物部分附接於抗體部分之連接子的抗體-藥物結合物化合物。抗體-藥物結合物(ADC)化合物可由式I表示：

$Ab\text{-}(L\text{-}D)_p$ (I)

其中Ab為靶向腫瘤細胞之內化抗體或其內化抗原結合片段；

D為艾日布林；

L為將Ab共價附接於D之可裂解連接子；且

*p*為整數1至20。

在一些實施例中，連接子在細胞外穩定，使得ADC在存在於細胞外環境中時保持完整，但在例如癌細胞之細胞中內化時能夠裂解。在一些實施例中，當ADC進入表現對ADC之抗體部分具有特異性之抗原的細胞時，艾日布林藥物部分自抗體部分裂解，且裂解釋放艾日布林之未修飾形式。在一些實施例中，連接子包含經安置以使得連接子或抗體部分中無部分在裂解後保持結合於艾日布林藥物部分之可裂解部分。

在一些實施例中，連接子中之可裂解部分為可裂解肽部分。在一些實施例中，相對於包含替代可裂解部分之ADC，包含可裂解肽部分之ADC顯示較低聚集水準，改善之抗體:藥物比率，增加之癌細胞之靶向殺死，減少之非癌細胞之脫靶殺死，及/或較高藥物負載(*p*)。在一些實施例中，相對於不可裂解之連接子，添加可裂解部分增加細胞毒性及/或效力。在一些實施例中，增加之效力及/或細胞毒性係在表現中等水準之由ADC之抗體部分靶向之抗原(例如中等FRA表現)的癌

症中。在一些實施例中，可裂解之肽部分可藉由酶裂解，且連接子為酶可裂解之連接子。在一些實施例中，酶為組織蛋白酶，且連接子為組織蛋白酶可裂解之連接子。在某些實施例中，與替代分裂機制相比，酶可裂解之連接子(例如組織蛋白酶可裂解之連接子)顯示上述改善特性中之一者或多者。

在一些實施例中，連接子中之可裂解肽部分包含胺基酸單元。在一些實施例中，胺基酸單元包含纈胺酸-瓜胺酸(Val-Cit)。在一些實施例中，相對於包含替代胺基酸單元或替代可裂解部分之ADC，包含Val-Cit之ADC顯示增加穩定性，減少脫靶細胞殺死，增加靶向細胞殺死，較低聚集水準，及/或較高藥物負載。

在一些實施例中，連接子包含至少一種將抗體部分接合於可裂解部分之間隔子單元。在一些實施例中，連接子中之間隔子單元可包含至少一種聚乙二醇(PEG)部分。PEG部分可例如包含-$(PEG)_m$-，其中m為整數1至10。在一些實施例中，連接子中之間隔子單元包含$(PEG)_2$。在一些實施例中，儘管連接子長度較短，但相對於包含較長間隔子單元(例如$(PEG)_8$)之ADC，包含較短間隔子單元(例如$(PEG)_2$)之ADC顯示較低聚集水準及/或較高藥物負載。

在一些實施例中，連接子中之間隔子單元經由順丁烯二醯亞胺部分(Mal)附接於ADC之抗體部分。在一些實施例中，相對於包含經由替代部分附接於抗體部分之連接子的ADC，包含經由Mal附接於抗體部分之連接子之ADC顯示較高藥物負載。在一些實施例中，連接子中之Mal與抗體部分上之半胱胺酸殘基反應。在一些實施例中，連接子中之Mal經由半胱胺酸殘基接合於抗體部分。在一些實施例中，Mal-間隔子單元包含PEG部分。在一些實施例中，連接子包含Mal-

$(PEG)_m$，例如Mal-$(PEG)_2$。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_2$。在一些實施例中，Mal-間隔子單元將抗體部分附接於連接子中之可裂解部分。在一些實施例中，連接子中之可裂解部分為可裂解肽部分，例如胺基酸單元。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit。

在一些實施例中，連接子中之可裂解部分直接接合於ADC之艾日布林藥物部分，且可裂解部分直接連接於抗體部分或經由間隔子單元連接。在一些實施例中，間隔子單元亦將連接子中之可裂解部分附接於艾日布林藥物部分。在一些實施例中，將連接子中之可裂解部分附接於艾日布林藥物部分之間隔子單元為自消耗的。在一些實施例中，自消耗間隔子能夠釋放標靶細胞中之未改質之艾日布林。在一些實施例中，自消耗間隔子單元包含對胺基苯甲醇。在一些實施例中，自消耗間隔子單元包含對胺基苯甲氧基羰基(pAB)。在一些實施例中，連接子中之pAB將可裂解部分附接於艾日布林藥物部分。在一些實施例中，可裂解部分為可裂解肽部分，例如胺基酸單元。在一些實施例中，連接子包含Val-Cit-pAB。在一些實施例中，連接子包含Val-Cit-pAB及經由Mal將連接子接合於抗體部分之PEG間隔子單元。

在一些實施例中，p為整數1至6、2至5或較佳3至4。在一些實施例中，p為4。在一些實施例中，提供一組ADC，且該組中之平均p為約4 (例如3.5-4.5，諸如約3.8)。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB且p為4。在一些實施例中，提供一組ADC，其中各ADC包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB連接子，且該組中平均p為約4 (例如3.5-4.5，諸如約3.8)。

在一些實施例中，ADC之內化抗體或內化抗原結合片段(Ab或Ab部分)為抗葉酸受體α (FRA)抗體或內化抗體片段，且可結合表現FRA之腫瘤細胞(亦即ADC靶向表現FRA之細胞)。在一些實施例中，相對於不可裂解連接子或替代裂解機制，包含抗FRA Ab部分及可裂解肽部分之ADC顯示較低聚集水準，改善之抗體:藥物比率，增加之癌細胞之靶向殺死，減少之非癌細胞之脫靶殺死，較高藥物負載(p)，增加之細胞毒性及/或效力。在一些實施例中，增加之效力及/或細胞毒性係在表現中等水準之由ADC之抗體部分靶向之抗原(例如中等FRA表現)的癌症中。在一些實施例中，可裂解之肽部分可藉由酶裂解，且連接子為酶可裂解之連接子。在一些實施例中，酶為組織蛋白酶，且連接子為組織蛋白酶可裂解之連接子。在某些實施例中，與替代分裂機制相比，酶可裂解之連接子(例如組織蛋白酶可裂解之連接子)顯示上述改善特性中之一者或多者。在一些實施例中，連接子為Mal-$(PEG)_m$-Val-Cit-pAB。

在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段結合於葉酸受體α (FRA)且靶向表現FRA之腫瘤細胞。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含三個重鏈互補決定區(CDR)及三個輕鏈CDR，其中重鏈CDR包含由SEQ ID NO:2組成之重鏈CDR1、由SEQ ID NO:3組成之重鏈CDR2及由SEQ ID NO:4組成之重鏈CDR3；且三個輕鏈CDR包含由SEQ ID NO:7組成之輕鏈CDR1、由SEQ ID NO:8組成之輕鏈CDR2及由SEQ ID NO:9組成之輕鏈CDR3 (如Kabat編號系統所定義)；或其中重鏈CDR包含由SEQ ID NO:13組成之重鏈CDR1、由SEQ ID NO:14組成之重鏈CDR2及由SEQ ID NO:15組成之重鏈CDR3；且輕鏈CDR包含由SEQ ID NO:16組成之輕鏈CDR1、由SEQ ID NO:17組

成之輕鏈CDR2及由SEQ ID NO:18組成之輕鏈CDR3 (如IMGT編號系統所定義)。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含人類構架序列。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含SEQ ID NO:23之重鏈可變域及SEQ ID NO:24之輕鏈可變域。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含人類IgG1重鏈恆定域及Igκ輕鏈恆定域。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段與包含SEQ ID NO:23之重鏈可變域及SEQ ID NO:24之輕鏈可變域之抗體競爭結合及/或結合相同抗原決定基。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段結合於包含丙胺酸-組胺酸-離胺酸-天冬胺酸(AHKD)之抗原決定基(SEQ ID NO:365) (O'Shannessy等人, (2011) Oncotarget 2:1227-43)。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段結合於包含NTSQEAHKDVSYL (SEQ ID NO: 366)之抗原決定基。

在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段為內化抗FRA抗體或內化抗原結合片段。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含三個重鏈CDR及三個輕鏈CDR，其中重鏈CDR包含由SEQ ID NO:2組成之重鏈CDR1、由SEQ ID NO:3組成之重鏈CDR2及由SEQ ID NO:4組成之重鏈CDR3；且三個輕鏈CDR包含由SEQ ID NO:7組成之輕鏈CDR1、由SEQ ID NO:8組成之輕鏈CDR2及由SEQ ID NO:9組成之輕鏈CDR3 (如Kabat編號系統所定義)；或其中重鏈CDR包含由SEQ ID NO:13組成之重鏈CDR1、由SEQ ID NO:14組成之重鏈CDR2及由SEQ ID NO:15組成之重鏈CDR3；且輕鏈CDR包含由SEQ ID NO:16組成之輕鏈CDR1、由SEQ ID NO:17組成之輕鏈CDR2及由SEQ ID NO:18組成之輕鏈CDR3 (如IMGT編號系統所定義)；連接子包含

Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB；且*p*為4。在一些實施例中，提供一組此類ADC，且*p*為約4 (例如約3.8)。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含SEQ ID NO:23之重鏈可變域及SEQ ID NO:24之輕鏈可變域。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含人類IgG1重鏈恆定域及Igκ輕鏈恆定域。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段與包含SEQ ID NO:23之重鏈可變域及SEQ ID NO:24之輕鏈可變域之抗體競爭結合及/或結合相同抗原決定基。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段結合於包含SEQ ID NO:365之抗原決定基。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段結合於包含SEQ ID NO:366之抗原決定基。

在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段結合於人類表皮生長因子受體2 (her 2)且靶向表現her 2之腫瘤細胞。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含三個重鏈互補決定區(CDR)及三個輕鏈CDR，其中重鏈CDR包含由SEQ ID NO:71組成之重鏈CDR1、由SEQ ID NO:72組成之重鏈CDR2及由SEQ ID NO:73組成之重鏈CDR3；且三個輕鏈CDR包含由SEQ ID NO:74組成之輕鏈CDR1、由SEQ ID NO:75組成之輕鏈CDR2及由SEQ ID NO:76組成之輕鏈CDR3 (如Kabat編號系統所定義)；或其中重鏈CDR包含由SEQ ID NO:191組成之重鏈CDR1、由SEQ ID NO:192組成之重鏈CDR2及由SEQ ID NO:193組成之重鏈CDR3；且輕鏈CDR包含由SEQ ID NO:194組成之輕鏈CDR1、由SEQ ID NO:195組成之輕鏈CDR2及由SEQ ID NO:196組成之輕鏈CDR3 (如IMGT編號系統所定義)。在一些實施例中，抗體或內化抗原結合片段包含人類構架序列。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含SEQ ID NO:27之重鏈可變域及SEQ

ID NO:28之輕鏈可變域。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含人類IgG1重鏈恆定域及Igκ輕鏈恆定域。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段與包含SEQ ID NO:27之重鏈可變域及SEQ ID NO:28之輕鏈可變域之抗體競爭結合及/或結合相同抗原決定基。

在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段為內化抗her 2抗體或內化抗原結合片段。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含三個重鏈CDR及三個輕鏈CDR，其中重鏈CDR包含由SEQ ID NO:71組成之重鏈CDR1、由SEQ ID NO:72組成之重鏈CDR2及由SEQ ID NO:73組成之重鏈CDR3；且三個輕鏈CDR包含由SEQ ID NO:74組成之輕鏈CDR1、由SEQ ID NO:75組成之輕鏈CDR2及由SEQ ID NO:76組成之輕鏈CDR3 (如Kabat編號系統所定義)；或其中重鏈CDR包含由SEQ ID NO:191組成之重鏈CDR1、由SEQ ID NO:192組成之重鏈CDR2及由SEQ ID NO:193組成之重鏈CDR3；且輕鏈CDR包含由SEQ ID NO:194組成之輕鏈CDR1、由SEQ ID NO:195組成之輕鏈CDR2及由SEQ ID NO:196組成之輕鏈CDR3 (如IMGT編號系統所定義)；連接子包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB；且p為4。在一些實施例中，提供一組此類ADC，且p為約4 (例如約3.8)。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含SEQ ID NO:27之重鏈可變域及SEQ ID NO:28之輕鏈可變域。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含人類IgG1重鏈恆定域及Igκ輕鏈恆定域。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段與包含SEQ ID NO:27之重鏈可變域及SEQ ID NO:28之輕鏈可變域之抗體競爭結合及/或結合相同抗原決定基。

在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段結合於間皮素(MSLN)且靶向表現MSLN之腫瘤細胞。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含三個重鏈互補決定區(CDR)及三個輕鏈CDR，其中重鏈CDR包含由SEQ ID NO:65組成之重鏈CDR1、由SEQ ID NO:66組成之重鏈CDR2及由SEQ ID NO:67組成之重鏈CDR3；且三個輕鏈CDR包含由SEQ ID NO:68組成之輕鏈CDR1、由SEQ ID NO:69組成之輕鏈CDR2及由SEQ ID NO:70組成之輕鏈CDR3 (如Kabat編號系統所定義)；或其中重鏈CDR包含由SEQ ID NO:185組成之重鏈CDR1、由SEQ ID NO:186組成之重鏈CDR2及由SEQ ID NO:187組成之重鏈CDR3；且輕鏈CDR包含由SEQ ID NO:188組成之輕鏈CDR1、由SEQ ID NO:189組成之輕鏈CDR2及由SEQ ID NO:190組成之輕鏈CDR3 (如IMGT編號系統所定義)。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含SEQ ID NO:25之重鏈可變域及SEQ ID NO:26之輕鏈可變域。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含人類IgG1重鏈恆定域及Igκ輕鏈恆定域。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段與包含SEQ ID NO:25之重鏈可變域及SEQ ID NO:26之輕鏈可變域之抗體競爭結合及/或結合相同抗原決定基。

在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段為內化抗MSLN抗體或內化抗原結合片段。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含三個重鏈CDR及三個輕鏈CDR，其中重鏈CDR包含由SEQ ID NO:65組成之重鏈CDR1、由SEQ ID NO:66組成之重鏈CDR2及由SEQ ID NO:67組成之重鏈CDR3；且三個輕鏈CDR包含由SEQ ID NO:68組成之輕鏈CDR1、由SEQ ID NO:69組成之輕鏈CDR2及由SEQ ID NO:70組成之輕鏈CDR3 (如Kabat編號系統所定義)；或其中重鏈

CDR包含由SEQ ID NO:185組成之重鏈CDR1、由SEQ ID NO:186組成之重鏈CDR2及由SEQ ID NO:187組成之重鏈CDR3；且輕鏈CDR包含由SEQ ID NO:188組成之輕鏈CDR1、由SEQ ID NO:189組成之輕鏈CDR2及由SEQ ID NO:190組成之輕鏈CDR3 (如IMGT編號系統所定義)；連接子包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB；且*p*為4。在一些實施例中，提供一組此類ADC，且*p*為約4 (例如約3.8)。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含SEQ ID NO:25之重鏈可變域及SEQ ID NO:26之輕鏈可變域。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段包含人類IgG1重鏈恆定域及Igκ輕鏈恆定域。在一些實施例中，內化抗體或內化抗原結合片段與包含SEQ ID NO:25之重鏈可變域及SEQ ID NO:26之輕鏈可變域之抗體競爭結合及/或結合相同抗原決定基。

本文中亦提供包含多個複本之任何所述ADC之組合物，其中組合物中ADC之平均藥物負載(平均*p*)在約3與4之間，或約3.5至約4.5，或約4。在一些實施例中，平均*p*在約3.2與3.8之間。在一些實施例中，平均*p*在約3.6與4.4之間。

本文亦提供包含-L-D之組合物，其中D為艾日布林；且L為共價附接於D之可裂解連接子。在一些實施例中，可裂解連接子共價附接於艾日布林上之C-35胺。在一些實施例中，可裂解連接子包含Val-Cit。在一些實施例中，可裂解連接子包含PEG間隔子單元。在一些實施例中，可裂解連接子包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB。

本文進一步提供包含ADC及醫藥學上可接受之稀釋劑、載劑及/或賦形劑之醫藥組合物。

本發明之另一態樣包括所述ADC化合物及組合物例如在治療癌

症中之治療及診斷用途。另一態樣包括治療表現由ADC之抗體部分靶向之抗原(諸如FRA)之癌症的方法。在各種實施例中，提供殺死腫瘤細胞或癌細胞或抑制其增殖之方法，其係藉由投與治療有效量及/或方案之任一所述ADC。另一態樣包括使用所揭示之ADC偵測表現FRA之腫瘤細胞或癌細胞的方法，及篩選對用所述ADC治療起反應之癌症患者的方法。在一些實施例中，癌症為胃癌、漿液性卵巢癌、透明細胞卵巢癌、非小細胞肺癌、結腸直腸癌、三陰性乳癌、子宮內膜癌、漿液性子宮內膜癌、肺類癌或骨肉瘤。亦揭示產生所述ADC之方法。

【圖式簡單說明】

圖1展示如某些實施例中所揭示，用於製備MORAb-003 ADC之一種方法。在此方法中，經由用有限莫耳當量之非硫醇還原劑TCEP部分還原，產生未配對半胱胺酸。此方法優先還原連接輕鏈與重鏈(每一H-L配對之一對)及鉸鏈區中之兩個重鏈(在人類IgG1情況下每一H-H配對之兩對)的鏈間二硫鍵，而使鏈內二硫鍵完整。

圖2展示如某些實施例中所揭示，合成順丁烯二醯亞胺-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB-艾日布林(mal-VCP-艾日布林)之方法。

圖3展示MORAb-003之還原條件之SDS-PAGE分析。泳道指示在圖右側。泳道M對應於標準蛋白質；泳道1對應於未經處理之MORAb-003；泳道2對應於5.3 mg/mL，70.6 μM TCEP中還原；泳道3對應於MORAb-003 5.3 mg/mL，141.2 μM TCEP中還原；泳道4對應於MORAb-003 1.5 mg/mL，20μM TCEP中還原；且泳道5對應於MORAb-003 1.5 mg/mL，40 μM TCEP中還原。各亮帶之身分指示在右下凝膠上。「H」指示重鏈。「L」指示輕鏈。

圖4展示MORAb-003之還原條件之SDS-PAGE分析。泳道1對應於

蛋白質標準；泳道2對應於未經處理之MORAb-003；泳道3對應於以1:1之MORAb-003:TCEP比率處理的MORAb-003；泳道4對應於以1:2之MORAb-003:TCEP比率處理的MORAb-003；泳道5對應於以1:3之MORAb-003:TCEP比率處理的MORAb-003；且泳道6對應於以1:4之MORAb-003:TCEP比率處理的MORAb-003。

圖5展示所選MORAb-003 ADC之非還原SDS-PAGE分析，包括M-MMAE (泳道2)、M-DM1 (泳道3)、M-0026 (泳道4)、M-0260 (泳道5)、M-0267 (泳道6)、M-0272 (泳道7)、M-0285 (泳道8)、M-0292 (泳道9)、M-027-0381 (泳道10)及M-0284 (泳道11)。

圖6A展示MORAb-003-順丁烯二醯亞胺基-PEG2-Val-Cit-pAB-艾日布林(M3-VCP-艾日布林或「MORAb-202」)之旁觀細胞毒性分析之結果。圖6B展示MORAb-003-順丁烯二醯亞胺基-$(CH_2)_5$-Val-Cit-pAB-ER-001150828 (M3-ER-61318)之旁觀細胞毒性分析之結果。圖6C展示MORAb-003-PEG-pAB-多司他汀3 (M3-027-0285)之旁觀細胞毒性分析之結果。各別圖例中所示之資訊提供細胞株:所測試之藥劑(培養細胞株，第一/第二細胞株之接種密度)。

圖7A及7B展示如某些實施例中揭示，ADC MORAb-003-VCP-艾日布林(圖7A)及MORAb-003-0285 (圖7B)相對於未結合之MORAb-003的藥物抗體比率(DAR)分配。各峰上之編號指示個別物種之DAR。

圖8展示IGROV1或SJSA-1細胞中細胞毒性分析之結果-MORAb-003-VCP-艾日布林與MORAb-003(2 μM)之競爭。

圖9展示用單靜脈內劑量之媒劑(PBS)或MORAb-202以10、20、40或80 mg/kg處理各組CD-1小鼠(組平均數及SEM)之體重動力學。

圖10展示根據q4d×3給藥方案(劑量每四日投與一次，共3劑)，用

PBS或艾日布林以0.4、0.8、1.6或3.2 mg/kg靜脈內處理之各組CD-1小鼠(組平均數及SEM)之體重動力學。

圖11展示植入hNSCLC NCI-H2110細胞(組平均數及SEM)且用單靜脈內劑量PBS、1、2.5或5 mg/kg MORAb-003-VCP-艾日布林(MORAb-202)或5 mg/kg MORAb-003-0285處理的各組CB17-SCID小鼠之腫瘤生長動力學。

圖12展示第17天植入hNSCLC NCI-H2110細胞之個別CB17-SCID小鼠之腫瘤體積，以及組平均數及SEM。各組用單靜脈內劑量PBS、1、2.5或5 mg/kg MORAb-003-VCP-艾日布林(MORAb-202)或5 mg/kg MORAb-003-0285處理。

圖13展示用單靜脈內劑量之PBS、1、2.5或5 mg/kg MORAb-003-VCP-艾日布林(MORAb-202)或5 mg/kg MORAb-003-0285處理的植入NCI-H2110之各組CB17-SCID小鼠(組平均數及SEM)的體重動力學。

圖14展示根據q4d×3給藥方案，用媒劑(PBS)或0.5、0.2、0.8或1.6 mg/kg艾日布林靜脈內處理的植入NCI-H2110之各組CB 17-SCID小鼠(組平均數及SEM)的腫瘤生長動力學。

圖15展示第24天植入NCI-H2110細胞之個別CB17-SCID小鼠之腫瘤體積，以及組平均數及SEM。根據q4d×3給藥方案，各組用媒劑(PBS)或0.5、0.2、0.8或1.6 mg/kg艾日布林靜脈內處理。

圖16展示根據q4d×3給藥方案，用媒劑(PBS)或0.5、0.2、0.8或1.6 mg/kg艾日布林靜脈內處理的植入NCI-H2110之各組CB 17-SCID小鼠(組平均數及SEM)的體重改變動力學。

圖17展示如藉由結晶紫細胞毒性分析所量測，MORAb-003-VCP-艾日布林(MORAb-202)對IGROV1、OVCAR3、NCI-H2110、A431-A3

及SJSA-1細胞之效力。

圖18展示用單靜脈內劑量之PBS、1、2.5或5 mg/kg MORAb-003-VCP-艾日布林(MORAb-202)處理的植入NCI-H2110之各組CB17-SCID小鼠(組平均數及SEM)的腫瘤生長動力學。

圖19A及19B展示用單靜脈內劑量之媒劑(PBS)、5 mg/kg MORAb-003或5 mg/kg MORAb-003-VCP-艾日布林(MORAb-202)處理的負載NSCLC PDx (LXFA-737)腫瘤之各組小鼠(組平均數及SEM)的腫瘤生長動力學(圖19A)及體重改變動力學(圖19B)。

圖20A及20B展示用單靜脈內劑量之PBS、0.1或3.2 mg/kg艾日布林或5 mg/kg MORAb-003-VCP-艾日布林(MORAb-202)處理的負載子宮內膜癌PDx (Endo-12961)腫瘤之各組小鼠(組平均數及SEM)的個別腫瘤體積比(圖20A)及體重改變動力學(圖20B)。圖20C及20D展示用單靜脈內劑量之PBS、0.1或3.2 mg/kg艾日布林或5 mg/kg MORAb-003-VCP-艾日布林(MORAb-202)處理的負載子宮內膜癌PDx (Endo-10590)腫瘤之各組小鼠(組平均數及SEM)的腫瘤生長動力學(圖20C)及體重改變動力學(圖20D)。

圖21A展示具有抗人類IgG抗體之負載TNBC PDx(OD-BRE-0631)腫瘤之小鼠中腫瘤組織之免疫組織化學(IHC)染色。收集來自用單靜脈內劑量之媒劑(右)或5 mg/kg MORAb-003-VCP-艾日布林(MORAb-202)(左)處理之小鼠的腫瘤組織且在處理後5天染色。圖21B展示具有α-平滑肌肌動蛋白(SMA)-FITC抗體之負載TNBC PDx(OD-BRE-0631)腫瘤之小鼠中腫瘤組織之IHC染色。在處理前2天，收集來自未經處理之小鼠的腫瘤組織(左)，而處理後5天，收集來自用單靜脈內劑量之5 mg/kg MORAb-003-VCP-艾日布林(MORAb-202)處理之小鼠的腫

瘤組織(右)。圖21C展示用單靜脈內劑量之媒劑(PBS)或5 mg/kg MORAb-003-VCP-艾日布林(MORAb-202)處理的負載TNBC PDx (OD-BRE-0631)腫瘤之各組小鼠(組平均數及SEM)的腫瘤生長動力學。

圖22展示如藉由流動式細胞量測分析量測，在用媒劑(PBS或乙醇)、艾日布林、MORAb-003或MORAb-003-VCP-艾日布林(MORAb-202)處理後，與MKN-74細胞一起培養之人類骨髓-間質幹細胞(BM-MSC)之分化。Stro-1^+/$CD105^+$、$CD34^+$/$CD31^-$及$NG2^+$分別為MSC、脂肪細胞及周細胞之標記物。

圖23展示來自用單靜脈內劑量之媒劑(PBS)或5 mg/kg MORAb-003-VCP-艾日布林(MORAb-202)處理的植入NCI-H2110之CB17-SCID小鼠之腫瘤組織的時程分析，用α-平滑肌肌動蛋白(SMA)-FITC抗體染色。收集腫瘤組織且在第0天及處理後第3天、第5天、第7天及第9天染色。Y軸：% = [計數之染色細胞/計數之總細胞] ×100。X軸：天數(計數之總細胞)。

【實施方式】

本申請案主張2016年3月2日申請之美國臨時專利申請案第62/302,562號之優先權益，該臨時專利申請案之全部內容以引用的方式併入本文中。

藉由參考以下詳細描述，以及形成本發明之一部分的附圖，可更容易地理解所揭示之組合物及方法。應瞭解所揭示之組合物及方法不侷限於本文所述及/或所示之特定組合物及方法，且本文所用之術語僅出於藉助於實例描述特定實施例之目的，且不意欲限制所主張之組合物及方法。

本文通篇，描述提及組合物及使用該等組合物之方法。在本發明

描述或主張與組合物有關之特徵或實施例的情況下，此類特徵或實施例同等適用於使用該組合物之方法。同樣，在本發明描述或主張與使用組合物之方法有關之特徵或實施例的情況下，此類特徵或實施例同等適用於該組合物。

當表述值之範圍時，其包括使用該範圍內之任何特定值的實施例。此外，提及範圍內所述之值包括該範圍內之每個值。所有範圍包括其終點且可組合。當藉由利用前面「約」，將值表述為近似值時，應瞭解特定值形成另一實施例。除非上下文另外清楚規定，否則提及特定數值至少包括該特定值。除非所使用之特定上下文另外規定，否則使用「或」將意謂「及/或」。本文中引用之所有參考文獻以引用的方式併入以達成任何目的。在參考文獻與本說明書衝突之情況下，將以本說明書為主。

應瞭解，為清楚起見，在本文中單獨實施例之上下文中描述的所揭示組合物及方法之某些特徵亦可組合提供於單個實施例。相反，為簡便起見，在單個實施例之上下文中描述的所揭示組合物及方法之各種特徵亦分開或呈任何子組合提供。

定義

本說明書及申請專利範圍通篇使用與本發明有關之各種術語。除非另有指示，此類術語將給出其通常含義。其它特別定義之術語將以符合本文中提供之定義的方式解釋。

如本文所用，除非上下文另外清楚規定，單數形式「一種(a/an)」及「該」包括複數形式。

在數值及範圍之上下文中術語「約」或「大約」係指約等於或接近所述值或範圍，使得實施例可如所欲執行，諸如反應混合物中具有

所需量之核酸或多肽的值或範圍，如技術人員自本文中所含之教示內容顯而易見。此至少部分歸因於核酸組合物之改變特性、年齡、種族、性別、解剖及生理變異及生物系統之不精密。因此，此等術語涵蓋除由系統誤差產生之值以外的值。

術語「抗體-藥物結合物」、「抗體結合物」、「結合物」、「免疫結合物」及「ADC」可互換使用，且係指連接於抗體(例如抗FRA抗體)之化合物或其衍生物，且定義為以下通式：Ab-(L-D)$_p$(式I)，其中Ab = 抗體部分(亦即抗體或抗原結合片段)，L = 連接子部分，D = 藥物部分，且p = 每一抗體部分之藥物部分數目。

術語「抗體」以最廣泛意義使用，以指一種免疫球蛋白分子，其經由免疫球蛋白分子之可變區內之抗原識別位點，識別及特異性結合於標靶，諸如蛋白質、多肽、碳水化合物、聚核苷酸、脂質或上述組合。抗體重鏈由重鏈可變域(V_H)及重鏈恆定區(C_H)組成。輕鏈由輕鏈可變域(V_L)及輕鏈恆定域(C_L)組成。出於本應用之目的，成熟重鏈及輕鏈可變域各包含在自N端至C端排列之四個構架區(FR1、FR2、FR3及FR4)內的三個互補決定區(CDR1、CDR2及CDR3) ：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及FR4。「抗體」可天然存在或人造，諸如藉由習知雜交瘤技術產生之單株抗體。術語「抗體」包括全長單株抗體及全長多株抗體，以及抗體片段，諸如Fab、Fab'、F(ab')2、Fv及單鏈抗體。抗體可為免疫球蛋白五種主要類別中之任一者：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM或其子類(例如同型IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)。該術語進一步涵蓋人類抗體、嵌合抗體、人類化抗體及含有抗原識別位點之任何經修飾之免疫球蛋白分子，只要其顯示所需生物活性即可。

如本文所用，術語「單株抗體」係指自基本上均質抗體群體獲得的抗體，亦即除了可能少量存在之可能天然存在之突變外，構成該群體之個別抗體一致。單株抗體為高度特異性的，針對單個抗原決定基。相反，習知(多株)抗體製劑通常包括針對不同抗原決定基(或對其具有特異性)之眾多抗體。修飾語「單株」指示抗體之特徵為自基本均質之抗體群體獲得，且不應解釋為需要藉由任何特定方法產生該抗體。舉例而言，根據本發明使用之單株抗體可藉由Kohler等人(1975) Nature 256:495最先描述之雜交瘤方法製備，或可藉由重組DNA方法製備(參見例如美國專利第4,816,567號)。單株抗體亦可自噬菌體抗體庫使用例如Clackson等人(1991) Nature 352:624-8及Marks等人 (1991) J. Mol. Biol. 222:581-97中描述之技術分離。

本文中描述之單株抗體特別包括「嵌合」抗體，其中重鏈及/或輕鏈之一部分與來源於特定物種或屬於特定抗體類別或子類之抗體中的對應序列一致或同源，而鏈之其餘部分與來源於另一物種或屬於另一抗體類別或子類之抗體中的對應序列一致或同源；以及此類抗體之片段，只要該等片段特異性結合標靶抗原及/或展現所需生物活性即可。

如本文所用，術語「人類抗體」係指由人類產生之抗體或具有由人類產生之抗體之胺基酸序列的抗體。

如本文所用，術語「嵌合抗體」係指其中免疫球蛋白分子之胺基酸序列來源於兩種或更多種物種之抗體。在有些情況下，重鏈與輕鏈之可變區均對應於來源於一種物種之具有所需特異性、親和力及活性之抗體的可變區，而恆定區與來源於另一物種(例如人類)之抗體同源以使在後一物種中之免疫反應降至最低。

如本文所用，術語「人類化抗體」係指含有來自非人類(例如鼠類)抗體以及人類抗體之序列的抗體形式。此類抗體為含有來源於非人類免疫球蛋白之最小序列的嵌合抗體。一般而言，人類化抗體包含至少一個及通常兩個可變域中基本上所有，其中所有或基本上所有高變環對應於非人類免疫球蛋白之高變環，且所有或基本上所有構架(FR)區為人類免疫球蛋白序列之構架區。人類化抗體視情況亦包含通常為人類免疫球蛋白之恆定區的免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分。人類化抗體可藉由Fv構架區中及/或替換非人類殘基中之殘基的取代而進一步修飾以改善及最佳化抗體特異性、親和力及/或活性。

如本文所用，術語「抗原結合片段」或抗體之「抗原結合部分」係指保留特異性結合於抗原(例如FRA)之能力的抗體之一或多個片段。抗原結合片段較佳亦保留內化至表現抗原之細胞之能力。在一些實施例中，抗原結合片段亦保留免疫效應活性。已展示全長抗體之片段可執行全長抗體之抗原結合功能。涵蓋於術語抗體之「抗原結合片段」或「抗原結合部分」內的結合片段之實例包括(i) Fab片段，由V_L、V_H、C_L及C_{H1}結構域組成之單價片段；(ii) $F(ab')_2$片段，包含兩個由鉸鏈區之二硫鍵連接之Fab片段的二價片段；(iii) Fd片段，由V_H及C_{H1}結構域組成；(iv) Fv片段，由抗體單臂之V_L及V_H結構域組成；(v) dAb片段，其包含單個可變域，例如V_H結構域(參見例如Ward等人(1989) Nature 341:544-6；及Winter等人, WO 90/05144)；及(vi)分離之互補決定區(CDR)。此外，雖然Fv片段之兩個結構域V_L及V_H藉由單獨基因編碼，但其可使用重組方法，藉由能夠將其製成其中V_L與V_H區配對形成單價分子之單一蛋白質鏈(稱為單鏈Fv (scFv))的合成連接子接合。參見例如Bird等人(1988) Science 242:423-6；及Huston等人

(1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-83。此類單鏈抗體亦意欲涵蓋於術語抗體之「抗原結合片段」或「抗原結合部分」內，且在本領域中公認為在結合時可內化至細胞之結合片段的一種示例性類型。參見例如Zhu等人 (2010) 9:2131-41；He等人(2010) J. Nucl. Med. 51:427-32；及Fitting等人(2015) MAbs 7:390-402。在某些實施例中，scFv分子可併入融合蛋白中。亦涵蓋單鏈抗體之其他形式，諸如雙功能抗體。雙功能抗體為二價雙特異性抗體，其中V_H及V_L結構域在單個多肽鏈上表現，但使用的連接子太短而無法在同一鏈上之兩個結構域之間配對，因此迫使結構域與另一鏈之互補結構域配對且產生兩個抗原結合位點(參見例如Holliger等人 (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-8；及Poljak等人 (1994) Structure 2:1121-3)。使用本領域技術人員已知之習知技術獲得抗原結合片段，且以與完整抗體相同之方式，針對效用(例如結合親和力、內在化)篩選結合片段。抗原結合片段可藉由例如藉由蛋白酶或化學裂解使完整蛋白質裂解來製備。

如本文關於抗體或抗原結合片段所用，「內化」係指在結合於細胞時，能夠通過細胞脂雙層膜至內部隔室(亦即「內化」)，較佳至細胞中之降解隔室中的抗體或抗原結合片段。舉例而言，內化抗FRA抗體為在結合於細胞膜上FRA後能夠進入細胞之抗體。

如本文所用，術語「葉酸受體α」或「FRA」係指人類FRA之任何天然形式。該術語涵蓋全長FRA (例如NCBI參考序列：NP_000793；SEQ ID NO:19)，以及由細胞加工產生之人類FRA之任何形式。該術語亦涵蓋天然存在之FRA變異體，包括(但不限於)剪接變異體、等位基因變異體及同功異型物。FRA可自人類分離，或可重組或藉由合成方法產生。

術語「抗FRA抗體」或「特異性結合FRA之抗體」係指特異性結合FRA之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等片段特異性結合FRA即可。用於本文中揭示之ADC中的抗FRA抗體較佳為內化抗體或內化抗體片段。MORAb-003為一種示例性內化抗人類FRA抗體。如本文所用，術語「特異性」、「特異性結合」及「特異性地結合」係指抗體選擇性結合於標靶抗原決定基。可藉由在給定一組條件下，比較結合於適當抗原與結合於不相關抗原或抗原混合物，來測試抗體之結合特異性。若抗體結合於適當抗原之親和力比結合於不相關抗原或抗原混合物之親和力大至少2、5、7及較佳10倍，則其視為特異性。在一個實施例中特異性抗體為僅結合FRA抗原，而不結合(或顯示最低程度之結合)其他抗原之抗體。

術語「人類表皮生長因子受體2」、「her 2」或「her 2/neu」係指人類her 2之任何天然形式。該術語涵蓋全長her 2 (例如NCBI參考序列：NP_004439.2；SEQ ID NO:21)，以及由細胞加工產生之人類her 2之任何形式。該術語亦涵蓋天然存在之her 2變異體，包括(但不限於)剪接變異體、等位基因變異體及同功異型物。Her 2可自人類分離，或可重組或藉由合成方法產生。

術語「抗her 2抗體」或「特異性結合her 2之抗體」係指特異性結合her 2之任何形式之抗體或其片段，且涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體及生物功能抗體片段，只要該等片段特異性結合her 2即可。美國專利第5,821,337號(以引用的方式併入本文中)提供示例性her 2結合序列，包括示例性抗her 2抗體序列。用於本文中揭示之ADC中的抗her 2抗體較佳為內化抗體或內化抗體片段。曲妥珠單抗

(Trastuzumab)為一種示例性內化抗人類her 2抗體。

術語「抗原決定基」係指能夠由抗體識別且特異性結合之抗原部分。當抗原為多肽時，抗原決定基可由藉由多肽三級摺疊而並置之鄰接胺基酸或非鄰接胺基酸形成。抗體所結合之抗原決定基可使用本領域中已知之任何抗原決定基定位技術鑑別，包括X射線晶體分析法，其藉由將抗原-抗體複合物直接可視化，以及監測抗體與抗原之片段或突變變體之結合，或監測抗體及抗原之不同部分之溶劑可及性來鑑別抗原決定基。用於定位抗體抗原決定基之示例性策略包括(但不限於)基於陣列之寡肽掃描、限制性蛋白酶解、定點誘變、高通量誘變定位、氫-氘交換及質譜分析(參見例如Gershoni等人(2007) 21:145-56；及Hager-Braun及Tomer (2005) Expert Rev. Proteomics 2:745-56)。

競爭性結合及抗原決定基分組亦可用於測定共享一致或重疊抗原決定基之抗體。競爭性結合可使用交叉阻斷分析，諸如「Antibodies, A Laboratory Manual,」 Cold Spring Harbor Laboratory, Harlow及Lane (第一版1988, 第二版2014)中描述之分析來評估。在一些實施例中，當在交叉阻斷分析中測試抗體或結合蛋白(例如包含選自表2、4及6中鑑別之CDR及/或可變域之CDR及/或可變域的結合蛋白)使參考抗體或結合蛋白與標靶抗原(諸如FRA或her 2)之結合減少至少約50%(例如50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%、99.5%或更多，或之間之任何百分比)時，及/或相反情況，確定競爭性結合。在一些實施例中，競爭性結合可歸因於共享或類似(例如部分重疊)之抗原決定基，或歸因於抗體或結合蛋白結合在附近抗原決定基之位阻。參見例如Tzartos, Methods in Molecular Biology (Morris編輯(1998) 第66卷, 第55-66頁)。在一些實施例中，競爭性結合可用於將共享類似抗原決定

基之結合蛋白組分類，例如競爭結合之結合蛋白可「分組」為具有重疊或接近抗原決定基之一組結合蛋白，而不競爭之結合蛋白處於不具有重疊或接近抗原決定基之另一組結合蛋白中。

術語「k_{on}」或「k_a」係指抗體與抗原締合形成抗體/抗原複合物之締合速率常數。可使用標準分析，諸如Biacore或ELISA分析測定速率。

術語「k_{off}」或「k_d」係指抗體自抗體/抗原複合物解離之解離速率常數。可使用標準分析，諸如Biacore或ELISA分析測定速率。

術語「K_D」係指特定抗體-抗原相互作用之平衡解離常數。K_D藉由k_a/k_d計算。可使用標準分析，諸如Biacore或ELISA分析測定速率。

術語「*p*」或「抗體:藥物比率」或「藥物抗體比率」或「DAR」係指每一抗體部分之藥物部分數目，亦即藥物負載，或式I之ADC中每一抗體或抗原結合片段(Ab)之-L-D部分數目。在包含多個複本之式I之ADC的組合物中，「*p*」係指每一抗體或抗原結合片段之-L-D部分之平均數目，亦稱為平均藥物負載。

「連接子」或「連接子部分」為能夠將化合物，通常藥物部分(諸如化學治療劑)共價接合於另一部分(諸如抗體部分)之任何化學部分。在化合物或抗體保持活性之條件下連接子可容易或基本上抵抗酸誘發性裂解、肽酶誘發性裂解、基於光之裂解、酯酶誘發性裂解及/或二硫鍵裂解。

術語「藥劑」在本文中用以指化合物、化合物之混合物、生物大分子或自生物物質製程之提取物。術語「治療劑」、「藥物」或「藥物部分」係指能夠調節生物過程及/或具有生物活性之藥劑。

術語「化學治療劑」或「抗癌劑」在本文中用以指不管作用機制

如何，均有效治療癌症之所有化合物。轉移或血管生成之抑制時常為化學治療劑之特性。化學治療劑之非限制性實例包括烷基化劑，例如氮芥、伸乙基亞胺化合物及烷基磺酸酯；抗代謝物，例如葉酸、嘌呤或嘧啶拮抗劑；抗有絲分裂劑，例如抗微管蛋白劑，諸如艾日布林或艾日布林甲磺酸鹽(Halaven™)或其衍生物、長春花生物鹼及奧瑞他汀(auristatin)；細胞毒性抗生素；破壞或干擾DNA表現或複製之化合物，例如DNA小溝結合劑；及生長因子受體拮抗劑。另外，化學治療劑包括抗體、生物分子及小分子。化學治療劑可為細胞毒性或細胞生長抑制劑。術語「細胞生長抑制劑」係指抑制或遏制細胞生長及/或細胞繁殖之藥劑。

術語「細胞毒性劑」係指主要藉由干擾細胞之表現活性及/或功能而引起細胞死亡的物質。細胞毒性劑之實例包括(但不限於)抗有絲分裂劑，諸如艾日布林、奧瑞他汀(例如單甲基奧瑞他汀E (MMAE)、單甲基奧瑞他汀F (MMAF))、類美登素(maytansinoid)(例如美登素(maytansine))、海兔毒素(dolastatin)、多司他汀(duostatin)、念珠藻環肽(cryptophycin)、長春花生物鹼(例如長春新鹼(vincristine)、長春花鹼(vinblastine))、紫杉烷(taxane)、紫杉醇(taxol)及秋水仙鹼；蒽環類藥物(例如道諾黴素(daunorubicin)、多柔比星(doxorubicin)、二羥基蒽二酮(dihydroxyanthracindione))；細胞毒性抗生素(例如絲裂黴素(mitomycin)、放線菌素(actinomycin)、倍癌黴素(duocarmycin)(例如CC-1065)、金黴素(auromycin)、多黴素(duomycin)、卡奇黴素(calicheamicin)、內孢黴素(endomycin)、酚黴素(phenomycin))；烷基化劑(例如順鉑(cisplatin))；插入劑(例如溴化乙錠(ethidium bromide))；拓撲異構酶抑制劑(例如依託泊苷(etoposide)、替尼泊苷

(tenoposide))；放射性同位素，諸如At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}或Bi^{213}、P^{32}及鐠之放射性同位素(例如Lu^{177})；及細菌、真菌、植物或動物來源之毒素(例如蓖麻毒素(例如蓖麻毒素A鏈)、白喉毒素、假單胞細菌外毒素A (例如PE40)、內毒素、米托菌素(mitogellin)、考布他汀(combrestatin)、侷限麴菌素(restrictocin)、白樹毒素(gelonin)、α-八疊球菌、相思子毒素(例如相思子毒素A鏈)、蒴蓮根毒素(modeccin)(例如蒴蓮根毒素A鏈)、達托黴素(curicin)、巴豆毒素、肥皂草(Sapaonaria officinalis)抑制劑、糖皮質激素)。

如本文所用，術語「艾日布林」係指軟海綿素B (最初自海綿岡田軟海綿(Halichondria okadais)分離之大環化合物)之合成類似物。術語「艾日布林藥物部分」係指具有艾日布林結構且經由其C-35胺附接於ADC之連接子的ADC之組分。艾日布林為微管動力學抑制劑，認為其結合微管蛋白且藉由抑制有絲分裂紡錘體組件，在G2/M期引起細胞週期停滯。術語「艾日布林甲磺酸鹽」係指艾日布林之甲磺酸鹽，其以商品名Halaven™出售。

術語「同源性」係指藉由例如具有在對應位置相同或類似之化學殘基之序列，顯示與另一分子之同源性的分子。

如本文所用，術語「抑制(inhibit或inhibition)」意謂減少可量測之量，且可包括但不需要完全預防或抑制。

術語「標靶陰性」或「標靶抗原陰性」係指細胞或組織缺乏標靶抗原表現。術語「標靶陽性」或「標靶抗原陽性」係指存在標靶抗原表現。舉例而言，不表現標靶抗原之細胞或細胞株可描述為標靶陰性，而表現標靶抗原之細胞或細胞株可描述為標靶陽性。

術語「旁觀殺死」或「旁觀者效應」係指在標靶陽性細胞存在下

殺死標靶陰性細胞，其中在標靶陽性細胞缺乏下未觀測到標靶陰性細胞之殺死。細胞-細胞接觸或標靶陽性與標靶陰性細胞之間至少鄰近能夠進行旁觀殺死。此類型殺死可同「脫靶殺死」區分，脫靶殺死係指標靶陰性細胞之無差別殺死。可在標靶陽性細胞缺乏下觀測到「脫靶殺死」。

術語「癌症」係指哺乳動物中細胞群體特徵為不受調控之細胞生長之生理病狀。癌症之實例包括(但不限於)癌瘤、淋巴瘤、胚細胞瘤、肉瘤及白血病。此類癌症之更特定實例包括鱗狀上皮細胞癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺鱗狀細胞癌、腹膜癌、肝細胞癌、胃腸癌、胰臟癌、神經膠質母細胞瘤、子宮頸癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝細胞瘤、乳癌(例如三陰性乳癌)、骨肉瘤、黑素瘤、結腸癌、結腸直腸癌、子宮內膜(例如漿液小)或子宮癌、唾液腺癌、腎癌、肝癌、前列腺癌、外陰癌、甲狀腺癌、肝癌及各種類型頭頸癌。三陰性乳癌係指對於雌激素受體(ER)、孕酮受體(PR)或Her 2/neu之基因之表現呈陰性的乳癌。

術語「腫瘤」及「贅生物」係指由良性或惡性之過度細胞生長或增殖產生的任何組織塊，包括癌前病變。

術語「癌細胞」及「腫瘤細胞」係指來源於腫瘤之個別細胞或細胞總群體，包括非致癌細胞與癌症幹細胞。如本文所用，當僅僅提及無法更新及分化之彼等腫瘤細胞時術語「腫瘤細胞」將由術語「非致瘤性」修飾，以區分彼等腫瘤細胞與癌症幹細胞。

術語「個體」及「患者」在本文中可互換使用以指任何動物，諸如任何哺乳動物，包括(但不限於)人類、非人類靈長類動物、囓齒類動物及其類似物。在一些實施例中，哺乳動物為小鼠。在一些實施例

中，哺乳動物為人類。

術語「共同投與」或「組合」一或多種治療劑投與包括以任何次序同時及連續投與。

「醫藥組合物」係指呈允許投與且隨後提供活性成分之所欲生物活性及/或實現治療作用之形式且不含毒性為調配物所投個體無法接受之其他組分的製劑。醫藥組合物可為無菌的。

「醫藥賦形劑」包含諸如佐劑、載劑、pH調整及緩衝劑、張力調整劑、潤濕劑、防腐劑及其類似物之物質。

「醫藥學上可接受」意謂經或可經聯邦政府或州政府之管理機構批准，或美國藥典或其他公認藥典中所列，用於動物且更尤其人類。

如本文中揭示之ADC之「有效量」為足夠執行特別說明之目的，例如在投與後產生治療作用，諸如降低腫瘤生長速率或腫瘤體積、減少癌症症狀或治療功效之一些其他徵候的量。有效量可用關於所述目的之常規方式測定。術語「治療有效量」係指有效治療個體之疾病或病症的ADC之量。在癌症情況下，治療有效量之ADC可減少癌細胞數目，減小腫瘤尺寸，抑制(例如減慢或終止)腫瘤轉移，抑制(例如減慢或終止)腫瘤生長，及/或減輕一或多種症狀。「預防有效量」係指在必需的劑量下及時間段內有效實現預防結果所需之量。通常，因為在患病前或在疾病早期，預防劑量用於受試者中，所以預防有效量將小於治療有效量。

如本文所用，「治療(treat)」或「治療(therapeutic)」及語法上相關之術語係指任何疾病後果之任何改善，諸如存活期延長、發病率較小及/或作為替代治療方式之副產物的副作用減輕。如本領域中容易瞭解，疾病完全根除為較佳，但並非治療行為之必要條件。如本文所

用，「治療(Treatment或treat)」係指向個體(例如患者)投與所述ADC。治療可為治癒、醫治、緩和、減輕、改變、醫治、改善、減弱、好轉或影響病症、病症之症狀或例如癌症之患病傾向性。

在一些實施例中，使用標記之ADC。適合「標記」包括放射性核素、酶、受質、輔因子、抑制劑、螢光部分、化學發光部分、磁性顆粒及其類似物。

如本文所用，「蛋白質」意謂至少兩個共價附接之胺基酸。該術語涵蓋多肽、寡肽及肽。在一些實施例中，兩個或更多個共價附接之胺基酸藉由肽鍵附接。例如當蛋白質使用表現系統及宿主細胞重組製造時，蛋白質可由天然存在之胺基酸及肽鍵組成。或者，蛋白質可包括合成胺基酸(例如高苯丙胺酸、瓜胺酸、鳥胺酸及正白胺酸)或肽模擬結構，亦即「肽或蛋白質類似物」，諸如類肽。類肽為肽模擬物之一種示例性類別，其側鏈側接於肽主鏈之氮原子，而非α-碳(如其在胺基酸中)，且與肽相比，具有不同氫鍵及構形特徵(參見例如Simon等人(1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:9367)。因而，類肽可抵抗蛋白水解或其他生理或儲存條件，且有效滲透細胞膜。尤其當抗體藉由本領域中熟知之習知方法在活體外合成時，可併入此類合成胺基酸。另外，可使用肽模擬、合成及天然存在之殘基/結構的任何組合。「胺基酸」亦包括亞胺基酸殘基，諸如脯胺酸及羥脯胺酸。胺基酸「R基團」或「側鏈」可呈(L)-或(S)-組態。在一特定實施例中，胺基酸呈(L)-或(S)-組態。

「重組蛋白」為使用重組技術，使用本領域中已知之任何技術及方法，亦即經由表現重組核酸製造的蛋白質。本領域中熟知用於產生重組蛋白之方法及技術。

「分離」蛋白不含在自然狀態中通常相關聯之至少一些物質，例如佔給定樣品中總蛋白質之至少約5重量%或至少約50重量%。應瞭解，分離蛋白可佔總蛋白質含量之5重量%至99.9重量%，視環境而定。舉例而言，蛋白質可經由使用誘尋型啟動子或高表現啟動子而以顯著更高之濃度製成，使得蛋白質以增加之濃度水準製成。定義包括抗體在本領域中已知之多種生物體及/或宿主細胞中產生。

對於胺基酸序列，可使用本領域中已知之標準技術或藉由目測確定序列一致性及/或相似性，包括(但不限於) Smith及Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482之局部序列一致性算法；Needleman及Wunsch (1970) J. Mol. Biol. 48:443之序列一致性比對算法；Pearson及Lipman (1988) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 85:2444之相似性搜索法；此等算法之電腦化執行(GAP、BESTFIT、FASTA及TFASTA，Wisconsin Genetics Software Package中, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.)；Devereux等人(1984) Nucl. Acid Res. 12:387-95描述之Best Fit序列程式，較佳使用默認設置。較佳地，一致性%藉由FastDB，基於以下參數計算：錯配罰分1；間隙罰分1；間隙尺寸罰分0.33；及接合罰分30 (「Current Methods in Sequence Comparison and Analysis」, Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications, 第127-149頁 (1988), Alan R. Liss, Inc)。

適用算法之一個實例為PILEUP。PILEUP自一組相關序列，使用漸進成對比對來產生多個序列比對。其亦可繪出樹，顯示用於產生比對之聚類關係。PILEUP使用Feng及Doolittle (1987) J. Mol. Evol. 35:351-60之漸進比對方法之簡化；該方法類似於Higgins及Sharp (1989) CABIOS 5:151-3描述之方法。適用PILEUP參數包括3.00之預

設間隙權重、0.10之預設間隙長度權重及加權末端間隙。

適用算法之另一實例為以下中描述之BLAST算法：Altschul等人(1990) J. Mol. Biol. 215:403-10；Altschul等人(1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-402；及Karin等人(1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-87。一種尤其適用之BLAST程式為WU-BLAST-2程式，其自Altschul等人(1996) Methods in Enzymology 266:460-80獲得。WU-BLAST-2使用若干搜索參數，其中大多數設定為預設值。可調參數設定為以下值：重疊間隔=1，重疊分數=0.125，單字閾值(T)=II。HSP S及HSP S2參數為動力學值且由程式本身建立，視特定序列之組成及相關序列所搜索之特定資料庫之組成而定；然而，該等值可進行調整以增加靈敏度。

另一適用算法為間隙BLAST，如Altschul等人(1993) Nucl. Acids Res. 25:3389-402報導。間隙BLAST使用BLOSUM-62取代得分；閾值T參數設定為9；雙碰撞方法，觸發無間隙延伸，給予間隙長度k為10+k之成本；Xu設定為16；且針對資料庫搜索階段，Xg設定為40，且對於算法輸出階段，為67。間隙比對藉由對應於約22位元之得分觸發。

一般而言，本文中揭示之蛋白質與其變異體(包括FRA之變異體、her 2之變異體、微管蛋白序列之變異體及抗體可變域之變異體(包括個別變異CDR))之間的胺基酸同源性、相似性或一致性為與本文中描繪之序列至少80%，且更通常較佳地，至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%及幾乎100%或100%的遞增同源性或一致性。

以類似方式，關於本文中鑑別之抗體及其他蛋白之核酸序列的

「核酸序列一致性百分比(%)」定義為候選序列中與抗原結合蛋白之編碼序列中核苷酸殘基一致的核苷酸殘基百分比。一特定方法利用設置為預設參數之WU-BLAST-2之BLASTN模塊，其中重疊間隔及重疊分數分別設置為1及0.125。

雖然用於引入胺基酸序列變異之位點或區域預先確定，但突變本身無須預先確定。舉例而言，為使給定位點上突變之效能最佳化，可在標靶密碼子或區域進行隨機誘變且針對所需活性之最優組合篩選表現之抗原結合蛋白CDR變異體。熟知用於在具有已知序列之DNA中預先確定位點處進行取代突變的技術，例如MI3引子誘變及PCR誘變。

抗體-藥物結合物

本發明之化合物包括具有抗癌活性之化合物。詳言之，化合物包括結合(亦即藉由連接子共價附接)於藥物部分之抗體部分(包括其抗原結合片段)，其中藥物部分在未結合於抗體部分時具有細胞毒性或細胞抑制作用。在各種實施例中，藥物部分在結合物中結合時顯示減少之細胞毒性或無細胞毒性，但在自連接子及抗體部分裂解後恢復細胞毒性。在各種實施例中，藥物部分在結合物中結合(例如使用不可裂解連接子)時顯示減少之旁觀殺死或無旁觀殺死，但在自結合物(例如具有可裂解Val-Cit可裂解部分之結合物)裂解後旁觀殺死增加。

用作人類治療劑，例如腫瘤劑之ADC的研發及產生可能需要超過對能夠結合於所需標靶且附接於自身用於治療癌症之藥物之抗體的鑑別。將抗體連接於藥物可對抗體及藥物中之一者或兩者之活性具有顯著及不可預知之作用，該等作用將視所選連接子及/或藥物之類型而變化。在一些實施例中，因此，ADC之組分經選擇，以(i)保留分離之抗體及藥物部分所顯示之一或多種治療特性；(ii)維持抗體部分之

特定結合特性；(iii)使藥物負載及藥物與抗體比率最佳化；(iv)允許藥物部分經由穩定附接於抗體部分而遞送，例如細胞內遞送；(v)保留ADC穩定性為完整結合物，直至輸送或遞送至標靶位點；(vi)使ADC在投與之前或之後聚集最少；(vii)允許藥物部分在細胞環境中裂解後具有治療作用，例如細胞毒性作用；(viii)展現可與分離之抗體及藥物部分相比較或優於其的活體內抗癌治療功效；(ix)使藥物部分之脫靶殺死最少；及/或(x)展現合乎需要之藥物動力學及藥效學特性、可調配性及毒物學/免疫學型態。可需要篩選此等特性每一者以鑑別改善之ADC用於治療用途(Ab等人(2015) Mol. Cancer Ther. 14:1605-13)。

在各種實施例中，本文中揭示之ADC展現上列一些或每一種類之意外有利之特性。舉例而言，在一些實施例中，與使用其他可裂解或不可裂解連接子結構之ADC相比，包含Mal附接於抗體、PEG間隔子單元(較佳短PEG間隔子單元)及/或肽可裂解連接子(例如Val-Cit連接子)之ADC構築體展現意外有利之藥物負載、聚集及/或穩定性型態，及/或保留抗體結合功能、藥物活性及/或改善之旁觀殺死，同時減少脫靶殺死。

在一些實施例中，與將艾日布林接合於抗體部分之其他可裂解或不可裂解連接子相比，包含將艾日布林接合於抗體(例如抗FRA抗體，諸如MORAb-003)之Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB連接子之ADC顯示所列種類之尤其有利之特性。在一些實施例中，與不可裂解ADC相比，包含將艾日布林接合於抗體(例如抗FRA抗體，諸如MORAb-003)之Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB連接子之ADC顯示尤其有利之旁觀殺死特性。在一些實施例中，與使用替代可裂解連接子結構之ADC相比，包

含將艾日布林接合於抗體(例如抗FRA抗體，諸如MORAb-003)之Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB連接子之ADC顯示尤其有利之旁觀殺死特性。

在一些實施例中，相對於例如包含經由替代部分(例如丁二醯亞胺部分)附接於抗體之連接子的ADC，包含將艾日布林接合於MORAb-003之Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB連接子之ADC顯示更高且更合乎需要之藥物:抗體比率(亦即約3-4之比率)。在一些實施例中，相對於例如包含更長間隔子單元(例如$(PEG)_8$)之ADC，包含將艾日布林接合於MORAb-003之Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB連接子之ADC顯示更高且更合乎需要之藥物:抗體比率及/或更低聚集水準。在一些實施例中，相對於例如包含替代可裂解部分(亦即非肽可裂解部分，諸如可裂解二硫化物或磺醯胺)之ADC，包含將艾日布林接合於MORAb-003之Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB之ADC顯示更高且更合乎需要之藥物:抗體比率、更低聚集水準、增加之靶向殺死及/或減少之脫靶殺死。在一些實施例中，相對於例如包含替代胺基酸單元(例如Ala-Ala-Asn)或替代可裂解部分(例如可裂解二硫化物或磺醯胺)之ADC，包含將艾日布林接合於MORAb-003之Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB連接子之ADC顯示增加之穩定性、增加之靶向殺死、減少之脫靶殺死、更低聚集水準及/或更高且更合乎需要之藥物:抗體比率。

在一些實施例中，以上針對包含將艾日布林接合於MORAb-003之Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB連接子之ADC所述的一些或所有合乎需要之特徵可在包含結合於her2抗體(諸如曲妥珠單抗)或抗間皮素抗體之Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB-艾日布林連接子-毒素的ADC下觀測到。

本發明之ADC化合物可選擇性地遞送有效劑量之細胞毒性或細胞生長抑制劑至癌細胞或腫瘤組織。已發現所揭示之ADC針對表現各

別標靶抗原(例如FRA或her 2)之細胞具有有效細胞毒性及/或細胞抑制活性。在一些實施例中，ADC之細胞毒性及/或細胞抑制活性視細胞中標靶抗原之表現水準而定。在一些實施例中，與以低水準表現相同抗原之癌細胞比，所揭示之ADC尤其有效地殺死以高水準表現標靶抗原之癌細胞。在一些實施例中，與以低水準表現相同抗原之癌細胞比，所揭示之ADC尤其有效地殺死以中等水準表現標靶抗原之癌細胞。示例性高FRA表現癌症包括(但不限於)卵巢癌(例如漿液性卵巢癌、透明細胞卵巢癌)、肺類癌瘤、三陰性乳癌、子宮內膜癌及非小細胞肺癌(例如腺癌)。示例性中等FRA表現癌症包括(但不限於)胃癌及結腸直腸癌。示例性低FRA表現癌症包括(但不限於)黑素瘤及淋巴瘤。示例性高her 2表現癌症包括(但不限於)乳癌、胃癌、食管癌、卵巢癌及子宮內膜癌。示例性中等her 2表現癌症包括(但不限於)肺癌及膀胱癌。

在一些實施例中，ADC之裂解自抗體部分及連接子釋放艾日布林。在一些實施例中，艾日布林之裂解及釋放提高ADC之細胞毒性。在一些實施例中，與用包含不可裂解連接子之ADC之可比較治療相比，包含可裂解連接子之ADC尤其有效地殺死癌細胞，包括旁觀殺死。在一些實施例中，相對於包含不可裂解連接子(例如不可裂解$(PEG)_2$或$(PEG)_4$連接子)之ADC，尤其在用ADC治療之細胞及/或癌症未表現高水準標靶抗原下，包含可裂解連接子(例如Val-Cit連接子)之ADC顯示增加之靶向殺死及/或減少之脫靶殺死。

在一些實施例中，所揭示之ADC亦顯示旁觀殺死活性，但低脫靶細胞毒性。不受理論束縛，ADC之旁觀殺死活性在其滲透至實體腫瘤有限及/或腫瘤細胞中標靶抗原表現不均勻之情況下可尤其有益。

在一些實施例中，與用包含不可裂解連接子之ADC之可比較治療相比，包含可裂解連接子之ADC尤其有效地進行旁觀殺死及/或顯示改善之旁觀殺死活性。

本文中提供ADC化合物，其包含靶向腫瘤細胞之抗體或其抗原結合片段(Ab)、藥物部分(D)及將Ab共價附接於D之連接子部分(L)。在某些態樣中，抗體或抗原結合片段能夠以高特異性及高親和力結合於腫瘤相關抗原(例如FRA或her 2)。在某些實施例中，抗體或抗原結合片段在結合時內化至標靶細胞，例如內化至細胞中之降解隔室中。因此，較佳ADC為在結合時內化至標靶細胞，經歷降解，且釋放藥物部分以殺死癌細胞之ADC。藥物部分可藉由酶促作用、水解、氧化或任何其他機制，自ADC之抗體及/或連接子部分釋放。

一種示例性ADC具有式I

$$Ab\text{-}(L\text{-}D)_p \qquad (I)$$

其中Ab = 抗體部分(亦即抗體或抗原結合片段)，L = 連接子部分，D = 藥物部分，且p = 每一抗體部分之藥物部分數目。

抗體

式I之抗體部分(Ab)在其範圍內包括特異性結合於癌細胞上標靶抗原之任何抗體或抗原結合片段。抗體或抗原結合片段可以如例如BIAcore®分析所量測，離解常數(K_D)≤1 mM、≤100 nM或≤10 nM或其間任何量結合於標靶抗原。在某些實施例中，K_D為1 pM至500 pM。在一些實施例中，K_D在500 pM至1 μM、1 μM至100 nM或100 mM至10 nM之間。

在一些實施例中，抗體部分為包含兩個重鏈及兩個輕鏈之四鏈抗體(亦稱為免疫球蛋白)。在一些實施例中，抗體部分為兩鏈半體(一個

輕鏈及一個重鏈)或免疫球蛋白之抗原結合片段。

在一些實施例中，抗體部分為內化抗體或其內化抗原結合片段。在一些實施例中，內化抗體結合於在細胞表面上表現之標靶癌症抗原且在結合時進入細胞。在一些實施例中，在ADC進入且存在於表現標靶癌症抗原之細胞後(亦即在ADC已內化後)，ADC之藥物部分自ADC之抗體部分釋放。

本發明之示例性抗體之胺基酸及核酸序列闡述於表1-9中。

表1. 抗體

mAb	**類別/同型**	標靶
MORAb-003	人類化	人類葉酸受體α
MORAb-009	小鼠-人類嵌合	人類間皮素
曲妥珠單抗	人類化	人類her2/neu
33011-xi	兔-人類嵌合	人類間皮素
33011-zu	人類化	人類間皮素
111B10-xi	兔-人類嵌合	人類間皮素
111B10-zu	人類化	人類間皮素
201C15-xi	兔-人類嵌合	人類間皮素
201C15-zu	人類化	人類間皮素
346C6-xi	兔-人類嵌合	人類間皮素
346C6-zu	人類化	人類間皮素

縮寫：xi - 嵌合；zu - 人類化。

表2. mAb可變區之胺基酸序列

	mAb	**IgG鏈**	**SEQ ID NO**	**胺基酸序列**
1	MORAb-003	重鏈	23	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCS ASGFTFSGYGLSWVRQAPGKGLE WVAMISSGGSYTYYADSVKGRFA ISRDNAKNTLFLQMDSLRPEDTG

				VYFCARHGDDPAWFAYWGQGTPVTVSS
2	MORAb-003	輕鏈	24	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSVSSSISSNNLHWYQQKPGKAPKPWIYGTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQWSSYPYMYTFGQGTKVEIK
3	MORAb-009	重鏈	25	QVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKSLEWIGLITPYNGASSYNQKFRGKATLTVDKSSSTAYMDLLSLTSEDSAVYFCARGGYDGRGFDYWGSGTPVTVSS
4	MORAb-009	輕鏈	26	DIELTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPGRFSGSGSGNSYSLTISSVEAEDDATYYCQQWSKHPLTFGSGTKVEIK
5	曲妥珠單抗	重鏈	27	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS
6	曲妥珠單抗	輕鏈	28	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK
7	33011-xi	重鏈	29	QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGISLSSDAISWVRQAPGKGLEYIGIINGGGNTYYASWAKGRFTISKTSTTVDLKITSPTTEDTATYFCARGIQHGGGNSDYYYYGMDLWGPGTLVTVSS
8	33011-xi	輕鏈	30	EVLMTQTPSSVSAAVGDTVTIKCQASQSISSVLSWYQQKPGQPPKLLIYLASTLASGVPSRFSGSRSGTEFTLTISDLECDDAATYYCQTNYGTSSSNYGFAFGGGTEVVVK
9	33011-zu	重鏈	31	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA

				ASGISLSSDAISWVRQAPGKGLEYIGIINGGGNTYYASWAKGRFTISRHNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGIQHGGGNSDYYYYGMDLWGQGTLVTVSS
10	33011-zu	輕鏈	32	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISSVLSWYQQKPGKAPKLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQCEDIATYYCQTNYGTSSSNYGFAFGGGTKVEIK
11	111B10-xi	重鏈	33	QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLNNYAMSWVRQAPGKGLEWIGSISTGGLAFYANWAKGRFTISRTSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCGRNGGGSYIFYYFDLWGQGTLVTVSS
12	111B10-xi	輕鏈	34	AFELTQTPSSVEAAVGGTITIKCQASQSISSYLSWYQQKPGQPPKLLIYSASTLASGVSSRFKGSGSGTEYTLTISDLECADAATYFCQSYYDIGTSTFGGGTEVVVK
13	111B10-zu	重鏈	35	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLNNYAMSWVRQAPGKGLEWIGSISTGGLAFYANWAKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNGGGSYIFYYFDLWGQGTLVTVSS
14	111B10-zu	輕鏈	36	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSISSYLSWYQQKPGKAPKLLIYSASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQCEDAATYYCQSYYDIGTSTFGGGTKVEIK
15	201C15-xi	重鏈	37	QSVKESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIDLSSYAMGWFRQAPGKGLEYIGTINIGGRVYYASWAKGRFTISRTSTTVDLKAPSLTAEDTATYFCARYYNGGSYDIWGPGTLVTVSL
16	201C15-xi	輕鏈	38	DVVMTQTPASASEPVGGTVTIKCQASESIYRVLAWYQQKPGQPPKLLIYDTSTLASGAPSRFKGSGYGTEFTLTISGVQCEDAATYYCQGGYYADSYGIAFGGGTEVVVK

17	201C15-zu	重鏈	39	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCS ASGIDLSSYAMGWVRQAPGKGLE YIGTINIGGRVYYASWAKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARYYNGGSYDIWGQGTLVTV SS
18	201C15-zu	輕鏈	40	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQ ASESIYRVLAWYQQKPGKAPKLLI YDTSTLASGVPSRFSGSGSGTEFT LTISSLQCDDAATYYCQGGYYAD SYGIAFGGGTKVEIK
19	346C6-xi	重鏈	41	QSVEESGGRLVKPDESLTLTCTAS GFSLSSYAMIWVRQAPGEGLEWI GTISTGGITYYASWAKGRFTISKTS TTVDLKITSPTTEDTATYFCARGG YAASSAYYLPYYFDLWGQGTLVT VSS
20	346C6-xi	輕鏈	42	AAVLTQTPSPVSAAVGGTVTISCQ SSQSVYNNNNLAWFQQKPGQPP KLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSG TQFTLTISGVQCDDAATYYCLGG CDDDADTFAFGGGTEVVVK
21	346C6-zu	重鏈	43	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLE WIGTISTGGITYYASWAKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGYAASSAYYLPYYFDLW GQGTLVTVSS
22	346C6-zu	輕鏈	44	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQ SSQSVYNNNNLAWYQQKPGKVP KLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQCEDAATYYCLGGC DDDADTFAFGGGTKVEIK

表 3. 編碼mAb可變區之核酸序列

	mAb	**IgG鏈**	**SEQ ID NO**	**核酸序列**
1	MORAb-003	重鏈	45	GAGGTCCAACTGGTGGAGAGCGG TGGAGGTGTTGTGCAACCTGGCC GGTCCCTGCGCCTGTCCTGCTCCG CATCTGGCTTCACCTTCAGCGGCT

				ATGGGTTGTCTTGGGTGAGACAG GCACCTGGAAAAGGTCTTGAGTG GGTTGCAATGATTAGTAGTGGTGG TAGTTATACCTACTATGCAGACAG TGTGAAGGGTAGATTTGCAATATC GCGAGACAACGCCAAGAACACAT TGTTCCTGCAAATGGACAGCCTG AGACCCGAAGACACCGGGGTCTA TTTTTGTGCAAGACATGGGGACG ATCCCGCCTGGTTCGCTTATTGGG GCCAAGGGACCCCGGTCACCGTC TCCTCA
2	MORAb-003	輕鏈	46	GACATCCAGCTGACCCAGAGCCC AAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGG GTGACAGAGTGACCATCACCTGT AGTGTCAGCTCAAGTATAAGTTCC AACAACTTGCACTGGTACCAGCA GAAGCCAGGTAAGGCTCCAAAGC CATGGATCTACGGCACATCCAACC TGGCTTCTGGTGTGCCAAGCAGA TTCAGCGGTAGCGGTAGCGGTAC CGACTACACCTTCACCATCAGCA GCCTCCAGCCAGAGGACATCGCC ACCTACTACTGCCAACAGTGGAG TAGTTACCCGTACATGTACACGTT CGGCCAAGGGACCAAGGTGGAA ATCAAA
3	MORAb-009	重鏈	47	CAGGTACAACTGCAGCAGTCTGG GCCTGAGCTGGAGAAGCCTGGCG CTTCAGTGAAGATATCCTGCAAG GCTTCTGGTTACTCATTCACTGGC TACACCATGAACTGGGTGAAGCA GAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGT GGATTGGACTTATTACTCCTTACA ATGGTGCTTCTAGCTACAACCAG AAGTTCAGGGGCAAGGCCACATT AACTGTAGACAAGTCATCCAGCA CAGCCTACATGGACCTCCTCAGTC TGACATCTGAAGACTCTGCAGTCT ATTTCTGTGCAAGGGGGGGTTAC GACGGGAGGGGTTTTGACTACTG GGGATCCGGGACCCCGGTCACCG TCTCCTCA

4	MORAb-009	輕鏈	48	GACATCGAGCTCACTCAGTCTCC AGCAATCATGTCTGCATCTCCAGG GGAGAAGGTCACCATGACCTGCA GTGCCAGCTCAAGTGTAAGTTAC ATGCACTGGTACCAGCAGAAGTC AGGCACCTCCCCCAAAAGATGGA TTTATGACACATCCAAACTGGCTT CTGGAGTCCCAGGTCGCTTCAGT GGCAGTGGGTCTGGAAACTCTTA CTCTCTCACAATCAGCAGCGTGG AGGCTGAAGATGATGCAACTTATT ACTGCCAGCAGTGGAGTAAGCAC CCTCTCACGTTCGGATCCGGGAC CAAGGTGGAAATCAAA
5	33011-xi	重鏈	49	CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGG TCGCCTGGTCACGCCTGGGACAC CCCTGACACTCACCTGCACCGTC TCTGGAATCTCCCTCAGTAGCGAT GCAATAAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTCGAATACA TCGGAATCATTAATGGTGGTGGTA ACACATACTACGCGAGCTGGGCG AAAGGCCGATTCACCATCTCCAA AACCTCGACCACGGTGGATCTGA AAATCACCAGTCCGACAACCGAG GACACGGCCACCTATTTCTGTGCC AGAGGCATTCAACATGGTGGTGG TAATAGTGATTATTATTATTACGGC ATGGACCTCTGGGGCCCAGGCAC CCTGGTCACTGTCTCTTCA
6	33011-xi	輕鏈	50	GAAGTGTTGATGACCCAGACTCC ATCCTCCGTGTCTGCAGCTGTGGG AGACACAGTCACCATCAAGTGCC AGGCCAGTCAGAGCATTAGTAGT GTCTTGTCCTGGTATCAGCAGAA ACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCC TGATCTATCTGGCATCCACTCTGG CATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCA GCGGCAGTAGATCTGGGACAGAG TTCACTCTCACCATCAGCGACCTG GAGTGTGACGATGCTGCCACTTA CTACTGTCAAACCAATTATGGTAC TAGTAGTAGTAATTATGGTTTTGCT

				TTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGT CGTCAAA
7	33011-zu	重鏈	51	GAAGTCCAACTGGTGGAAAGCGG GGGAGGACTGGTGCAGCCGGGC GGATCCCTCCGGCTGTCATGTGCT GCATCGGGAATTTCCCTCTCCTCC GACGCGATTAGCTGGGTCAGACA GGCCCCCGGAAAGGGGCTGGAGT ACATCGGTATCATCAACGGCGGC GGAAACACCTACTACGCCTCCTG GGCCAAGGGCCGCTTCACCATCT CGCGGCATAATTCCAAGAACACT CTGTACTTGCAAATGAACTCCCTG AGGGCCGAGGACACCGCCGTGTA CTACTGCGCGCGCGGCATCCAGC ACGGTGGTGGAAACAGCGACTAC TACTACTATGGGATGGATCTGTGG GGCCAGGGAACTCTTGTGACCGT GTCGTCA
8	33011-zu	輕鏈	52	GACATTCAGATGACCCAGTCCCC AAGCTCGCTGTCCGCCTCCGTGG GCGACCGCGTGACCATCACGTGC CAGGCGTCCCAGTCAATTAGCAG CGTGCTCTCCTGGTACCAACAGA AGCCGGGGAAAGCACCCAAGCT GCTGATCTACTTGGCCTCCACTCT GGCCTCGGGAGTGCCTTCACGGT TCTCCGGATCGGGATCTGGTACTG ATTTCACCCTCACCATCTCGAGCC TTCAGTGCGAGGACATCGCTACTT ACTATTGTCAAACCAACTACGGA ACCTCCAGCTCCAACTACGGCTTT GCCTTCGGTGGCGGGACCAAGGT CGAAATCAAA
9	111B10-xi	重鏈	53	CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGG TCGCCTGGTCACGCCTGGGACAC CCCTGACACTCACCTGCACAGTC TCTGGATTCTCCCTCAATAACTAT GCAATGAGCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGA TCGGATCCATTAGTACTGGTGGTC TCGCATTCTACGCGAACTGGGCA AAAGGCCGATTCACCATCTCCAG

				AACCTCGACCACGGTGGATCTGA AAATGACCAGTCTGACAACCGAG GACACGGCCACCTATTTCTGTGGC AGAAATGGTGGTGGTAGTTATATT TTCTATTATTTTGACTTGTGGGGC CAAGGCACCCTCGTCACTGTCTC TTCA
10	111B10-xi	輕鏈	54	GCATTCGAATTGACCCAGACTCCA TCCTCCGTGGAGGCAGCTGTGGG AGGCACAATCACCATCAAGTGCC AGGCCAGTCAGAGCATTAGTAGT TACTTATCCTGGTATCAGCAGAAA CCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCT GATCTATTCTGCATCCACTCTGGC ATCTGGGGTCTCATCGCGGTTCAA AGGCAGTGGATCTGGGACAGAGT ACACTCTCACCATCAGCGACCTG GAGTGTGCCGATGCTGCCACTTA CTTCTGTCAAAGCTATTATGATATT GGTACTAGTACTTTCGGCGGAGG GACCGAGGTGGTCGTCAAA
11	111B10-zu	重鏈	55	GAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGG CGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCG GATCTCTGAGACTGTCTTGTGCCG CCTCCGGCTTCTCCCTGAACAACT ACGCCATGTCCTGGGTGCGACAG GCCCCTGGCAAAGGCCTGGAATG GATCGGCTCCATCAGCACAGGCG GCCTGGCCTTCTACGCCAATTGGG CCAAGGGCCGGTTCACCATCAGC CGGGACAACTCCAAGAACACCCT GTACCTCCAGATGAACTCCCTGC GGGCCGAGGACACCGCCGTGTAC TACTGTGCCAGAAACGGCGGAGG CTCCTACATCTTCTACTACTTCGA CCTGTGGGGCCAGGGCACCCTCG TGACAGTGTCATCT
12	111B10-zu	輕鏈	56	GATATTCAGATGACCCAGTCCCCC TCCAGCCTGTCCGCTTCTGTGGGC GACAGAGTGACCATCACCTGTCA GGCCTCCCAGTCCATCTCCTCCTA CCTGTCCTGGTATCAGCAGAAGC CCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTG

				ATCTACTCTGCCTCCACACTGGCC TCCGGCGTGCCCTCTAGATTCTCC GGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTT ACCCTGACCATCAGCTCCCTCCA GTGCGAGGATGCCGCCACCTACT ACTGCCAGTCCTACTACGACATCG GCACCTCCACCTTCGGCGGAGGC ACCAAGGTGGAAATCAAA
13	201C15-xi	重鏈	57	CAGTCAGTGAAGGAGTCCGGGGG TCGCCTGGTCACGCCTGGGACAC CCCTGACACTCACCTGCACAGTC TCTGGAATCGACCTCAGTAGCTAT GCAATGGGCTGGTTCCGCCAGGC TCCAGGGAAGGGGCTGGAATACA TCGGAACCATTAATATTGGTGGTC GCGTATATTACGCGAGCTGGGCAA AAGGCCGATTCACCATCTCCAGA ACCTCGACCACGGTGGATCTGAA AGCGCCCAGTCTGACAGCCGAGG ACACGGCCACCTATTTCTGTGCCA GATATTATAATGGTGGTAGTTATGA CATCTGGGGCCCAGGCACCCTGG TCACCGTCTCTTTA
14	201C15-xi	輕鏈	58	GATGTTGTGATGACCCAGACTCC AGCCTCCGCGTCTGAACCTGTGG GAGGCACAGTCACCATCAAGTGC CAGGCCAGTGAGAGCATTTATCG CGTATTGGCCTGGTATCAGCAGAA ACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCC TGATCTATGATACATCCACTCTGG CATCTGGGGCCCCATCGCGGTTCA AAGGCAGTGGATATGGGACAGAG TTCACTCTCACCATCAGCGGCGTG CAGTGTGAAGATGCTGCCACTTA CTACTGTCAAGGCGGTTATTATGC TGATAGTTATGGTATTGCTTTCGG CGGAGGGACCGAGGTGGTGGTCA AA
15	201C15-zu	重鏈	59	CAGGTGCAGCTGGTGGAATCTGG CGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCG GCTCTCTGAGACTGTCCTGTTCCG CCTCCGGAATCGACCTGTCCTCCT ACGCTATGGGCTGGGTGCGACAG

				GCTCCTGGCAAGGGCCTGGAGTA CATCGGCACCATCAACATCGGCG GCAGAGTGTACTACGCCTCCTGG GCCAAGGGCCGGTTCACCATCTC CAGAGACAACTCCAAGAACACCC TGTACCTCCAGATGAACTCCCTGC GGGCCGAGGACACCGCCGTGTAC TACTGCGCCCGGTACTACAACGG CGGCTCCTACGATATCTGGGGCCA GGGCACACTCGTGACCGTGTCCT CT
16	201C15-zu	輕鏈	60	GATATCCAGATGACCCAGTCCCCC TCCACCCTGTCTGCCTCTGTGGGC GACAGAGTGACCATCACCTGTCA GGCCTCCGAGTCCATCTACCGGG TGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAG CCTGGCAAGGCCCCCAAGCTGCT GATCTACGACACCAGCACACTGG CCTCCGGCGTGCCCTCTAGATTCT CCGGCTCTGGCTCTGGCACCGAG TTTACCCTGACCATCTCCAGCCTC CAGTGCGACGACGCCGCCACCTA CTATTGTCAGGGCGGCTACTACGC CGACTCCTACGGAATCGCTTTCGG CGGAGGCACCAAGGTGGAAATCA AA
17	346C6-xi	重鏈	61	CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGCGG TCGCCTGGTAAAGCCTGACGAAT CCCTGACACTCACCTGCACAGCC TCTGGATTCTCCCTCAGTAGTTAT GCAATGATCTGGGTCCGCCAGGC TCCAGGGGAGGGGCTGGAATGGA TCGGAACCATTAGTACTGGTGGTA TCACATACTACGCGAGCTGGGCG AAAGGCCGATTCACCATCTCCAA AACCTCGACCACGGTGGATCTGA AAATCACCAGTCCGACAACCGAG GACACGGCCACCTATTTCTGTGCC AGAGGGGGATATGCTGCTAGTAG TGCTTATTATCTCCCGTACTACTTT GACTTGTGGGGCCAAGGGACCCT GGTCACCGTCTCCTCA
18	346C6-xi	輕鏈	62	GCAGCCGTGCTGACCCAGACACC

				ATCACCCGTGTCTGCAGCTGTGG GAGGCACAGTCACCATCAGTTGC CAGTCCAGTCAGAGTGTTTATAAT AATAACAACTTAGCCTGGTTTCAG CAGAAACCCGGGCAGCCTCCCAA GCTTCTGATCTATCTGGCATCCAC TCTGGCATCTGGGGTCCCATCACG GTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGA CACAGTTCACTCTCACCATCAGC GGCGTGCAGTGTGACGATGCTGC CACTTATTACTGTCTAGGTGGTTG TGATGATGATGCTGATACTTTTGC TTTCGGCGGAGGGACTGAGGTGG TGGTCAAA
19	346C6-zu	重鏈	63	GAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGG CGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCG GATCTCTGAGACTGTCTTGTGCCG CCTCCGGCTTCTCCCTGTCCTCCT ACGCTATGATCTGGGTGCGACAG GCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATG GATCGGCACCATCTCTACCGGCG GAATTACCTACTACGCCTCCTGGG CCAAGGGCCGGTTCACCATCTCC AGAGACAACTCCAAGAACACCCT GTACCTCCAGATGAACTCCCTGC GGGCCGAGGACACCGCCGTGTAC TATTGTGCTAGAGGCGGCTACGCC GCCAGCTCCGCTTACTACCTGCCC TACTACTTCGACCTGTGGGGCCA GGGCACCCTCGTGACAGTGTCAT CT
20	346C6-zu	輕鏈	64	GATATTCAGATGACCCAGTCCCCC TCCAGCCTGTCCGCTTCTGTGGGC GACAGAGTGACCATCACCTGTCA GTCCTCCCAGTCCGTGTATAACAA CAACAACCTGGCCTGGTATCAGC AGAAACCCGGCAAGGTGCCCAA GCTGCTGATCTACCTGGCCTCCAC ACTGGCCTCTGGCGTGCCCTCTA GATTCTCCGGCTCTGGCTCTGGCA CCGACTTTACCCTGACCATCAGCT CCCTCCAGTGCGAGGATGCCGCC ACCTACTATTGCCTGGGCGGCTGC GACGACGACGCCGATACCTTTGC

				TTTTGGCGGAGGCACCAAGGTGG AAATCAAA

表4. mAb Kabat CDR之胺基酸序列

	mAb	IgG鏈	SEQ ID NO	胺基酸序列
1	MORAb-003	HC CDR1	2	GYGLS
2	MORAb-003	HC CDR2	3	MISSGGSYTYYADSVKG
3	MORAb-003	HC CDR3	4	HGDDPAWFAY
4	MORAb-003	LC CDR1	7	SVSSSISSNNLH
5	MORAb-003	LC CDR2	8	GTSNLAS
6	MORAb-003	LC CDR3	9	QQWSSYPYMYT
7	MORAb-009	HC CDR1	65	GYTMN
8	MORAb-009	HC CDR2	66	LITPYNGASSYNQKFRG
9	MORAb-009	HC CDR3	67	GGYDGRGFDY
10	MORAb-009	LC CDR1	68	SASSSVSYMH
11	MORAb-009	LC CDR2	69	DTSKLAS
12	MORAb-009	LC CDR3	70	QQWSKHPLT
13	曲妥珠單抗	HC CDR1	71	DTYIH
14	曲妥珠單抗	HC CDR2	72	RIYPTNGYTRYADSVKG
15	曲妥珠單抗	HC CDR3	73	WGGDGFYAMDY
16	曲妥珠單抗	LC CDR1	74	RASQDVNTAVA
17	曲妥珠單抗	LC CDR2	75	SASFLYS
18	曲妥珠單抗	LC CDR3	76	QQHYTTPPT
19	33011-xi	HC CDR1	77	SDAIS
20	33011-xi	HC CDR2	78	IINGGGNTYYASWAKG
21	33011-xi	HC CDR3	79	GIQHGGGNSDYYYYGM DL
22	33011-xi	LC CDR1	80	QASQSISSVLS
23	33011-xi	LC CDR2	81	LASTLAS
24	33011-xi	LC CDR3	82	QTNYGTSSSNYGFA
25	33011-zu	HC CDR1	83	SDAIS
26	33011-zu	HC CDR2	84	IINGGGNTYYASWAKG

27	33011-zu	HC CDR3	85	GIQHGGGNSDYYYYGMDL
28	33011-zu	LC CDR1	86	QASQSISSVLS
29	33011-zu	LC CDR2	87	LASTLAS
30	33011-zu	LC CDR3	88	QTNYGTSSSNYGFA
31	111B10-xi	HC CDR1	89	NYAMS
32	111B10-xi	HC CDR2	90	SISTGGLAFYANWAKG
33	111B10-xi	HC CDR3	91	NGGGSYIFYYFDL
34	111B10-xi	LC CDR1	92	QASQSISSYLS
35	111B10-xi	LC CDR2	93	SASTLAS
36	111B10-xi	LC CDR3	94	QSYYDIGTST
37	111B10-zu	HC CDR1	95	NYAMS
38	111B10-zu	HC CDR2	96	SISTGGLAFYANWAKG
39	111B10-zu	HC CDR3	97	NGGGSYIFYYFDL
40	111B10-zu	LC CDR1	98	QASQSISSYLS
41	111B10-zu	LC CDR2	99	SASTLAS
42	111B10-zu	LC CDR3	100	QSYYDIGTST
43	201C15-xi	HC CDR1	101	SYAMG
44	201C15-xi	HC CDR2	102	TINIGGRVYYASWAKG
45	201C15-xi	HC CDR3	103	YYNGGSYDI
46	201C15-xi	LC CDR1	104	QASESIYRVLA
47	201C15-xi	LC CDR2	105	DTSTLAS
48	201C15-xi	LC CDR3	106	QGGYYADSYGIA
49	201C15-zu	HC CDR1	107	SYAMG
50	201C15-zu	HC CDR2	108	TINIGGRVYYASWAKG
51	201C15-zu	HC CDR3	109	YYNGGSYDI
52	201C15-zu	LC CDR1	110	QASESIYRVLA
53	201C15-zu	LC CDR2	111	DTSTLAS
54	201C15-zu	LC CDR3	112	QGGYYADSYGIA
55	346C6-xi	HC CDR1	113	SYAMI
56	346C6-xi	HC CDR2	114	TISTGGITYYASWAKG
57	346C6-xi	HC CDR3	115	GGYAASSAYYLPYYFDL

58	346C6-xi	LC CDR1	116	QSSQSVYNNNNLA
59	346C6-xi	LC CDR2	117	LASTLAS
60	346C6-xi	LC CDR3	118	LGGCDDDADTFA
61	346C6-zu	HC CDR1	119	SYAMI
62	346C6-zu	HC CDR2	120	TISTGGITYYASWAKG
63	346C6-zu	HC CDR3	121	GGYAASSAYYLPYYFDL
64	346C6-zu	LC CDR1	122	QSSQSVYNNNNLA
65	346C6-zu	LC CDR2	123	LASTLAS
66	346C6-zu	LC CDR3	124	LGGCDDDADTFA

表5. 編碼mAb Kabat CDR之核酸序列

	mAb	**IgG鏈**	**SEQ ID NO**	核酸序列
1	MORAb-003	HC CDR1	125	GGCTATGGGTTGTCT
2	MORAb-003	HC CDR2	126	ATGATTAGTAGTGGTGGTAGTTATACCTACTATGCAGACAGTGTGAAGGGT
3	MORAb-003	HC CDR3	127	CATGGGGACGATCCCGCCTGGTTCGCTTAT
4	MORAb-003	LC CDR1	128	AGTGTCAGCTCAAGTATAAGTTCCAACAACTTGCAC
5	MORAb-003	LC CDR2	129	GGCACATCCAACCTGGCTTCT
6	MORAb-003	LC CDR3	130	CAACAGTGGAGTAGTTACCCGTACATGTACACG
7	MORAb-009	HC CDR1	131	GGCTACACCATGAAC
8	MORAb-009	HC CDR2	132	CTTATTACTCCTTACAATGGTGCTTCTAGCTACAACCAGAAGTTCAGGGGC
9	MORAb-009	HC CDR3	133	GGGGGTTACGACGGGAGGGGTTTTGACTAC
10	MORAb-009	LC CDR1	134	AGTGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGCAC

11	MORAb-009	LC CDR2	135	GACACATCCAAACTGGCTTCT
12	MORAb-009	LC CDR3	136	CAGCAGTGGAGTAAGCACCCTCTCACG
13	33011-xi	HC CDR1	137	AGCGATGCAATAAGC
14	33011-xi	HC CDR2	138	ATCATTAATGGTGGTGGTAACACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGC
15	33011-xi	HC CDR3	139	GGCATTCAACATGGTGGTGGTAATAGTGATTATTATTATTACGGCATGGACCTC
16	33011-xi	LC CDR1	140	CAGGCCAGTCAGAGCATTAGTAGTGTCTTGTCC
17	33011-xi	LC CDR2	141	CTGGCATCCACTCTGGCATCT
18	33011-xi	LC CDR3	142	CAAACCAATTATGGTACTAGTAGTAGTAATTATGGTTTTGCT
19	33011-zu	HC CDR1	143	TCCGACGCGATTAGC
20	33011-zu	HC CDR2	144	ATCATCAACGGCGGCGGAAACACCTACTACGCCTCCTGGGCCAAGGGC
21	33011-zu	HC CDR3	145	GGCATCCAGCACGGTGGTGGAAACAGCGACTACTACTACTATGGGATGGATCTG
22	33011-zu	LC CDR1	146	CAGGCGTCCCAGTCAATTAGCAGCGTGCTCTCC
23	33011-zu	LC CDR2	147	TTGGCCTCCACTCTGGCCTCG
24	33011-zu	LC CDR3	148	CAAACCAACTACGGAACCTCCAGCTCCAACTACGGCTTTGCC
25	111B10-xi	HC CDR1	149	AACTATGCAATGAGC
26	111B10-xi	HC CDR2	150	TCCATTAGTACTGGTGGTCTCGCATTCTACGCGAACTGGGC

