



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107530442 A

(43)申请公布日 2018.01.02

(21)申请号 201680021976.4

(22)申请日 2016.04.15

(30)优先权数据

1506389.4 2015.04.15 GB

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2017.10.13

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2016/058373 2016.04.15

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/166301 EN 2016.10.20

(71)申请人 医学免疫有限公司

地址 英国剑桥

(72)发明人 P.H.C.范贝克尔 P.W.霍华德

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 邹宗亮

(51)Int.Cl.

A61K 47/68(2017.01)

A61K 31/5517(2006.01)

C07K 16/28(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

权利要求书15页 说明书203页

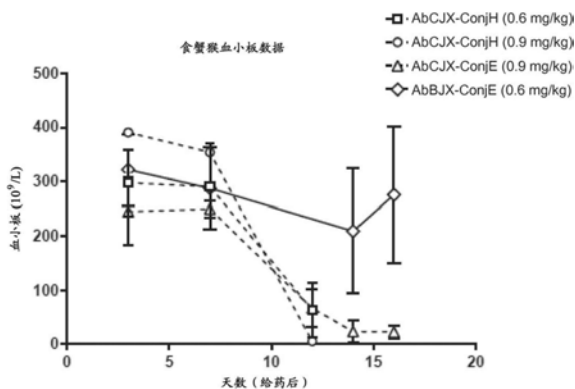
序列表168页 附图1页

(54)发明名称

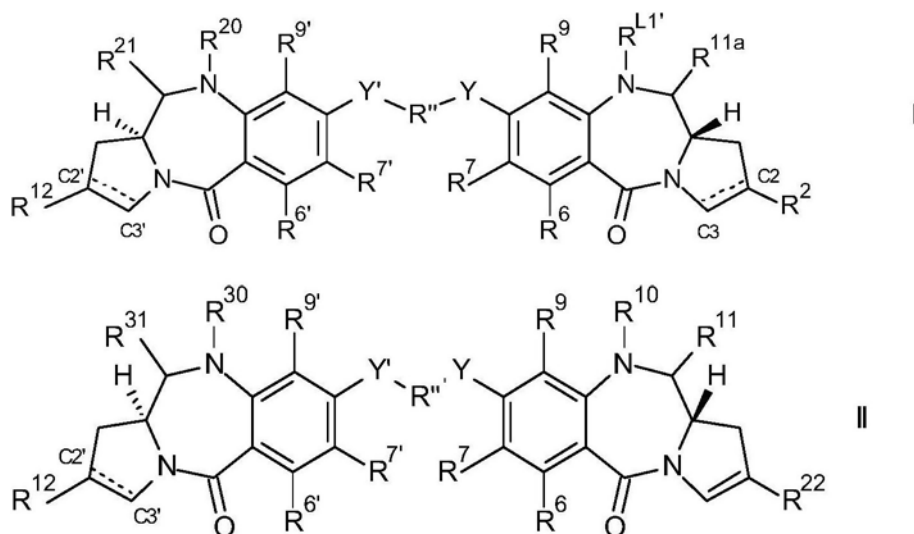
位点特异性抗体-药物缀合物

(57)摘要

本发明公开了位点特异性抗体-药物缀合物,特别是包含吡咯并苯并二氮杂^草(PBD)的缀合物,该吡咯并苯并二氮杂^草具有接头形式的不稳定性保护基团。缀合的位点以及对抗体部分的修饰使得ADC的安全性和效力得到改善。



1. 式L-(DL)p的缀合物,其中DL为式I或II:



其中:

L为抗体,其包含:

含有氨基酸序列SEQ ID NO:110或其片段的重链,其中SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

含有氨基酸序列SEQ ID NO:120或其片段的重链,其中SEQ ID NO:120中103、106和112位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

含有氨基酸序列SEQ ID NO:120或其片段的重链,其中SEQ ID NO:120中14、106和112位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

含有氨基酸序列SEQ ID NO:130或其片段的重链,其中SEQ ID NO:130中111、114、120、126、129、135、141、144、150、156和159位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;或

含有氨基酸序列SEQ ID NO:140或其片段的重链,其中SEQ ID NO:140中106和109位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

当C2'与C3'之间存在双键时,R¹²选自:

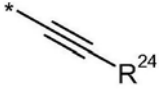
(ia) C₅₋₁₀芳基,其任选被一个或多个选自以下的取代基所取代:卤素,硝基、氰基、醚、羧基、酯、C₁₋₇烷基、C₃₋₇杂环基和双-氧基-C₁₋₃亚烷基;

(ib) C₁₋₅饱和脂族烷基;

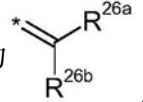
(ic) C₃₋₆饱和环烷基;

(id) 其中R²¹、R²²和R²³各自独立地选自H、C₁₋₃饱和烷基、C₂₋₃烯基、C₂₋₃炔基和环丙基,其中R¹²基团中碳原子的总数不超过5;

(ie) 其中R^{25a}和R^{25b}中的一者为H且另一者选自:苯基,该苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;和噻吩基;和

(if)  其中 R^{24} 选自:H; C_{1-3} 饱和烷基; C_{2-3} 烯基; C_{2-3} 炔基;环丙基;苯基,该苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;和噻吩基;

当 $C2'$ 和 $C3'$ 之间存在单键时,

R^{12} 为  其中 R^{26a} 和 R^{26b} 各自独立地选自H、F、 C_{1-4} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基,其中烷基和烯基任选地被选自以下的基团取代: C_{1-4} 烷基酰胺基和 C_{1-4} 烷基酯;或者,当 R^{26a} 和 R^{26b} 中一者为H时,另一者选自腈和 C_{1-4} 烷基酯;

R^6 和 R^9 各自独立地选自H、R、OH、OR、SH、SR、NH₂、NHR、NRR'、硝基、Me₃Sn和卤素;

其中R和R'各自独立地选自任选取代的 C_{1-12} 烷基、 C_{3-20} 杂环基和 C_{5-20} 芳基;

R^7 选自H、R、OH、OR、SH、SR、NH₂、NHR、NHRR'、硝基、Me₃Sn和卤素;

R'' 为 C_{3-12} 亚烷基,其中链中可含有一个或多个杂原子如O、S、NR^{N2}(其中 R^{N2} 为H或 C_{1-4} 烷基),和/或芳香环,如苯或吡啶;

Y和Y'选自O、S或NH;

R^6 、 R^7 、 R^9 分别选自与 R^6 、 R^7 和 R^9 相同的基团;

[式I]

$R^{L1'}$ 是用于连接至抗体(Ab)的接头;

R^{11a} 选自OH、OR^A,其中 R^A 为 C_{1-4} 烷基和SO_zM,其中z为2或3,且M为单价的药学上可接受的阳离子;

R^{20} 和 R^{21} 或者一起形成与它们连接的氮和碳原子之间的双键;或者

R^{20} 选自H和R^C,其中R^C为封端基团;

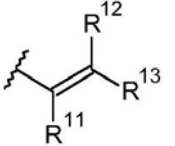
R^{21} 选自OH、OR^A和SO_zM;

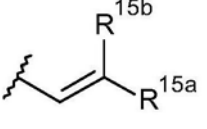
当 $C2$ 和 $C3$ 之间存在双键时, R^2 选自:

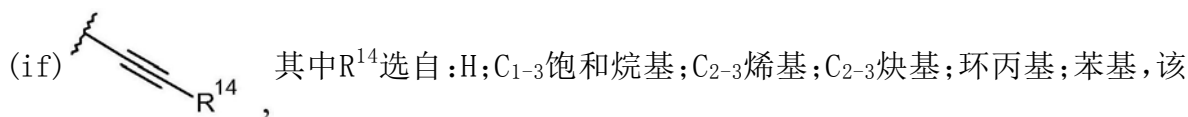
(ia) C_{5-10} 芳基,其任选被一个或多个选自以下的取代基所取代:卤素、硝基、氰基、醚、羧基、酯、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-7} 杂环基和双-氧基- C_{1-3} 亚烷基;

(ib) C_{1-5} 饱和脂族烷基;

(ic) C_{3-6} 饱和环烷基;

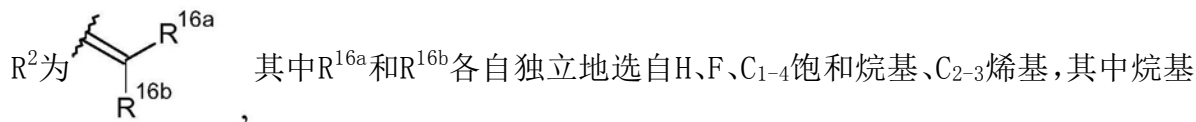
(id)  其中 R^{11} , R^{12} 和 R^{13} 各自独立地选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基和环丙基,其中 R^2 基团中的碳原子的总数不超过5;

(ie)  其中 R^{15a} 和 R^{15b} 中一者为H且另一者选自:苯基,该苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;和噻吩基;和



苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;和噻吩基;

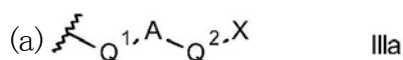
当在C2和C3之间存在单键时,



和烯基任选地被选自以下的基团取代:C₁₋₄烷基酰胺基和C₁₋₄烷基酯;或者,当R^{16a}和R^{16b}中一者为H时,另一者选自腈和C₁₋₄烷基酯;

[式II]

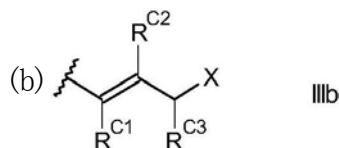
R²²为式IIIa、式IIIb或式IIIc:



其中A为C₅₋₇芳基,并且

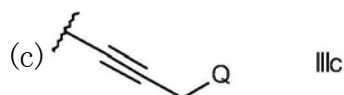
(i) Q¹为单键,且Q²选自单键和-Z-(CH₂)_n-,其中Z选自单键、O、S和NH且n为1至3;或者

(ii) Q¹为-CH=CH-,且Q²为单键;



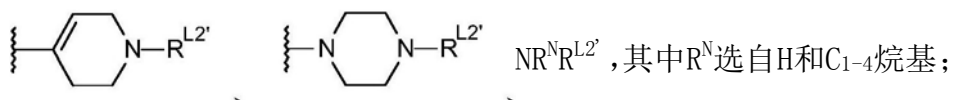
其中:

R^{C1}、R^{C2}和R^{C3}各自独立地选自H和未取代的C₁₋₂烷基;



其中Q选自O-R^{L2'}、S-R^{L2'}和NR^N-R^{L2'},且R^N选自H、甲基和乙基,

X选自:O-R^{L2'}、S-R^{L2'}、CO₂-R^{L2'}、CO-R^{L2'}、NH-C(=O)-R^{L2'}、NHNH-R^{L2'}、CONHNH-R^{L2'}、



R^{L2'}是用于连接至抗体(Ab)的接头;

R¹⁰和R¹¹一起形成与它们连接的氮和碳原子之间的双键;或者

R¹⁰为H和R¹¹选自OH、OR^A和SO₂M;

R³⁰和R³¹一起形成与它们连接的氮和碳原子之间的双键;或者

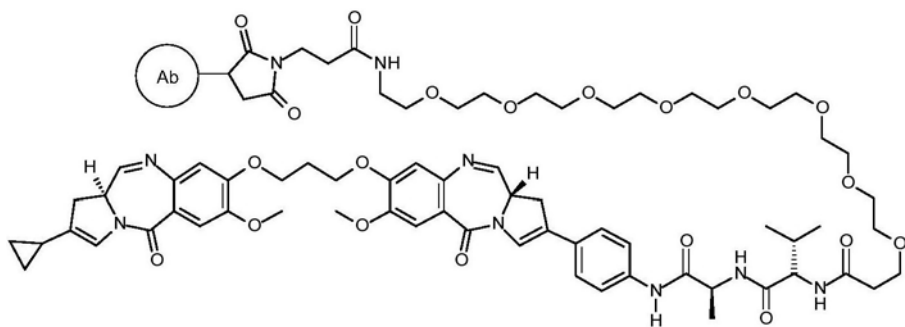
R³⁰为H和R³¹选自OH、OR^A和SO₂M;

[式I和II]

其中药物在链间半胱氨酸残基处与抗体缀合。

2. 权利要求1的缀合物,其中该缀合物不是:

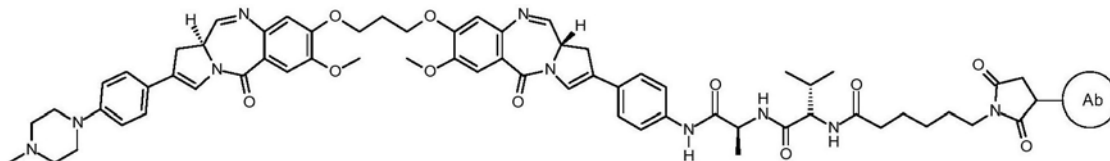
ConjA



ConjA

•

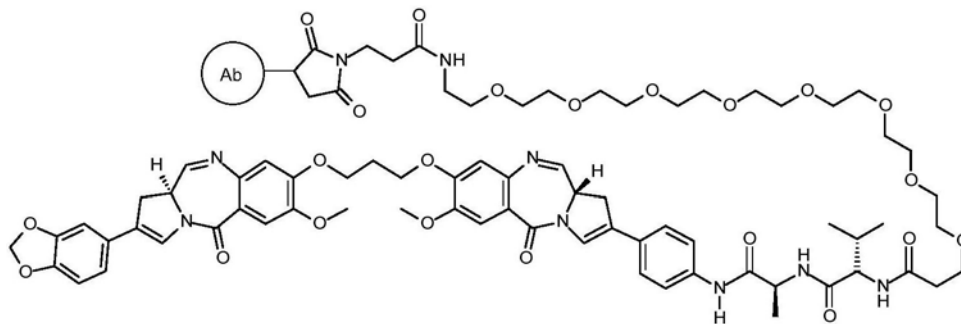
ConjB



ConjB

;

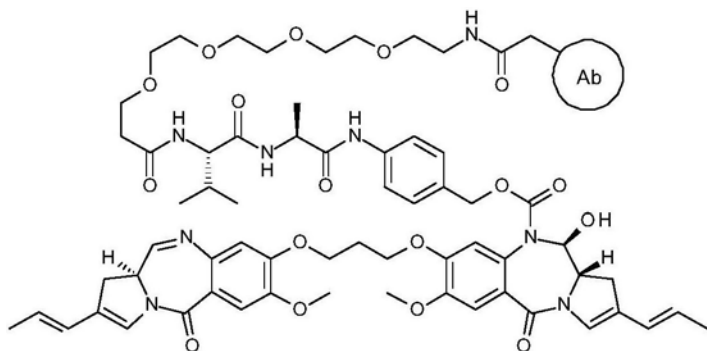
ConjC:



ConjC

3

ConjD

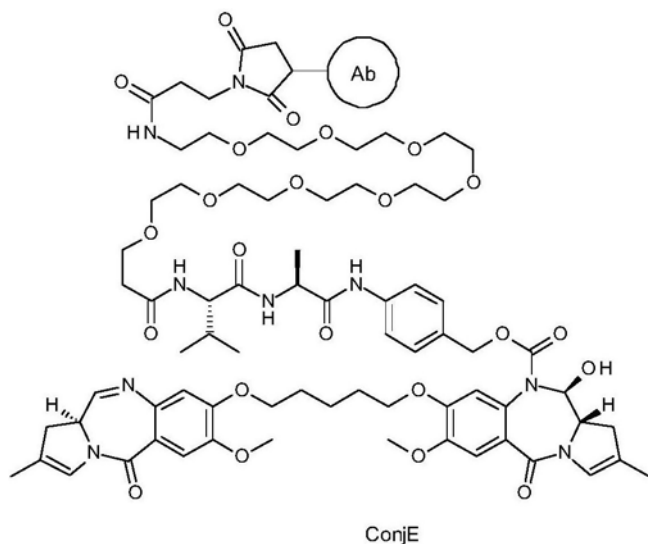


或

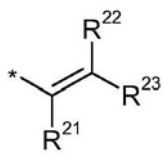
ConjD

:

ConjE:



3. 权利要求1或2的缀合物,其中 R^7 选自H、OH和OR。
4. 权利要求3的缀合物,其中 R^7 为 C_{1-4} 烷氧基。
5. 权利要求1至4中任一项的缀合物,其中Y为O。
6. 前述权利要求中任一项的缀合物,其中 R'' 为 C_{3-7} 亚烷基。
7. 权利要求1至6中任一项的缀合物,其中 R^9 为H。
8. 权利要求1至7中任一项的缀合物,其中 R^6 选自H和卤素。
9. 权利要求1至8中任一项的缀合物,其中在C2' 和C3' 之间存在双键,且 R^{12} 为 C_{5-7} 芳基。
10. 权利要求9的缀合物,其中 R^{12} 为苯基。
11. 权利要求1至8中任一项的缀合物,其中在C2' 和C3' 之间存在双键,且 R^{12} 为 C_{8-10} 芳基。
12. 权利要求9至11中任一项的缀合物,其中 R^{12} 具有1至3个取代基。
13. 权利要求9至12中任一项的缀合物,其中所述取代基选自甲氧基、乙氧基、氟、氯、氰基、双-氧基-亚甲基、甲基-哌嗪基、吗啉代和甲基-噻吩基。
14. 权利要求1至8中任一项的缀合物,其中在C2' 和C3' 之间存在双键,且 R^{12} 为 C_{1-5} 饱和脂族烷基。
15. 权利要求14的缀合物,其中 R^{12} 为甲基、乙基或丙基。
16. 权利要求1至8中任一项的缀合物,其中在C2' 和C3' 之间存在双键,且 R^{12} 为 C_{3-6} 饱和环烷基。
17. 权利要求16的缀合物,其中 R^{12} 为环丙基。
18. 权利要求1至8中任一项的缀合物,其中在C2' 和C3' 之间存在双键,且 R^{12} 为以下式的基团:

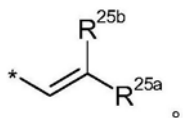


19. 权利要求18的缀合物,其中 R^{12} 基团中碳原子的总数不超过4。
20. 权利要求19的缀合物,其中 R^{12} 基团中碳原子的总数不超过3。
21. 权利要求18至20中任一项的缀合物,其中 R^{21} 、 R^{22} 和 R^{23} 中一者为H,其它两个基团选

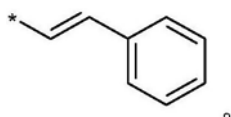
自H、C₁₋₃饱和烷基、C₂₋₃烯基、C₂₋₃炔基和环丙基。

22. 权利要求18至20中任一项的缀合物, 其中R²¹、R²²和R²³中两者为H, 其它基团选自H、C₁₋₃饱和烷基、C₂₋₃烯基、C₂₋₃炔基和环丙基。

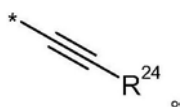
23. 权利要求1至8中任一项的缀合物, 其中在C2' 和C3' 之间存在双键, 且R¹²为以下式的基团:



24. 权利要求23的缀合物, 其中R¹²为基团:



25. 权利要求1至8中任一项的缀合物, 其中在C2' 和C3' 之间存在双键, 且R¹²为以下式的基团:



26. 权利要求25的缀合物, 其中R²⁴选自H、甲基、乙基、乙烯基和乙炔基。

27. 权利要求26的缀合物, 其中R²⁴选自H和甲基。

28. 权利要求1至8中任一项的缀合物, 其中C2' 和C3' 之间存在单键, R¹²为 且 R^{26a}和R^{26b}均为H。

29. 权利要求1至8中任一项的缀合物, 其中C2' 和C3' 之间存在单键, R¹²为 且 R^{26a}和R^{26b}均为甲基。

30. 权利要求1至8中任一项的缀合物, 其中C2' 和C3' 之间存在单键, R¹²为 且 R^{26a}和R^{26b}中一者为H, 且另一者选自C₁₋₄饱和烷基、C₂₋₃烯基, 其中烷基和烯基被任选取代。

[式I]

31. 权利要求1至30中任一项的缀合物, 其中C2和C3之间存在双键, 且R²为C₅₋₇芳基。

32. 权利要求31的缀合物, 其中R²为苯基。

33. 权利要求1至30中任一项的缀合物, 其中C2和C3之间存在双键, 且R¹为C₈₋₁₀芳基。

34. 权利要求31至33中任一项的缀合物, 其中R²具有1至3个取代基。

35. 权利要求31至34中任一项的缀合物, 其中所述取代基选自甲氧基、乙氧基、氟、氯、氰基、双-氧基-亚甲基、甲基-哌嗪基、吗啉代和甲基-噻吩基。

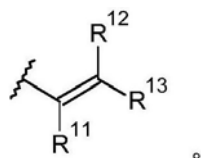
36. 权利要求1至30中任一项的缀合物, 其中C2和C3之间存在双键, 且R²为C₁₋₅饱和脂族烷基。

37. 权利要求36的缀合物, 其中R²为甲基、乙基或丙基。

38. 权利要求1至30中任一项的缀合物,其中C2和C3之间存在双键,且 R^2 为 C_{3-6} 饱和环烷基。

39. 权利要求38的缀合物,其中 R^2 为环丙基。

40. 权利要求1至30中任一项的缀合物,其中C2和C3之间存在双键,且 R^2 为以下式的基团:



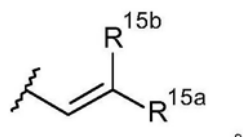
41. 权利要求40的缀合物,其中 R^2 基团中碳原子的总数不超过4。

42. 权利要求41的缀合物,其中 R^2 基团中碳原子的总数不超过3。

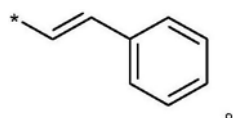
43. 权利要求40至42中任一项的缀合物,其中 R^{11} 、 R^{12} 和 R^{13} 中一者为H,其它两个基团选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基和环丙基。

44. 权利要求40至42中任一项的缀合物,其中 R^{11} 、 R^{12} 和 R^{13} 中两者为H,其它基团选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基和环丙基。

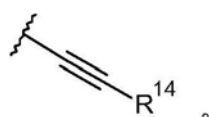
45. 权利要求1至30中任一项的缀合物,其中C2和C3之间存在双键,且 R^2 为以下式的基团:



46. 权利要求45的缀合物,其中 R^2 为基团:

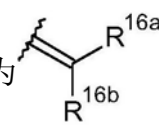


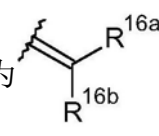
47. 权利要求1至30中任一项的缀合物,其中C2和C3之间存在双键,且 R^2 为以下式的基团:

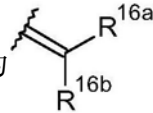


48. 权利要求47的缀合物,其中 R^{14} 选自H、甲基、乙基、乙烯基和乙炔基。

49. 权利要求47的缀合物,其中 R^{14} 选自H和甲基。

50. 权利要求1至30中任一项的缀合物,其中C2和C3之间存在单键, R^2 为  且 R^{16a} 和 R^{16b} 均为H。

51. 权利要求1至30中任一项的缀合物,其中C2和C3之间存在单键, R^2 为  且 R^{16a} 和 R^{16b} 均为甲基。

52. 权利要求1至30中任一项的缀合物, 其中C2和C3之间存在单键, R^2 为 ,

R^{16a} 和 R^{16b} 中一者为H, 且另一者选自 C_{1-4} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基, 其中烷基和烯基被任选取代。

53. 权利要求1至52中任一项的缀合物, 其中 R^{11a} 为OH。

54. 权利要求1至53中任一项的缀合物, 其中 R^{21} 为OH。

55. 权利要求1至53中任一项的缀合物, 其中 R^{21} 为OMe。

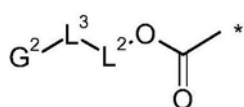
56. 权利要求1至55中任一项的缀合物, 其中 R^{20} 为H。

57. 权利要求1至55中任一项的缀合物, 其中 R^{20} 为 R^C 。

58. 权利要求57的缀合物, 其中 R^C 选自: Alloc、Fmoc、Boc和Troc。

59. 权利要求57的缀合物, 其中 R^C 选自: Teoc、Psec、Cbz和PNZ。

60. 权利要求的缀合物57, 其中 R^C 为以下基团:



其中, 星号表示连接至N10位置的点, G^2 为末端基团, L^3 为共价键或可切割接头 L^1 , L^2 为共价键或与OC(=O)一起形成自分解接头。

61. 权利要求60的缀合物, 其中 G^2 为Ac或Moc, 或选自: Alloc、Fmoc、Boc、Troc、Teoc、Psec、Cbz和PNZ。

62. 权利要求1至53中任一项的缀合物, 其中 R^{20} 和 R^{21} 一起形成与它们连接的氮和碳原子之间的双键。

[式II]

63. 权利要求1至30中任一项的缀合物, 其中 R^{22} 为式IIIa, 且A为苯基。

64. 权利要求1至30和权利要求63中任一项的缀合物, 其中 R^{22} 为式IIa, 且 Q^1 为单键。

65. 权利要求63的缀合物, 其中 Q^2 为单键。

66. 权利要求63的缀合物, 其中 Q^2 为 $-Z-(CH_2)_n-$, Z 为O或S, 且 n 为1或2。

67. 权利要求1至30和权利要求63中任一项的缀合物, 其中 R^{22} 为式IIIa, 且 Q^1 为 $-\text{CH}=\text{CH}-$ 。

68. 权利要求1至30中任一项的缀合物, 其中 R^{22} 为式IIIb, 且 R^{C1} , R^{C2} 和 R^{C3} 各自独立地选自H和甲基。

69. 权利要求68的缀合物, 其中 R^{C1} 、 R^{C2} 和 R^{C3} 全部为H。

70. 权利要求68的缀合物, 其中 R^{C1} 、 R^{C2} 和 R^{C3} 全部为甲基。

71. 权利要求1至30和权利要求63至70中任一项的缀合物, 其中 R^{22} 为式IIIa或式IIIb, 且X选自 $0-R^{L2'}$ 、 $S-R^{L2'}$ 、 $\text{CO}_2-R^{L2'}$ 、 $-\text{N}-\text{C}(=\text{O})-R^{L2'}$ 和 $\text{NH}-R^{L2'}$ 。

72. 权利要求71的缀合物, 其中X为 $\text{NH}-R^{L2'}$ 。

73. 权利要求1至30中任一项的缀合物, 其中 R^{22} 为式IIIc, 且Q为 $\text{NR}^N-R^{L2'}$ 。

74. 权利要求73的缀合物, 其中 R^N 为H或甲基。

75. 权利要求1至30中任一项的缀合物, 其中 R^{22} 为式IIIc, 且Q为 $0-R^{L2'}$ 或 $S-R^{L2'}$ 。

76. 权利要求1至30和权利要求63至75中任一项的缀合物, 其中 R^{11} 为OH。

77. 权利要求1至30和权利要求63至75中任一项的缀合物, 其中 R^{11} 为OMe。

78. 权利要求1至30和权利要求63至77中任一项的缀合物, 其中 R^{10} 为H。

79. 权利要求1至30和权利要求63至75中任一项的缀合物, 其中 R^{10} 和 R^{11} 一起形成与它们连接的氮和碳原子之间的双键。

80. 权利要求1至30和权利要求63至79中任一项的缀合物, 其中 R^{31} 为OH。

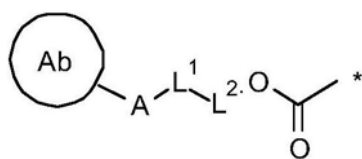
81. 权利要求1至30和权利要求63至79中任一项的缀合物, 其中 R^{31} 为OMe。

82. 权利要求1至30和权利要求63至81中任一项的缀合物, 其中 R^{30} 为H。

83. 权利要求1至30和权利要求63至79中任一项的缀合物, 其中 R^{30} 和 R^{31} 一起形成与它们连接的氮和碳原子之间的双键。

84. 权利要求1至83中任一项的缀合物, 其中 $R^{6'}$ 、 $R^{7'}$ 、 $R^{9'}$ 和 Y' 与 R^6 、 R^7 、 R^9 和Y相同。

85. 权利要求1至84中任一项的缀合物, 其中 $L-R^{L1'}$ 或 $L-R^{L2'}$ 为以下基团:



其中, 星号表示连接至PBD的点, Ab为抗体, L^1 为可切割接头, A为连接 L^1 至抗体的连接基团, L^2 为共价键或与 $-OC(=O)-$ 一起形成自分解接头。

86. 权利要求85的缀合物, 其中 L^1 可被酶切割。

87. 权利要求85或86的缀合物, 其中 L^1 包含连续的氨基酸序列。

88. 权利要求87的缀合物, 其中 L^1 包含二肽, 且二肽 $-NH-X_1-X_2-CO-$ 中的基团 $-X_1-X_2-$ 选自:

-Phe-Lys-,
-Val-Ala-,
-Val-Lys-,
-Ala-Lys-,
-Val-Cit-,
-Phe-Cit-,
-Leu-Cit-,
-Ile-Cit-,
-Phe-Arg-,
-Trp-Cit-。

89. 权利要求88的缀合物, 其中二肽 $-NH-X_1-X_2-CO-$ 中的基团 $-X_1-X_2-$ 选自:

-Phe-Lys-,
-Val-Ala-,
-Val-Lys-,
-Ala-Lys-,
-Val-Cit-。

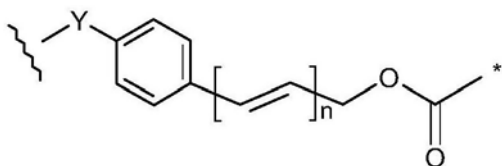
90. 权利要求89的缀合物, 其中二肽 $-NH-X_1-X_2-CO-$ 中的基团 $-X_1-X_2-$ 为-Phe-Lys-、-Val-Ala-或-Val-Cit-。

91. 权利要求88至90中任一项的缀合物, 其中基团 X_2-CO- 连接至 L^2 。

92. 权利要求88至91中任一项的缀合物, 其中基团NH-X₁-连接至A。

93. 权利要求88至92中任一项的缀合物, 其中L²与OC(=O)一起形成自分解接头。

94. 权利要求93的缀合物, 其中C(=O)O和L²一起形成以下基团:

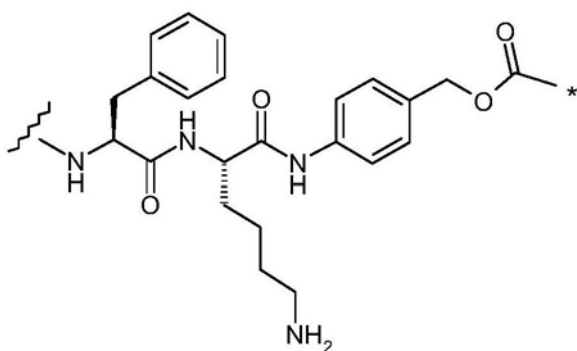


其中, 星号表示连接至PBD的点, 波浪线表示连接至接头L¹的点, Y为NH、O、C(=O)NH或C(=O)O, 且n为0至3。

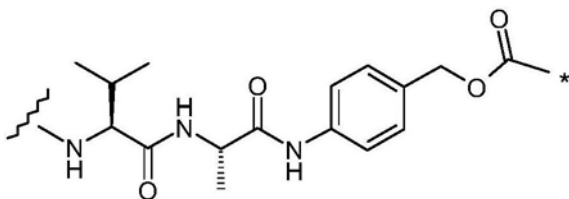
95. 权利要求94的缀合物, 其中Y为NH。

96. 权利要求94或权利要求95的缀合物, 其中n为0。

97. 权利要求95的缀合物, 其中L¹和L²与-OC(=O)-一起, 包含选自以下的基团:



或

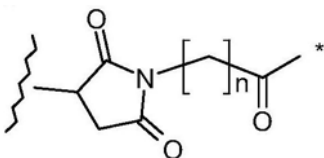


其中, 星号表示连接至PBD的点, 且波浪线表示连接至接头L¹的剩余部分的点或连接至A的点。

98. 权利要求97的缀合物, 其中波浪线表示连接至A的点。

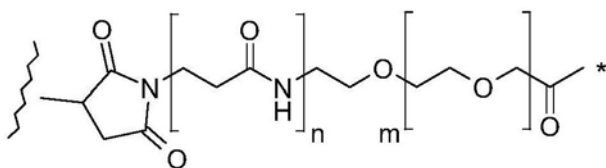
99. 权利要求85至98中任一项的缀合物, 其中A为:

(i)



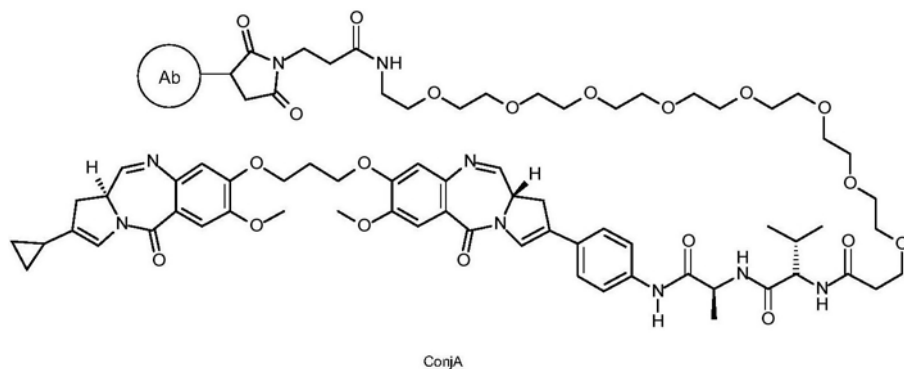
其中星号表示连接至L¹的点, 波浪线表示连接至抗体的点, 且n为0至6; 或

(ii)

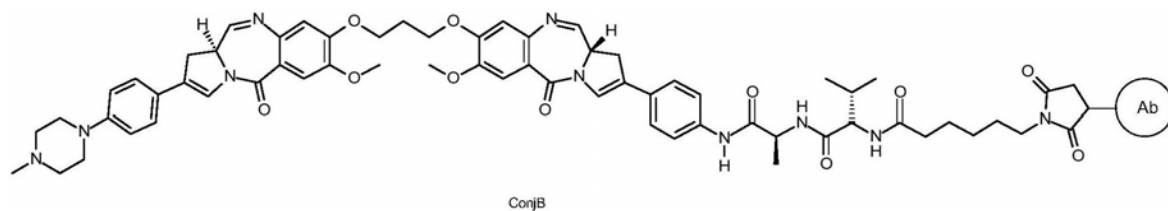


其中星号表示连接至 L^1 的点,波浪线表示连接至抗体的点,n为0或1,且m为0至30。

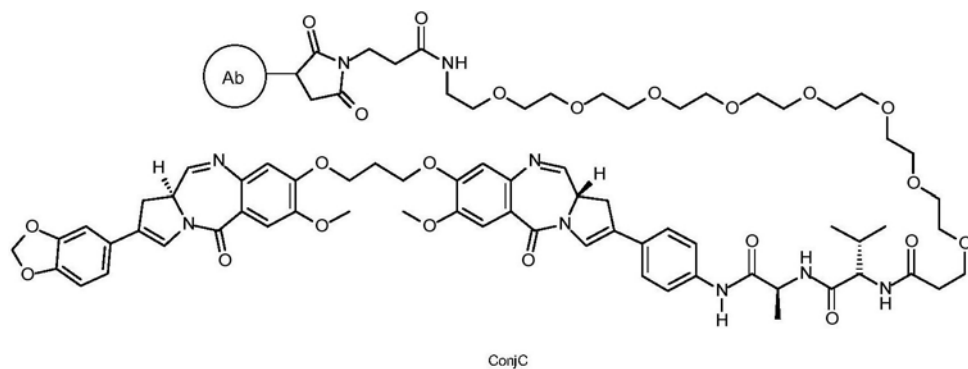
100. 权利要求1的缀合物,其为式:ConjA:



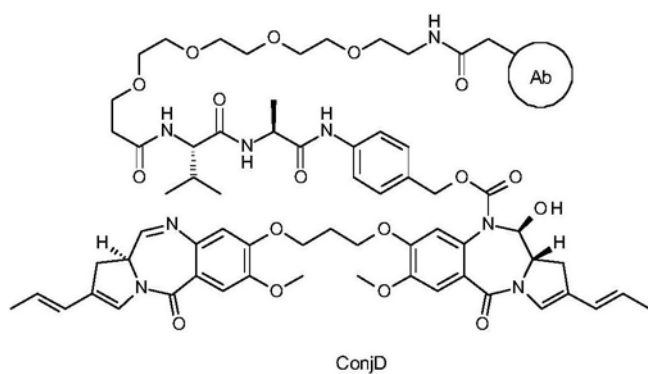
ConjB:



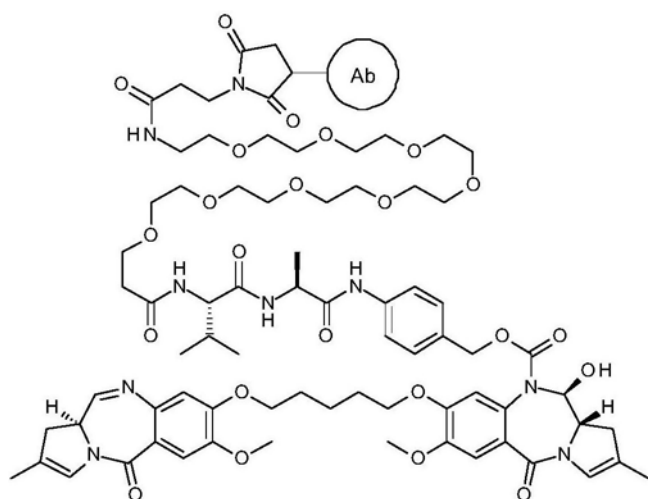
ConjC:



ConjD:



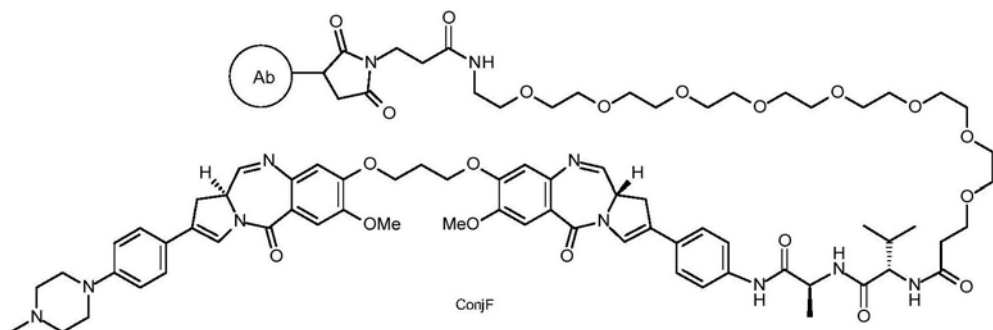
ConjE:



ConjE

;

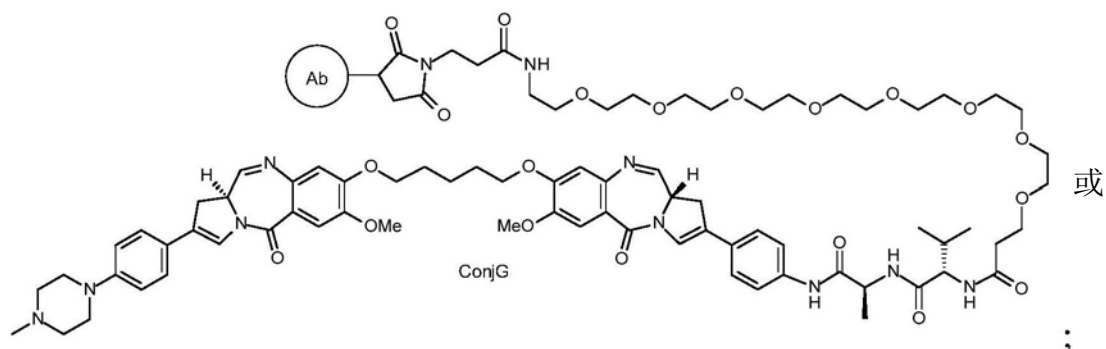
ConjF:



ConjF

•
;

ConjG:

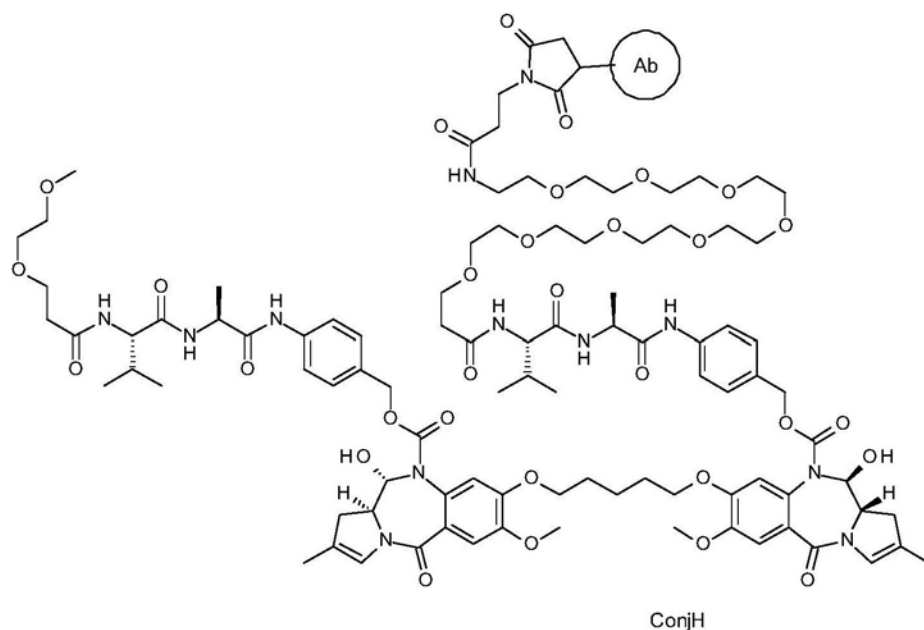


ConjG

或

•

ConjH:



101. 权利要求1至100中任一项的缀合物,其中该抗体包含:

含有氨基酸序的SEQ ID NO.110或其片段的轻链,其中SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

含有氨基酸序列SEQ ID NO.120或其片段的轻链,其中SEQ ID NO:120中103位、106位和109位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

含有氨基酸序列SEQ ID NO.120或其片段的轻链,其中SEQ ID NO:120中14、106和112位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

含有氨基酸序列SEQ ID NO.130或其片段的轻链,其中SEQ ID NO:130中111、114、120、126、129、135、141、144、150、156和159位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;或

含有氨基酸序列SEQ ID NO.140或其片段的轻链,其中SEQ ID NO:140中106和109位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。

102. 权利要求101的缀合物,SEQ ID NO:120中102位的半胱氨酸如果存在,其也被非半胱氨酸的氨基酸取代。

103. 权利要求101或102的缀合物,其中药物缀合至SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸、SEQ ID NO.120中14位的半胱氨酸、SEQ ID NO:120中103位的半胱氨酸、SEQ ID NO.130中14位的半胱氨酸或SEQ ID NO.140中14位的半胱氨酸。

104. 权利要求101至103中任一项的缀合物,其中该抗体包含:

轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或其片段,其中105位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代;或

轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.160或其片段,其中102位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代。

105. 权利要求1至100中任一项的缀合物,其中该抗体包含:

重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.113;和轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151、SEQ ID NO.152、SEQ ID NO.153、SEQ ID NO.161、SEQ ID NO.162或SEQ ID NO.163;

任选地其中药物缀合至SEQ ID NO.113中103位的半胱氨酸。

106. 权利要求1至100中任一项的缀合物,其中该抗体包含:

重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.114;和轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151、SEQ ID NO.152、SEQ ID NO.153、SEQ ID NO.161、SEQ ID NO.162或SEQ ID NO.163;

任选地其中药物缀合至SEQ ID NO.114中103位的半胱氨酸。

107. 权利要求1至106中任一项的缀合物,其中该抗体包含在按照Kabat的EUindex编号系统为234位和/或按照Kabat的EUindex编号系统为235位的残基具有氨基酸取代的重链。

108. 权利要求107的缀合物,其中该抗体包含重链,该重链在按照Kabat的EUindex编号系统为234位和按照Kabat的EUindex编号系统为235位的残基具有氨基酸取代。

109. 权利要求1至108中任一项的缀合物,其中该抗体包含:含有氨基酸序列SEQ ID NO.110的重链,且其中117位的亮氨酸和/或118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代。

110. 权利要求109的缀合物,其中该抗体包含:含有氨基酸序列SEQ ID NO.110的重链,且其中117位的亮氨酸和118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代。

111. 权利要求1至108中任一项的缀合物,其中该抗体包含:含有氨基酸序列SEQ ID NO.130的重链,且其中164位的亮氨酸和/或165位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代。

112. 权利要求111的缀合物,其中该抗体包含:含有氨基酸序列SEQ ID NO.130的重链,且其中164位的亮氨酸和165位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代。

113. 权利要求1至108中任一项的缀合物,其中该抗体包含:含有氨基酸序列SEQ ID NO.140的重链,且其中115位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代。

114. 权利要求1至113中任一项的缀合物,其中被取代的氨基酸被丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸替换。

115. 权利要求114的缀合物,其中被取代的氨基酸被丙氨酸替换。

116. 权利要求1至115中任一项的缀合物,其中该抗体包含V_H结构域,且任选地还包含V_L结构域。

117. 权利要求1至116中任一项的缀合物,其中该抗体或抗体片段结合至选自以下(1)-(88)的一个或多个肿瘤相关的抗原或细胞表面受体:

(1) BMPR1B; (2) E16; (3) STEAP1; (4) 0772P; (5) MPF; (6) Napi3b; (7) Sema 5b; (8) PSCA h1g; (9) ETBR; (10) MSG783; (11) STEAP2; (12) TrpM4; (13) CRIPTO; (14) CD21; (15) CD79b; (16) FcRH2; (17) NCA; (18) MDP; (19) IL20R- α ; (21) Brevican; (22) EphB2R; (23) ASLG659; (24) PSCA; (25) GEDA; (26) BAFF-R; (28) CD79a; (29) CXCR5; (30) HLA-DOB; (31) P2X5; (32) CD72; (33) LY64; (34) FcRH1; (35) IRTA2; (36) TENB2; (38) SST; (38.1) SSTR2; (38.2) SSTR5; (38.3) SSTR1; (38.4) SSTR3; (38.5) SSTR4; (39) ITGAV; (40) ITGB6; (41) CEACAM5; (42) MET; (44) CA9; (45) EGFRvIII; (46) CD33; (50) CD30-TNFRSF8; (51) BCMA-TNFRSF17; (52) CT Ags-CTA; (53) CD174 (Lewis Y)-FUT3; (54) CLEC14A; (55) GRP78-HSPA5; (56) CD70; (57) 干细胞特异性抗原; (58) ASG-5; (59) ENPP3; (60) PRR4; (61) GCC-GUCY2C; (62) Liv-1-SLC39A6; (63) 5T4; (64) CD56-NCMA1; (65) CanAg; (66) FOLR1; (67) GPNMB; (68) TIM-1-HAVCR1; (69) RG-1/前列腺肿瘤靶向Mindin-Mindin/RG-1; (70) B7-H4-VTCN1; (71) PTK7; (72) CD37; (73) CD138-SDC1; (74) CD74; (75) Claudins-CLs; (76) EGFR; (77) Her3; (78) RON-MST1R; (79) EPHA2; (80) CD20-MS4A1; (81) 肌腱蛋白C-TNC; (82) FAP; (83) DKK-1; (84) CD52; (85) CS1-SLAMF7; (86)

Endoglin-ENG; (87) 膜联蛋白A1-ANXA1; (88) V-CAM (CD106) -VCAM1。

118. 前述权利要求中任一项的缀合物, 其中该抗体为完整抗体。

119. 前述权利要求中任一项的缀合物, 其中该抗体为人源化的、去免疫化的或表面重建的。

120. 前述权利要求中任一项的缀合物其中在以单次剂量递送时, 该缀合物在大鼠中的最大耐受剂量为至少2.0mg/kg。

121. 前述权利要求中任一项的缀合物其中药物 (D) 对抗体 (Ab) 的载药量 (p) 为2或4。

122. 权利要求1至121中任一项的缀合物, 其用于治疗。

123. 权利要求1至121中任一项的缀合物, 其用于在受试者中治疗增殖性疾病。

124. 权利要求123的缀合物, 其中所述疾病为癌症。

125. 药物组合物, 其包含权利要求1至121中任一项的缀合物, 和药学上可接受的稀释剂、载体或赋形剂。

126. 权利要求125的药物组合物, 还包含治疗有效量的化疗剂。

127. 权利要求1至121中任一项的缀合物在制备用于在受试者中治疗增殖性疾病的药物中的用途。

128. 治疗癌症的方法, 包括向患者给药权利要求125的药物组合物。

129. 权利要求128的方法, 其中向患者给药化疗剂与所述缀合物的组合。

位点特异性抗体-药物缀合物

技术领域

[0001] 本发明涉及位点特异性抗体-药物缀合物。本发明描述了包含吡咯并苯并二氮杂草 (PBD) 的缀合物, 该吡咯并苯并二氮杂草具有缀合至抗体的接头形式的不稳定性 (labile) 保护基团。

背景技术

[0002] 抗体-药物缀合物

[0003] 已经建立了针对患有癌症、免疫障碍和血管生成障碍的患者的靶向治疗的抗体疗法 (Carter, P. (2006) *Nature Reviews Immunology* 6:343-357)。使用抗体-药物缀合物 (ADC), 即免疫缀合物, 局部递送细胞毒素或细胞生长抑制剂 (即在癌症治疗中杀死或抑制肿瘤细胞的药物), 从而使药物能被靶向递送至肿瘤并在其细胞内累积 (Junutula 等人, 2008b *Nature Biotech.*, 26 (8):925-932; Dornan 等人, (2009) *Blood* 114 (13):2721-2729; US 7521541; US 7723485; W02009/052249; McDonagh (2006) *Protein Eng. Design&Sel.* 19 (7):299-307; Doronina 等人, (2006) *Bioconj. Chem.* 17:114-124; Erickson 等人, (2006) *Cancer Res.* 66 (8):1-8; Sanderson 等人, (2005) *Clin. Cancer Res.* 11:843-852; Jeffrey 等人, (2005) *J. Med. Chem.* 48:1344-1358; Hamblett 等人, (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:7063-7070)。

[0004] 本发明人开发了具体的抗体-药物缀合物, 其中修饰抗体部分以增加 ADC 的安全性和功效。

[0005] 位点特异性缀合

[0006] 在 ADC 中, 细胞毒性药物通常通过赖氨酸侧链以非位点特异性方式与抗体缀合, 或通过使存在于抗体中的链间二硫键还原以提供活化的天然半胱氨酸巯基而与抗体缀合。

[0007] 药物与抗体的位点特异性缀合也被认为就药物与抗体的比例 (DAR) 和联接位点而言提供了具有高均匀性和批次间一致性的 ADC 群。位点特异性联接通常通过用与药物缀合的氨基酸 (诸如半胱氨酸) 取代抗体中的天然氨基酸而实现 (参见 Stimmel 等人, *JBC*, Vol. 275, No. 39, 9月29日那期, pp. 30445-30450-conjugation of an IgG S442C variant with bromoacetyl-TMT; 以及 Junutula 等人, *Nature Biotechnology*, vol. 26, no. 8, pp. 925-932)。Junutula 等人报告说, 与非特异性缀合的 ADC 相比, 其中药物连接到特定的半胱氨酸残基 (该残基被工程化到抗体序列中) 的位点特异性 ADC 表现出了同等的功效和降低的全身毒性。

[0008] 其他研究已经研究了包含在特定位点处与抗体缀合的细胞毒性药物的 ADC 的生物学特性。例如, W02013/093809 讨论了多种工程化的抗体恒定区, 其子集被例示为与细胞毒性药物如单甲基阿司他丁 (MMAD) 的缀合物的一部分。W02011/005481 描述了用于位点特异性缀合的工程化抗体 Fc 区, 包括生物素-PEG2-马来酰亚胺与多种工程化抗体的例证。W02006-065533 描述了抗体 Fc 区, 其中一个或多个存在于重链和/或轻链中形成了“天然”链间二硫键的半胱氨酸被其它氨基酸取代, 从而使得其互补的半胱氨酸巯基可以与药物结

合。

[0009] Strop等人,Chemistry & Biology 20,161-167,2013年2月21日评估了多种位点特异性ADC的稳定性和药代动力学,其彼此间的不同点仅在用于将药物缀合到抗体的位点位置。作者报道,对于测试的ADC,缀合位点以物种依赖性方式影响ADC的稳定性和药代动力学。

[0010] 本发明人开发了特定的抗体-药物缀合物,其中药物以位点特异性方式缀合。

发明内容

[0011] 本发明人已经发现,其中药物单元(D^L)与特定的链间半胱氨酸残基结合的抗体-药物缀合物具有意料不到且有利的性质。特别地,这些新开发的ADC具有本发明所述的有利的制造和药理学性质。

[0012] 因此,在第一方面,为了提高药物单元(D^L)与所需的链间半胱氨酸残基的结合的功效和效率,本发明所述的缀合物的抗体包含一个或多个链间半胱氨酸残基被非半胱氨酸的氨基酸所取代。

[0013] 本发明所述缀合物的抗体保留了至少一个未取代的链间半胱氨酸残基,以使药物与抗体缀合。抗体中保留的链间半胱氨酸残基的数目大于零但小于亲本(天然的)抗体中的链间半胱氨酸残基总数。因此,在一些实施方案中,抗体具有至少一个、至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个或至少七个链间半胱氨酸残基。在典型的实施方案中,抗体具有偶数个的链间半胱氨酸残基(例如,至少两个、四个、六个或八个)。在一些实施方案中,抗体具有少于八个链间半胱氨酸残基。

[0014] AbLJ

[0015] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i)保留未取代的铰链区链间半胱氨酸;(ii)包含轻链,每条轻链的位于C^L结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代;和(iii)包含重链,每条重链保留位于CH₁结构域中的未取代的链间半胱氨酸。例如,在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i)保留未取代的HC226和HC229(按照Kabat的EUindex编号系统);(ii)包含轻链,每条轻链的链间半胱氨酸残基κLC214或λLC213(按照Kabat的EUindex编号系统)具有氨基酸取代;和(iii)包含重链,每条重链保留未取代的链间半胱氨酸HC220(按照Kabat的EUindex编号系统)。优选地,药物缀合至位于CH₁结构域中的未取代的链间半胱氨酸,例如,缀合至HC220(按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0016] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0017] 其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸。

[0018] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.120的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0019] 其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO.120中14位的半胱氨酸。

[0020] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0021] 其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO.130中14位的半胱氨酸。

[0022] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0023] 其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO.140中14位的半胱氨酸。

[0024] AbHJ

[0025] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i) 保留未取代的铰链区链间半胱氨酸;(ii) 包含轻链,每条轻链保留位于C_L结构域中的未取代的链间半胱氨酸;和(iii) 包含重链,每条重链位于CH₁结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代。例如,在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i) 保留未取代的HC226和HC229(按照Kabat的EUindex编号系统);(ii) 包含轻链,每条轻链保留未取代的链间半胱氨酸κLC214或λLC213(按照Kabat的EUindex编号系统);和(iii) 包含重链,每条重链的链间半胱氨酸HC220(按照Kabat的EUindex编号系统)具有氨基酸取代。优选地,药物缀合至位于C_L结构域中的未取代的链间半胱氨酸,例如,缀合至κLC214或λLC213(按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0026] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0027] 其中SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0028] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.120的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0029] 其中SEQ ID NO:120中14位和103位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0030] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0031] 其中SEQ ID NO:130中14位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0032] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0033] 其中SEQ ID NO:140中14位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0034] AbBJ

[0035] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i) 每个铰链区链间半胱氨酸均具有氨基酸取代;(ii) 包含轻链,每条轻链的位于C_L结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代;和(iii) 包含重链,每条重链保留位于CH₁结构域中的未取代的链间半胱氨酸。例如,在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i) HC226和HC229(按照Kabat的EUindex编号系统)中的每个均具有氨基酸取代;(ii) 包含轻链,每条轻链的链间半胱氨酸残基κLC214或λLC213(按照Kabat的EUindex编号系统)具有氨基酸取代;和(iii) 重链,每条重链

的未取代的链间半胱氨酸HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统) 均被保留。优选地, 药物缀合至位于CH₁结构域中的未取代的链间半胱氨酸, 例如, 至HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0036] 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体包含: 含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链, 和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0037] 其中SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0038] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地, 药物缀合至SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸。

[0039] 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体包含: 含有SEQ ID NO.120的氨基酸序列的重链, 和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0040] 其中SEQ ID NO:120中103位、106位和109位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0041] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。在一些实施方案中, SEQ ID NO:120中102位的半胱氨酸也被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地, 药物缀合至SEQ ID NO.120中14位的半胱氨酸。

[0042] 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体包含: 含有SEQ ID NO.120的氨基酸序列的重链, 和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0043] 其中SEQ ID NO:120中14位、106位和109位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0044] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。在一些实施方案中, SEQ ID NO:120中102位的半胱氨酸也被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地, 药物缀合至SEQ ID NO:120中103位的半胱氨酸。

[0045] 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体包含: 含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链, 和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0046] 其中SEQ ID NO:130中111、114、120、126、129、135、141、144、150、156和159位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0047] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地, 药物缀合至SEQ ID NO.130中14位的半胱氨酸。

[0048] 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体包含: 含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链, 和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0049] 其中SEQ ID NO:140中106和109位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0050] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地, 药物缀合至SEQ ID NO.140中14位的半胱氨酸。

[0051] AbDJ

[0052] 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体: (i) 每个铰链区链间半胱氨酸均具有氨基酸取代; (ii) 包含轻链, 每条轻链的位于C_L结构域中的未取代的链间半胱氨酸被保留; 和 (iii) 包含重链, 每条重链的位于CH₁结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代。例如, 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体: (i) HC226和HC229 (按照Kabat的