				AAAAGGC
27	111B10-xi	HC CDR3	151	AATGGTGGTGGTAGTTATATTTTCTATTATTTTGACTTG
28	111B10-xi	LC CDR1	152	CAGGCCAGTCAGAGCATTAGTAGTTACTTATCC
29	111B10-xi	LC CDR2	153	TCTGCATCCACTCTGGCATCT
30	111B10-xi	LC CDR3	154	CAAAGCTATTATGATATTGGTACTAGTACT
31	111B10-zu	HC CDR1	155	AACTACGCCATGTCC
32	111B10-zu	HC CDR2	156	TCCATCAGCACAGGCGGCCTGGCCTTCTACGCCAATTGGGCCAAGGGC
33	111B10-zu	HC CDR3	157	AACGGCGGAGGCTCCTACATCTTCTACTACTTCGACCTG
34	111B10-zu	LC CDR1	158	CAGGCCTCCCAGTCCATCTCCTCCTACCTGTCC
35	111B10-zu	LC CDR2	159	TCTGCCTCCACACTGGCCTCC
36	111B10-zu	LC CDR3	160	CAGTCCTACTACGACATCGGCACCTCCACC
37	201C15-xi	HC CDR1	161	AGCTATGCAATGGGC
38	201C15-xi	HC CDR2	162	ACCATTAATATTGGTGGTCGCGTATATTACGCGAGCTGGGCAAAAGGC
39	201C15-xi	HC CDR3	163	TATTATAATGGTGGTAGTTATGACATC
40	201C15-xi	LC CDR1	164	CAGGCCAGTGAGAGCATTTATCGCGTATTGGCC
41	201C15-xi	LC CDR2	165	GATACATCCACTCTGGCATCT
42	201C15-xi	LC CDR3	166	CAAGGCGGTTATTATGCTGATAGTTATGGTATTGCT
43	201C15-zu	HC CDR1	167	TCCTACGCTATGGGC

44	201C15-zu	HC CDR2	168	ACCATCAACATCGGCGGCAG AGTGTACTACGCCTCCTGGG CCAAGGGC
45	201C15-zu	HC CDR3	169	TACTACAACGGCGGCTCCTA CGATATC
46	201C15-zu	LC CDR1	170	CAGGCCTCCGAGTCCATCTA CCGGGTGCTGGCC
47	201C15-zu	LC CDR2	171	GACACCAGCACACTGGCCTC C
48	201C15-zu	LC CDR3	172	CAGGGCGGCTACTACGCCGA CTCCTACGGAATCGCT
49	346C6-xi	HC CDR1	173	AGTTATGCAATGATC
50	346C6-xi	HC CDR2	174	ACCATTAGTACTGGTGGTATC ACATACTACGCGAGCTGGGC GAAAGGC
51	346C6-xi	HC CDR3	175	GGGGGATATGCTGCTAGTAG TGCTTATTATCTCCCGTACTA CTTTGACTTG
52	346C6-xi	LC CDR1	176	CAGTCCTCCCAGTCCGTGTAT AACAACAACAACCTGGCC
53	346C6-xi	LC CDR2	177	CTGGCATCCACTCTGGCATC T
54	346C6-xi	LC CDR3	178	CTAGGTGGTTGTGATGATGAT GCTGATACTTTTGCT
55	346C6-zu	HC CDR1	179	TCCTACGCTATGATC
56	346C6-zu	HC CDR2	180	ACCATCTCTACCGGCGGAAT TACCTACTACGCCTCCTGGG CCAAGGGC
57	346C6-zu	HC CDR3	181	GGCGGCTACGCCGCCAGCTC CGCTTACTACCTGCCCTACTA CTTCGACCTG
58	346C6-zu	LC CDR1	182	CAGTCCTCCCAGTCCGTGTAT AACAACAACAACCTGGCC
59	346C6-zu	LC CDR2	183	CTGGCCTCCACACTGGCCTC T

60	346C6-zu	LC CDR3	184	CTGGGCGGCTGCGACGACG ACGCCGATACCTTTGCT

表6. mAb IMGT CDR之胺基酸序列

	mAb	IgG鏈	SEQ ID NO	胺基酸序列
1	MORAb-003	HC CDR1	13	GFTFSGYG
2	MORAb-003	HC CDR2	14	ISSGGSYT
3	MORAb-003	HC CDR3	15	ARHGDDPAWFAY
4	MORAb-003	LC CDR1	16	SSISSNN
5	MORAb-003	LC CDR2	17	GTS
6	MORAb-003	LC CDR3	18	QQWSSYPYMYT
7	MORAb-009	HC CDR1	185	GYSFTGYT
8	MORAb-009	HC CDR2	186	ITPYNGAS
9	MORAb-009	HC CDR3	187	ARGGYDGRGFDY
10	MORAb-009	LC CDR1	188	SSVSY
11	MORAb-009	LC CDR2	189	DTS
12	MORAb-009	LC CDR3	190	QQWSKHPLT
13	曲妥珠單抗	HC CDR1	191	GFNIKDTY
14	曲妥珠單抗	HC CDR2	192	IYPTNGYT
15	曲妥珠單抗	HC CDR3	193	SRWGGDGFYAMDY
16	曲妥珠單抗	LC CDR1	194	QDVNTA
17	曲妥珠單抗	LC CDR2	195	SAS
18	曲妥珠單抗	LC CDR3	196	QQHYTTPPT
19	33011-xi	HC CDR1	197	GISLSSDA
20	33011-xi	HC CDR2	198	INGGGNT
21	33011-xi	HC CDR3	199	ARGIQHGGGNSDYYY YGMDL
22	33011-xi	LC CDR1	200	QSISSV
23	33011-xi	LC CDR2	201	LAS
24	33011-xi	LC CDR3	202	QTNYGTSSSNYGFA
25	33011-zu	HC CDR1	203	GISLSSDA
26	33011-zu	HC CDR2	204	INGGGNT

27	33011-zu	HC CDR3	205	ARGIQHGGGNSDYYY YGMDL
28	33011-zu	LC CDR1	206	QSISSV
29	33011-zu	LC CDR2	207	LAS
30	33011-zu	LC CDR3	208	QTNYGTSSSNYGFA
31	111B10-xi	HC CDR1	209	GFSLNNYA
32	111B10-xi	HC CDR2	210	ISTGGLA
33	111B10-xi	HC CDR3	211	GRNGGGSYIFYYFDL
34	111B10-xi	LC CDR1	212	QSISSY
35	111B10-xi	LC CDR2	213	SAS
36	111B10-xi	LC CDR3	214	QSYYDIGTST
37	111B10-zu	HC CDR1	215	GFSLNNYA
38	111B10-zu	HC CDR2	216	ISTGGLA
39	111B10-zu	HC CDR3	217	ARNGGGSYIFYYFDL
40	111B10-zu	LC CDR1	218	QSISSY
41	111B10-zu	LC CDR2	219	SAS
42	111B10-zu	LC CDR3	220	QSYYDIGTST
43	201C15-xi	HC CDR1	221	GIDLSSYA
44	201C15-xi	HC CDR2	222	INIGGRV
45	201C15-xi	HC CDR3	223	ARYYNGGSYDI
46	201C15-xi	LC CDR1	224	ESIYRV
47	201C15-xi	LC CDR2	225	DTS
48	201C15-xi	LC CDR3	226	QGGYYADSYGIA
49	201C15-zu	HC CDR1	227	GIDLSSYA
50	201C15-zu	HC CDR2	228	INIGGRV
51	201C15-zu	HC CDR3	229	ARYYNGGSYDI
52	201C15-zu	LC CDR1	230	ESIYRV
53	201C15-zu	LC CDR2	231	DTS
54	201C15-zu	LC CDR3	232	QGGYYADSYGIA
55	346C6-xi	HC CDR1	233	GFSLSSYA
56	346C6-xi	HC CDR2	234	ISTGGIT
57	346C6-xi	HC CDR3	235	ARGGYAASSAYYLPYY

				FDL
58	346C6-xi	LC CDR1	236	QSVYNNNN
59	346C6-xi	LC CDR2	237	LAS
60	346C6-xi	LC CDR3	238	LGGCDDDADTFA
61	346C6-zu	HC CDR1	239	GFSLSSYA
62	346C6-zu	HC CDR2	240	ISTGGIT
63	346C6-zu	HC CDR3	241	ARGGYAASSAYYLPYY FDL
64	346C6-zu	LC CDR1	242	QSVYNNNN
65	346C6-zu	LC CDR2	243	LAS
66	346C6-zu	LC CDR3	244	LGGCDDDADTFA

表7. 編碼mAb IMGT CDR之核酸序列

	mAb	**IgG鏈**	**SEQ ID NO**	核酸序列
1	MORAb-003	HC CDR1	245	GGCTTCACCTTCAGCGGCTA TGGG
2	MORAb-003	HC CDR2	246	ATTAGTAGTGGTGGTAGTTAT ACC
3	MORAb-003	HC CDR3	247	GCAAGACATGGGGACGATCC CGCCTGGTTCGCTTAT
4	MORAb-003	LC CDR1	248	TCAAGTATAAGTTCCAACAA C
5	MORAb-003	LC CDR2	249	GGCACATCC
6	MORAb-003	LC CDR3	250	CAACAGTGGAGTAGTTACCC GTACATGTACACG
7	MORAb-009	HC CDR1	251	GGTTACTCATTCACTGGCTA CACC
8	MORAb-009	HC CDR2	252	ATTACTCCTTACAATGGTGCT TCT
9	MORAb-009	HC CDR3	253	GCAAGGGGGGGTTACGACG GGAGGGGTTTTGACTAC
10	MORAb-009	LC CDR1	254	TCAAGTGTAAGTTAC
11	MORAb-009	LC CDR2	255	GACACATCC

12	MORAb-009	LC CDR3	256	CAGCAGTGGAGTAAGCACCCTCTCACG
13	33011-xi	HC CDR1	257	GGAATCTCCCTCAGTAGCGATGCA
14	33011-xi	HC CDR2	258	ATTAATGGTGGTGGTAACACA
15	33011-xi	HC CDR3	259	GCCAGAGGCATTCAACATGGTGGTGGTAATAGTGATTATTATTATTACGGCATGGACCTC
16	33011-xi	LC CDR1	260	CAGAGCATTAGTAGTGTC
17	33011-xi	LC CDR2	261	CTGGCATCT
18	33011-xi	LC CDR3	262	CAAACCAATTATGGTACTAGTAGTAGTAATTATGGTTTTGCT
19	33011-zu	HC CDR1	263	GGAATTTCCCTCTCCTCCGACGCG
20	33011-zu	HC CDR2	264	ATCAACGGCGGCGGAAACACC
21	33011-zu	HC CDR3	265	GCGCGCGGCATCCAGCACGGTGGTGGAAACAGCGACTACTACTACTATGGGATGGATCTG
22	33011-zu	LC CDR1	266	CAGTCAATTAGCAGCGTG
23	33011-zu	LC CDR2	267	TTGGCCTCC
24	33011-zu	LC CDR3	268	CAAACCAACTACGGAACCTCCAGCTCCAACTACGGCTTTGCC
25	111B10-xi	HC CDR1	269	GGATTCTCCCTCAATAACTATGCA
26	111B10-xi	HC CDR2	270	ATTAGTACTGGTGGTCTCGCA
27	111B10-xi	HC CDR3	271	GGCAGAAATGGTGGTGGTAGTTATATTTTCTATTATTTTGACTTG
28	111B10-xi	LC CDR1	272	CAGAGCATTAGTAGTTAC
29	111B10-xi	LC CDR2	273	TCTGCATCC
30	111B10-xi	LC CDR3	274	CAAAGCTATTATGATATTGGT

				ACTAGTACT
31	111B10-zu	HC CDR1	275	GGCTTCTCCCTGAACAACTACGCC
32	111B10-zu	HC CDR2	276	ATCAGCACAGGCGGCCTGGCC
33	111B10-zu	HC CDR3	277	GCCAGAAACGGCGGAGGCTCCTACATCTTCTACTACTTCGACCTG
34	111B10-zu	LC CDR1	278	CAGTCCATCTCCTCCTAC
35	111B10-zu	LC CDR2	279	TCTGCCTCC
36	111B10-zu	LC CDR3	300	CAGTCCTACTACGACATCGGCACCTCCACC
37	201C15-xi	HC CDR1	301	GGAATCGACCTCAGTAGCTATGCA
38	201C15-xi	HC CDR2	302	ATTAATATTGGTGGTCGCGTA
39	201C15-xi	HC CDR3	303	GCCAGATATTATAATGGTGGTAGTTATGACATC
40	201C15-xi	LC CDR1	304	GAGAGCATTTATCGCGTA
41	201C15-xi	LC CDR2	305	GATACATCC
42	201C15-xi	LC CDR3	306	CAAGGCGGTTATTATGCTGATAGTTATGGTATTGCT
43	201C15-zu	HC CDR1	307	GGAATCGACCTGTCCTCCTACGCT
44	201C15-zu	HC CDR2	308	ATCAACATCGGCGGCAGAGTG
45	201C15-zu	HC CDR3	309	GCCCGGTACTACAACGGCGGCTCCTACGATATC
46	201C15-zu	LC CDR1	310	GAGTCCATCTACCGGGTG
47	201C15-zu	LC CDR2	311	GACACCAGC
48	201C15-zu	LC CDR3	312	CAGGGCGGCTACTACGCCGACTCCTACGGAATCGCT
49	346C6-xi	HC CDR1	313	GGATTCTCCCTCAGTAGTTATGCA
50	346C6-xi	HC CDR2	314	ATTAGTACTGGTGGTATCACA

51	346C6-xi	HC CDR3	315	GCCAGAGGGGGATATGCTGCTAGTAGTGCTTATTATCTCCCGTACTACTTTGACTTG
52	346C6-xi	LC CDR1	316	CAGAGTGTTTATAATAATAACAAC
53	346C6-xi	LC CDR2	317	CTGGCATCC
54	346C6-xi	LC CDR3	318	CTAGGTGGTTGTGATGATGATGCTGATACTTTTGCT
55	346C6-zu	HC CDR1	319	GGCTTCTCCCTGTCCTCCTACGCT
56	346C6-zu	HC CDR2	320	ATCTCTACCGGCGGAATTACC
57	346C6-zu	HC CDR3	321	GCTAGAGGCGGCTACGCCGCCAGCTCCGCTTACTACCTGCCCTACTACTTCGACCTG
58	346C6-zu	LC CDR1	322	CAGTCCGTGTATAACAACAACAAC
59	346C6-zu	LC CDR2	323	CTGGCCTCC
60	346C6-zu	LC CDR3	324	CTGGGCGGCTGCGACGACGACGCCGATACCTTTGCT

表8. 全長mAb Ig鏈之胺基酸序列

	mAb	**IgG鏈**	**SEQ ID NO**	**胺基酸序列**
1	MORAb-003	重鏈	1	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFTFSGYGLSWVRQAPGKGLEWVAMISSGGSYTYYADSVKGRFAISRDNAKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCARHGDDPAWFAYWGQGTPVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR

				EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
2	MORAb-003	輕鏈	6	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSV SSSISSNNLHWYQQKPGKAPKPW IYGTSNLASGVPSRFSGSGSGTDY TFTISSLQPEDIATYYCQQWSSYP YMYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC
3	MORAb-009	重鏈	325	QVQLQQSGPELEKPGASVKISCK ASGYSFTGYTMNWVKQSHGKSL EWIGLITPYNGASSYNQKFRGKA TLTVDKSSSTAYMDLLSLTSEDSA VYFCARGGYDGRGFDYWGSGTP VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
4	MORAb-009	輕鏈	326	DIELTQSPAIMSASPGEKVTMTCS ASSSVSYMHWYQQKSGTSPKRW IYDTSKLASGVPGRFSGSGSGNSY SLTISSVEAEDDATYYCQQWSKH PLTFGSGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK

				HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
5	曲妥珠單抗	重鏈	327	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLE WVARIYPTNGYTRYADSVKGRFT ISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTA VYYCSRWGGDGFYAMDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
6	曲妥珠單抗	輕鏈	328	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKL LIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTP PTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
7	33011-xi	重鏈	329	QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVS GISLSSDAISWVRQAPGKGLEYIG IINGGGNTYYASWAKGRFTISKTS TTVDLKITSPTTEDTATYFCARGI QHGGGNSDYYYYGMDL WGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP

				KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
8	33011-xi	輕鏈	330	EVLMTQTPSSVSAAVGDTVTIKC QASQSISSVLSWYQQKPGQPPKL LIYLASTLASGVPSRFSGSRSGTE FTLTISDLECDDAATYYCQTNYG TSSSNYGFAFGGGTEVVVKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
9	33011-zu	重鏈	331	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGISLSSDAISWVRQAPGKGLE YIGIINGGGNTYYASWAKGRFTIS RHNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGIQHGGGNSDYYYYGMDL WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
10	33011-zu	輕鏈	332	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQ ASQSISSVLSWYQQKPGKAPKLLI YLASTLASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQCEDIATYYCQTNYGTSSS

				NYGFAFGGGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
11	111B10-xi	重鏈	333	QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVS GFSLNNYAMSWVRQAPGKGLEW IGSISTGGLAFYANWAKGRFTISR TSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCG RNGGGSYIFYYFDLWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
12	111B10-xi	輕鏈	334	AFELTQTPSSVEAAVGGTITIKCQ ASQSISSYLSWYQQKPGQPPKLLI YSASTLASGVSSRFKGSGSGTEY TLTISDLECADAATYFCQSYYDIG TSTFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC
13	111B10-zu	重鏈	335	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFSLNNYAMSWVRQAPGKGL EWIGSISTGGLAFYANWAKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARNGGGSYIFYYFDLWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS

				WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
14	111B10-zu	輕鏈	336	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQ ASQSISSYLSWYQQKPGKAPKLLI YSASTLASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQCEDAATYYCQSYYDIGT STFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
15	201C15-xi	重鏈	337	QSVKESGGRLVTPGTPLTLTCTVS GIDLSSYAMGWFRQAPGKGLEYI GTINIGGRVYYASWAKGRFTISRT STTVDLKAPSLTAEDTATYFCARY YNGGSYDIWGPGTLVTVSLASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
16	201C15-xi	輕鏈	338	DVVMTQTPASASEPVGGTVTIKC

				QASESIYRVLAWYQQKPGQPPKL LIYDTSTLASGAPSRFKGSGYGTE FTLTISGVQCEDAATYYCQGGYY ADSYGIAFGGGTEVVVKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
17	201C15-zu	重鏈	339	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCS ASGIDLSSYAMGWVRQAPGKGL EYIGTINIGGRVYYASWAKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARYYNGGSYDIWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
18	201C15-zu	輕鏈	340	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQ ASESIYRVLAWYQQKPGKAPKLL IYDTSTLASGVPSRFSGSGSGTEF TLTISSLQCDDAATYYCQGGYYA DSYGIAFGGGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
19	346C6-xi	重鏈	341	QSVEESGGRLVKPDESLTLTCTAS GFSLSSYAMIWVRQAPGEGLEWI GTISTGGITYYASWAKGRFTISKT STTVDLKITSPTTEDTATYFCARG

				GYAASSAYYLPYYFDLWGQGTLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
20	346C6-xi	輕鏈	342	AAVLTQTPSPVSAAVGGTVTISCQ SSQSVYNNNNLAWFQQKPGQPP KLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSG TQFTLTISGVQCDDAATYYCLGG CDDDADTFAFGGGTEVVVKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC
21	346C6-zu	重鏈	343	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLE WIGTISTGGITYYASWAKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGGYAASSAYYLPYYFDLW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS

				KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
22	346C6-zu	輕鏈	344	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQ SSQSVYNNNNLAWYQQKPGKVP KLLIYLASTLASGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQCEDAATYYCLGGC DDDADTFAFGGGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC

表9. 編碼全長mAb Ig鏈之核酸序列+

	mAb	**IgG鏈**	**SEQ ID NO**	**核酸序列**
1	MORAb-003	重鏈	345	GAGGTCCAACTGGTGGAGAGCGG TGGAGGTGTTGTGCAACCTGGCCG GTCCCTGCGCCTGTCCTGCTCCGC ATCTGGCTTCACCTTCAGCGGCTAT GGGTTGTCTTGGGTGAGACAGGCA CCTGGAAAAGGTCTTGAGTGGGTT GCAATGATTAGTAGTGGTGGTAGTT ATACCTACTATGCAGACAGTGTGA AGGGTAGATTTGCAATATCGCGAG ACAACGCCAAGAACACATTGTTCC TGCAAATGGACAGCCTGAGACCCG AAGACACCGGGGTCTATTTTTGTG CAAGACATGGGGACGATCCCGCCT GGTTCGCTTATTGGGGCCAAGGGA CCCCGGTCACCGTCTCCTCAGCCT CCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCC CCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCA CCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGG GCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC CCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCG TGCACACCTTCCCGGCTGTCCTAC AGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCA GCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCA GCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAAA

				GTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA ACTCACACATGCCCACCGTGCCCA GCACCTGAACTCCTGGGGGGACCG TCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAA CCCAAGGACACCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGA CCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAA TGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG AGCAGTACAACAGCACGTACCGTG TGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAG AAAACCATCTCCAAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATCCCGGGATG AGCTGACCAAGAACCAGGTCAGC CTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAG TGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGA GAACAACTACAAGACCACGCCTCC CGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTT CTTCTTATATTCAAAGCTCACCGTG GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGG GAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG CATGAGGCTCTGCACAACCACTAC ACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCT CCCGGGAAATGA
2	MORAb-003	輕鏈	346	GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCA AGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGG TGACAGAGTGACCATCACCTGTAG TGTCAGCTCAAGTATAAGTTCCAA CAACTTGCACTGGTACCAGCAGAA GCCAGGTAAGGCTCCAAAGCCATG GATCTACGGCACATCCAACCTGGC TTCTGGTGTGCCAAGCAGATTCAG CGGTAGCGGTAGCGGTACCGACTA CACCTTCACCATCAGCAGCCTCCA GCCAGAGGACATCGCCACCTACTA CTGCCAACAGTGGAGTAGTTACCC GTACATGTACACGTTCGGCCAAGG GACCAAGGTGGAAATCAAACGAA

				CTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCAT CTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTT GAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGT GTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCC AGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAA GGTGGATAACGCCCTCCAATCGGG TAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGA GCAGGACAGCAAGGACAGCACCT ACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGC TGAGCAAAGCAGACTACGAGAAA CACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCC GTCACAAAGAGCTTCAACAGGGG AGAGTGTTAA
3	MORAb-009	重鏈	347	CAGGTACAACTGCAGCAGTCTGGG CCTGAGCTGGAGAAGCCTGGCGCT TCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCT TCTGGTTACTCATTCACTGGCTACA CCATGAACTGGGTGAAGCAGAGCC ATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTG GACTTATTACTCCTTACAATGGTGC TTCTAGCTACAACCAGAAGTTCAG GGGCAAGGCCACATTAACTGTAGA CAAGTCATCCAGCACAGCCTACAT GGACCTCCTCAGTCTGACATCTGA AGACTCTGCAGTCTATTTCTGTGCA AGGGGGGGTTACGACGGGAGGGG TTTTGACTACTGGGGATCCGGGAC CCCGGTCACCGTCTCCTCAGCCTC CACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCC CCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCAC CTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGG CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCC CGAACCGGTGACGGTGTCGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCG TGCACACCTTCCCGGCTGTCCTAC AGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCA GCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCA GCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAAA GTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA ACTCACACATGCCCACCGTGCCCA GCACCTGAACTCCTGGGGGGACCG

				TCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAA CCCAAGGACACCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGA CCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAA TGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG AGCAGTACAACAGCACGTACCGTG TGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAG AAAACCATCTCCAAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATCCCGGGATG AGCTGACCAAGAACCAGGTCAGC CTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAG TGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGA GAACAACTACAAGACCACGCCTCC CGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTT CTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGG GGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGAT GCATGAGGCTCTGCACAACCACTA CACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTC TCCCGGGAAATGA
4	MORAb-009	輕鏈	348	GACATCGAGCTCACTCAGTCTCCA GCAATCATGTCTGCATCTCCAGGG GAGAAGGTCACCATGACCTGCAGT GCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATG CACTGGTACCAGCAGAAGTCAGGC ACCTCCCCCAAAAGATGGATTTAT GACACATCCAAACTGGCTTCTGGA GTCCCAGGTCGCTTCAGTGGCAGT GGGTCTGGAAACTCTTACTCTCTC ACAATCAGCAGCGTGGAGGCTGA AGATGATGCAACTTATTACTGCCAG CAGTGGAGTAAGCACCCTCTCACG TTCGGATCCGGGACCAAGGTGGAA ATCAAACGAACTGTGGCTGCACCA TCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTG ATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTG CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAA

				CTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGT ACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCT CCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAG TGTCACAGAGCAGGACAGCAAGG ACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCA CCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACT ACGAGAAACACAAAGTCTACGCCT GCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGA GCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCA ACAGGGGAGAGTGTTAA
5	33011-xi	重鏈	349	CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGG TCGCCTGGTCACGCCTGGGACACC CCTGACACTCACCTGCACCGTCTC TGGAATCTCCCTCAGTAGCGATGC AATAAGCTGGGTCCGCCAGGCTCC AGGGAAGGGGCTCGAATACATCGG AATCATTAATGGTGGTGGTAACACA TACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGC CGATTCACCATCTCCAAAACCTCG ACCACGGTGGATCTGAAAATCACC AGTCCGACAACCGAGGACACGGC CACCTATTTCTGTGCCAGAGGCATT CAACATGGTGGTGGTAATAGTGATT ATTATTATTACGGCATGGACCTCTG GGGCCCAGGCACCCTGGTCACTGT CTCTTCAGCATCCACCAAGGGCCC ATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCC TCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACA GCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTG ACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCG GCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTC TACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACC GTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAAT CACAAGCCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAAAGTTGAGCCCAAAT CTTGTGACAAAACTCACACATGCC CACCGTGCCCAGCACCTGAACTCC TGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCT TCCCCCCAAAACCCAAGGACACCC TCATGATCTCCCGGACCCCTGAGG TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGA

				GCCACGAAGACCCTGAGGTCAAG TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAG CACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCT CACCGTCCTGCACCAGGACTGGCT GAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA AGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAG CCCCCATCGAGAAAACCATCTCCA AAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAA CCACAGGTGTACACCCTGCCCCCA TCCCGGGATGAGCTGACCAAGAAC CAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTC AAAGGCTTCTATCCCAGCGACATC GCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGG GCAGCCGGAGAACAACTACAAGA CCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCG ACGGCTCCTTCTTCTTATATTCAAA GCTCACCGTGGACAAGAGCAGGT GGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCAT GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGC ACAACCACTACACGCAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCCCGGGAAATGA
6	33011-xi	輕鏈	350	GAAGTGTTGATGACCCAGACTCCA TCCTCCGTGTCTGCAGCTGTGGGA GACACAGTCACCATCAAGTGCCAG GCCAGTCAGAGCATTAGTAGTGTC TTGTCCTGGTATCAGCAGAAACCA GGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATC TATCTGGCATCCACTCTGGCATCTG GGGTCCCATCGCGGTTCAGCGGCA GTAGATCTGGGACAGAGTTCACTC TCACCATCAGCGACCTGGAGTGTG ACGATGCTGCCACTTACTACTGTCA AACCAATTATGGTACTAGTAGTAGT AATTATGGTTTTGCTTTCGGCGGAG GGACCGAGGTGGTCGTCAAACGA ACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCA TCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTT GAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGT GTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCC AGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAA GGTGGATAACGCCCTCCAATCGGG TAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGA

				GCAGGACAGCAAGGACAGCACCT ACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGC TGAGCAAAGCAGACTACGAGAAA CACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCC GTCACAAAGAGCTTCAACAGGGG AGAGTGTTGA
7	33011-zu	重鏈	351	GAAGTCCAACTGGTGGAAAGCGG GGGAGGACTGGTGCAGCCGGGCG GATCCCTCCGGCTGTCATGTGCTGC ATCGGGAATTTCCCTCTCCTCCGAC GCGATTAGCTGGGTCAGACAGGCC CCCGGAAAGGGGCTGGAGTACATC GGTATCATCAACGGCGGCGGAAAC ACCTACTACGCCTCCTGGGCCAAG GGCCGCTTCACCATCTCGCGGCAT AATTCCAAGAACACTCTGTACTTG CAAATGAACTCCCTGAGGGCCGAG GACACCGCCGTGTACTACTGCGCG CGCGGCATCCAGCACGGTGGTGGA AACAGCGACTACTACTACTATGGG ATGGATCTGTGGGGCCAGGGAACT CTTGTGACCGTGTCGTCAGCATCC ACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCC CTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACC TCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGC TGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAACCGGTGACGGTGTCGTGGAA CTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGT GCACACCTTCCCGGCTGTCCTACA GTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAG CAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCCAG CAACACCAAGGTGGACAAGAAAG TTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAA CTCACACATGCCCACCGTGCCCAG CACCTGAACTCCTGGGGGGACCGT CAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAAC CCAAGGACACCCTCATGATCTCCC GGACCCCTGAGGTCACATGCGTGG TGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT

				GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGA GCAGTACAACAGCACGTACCGTGT GGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCA CCAGGACTGGCTGAATGGCAAGG AGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACA AAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGA AAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGC AGCCCCGAGAACCACAGGTGTAC ACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAG CTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGG GAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAA CAACTACAAGACCACGCCTCCCGT GCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT CTTATATTCAAAGCTCACCGTGGAC AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAA CGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT GAGGCTCTGCACAACCACTACACG CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCC GGGAAATGA
8	33011-zu	輕鏈	352	GACATTCAGATGACCCAGTCCCCA AGCTCGCTGTCCGCCTCCGTGGGC GACCGCGTGACCATCACGTGCCAG GCGTCCCAGTCAATTAGCAGCGTG CTCTCCTGGTACCAACAGAAGCCG GGGAAAGCACCCAAGCTGCTGATC TACTTGGCCTCCACTCTGGCCTCG GGAGTGCCTTCACGGTTCTCCGGA TCGGGATCTGGTACTGATTTCACCC TCACCATCTCGAGCCTTCAGTGCG AGGACATCGCTACTTACTATTGTCA AACCAACTACGGAACCTCCAGCTC CAACTACGGCTTTGCCTTCGGTGG CGGGACCAAGGTCGAAATCAAAC GAACTGTGGCTGCACCATCTGTCT TCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCA GTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGT TGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTAT CCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTG GAAGGTGGATAACGCCCTCCAATC GGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCAC AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCA CCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGA

				CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAG AAACACAAAGTCTACGCCTGCGAA GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCG CCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGG GGAGAGTGTTGA
9	111B10-xi	重鏈	353	CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGG TCGCCTGGTCACGCCTGGGACACC CCTGACACTCACCTGCACAGTCTC TGGATTCTCCCTCAATAACTATGCA ATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGA TCCATTAGTACTGGTGGTCTCGCAT TCTACGCGAACTGGGCAAAAGGCC GATTCACCATCTCCAGAACCTCGA CCACGGTGGATCTGAAAATGACCA GTCTGACAACCGAGGACACGGCC ACCTATTTCTGTGGCAGAAATGGT GGTGGTAGTTATATTTTCTATTATTT TGACTTGTGGGGCCAAGGCACCCT CGTCACTGTCTCTTCAGCATCCACC AAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTG GCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCT GGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTG CCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA ACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTC AGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGT CCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCA GCTTGGGCACCCAGACCTACATCT GCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAAAGTT GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACT CACACATGCCCACCGTGCCCAGCA CCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCC AAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTG GTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCATAATGC CAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGC AGTACAACAGCACGTACCGTGTGG TCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC

				AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGT ACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAA ACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAG CCCCGAGAACCACAGGTGTACACC CTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGAC CTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGA GAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGC TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTT ATATTCAAAGCTCACCGTGGACAA GAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGA GGCTCTGCACAACCACTACACGCA GAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGG GAAATGA
10	111B10-xi	輕鏈	354	GCATTCGAATTGACCCAGACTCCA TCCTCCGTGGAGGCAGCTGTGGGA GGCACAATCACCATCAAGTGCCAG GCCAGTCAGAGCATTAGTAGTTAC TTATCCTGGTATCAGCAGAAACCA GGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATC TATTCTGCATCCACTCTGGCATCTG GGGTCTCATCGCGGTTCAAAGGCA GTGGATCTGGGACAGAGTACACTC TCACCATCAGCGACCTGGAGTGTG CCGATGCTGCCACTTACTTCTGTCA AAGCTATTATGATATTGGTACTAGT ACTTTCGGCGGAGGGACCGAGGT GGTCGTCAAACGAACTGTGGCTGC ACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCA TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGA ACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTG AATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC AAAGTACAGTGGAAGGTGGATAAC GCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG GAGAGTGTCACAGAGCAGGACAG CAAGGACAGCACCTACAGCCTCAG CAGCACCCTGACGCTGAGCAAAG CAGACTACGAGAAACACAAAGTCT ACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGG GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGA

				GCTTCAACAGGGGAGAGTGTTGA
11	111B10-zu	重鏈	355	GAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGGC GGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGA TCTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCC TCCGGCTTCTCCCTGAACAACTAC GCCATGTCCTGGGTGCGACAGGCC CCTGGCAAAGGCCTGGAATGGATC GGCTCCATCAGCACAGGCGGCCTG GCCTTCTACGCCAATTGGGCCAAG GGCCGGTTCACCATCAGCCGGGAC AACTCCAAGAACACCCTGTACCTC CAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAG GACACCGCCGTGTACTACTGTGCC AGAAACGGCGGAGGCTCCTACATC TTCTACTACTTCGACCTGTGGGGCC AGGGCACCCTCGTGACAGTGTCAT CTGCATCCACCAAGGGCCCATCGG TCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCA AGAGCACCTCTGGGGGCACAGCG GCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGAC TACTTCCCCGAACCGGTGACGGTG TCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACC AGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTAC TCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG ACCTACATCTGCAACGTGAATCAC AAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTG TGACAAAACTCACACATGCCCACC GTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGG GGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCC CCCAAAACCCAAGGACACCCTCAT GATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAC ATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGT GCATAATGCCAAGACAAAGCCGCG GGAGGAGCAGTACAACAGCACGT ACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATG GCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC TCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCC ATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC

				AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACA GGTGTACACCCTGCCCCCATCCCG GGATGAGCTGACCAAGAACCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAG GCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGT GGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGC CGGAGAACAACTACAAGACCACG CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGC TCCTTCTTCTTATATTCAAAGCTCA CCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCC GTGATGCATGAGGCTCTGCACAAC CACTACACGCAGAAGAGCCTCTCC CTGTCTCCCGGGAAATGA
12	111B10-zu	輕鏈	356	GATATTCAGATGACCCAGTCCCCCT CCAGCCTGTCCGCTTCTGTGGGCG ACAGAGTGACCATCACCTGTCAGG CCTCCCAGTCCATCTCCTCCTACCT GTCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGG CAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTA CTCTGCCTCCACACTGGCCTCCGG CGTGCCCTCTAGATTCTCCGGCTCT GGCTCTGGCACCGACTTTACCCTG ACCATCAGCTCCCTCCAGTGCGAG GATGCCGCCACCTACTACTGCCAG TCCTACTACGACATCGGCACCTCC ACCTTCGGCGGAGGCACCAAGGT GGAAATCAAACGAACTGTGGCTGC ACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCA TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGA ACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTG AATAACTTCTATCCCAGAGAGGCC AAAGTACAGTGGAAGGTGGATAAC GCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG GAGAGTGTCACAGAGCAGGACAG CAAGGACAGCACCTACAGCCTCAG CAGCACCCTGACGCTGAGCAAAG CAGACTACGAGAAACACAAAGTCT ACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGG GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGA GCTTCAACAGGGGAGAGTGTTGA
13	201C15-xi	重鏈	357	CAGTCAGTGAAGGAGTCCGGGGG TCGCCTGGTCACGCCTGGGACACC CCTGACACTCACCTGCACAGTCTC

				TGGAATCGACCTCAGTAGCTATGC AATGGGCTGGTTCCGCCAGGCTCC AGGGAAGGGGCTGGAATACATCGG AACCATTAATATTGGTGGTCGCGTA TATTACGCGAGCTGGGCAAAAGGC CGATTCACCATCTCCAGAACCTCG ACCACGGTGGATCTGAAAGCGCCC AGTCTGACAGCCGAGGACACGGC CACCTATTTCTGTGCCAGATATTATA ATGGTGGTAGTTATGACATCTGGGG CCCAGGCACCCTGGTCACCGTCTC TTTAGCATCCACCAAGGGCCCATC GGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTC CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAG CGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG ACTACTTCCCCGAACCGGTGACGG TGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGA CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGG CTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCT ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCG TGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCC AGACCTACATCTGCAACGTGAATC ACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG GACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCT TGTGACAAAACTCACACATGCCCA CCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTG GGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTC CCCCCAAAACCCAAGGACACCCTC ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC ACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTC AACTGGTACGTGGACGGCGTGGA GGTGCATAATGCCAAGACAAAGCC GCGGGAGGAGCAGTACAACAGCA CGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCA CCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGA ATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCC CCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACC ACAGGTGTACACCCTGCCCCCATC CCGGGATGAGCTGACCAAGAACC AGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCA AAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG

				CAGCCGGAGAACAACTACAAGAC CACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA CGGCTCCTTCTTCTTATATTCAAAG CTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA CAACCACTACACGCAGAAGAGCCT CTCCCTGTCTCCCGGGAAATGA
14	201C15-xi	輕鏈	358	GATGTTGTGATGACCCAGACTCCA GCCTCCGCGTCTGAACCTGTGGGA GGCACAGTCACCATCAAGTGCCAG GCCAGTGAGAGCATTTATCGCGTAT TGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAG GGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCT ATGATACATCCACTCTGGCATCTGG GGCCCCATCGCGGTTCAAAGGCAG TGGATATGGGACAGAGTTCACTCT CACCATCAGCGGCGTGCAGTGTGA AGATGCTGCCACTTACTACTGTCA AGGCGGTTATTATGCTGATAGTTAT GGTATTGCTTTCGGCGGAGGGACC GAGGTGGTGGTCAAACGAACTGT GGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAA TCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGC CTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAG AGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTG GATAACGCCCTCCAATCGGGTAAC TCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCA GGACAGCAAGGACAGCACCTACA GCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGA GCAAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACC CATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTC ACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGA GTGTTGA
15	201C15-zu	重鏈	359	CAGGTGCAGCTGGTGGAATCTGGC GGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGG CTCTCTGAGACTGTCCTGTTCCGC CTCCGGAATCGACCTGTCCTCCTA CGCTATGGGCTGGGTGCGACAGGC TCCTGGCAAGGGCCTGGAGTACAT CGGCACCATCAACATCGGCGGCAG AGTGTACTACGCCTCCTGGGCCAA

				GGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGA CAACTCCAAGAACACCCTGTACCT CCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGA GGACACCGCCGTGTACTACTGCGC CCGGTACTACAACGGCGGCTCCTA CGATATCTGGGGCCAGGGCACACT CGTGACCGTGTCCTCTGCATCCAC CAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCT GGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTC TGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCT GCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCG AACCGGTGACGGTGTCGTGGAACT CAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGT CCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCA GCTTGGGCACCCAGACCTACATCT GCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAAAGTT GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACT CACACATGCCCACCGTGCCCAGCA CCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCC AAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTG GTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCATAATGC CAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGC AGTACAACAGCACGTACCGTGTGG TCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGT ACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAA ACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAG CCCCGAGAACCACAGGTGTACACC CTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGAC CTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCC CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGA GAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGC TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTT ATATTCAAAGCTCACCGTGGACAA GAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG

				TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGA GGCTCTGCACAACCACTACACGCA GAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGG GAAATGA
16	201C15-zu	輕鏈	360	GATATCCAGATGACCCAGTCCCCCT CCACCCTGTCTGCCTCTGTGGGCG ACAGAGTGACCATCACCTGTCAGG CCTCCGAGTCCATCTACCGGGTGC TGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTG GCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCT ACGACACCAGCACACTGGCCTCCG GCGTGCCCTCTAGATTCTCCGGCTC TGGCTCTGGCACCGAGTTTACCCT GACCATCTCCAGCCTCCAGTGCGA CGACGCCGCCACCTACTATTGTCA GGGCGGCTACTACGCCGACTCCTA CGGAATCGCTTTCGGCGGAGGCAC CAAGGTGGAAATCAAACGAACTGT GGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAA TCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGC CTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAG AGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTG GATAACGCCCTCCAATCGGGTAAC TCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCA GGACAGCAAGGACAGCACCTACA GCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGA GCAAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACC CATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTC ACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGA GTGTTGA
17	346C6-xi	重鏈	361	CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGCGG TCGCCTGGTAAAGCCTGACGAATC CCTGACACTCACCTGCACAGCCTC TGGATTCTCCCTCAGTAGTTATGCA ATGATCTGGGTCCGCCAGGCTCCA GGGGAGGGGCTGGAATGGATCGG AACCATTAGTACTGGTGGTATCACA TACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGC CGATTCACCATCTCCAAAACCTCG ACCACGGTGGATCTGAAAATCACC AGTCCGACAACCGAGGACACGGC CACCTATTTCTGTGCCAGAGGGGG

				ATATGCTGCTAGTAGTGCTTATTATC TCCCGTACTACTTTGACTTGTGGGG CCAAGGGACCCTGGTCACCGTCTC CTCAGCATCCACCAAGGGCCCATC GGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTC CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAG CGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG ACTACTTCCCCGAACCGGTGACGG TGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGA CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGG CTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCT ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCG TGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCC AGACCTACATCTGCAACGTGAATC ACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG GACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCT TGTGACAAAACTCACACATGCCCA CCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTG GGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTC CCCCCAAAACCCAAGGACACCCTC ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC ACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTC AACTGGTACGTGGACGGCGTGGA GGTGCATAATGCCAAGACAAAGCC GCGGGAGGAGCAGTACAACAGCA CGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCA CCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGA ATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCC CCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACC ACAGGTGTACACCCTGCCCCCATC CCGGGATGAGCTGACCAAGAACC AGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCA AAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG CAGCCGGAGAACAACTACAAGAC CACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA CGGCTCCTTCTTCTTATATTCAAAG CTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA CAACCACTACACGCAGAAGAGCCT

				CTCCCTGTCTCCCGGGAAATGA
18	346C6-xi	輕鏈	362	GCAGCCGTGCTGACCCAGACACCA TCACCCGTGTCTGCAGCTGTGGGA GGCACAGTCACCATCAGTTGCCAG TCCAGTCAGAGTGTTTATAATAATA ACAACTTAGCCTGGTTTCAGCAGA AACCCGGGCAGCCTCCCAAGCTTC TGATCTATCTGGCATCCACTCTGGC ATCTGGGGTCCCATCACGGTTCAG CGGCAGTGGATCTGGGACACAGTT CACTCTCACCATCAGCGGCGTGCA GTGTGACGATGCTGCCACTTATTAC TGTCTAGGTGGTTGTGATGATGATG CTGATACTTTTGCTTTCGGCGGAG GGACTGAGGTGGTGGTCAAACGA ACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCA TCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTT GAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGT GTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCC AGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAA GGTGGATAACGCCCTCCAATCGGG TAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGA GCAGGACAGCAAGGACAGCACCT ACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGC TGAGCAAAGCAGACTACGAGAAA CACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCC GTCACAAAGAGCTTCAACAGGGG AGAGTGTTGA
19	346C6-zu	重鏈	363	GAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGGC GGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGA TCTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCC TCCGGCTTCTCCCTGTCCTCCTACG CTATGATCTGGGTGCGACAGGCCC CTGGCAAGGGCCTGGAATGGATCG GCACCATCTCTACCGGCGGAATTA CCTACTACGCCTCCTGGGCCAAGG GCCGGTTCACCATCTCCAGAGACA ACTCCAAGAACACCCTGTACCTCC AGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGG ACACCGCCGTGTACTATTGTGCTAG AGGCGGCTACGCCGCCAGCTCCGC TTACTACCTGCCCTACTACTTCGAC CTGTGGGGCCAGGGCACCCTCGTG

				ACAGTGTCATCTGCATCCACCAAG GGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGG GGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG GTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGC GCCCTGACCAGCGGCGTGCACACC TTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCA GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTG GGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAATCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCC CAAATCTTGTGACAAAACTCACAC ATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTT CCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGA CACCCTCATGATCTCCCGGACCCCT GAGGTCACATGCGTGGTGGTGGAC GTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGG CGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACA ACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCCTGCACCAGGACT GGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGT GCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCC CAGCCCCCATCGAGAAAACCATCT CCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA GAACCACAGGTGTACACCCTGCCC CCATCCCGGGATGAGCTGACCAAG AACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGAC ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAACTACAA GACCACGCCTCCCGTGCTGGACTC CGACGGCTCCTTCTTCTTATATTCA AAGCTCACCGTGGACAAGAGCAG GTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCT GCACAACCACTACACGCAGAAGA GCCTCTCCCTGTCTCCCGGGAAAT GA
20	346C6-zu	輕鏈	364	GATATTCAGATGACCCAGTCCCCCT

				CCAGCCTGTCCGCTTCTGTGGGCG ACAGAGTGACCATCACCTGTCAGT CCTCCCAGTCCGTGTATAACAACA ACAACCTGGCCTGGTATCAGCAGA AACCCGGCAAGGTGCCCAAGCTG CTGATCTACCTGGCCTCCACACTG GCCTCTGGCGTGCCCTCTAGATTCT CCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACT TTACCCTGACCATCAGCTCCCTCCA GTGCGAGGATGCCGCCACCTACTA TTGCCTGGGCGGCTGCGACGACGA CGCCGATACCTTTGCTTTTGGCGG AGGCACCAAGGTGGAAATCAAAC GAACTGTGGCTGCACCATCTGTCT TCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCA GTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGT TGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTAT CCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTG GAAGGTGGATAACGCCCTCCAATC GGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCAC AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCA CCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGA CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAG AAACACAAAGTCTACGCCTGCGAA GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCG CCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGG GGAGAGTGTTGA

+ 所列核酸序列不包括前導序列。

在各種實施例中，本文中揭示之ADC可包含以上表中所列之任何組之重鏈及輕鏈可變域(例如MORAb-003重鏈及輕鏈可變域，或曲妥珠單抗重鏈及輕鏈可變域)，或來自重鏈及輕鏈組之六個CDR序列組。在一些實施例中，ADC進一步包含人類重鏈及輕鏈恆定域或其片段。舉例而言，ADC可包含人類IgG重鏈恆定域(諸如IgG1)及人類κ或λ輕鏈恆定域。在各種實施例中，所述ADC之抗體部分包含人類免疫球蛋白G亞型1(IgG1)重鏈恆定域與人類Igκ輕鏈恆定域。

在各種實施例中，ADC之標靶癌症抗原為葉酸受體α

(「FRA」)。

在各種實施例中，抗FRA抗體或其抗原結合片段包含如下三個重鏈CDR及三個輕鏈CDR：由SEQ ID NO:2組成之重鏈CDR1 (HCDR1)、由SEQ ID NO:3組成之重鏈CDR2 (HCDR2)、由SEQ ID NO:4組成之重鏈CDR3 (HCDR3)；由SEQ ID NO:7組成之輕鏈CDR1 (LCDR1)、由SEQ ID NO:8組成之輕鏈CDR2 (LCDR2)及由SEQ ID NO:9組成之輕鏈CDR3 (LCDR3)，如Kabat編號系統所定義(Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987及1991)))。

在一些實施例中，抗FRA抗體或其抗原結合片段包含如下三個重鏈CDR及三個輕鏈CDR：由SEQ ID NO:13組成之重鏈CDR1、由SEQ ID NO:14組成之重鏈CDR2、由SEQ ID NO:15組成之重鏈CDR3；由SEQ ID NO:16組成之輕鏈CDR1、由SEQ ID NO:17組成之輕鏈CDR2及由SEQ ID NO:18組成之輕鏈CDR3，如IMGT編號系統所定義(International ImMunoGeneTics Information System (IMGT®))。

在各種實施例中，抗FRA抗體或其抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:23之胺基酸序列的重鏈可變區及包含SEQ ID NO:24之胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施例中，抗FRA抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO:23之重鏈可變區胺基酸序列及SEQ ID NO:24之輕鏈可變區胺基酸序列，或與以上所提及之序列至少95%一致之序列。在一些實施例中，抗FRA抗體或其抗原結合片段具有與SEQ ID NO:23至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致之重鏈可變區胺基酸序列及與SEQ ID NO:24至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致之輕鏈可變區胺基酸序列。

在各種實施例中，抗FRA抗體包含人類IgG1重鏈恆定域及人類Igκ輕鏈恆定域。

在各種實施例中，抗FRA抗體包含SEQ ID NO:1之重鏈胺基酸序列或與SEQ ID NO:1至少95%一致之序列，及SEQ ID NO:6之輕鏈胺基酸序列或與SEQ ID NO:6至少95%一致之序列。在特定實施例中，抗體包含SEQ ID NO:1之重鏈胺基酸序列及SEQ ID NO:6之輕鏈胺基酸序列，或與以上所提及之序列至少95%一致之序列。在一些實施例中，抗FRA抗體具有與SEQ ID NO:1至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致之重鏈胺基酸序列，及/或與SEQ ID NO:6至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致之輕鏈胺基酸序列。在一些實施例中，抗FRA抗體包含由SEQ ID NO:11 (具有編碼前導序列之核苷酸)或SEQ ID NO:345 (不具有編碼前導序列之核苷酸)之核苷酸序列編碼之重鏈；及由SEQ ID NO:12 (具有編碼前導序列之核苷酸)或SEQ ID NO:346 (不具有編碼前導序列之核苷酸)之核苷酸序列編碼之輕鏈。在一些實施例中，重鏈胺基酸序列缺乏C端離胺酸。在各種實施例中，抗FRA抗體具有由根據布達佩斯條約(the Budapest Treaty)之條款於2006年4月24日以寄存編號PTA-7552寄存在美國典型菌種保藏中心(ATCC，10801 University Blvd., Manassas, Va. 20110-2209)之細胞株產生之抗體的胺基酸序列，或缺乏重鏈C端離胺酸之此類序列。在各種實施例中，抗FRA抗體為MORAb-003 (USAN名稱：法樂單抗(farletuzumab))(Ebel等人(2007) Cancer Immunity 7:6)或其抗原結合片段。

在各種其他實施例中，ADC之標靶癌症抗原為人類表皮生長因子受體2(「her 2」)。

在各種實施例中，抗her 2抗體或其抗原結合片段包含如下三個重鏈CDR及三個輕鏈CDR：由SEQ ID NO:71組成之重鏈CDR1 (HCDR1)、由SEQ ID NO:72組成之重鏈CDR2 (HCDR2)、由SEQ ID NO:73組成之重鏈CDR3 (HCDR3)；由SEQ ID NO:74組成之輕鏈CDR1 (LCDR1)、由SEQ ID NO:75組成之輕鏈CDR2 (LCDR2)及由SEQ ID NO:76組成之輕鏈CDR3 (LCDR3)，如Kabat編號系統所定義。

在一些實施例中，抗her 2抗體或其抗原結合片段包含如下三個重鏈CDR及三個輕鏈CDR：由SEQ ID NO:191組成之重鏈CDR1、由SEQ ID NO:192組成之重鏈CDR2、由SEQ ID NO:193組成之重鏈CDR3；由SEQ ID NO:194組成之輕鏈CDR1、由SEQ ID NO:195組成之輕鏈CDR2及由SEQ ID NO:196組成之輕鏈CDR3，如IMGT編號系統所定義。

在各種實施例中，抗her 2抗體或其抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:27之胺基酸序列的重鏈可變區及包含SEQ ID NO:28之胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施例中，抗her 2抗體或其抗原結合片段包含SEQ ID NO:27之重鏈可變區胺基酸序列及SEQ ID NO:28之輕鏈可變區胺基酸序列，或與以上所提及之序列至少95%一致之序列。在一些實施例中，抗her 2抗體或其抗原結合片段具有與SEQ ID NO:27至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致之重鏈可變區胺基酸序列及/或與SEQ ID NO:28至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致之輕鏈可變區胺基酸序列。

在各種實施例中，抗her 2抗體包含人類IgG1重鏈恆定域及人類Igκ輕鏈恆定域。

在各種實施例中，抗her 2抗體包含SEQ ID NO:327之重鏈胺基酸

序列或與SEQ ID NO:327至少95%一致之序列，及SEQ ID NO:328之輕鏈胺基酸序列或與SEQ ID NO:328至少95%一致之序列。在特定實施例中，抗體包含SEQ ID NO:327之重鏈胺基酸序列及SEQ ID NO:328之輕鏈胺基酸序列，或與以上所提及之序列至少95%一致之序列。在一些實施例中，抗her 2抗體具有與SEQ ID NO:327至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致之重鏈胺基酸序列，及與SEQ ID NO:328至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致之輕鏈胺基酸序列。在各種實施例中，抗her 2抗體為曲妥珠單抗或其抗原結合片段。

在各種實施例中，抗FRA抗體或其抗原結合片段包含MORAb-003之三個重鏈CDR及三個輕鏈CDR，或其中CDR包括以下各者之至多一個、兩個、三個、四個、五個或六個胺基酸添加、缺失或取代：HCDR1 (根據Kabat之SEQ ID NO:2，或根據IMGT之SEQ ID NO:13)、HCDR2 (根據Kabat之SEQ ID NO:3，或根據IMGT之SEQ ID NO:14)、HCDR3 (根據Kabat之SEQ ID NO:4，或根據IMGT之SEQ ID NO:15)；LCDR1 (根據Kabat之SEQ ID NO:7，或根據IMGT之SEQ ID NO:16)、LCDR2 (根據Kabat之SEQ ID NO:8，或根據IMGT之SEQ ID NO:17)及LCDR3 (根據Kabat之SEQ ID NO:9，或根據IMGT之SEQ ID NO:18)。

在各種其他實施例中，抗her 2抗體或其抗原結合片段包含曲妥珠單抗之三個重鏈CDR及三個輕鏈CDR，或其中CDR包括以下各者之至多一個、兩個、三個、四個、五個或六個胺基酸添加、缺失或取代：HCDR1 (根據Kabat之SEQ ID NO:71，或根據IMGT之SEQ ID NO:191)、HCDR2 (根據Kabat之SEQ ID NO:72，或根據IMGT之SEQ ID NO:192)、HCDR3 (根據Kabat之SEQ ID NO:73，或根據IMGT之

SEQ ID NO:193)；LCDR1 (根據Kabat之SEQ ID NO:74，或根據IMGT之SEQ ID NO:194)、LCDR2 (根據Kabat之SEQ ID NO:75，或根據IMGT之SEQ ID NO:195)及LCDR3 (根據Kabat之SEQ ID NO:76，或根據IMGT之SEQ ID NO:196)。

在各種實施例中，胺基酸取代為單個殘基。插入通常將為約1至約20個胺基酸殘基，不過只要保留生物功能(例如結合於FRA或her 2)，可允許更大插入。缺失通常在約1至約20個胺基酸殘基範圍內，不過在一些情況下缺失可大得多。取代、缺失、插入或其任何組合可用於得到最終衍生物或變異體。一般而言，對一些胺基酸進行此等改變，以使分子之改變最少，尤其抗原結合蛋白之免疫原性及特異性。然而，在某些情形下，可允許較大改變。根據以下描述為表10之圖表，進行保守性取代。

表10

原始殘基	示例性取代
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln、His
Asp	Glu
Cys	Ser
Gln	Asn
Glu	Asp
Gly	Pro
His	Asn、Gln
Ile	Leu、Val
Leu	Ile、Val
Lys	Arg、Gln、Glu
Met	Leu、Ile

Phe	Met、Leu、Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp、Phe
Val	Ile、Leu

藉由選擇不如表10中所示之取代保守之取代，使得功能或免疫一致性發生實質改變。舉例而言，可製造更顯著地影響以下各者之取代：在改變區域內之多肽主鏈的結構，例如α-螺旋或β-片狀結構；分子在標靶位點之電荷或疏水性；或側鏈之體積。一般預期使多肽特性產生最大改變之取代為如下取代：(a)例如絲胺醯基或蘇胺醯基之親水性殘基取代例如白胺醯基、異白胺酸、苯丙胺醯基、纈胺醯基或丙胺醯基之疏水性殘基(或經其取代)；(b)半胱胺酸或脯胺酸取代任何其他殘基(或經其取代)；(c)具有正電性側鏈之殘基(例如離胺醯基、精胺醯基或組胺醯基)取代負電性殘基(例如麩胺醯基或天冬胺醯基)(或經其取代)；或(d)具有大體積側鏈之殘基(例如苯丙胺酸)取代不具有側鏈之殘基(例如甘胺酸)(或經其取代)。

在變異抗體序列用於ADC之各種實施例中，變異體通常展現相同定性生物活性且引起相同免疫反應，不過需要時亦可選擇改變抗原結合蛋白之特徵的變異體。或者，可設計變異體，使得抗原結合蛋白之生物活性改變。舉例而言，如本文中論述，可改變或移除糖基化位點。

各種抗體可用於本文中使用之ADC來靶向癌細胞。如下所示，本文中揭示之ADC中的連接子-毒素在不同腫瘤抗原靶向抗體下意外有效。本領域中已知在腫瘤細胞上而非健康細胞上表現或在腫瘤細胞

上之表現水準高於健康細胞上的適合抗原，亦已知針對其之抗體。此等抗體可用於本文中揭示之連接子及毒素(例如艾日布林)。在一些實施例中，抗體部分靶向FRA。在一些實施例中，靶向FRA之抗體部分為MORAb-003。在一些實施例中，雖然所揭示之連接子及毒素(艾日布林)在若干不同腫瘤靶向抗體下意外有效，但諸如MORAb-003之靶向FRA之抗體部分尤其改善藥物:抗體比率、腫瘤靶向、旁觀殺死、治療功效且減少脫靶殺死。改善之治療功效可在活體外或活體內量測，且可包括腫瘤生長速率降低及/或腫瘤體積減小。

在某些實施例中，使用針對其他抗原標靶之抗體且提供包含靶向FRA之抗體部分(諸如MORAb-003)之ADC之至少一些有利功能特性(例如改善之藥物:抗體比率、改善之治療功效、減少之脫靶殺死等等)。在一些實施例中，當所揭示之連接子及毒素(艾日布林)結合於靶向her 2之抗體部分(諸如曲妥珠單抗)時，觀測到一些或所有此等有利功能特性。在一些實施例中，抗體部分靶向her 2。在一些實施例中，靶向her 2之抗體部分為曲妥珠單抗。在一些實施例中，當所揭示之連接子及毒素(艾日布林)結合於靶向MSLN之抗體部分(諸如MORAb-009)時，觀測到一些或所有此等有利功能特性。在一些實施例中，抗體部分靶向MSLN。在一些實施例中，靶向MSLN之抗體部分為MORAb-009。

連接子

在各種實施例中，ADC中之連接子在細胞外足夠穩定，從而治療有效。在一些實施例中，連接子在細胞外穩定，使得ADC在存在於細胞外條件下時保持完整(例如在輸送或遞送至細胞前)。在ADC之背景下使用的術語「完整」意謂抗體部分保持附接於藥物部分。如本文

所用，當ADC存在於細胞外條件下時，在連接子或包含連接子之ADC之背景下「穩定」意謂ADC樣品中至多20%、至多15%、至多10%、至多5%、至多3%或至多約1%連接子(或在中間之任何百分比)裂解(或在整個ADC之情況下，以其他方式不完整)。

可例如藉由在血漿中包括ADC達預定時間段(例如2、4、6、8、16或24小時)，然後對血漿中存在之游離藥物部分的量進行定量，來確定連接子在細胞外是否穩定。穩定性可允許ADC定位至靶向腫瘤細胞之時間且防止藥物提前釋放，藥物提前釋放可藉由無差別地破壞正常與腫瘤組織而降低ADC之治療指數。在一些實施例中，連接子在標靶細胞外穩定且一旦在細胞內，則自ADC釋放藥物部分，使得藥物部分可其標靶(例如微管)。因此，有效連接子將：(i)維持抗體部分之特異性結合特性；(ii)允許藥物部分經由穩定附接於抗體部分而遞送、例如細胞內遞送；(iii)保持穩定及完整，直至ADC已輸送或遞送至其標靶位點；及(iv)允許藥物部分在裂解後具有治療作用，例如細胞毒性作用。

連接子可影響ADC之物理化學特性。因為許多細胞毒性劑在本質上為疏水性的，所以用另一疏水性部分將其連接於抗體可能引起聚集。ADC聚集體不能溶解且經常限制抗體上可實現之藥物負載，此可能負面影響ADC之效力。一般而言，亦連接生物製品之蛋白質聚集體以增加免疫原性。如下所示，本文中揭示之連接子產生具有低聚集水準及合乎需要之藥物負載水準之ADC。

連接子可為「可裂解」或「不可裂解」(Ducry及Stump, Bioconjugate Chem. (2010) 21:5-13)。可裂解連接子經設計以在經受某些環境因子時，例如在內化至標靶細胞時，釋放藥物，而不可裂解連

接子一般依賴於抗體部分本身之降解。

在一些實施例中，連接子為不可裂解連接子。在一些實施例中，ADC之藥物部分藉由抗體部分之降解而釋放。不可裂解連接子趨向於在標靶細胞內化及在標靶細胞內降解時保持與抗體及藥物之至少一個胺基酸共價締合。不可裂解連接子通常包括硫醚鍵，硫醚鍵藉由藥物或抗體上之硫醇基分別與抗體或藥物上之順丁烯二醯亞胺基或鹵乙醯胺基結合來製備(Goldmacher等人, Cancer Drug Discovery and Development: Antibody-Drug Conjugates and Immunotoxins (G. L. Phillips編, Springer, 2013))。一種示例性不可裂解連接子包含硫醚、環己基、4-(N-順丁烯二醯亞胺基)環己烷-1甲酸N-丁二醯亞胺基酯(SMCC)、N-羥基丁二醯亞胺(NHS)或一或多個聚乙二醇(PEG)部分，例如1、2、3、4、5或6個PEG部分。在一些實施例中，不可裂解連接子包含$(PEG)_2$。在其他實施例中，不可裂解連接子包含$(PEG)_4$。

在一些實施例中，連接子為可裂解連接子。可裂解連接子係指包含可裂解部分之任何連接子。如本文所用，術語「可裂解部分」係指可裂解之任何化學鍵。適合可裂解化學鍵為本領域中所熟知，且包括(但不限於)對酸不穩之鍵、對蛋白酶/肽酶不穩之鍵、對光不穩之鍵、二硫鍵及對酯酶不穩之鍵。包含可裂解部分之連接子可允許藥物部分經由在連接子中之特定位點裂解自ADC釋放。在各種實施例中，抗體自連接之毒素裂解活化或增加毒素之活性。在一些實施例中，與包含不可裂解連接子(例如不可裂解$(PEG)_2$或$(PEG)_4$連接子)之ADC相比，包含可裂解連接子(例如Val-Cit連接子)之ADC顯示增加之靶向細胞殺死及/或減少之脫靶細胞殺死。在一些實施例中，當用ADC治療之細胞及/或癌症未表現高水準標靶抗原(例如FRA或her 2)時，相對於包含

不可裂解連接子之ADC，包含可裂解連接子之ADC顯示改善之治療功效。在一些實施例中，需要抗體自連接之毒素裂解以實現ADC改善之治療功效，如活體外及/或活體內量測。

在一些實施例中，連接子在細胞內條件下可裂解，使得連接子之裂解足夠在細胞內環境中自抗體部分釋放藥物部分，以活化藥物及/或使藥物治療有效。在一些實施例中，直至ADC進入表現對ADC之抗體部分具有特異性之抗原的細胞時，藥物部分才自抗體部分裂解，且在進入細胞時藥物部分自抗體部分裂解。在一些實施例中，連接子包含經安置以使得連接子或抗體部分中無部分在裂解後保持結合於藥物部分之可裂解部分。示例性可裂解連接子包括對酸不穩之連接子、對蛋白酶/肽酶敏感之連接子、對光不穩之連接子、含有二甲基、二硫化物或磺醯胺之連接子。

在一些實施例中，連接子為pH值敏感性連接子，且容易在某些pH值下水解。通常，pH值敏感性連接子在酸性條件下可裂解。此裂解策略一般利用與細胞溶質(約pH 7.4)相比，內體(約pH 5-6)及溶酶體(約pH 4.8)細胞內隔室中較低pH值，以引發連接子中對酸不穩之基團(諸如腙)水解(Jain等人(2015) Pharm Res 32:3526-40)。在一些實施例中，連接子為對酸不穩及/或可水解之連接子。舉例而言，可使用在溶酶體中可水解且含有對酸不穩之基團(例如腙、縮胺基脲、縮胺硫脲、順式-烏頭醯胺、原酸酯、縮醛、縮酮或其類似基團)的對酸不穩之連接子。參見例如美國專利第5,122,368號；第5,824,805號；第5,622,929號；Dubowchik及Walker (1999) Pharm. Therapeutics 83:67-123；Neville等人(1989) Biol. Chem. 264:14653-61。此類連接子在中性pH值條件，諸如血液中之pH值條件下相對穩定，但在低於pH 5.5

或5.0 (接近溶酶體之pH值)下不穩定。在某些實施例中，可水解連接子為硫醚連接子(諸如經由醯腙鍵附接於治療劑之硫醚)。參見例如美國專利第5,622,929號。

在一些實施例中，連接子在還原條件下可裂解。在一些實施例中，連接子在諸如麩胱甘肽或二硫蘇糖醇之還原劑存在下可裂解。在一些實施例中，連接子為可裂解二硫化物連接子或可裂解磺醯胺連接子。

在一些實施例中，連接子為可裂解二硫化物連接子。本領域中已知多種二硫化物連接子，包括例如可使用SATA (5-乙醯基硫代乙酸N-丁二醯亞胺基酯)、SPDP (3-(2-吡啶基二硫基)丙酸N-丁二醯亞胺基酯)、SPDB (3-(2-吡啶基二硫基)丁酸N-丁二醯亞胺基酯)及SMPT (N-丁二醯亞胺基氧基羰基-α-甲基-α-(2-吡啶基-二硫基)甲苯)、SPDB及SMPT形成之二硫化物連接子。參見例如Thorpe等人(1987) Cancer Res. 47:5924-31；Wawrzynczak等人, Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radioimagery and Therapy of Cancer (C. W. Vogel編, Oxford U. Press, 1987)。亦參見美國專利第4,880,935號。二硫化物連接子通常用於利用大量細胞內硫醇，硫醇可促進其二硫鍵之裂解。最豐富的細胞內硫醇還原麩胱甘肽之細胞內濃度一般在1-10 nM範圍內，約為血液中最豐富低分子量硫醇(亦即半胱胺酸)濃度(約5 μM)的1000倍(Goldmacher等人, Cancer Drug Discovery and Development: Antibody-Drug Conjugates and Immunotoxins (G. L. Phillips編, Springer, 2013))。蛋白質二硫化物異構酶家族之胞內酶亦可促進二硫化物連接子之細胞內裂解。如本文所用，可裂解二硫化物連接子係指包含可裂解二硫化物部分之任何連接子。術語「可裂解二硫化物部

分」係指可例如藉由硫醇或酶裂解及/或還原之二硫鍵。在一些實施例中，可裂解二硫化物部分為二硫基-二甲基。

在一些實施例中，連接子為可裂解磺醯胺連接子。如本文所用，可裂解磺醯胺連接子係指包含可裂解磺醯胺部分之任何連接子。術語「可裂解磺醯胺部分」係指磺醯胺基，亦即連接於胺基之磺醯基，其中硫-氮鍵可裂解。

在一些實施例中，連接子可為樹枝狀類型連接子，其經由分支之多官能連接子部分將超過一個藥物部分共價附接於抗體部分。參見例如Sun等人(2002) Bioorg. Med. Chem. Lett. 12:2213-5；Sun等人(2003) Bioorg. Med. Chem. 11:1761-8。樹枝狀連接子可增加藥物比抗體之莫耳比，亦即藥物負載，其與ADC之效力有關。因此，在抗體部分僅載有一個例如反應性半胱胺酸硫醇基之情況下，眾多藥物部分可經由樹枝狀連接子附接。在一些實施例中，連接子部分或連接子-藥物部分可經由還原二硫橋化學或限制性離胺酸利用技術附接於抗體。參見例如Intl. Publ. No. WO2013173391及WO2013173393。

在一些實施例中，連接子可藉由例如酶之存在於細胞內環境中(例如溶酶體或內體或質膜微囊)之裂解劑裂解。連接子可為例如藉由細胞內肽酶或蛋白酶(包括(但不限於)溶酶體或內體蛋白酶)裂解之肽連接子。在一些實施例中，連接子為可裂解肽連接子。如本文所用，可裂解肽連接子係指包含可裂解肽部分之任何連接子。術語「可裂解肽部分」係指可藉由存在於細胞內環境中之試劑裂解的任何化學鍵連接之胺基酸(天然或合成胺基酸衍生物)。舉例而言，連接子可包含可藉由肽酶(諸如組織蛋白酶，例如組織蛋白酶B)裂解之丙胺酸-丙胺酸-天冬醯胺(Ala-Ala-Asn)序列或纈胺酸-瓜胺酸(Val-Cit)序列。

在一些實施例中，連接子為酶可裂解之連接子且連接子中之可裂解肽部分可藉由酶裂解。在一些實施例中，可裂解肽部分可藉由溶酶體酶(例如組織蛋白酶)裂解。在一些實施例中，連接子為組織蛋白酶可裂解之連接子。在一些實施例中，連接子中之可裂解肽部分可藉由溶酶體半胱胺酸組織蛋白酶(諸如組織蛋白酶B、C、F、H、K、L、O、S、V、X或W)裂解。在一些實施例中，可裂解肽部分可藉由組織蛋白酶B裂解。可藉由組織蛋白酶B裂解之一種示例性二肽為纈胺酸-瓜胺酸(Val-Cit) (Dubowchik等人(2002) Bioconjugate Chem. 13:855-69)。在一些實施例中，相對於包含替代可裂解部分(例如可裂解二硫化物部分或可裂解磺醯胺部分)之ADC，包含可裂解肽部分之ADC顯示較低聚集水準，及/或較高藥物負載(*p*)。

在一些實施例中，連接子或連接子中之可裂解肽部分包含胺基酸單元。在一些實施例中，該胺基酸單元允許連接子由蛋白酶裂解，因此在暴露於一或多種細胞內蛋白酶(諸如一或多種溶酶體酶)時促進藥物部分自ADC釋放(Doronina等人(2003) Nat. Biotechnol. 21:778-84；Dubowchik及Walker (1999) Pharm. Therapeutics 83:67-123)。示例性胺基酸單元包括(但不限於)二肽、三肽、四肽及五肽。示例性二肽包括(但不限於)纈胺酸-瓜胺酸(Val-Cit)、丙胺酸-天冬醯胺(Ala-Asn)、丙胺酸-苯丙胺酸(Ala-Phe)、苯丙胺酸-離胺酸(Phe-Lys)、丙胺酸-離胺酸(Ala-Lys)、丙胺酸-纈胺酸(Ala-Val)、纈胺酸-丙胺酸(Val-Ala)、纈胺酸-離胺酸(Val-Lys)、離胺酸-離胺酸(Lys-Lys)、苯丙胺酸-瓜胺酸(Phe-Cit)、白胺酸-瓜胺酸(Leu-Cit)、異白胺酸-瓜胺酸(Ile-Cit)、色胺酸-瓜胺酸(Trp-Cit)及苯丙胺酸-丙胺酸(Phe-Ala)。示例性三肽包括(但不限於)丙胺酸-丙胺酸-天冬醯胺(Ala-Ala-Asn)、甘胺酸-纈胺酸-瓜胺酸

(Gly-Val-Cit)、甘胺酸-甘胺酸-甘胺酸(Gly-Gly-Gly)、苯丙胺酸-苯丙胺酸-離胺酸(Phe-Phe-Lys)及甘胺酸-苯丙胺酸-離胺酸(Gly-Phe-Lys)。其他示例性胺基酸單元包括(但不限於) Gly-Phe-Leu-Gly、Ala-Leu-Ala-Leu、Phe-N^9-甲苯磺醯基-Arg及Phe-N^9-硝基-Arg，如例如美國專利第6,214,345號中所述。在一些實施例中，連接子中之胺基酸單元包含Val-Cit。在一些實施例中，連接子中之胺基酸單元包含Ala-Ala-Asn。在一些實施例中，相對於包含替代胺基酸單元或替代可裂解部分之ADC，包含Val-Cit之ADC顯示減少之脫靶細胞殺死，增加之靶向細胞殺死，較低聚集水準，及/或較高藥物負載(p)。胺基酸單元可包含天然存在之胺基酸殘基及/或次要胺基酸及/或非天然存在之胺基酸類似物，諸如瓜胺酸。胺基酸單元可經設計及最佳化，以藉由特定酶，例如腫瘤相關蛋白酶、溶酶體蛋白酶(諸如組織蛋白酶B、C、D或S)或血纖蛋白溶酶蛋白酶進行酶裂解。

在一些實施例中，本文中揭示之任何ADC中的連接子可包含至少一種將抗體部分接合於藥物部分之間隔子單元。在一些實施例中，間隔子單元將連接子中之裂解位點(例如可裂解肽部分)接合於抗體部分。在一些實施例中，連接子及/或連接子中之間隔子單元基本上為親水性的。親水性連接子可用於降低藥物經由多耐藥性(MDR)或功能類似之轉運體可能自抗性癌細胞泵出的程度。在一些態樣中，連接子包括一或多個聚乙二醇(PEG)部分，例如1、2、3、4、5或6個PEG部分。在一些實施例中，連接子為較短PEG連接子，且相比於較長PEG連接子，提供改善之穩定性及減少之聚集。

在一些實施例中，連接子中之間隔子單元包含一或多個PEG部分。在一些實施例中，間隔子單元包含-$(PEG)_m$-，且m為1至10之整

數。在一些實施例中，m在1至10、2至8、2至6、2至5、2至4或2至3之範圍內。在一些實施例中，m為8。在一些實施例中，m為4。在一些實施例中，m為3。在一些實施例中，m為2。在一些實施例中，間隔子單元包含$(PEG)_2$、$(PEG)_4$、$(PEG)_8$、$(PEG)_9$、$(PEG)_3$-三唑-$(PEG)_3$、$(PEG)_4$-三唑-$(PEG)_3$或二苯甲基環辛烯-三唑-$(PEG)_3$。在一些較佳實施例中，間隔子單元包含$(PEG)_2$。在一些實施例中，相對於包含較長間隔子單元(例如$(PEG)_8$)之ADC，包含較短間隔子單元(例如$(PEG)_2$)之ADC顯示較低聚集水準及/或較高藥物負載(p)。

在一些實施例中，連接子中之間隔子單元包含烷基部分。在一些實施例中，間隔子單元包含-$(CH_2)_n$-，且n為整數1至10 (亦即，n可為1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)。在一些實施例中，n為5。在一些實施例中，相對於包含較長間隔子單元(例如$(PEG)_8$)之ADC，包含較短間隔子單元(例如$(CH_2)_5$)之ADC顯示較低聚集水準及/或較高藥物負載(p)。

間隔子單元可用於例如直接或間接將抗體部分連接於藥物部分。在一些實施例中，間隔子單元直接將抗體部分連接於藥物部分。在一些實施例中，抗體部分及藥物部分經由包含一或多個PEG部分(例如$(PEG)_2$或$(PEG)_4$)之間隔子單元附接。在一些實施例中，間隔子單元間接將抗體部分連接於藥物部分。在一些實施例中，間隔子單元經由可裂解部分(例如可裂解肽、可裂解二硫化物或可裂解磺醯胺)及/或將間隔子單元接合於抗體部分之附接部分(例如順丁烯二醯亞胺部分)間接將抗體部分連接於藥物部分。

在各種實施例中，間隔子單元經由順丁烯二醯亞胺部分(Mal)附接於抗體部分(亦即抗體或抗原結合片段)。在一些實施例中，相對於

包含經由替代附接部分(諸如丁二醯亞胺部分)附接於抗體部分之連接子的ADC，包含經由順丁烯二醯亞胺部分附接於抗體部分之連接子之ADC顯示較高藥物負載(p)。

經由Mal附接於抗體或抗原結合片段之間隔子單元在本文中稱為「Mal-間隔子單元」。如本文所用，術語「順丁烯二醯亞胺部分」意謂含有順丁烯二醯亞胺基且與硫氫基(例如抗體部分上半胱胺酸殘基之氫硫基)反應的化合物。與硫氫基(硫醇)反應的其他官能團包括(但不限於)碘乙醯胺、溴乙醯胺、乙烯基吡啶、二硫化物、吡啶基二硫化物、異氰酸酯及異硫氰酸酯。在一些實施例中，Mal-間隔子單元與抗體或抗原結合片段上之半胱胺酸殘基反應。在一些實施例中，Mal-間隔子單元經由半胱胺酸殘基接合於抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，Mal-間隔子單元包含PEG部分。在一些實施例中，Mal-間隔子單元包含烷基部分。

在某些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元及可裂解肽部分。在一些實施例中，可裂解肽部分包含胺基酸單元。在一些實施例中，胺基酸單元包含Val-Cit。在一些實施例中，胺基酸單元包含Ala-Ala-Asn。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元及Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_2$及Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_m$及Val-Cit，其中m為2至8或2至5或2、3、4或5。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_8$及Val-Cit。在某些實施例中，連接子包含Mal-$(CH_2)_5$及Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元及Ala-Ala-Asn。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_2$及Ala-Ala-Asn。

在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元及可裂解二硫化物

部分。在一些實施例中，可裂解二硫化物部分為二硫基-二甲基。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元及二硫基-二甲基。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_4$-三唑-$(PEG)_3$及二硫基-二甲基。

在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元可裂解磺醯胺部分。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_4$-三唑-$(PEG)_3$及磺醯胺。

在各種實施例中，間隔子單元經由丁二醯亞胺部分(OSu)附接於抗體或抗原結合片段。經由OSu附接於抗體或抗原結合片段之間隔子單元在本文中稱為「OSu-間隔子單元」。如本文所用，術語「丁二醯亞胺部分」意謂含有丁二醯亞胺基且與胺基(例如抗體部分上離胺酸殘基之胺基)反應的化合物。一示例性丁二醯亞胺部分為N-羥基丁二醯亞胺(NHS)。在一些實施例中，OSu-間隔子單元與抗體或抗原結合片段上之離胺酸殘基反應。在一些實施例中，OSu-間隔子單元經由離胺酸殘基接合於抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，OSu-間隔子單元包含PEG部分。在一些實施例中，OSu-間隔子單元包含烷基部分。

在某些實施例中，連接子包含OSu-間隔子單元及可裂解肽部分。在一些實施例中，可裂解肽部分包含胺基酸單元。在一些實施例中，胺基酸單元包含Val-Cit。在一些實施例中，胺基酸單元包含Ala-Ala-Asn。在一些實施例中，連接子包含OSu-間隔子單元及Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_2$及Val-Cit。在其他實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_9$及Val-Cit。在其他實施例中，連接子包含OSu-$(CH_2)_5$及Val-Cit。在某些實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_3$-三唑-$(PEG)_3$及Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含OSu-間隔子單元

及Ala-Ala-Asn。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_2$及Ala-Ala-Asn。

在一些實施例中，連接子包含OSu-間隔子單元及可裂解二硫化物部分。在一些實施例中，可裂解二硫化物部分為二硫基-二甲基。在一些實施例中，連接子包含OSu-間隔子單元及二硫基-二甲基。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_3$-三唑-$(PEG)_3$及二硫基-二甲基。在其他實施例中，連接子包含OSu-二苯甲基環辛烯-三唑-$(PEG)_3$及二硫基-二甲基。

在一些實施例中，連接子包含OSu-間隔子單元及可裂解磺醯胺部分。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_3$-三唑-$(PEG)_3$及磺醯胺。在其他實施例中，連接子包含OSu-二苯甲基環辛烯-三唑-$(PEG)_3$及磺醯胺。

在一些實施例中，Mal-間隔子單元或OSu-間隔子單元將抗體部分(亦即抗體或抗原結合片段)附接於連接子中之可裂解部分。在一些實施例中，Mal-間隔子單元或OSu-間隔子單元將抗體或抗原結合片段附接於可裂解肽部分。在一些實施例中，可裂解肽部分包含胺基酸單元。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元-胺基酸單元或OSu-間隔子單元-胺基酸單元。在一些實施例中，Mal-間隔子單元或OSu-間隔子單元包含PEG部分。在一些實施例中，Mal-間隔子單元或OSu-間隔子單元包含烷基部分。在一些實施例中，胺基酸單元包含Val-Cit。在其他實施例中，胺基酸單元包含Ala-Ala-Asn。

在一些實施例中，連接子包含結構：Mal-間隔子單元-Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含結構：Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含結構：Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB。在一些實施例

中，連接子包含Mal-$(PEG)_8$-Val-Cit。在某些實施例中，連接子包含Mal-$(CH_2)_5$-Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元-Ala-Ala-Asn。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_2$-Ala-Ala-Asn。

在一些實施例中，連接子包含OSu-間隔子單元-Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_2$-Val-Cit。在其他實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_9$-Val-Cit。在其他實施例中，連接子包含OSu-$(CH_2)_5$-Val-Cit。在其他實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_3$-三唑-$(PEG)_3$-Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含OSu-間隔子單元-Ala-Ala-Asn。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_2$-Ala-Ala-Asn。

在各種實施例中，Mal-間隔子單元或OSu-間隔子單元將抗體或抗原結合片段附接於可裂解二硫化物部分。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元-二硫化物或OSu-間隔子單元-二硫化物。在一些實施例中，二硫化物為二硫基-二甲基。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元-二硫基-二甲基。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_4$-三唑-$(PEG)_3$-二硫基-二甲基。在其他實施例中，連接子包含OSu-間隔子單元-二硫基-二甲基。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_3$-三唑-$(PEG)_3$-二硫基-二甲基。在其他實施例中，連接子包含OSu-二苯甲基環辛烯-三唑-$(PEG)_3$-二硫基-二甲基。

在某些實施例中，Mal-間隔子單元或OSu-間隔子單元將抗體或抗原結合片段附接於可裂解磺醯胺部分。在一些實施例中，連接子包含Mal-間隔子單元-磺醯胺或OSu-間隔子單元-磺醯胺。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_4$-三唑-$(PEG)_3$-磺醯胺。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_3$-三唑-$(PEG)_3$-磺醯胺。在其他實施例中，連接

子包含OSu-二苯甲基環辛烯-三唑-$(PEG)_3$-磺醯胺。

在各種實施例中，連接子中之可裂解部分直接接合於藥物部分。在其他實施例中，另一間隔子單元用於將連接子中之可裂解部分附接於藥物部分。在各種實施例中，藥物部分為艾日布林。在各種實施例中，艾日布林藉由間隔子單元附接於連接子中之可裂解部分。在一些實施例中，艾日布林藉由自消耗間隔子單元附接於連接子中之可裂解部分。在某些實施例中，艾日布林藉由自消耗間隔子單元附接於連接子中之可裂解部分，可裂解部分包含Val-Cit，且包含PEG之另一間隔子單元將可裂解部分接合於抗體部分。在某些實施例中，艾日布林經由連接子中接合於Val-Cit可裂解部分之Mal-間隔子單元及pAB自消耗間隔子單元接合於抗FRA抗體。在某些其他實施例中，艾日布林經由連接子中接合於Val-Cit可裂解部分之Mal-間隔子單元及pAB自消耗間隔子單元接合於抗her 2抗體。

間隔子單元可為「自消耗」或「非自消耗」。「非自消耗」間隔子單元為其中部分或所有間隔子單元在連接子裂解後保持結合於藥物部分的間隔子單元。非自消耗間隔子單元之實例包括(但不限於)甘胺酸間隔子單元及甘胺酸-甘胺酸間隔子單元。非自消耗間隔子單元最後可隨著時間推移而降解，但在細胞條件下不容易整個釋放所連接之天然藥物。「自消耗」間隔子單元容許天然藥物部分在細胞內條件下釋放。「天然藥物」為其中在間隔子單元裂解/降解後無間隔子單元部分或其他化學修飾殘留之藥物。

自消耗化學作用為本領域中已知且可容易選擇用於所揭示之ADC。在各種實施例中，將連接子中之可裂解部分附接於藥物部分(例如艾日布林)之間隔子單元為自消耗的，且與可裂解部分在細胞內

條件下裂解同時或在即將裂解時或在裂解後不久即進行自消耗。

在某些實施例中，連接子中之自消耗間隔子單元包含對胺基苯甲基單元。在一些實施例中，對胺基苯甲醇(pABOH)經由醯胺鍵附接於胺基酸單元或連接子中之其他可裂解部分，且在pABOH與藥物部分之間形成胺基甲酸酯基、甲基胺基甲酸酯基或碳酸酯基(Hamann等人(2005) Expert Opin. Ther. Patents 15:1087-103)。在一些實施例中，自消耗間隔子單元為或包含對胺基苯甲基胺基甲酸酯基。在一些實施例中，自消耗間隔子單元為或包含對胺基苯甲氧基羰基(pAB)。在一些實施例中，pAB為對胺基苯甲基胺基甲酸酯基。不受理論束縛，認為pAB之自消耗涉及自發1,6-消去反應(Jain等人(2015) Pharm Res 32:3526-40)。

在各種實施例中，自消耗間隔子單元將連接子中之可裂解部分附接於艾日布林上之C-35胺。在一些實施例中，自消耗間隔子單元為pAB。在一些實施例中，pAB將連接子中之可裂解部分附接於艾日布林上之C-35胺。在一些實施例中，pAB在可裂解部分裂解時進行自消耗，且艾日布林呈其天然活性形式自ADC釋放。在一些實施例中，抗FRA抗體(例如MORAb-003)藉由包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB之連接子接合於艾日布林之C-35胺。在其他實施例中，抗her 2抗體(例如曲妥珠單抗)藉由包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB之連接子接合於艾日布林之C-35胺。

在一些實施例中，pAB在連接子中之可裂解部分裂解時進行自消耗。在一些實施例中，可裂解肽部分包含胺基酸單元。在一些實施例中，連接子包含胺基酸單元-pAB。在一些實施例中，胺基酸單元為Val-Cit。在一些實施例中，連接子包含Val-Cit-pAB (VCP)。在某些實

施例中，胺基酸單元為Ala-Ala-Asn。在一些實施例中，連接子包含Ala-Ala-Asn-pAB。

在一些實施例中，pAB在連接子中之可裂解二硫化物部分裂解時進行自消耗。在一些實施例中，連接子包含二硫化物-pAB。在一些實施例中，連接子包含二硫基-二甲基-pAB。

在一些實施例中，pAB在連接子中之可裂解磺醯胺部分裂解時進行自消耗。在一些實施例中，連接子包含磺醯胺-pAB。

在各種態樣中，ADC之抗體部分經由連接子結合於藥物部分，其中連接子包含Mal-間隔子單元、可裂解胺基酸單元及pAB。在一些實施例中，間隔子單元包含PEG部分。在一些實施例中，間隔子單元包含烷基部分。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_2$-胺基酸單元-pAB。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB。在其他實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_2$-Ala-Ala-Asn-pAB。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_8$-胺基酸單元-pAB。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_8$-Val-Cit-pAB。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(CH_2)_5$-胺基酸單元-pAB。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(CH_2)_5$-Val-Cit-pAB。

在各種實施例中，ADC之抗體部分經由連接子結合於藥物部分，其中連接子包含Mal-間隔子單元-二硫化物-pAB。在一些實施例中，間隔子單元包含PEG部分。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_4$-三唑-$(PEG)_3$-二硫化物-pAB。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_4$-三唑-$(PEG)_3$-二硫基-二甲基-pAB。

在一些實施例中，ADC之抗體部分經由連接子結合於藥物部分，其中連接子包含Mal-間隔子單元-磺醯胺-pAB。在一些實施例

中，間隔子單元包含PEG部分。在一些實施例中，連接子包含Mal-$(PEG)_4$-三唑-$(PEG)_3$-磺醯胺-pAB。

在一些態樣中，ADC之抗體部分經由連接子結合於藥物部分，其中連接子包含OSu-間隔子單元-胺基酸單元-pAB。在一些實施例中，間隔子單元包含PEG部分。在一些實施例中，間隔子單元包含烷基部分。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_2$-胺基酸單元-pAB。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB。在其他實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_2$-Ala-Ala-Asn-pAB。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_9$-胺基酸單元-pAB。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_9$-Val-Cit-pAB。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(CH_2)_5$-胺基酸單元-pAB。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(CH_2)_5$-Val-Cit-pAB。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_3$-三唑-$(PEG)_3$-胺基酸單元-pAB。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_3$-三唑-$(PEG)_3$-Val-Cit-pAB。

在一些實施例中，ADC之抗體部分經由連接子結合於藥物部分，其中連接子包含OSu-間隔子單元-二硫化物-pAB。在一些實施例中，間隔子單元包含PEG部分。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_3$-三唑-$(PEG)_3$-二硫化物-pAB。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_3$-三唑-$(PEG)_3$-二硫基-二甲基-pAB。在一些實施例中，連接子包含OSu-二苯甲基環辛烯-三唑-$(PEG)_3$-二硫化物-pAB。在一些實施例中，連接子包含OSu-二苯甲基環辛烯-三唑-$(PEG)_3$-二硫基-二甲基-pAB。

在一些實施例中，ADC之抗體部分經由連接子結合於藥物部分，其中連接子包含OSu-間隔子單元-磺醯胺-pAB。在一些實施例

中，間隔子單元包含PEG部分。在一些實施例中，連接子包含OSu-$(PEG)_3$-三唑-$(PEG)_3$-磺醯胺-pAB。在一些實施例中，連接子包含OSu-二苯甲基環辛烯-三唑-$(PEG)_3$-磺醯胺-pAB。

在各種實施例中，連接子經設計以在細胞內化及連接子-藥物部分及/或單獨藥物部分擴散至相鄰細胞後經由裂解促進旁觀殺死(相鄰細胞之殺死)。在一些實施例中，連接子促進細胞內化。在一些實施例中，連接子經設計以使細胞外環境中之裂解減至最少，因此減少對脫靶組織(例如非癌組織)之毒性，同時保留ADC結合於標靶組織及不表現ADC但在表現該抗原之標靶癌症組織周圍的抗體部分所靶向之抗原的癌組織之旁觀殺死。在一些實施例中，包含順丁烯二醯亞胺部分(Mal)、聚乙二醇(PEG)部分、纈胺酸-瓜胺酸(Val-Cit或「vc」)及pAB之連接子提供此等功能特徵。在一些實施例中，包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB之連接子尤其有效地提供此等功能特徵，例如當諸如MORAb-003之抗FRA抗體部分與諸如艾日布林之藥物部分接合時。在一些實施例中，在無抗FRA抗體部分及/或無MORAb-003下亦可觀測到此等功能特徵中之至少一些。舉例而言，在一些實施例中，包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB之連接子尤其有效地提供此等功能特徵中之一些或所有，例如當諸如曲妥珠單抗之抗her 2抗體部分與諸如艾日布林之藥物部分接合時。

在一些實施例中，抗體部分經由包含順丁烯二醯亞胺部分(Mal)、聚乙二醇(PEG)部分、纈胺酸瓜胺酸(Val-Cit或「vc」)及pAB之連接子結合於藥物部分。在此等實施例中，連順丁烯二醯亞胺部分將連接子-藥物部分共價附接於抗體部分，且pAB充當自消耗間隔子單元。此類連接子可稱為「m-vc-pAB」連接子、「Mal-VCP」連接子

或「Mal-(PEG)$_2$-Val-Cit-pAB」連接子。在一些實施例中，藥物部分為艾日布林。Mal-(PEG)$_2$-Val-Cit-pAB-艾日布林之結構提供於表46中。Mal-(PEG)$_2$-Val-Cit-pAB連接子之pAB附接於艾日布林上之C-35胺。

已發現包含Mal-(PEG)$_2$-Val-Cit-pAB-艾日布林之ADC證明合乎需要之特性的特定組合，尤其當與諸如MORAb-003之抗FRA抗體或其抗原結合片段配對時。此等特性包括(但不限於)有效水準之藥物負載(p~4)、低聚集水準、在儲存條件下或當在身體內循環時的穩定性(例如血清穩定性)、保留可與未結合抗體相比較的對表現標靶之細胞的親和力、針對表現標靶之細胞的有效細胞毒性、低水準之脫靶細胞殺死、高水準之旁觀殺死及/或有效活體內抗癌活性，均與使用其他連接子-毒素及/或抗體部分之ADC進行比較。雖然許多連接子選擇及間隔子與裂解位點組合為本領域中已知且可提供此等功能類別中之一者或多者的某些益處，但將艾日布林接合於諸如抗FRA抗體(例如MORAb-003)之抗體部分的Mal-(PEG)$_2$-Val-Cit-pAB之特定組合可為治療ADC提供合乎需要之功能特性範圍上良好或優良之特性。在一些實施例中，在此連接子-毒素結合於例如抗her 2抗體(諸如曲妥珠單抗)下，藉由將艾日布林接合於抗體部分的Mal-(PEG)$_2$-Val-Cit-pAB連接子之特定組合提供的良好或優良功能特性。

在一些實施例中，ADC包含Mal-(PEG)$_2$-Val-Cit-pAB-艾布日林及包含內化抗體或保留靶向腫瘤細胞且在腫瘤細胞中內化之能力之其抗原接合片段的抗體部分。在一些實施例中，ADC包含Mal-(PEG)$_2$-Val-Cit-pAB-艾布日林及靶向表現FRA之腫瘤細胞的內化抗體或其內化抗原結合片段。在一些實施例中，靶向表現FRA之腫瘤細胞之內化抗體

或其內化抗原結合片段包含三個重鏈互補決定區(HCDR)，其包含SEQ ID NO:2 (HCDR1)、SEQ ID NO:3 (HCDR2)及SEQ ID NO:4 (HCDR3)之胺基酸序列；及三個輕鏈互補決定區(LCDR)，其包含SEQ ID NO:7 (LCDR1)、SEQ ID NO:8 (LCDR2)及SEQ ID NO:9 (LCDR3)之胺基酸序列，如Kabat編號系統所定義；或三個重鏈互補決定區(HCDR)，其包含SEQ ID NO:13 (HCDR1)、SEQ ID NO:14 (HCDR2)及SEQ ID NO:15 (HCDR3)之胺基酸序列；及三個輕鏈互補決定區(LCDR)，其包含SEQ ID NO:16 (LCDR1)、SEQ ID NO:17 (LCDR2)及SEQ ID NO:18 (LCDR3)之胺基酸序列，如IMGT編號系統所定義。在一些實施例中，靶向表現FRA之腫瘤細胞之內化抗體或其內化抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:23之胺基酸序列的重鏈可變區及包含SEQ ID NO:24之胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施例中，靶向表現FRA之腫瘤細胞之內化抗體或其內化抗原結合片段包含人類IgG1重鏈恆定域及Igκ輕鏈恆定域。

在一些實施例中，ADC具有式I：

$Ab\text{-}(L\text{-}D)_p$ (I)

其中：

(i) Ab為內化抗葉酸受體α (FRA)抗體或其內化抗原結合片段，其包含：三個重鏈互補決定區(HCDR)，其包含SEQ ID NO:2 (HCDR1)、SEQ ID NO:3 (HCDR2)及SEQ ID NO:4 (HCDR3)之胺基酸序列；及三個輕鏈互補決定區(LCDR)，其包含SEQ ID NO:7 (LCDR1)、SEQ ID NO:8 (LCDR2)及SEQ ID NO:9 (LCDR3)之胺基酸序列，如Kabat編號系統所定義；或三個重鏈互補決定區(HCDR)，其包含SEQ ID NO:13 (HCDR1)、SEQ ID NO:14 (HCDR2)及SEQ ID

NO:15 (HCDR3)之胺基酸序列；及三個輕鏈互補決定區(LCDR)，其包含SEQ ID NO:16 (LCDR1)、SEQ ID NO:17 (LCDR2)及SEQ ID NO:18 (LCDR3)之胺基酸序列，如IMGT編號系統所定義；

(ii) D為艾日布林；

(iii) L包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB之可裂解連接子；且

(iv) *p*為整數1至20。

在一些實施例中，內化抗體或其內化抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:23之胺基酸序列的重鏈可變區及包含SEQ ID NO:24之胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施例中，內化抗體為MORAb-003。在一些實施例中，*p*為1至8或1至6。在一些實施例中，*p*為2至8或2至5。在一些實施例中，*p*為3至4。在一些實施例中，*p*為4。

在其他實施例中，ADC包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB-艾日布林及靶向表現her2之腫瘤細胞之內化抗體或其內化抗原結合片段。在一些實施例中，靶向表現her 2之腫瘤細胞之內化抗體或其內化抗原結合片段包含：三個重鏈互補決定區(HCDR)，其包含SEQ ID NO:71 (HCDR1)、SEQ ID NO:72 (HCDR2)及SEQ ID NO:73 (HCDR3)之胺基酸序列；及三個輕鏈互補決定區(LCDR)，其包含SEQ ID NO:74 (LCDR1)、SEQ ID NO:75 (LCDR2)及SEQ ID NO:76 (LCDR3)之胺基酸序列，如Kabat編號系統所定義；或三個重鏈互補決定區(HCDR)，其包含SEQ ID NO:191 (HCDR1)、SEQ ID NO:192 (HCDR2)及SEQ ID NO:193 (HCDR3)之胺基酸序列；及三個輕鏈互補決定區(LCDR)，其包含SEQ ID NO:194 (LCDR1)、SEQ ID NO:195 (LCDR2)及SEQ ID NO:196 (LCDR3)之胺基酸序列，如IMGT編號系統所定義。在一些實施例中，靶向表現her 2之腫瘤細胞之內化抗體或其內化抗原結合片段

包含有包含SEQ ID NO:27之胺基酸序列的重鏈可變區及包含SEQ ID NO:28之胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施例中，靶向表現her 2之腫瘤細胞之內化抗體或其內化抗原結合片段包含人類IgG1重鏈恆定域及Igκ輕鏈恆定域。

在一些實施例中，ADC具有式I：

$Ab\text{-}(L\text{-}D)_p$ (I)

其中：

(i) Ab為內化抗人類表皮生長因子受體2(her 2)抗體或其內化抗原結合片段，其包含：三個重鏈互補決定區(HCDR)，其包含SEQ ID NO:71 (HCDR1)、SEQ ID NO:72 (HCDR2)及SEQ ID NO:73 (HCDR3)之胺基酸序列；及三個輕鏈互補決定區(LCDR)，其包含SEQ ID NO:74 (LCDR1)、SEQ ID NO:75 (LCDR2)及SEQ ID NO:76 (LCDR3)之胺基酸序列，如Kabat編號系統所定義；或三個重鏈互補決定區(HCDR)，其包含SEQ ID NO:191 (HCDR1)、SEQ ID NO:192 (HCDR2)及SEQ ID NO:193 (HCDR3)之胺基酸序列；及三個輕鏈互補決定區(LCDR)，其包含SEQ ID NO:194 (LCDR1)、SEQ ID NO:195 (LCDR2)及SEQ ID NO:196 (LCDR3)之胺基酸序列，如IMGT編號系統所定義；

(ii) D為艾日布林；

(iii) L包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB之可裂解連接子；且

(iv) p為整數1至20。

在一些實施例中，內化抗體或其內化抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:27之胺基酸序列的重鏈可變區及包含SEQ ID NO:28之胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施例中，內化抗體為曲妥珠單抗。

在一些實施例中，p為1至8或1至6。在一些實施例中，p為2至8或2至5。在一些實施例中，p為3至4。在一些實施例中，p為4。

在其他實施例中，ADC包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB-艾日布林及靶向表現間皮素(MSLN)之腫瘤細胞之內化抗體或其內化抗原結合片段。在一些實施例中，靶向表現MSLN之腫瘤細胞之內化抗體或其內化抗原結合片段包含：三個重鏈互補決定區(HCDR)，其包含SEQ ID NO:65 (HCDR1)、SEQ ID NO:66 (HCDR2)及SEQ ID NO:67 (HCDR3)之胺基酸序列；及三個輕鏈互補決定區(LCDR)，其包含SEQ ID NO:68 (LCDR1)、SEQ ID NO:69 (LCDR2)及SEQ ID NO:70 (LCDR3)之胺基酸序列，如Kabat編號系統所定義；或三個重鏈互補決定區(HCDR)，其包含SEQ ID NO:185 (HCDR1)、SEQ ID NO:186 (HCDR2)及SEQ ID NO:187 (HCDR3)之胺基酸序列；及三個輕鏈互補決定區(LCDR)，其包含SEQ ID NO:188 (LCDR1)、SEQ ID NO:189 (LCDR2)及SEQ ID NO:190 (LCDR3)之胺基酸序列，如IMGT編號系統所定義。在一些實施例中，靶向表現MSLN之腫瘤細胞之內化抗體或其內化抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:25之胺基酸序列的重鏈可變區及包含SEQ ID NO:26之胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施例中，靶向表現MSLN之腫瘤細胞之內化抗體或其內化抗原結合片段包含人類IgG1重鏈恆定域及Igκ輕鏈恆定域。

在一些實施例中，ADC具有式I：

$$Ab\text{-}(L\text{-}D)_p \qquad (I)$$

其中：

(i) Ab為內化抗間皮素抗體或其內化抗原結合片段，其包含：三個重鏈互補決定區(HCDR)，其包含SEQ ID NO:65 (HCDR1)、SEQ ID

NO:66 (HCDR2)及SEQ ID NO:67 (HCDR3)之胺基酸序列；及三個輕鏈互補決定區(LCDR)，其包含SEQ ID NO:68 (LCDR1)、SEQ ID NO:69 (LCDR2)及SEQ ID NO:70 (LCDR3)之胺基酸序列，如Kabat編號系統所定義；或三個重鏈互補決定區(HCDR)，其包含SEQ ID NO:185 (HCDR1)、SEQ ID NO:186 (HCDR2)及SEQ ID NO:187 (HCDR3)之胺基酸序列；及三個輕鏈互補決定區(LCDR)，其包含SEQ ID NO:188 (LCDR1)、SEQ ID NO:189 (LCDR2)及SEQ ID NO:190 (LCDR3)之胺基酸序列，如IMGT編號系統所定義；

(ii) D為艾日布林；

(iii) L包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB之可裂解連接子；且

(iv) *p*為整數1至20。

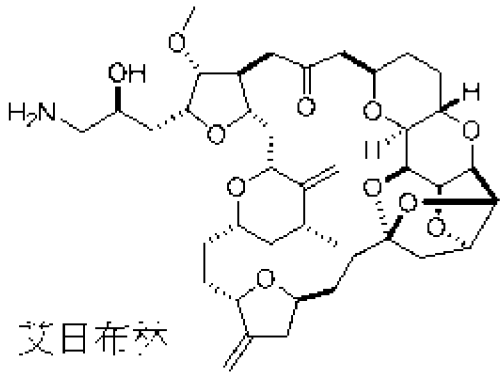
在一些實施例中，內化抗體或其內化抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:25之胺基酸序列的重鏈可變區及包含SEQ ID NO:26之胺基酸序列的輕鏈可變區。在一些實施例中，內化抗體為MORAb-003、MORAb-009或曲妥珠單抗。在一些實施例中，*p*為為1至8或1至6。在一些實施例中，*p*為2至8或2至5。在一些實施例中，*p*為3至4。在一些實施例中，*p*為4。

藥物部分

本文中描述ADC之藥物部分(D)可為任何化學治療劑。適用類別之化學治療劑包括例如抗微管蛋白劑。在某些實施例中，藥物部分為抗微管蛋白劑。抗微管蛋白劑之實例包括念珠藻環肽及艾日布林。用於所述ADC之較佳藥物部分為艾日布林。

在各種實施例中，藥物部分為艾日布林。在此等實施例中，ADC之連接子經由艾日布林上之C-35胺附接。

在各種實施例中，用於接合於連接子及抗體部分之艾日布林之天然形式展示於下文中：



艾日布林

在某些實施例中，作為連接子前驅物之中間物與藥物部分在適當條件下反應。在某些實施例中，反應基團用於藥物及/或中間物或連接子上。藥物與中間物之間的反應產物或衍生化藥物隨後與抗體或抗原結合片段在適當條件下反應。或者，連接子或中間物可首先與抗體或衍生化抗體反應，然後與藥物或衍生化藥物反應。

許多不同反應可用於將藥物及/或連接子共價附接於抗體部分。此常藉由抗體分子之一或多個胺基酸殘基(包括離胺酸之胺基、麩胺酸及天冬胺酸之游離羧酸基、半胱胺酸之硫氫基及芳族胺基酸之各種部分)實現。舉例而言，可使用碳化二亞胺反應將化合物上之羧基(或胺基)連接於抗體部分上之胺基(或羧基)，來進行非特異性共價附接。另外，諸如二醛或亞胺酸酯之雙官能試劑亦可用於將化合物上之胺基連接於抗體部分上之胺基。席夫鹼反應(Schiff base reaction)亦可用於將藥物附接於結合劑。此方法包括含有二醇或羥基之藥物的過碘酸鹽氧化，因此形成醛，接著醛與結合劑反應。經由與結合劑之胺基形成席夫鹼，進行附接。異硫氰酸鹽亦可用作用於將藥物共價附接於結合劑之偶合劑。其他技術為熟練技術人員所知且在本發明之範疇內。

藥物負載

藥物負載由*p*表示，且在本文中亦稱為藥物-抗體比率(DAR)。藥物負載可在每一抗體部分1至20個藥物部分之範圍內。在一些實施例中，*p*為整數1至20。在一些實施例中，*p*為整數1至10、1至9、1至8、1至7、1至6、1至5、1至4、1至3或1至2。在一些實施例中，*p*為整數2至10、2至9、2至8、2至7、2至6、2至5、2至4或2至3。在一些實施例中，*p*為整數3至4。在其他實施例中，*p*為1、2、3、4、5或6，較佳為3或4。

藥物負載可受抗體部分上之附接位點數目限制。在一些實施例中，ADC之連接子部分(L)經由抗體部分上之一或多個胺基酸殘基上之化學活性基團附接於抗體部分。舉例而言，連接子可經由游離胺基、亞胺基、羥基、硫醇或羧基附接於抗體部分(例如N或C端、一或多個離胺酸殘基之ε胺基、一或多個麩胺酸或天冬胺酸殘基之游離羧酸基或一或多個半胱胺酸殘基之硫氫基)。連接子附接之位點可為抗體部分之胺基酸序列中之天然殘基，或其可例如藉由DNA重組技術(例如藉由將半胱胺酸殘基引入胺基酸序列中)或藉由蛋白質生物化學(例如藉由還原、pH調整或水解)引入抗體部分。

在一些實施例中，可結合於抗體部分之藥物部分數目受游離半胱胺酸殘基之數目限制。舉例而言，在附接為半胱胺酸硫醇基之情況下，抗體可僅具有一個或幾個半胱胺酸硫醇基，或可僅具有一個或幾個可附接連接子之足夠反應性硫醇基。一般而言，抗體不含許多可連接於藥物部分之游離及反應性半胱胺酸硫醇基。實際上，抗體中之大多數半胱胺酸硫醇殘基呈二硫鍵形式存在。連接子-毒素過度附接於抗體可能藉由將可利用之半胱胺酸殘基還原，形成二硫鍵而使抗體不穩定。因此，在不使抗體部分不穩定下，最佳藥物:抗體比率將增加

ADC之效力(藉由增加每一抗體之附接藥物部分數目)。在一些實施例中，最佳比率可為約3-4。

在一些實施例中，經由Mal部分附接於抗體部分之連接子提供約3-4之比率。在一些實施例中，經由替代部分(例如OSu部分)附接於抗體部分之連接子可提供次佳比率(例如較低比率，諸如約0-3)。在一些實施例中，包含短間隔子單元(例如短PEG間隔子單元，諸如$(PEG)_2$或$(PEG)_4$，或短烷基間隔子單元，諸如$(CH_2)_5$)之連接子提供約3-4之比率。在一些實施例中，包含較長間隔子單元(例如$(PEG)_8$)之連接子可提供次佳比率(例如較低比率，諸如約0-3)。在一些實施例中，包含肽可裂解部分之連接子提供約3-4之比率。在一些實施例中，包含替代可裂解部分(例如可裂解二硫化物或可裂解磺醯胺)之連接子可提供次佳比率(例如較低比率，諸如約0-3)。在一些實施例中，包含接合於抗體諸如抗FRA抗體(例如MORAb-003)之Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB-艾日布林的ADC具有約3-4之比率。在一些實施例中，在包含接合於諸如抗her 2抗體(例如曲妥珠單抗)之不同抗體的Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB-艾日布林的ADC下觀測到約3-4之比率。在一些實施例中，在包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB-艾日布林連接子-毒素之ADC下觀測到之最佳比率與抗體無關。

在一些實施例中，抗體部分在結合前暴露於還原條件，以產生一或多個游離半胱胺酸殘基。在一些實施例中，抗體可用諸如二硫蘇糖醇(DTT)或叁(2-羧乙基)膦(TCEP)之還原劑在部分或總還原條件下還原，產生反應性半胱胺酸硫醇基。未配對半胱胺酸可經由用有限莫耳當量之TCEP下部分還原來產生，此優先還原連接輕鏈與重鏈(每一H-L配對之一對)及鉸鏈區中之兩個重鏈(在人類IgG1情況下每一H-H配對

之兩對)的鏈間二硫鍵，而使鏈內二硫鍵完整(Stefano等人(2013) Methods Mol. Biol.1045:145-71)。在實施例中，抗體內之二硫鍵例如藉由採用應用交替還原及氧化電壓之工作電極，電化學還原。此方法可允許二硫鍵還原線上耦接至分析裝置(例如電化學偵測裝置、NMR波譜儀或質譜儀)或化學分離裝置(例如液相層析儀(例如HPLC)或電泳裝置(參見例如美國公開案第20140069822號))。在某些實施例中，抗體經受變性條件，以露出諸如離胺酸或半胱胺酸之胺基酸殘基上的反應性親核基團。

ADC之藥物負載可用不同方式，例如藉由以下來控制：(i)限制藥物-連接子中間物或連接子試劑相對於抗體之莫耳過量；(ii)限制結合反應時間或溫度；(iii)半胱胺酸硫醇修飾之部分還原條件或限制還原條件；及/或(iv)藉由重組技術工程改造抗體之胺基酸序列，使得半胱胺酸殘基之數目及位置經修飾，以控制連接子-藥物附接之數目及/或位置。

在一些實施例中，游離半胱胺酸殘基引入抗體部分之胺基酸序列中。舉例而言，可製備其中親本抗體之一或多個胺基酸經半胱胺酸胺基酸替換之半胱胺酸工程改造抗體。因此抗體之任何形式可經工程化，亦即突變。舉例而言，親本Fab抗體片段可經工程改造以形成稱為「ThioFab」之半胱胺酸工程改造Fab。類似地，親本單株抗體可經工程改造，形成「ThioMab」。單位點突變在ThioFab中產生單個工程改造半胱胺酸殘基，而由於IgG抗體之二聚性，所以單位點突變在ThioMab中產生兩個工程改造半胱胺酸殘基。可藉由本領域中已知之多種方法(參見例如WO 2006/034488中描述之方法)製備編碼親本多肽之胺基酸序列變異體之DNA。此等方法包括(但不限於)藉由定點(或

寡核苷酸介導)誘變、PCR誘變及早先製備之編碼多肽之DNA的卡匣誘變。重組抗體之變異體亦可藉由限制性片段操縱或藉由重疊延伸PCR，利用合成寡核苷酸來構築。式I之ADC包括(但不限於)具有1、2、3或4個經工程改造之半胱胺酸胺基酸的抗體(Lyon等人(2012) Methods Enzymol. 502:123-38)。在一些實施例中，不使用工程改造下，一或多個游離半胱胺酸殘基已存在於抗體部分中，在此情況下存在之游離半胱胺酸殘基可用於將抗體部分結合於藥物部分。

在一些實施例中，較高藥物負載(例如$p>5$)可引起某些抗體-藥物結合物之聚集、不溶、毒性或細胞滲透性損失。較高藥物負載亦可負面影響某些ADC之藥物代謝動力學(例如清除率)。在一些實施例中，較低藥物負載(例如$p<3$)可降低某些ADC針對表現標靶之細胞及/或旁鄰細胞之效力。在一些實施例中，本發明之ADC的藥物負載在1至約8、約2至約6、約2至約5、約3至約5或約3至約4之範圍內。

在包含多個複本之抗體部分及連接子部分的反應混合物中超過一個親核基團與藥物-連接子中間物或連接子部分試劑、接著藥物部分試劑反應的情況下，所得產物可為ADC化合物之混合物，在混合物中分配一或多個藥物部分附接於抗體部分之每個複本。在一些實施例中，由結合反應產生之ADC之混合物中藥物負載在每一抗體部分附接1至20個藥物部分之範圍。每一抗體部分之藥物部分平均數目(亦即平均藥物負載或平均p)可藉由本領域中已知之任何習知方法，例如藉由質譜分析(例如反相LC-MS)及/或高效液相層析(例如HIC-HPLC)計算。在一些實施例中，每一抗體部分之藥物部分平均數目藉由疏水相互作用層析-高效液相層析(HIC-HPLC)測定。在一些實施例中，每一抗體部分之藥物部分平均數目藉由反相液相層析-質譜分析(LC-MS)測

定。在一些實施例中，每一抗體部分之藥物部分平均數目為約3至約4；約3.1至約3.9；約3.2至約3.8；約3.2至約3.7；約3.2至約3.6；約3.3至約3.8；或約3.3至約3.7。在一些實施例中，每一抗體部分之藥物部分平均數目為約3.2至約3.8。在一些實施例中，每一抗體部分之藥物部分平均數目為約3.8。在一些實施例中，每一抗體部分之藥物部分平均數目為3至4；3.1至3.9；3.2至3.8；3.2至3.7；3.2至3.6；3.3至3.8；或3.3至3.7。在一些實施例中，每一抗體部分之藥物部分平均數目為3.2至3.8。在一些實施例中，每一抗體部分之藥物部分平均數目為3.8。

在一些實施例中，每一抗體部分之藥物部分平均數目為約3.5至約4.5；約3.6至約4.4；約3.7至約4.3；約3.7至約4.2；或約3.8至約4.2。在一些實施例中，每一抗體部分之藥物部分平均數目為約3.6至約4.4。在一些實施例中，每一抗體部分之藥物部分平均數目為約4.0。在一些實施例中，每一抗體部分之藥物部分平均數目為3.5至4.5；3.6至4.4；3.7至4.3；3.7至4.2；或3.8至4.2。在一些實施例中，每一抗體部分之藥物部分平均數目為3.6至4.4。在一些實施例中，每一抗體部分之藥物部分平均數目為4.0。

在各種實施例中，如關於每一抗體部分之藥物部分平均數目使用的術語「約」意謂+/-10%。

混合物中個別ADC化合物或「物質」可藉由質譜分析鑑別且藉由UPLC或HPLC，例如疏水相互作用層析(HIC-HPLC)分離。在某些實施例中，具有單負載值之均質或幾乎均質ADC可例如藉由電泳或層析自結合混合物分離。

在一些實施例中，約4之藥物負載及/或平均藥物負載提供有益特

性。在一些實施例中，小於約4之藥物負載及/或平均藥物負載可導致未結合抗體物質之水準高至無法接受，其可能與ADC競爭結合於標靶抗原及/或降低治療功效。在一些實施例中，超過約4之藥物負載及/或平均藥物負載可能導致產物非均質性及/或ADC聚集之水準高至無法接受。由於使抗體部分穩定所需之一或多個化學鍵損失，所以超過約4之藥物負載及/或平均藥物負載亦可能影響ADC之穩定性。

在一些實施例中，ADC具有式I：

$Ab\text{-}(L\text{-}D)_p$ (I)

其中：

(i) Ab為內化抗葉酸受體α抗體或其抗原結合片段，其包含有包含SEQ ID NO:23之胺基酸序列的重鏈可變區及包含SEQ ID NO:24之胺基酸序列的輕鏈可變區；

(ii) D為艾日布林；

(iii) L包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB之可裂解連接子；且

(iv) p為整數3至4。

在其他實施例中，ADC具有式I：

$Ab\text{-}(L\text{-}D)_p$ (I)

其中：

(i) Ab為內化抗人類表皮生長因子受體2抗體或其抗原結合片段，其包含有包含SEQ ID NO:27之胺基酸序列的重鏈可變區及包含SEQ ID NO:28之胺基酸序列的輕鏈可變區；

(ii) D為艾日布林；

(iii) L包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB之可裂解連接子；且

(iv) p為整數3至4。

在一些實施例中，p為4。

本發明包括產生所述ADC之方法。簡言之，ADC包含作為抗體部分之抗體或抗原結合片段、藥物部分及將藥物部分與抗體部分接合之連接子。在一些實施例中，ADC可使用具有共價附接於藥物部分及抗體部分之反應官能基的連接子製備。舉例而言，在一些實施例中，抗體部分之半胱胺酸硫醇可與連接子或藥物連接子中間物之反應性官能基(例如順丁烯二醯亞胺部分)形成鍵，得到ADC。ADC之產生可藉由熟練技術人員已知之任何技術實現。

在一些實施例中，ADC藉由抗體部分與連接子及藥物部分以相繼方式接觸而產生，使得抗體部分首先共價連接於連接子，然後預先形成之抗體-連接子中間物與藥物部分反應。在接觸藥物部分前，抗體-連接子中間物可經受或可不經受純化步驟。在其他實施例中，ADC藉由抗體部分與預先藉由連接子與藥物部分反應而形成之連接子藥物化合物接觸來產生。在接觸藥物部分前，預先形成之連接子-藥物化合物可經受或可不經受純化步驟。在其他實施例中，在一種反應混合物中抗體部分接觸連接子及藥物部分，允許抗體部分與連接子之間及連接子與藥物部分之間同時形成共價鍵。此產生ADC之方法可包括其中在添加連接子至反應混合物前抗體部分接觸抗體部分之反應，反之亦然。在某些實施例中，ADC藉由使抗體部分與接合於藥物部分之連接子(諸如Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB-艾日布林)在允許結合之條件下反應而產生。

根據上述方法製備之ADC可經受純化步驟。純化步驟可包括本領域中已知用於純化蛋白質之任何生物化學方法或其任何方法組合。此等包括(但不限於)切向流過濾(TFF)、親和層析法、離子交換層析

法、基於任何電荷或等電點之層析、混合模式層析(例如CHT(陶瓷羥磷灰石))、疏水相互作用層析、空間排阻層析、透析、過濾、選擇沈澱或其任何組合。

治療用途及組合物

本文中揭示使用所揭示之ADC治療個體之病症，例如腫瘤病症的方法。ADC可單獨或與第二治療劑組合投與，且可呈任何醫藥學上可接受之調配物、劑量及給藥方案投與。可針對毒性以及功效之指標評估ADC治療功效，且相應調整。功效量度包括(但不限於)在活體外或活體內觀測到之細胞抑制及/或細胞毒性作用、腫瘤體積減小、腫瘤生長抑制及/或存活延長。

已知確定ADC是否對細胞發揮細胞抑制及/或細胞毒性作用之方法。舉例而言，ADC之細胞毒性或細胞抑制活性可藉由以下來量測：將表現ADC之標靶蛋白的哺乳動物細胞暴露於細胞培養基；將細胞培養約6小時至約5天之時期；以及量測細胞存活力。基於細胞之活體外分析亦可用於量測存活力(增殖)、細胞毒性及ADC對細胞凋亡之誘發(卡斯蛋白酶活化)。

為確定抗體-藥物結合物是否發揮細胞抑制作用，可使用胸苷併入分析。舉例而言，表現標靶抗原之癌細胞可以96孔盤5,000個細胞/孔之密度培養72小時時間段，且在72小時時間段之最後8小時期間，暴露於0.5 μCi ^{3}H-胸苷。^{3}H-胸苷在培養物之細胞中的併入以ADC之存在及缺乏量測。

為測定細胞毒性，可量測壞死或細胞凋亡(程式化細胞死亡)。壞死通常伴有質膜之滲透性增加；細胞膨脹，及質膜破裂。細胞凋亡典型之特徵為細胞膜起泡，細胞質凝聚，以及內源性核酸內切酶活化。

對癌細胞之任一此等作用的確定指示ADC可用於治療癌症。

細胞存活力可例如藉由測定細胞中諸如中性紅、錐蟲藍、結晶紫或ALAMAR™藍之染料的吸收來量測(參見例如Page等人(1993) Intl. J. Oncology 3:473-6)。在此類分析中，細胞在含有染料之培養基中培育，洗滌細胞，且以分光光度法量測剩餘染料，反映細胞對染料之吸收。在某些實施例中，使用結晶紫分析評定所製備之ADC的活體外效力。結晶紫為一種積累在活細胞之細胞核中之三芳基甲烷染料。在此分析中，細胞暴露於ADC或對照試劑，歷時一段界定時間，接著，細胞用結晶紫染色，用水充分洗滌，接著用1% SDS溶解且以分光光度法讀取。蛋白質結合染料磺基若丹明B (SRB)亦可用於量測細胞毒性(Skehan等人(1990) J. Natl. Cancer Inst. 82:1107-12)。

細胞凋亡可例如藉由量測DNA斷裂來定量。可獲得用於活體外定量測定DNA斷裂之商業光度量測法。此類分析之實例包括TUNEL(其偵測片段化DNA中標記核苷酸之併入)及基於ELISA之分析，描述於 Biochemica (1999) 第 2 期，第 34-37 頁 (Roche Molecular Biochemicals)。

亦可藉由量測細胞中形態改變來測定細胞凋亡。舉例而言，如壞死情況一樣，可藉由量測某些染料(例如螢光染料，諸如吖啶橙或溴化乙錠)之吸收，測定質膜完整性之喪失。用於量測細胞凋亡細胞數目之方法已由Duke及Cohen, Current Protocols in Immunology (Coligan等人編, (1992) 第3.17.1-3.17.16頁)描述。細胞亦可用DNA染料(例如吖啶橙、溴化乙錠或碘化丙錠)標記且觀測細胞之染色質凝聚及沿著內核膜之邊移。可進行量測以確定細胞凋亡之其他形態改變包括例如細胞質凝聚、細胞膜起泡增加及細胞收縮。

亦可評估所揭示之ADC的旁觀殺死活性。可例如藉由採用兩種細胞株(一種對標靶抗原呈陽性，且一種對標靶抗原呈陰性)之分析，測定旁觀殺死活性。細胞株較佳經標記以對其進行區分。舉例而言，經Nuclight™綠(NLG)標記之IGROV1細胞(FRA+)及經Nuclight™紅(NLR)標記之HL-60 (FRA-)可共同培養，用抗FRA ADC處理，接著監測細胞毒性。當與標靶抗原陽性細胞混合時標靶抗原陰性細胞之殺死表明旁觀殺死，而在缺乏標靶抗原陽性細胞下標靶抗原陰性細胞之殺死表明脫靶殺死。

在一些態樣中，本發明特徵在於一種藉由破壞微管蛋白來殺死癌細胞或組織、抑制或調節其生長或干擾其代謝之方法。該方法可用於其中破壞微管蛋白提供治療益處之任何個體。可受益於破壞微管蛋白之個體包括(但不限於)患有以下疾病或處於患上以下疾病之風險的個體：胃癌、卵巢癌(例如漿液性卵巢癌)、肺癌(例如非小細胞肺癌)、乳癌(例如三陰性乳癌)、子宮內膜癌(例如漿液性子宮內膜癌)、骨肉瘤、卡波西氏肉瘤(Kaposi’s sarcoma)、睪丸生殖細胞癌、白血病、淋巴瘤(例如霍奇金氏病(Hodgkin’s disease)、非霍奇金氏淋巴瘤)、骨髓瘤、頭頸部癌、食管癌、胰臟癌、前列腺癌、腦癌(例如膠質母細胞瘤)、甲狀腺癌、結腸直腸癌及/或皮膚癌(例如黑素瘤)或其任何轉移(Dumontet及Jordan (2010) Nat. Rev. Drug Discov. 9:790-803)。在各種實施例中，所揭示之ADC可投與表現FRA之任何細胞或組織，諸如表現FRA之癌細胞或組織。一種示例性實施例包括一種抑制FRA介導之細胞信號傳導之方法或殺死細胞之方法。該方法可用於表現FRA之任何細胞或組織，諸如癌細胞或轉移病變。表現FRA之癌症之非限制性實例包括胃癌、漿液性卵巢癌、透明細胞卵巢癌、非小細胞肺癌、結

腸直腸癌、三陰性乳癌、子宮內膜癌、漿液性子宮內膜癌、肺類癌及骨肉瘤。表現FRA之細胞之非限制性實例包括IGROV1及OVCAR 3人類卵巢癌瘤細胞、NCI-H2110人類非小細胞肺癌細胞及包含編碼FRA之重組核酸或其部分的細胞。

在各種其他實施例中，所揭示之ADC可投與表現her 2之任何細胞或組織，諸如表現her 2之癌細胞或組織。一種示例性實施例包括一種抑制her 2介導之細胞信號傳導之方法或殺死細胞之方法。該方法可用於表現her 2之任何細胞或組織，諸如癌細胞或轉移病變。表現her 2之癌症之非限制性實例包括乳癌、胃癌、膀胱癌、尿路上皮細胞癌、食管癌、肺癌、子宮頸癌、子宮內膜癌及卵巢癌(English等人2013) Mol. Diagn. Ther. 17:85-99)。表現her 2之細胞的非限制性實例包括NCI-N87-luc人類胃癌細胞、ZR75及BT-474人類乳房導管癌細胞及包含編碼her2之重組核酸或其部分的細胞。

在各種實施例中，所揭示之ADC可投與表現間皮素(MSLN)之任何細胞或組織，諸如表現MSLN之癌細胞或組織。一種示例性實施例包括一種抑制MSLN介導之細胞信號傳導之方法或殺死細胞之方法。該方法可用於表現MSLN之任何細胞或組織，諸如癌細胞或轉移病變。表現MSLN之癌症之非限制性實例包括間皮瘤、胰臟癌(例如胰臟腺癌)、卵巢癌及肺癌(例如肺腺癌) (Wang等人(2012) PLoS ONE 7:e33214)。表現MSLN之細胞之非限制性實例包括OVCAR 3人類卵巢癌細胞、HEC-251人類子宮內膜樣細胞、H226人類肺鱗狀上皮細胞間皮瘤細胞及包含編碼MSLN之重組核酸或其部分的細胞。

示例性方法包括使細胞與有效量，亦即足夠殺死細胞之量的如本文中描述之ADC接觸的步驟。該方法可用於培養之細胞上，例如活體

外、活體內、離體或原位。舉例而言，表現FRA、her 2及/或MSLN之細胞(例如藉由腫瘤或轉移病變之生檢收集的細胞；來自建立之癌細胞株之細胞；或重組細胞)可在活體外在培養基中培養且可藉由添加ADC至培養基來實現接觸步驟。該方法將殺死表現FRA、her 2及/或MSLN之細胞，尤其包括表現FRA、her 2及/或MSLN之腫瘤細胞。或者，ADC可藉由任何適合投與途徑(例如靜脈內、皮下或直接接觸腫瘤組織)投與個體以在活體內具有作用。

所揭示之ADC治療組合物之活體內作用可在適合動物模型中評估。舉例而言，可使用異種癌症模型，其中癌症外植體或傳代異種移植組織引入免疫受損動物，諸如裸小鼠或SCID小鼠(Klein等人(1997) Nature Med. 3:402-8)。可使用量測腫瘤形成之抑制、腫瘤消退或轉移及其類似方面的分析預測功效。

亦可使用評估細胞凋亡之促進的活體內分析。在一個實施例中，可針對細胞凋亡病變檢查來自載有經治療組合物處理之腫瘤之小鼠的異種移植物，且與未經處理之載有異種移植物之對照小鼠進行比較。在經處理小鼠之腫瘤中發現細胞凋亡病變的程度指示組合物之治療效能。

本文中進一步提供治療癌症之方法。本文中揭示之ADC可投與非人類哺乳動物或人類個體以達成治療之目的。該治療方法需向具有腫瘤之哺乳動物投與生物學有效量之ADC，該ADC包含與結合於所表現之抗原(可結合或位於癌細胞表面上)之靶向抗體連接的所選化學治療劑(例如艾日布林)。一種示例性實施例為一種將化學治療劑遞送至表現FRA之細胞的方法，其包括將化學治療劑結合於免疫特異性結合於FRA抗原決定基之抗體且將細胞暴露於ADC。表現指示本發明之

ADC所針對的FRA的示例性腫瘤細胞包括來自胃癌、漿液性卵巢癌、非小細胞肺癌、結腸直腸癌、乳癌(例如三陰性乳癌)、肺類癌瘤、骨肉瘤、子宮內膜癌及具有漿液狀組織學之子宮內膜癌的細胞。

另一示例性實施例為一種將化學治療劑遞送至表現her 2之細胞的方法，其包括將化學治療劑結合於免疫特異性結合於her 2抗原決定基之抗體且將細胞暴露於ADC。表現指示本發明之ADC所針對的her 2的示例性腫瘤細胞包括來自乳癌、胃癌、膀胱癌、尿路上皮細胞癌、食管癌、肺癌、子宮頸癌、子宮內膜癌及卵巢癌之細胞。

另一示例性實施例為一種將化學治療劑遞送至表現MSLN之細胞的方法，其包括將化學治療劑結合於免疫特異性結合於MSLN抗原決定基之抗體且將細胞暴露於ADC。表現指示本發明之ADC所針對的MSLN的示例性腫瘤細胞包括來自間皮瘤、胰臟癌(例如胰臟腺癌)、卵巢癌及肺癌(例如肺腺癌)之細胞。

另一示例性實施例為一種治療患有表現ADC之抗體部分之標靶抗原(諸如FRA、her 2或MSLN)的癌症或處於患上該癌症之風險中之患者的方法，其包括向患者投與治療有效量之本發明之ADC。在一些實施例中，當抗FRA抗體單獨投與時，該患者對用其治療不起反應或反應不良，及/或當藥物部分(例如艾日布林)單獨投與時，該患者對用其治療不起反應或反應不良。在其他實施例中，當抗her 2抗體單獨投與時，該患者對用其治療不起反應或反應不良，及/或當藥物部分(例如艾日布林)單獨投與時，該患者對用其治療不起反應或反應不良。在其他實施例中，當抗MSLN抗體單獨投與時，該患者對用其治療不起反應或反應不良，及/或當藥物部分(例如艾日布林)單獨投與時，該患者對用其治療不起反應或反應不良。在其他實施例中，當藥物部分

(例如艾日布林)單獨投與時，該患者對用其治療不耐受。舉例而言，患者可能需要多劑艾日布林治療癌症，此引起全身性毒性，此毒性藉由靶向遞送至表現ADC之抗體部分之標靶抗原(諸如FRA、her 2或MSLN)的癌症克服，因此減少脫靶殺死。

另一示例性實施例為一種減少或抑制表現標靶抗原之腫瘤(例如表現FRA之腫瘤、表現her 2之腫瘤或表現MSLN之腫瘤)之生長的方法，其包括投與治療有效量之ADC。在一些實施例中，治療足夠減少或抑制患者腫瘤之生長，減少轉移病變之數目或尺寸，降低腫瘤負載，降低原發性腫瘤負載，降低侵襲性，延長存活時間，及/或維持或改善生活質量。在一些實施例中，當抗FRA抗體單獨投與時，腫瘤對用其治療具有抗性或無反應，及/或當藥物部分(例如艾日布林)單獨投與時，腫瘤對用其治療具有抗性或無反應。在其他實施例中，當抗her2抗體單獨投與時，腫瘤對用其治療具有抗性或無反應，及/或當藥物部分(例如艾日布林)單獨投與時，腫瘤對用其治療具有抗性或無反應。在一些實施例中，當抗MSLN抗體單獨投與時，腫瘤對用其治療具有抗性或無反應，及/或當藥物部分(例如艾日布林)單獨投與時，腫瘤對用其治療具有抗性或無反應。

此外，本發明之抗體可投與表現ADC能夠結合之抗原的達成獸醫學目的或作為人類疾病動物模型之非人類哺乳動物。關於後者，此類動物模型可用於評估所揭示之ADC之治療效能(例如測試投與劑量及時程)。

本文中進一步提供所揭示ADC之治療用途。一示例性實施例為ADC之用途，其用於治療表現標靶抗原之癌症(例如表現FRA之癌症、表現her 2之癌症或表現MSLN之癌症)。亦揭示用於治療表現標靶

抗原之癌症(例如表現FRA之癌症、表現her 2之癌症或表現MSLN之癌症)的ADC。用於鑑別患有表現FRA、her 2及/或MSLN之癌症之個體的方法為本領域中已知且可用於鑑別適合用所揭示之ADC治療的患者。

另一示例性實施例為ADC之用途，其用於製造供治療表現標靶抗原之癌症(例如表現FRA之癌症、表現her 2之癌症或表現MSLN之癌症)之藥劑的方法。

用於實施上述方法之治療組合物可調配成包含適於所需遞送方法之醫藥學上可接受之載劑的醫藥組合物。一示例性實施例為一種醫藥組合物，其包含本發明之ADC及醫藥學上可接受之載劑。適合載劑包括在與治療組合物組合時，保留治療組合物之抗腫瘤功能且一般不與患者之免疫系統反應的任何物質。醫藥學上可接受之載劑包括在生理學上相容的任何及所有溶劑、分散介質、包衣、抗菌劑及抗真菌劑、等張及吸收延遲劑及其類似物。醫藥學上可接受之載劑之實例包括水、鹽水、磷酸鹽緩衝鹽水、右旋糖、丙三醇、乙醇、甲磺酸鹽及其類似物中之一或多者，以及其組合。在許多情況下，組合物中較佳包括等張劑，例如糖、多元醇(諸如甘露糖醇、山梨糖醇或氯化鈉)。醫藥學上可接受之載劑可進一步包含少量輔助物質，諸如潤濕劑或乳化劑、防腐劑或緩衝劑，該等物質增強ADC之存放期或效力。

治療調配物可溶解且經由能夠將治療組合物遞送至腫瘤部位之任何途徑投與。潛在有效之投與途徑包括(但不限於)靜脈內、非經腸、腹膜內、肌肉內、腫瘤內、皮內、器官內、正位及其類似途徑。治療蛋白製劑可凍乾且呈無菌粉末，較佳在真空下儲存，接著在注射前在抑菌水(含有例如苯甲醇防腐劑)中或在無菌水中復原。治療調配物可

包含ADC或其醫藥學上可接受之鹽，例如甲磺酸鹽。

本文中揭示之ADC可以在約0.2 mg/kg至約10 mg/kg之劑量投與有需要之患者。在一些實施例中，ADC每天、每兩月或其間之任何時間段投與患者。使用上述方法治療癌症之劑量及投與方案將隨方法及目標癌症而變化，且將一般視本領域中瞭解之許多其他因素而定。

已知各種遞送系統且可用於投與一或多種本發明之ADC。投與ADC之方法包括(但不限於)非經腸投與(例如皮內、肌肉內、腹膜內、靜脈內及皮下)、硬膜外投與、腫瘤內投與及黏膜投與(例如鼻內及經口途徑)。另外，採用經肺投與，可例如藉由使用吸入器或噴霧器，及用霧化劑調配。參見例如以下中所述之經肺投與之組合物及方法：美國專利第6,019,968號、第5,985,320號、第5,985,309號、第5,934,272號、第5,874,064號、第5,855,913號、第5,290,540號及第4,880,078號；以及PCT公開案第WO 92/19244號、第WO 97/32572號、第WO 97/44013號、第WO 98/31346號及第WO 99/66903號。ADC可藉由任何適宜途徑，例如藉由輸注或快速注射，或藉由經上皮細胞或黏膜皮膚內層(例如口腔黏膜、直腸及腸黏膜等)投與。投與可為全身性或局部的。

本文中揭示之治療組合物可為無菌且在製造及儲存條件下穩定。在一些實施例中，一或多種ADC或醫藥組合物呈乾的殺菌凍乾粉末或無水濃縮物供應於密閉容器中，且可復原(例如用水或鹽水)成適當濃度以投與個體。較佳地，一或多種預防或治療劑或醫藥組合物呈乾的無菌凍乾粉末以至少5 mg、至少10 mg、至少15 mg、至少25 mg、至少35 mg、至少45 mg、至少50 mg、至少75 mg或至少100 mg或其間任何量供應於密閉容器。在一些實施例中，凍乾ADC或醫藥組合物儲存

在原始容器中2℃與8℃之間。在一些實施例中，本文中描述之一或多種ADC或醫藥組合物呈液體形式供應於密閉容器中，例如指示藥劑之數量及濃度的容器。在一些實施例中，所投組合物之液體形式以至少0.25 mg/mL、至少0.5 mg/mL、至少1 mg/mL、至少2.5 mg/mL、至少5 mg/mL、至少8 mg/mL、至少10 mg/mL、至少15 mg/mL、至少25 mg/mL、至少50 mg/mL、至少75 mg/mL或至少100 mg/mL ADC供應於密閉容器中。液體形式可儲存在原始容器中2℃與8℃之間。

在一些實施例中，所揭示之ADC可併入適於非經腸投與之醫藥組合物中。可注射溶液可由燧石或琥珀色小瓶、安瓿或預填充注射器或其他已知之遞送或儲存裝置中的液體或凍乾劑型構成。

本文中描述之組合物可呈多種形式。此等包括例如液體、半固體及固體劑型，諸如液體溶液(例如可注射及可輸注溶液)、分散液或懸浮液、錠劑、丸劑、粉劑、脂質體及栓劑。較佳形式視所欲投與模式及治療應用而定。

在各種實施例中，治療包括單次推注或經由可接受之給藥途徑重複投與ADC製劑。

可評估患者之給定樣品中標靶抗原之含量(例如表現標靶抗原之細胞之含量)以幫助確定最有效給藥方案等等。一示例性實施例為一種確定患者是否將對用本發明之ADC治療起反應的方法，其包括提供來自患者之生物樣品且使生物樣品與ADC接觸。示例性生物樣品包括組織或體液，諸如炎症滲出液、血液、血清、腸液、糞便樣品或腫瘤生檢(例如來源於患有表現標靶抗原之癌症(例如表現FRA之癌症、表現her 2之癌症或表現MSLN之癌症或處於其風險中之患者的腫瘤生檢)。在一些實施例中，樣品(例如組織及/或體液)可自個體獲得，且

適合免疫方法可用於偵測及/或量測標靶抗原(例如FRA、her 2或MSLN)之蛋白質表現。此類評估亦用於達成在整個療法中監測之目的，且可用於與其他參數之評估組合，估計治療之成功。

在一些實施例中，ADC之功效可藉由使來自個體之腫瘤樣品與ADC接觸且評估腫瘤生長速率或體積來評估。在一些實施例中，當已確定ADC有效時，其可投與個體。

以上治療方法可與多種其他手術、化學治療或放射治療方案中之任一者組合。

本文中亦揭示一或多種所揭示之ADC之用途，其用於製造供例如根據上述方法治療癌症之藥劑。在一些實施例中，本文中揭示之ADC用於例如根據上述方法治療癌症。

在各種實施例中，用於本文中描述之實驗室及治療應用的套組在本發明範疇內。此類套組可包含經劃分以容納一或多個容器(諸如小瓶、管及其類似物)之載體、包裝或容器，含有中之每一者包含用於本文中揭示之方法中的分開要素之一，以及包含使用指導(諸如本文中描述之用途)之標籤或插頁。套組可包含有包含藥物部分之容器。本發明亦提供一或多種ADC或其醫藥組合物，其包裝在密閉容器，諸如安瓿或藥囊中，指示藥劑之量。

套組可包含上述容器及一或多個與其相聯之其他容器，其包含自商業及使用者立場合乎需要之物質，包括緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針、注射器；列出使用內容及/或指導之載體、包裝、容器、小瓶及/或管標籤及關於使用指導之包裝說明書。

標籤可存在於容器或與容器一起存在以指示組合物用於特定療法或非治療應用，諸如預測、預防、診斷或實驗室應用。標籤亦可指示

關於活體內或活體外使用，諸如本文中描述之用途之指導。指導及或其他資訊亦可包括在插頁或標籤上，插頁或標籤與套組一起包括或包括在套組上。標籤可在容器上或與其相聯。當形成標籤之字母、數字或其他特性模製或蝕刻至容器自身時，標籤可在容器上。標籤可與亦容納容器之貯器或載體相聯，例如呈包裝說明書。標籤可指示組合物用於診斷或治療病狀，諸如本文中描述之癌症。

本領域技術人員容易顯而易見，本文中描述之本發明之方法的其他適合修改及更改為顯而易見的，且可使用適合同等物，在不偏離本發明之範疇或本文中揭示之實施例下進行。現詳細描述本發明，其將藉由提及以下實例，更清楚地瞭解，包括該等實例僅為達成說明之目的，且不意欲限制。

實例1

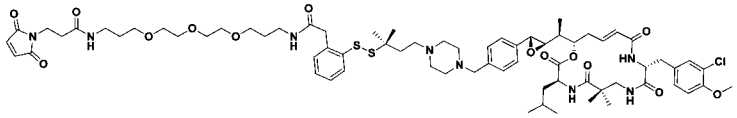
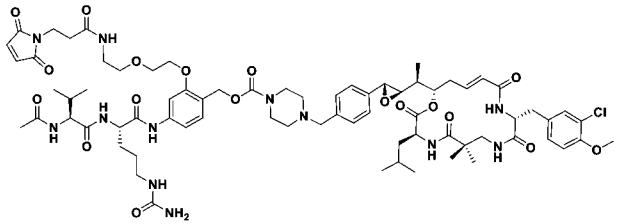
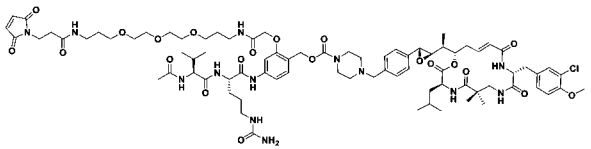
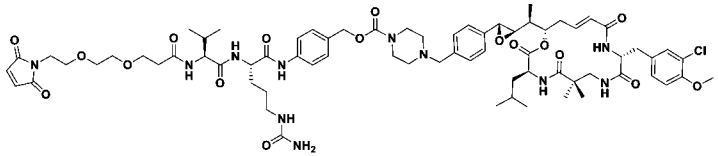
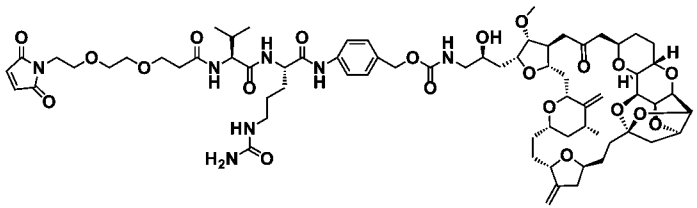
1. 材料與方法

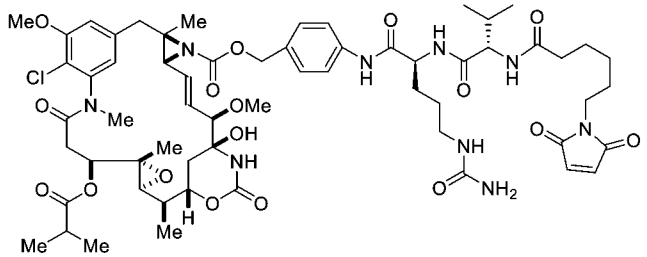
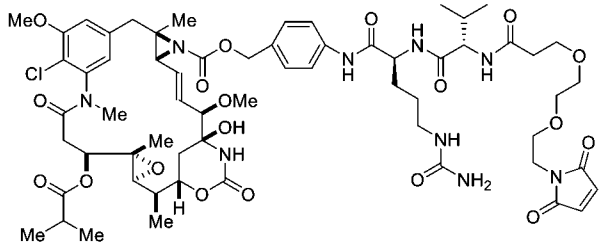
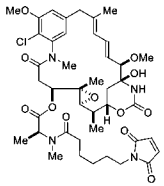
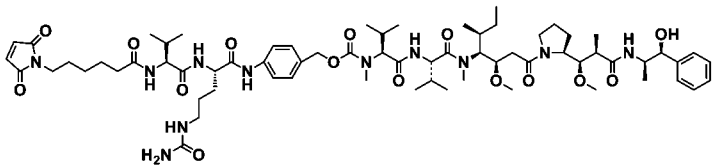
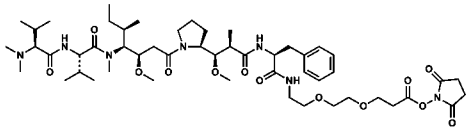
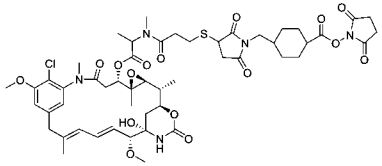
用於製備ADC之MORAb-003來自於貨號AA 0312。

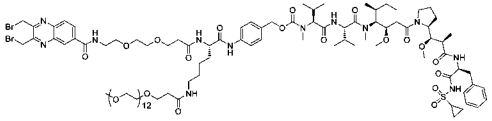
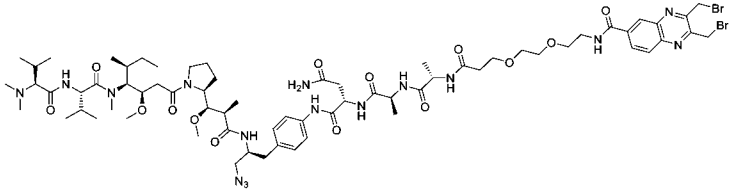
1.1 細胞毒素

可結合細胞毒素之結構展示於表11中。

表11. 可結合細胞毒素

化合物名稱	連接子	細胞毒素	可裂解性	結構
PEG3-Bz-二硫基-二甲基-念珠藻環肽	順丁烯二醯亞胺基-PEG3-苯甲基-二硫基-二甲基	念珠藻環肽	是	
LL2-念珠藻環肽	LL2	念珠藻環肽	是	
LL3-念珠藻環肽	LL3	念珠藻環肽	是	
VCP-念珠藻環肽	順丁烯二醯亞胺基-PEG2-Val-Cit-pAB	念珠藻環肽	是	
VCP-艾日布林 (ER-001159569)	順丁烯二醯亞胺基-PEG2-Val-Cit-pAB	艾日布林	是	

ER-001161318	順丁烯二醯亞胺基-$(CH_2)_5$-Val-Cit-pAB	ER-001150828 (氮丙啶基-美登素-P3)	是	
ER-001161319	順丁烯二醯亞胺基-PEG2-Val-Cit-pAB	ER-001150828 (氮丙啶基-美登素-P3)	是	
ER-001159200	順丁烯二醯亞胺基-$(CH_2)_5$	美登素DM1	否	
M-MMAE	順丁烯二醯亞胺基-$(CH_2)_5$-Val-Cit-pAB	單甲基奧瑞他汀E	是	
NHS-PEG2-AuF	NHS-PEG2	奧瑞他汀F	否	
M-DM1	SMCC	美登素DM1	否	

M-0285	PEG-pAB	多司他汀3	是	還原二硫化物橋接化學 
M-0115	Asn-Ala	多司他汀-5	是	
M-172	環己基	多司他汀3	否	還原二硫化物連接化學
M-174	環己基	多司他汀3	否	還原二硫化物連接化學
M-158	PEG-pAB	多司他汀10	是	還原二硫化物連接化學
M-0384	PEG-硫醚	多司他汀14	否	還原二硫化物連接化學
M-0302	PEG-Asn	多司他汀14	否	還原二硫化物連接化學
M-292	PEG-Asn	多司他汀14	是	還原二硫化物連接化學
M-0026	PEG	多司他汀14	是	還原二硫化物連接化學
M-0267	PEG-硫醚	多黴素7	否	還原二硫化物連接化學
M-0272	Asn-Ala	多黴素7	是	還原二硫化物連接化學
M-0260	PEG-pAB	多黴素7	是	還原二硫化物連接化學
M-0276	Asn-Ala	多黴素7	是	還原二硫化物連接化學
M-015-0913	環己基	多司他汀3	否	限制性離胺酸利用

M-030-0132	PEG-pAB	多司他汀6	是	限制性離胺酸利用
M-0161	環己基	多司他汀10	否	限制性離胺酸利用
M-0157	PEG-pAB	多司他汀10	是	限制性離胺酸利用
M-027-0381	硫醚	多司他汀14	否	限制性離胺酸利用
M-0025	PEG	多司他汀14	否	限制性離胺酸利用
M-0301	PEG-Asn	多司他汀14	否	限制性離胺酸利用
M-030-0011	PEG-pAB	多司他汀14	是	限制性離胺酸利用
M-030-0291	PEG-Asn	多司他汀14	是	限制性離胺酸利用
M-0114	PEG-pAB	多司他汀-5	是	還原二硫化物橋接化學

縮寫：Ala，丙胺酸；Asn，天冬醯胺；Cit，瓜胺酸；NHS，N-羥基丁二醯亞胺；pAB，對胺基苯甲氧基羰基；PEG，聚乙二醇；SMCC，4-(N-順丁烯二醯亞胺基)環己烷-1-甲酸丁二醯亞胺基酯；Val，纈胺酸；VCP，Val-Cit-pAB。

1.2 抗體-藥物結合

1.2.1 使用TCEP部分還原

MORAb-003之部分還原條件藉由改變非硫醇還原劑叁(2-羧乙基)膦(TCEP)之濃度、抗體濃度及還原時間來建立。MORAb-003經緩衝液交換成含有1 mM乙二胺四乙酸(EDTA)之杜爾貝科磷酸緩衝鹽水(Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline，DPBS)，接著使用離心濃縮，利用10 kD分子量截止值(MWCO)離心過濾器濃縮成10 mg/mL。將抗體稀釋至適當濃度且添加指示最終濃度之TCEP，且在室溫下輕緩混合1小時。藉由根據製造商之方案，使用5或10 mL Zeba™旋轉脫鹽管柱，以DPBS/1mM EDTA作為緩衝劑(Thermo Fisher，40 kD MWCO)進行脫鹽，來移除TCEP。使用硫醇螢光定量套組(Abcam)，根據製造商之方案，分析樣品之游離硫醇含量。如部分1.3.3中所述，進行非還原條件下SDS-PAGE分析，以測定二硫鍵破壞之程度及位置。在一些情況下，脫鹽MAb藉由在DPBS中稀釋而達至1-2 mg/mL且經受生物素化，以測定可結合性及藥物比抗體(DAR)比率。將含10 mM順丁烯二醯亞胺基-PEG2-生物素(Thermo Fisher)之二甲亞碸(DMSO)以10:1之莫耳比添加至抗體(mAb)且在輕緩攪拌下在室溫下培育4小時。在結合後，藉由使用Zeba™旋轉脫鹽管柱(Thermo Fisher)脫鹽，來移除未反應化合物。接著藉由LC-MS分析樣品以確定DAR，如部分1.3.4中所詳述。

1.2.2 細胞毒素結合

部分還原之抗體在0.5X DPBS、0.5 mM EDTA中達至2.5 mg/mL，且充分混合。接著添加有機共溶劑(若使用)且充分混合。所檢查之共溶劑為丙二醇(20%及50%最終濃度)、二甲亞碸(DMSO)

(10%)、*N,N*-二甲基甲醯胺(20%)、*N,N*-二甲基乙醯胺(20%)及*N,N*-二甲基丙醯胺(20%)。將經順丁烯二醯亞胺基修飾之細胞毒素(DMSO中6 mM儲備液)以1:6 (mAb:化合物)之莫耳比添加至抗體且充分混合。在輕緩混合下結合在室溫下進行3.5小時。選擇50%下50%丙二醇作為最終有機改質劑且用於所有隨後結合反應。

1.2.3 純化

使用26/10 HiTrap®脫鹽柱(GE Healthcare)純化結合抗體，其中層析在快速蛋白質液相層析(FPLC) (GE Healthcare)上進行，以移除未反應之順丁烯二醯亞胺基-細胞毒素及丙二醇。MORAb-003 ADC，包括MORAb-003-mal-VCP-艾日布林(MORAb-202)，在DPBS(在FPLC層析期間調配緩衝液用作操作緩衝液)中調配。

1.3 生物物理學表徵

1.3.1 BCA分析

將所製備之二喹啉甲酸(BCA)試劑(200 μL)添加至25 μL連續稀釋之ADC或牛γ球蛋白(Thermo Fisher) 2 mg/mL標準品，且充分混合樣品。將樣品在37℃下培育20 min。在SpectraMax® M5盤式讀數器(Molecular Devices)上在595 nm下讀取盤。使用SoftMax® Pro (ver 3.2)，利用4參數擬合模型分析數據。

1.3.2 SEC-HPLC分析

藉由尺寸排阻高效液相層析(SEC-HPLC)，使用Agilent 1100分析抗體聚集。mAb在DPBS中稀釋至1 mg/mL。將抗體(20 μL)注射至TSKgel® SuperSW保護管柱(4.6 mm×3.5 cm，4 μm孔徑，Tosoh Bioscience)，接著TSKgel® SuperSW3000管柱(4.6 mm×30 cm，4 μm孔徑)，用含有0.15 M NaCl及0.05% NaN_3之0.1 M磷酸鈉(pH 7.4)，以

0.3 mL/min之流速自管柱溶離20min。使用Agilent ChemStation軟體分析所有數據。聚集%計算為[$PA_{聚集}$/$PA_{全部}$]×100，其中PA = 積分峰面積。

1.3.3 SDS-PAGE分析

用十二烷基硫酸鋰(LDS)樣品緩衝液使蛋白質樣品(0.1-10 μg)達至1X。對於未還原樣品，在室溫下培育10 min，接著進行電泳。對於還原樣品，添加二硫蘇糖醇(DTT)達至20 mM之最終濃度且樣品加熱至95℃，歷時10 min，且置於冰上，接著進行電泳。將樣品負載至10孔、12孔或15孔Bis-Tris SDS-PAGE凝膠(Thermo Fisher)上，以1X MOPS或1X MES作為操作緩衝液。在185V(恆定電壓)下進行電泳1小時。凝膠用InstantBlue染色溶液(Expedeon)染色且在水中脫色。在UltraLum凝膠成像系統上使用600 nm橙色濾鏡進行成像。

1.3.4 藥物抗體比率(DAR)之UPLC/ESI-MS分析

使用PNGase F (New England BioLabs)將ADC去糖基化。將G7緩衝液(10 μL)及PNGase F (2 μL)添加至mAb (90 μL，1 mg/mL於DPBS中)。反應在Discover微波(CEM)中培育2個週期：(1)微波功率10 W，37℃，10 min；接著暫停5 min；(2)微波功率2 W，37℃，10 min。藉由添加DTT達至20 mM之最終濃度，還原一部分樣品，接著在60℃下培育3 min。接著使用Waters Acquity超高效液相層析(UPLC)及四極飛行時間(Q-Tof) Premier質譜儀分析樣品。在65℃下將樣品(各0.5-2 μg)注射至MassPrep™ 微型脫鹽管柱上，以0.05 mL/min，自管柱溶離，其中5 min在95%移動相A中平衡，10 min梯度(5-90% B)，及10 min在95%移動相A中再平衡。移動相A為含0.1%甲酸之水。移動相B為含0.1%甲酸之乙腈。Q-Tof質譜儀呈正離子電壓模式操作，偵測在500-

4000 m/z範圍內。源參數如下：毛細管電壓，2.25 kV (完整抗體)-2.50 kV (還原抗體)；取樣錐電壓，65.0 V (完整抗體)或50.0 V (還原抗體)；源溫，100℃；脫溶劑溫度，250℃；脫溶劑氣體流速，550 L/小時。使用MassLynx® MaxEnt 1函數將蛋白質峰反褶積。使用下式，將各未結合、單結合及多結合之重鏈及輕鏈質量之相對強度組合以計算整個DAR：

$2[[I_{LC+1} + 2(I_{LC+2}) + 3(I_{LC+3}) + \ldots n(I_{LC+n})]/\Sigma I_{LC}總] + 2[[I_{HC+1} + 2(I_{HC+2}) + 3(I_{HC+3}) + \ldots n(I_{HC+n})]/\Sigma I_{HC}總]$

其中I_{LC+1}為與一種細胞毒素結合之輕鏈的質量強度，I_{LC+2}為與兩種細胞毒素結合之輕鏈的質量強度等等。I_{HC}為來自對應結合重鏈之強度，且ΣI_{LC}總及ΣI_{HC}總分別為所有未結合及結合輕鏈及重鏈之組合強度。

1.3.5 HIC-HPLC DAR分析

除藉由UPLC電噴射離子化(ESI)-MS分析進行DAR分析之外，亦使用疏水相互作用HPLC (HIC-HPLC)分析MORAb-003-vcp-艾日布林DAR及MORAb-003-0285 DAR。將樣品注射至TSKgel® Ether-5PW (7.5mm ID×7.5cm 10 μM孔徑)上，且以0.7 mL/min自管柱溶離，其中3 min在100%移動相A中平衡，15 min梯度(0-100% B)，5 min保持在100% B中，1 min變成100% A，及5 min在100%移動相A中再平衡。移動相A為25 mM磷酸鈉、1.5 M硫酸銨pH 7.0。移動相B為25 mM磷酸鈉、25%異丙醇，pH 7.0。偵測在280 nm (參考320 nm)下進行。藉由下式確定DAR：

$[AUC_{+1} + 2(AUC_{+2}) + 3(AUC_{+3}) + \ldots n(AUC_{+n})]/\Sigma AUC_{總}]$

其中AUC_{+1}為對應於與一種細胞毒素結合之ADC之mAb峰的曲線

下面積，AUC_{+2}為對應於與兩種細胞毒素結合之ADC之mAb峰的曲線下面積等等。$\Sigma AUC_{總}$為所有峰值之組合曲線下面積。

1.4 細胞毒性分析

1.4.1 結晶紫分析

將IGROV1 (FR^{hi})及SJSA-1(FR^{neg})細胞在96孔組織培養盤中在完全生長培養基中以10,000細胞/孔次培養及接種，在37℃、5% CO_2下培育隔夜(16小時)。通常，測試試劑以1:4在2 mL深孔稀釋盤中連續稀釋，起始於1 μM (共稀釋10次)。將100 μL稀釋樣品添加至細胞盤(測試樣品之起始濃度為500 nM)。盤在37℃、5% CO_2下再培育48小時。將培養基丟棄，用200 μL DPBS洗滌盤一次，在室溫下用50 μL 0.2%結晶紫溶液染色15 min，接著用自來水大量洗滌。將盤進行空氣乾燥，且用200 μL 1% SDS溶液溶解結晶紫。在570 nm下讀取盤。使用GraphPad Prism 6分析數據。使用每孔1,000個細胞之接種密度進行分析且化合物共暴露5天。當需要較短時間暴露時，在4小時後移除含有細胞毒性劑之培養基且在5天培育前替換為新鮮生長培養基。對於OVCAR3、CaOV3及NCI-H2110，細胞以3,000個細胞/孔接種且與ADC一起培育5天。對於競爭實驗，將滴定ADC與2 μM (最終)未結合MORAb-003一起預先培育，接著與細胞一起培育。

1.4.2 旁觀殺死分析

在開始研究前一天，將Nuclight™ 綠(NLG) IGROV1細胞以5,000個細胞/孔接種至96孔圓底盤中，接著在室溫下在1,000 rpm下離心3 min，以確保形成細胞團塊。將盤置於Incucyte Zoom® (EssenBio science)之容器中且在37℃/5% CO_2下培育隔夜。設定程序以每兩小時收集細胞生長之影像，且測定核染綠及核染紅之細胞的總數以及細胞

之相匯合。在實驗當天，MORAb-003 ADC或游離藥物在完全RPMI培養基中稀釋且連續稀釋，起始於400 nM。將50 μL細胞毒素溶液添加至NLG-IGROV1細胞且培育30 min。在培育期期間，將Nuclight™ Red (NLR) HL-60 (FR^{neg})細胞用新鮮培養基稀釋至2×10^5、1×10^5或5×10^4個細胞/mL。將50 μL單獨NLR-HL60細胞懸浮液或培養基添加至NLG-IGROV1孔，接著在室溫下在1,000 rpm下離心3 min，以確保再次形成細胞團塊。將盤置回Incucyte Zoom (EssenBio science)之容器中且在37℃/5% CO_2下培育多達5天。藉由與未添加ADC或添加單獨游離藥物之樣品相比，使用綠細胞計數，確定NLG-IGROV1之相對細胞生長。除確定紅細胞計數外，HL 60之相對細胞生長類似進行。使用Prism (GraphPad)確定NLG-IGROV1與NLR-HL-60之IC_{50}值。

1.4.3 血清穩定性分析

將20 μL MORAb-003 ADC與80 μL DPBS、正常彙集人類血清(Bioreclamation，貨號BRH552911)或正常彙集小鼠血清(Bioreclamation，貨號MSE152591)充分混合，且在37℃下培育0、4、24及48小時。在培育後，將樣品冰凍並儲存在-20℃下，直至在細胞毒性及結合分析中進行評估。對於細胞毒性分析，對IGROV1及SJSA-1細胞評估樣品，如部分1.4.1中所詳述。對於結合評定，使用基於溶液之MSD ECL分析評估樣品。將樣品與生物素化之葉酸受體α及磺基-標籤抗MORAb-003一起培育，接著在抗生蛋白鏈菌素盤上捕捉，且使用電化學發光，利用MSD Sector成像器2400偵測。

2. 結果

2.1 製備MORAb-003 ADC

為選擇與MORAb-003結合之連接子與細胞毒素之最佳組合，使

用三種方法製備ADC。根據圖1中展示之結合策略，經由用有限莫耳當量之非硫醇還原劑TCEP部分還原，產生未配對半胱胺酸。此策略優先還原連接輕鏈與重鏈(每一H-L配對之一對)及鉸鏈區中之兩個重鏈(在人類IgG1情況下每一H-H配對之兩對)的鏈間二硫鍵，而使鏈內二硫鍵完整。

用於製備MORAb-003 ADC之第二結合策略利用還原二硫化物橋接化學。還原二硫化物橋接化學將在部分還原過程期間釋放之半胱胺酸殘基之游離硫醇再次橋接，模擬二硫鍵之作用，因此維持ADC之穩定性及功能。

用於製備MORAb-003 ADC之第三個結合策略採用限制性離胺酸利用。限制性離胺酸利用導致非常有限數目之估計70+之暴露溶劑的可用離胺酸結合在典型人類IgG分子上，且可得到相對於涉及半胱胺酸修飾之策略，具有較低均質性之ADC產物之混合物。

2.1.1 製備VCP-艾日布林用於MORAb-003 ADC

使艾日布林(**1**) (10 mg，14 μmol) (圖2)溶解於*N,N*-二甲基甲醯胺(DMF) (1 mL)中，且充分混合。添加*N,N*-二異丙基乙胺(許尼希鹼(Hunig's Base)或iPr_2NEt) (3.6 μL，21 μmol)及Fmoc-Val-Cit-對胺基苯甲基-對硝基苯酚(Fmoc-VCP-PNP) (**2**) (16 mg，21 μmol，Concortis Biosystems，目錄號VC1003)。將反應混合物在室溫下攪拌4-16小時，使用茚三酮測試套組(Anaspec，目錄號25241)監測，直至反應完成。接著將二乙胺(Et_2NH) (0.014 mL，0.14 mmol)添加至反應混合物，在18-25℃下攪拌2小時，以移除Fmoc保護基。使用茚三酮測試套組監測反應。完成後，溶劑真空蒸發，得到粗VCP-艾日布林(**3**) (16 mg)，使用ZOBAX SB-C18管柱(5 μm，孔徑9.4×150 mm)，在Waters

Alliance e2695 HPLC系統上，在含有0.1%甲酸之H_2O-CH_3CN之移動相中，經由15-70% B之梯度純化。使VCP-艾日布林(**3**) (16 mg)溶解於DMF (1 mL)中。添加許尼希鹼(7.2 μL，41 μmol)及順丁烯二醯亞胺基-PEG_2-NHS (**4**) (9.7 mg，27 μmol)。在18-25℃下攪拌反應混合物3小時。藉由HPLC (H_2O-CH_3CN，含有0.1%甲酸)，經由15-70% B之梯度，純化反應混合物。藉由凍乾來移除溶劑，得到mal-Val-Cit-對胺基苯甲氧基羰基(pAB)-艾日布林(VCP-艾日布林) (**5**)。

2.1.2 還原條件最佳化

藉由經由用有限莫耳當量之非硫醇還原劑叁(2-羧乙基)膦(TCEP)部分還原，產生未配對半胱胺酸，來製備MORAb-003 ADC。對MORAb-003進行初始研究，其中改變抗體濃度、TCEP濃度及培育時間，目標為每一抗體分子產生平均4個可結合位點。使用螢光測定硫醇定量分析，測定游離硫醇位點數目。此分析之結果展示於表12中。亦藉由SDS-PAGE分析在培育10 min、30 min、60 min或120 min後H-H及H-L鍵斷裂之程度(圖3)。對於此分析，將未還原及還原樣品負載在SDS-PAGE凝膠上，且在185 V下進行電泳1小時。在圖3中，泳道M對應於蛋白質標準品。泳道1對應於未經處理之未還原MORAb-003。泳道2對應於在70.6 μM TCEP中還原之MORAb-003 (5.3 mg/mL)。泳道3對應於在141.2 μM TCEP中還原之MORAb-003 (5.3 mg/mL)。泳道4對應於在20 μM TCEP中還原之MORAb-003 (1.5 mg/mL)，泳道5對應於在40 μM TCEP中還原之MORAb-003 (1.5 mg/mL)。各亮帶之身分指示在右下凝膠上。「H」指示重鏈，而「L」指示輕鏈。

表12. MORAb-003之還原條件之最佳化

		10 min		30 min		60 min		120 min	
MORAb-003濃度 μM (mg/ml)	TCEP 濃度 μM	游離硫醇 μM	每一MAb還原之二硫鍵	游離硫醇 μM	每一MAb還原之二硫鍵	游離硫醇 μM	每一MAb還原之二硫鍵	游離硫醇 μM	每一MAb還原之二硫鍵
35.3 (5.3)	70.6	215	3.0	247.5	3.5	297.6	4.2	266.8	3.8
35.3 (5.3)	141.2	339	4.8	372.8	5.3	384.2	5.4	479.8	6.8
10 (1.5)	20	13.3	0.7	14.7	0.7	15.2	0.8	14.6	0.7
10 (1.5)	40	21.8	1.1	25.6	1.3	26.9	1.3	27.4	1.4

SDS-PAGE及硫醇含量之分析表明，5.3 mg/mL mAb在TCEP比mAb之4倍莫耳比率下培育60 min提供合理起始點，因為分子內二硫化物之有限還原似乎存在(如藉由游離硫醇含量確定)，且幾乎未剩下未還原之mAb (未還原之mAb充當使用製備之ADC之活體外及活體內研究中的競爭性抑制物)。利用MORAb-003，在5.0 mg/mL起始濃度下，進行進一步研究，以使用SDS-PAGE分析證實TCEP比mAb之此最佳化莫耳比(圖4)。圖4中，泳道1對應於蛋白質標準品。泳道2對應於未經處理之未還原MORAb-003。泳道3對應於在1:1之MORAb-003:TCEP比率下處理之MORAb-003。泳道4對應於在1:2之MORAb-003:TCEP比率下處理之MORAb-003。泳道5對應於在1:3之MORAb-003:TCEP比率下處理之MORAb-003。泳道6對應於在1:4之MORAb-003:TCEP比率下處理之MORAb-003。在還原及移除TCEP之後，亦使用順丁烯二醯亞胺基-PEG2-生物素進行結合，以模擬用於ADC製備之細胞毒素之結合。使用LC-MS進行DAR分析。此等研究之結果提供於表13中。

表13. MORAb-003之還原條件之最佳化-利用順丁烯二醯亞胺基-PEG2-生物素之結合水準

TCEP		MORAb-003		
TCEP:mAb	TCEP (μM)	LC	HC	DAR
1	33.3	0.29	0.34	1.26
2	66.7	0.48	0.83	2.62
3	100	0.63	1.21	3.68
4	133.2	0.73	1.70	4.86

LC，輕鏈生物素水準；HC，重鏈生物素水準；DAR，每一mAb之生物素[DAR = 2(LC) + 2(HC)]

在生物素結合後，游離硫醇分析表明無游離硫醇存在於MORAb-003-生物素中。此表明在還原二硫鍵後，通常在所產生之兩個硫醇處發生結合，且任何未結合之經還原之二硫化物進行再氧化，從而重新形成二硫鍵。選擇用於還原以產生ADC之最終條件為5.0 mg/mL之抗體濃度、110 μM之TCEP濃度及60 min之培育時間。在結合後此得到DAR為4之mAb。

2.1.3 ADC結合最佳化

因為用於製備ADC之第一個細胞毒素為念珠藻環肽(一種疏水性化合物)，所以用在特定位置具有兩個可用於結合之未配對半胱胺酸(每一輕鏈一個)之「替代」抗人類間皮素抗體進行初始結合最佳化實驗。此大大地促進質譜分析對結合效率之分析，因為僅僅需要分析輕鏈。在順丁烯二醯亞胺基-LL3-念珠藻環肽結合於替代抗體期間進行丙二醇之滴定，接著藉由LC-MS分析輕鏈之結合效率(表14)。

表14. 結合反應中丙二醇濃度之最佳化

丙二醇(%)	結合之Ab LC (%)
0	8 %
20	48 %
50	100 %

LC質量：未結合，23536 Da；結合，24367 Da。

50%丙二醇引起可利用位點全部佔據，且選用作最終濃度進行使用。在結合後未觀測到mAb結合之損失(數據未示)，表明丙二醇對抗體無有害作用。因此，所選最終結合反應條件為2.5 mg/mL mAb最終、 0.5X DPBS(添加丙二醇後最終濃度)中順丁烯二醯亞胺基-連接子-細胞毒素:mAb之6:1莫耳比、0.5 mM EDTA、50%丙二醇pH 7.2，在室溫下3.5-4小時。在此等反應中，在添加順丁烯二醯亞胺基-連接子-細胞毒素前添加丙二醇。

2.1.4 製備ADC及生物物理學表徵

部分2.1.2中描述之所建立還原及結合條件用於製備表15中所列之前10個MORAb-003 ADC。除M-MMAE及M-DM1外，藉由還原二硫化物橋接或限制性離胺酸利用，製備剩餘ADC。藉由Concortis Biosystems, Inc.製備M-MMAE及M-DM1，且呈結合形式接收。

還原二硫化物橋接化學將在部分還原過程期間產生之游離硫醇橋接，使每一還原二硫化物得到一種細胞毒素。理論上，DAR = 4之抗體將H-L與鉸鏈二硫化物再橋接，提供穩定性及均質性均超過傳統結合方法之ADC。限制性離胺酸利用導致非常有限數目之估計70+之暴露溶劑的可用離胺酸結合在典型人類IgG分子上。使用此方法製備之MORAb-003結合物得到2.0之DAR，表明每一H-L對利用單個離胺酸。

藉由HiPrep 26/10脫鹽層析純化所有ADC且調配至DPBS中。藉由

LC-MS，在所有制備之ADC上進行DAR分析，且藉由SEC-HPLC測定聚集水準。此等DAR及聚集分析之結果列於表15中，緊鄰各別ADC。

表15. MORAb-003 ADC之生物物理學分析

	化合物名稱	DAR	聚集(%)
1	PEG3-Bz-二硫基-二甲基-念珠藻環肽	3.7 - 3.9	29
2	LL2-念珠藻環肽	3.2	18 - 36
3	LL3-念珠藻環肽	3.2 - 3.7	22 - 36
4	VCP-念珠藻環肽	3.4	50
5	VCP-艾日布林	3.6	0 - 2.6
6	ER-001161318	3.5	3.2
7	ER-001161319	3.5	3.1
8	ER-001159200	2.8	
9	M-MMAE	4.0	2
10	NHS-PEG2-AuF	5.0	
11	M-DM1	3.6	1.8
12	M-0285	4.0	1.2
13	M-0115	4.0	0.4
14	M-172	3.1	3.6
15	M-174	2.8	4.4
16	M-158	4.5	3.8
17	M-0384	4.2	4.2
18	M-0302	4.3	3.3
19	M-292	4.0	4.5
20	M-0026	4.2	3.3
21	M-0267	4.0	2.9
22	M-0272	3.3	1.5
23	M-0260	3.2	1
24	M-0276	4.6	6.2
25	M-015-0913	2.0	<1

26	M-030-0132	2.0	<1
27	M-0161	2.1	2.4
28	M-0157	2.0	<1
29	M-027-0381	2.0	<1
30	M-0025	2.0	1.7
31	M-0301	2.0	1.4
32	M-030-0011	2.0	<1
33	M-030-0291	2.0	<1
34	M-0255	3.6	5.9
35	M-0114	4.0	3.9

所有ADC之DAR值均在預先確定之範圍內(3與4之間的DAR)。基於念珠藻環肽之ADC的聚集水準顯著高於所需(>10%)，而基於艾日布林(VCP艾日布林)及基於美登素之順丁烯二醯亞胺基-連接子-細胞毒素(ER-001161318、ER-001161319及M-MMAE)均證明可接受之聚集水準。使用VCP-念珠藻環肽，對與MORAb-003之結合反應，進行其他有機共溶劑之研究。所測試之共溶劑為DMSO (10%)、*N,N*-二甲基甲醯胺(20%)、*N,N*-二甲基乙醯胺(20%)及*N,N*-二甲基丙醯胺(20%)。使用此等共溶劑進行結合後的聚集水準均等於或高於50%丙二醇。

對ADC子集進行非還原SDS-PAGE分析(圖5)。因為確定所有此等ADC之DAR為4，所以認為此等ADC作為約160 kD之完整IgG遷移，因為H-L與兩個鉸鏈之二硫化物均應再橋接。此ADC子集包括M-MMAE (泳道2)、M-DM1 (泳道3)、M-0026 (泳道4)、M-0260 (泳道5)、M-0267 (泳道6)、M-0272 (泳道7)、M-0285 (泳道8)、M-292 (泳道9)、M-027-0381 (泳道10)及M-0384 (泳道11) (圖5)。圖5中，泳道1對應於蛋白質標準品。

由此分析清楚，對於還原二硫化物橋接化學ADC(泳道4-9、

11)，除完整ADC之外，存在顯著H-L單價物質(80 kD)。此表明除鏈間鉸鏈橋接之外，亦存在顯著鏈內鉸鏈二硫化物橋接。SEC-HPLC分析表明ADC作為單一完整IgG遷移，表明對於具有鏈內H-H橋接之彼等ADC，在最終ADC中重鏈非共價締合。

2.2 MORAb-003 ADC之活體外效力分析

2.2.1 對IGROV1及SJSA-1細胞之細胞毒性

如部分1.4.1中所詳述，使用結晶紫分析評定所製備之ADC的活體外效力。

在IGROV1 ($FR^{hi(+++)}$)及SJSA-1 ($FR^{neg(-)}$)細胞上，對所有MORAb-003 ADC進行初始篩選。IGROV1細胞來源於人類卵巢上皮癌，且表現高水準之葉酸受體α (FR)-MORAb-003之標靶抗原。SJSA-1細胞為對葉酸受體α呈陰性之人類骨肉瘤腫瘤細胞株。亦在CaOV3 (人類卵巢癌，$FR^{med(++)}$)、NCI-H2110 (人類非小細胞肺癌，$FR^{med(++)}$)及/或OVCAR3 (人類卵巢癌，$FR^{med(++)}$)細胞中進行所選ADC之篩選。此篩選之結果提供於表16中。

表16. 在各種腫瘤細胞株上MORAb-003 ADC之細胞毒性(IC_{50})篩選

化合物名稱	IGROV1	SJSA-1	CaOV3	NCI-H2110	OVCAR3
PEG3-Bz-二硫基-二甲基-念珠藻環肽	0.067	0.41			
LL2-念珠藻環肽	0.023	4.7	0.33		
LL3-念珠藻環肽	0.086	12.7	0.19		0.094
VCP-念珠藻環肽	0.03	~100	0.02		
VCP-艾日布林	0.054	>100	3.7	0.73	0.16
ER-001161318	0.26	>100	3.1		

ER-001161319	0.49	>100	11.3		
ER-001159200	6.5	>100	9.2		
M-MMAE	0.2	253			
NHS-PEG2-AuF	0.2	>500			
M-DM1	55	132			
M-0285	0.3	>100		14	8.8
M-0115	0.54	>100			
M-172	>500	>500			
M-174	>500	>500			
M-158	>500	>500			
M-0384	2.25	2.45			
M-0302	330	>500			
M-292	1.7	>500			
M-0026	1.38	540			
M-0267	0.029	0.028			
M-0272	0.252	1.02			
M-0260	0.383	0.036			
M-0276	0.43	30			
M-015-0913	>500	>500			
M-030-0132	>500	17.3			
M-0161	>500	>500			
M-0157	>500	>500			
M-027-0381	14.5	28			
M-0025	>500	>500			
M-0301	>500	>500			
M-030-0011	61.6	>500			
M-030-0291	>500	105			
M-0255	0.12	0.46			
M-0114	144	>100			

所有值均為IC_{50}，以nM為單位，且為進行之重複實驗之平均值。

VCP-艾日布林ADC對IGROV1細胞有效(54 pM)且對SJSA-1細胞很少殺死。對於此等細胞株，相對於具有同等DAR值之ADC，諸如M-MMAE及M-DM 1，VCP-艾日布林ADC證明高效力及特異性。VCP-艾日布林ADC亦證明對卵巢(CaOV3及OVCAR3)及非小細胞肺癌(NC-H2110)來源之其他表現FR之腫瘤細胞株具有有效細胞毒性。

ADC VCP-艾日布林、LL2-念珠藻環肽、LL3-念珠藻環肽、VCP-念珠藻環肽、ER-001161318、ER-001161319及ER-001159200在CaOV3 ($FR^{med(++)}$)細胞中呈現特異性細胞毒性(> 2-logs特異性)。許多此等ADC呈現低於奈米莫耳之效力。念珠藻環肽結合物亦證明在IGROV1細胞中高效力水準(23 pM-86 pM)，但除VCP-念珠藻環肽之外，亦證明對SJSA-1細胞之可量測細胞毒性。可裂解美登素結合物ER-001161318及ER-001161319對IGROV1 (0.26 nM及0.49 nM)具有中等效力且對SJSA-1細胞之脫靶殺死很少。

所有限制性離胺酸利用結合物未證明特異性且不作進一步評估。使用多司他汀-3 (M-0285)、多司他汀-5 (M-0115)及多司他汀-14 (M-292及M-0026)之還原二硫化物橋接技術之可裂解結合物均證明對IGROV1細胞株之特異性細胞毒性，對SJSA-1細胞株之細胞毒性很小。多司他汀-3及多司他汀-5結合物(奧瑞他汀衍生物)之效力比多司他汀-14結合物(美登素衍生物)略高。效力及特異性與使用Val-Cit-pAB (VCP)連接子附接於單甲基E之M-MMAE結合物可比。不可裂解之還原二硫化物化學結合物均缺乏足夠效力或特異性，且不作進一步分析。

2.2.2 對表現人類葉酸受體之卵巢癌細胞株CaOV3之細胞毒性

亦在人類卵巢腫瘤細胞株OVCAR3及CaOV3上，以及人類NSCLC

細胞株NCI-H2110上測定所選MORAb-003 ADC之效力(表16)。在人類卵巢細胞株CaOV3上，念珠藻環肽結合物證明比VCP-艾日布林結合物可量測高之效力，不像在IGROV1細胞中所觀測到。此可歸因於與IGROV1相比較，CaOV3細胞上葉酸受體α之表現水準較低，或與艾日布林相比，念珠藻環肽在此等細胞上之效力較高。基於美登素之結合物ER-001161318、ER-001161319及ER-001159200之效力均類似於或低於VCP-艾日布林。

2.3 VCP-艾日布林、ER-001161318及M-0285之旁觀殺死

為評定旁觀殺死活性，使用兩種標記細胞株建立分析。在此分析中，經Nuclight™綠標記之IGROV1細胞(FR^{hi})及經Nuclight™紅標記之HL-60 (FR^{neg})以不同細胞數目比率共同培養，且用MORAb-003 ADC VCP-艾日布林、ER-001161318或M-0285之滴定液處理。VCP-艾日布林為包含順丁烯二醯亞胺基-PEG_2-Val-Cit-pAB可裂解連接子之基於艾日布林之ADC，而ER-001161318為包含順丁烯二醯亞胺基-$(CH_2)_5$-Val-Cit-pAB可裂解連接子之基於美登素之ADC，且M-0285為包含PEG-pAB可裂解連接子之基於多司他汀之ADC。藉由Incucyte Zoom®細胞成像器監測細胞毒性。此旁觀者細胞毒性分析之結果展示於表17及圖6A-6C中。

表17. VCP-艾日布林對FR陽性與FR陰性細胞株之共同培養物的旁觀殺死活性

EC_{50} (nM)			
IGROV-1	HL-60	HL-60 (與IGROV-1共同培養)	HL-60 (艾日布林)
0.0005972	39.74	0.2399	0.1702

當HL-60 (FR^{neg})細胞與IGROV1 (FR^{hi})細胞以2:1比率培養時，用MORAb003-VCP-艾日布林處理引起與單獨HL-60細胞相比殺死增加2-log (表17及圖6A)。此等資料表明當與FR標靶陽性細胞共同培養時，MORAb003-VCP-艾日布林更有效地殺死葉酸受體α (FR)標靶陰性細胞，本文中稱為旁觀殺死。將旁觀殺死與脫靶殺死相區分，脫靶殺死定義為在缺乏與標靶陽性細胞共同培養下且不依賴於與標靶陽性細胞共同培養，標靶陰性細胞獨立殺死。所觀測到之旁觀殺死增加亦與在用游離艾日布林處理HL-60細胞後觀測到之增加幾乎一致，表明旁觀作用之潛在機制。不希望受任何理論束縛，在FR陽性IGROV1細胞中或接近FR陽性IGROV1細胞中，MORAb003-VCP-艾日布林可裂解，該等細胞亦經歷細胞凋亡且釋放游離艾日布林至培養物中。所釋放之細胞毒素可殺死FR陰性HL-60細胞。

相比之下，對MORAb003-ER-001161318僅觀測到輕微移動(圖6B)，且對於MORAb003-0285未觀測到移動(圖6C)。相對於單獨HL-60細胞，對於MORAb003-ER-001161318，當HL-60:IGROV1比率自2:1降至1:2時，觀測到HL-60細胞之可量測殺死，而對於MORAb003-0285，旁觀作用仍然低，雖然可偵測。此等資料表明，就旁觀殺死而言，所評估之MORAb-003 ADC可排列為VCP-艾日布林 > ER-001161318 > M-0285。

2.4 血清穩定性分析

假定ADC在活體內具有長循環半衰期且在細胞毒素釋放在循環中之情況下可能具有毒性，ADC應顯示在血清中穩定。MORAb-003 ADC VCP-艾日布林、ER-001161319及M-0285在人類或小鼠血清中在37℃下預先培育多達48小時，接著在細胞毒性分析中使用IGROV1及

SJSA-1細胞評估。ER-001161319為包含與VCP-艾日布林相同之連接子(順丁烯二醯亞胺基-PEG$_2$-Val-Cit-pAB)之基於美登素之ADC。包括PBS及血清對照以校正血清對分析效能之任何作用。此研究之結果展示於表18中。

表18. 所選MORAb-003 ADC之血清穩定性

		基於細胞之細胞毒性分析，EC_{50}，nM								
		MORAb003-VCP艾日布林			MORAb003-ER001161319			MORAb003-0285		
	時間	PBS	人類血清	小鼠血清	PBS	人類血清	小鼠血清	PBS	人類血清	小鼠血清
IGROV1	0小時-PBS	0.021	0.013	0.02	0.28	0.15	0.2	0.074	0.089	ND
	0小時-血清	0.022	0.014	0.01	0.15	0.15	0.2	0.063	0.078	0.049
	4小時	0.03	0.018	0.019	0.14	0.17	0.25	0.065	0.075	0.049
	24小時	0.024	0.019	ND	ND	0.27	0.9	0.059	0.074	0.044
	48小時	0.022	0.021	0.03	0.21	0.73	2.56	0.043	0.05	0.051
SJSA-1	0小時-PBS	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
	0小時-血清	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
	4小時	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
	24小時	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
	48小時	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10

陰影方框指示效力自T=0樣品顯著降低

雖然VCP-艾日布林及M-0285在任一血清中至少穩定48小時，但ER-001161319顯示在48小時後效力顯著下降。此可歸因於氮丙啶基-胺基甲酸酯與美登素之連接，先前此在文獻中未曾描述。所釋放之化

合物之形式可能效力不高，因為在SJSA-1細胞上未看見細胞毒性增加。

2.5 利用MORAb003-VCP-艾日布林之活體外研究

2.5.1 DAR及產物非均質性之HIC-HPLC分析

藉由HIC-HPLC分析MORAb003-VCP-艾日布林及MORAb003-0285以藉由另一方法評估DAR且檢查產物非均質性及未結合抗體(競爭者)之含量。展示MORAb003-VCP-艾日布林具有0、2、4及6之DAR物質，此與用於還原及結合之方法一致(圖7A)。觀測到極低量之DAR = 0物質。基於AUC計算，整體DAR為3.80，符合LC-MS測定之值。MORAb003-0285呈HIC-HPLC之單峰遷移，表明單個DAR物質(圖7B)。此分配為DAR 4.0。