EUindex编号系统)中的每个具有氨基酸取代;(ii)包含轻链,每条轻链的未取代的链间半胱氨酸κLC214或λLC213(按照Kabat的EUindex编号系统)被保留;和(iii)包含重链,每条重链的链间半胱氨酸HC220(按照Kabat的EUindex编号系统)具有氨基酸取代。优选地,药物缀合至位于C^L结构域中的未取代的链间半胱氨酸,例如,缀合至κLC214或λLC213(按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0053] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0054] 其中SEQ ID NO:110中103、109和112位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0055] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.120的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0056] 其中SEQ ID NO:120中14、103、106和109位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0057] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0058] 其中SEQ ID NO:130中14、111、114、120、126、129、135、141、144、150、156和159位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0059] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0060] 其中SEQ ID NO:140中14、106和109位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0061] -----

[0062] 本发明人进一步发现,其中抗体在重链中包含特定的突变或突变的组合的抗体-药物缀合物具有意想不到且有利的性质。特别地,本发明人已经确定了,与包含缺乏特定突变的抗体的其它方面相同的ADC相比,重链中的抗体突变降低了其被掺入其中的ADC的毒性并增加其血清半衰期。

[0063] 例如,在IgG1同型物中,本发明人鉴定了234位和235位(按照Kabat的EUindex编号系统)的亮氨酸残基(SEQ ID NO.110中的残基L117和L118)当被非亮氨酸的氨基酸取代时,使ADC具有有利的性质。

[0064] 因此,在第二方面,本发明所述缀合物的抗体包含其中234位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基和/或235位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基被任何其它氨基酸(即与“野生型”序列中不同的氨基酸)所取代的重链。优选地,234和235位的残基两者(按照Kabat的EUindex编号系统)被任何其它氨基酸所取代。

[0065] 在一些实施方案中,所述抗体为IgG1同型物,且234位的亮氨酸(按照Kabat的EUindex编号系统)和/或235位的亮氨酸(按照Kabat的EUindex编号系统)被非亮氨酸的氨

氨基酸所取代。优选地,234和235位的亮氨酸(按照Kabat的EUindex编号系统)均被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。一个或两个亮氨酸也可被非亮氨酸的其它氨基酸所取代,如甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸。

[0066] 例如,在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,其中117位的亮氨酸和/或118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,117和118位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。一个或两个亮氨酸也可被非亮氨酸的其它氨基酸所取代,如甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸。

[0067] 在一些实施方案中,所述抗体为IgG3同型物,且234位的亮氨酸(按照Kabat的EUindex编号系统)和/或235位的亮氨酸(按照Kabat的EUindex编号系统)被非亮氨酸的氨基酸所取代。优选地,234和235位的亮氨酸(按照Kabat的EUindex编号系统)均被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。一个或两个亮氨酸也可被非亮氨酸的其它氨基酸所取代,如甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸。

[0068] 例如,在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链,其中164位的亮氨酸和/或165位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,164和165位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。一个或两个亮氨酸也可被非亮氨酸的其它氨基酸所取代,如甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸。

[0069] 在一些实施方案中,所述抗体为IgG4同型物,且235位的亮氨酸(按照Kabat的EUindex编号系统)被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。亮氨酸也可被非亮氨酸的其它氨基酸所取代,如甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸。

[0070] 例如,在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链,其中115位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。亮氨酸也可被非亮氨酸的其它氨基酸所取代,如甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸。

[0071] -----

[0072] 可在相同的抗体中将第一方面中所述的修饰有利地与第二方面中所述的修饰结合。

[0073] 因此,在第三方面,本发明所述缀合物的抗体:

[0074] (1) 包含一个或多个链间半胱氨酸残基被非半胱氨酸的氨基酸取代,并保留至少一个未取代的链间半胱氨酸残基,以使药物与抗体缀合;和

[0075] (2) 包含其中234位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基和/或235位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基被任何其它氨基酸(即与“野生型”序列中不同的氨基酸)所取代的重链。

[0076] AbLJ (LALA)

[0077] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i) 保留未取代的铰链区链间半胱氨酸;(ii) 包含轻链,每条轻链的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代,所述半胱氨酸残基位于C_L结构域中;(iii) 包含重链,每条重链保留位于CH₁结构域中的未取代的链间半胱氨酸;且(iv) 包含重链,每条重链在234位(按照Kabat的EUindex编号系统)和/或235位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基具有氨基酸取代。

[0078] 例如,在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i) 保留未取代的HC226和HC229(按照Kabat的EUindex编号系统);(ii) 包含轻链,每条轻链的链间半胱氨酸残基κ

LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统) 具有氨基酸取代; (iii) 包含重链, 每条重链未取代的链间半胱氨酸HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统) 均被保留; 和 (iv) 包含重链, 每条重链在234位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 和/或235位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 的残基被任何其它氨基酸取代。优选地, 234和235位的残基两者 (按照Kabat的EUindex编号系统) 均被取代。优选地, 药物缀合至位于CH₁结构域中的未取代的链间半胱氨酸, 例如, 缀合至HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0079] 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体包含: 含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链, 和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0080] 其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0081] 且其中SEQ ID NO:110中117位的亮氨酸和/或SEQ ID NO:110中118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代, 如丙氨酸。优选地, 药物缀合至SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸。优选地, SEQ ID NO:110中117和118位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代, 如丙氨酸。一个或两个亮氨酸也可被非亮氨酸的其它氨基酸所取代, 如甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸。

[0082] 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体包含: 含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链, 和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0083] 其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0084] 且其中SEQ ID NO:130中164位的亮氨酸和/或SEQ ID NO:130中165位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代, 如丙氨酸。优选地, 药物缀合至SEQ ID NO.130中14位的半胱氨酸。优选地, SEQ ID NO:130中164和165位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代, 如丙氨酸。一个或两个亮氨酸也可被非亮氨酸的其它氨基酸所取代, 如甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸。

[0085] 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体包含: 含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链, 和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0086] 其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0087] 且其中SEQ ID NO:140中115位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代, 如丙氨酸。优选地, 药物缀合至SEQ ID NO.140中14位的半胱氨酸。亮氨酸也可被非亮氨酸的其它氨基酸所取代, 如甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸。

[0088] AbHJ (LALA)

[0089] 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体: (i) 保留未取代的铰链区链间半胱氨酸; (ii) 包含轻链, 每条轻链的位于C_L结构域中的未取代的链间半胱氨酸均被保留; (iii) 包含重链, 每条重链的位于CH₁结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代基; 和 (iv) 包含重链, 每条重链在234位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 和/或235位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 的残基具有氨基酸取代。

[0090] 例如, 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体: (i) 保留未取代的HC226和HC229 (按照Kabat的EUindex编号系统); (ii) 包含轻链, 每条轻链的未取代的链间半胱氨酸

κLC214或λLC213 (按照Kabat的EUindex编号系统) 均被保留; (iii) 包含重链, 每条重链的链间半胱氨酸HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统) 具有氨基酸取代; 和 (iv) 包含重链, 每条重链在234位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 和/或235位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 的残基被任何其它氨基酸取代。优选地, 234和235位的残基两者 (按照Kabat的EUindex编号系统) 被取代。优选地, 药物缀合至未取代的链间半胱氨酸, 所述半胱氨酸位于C^L结构域, 例如, 缀合至κLC214或λLC213 (按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0091] 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体包含: 含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链, 和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0092] 其中SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0093] 且其中SEQ ID NO:110中117位的亮氨酸和/或SEQ ID NO:110中118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代, 如丙氨酸。优选地, 药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。优选地, SEQ ID NO:110中117和118位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代, 如丙氨酸。一个或两个亮氨酸也可被非亮氨酸的其它氨基酸所取代, 如甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸。

[0094] 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体包含: 含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链, 和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0095] 其中SEQ ID NO:130中14位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0096] 且其中SEQ ID NO:130中164位的亮氨酸和/或SEQ ID NO:130中165位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代, 如丙氨酸。优选地, 药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。优选地, SEQ ID NO:130中164和165位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代, 如丙氨酸。一个或两个亮氨酸也可被非亮氨酸的其它氨基酸所取代, 如甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸。

[0097] 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体包含: 含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链, 和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0098] 其中SEQ ID NO:140中14位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0099] 且其中SEQ ID NO:140中115位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代, 如丙氨酸。优选地, 药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。亮氨酸也可被非亮氨酸的其它氨基酸所取代, 如甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸。

[0100] AbBJ (LALA)

[0101] 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体: (i) 每个铰链区链间半胱氨酸均具有氨基酸取代; (ii) 包含轻链, 每条轻链的位于C_L结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代; (iii) 包含重链, 每条重链保留位于CH₁结构域中的未取代的链间半胱氨酸; 和 (iv) 包含重链, 每条重链在234位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 和/或235位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 的残基具有氨基酸取代。

[0102] 例如, 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体: (i) HC226和HC229 (按照Kabat的EUindex编号系统) 中的每个均具有氨基酸取代; (ii) 包含轻链, 每条轻链的链间半胱氨酸残基κLC214或λLC213 (按照Kabat的EUindex编号系统) 具有氨基酸取代; (iii) 包含重链, 每条重链的未取代的链间半胱氨酸HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统) 均被保留; 和 (iv) 包含重链, 每条重链在234位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 和/或235位 (按照

Kabat的EUindex编号系统)的残基被任何其它氨基酸取代。优选地,234和235位的残基两者(按照Kabat的EUindex编号系统)均被取代。优选地,药物缀合至位于CH₁结构域中的未取代的链间半胱氨酸,例如,缀合至HC220(按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0103] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0104] 其中SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0105] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0106] 且其中SEQ ID NO:110中117位的亮氨酸和/或SEQ ID NO:110中118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸。优选地,SEQ ID NO:110中117和118位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。一个或两个亮氨酸也可被非亮氨酸的其它氨基酸所取代,如甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸。

[0107] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0108] 其中SEQ ID NO:130中111、114、120、126、129、135、141、144、150、156和159位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0109] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0110] 且其中SEQ ID NO:130中164位的亮氨酸和/或SEQ ID NO:130中165位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,药物缀合至SEQ ID NO.130中14位的半胱氨酸。优选地,SEQ ID NO:130中164和165位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。一个或两个亮氨酸也可被非亮氨酸的其它氨基酸所取代,如甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸。

[0111] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0112] 其中SEQ ID NO:140中106和109位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0113] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0114] 且其中SEQ ID NO:140中115位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,药物缀合至SEQ ID NO.140中14位的半胱氨酸。亮氨酸也可被非亮氨酸的其它氨基酸所取代,如甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸。

[0115] AbDJ (LALA)

[0116] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i) 每个铰链区链间半胱氨酸均具有氨基酸取代;(ii) 包含轻链,每条轻链的位于C_L结构域中的未取代的链间半胱氨酸均被保留;(iii) 包含重链,每条重链的位于CH₁结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代基;和(iv) 包含重链,每条重链在234位(按照Kabat的EUindex编号系统)和/或235位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基具有氨基酸取代。

[0117] 例如,在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i) HC226和HC229 (按照Kabat的EUindex编号系统)中的每个均具有氨基酸取代;(ii) 包含轻链,每条轻链的未取代的链间半胱氨酸 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统) 均被保留;(iii) 包含重链,每条重链的链间半胱氨酸HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统) 具有氨基酸取代;和(iv) 包含重链,每条重链在234位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 和/或235位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 的残基被任何其它氨基酸取代。优选地,234和235位的残基两者 (按照Kabat的EUindex编号系统) 均被取代。优选地,药物缀合至未取代的链间半胱氨酸,所述半胱氨酸位于 C_L 结构域,例如,缀合至 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0118] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0119] 其中SEQ ID NO:110中103、109和112位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0120] 且其中SEQ ID NO:110中117位的亮氨酸和/或SEQ ID NO:110中118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。优选地,SEQ ID NO:110中117和118位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。一个或两个亮氨酸也可被非亮氨酸的其它氨基酸所取代,如甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸。

[0121] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0122] 其中SEQ ID NO:130中14、111、114、120、126、129、135、141、144、150、156和159位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0123] 且其中SEQ ID NO:130中164位的亮氨酸和/或SEQ ID NO:130中165位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。优选地,SEQ ID NO:130中164和165位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。一个或两个亮氨酸也可被非亮氨酸的其它氨基酸所取代,如甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸。

[0124] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0125] 其中SEQ ID NO:140中14、106和109位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0126] 且其中SEQ ID NO:140中115位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。亮氨酸也可被非亮氨酸的其它氨基酸所取代,如甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸。

[0127] 附图简述

[0128] 图1

[0129] 位点特异性ADC的比较性全身毒性,如实施例7所述。

[0130] 发明详述

[0131] 本发明描述了一种缀合物,其包含抗体和具有不稳定性C2或N10保护基团的吡咯并苯并二氮杂 草 (PBD) 药物,其中该抗体包含非半胱氨酸的氨基酸对链间半胱氨酸残基的

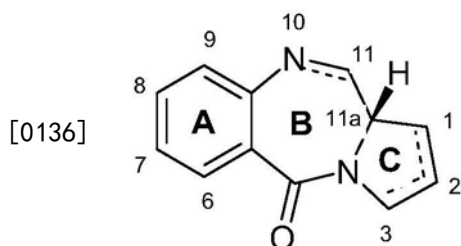
氨基酸取代,且其中药物缀合至链间半胱氨酸残基。

[0132] 本发明还描述了一种缀合物,其包含与其它(即非-PBD)功能性部分缀合的本发明所述的抗体。功能性部分的实例包括药物(PBD或非-PBD)、报告基因、有机部分和/或结合部分。

[0133] 本发明还涉及了一种包含本发明所述的抗体片段的缀合物,以及包含该缀合物的药物组合物。示例性抗体或抗体片段包括scFv-Fc融合蛋白和微抗体。公开了制备该缀合物和使用该缀合物的方法,以及使用该缀合物治疗多种疾病的方法。

[0134] 吡咯并苯并二氮杂~~草~~

[0135] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物包含PBD药物部分。一些吡咯并苯并二氮杂~~草~~(PBD)具有识别和结合DNA的特异性序列的能力;优选的序列是PuGpu。在1965年发现了第一种PBD抗肿瘤抗生素安曲霉素(Leimgruber等人,J. Am. Chem. Soc., 87, 5793-5795 (1965); Leimgruber等人,J. Am. Chem. Soc., 87, 5791-5793 (1965))。从那时起,已经报道了许多天然存在的PBD,并且已经对各种类似物开发了超过10种合成路线(Thurston等人, Chem. Rev. 1994, 433-465 (1994); Antonow, D. 和 Thurston, D. E., Chem. Rev. 2011 111 (4), 2815-2864)。同族成员包括赤霉素(abbeymycin)(Hochlowski等人,J. Antibiotics, 40, 145-148 (1987))、契卡霉素(chicamycin)(Konishi等人,J. Antibiotics, 37, 200-206 (1984))、DC-81 (Japanese Patent 58-180 487; Thurston等人, Chem. Brit., 26, 767-772 (1990); Bose等人, Tetrahedron, 48, 751-758 (1992))、甲基氨基霉素(Kuminoto等人, J. Antibiotics, 33, 665-667 (1980))、新菌霉素(neothramycin) A和B (Takeuchi等人, J. Antibiotics, 29, 93-96 (1976))、普罗菌霉素(porothramycin) (Tsunakawa等人, J. Antibiotics, 41, 1366-1373 (1988))、普拉斯卡素(prothracarcin) (Shimizu等人, J. Antibiotics, 29, 2492-2503 (1982); Langley和Thurston, J. Org. Chem., 52, 91-97 (1987))、西班牙米星(sibanomicin) (DC-102) (Hara等人, J. Antibiotics, 41, 702-704 (1988); Itoh等人, J. Antibiotics, 41, 1281-1284 (1988))、西伯利亚霉素(sibiromycin) (Leber等人, J. Am. Chem. Soc., 110, 2992-2993 (1988))和托马霉素(tomamycin) (Arima等人, J. Antibiotics, 25, 437-444 (1972))。PBD是以下通式结构:



[0137] 它们的区别在于取代基的数量、类型和位置,在于它们的芳香族A环和吡咯C环两者,以及在于C环的饱和度。在B环中,在N10-C11位置(其是负责使DNA烷基化的亲电中心)处存在亚胺(N=C)、甲醇胺(NH-CH(OH))或甲醇胺甲醚(NH-CH(OMe))。所有已知的天然产物都在手性C11a位置处具有(S)-构型,当从C环向A环观察时,该构型为它们提供右旋扭转。这使其具有与B型DNA的小沟的等螺旋性(isohelicity)适当的三维形状,从而在结合位点处紧密贴合(Kohn, In Antibiotics III. Springer-Verlag, New York, pp. 3-11 (1975); Hurley和Needham-VanDevanter, Acc. Chem. Res., 19, 230-237 (1986))。它们在小沟中形成加合物

的能力使其能够干扰DNA的加工,因此它们可用作抗肿瘤剂。

[0138] 一种吡咯并苯并二氮杂草在Gregson等人 (Chem. Commun. 1999, 797-798) 中被描述为化合物1,并在Gregson等人 (J. Med. Chem. 2001, 44, 1161-1174) 中被描述为化合物4a。该化合物,也被称为SG2000,如下所示:



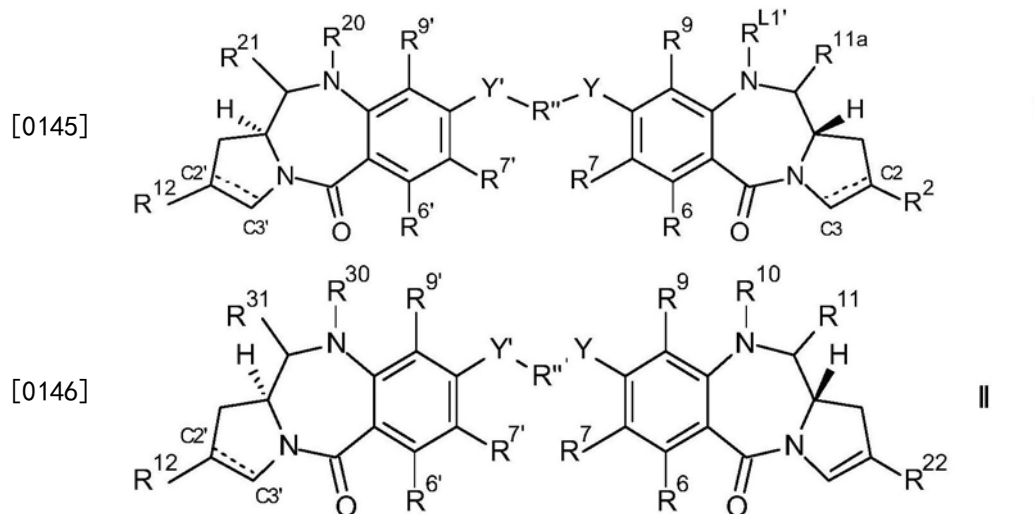
[0140] WO 2007/085930描述了具有连接到细胞结合剂(如抗体)的接头基团的二聚体PBD化合物的制备。接头存在于连接二聚体的单体PBD单元的桥接物中。

[0141] WO 2011/130613和WO 2011/130616描述了具有连接到细胞结合剂(如抗体)的接头的二聚体PBD化合物。这些化合物中的接头通过C2位连接到PBD核,并且通常通过接头基团上的酶的作用被切割。在WO 2011/130598中,这些化合物中的接头被连接到PBD核上可用的N10位中的一处,并且通常通过接头基团上的酶的作用被切割。

[0142] 包含PBD药物的缀合物

[0143] 发明人发现,其中药物单元(D^L)缀合至特定链间半胱氨酸残基的缀合物具有意料不到的和有利的性质,包括增加的功效和稳定性、改善的制造容易程度和降低的全身毒性。

[0144] 因此,本发明提供了式L-(DL)_p的缀合物,其中DL为式I或II:



[0147] 其中:

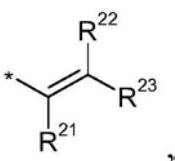
[0148] L为抗体(Ab);


[0149] 当C2'与C3'之间存在双键时,R¹²选自:

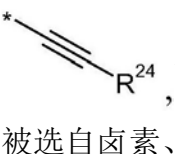
[0150] (ia) C₅₋₁₀芳基,任选被一个或多个选自以下的取代基所取代:卤素、硝基、氰基、醚、羧基、酯、C₁₋₇烷基、C₃₋₇杂环基和双-氧基-C₁₋₃亚烷基;

[0151] (ib) C₁₋₅饱和脂族烷基;

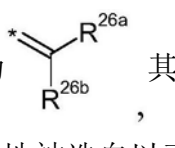
[0152] (ic) C₃₋₆饱和环烷基;

[0153] (id)  其中 R^{21} 、 R^{22} 和 R^{23} 各自独立地选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基和环丙基,其中 R^{12} 基团中碳原子的总数不超过5;

[0154] (ie)  其中 R^{25a} 和 R^{25b} 之一为H且另一者选自:苯基,该苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;和噻吩基;和

[0155] (if)  其中 R^{24} 选自:H; C_{1-3} 饱和烷基; C_{2-3} 烯基; C_{2-3} 炔基; 环丙基; 苯基,该苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;和噻吩基;

[0156] 当 $C2'$ 和 $C3'$ 之间存在单键时,

[0157] R^{12} 为  其中 R^{26a} 和 R^{26b} 各自独立地选自H、F、 C_{1-4} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基,其中烷基和烯基任选地被选自以下的基团取代: C_{1-4} 烷基酰胺和 C_{1-4} 烷基酯;或者,当 R^{26a} 和 R^{26b} 之一为H时,另一者选自腈和 C_{1-4} 烷基酯;

[0158] R^6 和 R^9 各自独立地选自H、R、OH、OR、SH、SR、 NH_2 、NHR、NRR'、硝基、 Me_3Sn 和卤素;

[0159] 其中R和R'各自独立地选自任选取代的 C_{1-12} 烷基、 C_{3-20} 杂环基和 C_{5-20} 芳基;

[0160] R^7 选自H、R、OH、OR、SH、SR、 NH_2 、NHR、NHR'、硝基、 Me_3Sn 和卤素;

[0161] R'' 为 C_{3-12} 亚烷基,其中链中可含有一个或多个杂原子如O、S、 NR^{N2} (其中 R^{N2} 为H或 C_{1-4} 烷基),和/或芳香环,如苯或吡啶;

[0162] Y和Y'选自O、S或NH;

[0163] R^6 、 R^7 、 R^9 选自分别与 R^6 、 R^7 和 R^9 相同的基团;

[0164] [式I]

[0165] $R^{L1'}$ 是用于连接至抗体(Ab)的接头;

[0166] R^{11a} 选自OH、 OR^A (其中 R^A 为 C_{1-4} 烷基)和 SO_zM ,其中z为2或3且M为单价的药学上可接受的阳离子;

[0167] R^{20} 和 R^{21} 或者一起形成与它们连接的氮和碳原子之间的双键;或者

[0168] R^{20} 选自H和 R^C ,其中 R^C 为封端基团;

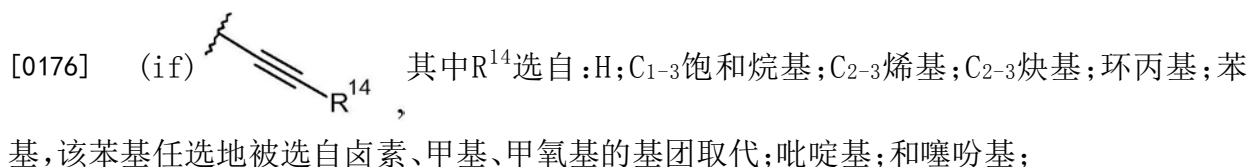
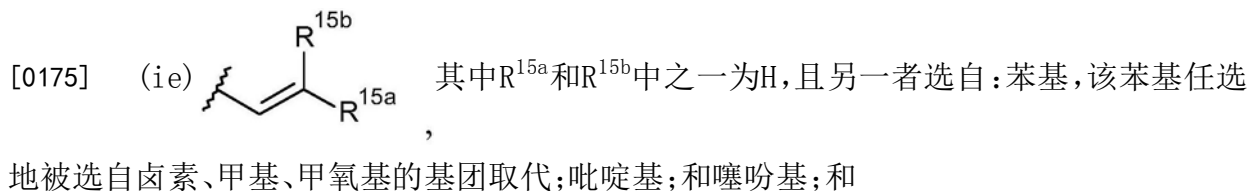
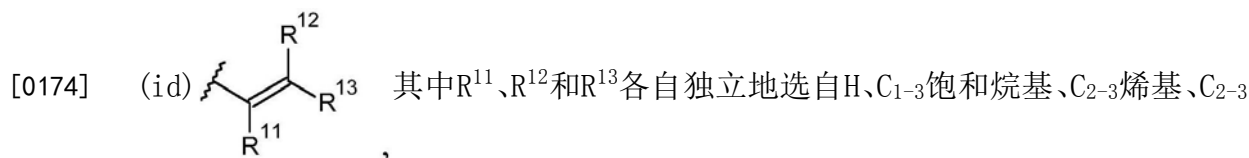
[0169] R^{21} 选自OH、 OR^A 和 SO_zM ;

[0170] 当 $C2$ 和 $C3$ 之间存在双键时, R^2 选自:

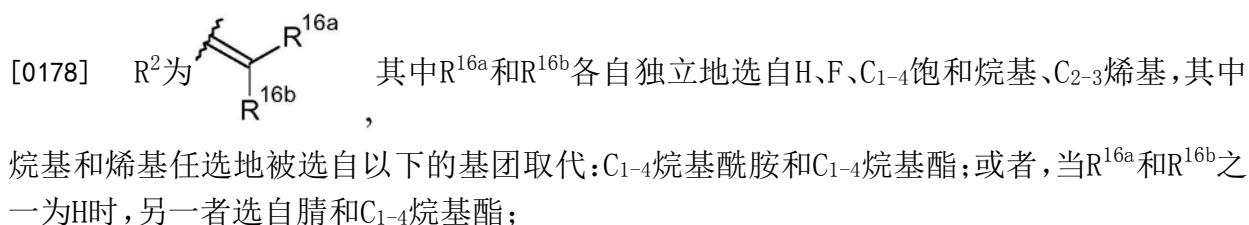
[0171] (ia) C_{5-10} 芳基,任选被一个或多个选自以下的取代基所取代:卤素、硝基、氰基、醚、羧基、酯、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-7} 杂环基和双-氧基- C_{1-3} 亚烷基;

[0172] (ib) C_{1-5} 饱和脂族烷基;

[0173] (ic) C_{3-6} 饱和环烷基;

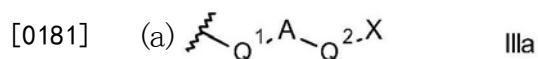


[0177] 当在C2和C3之间存在单键时,



[0179] [式II]

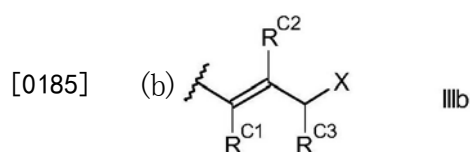
[0180] R^{22} 为式IIIa、式IIIb或式IIIc:



[0182] 其中A为 C_{5-7} 芳基,并且

[0183] (i) Q^1 为单键,且 Q^2 选自单键和 $-Z-(CH_2)_n-$,其中Z选自单键、O、S和NH且n为1至3;或者

[0184] (ii) Q^1 为 $-\text{CH}=\text{CH}-$,且 Q^2 为单键;



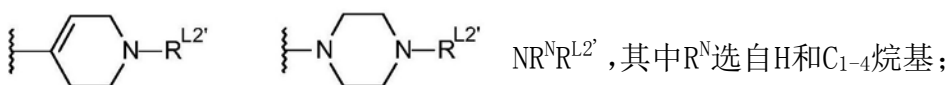
[0186] 其中:

[0187] R^C 、 R^{C2} 和 R^{C3} 各自独立地选自H和未取代的 C_{1-2} 烷基;



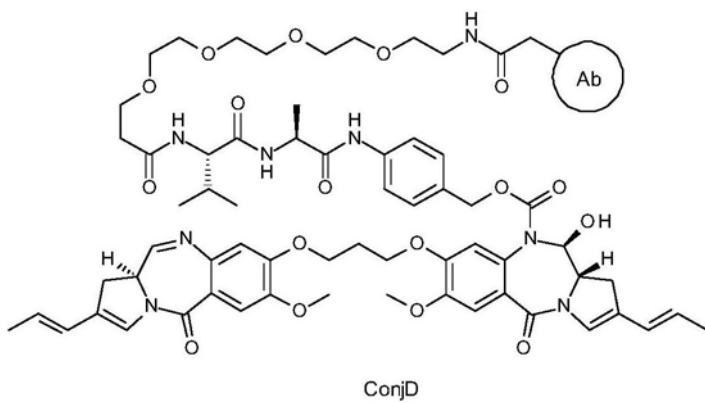
[0189] 其中Q选自 $O-R^{L2'}$ 、 $S-R^{L2'}$ 和 $NR^N-R^{L2'}$,且 R^N 选自H、甲基和乙基;

[0190] X选自: $O-R^{L2'}$ 、 $S-R^{L2'}$ 、 $\text{CO}_2-R^{L2'}$ 、 $\text{CO}-R^{L2'}$ 、 $\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-R^{L2'}$ 、 $\text{NHNH}-R^{L2'}$ 、 $\text{CONHNH}-R^{L2'}$ 、