2.5.2 藉由競爭分析之特異性

使用競爭分析格式，針對VCP-艾日布林結合物，證明MORAb-003-VCP-艾日布林細胞毒性之抗原特異性(圖8)。在此實驗中，MORAb-003-VCP-艾日布林之滴定液(起始濃度100 nM)與2 μM未結合之MORAb-003共同培育。未結合之MORAb-003在IGROV1細胞上效力變化2-log，類似於在KB細胞上在IMGN853 (來自Immunogen之抗人類葉酸受體α-美坦生ADC，現在處於II期臨床試驗中)下獲得之結果(Moore等人, 2015 American Society of Clinical Oncology (ASCO) Annual Meeting, Abstract 5518)。

2.5.3 對NCI-H2110 NSCLC細胞之細胞毒性

使用結晶紫分析，進行MORAb003-VCP-艾日布林及MORAb003-0285對人類NSCLC細胞株NCI-H2110之細胞毒性。此分析之結果展示於表16中。MORAb003-VCP-艾日布林具有0.73 nM之IC_{50}，而

MORAb003-0285具有14 nM之IC_{50}。

2.6 活體內研究

2.6.1 CD-1小鼠品系中MORAb-003-VCP-艾日布林(MORAb-202)之最大耐受劑量(MTD)

根據表19中之時程，將未處理CD-1小鼠靜脈內注射200 μL MORAb-202。在給藥當天給藥前、給藥後24小時及其後一週三次量測體重。在整個研究持續時間期間觀測動物之臨床健康。給藥兩週後，量測終點體重且記錄。在研究結束時處理處死之小鼠(以及在研究期間有任何小鼠處死或發現死亡的情況下)進行屍體解剖。檢查器官之組織損傷徵象。

表19. 研究設計

組	小鼠數目	處理	劑量(mg/kg)	方案	途徑
1	3	媒劑*	0	單次推注	i.v.
2		MORAb-202	10		
3			20		
4			40		
5			80		

與PBS處理之對照組相比，在任何處理組中未觀測到顯著體重損失，或在處理期間未觀測到指示毒性之任何臨床發現。個別小鼠之體重展示於表20中，且組平均數及SEM展示於表21中。各組之體重改變動力學(組平均數及SEM)展示於圖9中。MORAb-202在多達80 mg/kg之劑量下經由快速靜脈內投與未產生毒性。因此，MTD超過80 mg/kg。

表20

Rx後天數	PBS對照			MORAb-202 10mg/kg			MORAb-202 20mg/kg			MORAb-202 40mg/kg			MORAb-202 80mg/kg		
X	A:Y1	A:Y2	A:Y3	B:Y1	B:Y2	B:Y3	C:Y1	C:Y2	C:Y3	D:Y1	D:Y2	D:Y3	E:Y1	E:Y2	E:Y3
0	22.60	23.60	21.20	22.60	23.50	21.80	27.40	26.20	21.00	23.80	23.20	21.70	21.80	26.50	26.50
1	23.60	21.50	22.00	22.80	23.50	23.00	28.80	27.50	21.40	23.60	23.80	21.60	23.10	27.80	27.50
2	23.00	21.50	22.80	23.80	24.00	22.50	29.80	29.00	22.10	23.60	24.60	21.80	23.20	28.80	28.80
4	23.80	21.90	22.00	23.80	23.90	23.80	30.20	31.00	23.00	24.40	24.10	22.70	23.50	29.50	28.60
7	23.90	23.10	22.70	24.80	25.20	24.90	29.60	32.00	24.00	25.10	25.50	23.40	23.80	30.40	30.10
9	24.60	22.60	22.90	24.90	26.00	26.00	30.80	31.70	23.40	26.00	26.20	23.70	23.60	31.00	30.20
11	24.20	23.40	23.20	24.80	25.10	24.80	31.00	32.40	23.50	25.30	25.00	23.50	23.10	29.10	29.40
14	24.00	23.50	24.40	25.80	25.60	25.70	33.20	32.40	24.10	25.70	25.30	26.30	21.70	28.40	28.90

表21

注射後天數	PBS			MORAb-202 10 mg/kg			MORAb-202 20mg/kg			MORAb-202 40mg/kg			MORAb-202 80mg/kg		
	平均值(g)	sem	n	平均值(g)	sem	n	平均值(g)	sem	n	平均值	平均值(g)	n	平均值	平均值(g)	n
0	21.4	0.6	3	22.6	0.5	3	24.9	2.0	3	22.9	0.6	3	24.7	1.5	3
1	22.4	0.6	3	23.2	0.3	3	25.9	2.3	3	22.9	0.7	3	26.2	1.6	3
2	22.4	0.5	3	23.4	0.3	3	26.8	2.4	3	23.3	0.8	3	26.6	1.7	3
4	22.4	0.5	3	23.5	0.2	3	28.1	2.5	3	23.7	0.5	3	27.2	1.9	3
7	23.2	0.4	3	25.0	0.1	3	28.5	2.4	3	24.7	0.6	3	27.9	2.3	3
9	23.3	0.7	3	25.1	0.1	3	28.6	2.6	3	24.9	0.6	3	28.3	2.3	3
11	23.6	0.3	3	24.6	0.3	3	29.1	2.7	3	24.7	0.5	3	27.2	2.1	3
14	24.0	0.3	3	25.7	0.1	3	29.9	2.9	3	25.8	0.3	3	26.3	2.3	3

2.6.2 CD-1小鼠中艾日布林之最大耐受劑量

根據表22中之時程，將未處理CD-1小鼠靜脈內注射200 μL艾日布林。包括在各給藥當天給藥前及各給藥後24小時，一週三次量測體重。在整個研究持續時間期間觀測動物之臨床健康(最後一次給藥後兩週)。量測終點體重且記錄。在研究結束時處理處死之小鼠(以及在研究期間有任何小鼠處死或發現死亡的情況下)進行屍體解剖。檢查器官之組織損傷徵象。

表22. 研究設計

組	小鼠數目	處理	劑量(mg/kg)	方案	途徑
1	3	PBS	0	q4d×3	i.v.
2		艾日布林	0.4		
3			0.8		
4			1.6		
5			3.2		

在使用q4d×3給藥方案(每四日一次，共3劑)，投與多達1.6 mg/kg劑量之艾日布林的動物中未觀測到體重顯著損失或指示毒性之臨床發現。根據相同程序，投與3.2 mg/kg在第二劑後誘發所有三隻小鼠中豎毛。與PBS處理之對照相比，觀測到嚴重重量損失(第二劑後一隻小鼠中23%損失，#552；第三劑後其餘中17%及8%，#551及#552)。在屍體解剖期間未觀測到小鼠器官之宏觀改變。個別小鼠之體重展示於表23中，且組平均數及SEM展示於表24中。各組之體重改變動力學(組平均數及SEM)展示於圖10中。

使用q4d×3給藥方案，多達1.6 mg/kg劑量之艾日布林未產生毒性，而3.2 mg/kg誘發嚴重重量損失。因此，此研究中艾日布林之MTD為1.6 mg/kg，q4d×3。

表23

天數	PBS			艾日布林0.4mg/kg			艾日布林0.8mg/kg			艾日布林1.6mg/kg			艾日布林3.2mg/kg		
X	A:Y1	A:Y2	A:Y3	B:Y1	B:Y2	B:Y3	C:Y1	C:Y2	C:Y3	D:Y1	D:Y2	D:Y3	E:Y1	E:Y2	E:Y3
0	25.50	24.40	23.40	22.40	24.60	22.10	23.90	25.50	25.10	21.90	24.40	23.70	24.30	25.20	22.00
1	22.10	25.11	24.35	21.54	24.02	22.40	23.03	23.50	24.48	21.13	24.10	24.15	22.31	23.47	22.57
4	25.60	25.10	24.40	22.70	24.00	24.00	23.60	24.40	24.50	21.70	24.10	23.00	21.90	22.20	17.50
5	25.40	24.90	24.50	22.30	24.10	22.40	24.10	24.00	24.60	21.50	24.50	24.10	21.90	22.70	18.90
8	27.40	24.70	24.60	23.00	23.70	24.00	24.00	24.80	25.90	21.90	24.40	24.00	21.80	23.90	[illegible]
9	27.50	25.60	24.40	22.90	23.40	25.40	24.00	24.70	25.30	21.00	24.60	24.00	21.00	23.00	
11	27.50	25.60	24.40	22.60	23.90	25.60	24.70	25.10	25.00	22.20	25.70	24.70	21.00	23.30	
13	27.40	25.60	25.40	23.70	23.90	25.50	25.00	25.60	25.60	22.90	25.90	25.20	21.40	23.70	
16	27.20	25.60	25.20	24.70	24.10	25.70	25.40	25.60	25.40	23.40	25.70	25.10	23.60	24.30	
18	27.00	27.40	27.30	24.90	24.90	27.90	25.20	25.00	27.90	24.70	27.90	25.20	25.90	25.90	
20	25.10	27.60	25.50	25.10	25.70	25.50	25.40	25.20	25.10	25.40	25.00	25.00	25.30	25.00	

各列表示個別動物。

*9003；重量損失>20%，處死

表24

注射後天數	PBS			艾日布林 0.4mg/kg			艾日布林 0.8mg/kg			艾日布林 1.6mg/kg			艾日布林 3.2mg/kg		
	平均值 (g)	sem	n	平均值 (g)	sem	n	平均值 (g)	sem	n	平均值	平均值 (g)	n	平均值	平均值 (g)	n
0	24.8	0.9	3	23.4	0.6	3	24.8	0.5	3	23.3	0.7	3	23.8	0.9	3
1	25.9	1.2	3	22.8	0.7	3	23.7	0.4	3	23.1	1.0	3	22.1	0.8	3
4	25.0	0.3	3	23.6	0.4	3	24.2	0.2	3	23.0	0.7	3	20.2	1.4	3
5	25.2	0.6	3	23.3	0.5	3	24.3	0.3	3	23.4	0.9	3	20.2	1.7	3
8	25.9	0.9	3	24.1	0.6	3	24.9	0.6	3	23.5	0.8	3	22.9	0.9	2
9	25.8	0.9	3	23.9	0.8	3	24.7	0.4	3	23.6	0.9	3	21.6	1.1	2
11	25.8	0.9	3	24.0	0.9	3	25.3	0.4	3	24.2	1.0	3	21.7	1.3	2
13	26.5	0.6	3	24.7	0.9	3	25.8	0.4	3	24.6	0.9	3	22.6	0.9	2
16	26.8	0.3	3	25.2	0.8	3	25.9	0.3	3	25.4	1.0	3	24.0	0.3	2
18	27.2	0.1	3	25.7	1.1	3	27.4	0.6	3	26.3	0.9	3	25.9	0.0	2
20	27.4	0.5	3	26.8	0.9	3	27.2	0.9	3	26.8	1.1	3	26.4	0.3	2

2.6.3 CB17-SCID 小鼠中 hNSCLC NCI-H2110 模型中 MORAb003-VCP-艾日布林(MORAb-202)之最低有效劑量的評估

將人類NSCLC NCI-H2110細胞第47繼代皮下植入30隻CB17 SCID小鼠(雌性，5至6週齡，重20公克)。移植14天後，小鼠隨機化至五個組。在處理當天(第0天)各組中之平均腫瘤體積在154-175 mm^3之間的範圍內(表27)。根據研究設計，招募小鼠用MORAb003-VCP-艾日布林(MORAb-202) (貨號NB2900-87E 10/07/15)以1、2.5或5 mg/kg處理，或用MORAb-003-0285 (貨號042-150-002)作為對照以5 mg/kg處理，或用PBS處理(表25)。當組中任何動物之腫瘤體積>2000 mm^3時，自該研究移除各組。最後一組在第61天終止。

表25. 研究設計

組	小鼠數目	處理	劑量 (mg/kg)	方案	途徑
1	5	PBS	0	單次推注	i.v.
2	5	MORAb-003-VCP-艾日布林	1		
3	5	MORAb-003-VCP-艾日布林	2.5		
4	4[1]	MORAb-003-VCP-艾日布林	5		
5	5	MORAb003-0285	5		

個別小鼠中之腫瘤體積展示於表26中，且組平均數及SEM展示於表27中。各組之腫瘤生長動力學(組平均數及平均值之標準誤差，SEM)展示於圖11中，且個別小鼠中之腫瘤體積以及組平均數及SEM展示於圖12中。基於第17天腫瘤體積(當觀測到第一腫瘤體積>2000 mm^3時)，MORAb-202在1 mg/kg下引起腫瘤生長抑制(TGI) 47% (對比鹽水，p = 0.002)，在2.5 mg/kg下TGI 96% (對比鹽水，p<0.0001)。然

[1] 此組中四隻小鼠。一隻小鼠由於處理注射誤差而自此組排除，藉由基於電化學發光免疫分析(ECLIA)數據，動物血清中缺少化合物證實。

而，在處理結束後一至兩週，消退之腫瘤重新生長。在用5 mg/kg MORAb-202處理之小鼠中未偵測到腫瘤。在單個劑量處理後超過60天，此等小鼠保持無腫瘤。MORAb-003-0285在5 mg/kg下引起TGI 89.7% (對比鹽水，$p<0.0001$)。

個別小鼠之體重展示於表28中，且組平均數及SEM展示於表29中。各組之體重改變動力學(組平均數及SEM)展示於圖13中。

與對照相比，在任一處理組中，未觀測到顯著體重損失。

MORAb-202對NCI-H2110腫瘤生長展示顯著影響。藉由在2.5 mg/kg下推注處理，實現腫瘤消退，TGI為94% (對比PBS)。因此，MORAb-202之最低有效劑量為2.5 mg/kg，在此模型中測試。藉由5 mg/kg之單個劑量實現腫瘤完全根除。超過60天，未觀測到腫瘤生長。

表26. 腫瘤體積

隨機化後天數	PBS					MORAb-202 1mg/kg					MORAb-202 2.5 mg/kg					MORab-202 5mg/kg					003-0285 5mg/kg				
0	164	195	137	300	80	178	218	133	118	150	187	189	92	120	236	110	202	159	146	65	208	241	243	97
3	368	413	279	587	171	178	207	104	106	216	144	97	65	69	148	40	115	68	68	83	259	358	292	164
5	327	481	285	555	190	161	193	83	95	215	75	51	37	35	56	14	52	22	37	54	160	168	239	105
6	467	758	541	894	275	257	258	139	160	348	61	52	58	33	57	7	28	25	20	43	197	235	247	129
7	642	815	621	1055	395	317	306	182	167	476	64	54	53	36	57	8	48	16	20	52	192	255	266	128
10	891	1238	895	1328	662	506	494	230	285	708	24	37	35	15	71	0	0	0	0	39	155	240	181	86
12	993	1274	983	1519	1115	638	655	371	361	865	40	21	51	9	69	0	0	0	0	32	106	206	223	83
14	981	1410	1131	1695	971	848	812	402	418	901	41	30	37	0	89	0	0	0	0	31	115	235	157	79
17	1320	1723	1319	2089	1466	955	980	727	592	946	46	33	64	0	161	0	0	0	0	28	114	346	251	74
19						838	1030	856	602	953	56	37	90	0	282	0	0	0	0	27	144	438	359	94
24											102	37	197	0	702	0	0	0	0	46	391	1244	824	187
26											168	102	319	0	790	0	0	0	0	103	564	1470	1030	287
28											269	54	474	9	990	0	0	0	0	125	703	1898	1112	375
31											362	105	558	13	1187	0	0	0	0	225	1144	2427	1413	657
33											496	124	588	9	1461	0	0	0	0					
35											573	212	669	16	1847	0	0	0	0					
38											764	348	952	20	2367	0	0	0	0					
40																0	0	0	0					
42																0	0	0	0					
45																0	0	0	0					
47																0	0	0	0					
52																0	0	0	0					
54																0	0	0	0					
59																0	0	0	0					
61																0	0	0	0					

各列代表個別動物。

表27

隨機化後天數	PBS			MORAb-202 1mg/kg			MORAb-202 2.5mg/kg			MORAb-202 5mg/kg			MORAb-003-0285 5mg/kg		
	平均值	SEM	N	平均值	SEM	N	平均值	SEM	N	平均值	SEM	N	平均值	SEM	N
0	175.2	36.41527	5	159.4	17.68781	5	164.8	25.8917	5	154.25	16.95792	4	170.8	37.46065	5
3	363.6	69.3831	5	162.2	24.14101	5	104.6	17.7581	5	72.75	13.88661	4	231.2	48.4055	5
5	367.6	66.21275	5	149.4	26.13343	5	50.8	7.242607	5	31.25	7.500133	4	145.2	31.14683	5
6	587	108.7468	5	232.4	37.74183	5	52.2	5.005179	5	20	4.140008	4	170.2	37.81015	5
7	705.6	109.7441	5	289.6	55.74694	5	52.8	4.611415	5	23	7.76666	4	178.6	40.08123	5
10	1002.8	122.532	5	444.6	85.61518	5	36.4	9.499597	5	0	0	4	140.2	35.30937	5
12	1176.8	100.25	5	578	95.18355	5	38	10.62087	5	0	0	4	130	36.5513	5
14	1237.6	138.8994	5	676.2	109.4307	5	39.4	14.30871	5	0	0	4	123.4	34.69758	5
17	1583.4	146.0629	5	840	76.78507	5	60.8	27.09899	5	0	0	4	162.6	58.96373	5
19				855.8	72.16584	5	93	49.35207	5	0	0	4	212.4	79.06236	5
24							207.6	127.8177	5	0	0	4	538.4	219.5123	5
26							275.8	138.3498	5	0	0	4	690.8	249.2466	5
28							359.2	177.874	5	0	0	4	842.6	310.8641	5
31							445	208.4929	5	0	0	4	1173.2	373.2365	5
33							535.6	255.2269	5	0	0	4			
35							663.4	318.1881	5	0	0	4			
38							890.2	402.5237	5	0	0	4			
40										0	0	4			
42										0	0	4			
45										0	0	4			
47										0	0	4			
52										0	0	4			
54										0	0	4			
59										0	0	4			
61										0	0	4			

表28

隨機化後天數	PBS					MORAb-202 1mg/kg					MORAb-202 2.5 mg/kg					MORab-202 5mg/kg					MORAb-003-0285 5mg/kg				
0	19.1	18.2	18.4	18.9	18.8	19.1	18.6	19.3	20.6	18.4	17.8	18.1	18	19.8	16.3		17.6	18.7	16.1	19.7	20.5	17.4	18	17.4	18.8
3	19.6	18.2	18.9	18.9	19.3	19.3	18.4	20.2	20.9	18.6	18.4	19.1	18.6	19.9	16.4		17.5	18.8	15.9	19.9	20.8	17	18.1	16.3	18.5
6	19.7	18.4	18.4	19.1	19.1	19	18.3	20.3	21.3	19	18.5	19.4	18.7	20	16.4		17.5	19.3	16.3	19.6	20.8	17.7	18.2	16.8	18.7
7	19.7	18	18.9	18.8	18.9	18.9	18	20	21.2	18.9	18.7	18.7	18.7	19.7	16.5		17.4	19.4	16.5	19.2	20.6	17.7	18.5	16.8	19
10	19.7	18	19.2	18.5	19.1	18.4	18	20.1	20.9	19	19.3	19.7	18.8	19.8	16.6		17.6	19.4	16.7	20	20.5	18.2	18.6	17.5	20.3
12	19.8	17.7	19.1	18.4	19	18.3	17.8	20.5	20.9	19.5	18.9	20	19.7	20.2	17.2		17.9	19.6	16.9	20.2	20.4	18.3	18.8	18.1	20.4
14	18.8	17.4	18.4	18.2	17.5	17.9	17.7	20.3	21.2	19.9	18.8	19.6	19	19.3	17		17.5	19.3	17	19.2	20	18.2	18.9	18.4	19.7
17	18.8	17.2	18.3	17.5	17.2	17.4	17.7	20.4	20.7	19.2	18.8	19.8	19.7	19.2	17.3		17.9	20	17.3	19.7	19.8	17.9	18.9	18.6	19.5
19						16.7	17.2	19.9	20.7	18.9	18.3	19.8	18.7	19.5	16.8		18.1	20	17.1	20.2	19.7	18	19.3	18.4	19.6
24											18.8	20.2	19.2	19.9	16.9		18.5	20.7	17.5	20.2	20.1	18.5	20	19.1	18.9
26											18.9	19.6	18.9	19.5	16.5		18.3	20.7	17.6	19.7	20.6	18.4	19.9	18.6	19.1
28											18.8	19.6	19.5	19.6	16.6		18.6	21.3	17.6	20.1	20.8	18.5	19.9	18.8	19.5
31											18.9	20.1	19.6	20.7	17		18.6	20.4	17.9	20.9	20.7	18.2	20.9	19.6	19.5
33											18.9	19.8	19.4	21.2	17.6		18.8	19.6	18.2	21.3					
35											19.2	19.7	19.5	20.7	17.4		18.7	20.2	18.1	19.6					
38											19.6	20	19.7	20.6	18		18.8	20.4	19	17.2					
40																	19.4	20.4	18.7	19.3					
42																	19.9	20.4	18.8	20.6					
45																	19.8	21	18.3	21.7					
47																	19.7	20.7	18.3	21.1					
52																	20.2	21.1	18.5	21.9					
54																	20.3	21.4	18.6	22.6					
59																	20	21.6	18.8	21.7					
61																	20.5	22.1	19.2	21.3					

表29

	PBS			MORAb-202 1mg/kg			MORAb-202 2.5mg/kg			MORAb-202 5mg/kg			MORAb-003- 多司他汀 5mg/kg		
隨機化後天數	平均值	SEM	N	平均值	SEM	N	平均值	SEM	N	平均值	SEM	N	平均值	SEM	N
0	18.68	0.165239	5	19.2	0.385328	5	18	0.554902	5	18.025	0.689078	4	18.42	0.578982	5
3	18.98	0.234959	5	19.48	0.47393	5	18.48	0.579842	5	18.025	0.769253	4	18.14	0.76975	5
6	18.94	0.245739	5	19.58	0.537015	5	18.6	0.609665	5	18.175	0.694839	4	18.44	0.667108	5
7	18.86	0.268971	5	19.4	0.549488	5	18.46	0.525953	5	18.125	0.628577	4	18.52	0.638721	5
10	18.9	0.29444	5	19.28	0.537015	5	18.84	0.585996	5	18.425	0.68618	4	19.02	0.590063	5
12	18.8	0.352933	5	19.4	0.600608	5	19.2	0.545849	5	18.65	0.678513	4	19.2	0.502108	5
14	18.06	0.267112	5	19.4	0.685817	5	18.74	0.454832	5	18.25	0.523801	4	19.04	0.352368	5
17	17.8	0.320373	5	19.08	0.673649	5	18.96	0.451533	5	18.725	0.592675	4	18.94	0.33497	5
19				18.68	0.764423	5	18.62	0.527655	5	18.85	0.670634	4	19	0.338521	5
24							19	0.579498	5	19.225	0.663539	4	19.32	0.313137	5
26							18.68	0.563279	5	19.075	0.621135	4	19.32	0.41086	5
28							18.82	0.573795	5	19.4	0.728103	4	19.5	0.407939	5
31							19.26	0.636533	5	19.45	0.638148	4	19.78	0.484329	5
33							19.38	0.585826	5	19.475	0.60047	4			
35							19.3	0.536644	5	19.15	0.416401	4			
38							19.58	0.430983	5	18.85	0.584918	4			
40										19.45	0.314619	4			
42										19.925	0.359691	4			
45										20.2	0.665164	4			
47										19.96	0.549137	4			
52										20.425	0.651414	4			
54										20.725	0.758819	4			
59										20.525	0.620064	4			
61										20.775	0.552051	4			

2.6.4 CB17-SCID小鼠中hNSCLC NCI-H2110模型中艾日布林之最低有效劑量的評估

將人類NSCLC H2110細胞第46繼代皮下植入30隻CB17 SCID小鼠(雌性，5至6週齡，重20公克)。移植11天後，小鼠隨機化至五個組。排除五隻腫瘤體積最偏離平均數之動物。在處理當天(第0天)各組中之平均腫瘤體積在87.6-89.4 mm^3之間的範圍內(表32)。根據研究設計，招募之小鼠用0.05、0.2、0.8或1.6 mg/kg艾日布林(貨號N1201193)或PBS處理(表30)。當在組內第一次觀測到腫瘤體積>2000 mm^3時，分別終止各組。在第38天(最後一次給藥後30天)終止研究。

表30. 研究設計

組	小鼠數目	處理	劑量(mg/kg)	方案	途徑
1	5	PBS	0	q4dx3	i.v.
2		艾日布林	0.05		
3			0.2		
4	4*		0.8		
5	5		1.6		

個別小鼠中之腫瘤體積展示於表31中，且組平均數及SEM展示於表32中。各組之腫瘤生長動力學(組平均數及SEM)展示於圖14中，且第24天(當在PBS處理小鼠中觀測到腫瘤體積>2000 mm^3時)個別小鼠中之腫瘤體積以及組平均數及SEM展示於圖15中。0.05 mg/kg下艾日布林引起TGI 50.5% (未觀測到腫瘤消退) (對比鹽水，p = 0.0026)；0.2、0.8或1.6 mg/kg下TGI約99% (當與鹽水相比時。所有三組，p值 < 0.0001)。誘發腫瘤消退之最低有效劑量為0.2 mg/kg。然而，此等小鼠中多數消退腫瘤(0.2 mg/kg組中3/5，0.8 mg/kg組中4/5，及1.6 mg/kg組中2/5)在整個研究持續時間期間(最後一次給藥後30天)重新生

長或保持可量測。

個別小鼠之體重展示於表33中，且組平均數及SEM展示於表34中。各組之體重改變動力學(組平均數及SEM)展示於圖16中。

與鹽水處理之對照組相比，在任一處理組中，未觀測到顯著體重損失。在處理期間未觀測到指示毒性之臨床發現。

Q4d×3i.v.投與之0.2 mg/kg及更高劑量之艾日布林展示顯著影響H2110腫瘤生長。實現腫瘤消退。當投與較低劑量(0.05mg/kg)時，未實現腫瘤消退。因此，此研究中測試之最低有效劑量為0.2 mg/kg。

表31

第一次給藥後之天數	媒劑					艾日布林 0.05mg/kg					艾日布林0.2mg/kg					艾日布林 0.8mg/kg					艾日布林1.6mg/kg				
0	59	91	118	88	91	105	101	94	61	77	103	68	78	130	62	111	104	81	93	54	70	116	74	91	91
3	62	179	219	236	173	175	149	117	161	64	68	62	52	79	61	54	55	40	51	33	50	44	44	44	47
5	80	255	436	283	257	231	157	228	261	132	60	60	48	90	51	32	29	34	42	25	25	22	32	24	24
7	111	433	440	472	446	357	171	269	247	102	48	47	39	49	47	26	34	17	21	24	19	12	31	15	11
10	230	555	747	622	489	370	200	413	376	226	33	39	28	36	47	17	22	19	5	21	15	0	29	14	0
12	263	677	722	877	620	539	265	448	350	135	19	41	23	13	14	15	23	16	12	24	13	0	14	0	0
17	720	959	960	1158	885	725	514	751	620	531	0	0	0	0	13	17	38	0	0	26	0	0	0	0	0
19	862	1314	940	1097	941	869	437	908	776	837	27	39	29	29	16	0	20	18	0	27	0	0	19	0	0
24	1886	2308	1854	2760	1671	712	718	1489	1225	1040	0	15	19	23	11	14	0	20	0	33	18	0	19	0	0
26											0	24	0	11	14	0	8	14	14	15	8	0	17	0	0
28											0	7	0	14	83	0	16	20	14	17	0	0	16	0	0
31											0	16	0	10	31	0	10	15	26	29	11	0	17	0	0
33											0	27	0	13	22	0	13	8	18	44	8	0	28	0	0
35											0	19	0	16	42	0	13	0	22	50	14	0	17	0	0
38											0	19	0	14	45	0	11	13	13	54	11	0	20	0	0

表32

	PBS			艾日布林 0.05mg/kg			艾日布林 0.2mg/kg			艾日布林 0.8mg/kg			艾日布林1.6mg/kg		
第一次給藥後之天數	平均值	SEM	N	平均值	SEM	N	平均值	SEM	N	平均值	SEM	N	平均值	SEM	N
0	89.4	9.34	5	87.6	8.18	5	88.2	12.56	5	88.6	10.02	5	88.4	8.11	5
3	173.8	30.31	5	133.2	19.74	5	64.4	4.45	5	46.6	4.31	5	45.8	1.20	5
5	262.2	56.43	5	201.8	24.37	5	61.8	7.43	5	32.4	2.83	5	25.4	1.72	5
7	380.4	67.55	5	229.2	43.40	5	46	1.79	5	24.4	2.83	5	17.6	3.62	5
10	528.6	85.83	5	317	43.21	5	36.6	3.17	5	16.8	3.07	5	11.6	5.42	5
12	631.8	101.42	5	347.4	70.14	5	22	5.07	5	18	2.34	5	5.4	3.30	5
17	936.4	70.46	5	628.2	48.40	5	2.6	2.60	5	16.2	7.39	5	0	0.00	5
19	1030.8	80.29	5	765.4	84.75	5	28	3.65	5	13	5.50	5	3.8	3.79	5
24	2095.8	195.76	5	1036.8	149.24	5	13.6	3.94	5	13.4	6.26	5	7.4	4.53	5
26							9.8	4.54	5	10.2	2.83	5	5	3.37	5
28							20.8	15.74	5	13.4	3.48	5	3.2	3.19	5
31							11.4	5.77	5	16	5.29	5	5.6	3.55	5
33							12.4	5.53	5	16.6	7.45	5	7.2	5.42	5
35							15.4	7.72	5	17	9.22	5	6.2	3.82	5
38							15.6	8.25	5	18.2	9.25	5	6.2	4.05	5

表33

第一次給藥後之天數	媒劑					艾日布林 0.05mg/kg					艾日布林 0.2mg/kg					艾日布林 0.8mg/kg					艾日布林 1.6mg/kg				
0	18.5	16.7	19.1	20.4	19.6	19.1	16.4	18.6	20.1	17.9	18.2	18.5	16.7	19.8	18.9	18.6	17.8	18.4	17.8	18.1	18.2	18.3	19.4	16.3	19.0
3	18.8	16.6	19.6	20.9	20.0	19.4	17.1	18.5	20.4	18.7	18.6	18.5	16.9	19.6	18.8	18.8	18.0	18.4	18.1	19.0	17.8	18.3	20.1	15.8	19.6
5	18.8	16.8	19.3	21.2	20.0	19.4	16.5	18.4	20.4	19.4	18.5	19.1	16.9	20.2	20.1	18.9	18.1	18.5	17.6	18.2	18.1	18.1	19.5	16.0	19.3
7	18.6	16.5	19.3	21.2	19.8	19.4	16.3	18.7	20.3	19.1	18.5	18.5	17.1	19.6	20.7	19.1	18.1	19.0	17.8	19.0	18.1	18.2	19.5	16.3	19.4
8	18.3	16.7	18.8	21.1	19.6	19.3	16.3	18.4	20.4	19.4	18.6	19.1	17.0	19.6	19.9	19.2	18.0	19.0	17.7	18.8	18.0	18.3	20.1	16.2	19.4
9	18.4	16.4	18.5	21.0	19.5	18.8	16.1	18.6	19.9	19.1	18.3	20.0	16.8	19.5	19.5	19.2	17.7	18.5	17.5	18.5	17.4	18.0	19.6	15.8	19.4
10	19.0	17.2	19.2	21.6	20.3	19.7	16.3	19.4	20.5	20.0	18.7	19.4	17.1	20.0	20.1	19.0	17.7	18.9	17.8	19.1	18.1	18.5	21.0	16.1	20.0
12	19.0	15.9	18.5	21.3	19.2	18.8	15.9	18.6	19.6	19.7	18.3	19.3	16.9	19.7	19.9	18.9	17.8	19.0	17.8	19.0	18.0	18.8	20.5	16.3	20.1
17	18.8	15.5	17.8	20.4	18.3	17.5	16.0	18.5	18.0	19.7	19.0	19.3	17.4	20.5	20.0	19.2	18.0	18.8	18.1	19.1	19.0	19.2	21.0	16.4	19.4
19	18.9	15.6	17.2	20.6	18.1	17.8	16.3	18.4	18.0	19.4	19.1	19.0	17.1	21.1	21.0	19.1	17.7	19.4	18.7	19.1	19.1	19.5	21.1	16.3	19.8
24	18.2	15.8	17.4	20.3	18.2	18.8	16.5	18.8	17.4	18.0	19.3	20.2	18.8	21.7	22.0	20.1	18.5	20.3	19.1	20.3	19.4	20.6	21.7	18.1	20.7
26											19.8	20.9	18.6	22.0	20.4	20.3	18.1	19.9	19.3	20.9	19.5	20.7	21.6	18.3	20.6
28											20.1	20.6	18.1	21.5	21.0	20.3	17.8	20.2	19.6	20.6	19.6	20.3	21.2	17.6	21.1
31											18.7	20.1	18.7	22.0	21.2	20.1	18.2	20.3	19.5	20.7	19.8	20.4	21.9	18.1	21.9
33											20.0	20.3	18.4	22.2	21.8	20.2	18.3	21.0	19.2	20.2	20.1	19.9	21.7	17.9	20.7
35											19.5	20.1	18.7	22.1	21.4	20.1	17.8	21.0	19.3	20.3	20.3	18.2	21.8	18.2	20.9
38											19.8	20.8	18.3	21.6	21.6	20.4	18.1	21.4	19.4	21.2	20.0	21.0	21.9	18.4	20.3

各列表示個別動物。

表34

第一次給藥後之天數	PBS 平均值	PBS SEM	PBS N	艾日布林 0.05mg/kg 平均值	艾日布林 0.05mg/kg SEM	艾日布林 0.05mg/kg N	艾日布林 0.2mg/kg 平均值	艾日布林 0.2mg/kg SEM	艾日布林 0.2mg/kg N	艾日布林 0.8mg/kg 平均值	艾日布林 0.8mg/kg SEM	艾日布林 0.8mg/kg N	艾日布林 1.6mg/kg 平均值	艾日布林 1.6mg/kg SEM	艾日布林 1.6mg/kg N
0	18.9	0.62	5	18.4	0.62	5	18.4	0.51	5	18.1	0.16	5	18.2	0.53	5
3	19.2	0.73	5	18.8	0.54	5	18.7	0.51	5	18.5	0.19	5	18.3	0.75	5
5	19.2	0.73	5	18.8	0.66	5	19.0	0.60	5	18.3	0.22	5	18.2	0.62	5
7	19.1	0.77	5	18.8	0.67	5	18.9	0.60	5	18.6	0.27	5	18.3	0.58	5
10	18.9	0.72	5	18.8	0.69	5	18.8	0.51	5	18.5	0.29	5	18.4	0.67	5
12	18.8	0.76	5	18.5	0.65	5	18.8	0.59	5	18.3	0.30	5	18.0	0.69	5
17	19.5	0.73	5	19.2	0.74	5	19.1	0.55	5	18.5	0.32	5	18.7	0.84	5
19	18.8	0.86	5	18.5	0.68	5	18.8	0.56	5	18.5	0.28	5	18.7	0.77	5
24	18.2	0.79	5	17.9	0.60	5	19.3	0.53	5	18.6	0.24	5	19.0	0.73	5
26							19.5	0.74	5	18.8	0.30	5	19.2	0.79	5
28							20.4	0.63	5	19.7	0.36	5	20.1	0.62	5
31							20.3	0.56	5	19.7	0.48	5	20.1	0.57	5
33							20.3	0.59	5	19.7	0.50	5	20.0	0.66	5
35							20.1	0.66	5	19.8	0.43	5	20.4	0.71	5
38							20.5	0.68	5	19.8	0.47	5	20.1	0.62	5

實例2

1. 材料與方法

藉由將MORAb-003 (人類化抗人類葉酸受體α)結合於實例3之部分1.1中描述之MAL-PEG2-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001159569)化合物，合成MORAb003-VCP-艾日布林(MORAb-202)。結合方法描述於實例4之部分1.4.1中。

1.1 腫瘤模型

用於MORAb-202之另外活體外評估之人類腫瘤細胞株包括IGROV1 (人類卵巢癌，$FR^{hi\ (+++)}$)、OVCAR3 (人類卵巢癌，$FR^{med(++)}$)、NCI-H2110 (人類非小細胞肺癌，$FR^{med(++)}$)、A431-A3 (經人類間皮素轉染之A431親本細胞株，$FR^{lo(+/-)}$)、SJSA-1 (人類骨肉瘤，$FR^{neg(-)}$)及HL-60 (人類白血病，$FR^{neg(-)}$)。所有此等細胞株均直接自美國典型菌種保藏中心(American Type Culture Collection，ATCC)獲得。對於活體內研究，非小細胞肺癌、三陰性乳癌及子宮內膜癌患者來源之異種移植小鼠模型分別在Oncotest GmbH (Freiburg, Germany)、Oncodesign (Dijon, France)及EPO Berlin-Buch GmbH (Berlin, Germany)建立及維持。

1.2 活體外細胞毒性分析

1.2.1 結晶紫分析

將IGROV1 ($FR^{hi\ (+++)}$)、A431-A3 ($FR^{lo(+/-)}$)及SJSA-1 ($FR^{neg(-)}$)細胞在96孔組織培養盤中在完全生長培養基中以10,000細胞/孔次培養及接種，在37℃、5% CO_2下培育隔夜(16小時)。通常，測試試劑以1:4在2 mL深孔稀釋盤中連續稀釋，起始於1 μM (共稀釋10次)。將100 μL稀釋樣品添加至細胞盤(測試樣品之起始濃度為100 nM)。盤在37℃、5%

CO_2下再培育48小時。將培養基丟棄，用200 μL DPBS洗滌盤一次，在室溫下用50 μL 0.2%結晶紫溶液染色15 min，接著用自來水大量洗滌。將盤進行空氣乾燥，且用200 μL 1% SDS溶液溶解結晶紫。在570 nm下讀取盤。使用GraphPad Prism 6分析數據。對於OVCAR3 ($FR^{med(++)}$)及NCI-H2110 ($FR^{med(++)}$)，細胞以3,000個細胞/孔接種且與MORAb-202一起培育5天。

1.3 活體內研究

1.3.1 NCI-H2110異種移植模型

*動物準備：*圈養CB17 SCID小鼠(雌性，6週齡)，每一通風籠5隻小鼠。動物可隨意取食滅菌食物顆粒及水瓶。在腫瘤移植前，動物適應新環境5-7天。

*細胞培養：*將NCI-H2110細胞自冰凍原料(NB2813-65)解凍且在5% CO_2中在37℃下在補充有10%胎牛血清(FBS)之RPMI-1640培養基中培養。繼代兩次後，在匯合大約70%後，藉由使用細胞解離溶液收穫細胞，用無血清培養基洗滌兩次且計數。

*腫瘤移植：*將含細胞懸浮液之無血清培養基與冰冷基質膠以1:1 (v:v)混合，達至1.0×10^8個細胞/mL之最終濃度。各小鼠皮下注射100 μL 1.0×10^7個細胞/小鼠之混合物。27G針用於所有注射。監測小鼠之臨床健康，且藉由數位卡尺每週量測腫瘤三次,在移植後第3天開始。使用下式計算腫瘤體積(mm^3) ： W (mm) × L (mm) × D (mm) × π/6。當腫瘤達至約100 mm^3 (平均>70至約130 mm^3)時，動物隨機化至每組4-5隻。排除5隻腫瘤體積最偏離平均數之動物。

*研究設計：*根據研究設計(表35)，在隨機化當天，招募之實驗小鼠靜脈內注射200 μL媒劑或1.0、2.5及5 mg/kg之MORAb-202。在給藥

前量測體重，且在研究期間每週兩次。在研究結束時，量測終點體重且記錄。當個別腫瘤體積超過2000 mm^3時，處死動物。在達到最大允許腫瘤體積前之早期終止標準包括：(1)腫瘤潰爛大於腫瘤之50% (v:v)；(2) 癱瘓；(3)體重損失 >20%；及(4)組內50%動物適宜終止。在上述終止程序後，處理在研究期間處死或發現死亡之任何小鼠。

表35. 研究設計

組	小鼠數目	處理	劑量 (mg/kg)	方案	途徑
1	5	媒劑	0	單次推注	i.v.
2		MORAb-202	1		
3			2.5		
4			5		

1.3.2 患者來源之異種移植(PDx)模型

1.3.2.1 非小細胞肺癌(NSCLC) PDx模型：LXFA-737 (Oncotest)

*腫瘤移植：*自裸小鼠中連續繼代之LXFA-737腫瘤異種移植物獲得NSCLC腫瘤片段。自供體小鼠移除後，將腫瘤切割成片段(邊長3-4 mm)且置於含有10%青黴素/鏈黴素之磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)。藉由吸入異氟烷，將接受動物麻醉，且在腰窩中皮下接受單側或雙側腫瘤植入物。以<65%之獲取速率，每一小鼠，腫瘤異種移植物植入一或兩個腫瘤。在雙側獲取之情況下，在隨機化前移植此等腫瘤之一。每天監測動物及腫瘤植入物，直至在足夠數目之動物中可偵測固體腫瘤生長。在隨機化時，測定生長腫瘤之體積。滿足隨機化標準(亦即載有50-250 mm^3腫瘤，較佳80-200 mm^3)之動物分配至由每組5-6隻動物組成之實驗組中，目標為大約100-120 mm^3之可比中位及平均組腫瘤體積。處死未用於實驗之動物。隨機化之日指定為實驗第0天。

實驗設計：根據研究設計(表36)，在隨機化當天，招募之實驗小鼠靜脈內注射媒劑、5 mg/kg之MORAb-003或5 mg/kg之MORAb-202。在各給藥日在給藥前量測體重，且在研究期間每週兩次。在研究結束時，量測終止體重且記錄。當個別腫瘤體積超過2000 mm^3時，處死動物。

表36. 研究設計

組	小鼠數目	處理	劑量 (mg/kg)	方案	途徑
1	6	媒劑	0	單次推注	i.v.
2	6	MORAb-003	5		
3	6	MORAb-202	5		

1.3.2.2 三陰性乳癌(TNBC)PDx模型：OD-BRE-0631 (Oncodesign)

腫瘤植入：皮下注射患者來源之TNBC腫瘤片段至九隻雌性SWISS裸小鼠右腰窩中。當腫瘤體積達到500-1000 mm^3時，處死載有腫瘤之小鼠，且藉由手術切除腫瘤。在用γ源照射整個身體(2 Gy，60Co, BioMEP, France)後24至72小時，腫瘤片段(30-50 mg)正位植入34隻SWISS裸小鼠之乳脂墊區域。當腫瘤達到200-300 mm^3之平均體積時，總共34隻動物中之24隻根據其個別腫瘤體積，使用Vivo Manager®軟體(Biosystemes, Couternon, France)隨機化至兩組(n=12隻動物)。進行統計檢驗(方差分析)以評估組之間的均質性。隨機化之日指定為實驗第0天。

研究設計：在第1天(隨機化後之一天及處理前之兩天)，來自兩個未經處理組中之每一者的3隻小鼠終止。根據研究設計(表37)，在第3天，剩餘實驗小鼠靜脈內注射媒劑或5 mg/kg之MORAb-202。在第

8天（處理後之五天），來自兩個經處理組中之每一者的3隻小鼠終止。在終止後立即收集腫瘤組織且固定在4%中性緩衝福馬林中24至48小時，接著包埋於石蠟(Histosec®，Merck, Darmstadt, Germany)中。石蠟包埋之樣品儲存在室溫下供隨後免疫組織化學分析。

表37. 研究設計

組	小鼠數目	處理	劑量 (mg/kg)	方案	途徑
1	3	n/a	n/a	n/a	n/a
	9	媒劑	0	單次推注	i.v.
2	3	n/a	n/a	n/a	n/a
	9	MORAb-202	5	單次推注	i.v.

*免疫組織化學(IHC)分析：*對福馬林固定之石蠟包埋之腫瘤組織進行IHC染色，以評估MORAb-202佔據與癌症相關之纖維母細胞表現。在染色前，將載玻片脫蠟且在Lab Vision™ PT模組(Thermo Scientific)中在預溫熱至85℃之檸檬酸鹽緩衝液(pH 6.0)中使用以下程式重新找回抗原：溫熱至97℃；在97℃下培育30 min；冷卻至60℃。接著在室溫下將載玻片轉移至重蒸餾水，歷時5 min。在Vision™自動染色器360 (Thermo Scientific)中進行染色。簡言之，將載玻片在1X Tris緩衝鹽水/Tween-20 (TBST)中洗滌兩次，每次洗滌歷時6 min。接著組織切片在阻斷緩衝液(300 μL) (10%山羊血清(Jackson Immunoresearch Laboratory Inc.，目錄號005-000-121)，在3%牛血清白蛋白(BSA)-磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中稀釋)中培育1小時，在結合抗體(200 μL) (表38)中培育1小時，且在1X TBST中洗滌五次，每次洗滌歷時6 min。將載玻片在安裝培養基中以DAPI複染，且使蓋玻片硬化

30 min。將載玻片在Panoramic MIDI掃描器(3DHISTECH)上處理，且使用Halo軟體(Indica Labs)分析IHC影像。用於此分析之抗體靶向α-平滑肌肌動蛋白(SMA)(其為癌症相關纖維母細胞之特定標記物)及人類IgG (其可偵測MORAb-202之存在)。

表38. IHC抗體

抗體	結合	供應商	目錄號	貨號	儲備溶液	工作溶液
α-平滑肌肌動蛋白(SMA)-FITC	FITC	Sigma	F3777	124M4775V	2.0 mg/mL	5.0 μg/mL
小鼠IgG1，κ同型對照	AF488	Biolegend	400129	B128493	0.2 mg/mL	1:1000
山羊抗人類IgG	AF555	Mol. Probes	A21433	1709318	n/a	1:200

1.3.2.3 子宮內膜癌PDx模型： Endo-12961及Endo-10590 (EPO Berlin)

*腫瘤植入：*自連續繼代之Endo-12961及Endo-10590腫瘤異種移植物獲得子宮內膜癌腫瘤片段，且作為原料儲存於液氮中。腫瘤片段皮下植入40隻NMRI nu/nu雌性小鼠之左腰窩中，且監測腫瘤體積。腫瘤體積為100-160 mm^3之小鼠隨機化至4組之一(組A-D，表39)。用於隨機化之衛星小鼠包括於第五組(組E，表39)。各組由8隻動物組成。隨機化之日指定為實驗第0天。

*研究設計：*根據研究設計(表39)，在隨機化當天，招募之實驗小鼠靜脈內注射PBS、3.2 mg/kg或0.1 mg/kg艾日布林或5 mg/kg之MORAb-202。藉由每週量測兩個垂直直徑兩次來評估腫瘤生長，且計算腫瘤體積(TV)、相對腫瘤體積(RTV)及處理/對照(T/C)值。亦每週評估體重兩次，作為毒性之參數，其中計算每組之體重及相對於處

理開始之體重改變(BWC)。當個別腫瘤體積超過1 cm^3時，或在研究結束時，處死動物。

表39. 研究設計

組	小鼠數目	處理	劑量(mg/kg)	方案	途徑
A	8	PBS	0	單次推注	i.v.
B		艾日布林	3.2		
C		艾日布林	0.1		
D		MORAb-202	5		
E		n/a	n/a	n/a	n/a

1.4 作用機制

1.4.1 zPredicta中之三維(3D)共同培養系統

所有含間質幹細胞(MSC)之3D共同培養實驗均在zPredicta中，使用器官特定之3D細胞外基質系統，諸如rStomach™進行。rStomach™中骨髓間質幹細胞(BM-MSC)與Nuc Red Light MKN-74胃癌細胞株以48孔格式一式四份地共同培養12天。先前已展示MKN-74細胞表現足夠葉酸受體α(FR)進行MORAb-202處理，引起細胞凋亡。在培養前，藉由流動式細胞量測術，評估BM-MSC之標靶抗原表現及MSC分化之標記物(表40)。

表40. MSC分化之標記物

細胞群體	標記物
間質幹細胞(MSC)	Stro-1^+/$CD105^+$
前脂肪細胞	$CD34^+$/$CD31^-$
脂肪細胞	油紅
癌症相關纖維母細胞(CAF)	α-平滑肌肌動蛋白(α-SMA)，波形蛋白
前周細胞/周細胞	$NG2^+$、$CD13^+$、$CD146^+$
所有	FRA

如表41中所述，rStomach™培養物用MORAb-202、未結合MORAb-003抗體、艾日布林或對照處理。對照包括未經處理及媒劑處理(PBS及DMSO)之培養物。藉由光學顯微術監測MSC分化。一旦觀測到可見之分化，則收穫樣品用於染色及流動式細胞量測術分析。

表41. 共同培養處理

試劑	工作濃度
MORAb-202	10 nM
MORAb-003 (未結合抗體)	10 nM
艾日布林	1.7 nM及0.2 nM
PBS	
DMSO	0.1%
未處理對照	

1.4.2 MORAb-202對癌症相關纖維母細胞之作用的時程分析

如部分1.3.1中所述，製備載有皮下H2110異種移植腫瘤之小鼠。在投與媒劑或5 mg/kg MORAb-202後0、3、5、7及9天收穫腫瘤樣品。在載玻片上處理所收集之腫瘤樣品，且如部分1.3.2.2中所述，藉由IHC，分析癌症相關纖維母細胞之表現。

2. 結果

2.1. 活體外細胞毒性分析

2.1.1 MORAb-202之細胞毒性

如部分1.2.1中所詳述，使用結晶紫分析，評估MORAb-202之活體外效力。在IGROV1 ($FR^{hi\ (+++)}$)、OVCAR3 ($FR^{med(++)}$)、NCI-H2110 ($FR^{med(++)}$)、A431-A3 ($FR^{lo(+/-)}$)及SJSA-1 ($FR^{neg(-)}$)細胞上進行篩選。此篩選之結果提供於圖17及表42中。

表42. 在各種腫瘤細胞株上MORAb-202之細胞毒性(EC_{50})篩選

EC50 (nM)				
IGROV I (FR+++)	OVCAR3 (FR++)	NCI-H2110 (FR++)	A431-A3 (FR+/-)	SJSA-1 (FR-)
0.01	0.16	0.74	23	> 100

MORAb-202顯示針對腫瘤細胞株之細胞毒性視葉酸受體α表現而定，及低水準之脫靶殺死。MORAb-202展示在IGROV1細胞上效力水準最高(0.01 nM)，在葉酸受體α陰性SJSA-1細胞上細胞毒性很小(>100 nM)。在OVCAR3及NCI-H2110細胞中觀測到中等效力(0.16 nM及0.74 nM)。

2.2 活體內研究

2.2.1 MORAb-202在NC1-H2110異種移植模型中之功效

載有皮下H2110腫瘤之小鼠靜脈內注射媒劑或1、2.5及5 mg/kg之MORAb-202。在單劑5 mg/kg MORAb-202後觀測到顯著腫瘤消退(圖18及表43)。使用具有高葉酸受體α表現及單劑投與之此異種移植模型，展示MORAb-202對於延遲腫瘤生長之治療窗為1 mg/kg (疾病穩定)且對於腫瘤消退之治療窗≥2.5 mg/kg。在此研究中，2.5 mg/kg之MORAb-202引起部分反應，且5 mg/kg之MORAb-202引起完全反應。

表43. MORAb-202在NC1-H2110異種移植模型中之抗腫瘤活性

	腫瘤體積，mm^3 (腫瘤生長抑制，%)	
	第17天	第31天
媒劑(n=5)	1583.4 ± 146.1 (100)	n/a
MORAb-202，1 mg/kg，單劑(n=5)	840.0 ± 76.8 (53.1)	n/a
MORAb-202，2.5 mg/kg，單劑(n=5)	60.8 ± 27.1 (3.8)	1173.2 ± 373.2
MORAb-202，5 mg/kg，單劑(n=4)	0.0 (0.0)	0 (0.0)

2.2.2 MORAb-202在NSCLC PDx模型LXFA-737中之功效

載有皮下NSCLC PDx腫瘤之小鼠靜脈內注射媒劑、5 mg/kg之

MORAb-003或5 mg/kg之MORAb-202。與單劑未結合MORAb-003抗體(5 mg/kg)對比，單劑MORAb-202 (5 mg/kg)在此模型中引起顯著腫瘤消退，此並未顯示顯著抗腫瘤活性(圖19A)。總共六隻用MORAb-202處理之小鼠中的五隻在研究第32天視為無腫瘤(表44)，且至第74天(研究終止)四隻保持無腫瘤。另外，與媒劑處理之對照組相比，處理組中未觀測到顯著體重損失，表明在處理期間無毒性(圖19B)。

表44. MORAb-202在NSCLC PDx模型中之抗腫瘤活性

	腫瘤體積，mm^3 (腫瘤生長抑制，%)		
	第21天	第32天	第74天
媒劑(n=6)	1004.5 (100)	1561.3 (100)	n/a
MORAb-003，5 mg/kg，單劑(n=6)	860.7 (85.7)	1572.1 (100.7)	n/a
MORAb-202，5 mg/kg，單劑(n=6)	22.9 (2.3)	4.7 (0.3)	418.3 (4/6無腫瘤)

2.2.3 MORAb-202及艾日布林在子宮內膜癌PDx模型Endo-12961及Endo-10590中之相對功效

Endo-12961及Endo-10590異種移植物表現高水準之葉酸受體α。載有皮下子宮內膜癌PDx腫瘤之小鼠靜脈內注射PBS、3.2 mg/kg或0.1 mg/kg艾日布林或5 mg/kg MORAb-202。艾日布林在此模型中之最大耐藥量(MTD)為3.2 mg/kg，而0.1 mg/kg等同於以5 mg/kg投與之MORAb-202所提供之艾日布林劑量。貫穿研究開始，在兩種動物模型中，在用MORAb-202 (5 mg/kg)及MTD劑量之艾日布林(3.2 mg/kg)處理後，觀測到顯著抗腫瘤活性，而在用0.1 mg/kg處理後未觀測到顯著抗腫瘤活性(圖20A及20C)。然而，用3.2 mg/kg艾日布林處理之小鼠中消退之腫瘤在研究持續時間期間開始重新生長，而在用MORAb-

202處理之小鼠中注意到腫瘤未顯著重新生長。在此研究中，發現MORAb-202比艾日布林顯著更有效。艾日布林處理亦在處理後第一週暫時影響體重(圖20B及20D)。相比之下，在用MORAb-202處理之動物中未觀測到體重損失。

2.3 MORAb-202之作用機制

2.3.1 MORAb-202在TNBC PDx模型：OD-BRE-0631中之IHC及功效

載有皮下TNBC PDx腫瘤之小鼠靜脈內注射媒劑或5 mg/kg MORAb-202。在處理前(第1天)及處理後(第8天)自各組中之小鼠收集腫瘤組織。所收集之腫瘤組織之IHC分析揭露在第3天投與單劑(5 mg/kg)後，在處理後五天(第8天)MORAb-202佔據表現葉酸受體α之腫瘤細胞。使用抗人類IgG抗體評估細胞佔據(圖21A)。MORAb-202處理亦展示減少癌症相關纖維母細胞之結構，如利用抗α-平滑肌肌動蛋白(SMA)-FITC抗體之IHC染色所示(圖21B)。就功效而言，MORAb-202處理引起處理後11天最大程度之腫瘤消退，藉由0.62之相對腫瘤體積(RTV)所量測(圖21C)。

2.3.2 MORAb-202、MORAb-003及艾日布林對3D共同培養系統之作用

rStomach™中骨髓間質幹細胞(BM-MSC)與MKN-74胃癌細胞株共同培養12天。在培養前，藉由流動式細胞量測術，評估BM-MSC之葉酸受體α表現及MSC分化之標記物。接著rStomach™培養物用MORAb-202、未結合MORAb-003抗體、艾日布林或對照處理。一旦藉由光學顯微術觀測到可見之MSC分化，則收穫樣品用於染色及流動式細胞量測術分析。此等分析之結果展示於圖22中。

7天之總處理持續時間(在此時間段期間處理補足)足夠對與MKN-74細胞一起培養之人類BM-MSC之分化產生可量測之作用。相對於媒劑對照，用MORAb-202 (10 nM)處理引起MSC及脂肪細胞群體增加，及周細胞群體減少(表45)。此等數據表明MORAb-202可對腫瘤微環境具有顯著作用。

表45. MORAb-202、MORAb-003及艾日布林對3D共同培養系統之作用

	活細胞百分比		
處理	**MSC**	**脂肪細胞**	**周細胞**
PBS	32.3%	0.72%	14.6%
MORAb-202	43.7%	22.6%	11.4%
MORAb-003	37.1%	0.69%	24.0%
艾日布林	29.9%	2.68%	25.8%

2.3.3 MORAb-202對癌症相關纖維母細胞之作用的時程分析

在投與媒劑或5 mg/kg MORAb-202後第0、3、5、7及9天，自載有皮下H2110異種移植腫瘤之小鼠收穫腫瘤樣品。在載玻片上處理所收集之腫瘤樣品，且藉由IHC分析癌症相關纖維母細胞(CAF)表現。如藉由用抗α-平滑肌肌動蛋白(SMA)-FITC抗體染色所評估及定量，CAF網狀結構在投與單劑5 mg/kg MORAb-202後第3天及第5天為顯著的(圖23)。然而，至第7天，此結構大部分顯著減少。

實例3

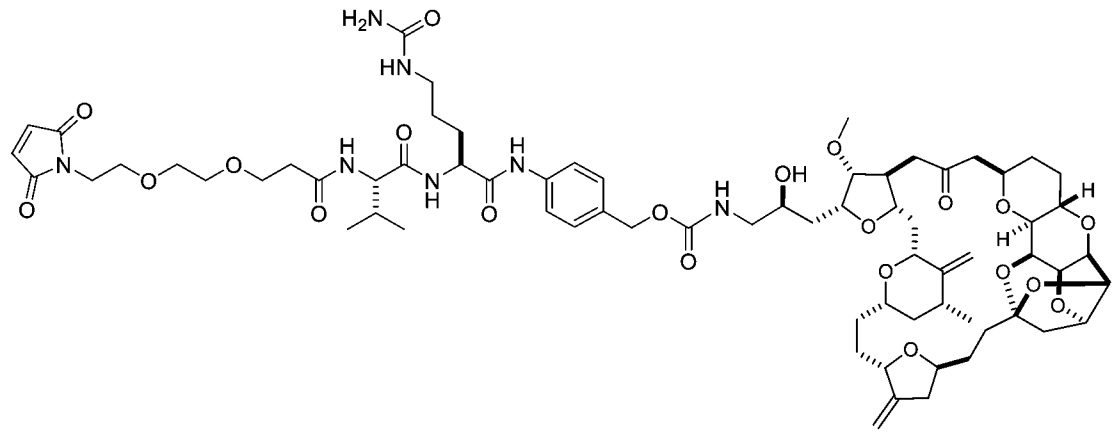
1. 材料與方法

具有表46中所示結構之可結合之艾日布林化合物根據以下程序合成，且用於製備ADC (實例4)。

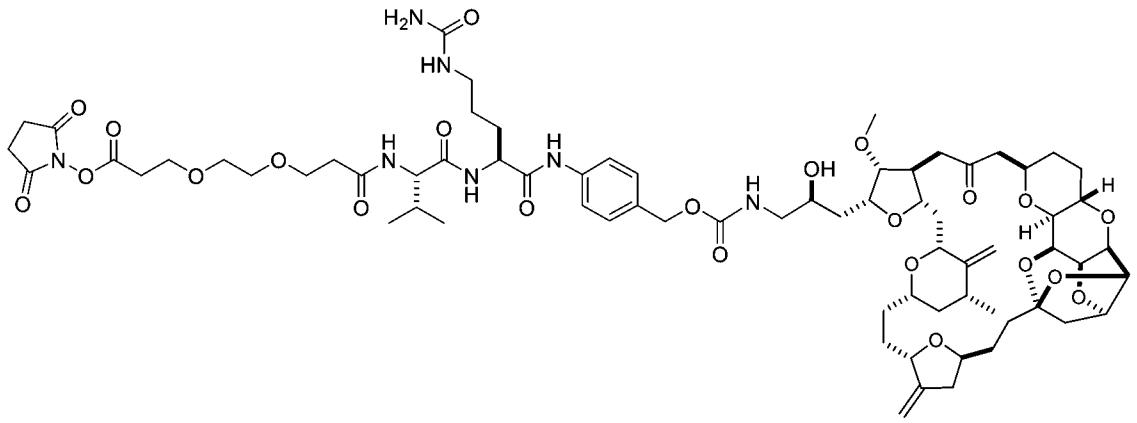
所有用於合成反應中之溶劑均為無水級(EMD Millipore)。所有用

於處理或純化之溶劑均為高效液相層析(HPLC)級(EMD Millipore)。除非另外指示，否則所有化學品均可購得。使用Biotage® SP4進行管柱層析法。使用旋轉蒸發器(Büchi Labortechik AG)或離心蒸發器(Genevac, SP scientific)移除溶劑。使用Waters AutoPurification系統及XTerra MS C18管柱(5 μm，19 mm×100 mm)在酸性移動相條件下，進行製備型液相層析-質譜分析(LC/MS)。除非另有說明，否則使用氘化氯仿($CDCl_3$)取得核磁共振(NMR)譜，且使用Varian儀器(Agilent Technologies)在400或500 MHz下記錄。使用Waters Acquity超高效LC/MS取得質譜。如本文所用，術語「惰性」係指反應器(例如反應容器、燒瓶、玻璃反應器)中空氣經基本上無水分之惰性氣體，諸如氮氣或氬氣替換。使用以下縮寫指示多重峰：s=單峰，d=二重峰，t=三重峰，q=四重峰，quint=五重峰，sxt=六重峰，m=多重峰，dd=雙二重峰，ddd=兩個雙二重峰，dt=雙三重峰，b=寬峰信號。

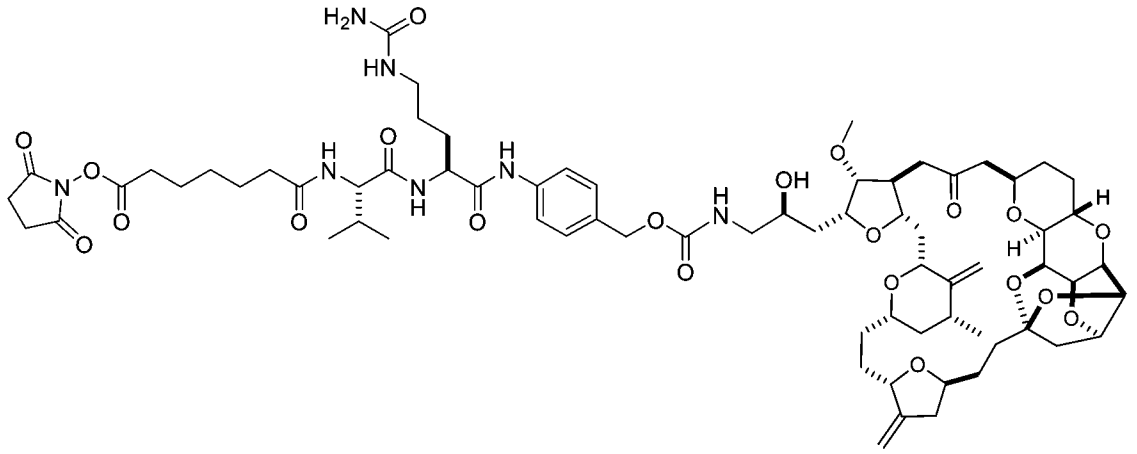
表46. 可結合之艾日布林化合物



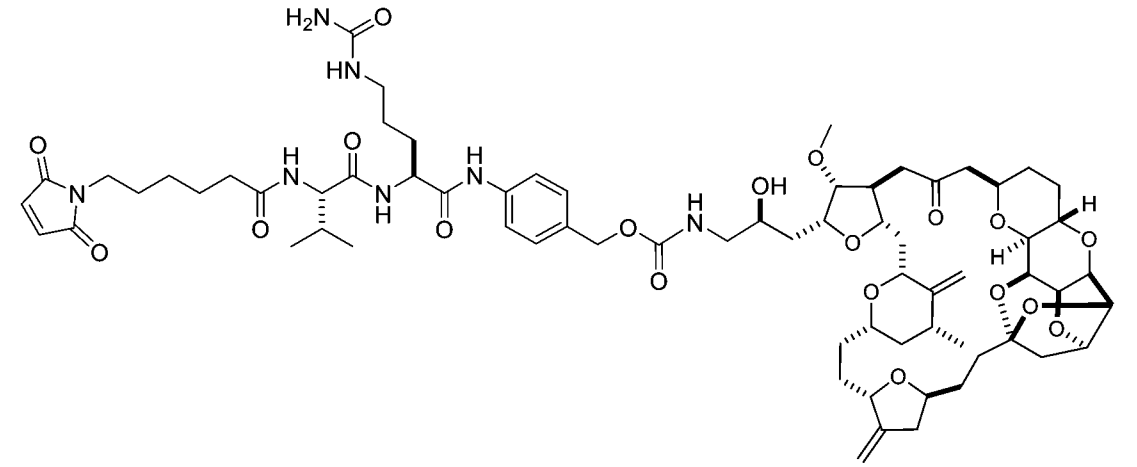
MAL-PEG2-Val-Cit-PAB-艾日布林
(ER-001159569)



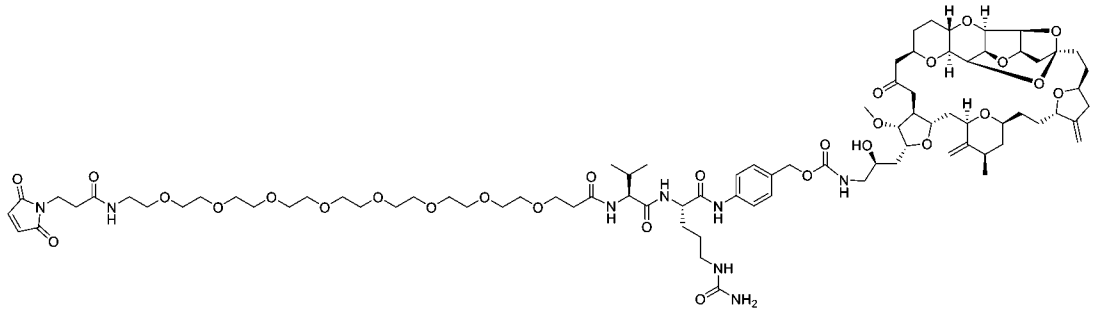
NHS-PEG2-Val-Cit-PAB-艾日布林
(ER-001236940)



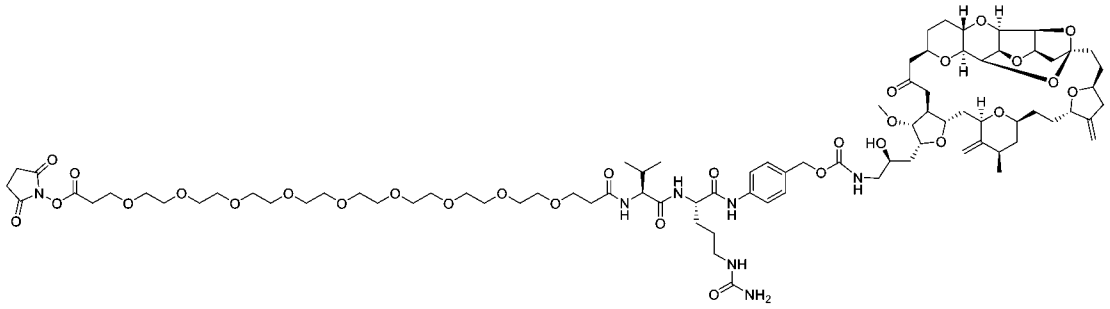
NHS-$(CH_2)_5$-Val-Cit-PAB-艾日布林
(ER-001236941)



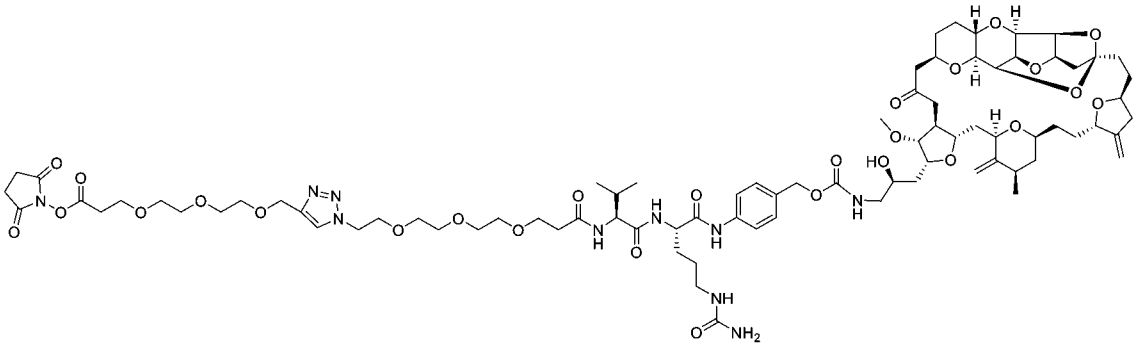
Mal-$(CH_2)_5$-Val-Cit-PAB-艾日布林
(ER-001235638)



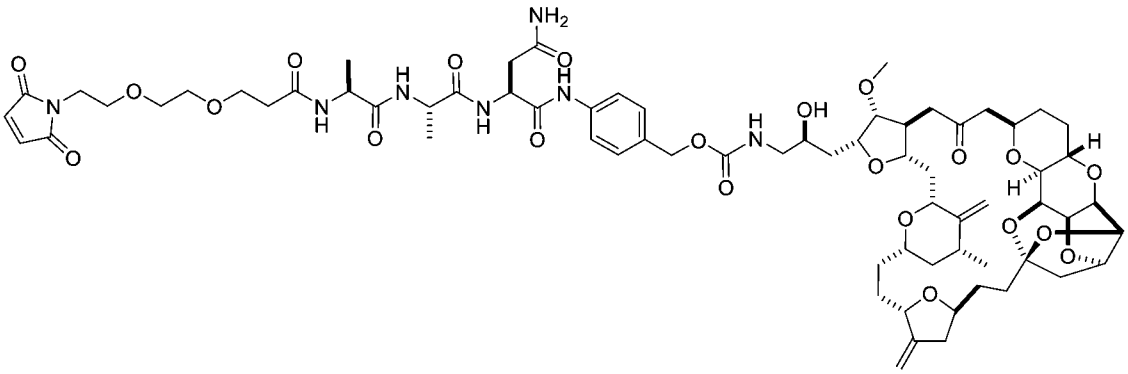
Mal-PEG8-Val-Cit-PAB-艾日布林
(ER-001242287)



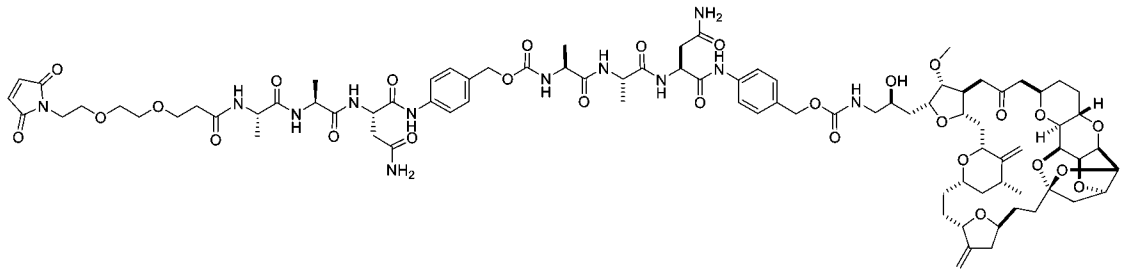
NHS-PEG9-Val-Cit-PAB-艾日布林
(ER-001242288)



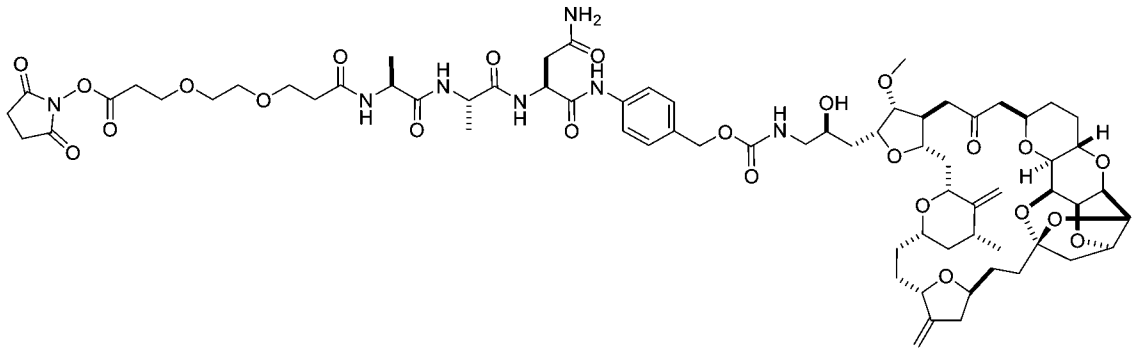
NHS-PEG3-三唑-PEG3-Val-Cit-PAB-艾日布林
(ER-001243700)



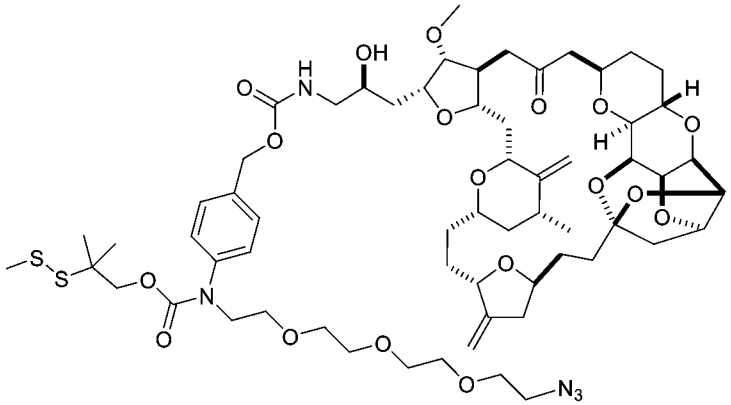
Mal-PEG2-Ala-Ala-Asn-PAB-艾日布林
(ER-001231679)



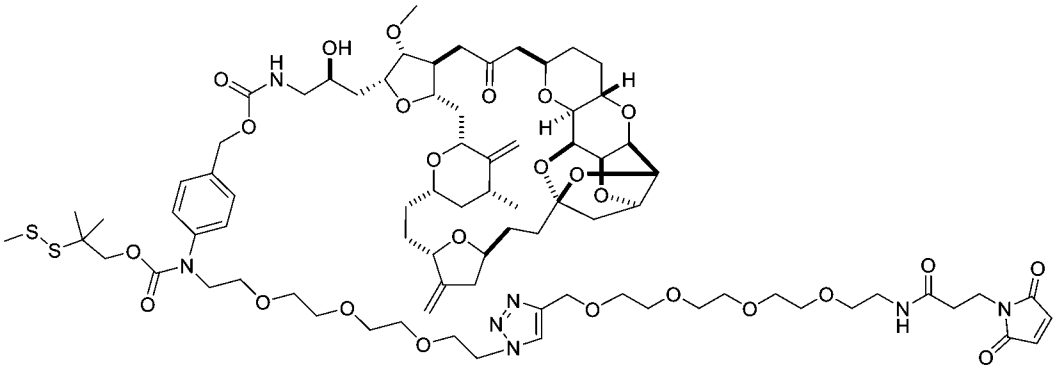
Mal-PEG2-(Ala-Ala-Asn-PAB)2-艾日布林
(ER-001231690)



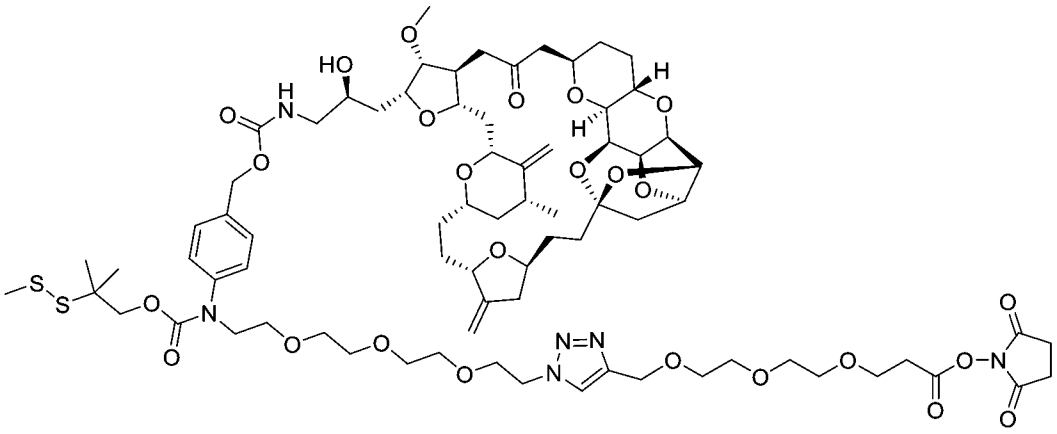
NHS-PEG2-Ala-Ala-Asn-PAB-艾日布林
(ER-001231691)



疊氮化物-PEG3-二硫化物-PAB-艾日布林
(ER-001237508)

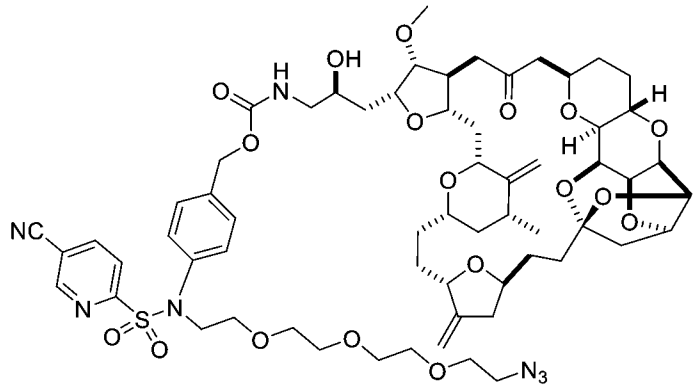


Mal-PEG4-三唑-PEG3-二硫化物-PAB-艾日布林
(ER-001237504)



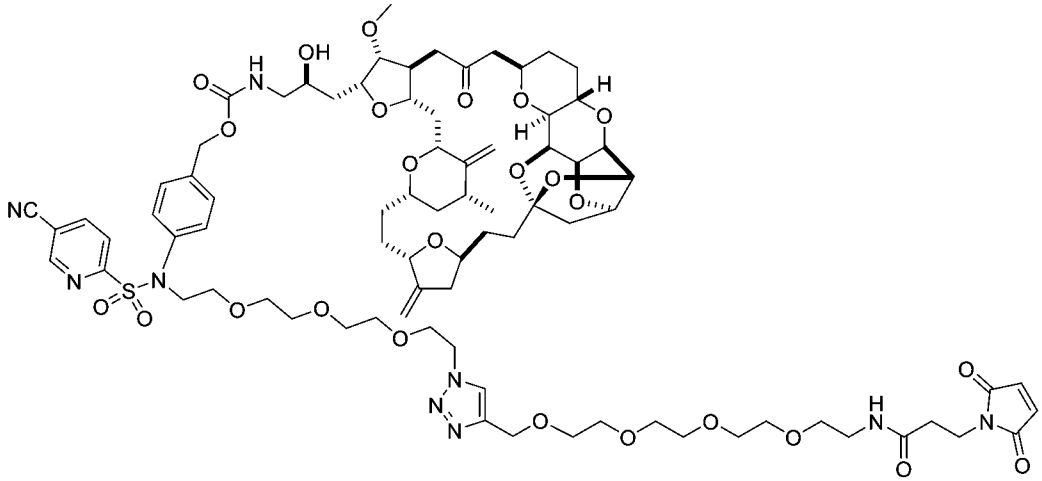
NHS-PEG3-三唑-PEG3-二硫化物-PAB-艾日布林

(ER-001244129)



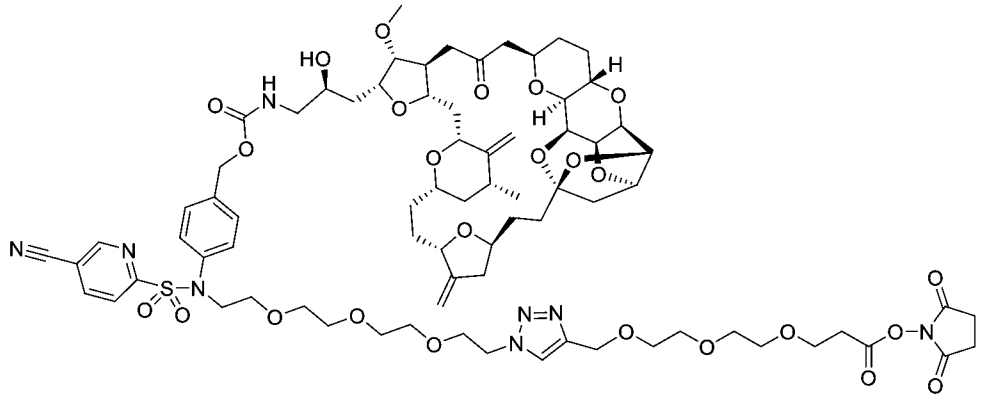
疊氮化物-PEG3-磺醯胺-PAB-艾日布林

(ER-001138856)

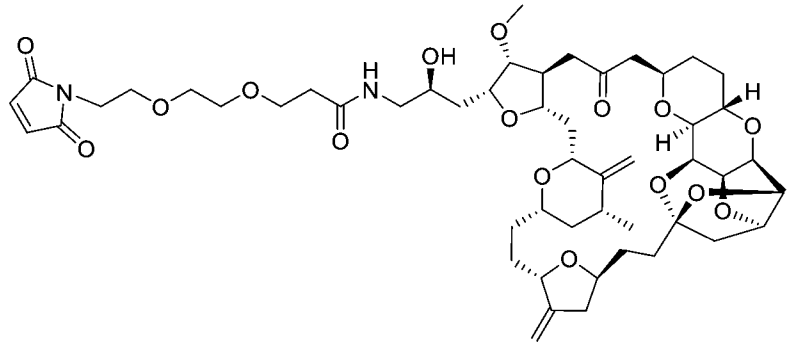


Mal-PEG4-三唑-PEG3-磺醯胺-PAB-艾日布林

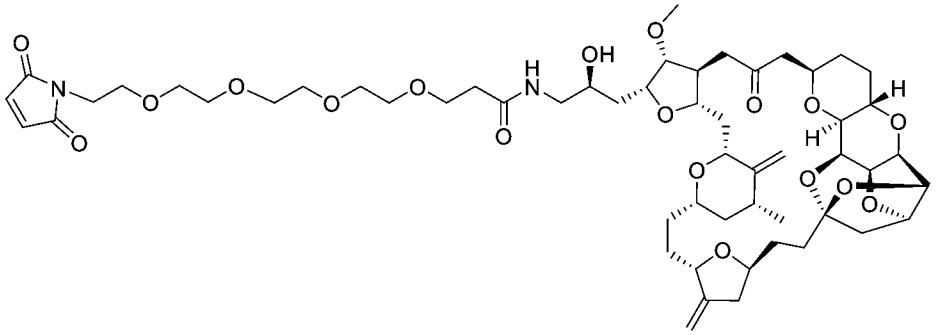
(ER-001237505)



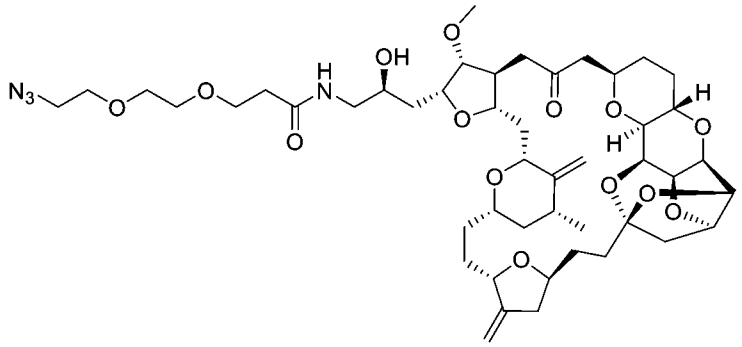
NHS-PEG3-三唑-PEG3-磺醯胺-PAB-艾日布林
(ER-001244623)



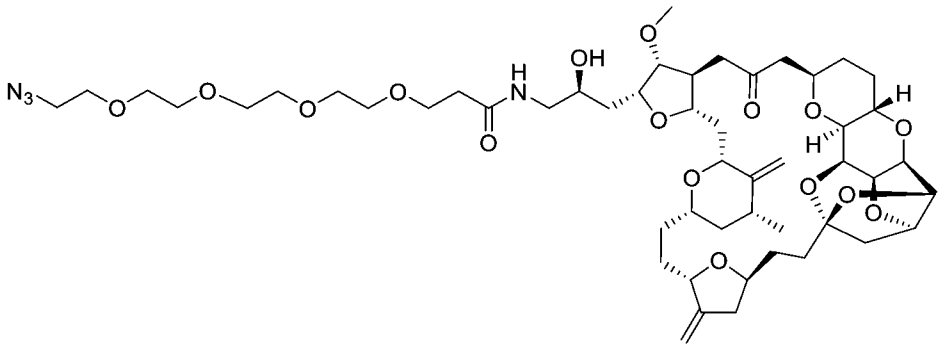
Mal-PEG2-艾日布林



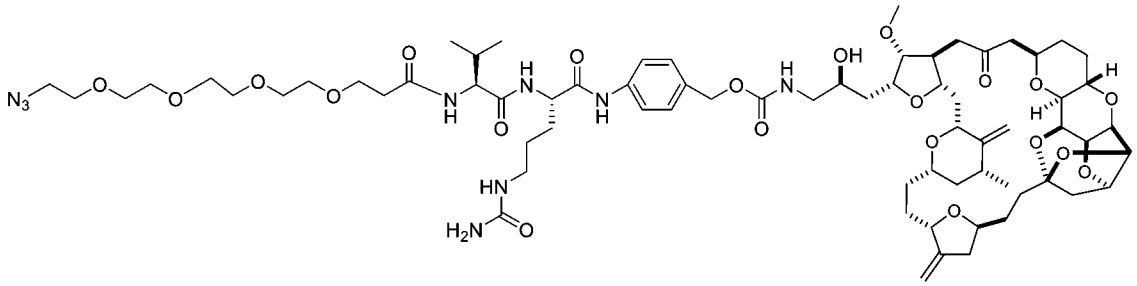
Mal-PEG4-艾日布林



疊氮基-PEG2-艾日布林

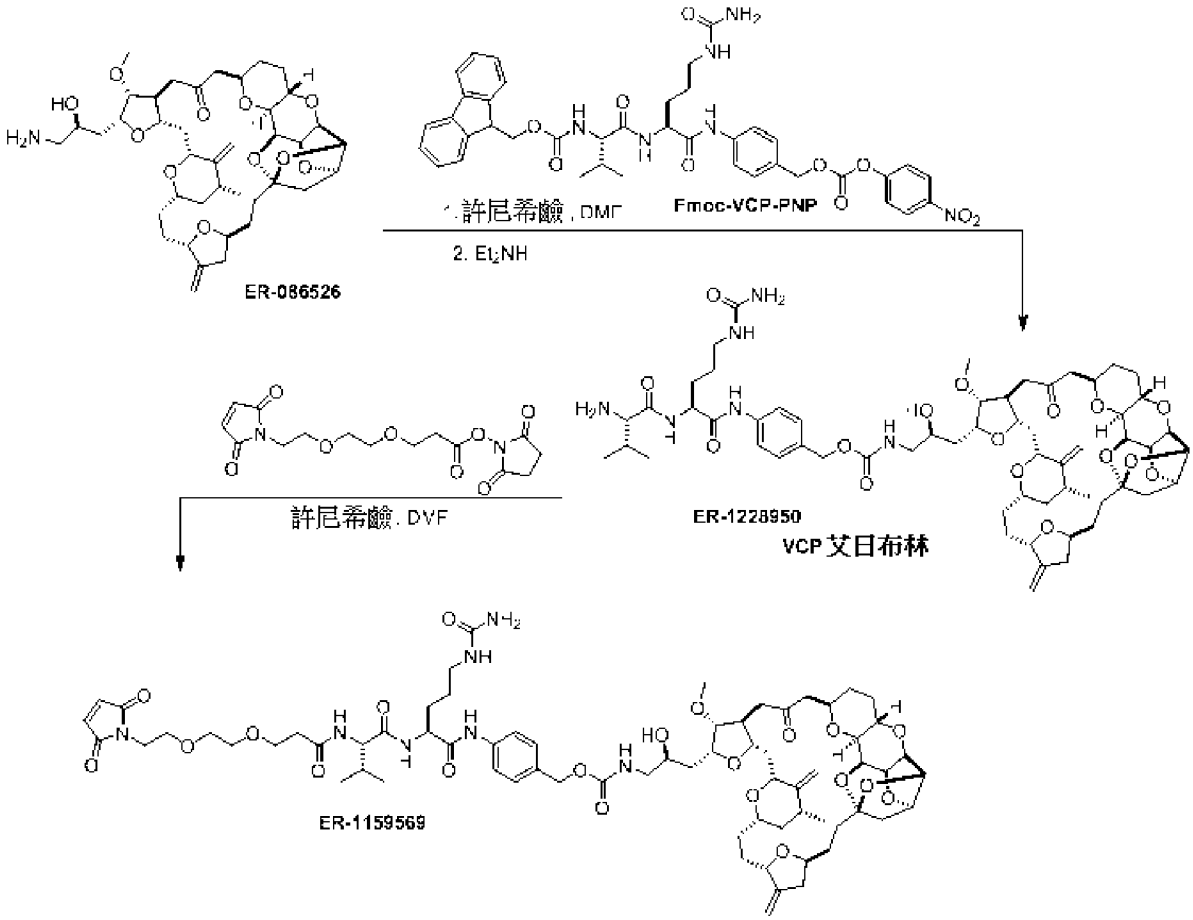


疊氮基-PEG4-艾日布林



疊氮基-PEG4-Val-Cit-PAB-艾日布林

1.1 製備MAL-PEG2-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001159569)



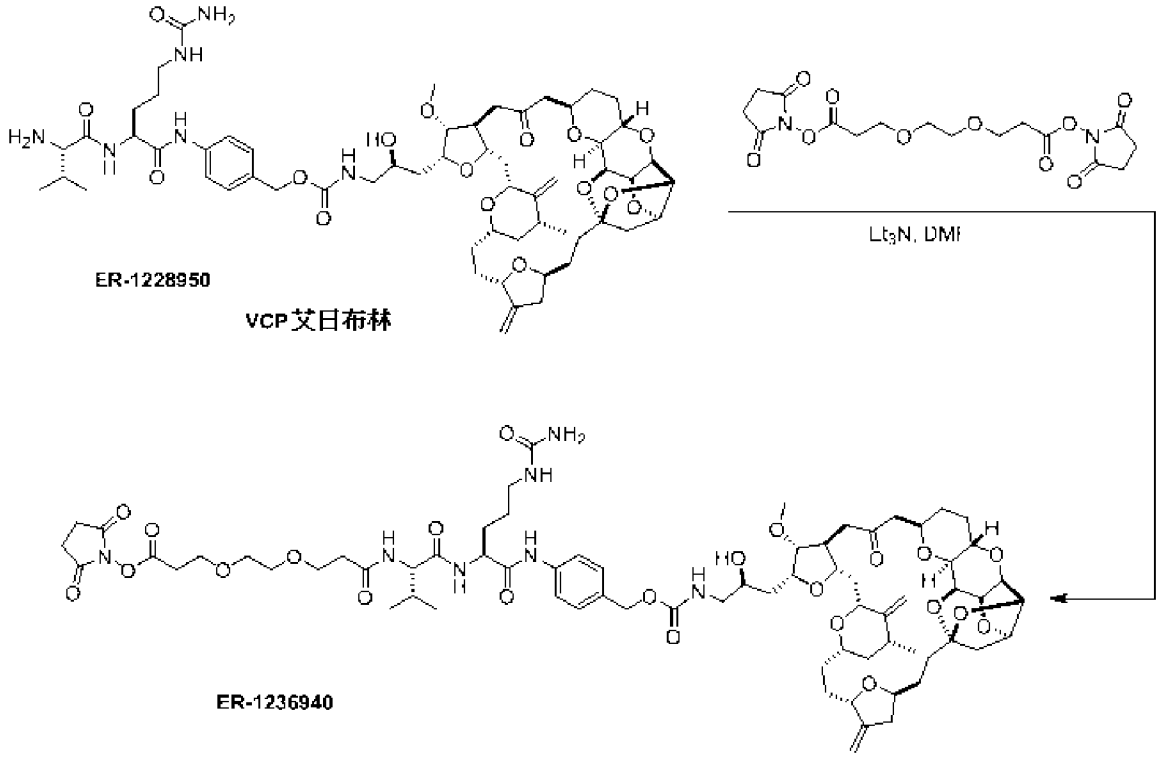
使艾日布林(ER-000086526) (61.5 mg，0.074 mmol)溶解於*N*,*N*-二

甲基甲醯胺(DMF) (6.0 mL)且接著與許尼希鹼(0.027 mL，0.156 mmol)及Fmoc-Val-Cit-PAB-PNP (86 mg，0.112 mmol)混合。將反應在室溫下攪拌18小時直至完全偶合，如藉由高效液相層析(HPLC)分析所確定。將二乙胺(0.078 mL，0.745 mmol)添加至混合物，且將混合物再攪拌2小時，直至反應結束。藉由蒸發移除溶劑，且殘餘物藉由急驟層析法純化，得到呈白色固體狀之Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001228950)(60 mg，71%產率)。^{1}HNMR (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 7.56 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.32 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.14 (s, 1H), 5.06 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.03 (s, 1H), 5.01 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.71 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.62 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.57 (dd, J = 4.8, 8.8 Hz, 1H), 4.47 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 4.32-4.27 (m, 2H), 4.18 (dd, J = 4.8, 6.4 Hz, 1H), 4.13-4.07 (m, 2H), 3.98 (t, J = 10.4 Hz, 1H), 3.88-3.82 (m, 3H), 3.76-3.70 (m, 4H), 3.60 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 3.38 (s, 3H), 3.26-3.10 (m, 3H), 2.93 (dd, J = 2.0, 11.2 Hz, 1H), 2.91-2.84 (m, 1H), 2.75-2.64 (m, 2H), 2.44-2.29 (m, 5H), 2.21-1.97 (m, 8H), 1.93-1.83 (m, 3H), 1.79-1.72 (m, 5H), 1.68-1.29 (m, 8H), 1.11 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.07-1.01 (m, 1H), 1.06 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 1.02 (d, J = 7.2 Hz, 3H)。LCMS (M+H)=1135.7。

使Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001228950) (16 mg，14 μmol)溶解於DMF (1 mL)。接著在室溫下將*N,N*-二異丙基乙胺(7.2 μL，41 μmol)及Mal-PEG2-NHS (9.7 mg，27 μmol)添加至此溶液，且將反應混合物在室溫下攪拌1小時。反應結束後，粗混合物藉由逆相HPLC，使用含有0.1%甲酸之乙腈-水移動相純化。合併之溶離份在未加熱水浴中在室溫下真空濃縮，得到Mal-PEG2-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-

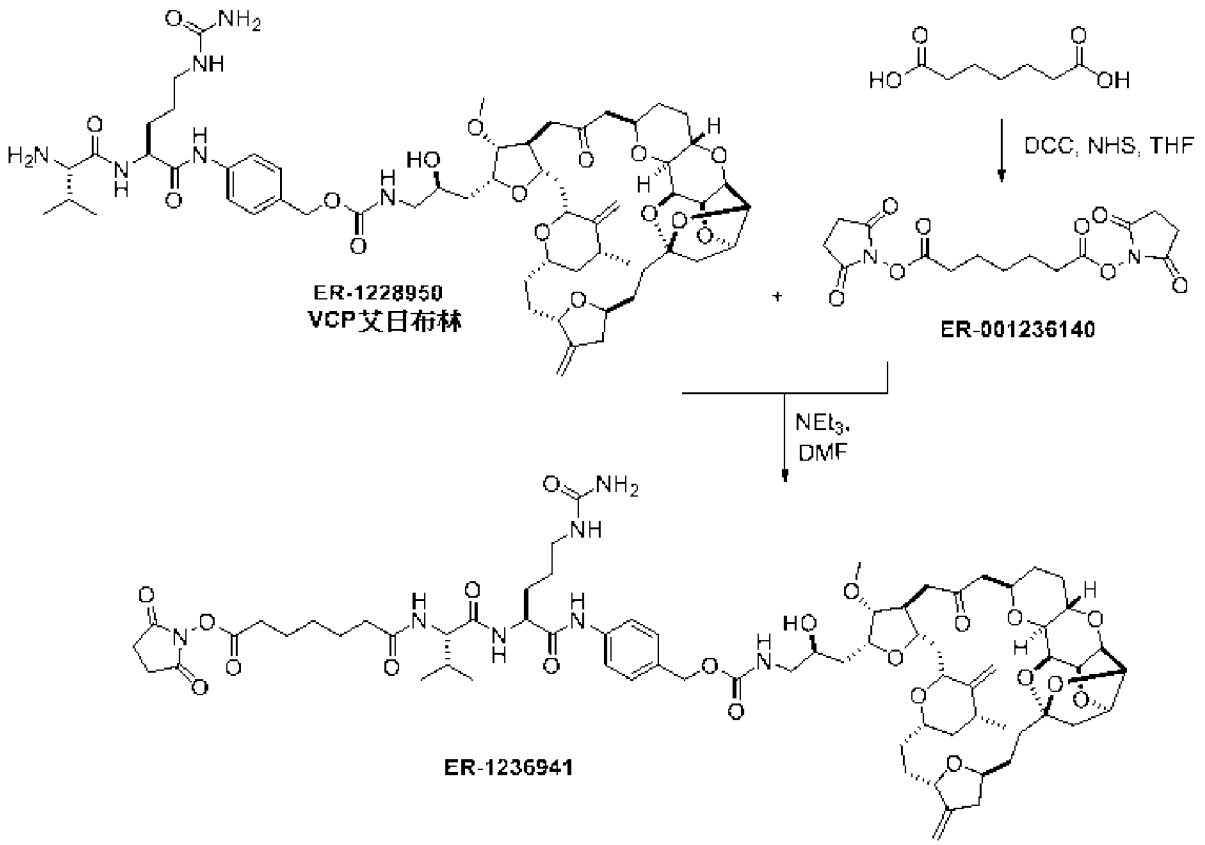
001159569) (7.1 mg，5.2 μmol，38%產率)。^{1}HNMR (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 7.59 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.81 (s, 2H), 5.13 (s, 1H), 5.06 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.02 (s, 1H), 5.01 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.82 (s, 1H), 4.71 (t, J = 4.0 Hz, 1H), 4.61 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.50 (dd, J = 5.2, 9.2 Hz, 1H), 4.47 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 4.32-4.27 (m, 2H), 4.19 (dd, J = 6.8, 11.6 Hz, 1H), 4.13-4.07 (m, 2H), 3.98 (t, J = 10.4 Hz, 1H), 3.88-3.82 (m, 3H), 3.76-3.64 (m, 6H), 3.62-3.51 (m, 6H), 3.38 (s, 3H), 3.22-3.08 (m, 4H), 2.93 (dd, J = 2.4, 9.6 Hz, 1H), 2.92-2.84 (m, 1H), 2.76-2.63 (m, 2H), 2.52 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.44-2.29 (m, 5H), 2.21-1.97 (m, 8H), 1.93-1.83 (m, 3H), 1.80-1.66 (m, 5H), 1.66-1.28 (m, 10H), 1.11 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 1.07-1.01 (m, 1H), 0.99 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.97 (d, J = 6.4 Hz, 3H)。LCMS (M+H)=1374.9。

1.2 製備NHS-PEG2-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001236940)



將Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001228950) (45 mg，0.04 mmol)及3,3'-(乙烷-1,2-二基雙(氧基))二丙酸雙(2,5-二側氧基吡咯啶-1-基)酯(79 mg，0.198 mmol)混合在DMF (1.5 mL)中，且接著添加Et_3N (44.2 μl，0.317 mmol)。將混合物攪拌18小時，直至反應結束，如藉由HPLC分析所確定。蒸發溶劑且殘餘物藉由急驟層析法純化，得到呈白色固體狀之NHS-PEG2-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001236940)(38 mg，68%產率)。^{1}HNMR (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 7.58 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.33 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.14 (s, 1H), 5.05 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.03 (s, 1H), 5.01 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.71 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.62 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.51 (dd, J = 4.8, 8.8 Hz, 1H), 4.50-4.47 (m, 1H), 4.32-4.27 (m, 2H), 4.21 (dd, J = 4.8, 6.4 Hz, 1H), 4.14-4.08 (m, 2H), 3.99 (t, J = 10.4 Hz, 1H), 3.88-3.82 (m, 3H), 3.78-3.70 (m, 4H), 3.62 (s,2H), 3.62-3.58 (m, 1H), 3.50-3.46 (m, 2H), 3.39 (s, 4H), 3.36 (s, 3H), 3.22-3.08 (m, 3H), 2.93 (dd, J = 2.0, 11.2 Hz, 1H), 2.91-2.87 (m, 1H), 2.84 (s, 2H), 2.80 (s, 2H), 2.75-2.64 (m, 2H), 2.59-2.52 (m, 2H), 2.44-2.29 (m, 5H), 2.21-1.97 (m, 10H), 1.93-1.83 (m, 3H), 1.79-1.72 (m, 5H), 1.68-1.29 (m, 8H), 1.11 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.08-0.98 (m, 1H), 1.00 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 0.98 (d, J = 7.2 Hz, 3H)。LCMS (M+H)=1421.0。

1.3 製備NHS-$(CH_2)_5$-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001236941)

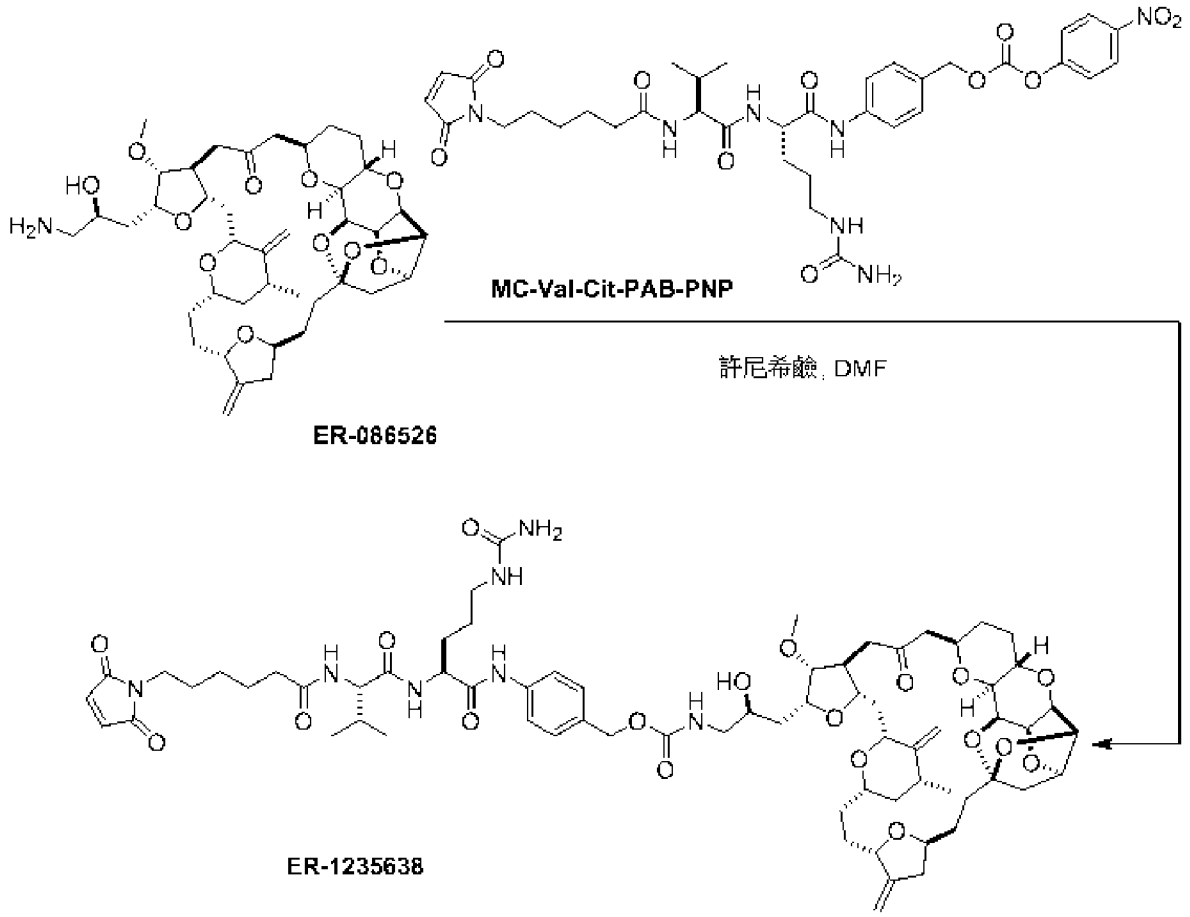


使庚二酸(1.6 g，9.99 mmol)溶解於四氫呋喃(THF) (100 mL)，且接著添加1-羥基吡咯啶-2,5-二酮(2.299 g，19.98 mmol)，接著添加DCC (4.12 g，19.98 mmol)。將混合物在室溫下攪拌18小時直至HPLC分析指示反應結束。固體藉由經矽藻土墊過濾來移除，且用THF (3×2 mL)洗滌。將合併之濾液濃縮且藉由急驟層析法純化，得到呈白色固體狀之庚二酸雙(2,5-二側氧基吡咯啶-1-基)酯(ER-001236140)(2.5 g，71%產率)。^{1}HNMR (400 MHz) δ ppm 2.83 (s, 8H), 2.64 (t, J = 7.6 Hz, 4H), 1.80 (dt, J = 7.6 Hz, 4H), 1.59-1.51 (m, 2H)。LCMS (M+H)=355.2。

使用與以上針對製備NHS-PEG2-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001236940)所述相同之程序，自VCP-艾日布林(ER-001228950)及庚二酸雙(2,5-二側氧基吡咯啶-1-基)酯(ER-001236140)製備NHS-$(CH_2)_5$-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001236941)(8.5 mg，47%產率)。^{1}HNMR

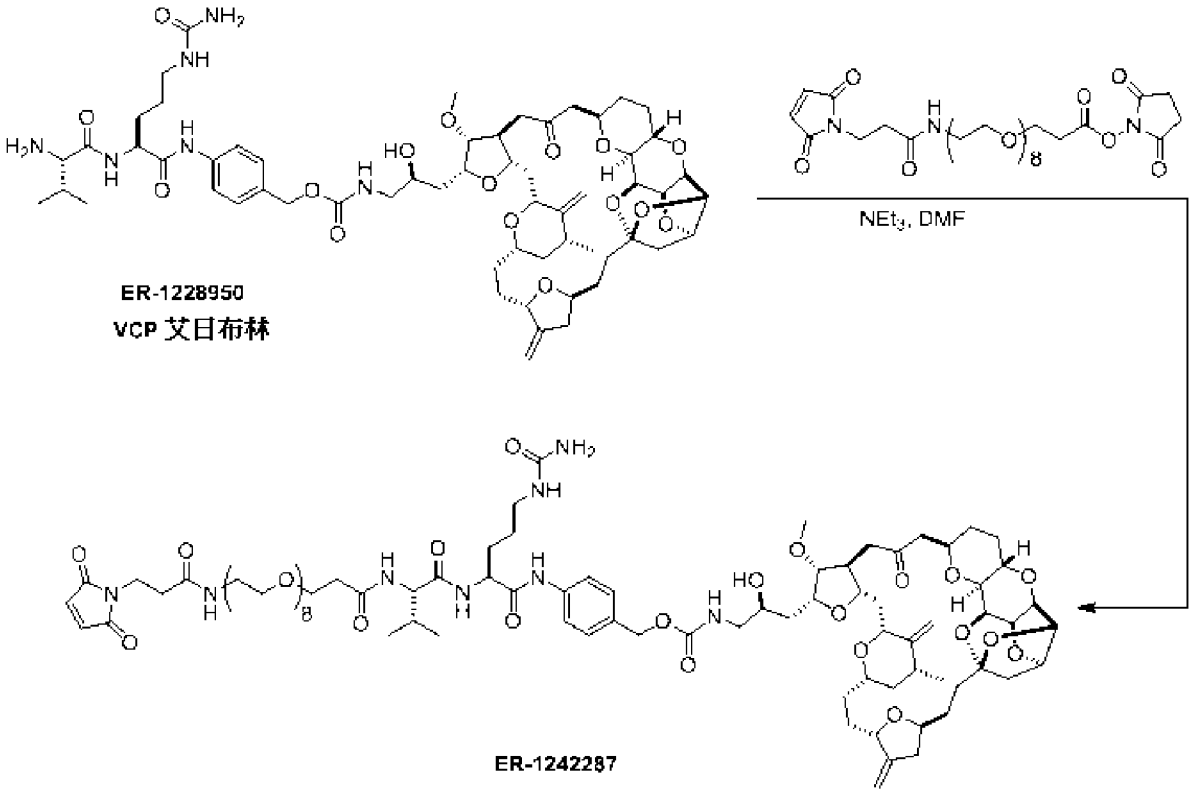
(400 MHz, CD_3OD) δ ppm 7.56 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.30 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.13 (s, 1H), 5.04 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 5.01 (s, 1H), 5.00 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.86 (s, 1H), 4.82 (s, 1H), 4.70 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.60 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.50 (dd, J = 4.8, 8.8 Hz, 1H), 4.46 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 4.36-4.25 (m, 2H), 4.17 (dd, J = 4.8, 6.4 Hz, 1H), 4.13-4.06 (m, 2H), 3.97 (t, J = 10.4 Hz, 1H), 3.87-3.80 (m, 3H), 3.74-3.68 (m, 2H), 3.37 (s, 3H), 3.20-3.06 (m, 4H), 2.94 (dd, J = 2.0, 11.2 Hz, 1H), 2.90-2.82 (m, 1H), 2.82 (s, 4H), 2.74-2.65 (m, 2H), 2.61(t, J = 8.0 Hz, 2H), 2.46-2.26 (m, 7H), 2.24-1.81 (m, 13H), 1.78-1.28 (m, 19H), 1.10 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.06-0.96 (m, 1H), 0.97 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 0.95 (d, J = 7.2 Hz, 3H)。LCMS (M+H)=1375.1。

1.4 製備Mal-$(CH_2)_5$-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001235638)



使艾日布林(ER-000086526) (10 mg，0.012 mmol)溶解於DMF (1 mL)，且與MC-Val-Cit-PAB-PNP (9.02 mg，0.012 mmol)及許尼希鹼(4.44 μL，0.025 mmol)混合。接著將混合物在室溫下攪拌12小時，直至HPLC分析指示反應結束。將反應混合物濃縮且藉由急驟層析法純化，得到呈白色固體狀之Mal-$(CH_2)_5$-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001235638)(11.3 mg，63%產率)。^{1}HNMR (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 7.57 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.79 (s, 2H), 5.13 (s, 1H), 5.05 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.02 (s, 1H), 5.00 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.71 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.61 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.56-4.46 (m, 3H), 4.35-4.27 (m, 2H), 4.20-4.07 (m, 4H), 3.98 (t, J = 10.8 Hz, 1H), 3.87-3.83 (m, 3H), 3.73-3.70 (m, 2H), 3.48 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 3.38 (s, 3H), 3.20-3.08 (m, 4H), 2.93 (dd, J = 1.6, 9.6 Hz, 1H), 2.89-2.85 (m, 1H), 2.69 (dt, J = 11.2, 16.8 Hz, 2H), 2.44-2.33 (m, 5H), 2.27-1.83 (m, 13H), 1.78-1.68 (m, 5H), 1.66-1.27 (m, 14H), 1.11 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 1.07-0.98 (m, 1H), 0.98 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 0.96 (d, J = 7.2 Hz, 3H)。LCMS (M+H)=1328.9。

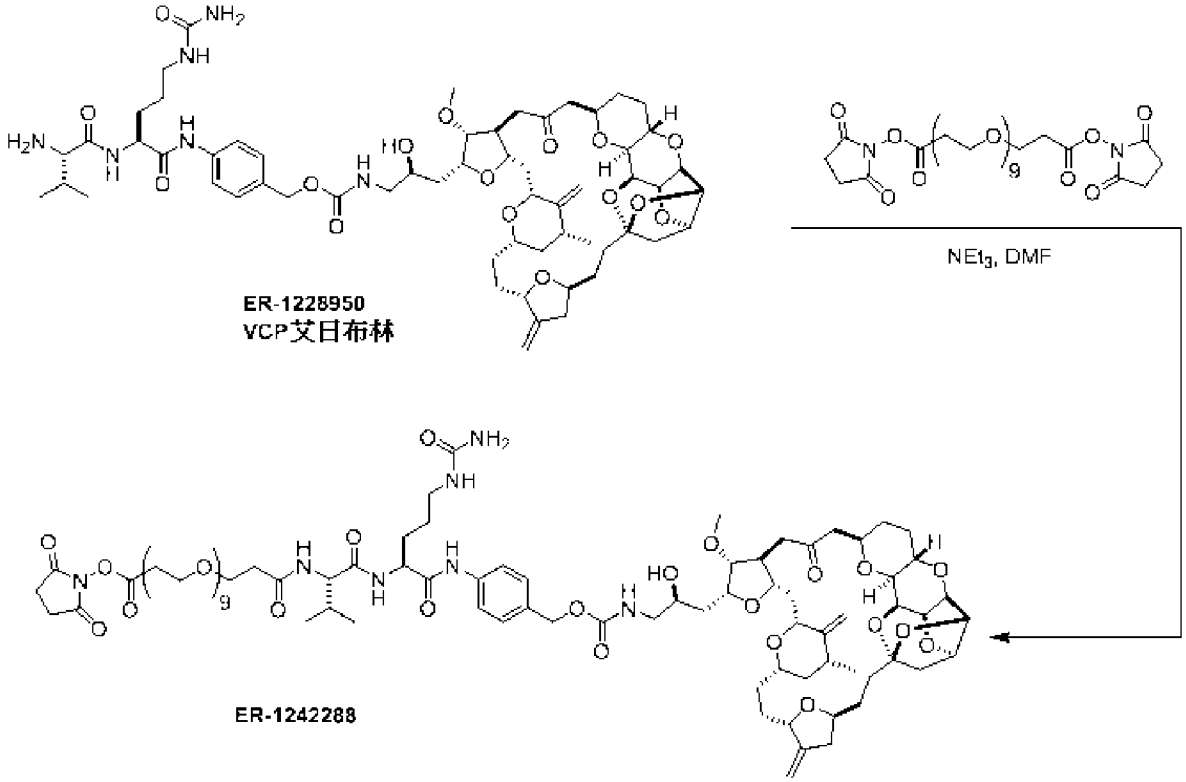
1.5 製備Mal-PEG8-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001242287)



將VCP-艾日布林(ER-001228950) (10 mg，8.808 μmol)及1-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-3-側氧基-7,10,13,16,19,22,25,28-八氧雜-4-氮雜三十一烷-31-酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯(6.07 mg，8.808 μmol)混合在DMF (1 mL)中，接著添加Et_3N (9.82 μl，0.07 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌18小時，直至HPLC分析指示反應結束。藉由蒸發移除溶劑，且殘餘物藉由急驟層析法純化，得到呈白色固體狀之Mal-PEG8-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001242287)(3.0 mg，20%產率)。^{1}HNMR (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 7.58 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.29 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.80 (s, 2H), 5.12 (s, 1H), 5.04 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.01 (s, 1H), 4.99 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.85 (s, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.69 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.59 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.50-4.42 (m, 2H), 4.32-4.24 (m, 2H), 4.20-4.14 (m, 2H), 4.12-4.04 (m, 3H), 3.96 (t, J = 10.4 Hz, 1H), 3.86-3.80 (m, 3H), 3.76-3.57 (m, 4H), 3.48 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 3.36 (s, 3H), 3.20-3.08 (m, 3H), 2.91 (dd, J = 2.0, 11.2 Hz,

1H), 2.90-2.82 (m, 1H), 2.74-2.60 (m, 2H), 2.44-2.29 (m, 5H), 2.21-1.97 (m, 10H), 1.93-1.83 (m, 3H), 1.79-1.20 (m, 19H), 1.09 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.04-0.98 (m, 1H), 0.99 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 0.97 (d, J = 7.2 Hz, 3H)。LCMS (M+H)=1711.6。

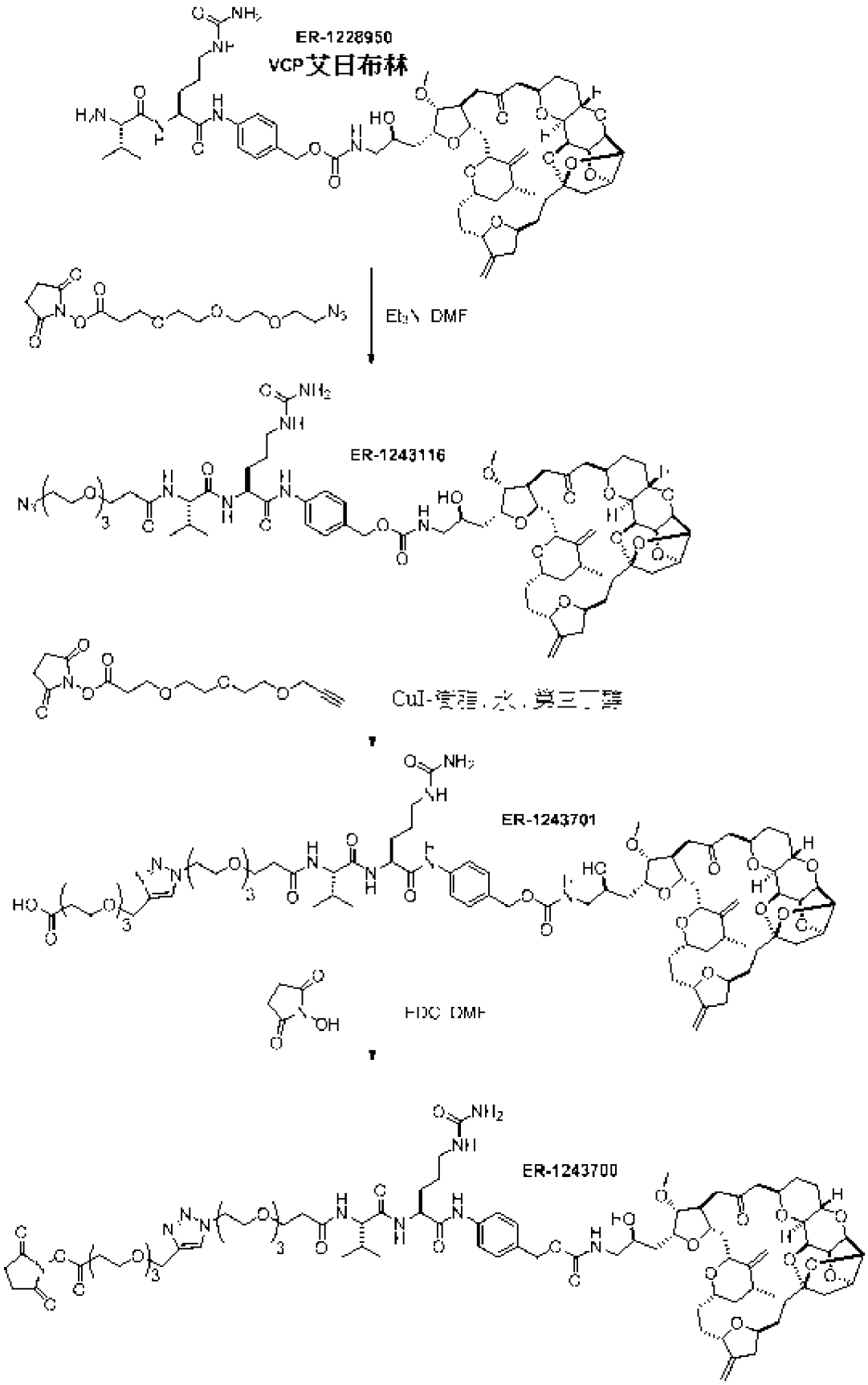
1.6 製備NHS-PEG9-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001242288)



使用與以上針對製備NHS-PEG2-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001236940)所述相同之程序，自VCP-艾日布林(ER-001228950)及BisNHS-PEG9製備NHS-PEG9-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001242288)(13 mg，85%產率)。^{1}HNMR (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 7.61 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.32 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.16 (s, 1H), 5.06 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.01 (s, 1H), 5.00 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.82 (s, 1H), 4.71 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.61 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.52-4.45 (m, 2H), 4.34-4.26 (m, 2H), 4.20-4.19 (m, 1H), 4.14-4.06 (m, 2H), 3.98 (t, J = 10.4 Hz, 1H), 3.88-3.80 (m, 3H), 3.76-3.70 (m, 4H), 3.66-3.58 (m,

37H), 3.38 (s, 3H), 3.24-3.10 (m, 3H), 2.93 (dd, J = 2.0, 11.2 Hz, 1H), 2.91-2.84 (m, 1H), 2.84 (s, 4H), 2.76-2.64 (m, 2H), 2.58-2.50 (m, 4H), 2.46-2.28 (m, 5H), 2.22-1.96 (m, 8H), 1.91-1.82 (m, 3H), 1.79-1.68 (m, 5H), 1.64-1.24 (m, 8H), 1.11 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.08-0.96 (m, 1H), 0.99 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 0.97 (d, J = 7.2 Hz, 3H)。LCMS (M+H)=1729.7。

1.7 製備 NHS-PEG3-三唑-PEG3-Val-Cit-PAB-艾日布林 (ER-001243700)



使VCP-艾日布林(ER-001228950) (25 mg，0.022 mmol)溶解於DMF (2.5 mL)，且接著與Et_3N (24.55 μl，0.176 mmol)及疊氮化物-

PEG3-NHS (8.34 mg，0.024 mmol)混合。將混合物在室溫下攪拌18小時，直至HPLC分析指示反應結束。將混合物真空濃縮，且殘餘物藉由製備型HPLC (含0.1%甲酸之MeCN及水)純化。含有疊氮化物-PEG3-Val-Cit-PAB-艾日布林之溶離份用二氯甲烷(CH_2Cl_2) (3×20 mL)萃取，且蒸發CH_2Cl_2，得到呈白色固體狀之疊氮化物-PEG3-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001243116)(18.9 mg，63%產率)。^{1}HNMR (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 7.58 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.30 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.14 (s, 1H), 5.04 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.03 (s, 1H), 5.01 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.85 (s, 1H), 4.81 (s, 1H), 4.70 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.61 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.52-4.48 (m, 2H), 4.31-4.25 (m, 2H), 4.20-4.15 (m, 1H), 4.13-4.07 (m, 2H), 3.99 (t, J = 10.4 Hz, 1H), 3.84-3.79 (m, 3H), 3.77-3.65 (m, 4H), 3.64-3.56 (m, 13H), 3.38 (s, 3H), 3.20-3.05 (m, 3H), 2.95-2.80 (m, 2H), 2.75-2.60 (m, 2H), 2.55-2.50 (m, 2H), 2.43-2.25 (m, 5H), 2.21-1.97 (m, 8H), 1.93-1.83 (m, 3H), 1.79-1.72 (m, 5H), 1.68-1.29 (m, 10H), 1.08 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.05-0.95 (m, 1H), 0.98 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 0.95 (d, J = 7.2 Hz, 3H)。LCMS (M+H)=1365.1。

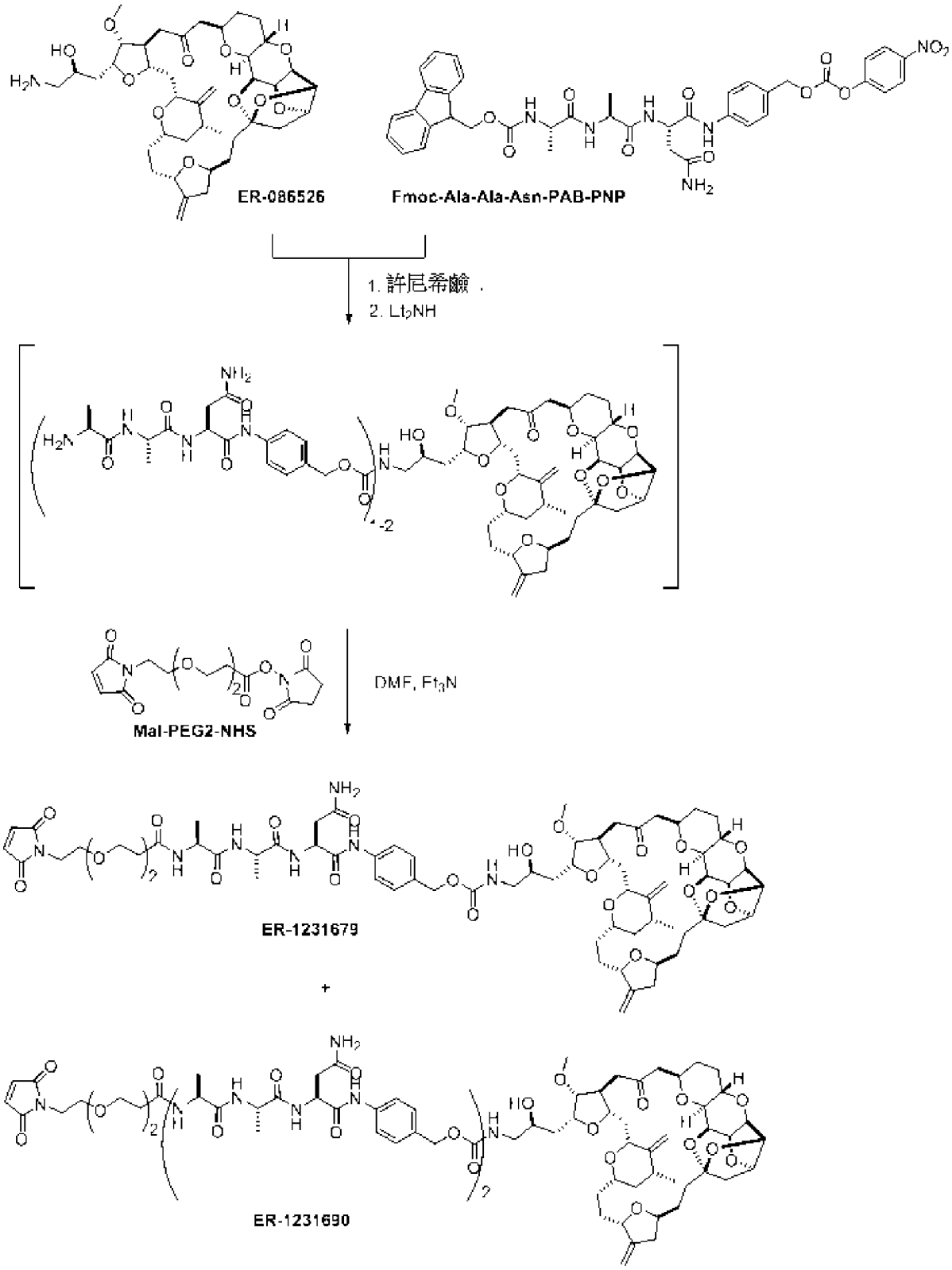
將疊氮化物-PEG3-VCP-艾日布林(ER-001243116) (9.6 mg，7.035 μmol)及3-(2-(2-(丙-2-炔-1-基氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯(6.61 mg，0.021 mmol)混合在水(0.6 mL)及第三丁醇(1.842 mL)中。混合物用N_2鼓泡45 min。將amberlyst-21上碘化銅(1.23 mmol/g，10 mg)添加至混合物且N_2鼓泡穿過混合物又30 min。接著將反應混合物在室溫下攪拌72小時，直至起始物質完成消耗。藉由LCMS分析未觀測到所需NHS酯產物，僅僅水解羧酸。混合物經短矽藻土墊過濾以移除CuI樹脂。濾液真空濃縮，且所得殘餘物藉由製備

型薄層層析法(製備型TLC) (20% MeOH/CH_2Cl_2)純化，得到呈白色固體狀之酸-PEG3-三唑-PEG3-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001243701)(3.7 mg，33%產率)。LCMS (ES) (M+H)=1581.2。

使酸-PEG3-三唑-PEG3-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001243701) (3.0 mg，1.898 μmol)溶解於DMF (200 μL)且添加1-羥基吡咯啶-2,5-二酮(0.437 mg，3.796 μmol)，接著添加1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)碳化二亞胺(EDC) (0.728 mg，3.796 μmol)。在室溫下攪拌18小時後，反應約完成50%。添加EDC (1.46 mg，7.8 μmol)，且將混合物再攪拌18小時，直至HPLC分析指示>95%轉變成NHS-PEG3-三唑-PEG3-Val-Cit-PAB-艾日布林。混合物真空濃縮，且殘餘物藉由製備型TLC (15% MeOH/CH_2Cl_2)純化，得到呈白色固體狀之NHS-PEG3-三唑-PEG3-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001243700)(2.2 mg，69%產率)。^{1}HNMR (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 8.00 (s, 1H), 7.59 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.13 (s, 1H), 5.04 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.02 (s, 1H), 5.00 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 4.87 (s, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.71 (t, J = 4.0 Hz, 1H), 4.63 (s, 2H), 4.61 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.57-4.55 (m, 2H), 4.51-4.45 (m, 1H), 4.32-4.28 (m, 2H), 4.21-4.17 (m, 2H), 4.13-4.10 (m, 2H), 3.98 (t, J = 10.8 Hz, 1H), 3.88-3.80 (m, 5H), 3.75-3.70 (m, 4H), 3.68-3.55 (m, 18H), 3.45-3.40 (m, 2H), 3.38 (s, 3H), 3.20-3.08 (m, 4H), 2.93-2.80 (m, 2H), 2.75-2.50 (m, 2H), 2.68 (s, 4H), 2.48-2.30 (m, 7H), 2.28-1.92 (m, 10H), 1.90-1.68 (m, 8H), 1.65-1.27 (m, 8H), 1.11 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.05-0.95 (m, 1H), 0.99 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 0.97 (d, J = 6.8 Hz, 3H)。LCMS (M+H)=1678.3。

1.8 製備Mal-PEG2-Ala-Ala-Asn-PAB-艾日布林(ER-001231679)

及Mal-PEG2-(Ala-Ala-Asn-PAB)2-艾日布林(ER-001231690)



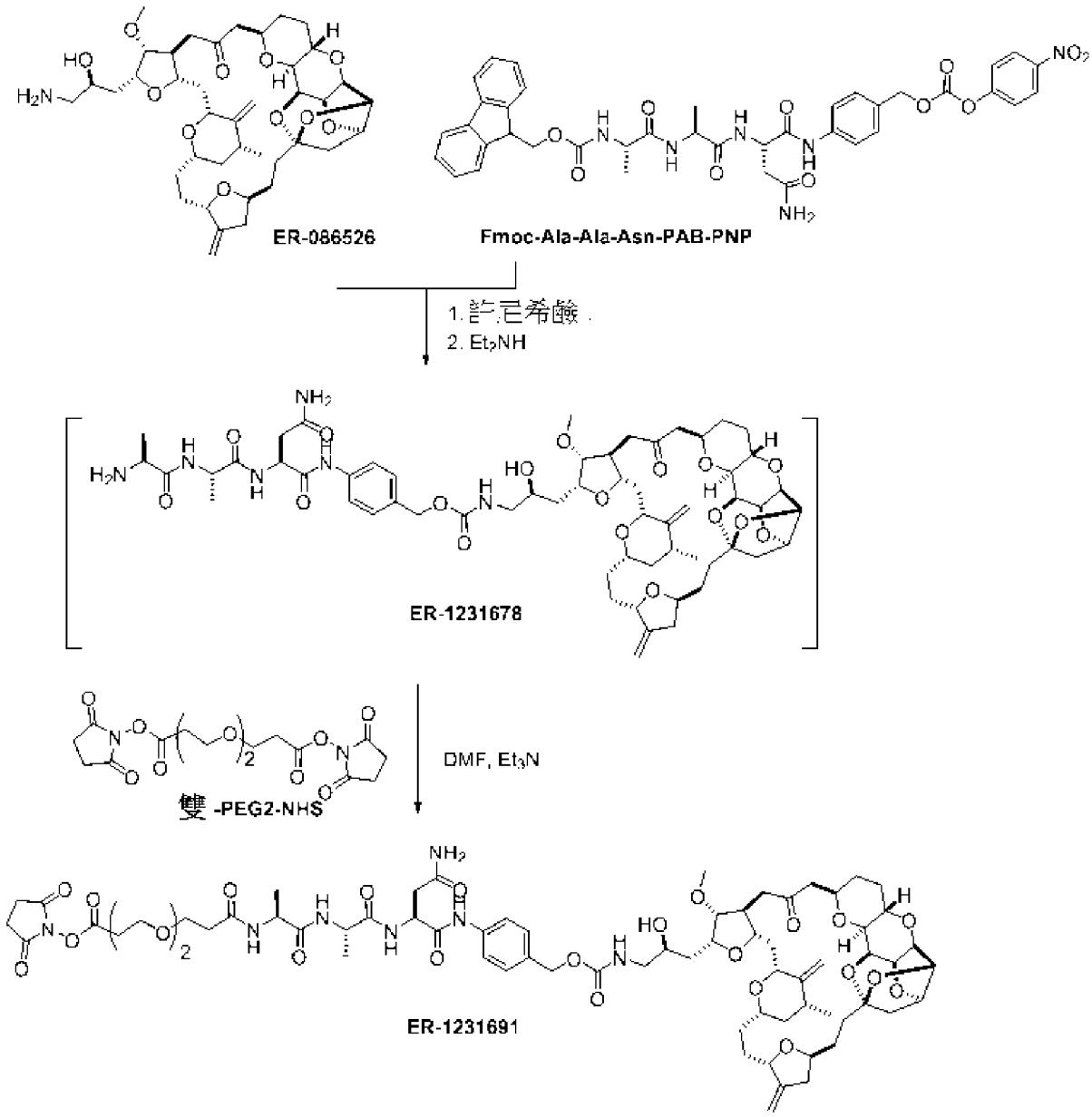
使艾日布林(ER-000086526) (10 mg，0.014 mmol)溶解於DMF (0.5 mL)，且與許尼希鹼(3.59 μL，0.021 mmol)混合。接著添加((S)-1-(((S)-1-(((S)-4-胺基-1-((4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)胺

基)-1,4-二側氧基丁-2-基)胺基)-1-側氧基丙-2-基)胺基)-1-側氧基丙-2-基)胺基甲酸(9H-茀-9-基)甲酯(15.76 mg，0.021 mmol)，且將所得黃色溶液在室溫下攪拌3天，直至HPLC分析指示起始物質完全耗盡。將二乙胺(14.23 μL，0.137 mmol)添加至反應混合物，其接著在室溫下再攪拌2小時，直至Fmoc保護基100%裂解。反應混合物濃縮以移除二乙胺，且殘餘物再溶於DMF (1.5 mL)中。在室溫下添加Et_3N (0.015 mL，0.11 mmol)，接著添加3-(2-(2-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)乙氧基)乙氧基)丙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯(9.71 mg，0.027 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌16小時，直至反應結束，如藉由LCMS分析確定。混合物真空濃縮，且藉由急驟層析法純化，得到呈無色油狀之Mal-PEG2-Ala-Ala-Asn-PAB-艾日布林(ER-001231679) (9.2 mg，49%產率)及Mal-PEG2-(Ala-Ala-Asn-PAB)2-艾日布林(ER-001231690) (6.0 mg，18%產率)。

Mal-PEG2-Ala-Ala-Asn-PAB-艾日布林(ER-001231679)：^{1}HNMR (400 MHz) δ ppm 9.23 (s, 1H), 8.00 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.61 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.38 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.24 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.13 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 6.68 (s, 2H), 6.30 (br s, 1H), 6.04-6.00 (m, 1H), 5.77 (br s, 1H), 5.42 (br s, 1H), 5.07 (s, 1H), 5.06-4.98 (m, 2H), 4.93 (s, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.90-4.82 (m, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.69 (t, J = 4.0 Hz, 1H), 4.60 (t, J = 4.0 Hz, 1H), 4.49-4.42 (m, 1H), 4.38-4.25 (m, 4H), 4.19 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 4.15-4.08 (m, 1H), 4.03 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 3.97-3.85 (m, 3H), 3.83-3.50 (m, 12H), 3.41 (s, 3H), 3.50-3.10 (m, 3H), 3.02-2.64 (m, 6H), 2.52-2.30 (m, 7H), 2.30-1.65 (m, 14H), 1.65-1.20 (m, 12H), 1.10 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.13-1.05 (m, 1H)。LCMS (M+Na)=1396.6。

Mal-PEG2-(Ala-Ala-Asn-PAB)2-艾日布林(ER-001231690)：^{1}HNMR (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 7.65 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.60 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.28 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.79 (s, 2H), 5.13 (s, 1H), 5.02 (s, 1H), 5.06-4.98 (m, 4H), 4.87 (s, 1H), 4.82 (s, 1H), 4.85-4.72 (m, 2H), 4.71 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 4.61 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.47 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 4.30-4.06 (m, 9H), 3.97 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 3.89-3.80 (m, 3H), 3.75-3.48 (m, 12H), 3.38 (s, 3H), 3.17 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 2.94-2.62 (m, 8H), 2.50-2.28 (m, 7H), 2.22-1.65 (m, 14H), 1.58-1.30 (m, 18H), 1.10 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.06-0.97 (m, 1H)。LCMS (M+Na)=1802.8。

1.9 製備NHS-PEG2-Ala-Ala-Asn-PAB-艾日布林(ER-001231691)

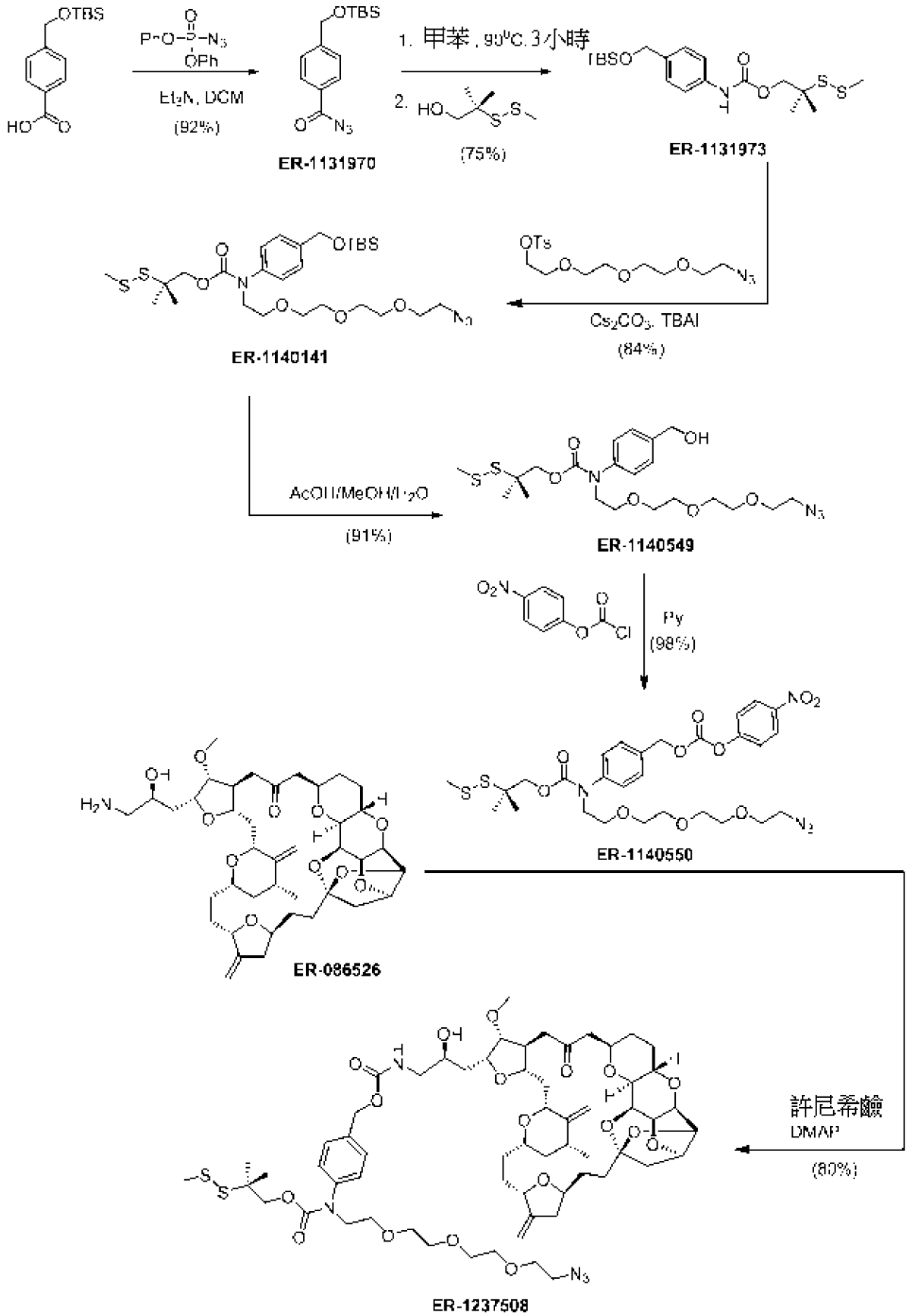


自艾日布林(ER-000086526)及Fmoc-Ala-Ala-Asn-PAB-PNP，使用與以上針對製備Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001228950)所述相同之程序，製備Ala-Ala-Asn-PAB-艾日布林(ER-001231678)(15 mg，產率定量)。LCMS (M+H)=1135.5。

自Ala-Ala-Asn-PAB-艾日布林(ER-001231678)及雙NHS-PEG2，使用與以上針對製備NHS-PEG2-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001236940)所述相同之程序，製備NHS-PEG2-Ala-Ala-Asn-PAB-艾日布林(ER-001231691)(12.4 mg，64%產率)。^{1}HNMR (400 MHz) δ ppm

9.21 (s, 1H), 7.95 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.58-7.52 (m, 1H), 7.28 (br s, 1H), 7.24 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.10 (br s, 1H), 6.29 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 5.83 (br s, 1H), 5.38 (br s, 1H), 5.07 (s, 1H), 5.05-4.95 (m, 2H), 4.93 (s, 1H), 4.88 (s, 1H), 4.90-4.83 (m, 1H), 4.81 (s, 1H), 4.69 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.60 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.46-4.41 (m, 1H), 4.36-4.25 (m, 4H), 4.19 (dd, J = 4.8, 6.0 Hz, 1H), 4.15-4.09 (m, 1H), 4.03 (dd, J = 4.8, 6.0 Hz, 1H), 3.99-3.89 (m, 3H), 3.85-3.50 (m, 10H), 3.41 (s, 3H), 3.40-3.10 (m, 3H), 3.01-2.60 (m, 10H), 2.60-2.35 (m, 7H), 2.35-1.65 (m, 14H), 1.65-1.20 (m, 14H), 1.10 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.15-1.03 (m, 1H)。LCMS (ES) (M+H)=1442.7。

1.10 製備疊氮化物-PEG3-二硫化物-PAB-艾日布林(ER-001237508)



使4-(((第三丁基二甲基矽烷基)氧基)甲基)苯甲酸(1.0 g, 3.754 mmol)溶於冷卻至0℃之二氯甲烷(DCM) (25 mL)。接著添加三乙胺

(0.549 mL，3.941 mmol)，接著添加疊氮磷酸二苯酯(1.085 mg，3.941 mmol)。反應混合物緩慢升溫至室溫且攪拌14小時。將粗混合物用乙酸乙酯(EtOAc)/Hep (1:1，100 mL)稀釋，且通過短二氧化矽塞，用EtOAc/Hep (50%)溶離。真空移除溶劑，得到1.10 g 4-(((第三丁基二甲基矽烷基)氧基)甲基)苯甲醯基疊氮化物(ER-001131970)。^{1}H NMR (400 MHz) δ ppm 7.98 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 7.40 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 4.79 (s, 2 H), 0.94 (s, 9 H), 0.10 (s, 6 H)。

將溶於甲苯(20 mL)中之4-(((第三丁基二甲基矽烷基)氧基)甲基)苯甲醯基疊氮化物(ER-001131970) (1.1 g, 3.775 mmol)在110℃下加熱3小時。雖然產物未展示為單個斑點，薄層層析(TLC)分析表明起始物質耗盡。接著反應混合物冷卻至室溫，且轉移至密封在氮氣下之小瓶且呈甲苯溶液儲存(1 mL = 32.6 mg)在-20℃下。

將三乙胺(0.099 mL，0.709 mmol)添加至第三丁基((4-異氰酸基苯甲基)氧基)二甲基矽烷(165 mg，0.626 mmol)於甲苯(5 mL)中之溶液，接著添加醇(90.0 mg，0.591 mmol)，且將反應混合物在36℃下攪拌6小時。藉由UPLC/MS監測反應進展。接著添加飽和碳酸氫鈉($NaHCO_3$)溶液(10 mL)，用EtOAc/Hep (1:1，60 mL)萃取，用鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，且濃縮。粗物質藉由急驟層析法(EtOAc/Hep 10%至40%)純化，得到215 mg (4-(((第三丁基二甲基矽烷基)氧基)甲基)苯基)胺基甲酸2-甲基-2-(甲基二硫基)丙酯(ER-001131973)。^{1}H NMR (400 MHz,) δ ppm 7.34 (d, 2 H, J = 8.4 Hz), 7.26 (d, 2 H, J = 7.6 Hz), 6.63 (br. s, 1 H), 4.69 (s, 2 H), 4.17 (s, 2 H), 2.42 (s, 3 H), 1.35 (s, 6 H), 0.93 (s, 9 H), 0.08 (s, 6 H)。

使(4-(((第三丁基二甲基矽烷基)氧基)甲基)苯基)胺基甲酸2-甲基-

2-(甲基二硫基)丙酯(ER-001131973) (198 mg，0.476 mmol)及4-甲基苯磺酸2-(2-(2-(2-疊氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙酯(325 mg，0.87 mmol)溶於DMF (6.6 mL)中。接著添加碳酸銫(621 mg，1.905 mmol)，接著添加碘化四丁基銨(45 mg，0.122 mmol)，且將反應混合物在36℃下攪拌15小時。藉由UPLC/MS監測反應進展。接著添加飽和NH_4Cl溶液(30 mL)，用EtOAc/Hep (2:1，150 mL)萃取，用鹽水(10 mL)洗滌，經硫酸鈉乾燥，且真空濃縮。粗物質藉由急驟層析法(EtOAc/Hep 20%至50%)純化，得到248 mg (2-(2-(2-(2-疊氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)(4-(((第三丁基二甲基矽烷基)氧基)甲基)苯基)胺基甲酸2-甲基-2-(甲基二硫基)丙酯(ER-001140141)。^{1}H NMR (400 MHz) δ ppm 7.28 (d, 2 H, J = 8.4 Hz), 7.20 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 4.73 (s, 2 H), 4.06 (br. s, 2 H), 3.83 (dd, 2 H, J = 6.4, 5.6 Hz), 3.68- 3.56 (m, 12 H), 3.37 (dd, 2 H, J = 5.6, 5.2 Hz), 2.33 (s, 3 H), 1.14 (br. s, 6 H), 0.93 (s, 9 H), 0.09 (s, 6 H)。

使(2-(2-(2-(2-疊氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)(4-(((第三丁基二甲基矽烷基)氧基)甲基)苯基)胺基甲酸2-甲基-2-(甲基二硫基)丙酯(ER-001140141) (81 mg，0.131 mmol)溶解於甲醇(5 mL)與水(0.5 mL)之混合物。接著將乙酸(0.5 mL，8.734 mmol)添加至反應混合物，且在38℃下攪拌14小時。反應混合物冷卻至室溫，且真空移除溶劑。殘餘物用EtOAc (30 mL)稀釋，用水(2×5 mL)、$NaHCO_3$及鹽水(3 mL)洗滌，經硫酸鈉乾燥，且真空濃縮。粗物質藉由急驟層析法(EtOAc/Hep 30%至90%)純化，得到61.0 mg (2-(2-(2-(2-疊氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)(4-(羥基甲基)苯基)胺基甲酸2-甲基-2-(甲基二硫基)丙酯(ER-001140549)。^{1}H NMR (400 MHz) δ ppm 7.34 (d, 2 H, J = 8.8 Hz), 7.26

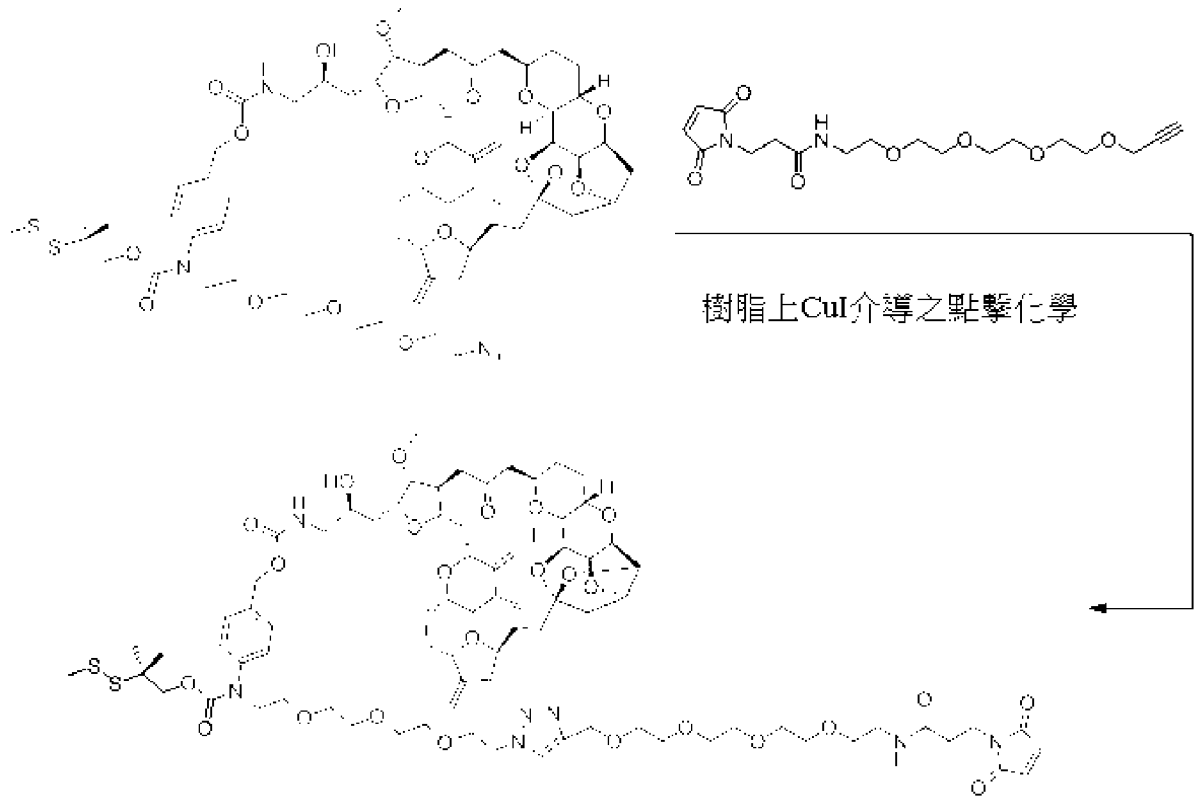
(d, 2 H, J = 8.0 Hz), 4.69 (d, 2 H, J = 4.4 Hz), 4.06 (br. s, 2 H), 3.84 (dd, 2 H, J = 6.2, 6.2 Hz), 3.66- 3.56 (m, 12 H), 3.37 (dd, 2 H, J = 5.2, 5.2 Hz), 2.33 (s, 3 H), 1.74 (br. s, 1 H), 1.14 (br. s, 6 H)。

使(2-(2-(2-(2-疊氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)(4-(羥基甲基)苯基)胺基甲酸2-甲基-2-(甲基二硫基)丙酯(ER-001140549) (60 mg，0.119 mmol)溶解於冷卻至0℃之DCM (2 mL)及Py (0.019 mL，0.239 mmol)。接著添加含氯甲酸4-硝基苯酯(38.5 mg，0.191 mmol)之DCM (2 mL)及二甲基胺基吡啶(DMAP) (2.9 mg，0.024 mmol)，且將反應混合物在0℃下攪拌30 min。反應混合物緩慢升溫至室溫，且攪拌直至起始物質耗盡(大約2.5小時)。接著溶劑真空移除，且殘餘物藉由急驟層析法(EtOAc/Hep 10%至35%)純化，得到78 mg (2-(2-(2-(2-疊氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)(4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)胺基甲酸2-甲基-2-(甲基二硫基)丙酯(ER-001140550)。^{1}H NMR (400 MHz) δ ppm 8.27 (dd, 2 H, J = 6.8, 2.4 Hz), 7.41 (d, 2 H, J = 8.8 Hz), 7.37 (dd, 2 H, J = 7.2, 2.4 Hz), 7.33(d, 2 H, J = 8.8 Hz), 5.27 (s, 2 H), 4.08 (br. s, 2 H), 3.85 (dd, 2 H, J = 5.8, 5.8 Hz), 3.66- 3.57 (m, 12 H), 3.36 (dd, 2 H, J = 5.2, 5.2 Hz), 2.33 (br. s, 3 H), 1.19 (br. s, 6 H)。

將含(2-(2-(2-(2-疊氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)(4-((((4-硝基苯氧基)羰基)氧基)甲基)苯基)胺基甲酸2-甲基-2-(甲基二硫基)丙酯(ER-001140550) (30 mg，0.045 mmol)之DCM (3 mL，46.625 mmol)置於氮氣下25 ml燒瓶，且冷卻至0℃。添加含胺(40.8 mg，0.049 mmol)之DCM (2 mL)及許尼希鹼(0.024 mL，0.135 mmol)，接著添加DMAP (1.4 mg，0.011 mmol)。反應混合物接著緩慢升溫至室溫，攪拌3小時，真空濃縮，且藉由急驟層析法(EtOAc/Hep 50%至100%，接著

MeOH/EtOAc 3%至8%)純化，得到45.0 mg純疊氮化物-PEG3-二硫化物-PAB-艾日布林(ER-001237508)。^{1}H NMR (400 MHz) δ ppm 7.32 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 7.25 (d, 2 H, J = 7.2 Hz), 5.28 (dd, 1 H, J = 5.6, 5.6 Hz), 5.11-5.04(m, 3 H), 4.93 (s, 1 H), 4.88 (s, 1 H), 4.81 (s, 1 H), 4.69 (dd, 1 H, J = 4.4, 4.4 Hz), 4.60 (dd, 1 H, J = 4.2, 4.2 Hz), 4.36 (br. s, 1 H), 4.33(dd, 1 H, J = 4.0, 2.0), 4.29 (ddd, 1 H, J = 9.6, 4.4, 4.4 Hz), 4.18 (dd, 1 H, J = 6.4, 4.4 Hz), 4.14-4.04(m, 3 H), 4.03 (dd, 1 H, J = 6.4, 4.4 Hz), 3.97-3.89(m, 3 H), 3.84-3.78(m, 3 H), 3.67-3.56(m, 14 H), 3.42 (s, 3 H), 3.40-3.35(m, 1 H), 3.37 (dd, 2 H, J = 5.2, 5.2 Hz), 3.27 (d, 1 H, J = 3.2 Hz), 3.20 (ddd, 1 H, J = 12.8, 6.0, 6.0 Hz), 2.91-2.83(m, 2 H), 2.70 (dd, 1 H, J = 16.0, 10.0 Hz), 2.52-2.2.40(m, 3 H), 2.35-2.13(m, 9 H), 2.10-2.06(m, 1 H), 2.01-1.89(m, 4 H), 1.78-1.64(m, 4 H), 1.60-1.52(m, 4 H), 1.49-1.28(m, 5 H), 1.22-1.07(m, 6 H), 1.09 (d, 3 H, J = 6.0 Hz)。

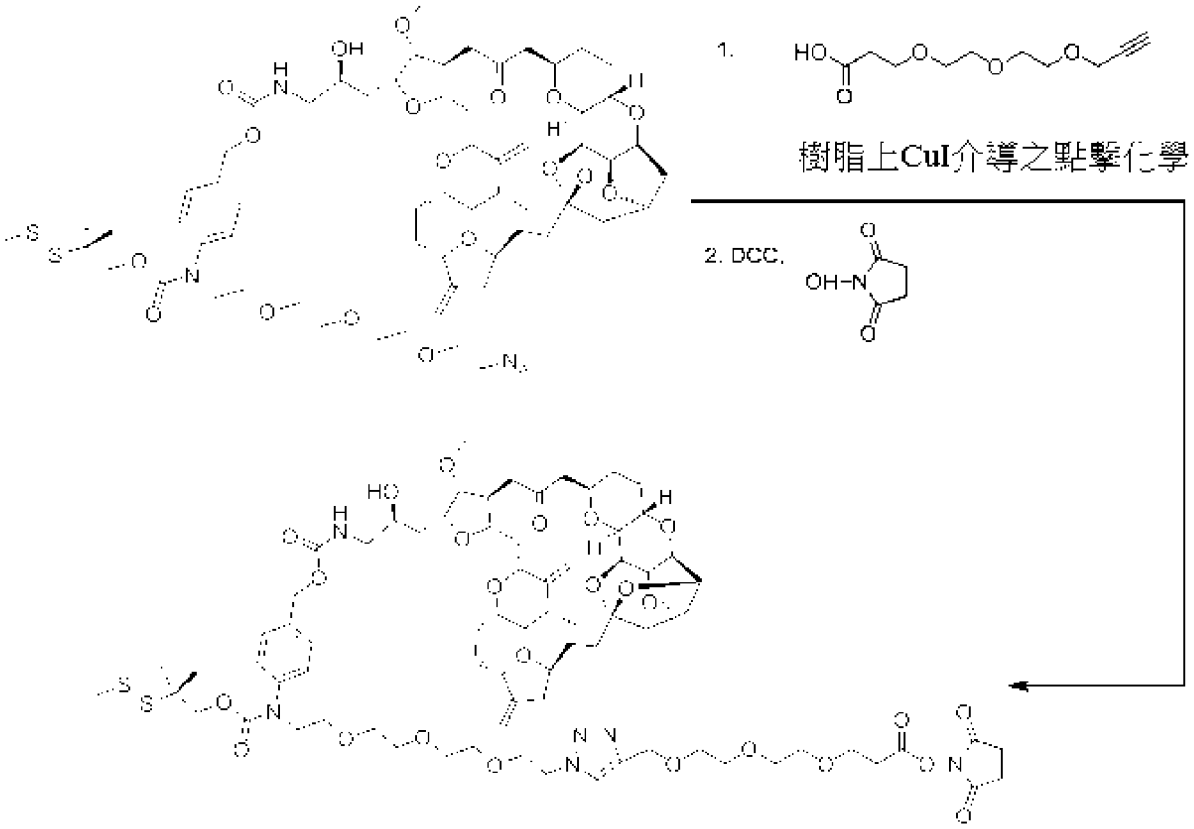
1.11 製備Mal-PEG4-三唑-PEG3-二硫化物-PAB-艾日布林(ER-001237504)



使疊氮化物(9.0 mg，7.151 μmol)及3-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-(3,6,9,12-四氧雜十五-14-炔-1-基)丙醯胺(6.8 mg，0.018 mmol)於第三丁醇(1.5 mL)及水(0.5 mL)中之混合物脫氣45 min。接著添加amberlyst-21 (1.23 mmol/g, 10 mg)上碘化銅，且再脫氣30 min。將反應混合物在室溫下攪拌18小時，且藉由UPLC/MS監測。大部分起始物質耗盡，且所需產物展示為主要峰。混合物接著自樹脂分離，且在HPLC (乙腈/水，含0.05%甲酸)上純化，得到1.5 mg Mal-PEG4-三唑-PEG3-二硫化物-PAB-艾日布林(ER-001237504)。^{1}H NMR (400 MHz) δ ppm 7.74 (s, 1 H), 7.32 (d, 2 H, J = 8.4 Hz), 7.27-7.25 (m, 2 H), 6.69 (br. s, 2 H),5.43 (dd, 1 H, J = 5.6, 5.6 Hz), 5.14-5.06(m, 3 H), 4.95 (s, 1 H), 4.89 (s, 1 H), 4.82 (s, 1 H), 4.70 (dd, 1 H, J = 4.4, 4.4 Hz), 4.66 (s, 2 H), 4.62 (dd, 1 H, J = 4.4, 4.4 Hz), 4.52(dd, 1 H, J = 5.2, 5.2 Hz), 4.38-4.31 (m, 2 H), 4.30 (ddd, 1 H, J = 10.4, 4.0, 4.0 Hz), 4.20 (dd, 1 H, J = 6.4, 4.4 Hz), 4.16-4.05(m, 3 H), 4.04 (dd, 1 H, J = 6.4, 4.4 Hz),

3.99-3.91(m, 3 H), 3.87-3.80(m, 6 H), 3.70-3.59(m, 22 H), 3.53 (dd, 2 H, J = 5.2, 5.2 Hz), 3.44 (s, 3 H), 3.43-3.36(m, 3 H), 3.29 (d, 1 H, J = 2.8 Hz), 3.18 (ddd, 1 H, J = 12.9, 6.2, 6.2 Hz), 2.92-2.84(m, 2 H), 2.72 (dd, 1 H, J = 16.0, 10.0 Hz), 2.54-2.2.42(m, 5 H), 2.37-1.90(m, 19 H), 178-1.52(m, 3 H), 1.150-1.14(m, 16 H), 1.10 (d, 3 H, J = 6.0 Hz)。LCMS (M+H)=1642.1。

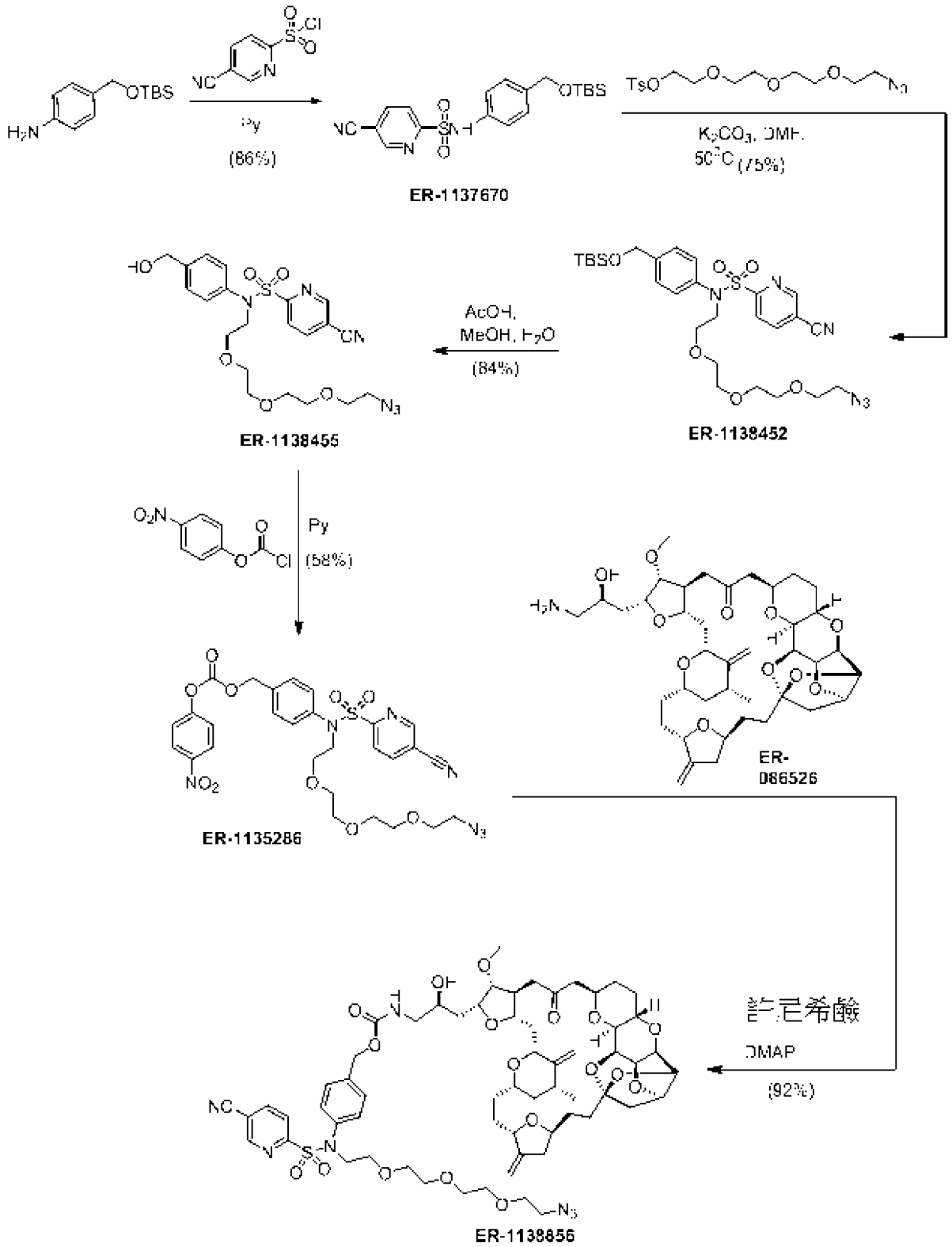
1.12 製備NHS-PEG3-三唑-PEG3-二硫化物-PAB-艾日布林(ER-001244129)



使疊氮化物(9 mg，7.151 μmol)及3-(2-(2-(丙-2-炔-1-基氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯(4.5 mg，14.30 μmol)於第三丁醇(1 mL)及水(0.5 mL)中之混合物脫氣45 min。接著添加amberlyst-21上碘化銅(1.23 mmol/g，10 mg，7.151 μmol)，且再脫氣30 min。將反應混合物在室溫下攪拌18小時，且藉由UPLC/MS監測。

大部分起始物質耗盡，且所需產物展示為主要峰。混合物接著藉由過濾自樹脂分離，用DCM (15 mL)萃取，用鹽水(3×3 mL)洗滌，經硫酸鈉乾燥，且真空濃縮。殘餘物(5 mg，3.39 μmol)與甲苯共沸，溶於THF (1 mL)，且冷卻至0℃。添加DCC (4.2 mg，0.02 mmol)，接著添加1-羥基吡咯啶-2,5-二酮(2.2 mg，0.019 mmol)，且將反應混合物在室溫下攪拌18小時。大部分起始物質耗盡，且如藉由UPLC/MS確定，所需產物展示為主要峰。反應混合物接著濃縮且在製備型TLC (DCM/異丙醇，8%)上純化，得到2.5 mg呈無色油狀之NHS-PEG3-三唑-PEG3-二硫化物-PAB-艾日布林(ER-001244129)。^{1}H NMR (400 MHz, CD_2Cl_2) δ ppm 7.72 (s, 1 H), 7.32 (d, 2 H, J = 8.8 Hz), 7.25 (d, 2 H, J = 8.8 Hz), 5.08-5.04(m, 3 H), 4.93 (s, 1 H), 4.85 (s, 1 H), 4.78 (s, 1 H), 4.64 (dd, 1 H, J = 4.4, 4.4 Hz), 4.58 (s, 2 H), 4.55 (dd, 1 H, J = 4.4, 4.4 Hz), 4.48 (dd, 2 H, J = 5.0, 5.0 Hz), 4.32 (d, 1 H, J = 6.6 Hz), 4.27-4.22(m, 2 H), 4.14 (dd, 1 H, J = 6.6, 4.8 Hz), 4.10-4.01(m, 3 H), 4.00 (dd, 1 H, J = 6.8, 4.4 Hz), 3.92-3.78(m, 9 H), 3.65-3.53(m, 19 H), 3.44-3.39(m, 4 H), 3.37 (s, 3 H), 3.26 (d, 1 H, J = 3.2 Hz), 3.13 (ddd, 1 H, J = 12.4, 6.0, 6.0 Hz), 2.91-2.73(m, 11 H), 2.70-2.64(m, 2 H), 2.54-2.41(m, 3 H), 2.38-1.80(m, 16 H), 1.74-1.52(m, 3 H), 1.41-1.13(m, 10 H), 1.07 (d, 3 H, J = 6.4 Hz)。LCMS (M+H)=1572.3。

1.13 製備疊氮化物-PEG3-磺醯胺-PAB-艾日布林(ER-001138856)



使4-(((第三丁基二甲基矽烷基)氧基)甲基)苯胺(315 mg，1.327 mmol)溶解於冷卻至0℃之DCM (10 mL)。接著添加吡啶(0.268 mL，3.317 mmol)，接著經15 min添加含5-氰基吡啶-2-磺醯氯(365 mg，1.801 mmol)之DCM (10 mL)。反應混合物經1小時緩慢升溫至室溫，

且攪拌2小時。反應混合物用EtOAc (50 mL)稀釋，用鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，且真空濃縮，得到610 mg (103%) N-(4-(((第三丁基二甲基矽烷基)氧基)甲基)苯基)-5-氰基吡啶-2-磺醯胺(ER-001137670)。粗產物理論上純，不過有顏色。^{1}H NMR (400 MHz) δ ppm 8.94 (dd, 1 H, J = 1.8, 0.6 Hz), 8.10 (dd, 1 H, J = 8.4, 2.0 Hz), 7.99 (dd, 1 H, J = 8.0, 0.8 Hz), 7.18 (d, 2 H, J = 8.2 Hz), 7.15 (br. s, 1 H), 7.11 (dd, 2 H, J = 6.8, 0.8 Hz), 4.64 (s, 2 H), 0.90 (s, 9 H), 0.05 (s, 6 H)。

N-(4-(((第三丁基二甲基矽烷基)氧基)甲基)苯基)-5-氰基吡啶-2-磺醯胺(ER-001137670) (105.0 mg，0.26 mmol)及4-甲基苯磺酸2-(2-(2-(2-疊氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙酯(143 mg，0.383 mmol)溶於DMF (4 mL)中。接著添加碳酸鉀(K_2CO_3) (144 mg，1.041 mmol)，接著碘化四丁基銨(19.2 mg，0.052 mmol)，且將反應混合物在50℃下攪拌36小時。藉由UPLC/MS監測反應進展。添加飽和NH_4Cl溶液(10 mL)，用EtOAc/Hep (2:1，30 mL)萃取，用鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，且濃縮。粗物質藉由急驟層析法(EtOAc/Hep 25%至80%)純化，得到118.0 mg N-(2-(2-(2-(2-疊氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)-N-(4-(((第三丁基二甲基矽烷基)氧基)甲基)苯基)-5-氰基吡啶-2-磺醯胺(ER-001138452) (75%)。^{1}H NMR (400 MHz) δ ppm 8.99 (dd, 1 H, J = 1.8, 0.6 Hz), 8.08 (dd, 1 H, J = 8.2, 2.2 Hz), 7.86 (dd, 1 H, J = 8.0, 0.8 Hz), 7.24 (d, 2 H, J = 10 Hz), 7.09 (d, 2 H, J = 8.8 Hz), 4.69 (s, 2 H), 4.06 (dd, 2 H, J = 6.0, 6.0 Hz), 3.67 (dd, 2 H, J = 5.2, 5.2 Hz), 3.65 - 3.62 (m, 4 H), 3.58 (dd, 2 H, J = 6.2, 6.2 Hz), 3.56 - 3.53 (m, 4 H), 3.38 (dd, 2 H, J = 5.2, 5.2 Hz), 0.93 (s, 9 H), 0.08 (s, 6 H)。

使N-(2-(2-(2-(2-疊氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)-N-(4-(((第三

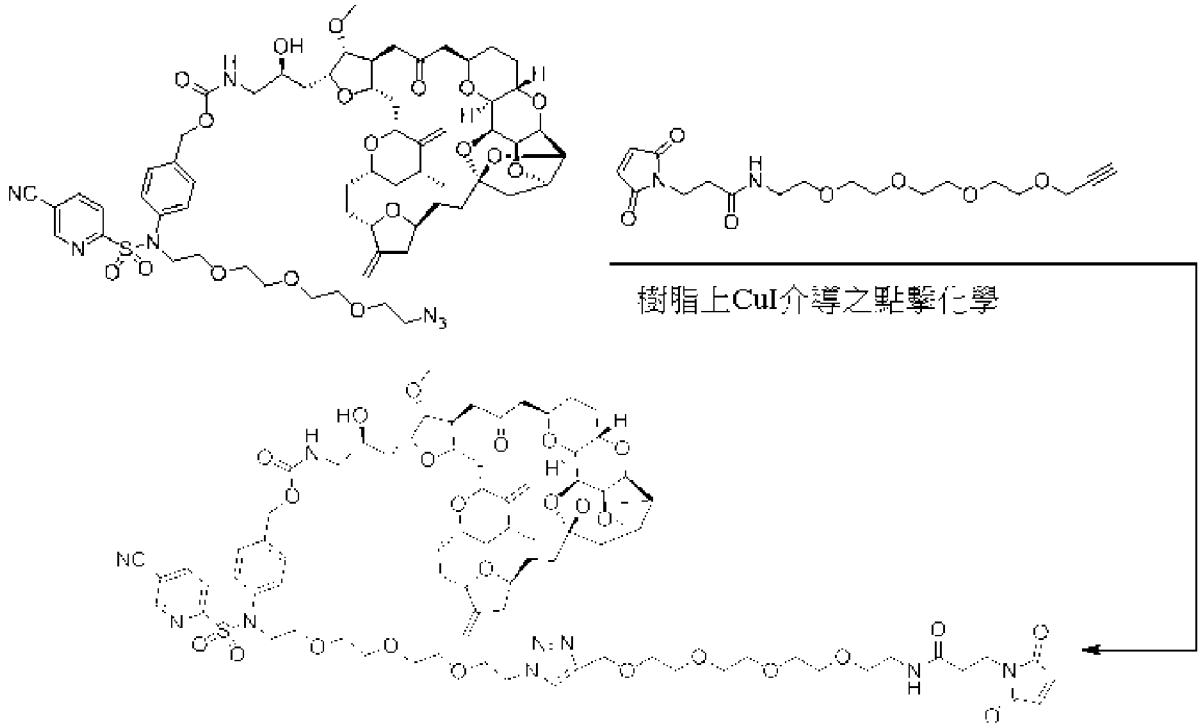
丁基二甲基矽烷基)氧基)甲基)苯基)-5-氰基吡啶-2-磺醯胺(ER-001138452) (150 mg，0.248 mmol)溶解於甲醇(6 mL)。接著添加水(0.60 mL)，接著添加乙酸(AcOH) (0.60 mL，10.481 mmol)。反應混合物緩慢升溫至38℃，且攪拌14小時。真空移除大部分溶劑。殘餘物用EtOAc (30 mL)稀釋，用水(2×5 mL)、$NaHCO_3$及鹽水洗滌，經硫酸鈉乾燥，且真空濃縮。粗物質藉由急驟層析法(EtOAc/Hep 35%至90%)純化，得到105.0 mg N-(2-(2-(2-(2-疊氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)-5-氰基-N-(4-(羥基甲基)苯基)吡啶-2-磺醯胺(ER-001138455) (84%)。^{1}H NMR (400 MHz) δ ppm 8.99 (d, 1 H, J = 1.2 Hz), 8.09 (dd, 1 H, J = 8.4, 2.0 Hz), 7.88 (dd, 1 H, J = 8.4, 0.8 Hz), 7.30 (d, 2 H, J = 8.8 Hz), 7.15 (d, 2 H, J = 8.4 Hz), 4.67 (s, 2 H), 4.06 (dd, 2 H, J = 6.2, 6.2 Hz), 3.66 (dd, 2 H, J = 5.0, 5.0 Hz), 3.65 - 3.58 (m, 6 H), 3.55 - 3.51 (m, 4 H), 3.38 (dd, 2 H, J = 5.2, 5.2 Hz。

使N-(2-(2-(2-(2-疊氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)-5-氰基-N-(4-(羥基甲基)苯基)吡啶-2-磺醯胺(ER-001138455) (45 mg，0.092 mmol)溶解於DCM (3 mL)，且在添加吡啶(0.015 mL，0.183 mmol)後冷卻至0℃。接著添加含氯甲酸4-硝基苯酯(20.3 mg，0.101 mmol)之DCM (2 mL)及DMAP (2.3 mg，0.018 mmol)。反應混合物緩慢升溫至室溫且攪拌2小時。UPLC/MS指示剩餘一些起始物質。反應混合物接著真空濃縮，且藉由急驟層析法(EtOAc/Hep 12%至40%)純化，得到35 mg碳酸4-((N-(2-(2-(2-(2-疊氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)-5-氰基吡啶)-2-磺醯胺基)苯甲酯(4-硝基苯基)酯(ER-001235286) (58%)及20 mg起始物質。^{1}H NMR (400 MHz) δ ppm 8.99 (d, 1 H, J = 0.8 Hz), 8.27 (dd, 2 H, J = 9.2, 2.0 Hz), 8.12 (dd, 1 H, J = 7.6, 2.0 Hz), 7.92 (d, 1 H, J

= 8.4 Hz), 7.38 (d, 4 H, J = 9.6 Hz), 7.26 (d, 2 H, J = 8.8 Hz), 5.45 (s, 2 H), 4.06 (dd, 2 H, J = 5.8, 5.8 Hz), 3.67 - 3.58 (m, 8 H), 3.58 - 3.50 (m, 4 H), 3.38 (dd, 2 H, J = 6.1, 6.1 Hz)。

碳酸4-(N-(2-(2-(2-(2-疊氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)-5-氰基吡啶-2-磺醯胺基)苯甲酯(4-硝基苯基)酯(ER-001235286) (35.0 mg，0.053 mmol)置於氮氣下25 mL燒瓶中，且冷卻至0℃。接著添加含胺(48.5 mg，0.059 mmol)之DCM (3 mL，46.625 mmol)及許尼希鹼(0.037 mL，0.214 mmol)，接著添加DMAP (2.61 mg，0.021 mmol)。將反應混合物在0℃下攪拌30 min，且接著在室溫下再攪拌6小時。反應混合物真空濃縮，且藉由急驟層析法(EtOAc/Hep 50%至100%，接著MeOH/EtOAc 3%至8%)純化，得到61.0 mg醇疊氮化物-PEG3-磺醯胺-PAB-艾日布林(ER-001138856)。^{1}H NMR (400 MHz) δ ppm 8.98 (d, 1 H, J = 1.2 Hz), 8.10 (dd, 1 H, J = 8.2, 1.8 Hz), 7.87 (d, 1 H, J = 8.0 Hz), 7.26 (d, 2 H, J = 6.8 Hz), 7.13 (d, 2 H, J = 8.4 Hz), 5.29 (dd, 1 H, J = 5.6, 5.6 Hz), 5.08-5.00(m, 3 H), 4.92 (s, 1 H), 4.87 (s, 1 H), 4.80 (s, 1 H), 4.68 (dd, 1 H, J = 4.6, 4.6 Hz), 4.59 (dd, 1 H, J = 4.6, 4.6 Hz), 4.38-4.30 (m, 2 H), 4.28 (ddd, 1 H, J = 10.4, 4.0, 4.0, Hz), 4.17 (dd, 1 H, J = 6.2, 4.6 Hz), 4.13-4.01(m, 4 H), 3.97-3.88(m, 3 H), 3.82-3.78(m, 1 H), 3.67-3.50(m, 15 H), 3.41 (s, 3 H), 3.40-3.33(m, 1 H), 3.37 (dd, 2 H, J = 4.8, 4.8 Hz), 3.27 (d, 1 H, J = 3.2 Hz), 3.15 (ddd, 1 H, J = 12.8, 6.4, 6.4 Hz), 2.90-2.82(m, 2 H), 2.70 (dd, 1 H, J = 16.0, 10.0 Hz), 2.51-2.2.40(m, 3 H), 2.34-2.13(m, 7 H), 2.10-2.05(m, 1 H), 1.99-1.88(m, 4 H), 1.78-1.64(m, 5 H), 1.62-1.52(m, 2 H), 1.50-1.29(m, 4 H), 1.08 (d, 3 H, J = 6.8 Hz)。

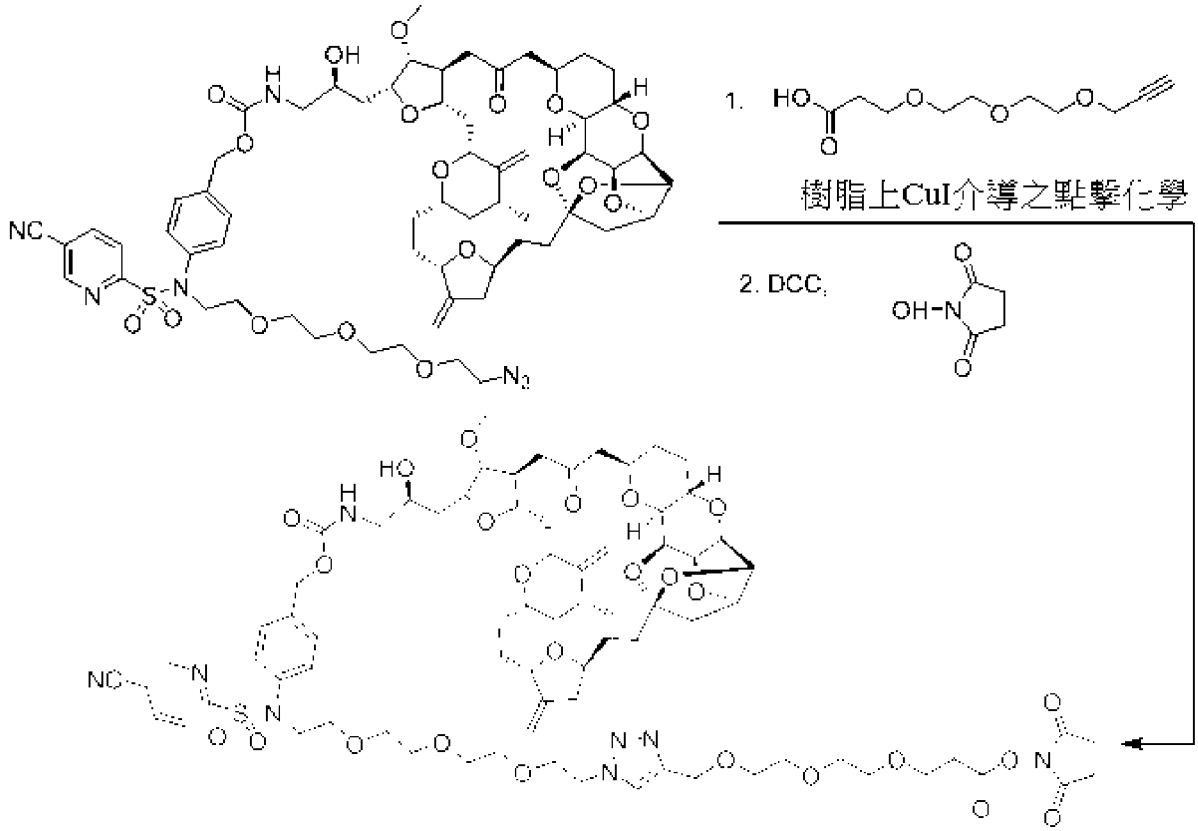
1.14 製備Mal-PEG4-三唑-PEG3-磺醯胺-PAB-艾日布林(ER-001237505)



使疊氮化物(10 mg，8.023 μmol)及3-(2,5-二側氧基-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)-N-(3,6,9,12-四氧雜十五-14-炔-1-基)丙醯胺(9.20 mg，0.024 mmol)於第三丁醇(2.1 mL)及水(0.7 mL)中之混合物脫氣45 min。接著添加amberlyst-21上之碘化銅(1.23 mmol/g，15 mg)，且再脫氣30 min。將反應混合物在室溫下攪拌18小時，且藉由UPLC/MS監測。大部分起始物質耗盡，且所需產物展示為主要峰。反應混合物接著自樹脂分離，且在製備型TLC (DCM/甲醇，7%)上純化，得到5.5 mg Mal-PEG4-三唑-PEG3-磺醯胺-PAB-艾日布林(ER-001237505)。^{1}H NMR (400 MHz, CD_2Cl_2) δ ppm 9.01 (s, 1 H), 8.15 (dd, 1 H, J = 8.0, 1.8 Hz), 7.87 (d, 1 H, J = 8.0 Hz), 7.75 (s, 1 H), 7.28 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 7.14 (d, 2 H, J = 8.4 Hz), 6.68 (s, 2 H), 6.47 (br. s, 1 H), 5.44 (br. s, 1 H), 5.10-5.02(m, 3 H), 4.94 (s, 1 H), 4.86 (s, 1 H), 4.80 (s, 1 H), 4.68 (dd, 1 H, J = 4.4, 4.4 Hz), 4.59 (s, 2 H), 4.56 (dd, 1 H, J = 4.4, 4.4 Hz),