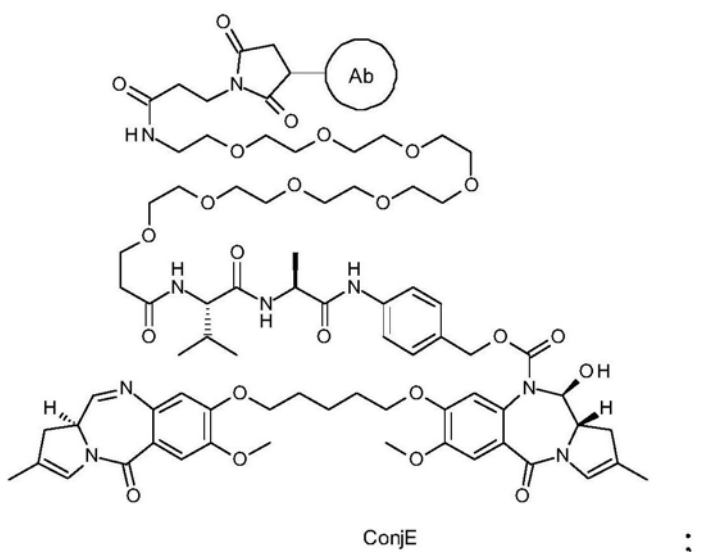
[0191] $R^{L2'}$ 为用于连接至抗体(Ab)的接头;

[0208]



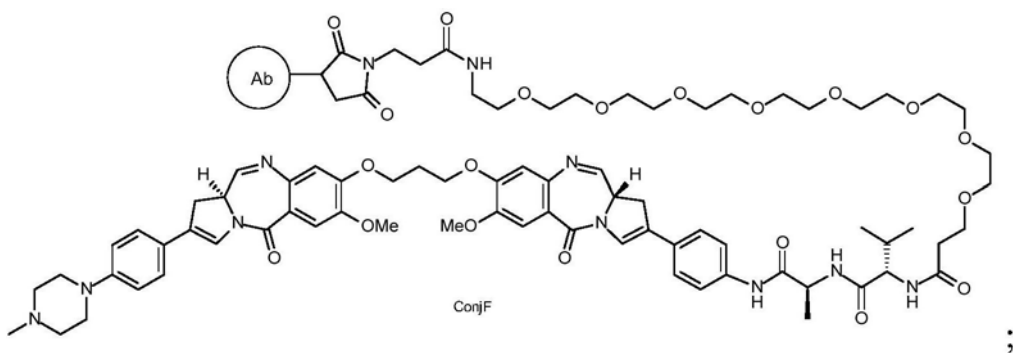
[0209] ConjE:

[0210]



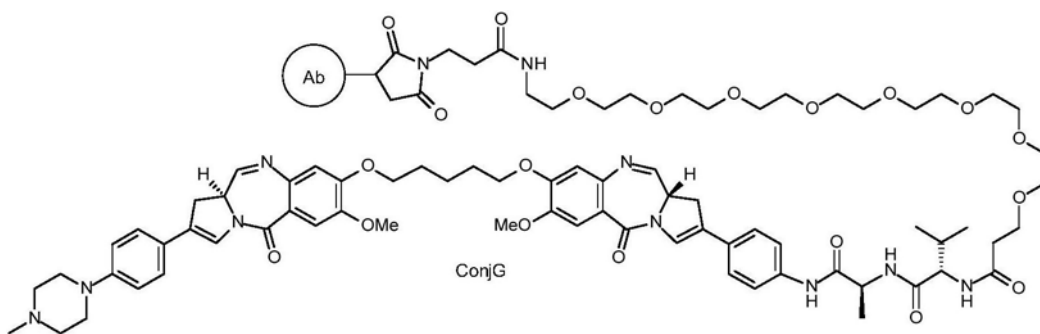
[0211] ConjF:

[0212]

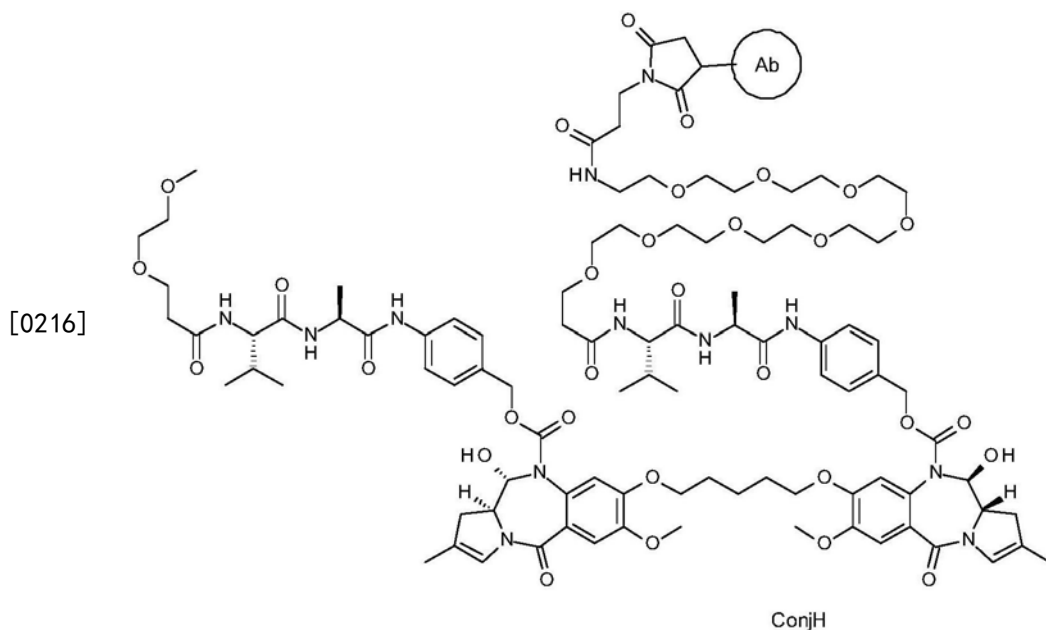


[0213] ConjG:

[0214]



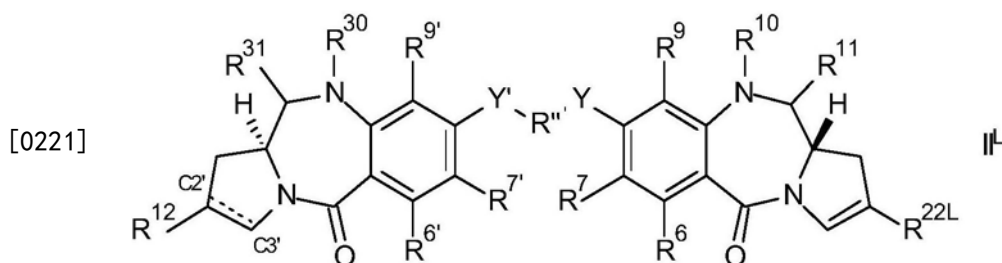
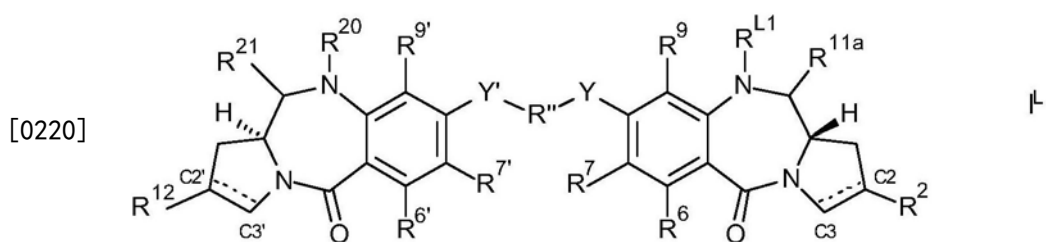
[0215] ConjH:



[0217] 与所示部分的连接是通过细胞结合剂上的链间半胱氨酸残基的游离S(活性硫醇)形成的。

[0218] 式I中的下标p为1至20的整数。因此,该缀合物包含本发明所限定的抗体(Ab),该抗体通过接头单元共价连接至至少一个药物单元。下文更充分描述的配体单元是靶向剂,其结合靶标部分。因此,本发明还描述了治疗各种癌症和自身免疫疾病的方法。药物负载由p表示,即每个抗体的药物分子数目。药物负载量可以为每抗体1至20个药物单元(D^L)。对于组合物,p表示组合物中缀合物的平均药物负载量,p的范围为1至20。

[0219] 本发明的第二方面提供了制备根据本发明第一方面的缀合物的方法,包括将式I^L或II^L的化合物缀合至以下所限定的抗体(Ab):

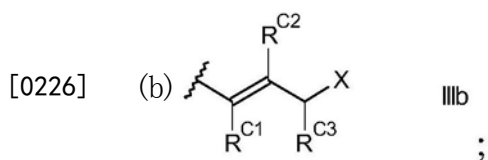


[0222] 其中:

[0223] R^{L1}为适合缀合至抗体(Ab)的接头;

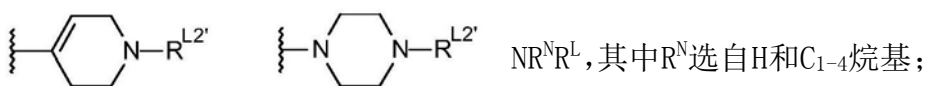
[0224] R^{22L}为式IIIa^L、式IIIb^L或式IIIc^L:

[0225] (a) IIIa;



[0228] 其中 Q^L 选自 $O-R^{L2}$ 、 $S-R^{L2}$ 和 NR^N-R^{L2} ,且 R^N 选自H、甲基和乙基;

[0229] X^L 选自: $O-R^{L2}$ 、 $S-R^{L2}$ 、 CO_2-R^{L2} 、 $CO-R^{L2}$ 、 $N=C=O-R^{L2}$ 、 $NHNH-R^{L2}$ 、 $CONHNH-R^{L2}$ 、

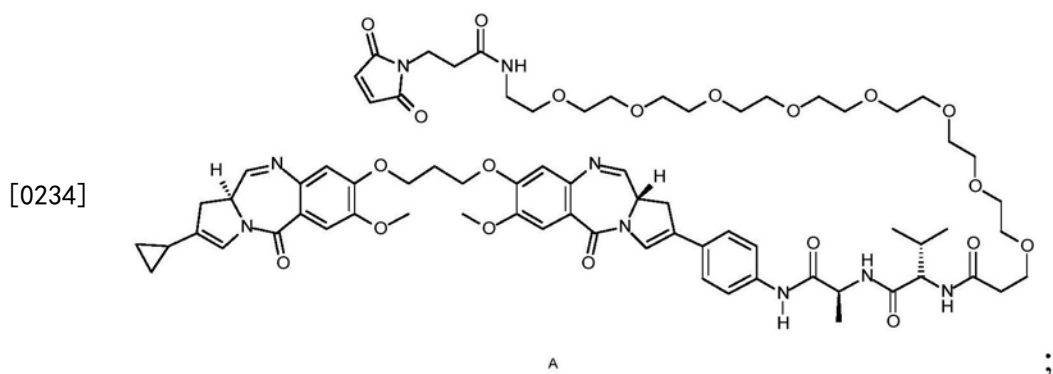


[0230] R^{L2} 为适合缀合至抗体 (Ab) 的接头;

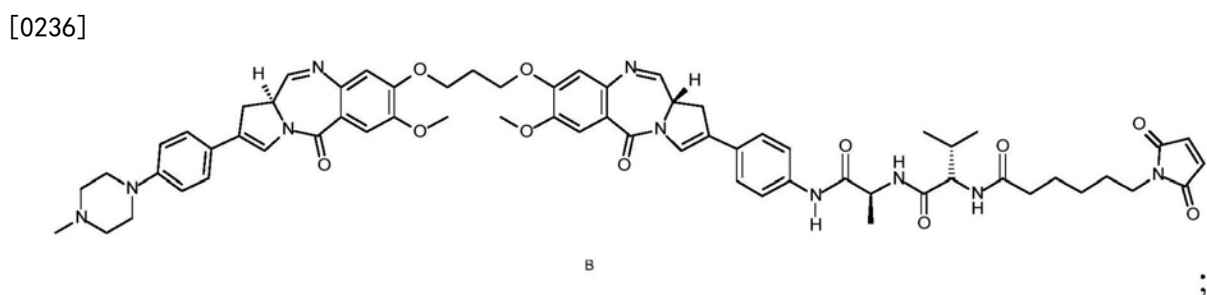
[0231] 并且所有剩余基团如第一方面所限定。

[0232] 因此,在第二方面优选的是,本发明提供了制备选自ConjA、ConjB、ConjC、ConjD、ConjE、ConjF、ConjG和ConjH的缀合物的方法,包括将分别选自以下的化合物与以下限定的抗体缀合:

[0233] A:



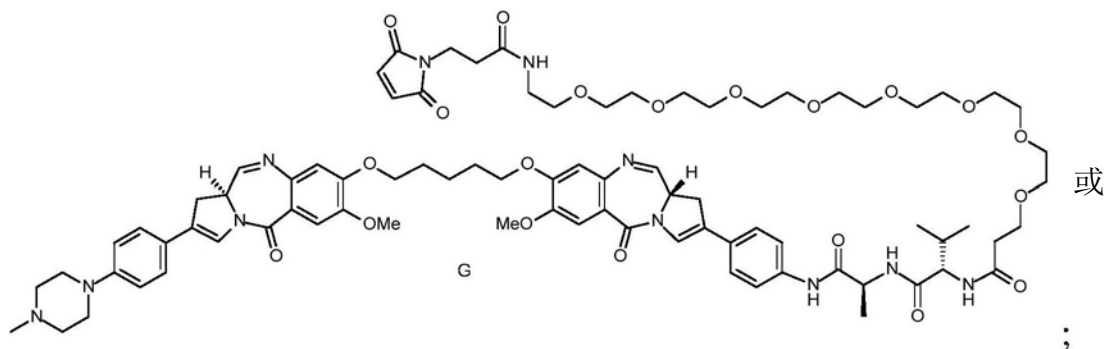
[0235] B:



[0237] C:

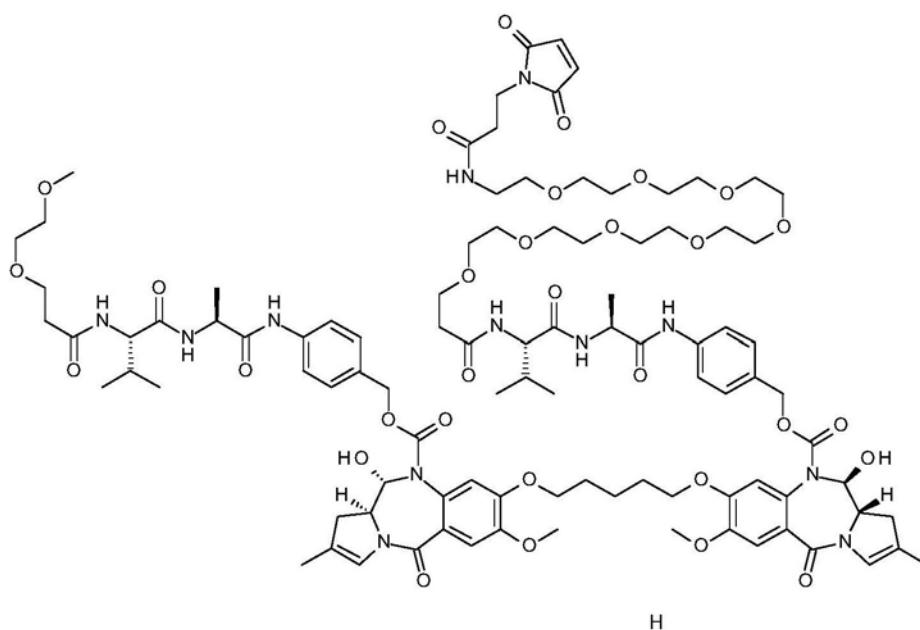
[0245] G:

[0246]



[0247] H:

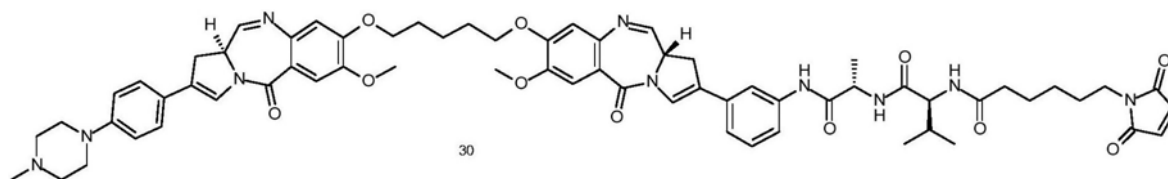
[0248]



[0249] WO 2014/057073和WO 2014/057074公开了化合物A至E。

[0250] WO 2011/130613公开了化合物51:

[0251]



[0252] WO 2013/041606公开了化合物F (参见WO 2013/041606中的化合物13e)。化合物F与化合物30的区别在于,其在PBD部分之间仅具有(CH₂)₃链,而非(CH₂)₅链,这降低了所释放的PBD二聚体的亲脂性。化合物F和G中的连接基团在对位而非间位与C2-苯基相连。

[0253] 化合物H在第二个亚胺基上具有可切割的保护基团,这防止在其合成过程中的交叉反应,并且在最终产物中防止形成甲醇胺和甲醇胺甲醚。这种保护也防止了在分子中存在活性亚胺基团。

[0254] 化合物A、B、C、D、E、F、G和H在每个C环中具有两个sp²中心,这可以允许比在每个C环中仅具有一个sp²中心的化合物在DNA小沟中有更强结合。

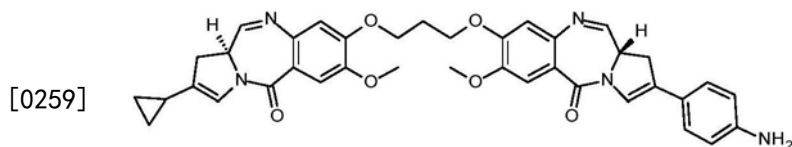
[0255] 可以将WO 2010/043880、WO 2011/130613、WO 2011/130598、WO 2013/041606和WO

2011/130616中公开的药物接头用在本发明中,并且通过引用结合于此。可以根据这些公开中所描述的内容合成本发明描述的药物接头。

[0256] PBD化合物的递送

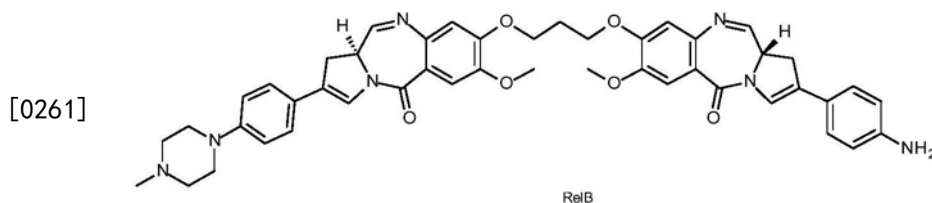
[0257] 本发明适用于在将PBD化合物提供至受试者中优选的位点。缀合物可允许释放活性PBD化合物而不保留接头的任何部分。在这种情况下,不存在可以影响PBD化合物的反应活性的残留(stub)。

[0258] ConjA将释放化合物RelA:



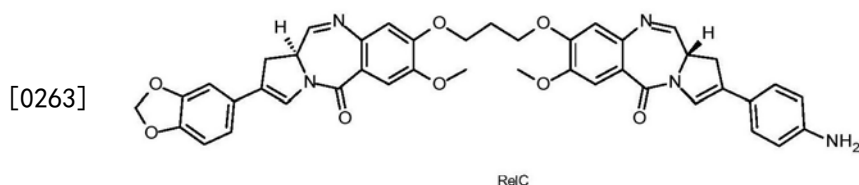
RelA

[0260] ConjB和ConjF将释放化合物RelB:



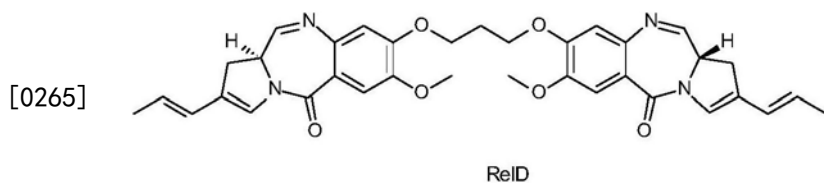
RelB

[0262] ConjC将释放化合物RelC:



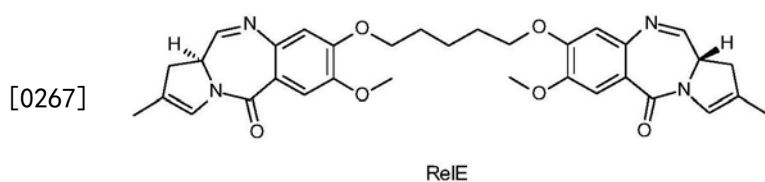
RelC

[0264] ConjD将释放化合物RelD:



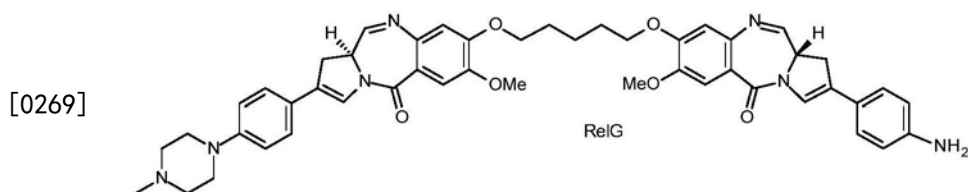
RelD

[0266] ConjE和ConjH将释放化合物RelE:



RelE

[0268] 以及,ConjG将释放化合物RelG:



RelG

[0270] 本发明中的PBD二聚体和抗体之间的特定接头优选地是细胞外稳定的。在输送或递送进入细胞之前,抗体-药物缀合物(ADC)优选地是稳定的并且保持完整,即,抗体保持与

药物相连。接头在靶细胞外是稳定的,并且在细胞内可以以有效速率被切割。有效的接头将:(i)保持抗体的特异性结合性质;(ii)允许缀合物或药物的特异性细胞内递送;(iii)保持稳定和完整,即,直到缀合物被递送或输送至它的靶向位点才被切割;以及(iv)保持PBD药物的细胞毒性作用、细胞杀伤作用或细胞抑制作用。可以通过标准分析技术如体外细胞毒性、质谱、HPLC和分离/分析技术LC/MS测量ADC的稳定性。

[0271] 通过酶(如组织蛋白酶)作用在连接基团上、并且特别是作用在缬氨酸-丙氨酸二肽部分上,在式ConjA、ConjB、ConjC、ConjD、ConjE、ConjF、ConjG或ConjH的缀合物的期望激活位点处实现了式RelA、RelB、RelC、RelD、RelE或RelG的化合物的递送。

[0272] 抗体:链间半胱氨酸残基的取代

[0273] 在第一方面,本发明所述缀合物的抗体包含非半胱氨酸的氨基酸对链间半胱氨酸残基的氨基酸取代。

[0274] 链间半胱氨酸残基

[0275] 天然存在的抗体通常包含两个较大的重链和两个较小的轻链。在天然全长抗体的情况下,这些链连接在一起形成“Y”型蛋白质。重链和轻链包括半胱氨酸氨基酸,其可以通过二硫键彼此连接。重链通过每个链中的半胱氨酸氨基酸之间的二硫键在抗体中彼此连接。轻链也通过链中的半胱氨酸氨基酸之间的二硫键连接至重链上。这种二硫键连接通常在游离半胱氨酸氨基酸的硫醇侧链部分之间形成。在天然存在的抗体中通常参与这些链间二硫键连接的半胱氨酸氨基酸在本发明中被描述为“链间半胱氨酸残基”或“链间半胱氨酸”。例如,每个IgG1同型物重链中的三个特定半胱氨酸氨基酸(“HC”-220、226和229(按照Kabat的EUindex编号系统))和每个轻链中的一个特定半胱氨酸(“LC”-214或213)是“链间半胱氨酸”,因为它们通常参与抗体链之间的二硫键。

[0276] 链间半胱氨酸残基位于轻链的CL结构域中、重链的CH₁结构域中和铰链区中。抗体中链间半胱氨酸残基的数目取决于抗体同型物。

[0277] 取代的性质

[0278] 如上所述,本发明所述缀合物的抗体包含非半胱氨酸的氨基酸对链间半胱氨酸残基的氨基酸取代。取代链间半胱氨酸的氨基酸通常不包含硫醇部分,并且通常是缬氨酸、丝氨酸、苏氨酸、丙氨酸、甘氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、其它天然存在的氨基酸,或非天然存在的氨基酸。在一些优选的实施方案中,所述氨基酸取代为缬氨酸取代链间半胱氨酸残基。

[0279] 在一些实施方案中,一个或多个或者所有的链间半胱氨酸被“取代”为无氨基酸;即一个或多个或者所有的链间半胱氨酸被删除并且不被其它氨基酸所代替。因此,在一些实施方案中,短语“...包含SEQ ID NO.XXX氨基酸序列的轻链,其中SEQ ID NO:XXX中YYY位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代”与“...包含SEQ ID NO.XXX氨基酸序列的轻链,其中SEQ ID NO:XXX中YYY位的半胱氨酸被删除”具有相同的含义。

[0280] 例如,本发明公开的SEQ ID NO.153为“包含SEQ ID NO.150氨基酸序列的轻链,其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代”的一个实例,其中半胱氨酸被取代为无氨基酸,即被删除。

[0281] 在包含以下的实施方案中:“包含SEQ ID NO.160氨基酸序列的轻链,其中SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被删除”,103位的丝氨酸也优选被删除。参见例如,SEQ ID NO:163。

[0282] 即使没有明确说明,本发明中对于氨基酸所使用的术语“取代的”和“取代”用于表示用不同(即不相同)的氨基酸残基替换氨基酸残基(或没有氨基酸残基-即删除-如上所述)。因此,所谓的用相同的残基“替代”氨基酸残基(例如,用半胱氨酸残基取代半胱氨酸残基)不被认为是“取代的”或“取代”。

[0283] 如本发明所用,“由非亮氨酸的氨基酸取代亮氨酸”是指用任何非亮氨酸的氨基酸替换指定的氨基酸。其可为-例如,-Asp、Glu、Lys、Arg、His、Asn、Gln、Ser、Thr、Tyr、Cys、Gly、Ala、Val、Ile、Phe、Trp、Pro,或Met,但优选Gly、Ala、Val或Ile,且最优选Ala。

[0284] 该“取代的性质”部分中的陈述适用于本发明所述的所有三个方面。

[0285] 保留未取代的链间半胱氨酸

[0286] 本发明所述缀合物的抗体保留至少一个未取代的链间半胱氨酸残基,以使药物与抗体缀合。抗体中保留的链间半胱氨酸残基的数目大于0,但小于亲本(天然)抗体中链间半胱氨酸残基的总数。因此,在一些实施方案中,该抗体具有至少一个、至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个或至少七个链间半胱氨酸残基。在典型的实施方案中,抗体具有偶数个链间半胱氨酸残基(例如至少两个、四个、六个或八个)。在一些实施方案中,抗体具有少于八个链间半胱氨酸残基。

[0287] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体保留未取代的铰链区链间半胱氨酸。例如,在一些实施方案中,该抗体保留未取代的HC226和HC229(按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0288] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体的每个铰链区链间半胱氨酸均具有氨基酸取代。例如,在一些实施方案中,该抗体的HC226和HC229(按照Kabat的EUindex编号系统)均具有氨基酸取代。

[0289] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体保留至少一个未取代的铰链区链间半胱氨酸,例如,在一些实施方案中,该抗体保留未取代的HC226(按照Kabat的EUindex编号系统)。在一些实施方案中,该抗体保留未取代的HC229(按照Kabat的EUindex编号系统)。在一些实施方案中,每条重链刚好保留一个(即不超过一个)未取代的铰链区链间半胱氨酸。

[0290] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体对于所有铰链区链间半胱氨酸均具有缬氨酸的氨基酸取代。例如,在一些实施方案中,抗体在HC226和HC229(按照Kabat的EUindex编号系统)处均具有缬氨酸的氨基酸取代。

[0291] 使用Kabat的EUindex编号系统所限定的实施方案

[0292] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:(i)轻链,其位于C_L结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代;和(ii)重链,其保留位于CH₁结构域中的未取代的链间半胱氨酸。例如,在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:(i)轻链,其链间半胱氨酸残基κLC214或λLC213(按照Kabat的EUindex编号系统)具有氨基酸取代;和(ii)重链,其保留未取代的链间半胱氨酸HC220(按照Kabat的EUindex编号系统)。优选地,药物缀合至位于CH₁结构域中的未取代的链间半胱氨酸,例如,缀合至HC220(按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0293] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:(i)轻链,每条轻链的位于C_L结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代;和(ii)重链,每条重链的位于CH₁结构域中的未取代的链间半胱氨酸均被保留。例如,在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包