4.51(dd, 2 H, J = 5.2, 5.2, Hz), 4.34(d, 1 H, J = 7.6, Hz), 4.30-4.23(m, 2 H), 4.19 - 4.14(m, 2 H), 4.08 (dd, 1 H, J = 4.0, 4.0 Hz), 4.03 - 3.98(m, 2 H), 3.94 - 3.72(m, 8 H), 3.68 - 3.46(m, 28 H), 3.38(s, 3 H), 3.38 - 3.33(m, 3 H), 3.27 (d, 1 H, J = 3.2 Hz), 3.16 - 3.02(m, 2 H), 2.90 - 2.81(m, 2 H),2.68 (dd, 1 H, J = 16.2, 9.8 Hz), 2.54-2.40(m, 7H), 2.40-1.8(m, 11 H), 1.80-1.50(m, 3 H), 1.48-1.25(m, 3 H), 1.09 (d, 3 H, J = 6.4 Hz)。LCMS (M+H)=1630.0。

1.15 製備NHS-PEG3-三唑-PEG3-磺醯胺-PAB-艾日布林(ER-001244623)



使疊氮化物(14 mg，0.011 mmol)及3-(2-(2-(丙-2-炔-1-基氧基)乙氧基)乙氧基)丙酸2,5-二側氧基吡咯啶-1-基酯(8.80 mg，0.028 mmol)於第三丁醇(2 mL)及水(1 mL)中之混合物脫氣45 min。接著添加amberlyst-21上之碘化銅(1.23 mmol/g，20 mg)，且再脫氣30 min。將

反應混合物在室溫下攪拌18小時，且藉由UPLC/MS監測。大部分起始物質耗盡，且所需產物展示為主要峰。反應混合物接著藉由用DCM (2×10 mL)萃取自樹脂分離。DCM層用鹽水(4×5 mL)洗滌，經硫酸鈉乾燥，且濃縮成所需產物(其未經任何進一步純化即用於下一步)。

使粗酸(15.0 mg，10.255 μmol)溶解於THF (1.5 mL)，且冷卻至0 ℃。接著添加DCC (15.2 mg，0.074 mmol)，接著添加1-羥基吡咯啶-2,5-二酮(8.3 mg，0.072 mmol)。將反應混合物在室溫下攪拌18小時。UPLC/MS指示大部分起始物質耗盡，且所需產物展示為主要峰。反應混合物濃縮，且在製備型TLC (DCM/異丙醇，8%)上純化，得到2.5 mg NHS-PEG3-三唑-PEG3-磺醯胺-PAB-艾日布林(ER-001244623)。^{1}H NMR (400 MHz, CD_2Cl_2) δ ppm9.00 (s, 1 H), 8.12 (d, 1 H, J = 8.4 Hz), 8.00 (d, 1 H, J = 8.0 Hz), 7.72 (s, 1 H), 7.26 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 7.12 (d, 2 H, J = 8.0 Hz), 5.37 (br. s, 1 H), 5.08-5.02(m, 3 H), 4.93 (s, 1 H), 4.85 (s, 1 H), 4.78 (s, 1 H), 4.66-4.62(m, 1 H), 4.58-4.56(m, 4 H), 4.33 (d, 1 H, J = 10.8 Hz), 4.29-4.21(m, 2 H), 4.10-3.96(m, 4 H), 3.93-3.76(m, 6 H), 3.74-3.44(m, 27 H), 3.36 (s, 3 H), 3.34-3.24(m, 2 H), 3.15-3.06(m, 1 H), 2.97 (br. s, 1 H), 2.90-2.78(m, 8 H), 2.74-2.08(m, 13 H), 2.05 -1.78(m, 5 H), 1.73-1.50(m, 2 H), 1.41-1.25(m, 4 H), 1.07 (d, 3 H, J = 6.0 Hz)。LCMS (M+H)=1560.0。

1.16 製備Mal-PEG2-艾日布林

使艾日布林(5 mg，7 μmol)溶解於DMF (0.5 mL)，且與順丁烯二醯亞胺基-PEG2-NHS (5 mg，14 μmol；Broadpharm，目錄號BP-21680)及許尼希鹼(2.4 μL，14 μmol)混合。將反應混合物在室溫下攪

拌2小時。反應混合物接著藉由HPLC (水-乙腈梯度30-70%，含有0.1%甲酸)純化。溶離劑以質量計來收集，且凍乾至乾燥。最終產率為3.7 mg (3.8 μmol，54%)。預測精確質量為968.5 Da。量測質量為969.6 Da [M+H]。

1.17 製備Mal-PEG4-艾日布林

使艾日布林(5 mg，7 μmol)溶解於DMF (0.5 mL)，且與順丁烯二醯亞胺基-PEG4-NHS (6.2 mg，14 μmol；Broadpharm，目錄號BP-20554)及許尼希鹼(2.4 μL，14 μmol)混合。將反應混合物在室溫下攪拌2小時。反應混合物接著藉由HPLC (水-乙腈梯度30-70%，含有0.1%甲酸)純化。溶離劑以質量計來收集，且凍乾至乾燥。最終產率為3.7 mg (3.5 μmol，50%)。預測精確質量為1056.5 Da。量測質量為1057.7 Da [M+H]。

1.18 製備疊氮基-PEG2-艾日布林

使艾日布林(5 mg，7 μmol)溶解於DMF (0.5 mL)，且與疊氮基-PEG2-NHS (4.2 mg，14 μmol；Broadpharm，目錄號BP-20524)及許尼希鹼(2.4 μL，14 μmol)混合。將反應混合物在室溫下攪拌2小時。反應混合物接著藉由HPLC (水-乙腈梯度30-70%，含有0.1%甲酸)純化。溶離劑以質量計來收集，且凍乾至乾燥。最終產率為2.2 mg (2.4 μmol，34%)。預測精確質量為914.5 Da。量測質量為915.7 Da [M+H]。

1.19 製備疊氮基-PEG4-艾日布林

使艾日布林(5 mg，7 μmol)溶解於DMF (0.5 mL)，且與疊氮基-PEG4-NHS (5.5 mg，14 μmol；Broadpharm，目錄號BP-20518)及許尼希鹼(2.4 μL，14 μmol)混合。將反應混合物在室溫下攪拌2小時。反

應混合物接著藉由HPLC (水-乙腈梯度30-70%，含有0.1%甲酸)純化。溶離液以質量計來收集，且凍乾至乾燥。最終產率為3.0 mg (3.0 μmol，43%)。預測精確質量為1002.5 Da。量測質量為1003.7 Da [M+H]。

1.20 製備疊氮基-PEG4-Val-Cit-PAB-艾日布林

使艾日布林(15 mg，21 μmol)溶解於DMF (1.5 mL)，且充分混合接著添加。許尼希鹼(5.5 μL，32μmol)及Fmoc-VCP-PNP (24 mg，22 μmol；Levena Biopharma，目錄號VC1003)。將反應混合物在室溫下攪拌隔夜(16小時)。反應結束後，將二乙胺(20 μL，0.21 mmol)添加至反應混合物，且在室溫下攪拌2小時以移除Fmoc保護基。使用Waters SQD質譜儀監測脫除保護基反應。反應結束後，將反應混合物轉移至預稱重之1.5 mL微量離心管。使用冷凍Centrivap濃縮器將溶劑真空蒸發，溫度設定在30℃。產率為16 mg (14 μmol)粗NH2-Val-Cit-pAB-艾日布林(精確質量1134.6 Da，67%產率)。

使NH2-Val-Cit-pAB-艾日布林(16 mg，14.1 μmol)溶解於DMF (1.5 mL)。接著添加許尼希鹼(7.2 μL，41 μmol)及疊氮基-PEG4-NHS (11 mg，28.2 μmol)。將反應混合物在室溫下攪拌3小時。反應混合物接著藉由HPLC (水-乙腈梯度48-72%，含有0.1%甲酸)純化。在m/z 1409下收集溶離液，且凍乾得到疊氮基-PEG4-Val-Cit-PAB-艾日布林(精確質量1407.7 Da)。獲得13 mg (9.2 μmol)疊氮基-PEG4-Val-Cit-PAB-艾日布林(65%分步產率，整體44%)。

實例4

1. 材料與方法

除非另有指示，否則所有使用之試劑均自商業供應者以研究級別

或更高級別獲得。

1.1 抗體

用於以下研究中之MORAb-003 (人類化抗人類葉酸受體α，25 mg/mL)及MORAb-009 (小鼠-人類嵌合抗人類間皮素，25 mg/mL)分別來自貨號NB02962-19及貨號030A14。曲妥珠單抗可購得(Clingen)，且來自貨號503345。

在LCcys80具有未配對半胱胺酸之兔-人類嵌合及人類化抗人類間皮素抗體(表1)在293F細胞中短暫表現或表現為穩定選擇之彙集物。條件培養基如部分1.4.1.2.1中所述純化及去半胱胺酸化。

1.2 細胞毒素

可結合艾日布林化合物如實例3中所述合成(表46)。原料(10 mM)在DMSO中製備且儲存在-20℃下，直至使用。

1.3 腫瘤細胞株

在MORAb-003、MORAb-009及用順丁烯二醯亞胺基/丁二醯亞胺(OSu)/疊氮基-連接子-艾日布林化合物製備之曲妥珠單抗ADC (表46)之分析中使用的人類腫瘤細胞株包括IGROV1 (人類卵巢癌，FR^{hi}、$MSLN^{neg}$)、NCI-H2110 (人類非小細胞肺癌，FR^{med}、$MSLN^{med}$)、A431 (FR^{neg}、$MSLN^{neg}$)、NCI-N87-luc (人類胃癌，FR^{lo}、$MSLN^{med}$、$her2^{hi}$)、NUGC3 (人類胃腺癌，FR^{neg}、$MSLN^{neg}$、$her2^{neg}$)、ZR75 (人類乳房導管癌，FR^{neg}、$MSLN^{neg}$、$her2^{med}$)及BT-474 (人類乳房導管癌，FR^{neg}、$MSLN^{neg}$、$her2^{hi}$)。在與MAL-PEG2-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001159569)結合之兔-人類嵌合及人類化抗人類間皮素LCcys 80抗體之分析中使用的人類腫瘤細胞株為A3 (經人類間皮素穩定轉染之A431，$MSLN^{hi}$)、OVCAR3 (人類卵巢癌，$MSLN^{hi}$)、HEC-251 (人類

子宮內膜樣，MSLN^{med})、H226 (人類肺鱗狀上皮細胞間皮瘤，MSLN^{lo})及A431親本(MSLN^{neg})。使用之所有細胞株直接獲自美國典型菌種保藏中心(ATCC)，其中例外為IGROV1 (在許可下獲自美國國家癌症研究所(National Cancer Institute))及A3 (在Morphotek自親本A431產生)。

1.4 抗體-藥物結合

1.4.1 使用順丁烯二醯亞胺之基於半胱胺酸之結合

1.4.1.1 結合於鏈間二硫化物

1.4.1.1.1 部分還原

MORAb-003及MORAb-009經緩衝液更換至杜爾貝科磷酸鹽緩衝鹽水(DPBS)，然後使用離心濃縮，濃縮至20 mg/mL。添加同等體積之含270 μM叁(2-羧乙基)膦(TCEP)的含2mM EDTA之1X DPBS，且在室溫下藉由輕緩混合80 min來還原。除了藉由在室溫下輕緩混合40 min來還原，曲妥珠單抗以類似方式部分還原。

1.4.1.1.2 結合

將順丁烯二醯亞胺基-連接子-艾日布林化合物(表現DMSO中)以1:6 (mAb:化合物)之莫耳比結合於部分還原抗體。將化合物添加至含50%丙二醇之DPBS且充分混合。接著添加同等體積之部分還原抗體，且輕緩混合(最終丙二醇濃度為25%)。在室溫下結合3.5至4小時。

1.4.1.2 結合於LCcys80

1.4.1.2.1 去半胱胺醯化

使用ÄKTA Explorer (GE Healthcare)，蛋白A管柱(GE Healthcare)用10管柱體積(CV) 20 mM磷酸鈉、10 mM EDTA pH 7.2 (平衡緩衝液)

平衡。然後負載條件培養基，接著用10 CV平衡緩衝液洗滌未結合之物質。將管柱用16 CV 20 mM磷酸鈉、10 mM EDTA、5 mM半胱胺酸pH 7.2 0.5 mL/min洗滌16小時，以移除封端基團。接著管柱用60 CV 20 mM Tris pH 7.5 0.5 mL/min洗滌60小時。使用5 CV 0.1 M甘胺酸pH 2.9溶離去半胱胺醯化抗體，且使用5體積% 2M Tris pH 9.0立即中和。將含有抗體之溶離份彙集，且使用MWCO 20K Slide-A-Lyzer (Thermo Fisher)，在DPBS中滲析。

1.4.1.2.2 結合

將去半胱胺醯化抗體在DPBS、1 mM EDTA中達至5.0 mg/mL，且50%丙二醇在DPBS、1 mM EDTA中製備。MAL-PEG2-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001159569)(DMSO中12 mM)添加至50%丙二醇且充分混合。接著以1:4 (mAb:化合物)之莫耳比添加同等體積之去半胱胺醯化抗體，且輕緩混合。在室溫下結合3.5至4小時。

1.4.2 使用丁二醯亞胺之基於胺之結合

1.4.2.1 結合

抗體(MORAb-003或MORAb-009，未還原)在0.1 M碳酸氫鈉pH 8.3中達至10.0 mg/mL。50%丙二醇在0.1 M碳酸氫鈉pH 8.3中製備。將丁二醯亞胺(OSu)-連接子-艾日布林(於DMSO中)添加至50%丙二醇且充分混合。接著以1:4 (mAb:化合物)之莫耳比添加同等體積之抗體，且充分混合。在室溫下結合1小時。藉由添加1:20體積之1 M Tris pH 8.0，淬火結合反應，且ADC如部分1.4.4中所述純化。

1.4.3 使用張力促進之炔-疊氮化物化學(SPAAC)的兩步基於胺之結合

1.4.3.1 二苯甲基環辛炔(DBCO)衍生化

抗體(MORAb-003或MORAb-009，未還原)在0.1 M碳酸氫鈉pH 8.3中達至10.0 mg/mL。50%丙二醇在0.1 M碳酸氫鈉pH 8.3中製備。將NHS-PEG$_4$-DBCO (Click Chemistry Tools，DMSO中50 mM)添加至50%丙二醇且充分混合。接著以1:4 (mAb:化合物)之莫耳比添加同等體積之抗體，且充分混合。在室溫下結合1小時。如部分1.4.4中所述純化，移除未反應之NHS-PEG$_4$-DBCO。

1.4.3.2 結合

50%丙二醇在DPBS中製備。將疊氮基-連接子-艾日布林化合物添加至50%丙二醇且充分混合。接著將同等體積之經DBCO修飾之MORAb-003或MORAb-009以1:4 (mAb:化合物)之莫耳比添加至混合物，且充分混合。使SPAAC結合在室溫下進行隔夜。如部分1.4.4中所述純化，移除未反應之NHS-PEG$_4$-DBCO。

1.4.4 純化

使用HiTrap脫鹽管柱(GE Healthcare)純化結合抗體。在快速蛋白質液相層析(FPLC) (GE Healthcare)上，使用1X DPBS作為操作緩衝液，進行層析，以移除順丁烯二醯亞胺基/OSu/疊氮基-連接子-艾日布林及丙二醇。如實例1之部分1.3.1中所述，藉由BCA分析測定最終蛋白質含量。

1.5 生物物理學表徵

1.5.1 SEC-HPLC分析

藉由尺寸排阻高效液相層析(SEC-HPLC)，使用Agilent 1260 HPLC分析ADC之聚集。將ADC在DPBS中稀釋至1 mg/mL。接著將ADC (10 μL)注射至Advanced SEC 300A保護柱(4.6 mm×3.5 cm，2.7 μm孔徑，Agilent)，接著AdvancedBio 300A管柱(4.6 mm×30 cm，2.7

μm孔徑)。將ADC自管柱，用含有0.15 M NaCl及5% IPA pH 7.4之0.1 M磷酸鈉以0.25 mL/min之流速溶離28 min。使用Agilent ChemStation軟體分析所有數據。聚集%計算為[$PA_{聚集}/PA_{全部}$]×100，其中PA = 積分峰面積。

1.5.2 藥物抗體比率(DAR)之HIC-HPLC分析

使用疏水相互作用HPLC (HIC-HPLC)分析DAR。將樣品注射至TSKgel® 丁基-NP 5，4.6 mm ID×3.5 cm，2.5 μM無孔尺寸管柱(Tosoh Bioscience)上，且以0.7 mL/min溶離，其中3 min在100%移動相A中平衡，15 min梯度(0-100% B)，5 min保持在100% B中，1 min變成100% A，及5 min在100%移動相A中再平衡。移動相A為25 mM磷酸鈉、1.5 M硫酸銨pH 7.0。移動相B為25 mM磷酸鈉、25%異丙醇pH 7.0。偵測在280 nm (參考320 nm)下進行。藉由下式確定DAR：

$[AUC_{+1} + 2(AUC_{+2}) + 3(AUC_{+3}) + \ldots n(AUC_{+n})]/\Sigma AUC_{總}]$

其中AUC_{+1}為對應於與一種細胞毒素結合之ADC之抗體峰的曲線下面積，AUC_{+2}為對應於與兩種細胞毒素結合之ADC之抗體峰的曲線下面積等等。$\Sigma AUC_{總}$為所有峰值之組合曲線下面積。

1.5.3 LC-MS DAR分析

亦使用LC-MS法，利用Waters Alliance HPLC與SQD/PDA偵測，分析DAR。在65℃下將樣品注射至Proteomix RP-1000管柱(5 μM，1000A，4.6 mm×15 cm，Sepax)上，且溶離，其中3 min在25%B中平衡，自25%-55%B，27 min線性梯度，5 min保持在55%B下，1 min變成90%B，5 min保持在90%B下，1 min變回25%B，及5 min在25%B下再平衡。移動相A為含0.1% TFA之水，且移動相B為含0.1% TFA之乙腈。接著溶離液分開(10:1)至PDA及SQD偵測器。將SQD偵測器設定

為ES+，毛細管電壓為3.2 kV，錐電壓為40 V，提取器為3 V，且RF鏡為0.2 V，源溫為150℃，且脫溶劑溫度為250℃。質量數據在200-2000 m/z下獲得，歷時40 min，連續模式，掃描時間1秒。使用MassLynx及MaxEnt 1分析數據且離線反褶積。使用下式計算DAR：

$$2[[AUC_{LC+1} + 2(AUC_{LC+2}) + 3(AUC_{LC+3}) + \ldots n(AUC_{LC+n})]/\Sigma I_{LC}總]+$$

$$2[[AUC_{HC+1} + 2(AUC_{HC+2}) + 3(AUC_{HC+3}) + \ldots n(AUC_{HC+n})]/\Sigma AUC_{HC}總]$$

其中AUC_{LC+1}為與一種細胞毒素結合之輕鏈峰的曲線下面積，AUC_{LC+2}為與兩種細胞毒素結合之輕鏈峰的曲線下面積等等。AUC_{HC}為對應重鏈之曲線下面積，且ΣAUC_{LC}總及ΣAUC_{HC}總分別為所有未結合及結合輕鏈及重鏈之組合曲線下面積。

1.5.4 LCcys80 ADC之UPLC/ESI-MS DAR分析

藉由添加DTT達至20 mM之最終濃度，還原ADC (1 mg/mL)，接著在60℃下培育3 min。接著使用Waters Acquity超高效液相層析及Q-Tof Premier質譜儀分析樣品。在65℃下將樣品(各0.5-2 μg)注射至MassPrep 微型脫鹽管柱上，以0.05 mL/min，自管柱溶離，其中5 min在95%移動相A中平衡，10 min梯度(5-90% B)，及10 min在95%移動相A中再平衡。移動相A為含0.1%甲酸之水。移動相B為含0.1%甲酸之乙腈。Q-Tof質譜儀呈正離子電壓模式操作，偵測在500-4000 m/z範圍內。源參數如下：毛細管電壓，2.25 kV (完整抗體)-2.50 kV (還原抗體)；取樣錐電壓，65.0 V (完整抗體)或50.0 V (還原抗體)；源溫，105℃；脫溶劑溫度，250℃；脫溶劑氣體流速，550 L/小時。使用MassLynx MaxEnt 1函數將輕鏈蛋白質峰反褶積。未結合及單結合之輕鏈質量的相對強度用於使用下式計算整體DAR：

$2[LC_{+1}/\Sigma LC_{總}]$

其中LC_{+1}為與一種細胞毒素結合之輕鏈的質量強度，$\Sigma LC_{總}$為未結合及結合輕鏈之組合強度。

1.6 結合表徵

1.6.1 BIAcore

在HBS-P+緩衝液(GE Healthcare)中抗體濃度調至2 μg/mL。將未修飾之抗體或ADC以10 μL/min之流速注射在BIAcore T100 (GE Healthcare)上之抗人類IgG感測器上，歷時1 min。為記錄抗原與捕捉抗體之締合，將一系列遞增濃度之抗原以30 μL/min之流速注射300秒。對於抗間皮素抗體，濃度範圍為10 nM-0.041 nM。對於MORAb-003及MORAb-009 ADC，濃度範圍為100 nM-0.41 nM。在相同流速下監測抗原之解離30 min。藉由以30 μL/min之流速注射3 M $MgCl_2$達2×30秒，來使感測器表面再生。使用Biacore T100評估軟體，使用1:1朗繆爾結合模型，分析感測器譜圖。

1.6.2 ELISA - 葉酸受體α

將重組人類葉酸受體α在塗佈緩衝液(50 mM碳酸鹽-碳酸氫鹽緩衝液，pH 9.6)中稀釋至115 ng/mL，且在4℃下塗佈至96孔Maxisorp黑色盤(Thermo，目錄號43711，100 μL/孔)隔夜。丟棄塗佈溶液，且使用1X具有0.05% Tween-20之PBS (PBST)緩衝液，洗滌盤三次。在室溫下在回轉式震盪器上盤在300 μL阻斷緩衝液(PBST中1% BSA)中阻斷2小時。將MORAb-003及MORAb-003 ADC在阻斷緩衝液中稀釋至1000 ng/mL，接著連續2倍稀釋，得到1000 ng/mL至0.98 ng/mL之範圍。丟棄阻斷緩衝液且將100μL/孔稀釋抗體添加至盤。盤在室溫下在迴轉式震動器上培育2小時。丟棄抗體溶液且盤使用PBST洗滌三次。將

100μL/孔山羊抗人類IgG(H+L)-HRP (阻斷緩衝液中1:10,000稀釋)溶液添加至盤，且盤在室溫下在迴轉式震動器上培育1小時。丟棄二級抗體溶液且盤使用PBST洗滌三次。將100μL/孔QuantaBlu螢光過氧化物酶受質工作溶液(Thermo，目錄號15169)添加至盤，且盤在室溫下培育30 min。使用SpectraMax M5 (Molecular Devices)，在激發325 nm/發射420 nm下讀取螢光。使用SoftMaxPro 5.4.2軟體，利用4參數擬合，分析數據。

1.6.3 ELISA - 間皮素

將重組人類間皮素在塗佈緩衝液(50mM碳酸鹽-碳酸氫鹽緩衝液，pH 9.6)中稀釋至1 μg/mL，且在4℃下塗佈至96孔Maxisorp黑色盤(Thermo，目錄號43711，100 μL/孔)隔夜。丟棄塗佈溶液，且使用1X具有0.05% Tween-20之PBS (PBST)緩衝液，洗滌盤三次。在室溫下在迴轉式震盪器上盤在300 μL阻斷緩衝液(PBST中1% BSA)中阻斷2小時。將MORAb009及MORAb-009 ADC在阻斷緩衝液中稀釋至1000 ng/mL，接著連續2.5倍稀釋，得到1000 ng/mL至0.105 ng/mL之範圍。丟棄阻斷緩衝液且將100μL/孔稀釋抗體添加至盤。盤在室溫下在迴轉式震動器上培育2小時。丟棄抗體溶液且盤使用PBST洗滌三次。將100μL/孔山羊抗人類IgG(H+L)-HRP (阻斷緩衝液中1:10,000稀釋)溶液添加至盤，且盤在室溫下在迴轉式震動器上培育1小時。丟棄二級抗體溶液且盤使用PBST洗滌三次。將100μL/孔QuantaBlu螢光過氧化物酶受質工作溶液(Thermo，目錄號15169)添加至盤，且盤在室溫下培育30 min。使用SpectraMax M5 (Molecular Devices)，在激發325nm/發射420 nm下讀取螢光。使用SoftMaxPro 5.4.2軟體，利用4參數擬合，分析數據。

1.7 細胞毒性分析

1.7.1 結晶紫分析

將IGROV1 (FR^{hi}、$MSLN^{neg}$)、NCI-H2110 (FR^{med}、$MSLN^{med}$)及A431 (FR^{neg}、$MSLN^{neg}$)細胞在96孔組織培養盤中在完全生長培養基中以5,000細胞/孔次培養及接種，在37℃、5% CO_2下培育隔夜(16小時)。測試試劑以1:3在2 mL深孔稀釋盤中連續稀釋，起始於200 nM (共稀釋10次)。將稀釋樣品(100 μL)添加至細胞盤(測試樣品之起始濃度為100 nM)。將盤在37℃、5% CO_2下再培育5天。接著丟棄培養基。用200 μL DPBS洗滌盤子一次，在室溫下用50 μL 0.2%結晶紫溶液染色15 min，接著用自來水大量洗滌。將盤進行空氣乾燥，且用200 μL 1% SDS溶液溶解結晶紫。在570 nm下讀取盤。使用GraphPad Prism 6分析數據。

2. 結果

2.1 MORAb-003、MORAb-009及曲妥珠單抗ADC之生物物理學表徵

使用表46中所列之可結合之艾日布林化合物，根據包括以下之三種結合方法之一，製備MORAb-003 (人類化抗人類葉酸受體α)、MORAb-009 (小鼠-人類嵌合抗人類間皮素)及曲妥珠單抗(人類化抗人類her2) ADC：(1)使用非硫醇還原劑TCEP，將抗體鏈間二硫化物部分還原，接著使用硫醇反應性順丁烯二醯亞胺基-間隔子-連接子-艾日布林構築體結合；(2)使用丁二醯亞胺(OSu)-間隔子-連接子-艾日布林構築體，直接結合於抗體離胺酸殘基；及(3)使用兩步驟方法結合於抗體離胺酸殘基，其中OSu-PEG4-二苯甲基環辛炔首先結合於離胺酸殘基，接著使用SPAAC進行疊氮基-間隔子-連接子-艾日布林構築體之正

交結合。

在純化後，藉由SEC-HPLC測定所有MORAb-003、MORAb-009及曲妥珠單抗ADC之聚集水準，且使用逆相LC-MS及/或HIC-HPLC分析藥物抗體比率(DAR)。使用逆相LC-MS及HIC-HPLC分析所有基於順丁烯二醯亞胺之ADC的DAR。通常在該兩種方法之間觀測到小於0.3的DAR值差異。相比之下，經由經離胺酸殘基結合所製備之所有ADC的DAR僅僅藉由LC-MS分析，因為此等ADC之高度非均質性阻止藉由HIC-HPLC解析個別DAR物質。對於MORAb-003及MORAb-009 ADC，亦使用ELISA分析與標靶抗原之結合。DAR及聚集分析之結果展示於表47中，緊鄰各別ADC。

表47.
MORAb-003、MORAb-009及曲妥珠單抗ADC之生物物理學分析

ADC	抗體	結合化學	間隔子	裂解化學	DAR分析		SEC-HPLC分析			抗原結合	
					DAR (LC-MS)	DAR (HIC-HPLC)	% Aggr.	單體%	% Frag	ELISA，EC_{50}，ng/mL	ELISA，EC_{50}，nM
MORAb003		N/A	N/A	N/A			3.62	96.38	0	6.29	0.04
MORAb009		N/A	N/A	N/A			0	100	0	42.60	0.28
曲妥珠單抗		N/A	N/A	N/A			3.52	96.48	0	N/A	N/A
MORAb003-ER1159569 (貨號NB3073-88L)	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB	3.58	3.91	3.12	96.88	0	22.60	0.15
MORAb009-ER1159569 (貨號NB3073-88F)	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB	3.63	3.93	3.23	96.77	0	43.70	0.29
MORAb003-ER1159569 (貨號NB3142-62A)	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB	4.80	4.88	3.21	96.79	0	18.20	0.12
MORAb009-ER1159569 (貨號NB3142-62D)	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB	4.68	4.57	0.90	99.10	0	33.10	0.22
曲妥珠單抗-ER1159569	曲妥珠單抗	順丁烯二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB	3.10	3.11	1.26	98.74	0	N/A	N/A
MORAb003-ER1242287	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG8	val-cit-pAB	2.31	2.35	18.63	81.37	0	21.50	0.14
MORAb009-ER1242287	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG8	val-cit-pAB	1.13	2.00	11.24	88.76	0	58.60	0.39
MORAb003-ER1235638	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	戊基	val-cit-pAB	3.65	3.89	3.95	96.05	0	15.30	0.10
MORAb009-ER1235638	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	戊基	val-cit-pAB	3.99	4.10	4.5	95.5	0	65.60	0.44
MORAb003-ER1231679	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG2	ala-ala-asn-pAB	3.60	3.83	3.09	96.91	0	18.30	0.12

表47.
MORAb-003、MORAb-009及曲妥珠單抗ADC之生物物理學分析

ADC	抗體	結合化學	間隔子	裂解化學	DAR分析		SEC-HPLC分析			抗原結合	
					DAR (LC-MS)	DAR (HIC-HPLC)	% Aggr.	單體%	% Frag	ELISA，EC_{50}，ng/mL	ELISA，EC_{50}，nM
MORAb009-ER1231679	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG2	ala-ala-asn-pAB	3.27	3.94	4.39	95.61	0	41.40	0.28
MORAb003-ER1231690	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG2	ala-ala-asn-pAB-ala-ala-asn-pAB	3.02	3.23	4.44	95.56	0	8.92	0.06
MORAb009-ER1231690	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG2	ala-ala-asn-pAB-ala-ala-asn-pAB	2.36	3.17	6.22	93.78	0	58.70	0.39
MORAb003-ER1237504	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG4-三唑-PEG3	二硫基-二甲基-pAB	0.52	1.61	13.73	86.27	0	29.80	0.20
MORAb009-ER1237504	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG4-三唑-PEG3	二硫基-二甲基-pAB	0.72	1.03	9.78	90.22	0	55.90	0.37
MORAb003-ER1237505	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG4-三唑-PEG3	磺醯胺	1.85	3.88	5.72	94.28	0	18.30	0.12
MORAb009-ER1237505	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG4-三唑-PEG3	磺醯胺	2.33	3.91	5.44	94.56	0	61.00	0.41
MORAb003-PEG2-艾日布林	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG2	不可裂解	4.15	4.49	3.97	96.03	0	6.96	0.05
MORAb009-PEG2-艾日	MORAb-009	順丁烯二	PEG2	不可裂解	4.55	4.30	1.15	97.11	1.74	8.84	0.06

表47.
MORAb-003、MORAb-009及曲妥珠單抗ADC之生物物理學分析

ADC	抗體	結合化學	間隔子	裂解化學	DAR分析		SEC-HPLC分析			抗原結合	
					DAR (LC-MS)	DAR (HIC-HPLC)	% Aggr.	單體%	% Frag	ELISA，EC_{50}，ng/mL	ELISA，EC_{50}，nM
布林		醯亞胺									
MORAb003-PEG4-艾日布林	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG4	不可裂解	4.70	4.79	9.84	89.76	0	9.31	0.06
MORAb009-PEG4-艾日布林	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG4	不可裂解	4.48	4.57	1.03	97.13	1.84	11.60	0.08
MORAb003-ER1236940	MORAb-003	丁二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB	0.72		3.65	96.35	0	17.00	0.11
MORAb009-ER1236940	MORAb-009	丁二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB	0.89		2.75	97.25	0	66.30	0.44
MORAb003-ER1242288	MORAb-003	丁二醯亞胺	PEG9	val-cit-pAB	0.00		2.85	97.15	0	14.40	0.10
MORAb009-ER1242288	MORAb-009	丁二醯亞胺	PEG9	val-cit-pAB	0.21		1.69	98.31	0	15.30	0.10
MORAb003-ER1236941	MORAb-003	丁二醯亞胺	戊基	val-cit-pAB	0.77		3.13	96.87	0	13.00	0.09
MORAb009-ER1236941	MORAb-009	丁二醯亞胺	戊基	val-cit-pAB	0.93		3.04	96.96	0	44.60	0.30
MORAb003-ER1243700	MORAb-003	丁二醯亞胺	PEG3-三唑-PEG3	val-cit-pAB	0.00		3.92	96.08	0	6.22	0.04
MORAb009-ER1243700	MORAb-009	丁二醯亞胺	PEG3-三唑-PEG3	val-cit-pAB	0.06		1.97	98.03	0	46.70	0.31
MORAb003-ER1231691	MORAb-003	丁二醯亞	PEG2	ala-ala-asn-	0.37		3.46	96.54	0	11.50	0.08

表47.
MORAb-003、MORAb-009及曲妥珠單抗ADC之生物物理學分析

ADC	抗體	結合化學	間隔子	裂解化學	DAR分析		SEC-HPLC分析			抗原結合	
					DAR (LC-MS)	DAR (HIC-HPLC)	% Aggr.	單體%	% Frag	ELISA，EC_{50}，ng/mL	ELISA，EC_{50}，nM
		胺		pAB							
MORAb009-ER1231691	MORAb-009	丁二醯亞胺	PEG2	ala-ala-asn-pAB	0.29		2.45	97.55	0	43.30	0.29
MORAb003-ER1244129	MORAb-003	丁二醯亞胺	PEG3-三唑-PEG3	二硫基-二甲基-pAB	0.24		10.87	89.13	0	14.30	0.10
MORAb009-ER1244129	MORAb-009	丁二醯亞胺	PEG3-三唑-PEG3	二硫基-二甲基-pAB	0.47		12.79	87.21	0	57.70	0.38
MORAb003-ER1244623	MORAb-003	丁二醯亞胺	PEG3-三唑-PEG3	磺醯胺	0.55		5.21	94.79	0	4.54	0.03
MORAb009-ER1244623	MORAb-009	丁二醯亞胺	PEG3-三唑-PEG3	磺醯胺	1.14		0	100	0	39.00	0.26
MORAb003-DBCO-ER1237508	MORAb-003	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛烯-三唑-PEG3	二硫基-二甲基-pAB	2.19		4.1	95.9	0	24.10	0.16
MORAb009-DBCO-ER1237508	MORAb-009	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛	二硫基-二甲基-pAB	2.33		0	100	0	53.80	0.36

表47.
MORAb-003、MORAb-009及曲妥珠單抗ADC之生物物理學分析

ADC	抗體	結合化學	間隔子	裂解化學	DAR分析		SEC-HPLC分析			抗原結合	
					DAR (LC-MS)	DAR (HIC-HPLC)	% Aggr.	單體%	% Frag	ELISA，EC_{50}，ng/mL	ELISA，EC_{50}，nM
			烯-三唑-PEG3								
MORAb003-DBCO-ER1138856	MORAb-003	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛烯-三唑-PEG3	磺醯胺	1.82		3.49	96.51	0	15.00	0.10
MORAb009-DBCO-ER1138856	MORAb-009	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛烯-三唑-PEG3	磺醯胺	1.59		0	100	0	44.70	0.30
MORAb003-DBCO-PEG4 VCP 艾日布林	MORAb-003	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛烯-三唑-PEG4	val-cit-pAB	3.09		2.87	97.13	0	16.00	0.11
MORAb009-DBCO-PEG4 VCP 艾日布林	MORAb-009	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛	val-cit-pAB	2.91		0.22	99.78	0	33.70	0.22

表47.
MORAb-003、MORAb-009及曲妥珠單抗ADC之生物物理學分析

ADC	抗體	結合化學	間隔子	裂解化學	DAR分析		SEC-HPLC分析			抗原結合	
					DAR (LC-MS)	DAR (HIC-HPLC)	% Aggr.	單體%	% Frag	ELISA，EC_{50}，ng/mL	ELISA，EC_{50}，nM
			烯-三唑-PEG4								
MORAb003-DBCO-PEG2 艾日布林	MORAb-003	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛烯-三唑-PEG2	不可裂解	3.43		3.88	96.12	0	19.10	0.13
MORAb009-DBCO-PEG2艾日布林	MORAb-009	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛烯-三唑-PEG2	不可裂解	3.07		1.15	98.85	0	23.30	0.16
MORAb003-DBCO-PEG4艾日布林	MORAb-003	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛烯-三唑-PEG4	不可裂解	2.96		3.64	96.36	0	13.30	0.09
MORAb009-DBCO-PEG4艾日布林	MORAb-009	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛	不可裂解	2.8		1.12	98.88	0	45.20	0.30

表47.
MORAb-003、MORAb-009及曲妥珠單抗ADC之生物物理學分析

					DAR分析		SEC-HPLC分析			抗原結合	
ADC	抗體	結合化學	間隔子	裂解化學	DAR (LC-MS)	DAR (HIC-HPLC)	% Aggr.	單體%	% Frag	ELISA，EC_{50}，ng/mL	ELISA，EC_{50}，nM
			烯-三唑-PEG4								

縮寫：% Aggr.，聚集%；% Frag，碎片%。

2.1.1 MORAb-003、MORAb-009及曲妥珠單抗ADC

就結合效率與生物物理學參數而言，在MORAb-003、MORAb-009及曲妥珠單抗之間未觀測到顯著差異。所有ADC證明類似DAR值及聚集體形成水準。

2.1.2 基於順丁烯二醯亞胺之ADC

對於基於順丁烯二醯亞胺之ADC，除低(<5%)聚集水準之外，藉由逆相LC-MS及HIC-HPLC，與val-cit-pAB裂解位點配對之戊基及PEG_2間隔子以及與ala-ala-asn-pAB裂解位點配對之PEG_2間隔子均提供3.5與4.0之間的DAR值。然而，當間隔子加長至PEG_8 (與val-cit-pAB裂解位點配對)時，聚集水準增加(11-18%)，且結合效率降低，使得DAR值在1.1與2.3之間。參見例如表47中MORAb003/MORAb009-ER-001159569 (短PEG連接子)及MORAb003/MORAb009-1242287 (長PEG連接子)之聚集百分比及DAR值。

對於用二硫基-pAB裂解位點製備之ADC，觀測到低DAR值(1.0-1.6)，以及相對較高之聚集水準(10-14%)。與HIC-HPLC相比，當此等ADC藉由LC-MS分析時，觀測到顯著較低之DAR值(參見例如表47中MORAb003/MORAb009-ER1237504 及 MORAb003/MORAb009-ER1237505之LC-MS/HIC-HPLC DAR值)。此結果表明連接子裂解位點顯示pH不穩定性，因為LC-MS分析之移動相為大約3.0，而HIC-HPLC分析之移動相為中性。

對於用磺醯胺裂解位點製備之ADC，觀測到低(<5%)聚集水準。類似於二硫基-pAB ADC，與HIC-HPLC (3.9)相比，當藉由LC-MS (1.8-2.3)分析時，觀測到較低DAR值，此再次表明連接子裂解位點顯示pH不穩定性。

對於PEG_2及PEG_4不可裂解連接子，觀測到有效結合，所得DAR值在4.0與4.7之間。使用此等不可裂解連接子之MORAb-009 ADC亦證明低聚集水準(< 2%)，而對應MORAb-003 ADC則觀測到略微較高之聚集水準(PEG_2及PEG_4分別為4%及10%)。

2.1.3 基於丁二醯亞胺之ADC

使用與間隔子-連接子-艾日布林偶合之丁二醯亞胺製備的所有ADC所得DAR值<1.0。為證實此較低結合效率(相對於順丁烯二醯亞胺)並非結合程序本身引起，使用更高化合物:抗體比率重製此等ADC且使用相同DAR分析方法重新分析。獲得類似結果，此表明不受理論限制，較低DAR值為丁二醯亞胺與艾日布林之組合的固有性質，且順丁烯二醯亞胺可更有效地結合。經由使用兩步法，增加丁二醯亞胺結合之效率，其中使用NHS-DBCO將DBCO首先添加至抗體，接著添加至疊氮基化合物。如藉由逆相HPLC分析所量測，與直接結合於抗體離胺酸殘基相比，此方法產生更高DAR值。對於具有磺醯胺(可裂解)、val-cit-PAB (可裂解)或PEG_2/PEG_4 (不可裂解)連接子之基於丁二醯亞胺之ADC，由兩步驟結合所產生之DAR值類似於針對具有磺醯胺裂解位點之基於順丁烯二醯亞胺之ADC所測定的DAR值。不受理論束縛，此結果再次表明丁二醯亞胺-間隔子-連接子-艾日布林結合反應之較低DAR值為丁二醯亞胺與艾日布林之組合的固有性質。

2.2 MORAb-003與MORAb-009 ADC之結合表徵

對於MORAb-003 ADC，就標靶抗原結合而言，在不可裂解之基於順丁烯二醯亞胺之連接子-艾日布林ADC與親本MORAb-003之間未觀測到顯著差異。對於其他基於順丁烯二醯亞胺之連接子-艾日布林MORAb-003 ADC，通常藉由ELISA分析，觀測到相對於親本MORAb-

003之標靶抗原結合2至3倍損失。然而，連接子長度或連接子組成與較低EC_{50}值之間無明顯相關性。類似地，對於基於丁二醯亞胺之連接子-艾日布林MORAb-003 ADC，一般觀測到相對於未結合MORAb-003之標靶抗原結合0至3倍損失。再次，連接子長度或連接子組成與較低EC_{50}值之間明顯無相關性。對於MORAb-009 ADC，所有ADC之EC_{50}值相對於親本MORAb-009均減小2倍。

2.3 MORAb-003、MORAb-009及曲妥珠單抗ADC之活體外細胞毒性分析

所製備之MORAb-003、MORAb-009及曲妥珠單抗ADC之活體外效力使用結晶紫基於細胞之細胞毒性分析來評估。選擇用於篩選MORAb-003及MORAb-009 ADC之細胞株為IGROV1、NCI-H2110及A431。IGROV1細胞來源於人類卵巢上皮癌，且表現高水準葉酸受體α，但無間皮素(亦即MORAb-003反應性)。NCI-H2110細胞來源於人類非小細胞肺癌，且表現中等水準之葉酸受體α及間皮素(亦即MORAb-003及MORAb-009反應性)。A431對照細胞來源於人類表皮癌且不表現任一標靶抗原。此篩選之結果展示於表48中。亦在包括以下之其他胃癌及乳癌細胞株中評估MORAb-003、MORAb-009及包含連接子-毒素順丁烯二醯亞胺基-PEG2-val-cit-pAB-艾日布林(VCP-艾日布林)之曲妥珠單抗ADC：NCI-N87 (FR^{lo}、$MSLN^{med}$、$her2^{hi}$)、BT-474 (FR^{neg}、$MSLN^{neg}$、$her2^{hi}$)、ZR-75 (FR^{neg}、$MSLN^{neg}$、$her2^{med}$)及NUGC3 (FR^{neg}、$MSLN^{neg}$、$her2^{neg}$)。此篩選之結果展示於表49中。

表48. MORAb-003及MORAb-009 ADC對IGROV1、NCI-H2110及A431細胞之細胞毒性(IC_{50})篩選

					細胞毒性分析					
					IGROV1 (FR^{hi}、$MSLN^{neg}$)		NCI-H2110 (FR^{med}、$MSLN^{med}$)		A431 (FR^{neg}、$MSLN^{neg}$)	
ADC	抗體	結合化學	間隔子	裂解化學	IC_{50} (nM)	SD	IC_{50} (nM)	SD	IC_{50} (nM)	SD
MORAb003		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
MORAb009		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
曲妥珠單抗		N/A	N/A	N/A						
艾日布林	N/A	N/A	N/A	N/A	0.320	0.212	0.199	0.034	0.653	0.159
MORAb003-ER1159569 (貨號 NB3073-88L)	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB	0.155	0.064	3.685	0.417	>100	
MORAb009-ER1159569 (貨號 NB3073-88F)	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB	9.450	2.093	14.945	1.747	>100	
MORAb003-ER1159569 (貨號 NB3142-62A)	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB	0.020		1.550		>100	
MORAb009-ER1159569 (貨號 NB3142-62D)	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB	5.687		6.784		>100	
曲妥珠單抗-ER1159569	曲妥珠單抗	順丁烯二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB						
MORAb003-ER1242287	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG8	val-cit-pAB	0.115	0.035	7.065	0.417	85.960	
MORAb009-ER1242287	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG8	val-cit-pAB	25.765	8.478	34.455	3.033	>100	

表48. MORAb-003及MORAb-009 ADC對IGROV1、NCI-H2110及A431細胞之細胞毒性(IC_{50})篩選

					細胞毒性分析					
					IGROV1 (FR^{hi}、$MSLN^{neg}$)		NCI-H2110 (FR^{med}、$MSLN^{med}$)		A431 (FR^{neg}、$MSLN^{neg}$)	
ADC	抗體	結合化學	間隔子	裂解化學	IC_{50} (nM)	SD	IC_{50} (nM)	SD	IC_{50} (nM)	SD
MORAb003-ER1235638	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	戊基	val-cit-pAB	0.105	0.092	3.920	1.032	>100	
MORAb009-ER1235638	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	戊基	val-cit-pAB	6.830	0.962	13.965	6.611	>100	
MORAb003-ER1231679	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG2	ala-ala-asn-pAB	0.080	0.028	3.800	0.566	31.630	1.202
MORAb009-ER1231679	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG2	ala-ala-asn-pAB	8.890	0.976	7.080	1.867	34.390	3.536
MORAb003-ER1231690	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG2	ala-ala-asn-pAB-ala-ala-asn-pAB	0.125	0.021	4.745	2.114	38.555	0.403
MORAb009-ER1231690	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG2	ala-ala-asn-pAB-ala-ala-asn-pAB	16.980	5.176	12.310	3.422	54.960	5.360
MORAb003-ER1237504	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG4-三唑-PEG3	二硫基-二甲基-pAB	0.265	0.092	0.845	0.177	7.005	0.290
MORAb009-ER1237504	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG4-三唑-PEG3	二硫基-二甲基-pAB	6.375	2.751	1.220	0.325	8.130	0.608
MORAb003-ER1237505	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG4-三唑-PEG3	磺醯胺	0.370	0.269	0.690	0.283	6.800	0.834
MORAb009-ER1237505	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG4-三唑-PEG3	磺醯胺	6.370	3.012	0.990	0.453	9.030	1.527
MORAb003-	MORAb-	順丁烯二	PEG2	不可裂解	0.330		38.300		>100	

表48. MORAb-003及MORAb-009 ADC對IGROV1、NCI-H2110及A431細胞之細胞毒性(IC_{50})篩選

					細胞毒性分析					
					IGROV1 (FR^{hi}、$MSLN^{neg}$)		NCI-H2110 (FR^{med}、$MSLN^{med}$)		A431 (FR^{neg}、$MSLN^{neg}$)	
ADC	抗體	結合化學	間隔子	裂解化學	IC_{50} (nM)	SD	IC_{50} (nM)	SD	IC_{50} (nM)	SD
PEG2-艾日布林	003	醯亞胺								
MORAb009-PEG2-艾日布林	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG2	不可裂解	42.770		50.040		>100	
MORAb003-PEG4-艾日布林	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG4	不可裂解	0.277		21.630		>100	
MORAb009-PEG4-艾日布林	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG4	不可裂解	76.320		31.600		>100	
MORAb003-ER1236940	MORAb-003	丁二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB	0.325	0.106	30.545	3.132	>100	
MORAb009-ER1236940	MORAb-009	丁二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB	31.915	2.510	36.500	11.031	90.060	
MORAb003-ER1242288	MORAb-003	丁二醯亞胺	PEG9	val-cit-pAB	38.105	45.601	64.010	8.075	>100	
MORAb009-ER1242288	MORAb-009	丁二醯亞胺	PEG9	val-cit-pAB	>100		>100		>100	
MORAb003-ER1236941	MORAb-003	丁二醯亞胺	戊基	val-cit-pAB	0.330	0.071	42.105	12.594	>100	
MORAb009-ER1236941	MORAb-009	丁二醯亞胺	戊基	val-cit-pAB	>100		49.485	13.569	>100	
MORAb003-ER1243700	MORAb-003	丁二醯亞胺	PEG3-三唑-PEG3	val-cit-pAB	1.150		>100		>100	
MORAb009-ER1243700	MORAb-009	丁二醯亞胺	PEG3-三唑-PEG3	val-cit-pAB	>100		>100		>100	

表48. MORAb-003及MORAb-009 ADC對IGROV1、NCI-H2110及A431細胞之細胞毒性(IC_{50})篩選

					細胞毒性分析					
					IGROV1 (FR^{hi}、$MSLN^{neg}$)		NCI-H2110 (FR^{med}、$MSLN^{med}$)		A431 (FR^{neg}、$MSLN^{neg}$)	
ADC	抗體	結合化學	間隔子	裂解化學	IC_{50} (nM)	SD	IC_{50} (nM)	SD	IC_{50} (nM)	SD
MORAb003-ER1231691	MORAb-003	丁二醯亞胺	PEG2	ala-ala-asn-pAB	12.320		31.795	4.448	>100	
MORAb009-ER1231691	MORAb-009	丁二醯亞胺	PEG2	ala-ala-asn-pAB	>100		20.000	5.954	>100	
MORAb003-ER1244129	MORAb-003	丁二醯亞胺	PEG3-三唑-PEG3	二硫基-二甲基-pAB	0.370	0.184	0.750	0.071	12.005	1.534
MORAb009-ER1244129	MORAb-009	丁二醯亞胺	PEG3-三唑-PEG3	二硫基-二甲基-pAB	6.595	4.052	0.840	0.057	9.230	0.014
MORAb003-ER1244623	MORAb-003	丁二醯亞胺	PEG3-三唑-PEG3	磺醯胺	0.980	0.396	1.820	0.410	37.235	15.733
MORAb009-ER1244623	MORAb-009	丁二醯亞胺	PEG3-三唑-PEG3	磺醯胺	24.505	4.702	2.235	0.629	36.665	14.206
MORAb003-DBCO-ER1237508	MORAb-003	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛烯-三唑-PEG3	二硫基-二甲基-pAB	0.545	0.389	0.900	0.071	9.670	0.382
MORAb009-DBCO-ER1237508	MORAb-009	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛烯-三唑-PEG3	二硫基-二甲基-pAB	10.245	3.486	1.040	0.297	11.280	2.277
MORAb003-DBCO-ER1138856	MORAb-003	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛	磺醯胺	1.775	1.421	1.655	0.007	24.990	2.022

表48. MORAb-003及MORAb-009 ADC對IGROV1、NCI-H2110及A431細胞之細胞毒性(IC_{50})篩選

					細胞毒性分析					
					IGROV1 (FR^{hi}、$MSLN^{neg}$)		NCI-H2110 (FR^{med}、$MSLN^{med}$)		A431 (FR^{neg}、$MSLN^{neg}$)	
ADC	抗體	結合化學	間隔子	裂解化學	IC_{50} (nM)	SD	IC_{50} (nM)	SD	IC_{50} (nM)	SD
			烯-三唑-PEG3							
MORAb009-DBCO-ER1138856	MORAb-009	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛烯-三唑-PEG3	磺醯胺	19.155	5.438	1.960	0.113	28.070	0.636
MORAb003-DBCO-PEG4 VCP艾日布林	MORAb-003	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛烯-三唑-PEG4	val-cit-pAB	0.038		4.281		>100	
MORAb009-DBCO-PEG4 VCP艾日布林	MORAb-009	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛烯-三唑-PEG4	val-cit-pAB	12.960		31.400		>100	
MORAb003-DBCO-PEG2 艾日布林	MORAb-003	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛烯-三唑-PEG2	不可裂解	4.250		38.070		>100	
MORAb009-DBCO-PEG2 艾日布林	MORAb-009	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛烯-三唑-PEG2	不可裂解	75.680		85.680		>100	
MORAb003-DBCO-PEG4 艾日布林	MORAb-003	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛烯-三唑-PEG4	不可裂解	1.323		46.280		>100	

表48. MORAb-003及MORAb-009 ADC對IGROV1、NCI-H2110及A431細胞之細胞毒性(IC_{50})篩選

					細胞毒性分析					
					IGROV1 (FR^{hi}、$MSLN^{neg}$)		NCI-H2110 (FR^{med}、$MSLN^{med}$)		A431 (FR^{neg}、$MSLN^{neg}$)	
ADC	抗體	結合化學	間隔子	裂解化學	IC_{50} (nM)	SD	IC_{50} (nM)	SD	IC_{50} (nM)	SD
MORAb009-DBCO-PEG4 艾日布林	MORAb-009	丁二醯亞胺/點擊	二苯甲基環辛烯-三唑-PEG4	不可裂解	61.490		39.330		>100	

所有IC_{50}值均以nM為單位，且表示重複實驗之平均值。SD-標準偏差。

表49. MORAb-003、MORAb-009及曲妥珠單抗ADC對NCI-N87、BT-474、ZR-75及NUGC3細胞之細胞毒性(IC_{50})篩選

					細胞毒性分析			
					NCI-N87-Luc (FR^{lo}、$MSLN^{med}$、$her2^{hi}$)	BT-474 (FR^{neg}、$MSLN^{neg}$、$her2^{hi}$)	ZR-75-1 (FR^{neg}、$MSLN^{neg}$、$her2^{med}$)	NUGC3-Luc (FR^{neg}、$MSLN^{neg}$、$her2^{neg}$)
ADC	抗體	結合化學	間隔子	裂解化學	IC_{50} (nM)	IC_{50} (nM)	IC_{50} (nM)	IC_{50} (nM)
MORAb003		N/A	N/A	N/A				
MORAb009		N/A	N/A	N/A				
曲妥珠單抗		N/A	N/A	N/A	0.78	0.641	>100	>100
艾日布林	N/A	N/A	N/A	N/A	0.257	0.151	0.236	0.445
MORAb003-ER1159569 (貨號NB3073-88L)	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB				
MORAb009-ER1159569 (貨號NB3073-88F)	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB				
MORAb003-ER1159569 (貨號NB3142-62A)	MORAb-003	順丁烯二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB	4.528	11.46	14.74	20.45
MORAb009-ER1159569 (貨號NB3142-62D)	MORAb-009	順丁烯二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB	0.013	10.21	12.8	29.93
曲妥珠單抗-ER1159569	曲妥珠單抗	順丁烯二醯亞胺	PEG2	val-cit-pAB	0.006	0.003	0.023	20.06

所有IC_{50}值均以nM為單位，且表示重複實驗之平均值。SD-標準偏差。

2.3.1 基於順丁烯二醯亞胺之ADC之細胞毒性

所有基於順丁烯二醯亞胺之MORAb-003及MORAb-009 ADC均在IGROV1細胞上呈現特定細胞毒性，其中抗體之間觀測到效力相差2-3個數量級。val-cit-pAB-艾日布林MORAb-003 ADC證明在IGROV1細胞株上之效力高於PEG_2或PEG_4不可裂解MORAb-003 ADC，但特異性倍數不變。針對MORAb-009 ADC觀測到類似傾向，其中不可裂解MORAb-009 ADC證明在IGROV1細胞上之細胞毒性低於val-cit-pAB-艾日布林MORAb-009 ADC。

具有基於二硫基及磺醯胺之連接子的基於順丁烯二醯亞胺之MORAb-009 ADC證明對NCI-H2110細胞株之效力高於IGROV1細胞株。如下所述，此可歸因於培養物中連接子之潛在不穩定性。在對應MORAb-003 ADC下亦觀測到有效細胞毒性。相比之下，具有不可裂解之連接子的基於順丁烯二醯亞胺之MORAb-003及MORAb-009 ADC證明在NCI-H2110細胞上相對較低之效力。不受理論限制，此結果表明在較低標靶表現下，有效負載之有效裂解及釋放可提高細胞毒性。

具有val-cit-pAB酶可裂解之連接子或不可裂解連接子之ADC證明在A431對照細胞上低水準之脫靶殺死(IC_{50}> 100 nM)，而具有ala-ala-asn-pAB酶可裂解之連接子之ADC呈現弱，但可偵測之此等對照細胞殺死。此表明val-cit-pAB酶可裂解之連接子可比培養物中ala-ala-asn-pAB酶可裂解之連接子更穩定。另外，具有較短PEG_2間隔子之MORAb-009 ADC證明在IGROV1細胞中之細胞毒性高於具有較長PEG_8間隔子之對應ADC。在NCI-H2110細胞中，觀測到MORAb-003及MORAb-009 ADC之此相同傾向，較短間隔子長度引起較高細胞毒

性。

具有基於磺醯胺之連接子的ADC大體證明比具有基於二硫基之連接子之對應ADC更高之DAR值及更低之聚集水準。然而，在此等類別之ADC中均觀測到A431對照細胞之nM水準殺死，表明基於二硫基及磺醯胺之連接子在培養物中在所檢查之分析條件下不如酶可裂解連接子穩定。

進一步檢查特定連接子-毒素順丁烯二醯亞胺基-PEG_2-val-cit-pAB-艾日布林(VCP-艾日布林)在不同胃癌及乳癌細胞株上之特異性及效力。除抗人類her 2抗體曲妥珠單抗之外，VCP-艾日布林結合於MORAb-003及MORAb-009。MORAb-003-VCP-艾日布林證明對表現低水準之葉酸受體α (FR)之NCI-N87細胞的弱但特異性殺死，及對剩餘三種FR陰性細胞株之較少殺死。MORAb-009-VCP-艾日布林亦證明對表現中等水準之間皮素之NCI-N87細胞的有效細胞毒性。曲妥珠單抗-VCP-艾日布林對表現高水準her2之NCI-N87及BT-474細胞非常有效(3-6 pM，IC_{50})，且亦對僅僅中等表現her2之ZR-75乳癌細胞有效。MORAb-003、MORAb-009及曲妥珠單抗VCP-艾日布林ADC均證明對不表現FR、間皮素或her2 (各別標靶抗原)之NUGC3細胞的低細胞毒性。

2.3.2 基於丁二醯亞胺之ADC之細胞毒性

對於IGROV1細胞，基於丁二醯亞胺之ADC之細胞毒性的傾向類似於基於順丁烯二醯亞胺之ADC，其中除低DAR值之外，PEG_8間隔子ADC亦證明低細胞毒性。與對應基於順丁烯二醯亞胺之ADC相比較，一般觀測到具有酶可裂解之連接子的基於丁二醯亞胺之ADC對

IGROV1與NCI-H2110細胞之較低細胞毒性，此很可能歸因於較低DAR值。類似於對應基於順丁烯二醯亞胺之ADC，在基於二硫基及磺醯胺之連接子下亦觀測到A431細胞之脫靶殺死。此指出，增加之不穩定性可能由裂解位點引起，而非結合化學。

當進行兩步驟結合時，相對於由直接丁二醯亞胺結合方法得到之DAR值，觀測到較高DAR值。此等較高DAR值與較高效力相關。對於VCP-艾日布林MORAb-003 ADC，觀測到對IGROV1及NCI-H2110細胞之有效細胞毒性。雖然不可裂解之MORAb-003 ADC證明對IGROV1細胞有效(1-4 nM)，但其效力仍低於用此方法製備之VCP-艾日布林MORAb-003 ADC (38 pM)，即使DAR值可比。另外，使用兩步法製備之不可裂解MORAb-003 ADC對IGROV1細胞株之效力略低於對應基於順丁烯二醯亞胺之ADC，此可能歸因於其較低DAR值。類似於其基於順丁烯二醯亞胺之對應物，使用兩步法製備之不可裂解ADC亦喪失對NCI-2110細胞之幾乎所有細胞毒性。

2.4 抗人類間皮素(LCcys 80)ADC之生物物理學表徵

MAL-PEG2-Val-Cit-PAB-艾日布林(ER-001159569)結合於八種不同抗人類間皮素抗體(表1)。如以上在部分1.6.1中所述，藉由BIAcore分析來測定親本抗體之結合親和力。藉由SEC-HPLC測定所有抗人類間皮素ADC之聚集水準，且使用HIC-HPLC分析DAR。使用結晶紫基於細胞之細胞毒性分析，在A3 (經人類間皮素(MSLN)穩定轉染之A431，$MSLN^{hi}$)、OVCAR3 (人類卵巢，$MSLN^{hi}$)、HEC-251 (人類子宮內膜樣，$MSLN^{med}$)、H226 (人類肺鱗狀上皮細胞間皮瘤，$MSLN^{lo}$)及A431親本($MSLN^{neg}$)細胞中評估活體外效力。DAR、聚集及細胞毒

性分析之結果展示於表50中。

表50. 抗人類間皮素(LCcys 80)ADC之生物物理學表徵

		親本單抗			ADC								
		親和力			有效負載	MIC	SEC-HPLC		基於細胞之細胞毒性分析，EC50, nM				
		k_a (10^5 M^{-1} sec^{-1})	k_d (10^{-1} sec^{-1})	K_D (10^{-9} M)	藥物-連接子	DAR	聚集%	單體%	A431	OVCAR3	HEC-251	H226	A3
33O11	xi				FR-001159569-000	1.92	8.07	91.03	40.67	0.008	3.950	>100	0.14
	zu	2.2	0.65	3.4	FR-001159569-000	1.69	1.42	98.58	>100	0.064	26.500	>100	0.28
111B10	xi	6.5	3.9	6.3	FR-001159569-000	1.90	4.25	95.75	38.10	0.004	13.960	>100	0.05
	zu	5.1	3	6.5	FR-001159569-000	1.81	3.64	96.36	68.02	0.014	27.42	>100	0.12
201C15	xi	2.4	0.26	1.1	FR-001159569-000	1.85	1.62	98.38	48.50	0.004	14.87	>100	0.27
	zu	3.1	1.1	4.2	FR-001159569-000	1.80	5.84	94.16	68.88	0.290	20.47	>100	0.41
346C6	xi	3.8	0.49	1.4	FR-001159569-000	1.56	5.28	94.72	34.49	0.087	5.73	>100	0.11
	zu	133	93	8.9	FR-001159569-000	1.63	4.48	95.52	72.86	1.180	32.54	>100	0.55

縮寫：xi-嵌合；zu-人類化。

所有抗人類間皮素ADC均保持低聚集水準(< 10%聚集體)且證明對標靶細胞株之高效力。在A3及OVCAR3上觀測到高效力，而HEC-251及H226細胞對ADC細胞毒性具有相對抗性。

[序列表]

SEQ ID NO: 1 (MORAb-003 重鏈 (HC))

```
  1   EVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCSASGFTFS GYGLSWVRQA PGKGLEWVAM
 51   ISSGGSYTYY ADSVKGRFAI SRDNAKNTLF LQMDSLRPED TGVYFCARHG
101   DDPAWFAYWG QGTPVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD
151   YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY
201   ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPELLGGP SVFLFPPKPK
251   DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS
301   TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV
351   YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL
401   DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK
```

SEQ ID NO: 2 (MORAb-003 HC CDR1; Kabat): GYGLS

SEQ ID NO: 3 (MORAb-003 HC CDR2; Kabat): MISSGGSYTYYADSVKG

SEQ ID NO: 4 (MORAb-003 HC CDR3; Kabat): HGDDPAWFAY

SEQ ID NO: 5 (MORAb-003 重鏈全長前蛋白胺基酸序列；前導序列加下劃線)

```
  1   MGWSCIILFL VATATGVHSE VQLVESGGGV VQPGRSLRLS CSASGFTFSG
 51   YGLSWVRQAP GKGLEWVAMI SSGGSYTYYA DSVKGRFAIS RDNAKNTLFL
101   QMDSLRPEDT GVYFCARHGD DPAWFAYWGQ GTPVTVSSAS TKGPSVFPLA
151   PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL
201   YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPC
251   PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV
301   DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
351   APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
401   EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH
451   EALHNHYTQK SLSLSPGK
```

SEQ ID NO: 6 (MORAb-003 輕鏈 (LC))

```
  1   DIQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCSVSSSIS SNNLHWYQQK PGKAPKPWIY
 51   GTSNLASGVP SRFSGSGSGT DYTFTISSLQ PEDIATYYCQ QWSSYPYMYT
101   FGQGTKVEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ
151   WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT
201   HQGLSSPVTK SFNRGEC
```

SEQ ID NO: 7 (MORAb-003 LC CDR1; Kabat): SVSSSISSNNLH

SEQ ID NO: 8 (MORAb-003 LC CDR2; Kabat): GTSNLAS

SEQ ID NO: 9 (MORAb-003 LC CDR3; Kabat): QQWSSYPYMYT

SEQ ID NO: 10 MORAb-003 輕鏈全長前蛋白胺基酸序列(前導序列加下劃線)

```
  1   MGWSCIILFL VATATGVHSD IQLTQSPSSL SASVGDRVTI TCSVSSSISS
 51   NNLHWYQQKP GKAPKPWIYG TSNLASGVPS RFSGSGSGTD YTFTISSLQP
101   EDIATYYCQQ WSSYPYMYTF GQGTKVEIKR TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG
151   TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYSLSST
201   LTLSKADYEK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
```

SEQ ID NO: 11 (MORAb-003 HC nt)

```
   1   ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGTGT
  51   CCACTCCGAG GTCCAACTGG TGGAGAGCGG TGGAGGTGTT GTGCAACCTG
 101   GCCGGTCCCT GCGCCTGTCC TGCTCCGCAT CTGGCTTCAC CTTCAGCGGC
 151   TATGGGTTGT CTTGGGTGAG ACAGGCACCT GGAAAAGGTC TTGAGTGGGT
 201   TGCAATGATT AGTAGTGGTG GTAGTTATAC CTACTATGCA GACAGTGTGA
 251   AGGGTAGATT TGCAATATCG CGAGACAACG CCAAGAACAC ATTGTTCCTG
 301   CAAATGGACA GCCTGAGACC CGAAGACACC GGGGTCTATT TTTGTGCAAG
 351   ACATGGGGAC GATCCCGCCT GGTTCGCTTA TTGGGGCCAA GGGACCCCGG
 401   TCACCGTCTC CTCAGCCTCC ACCAAGGGCC CATCGGTCTT CCCCCTGGCA
 451   CCCTCCTCCA AGAGCACCTC TGGGGGCACA GCGGCCCTGG GCTGCCTGGT
 501   CAAGGACTAC TTCCCCGAAC CGGTGACGGT GTCGTGGAAC TCAGGCGCCC
 551   TGACCAGCGG CGTGCACACC TTCCCGGCTG TCCTACAGTC CTCAGGACTC
 601   TACTCCCTCA GCAGCGTGGT GACCGTGCCC TCCAGCAGCT TGGGCACCCA
 651   GACCTACATC TGCAACGTGA ATCACAAGCC CAGCAACACC AAGGTGGACA
 701   AGAAAGTTGA GCCCAAATCT TGTGACAAAA CTCACACATG CCCACCGTGC
 751   CCAGCACCTG AACTCCTGGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCCCAAA
 801   ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACATGCGTGG
 851   TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG
 901   GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA
 951   CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT
1001   GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCCA
1051   GCCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
1101   ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA TGAGCTGACC AAGAACCAGG
1151   TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG
1201   GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC
1251   CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCTT ATATTCAAAG CTCACCGTGG
1301   ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
1351   GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCCGG
1401   GAAATGA
```

SEQ ID NO: 12 (MORAb-003 LC nt)

```
   1   ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGTGT
  51   CCACTCCGAC ATCCAGCTGA CCCAGAGCCC AAGCAGCCTG AGCGCCAGCG
 101   TGGGTGACAG AGTGACCATC ACCTGTAGTG TCAGCTCAAG TATAAGTTCC
 151   AACAACTTGC ACTGGTACCA GCAGAAGCCA GGTAAGGCTC CAAAGCCATG
 201   GATCTACGGC ACATCCAACC TGGCTTCTGG TGTGCCAAGC AGATTCAGCG
 251   GTAGCGGTAG CGGTACCGAC TACACCTTCA CCATCAGCAG CCTCCAGCCA
 301   GAGGACATCG CCACCTACTA CTGCCAACAG TGGAGTAGTT ACCCGTACAT
 351   GTACACGTTC GGCCAAGGGA CCAAGGTGGA AATCAAACGA ACTGTGGCTG
 401   CACCATCTGT CTTCATCTTC CCGCCATCTG ATGAGCAGTT GAAATCTGGA
 451   ACTGCCTCTG TTGTGTGCCT GCTGAATAAC TTCTATCCCA GAGAGGCCAA
 501   AGTACAGTGG AAGGTGGATA ACGCCCTCCA ATCGGGTAAC TCCCAGGAGA
 551   GTGTCACAGA GCAGGACAGC AAGGACAGCA CCTACAGCCT CAGCAGCACC
 601   CTGACGCTGA GCAAAGCAGA CTACGAGAAA CACAAAGTCT ACGCCTGCGA
 651   AGTCACCCAT CAGGGCCTGA GCTCGCCCGT CACAAAGAGC TTCAACAGGG
 701   GAGAGTGTTA A
```

SEQ ID NO: 13 (MORAb-003 HC CDR1; IMGT): GFTFSGYG

SEQ ID NO: 14 (MORAb-003 HC CDR2; IMGT): ISSGGSYT

SEQ ID NO: 15 (MORAb-003 HC CDR3; IMGT): ARHGDDPAWFAY

SEQ ID NO: 16 (MORAb-003 LC CDR1; IMGT): SSISSNK

SEQ ID NO: 17 (MORAb-003 LC CDR2; IMGT): GTS

SEQ ID NO: 18 (MORAb-003 LC CDR3; IMGT): QQWSSYPYMYT

SEQ ID NO: 19 (人類 FRA)

```
  1 maqrmttqll lllvwvavvg eaqtrlawar tellnvcmna khhkekpgpe dklheqcrpw
 61 rknaccstnt sqeahkdvsy lyrfnwnhcg emapackrhf iqdtclyecs pnlgpwiqqv
121 dqswrkervl nvplckedce qwwedcrtsy tcksnwhkgw nwtsgfnkca vgaacqpfhf
181 yfptptvlcn eiwthsykvs nysrgsgrci qmwfdpaqgn pneevarfya aamsgagpwa
241 awpfilslal mllwlls
```

SEQ ID NO: 20 (人類 FRA 核苷酸)

```
  1 cattccttgg tgccactgac cacagctctt tcttcaggga cagacatggc tcagcggatg
 61 acaacacagc tgctgctcct tctagtgtgg gtggctgtag taggggaggc tcagacaagg
121 attgcatggg ccaggactga gcttctcaat gtctgcatga acgccaagca ccacaaggaa
181 aagccaggcc ccgaggacaa gttgcatgag cagtgtcgac cctggaggaa gaatgcctgc
241 tgttctacca acaccagcca ggaagcccat aaggatgttt cctacctata tagattcaac
301 tggaaccact gtggagagat ggcacctgcc tgcaaacggc atttcatcca ggacacctgc
361 ctctacgagt gctcccccaa cttggggccc tggatccagc aggtggatca gagctggcgc
421 aaagagcggg tactgaacgt gcccctgtgc aaagaggact gtgagcaatg gtgggaagat
481 tgtcgcacct cctacacctg caagagcaac tggcacaagg gctggaactg gacttcaggg
541 tttaacaagt gcgcagtggg agctgcctgc caacctttcc atttctactt ccccacaccc
601 actgttctgt gcaatgaaat ctggactcac tcctacaagg tcagcaacta cagccgaggg
661 agtggccgct gcatccagat gtggttcgac ccagcccagg gcaaccccaa tgaggaggtg
721 gcgaggttct atgctgcagc catgagtggg gctgggccct gggcagcctg gccttcctg
781 cttagcctgg ccctaatgct gctgtggctg ctcagctgac ctccttttac cttctgatac
841 ctggaaatcc ctgccctgtt cagccccaca gctcccaact atttggttcc tgctccatgg
901 tcgggcctct gacagccact ttgaataaac cagacaccgc acatgtgtct tgagaattat
961 ttggaaaaaa aaaaaaaaaa aa
```

SEQ ID NO: 21 (人類 her2)

```
1     melaalcrwg lllallppga astqvctgtd mklrlpaspe thldmlrhly qgcqvvqgnl
61    eltylptnas lsflqdiqev qgyvliahnq vrqvplqrlr ivrgtqlfed nyalavldng
121   dplnnttpvt gaspgglrel qlrsltellk ggvliqrnpq lcyqdtilwk difhknnqla
181   ltlidtnrsr achpcspmck gsrcwgesse dcqsltrtvc aggcarckgp lptdccheqc
241   aagctgpkhs dclaclhfnh sgicelhcpa lvtyntdtfe smpnpegryt fgascvtacp
301   ynylstdvgs ctlvcplhnq evtaedgtqr cekcskpcar vcyglgmehl revravtsan
361   iqefagckki fgslaflpes fdgdpasnta plqpeqlqvf etleeitgyl yisawpdslp
421   dlsvfqnlqv irgrilhnga ysltlqglgi swlglrslre lgsglalihh nthlcfvhtv
481   pwdqlfrnph qallhtanrp edecvgegla chqlcarghc wgpgptqcvn csqflrgqec
541   veecrvlqgl preyvnarhc lpchpecqpq ngsvtcfgpe adqcvacahy kdppfcvarc
601   psgvkpdlsy mpiwkfpdee gacqpcpinc thscvdlddk gcpaeqrasp ltsiisavvg
661   illvvvlgvv fgilikrrqq kirkytmrrl lqetelvepl tpsgampnqa qmrilketel
721   rkvkvlgsga fgtvykgiwi pdgenvkipv aikvlrents pkankeilde ayvmagvgsp
781   yvsrllgicl tstvqlvtql mpygclldhv renrgrlgsq dllnwcmqia kgmsyledvr
```

841 lvhrdlaarn vlvkspnhvk itdfglarll dideteyhad ggkvpikwma lesilrrrft
901 hqsdvwsygv tvwelmtfga kpydgipare ipdllekger lpqppictid vymimvkcwm
961 idsecrprfr elvsefsrma rdpqrfvviq nedlgpaspl dstfyrslle dddmgdlvda
1021 eeylvpqqgf fcpdpapgag gmvhhrhrss strsgggdlt lglepseeea prsplapseg
1081 agsdvfdgdl gmgaakglqs lpthdpsplq rysedptvpl psetdgyvap ltcspqpeyv
1141 nqpdvrpqpp spregplpaa rpagatlerp ktlspgkngv vkdvfafgga venpeyltpq
1201 ggaapqphpp pafspafdnl yywdqdpper gappstfkgt ptaenpeylg ldvpv

SEQ ID NO: 22 (人類 her2 核苷酸)

1 ATGGAGCTGG CGGCCTTGTG CCGCTGGGGG CTCCTCCTCG CCCTCTTGCC CCCCGGAGCC
61 GCGAGCACCC AAGTGTGCAC CGGCACAGAC ATGAAGCTGC GGCTCCCTGC CAGTCCCGAG
121 ACCCACCTGG ACATGCTCCG CCACCTCTAC CAGGGCTGCC AGGTGGTGCA GGGAAACCTG
181 GAACTCACCT ACCTGCCCAC CAATGCCAGC CTGTCCTTCC TGCAGGATAT CCAGGAGGTG
241 CAGGGCTACG TGCTCATCGC TCACAACCAA GTGAGGCAGG TCCCACTGCA GAGGCTGCGG
301 ATTGTGCGAG GCACCCAGCT CTTTGAGGAC AACTATGCCC TGGCCGTGCT AGACAATGGA
361 GACCCGCTGA ACAATACCAC CCCTGTCACA GGGGCCTCCC CAGGAGGCCT GCGGGAGCTG
421 CAGCTTCGAA GCCTCACAGA GATCTTGAAA GGAGGGGTCT TGATCCAGCG GAACCCCCAG
481 CTCTGCTACC AGGACACGAT TTTGTGGAAG GACATCTTCC ACAAGAACAA CCAGCTGGCT
541 CTCACACTGA TAGACACCAA CCGCTCTCGG GCCTGCCACC CCTGTTCTCC GATGTGTAAG
601 GGCTCCCGCT GCTGGGGAGA GAGTTCTGAG GATTGTCAGA GCCTGACGCG CACTGTCTGT
661 GCCGGTGGCT GTGCCCGCTG CAAGGGGCCA CTGCCCACTG ACTGCTGCCA TGAGCAGTGT
721 GCTGCCGGCT GCACGGGCCC CAAGCACTCT GACTGCCTGG CCTGCCTCCA CTTCAACCAC
781 AGTGGCATCT GTGAGCTGCA CTGCCCAGCC CTGGTCACCT ACAACACAGA CACGTTTGAG
841 TCCATGCCCA ATCCCGAGGG CCGGTATACA TTCGGCGCCA GCTGTGTGAC TGCCTGTCCC
901 TACAACTACC TTTCTACGGA CGTGGGATCC TGCACCCTCG TCTGCCCCCT GCACAACCAA
961 GAGGTGACAG CAGAGGATGG AACACAGCGG TGTGAGAAGT GCAGCAAGCC CTGTGCCCGA
1021 GTGTGCTATG GTCTGGGCAT GGAGCACTTG CGAGAGGTGA GGGCAGTTAC CAGTGCCAAT
1081 ATCCAGGAGT TTGCTGGCTG CAAGAAGATC TTTGGGAGCC TGGCATTTCT GCCGGAGAGC
1141 TTTGATGGGG ACCCAGCCTC CAACACTGCC CCGCTCCAGC CAGAGCAGCT CCAAGTGTTT
1201 GAGACTCTGG AAGAGATCAC AGGTTACCTA TACATCTCAG CATGGCCGGA CAGCCTGCCT
1261 GACCTCAGCG TCTTCCAGAA CCTGCAAGTA ATCCGGGGAC GAATTCTGCA CAATGGCGCC
1321 TACTCGCTGA CCCTGCAAGG GCTGGGCATC AGCTGGCTGG GGCTGCGCTC ACTGAGGGAA
1381 CTGGGCAGTG GACTGGCCCT CATCCACCAT AACACCCACC TCTGCTTCGT GCACACGGTG
1441 CCCTGGGACC AGCTCTTTCG GAACCCGCAC CAAGCTCTGC TCCACACTGC CAACCGGCCA
1501 GAGGACGAGT GTGTGGGCGA GGGCCTGGCC TGCCACCAGC TGTGCGCCCG AGGGCACTGC
1561 TGGGGTCCAG GGCCCACCCA GTGTGTCAAC TGCAGCCAGT TCCTTCGGGG CCAGGAGTGC
1621 GTGGAGGAAT GCCGAGTACT GCAGGGGCTC CCCAGGGAGT ATGTGAATGC CAGGCACTGT
1681 TTGCCGTGCC ACCCTGAGTG TCAGCCCCAG AATGGCTCAG TGACCTGTTT TGGACCGGAG
1741 GCTGACCAGT GTGTGGCCTG TGCCCACTAT AAGGACCCTC CCTTCTGCGT GGCCCGCTGC
1801 CCCAGCGGTG TGAAACCTGA CCTCTCCTAC ATGCCCATCT GGAAGTTTCC AGATGAGGAG

1861 GGCGCATGCC AGCCTTGCCC CATCAACTGC ACCCACTCCT GTGTGGACCT GGATGACAAG
1921 GGCTGCCCCG CCGAGCAGAG AGCCAGCCCT CTGACGTCCA TCATCTCTGC GGTGGTTGGC
1981 ATTCTGCTGG TCGTGGTCTT GGGGGTGGTC TTTGGGATCC TCATCAAGCG ACGGCAGCAG
2041 AAGATCCGGA AGTACACGAT GCGGAGACTG CTGCAGGAAA CGGAGCTGGT GGAGCCGCTG
2101 ACACCTAGCG GAGCGATGCC CAACCAGGCG CAGATGCGGA TCCTGAAAGA GACGGAGCTG
2161 AGGAAGGTGA AGGTGCTTGG ATCTGGCGCT TTTGGCACAG TCTACAAGGG CATCTGGATC
2221 CCTGATGGGG AGAATGTGAA AATTCCAGTG GCCATCAAAG TGTTGAGGGA AAACACATCC
2281 CCCAAAGCCA ACAAAGAAAT CTTAGACGAA GCATACGTGA TGGCTGGTGT GGGCTCCCCA
2341 TATGTCTCCC GCCTTCTGGG CATCTGCCTG ACATCCACGG TGCAGCTGGT GACACAGCTT
2401 ATGCCCTATG GCTGCCTCTT AGACCATGTC CGGGAAAACC GCGGACGCCT GGGCTCCCAG
2461 GACCTGCTGA ACTGGTGTAT GCAGATTGCC AAGGGGATGA GCTACCTGGA GGATGTGCGG
2521 CTCGTACACA GGGACTTGGC CGCTCGGAAC GTGCTGGTCA AGAGTCCCAA CCATGTCAAA
2581 ATTACAGACT TCGGGCTGGC TCGGCTGCTG GACATTGACG AGACAGAGTA CCATGCAGAT
2641 GGGGGCAAGG TGCCCATCAA GTGGATGGCG CTGGAGTCCA TTCTCCGCCG GCGGTTCACC
2701 CACCAGAGTG ATGTGTGGAG TTATGGTGTG ACTGTGTGGG AGCTGATGAC TTTTGGGGCC
2761 AAACCTTACG ATGGGATCCC AGCCCGGGAG ATCCCTGACC TGCTGGAAAA GGGGGAGCGG
2821 CTGCCCCAGC CCCCCATCTG CACCATTGAT GTCTACATGA TCATGGTCAA ATGTTGGATG
2881 ATTGACTCTG AATGTCGGCC AAGATTCCGG GAGTTGGTGT CTGAATTCTC CCGCATGGCC
2941 AGGGACCCCC AGCGCTTTGT GGTCATCCAG AATGAGGACT TGGGCCCAGC CAGTCCCTTG
3001 GACAGCACCT TCTACCGCTC ACTGCTGGAG GACGATGACA TGGGGGACCT GGTGGATGCT
3061 GAGGAGTATC TGGTACCCCA GCAGGGCTTC TTCTGTCCAG ACCCTGCCCC GGGCGCTGGG
3121 GGCATGGTCC ACCACAGGCA CCGCAGCTCA TCTACCAGGA GTGGCGGTGG GGACCTGACA
3181 CTAGGGCTGG AGCCCTCTGA AGAGGAGGCC CCCAGGTCTC CACTGGCACC CTCCGAAGGG
3241 GCTGGCTCCG ATGTATTTGA TGGTGACCTG GGAATGGGGG CAGCCAAGGG GCTGCAAAGC
3301 CTCCCCACAC ATGACCCCAG CCCTCTACAG CGGTACAGTG AGGACCCCAC AGTACCCCTG
3361 CCCTCTGAGA CTGATGGCTA CGTTGCCCCC CTGACCTGCA GCCCCCAGCC TGAATATGTG
3421 AACCAGCCAG ATGTTCGGCC CCAGCCCCCT TCGCCCCGAG AGGGCCCTCT GCCTGCTGCC
3481 CGACCTGCTG GTGCCACTCT GGAAAGGCCC AAGACTCTCT CCCCAGGGAA GAATGGGGTC
3541 GTCAAAGACG TTTTTGCCTT TGGGGGTGCC GTGGAGAACC CCGAGTACTT GACACCCCAG
3601 GGAGGAGCTG CCCCTCAGCC CCACCCTCCT CCTGCCTTCA GCCCAGCCTT CGACAACCTC
3661 TATTACTGGG ACCAGGACCC ACCAGAGCGG GGGGCTCCAC CCAGCACCTT CAAAGGGACA
3721 CCTACGGCAG AGAACCCAGA GTACCTGGGT CTGGACGTGC CAGTGTGA

【序列表】

<110> 日商衛材R&D企管股份有限公司(EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD.)

<120> 基於艾日布林之抗體-藥物結合物及使用方法

<130> 08061.0024-00304

<150> US 62/302,562
<151> 2016-03-02

<160> 368

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 1
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 2
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 2
Gly Tyr Gly Leu Ser
1 5

<210> 3
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 3
Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 4
His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 5
<211> 468
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 5
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Gly Tyr Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95

Thr Leu Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val
100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp
115 120 125

Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
130 135 140

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
145 150 155 160

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
165 170 175

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
180 185 190

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
195 200 205

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
210 215 220

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
225 230 235 240

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
245 250 255

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
260 265 270

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
275 280 285

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
290 295 300

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
305 310 315 320

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
325 330 335

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
340 345 350

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
355 360 365

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
370 375 380

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
385 390 395 400

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
405 410 415

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
420 425 430

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
435 440 445

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
450 455 460

Ser Pro Gly Lys
465

<210> 6
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 6
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn
20 25 30

Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Trp
35 40 45

Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65 70 75 80

Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro
85 90 95

Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 7
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 7
Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn Asn Leu His
1 5 10

<210> 8
<211> 7

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 8
Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 9
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 9
Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Tyr Met Tyr Thr
1 5 10

<210> 10
<211> 236
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 10
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala
20 25 30

Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile
35 40 45

Ser Ser Asn Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

Lys Pro Trp Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser
100 105 110

Ser Tyr Pro Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
115 120 125

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 11
<211> 1407
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 11
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactccgag 60

gtccaactgg tggagagcgg tggaggtgtt gtgcaacctg gccggtccct gcgcctgtcc 120

tgctccgcat ctggcttcac cttcagcggc tatgggttgt cttgggtgag acaggcacct 180

ggaaaaggtc ttgagtgggt tgcaatgatt agtagtggtg gtagttatac ctactatgca 240

gacagtgtga agggtagatt tgcaatatcg cgagacaacg ccaagaacac attgttcctg 300

caaatggaca gcctgagacc cgaagacacc ggggtctatt tttgtgcaag acatggggac 360

gatcccgcct ggttcgctta ttggggccaa gggaccccgg tcaccgtctc ctcagcctcc 420

accaagggcc catcggtctt ccccctggca ccctcctcca agagcacctc tgggggcaca 480

gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 540

tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc 600

tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc 660

tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agaaagttga gcccaaatct 720

tgtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 780

gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac ccctgaggtc 840

acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 900

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 960

taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 1020

aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc 1080

aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga tgagctgacc 1140

aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg 1200

gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 1260

tccgacggct ccttcttctt atattcaaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1320

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag 1380

agcctctccc tgtctcccgg gaaatga 1407

<210> 12
<211> 711
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 12
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccactccgac 60

atccagctga cccagagccc aagcagcctg agcgccagcg tgggtgacag agtgaccatc 120

acctgtagtg tcagctcaag tataagttcc aacaacttgc actggtacca gcagaagcca 180

ggtaaggctc caaagccatg gatctacggc acatccaacc tggcttctgg tgtgccaagc 240

agattcagcg gtagcggtag cggtaccgac tacaccttca ccatcagcag cctccagcca 300

gaggacatcg ccacctacta ctgccaacag tggagtagtt acccgtacat gtacacgttc 360

ggccaaggga ccaaggtgga aatcaaacga actgtggctg caccatctgt cttcatcttc 420

ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac 480

ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca atcgggtaac 540

tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 600

ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat 660

cagggcctga gctcgcccgt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgtta a 711

<210> 13
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 13

Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Gly
1 5

<210> 14
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 14
Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr
1 5

<210> 15
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 15
Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 16
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 16
Ser Ser Ile Ser Ser Asn Asn
1 5

<210> 17
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 17
Gly Thr Ser
1

<210> 18
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 18
Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Tyr Met Tyr Thr
1 5 10

<210> 19
<211> 257
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 19
Met Ala Gln Arg Met Thr Thr Gln Leu Leu Leu Leu Leu Val Trp Val
1 5 10 15

Ala Val Val Gly Glu Ala Gln Thr Arg Ile Ala Trp Ala Arg Thr Glu
20 25 30

Leu Leu Asn Val Cys Met Asn Ala Lys His His Lys Glu Lys Pro Gly
35 40 45

Pro Glu Asp Lys Leu His Glu Gln Cys Arg Pro Trp Arg Lys Asn Ala
50 55 60

Cys Cys Ser Thr Asn Thr Ser Gln Glu Ala His Lys Asp Val Ser Tyr
65 70 75 80

Leu Tyr Arg Phe Asn Trp Asn His Cys Gly Glu Met Ala Pro Ala Cys
85 90 95

Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Thr Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn
100 105 110

Leu Gly Pro Trp Ile Gln Gln Val Asp Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg
115 120 125

Val Leu Asn Val Pro Leu Cys Lys Glu Asp Cys Glu Gln Trp Trp Glu
130 135 140

Asp Cys Arg Thr Ser Tyr Thr Cys Lys Ser Asn Trp His Lys Gly Trp
145 150 155 160

Asn Trp Thr Ser Gly Phe Asn Lys Cys Ala Val Gly Ala Ala Cys Gln
165 170 175

Pro Phe His Phe Tyr Phe Pro Thr Pro Thr Val Leu Cys Asn Glu Ile
180 185 190

Trp Thr His Ser Tyr Lys Val Ser Asn Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg
195 200 205

Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Pro Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu
210 215 220

Val Ala Arg Phe Tyr Ala Ala Ala Met Ser Gly Ala Gly Pro Trp Ala
225 230 235 240

Ala Trp Pro Phe Leu Leu Ser Leu Ala Leu Met Leu Leu Trp Leu Leu
245 250 255

Ser

<210> 20
<211> 982

<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 20
cattccttgg tgccactgac cacagctctt tcttcaggga cagacatggc tcagcggatg 60

acaacacagc tgctgctcct tctagtgtgg gtggctgtag taggggaggc tcagacaagg 120

attgcatggg ccaggactga gcttctcaat gtctgcatga acgccaagca ccacaaggaa 180

aagccaggcc ccgaggacaa gttgcatgag cagtgtcgac cctggaggaa gaatgcctgc 240

tgttctacca acaccagcca ggaagcccat aaggatgttt cctacctata tagattcaac 300

tggaaccact gtggagagat ggcacctgcc tgcaaacggc atttcatcca ggacacctgc 360

ctctacgagt gctcccccaa cttggggccc tggatccagc aggtggatca gagctggcgc 420

aaagagcggg tactgaacgt gcccctgtgc aaagaggact gtgagcaatg gtgggaagat 480

tgtcgcacct cctacacctg caagagcaac tggcacaagg gctggaactg gacttcaggg 540

tttaacaagt gcgcagtggg agctgcctgc caacctttcc atttctactt ccccacaccc 600

actgttctgt gcaatgaaat ctggactcac tcctacaagg tcagcaacta cagccgaggg 660

agtggccgct gcatccagat gtggttcgac ccagcccagg gcaaccccaa tgaggaggtg 720

gcgaggttct atgctgcagc catgagtggg gctgggccct gggcagcctg gcctttcctg 780

cttagcctgg ccctaatgct gctgtggctg ctcagctgac ctccttttac cttctgatac 840

ctggaaatcc ctgccctgtt cagccccaca gctcccaact atttggttcc tgctccatgg 900

tcgggcctct gacagccact ttgaataaac cagacaccgc acatgtgtct tgagaattat 960

ttggaaaaaa aaaaaaaaaa aa 982

<210> 21
<211> 1255
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 21
Met Glu Leu Ala Ala Leu Cys Arg Trp Gly Leu Leu Leu Ala Leu Leu
1 5 10 15

Pro Pro Gly Ala Ala Ser Thr Gln Val Cys Thr Gly Thr Asp Met Lys

20 25 30

Leu Arg Leu Pro Ala Ser Pro Glu Thr His Leu Asp Met Leu Arg His
35 40 45

Leu Tyr Gln Gly Cys Gln Val Val Gln Gly Asn Leu Glu Leu Thr Tyr
50 55 60

Leu Pro Thr Asn Ala Ser Leu Ser Phe Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val
65 70 75 80

Gln Gly Tyr Val Leu Ile Ala His Asn Gln Val Arg Gln Val Pro Leu
85 90 95

Gln Arg Leu Arg Ile Val Arg Gly Thr Gln Leu Phe Glu Asp Asn Tyr
100 105 110

Ala Leu Ala Val Leu Asp Asn Gly Asp Pro Leu Asn Asn Thr Thr Pro
115 120 125

Val Thr Gly Ala Ser Pro Gly Gly Leu Arg Glu Leu Gln Leu Arg Ser
130 135 140

Leu Thr Glu Ile Leu Lys Gly Gly Val Leu Ile Gln Arg Asn Pro Gln
145 150 155 160

Leu Cys Tyr Gln Asp Thr Ile Leu Trp Lys Asp Ile Phe His Lys Asn
165 170 175

Asn Gln Leu Ala Leu Thr Leu Ile Asp Thr Asn Arg Ser Arg Ala Cys
180 185 190

His Pro Cys Ser Pro Met Cys Lys Gly Ser Arg Cys Trp Gly Glu Ser
195 200 205

Ser Glu Asp Cys Gln Ser Leu Thr Arg Thr Val Cys Ala Gly Gly Cys
210 215 220

Ala Arg Cys Lys Gly Pro Leu Pro Thr Asp Cys Cys His Glu Gln Cys
225 230 235 240

Ala Ala Gly Cys Thr Gly Pro Lys His Ser Asp Cys Leu Ala Cys Leu
245 250 255

His Phe Asn His Ser Gly Ile Cys Glu Leu His Cys Pro Ala Leu Val
260 265 270

Thr Tyr Asn Thr Asp Thr Phe Glu Ser Met Pro Asn Pro Glu Gly Arg
275 280 285

Tyr Thr Phe Gly Ala Ser Cys Val Thr Ala Cys Pro Tyr Asn Tyr Leu
290 295 300

Ser Thr Asp Val Gly Ser Cys Thr Leu Val Cys Pro Leu His Asn Gln
305 310 315 320

Glu Val Thr Ala Glu Asp Gly Thr Gln Arg Cys Glu Lys Cys Ser Lys
325 330 335

Pro Cys Ala Arg Val Cys Tyr Gly Leu Gly Met Glu His Leu Arg Glu
340 345 350

Val Arg Ala Val Thr Ser Ala Asn Ile Gln Glu Phe Ala Gly Cys Lys
355 360 365

Lys Ile Phe Gly Ser Leu Ala Phe Leu Pro Glu Ser Phe Asp Gly Asp
370 375 380

Pro Ala Ser Asn Thr Ala Pro Leu Gln Pro Glu Gln Leu Gln Val Phe
385 390 395 400

Glu Thr Leu Glu Glu Ile Thr Gly Tyr Leu Tyr Ile Ser Ala Trp Pro
405 410 415

Asp Ser Leu Pro Asp Leu Ser Val Phe Gln Asn Leu Gln Val Ile Arg

420 425 430

Gly Arg Ile Leu His Asn Gly Ala Tyr Ser Leu Thr Leu Gln Gly Leu
435 440 445

Gly Ile Ser Trp Leu Gly Leu Arg Ser Leu Arg Glu Leu Gly Ser Gly
450 455 460

Leu Ala Leu Ile His His Asn Thr His Leu Cys Phe Val His Thr Val
465 470 475 480

Pro Trp Asp Gln Leu Phe Arg Asn Pro His Gln Ala Leu Leu His Thr
485 490 495

Ala Asn Arg Pro Glu Asp Glu Cys Val Gly Glu Gly Leu Ala Cys His
500 505 510

Gln Leu Cys Ala Arg Gly His Cys Trp Gly Pro Gly Pro Thr Gln Cys
515 520 525

Val Asn Cys Ser Gln Phe Leu Arg Gly Gln Glu Cys Val Glu Glu Cys
530 535 540

Arg Val Leu Gln Gly Leu Pro Arg Glu Tyr Val Asn Ala Arg His Cys
545 550 555 560

Leu Pro Cys His Pro Glu Cys Gln Pro Gln Asn Gly Ser Val Thr Cys
565 570 575

Phe Gly Pro Glu Ala Asp Gln Cys Val Ala Cys Ala His Tyr Lys Asp
580 585 590

Pro Pro Phe Cys Val Ala Arg Cys Pro Ser Gly Val Lys Pro Asp Leu
595 600 605

Ser Tyr Met Pro Ile Trp Lys Phe Pro Asp Glu Glu Gly Ala Cys Gln
610 615 620

Pro Cys Pro Ile Asn Cys Thr His Ser Cys Val Asp Leu Asp Asp Lys
625 630 635 640

Gly Cys Pro Ala Glu Gln Arg Ala Ser Pro Leu Thr Ser Ile Ile Ser
645 650 655

Ala Val Val Gly Ile Leu Leu Val Val Val Leu Gly Val Val Phe Gly
660 665 670

Ile Leu Ile Lys Arg Arg Gln Gln Lys Ile Arg Lys Tyr Thr Met Arg
675 680 685

Arg Leu Leu Gln Glu Thr Glu Leu Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly
690 695 700

Ala Met Pro Asn Gln Ala Gln Met Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Leu
705 710 715 720

Arg Lys Val Lys Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys
725 730 735

Gly Ile Trp Ile Pro Asp Gly Glu Asn Val Lys Ile Pro Val Ala Ile
740 745 750

Lys Val Leu Arg Glu Asn Thr Ser Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu
755 760 765

Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Gly Val Gly Ser Pro Tyr Val Ser Arg
770 775 780

Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser Thr Val Gln Leu Val Thr Gln Leu
785 790 795 800

Met Pro Tyr Gly Cys Leu Leu Asp His Val Arg Glu Asn Arg Gly Arg
805 810 815

Leu Gly Ser Gln Asp Leu Leu Asn Trp Cys Met Gln Ile Ala Lys Gly

820 825 830

Met Ser Tyr Leu Glu Asp Val Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala
835 840 845

Arg Asn Val Leu Val Lys Ser Pro Asn His Val Lys Ile Thr Asp Phe
850 855 860

Gly Leu Ala Arg Leu Leu Asp Ile Asp Glu Thr Glu Tyr His Ala Asp
865 870 875 880

Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu Arg
885 890 895

Arg Arg Phe Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val
900 905 910

Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ala Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala
915 920 925

Arg Glu Ile Pro Asp Leu Leu Glu Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro
930 935 940

Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met
945 950 955 960

Ile Asp Ser Glu Cys Arg Pro Arg Phe Arg Glu Leu Val Ser Glu Phe
965 970 975

Ser Arg Met Ala Arg Asp Pro Gln Arg Phe Val Val Ile Gln Asn Glu
980 985 990

Asp Leu Gly Pro Ala Ser Pro Leu Asp Ser Thr Phe Tyr Arg Ser Leu
995 1000 1005

Leu Glu Asp Asp Asp Met Gly Asp Leu Val Asp Ala Glu Glu Tyr
1010 1015 1020

Leu Val Pro Gln Gln Gly Phe Phe Cys Pro Asp Pro Ala Pro Gly
1025 1030 1035

Ala Gly Gly Met Val His His Arg His Arg Ser Ser Ser Thr Arg
1040 1045 1050

Ser Gly Gly Gly Asp Leu Thr Leu Gly Leu Glu Pro Ser Glu Glu
1055 1060 1065

Glu Ala Pro Arg Ser Pro Leu Ala Pro Ser Glu Gly Ala Gly Ser
1070 1075 1080

Asp Val Phe Asp Gly Asp Leu Gly Met Gly Ala Ala Lys Gly Leu
1085 1090 1095

Gln Ser Leu Pro Thr His Asp Pro Ser Pro Leu Gln Arg Tyr Ser
1100 1105 1110

Glu Asp Pro Thr Val Pro Leu Pro Ser Glu Thr Asp Gly Tyr Val
1115 1120 1125

Ala Pro Leu Thr Cys Ser Pro Gln Pro Glu Tyr Val Asn Gln Pro
1130 1135 1140

Asp Val Arg Pro Gln Pro Pro Ser Pro Arg Glu Gly Pro Leu Pro
1145 1150 1155

Ala Ala Arg Pro Ala Gly Ala Thr Leu Glu Arg Pro Lys Thr Leu
1160 1165 1170

Ser Pro Gly Lys Asn Gly Val Val Lys Asp Val Phe Ala Phe Gly
1175 1180 1185

Gly Ala Val Glu Asn Pro Glu Tyr Leu Thr Pro Gln Gly Gly Ala
1190 1195 1200

Ala Pro Gln Pro His Pro Pro Pro Ala Phe Ser Pro Ala Phe Asp

1205 1210 1215

Asn Leu Tyr Tyr Trp Asp Gln Asp Pro Pro Glu Arg Gly Ala Pro
1220 1225 1230

Pro Ser Thr Phe Lys Gly Thr Pro Thr Ala Glu Asn Pro Glu Tyr
1235 1240 1245

Leu Gly Leu Asp Val Pro Val
1250 1255

<210> 22
<211> 3768
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 22
atggagctgg cggccttgtg ccgctggggg ctcctcctcg ccctcttgcc ccccggagcc 60

gcgagcaccc aagtgtgcac cggcacagac atgaagctgc ggctccctgc cagtcccgag 120

acccacctgg acatgctccg ccacctctac cagggctgcc aggtggtgca gggaaacctg 180

gaactcacct acctgcccac caatgccagc ctgtccttcc tgcaggatat ccaggaggtg 240

cagggctacg tgctcatcgc tcacaaccaa gtgaggcagg tcccactgca gaggctgcgg 300

attgtgcgag gcacccagct ctttgaggac aactatgccc tggccgtgct agacaatgga 360

gacccgctga acaataccac ccctgtcaca ggggcctccc caggaggcct gcgggagctg 420

cagcttcgaa gcctcacaga gatcttgaaa ggaggggtct tgatccagcg gaacccccag 480

ctctgctacc aggacacgat tttgtggaag gacatcttcc acaagaacaa ccagctggct 540

ctcacactga tagacaccaa ccgctctcgg gcctgccacc cctgttctcc gatgtgtaag 600

ggctcccgct gctggggaga gagttctgag gattgtcaga gcctgacgcg cactgtctgt 660

gccggtggct gtgcccgctg caaggggcca ctgcccactg actgctgcca tgagcagtgt 720

gctgccggct gcacgggccc caagcactct gactgcctgg cctgcctcca cttcaaccac 780

agtggcatct gtgagctgca ctgcccagcc ctggtcacct acaacacaga cacgtttgag 840

tccatgccca atcccgaggg ccggtataca ttcggcgcca gctgtgtgac tgcctgtccc 900

tacaactacc tttctacgga cgtgggatcc tgcaccctcg tctgccccct gcacaaccaa 960

gaggtgacag cagaggatgg aacacagcgg tgtgagaagt gcagcaagcc ctgtgcccga 1020

gtgtgctatg gtctgggcat ggagcacttg cgagaggtga gggcagttac cagtgccaat 1080

atccaggagt ttgctggctg caagaagatc tttgggagcc tggcatttct gccggagagc 1140

tttgatgggg acccagcctc caacactgcc ccgctccagc cagagcagct ccaagtgttt 1200

gagactctgg aagagatcac aggttaccta tacatctcag catggccgga cagcctgcct 1260

gacctcagcg tcttccagaa cctgcaagta atccggggac gaattctgca caatggcgcc 1320

tactcgctga ccctgcaagg gctgggcatc agctggctgg ggctgcgctc actgagggaa 1380

ctgggcagtg gactggccct catccaccat aacacccacc tctgcttcgt gcacacggtg 1440

ccctgggacc agctctttcg gaacccgcac caagctctgc tccacactgc caaccggcca 1500

gaggacgagt gtgtgggcga gggcctggcc tgccaccagc tgtgcgcccg agggcactgc 1560

tggggtccag ggcccaccca gtgtgtcaac tgcagccagt tccttcgggg ccaggagtgc 1620

gtggaggaat gccgagtact gcaggggctc cccagggagt atgtgaatgc caggcactgt 1680

ttgccgtgcc accctgagtg tcagccccag aatggctcag tgacctgttt tggaccggag 1740

gctgaccagt gtgtggcctg tgcccactat aaggaccctc ccttctgcgt ggcccgctgc 1800

cccagcggtg tgaaacctga cctctcctac atgcccatct ggaagtttcc agatgaggag 1860

ggcgcatgcc agccttgccc catcaactgc acccactcct gtgtggacct ggatgacaag 1920

ggctgccccg ccgagcagag agccagccct ctgacgtcca tcatctctgc ggtggttggc 1980

attctgctgg tcgtggtctt gggggtggtc tttgggatcc tcatcaagcg acggcagcag 2040

aagatccgga agtacacgat gcggagactg ctgcaggaaa cggagctggt ggagccgctg 2100

acacctagcg gagcgatgcc caaccaggcg cagatgcgga tcctgaaaga gacggagctg 2160

aggaaggtga aggtgcttgg atctggcgct tttggcacag tctacaaggg catctggatc 2220

cctgatgggg agaatgtgaa aattccagtg gccatcaaag tgttgaggga aaacacatcc 2280

cccaaagcca acaaagaaat cttagacgaa gcatacgtga tggctggtgt gggctcccca 2340

tatgtctccc gccttctggg catctgcctg acatccacgg tgcagctggt gacacagctt 2400

atgccctatg gctgcctctt agaccatgtc cgggaaaacc gcggacgcct gggctcccag 2460

gacctgctga actggtgtat gcagattgcc aaggggatga gctacctgga ggatgtgcgg 2520

ctcgtacaca gggacttggc cgctcggaac gtgctggtca agagtcccaa ccatgtcaaa 2580

attacagact tcgggctggc tcggctgctg gacattgacg agacagagta ccatgcagat 2640

gggggcaagg tgcccatcaa gtggatggcg ctggagtcca ttctccgccg gcggttcacc 2700

caccagagtg atgtgtggag ttatggtgtg actgtgtggg agctgatgac ttttggggcc 2760

aaaccttacg atgggatccc agcccgggag atccctgacc tgctggaaaa gggggagcgg 2820

ctgccccagc cccccatctg caccattgat gtctacatga tcatggtcaa atgttggatg 2880

attgactctg aatgtcggcc aagattccgg gagttggtgt ctgaattctc ccgcatggcc 2940

agggaccccc agcgctttgt ggtcatccag aatgaggact tgggcccagc cagtcccttg 3000

gacagcacct tctaccgctc actgctggag gacgatgaca tgggggacct ggtggatgct 3060

gaggagtatc tggtacccca gcagggcttc ttctgtccag accctgcccc gggcgctggg 3120

ggcatggtcc accacaggca ccgcagctca tctaccagga gtggcggtgg ggacctgaca 3180

ctagggctgg agccctctga agaggaggcc cccaggtctc cactggcacc ctccgaaggg 3240

gctggctccg atgtatttga tggtgacctg ggaatggggg cagccaaggg gctgcaaagc 3300

ctccccacac atgaccccag ccctctacag cggtacagtg aggaccccac agtacccctg 3360

ccctctgaga ctgatggcta cgttgccccc ctgacctgca gcccccagcc tgaatatgtg 3420

aaccagccag atgttcggcc ccagcccccct tcgccccgag agggccctct gcctgctgcc 3480

cgacctgctg gtgccactct ggaaaggccc aagactctct ccccagggaa gaatggggtc 3540

gtcaaagacg tttttgcctt tgggggtgcc gtggagaacc ccgagtactt gacaccccag 3600

ggaggagctg cccctcagcc ccaccctcct cctgccttca gcccagcctt cgacaacctc 3660

tattactggg accaggaccc accagagcgg ggggctccac ccagcacctt caaagggaca 3720

cctacggcag agaacccaga gtacctgggt ctggacgtgc cagtgtga 3768

<210> 23
<211> 119

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 23
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Pro Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 24
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 24

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn
20 25 30

Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Trp
35 40 45

Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65 70 75 80

Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro
85 90 95

Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 25
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 25
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Leu Ile Thr Pro Tyr Asn Gly Ala Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Arg Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Asp Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Ser Gly
100 105 110

Thr Pro Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 26
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 26
Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Asp Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 27
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 27
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> 28
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 28
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
100 105

<210> 29
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 29
Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Ser Leu Ser Ser Asp Ala
20 25 30

Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile Gly
35 40 45

Ile Ile Asn Gly Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ile Thr
65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Ile
85 90 95

Gln His Gly Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Leu
100 105 110

Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 30
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 30
Glu Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Val Ser Ala Ala Val Gly
1 5 10 15

Asp Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Val
20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
65 70 75 80

Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser
85 90 95

Ser Asn Tyr Gly Phe Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
100 105 110

<210> 31
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 31
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 Ile Ser Leu Ser Ser Asp
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile
35 40 45

Gly Ile Ile Asn Gly Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg His Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Ile Gln His Gly Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110

Met Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 32
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 32
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 Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Val
20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Cys
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser
85 90 95

Ser Asn Tyr Gly Phe Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 33
<211> 118

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 33
Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Tyr Ala
20 25 30

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
35 40 45

Ser Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Met Thr
65 70 75 80

Ser Leu Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Gly Arg Asn Gly
85 90 95

Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 34
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 34

Ala Phe Glu Leu Thr Gln Thr Pro Ser Ser Val Glu Ala Ala Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Ile Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr
85 90 95

Ser Thr Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
100 105

<210> 35
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 35
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 Ser Leu Asn Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ser Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asn Gly Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 36
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 36
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 Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Cys
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr
85 90 95

Ser Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 37
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 37
Gln Ser Val Lys Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr Ala
20 25 30

Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile Gly
35 40 45

Thr Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ala Pro
65 70 75 80

Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Tyr Tyr
85 90 95

Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser Leu

<210> 38
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 38
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Ala Ser Glu Pro Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Val
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Thr Ser Thr Leu Ala Ser Gly Ala Pro Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Cys
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser
85 90 95

Tyr Gly Ile Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
100 105 110

<210> 39
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 39
Gln 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 Ser Ala Ser Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile
35 40 45

Gly Thr Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Tyr Tyr Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 40
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 40
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Val
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Thr Ser Thr Leu Ala 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 Cys
65 70 75 80

Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser
85 90 95

Tyr Gly Ile Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 41
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 41
Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Lys Pro Asp Glu Ser
1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Ala
20 25 30

Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile Gly
35 40 45

Thr Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ile Thr
65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly
85 90 95

Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Leu Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 42
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 42
Ala Ala Val Leu Thr Gln Thr Pro Ser Pro Val Ser Ala Ala Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Ser Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn
20 25 30

Asn Asn Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Gly Cys Asp Asp
85 90 95

Asp Ala Asp Thr Phe Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
100 105 110

<210> 43
<211> 125

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 43
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 Ser Leu Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Thr Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Gly Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr Phe
100 105 110

Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 44
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 44

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 Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn
20 25 30

Asn Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
65 70 75 80

Gln Cys Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Gly Cys Asp Asp
85 90 95

Asp Ala Asp Thr Phe Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 45
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 45
gaggtccaac tggtggagag cggtggaggt gttgtgcaac ctggccggtc cctgcgcctg 60

tcctgctccg catctggctt caccttcagc ggctatgggt tgtcttgggt gagacaggca 120

cctggaaaag gtcttgagtg ggttgcaatg attagtagtg gtggtagtta tacctactat 180

gcagacagtg tgaagggtag atttgcaata tcgcgagaca acgccaagaa cacattgttc 240

ctgcaaatgg acagcctgag acccgaagac accggggtct atttttgtgc aagacatggg 300

gacgatcccg cctggttcgc ttattggggc caagggaccc cggtcaccgt ctcctca 357

<210> 46
<211> 330
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 46
gacatccagc tgacccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggtga cagagtgacc 60

atcacctgta gtgtcagctc aagtataagt tccaacaact tgcactggta ccagcagaag 120

ccaggtaagg ctccaaagcc atggatctac ggcacatcca acctggcttc tggtgtgcca 180

agcagattca gcggtagcgg tagcggtacc gactacacct tcaccatcag cagcctccag 240

ccagaggaca tcgccaccta ctactgccaa cagtggagta gttacccgta catgtacacg 300

ttcggccaag ggaccaaggt ggaaatcaaa 330

<210> 47
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 47
caggtacaac tgcagcagtc tgggcctgag ctggagaagc ctggcgcttc agtgaagata 60

tcctgcaagg cttctggtta ctcattcact ggctacacca tgaactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga gccttgagtg gattggactt attactcctt acaatggtgc ttctagctac 180

aaccagaagt tcaggggcaa ggccacatta actgtagaca agtcatccag cacagcctac 240

atggacctcc tcagtctgac atctgaagac tctgcagtct atttctgtgc aagggggggt 300

tacgacggga ggggttttga ctactgggga tccgggaccc cggtcaccgt ctcctca 357

<210> 48
<211> 318
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 48
gacatcgagc tcactcagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60

atgacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgcact ggtaccagca gaagtcaggc 120

acctccccca aaagatggat ttatgacaca tccaaactgg cttctggagt cccaggtcgc 180

ttcagtggca gtgggtctgg aaactcttac tctctcacaa tcagcagcgt ggaggctgaa 240

gatgatgcaa cttattactg ccagcagtgg agtaagcacc ctctcacgtt cggatccggg 300

accaaggtgg aaatcaaa 318

<210> 49
<211> 369
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 49
cagtcggtgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60

tgcaccgtct ctggaatctc cctcagtagc gatgcaataa gctgggtccg ccaggctcca 120

gggaaggggc tcgaatacat cggaatcatt aatggtggtg gtaacacata ctacgcgagc 180

tgggcgaaag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtggatct gaaaatcacc 240

agtccgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtgcca gaggcattca acatggtggt 300

ggtaatagtg attattatta ttacggcatg gacctctggg gcccaggcac cctggtcact 360

gtctcttca 369

<210> 50
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 50
gaagtgttga tgacccagac tccatcctcc gtgtctgcag ctgtgggaga cacagtcacc 60

atcaagtgcc aggccagtca gagcattagt agtgtcttgt cctggtatca gcagaaacca 120

gggcagcctc ccaagctcct gatctatctg gcatccactc tggcatctgg ggtcccatcg 180

cggttcagcg gcagtagatc tgggacagag ttcactctca ccatcagcga cctggagtgt 240

gacgatgctg ccacttacta ctgtcaaacc aattatggta ctagtagtag taattatggt 300

tttgctttcg gcggagggac cgaggtggtc gtcaaa 336

<210> 51
<211> 378
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 51
gaagtccaac tggtggaaag cgggggagga ctggtgcagc cgggcggatc cctccggctg 60

tcatgtgctg catcgggaat ttccctctcc tccgacgcga ttagctgggt cagacaggcc 120

cccggaaagg ggctggagta catcggtatc atcaacggcg gcggaaacac ctactacgcc 180

tcctgggcca agggccgctt caccatctcg cggcataatt ccaagaacac tctgtacttg 240

caaatgaact ccctgagggc cgaggacacc gccgtgtact actgcgcgcg cggcatccag 300

cacggtggtg gaaacagcga ctactactac tatgggatgg atctgtgggg ccagggaact 360

cttgtgaccg tgtcgtca 378

<210> 52
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源

<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 52
gacattcaga tgacccagtc cccaagctcg ctgtccgcct ccgtgggcga ccgcgtgacc 60

atcacgtgcc aggcgtccca gtcaattagc agcgtgctct cctggtacca acagaagccg 120

gggaaagcac ccaagctgct gatctacttg gcctccactc tggcctcggg agtgccttca 180

cggttctccg gatcgggatc tggtactgat ttcaccctca ccatctcgag ccttcagtgc 240

gaggacatcg ctacttacta ttgtcaaacc aactacggaa cctccagctc caactacggc 300

tttgccttcg gtggcgggac caaggtcgaa atcaaa 336

<210> 53
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 53
cagtcggtgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60

tgcacagtct ctggattctc cctcaataac tatgcaatga gctgggtccg ccaggctcca 120

gggaaggggc tggaatggat cggatccatt agtactggtg gtctcgcatt ctacgcgaac 180

tgggcaaaag gccgattcac catctccaga acctcgacca cggtggatct gaaaatgacc 240

agtctgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtggca gaaatggtgg tggtagttat 300

attttctatt attttgactt gtggggccaa ggcaccctcg tcactgtctc ttca 354

<210> 54
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 54
gcattcgaat tgacccagac tccatcctcc gtggaggcag ctgtgggagg cacaatcacc 60

atcaagtgcc aggccagtca gagcattagt agttacttat cctggtatca gcagaaacca 120

gggcagcctc ccaagctcct gatctattct gcatccactc tggcatctgg ggtctcatcg 180

cggttcaaag gcagtggatc tgggacagag tacactctca ccatcagcga cctggagtgt 240

gccgatgctg ccacttactt ctgtcaaagc tattatgata ttggtactag tactttcggc 300

ggagggaccg aggtggtcgt caaa 324

<210> 55
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 55
gaagtgcagc tggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

tcttgtgccg cctccggctt ctccctgaac aactacgcca tgtcctgggt gcgacaggcc 120

cctggcaaag gcctggaatg gatcggctcc atcagcacag gcggcctggc cttctacgcc 180

aattgggcca agggccggtt caccatcagc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctc 240

cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccag aaacggcgga 300

ggctcctaca tcttctacta cttcgacctg tggggccagg gcaccctcgt gacagtgtca 360

tct 363

<210> 56
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 56
gatattcaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgctt ctgtgggcga cagagtgacc 60

atcacctgtc aggcctccca gtccatctcc tcctacctgt cctggtatca gcagaagccc 120

ggcaaggccc ccaagctgct gatctactct gcctccacac tggcctccgg cgtgccctct 180

agattctccg gctctggctc tggcaccgac tttaccctga ccatcagctc cctccagtgc 240

gaggatgccg ccacctacta ctgccagtcc tactacgaca tcggcacctc caccttcggc 300

ggaggcacca aggtggaaat caaa 324

<210> 57
<211> 342
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 57
cagtcagtga aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60

tgcacagtct ctggaatcga cctcagtagc tatgcaatgg gctggttccg ccaggctcca 120

gggaaggggc tggaatacat cggaaccatt aatattggtg gtcgcgtata ttacgcgagc 180

tgggcaaaag gccgattcac catctccaga acctcgacca cggtggatct gaaagcgccc 240

agtctgacag ccgaggacac ggccacctat ttctgtgcca gatattataa tggtggtagt 300

tatgacatct ggggcccagg caccctggtc accgtctctt ta 342

<210> 58
<211> 330
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 58
gatgttgtga tgacccagac tccagcctcc gcgtctgaac ctgtgggagg cacagtcacc 60

atcaagtgcc aggccagtga gagcatttat cgcgtattgg cctggtatca gcagaaacca 120

gggcagcctc ccaagctcct gatctatgat acatccactc tggcatctgg ggccccatcg 180

cggttcaaag gcagtggata tgggacagag ttcactctca ccatcagcgg cgtgcagtgt 240

gaagatgctg ccacttacta ctgtcaaggc ggttattatg ctgatagtta tggtattgct 300

ttcggcggag ggaccgaggt ggtggtcaaa 330

<210> 59
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 59
caggtgcagc tggtggaatc tggcggagga ctggtgcagc ctggcggctc tctgagactg 60

tcctgttccg cctccggaat cgacctgtcc tcctacgcta tgggctgggt gcgacaggct 120

cctggcaagg gcctggagta catcggcacc atcaacatcg gcggcagagt gtactacgcc 180

tcctgggcca agggccggtt caccatctcc agagacaact ccaagaacac cctgtacctc 240

cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgcgcccg gtactacaac 300

ggcggctcct acgatatctg gggccagggc acactcgtga ccgtgtcctc t 351

<210> 60
<211> 330
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 60
gatatccaga tgacccagtc cccctccacc ctgtctgcct ctgtgggcga cagagtgacc 60

atcacctgtc aggcctccga gtccatctac cgggtgctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgac accagcacac tggcctccgg cgtgccctct 180

agattctccg gctctggctc tggcaccgag tttaccctga ccatctccag cctccagtgc 240

gacgacgccg ccacctacta ttgtcagggc ggctactacg ccgactccta cggaatcgct 300

ttcggcggag gcaccaaggt ggaaatcaaa 330

<210> 61
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 61
cagtcggtgg aggagtccgg cggtcgcctg gtaaagcctg acgaatccct gacactcacc 60

tgcacagcct ctggattctc cctcagtagt tatgcaatga tctgggtccg ccaggctcca 120

ggggaggggc tggaatggat cggaaccatt agtactggtg gtatcacata ctacgcgagc 180

tgggcgaaag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtggatct gaaaatcacc 240

agtccgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtgcca gagggggata tgctgctagt 300

agtgcttatt atctcccgta ctactttgac ttgtggggcc aagggaccct ggtcaccgtc 360

tcctca 366

<210> 62
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 62
gcagccgtgc tgacccagac accatcaccc gtgtctgcag ctgtgggagg cacagtcacc 60

atcagttgcc agtccagtca gagtgtttat aataataaca acttagcctg gtttcagcag 120

aaacccgggc agcctcccaa gcttctgatc tatctggcat ccactctggc atctggggtc 180

ccatcacggt tcagcggcag tggatctggg acacagttca ctctcaccat cagcggcgtg 240

cagtgtgacg atgctgccac ttattactgt ctaggtggtt gtgatgatga tgctgatact 300

tttgctttcg gcggagggac tgaggtggtg gtcaaa 336

<210> 63
<211> 375
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 63
gaagtgcagc tggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

tcttgtgccg cctccggctt ctccctgtcc tcctacgcta tgatctgggt gcgacaggcc 120

cctggcaagg gcctggaatg gatcggcacc atctctaccg gcggaattac ctactacgcc 180

tcctgggcca agggccggtt caccatctcc agagacaact ccaagaacac cctgtacctc 240

cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact attgtgctag aggcggctac 300

gccgccagct ccgcttacta cctgccctac tacttcgacc tgtggggcca gggcaccctc 360

gtgacagtgt catct 375

<210> 64
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 64
gatattcaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgctt ctgtgggcga cagagtgacc 60

atcacctgtc agtcctccca gtccgtgtat aacaacaaca acctggcctg gtatcagcag 120

aaacccggca aggtgcccaa gctgctgatc tacctggcct ccacactggc ctctggcgtg 180

ccctctagat tctccggctc tggctctggc accgacttta ccctgaccat cagctccctc 240

cagtgcgagg atgccgccac ctactattgc ctgggcggct gcgacgacga cgccgatacc 300

tttgcttttg gcggaggcac caaggtggaa atcaaa 336

<210> 65
<211> 5

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 65
Gly Tyr Thr Met Asn
1 5

<210> 66
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 66
Leu Ile Thr Pro Tyr Asn Gly Ala Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Arg
1 5 10 15

Gly

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

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 67
Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr
1 5 10

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

<220>

<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 68
Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
1 5 10

<210> 69
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 69
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser
1 5

<210> 70
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 70
Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr
1 5

<210> 71
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 71
Asp Thr Tyr Ile His
1 5

<210> 72
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 72
Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 73
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 73
Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 74
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 74
Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 75
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 75
Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
1 5

<210> 76
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 76
Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 77
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 77
Ser Asp Ala Ile Ser
1 5

<210> 78
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 78
Ile Ile Asn Gly Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 79
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 79
Gly Ile Gln His Gly Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
1 5 10 15

Asp Leu

<210> 80
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 80
Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Val Leu Ser
1 5 10

<210> 81
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 81
Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 82
<211> 14

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 82
Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser Ser Asn Tyr Gly Phe Ala
1 5 10

<210> 83
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 83
Ser Asp Ala Ile Ser
1 5

<210> 84
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 84
Ile Ile Asn Gly Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 85
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 85

Gly Ile Gln His Gly Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
1 5 10 15

Asp Leu

<210> 86
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 86
Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Val Leu Ser
1 5 10

<210> 87
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 87
Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 88
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 88
Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser Ser Asn Tyr Gly Phe Ala
1 5 10

<210> 89
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 89
Asn Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 90
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 90
Ser Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 91
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 91
Asn Gly Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 92
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 92
Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 93
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 93
Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 94
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 94
Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr Ser Thr
1 5 10

<210> 95
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 95
Asn Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 96
<211> 16

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 96
Ser Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 97
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 97
Asn Gly Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 98
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 98
Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 99
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 99

Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 100
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 100
Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr Ser Thr
1 5 10

<210> 101
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 101
Ser Tyr Ala Met Gly
1 5

<210> 102
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 102
Thr Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 103
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 103
Tyr Tyr Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile
1 5

<210> 104
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 104
Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Val Leu Ala
1 5 10

<210> 105
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 105
Asp Thr Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 106
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 106
Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser Tyr Gly Ile Ala
1 5 10

<210> 107
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 107
Ser Tyr Ala Met Gly
1 5

<210> 108
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 108
Thr Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 109
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 109
Tyr Tyr Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile
1 5

<210> 110
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 110
Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Val Leu Ala
1 5 10

<210> 111
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 111
Asp Thr Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 112
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 112
Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser Tyr Gly Ile Ala
1 5 10

<210> 113
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 113
Ser Tyr Ala Met Ile
1 5

<210> 114
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 114
Thr Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 115
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 115
Gly Gly Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Leu

<210> 116
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 116
Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asn Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 117
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 117
Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 118
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 118
Leu Gly Gly Cys Asp Asp Asp Ala Asp Thr Phe Ala
1 5 10

<210> 119
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 119
Ser Tyr Ala Met Ile
1 5

<210> 120
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 120
Thr Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 121
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 121
Gly Gly Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp
1 5 10 15

Leu

<210> 122
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 122
Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asn Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 123
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 123
Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 124
<211> 12

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 124
Leu Gly Gly Cys Asp Asp Asp Ala Asp Thr Phe Ala
1 5 10

<210> 125
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 125
ggctatgggt tgtct 15

<210> 126
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 126
atgattagta gtggtggtag ttatacctac tatgcagaca gtgtgaaggg t 51

<210> 127
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 127
catggggacg atcccgcctg gttcgcttat 30

<210> 128
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 128
agtgtcagct caagtataag ttccaacaac ttgcac 36

<210> 129
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 129
ggcacatcca acctggcttc t 21

<210> 130
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 130
caacagtgga gtagttaccc gtacatgtac acg 33

<210> 131
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 131

ggctacacca tgaac 15

<210> 132
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 132
cttattactc cttacaatgg tgcttctagc tacaaccaga agttcagggg c 51

<210> 133
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 133
gggggttacg acgggagggg ttttgactac 30

<210> 134
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 134
agtgccagct caagtgtaag ttacatgcac 30

<210> 135
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 135
gacacatcca aactggcttc t 21

<210> 136
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 136
cagcagtgga gtaagcaccc tctcacg 27

<210> 137
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 137
agcgatgcaa taagc 15

<210> 138
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 138
atcattaatg gtggtggtaa cacatactac gcgagctggg cgaaaggc 48

<210> 139
<211> 54
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 139
ggcattcaac atggtggtgg taatagtgat tattattatt acggcatgga cctc 54

<210> 140
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 140
caggccagtc agagcattag tagtgtcttg tcc 33

<210> 141
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 141
ctggcatcca ctctggcatc t 21

<210> 142
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 142
caaaccaatt atggtactag tagtagtaat tatggttttg ct 42

<210> 143
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 143
tccgacgcga ttagc 15

<210> 144
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 144
atcatcaacg gcggcggaaa cacctactac gcctcctggg ccaagggc 48

<210> 145
<211> 54
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 145
ggcatccagc acggtggtgg aaacagcgac tactactact atgggatgga tctg 54

<210> 146
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 146
caggcgtccc agtcaattag cagcgtgctc tcc 33

<210> 147
<211> 21

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 147
ttggcctcca ctctggcctc g 21

<210> 148
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 148
caaaccaact acggaacctc cagctccaac tacggctttg cc 42

<210> 149
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 149
aactatgcaa tgagc 15

<210> 150
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 150
tccattagta ctggtggtct cgcattctac gcgaactggg caaaaggc 48

<210> 151
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 151
aatggtggtg gtagttatat tttctattat tttgacttg 39

<210> 152
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 152
caggccagtc agagcattag tagttactta tcc 33

<210> 153
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 153
tctgcatcca ctctggcatc t 21

<210> 154
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 154
caaagctatt atgatattgg tactagtact 30

<210> 155
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 155
aactacgcca tgtcc 15

<210> 156
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 156
tccatcagca caggcggcct ggccttctac gccaattggg ccaagggc 48

<210> 157
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 157
aacggcggag gctcctacat cttctactac ttcgacctg 39

<210> 158
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 158
caggcctccc agtccatctc ctcctacctg tcc 33

<210> 159
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 159
tctgcctcca cactggcctc c 21

<210> 160
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 160
cagtcctact acgacatcgg cacctccacc 30

<210> 161
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 161
agctatgcaa tgggc 15

<210> 162
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源

<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 162
accattaata ttggtggtcg cgtatattac gcgagctggg caaaaggc 48

<210> 163
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 163
tattataatg gtggtagtta tgacatc 27

<210> 164
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 164
caggccagtg agagcattta tcgcgtattg gcc 33

<210> 165
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 165
gatacatcca ctctggcatc t 21

<210> 166
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 166
caaggcggtt attatgctga tagttatggt attgct 36

<210> 167
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 167
tcctacgcta tgggc 15

<210> 168
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 168
accatcaaca tcggcggcag agtgtactac gcctcctggg ccaagggc 48

<210> 169
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 169
tactacaacg gcggctccta cgatatc 27

<210> 170
<211> 33
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 170
caggcctccg agtccatcta ccgggtgctg gcc 33

<210> 171
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 171
gacaccagca cactggcctc c 21

<210> 172
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 172
cagggcggct actacgccga ctcctacgga atcgct 36

<210> 173
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 173
agttatgcaa tgatc 15

<210> 174

<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 174
accattagta ctggtggtat cacatactac gcgagctggg cgaaaggc 48

<210> 175
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 175
gggggatatg ctgctagtag tgcttattat ctcccgtact actttgactt g 51

<210> 176
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 176
cagtcctccc agtccgtgta taacaacaac aacctggcc 39

<210> 177
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 177
ctggcatcca ctctggcatc t 21

<210> 178
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 178
ctaggtggtt gtgatgatga tgctgatact tttgct 36

<210> 179
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 179
tcctacgcta tgatc 15

<210> 180
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 180
accatctcta ccggcggaat tacctactac gcctcctggg ccaagggc 48

<210> 181
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 181

ggcggctacg ccgccagctc cgcttactac ctgccctact acttcgacct g 51

<210> 182
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 182
cagtcctccc agtccgtgta taacaacaac aacctggcc 39

<210> 183
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 183
ctggcctcca cactggcctc t 21

<210> 184
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 184
ctgggcggct gcgacgacga cgccgatacc tttgct 36

<210> 185
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 185
Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr
1 5

<210> 186
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 186
Ile Thr Pro Tyr Asn Gly Ala Ser
1 5

<210> 187
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 187
Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 188
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 188
Ser Ser Val Ser Tyr
1 5

<210> 189
<211> 3

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 189
Asp Thr Ser
1

<210> 190
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 190
Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr
1 5

<210> 191
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 191
Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr
1 5

<210> 192
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 192

Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr
1 5

<210> 193
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 193
Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 194
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 194
Gln Asp Val Asn Thr Ala
1 5

<210> 195
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 195
Ser Ala Ser
1

<210> 196
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 196
Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 197
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 197
Gly Ile Ser Leu Ser Ser Asp Ala
1 5

<210> 198
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 198
Ile Asn Gly Gly Gly Asn Thr
1 5

<210> 199
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 199
Ala Arg Gly Ile Gln His Gly Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Gly Met Asp Leu
20

<210> 200
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 200
Gln Ser Ile Ser Ser Val
1 5

<210> 201
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 201
Leu Ala Ser
1

<210> 202
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 202
Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser Ser Asn Tyr Gly Phe Ala
1 5 10

<210> 203
<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 203
Gly Ile Ser Leu Ser Ser Asp Ala
1 5

<210> 204
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 204
Ile Asn Gly Gly Gly Asn Thr
1 5

<210> 205
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 205
Ala Arg Gly Ile Gln His Gly Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Gly Met Asp Leu
20

<210> 206
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 206
Gln Ser Ile Ser Ser Val
1 5

<210> 207
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 207
Leu Ala Ser
1

<210> 208
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 208
Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser Ser Asn Tyr Gly Phe Ala
1 5 10

<210> 209
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 209
Gly Phe Ser Leu Asn Asn Tyr Ala
1 5

<210> 210
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 210
Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala
1 5

<210> 211
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 211
Gly Arg Asn Gly Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu
1 5 10 15

<210> 212
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 212
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 213
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 213
Ser Ala Ser
1

<210> 214
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 214
Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr Ser Thr
1 5 10

<210> 215
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 215
Gly Phe Ser Leu Asn Asn Tyr Ala
1 5

<210> 216
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 216
Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala
1 5

<210> 217
<211> 15

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 217
Ala Arg Asn Gly Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu
1 5 10 15

<210> 218
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 218
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 219
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 219
Ser Ala Ser
1

<210> 220
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 220

Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr Ser Thr
1 5 10

<210> 221
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 221
Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 222
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 222
Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val
1 5

<210> 223
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 223
Ala Arg Tyr Tyr Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile
1 5 10

<210> 224
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 224
Glu Ser Ile Tyr Arg Val
1 5

<210> 225
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 225
Asp Thr Ser
1

<210> 226
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 226
Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser Tyr Gly Ile Ala
1 5 10

<210> 227
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 227
Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 228
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 228
Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val
1 5

<210> 229
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 229
Ala Arg Tyr Tyr Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile
1 5 10

<210> 230
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 230
Glu Ser Ile Tyr Arg Val
1 5

<210> 231
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 231
Asp Thr Ser
1

<210> 232
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 232
Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser Tyr Gly Ile Ala
1 5 10

<210> 233
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 233
Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 234
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 234
Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr
1 5

<210> 235
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 235
Ala Arg Gly Gly Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr
1 5 10 15

Phe Asp Leu

<210> 236
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 236
Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asn Asn
1 5

<210> 237
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 237
Leu Ala Ser
1

<210> 238
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 238
Leu Gly Gly Cys Asp Asp Asp Ala Asp Thr Phe Ala
1 5 10

<210> 239
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 239
Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 240
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 240
Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr
1 5

<210> 241
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 241
Ala Arg Gly Gly Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr
1 5 10 15

Phe Asp Leu

<210> 242
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 242
Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asn Asn
1 5

<210> 243
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 243
Leu Ala Ser
1

<210> 244
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 244
Leu Gly Gly Cys Asp Asp Asp Ala Asp Thr Phe Ala
1 5 10

<210> 245
<211> 24

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 245
ggcttcacct tcagcggcta tggg 24

<210> 246
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 246
attagtagtg gtggtagtta tacc 24

<210> 247
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 247
gcaagacatg gggacgatcc cgcctggttc gcttat 36

<210> 248
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 248
tcaagtataa gttccaacaa c 21

<210> 249
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 249
ggcacatcc 9

<210> 250
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 250
caacagtgga gtagttaccc gtacatgtac acg 33

<210> 251
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 251
ggttactcat tcactggcta cacc 24

<210> 252
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 252
attactcctt acaatggtgc ttct 24

<210> 253
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 253
gcaagggggg gttacgacgg gaggggtttt gactac 36

<210> 254
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 254
tcaagtgtaa gttac 15

<210> 255
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 255
gacacatcc 9

<210> 256
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 256
cagcagtgga gtaagcaccc tctcacg 27

<210> 257
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 257
ggaatctccc tcagtagcga tgca 24

<210> 258
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 258
attaatggtg gtggtaacac a 21

<210> 259
<211> 60
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 259
gccagaggca ttcaacatgg tggtggtaat agtgattatt attattacgg catggacctc 60

<210> 260
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源

<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 260
cagagcatta gtagtgtc 18

<210> 261
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 261
ctggcatct 9

<210> 262
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 262
caaaccaatt atggtactag tagtagtaat tatggttttg ct 42

<210> 263
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 263
ggaatttccc tctcctccga cgcg 24

<210> 264
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 264
atcaacggcg gcggaaacac c 21

<210> 265
<211> 60
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 265
gcgcgcggca tccagcacgg tggtggaaac agcgactact actactatgg gatggatctg 60

<210> 266
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 266
cagtcaatta gcagcgtg 18

<210> 267
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 267
ttggcctcc 9

<210> 268
<211> 42
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 268
caaaccaact acggaacctc cagctccaac tacggctttg cc 42

<210> 269
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 269
ggattctccc tcaataacta tgca 24

<210> 270
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 270
attagtactg gtggtctcgc a 21

<210> 271
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 271
ggcagaaatg gtggtggtag ttatattttc tattattttg acttg 45

<210> 272

<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 272
cagagcatta gtagttac 18

<210> 273
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 273
tctgcatcc 9

<210> 274
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 274
caaagctatt atgatattgg tactagtact 30

<210> 275
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 275
ggcttctccc tgaacaacta cgcc 24

<210> 276
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 276
atcagcacag gcggcctggc c 21

<210> 277
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 277
gccagaaacg gcggaggctc ctacatcttc tactacttcg acctg 45

<210> 278
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 278
cagtccatct cctcctac 18

<210> 279
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 279

tctgcctcc 9

<210> 280

<400> 280
000

<210> 281

<400> 281
000

<210> 282

<400> 282
000

<210> 283

<400> 283
000

<210> 284

<400> 284
000

<210> 285

<400> 285
000

<210> 286

<400> 286
000

<210> 287

<400> 287
000

<210> 288

<400> 288
000

<210> 289

<400> 289
000

<210> 290

<400> 290
000

<210> 291

<400> 291
000

<210> 292

<400> 292
000

<210> 293

<400> 293
000

<210> 294

<400> 294
000

<210> 295

<400> 295
000

<210> 296

<400> 296
000

<210> 297

<400> 297
000

<210> 298

<400> 298
000

<210> 299

<400> 299
000

<210> 300
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源

<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 300
cagtcctact acgacatcgg cacctccacc 30

<210> 301
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 301
ggaatcgacc tcagtagcta tgca 24

<210> 302
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 302
attaatattg gtggtcgcgt a 21

<210> 303
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 303
gccagatatt ataatggtgg tagttatgac atc 33

<210> 304
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 304
gagagcattt atcgcgta 18

<210> 305
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 305
gatacatcc 9

<210> 306
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 306
caaggcggtt attatgctga tagttatggt attgct 36

<210> 307
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 307
ggaatcgacc tgtcctccta cgct 24

<210> 308
<211> 21
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 308
atcaacatcg gcggcagagt g 21

<210> 309
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 309
gcccggtact acaacggcgg ctcctacgat atc 33

<210> 310
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 310
gagtccatct accgggtg 18

<210> 311
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 311
gacaccagc 9

<210> 312

<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 312
cagggcggct actacgccga ctcctacgga atcgct 36

<210> 313
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 313
ggattctccc tcagtagtta tgca 24

<210> 314
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 314
attagtactg gtggtatcac a 21

<210> 315
<211> 57
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 315
gccagagggg gatatgctgc tagtagtgct tattatctcc cgtactactt tgacttg 57

<210> 316
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 316
cagagtgttt ataataataa caac 24

<210> 317
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 317
ctggcatcc 9

<210> 318
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 318
ctaggtggtt gtgatgatga tgctgatact tttgct 36

<210> 319
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 319

ggcttctccc tgtcctccta cgct 24

<210> 320
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 320
atctctaccg gcggaattac c 21

<210> 321
<211> 57
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 321
gctagaggcg gctacgccgc cagctccgct tactacctgc cctactactt cgacctg 57

<210> 322
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 322
cagtccgtgt ataacaacaa caac 24

<210> 323
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 323
ctggcctcc 9

<210> 324
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成寡核苷酸"

<400> 324
ctgggcggct gcgacgacga cgccgatacc tttgct 36

<210> 325
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 325
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Glu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Leu Ile Thr Pro Tyr Asn Gly Ala Ser Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Arg Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Asp Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Ser Gly
100 105 110

Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 326
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 326
Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Asp Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 327
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 327
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 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 Asp Glu Leu 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> 328
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 328
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> 329
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 329
Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Ser Leu Ser Ser Asp Ala
20 25 30

Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile Gly
35 40 45

Ile Ile Asn Gly Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ile Thr
65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Ile
85 90 95

Gln His Gly Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Leu
100 105 110

Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
195 200 205

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys
210 215 220

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
225 230 235 240

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
290 295 300

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
325 330 335

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
355 360 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
370 375 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 330
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 330
Glu Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Val Ser Ala Ala Val Gly
1 5 10 15

Asp Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Val
20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
65 70 75 80

Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser
85 90 95

Ser Asn Tyr Gly Phe Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val 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> 331
<211> 456
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 331
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 Ile Ser Leu Ser Ser Asp
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile
35 40 45

Gly Ile Ile Asn Gly Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg His Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Ile Gln His Gly Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110

Met Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
130 135 140

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
195 200 205

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
210 215 220

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
225 230 235 240

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
245 250 255

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
260 265 270

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
275 280 285

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
290 295 300

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
305 310 315 320

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
325 330 335

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
340 345 350

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
355 360 365

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
370 375 380

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
385 390 395 400

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
405 410 415

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
420 425 430

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
435 440 445

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 332
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 332
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 Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Val
20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Cys
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Thr Asn Tyr Gly Thr Ser Ser
85 90 95

Ser Asn Tyr Gly Phe Ala 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> 333
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 333
Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Tyr Ala
20 25 30

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
35 40 45

Ser Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Met Thr
65 70 75 80

Ser Leu Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Gly Arg Asn Gly
85 90 95

Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu 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 Lys 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 Asp Glu Leu 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> 334
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 334
Ala Phe Glu Leu Thr Gln Thr Pro Ser Ser Val Glu Ala Ala Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Ile Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr
85 90 95

Ser Thr Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 335
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 335
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 Ser Leu Asn Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ser Ile Ser Thr Gly Gly Leu Ala Phe Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asn Gly Gly Gly Ser Tyr Ile Phe Tyr Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Gln 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 Asp Glu Leu 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> 336
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 336
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 Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Cys
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Tyr Asp Ile Gly Thr
85 90 95

Ser Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 337
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 337
Gln Ser Val Lys Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro Gly Thr Pro
1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr Ala
20 25 30

Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile Gly
35 40 45

Thr Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ala Pro
65 70 75 80

Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Tyr Tyr
85 90 95

Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser Leu Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
115 120 125

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
145 150 155 160

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
180 185 190

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
195 200 205

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly 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 Lys 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 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305 310 315 320

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
340 345 350

Asp Glu Leu 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 Val 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> 338
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 338
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Ala Ser Glu Pro Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Val
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Thr Ser Thr Leu Ala Ser Gly Ala Pro Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Cys
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser
85 90 95

Tyr Gly Ile Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 339
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 339
Gln 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 Ser Ala Ser Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile
35 40 45

Gly Thr Ile Asn Ile Gly Gly Arg Val Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Tyr Tyr Asn Gly Gly Ser Tyr Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 340
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 340
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Arg Val
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Thr Ser Thr Leu Ala 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 Cys
65 70 75 80

Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Gly Tyr Tyr Ala Asp Ser
85 90 95

Tyr Gly Ile Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 341
<211> 452
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 341
Gln Ser Val Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Lys Pro Asp Glu Ser
1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Ala
20 25 30

Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile Gly
35 40 45

Thr Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ile Thr
65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly
85 90 95

Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Leu Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr 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 Asp Glu Leu 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> 342
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 342
Ala Ala Val Leu Thr Gln Thr Pro Ser Pro Val Ser Ala Ala Val Gly
1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Ser Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn
20 25 30

Asn Asn Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Gly Cys Asp Asp
85 90 95

Asp Ala Asp Thr Phe Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val 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> 343
<211> 455
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 343
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 Ser Leu Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Thr Ile Ser Thr Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Gly Tyr Ala Ala Ser Ser Ala Tyr Tyr Leu Pro Tyr Tyr Phe
100 105 110

Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
130 135 140

Gly Gly 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 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
195 200 205

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
210 215 220

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
225 230 235 240

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
245 250 255

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
260 265 270

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
275 280 285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
290 295 300

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
305 310 315 320

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
325 330 335

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
340 345 350

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
355 360 365

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
370 375 380

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
385 390 395 400

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
405 410 415

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
420 425 430

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 344
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成多肽"

<400> 344
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 Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn
20 25 30

Asn Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
65 70 75 80

Gln Cys Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Gly Cys Asp Asp
85 90 95

Asp Ala Asp Thr Phe Ala 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> 345
<211> 1350
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 345
gaggtccaac tggtggagag cggtggaggt gttgtgcaac ctggccggtc cctgcgcctg 60

tcctgctccg catctggctt caccttcagc ggctatgggt tgtcttgggt gagacaggca 120

cctggaaaag gtcttgagtg ggttgcaatg attagtagtg gtggtagtta tacctactat 180

gcagacagtg tgaagggtag atttgcaata tcgcgagaca acgccaagaa cacattgttc 240

ctgcaaatgg acagcctgag acccgaagac accggggtct atttttgtgc aagacatggg 300

gacgatcccg cctggttcgc ttattggggc caagggaccc cggtcaccgt ctcctcagcc 360

tccaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 420

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 480

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 540

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 600

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa 660

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg 720

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 780

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 840

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 900

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 960

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagcccccca tcgagaaaac catctccaaa 1020

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg 1080

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1140

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1200

gactccgacg gctccttctt cttatattca aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1320

aagagcctct ccctgtctcc cgggaaatga 1350

<210> 346
<211> 654
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 346
gacatccagc tgacccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggtga cagagtgacc 60

atcacctgta gtgtcagctc aagtataagt tccaacaact tgcactggta ccagcagaag 120

ccaggtaagg ctccaaagcc atggatctac ggcacatcca acctggcttc tggtgtgcca 180

agcagattca gcggtagcgg tagcggtacc gactacacct tcaccatcag cagcctccag 240

ccagaggaca tcgccaccta ctactgccaa cagtggagta gttacccgta catgtacacg 300

ttcggccaag ggaccaaggt ggaaatcaaa cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcatc 360

ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat 420

aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt 480

aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc 540

accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc 600

catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg ttaa 654

<210> 347
<211> 1350
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 347
caggtacaac tgcagcagtc tgggcctgag ctggagaagc ctggcgcttc agtgaagata 60

tcctgcaagg cttctggtta ctcattcact ggctacacca tgaactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga gccttgagtg gattggactt attactcctt acaatggtgc ttctagctac 180

aaccagaagt tcaggggcaa ggccacatta actgtagaca agtcatccag cacagcctac 240

atggacctcc tcagtctgac atctgaagac tctgcagtct atttctgtgc aagggggggt 300

tacgacggga ggggttttga ctactgggga tccgggaccc cggtcaccgt ctcctcagcc 360

tccaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 420

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 480

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 540

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 600

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa 660

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg 720

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 780

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 840

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 900

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 960

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagcccccca tcgagaaaac catctccaaa 1020

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg 1080

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1140

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1200

gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1320

aagagcctct ccctgtctcc cgggaaatga 1350

<210> 348
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 348
gacatcgagc tcactcagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60

atgacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgcact ggtaccagca gaagtcaggc 120

acctccccca aaagatggat ttatgacaca tccaaactgg cttctggagt cccaggtcgc 180

ttcagtggca gtgggtctgg aaactcttac tctctcacaa tcagcagcgt ggaggctgaa 240

gatgatgcaa cttattactg ccagcagtgg agtaagcacc ctctcacgtt cggatccggg 300

accaaggtgg aaatcaaacg aactgtggct gcaccatctg tcttcatctt cccgccatct 360

gatgagcagt tgaaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc tgctgaataa cttctatccc 420

agagaggcca aagtacagtg gaaggtggat aacgccctcc aatcgggtaa ctcccaggag 480

agtgtcacag agcaggacag caaggacagc acctacagcc tcagcagcac cctgacgctg 540

agcaaagcag actacgagaa acacaaagtc tacgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg 600

agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgtt aa 642

<210> 349
<211> 1362
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 349
cagtcggtgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60

tgcaccgtct ctggaatctc cctcagtagc gatgcaataa gctgggtccg ccaggctcca 120

gggaaggggc tcgaatacat cggaatcatt aatggtggtg gtaacacata ctacgcgagc 180

tgggcgaaag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtggatct gaaaatcacc 240

agtccgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtgcca gaggcattca acatggtggt 300

ggtaatagtg attattatta ttacggcatg gacctctggg gcccaggcac cctggtcact 360

gtctcttcag catccaccaa gggcccatcg gtcttccccc tggcaccctc ctccaagagc 420

acctctgggg gcacagcggc cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccggtg 480

acggtgtcgt ggaactcagg cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta 540

cagtcctcag gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgccctccag cagcttgggc 600

acccagacct acatctgcaa cgtgaatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaaa 660

gttgagccca aatcttgtga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc 720

ctgggggggac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc 780

cggacccctg aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag 840

ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 900

cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg 960

aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 1020

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gcccccatcc 1080

cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtcaaagg cttctatccc 1140

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 1200

cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttcttatatt caaagctcac cgtggacaag 1260

agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac 1320

cactacacgc agaagagcct ctccctgtct cccgggaaat ga 1362

<210> 350
<211> 660
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 350
gaagtgttga tgacccagac tccatcctcc gtgtctgcag ctgtgggaga cacagtcacc 60

atcaagtgcc aggccagtca gagcattagt agtgtcttgt cctggtatca gcagaaacca 120

gggcagcctc ccaagctcct gatctatctg gcatccactc tggcatctgg ggtcccatcg 180

cggttcagcg gcagtagatc tgggacagag ttcactctca ccatcagcga cctggagtgt 240

gacgatgctg ccacttacta ctgtcaaacc aattatggta ctagtagtag taattatggt 300

tttgctttcg gcggagggac cgaggtggtc gtcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 360

ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 420

ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa 480

tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 540

agcagcaccc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 600

gtcacccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttga 660

<210> 351
<211> 1371
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 351
gaagtccaac tggtggaaag cgggggagga ctggtgcagc cgggcggatc cctccggctg 60

tcatgtgctg catcgggaat ttccctctcc tccgacgcga ttagctgggt cagacaggcc 120

cccggaaagg ggctggagta catcggtatc atcaacggcg gcggaaacac ctactacgcc 180

tcctgggcca agggccgctt caccatctcg cggcataatt ccaagaacac tctgtacttg 240

caaatgaact ccctgagggc cgaggacacc gccgtgtact actgcgcgcg cggcatccag 300

cacggtggtg gaaacagcga ctactactac tatgggatgg atctgtgggg ccagggaact 360

cttgtgaccg tgtcgtcagc atccaccaag ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc 420

tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc 480

gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg 540

gctgtcctac agtcctcagg actctactcc ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc 600

agcttgggca cccagaccta catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg 660

gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca 720

cctgaactcc tggggggacc gtcagtcttc ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc 780

atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct 840

gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg 900

cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag 960

gactggctga atggcaagga gtacaagtgc aaggtctcca acaaagccct cccagccccc 1020

atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg 1080

cccccatccc gggatgagct gaccaagaac caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc 1140

ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac 1200

aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac ggctccttct tcttatattc aaagctcacc 1260

gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct 1320

ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc tccctgtctc ccgggaaatg a 1371

<210> 352
<211> 660
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 352
gacattcaga tgacccagtc cccaagctcg ctgtccgcct ccgtgggcga ccgcgtgacc 60

atcacgtgcc aggcgtccca gtcaattagc agcgtgctct cctggtacca acagaagccg 120

gggaaagcac ccaagctgct gatctacttg gcctccactc tggcctcggg agtgccttca 180

cggttctccg gatcgggatc tggtactgat ttcaccctca ccatctcgag ccttcagtgc 240

gaggacatcg ctacttacta ttgtcaaacc aactacggaa cctccagctc caactacggc 300

tttgccttcg gtggcgggac caaggtcgaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 360

ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 420

ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa 480

tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 540

agcagcaccc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 600

gtcacccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttga 660

<210> 353
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 353
cagtcggtgg aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60

tgcacagtct ctggattctc cctcaataac tatgcaatga gctgggtccg ccaggctcca 120

gggaaggggc tggaatggat cggatccatt agtactggtg gtctcgcatt ctacgcgaac 180

tgggcaaaag gccgattcac catctccaga acctcgacca cggtggatct gaaaatgacc 240

agtctgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtggca gaaatggtgg tggtagttat 300

attttctatt attttgactt gtggggccaa ggcaccctcg tcactgtctc ttcagcatcc 360

accaagggcc catcggtctt ccccctggca ccctcctcca agagcacctc tgggggcaca 420

gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 480

tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc 540

tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc 600

tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agaaagttga gcccaaatct 660

tgtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 720

gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac ccctgaggtc 780

acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 840

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 900

taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 960

aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc 1020

aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga tgagctgacc 1080

aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg 1140

gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 1200

tccgacggct ccttcttctt atattcaaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1260

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag 1320

agcctctccc tgtctcccgg gaaatga 1347

<210> 354
<211> 648
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源

<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 354
gcattcgaat tgacccagac tccatcctcc gtggaggcag ctgtgggagg cacaatcacc 60

atcaagtgcc aggccagtca gagcattagt agttacttat cctggtatca gcagaaacca 120

gggcagcctc ccaagctcct gatctattct gcatccactc tggcatctgg ggtctcatcg 180

cggttcaaag gcagtggatc tgggacagag tacactctca ccatcagcga cctggagtgt 240

gccgatgctg ccacttactt ctgtcaaagc tattatgata ttggtactag tactttcggc 300

ggagggaccg aggtggtcgt caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgttga 648

<210> 355
<211> 1356
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 355
gaagtgcagc tggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

tcttgtgccg cctccggctt ctccctgaac aactacgcca tgtcctgggt gcgacaggcc 120

cctggcaaag gcctggaatg gatcggctcc atcagcacag gcggcctggc cttctacgcc 180

aattgggcca agggccggtt caccatcagc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctc 240

cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccag aaacggcgga 300

ggctcctaca tcttctacta cttcgacctg tggggccagg gcaccctcgt gacagtgtca 360

tctgcatcca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

ggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag 660

cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga actcctgggg 720

ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 780

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 840

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 900

aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 960

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcccag cccccatcga gaaaaccatc 1020

tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc atcccgggat 1080

gagctgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac 1140

atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc 1200

gtgctggact ccgacggctc cttcttctta tattcaaagc tcaccgtgga caagagcagg 1260

tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1320

acgcagaaga gcctctccct gtctcccggg aaatga 1356

<210> 356
<211> 648
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 356
gatattcaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgctt ctgtgggcga cagagtgacc 60

atcacctgtc aggcctccca gtccatctcc tcctacctgt cctggtatca gcagaagccc 120

ggcaaggccc ccaagctgct gatctactct gcctccacac tggcctccgg cgtgccctct 180

agattctccg gctctggctc tggcaccgac tttaccctga ccatcagctc cctccagtgc 240

gaggatgccg ccacctacta ctgccagtcc tactacgaca tcggcacctc caccttcggc 300

ggaggcacca aggtggaaat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgttga 648

<210> 357
<211> 1335
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 357
cagtcagtga aggagtccgg gggtcgcctg gtcacgcctg ggacacccct gacactcacc 60

tgcacagtct ctggaatcga cctcagtagc tatgcaatgg gctggttccg ccaggctcca 120

gggaaggggc tggaatacat cggaaccatt aatattggtg gtcgcgtata ttacgcgagc 180

tgggcaaaag gccgattcac catctccaga acctcgacca cggtggatct gaaagcgccc 240

agtctgacag ccgaggacac ggccacctat ttctgtgcca gatattataa tggtggtagt 300

tatgacatct ggggcccagg caccctggtc accgtctctt tagcatccac caagggccca 360

tcggtcttcc ccctggcacc ctcctccaag agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc 420

tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg gtgacggtgt cgtggaactc aggcgccctg 480

accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc ctacagtcct caggactcta ctccctcagc 540

agcgtggtga ccgtgccctc cagcagcttg ggcacccaga cctacatctg caacgtgaat 600

cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag aaagttgagc ccaaatcttg tgacaaaact 660

cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa ctcctggggg gaccgtcagt cttcctcttc 720

cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg 780

gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag 840

gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc 900

agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc 960

tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc 1020

cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc 1080

agcctgacct gcctggtcaa aggcttctat cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc 1140

aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc 1200

ttcttcttat attcaaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc 1260

tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg 1320

tctcccggga aatga 1335

<210> 358
<211> 654
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 358
gatgttgtga tgacccagac tccagcctcc gcgtctgaac ctgtgggagg cacagtcacc 60

atcaagtgcc aggccagtga gagcatttat cgcgtattgg cctggtatca gcagaaacca 120

gggcagcctc ccaagctcct gatctatgat acatccactc tggcatctgg ggccccatcg 180

cggttcaaag gcagtggata tgggacagag ttcactctca ccatcagcgg cgtgcagtgt 240

gaagatgctg ccacttacta ctgtcaaggc ggttattatg ctgatagtta tggtattgct 300

ttcggcggag ggaccgaggt ggtggtcaaa cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcatc 360

ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat 420

aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt 480

aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc 540

accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc 600

catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg ttga 654

<210> 359
<211> 1344
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 359
caggtgcagc tggtggaatc tggcggagga ctggtgcagc ctggcggctc tctgagactg 60

tcctgttccg cctccggaat cgacctgtcc tcctacgcta tgggctgggt gcgacaggct 120

cctggcaagg gcctggagta catcggcacc atcaacatcg gcggcagagt gtactacgcc 180

tcctgggcca agggccggtt caccatctcc agagacaact ccaagaacac cctgtacctc 240

cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgcgcccg gtactacaac 300

ggcggctcct acgatatctg gggccagggc acactcgtga ccgtgtcctc tgcatccacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 660

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 720

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 900

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag 1080

aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200

gacggctcct tcttcttata ttcaaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320

ctctccctgt ctcccgggaa atga 1344

<210> 360
<211> 654
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 360
gatatccaga tgacccagtc cccctccacc ctgtctgcct ctgtgggcga cagagtgacc 60

atcacctgtc aggcctccga gtccatctac cgggtgctgg cctggtatca gcagaagcct 120

ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgac accagcacac tggcctccgg cgtgccctct 180

agattctccg gctctggctc tggcaccgag tttaccctga ccatctccag cctccagtgc 240

gacgacgccg ccacctacta ttgtcagggc ggctactacg ccgactccta cggaatcgct 300

ttcggcggag gcaccaaggt ggaaatcaaa cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcatc 360

ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat 420

aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt 480

aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc 540

accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc 600

catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg ttga 654

<210> 361
<211> 1359
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 361
cagtcggtgg aggagtccgg cggtcgcctg gtaaagcctg acgaatccct gacactcacc 60

tgcacagcct ctggattctc cctcagtagt tatgcaatga tctgggtccg ccaggctcca 120

ggggaggggc tggaatggat cggaaccatt agtactggtg gtatcacata ctacgcgagc 180

tgggcgaaag gccgattcac catctccaaa acctcgacca cggtggatct gaaaatcacc 240

agtccgacaa ccgaggacac ggccacctat ttctgtgcca gagggggata tgctgctagt 300

agtgcttatt atctcccgta ctactttgac ttgtggggcc aagggaccct ggtcaccgtc 360

tcctcagcat ccaccaaggg cccatcggtc ttccccctgg caccctcctc caagagcacc 420

tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 540

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 600

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt 660

gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 720

gggggaccgt cagtcttcct cttccccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 780

acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 840

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 900

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 960

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc 1020

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1080

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1140

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1200

cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ttatattcaa agctcaccgt ggacaagagc 1260

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1320

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccc gggaaatga 1359

<210> 362
<211> 660
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 362
gcagccgtgc tgacccagac accatcaccc gtgtctgcag ctgtgggagg cacagtcacc 60

atcagttgcc agtccagtca gagtgtttat aataataaca acttagcctg gtttcagcag 120

aaacccgggc agcctcccaa gcttctgatc tatctggcat ccactctggc atctggggtc 180

ccatcacggt tcagcggcag tggatctggg acacagttca ctctcaccat cagcggcgtg 240

cagtgtgacg atgctgccac ttattactgt ctaggtggtt gtgatgatga tgctgatact 300

tttgctttcg gcggagggac tgaggtggtg gtcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 360

ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 420

ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa 480

tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 540

agcagcaccc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 600

gtcacccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttga 660

<210> 363
<211> 1368
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 363
gaagtgcagc tggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

tcttgtgccg cctccggctt ctccctgtcc tcctacgcta tgatctgggt gcgacaggcc 120

cctggcaagg gcctggaatg gatcggcacc atctctaccg gcggaattac ctactacgcc 180

tcctgggcca agggccggtt caccatctcc agagacaact ccaagaacac cctgtacctc 240

cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact attgtgctag aggcggctac 300

gccgccagct ccgcttacta cctgccctac tacttcgacc tgtggggcca gggcaccctc 360

gtgacagtgt catctgcatc caccaagggc ccatcggtct tccccctggc accctcctcc 420

aagagcacct ctgggggcac agcggccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa 480

ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct 540

gtcctacagt cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc 600

ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac 660

aagaaagttg agcccaaatc ttgtgacaaa actcacacat gcccaccgtg cccagcacct 720

gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcctc ttccccccaa aacccaagga caccctcatg 780

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag 840

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg 900

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac 960

tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag gtctccaaca aagccctccc agcccccatc 1020

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc 1080

ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc 1140

tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag 1200

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttct tatattcaaa gctcaccgtg 1260

gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 1320

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctcccg ggaaatga 1368

<210> 364
<211> 660
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源

<223> /註="人工序列之描述：合成聚核苷酸"

<400> 364
gatattcaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgctt ctgtgggcga cagagtgacc 60

atcacctgtc agtcctccca gtccgtgtat aacaacaaca acctggcctg gtatcagcag 120

aaacccggca aggtgcccaa gctgctgatc tacctggcct ccacactggc ctctggcgtg 180

ccctctagat tctccggctc tggctctggc accgacttta ccctgaccat cagctccctc 240

cagtgcgagg atgccgccac ctactattgc ctgggcggct gcgacgacga cgccgatacc 300

tttgcttttg gcggaggcac caaggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 360

ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 420

ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa 480

tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 540

agcagcaccc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 600

gtcacccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttga 660

<210> 365
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 365
Ala His Lys Asp
1

<210> 366
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 366

Asn Thr Ser Gln Glu Ala His Lys Asp Val Ser Tyr Leu
1 5 10

<210> 367
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 367
Gly Phe Leu Gly
1

<210> 368
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註="人工序列之描述：合成肽"

<400> 368
Ala Leu Ala Leu
1

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種抗體-藥物結合物，其具有式(I)：

$Ab\text{-}(L\text{-}D)_p$ (I)

其中

(i) Ab為內化抗人類表皮生長因子受體2 (HER 2)抗體或其內化抗原結合片段，其包含：三個重鏈互補決定區(HCDR)，其包含SEQ ID NO:71 (HCDR1)、SEQ ID NO:72 (HCDR2)及SEQ ID NO:73 (HCDR3)之胺基酸序列；及三個輕鏈互補決定區(LCDR)，其包含SEQ ID NO:74 (LCDR1)、SEQ ID NO:75 (LCDR2)及SEQ ID NO:76 (LCDR3)之胺基酸序列，如Kabat編號系統所定義；或三個重鏈互補決定區(HCDR)，其包含SEQ ID NO:191 (HCDR1)、SEQ ID NO:192 (HCDR2)及SEQ ID NO:193 (HCDR3)之胺基酸序列；及三個輕鏈互補決定區(LCDR)，其包含SEQ ID NO:194 (LCDR1)、SEQ ID NO:195 (LCDR2)及SEQ ID NO:196 (LCDR3)之胺基酸序列，如IMGT編號系統所定義；

(ii) D為艾日布林(eribulin)；

(iii) L為可裂解連接子；且

(iv) p為整數1至8。

【請求項2】

如請求項1之抗體-藥物結合物，其中p為整數1至4。

【請求項3】

如請求項1之抗體-藥物結合物，其中該可裂解連接子包含抗體附

接基團、間隔子單元及可裂解單元。

【請求項4】

如請求項3之抗體-藥物結合物，其中該抗體或抗原結合片段接合於該抗體附接基團。

【請求項5】

如請求項3之抗體-藥物結合物，其中該可裂解單元包含可裂解肽部分，該可裂解肽部分包含胺基酸單元。

【請求項6】

如請求項5之抗體-藥物結合物，其中該胺基酸單元包含纈胺酸-瓜胺酸(Val-Cit)。

【請求項7】

如請求項3之抗體-藥物結合物，其中該間隔子單元包含聚乙二醇(PEG)部分。

【請求項8】

如請求項7之抗體-藥物結合物，其中該PEG部分包含-$(PEG)_m$-且m為整數1至10。

【請求項9】

如請求項8之抗體-藥物結合物，其中m為2。

【請求項10】

如請求項3之抗體-藥物結合物，其中該間隔子單元經由該抗體附接基團附接於該抗體或抗原結合片段。

【請求項11】

如請求項3之抗體-藥物結合物，其中該抗體附接基團包含順丁烯二醯亞胺(Mal)部分(「Mal-間隔子單元」)。

【請求項12】

如請求項11之抗體-藥物結合物，其中該Mal-間隔子單元經由該抗體或抗原結合片段上之半胱胺酸殘基接合於該抗體或抗原結合片段。

【請求項13】

如請求項11之抗體-藥物結合物，其中該Mal-間隔子單元將該抗體或抗原結合片段附接於該連接子中之該可裂解單元。

【請求項14】

如請求項3之抗體-藥物結合物，其中該可裂解連接子包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit。

【請求項15】

如請求項3之抗體-藥物結合物，其中該連接子中之該可裂解單元係直接或經由視情況之額外間隔子單元接合於艾日布林。

【請求項16】

如請求項15之抗體-藥物結合物，其中該額外間隔子單元包含對胺基苯甲氧基羰基(pAB)。

【請求項17】

如請求項3之抗體-藥物結合物，其中該可裂解連接子包含Val-Cit-pAB。

【請求項18】

如請求項3之抗體-藥物結合物，其中該可裂解連接子包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB。

【請求項19】

如請求項3之抗體-藥物結合物，其中該可裂解連接子經由C-35胺

共價附接於艾日布林。

【請求項20】

如請求項1之抗體-藥物結合物，其中該抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:27之胺基酸序列的重鏈可變區及包含SEQ ID NO:28之胺基酸序列的輕鏈可變區。

【請求項21】

如請求項1之抗體-藥物結合物，其中該抗體或抗原結合片段包含人類IgG1重鏈恆定域。

【請求項22】

如請求項1之抗體-藥物結合物，其中該抗體或抗原結合片段包含人類Igκ輕鏈恆定域。

【請求項23】

一種組合物，其包含多個複本之如請求項1至22中任一項之抗體-藥物結合物，其中該組合物中該等抗體-藥物結合物之平均p為約3.2至約4.4。

【請求項24】

一種抗體-藥物結合物，其具有式(I)：

$Ab\text{-}(L\text{-}D)_p$ (I)

其中

(i) Ab為內化抗人類表皮生長因子受體2 (HER 2)抗體或其內化抗原結合片段，其包含：三個重鏈互補決定區(HCDR)，其包含SEQ ID NO:71 (HCDR1)、SEQ ID NO:72 (HCDR2)及SEQ ID NO:73 (HCDR3)之胺基酸序列；及三個輕鏈互補決定區(LCDR)，其包含SEQ ID NO:74 (LCDR1)、SEQ ID NO:75

(LCDR2)及SEQ ID NO:76 (LCDR3)之胺基酸序列，如Kabat編號系統所定義；或三個重鏈互補決定區(HCDR)，其包含SEQ ID NO:191 (HCDR1)、SEQ ID NO:192 (HCDR2)及SEQ ID NO:193 (HCDR3)之胺基酸序列；及三個輕鏈互補決定區(LCDR)，其包含SEQ ID NO:194 (LCDR1)、SEQ ID NO:195 (LCDR2)及SEQ ID NO:196 (LCDR3)之胺基酸序列，如IMGT編號系統所定義；

(ii) D為艾日布林；

(iii) L為包含Mal-$(PEG)_2$-Val-Cit-pAB之可裂解連接子；且

(iv) *p*為整數1至8。

【請求項25】

如請求項24之抗體-藥物結合物，其中*p*為整數1至4。

【請求項26】

如請求項24之抗體-藥物結合物，其中該抗體或抗原結合片段包含有包含SEQ ID NO:27之胺基酸序列的重鏈可變區及包含SEQ ID NO:28之胺基酸序列的輕鏈可變區。

【請求項27】

如請求項24之抗體-藥物結合物，其中該抗體或抗原結合片段包含人類IgG1重鏈恆定域。

【請求項28】

如請求項24之抗體-藥物結合物，其中該抗體或抗原結合片段包含人類Igκ輕鏈恆定域。

【請求項29】

一種組合物，其包含多個複本之如請求項24至28中任一項之抗

體-藥物結合物，其中該組合物中該等抗體-藥物結合物之平均*p*為約3.2至約4.4。

【請求項30】

一種如請求項1至22及24至28中任一項之抗體-藥物結合物的用途，其用於製造供治療表現HER2的癌症之藥劑的方法中。

【請求項31】

如請求項30之用途，其中該癌症為胃癌、漿液性卵巢癌、透明細胞卵巢癌、非小細胞肺癌、結腸直腸癌、三陰性乳癌、子宮內膜癌、漿液性子宮內膜癌、肺類癌或骨肉瘤。

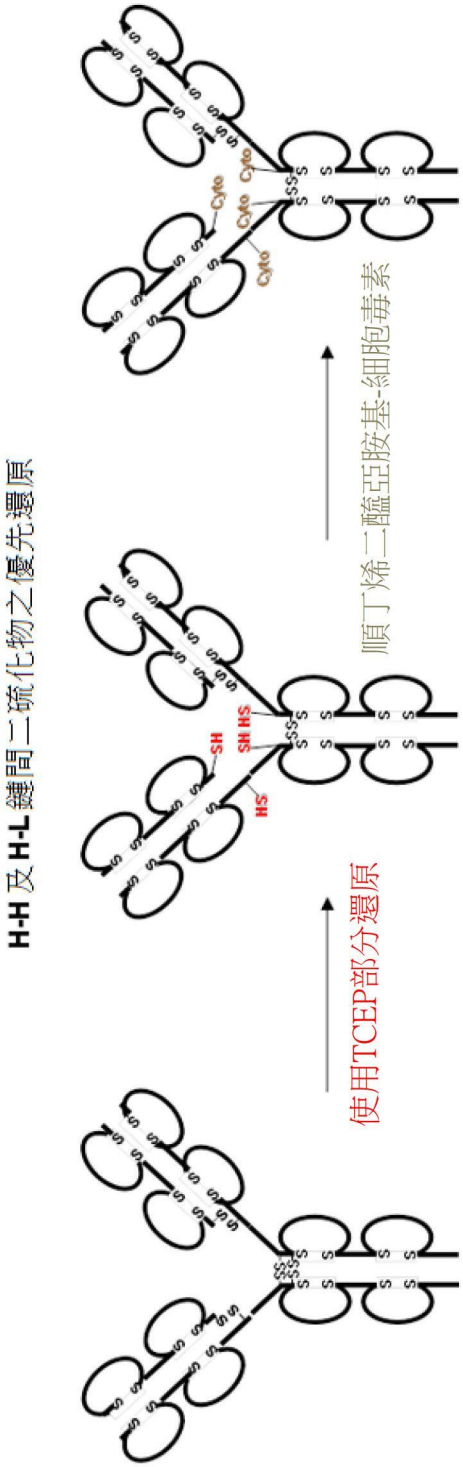
【請求項32】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至22及24至28中任一項之抗體-藥物結合物及醫藥學上可接受之載劑。

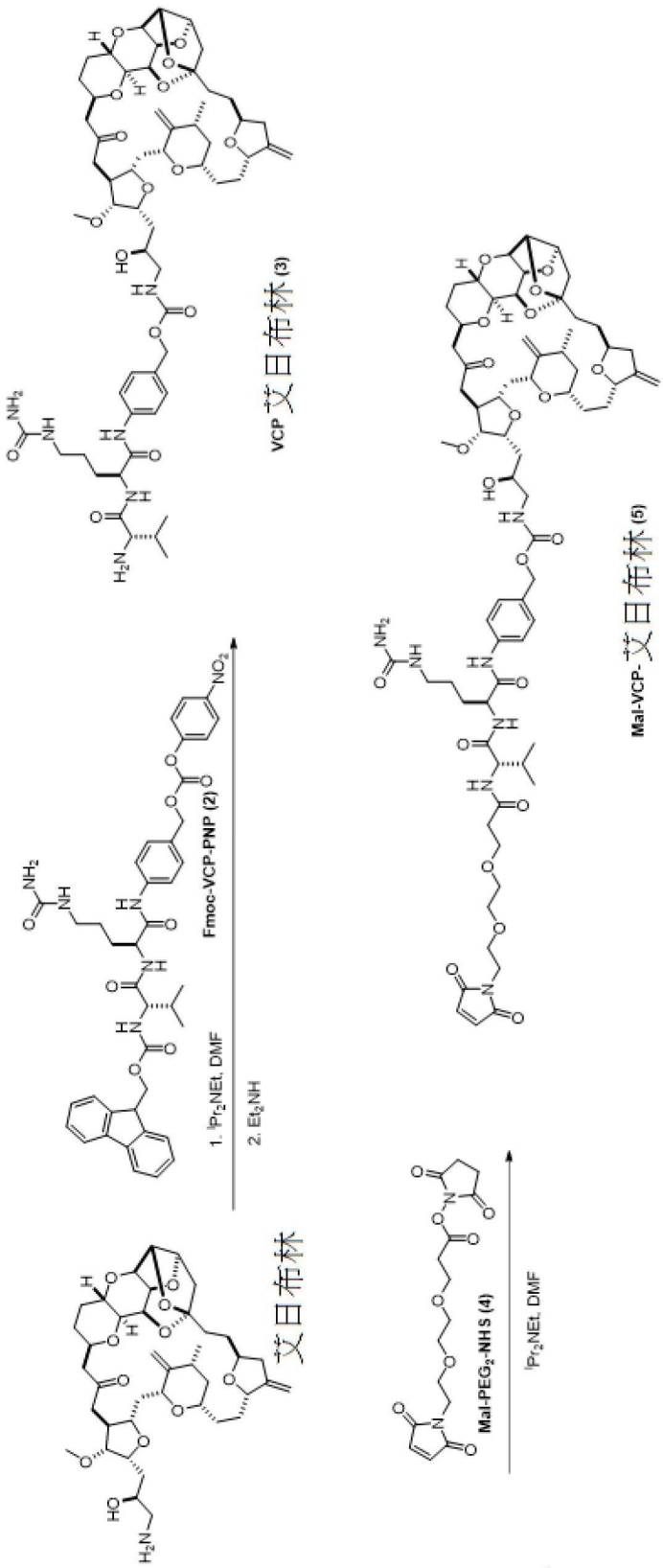
【請求項33】

一種產生如請求項1至22及24至28中任一項之抗體-藥物結合物的方法，其包括使抗體或抗原結合片段與接合於艾日布林之可裂解連接子在允許結合之條件下反應。

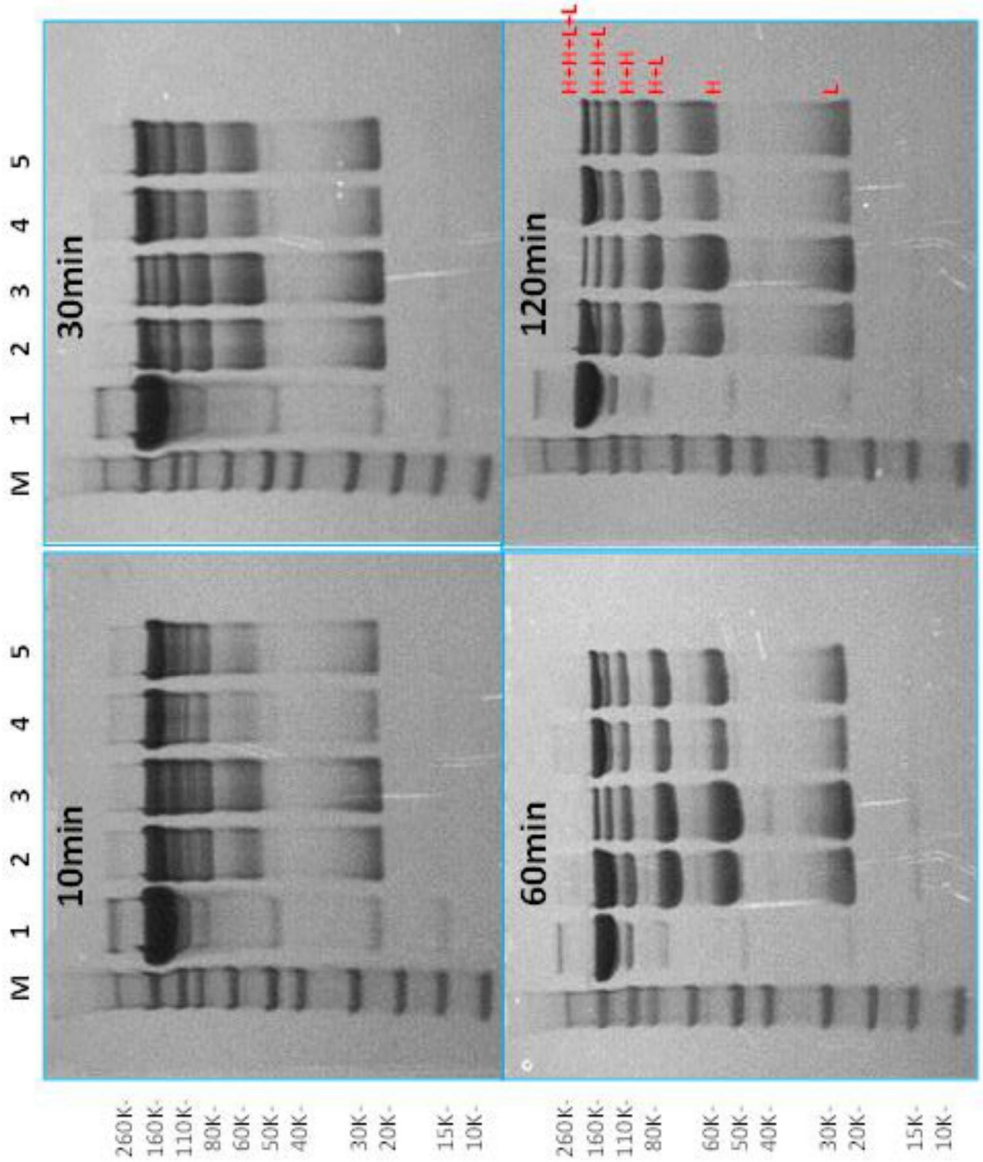
【發明圖式】


H-H 及 H-L 鏈間二硫化物之優先還原
使用TCEP部分還原
順丁烯二醯亞胺基-細胞毒素
SH
SH HS
HS
Cyto
Cyto
Cyto
Cyto

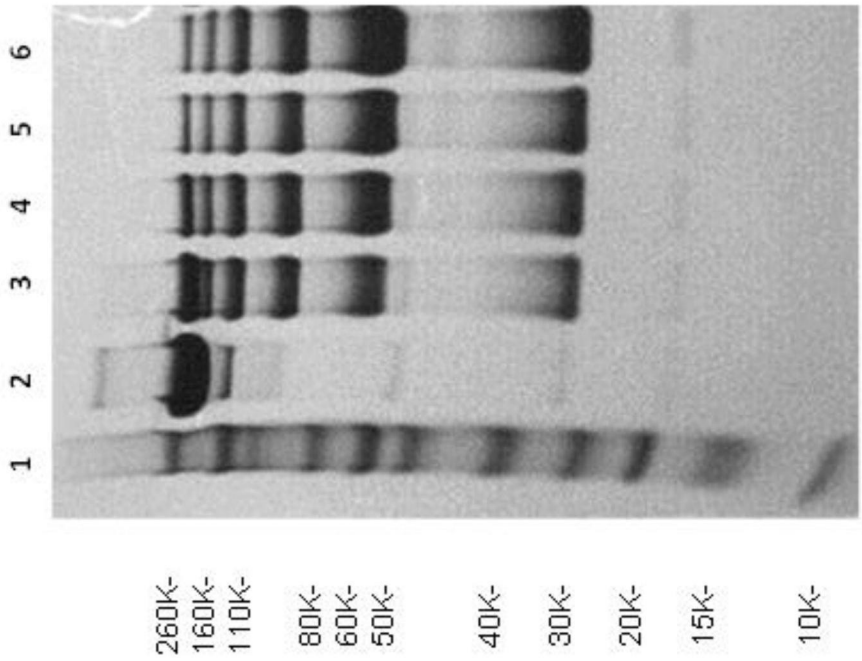
【圖1】


艾日布林
1. iPr2NEt, DMF
2. Et2NH
Fmoc-VCP-PNP (2)
VCP 艾日布林 (3)
Mal-PEG2-NHS (4)
iPr2NEt, DMF
Mal-VCP-艾日布林 (5)

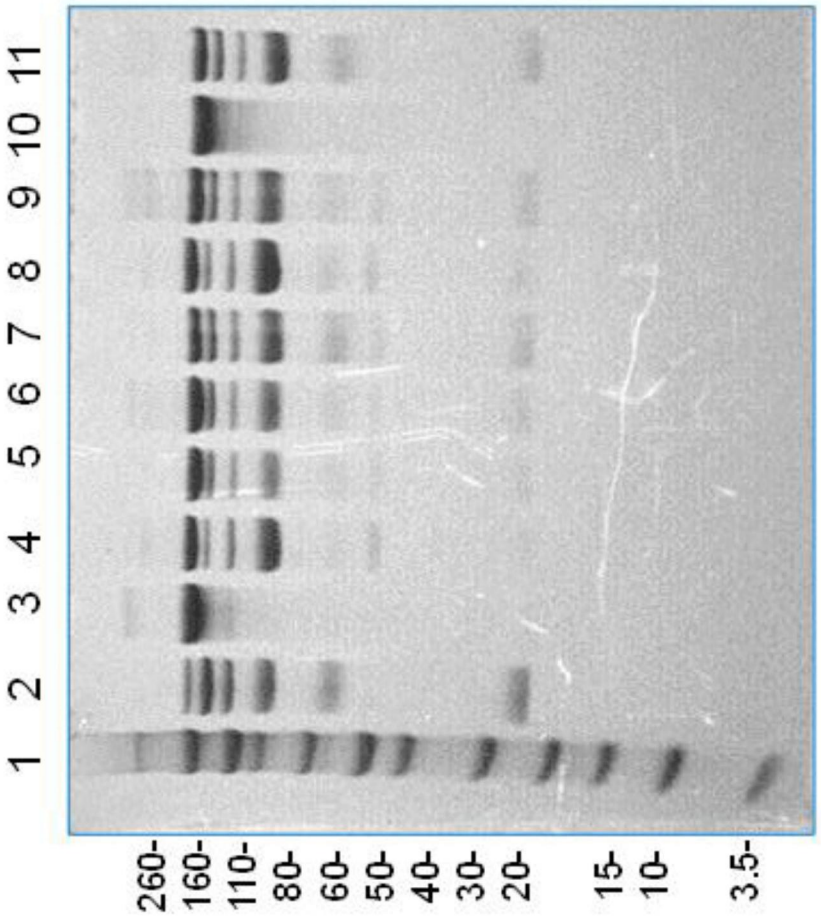
【圖2】


M 1 2 3 4 5
10min
30min
60min
120min
260K-
160K-
110K-
80K-
60K-
50K-
40K-
30K-
20K-
15K-
10K-
H+H+L+L
H+H+L
H+H
H+L
H
L