含：(i) 轻链，每条轻链链间半胱氨酸残基 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统) 具有氨基酸取代；和(ii) 重链，每条重链保留未取代的链间半胱氨酸HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统)。优选地，药物缀合至位于CH₁结构域中的未取代的链间半胱氨酸，例如，缀合至HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0294] 在一些实施方案中，本发明所述缀合物的抗体包含：(i) 轻链，其保留位于C^L结构域的未取代的链间半胱氨酸；和(ii) 重链，其位于CH₁结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代。例如，在一些实施方案中，本发明所述缀合物的抗体包含：(i) 轻链，其保留未取代的链间半胱氨酸 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统)；和(ii) 重链，其链间半胱氨酸残基HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统) 具有氨基酸取代。在一些实施方案中，药物缀合至位于C_L结构域中的未取代的链间半胱氨酸，例如，缀合至 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0295] 在一些实施方案中，本发明所述缀合物的抗体包含：(i) 轻链，每条轻链的位于C_L结构域中的未取代的链间半胱氨酸均被保留；和(ii) 重链，每条重链位于CH₁结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代。例如，在一些实施方案中，本发明所述缀合物的抗体包含：(i) 轻链，每条轻链保留未取代的链间半胱氨酸 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统)；和(ii) 重链，每条重链的链间半胱氨酸残基HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统) 具有氨基酸取代。在一些实施方案中，药物缀合至未取代的链间半胱氨酸，所述半胱氨酸位于C_L结构域，例如，缀合至 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0296] AbLJ

[0297] 在一些实施方案中，本发明所述缀合物的抗体：(i) 保留未取代的铰链区链间半胱氨酸；(ii) 包含轻链，其位于C_L结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代；和(iii) 包含重链，其保留了位于CH₁结构域中的未取代的链间半胱氨酸。例如，在一些实施方案中，本发明所述缀合物的抗体：(i) 保留未取代的HC226和HC229 (按照Kabat的EUindex编号系统)；(ii) 包含轻链，其链间半胱氨酸残基 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统) 具有氨基酸取代；和(iii) 包含重链，其保留了未取代的链间半胱氨酸HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统)。优选地，药物缀合至位于CH₁结构域中的未取代的链间半胱氨酸，例如，缀合至HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0298] 在一些实施方案中，本发明所述缀合物的抗体：(i) 保留未取代的铰链区链间半胱氨酸；(ii) 包含轻链，每条轻链的位于C^L结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代；和(iii) 包含重链，每条重链保留位于CH₁结构域中的未取代的链间半胱氨酸。例如，在一些实施方案中，本发明所述缀合物的抗体：(i) 保留未取代的HC226和HC229 (按照Kabat的EUindex编号系统)；(ii) 包含轻链，每条轻链的链间半胱氨酸残基 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统) 具有氨基酸取代；和(iii) 包含重链，每条重链的未取代的链间半胱氨酸HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统) 均被保留。优选地，药物缀合至位于CH₁结构域中的未取代的链间半胱氨酸，例如，缀合至HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0299] AbHJ

[0300] 在一些实施方案中，本发明所述缀合物的抗体：(i) 保留未取代的铰链区链间半胱氨酸；(ii) 包含轻链，其保留位于C_L结构域中的未取代的链间半胱氨酸；和(iii) 包含重链，其位于CH₁结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代。例如，在一些实施方案中，本发

明所述缀合物的抗体：(i) 保留未取代的HC226和HC229 (按照Kabat的EUindex编号系统)；(ii) 包含轻链，其保留了未取代的链间半胱氨酸 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统)；和(iii) 包含重链，其链间半胱氨酸HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统) 具有氨基酸取代。优选地，药物缀合至位于 C_L 结构域中的未取代的链间半胱氨酸，例如，缀合至 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0301] 在一些实施方案中，本发明所述缀合物的抗体：(i) 保留未取代的铰链区链间半胱氨酸；(ii) 轻链，每条轻链的位于 C_L 结构域中的未取代的链间半胱氨酸均被保留；和(iii) 包含重链，每条重链的位于 CH_1 结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代基。例如，在一些实施方案中，本发明所述缀合物的抗体：(i) 保留未取代的HC226和HC229 (按照Kabat的EUindex编号系统)；(ii) 包含轻链，每条轻链的未取代的链间半胱氨酸 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统) 均被保留；和(iii) 包含重链，每条重链的链间半胱氨酸HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统) 具有氨基酸取代。优选地，药物缀合至位于 C_L 结构域中的未取代的链间半胱氨酸，例如，缀合至 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0302] AbBJ

[0303] 在一些实施方案中，本发明所述缀合物的抗体：(i) 每个铰链区链间半胱氨酸均具有氨基酸取代；(ii) 包含轻链，其位于 C_L 结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代；和(iii) 包含重链，其保留了位于 CH_1 结构域中的未取代的链间半胱氨酸。例如，在一些实施方案中，本发明所述缀合物的抗体：(i) HC226和HC229 (按照Kabat的EUindex编号系统) 中的每个均具有氨基酸取代；(ii) 包含轻链，其链间半胱氨酸残基 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统) 具有氨基酸取代；和(iii) 包含重链，其保留了未取代的链间半胱氨酸HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统)。优选地，药物缀合至位于 CH_1 结构域中的未取代的链间半胱氨酸，例如，缀合至HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0304] 在一些实施方案中，本发明所述缀合物的抗体：(i) 每个铰链区链间半胱氨酸均具有氨基酸取代；(ii) 包含轻链，每条轻链的位于 C_L 结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代；和(iii) 包含重链，每条重链保留位于 CH_1 结构域中的未取代的链间半胱氨酸。例如，在一些实施方案中，本发明所述缀合物的抗体：(i) HC226和HC229 (按照Kabat的EUindex编号系统) 中的每个均具有氨基酸取代；(ii) 包含轻链，每条轻链的链间半胱氨酸残基 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统) 均具有氨基酸取代；和(iii) 包含重链，每条重链的未取代的链间半胱氨酸HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统) 均被保留。优选地，药物缀合至位于 CH_1 结构域中的未取代的链间半胱氨酸，例如，缀合至HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0305] 在一些实施方案中，本发明所述缀合物的抗体：(i) 具有其中每个铰链区链间半胱氨酸均被缬氨酸取代的氨基酸取代；(ii) 包含轻链，其位于 C_L 结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代；和(iii) 包含重链，其保留了位于 CH_1 结构域中的未取代的链间半胱氨酸。例如，在一些实施方案中，本发明所述缀合物的抗体：(i) 具有其中HC226和HC229 (按照Kabat的EUindex编号系统) 均被缬氨酸取代的氨基酸取代；(ii) 包含轻链，其链间半胱氨酸残基 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统) 具有氨基酸取代；和(iii) 包含重链，其保留了未取代的链间半胱氨酸HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统)。优选地，药物缀合至位于 CH_1 结构域中的未取代的链间半胱氨酸，例如，缀合至HC220 (按照Kabat的EUindex编

号系统)。

[0306] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i)具有其中每个铰链区链间半胱氨酸均被缬氨酸取代的氨基酸取代;(ii)包含轻链,每条轻链的位于 C_L 结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代;和(iii)包含重链,每条重链保留位于 CH_1 结构域中的未取代的链间半胱氨酸。例如,在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i)具有其中HC226和HC229(按照Kabat的EUindex编号系统)均被缬氨酸取代的氨基酸取代;(ii)包含轻链,其中每条轻链的链间半胱氨酸残基 κ LC214或 λ LC213(按照Kabat的EUindex编号系统)具有氨基酸取代;和(iii)包含重链,每条重链保留了未取代的链间半胱氨酸HC220(按照Kabat的EUindex编号系统)。优选地,药物缀合至位于 CH_1 结构域中的未取代的链间半胱氨酸,例如,至HC220(按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0307] AbDJ

[0308] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i)具有其中每个铰链区链间半胱氨酸均被缬氨酸取代的氨基酸取代;(ii)包含轻链,其保留了位于 C_L 结构域中的未取代的链间半胱氨酸;和(iii)包含重链,其位于 CH_1 结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代。例如,在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i)HC226和HC229(按照Kabat的EUindex编号系统)中的每个均具有氨基酸取代;(ii)包含轻链,其保留了未取代的链间半胱氨酸 κ LC214或 λ LC213(按照Kabat的EUindex编号系统);和(iii)包含重链,其链间半胱氨酸HC220(按照Kabat的EUindex编号系统)具有氨基酸取代。优选地,药物缀合至位于 C_L 结构域中的未取代的链间半胱氨酸,例如,缀合至 κ LC214或 λ LC213(按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0309] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i)每个铰链区链间半胱氨酸均具有氨基酸取代;(ii)轻链,每条轻链的位于 C_L 结构域中的未取代的链间半胱氨酸均被保留;和(iii)包含重链,每条重链的位于 CH_1 结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代。例如,在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i)HC226和HC229(按照Kabat的EUindex编号系统)中的每个均具有氨基酸取代;(ii)包含轻链,每条轻链的未取代的链间半胱氨酸 κ LC214或 λ LC213(按照Kabat的EUindex编号系统)均被保留;和(iii)包含重链,每条重链的链间半胱氨酸HC220(按照Kabat的EUindex编号系统)具有氨基酸取代。优选地,药物缀合至位于 C_L 结构域中的未取代的链间半胱氨酸,例如,缀合至 κ LC214或 λ LC213(按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0310] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i)每个铰链区链间半胱氨酸均具有氨基酸取代;(ii)包含轻链,其保留了位于 C_L 结构域中的未取代的链间半胱氨酸;和(iii)包含重链,其位于 CH_1 结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代。例如,在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i)具有其中HC226和HC229(按照Kabat的EUindex编号系统)均被缬氨酸取代的氨基酸取代;(ii)包含轻链,其保留了未取代的链间半胱氨酸 κ LC214或 λ LC213(按照Kabat的EUindex编号系统);和(iii)包含重链,其链间半胱氨酸HC220(按照Kabat的EUindex编号系统)具有氨基酸取代。优选地,药物缀合至位于 C_L 结构域中的未取代的链间半胱氨酸,例如,缀合至 κ LC214或 λ LC213(按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0311] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i)具有其中每个铰链区链间半胱氨酸均被缬氨酸取代的氨基酸取代;(ii)轻链,每条轻链的位于 C_L 结构域中的未取代的链

间半胱氨酸均被保留;和(iii)包含重链,每条重链的位于CH₁结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代。例如,在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i)具有其中HC226和HC229(按照Kabat的EUindex编号系统)均被缬氨酸取代的氨基酸取代;(ii)包含轻链,每条轻链的未取代的链间半胱氨酸κLC214或λLC213(按照Kabat的EUindex编号系统)均被保留;和(iii)包含重链,每条重链的链间半胱氨酸HC220(按照Kabat的EUindex编号系统)具有氨基酸取代。优选地,药物缀合至位于C_L结构域中的未取代的链间半胱氨酸,例如,缀合至κLC214或λLC213(按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0312] Kabat系统与公开的序列之间的对应关系

[0313] 下表1示出了按照Kabat的EUindex编号系统并参照本发明公开的序列,特定的抗体同型物的重链恒定区和轻链恒定区中链间半胱氨酸的位置。存在于抗体或抗体片段中的每个链间半胱氨酸的位置都可被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[0314]

抗体同型物	Kabat EU/SEQ ID NO	半胱氨酸的位置					
HC	Kabat EU 位置	131	220	n/a	n/a	226	229
IgG1	SEQ ID NO: 110 中的对应位置	n/a	103	n/a	n/a	109	112
IgG2	SEQ ID NO: 120 中的对应位置	14	103	n/a	n/a	106	109
IgG3	SEQ ID NO: 130 中的对应位置	14	n/a	n/a	n/a	111	114
IgG4	SEQ ID NO: 140 中的对应位置	14	n/a	n/a	n/a	106	109
LC							
κ	Kabat EU 位置	214					
	SEQ ID NO: 150 中的对应位置	105					
λ	Kabat EU 位置	213					
	SEQ ID NO: 160 中的对应位置	102					

[0315] 表1

[0316] 使用所公开的序列限定的重链和轻链实施方案

[0317] AbLJ重链

[0318] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110或其片段、SEQ ID NO.120或其片段、SEQ ID NO.130或其片段,或SEQ ID NO.140或其片段的氨基酸序列的重链。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸、SEQ ID NO.120中14位的半胱氨酸、SEQ ID NO.130中14位的半胱氨酸或SEQ ID NO.140中14位的半胱氨酸。

[0319] AbHJ重链

[0320] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110或其片段的氨基酸序列的重链,其中SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代。例如,SEQ ID NO.111公开了含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,其中SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸被丝氨酸残基取代,SEQ ID NO.112公开了含有SEQ ID

NO.110的氨基酸序列的重链,其中SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸被缬氨酸残基取代。

[0321] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.120或其片段的氨基酸序列的重链,其中SEQ ID NO.120中14位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[0322] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.130或其片段的氨基酸序列的重链,其中SEQ ID NO:130中14位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[0323] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.140或其片段的氨基酸序列的重链,其中SEQ ID NO:140中14位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[0324] AbBJ重链

[0325] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110或其片段的氨基酸序列的重链,其中SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。例如,SEQ ID NO:113公开了含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,其中SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸各自被丝氨酸残基取代。SEQ ID NO:114公开了含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,其中SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸各自被缬氨酸残基取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸。在一些实施方案中,SEQ ID NO.110中109位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代,且SEQ ID NO.110中112位的半胱氨酸如果存在,其未被取代。在一些实施方案中,SEQ ID NO.110中112位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代,且SEQ ID NO.110中109位的半胱氨酸如果存在,其未被取代。

[0326] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.120或其片段的氨基酸序列的重链,其中SEQ ID NO:120中103位、106位和109位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。在一些实施方案中,SEQ ID NO:120中102位的半胱氨酸如果存在,其也被非半胱氨酸的氨基酸取代。在一些实施方案中,除了一个半胱氨酸以外,所有SEQ ID NO:120中103、106、109和102位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代。例如,在一些实施方案中,SEQ ID NO:120中103、106、109或102位的半胱氨酸如果存在,其未被取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO.120中14位的半胱氨酸。

[0327] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.130或其片段的氨基酸序列的重链,其中SEQ ID NO:130中111、114、120、126、129、135、141、144、150、156和159位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。在一些实施方案中,除了一个半胱氨酸以外,所有SEQ ID NO:130中111、114、120、126、129、135、141、144、150、156和159位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代。例如,在一些实施方案中,SEQ ID NO:130中111、114、120、126、129、135、141、144、150、156或159位的半胱氨酸如果存在,其未被取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO.130中14位的半胱氨酸。

[0328] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.140或其片段的氨基酸序列的重链,其中SEQ ID NO:140中106和109位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。在一些实施方案中,SEQ ID NO:140中106位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代,且SEQ ID NO:140中109位的半胱氨酸如果存在,其未被取

代。在一些实施方案中,SEQ ID NO:140中109位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代,且SEQ ID NO:140中106位的半胱氨酸如果存在,其未被取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO.140中14位的半胱氨酸。

[0329] AbDJ重链

[0330] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110或其片段的氨基酸序列的重链,其中SEQ ID NO:110中103、109和112位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。例如,SEQ ID NO:115公开了含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,其中SEQ ID NO:110中103、109和112位的半胱氨酸各自被丝氨酸残基取代。SEQ ID NO:116公开了含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,其中SEQ ID NO:110中103、109和112位的半胱氨酸各自被缬氨酸残基取代。在一些实施方案中,SEQ ID NO.110中109位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代,且SEQ ID NO.110中112位的半胱氨酸如果存在,其未被取代。在一些实施方案中,SEQ ID NO.110中112位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代,且SEQ ID NO.110中109位的半胱氨酸如果存在,其未被取代。

[0331] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.120或其片段的氨基酸序列的重链,其中SEQ ID NO:120中14、103、106和109位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。在一些实施方案中,除了一个半胱氨酸以外,所有SEQ ID NO:120中103、106、109和102位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代。例如,在一些实施方案中,SEQ ID NO:120中103、106、109或102位的半胱氨酸如果存在,其未被取代。

[0332] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.130或其片段的氨基酸序列的重链,其中SEQ ID NO:130中14、111、114、120、126、129、135、141、144、150、156和159位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。在一些实施方案中,除了一个半胱氨酸以外,SEQ ID NO:130中111、114、120、126、129、135、141、144、150、156和159位的所有半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代。例如,在一些实施方案中,SEQ ID NO:130中111、114、120、126、129、135、141、144、150、156或159位的半胱氨酸如果存在,其未被取代。

[0333] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.140或其片段的氨基酸序列的重链,其中SEQ ID NO:140中14、106和109位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。在一些实施方案中,SEQ ID NO:140中106位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代,且SEQ ID NO:140中109位的半胱氨酸如果存在,其未被取代。在一些实施方案中,SEQ ID NO:140中109位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代,且SEQ ID NO:140中106位的半胱氨酸如果存在,其未被取代。

[0334] 轻链

[0335] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含轻链,其含有SEQ ID NO.150或其片段、或SEQ ID NO.160或其片段的氨基酸序列。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0336] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含轻链,其包含SEQ ID NO.150或其片段的氨基酸序列,其中105位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代。例

如,SEQ ID NO.151公开了轻链,其包含SEQ ID NO.150的氨基酸序列,其中105位的半胱氨酸被丝氨酸残基取代。

[0337] SEQ ID NO.152公开了轻链,其包含SEQ ID NO.150的氨基酸序列,其中105位的半胱氨酸被缬氨酸残基取代。SEQ ID NO.153公开了轻链,其包含SEQ ID NO.150的氨基酸序列,其中105位的半胱氨酸被删除。

[0338] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含轻链,其包含SEQ ID NO.160或其片段的氨基酸序列,其中102位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代。例如,SEQ ID NO.161公开了轻链,其包含SEQ ID NO.160的氨基酸序列,其中102位的半胱氨酸被丝氨酸残基取代。

[0339] SEQ ID NO.162公开了轻链,其包含SEQ ID NO.160的氨基酸序列,其中102位的半胱氨酸被缬氨酸残基取代。SEQ ID NO.163公开了轻链,其具有SEQ ID NO.160的氨基酸序列,其中102位的半胱氨酸和103位的丝氨酸被删除。

[0340] 使用公开的序列限定的免疫球蛋白实施方案

[0341] AbLJ IgG1

[0342] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0343] 其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸。

[0344] AbLJ IgG2

[0345] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.120的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0346] 其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO.120中14位的半胱氨酸。

[0347] AbLJ IgG3

[0348] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0349] 其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO.130中14位的半胱氨酸。

[0350] AbLJ IgG4

[0351] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0352] 其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO.140中14位的半胱氨酸。

[0353] AbHJ IgG1

[0354] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0355] 其中SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0356] AbHJ IgG2

[0357] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.120的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0358] 其中SEQ ID NO:120中14位和103位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0359] AbHJ IgG3

[0360] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0361] 其中SEQ ID NO:130中14位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0362] AbHJ IgG4

[0363] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0364] 其中SEQ ID NO:140中14位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0365] AbBJ IgG1

[0366] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0367] 其中SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0368] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[0369] 优选地,药物缀合至SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸。

[0370] 在一些实施方案中,SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸被缬氨酸取代。在一些实施方案中,SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被丝氨酸取代。

[0371] AbBJ IgG2A

[0372] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.120的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0373] 其中SEQ ID NO:120中103位、106位和109位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0374] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[0375] 在一些实施方案中,SEQ ID NO:120中102位的半胱氨酸也被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[0376] 优选地,药物缀合至SEQ ID NO.120中14位的半胱氨酸。

[0377] 在一些实施方案中,SEQ ID NO:120中103位、106位和109位的半胱氨酸被缬氨酸取代。在一些实施方案中,SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被丝氨酸取代。

[0378] AbBJ IgG2B

[0379] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.120的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0380] 其中SEQ ID NO:120中14位、106位和109位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0381] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[0382] 在一些实施方案中,SEQ ID NO:120中102位的半胱氨酸也被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[0383] 优选地,药物缀合至SEQ ID NO:120中103位的半胱氨酸。

[0384] 在一些实施方案中,SEQ ID NO:120中14位、106位和109位的半胱氨酸被缬氨酸取代。在一些实施方案中,SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被丝氨酸取代。

[0385] AbBJ IgG3

[0386] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0387] 其中SEQ ID NO:130中111、114、120、126、129、135、141、144、150、156和159位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0388] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[0389] 优选地,药物缀合至SEQ ID NO.130中14位的半胱氨酸。

[0390] 在一些实施方案中,SEQ ID NO:130中111、114、120、126、129、135、141、144、150、156和159位的半胱氨酸各自被缬氨酸取代。

[0391] 在一些实施方案中,SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被丝氨酸取代。

[0392] AbBJ IgG4

[0393] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0394] 其中SEQ ID NO:140中106和109位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0395] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[0396] 优选地,药物缀合至SEQ ID NO.140中14位的半胱氨酸。

[0397] 优选地,药物缀合至SEQ ID NO.140中14位的半胱氨酸。

[0398] 在一些实施方案中,SEQ ID NO:140中106和109位的半胱氨酸各自被缬氨酸取代。在一些实施方案中,SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被丝氨酸取代。

[0399] AbDJ IgG1

[0400] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0401] 其中SEQ ID NO:110中103、109和112位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[0402] 优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0403] AbDJ IgG2

[0404] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.120的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0405] 其中SEQ ID NO:120中14、103、106和109位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[0406] 优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0407] AbDJ IgG3

[0408] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0409] 其中SEQ ID NO:130中14、111、114、120、126、129、135、141、144、150、156和159位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[0410] 优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0411] AbDJ IgG4

[0412] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0413] 其中SEQ ID NO:140中14、106和109位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[0414] 优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0415] 抗体:Kabat EU残基234和/或235的取代

[0416] 在第二方面,本发明所述缀合物的抗体包含重链,其在234位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基具有取代和/或在235位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基具有取代。意料不到地发现,与包含抗体但缺乏特异性突变的相同ADC相比,其中具有这些取代中的一个或优选两个的抗体具有改善的耐受性和增加的血清半衰期。

[0417] 在Kabat EU 234/235处的取代

[0418] Hezareh,M.等人,Journal of Virology,Vol.75,No.24,pp.12161-12168(2001)公开了包含重链的IgG1抗体变体,其中Kabat EU 234的亮氨酸残基和Kabat EU 235的亮氨酸残基均被丙氨酸取代;该抗体在该参考文献中被描述为“IgG1b12 (L234A,L235A)”。Hazareh等人并没有公开作为ADC一部分的IgG1b12 (L234A,L235A)。

[0419] Hazareh等人报道,引入L234A/L235A双重突变导致Fc(γ)R和C1q蛋白的抗体结合完全丧失,从而消除了抗体依赖性细胞毒性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性(CDC)。

[0420] Wines,B.D.等人以及共同作者Hazareh等人,Journal of Immunology,Vol.164,pp.5313-5318(2000)也描述了L234A/L235A双重变体。作者报道,L234A/L235A双重变体略

微降低了(<25%)抗体与FcRn受体的结合。已知FcRn受体在抗体再循环中具有重要作用,其中增加的抗体/FcRn亲和力据报道能够延长体内抗体半衰期并改善抗肿瘤活性(参见Zalevsky, J., Nature Biotechnology 28, 157-159 (2010) [doi:10.1038/nbt.1601])。然而,根据FcRn亲和力降低的程度, Hazareh等作者得出结论, L234A/L235A双重突变预计不会显著降低抗体的血清半衰期。

[0421] 与从以上公开得到的预期相反,已经发现,与包含无突变抗体但其它方面相同的ADC相比,本发明公开的包含在234和235位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基具有取代的重链的ADC实际上具有增加的血清半衰期。此外,与包含无突变抗体但其它方面相同的ADC相比,包含在234位和235位(根据EUindex编号系统)的残基具有取代的重链的ADC也表现出改善的耐受性/降低的毒性。

[0422] 使用Kabat的EUindex编号系统限定的实施方案

[0423] 因此,在第二方面,本发明所述缀合物的抗体包含在234位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基具有取代和/或在235位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基具有取代的重链。优选地,234和235位的残基两者(按照Kabat的EUindex编号系统)被任何其它氨基酸所取代。

[0424] 在一些实施方案中,所述抗体为IgG1同型物,且234位的亮氨酸(按照Kabat的EUindex编号系统)和/或235位的亮氨酸(按照Kabat的EUindex编号系统)被非亮氨酸的氨基酸所取代。

[0425] 在一些实施方案中,所述抗体为IgG3同型物,且234位的亮氨酸(按照Kabat的EUindex编号系统)和/或235位的亮氨酸(按照Kabat的EUindex编号系统)被非亮氨酸的氨基酸所取代。

[0426] 在一些实施方案中,所述抗体为IgG4同型物,且235位的亮氨酸(按照Kabat的EUindex编号系统)被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。

[0427] Kabat系统与公开的序列之间的对应关系

[0428] 下表2示出了按照Kabat的EUindex编号系统并参照本发明公开的序列,特定的抗体同型物的重链恒定区中对应残基的位置。

[0429]

抗体同型物	Kabat EU/SEQ ID NO	残基的位置	
HC	Kabat EU 位置	234	235
IgG1	SEQ ID NO: 110 中的对应位置	117	118
IgG2	SEQ ID NO: 120 中的对应	-	-

[0430]

	位置		
IgG3	SEQ ID NO: 130 中的对应位置	164	165
IgG4	SEQ ID NO: 140 中的对应位置	-	115

[0431] 表2

[0432] 使用公开的序列限定的免疫球蛋白实施方案

[0433] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,其中117位的亮氨酸和/或118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,117和118位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。

[0434] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链,其中164位的亮氨酸和/或165位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,164和165位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。

[0435] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链,其中115位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。

[0436] 抗体:链间半胱氨酸残基的取代与Kabat EU残基234和/或235的取代的组合

[0437] 可以有利地在相同抗体中将第一方面中所述的修饰与第二方面中所述的修饰组合。因此,在第三方面,本发明所述缀合物的抗体:

[0438] (1) 包含一个或多个链间半胱氨酸残基被非半胱氨酸的氨基酸取代并保留至少一个未取代的链间半胱氨酸残基,以使药物与抗体缀合;和

[0439] (2) 包含其中234位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基和/或235位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基被任何其它氨基酸(即与“野生型”序列中不同的氨基酸)所取代的重链。

[0440] 使用Kabat EU编号限定的实施方案

[0441] AbLJ (LALA)

[0442] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i) 保留未取代的铰链区链间半胱氨酸;(ii) 包含轻链,每条轻链的位于 C_L 结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代;(iii) 包含重链,每条重链保留位于 CH_1 结构域中的未取代的链间半胱氨酸;和(iv) 包含重链,每条重链在234位(按照Kabat的EUindex编号系统)和/或235位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基具有氨基酸取代。

[0443] 例如,在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i) 保留未取代的HC226和HC229(按照Kabat的EUindex编号系统);(ii) 包含轻链,每条轻链的链间半胱氨酸残基 κ LC214或 λ LC213(按照Kabat的EUindex编号系统)具有氨基酸取代;(iii) 包含重链,每条重链的未取代的链间半胱氨酸HC220(按照Kabat的EUindex编号系统)均被保留;和(iv) 包含重链,每条重链在234位(按照Kabat的EUindex编号系统)和/或235位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基被任何其它氨基酸取代。优选地,234和235位的残基两者(按照Kabat的EUindex编号系统)均被取代。优选地,药物缀合至位于 CH_1 结构域中的未取代的链间半胱氨酸,例如,至HC220(按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0444] AbHJ (LALA)

[0445] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i) 保留未取代的铰链区链间半胱氨酸;(ii) 轻链,每条轻链的位于 CL 结构域中的未取代的链间半胱氨酸均被保留;(iii) 包含重链,每条重链的位于 CH_1 结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代基;和(iv) 包含重链,每条重链在234位(按照Kabat的EUindex编号系统)和/或235位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基具有氨基酸取代。

[0446] 例如,在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体:(i) 保留未取代的HC226和

HC229 (按照Kabat的EUindex编号系统); (ii) 包含轻链, 每条轻链的未取代的链间半胱氨酸 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统) 均被保留; (iii) 包含重链, 每条重链的链间半胱氨酸HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统) 具有氨基酸取代; 和 (iv) 包含各自在234位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 和/或235位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 的残基被任何其它氨基酸取代的重链。优选地, 234和235位的残基两者 (按照Kabat的EUindex编号系统) 均被取代。优选地, 药物缀合至未取代的链间半胱氨酸, 所述半胱氨酸位于 C^L 结构域, 例如, 缀合至 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0447] AbBJ (LALA)

[0448] 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体: (i) 每个铰链区链间半胱氨酸均具有氨基酸取代; (ii) 包含轻链, 每条轻链的位于 C_L 结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代; (iii) 包含重链, 每条重链保留位于 CH_1 结构域中的未取代的链间半胱氨酸; 和 (iv) 包含重链, 每条重链在234位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 和/或235位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 的残基具有氨基酸取代。

[0449] 例如, 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体: (i) HC226和HC229 (按照Kabat的EUindex编号系统) 中的每个均被氨基酸取代; (ii) 包含轻链, 每条轻链的链间半胱氨酸残基 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统) 具有氨基酸取代; (iii) 包含重链, 每条重链的未取代的链间半胱氨酸HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统) 均被保留; 和 (iv) 包含各自在234位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 和/或235位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 的残基被任何其它氨基酸取代的重链。优选地, 234和235位的残基两者 (按照Kabat的EUindex编号系统) 均被取代。优选地, 药物缀合至位于 CH_1 结构域中的未取代的链间半胱氨酸, 例如, 至HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0450] AbDJ (LALA)

[0451] 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体: (i) 每个铰链区链间半胱氨酸均具有氨基酸取代; (ii) 轻链, 每条轻链的位于 C_L 结构域中的未取代的链间半胱氨酸均被保留; (iii) 包含重链, 每条重链的位于 CH_1 结构域中的链间半胱氨酸残基具有氨基酸取代基; 和 (iv) 包含重链, 每条重链在234位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 和/或235位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 的残基具有氨基酸取代。