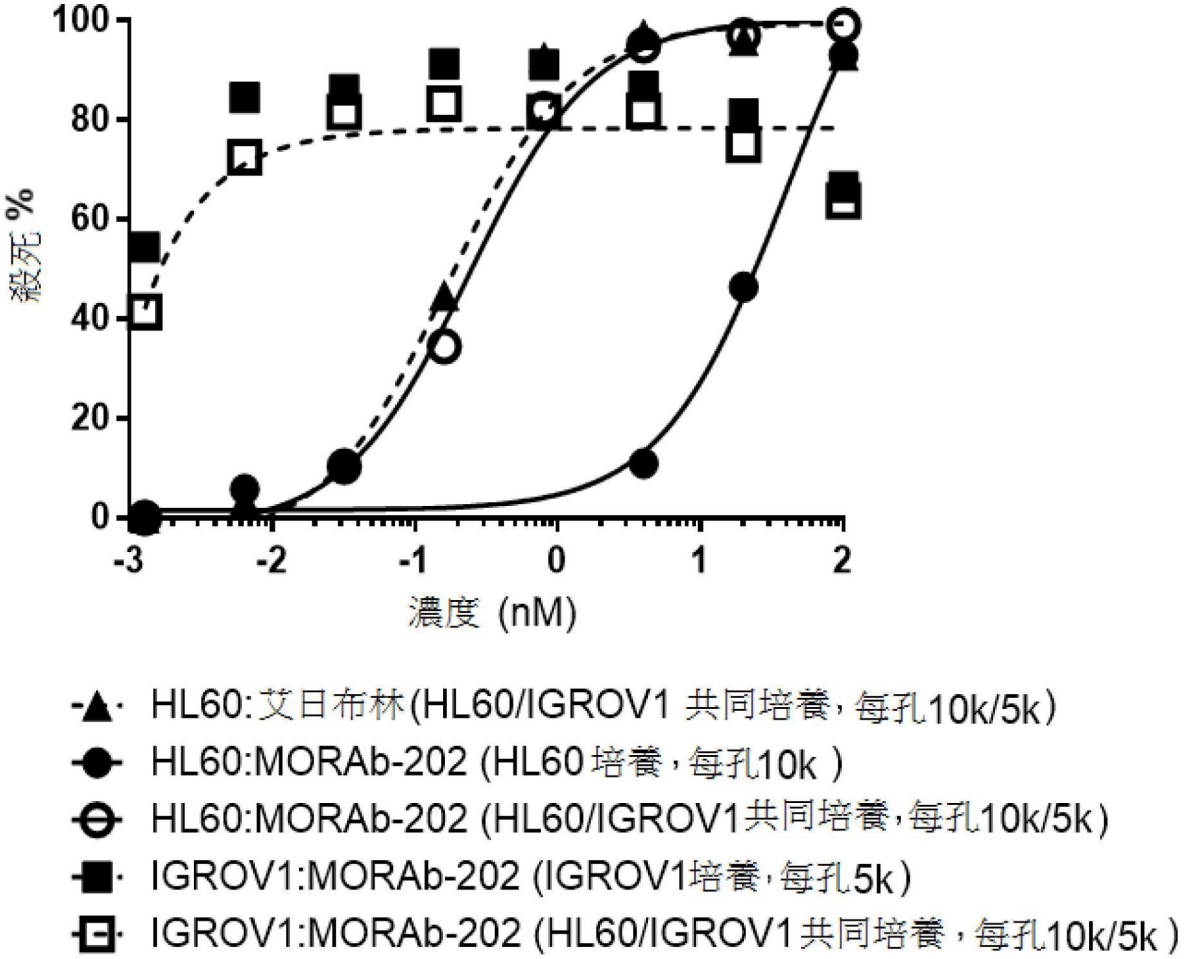
【圖3】



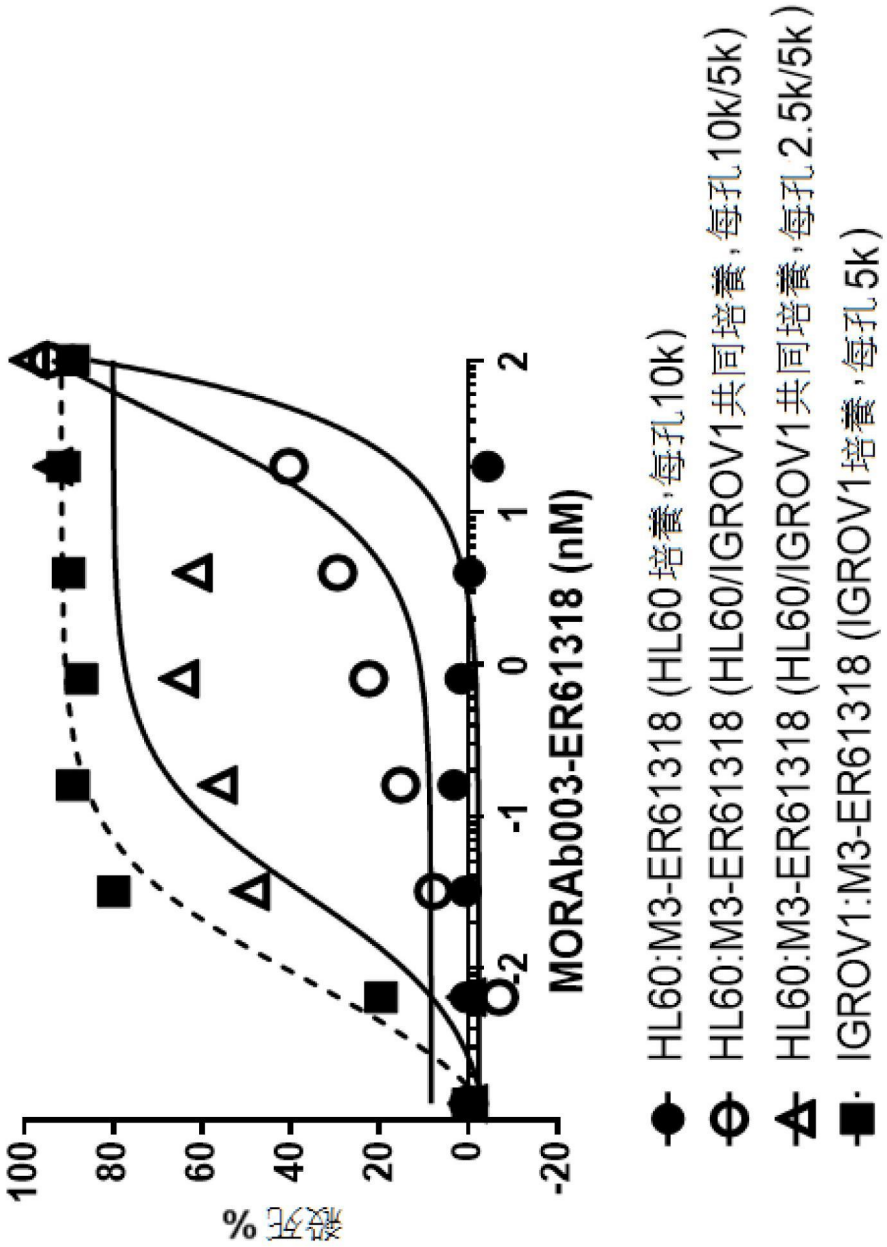
【圖4】



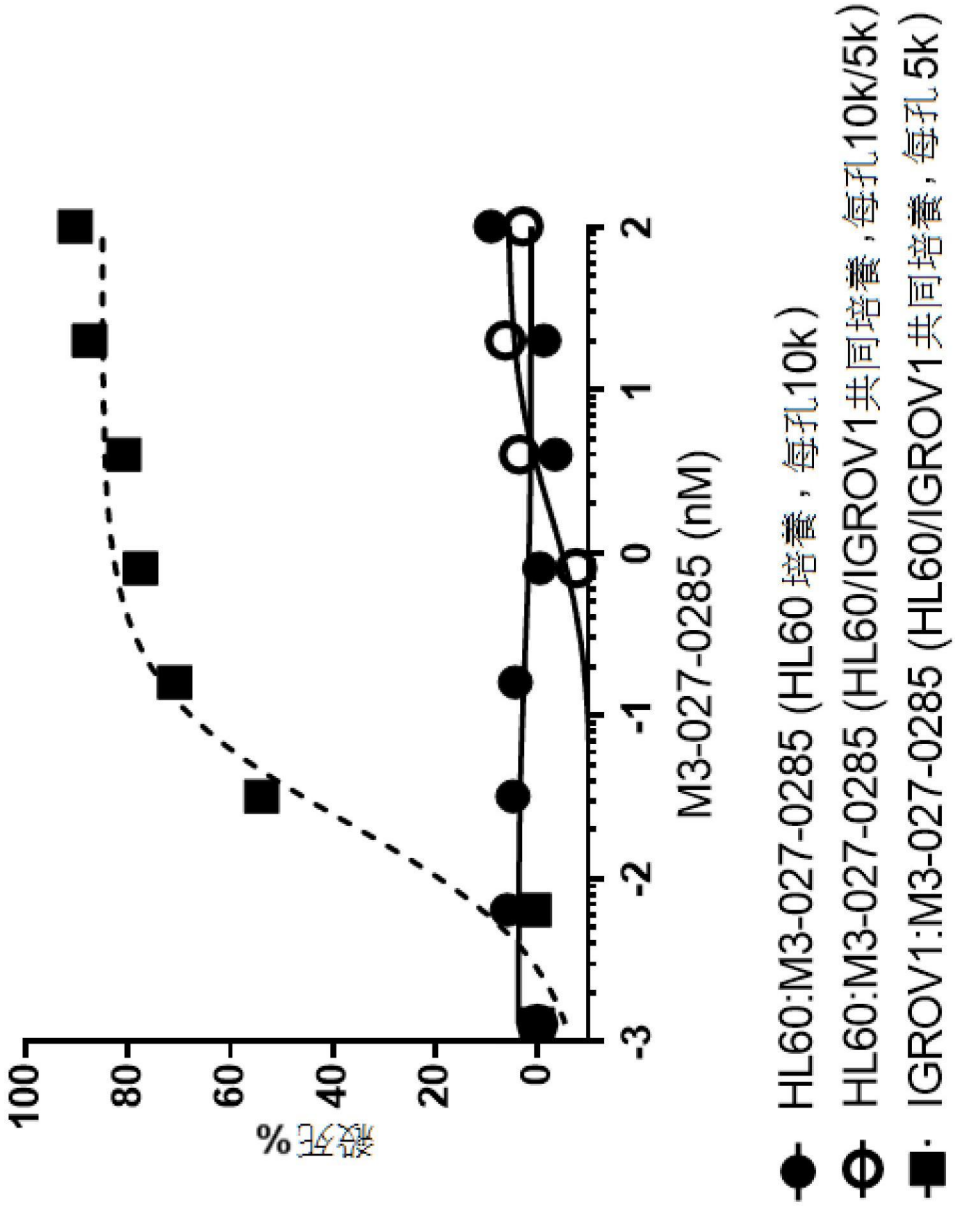
【圖5】


100
80
60
40
20
0
殺死 %
-3
-2
-1
0
1
2
濃度 (nM)
HL60:艾日布林(HL60/IGROV1 共同培養，每孔10k/5k)
HL60:MORAb-202 (HL60 培養，每孔10k)
HL60:MORAb-202 (HL60/IGROV1共同培養，每孔10k/5k)
IGROV1:MORAb-202 (IGROV1培養，每孔5k)
IGROV1:MORAb-202 (HL60/IGROV1共同培養，每孔10k/5k)

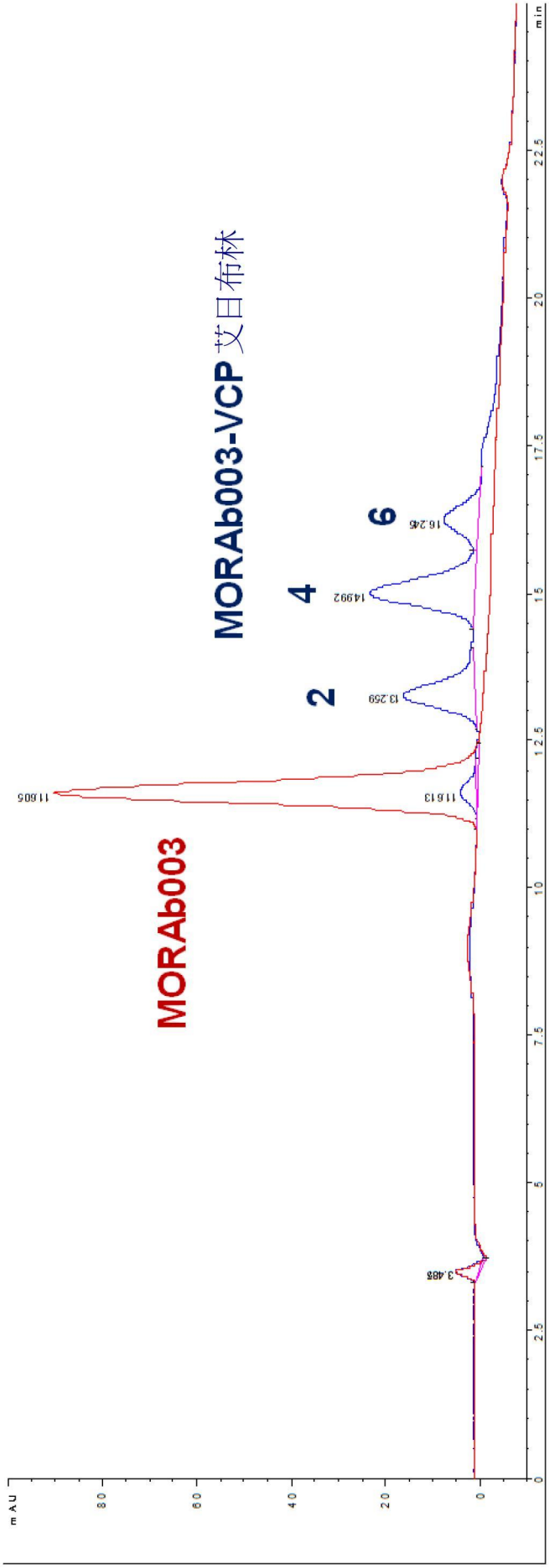
【圖6A】


殺死 %
100
80
60
40
20
0
-20
-2
-1
0
1
2
MORAb003-ER61318 (nM)
HL60:M3-ER61318 (HL60培養,每孔10k)
HL60:M3-ER61318 (HL60/IGROV1共同培養,每孔10k/5k)
HL60:M3-ER61318 (HL60/IGROV1共同培養,每孔2.5k/5k)
IGROV1:M3-ER61318 (IGROV1培養,每孔5k)

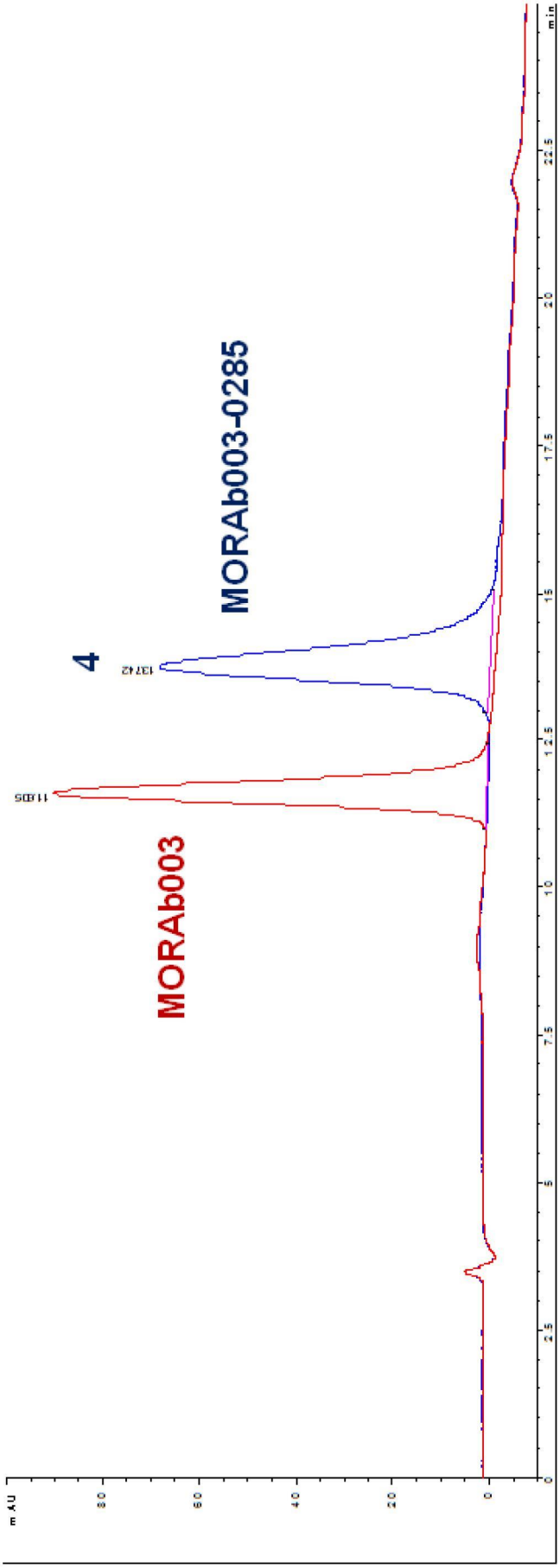
【圖6B】


100
80
60
40
20
0
殺死%
-3
-2
-1
0
1
2
M3-027-0285 (nM)
HL60:M3-027-0285 (HL60 培養，每孔10k)
HL60:M3-027-0285 (HL60/IGROV1共同培養，每孔10k/5k)
IGROV1:M3-027-0285 (HL60/IGROV1共同培養，每孔 5k)

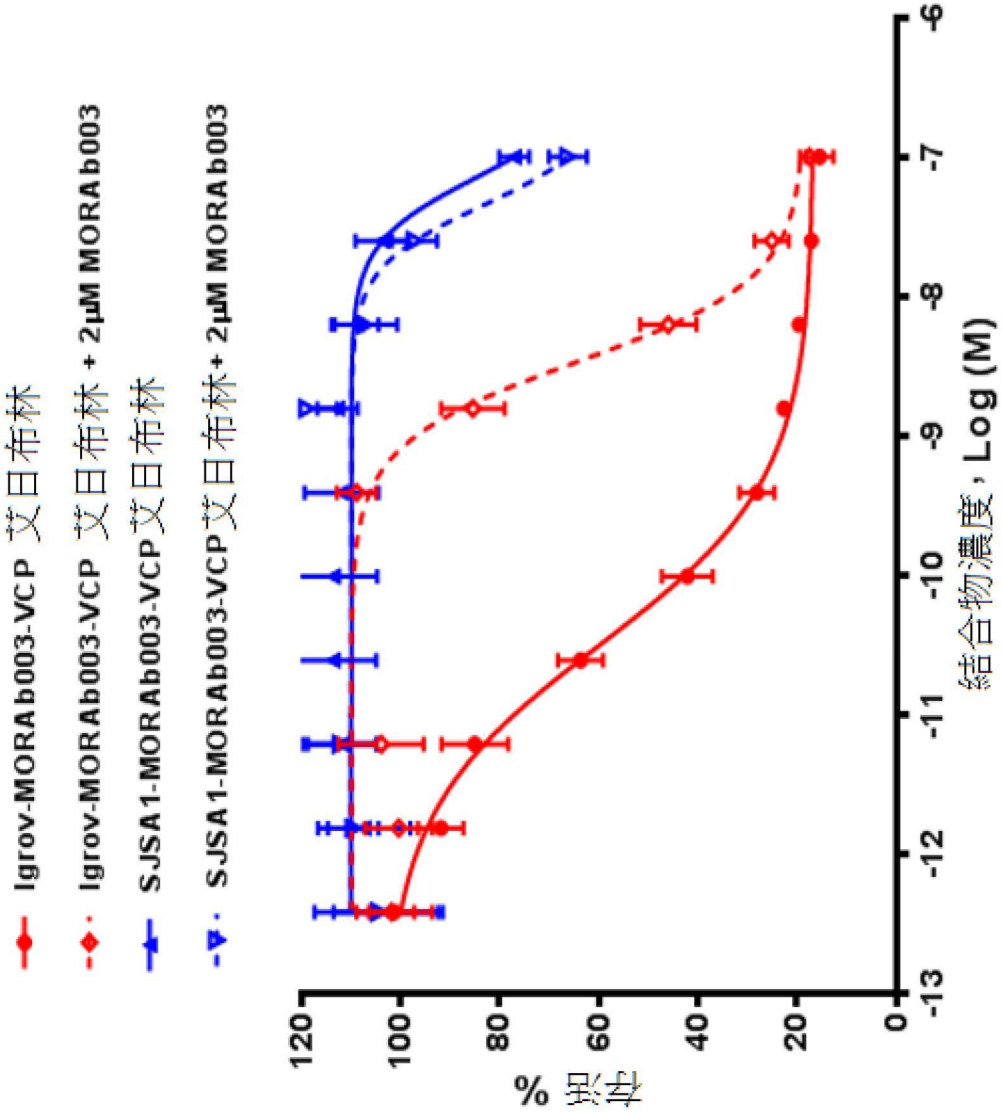
【圖6C】


MORAb003-VCP 艾日布林
MORAb003
2
4
6
11.605
11.613
13.259
14.992
16.246
3.485
mAU
80
60
40
20
0
min
0
2.5
5
7.5
10
12.5
15
17.5
20
22.5

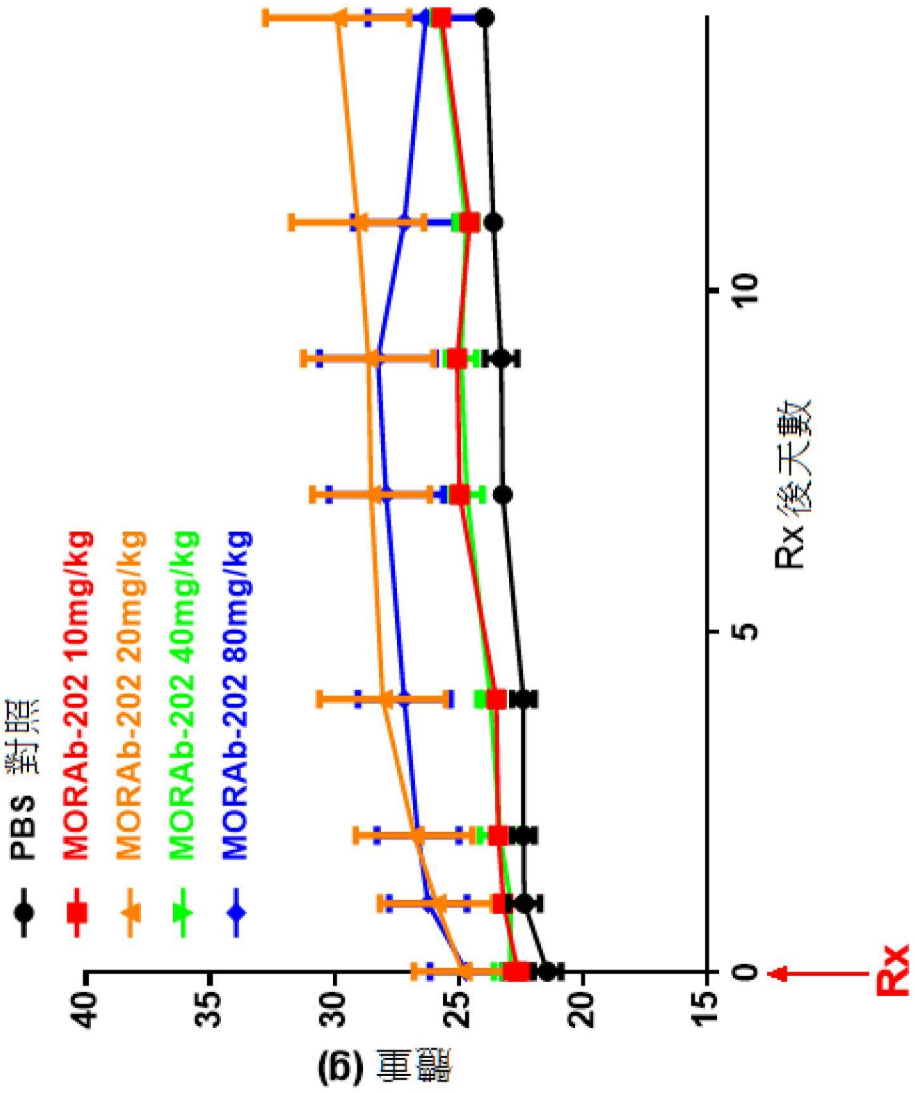
【圖7A】


MORAb003-0285
4
13742
MORAb003
11405
mAU
80
60
40
20
0
min
0
2.5
5
7.5
10
12.5
15
17.5
20
22.5

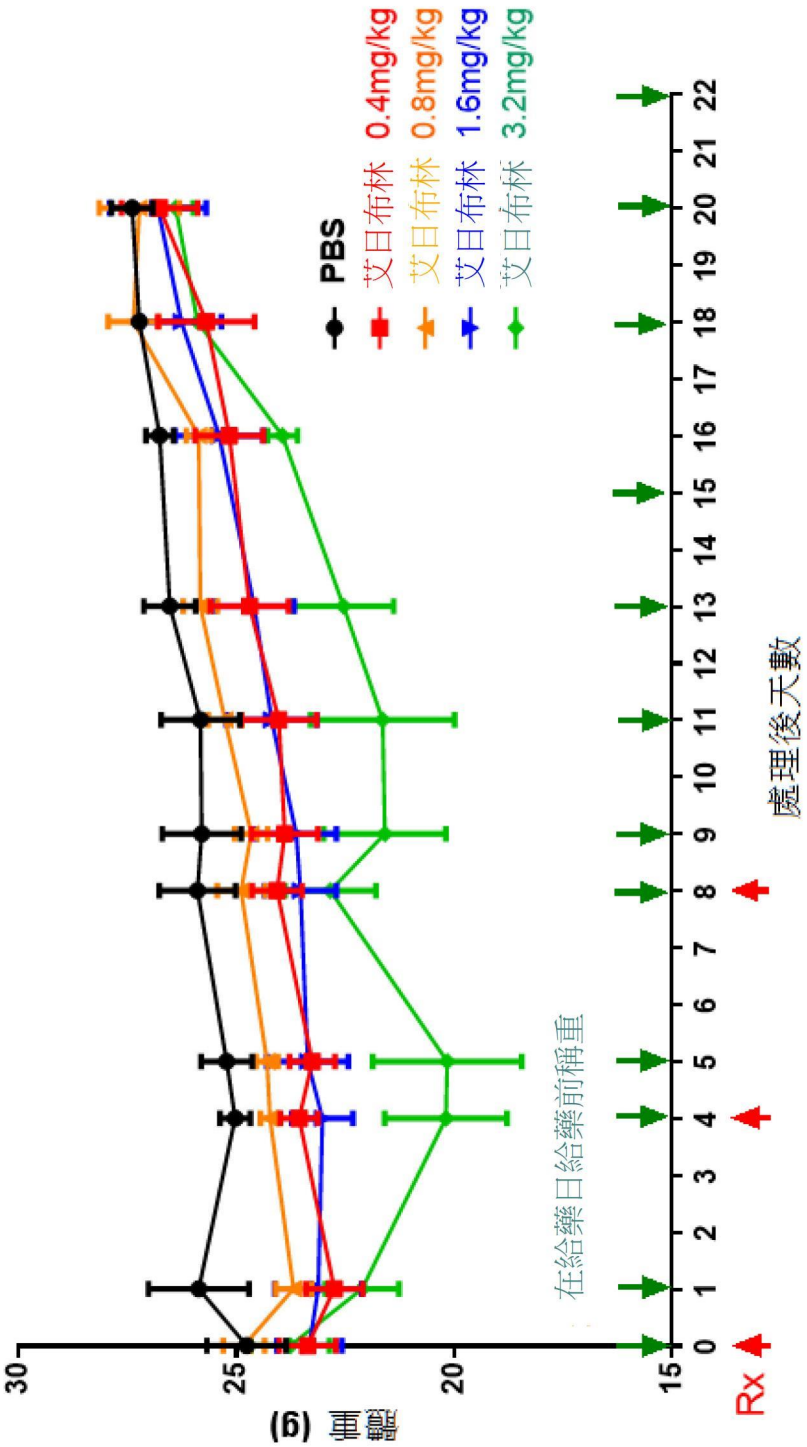
【圖7B】


Igrov-MORAb003-VCP 艾日布林
Igrov-MORAb003-VCP 艾日布林 + 2μM MORAb003
SJSA1-MORAb003-VCP艾日布林
SJSA1-MORAb003-VCP艾日布林+ 2μM MORAb003
存活 %
120
100
80
60
40
20
0
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
結合物濃度，Log (M)

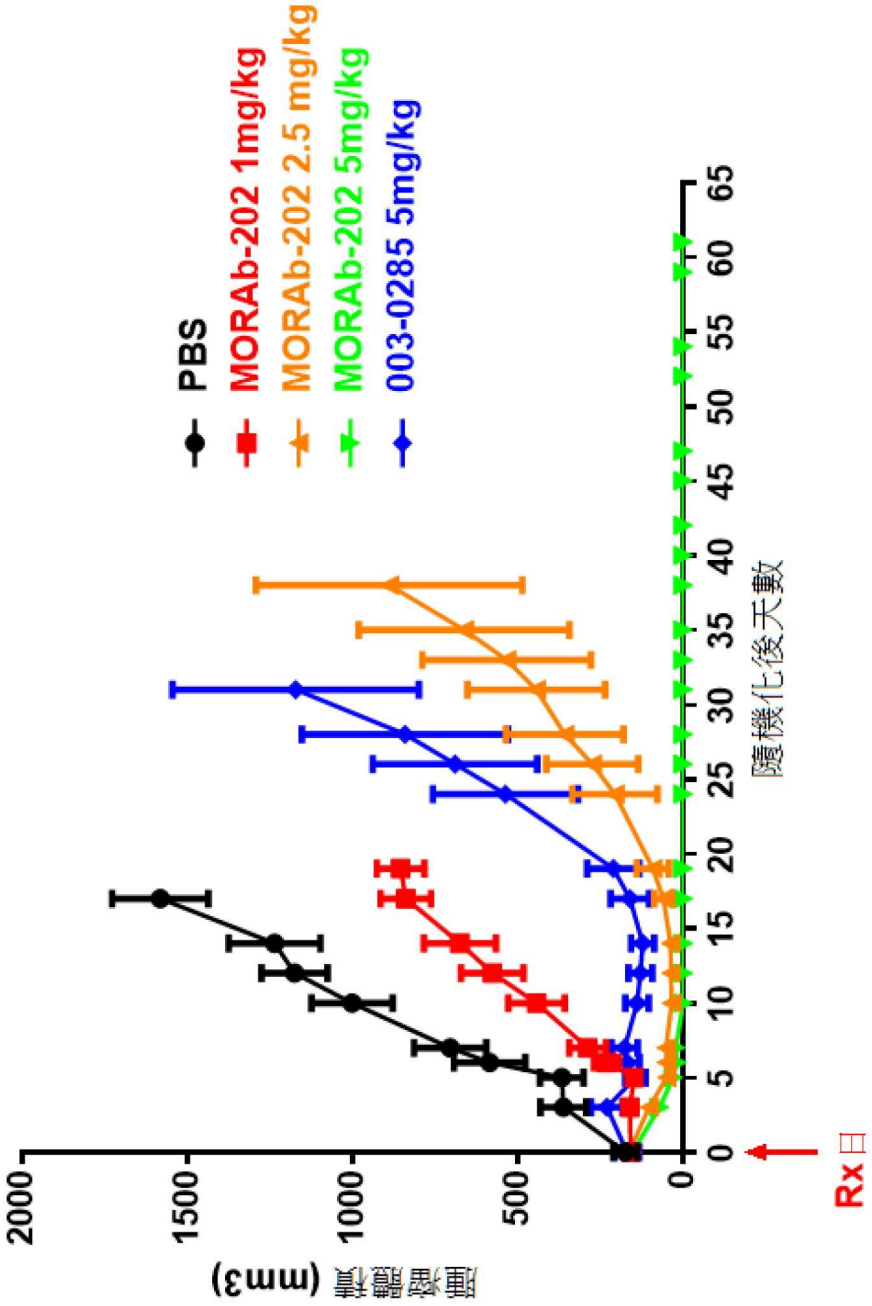
【圖8】


PBS 對照
MORAb-202 10mg/kg
MORAb-202 20mg/kg
MORAb-202 40mg/kg
MORAb-202 80mg/kg
體重 (g)
40
35
30
25
20
15
0
5
10
Rx 後天數
Rx

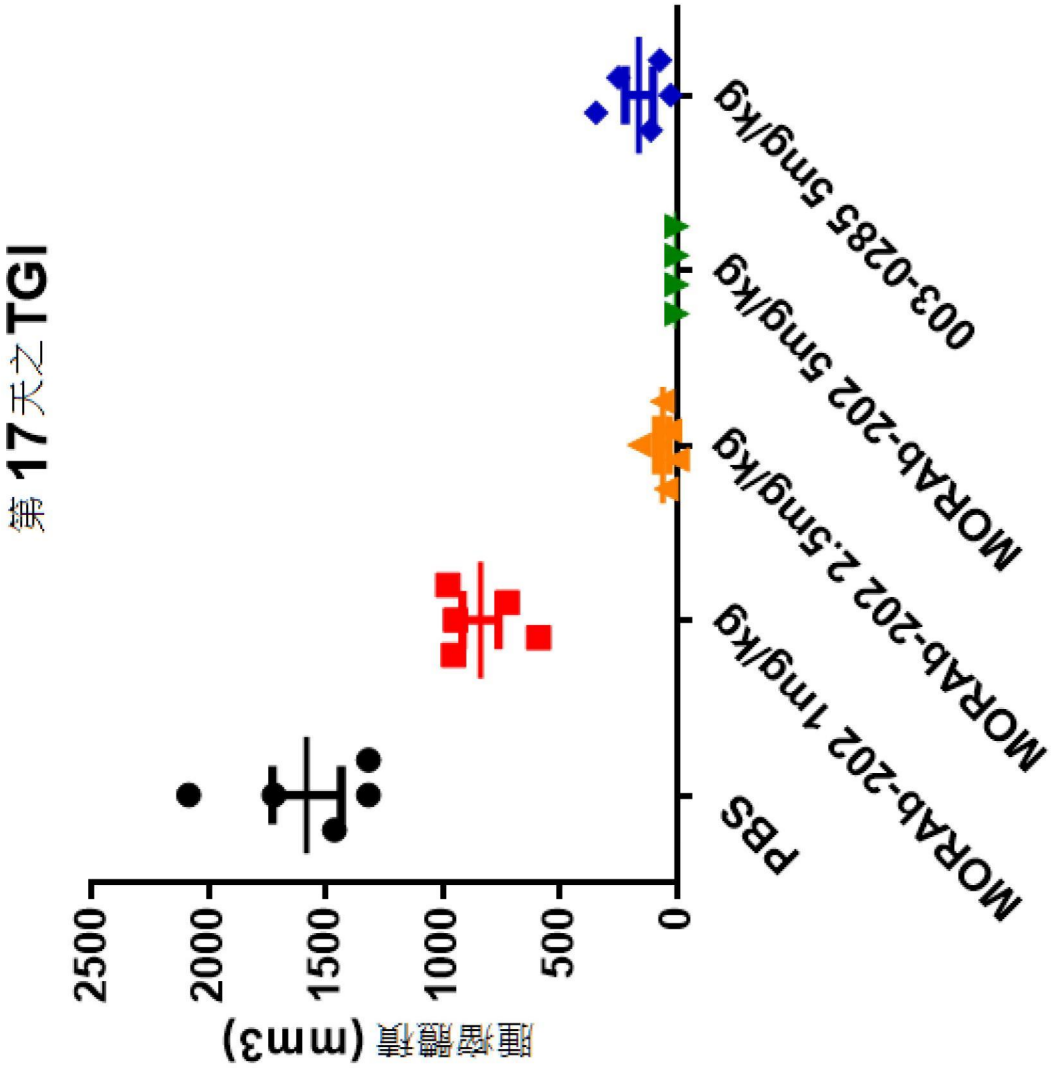
【圖9】


體重 (g)
30
25
20
15
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
Rx
在給藥日給藥前稱重
PBS
艾日布林 0.4mg/kg
艾日布林 0.8mg/kg
艾日布林 1.6mg/kg
艾日布林 3.2mg/kg
處理後天數

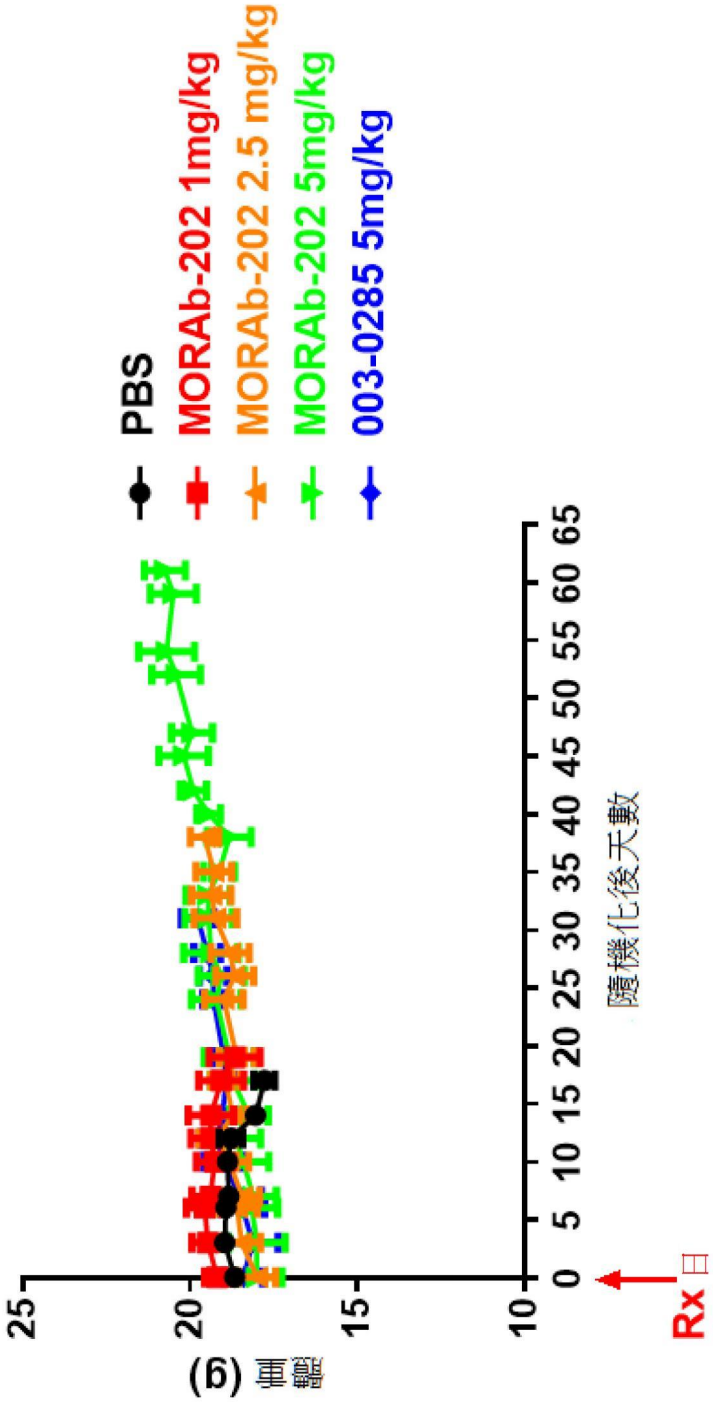
【圖10】


PBS
MORAb-202 1mg/kg
MORAb-202 2.5 mg/kg
MORAb-202 5mg/kg
003-0285 5mg/kg
腫瘤體積 (mm3)
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65
隨機化後天數
Rx 日

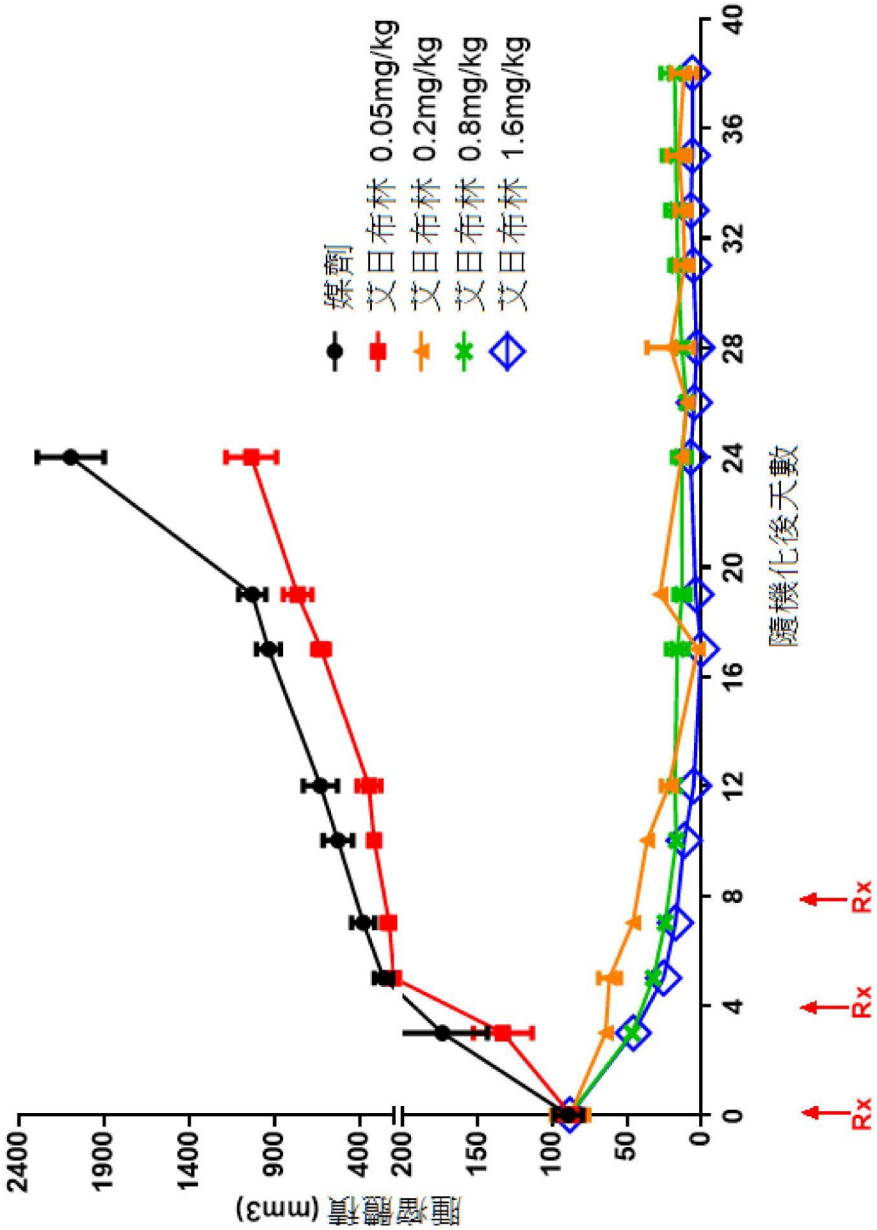
【圖11】


第17天之TGI
腫瘤體積 (mm3)
2500
2000
1500
1000
500
0
PBS
MORAb-202 1mg/kg
MORAb-202 2.5mg/kg
MORAb-202 5mg/kg
003-0285 5mg/kg

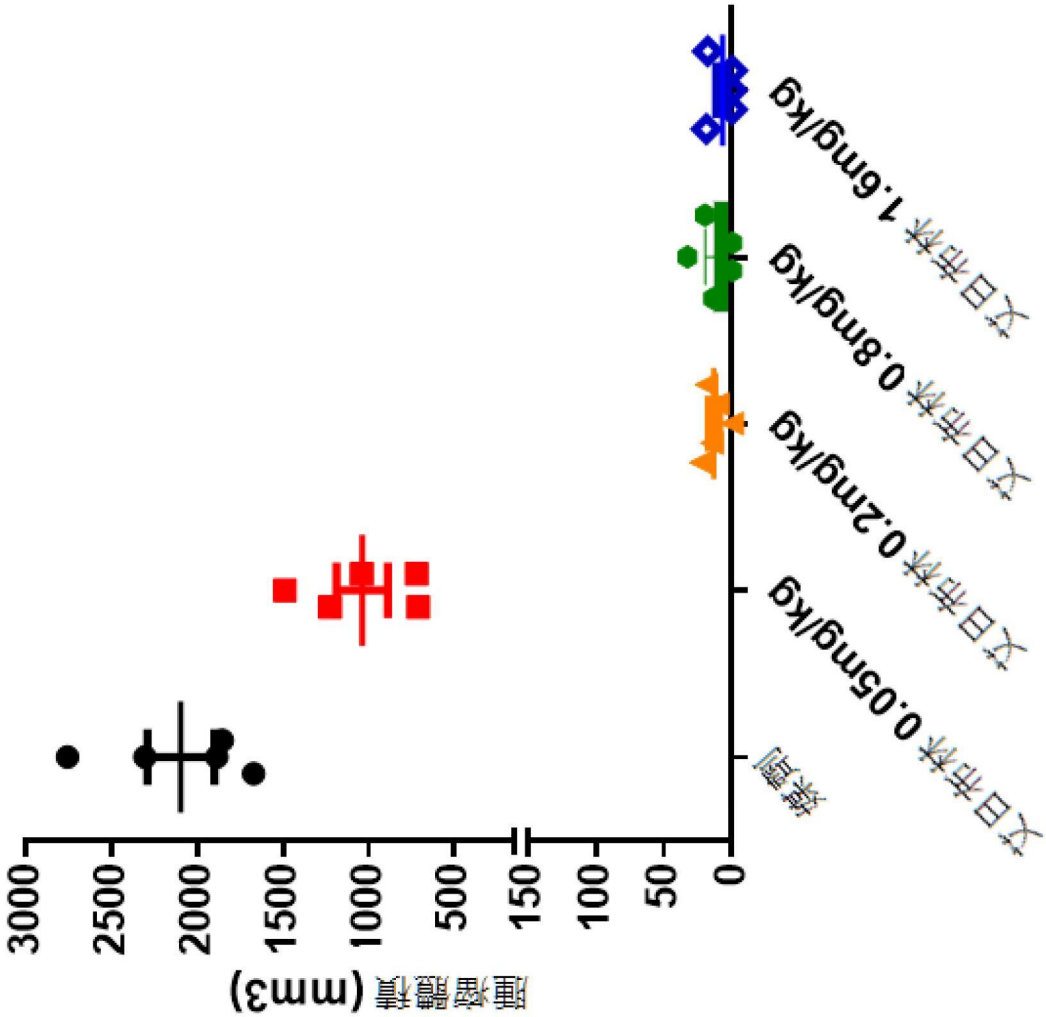
【圖12】


PBS
MORAb-202 1mg/kg
MORAb-202 2.5 mg/kg
MORAb-202 5mg/kg
003-0285 5mg/kg
體重 (g)
25
20
15
10
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65
隨機化後天數
Rx日

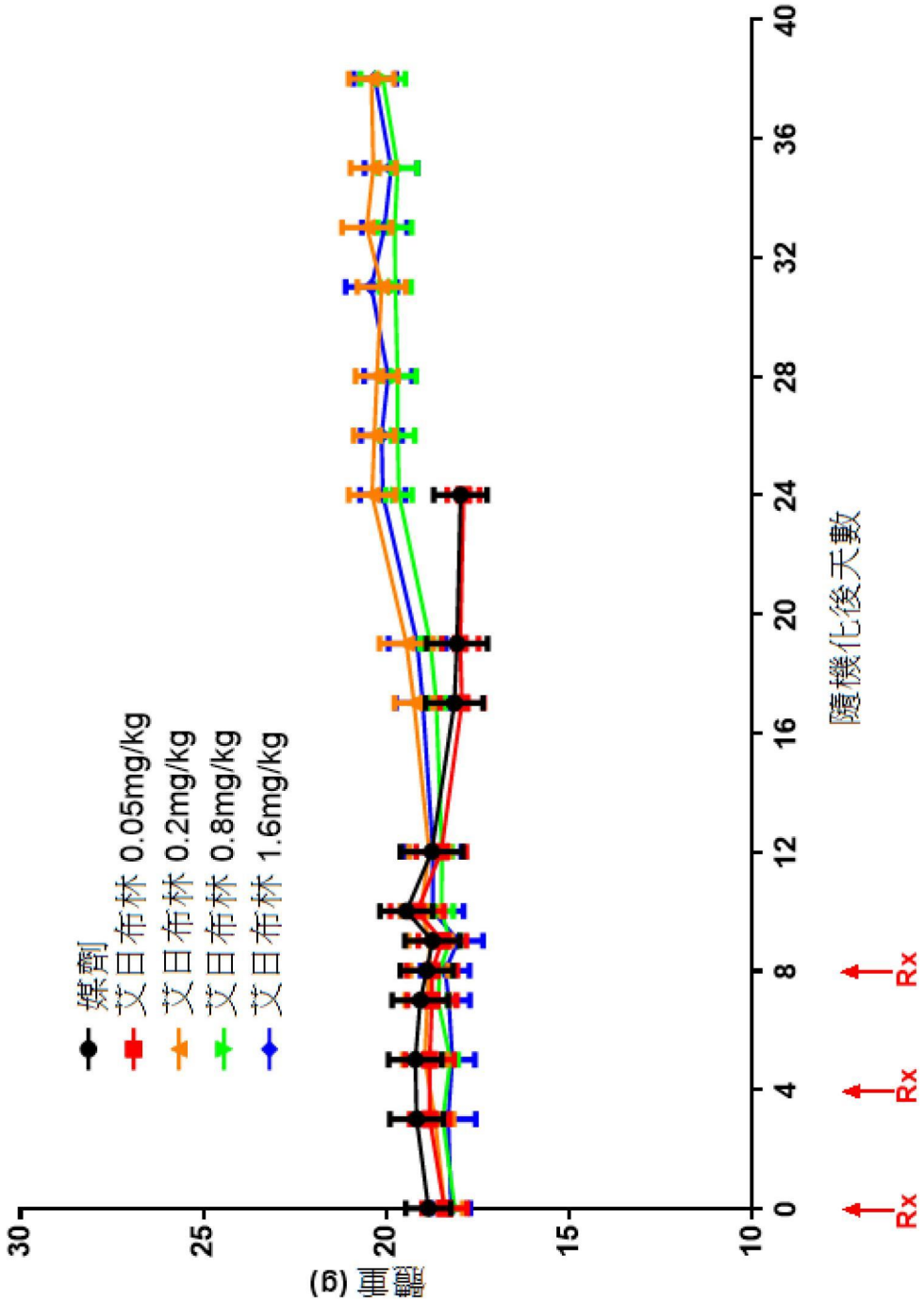
【圖13】


腫瘤體積 (mm3)
2400
1900
1400
900
400
200
150
100
50
0
0
4
8
12
16
20
24
28
32
36
40
隨機化後天數
Rx
Rx
Rx
媒劑
艾日布林 0.05mg/kg
艾日布林 0.2mg/kg
艾日布林 0.8mg/kg
艾日布林 1.6mg/kg

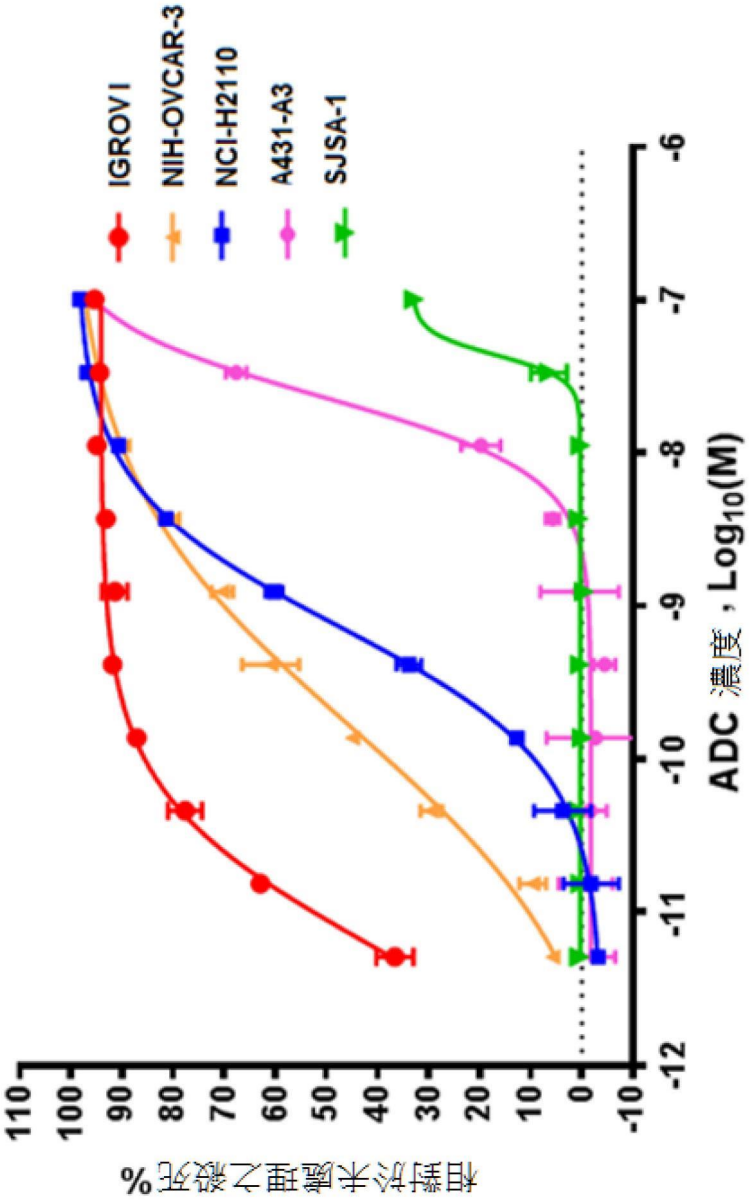
【圖14】


腫瘤體積 (mm3)
3000
2500
2000
1500
1000
500
150
100
50
0
無藥
艾日希林 0.05mg/kg
艾日希林 0.2mg/kg
艾日希林 0.8mg/kg
艾日希林 1.6mg/kg

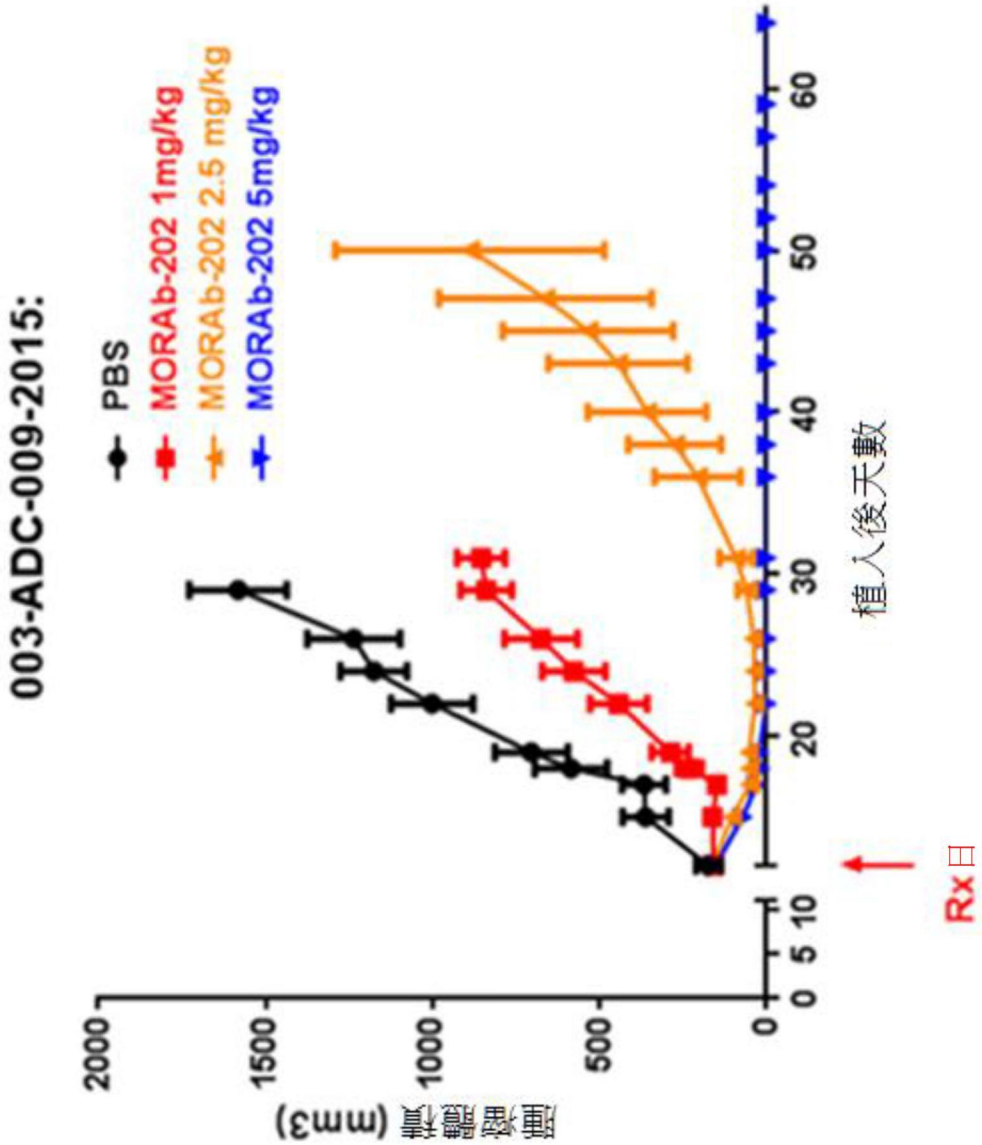
【圖15】


30
25
20
15
10
體重 (g)
0
4
8
12
16
20
24
28
32
36
40
隨機化後天數
Rx
Rx
Rx
媒劑
艾日布林 0.05mg/kg
艾日布林 0.2mg/kg
艾日布林 0.8mg/kg
艾日布林 1.6mg/kg

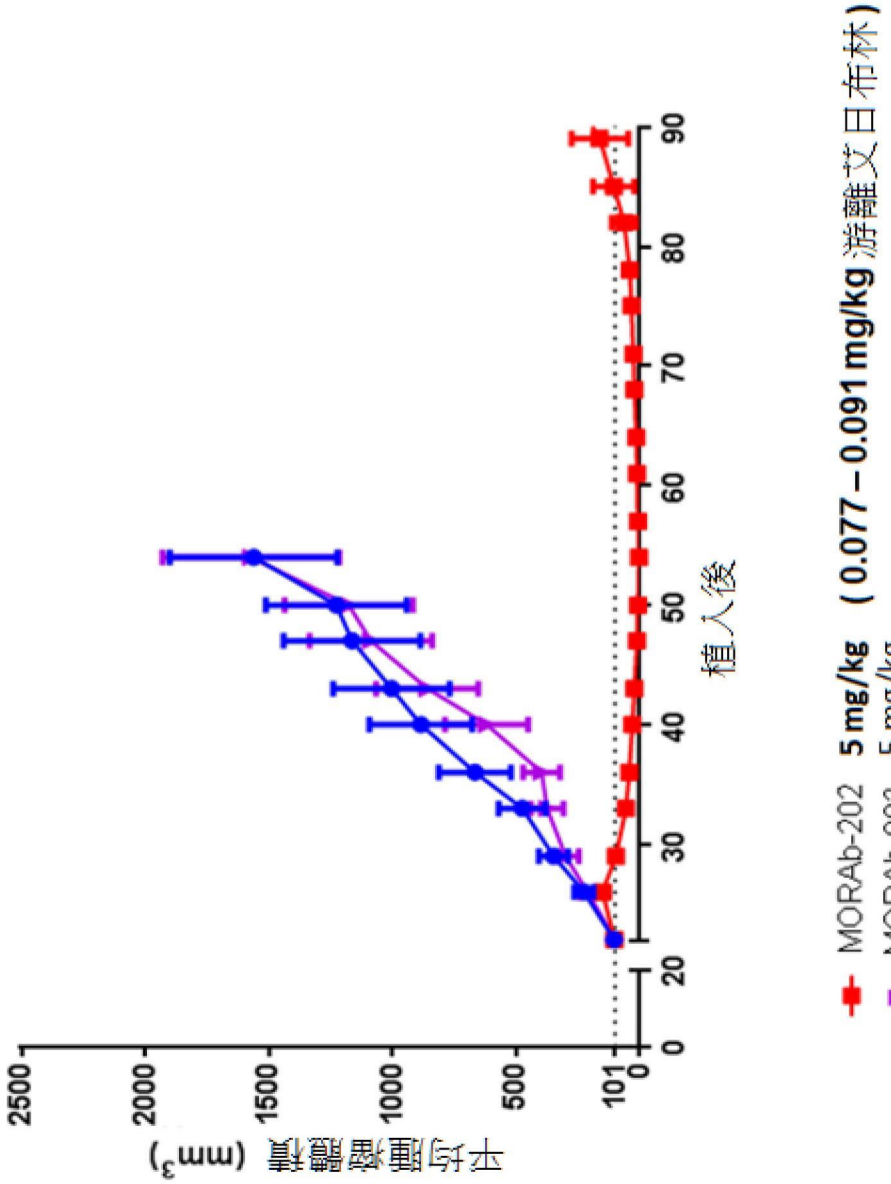
【圖16】


IGROV I
NIH-OVCAR-3
NCI-H2110
A431-A3
SJSA-1
相對於未處理之殺死%
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
ADC 濃度，Log10(M)

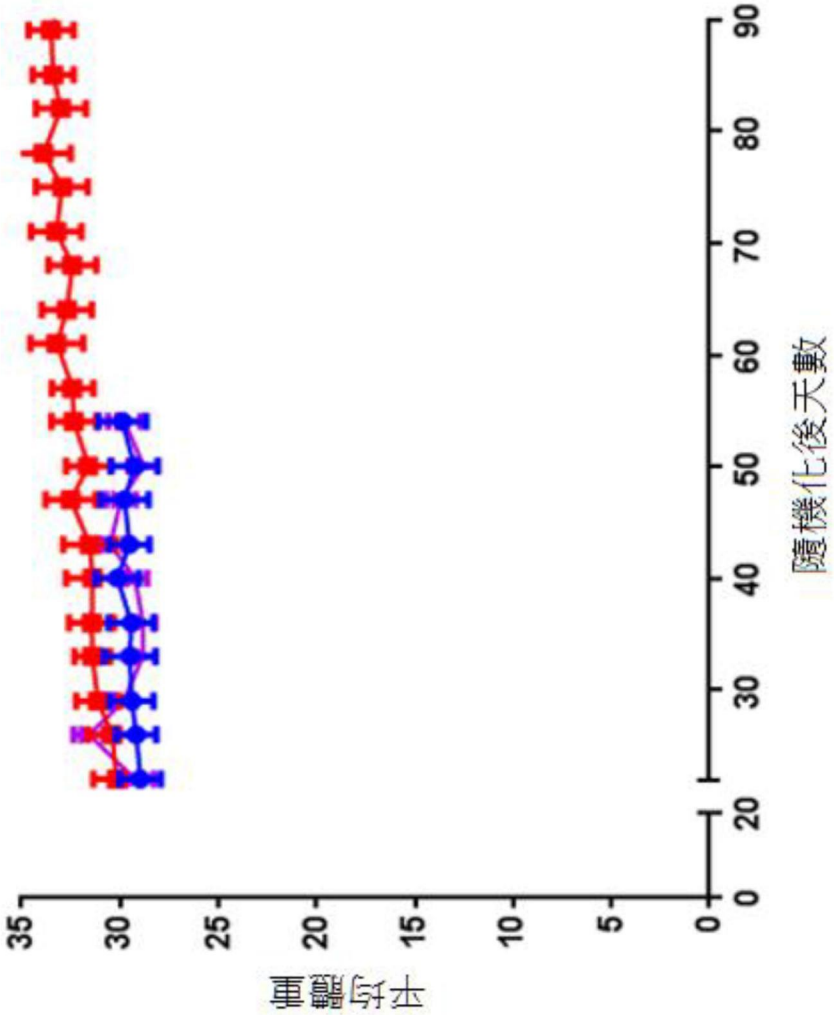
【圖17】


003-ADC-009-2015:
PBS
MORAb-202 1mg/kg
MORAb-202 2.5 mg/kg
MORAb-202 5mg/kg
腫瘤體積 (mm3)
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
20
30
40
50
60
植入後天數
Rx 日

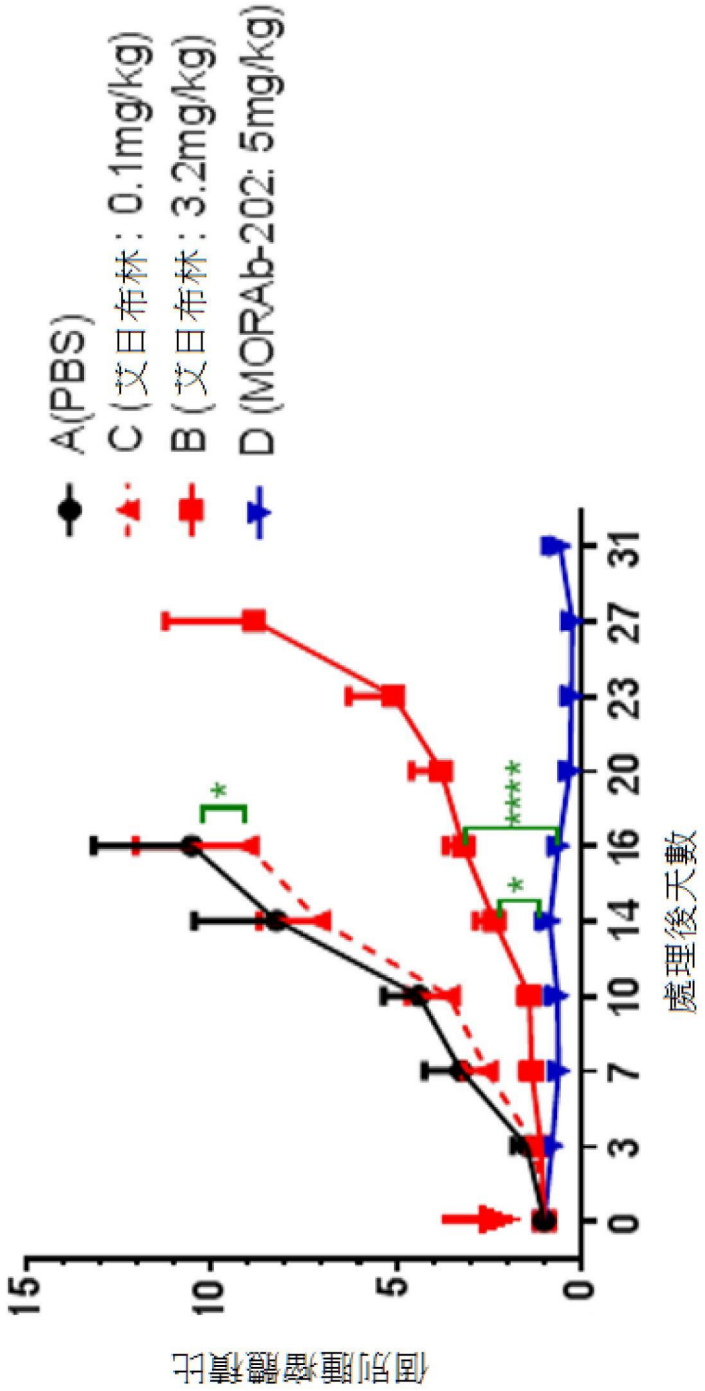
【圖18】


平均腫瘤體積 (mm³)
2500
2000
1500
1000
500
101
0
0
20
30
40
50
60
70
80
90
植入後
MORAb-202 5 mg/kg (0.077 – 0.091 mg/kg 游離艾日布林)
MORAb-003 5 mg/kg

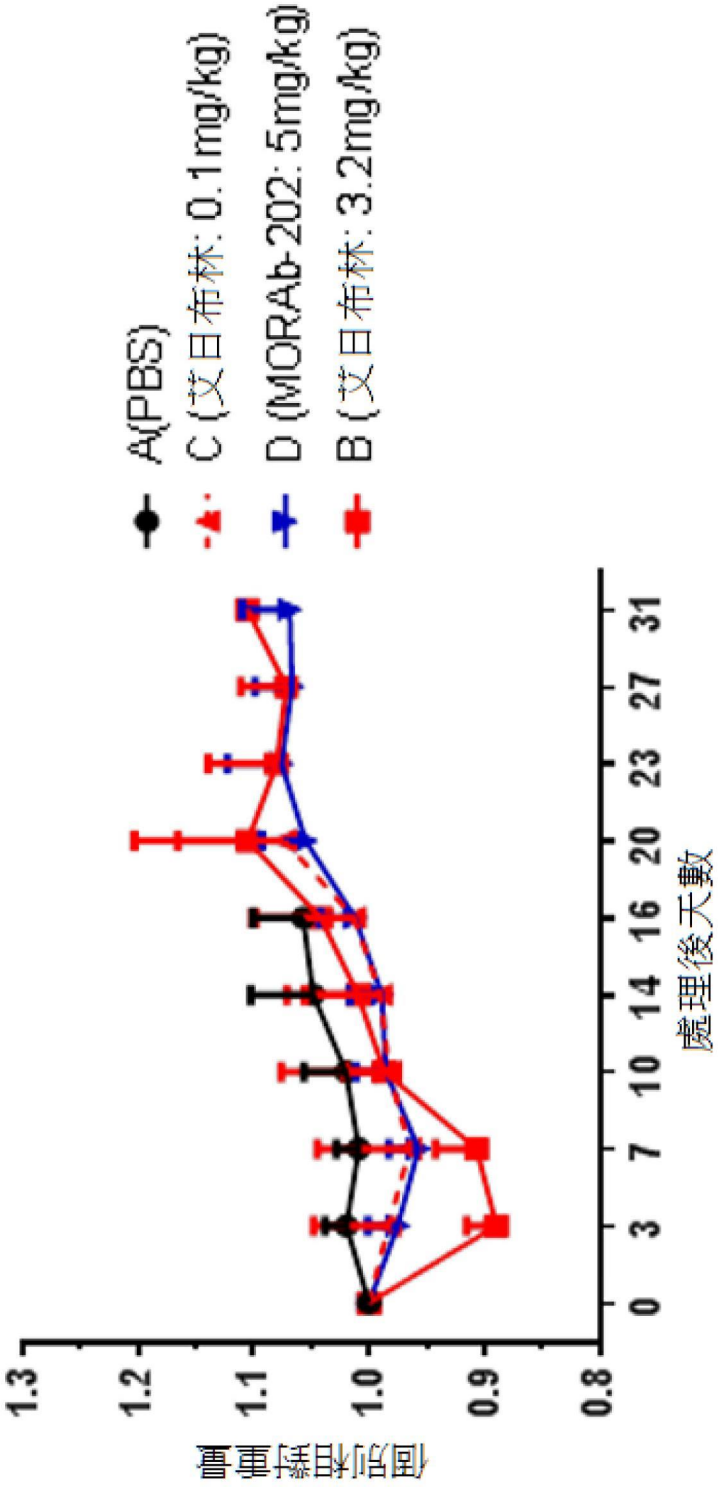
【圖19A】



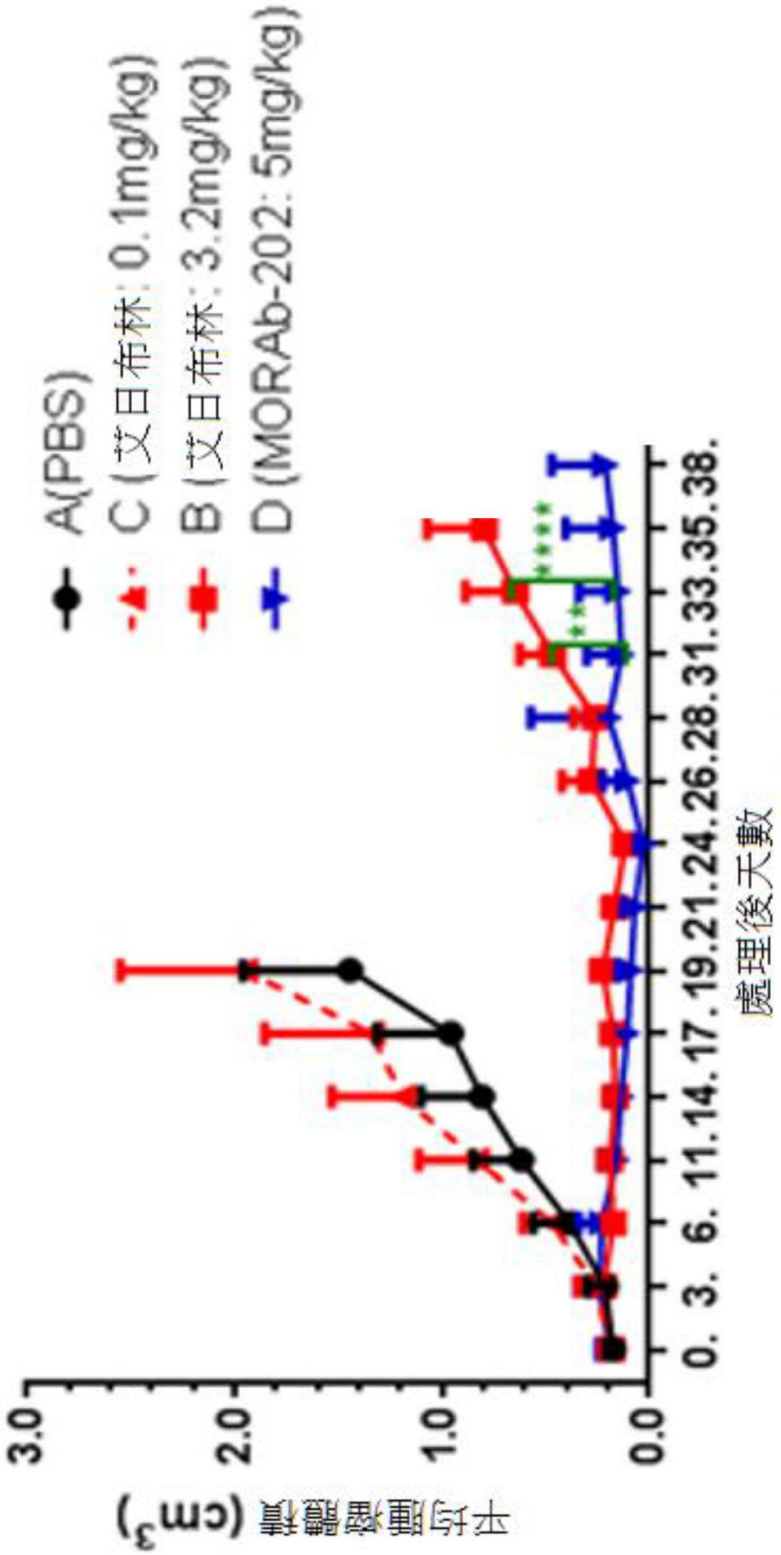
【圖19B】


A(PBS)
C (艾日布林：0.1mg/kg)
B (艾日布林：3.2mg/kg)
D (MORAb-202: 5mg/kg)
個別腫瘤體積比
15
10
5
0
0
3
7
10
14
16
20
23
27
31
處理後天數
*
*
****

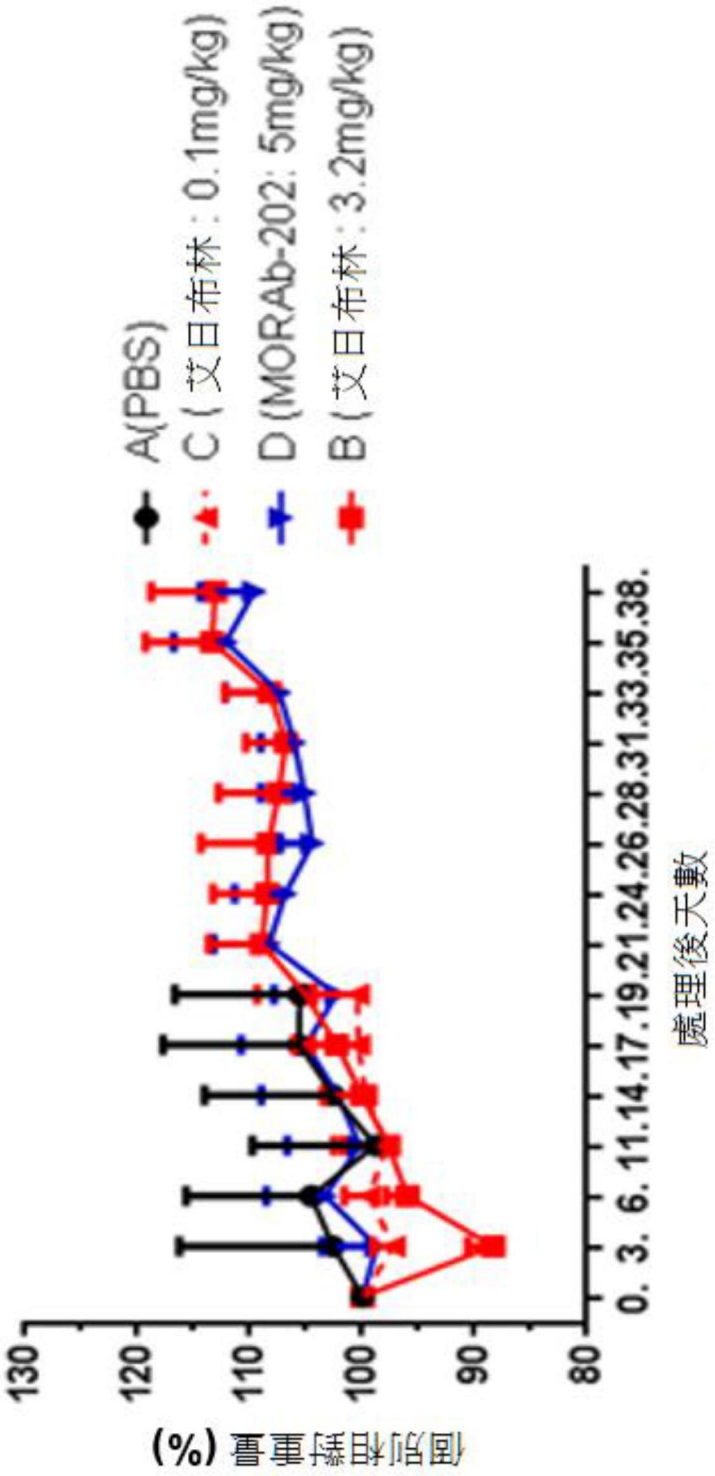
【圖20A】


個別相對重量
1.3
1.2
1.1
1.0
0.9
0.8
0
3
7
10
14
16
20
23
27
31
處理後天數
A(PBS)
C (艾日布林: 0.1mg/kg)
D (MORAb-202: 5mg/kg)
B (艾日布林: 3.2mg/kg)

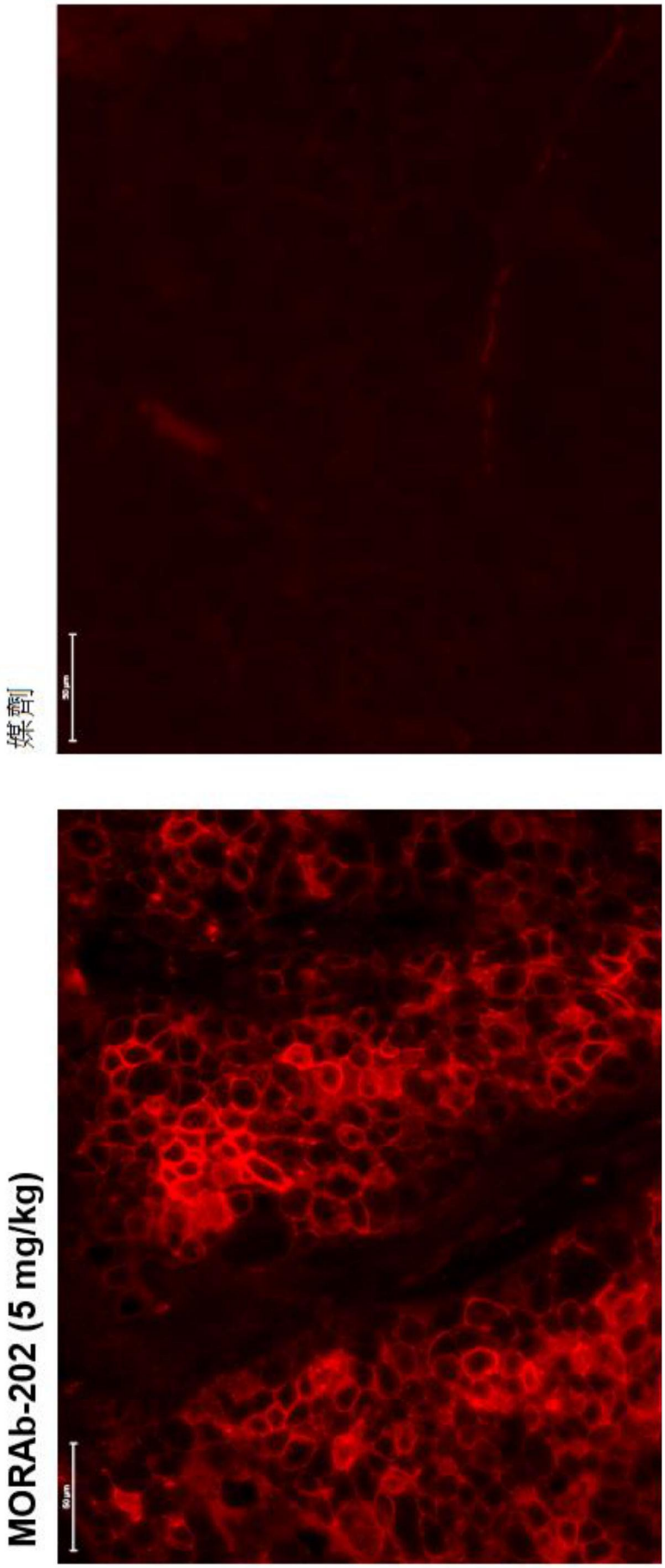
【圖20B】


A(PBS)
C (艾日布林: 0.1mg/kg)
B (艾日布林: 3.2mg/kg)
D (MORAb-202: 5mg/kg)
平均腫瘤體積 (cm³)
3.0
2.0
1.0
0.0
0. 3. 6. 11. 14. 17. 19. 21. 24. 26. 28. 31. 33. 35. 38.
處理後天數

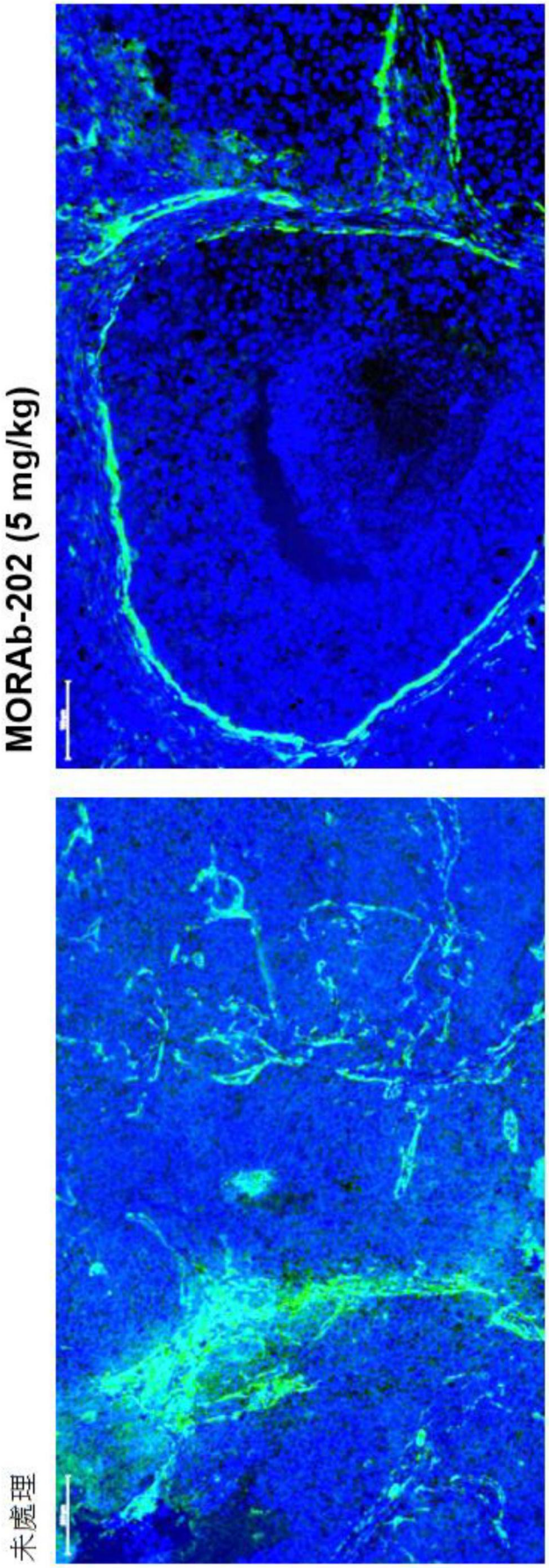
【圖20C】


A(PBS)
C (艾日布林：0.1mg/kg)
D (MORAb-202: 5mg/kg)
B (艾日布林：3.2mg/kg)
130
120
110
100
90
80
個別相對重量 (%)
0. 3. 6. 11.14.17.19.21.24.26.28.31.33.35.38.
處理後天數

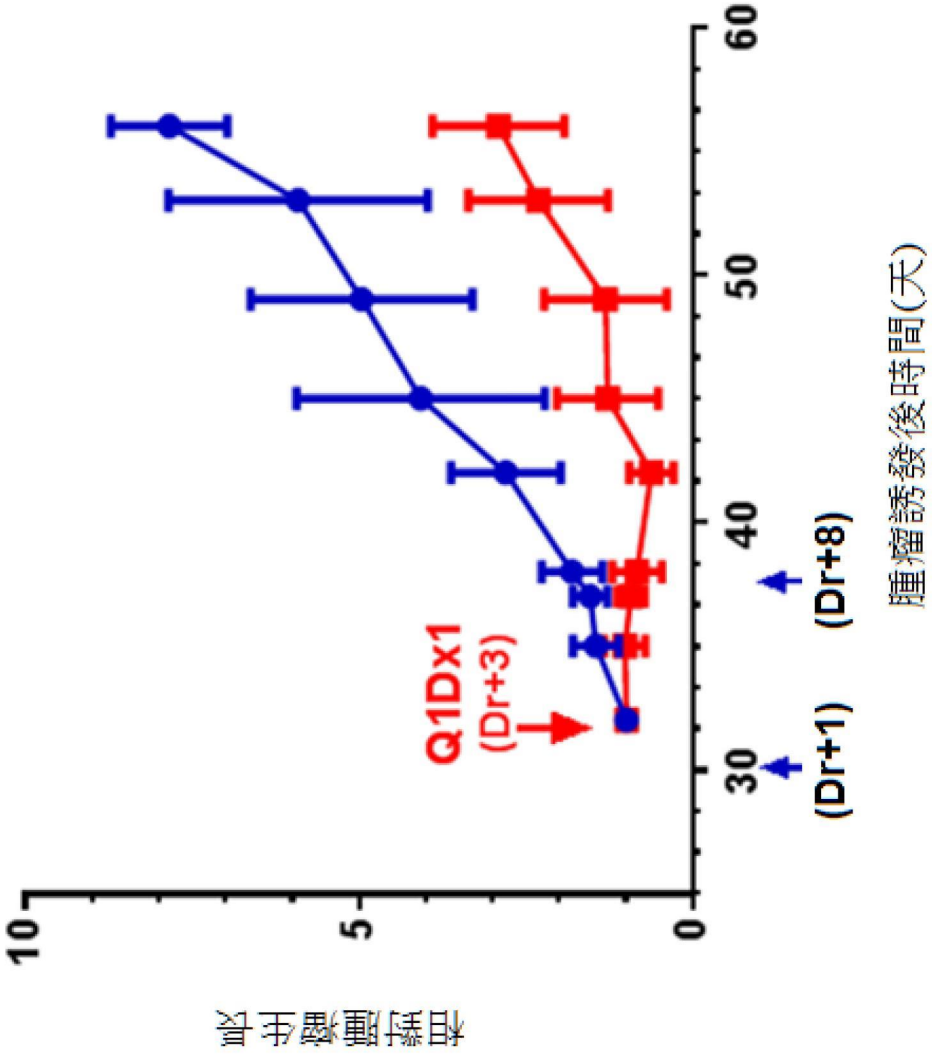
【圖20D】



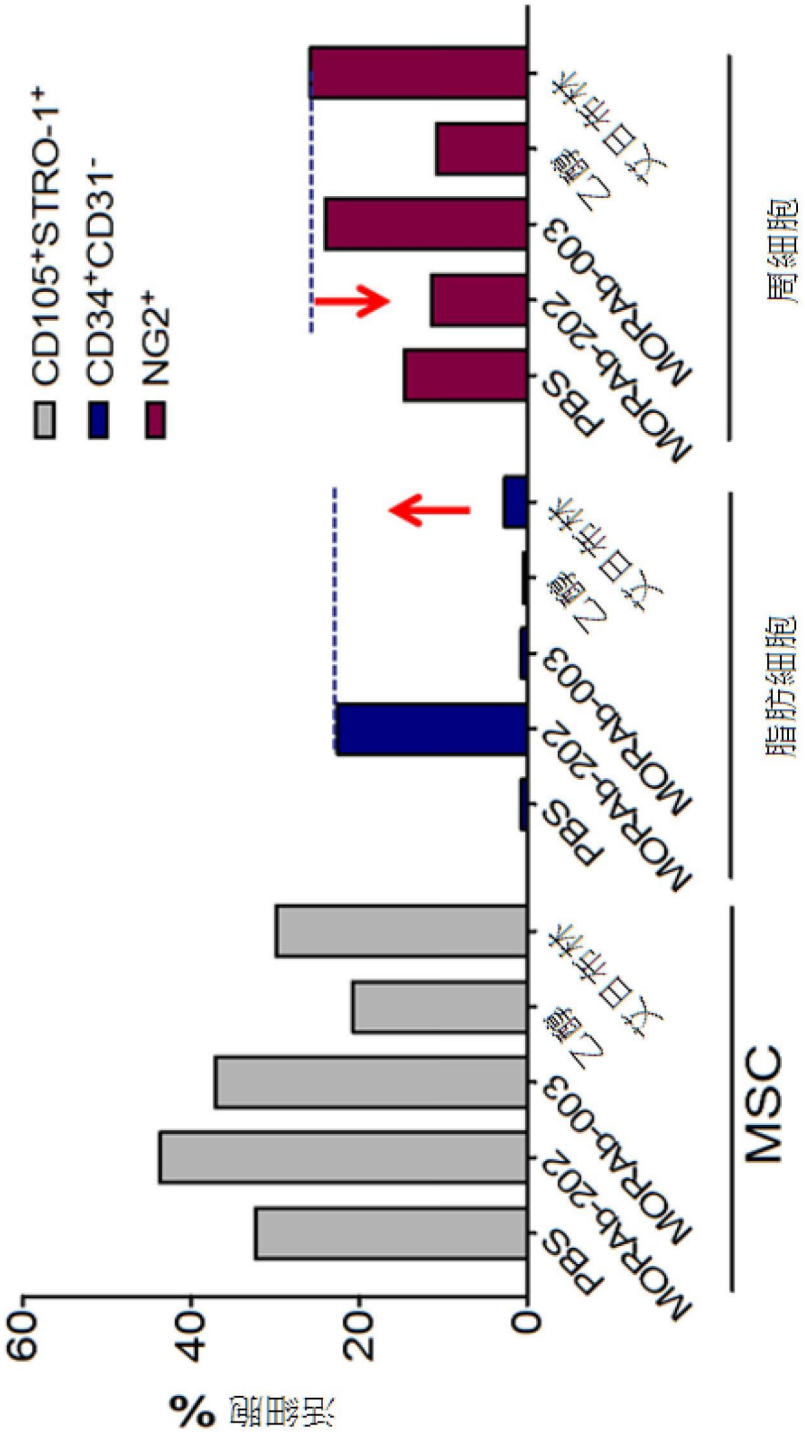
【圖21A】



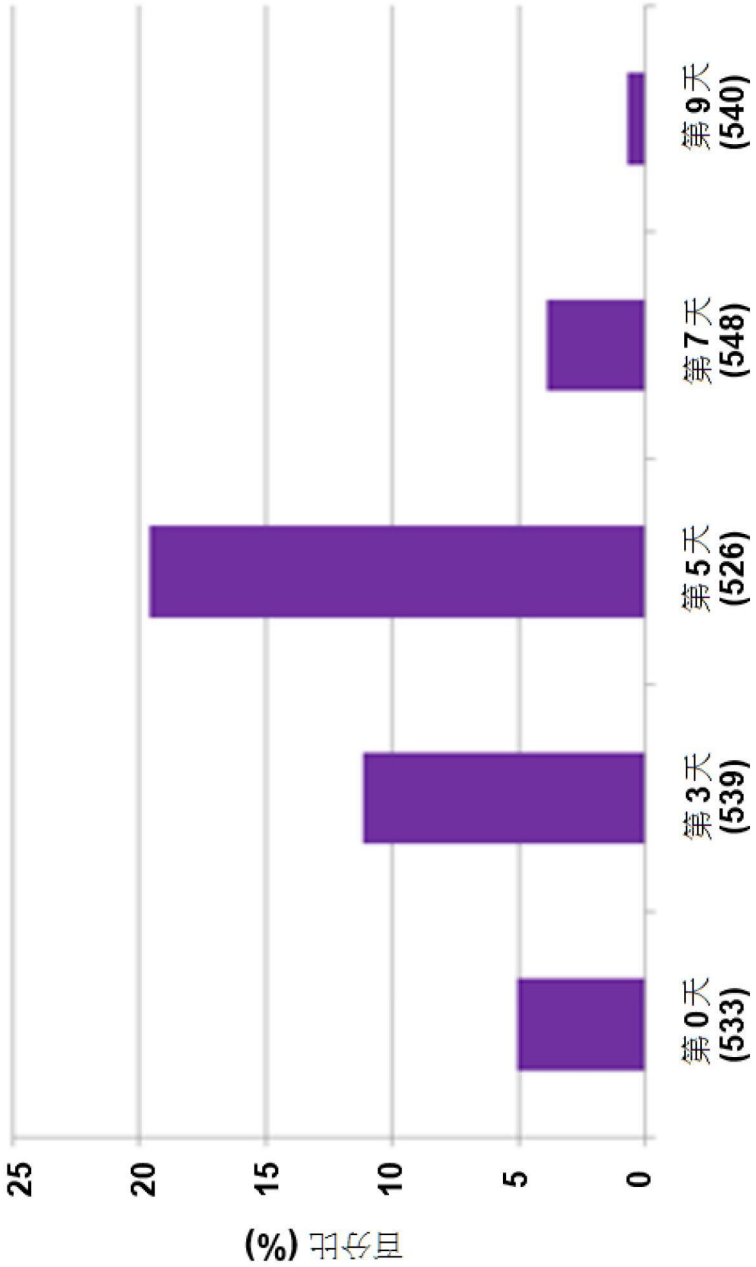
【圖21B】



【圖21C】


CD105+STRO-1+
CD34+CD31-
NG2+
活細胞 %
60
40
20
0
PBS
MORAb-202
MORAb-003
乙醇
文日布林
MSC
脂肪細胞
周細胞

【圖22】



【圖23】