[0452] 例如, 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体: (i) HC226和HC229 (按照Kabat的EUindex编号系统) 中的每个均被氨基酸取代; (ii) 包含轻链, 每条轻链的未取代的链间半胱氨酸 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统) 均被保留; (iii) 包含重链, 每条重链的链间半胱氨酸HC220 (按照Kabat的EUindex编号系统) 具有氨基酸取代; 和 (iv) 包含重链, 每条重链在234位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 和/或235位 (按照Kabat的EUindex编号系统) 的残基被任何其它氨基酸取代的。优选地, 234和235位的残基两者 (按照Kabat的EUindex编号系统) 均被取代。优选地, 药物缀合至未取代的链间半胱氨酸, 所述半胱氨酸位于 C_L 结构域, 例如, 缀合至 κ LC214或 λ LC213 (按照Kabat的EUindex编号系统)。

[0453] 使用所公开的序列限定的实施方案

[0454] AbLJ (LALA)

[0455] 在一些实施方案中, 本发明所述缀合物的抗体包含: 含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链, 和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0456] 其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0457] 且其中117位的亮氨酸和/或118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸。优选地,117和118位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。

[0458] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0459] 其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0460] 且其中164位的亮氨酸和/或165位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,药物缀合至SEQ ID NO.130中14位的半胱氨酸。优选地,164和165位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。

[0461] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0462] 其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0463] 且其中115位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,药物缀合至SEQ ID NO.140中14位的半胱氨酸。

[0464] AbHJ (LALA)

[0465] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0466] 其中SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0467] 且其中117位的亮氨酸和/或118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。优选地,117和118位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。

[0468] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0469] 其中SEQ ID NO:130中14位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0470] 且其中164位的亮氨酸和/或165位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。优选地,164和165位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。

[0471] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0472] 其中SEQ ID NO:140中14位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0473] 且其中115位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0474] AbBJ (LALA)

[0475] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0476] 其中SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0477] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0478] 且其中117位的亮氨酸和/或118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸。优选地,117和118位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。

[0479] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0480] 其中SEQ ID NO:130中111、114、120、126、129、135、141、144、150、156和159位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0481] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0482] 且其中164位的亮氨酸和/或165位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,药物缀合至SEQ ID NO.130中14位的半胱氨酸。优选地,164和165位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。

[0483] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0484] 其中SEQ ID NO:140中106和109位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0485] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0486] 且其中115位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,药物缀合至SEQ ID NO.140中14位的半胱氨酸。

[0487] AbDJ (LALA)

[0488] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0489] 其中SEQ ID NO:110中103、109和112位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0490] 且其中117位的亮氨酸和/或118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。优选地,117和118位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。

[0491] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0492] 其中SEQ ID NO:130中14、111、114、120、126、129、135、141、144、150、156和159位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0493] 且其中164位的亮氨酸和/或165位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。优选地,164和165位的亮氨酸均被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。

[0494] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.140的氨基酸

序列的重链,和含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链;

[0495] 其中SEQ ID NO:140中14、106和109位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[0496] 且其中115位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代,如丙氨酸。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[0497] 缀合物/抗体性质

[0498] 最大耐受剂量 (MTD)

[0499] 已发现本发明所述缀合物在体内疾病模型中具有良好的耐受性,其能够在接受该缀合物的受试者中减少副作用。因此,在一些实施方案中,相比于除了药物在非特异性位点处与抗体相连外其它方面相同的缀合物,本发明所述缀合物具有更高的MTD。MTD通常在动物如小鼠(例如,小家鼠)、大鼠(例如,褐鼠)或猴(例如,食蟹猴)中进行测试。在一些实施方案中,本发明所述缀合物在以单次剂量递送时在大鼠中的MTD为至少1mg/kg,例如,在以单次剂量递送时为至少1.2mg/kg、至少1.4mg/kg、至少1.6mg/kg、至少1.8mg/kg、至少2.0mg/kg、至少2.2mg/kg、至少2.4mg/kg、至少2.6mg/kg、至少2.8mg/kg、至少3.0mg/kg、至少4.0mg/kg或至少5.0mg/kg。

[0500] 治疗指数

[0501] 在一些实施方案中,相比于其它方面相同但为非位点特异性的缀合物,本发明所述的位点特异性缀合物具有改善的治疗指数。在一些实施方案中,本发明所述的位点特异性缀合物的治疗指数比其它方面相同但为非位点特异性的缀合物至少高2%。即,如果非位点特异性缀合物的治疗指数为100:1,则位点特异性缀合物的治疗指数为至少102:1。在一些实施方案中,本发明所述的位点特异性缀合物的治疗指数比其它方面相同但为非位点特异性的缀合物至少高5%,例如,比其它方面相同但为非位点特异性的缀合物至少高5%、至少高7%、至少高10%、至少高12%、至少高15%、至少高20%、至少高25%、至少高30%、至少高40%、至少高50%、至少高70%、至少高100%、至少高150%或至少高200%。

[0502] 降低的全身性毒性

[0503] Strop等人,Chemistry&Biology 20,161-167于2013年2月21日报道了,药物在抗体上的缀合位点可影响ADC的稳定性和药代动力学。

[0504] 将本发明新描述的位点特异性ADC的相对全身毒性与已知类型的位点特异性ADC的相对全身毒性进行比较-参见实施例7和图1。与已知的位点特异性ADC相反,未观察到本发明新描述的位点特异性ADC诱导了显著的全身毒性。

[0505] 抗体亲和力

[0506] 在一些实施方案中,与其它方面相同但为非位点特异性的缀合物相比,位点特异性缀合物对同源抗原具有相同的亲和力。在一些实施方案中,与其它方面相同但为非位点特异性的缀合物相比,位点特异性缀合物对同源抗原具有更大的亲和力。在一些实施方案中,位点特异性缀合物结合同源抗原的解离常数(Kd)为至少 10^{-6} M,如至少 5×10^{-7} M、至少 10^{-7} M、至少 5×10^{-8} M、至少 10^{-9} M,如至少 5×10^{-10} M、至少 10^{-10} M、至少 5×10^{-11} M、至少 10^{-11} M、至少 5×10^{-12} M、至少 10^{-12} M、至少 5×10^{-13} M、至少 10^{-13} M、至少 5×10^{-14} M、至少 10^{-14} M、至少 5×10^{-15} M或至少 10^{-15} M。在一个实施方案中,位点特异性缀合物竞争性抑制同源抗原与其它方面相同但为非位点特异性的缀合物的体内和/或体外结合。

[0507] 如本发明所用,“结合[抗原X]”用于表示抗体以比非特异性配体如牛血清白蛋白(BSA, Genbank收录号CAA76847, 版本号CAA76847.1GI:3336842, 记录更新日期:2011年1月7日, 02:30PM)更高的亲和力结合[抗原X]。在一些实施方案中, 当在生理条件下测量时, 抗体结合[抗原X]的缔合常数(K_a)为抗体与BSA的缔合常数的至少2、3、4、5、10、20、50、100、200、500、1000、2000、5000、 10^4 、 10^5 或 10^6 倍。本发明的抗体通常能够以高亲和力结合[抗原X]。例如, 在一些实施方案中, 抗体结合[抗原X]的 K_D 可为小于或等于约 10^{-6} M, 如 1×10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} 、 10^{-10} 、 10^{-11} 、 10^{-12} 、 10^{-13} 或 10^{-14} M。

[0508] 有效剂量

[0509] 在一些实施方案中, 位点特异性缀合物的 EC_{50} 小于35ng/ml, 如小于30ng/ml、小于25ng/ml、小于20ng/ml或小于15ng/ml。在一些实施方案中, 位点特异性缀合物的 EC_{50} 不高于其它方面相同但为非位点特异性的缀合物。在一些实施方案中, 位点特异性缀合物 EC_{50} 比其它方面相同但为非位点特异性的缀合物至少低2ng/ml, 例如, 至少低5ng/ml、至少低10ng/ml、至少低15ng/ml、至少低20ng/ml、至少低25ng/ml或至少低30ng/ml。

[0510] 易于制造

[0511] 本发明新描述的位点特异性ADC的实施例能够简化ADC制造过程。

[0512] 例如, 在如Junutula等人, *Nature Biotechnology*, vol.26, no.8, pp.925-932中所述的半胱氨酸工程化的IgG版本中, 将额外的半胱氨酸工程化到IgG1中, 以允许在工程化的半胱氨酸处发生位点特异性缀合。当在哺乳动物细胞中重组表达这种半胱氨酸工程化的IgG时, 工程化的半胱氨酸通常用其它含巯基的分子如GSH、半胱氨酸等封端。为了释放工程化的半胱氨酸以进行缀合, 分子必须被还原。这通常也将还原重链和轻链之间的链间二硫键, 以及铰链区中的二硫键。不希望还原天然的链间半胱氨酸, 因为药物缀合也可以发生在这些天然半胱氨酸上。因此, 在工程化到抗体中的半胱氨酸可以与药物缀合之前, 抗体分子必须被再氧化以重新建立这些天然链间二硫键。

[0513] 相比之下, 本发明具体考虑了这样的实施方案, 其中抗体仅包含两个适于缀合的链间半胱氨酸(例如每条重链上一个), 而天然抗体中存在的其它链间半胱氨酸残基已被非半胱氨酸的氨基酸取代。这种形式能够省略上述复合-还原-再氧化的过程。相反, 接下来可进行直接的还原-缀合过程。这是可能的, 因为本发明所述的位点特异性抗体形式通常不包含最终不会与药物结合的链间半胱氨酸。例如, 在优选的实施方案中, 位点特异性抗体仅包含两个适于缀合的链间半胱氨酸(例如, 每条重链上一个)。因此, 在初始还原步骤之后, 不需要再次氧化抗体分子。而是用还原剂例如TCEP还原分子, 其还原了(两个)保留的链间半胱氨酸(其他链间半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代)。然后将还原的半胱氨酸巯基部分缀合到药物-接头。

[0514] 在仅有两个链间半胱氨酸的优选实施方案中, 不可能产生具有DAR 3或更高的IgG种类。这会是有利的, 因为更高的DAR种类可造成ADC的毒性-参见Jununtula等人, (*Nature Biotech* 26_925-932(2008))。

[0515] 本发明所述的位点特异性ADC也避免了其它可能的制备问题。例如, 在通过稳定转染的中国仓鼠卵巢(CHO)细胞分泌的半胱氨酸工程化的IgG的分析中, 观察到存在三轻链抗体(3LC); 3LC种类似乎是在额外的轻链与被工程化到IgG中的另外的半胱氨酸之间形成的二硫键的产物(Gomez等人, *Biotechnol. Bioeng.* 105(4)_748-60(2010); Gomez等人,

Biotechnol.Prog.26 (5) _1438-1445 (2010))。本发明描述的位点特异性ADC在轻链中没有插入半胱氨酸,因此不会形成污染的3LC种类。

[0516] 终末半衰期

[0517] 在一些实施方案中,相比于其它方面相同但缺少234/235取代的缀合物,其中抗体包含在234位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基和/或在235位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基具有取代的重链的缀合物具有改善的终末半衰期。可如本发明实施例6中所述测量终末半衰期。因此,在一些实施方案中,其中抗体包含在234位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基和/或在235位(按照Kabat的EUindex编号系统)的残基具有取代的重链的缀合物的半衰期为其它方面相同但缺少234/235取代的缀合物的半衰期的至少110%;例如,为其它方面相同但缺少234/235取代的缀合物的半衰期的至少115%、至少120%、至少125%、至少130%、至少135%、至少140%、至少145%、至少150%、至少160%、至少170%、至少180%、至少190%或至少200%。

[0518] -----

[0519] 抗原结合

[0520] 本发明所述缀合物的抗体为结合抗原的抗体(Ab)。优选地,该抗原为肿瘤相关抗原。在本发明的实施方案中使用的肿瘤相关抗原和同源抗体列于以下。

[0521] (1) BMPRI1B (IB型骨形态发生蛋白受体)

[0522] 核苷酸

[0523] Genbank收录号NM_001203

[0524] Genbank版本号NM_001203.2GI:169790809

[0525] Genbank记录更新日期:2012年9月23日02:06PM

[0526] 多肽

[0527] Genbank收录号NP_001194

[0528] Genbank版本号NP_001194.1 GI:4502431

[0529] Genbank记录更新日期:2012年9月23日02:06PM

[0530] 交叉引用

[0531] ten Dijke,P.,等人,Science 264 (5155):101-104 (1994),Oncogene 14 10 (11): 1377-1382 (1997);W02004/063362 (权利要求2);W02003/042661 (权利要求12);

[0532] US2003/134790-A1 (第38-39页);W02002/102235 (权利要求13;第296页);W02003/055443 (第91-92页);W02002/99122 (实施例2;第528-530页);W02003/029421 (权利要求6);

[0533] W02003/024392 (权利要求2;图112);W02002/98358 (权利要求1;第183页);W02002/54940 (第100-101页);W02002/59377 (第349-350页);W02002/30268 (权利要求27;第376页);15W02001/48204 (实施例;图4);NP_001194IB型骨形态发生蛋白受体/pid=NP_001194.1.;MIM:603248;AY065994

[0534] (2) E16 (LAT1,SLC7A5)

[0535] 核苷酸

[0536] Genbank收录号NM_003486

[0537] Genbank版本号NM_003486.5GI:71979931

[0538] Genbank记录更新日期:2012年6月27日12:06PM

[0539] 多肽

[0540] Genbank收录号NP_003477

[0541] Genbank版本号NP_003477.4GI:71979932

[0542] Genbank记录更新日期:2012年6月27日12:06PM

[0543] 交叉引用

[0544] Biochem.Biophys.Res.Commun.255 (2) ,283-288 (1999) ,Nature 395 (6699) :288-291 (1998) ,Gaugitsch,H.W.等人 (1992) J.Biol.Chem.267 (16) :11267-11273) ;W02004/048938 (实施例2) ;W02004/032842 (实施例IV) ;W02003/042661 (权利要求12) ;W02003/016475 (权利要求1) ;W02002/78524 (实施例2) ;W02002/99074 (权利要求19;第127-129页) ;W02002/86443 (权利要求27;第222,393页) ;W02003/003906 (权利要求10;第293页) ;W02002/64798 (权利要求33;第93-95页) ;W02000/14228 (权利要求5;第133-136页) ;US2003/224454 (图3) ;25W02003/025138 (权利要求12;第150页) ;NP_003477溶质运载蛋白家族7 (阳离子性氨基酸运载体,y⁺系统) ,成员5/pid=NP_003477.3-人类;MIM:600182;;NM_015923.

[0545] (3) STEAP1 (前列腺六跨膜上皮抗原)

[0546] 核苷酸

[0547] Genbank收录号NM_012449

[0548] Genbank版本号NM_012449.2GI:22027487

[0549] Genbank记录更新日期:2012年9月9日02:57PM

[0550] 多肽

[0551] Genbank收录号NP_036581

[0552] Genbank版本号NP_036581.1GI:9558759

[0553] Genbank记录更新日期:2012年9月9日02:57PM

[0554] 交叉引用

[0555] Cancer Res.61 (15) ,5857-5860 (2001) ,Hubert,R.S.,等人,(1999) Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.96 (25) :14523-14528) ;W02004/065577 (权利要求6) ;W02004/027049 (图1L) ;EP1394274 (实施例11) ;W02004/016225 (权利要求2) ;W02003/042661 (权利要求12) ;US2003/157089 (实施例5) ;US2003/185830 (实施例5) ;US2003/064397 (图2) ;W02002/89747 (实施例5;第618-619页) ;W02003/022995 (实施例9;图13A,35实施例53;第173页,实施例2;图2A) ;前列腺六跨膜上皮抗原;MIM:604415。

[0556] (4) 0772P (CA125,MUC16)

[0557] 核苷酸

[0558] Genbank收录号AF361486

[0559] Genbank版本号AF361486.3GI:34501466

[0560] Genbank记录更新日期:2010年3月11日07:56AM

[0561] 多肽

[0562] Genbank收录号AAK74120

[0563] Genbank版本号AAK74120.3GI:34501467

[0564] Genbank记录更新日期:2010年3月11日07:56AM

[0565] 交叉引用

[0566] J.Biol.Chem.276 (29):27371-27375 (2001)); W02004/045553 (权利要求14); W02002/92836 (权利要求6;图12); W02002/83866 (权利要求15;第116-121页); US2003/124140 (实施例16); GI:34501467;

[0567] (5) MPF (MPF,MSLN,SMR,巨核细胞集落刺激因子,间皮素)

[0568] 核苷酸

[0569] Genbank收录号NM_005823

[0570] Genbank版本号NM_005823.5GI:293651528

[0571] Genbank记录更新日期:2012年9月2日01:47PM

[0572] 多肽

[0573] Genbank收录号NP_005814

[0574] Genbank版本号NP_005814.2GI:53988378

[0575] Genbank记录更新日期:2012年9月2日01:47PM

[0576] 交叉引用

[0577] Yamaguchi, N., 等人, Biol.Chem.269 (2), 805-808 (1994), Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.96 (20):11531-11536 (1999), Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.93 10 (1):136-140 (1996), J.Biol.Chem.270 (37):21984-21990 (1995)); W02003/101283 (权利要求14); (W02002/102235 (权利要求13;第287-288页); W02002/101075 (权利要求4;第308-309页); W02002/71928 (第320-321页); W094/10312 (第52-57页); IM:601051。

[0578] (6) Napi3b (NAPI-3B,NPTIIb,SLC34A2,溶质运载蛋白家族34 (磷酸钠),成员2,II型钠依赖性磷酸转运蛋白3b)

[0579] 核苷酸

[0580] Genbank收录号NM_006424

[0581] Genbank版本号NM_006424.2GI:110611905

[0582] Genbank记录更新日期:2012年7月22日03:39PM

[0583] 多肽

[0584] Genbank收录号NP_006415

[0585] Genbank版本号NP_006415.2GI:110611906

[0586] Genbank记录更新日期:2012年7月22日03:39PM

[0587] 交叉引用

[0588] J.Biol.Chem.277 (22):19665-19672 (2002), Genomics 62 (2):281-284 (1999), Feild, J.A., 等人, (1999) Biochem.Biophys.Res.Comm.258 (3):578-582); W02004/022778 (权利要求2); EP1394274 (实施例11); W02002/102235 (权利要求13;第20,326页); EP0875569 (权利要求1;第17-19页); W02001/57188 (权利要求20;第329页); W02004/032842 (实施例IV); W02001/75177 (权利要求24;第139-140页); MIM:604217。

[0589] (7) Sema 5b (FLJ10372,KIAA1445,Mm.42015,SEMA5B,SEMA5,信号素5b Hlog,25sema结构域,七个血小板反应蛋白重复序列 (1型和1型样),跨膜结构域 (TM) 和短的胞浆结构域, (信号素) 5B)

[0590] 核苷酸

- [0591] Genbank收录号AB040878
- [0592] Genbank版本号AB040878.1GI:7959148
- [0593] Genbank记录更新日期:2006年8月2日05:40PM
- [0594] 多肽
- [0595] Genbank收录号BAA95969
- [0596] Genbank版本号BAA95969.1GI:7959149
- [0597] Genbank记录更新日期:2006年8月2日05:40PM
- [0598] 交叉引用
- [0599] Nagase T., 等人, (2000) DNA Res. 7 (2) :143-150 ; W02004/000997 (权利要求1) ; W02003/003984 (权利要求1) ; W02002/06339 (权利要求1; 第50页) ; W02001/88133 (权利要求1; 第41-43, 48-58页) ; W02003/054152 (权利要求20) ; W02003/101400 (权利要求11) ; Accession:30Q9P283; Genew; HGNC:10737
- [0600] (8) PSCA hlg (2700050C12Rik, C530008016Rik, RIKEN cDNA2700050C12, RIKEN cDNA 2700050C12基因)
- [0601] 核苷酸
- [0602] Genbank收录号AY358628
- [0603] Genbank版本号AY358628.1GI:37182377
- [0604] Genbank记录更新日期:2009年12月1日04:15AM
- [0605] 多肽
- [0606] Genbank收录号AAQ88991
- [0607] Genbank版本号AAQ88991.1GI:37182378
- [0608] Genbank记录更新日期:2009年12月1日04:15AM
- [0609] 交叉引用
- [0610] Ross 等人, (2002) Cancer Res. 62:2546-2553; US2003/129192 (权利要求2) ; US2004/044180 (权利要求12) ; US2004/044179 35 (权利要求11) ; US2003/096961 (权利要求11) ; US2003/232056 (实施例5) ; W02003/10575816 (权利要求12) ; US2003/206918 (实施例5) ; EP1347046 (权利要求1) ; W02003/025148 (权利要求20) ; GI:37182378.
- [0611] (9) ETBR (内皮素B型受体)
- [0612] 核苷酸
- [0613] Genbank收录号AY275463
- [0614] Genbank版本号AY275463.1GI:30526094
- [0615] Genbank记录更新日期:2010年3月11日02:26AM
- [0616] 多肽
- [0617] Genbank收录号AAP32295
- [0618] Genbank版本号AAP32295.1GI:30526095
- [0619] Genbank记录更新日期:2010年3月11日02:26AM
- [0620] 交叉引用
- [0621] Nakamuta M., 等人, Biochem. Biophys. Res. Commun. 177, 34-39, 1991; Ogawa Y., 等人, Biochem. Biophys. Res. Commun. 178, 248-255, 1991; Arai H., 等人, Jpn. Circ. J. 56,

1303-1307,1992;Arai H.,等人,J.Biol.Chem.268,3463-3470,1993;Sakamoto A., Yanagisawa M.,等人,Biochem.Biophys.Res.Comm.178,656-663,1991;Elshourbagy N.A.,等人,J.Biol.Chem.268,3873-3879,1993;Haendler B.,等人,J.Cardiovasc.Pharmacol.20,s1-S4,1992;Tsutsumi M.,等人,Gene 228,43-49,1999; Strausberg R.L.,等人,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99,16899-16903,2002;Bourgeois C.,等人,J.Clin.Endocrinol.Metab.82,3116-3123,1997;Okamoto Y.,等人,Biol.Chem.272,21589-21596,1997;Verheij J.B.,等人,Am.J.Med.Genet.108,223-225, 2002;Hofstra R.M.W.,等人,Eur.J.Hum.Genet.5,180-185,1997;Puffenberger例如,等人,Cell 79,1257-1266,1994;Attie T.等人,Hum.Mol.Genet.4,2407-15 2409,1995; Auricchio A.,等人,Hum.Mol.Genet.5:351-354,1996;Amiel J.,等人,Hum.Mol.Genet.5, 355-357,1996;Hofstra R.M.W.,等人,Nat.Genet.12,445-447,1996;Svensson P.J.,等人,Hum.Genet.103,145-148,1998;Fuchs S.,等人,Mol.Med.7,115-124,2001;Pingault V.,等人,(2002)Hum.Genet.111,198-206;W02004/045516(权利要求1);W02004/048938(实施例2);W02004/040000(权利要求151);W02003/087768(权利要求1);20W02003/016475(权利要求1);W02003/016475(权利要求1);W02002/61087(图1);W02003/016494(图6); W02003/025138(权利要求12;第144页);W02001/98351(权利要求1;第124-125页); EP0522868(权利要求8;图2);W02001/77172(权利要求1;第297-299页);US2003/109676; US6518404(图3);US5773223(权利要求1a;Col 31-34);W02004/001004.

[0622] (10) MSG783(RNF124,假定蛋白FLJ20315)

[0623] 核苷酸

[0624] Genbank收录号NM_017763

[0625] Genbank版本号NM_017763.4GI:167830482

[0626] Genbank记录更新日期:2012年7月22日12:34AM

[0627] 多肽

[0628] Genbank收录号NP_060233

[0629] Genbank版本号NP_060233.3GI:56711322

[0630] Genbank记录更新日期:2012年7月22日12:34AM

[0631] 交叉引用

[0632] W02003/104275(权利要求1);W02004/046342(实施例2);W02003/042661(权利要求12);W02003/083074(权利要求14;第61页);W02003/018621(权利要求1);W02003/024392(权利要求2;图93);W02001/66689(实施例6);LocusID:54894.

[0633] (11) STEAP2(HGNC_8639,IPCA-1,PCANAP1,STAMP1,STEAP2,STMP,前列腺癌相关基因1,前列腺癌相关蛋白1,前列腺六跨膜上皮抗原2,六跨膜前列腺蛋白)

[0634] 核苷酸

[0635] Genbank收录号AF455138

[0636] Genbank版本号AF455138.1GI:22655487

[0637] Genbank记录更新日期:2010年3月11日01:54AM

[0638] 多肽

[0639] Genbank收录号AAN04080

- [0640] Genbank版本号AAN04080.1GI:22655488
- [0641] Genbank记录更新日期:2010年3月11日01:54AM
- [0642] 交叉引用
- [0643] Lab.Invest.82(11):1573-1582(2002);W02003/087306;US2003/064397(权利要求1;图1);W02002/72596(权利要求13;第54-55页);W02001/72962(权利要求1;图4B);35W02003/104270(权利要求11);W02003/104270(权利要求16);US2004/005598(权利要求22);W02003/042661(权利要求12);US2003/060612(权利要求12;图10);W02002/26822(权利要求23;图2);W02002/16429(权利要求12;图10);GI:22655488.
- [0644] (12) TrpM4(BR22450,FLJ20041,TRPM4,TRPM4B,瞬时受体电位阳离子通道5,亚家族M,成员4)
- [0645] 核苷酸
- [0646] Genbank收录号NM_017636
- [0647] Genbank版本号NM_017636.3GI:304766649
- [0648] Genbank记录更新日期:2012年6月29日11:27AM
- [0649] 多肽
- [0650] Genbank收录号NP_060106
- [0651] Genbank版本号NP_060106.2GI:21314671
- [0652] Genbank记录更新日期:2012年6月29日11:27AM
- [0653] 交叉引用
- [0654] Xu,X.Z.,等人,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.98(19):10692-10697(2001),Cell 109(3):397-407(2002),J.Biol.Chem.278(33):30813-30820(2003);US2003/143557(权利要求4);W02000/40614(权利要求14;第100-103页);W02002/10382(权利要求1;图9A);W02003/042661(权利要求12);W02002/30268(权利要求27;第391页);US2003/219806(权利要求4);W02001/62794(权利要求10-14;图1A-D);MIM:606936.
- [0655] (13) CRIPTO(CR,CR1,CRGF,CRIPTO,TDGF1,畸胎瘤衍生的生长因子)
- [0656] 核苷酸
- [0657] Genbank收录号NM_003212
- [0658] Genbank版本号NM_003212.3GI:292494881
- [0659] Genbank记录更新日期:2012年9月23日02:27PM
- [0660] 多肽
- [0661] Genbank收录号NP_003203
- [0662] Genbank版本号NP_003203.1GI:4507425
- [0663] Genbank记录更新日期:2012年9月23日02:27PM
- [0664] 交叉引用
- [0665] Ciccodicola,A.,等人,EMBO J.8(7):1987-1991(1989),Am.J.Hum.Genet.49(3):555-565(1991);US2003/224411(权利要求1);W02003/083041(实施例1);W02003/034984(权利要求12);W02002/88170(权利要求2;第52-53页);W02003/024392(权利要求2;图58);W02002/16413(权利要求1;第94-95,105页);W02002/22808(权利要求2;图1);US5854399(实施例2;Col 17-18);US5792616(图2);MIM:187395.

- [0666] (14) CD21 (CR2 (补体受体2) 或C3DR (C3d/Epstein Barr病毒受体) 或Hs.73792)
- [0667] 核苷酸
- [0668] Genbank收录号M26004
- [0669] Genbank版本号M26004.1GI:181939
- [0670] Genbank记录更新日期:2010年6月23日08:47AM
- [0671] 多肽
- [0672] Genbank收录号AAA35786
- [0673] Genbank版本号AAA35786.1GI:181940
- [0674] Genbank记录更新日期:2010年6月23日08:47AM
- [0675] 交叉引用
- [0676] Fujisaku等人, (1989) J.Biol.Chem.264 (4) :2118-2125); Weis J.J., 等人, J.Exp.Med.167,1047-1066,1988; Moore M., 等人, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.84,9194-9198,1987; Barell M., 等人, Mol.Immunol.35,1025-1031,1998; Weis J.J., 等人, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.83,5639-5643,1986; Sinha S.K., 等人, (1993) J.Immunol.150,5311-5320; W02004/045520 (实施例4); US2004/005538 (实施例1); W02003/062401 (权利要求9); W02004/045520 (实施例4); W091/02536 (图9.1-9.9); W02004/020595 (权利要求1); Accession:P20023; Q13866; Q14212; EMBL; M26004; AAA35786.1.
- [0677] (15) CD79b (CD79B, CD79 β , Ig β (免疫球蛋白相关的 β), B29)
- [0678] 核苷酸
- [0679] Genbank收录号NM_000626
- [0680] Genbank版本号NM_000626.2GI:90193589
- [0681] Genbank记录更新日期:2012年6月26日01:53PM
- [0682] 多肽
- [0683] Genbank收录号NP_000617
- [0684] Genbank版本号NP_000617.1GI:11038674
- [0685] Genbank记录更新日期:2012年6月26日01:53PM
- [0686] 交叉引用
- [0687] Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. (2003) 100 (7) :4126-4131, Blood (2002) 100 (9) :3068-3076, Muller等人, (1992) Eur.J.Immunol.22 (6) :1621-1625); W02004/016225 (权利要求2, 图140); W02003/087768, US2004/101874 (权利要求1, 第102页); W02003/062401 (权利要求9); W02002/78524 (实施例2); US2002/150573 (权利要求35 5, 第15页); US5644033; W02003/048202 (权利要求1, 第306和309页); W0 99/58658, US6534482 (权利要求13, 图17A/B); W02000/55351 (权利要求11, 第1145-1146页); MIM:147245
- [0688] (16) FcRH2 (IFGP4, IRTA4, SPAP1A (含有磷酸酶锚定蛋白5 1a的SH2结构域), SPAP1B, SPAP1C)
- [0689] 核苷酸
- [0690] Genbank收录号NM_030764
- [0691] Genbank版本号NM_030764.3GI:227430280
- [0692] Genbank记录更新日期:2012年6月30日12:30AM

[0693] 多肽

[0694] Genbank收录号NP_110391

[0695] Genbank版本号NP_110391.2GI:19923629

[0696] Genbank记录更新日期:2012年6月30日12:30AM

[0697] 交叉引用

[0698] AY358130);Genome Res.13(10):2265-2270(2003),Immunogenetics 54(2):87-95(2002),Blood 99(8):2662-2669(2002),Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.98(17):9772-9777(2001),Xu,M.J.,等人,(2001)Biochem.Biophys.Res.Comm.280(3):768-775;W02004/016225(权利要求2);W02003/077836;W02001/38490(权利要求5;图18D-1-18D-2);W02003/097803(权利要求12);10W02003/089624(权利要求25);MIM:606509.

[0699] (18)NCA(CEACAM6)

[0700] 核苷酸

[0701] Genbank收录号M18728

[0702] Genbank版本号M18728.1GI:189084

[0703] Genbank记录更新日期:2010年6月23日08:48AM

[0704] 多肽

[0705] Genbank收录号AAA59907

[0706] Genbank版本号AAA59907.1GI:189085

[0707] Genbank记录更新日期:2010年6月23日08:48AM

[0708] 交叉引用

[0709] Barnett T.,等人,Genomics 3,59-66,1988;Tawaragi Y.,等人,Biochem.Biophys.Res.Comm.150,89-96,1988;Strausberg R.L.,等人,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99:16899-16903,2002;W02004/063709;EP1439393(权利要求7);W02004/044178(实施例4);W02004/031238;W02003/042661(权利要求12);W02002/78524(实施例2);W02002/86443(权利要求27;第427页);W02002/60317(权利要求2);Accession:P40199;Q14920;EMBL;M29541;AAA59915.1.EMBL;M18728.

[0710] (19)MDP(DPEP1)

[0711] 核苷酸

[0712] Genbank收录号BC017023

[0713] Genbank版本号BC017023.1GI:16877538

[0714] Genbank记录更新日期:2012年3月6日01:00PM

[0715] 多肽

[0716] Genbank收录号AAH17023

[0717] Genbank版本号AAH17023.1GI:16877539

[0718] Genbank记录更新日期:2012年3月6日01:00PM

[0719] 交叉引用

[0720] Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99(26):16899-16903(2002));W02003/016475(权利要求1);W02002/64798(权利要求33;第85-87页);JP05003790(图6-8);W099/46284(图9);MIM:179780.

- [0721] (20) IL20R- α (IL20Ra, ZCYTOR7)
- [0722] 核苷酸
- [0723] Genbank收录号AF184971
- [0724] Genbank版本号AF184971.1GI:6013324
- [0725] Genbank记录更新日期:2010年3月10日10:00PM
- [0726] 多肽
- [0727] Genbank收录号AAF01320
- [0728] Genbank版本号AAF01320.1GI:6013325
- [0729] Genbank记录更新日期:2010年3月10日10:00PM
- [0730] 交叉引用
- [0731] Clark H.F., 等人, Genome Res.13, 2265-2270, 2003; Mungall A.J., 等人, Nature 425, 805-811, 2003; Blumberg H., 等人, Cell 104, 9-19, 2001; Dumoutier L., 等人, J. Immunol. 167, 3545-3549, 2001; Parrish-Novak J., 等人, J. Biol. Chem. 277, 47517-47523, 2002; Pletnev S., 等人, (2003) 10 Biochemistry 42:12617-12624; Sheikh F., 等人, (2004) J. Immunol. 172, 2006-2010; EP1394274 (实施例11); US2004/005320 (实施例5); W02003/029262 (第74-75页); W02003/002717 (权利要求2; 第63页); W02002/22153 (第45-47页); US2002/042366 (第20-21页); W02001/46261 (第57-59页); W02001/46232 (第63-65页); W098/37193 (权利要求1; 第55-59页); Accession: Q9UHF4; Q6UWA9; Q96SH8; EMBL; AF184971; AAF01320.1.
- [0732] (21) Brevican (BCAN, BEHAB)
- [0733] 核苷酸
- [0734] Genbank收录号AF229053
- [0735] Genbank版本号AF229053.1GI:10798902
- [0736] Genbank记录更新日期:2010年3月11日12:58AM
- [0737] 多肽
- [0738] Genbank收录号AAG23135
- [0739] Genbank版本号AAG23135.1GI:10798903
- [0740] Genbank记录更新日期:2010年3月11日12:58AM
- [0741] 交叉引用
- [0742] Gary S.C., 等人, Gene 256, 139-147, 2000; Clark H.F., 等人, Genome Res.13, 2265-2270, 2003; Strausberg R.L., 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99, 16899-16903, 2002; US2003/186372 (权利要求11); US2003/186373 (权利要求11); US2003/119131 (权利要求1; 图52); US2003/119122 (权利要求1; 20图52); US2003/119126 (权利要求1); US2003/119121 (权利要求1; 图52); US2003/119129 (权利要求1); US2003/119130 (权利要求1); US2003/119128 (权利要求1; 图52); US2003/119125 (权利要求1); W02003/016475 (权利要求1); W02002/02634 (权利要求1)
- [0743] (22) EphB2R (DRT, ERK, Hek5, EPHT3, Tyro5)
- [0744] 核苷酸
- [0745] Genbank收录号NM_004442

- [0746] Genbank版本号NM_004442.6GI:111118979
- [0747] Genbank记录更新日期:2012年9月8日04:43PM
- [0748] 多肽
- [0749] Genbank收录号NP_004433
- [0750] Genbank版本号NP_004433.2GI:21396504
- [0751] Genbank记录更新日期:2012年9月8日04:43PM
- [0752] 交叉引用
- [0753] Chan,J.and Watt,V.M.,Oncogene 6(6),1057-1061(1991)Oncogene 10(5):897-905(1995),Annu.Rev.Neurosci.21:309-345(1998),Int.Rev.Cytol.196:177-244(2000);W02003042661(权利要求12);W0200053216(权利要求1;第41页);W02004065576(权利要求1);W02004020583(权利要求9);W02003004529(第128-132页);W0200053216(权利要求1;第42页);MIM:600997.
- [0754] (23) ASLG659 (B7h)
- [0755] 核苷酸
- [0756] Genbank收录号AX092328
- [0757] Genbank版本号AX092328.1GI:13444478
- [0758] Genbank记录更新日期:2011年1月26日07:37AM
- [0759] 交叉引用
- [0760] US2004/0101899(权利要求2);W02003104399(权利要求11);W02004000221(图3);US2003/165504(权利要求1);US2003/124140(实施例2);US2003/065143(图60);W02002/102235(权利要求13;第299页);US2003/091580(实施例2);W02002/10187(权利要求6;图10);W02001/94641(权利要求12;图7b);W02002/02624(权利要求13;图1A-1B);US2002/034749(权利要求54;第45-46页);W02002/06317(实施例2;第320-321页,权利要求34;第321-322页);W02002/71928(第468-469页);W02002/02587(实施例1;图1);W02001/40269(实施例3;第190-192页);W02000/36107(实施例2;第205-207页);W02004/053079(权利要求12);W02003/004989(权利要求1);W02002/71928(第233-234,452-453页);W0 01/16318.
- [0761] (24) PSCA(前列腺干细胞抗原前体)
- [0762] 核苷酸
- [0763] Genbank收录号AJ297436
- [0764] Genbank版本号AJ297436.1GI:9367211
- [0765] Genbank记录更新日期:2011年2月1日11:25AM
- [0766] 多肽
- [0767] Genbank收录号CAB97347
- [0768] Genbank版本号CAB97347.1GI:9367212
- [0769] Genbank记录更新日期:2011年2月1日11:25AM
- [0770] 交叉引用
- [0771] Reiter R.E.,等人,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.95,1735-1740,1998;Gu Z.,等人,Oncogene19,1288-1296,2000;Biochem.Biophys.Res.Commun.(2000) 275(3):783-788;W02004/022709;EP1394274(实施例11);US2004/018553(权利要求17);W02003/008537(权

利要求1);W02002/81646(权利要求1;第164页);W02003/003906(权利要求10;第288页);W02001/40309(实施例1;图17);US2001/055751(实施例1;图1b);W02000/32752(权利要求18;图1);W098/51805(权利要求17;第97页);W098/51824(权利要求10;第94页);W098/40403(权利要求2;图1B);Accession:043653;EMBL;AF043498;AAC39607.1

[0772] (25) GEDA

[0773] 核苷酸

[0774] Genbank收录号AY260763

[0775] Genbank版本号AY260763.1GI:30102448

[0776] Genbank记录更新日期:2010年3月11日02:24AM

[0777] 多肽

[0778] Genbank收录号AAP14954

[0779] Genbank版本号AAP14954.1GI:30102449

[0780] Genbank记录更新日期:2010年3月11日02:24AM

[0781] 交叉引用

[0782] AP14954脂肪瘤HMGIC融合伴侣样蛋白/pid=AAP14954.1-人类(人);W02003/054152(权利要求20);W02003/000842(权利要求1);W02003/023013(实施例3,权利要求20);US2003/194704(权利要求45);GI:30102449;

[0783] (26) BAFF-R(B细胞活化因子受体,BLyS受体3,BR3)

[0784] 核苷酸

[0785] Genbank收录号AF116456

[0786] Genbank版本号AF116456.1GI:4585274

[0787] Genbank记录更新日期:2010年3月10日09:44PM

[0788] 多肽

[0789] Genbank收录号AAD25356

[0790] Genbank版本号AAD25356.1GI:4585275

[0791] Genbank记录更新日期:2010年3月10日09:44PM

[0792] 交叉引用

[0793] BAFF受体/pid=NP_443177.1-人类:Thompson,J.S.,等人,Science 293(5537), 2108-2111(2001);W02004/058309;W02004/011611;W02003/045422(实施例;第32-33页);W02003/014294(权利要求35;图6B);W02003/035846(权利要求70;第615-616页);W02002/94852(136-137栏);W02002/3876625(权利要求3;第133页);W02002/24909(实施例3;图3);MIM:606269;NP_443177.1;NM_052945_1;AF132600

[0794] (28) CD79a(CD79A,CD79 α),免疫球蛋白相关的 α ,与Ig β (CD79B)相互作用并在表面与IgM分子形成结合体、转导B细胞分化中涉及的信号的B细胞特异性蛋,pI:4.84,MW:25028TM:2[P]Gene Chromosome:19q13.2).

[0795] 核苷酸

[0796] Genbank收录号NM_001783

[0797] Genbank版本号NM_001783.3GI:90193587

[0798] Genbank记录更新日期:2012年6月26日01:48PM

[0799] 多肽

[0800] Genbank收录号NP_001774

[0801] Genbank版本号NP_001774.1GI:4502685

[0802] Genbank记录更新日期:2012年6月26日01:48PM

[0803] 交叉引用

[0804] W02003/088808,US2003/0228319;W02003/062401 (权利要求9);US2002/150573 (权利要求4,第13-14页);W099/58658 (权利要求13,图16);W092/07574 (图1);US5644033;Ha等人,(1992) J. Immunol.148 (5):1526-1531;Müller等人,(1992) Eur. J. Immunol..22:1621-1625;Hashimoto等人,(1994) Immunogenetics 40 (4):287-295;Preud' homme等人,(1992) Clin. Exp. Immunol.90 (1):141-146;Yu等人,(1992) J. Immunol.148 (2) 633-637;Sakaguchi等人,(1988) EMBO J.7 (11):3457-3464

[0805] (29) CXCR5 (伯基特淋巴瘤受体1,由CXCL13趋化因子激活的G蛋白偶联受体,在淋巴细胞迁移和体液防御中起作用,在HIV-2感染中以及可能在AIDS、淋巴瘤、骨髓瘤和白血病的进展中起作用);372aa,pI:8.54MW:41959TM:7[P]Gene Chromosome:11q23.3,

[0806] 核苷酸

[0807] Genbank收录号NM_001716

[0808] Genbank版本号NM_001716.4GI:342307092

[0809] Genbank记录更新日期:2012年9月30日01:49PM

[0810] 多肽

[0811] Genbank收录号NP_001707

[0812] Genbank版本号NP_001707.1GI:4502415

[0813] Genbank记录更新日期:2012年9月30日01:49PM

[0814] 交叉引用

[0815] W02004/040000;W02004/015426;US2003/105292 (实施例2);US6555339 (实施例2);W02002/61087 (图1);W02001/57188 (权利要求20,第269页);W02001/72830 (第12-13页);W02000/22129 (实施例1,第152-153页,15实施例2,第254-256页);W099/28468 (权利要求1,第38页);US5440021 (实施例2,49-52栏);W094/28931 (第56-58页);W092/17497 (权利要求7,图5);Dobner等人,(1992) Eur. J. Immunol.22:2795-2799;Barella等人,(1995) Biochem. J.309:773-779

[0816] (30) HLA-DOB (结合肽并将其呈递给CD4+T淋巴细胞的MHC II类分子(Ia抗原)的β亚基);273aa,pI:6.56,MW:30820.TM:1[P]Gene Chromosome:6p21.3)

[0817] 核苷酸

[0818] Genbank收录号NM_002120

[0819] Genbank版本号NM_002120.3GI:118402587

[0820] Genbank记录更新日期:2012年9月8日04:46PM

[0821] 多肽

[0822] Genbank收录号NP_002111

[0823] Genbank版本号NP_002111.1GI:4504403

[0824] Genbank记录更新日期:2012年9月8日04:46PM

[0825] 交叉引用

[0826] Tonnelie等人, (1985) EMBO J. 4 (11):2839-2847; Jonsson等人, (1989) Immunogenetics 29 (6):411-413; Beck等人, (1992) J. Mol. Biol. 228:433-441; Strausberg等人, (2002) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99:16899-16903; Servenius等人, (1987) J. Biol. Chem. 262:8759-8766; Beck等人, (1996) J. Mol. Biol. 252:55:1-13; Naruse等人, (2002) Tissue Antigens 59:512-519; W099/58658 (权利要求13, 图15); US6153408 (35-38栏); US5976551 (168-170栏); US6011146 (145-146栏); Kasahara等人, (1989) Immunogenetics 30 (1):66-68; Larhammar等人, (1985) J. Biol. Chem. 260 (26):14111-14119

[0827] (31) P2X5 (嘌呤能受体P2X配体门控离子通道5 (由胞外ATP门控的离子通道) 可参与突触传递和神经发生, 其缺陷会造成特发性逼尿肌不稳定的病理生理学); 422aa, pI: 7.63, MW: 47206TM: 1 [P] Gene Chromosome: 17p13.3).

[0828] 核苷酸

[0829] Genbank收录号NM_002561

[0830] Genbank版本号NM_002561.3GI:325197202

[0831] Genbank记录更新日期: 2012年6月27日12:41AM

[0832] 多肽

[0833] Genbank收录号NP_002552

[0834] Genbank版本号NP_002552.2GI:28416933

[0835] Genbank记录更新日期: 2012年6月27日12:41AM

[0836] 交叉引用

[0837] Le等人, (1997) FEBS Lett. 418 (1-2):195-199; W02004/047749; W02003/072035 (权利要求10); Touchman等人, (2000) Genome Res. 10:165-173; W02002/22660 (权利要求20); W02003/093444 (权利要求1); W02003/087768 (权利要求1); W02003/029277 (第82页)

[0838] (32) CD72 (B细胞分化抗原CD72, Lyb-2); 359aa, pI: 8.66, MW: 40225, TM: 1 5 [P] Gene Chromosome: 9p13.3).

[0839] 核苷酸

[0840] Genbank收录号NM_001782

[0841] Genbank版本号NM_001782.2GI:194018444

[0842] Genbank记录更新日期: 2012年6月26日01:43PM

[0843] 多肽

[0844] Genbank收录号NP_001773

[0845] Genbank版本号NP_001773.1GI:4502683

[0846] Genbank记录更新日期: 2012年6月26日01:43PM

[0847] 交叉引用

[0848] W02004042346 (权利要求65); W02003/026493 (第51-52, 57-58页); W02000/75655 (第105-106页); Von Hoegen等人, (1990) J. Immunol. 144 (12):4870-4877; Strausberg等人, (2002) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99:16899-16903.

[0849] (33) LY64 (淋巴细胞抗原64 (RP105), 富含亮氨酸的重复序列 (LRR) 家族的I型膜蛋

白,其调节B细胞活化和凋亡,其功能丧失与系统性红斑狼疮患者的疾病活动增加相关);
661aa,pI:6.20,MW:74147TM:1[P]Gene Chromosome:5q12) .

[0850] 核苷酸

[0851] Genbank收录号NM_005582

[0852] Genbank版本号NM_005582.2GI:167555126

[0853] Genbank记录更新日期:2012年9月2日01:50PM

[0854] 多肽

[0855] Genbank收录号NP_005573

[0856] Genbank版本号NP_005573.2GI:167555127

[0857] Genbank记录更新日期:2012年9月2日01:50PM

[0858] 交叉引用

[0859] US2002/193567;W097/07198(权利要求11,第39-42页);Miura等人,(1996) 15Genomics 38(3):299-304;Miura等人,(1998) Blood 92:2815-2822;W02003/083047; W097/44452(权利要求8,第57-61页);W02000/12130(第24-26页) .

[0860] (34)FcRH1(Fc受体样蛋白1是包含C2型Ig样和ITAM结构域的免疫球蛋白Fc结构域的推定受体,其在B淋巴细胞分化中起作用);429aa,pI:5.28,MW:46925TM:1[P]Gene Chromosome:1q21-1q22)

[0861] 核苷酸

[0862] Genbank收录号NM_052938

[0863] Genbank版本号NM_052938.4GI:226958543

[0864] Genbank记录更新日期:2012年9月2日01:43PM

[0865] 多肽

[0866] Genbank收录号NP_443170

[0867] Genbank版本号NP_443170.1GI:16418419

[0868] Genbank记录更新日期:2012年9月2日01:43PM

[0869] 交叉引用

[0870] W02003/077836;W02001/38490(权利要求6,图18E-1-18-E-2);Davis等人,(2001) Proc.Natl.Acad.Sci USA 98(17):9772-9777;W02003/089624(权利要求8);EP1347046(权利要求1);W02003/089624(权利要求7) .

[0871] (35)IRTA2(免疫球蛋白超家族受体易位相关2,在B细胞发育和淋巴瘤形成中可能起作用的推定免疫受体;在一些B细胞恶性肿瘤中发生的通过易位对基因的去调节); 977aa,pI:6.88,MW:106468,TM:1[P]Gene Chromosome:1q21)

[0872] 核苷酸

[0873] Genbank收录号AF343662

[0874] Genbank版本号AF343662.1GI:13591709

[0875] Genbank记录更新日期:2010年3月11日01:16AM

[0876] 多肽

[0877] Genbank收录号AAK31325

[0878] Genbank版本号AAK31325.1GI:13591710

[0879] Genbank记录更新日期:2010年3月11日01:16AM

[0880] 交叉引用

[0881] AF343663, AF343664, AF343665, AF369794, AF397453, AK090423, AK090475, AL834187, AY358085; 小鼠: AK089756, AY158090, AY506558; NP_112571.1; W02003/024392 (权利要求2, 图97); Nakayama等人, (2000) Biochem. Biophys. Res. Commun. 277 (1): 124-127; W02003/077836; W02001/38490 (权利要求3, 图18B-1-18B-2) .

[0882] (36) TENB2 (TMEFF2, tomoregulin, TPEF, HPP1, TR, 推定的跨膜蛋白多糖, 与EGG/hereregulin生长因子家族和卵泡抑素相关); 374aa)

[0883] 核苷酸

[0884] Genbank收录号AF179274

[0885] Genbank版本号AF179274.2GI:12280939

[0886] Genbank记录更新日期:2010年3月11日01:05AM

[0887] 多肽

[0888] Genbank收录号AAD55776

[0889] Genbank版本号AAD55776.2GI:12280940

[0890] Genbank记录更新日期:2010年3月11日01:05AM

[0891] 交叉引用

[0892] NCBI Accession: AAD55776, AAF91397, AAG49451, NCBI RefSeq: NP_057276; NCBI 基因: 23671; OMIM: 605734; SwissProt Q9UIK5; AY358907, CAF85723, CQ782436; W02004/074320; JP2004113151; W02003/042661; W02003/009814; EP1295944 (第页69-70); W02002/30268 (第329页); W02001/90304; US2004/249130; US2004/022727; W02004/063355; US2004/197325; US2003/232350; 5US2004/005563; US2003/124579; Horie等人, (2000) Genomics 67:146-152; Uchida等人, (1999) Biochem. Biophys. Res. Commun. 266:593-602; Liang等人, (2000) Cancer Res. 60:4907-12; Glynn-Jones等人, (2001) Int J Cancer. Oct 15; 94 (2): 178-84.

[0893] (38) SST (生长抑素受体; 注意存在5种亚型)

[0894] (38.1) SSTR2 (生长抑素受体2)

[0895] 核苷酸

[0896] Genbank收录号NM_001050

[0897] Genbank版本号NM_001050.2GI:44890054

[0898] Genbank记录更新日期:2012年8月19日01:37PM

[0899] 多肽

[0900] Genbank收录号NP_001041

[0901] Genbank版本号NP_001041.1GI:4557859

[0902] Genbank记录更新日期:2012年8月19日01:37PM

[0903] 交叉引用

[0904] Yamada Y., 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89 (1), 251-255 (1992); Susini C., 等人, Ann Oncol. 2006 Dec; 17 (12): 1733-42

[0905] 其它信息

- [0906] 官方符号:SSTR2
- [0907] 其它命名:SRIF-1;SS2R;2型生长抑素受体
- [0908] (38.2) SSTR5 (生长抑素受体5)
- [0909] 核苷酸
- [0910] Genbank收录号D16827
- [0911] Genbank版本号D16827.1GI:487683
- [0912] Genbank记录更新日期:2006年8月1日12:45PM
- [0913] 多肽
- [0914] Genbank收录号BAA04107
- [0915] Genbank版本号BAA04107.1GI:487684
- [0916] Genbank记录更新日期:2006年8月1日12:45PM
- [0917] 交叉引用
- [0918] Yamada, Y., 等人, Biochem. Biophys. Res. Commun. 195 (2), 844-852 (1993)
- [0919] 其它信息
- [0920] 官方符号:SSTR5
- [0921] 其它别名:SS-5-R
- [0922] 其它命名:5亚型生长抑素受体;5型生长抑素受体
- [0923] (38.3) SSTR1
- [0924] (38.4) SSTR3
- [0925] (38.5) SSTR4
- [0926] AvB6-两个亚单元 (39+40)
- [0927] (39) ITGAV (整合素, α V;
- [0928] 核苷酸
- [0929] Genbank收录号M14648J02826M18365
- [0930] Genbank版本号M14648.1GI:340306
- [0931] Genbank记录更新日期:2010年6月23日08:56AM
- [0932] 多肽
- [0933] Genbank收录号AAA36808
- [0934] Genbank版本号AAA36808.1GI:340307
- [0935] Genbank记录更新日期:2010年6月23日08:56AM
- [0936] 交叉引用
- [0937] Suzuki S., 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 83 (22), 8614-8618 (1986)
- [0938] 其它信息
- [0939] 官方符号:ITGAV
- [0940] 其它别名:CD51, MSK8, VNRA, VTNR
- [0941] 其它命名:通过单克隆抗体L230鉴定的抗原;整合素 α -V;整合素 α V β 3;整合素, α V (玻璃粘连蛋白受体, α 多肽, 抗原CD51);玻璃粘连蛋白受体亚单元 α
- [0942] (40) ITGB6 (整合素, β 6)
- [0943] 核苷酸

- [0944] Genbank收录号NM_000888
- [0945] Genbank版本号NM_000888.3GI:9966771
- [0946] Genbank记录更新日期:2012年6月27日12:46AM
- [0947] 多肽
- [0948] Genbank收录号NP_000879
- [0949] Genbank版本号NP_000879.2GI:9625002
- [0950] Genbank记录更新日期:2012年6月27日12:46AM
- [0951] 交叉引用
- [0952] Sheppard D.J., 等人, Biol.Chem.265 (20) ,11502-11507 (1990)
- [0953] 其它信息
- [0954] 官方符号:ITGB6
- [0955] 其它命名:整合素 β -6
- [0956] 抗体
- [0957] Biogen:US 7,943,742-杂交瘤克隆6.3G9和6.8G6分别保藏于ATCC,收录号分别为ATCC PTA-3649和-3645。
- [0958] Biogen:US7,465,449-在一些实施方案中,该抗体包含与杂交瘤6.1A8、6.3G9、6.8G6、6.2B1、6.2B10、6.2A1、6.2E5、7.1G10、7.7G5或7.1C₅产生的抗体相同的重链和轻链多肽序列。
- [0959] Centocor (J&J) :US7,550,142;US7,163,681
- [0960] 例如,在US 7,550,142中-具有包含SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列的人重链和人轻链可变区的抗体。
- [0961] Seattle Genetics:15H3 (Ryan MC., 等人, Cancer Res 2012年4月15日;72 (8补充):4630)
- [0962] (41) CEACAM5 (癌胚抗原-相关的细胞粘附分子5)
- [0963] 核苷酸
- [0964] Genbank收录号M17303
- [0965] Genbank版本号M17303.1GI:178676
- [0966] Genbank记录更新日期:2010年6月23日08:47AM
- [0967] 多肽
- [0968] Genbank收录号AAB59513
- [0969] Genbank版本号AAB59513.1GI:178677
- [0970] Genbank记录更新日期:2010年6月23日08:47AM
- [0971] 交叉引用
- [0972] Beauchemin N., 等人, Mol.Cell.Biol.7 (9) ,3221-3230 (1987)
- [0973] 其它信息
- [0974] 官方符号:CEACAM5
- [0975] 其它别名:CD66e, CEA
- [0976] 其它命名:胎粪抗原100
- [0977] 抗体

- [0978] AstraZeneca-MedImmune:US 20100330103;US20080057063;
- [0979] US20020142359
- [0980] -例如,具有以下序列的互补决定区(CDR)的抗体:重链:CDR1-DNYMH,CDR2-WIDPENGDT E YAPKFRG,CDR3-LIYAGYLAMD Y;和轻链CDR1-SASSSVTYMH,CDR2-STSNLAS,CDR3-QQRSTYPLT。
- [0981] -杂交瘤806.077,以欧洲细胞培养中心(ECACC)保藏编号96022936保藏。
- [0982] Research Corporation Technologies,Inc.:US5,047,507
- [0983] Bayer Corporation:US6,013,772
- [0984] BioAlliance:US7,982,017;US7,674,605
- [0985] • US 7,674,605
- [0986] -包含来自SEQ ID NO:1氨基酸序列的重链可变区序列和来自SEQ ID NO:2氨基酸序列的轻链可变区序列的抗体。
- [0987] -来自SEQ ID NO:5的氨基酸序列的重链可变区序列和来自SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链可变区序列的抗体。
- [0988] Celltech Therapeutics Limited:US5,877,293
- [0989] The Dow Chemical Company:US5,472,693;US6,417,337;US6,333,405
- [0990] US5,472,693-例如,ATCC No.CRL-11215
- [0991] US6,417,337-例如,ATCC CRL-12208
- [0992] US6,333,405-例如,ATCC CRL-12208
- [0993] Immunomedics,Inc:US7,534,431;US7,230,084;US7,300,644;US6,730,300;
- [0994] US20110189085
- [0995] -具有轻链可变区的CDR的抗体,包含:包含KASQDVGTSVA(SEQ ID NO:20)的CDR1;包含WTSTRHT(SEQ ID NO:21)的CDR2;和包含QQYSLYRS(SEQ ID NO:22)的CDR3;
- [0996] 且所述抗-CEA抗体的重链可变区的CDR包含:包含TYWMS(SEQ ID NO:23)的CDR1;包含EIHPDSSTINYAPSLKD(SEQ ID NO:24)的CDR2;和包含LYFGFPWFAY(SEQ ID NO:25)的CDR3。
- [0997] US20100221175;US20090092598;US20070202044;US20110064653;US20090185974;US20080069775。
- [0998] (42) MET (met原癌基因;肝细胞生长因子受体)
- [0999] 核苷酸
- [1000] Genbank收录号M35073
- [1001] Genbank版本号M35073.1GI:187553
- [1002] Genbank记录更新日期:2012年3月6日11:12AM
- [1003] 多肽
- [1004] Genbank收录号AAA59589
- [1005] Genbank版本号AAA59589.1GI:553531
- [1006] Genbank记录更新日期:2012年3月6日11:12AM
- [1007] 交叉引用
- [1008] Dean M.,等人,Nature 318 (6044),385-388 (1985)

[1009] 其它信息

[1010] 官方符号:MET

[1011] 其它别名:AUTS9,HGFR,RCCP2,c-Met

[1012] 其它命名:HGF受体;HGF/SF受体;SF受体;肝细胞生长因子受体;met原癌基因酪氨酸激酶;原癌基因c-Met;分散因子受体;酪氨酸-蛋白质激酶Met。

[1013] 抗体

[1014] Abgenix/Pfizer:US20100040629

[1015] 例如,由美国典型培养物保藏中心(ATCC)收录号为PTA-5026的杂交瘤13.3.2产生的抗体;由ATCC收录号为PTA-5027的杂交瘤9.1.2产生的抗体;由ATCC收录号为PTA-5028的杂交瘤8.70.2产生的抗体;或由ATCC收录号为PTA-5029的杂交瘤6.90.3产生的抗体。

[1016] Amgen/Pfizer:US20050054019

[1017] 例如,抗体,其包含具有SEQ ID NO:2中示出的氨基酸序列的重链(其中X2为谷氨酸且X4为丝氨酸)和具有SEQ ID NO:4中示出的氨基酸序列的轻链(其中X8为丙氨酸),不含信号序列;抗体,其包含具有SEQ ID NO:6中示出的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:8中示出的氨基酸序列的轻链,不含信号序列;抗体,其包含具有SEQ ID NO:10中示出的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:12中示出的氨基酸序列的轻链,不含信号序列;或抗体,其包含具有SEQ ID NO:14中示出的氨基酸序列的重链和具有SEQ ID NO:16中示出的氨基酸序列的轻链,不含信号序列。

[1018] Agouron Pharmaceuticals (Now Pfizer):US20060035907

[1019] Eli Lilly:US20100129369

[1020] Genentech:US5,686,292;US20100028337;US20100016241;US20070129301;US20070098707;US20070092520,US20060270594;US20060134104;US20060035278;US20050233960;US20050037431

[1021] US 5,686,292-例如,ATCC HB-11894和ATCC HB-11895

[1022] US 20100016241-例如,ATCC HB-11894(杂交瘤1A3.3.13)或HB-11895(杂交瘤5D5.11.6)

[1023] National Defense Medical Center,Taiwan:Lu RM.,等人,Biomaterials.2011Apr;32(12):3265-74.

[1024] Novartis:US20090175860

[1025] -例如,抗体,其包含:重链4687的CDR1、CDR2和CDR3的序列,其中重链4687的CDR1、CDR2和CDR3的序列分别为SEQ ID NO:58的残基26-35、50-65和98-102;和轻链5097的CDR1、CDR2和CDR3的序列,其中轻链5097的CDR1、CDR2和CDR3的序列分别为SEQ ID NO:37的残基24-39、55-61和94-100。

[1026] Pharmacia Corporation:US20040166544

[1027] Pierre Fabre:US20110239316,US20110097262,US20100115639

[1028] Sumsung:US 20110129481-例如,由收录号KCLRF-BP-00219或收录号KCLRF-BP-00223的杂交瘤细胞产生的单克隆抗体。

[1029] Samsung:US 20110104176-例如,由收录号KCLRF-BP-00220的杂交瘤细胞产生的抗体。

- [1030] University of Turin Medical School:DN-30Pacchiana G.,等人,J Biol Chem.2010Nov 12;285 (46) :36149-57
- [1031] Van Andel Research Institute:Jiao Y.,等人,Mol Biotechnol.2005Sep;31 (1) :41-54.
- [1032] (44) CA9 (碳酸酐酶IX)
- [1033] 核苷酸
- [1034] Genbank收录号.X66839
- [1035] Genbank版本号X66839.1GI:1000701
- [1036] Genbank记录更新日期:2011年2月2日10:15AM
- [1037] 多肽
- [1038] Genbank收录号CAA47315
- [1039] Genbank版本号CAA47315.1GI:1000702
- [1040] Genbank记录更新日期:2011年2月2日10:15AM
- [1041] 交叉引用
- [1042] Pastorek J.,等人,致癌基因9 (10) ,2877-2888 (1994)
- [1043] 其它信息
- [1044] 官方符号:CA9
- [1045] 其它别名:CAIX,MN
- [1046] 其它命名:CA-IX;P54/58N;RCC-相关的抗原G250;RCC-相关的蛋白G250;碳酸脱水酶IX;碳酸酐酶9;碳酸脱水酶;膜抗原MN;pMW1;肾细胞癌-相关的抗原G250
- [1047] 抗体
- [1048] Abgenix/Amgen:US20040018198
- [1049] Affibody:Anti-CAIX Affibody分子
- [1050] (<http://www.affibody.com/en/Product-Portfolio/Pipeline/>)
- [1051] Bayer:US7,462,696
- [1052] Bayer/Morphosys:3ee9mAb-Petrul HM.,等人,Mol Cancer Ther.2012Feb;11 (2) :340-9
- [1053] Harvard Medical School:抗体G10、G36、G37、G39、G45、G57、G106、G119、G6、G27、G40和G125.Xu C.,等人,PLoS One.2010Mar 10;5 (3) :e9625
- [1054] Institute of Virology,Slovak Academy of Sciences (Bayer) -US5,955,075
- [1055] -例如,M75-ATCC收录号HB 11128或MN12-ATCC收录号HB 11647
- [1056] Institute of Virology,Slovak Academy of Sciences:US7,816,493
- [1057] -例如,由杂交瘤VU-M75分泌的M75单克隆抗体,该杂交瘤以ATCC号HB 11128保藏在美国典型培养物保藏中心;或由杂交瘤V/10-VU分泌的V/10单克隆抗体,该杂交瘤以收录号LMBP 6009CB保藏在位于比利时根特的根特大学分子生物学质粒收集实验室 (LMBP) 的比利时微生物协调保藏中心 (BCCM) 的国际保藏机构。
- [1058] Institute of Virology,Slovak Academy of Sciences US20080177046; US20080176310;US20080176258;US20050031623
- [1059] Novartis:US20090252738

- [1060] Willex:US7,691,375-例如,由杂交瘤细胞系DSM ASC 2526产生的抗体。
- [1061] Willex:US20110123537;Rencarex:Kennett RH.,等人,Curr Opin Mol Ther.2003Feb;5(1):70-5
- [1062] Xencor:US20090162382
- [1063] (45) EGFRvIII (表皮生长因子受体 (EGFR), 转录变体3,
- [1064] 核苷酸
- [1065] Genbank收录号NM_201283
- [1066] Genbank版本号NM_201283.1GI:41327733
- [1067] Genbank记录更新日期:2012年9月30日01:47PM
- [1068] 多肽
- [1069] Genbank收录号NP_958440
- [1070] Genbank版本号NP_958440.1GI:41327734
- [1071] Genbank记录更新日期:2012年9月30日01:47PM
- [1072] 交叉引用
- [1073] Batra SK.,等人,Cell Growth Differ 1995;6:1251-1259.
- [1074] 抗体:
- [1075] US7,628,986和US7,736,644 (Amgen)
- [1076] 例如,选自SEQ ID NO:142和变体的重链可变区氨基酸序列&选自:SEQ ID NO:144和变体的轻链可变区氨基酸序列。
- [1077] US20100111979 (Amgen)
- [1078] 例如,包含重链氨基酸序列的抗体,该序列包含:
- [1079] CDR1,由选自以下的序列组成:抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16) 和333 (SEQ ID NO:17) 的CDR1区的氨基酸序列;
- [1080] CDR2,由选自以下的序列组成:抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16) 和333 (SEQ ID NO:17) 的CDR2区的氨基酸序列;和
- [1081] CDR3,由选自以下的序列组成:抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16) 和333 (SEQ ID NO:17) 的CDR3区的氨基酸序列。
- [1082] US20090240038 (Amgen)
- [1083] 例如,具有至少一个重链或轻链多肽的抗体,其包含与选自以下的氨基酸序列具有至少90%的同一性的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:144及其任何组合。
- [1084] US20090175887 (Amgen)
- [1085] 例如,具有重链氨基酸序列的抗体,该序列选自抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131

(SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16) 和333 (SEQ ID NO:17) 的重链氨基酸序列。

[1086] US20090156790 (Amgen)

[1087] 例如,具有重链多肽和轻链多肽的抗体,其中至少一个重链或轻链多肽包含与选自以下的氨基酸序列具有至少90%的同一性的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:142、SEQ ID NO:144及其任何组合。

[1088] US20090155282,US20050059087和US20050053608 (Amgen)

[1089] 例如,抗体重链氨基酸序列,其选自抗体13.1.2 (SEQ ID NO:138)、131 (SEQ ID NO:2)、170 (SEQ ID NO:4)、150 (SEQ ID NO:5)、095 (SEQ ID NO:7)、250 (SEQ ID NO:9)、139 (SEQ ID NO:10)、211 (SEQ ID NO:12)、124 (SEQ ID NO:13)、318 (SEQ ID NO:15)、342 (SEQ ID NO:16) 和333 (SEQ ID NO:17) 的重链氨基酸序列。

[1090] MR1-1 (US7,129,332;Duke)

[1091] 例如,具有SEQ ID NO.18序列的变体抗体,其具有CDR3VH中的S98P-T99Y取代以及CDR3VL中的F92W取代。

[1092] L8A4、H10、Y10 (Wikstrand C.J.,等人,Cancer Res.1995Jul 15;55 (14):3140-8; Duke)

[1093] US20090311803 (Harvard University)

[1094] 例如,抗体重链可变区为SEQ ID NO:9,且轻链可变区氨基酸序列为SEQ ID NO:3。

[1095] US20070274991 (EMD72000,也被称为马妥珠单抗 (matuzumab); Harvard University)

[1096] 例如,轻链和重链分别为SEQ ID NO:3&9。

[1097] US6,129,915 (Schering)

[1098] 例如,SEQ.ID NO:1、2、3、4、5和6。

[1099] mAb CH₁₂-Wang H.,等人,FASEB J.2012Jan;26 (1):73-80 (Shanghai Cancer Institute)。

[1100] RAbDMvIII-Gupta P.,等人,BMC Biotechnol.2010Oct 7;10:72 (Stanford University Medical Center)。

[1101] mAb Ua30-Ohman L.,等人,Tumour Biol.2002Mar-Apr;23 (2):61-9 (Uppsala University)。

[1102] Han DG.,等人,Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.2010Jan;30 (1):25-9 (Xi'an Jiaotong University)。

[1103] (46) CD33 (CD33分子)

[1104] 核苷酸

[1105] Genbank收录号M_23197

[1106] Genbank版本号NM_23197.1GI:180097

[1107] Genbank记录更新日期:2010年6月23日08:47AM

[1108] 多肽

[1109] Genbank收录号AAA51948

- [1110] Genbank版本号AAA51948.1GI:188098
- [1111] Genbank记录更新日期:2010年6月23日08:47AM
- [1112] 交叉引用
- [1113] Simmons D., 等人, J. Immunol. 141 (8), 2797-2800 (1988)
- [1114] 其它信息
- [1115] 官方符号: CD33
- [1116] 其它别名: SIGLEC-3, SIGLEC3, p67
- [1117] 其它命名: CD33 抗原 (gp67); gp67; 髓细胞表面抗原 CD33; 唾液酸结合的 Ig 样凝集素 3; 唾液酸-结合的 Ig 样凝集素
- [1118] 抗体
- [1119] H195 (林妥珠单抗) - Raza A., 等人, Leuk Lymphoma. 2009 Aug; 50 (8): 1336-44; US6,759,045 (Seattle Genetics/Immunomedics)
- [1120] mAb OKT9: Sutherland, D.R. 等人 Proc Natl Acad Sci USA 78 (7): 4515-4519 1981, Schneider, C., 等人, J Biol Chem 257, 8516-8522 (1982)
- [1121] mAb E6: Hoogenboom, H.R., 等人, J Immunol 144, 3211-3217 (1990)
- [1122] US6,590,088 (Human Genome Sciences)
- [1123] 例如, SEQ ID NO: 1 和 2 以及 ATCC 收录号 97521
- [1124] US7,557,189 (Immunogen)
- [1125] 例如, 抗体或其片段, 其包含含有具有氨基酸序列 SEQ ID NO: 1-3 的三个 CDR 的重链可变区, 以及含有具有氨基酸序列 SEQ ID NO: 4-6 的三个 CDR 的轻链可变区。
- [1126] (50) CD30-TNFRSF8 (肿瘤坏死因子受体超家族, 成员 8)
- [1127] 核苷酸
- [1128] Genbank 收录号 M83554
- [1129] Genbank 版本号 M83554.1GI:180095
- [1130] Genbank 记录更新日期: 2010 年 6 月 23 日 08:53AM
- [1131] 多肽
- [1132] Genbank 收录号 AAA51947
- [1133] Genbank 版本号 AAA51947.1GI:180096
- [1134] Genbank 记录更新日期: 2010 年 6 月 23 日 08:53AM
- [1135] 交叉引用
- [1136] Durkop H., 等人, Cell 68 (3), 421-427 (1992)
- [1137] 其它信息
- [1138] 官方符号: TNFRSF8
- [1139] 其它别名: CD30, D1S166E, Ki-1
- [1140] 其它命名: CD30L 受体; Ki-1 抗原; 细胞因子受体 CD30; 淋巴细胞激活抗原 CD30; 肿瘤坏死因子受体超家族成员 8
- [1141] (51) BCMA (B 细胞成熟抗原) - TNFRSF17 (肿瘤坏死因子受体超家族, 成员 17)
- [1142] 核苷酸
- [1143] Genbank 收录号 Z29574

- [1144] Genbank版本号Z29574.1GI:471244
- [1145] Genbank记录更新日期:2011年2月2日10:40AM
- [1146] 多肽
- [1147] Genbank收录号CAA82690
- [1148] Genbank版本号CAA82690.1GI:471245
- [1149] Genbank记录更新日期:2011年2月2日10:40AM
- [1150] 交叉引用
- [1151] Laabi Y.,等人,Nucleic Acids Res.22 (7) ,1147-1154 (1994)
- [1152] 其它信息
- [1153] 官方符号:TNFRSF17
- [1154] 其它别名:BCM,BCMA,CD269
- [1155] 其它命名:B细胞成熟抗原;B细胞成熟因子;B细胞成熟蛋白;肿瘤坏死因子受体超家族成员17
- [1156] (52) CT Ags-CTA (癌症睾丸抗原)
- [1157] 交叉引用
- [1158] Fratta E.,等人Mol Oncol.2011Apr;5 (2) :164-82;Lim SH.,et al Am J Blood Res.2012;2 (1) :29-35.
- [1159] (53) CD174 (Lewis, Y) -FUT3 (岩藻糖基转移酶3 (半乳糖苷3 (4) -L-岩藻糖基转移酶,路易斯血型)
- [1160] 核苷酸
- [1161] Genbank收录号NM000149
- [1162] Genbank版本号NM000149.3GI:148277008
- [1163] Genbank记录更新日期:2012年6月26日04:49PM
- [1164] 多肽
- [1165] Genbank收录号NP_000140
- [1166] Genbank版本号NP_000140.1GI:4503809
- [1167] Genbank记录更新日期:2012年6月26日04:49PM
- [1168] 交叉引用
- [1169] Kukowska-Latallo, J.F., 等人, Genes Dev. 4 (8) , 1288-1303 (1990)
- [1170] 其它信息
- [1171] 官方符号:FUT3
- [1172] 其它别名:CD174, FT3B, FucT-III, LE, Les
- [1173] 其它命名:Lewis FT; α -(1,3/1,4)-岩藻糖基转移酶;路易斯血型 α -4-岩藻糖基转移酶;岩藻糖基转移酶III;半乳糖苷3 (4) -L-岩藻糖基转移酶
- [1174] (54) CLEC14A (C-型凝集素结构域家族14, 成员A; Genbank收录号NM175060)
- [1175] 核苷酸
- [1176] Genbank收录号NM175060
- [1177] Genbank版本号NM175060.2GI:371123930
- [1178] Genbank记录更新日期:2012年4月1日03:34PM

- [1179] 多肽
- [1180] Genbank收录号NP_778230
- [1181] Genbank版本号NP_778230.1GI:28269707
- [1182] Genbank记录更新日期:2012年4月1日03:34PM
- [1183] 其它信息
- [1184] 官方符号:CLEC14A
- [1185] 其它别名:UNQ236/PR0269,C14orf27,CEG1,EGFR-5
- [1186] 其它命名:C-型凝集素结构域家族14成员A;包含C1ECT和EGF-样结构域的蛋白;表皮生长因子受体5
- [1187] (55) GRP78-HSPA5 (热激70kDa蛋白5 (葡萄糖调节蛋白,78kDa)
- [1188] 核苷酸
- [1189] Genbank收录号NM005347
- [1190] Genbank版本号NM005347.4GI:305855105
- [1191] Genbank记录更新日期:2012年9月30日01:42PM
- [1192] 多肽
- [1193] Genbank收录号NP_005338
- [1194] Genbank版本号NP_005338.1GI:16507237
- [1195] Genbank记录更新日期:2012年9月30日01:42PM
- [1196] 交叉引用
- [1197] Ting J., 等人, DNA 7 (4) , 275-286 (1988)
- [1198] 其它信息
- [1199] 官方符号:HSPA5
- [1200] 其它别名:BIP, GRP78, MIF2
- [1201] 其它命名:78kDa葡萄糖调节蛋白;内质网腔Ca (2+) 结合蛋白grp78;免疫球蛋白重链结合蛋白
- [1202] (56) CD70 (CD70分子) L08096
- [1203] 核苷酸
- [1204] Genbank收录号L08096
- [1205] Genbank版本号L08096.1GI:307127
- [1206] Genbank记录更新日期:2012年6月23日08:54AM
- [1207] 多肽
- [1208] Genbank收录号AAA36175
- [1209] Genbank版本号AAA36175.1GI:307128
- [1210] Genbank记录更新日期:2012年6月23日08:54AM
- [1211] 交叉引用
- [1212] Goodwin R.G., 等人, Cell 73 (3) , 447-456 (1993)
- [1213] 其它信息
- [1214] 官方符号:CD70
- [1215] 其它别名:CD27L, CD27LG, TNFSF7

- [1216] 其它命名:CD27配体;CD27-L;CD70抗原;Ki-24抗原;表面抗原CD70;肿瘤坏死因子(配体)超家族,成员7;肿瘤坏死因子配体超家族成员7
- [1217] 抗体
- [1218] 针对CD70的MDX-1411 (Medarex)
- [1219] h1F6 (Oflazoglu, E. 等人, Clin Cancer Res. 2008 Oct 1; 14 (19): 6171-80; Seattle Genetics)
- [1220] 例如, 参见US20060083736SEQ ID NO: 1、2、11和12和图1。
- [1221] (57) 干细胞特异性抗原。例如:
- [1222] • 5T4 (参见以下条目 (63))
- [1223] • CD32
- [1224] o 多肽
- [1225] ■ Genbank 收录号 ABK42161
- [1226] ■ Genbank 版本号 ABK42161.1GI: 117616286
- [1227] ■ Genbank 记录更新日期: 2007年7月25日 03:00PM
- [1228] • LGR5/GPR49
- [1229] o 核苷酸
- [1230] ■ Genbank 收录号 NM_003667
- [1231] ■ Genbank 版本号 NM_003667.2GI: 24475886
- [1232] ■ Genbank 记录更新日期: 2012年7月22日 03:38PM
- [1233] o 多肽
- [1234] ■ Genbank 收录号 NP_003658
- [1235] ■ Genbank 版本号 NP_003658.1GI: 4504379
- [1236] ■ Genbank 记录更新日期: 2012年7月22日 03:38PM
- [1237] • Prominin/CD133
- [1238] o 核苷酸
- [1239] ■ Genbank 收录号 NM_006017
- [1240] ■ Genbank 版本号 NM_006017.2GI: 224994187
- [1241] ■ Genbank 记录更新日期: 2012年9月30日 01:47PM
- [1242] o 多肽
- [1243] ■ Genbank 收录号 NP_006008
- [1244] ■ Genbank 版本号 NP_006008.1GI: 5174387
- [1245] ■ Genbank 记录更新日期: 2012年9月30日 01:47PM
- [1246] (58) ASG-5
- [1247] 交叉引用
- [1248] (Smith L.M 等人, AACR 2010 Annual Meeting (摘要#2590); Gudas J.M., et.al. AACR 2010 Annual Meeting (摘要#4393))
- [1249] 抗体
- [1250] 抗-AGS-5 抗体: M6.131 (Smith, L.M. 等人, AACR 2010 Annual Meeting (摘要#2590))
- [1251] (59) ENPP3 (外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶3)

- [1252] 核苷酸
- [1253] Genbank收录号AF005632
- [1254] Genbank版本号AF005632.2GI:4432589
- [1255] Genbank记录更新日期:2010年3月10日09:41PM
- [1256] 多肽
- [1257] Genbank收录号AAC51813
- [1258] Genbank版本号AAC51813.1GI:2465540
- [1259] Genbank记录更新日期:2010年3月10日09:41PM
- [1260] 交叉引用
- [1261] Jin-Hua P., 等人, Genomics 45 (2), 412-415 (1997)
- [1262] 其它信息
- [1263] 官方符号:ENPP3
- [1264] 其它别名:RP5-988G15.3, B10, CD203c, NPP3, PD-I β , PDNP3
- [1265] 其它命名:E-NPP 3; dJ1005H11.3 (磷酸二酯酶I/核苷酸焦磷酸酶3); dJ914N13.3 (磷酸二酯酶I/核苷酸焦磷酸酶3); 外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶家族成员3; gp130RB13-6; 磷酸二酯酶I β ; 磷酸二酯酶I/核苷酸焦磷酸酶3; 磷酸二酯酶-I β
- [1266] (60) PRR4 (脯氨酸丰富蛋白4 (泪腺))
- [1267] 核苷酸
- [1268] Genbank收录号NM_007244
- [1269] Genbank版本号NM_007244.2GI:154448885
- [1270] Genbank记录更新日期:2012年6月28日12:39PM
- [1271] 多肽
- [1272] Genbank收录号NP_009175
- [1273] Genbank版本号NP_009175.2GI:154448886
- [1274] Genbank记录更新日期:2012年6月28日12:39PM
- [1275] 交叉引用
- [1276] Dickinson D.P., 等人, Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.36 (10), 2020-2031 (1995)
- [1277] 其它信息
- [1278] 官方符号:PRR4
- [1279] 其它别名:LPRP, PROL4
- [1280] 其它命名:泪腺脯氨酸丰富蛋白; 鼻咽癌相关的脯氨酸丰富蛋白4; 脯氨酸丰富多肽4; 脯氨酸丰富蛋白4
- [1281] (61) GCC-GUCY2C (鸟苷酸环化酶2C (热稳定的肠毒素受体))
- [1282] 核苷酸
- [1283] Genbank收录号NM_004963
- [1284] Genbank版本号NM_004963.3GI:222080082
- [1285] Genbank记录更新日期:2012年9月2日01:50PM
- [1286] 多肽
- [1287] Genbank收录号NP_004954

- [1288] Genbank版本号NP_004954.2GI:222080083
- [1289] Genbank记录更新日期:2012年9月2日01:50PM
- [1290] 交叉引用
- [1291] De Sauvage F.J., 等人, J.Biol.Chem.266 (27) ,17912-17918 (1991) ;Singh S., 等人, Biochem.Biophys.Res.Comm.179 (3) ,1455-1463 (1991)
- [1292] 其它信息
- [1293] 官方符号:GUCY2C
- [1294] 其它别名:DIAR6,GUC2C,MUCIL,STAR
- [1295] 其它命名:GC-C;STA受体;鸟苷酰基环化酶C;hSTAR;热稳定性肠毒素受体;肠鸟苷酸环化酶
- [1296] (62) Liv-1-SLC39A6 (溶质运载蛋白家族39 (锌载体) ,成员6)
- [1297] 核苷酸
- [1298] Genbank收录号U41060
- [1299] Genbank版本号U41060.2GI:12711792
- [1300] Genbank记录更新日期:2009年11月30日04:35PM
- [1301] 多肽
- [1302] Genbank收录号AAA96258
- [1303] Genbank版本号AAA96258.2GI:12711793
- [1304] Genbank记录更新日期:2009年11月30日04:35PM
- [1305] 交叉引用
- [1306] Taylor KM., 等人, Biochim Biophys Acta.2003Apr 1;1611 (1-2) :16-30
- [1307] 其它信息
- [1308] 官方符号:SLC39A6
- [1309] 其它别名:LIV-1
- [1310] 其它命名:LIV-1蛋白,由雌激素调节;ZIP-6;雌激素调节的蛋白LIV-1;溶质运载蛋白家族39 (金属离子载体) ,成员6;溶质运载蛋白家族39成员6;锌载体ZIP6;zrt-和Irt-样蛋白6
- [1311] (63) 5T4,滋养层细胞糖蛋白,TPBG-TPBG (滋养层细胞糖蛋白)
- [1312] 核苷酸
- [1313] Genbank收录号AJ012159
- [1314] Genbank版本号AJ012159.1GI:3805946
- [1315] Genbank记录更新日期:2011年2月1日10:27AM
- [1316] 多肽
- [1317] Genbank收录号CAA09930
- [1318] Genbank版本号CAA09930.1GI:3805947
- [1319] Genbank记录更新日期:2011年2月1日10:27AM
- [1320] 交叉引用
- [1321] King K.W等人, Biochim.Biophys.Acta 1445 (3) ,257-270 (1999)
- [1322] 其它信息

- [1323] • 官方符号:TPBG
- [1324] • 其它别名:5T4,5T4AG,M6P1
- [1325] • 其它命名:5T4瘤胚抗原;5T4瘤胚滋养层细胞糖蛋白;5T4瘤滋养层细胞糖蛋白
- [1326] (64) CD56-NCMA1 (神经细胞粘附分子1)
- [1327] 核苷酸
- [1328] Genbank收录号NM_000615
- [1329] Genbank版本号NM_000615.6GI:336285433
- [1330] Genbank记录更新日期:2012年9月23日02:32PM
- [1331] 多肽
- [1332] Genbank收录号NP_000606
- [1333] Genbank版本号NP_000606.3GI:94420689
- [1334] Genbank记录更新日期:2012年9月23日02:32PM
- [1335] 交叉引用
- [1336] Dickson,G.等人,Cell 50 (7),1119-1130 (1987)
- [1337] 其它信息
- [1338] 官方符号:NCAM1
- [1339] 其它别名:CD56,MSK39,NCAM
- [1340] 其它命名:单克隆抗体5.1H11识别的抗原;神经细胞粘附分子,NCAM
- [1341] 抗体
- [1342] 免疫原:HuN901 (Smith SV.,等人,Curr Opin Mol Ther.2005Aug;7 (4):394-401)
- [1343] 例如,参见由鼠N901抗体的人源化。参见Roguska,M.A.,等人Proc Natl Acad Sci USA Feb 1994;91:969-973的图1b和1e。
- [1344] (65) CanAg (肿瘤相关的抗原CA242)
- [1345] 交叉引用
- [1346] Haglund C.,等人,Br J Cancer 60:845-851,1989;Baeckstrom D.,等人,J Biol Chem 266:21537-21547,1991
- [1347] 抗体
- [1348] huC242 (Tolcher AW等人,J Clin Oncol.2003Jan 15;21 (2):211-22;Immunogen)
- [1349] 例如,参见US20080138898A1SEQ ID NO:1和2
- [1350] (66) FOLR1 (叶酸受体1)
- [1351] 核苷酸
- [1352] Genbank收录号J05013
- [1353] Genbank版本号J05013.1GI:182417
- [1354] Genbank记录更新日期:2010年6月23日08:47AM
- [1355] 多肽
- [1356] Genbank收录号AAA35823
- [1357] Genbank版本号AAA35823.1GI:182418
- [1358] Genbank记录更新日期:2010年6月23日08:47AM
- [1359] 交叉引用

- [1360] Elwood P.C., 等人, J.Biol.Chem.264 (25) ,14893-14901 (1989)
- [1361] 其它信息
- [1362] 官方符号:FOLR1
- [1363] 其它别名:FBP,FOLR
- [1364] 其它命名:FR- α ;KB细胞FBP;成人叶酸结合蛋白;叶酸结合蛋白;叶酸受体 α ;叶酸受体,成人;卵巢肿瘤相关的抗原M0v18
- [1365] 抗体
- [1366] M9346A-Whiteman KR., 等人, Cancer Res April 15, 2012;72 (8补刊) :4628 (Immunogen)
- [1367] (67) GPNMB(糖蛋白(跨膜)nmb)
- [1368] 核苷酸
- [1369] Genbank收录号X76534
- [1370] Genbank版本号X76534.1GI:666042
- [1371] Genbank记录更新日期:2011年2月2日10:10AM
- [1372] 多肽
- [1373] Genbank收录号CAA54044
- [1374] Genbank版本号CAA54044.1GI:666043
- [1375] Genbank记录更新日期:2011年2月2日10:10AM
- [1376] 交叉引用
- [1377] Weterman M.A., 等人, Int.J.Cancer 60 (1) ,73-81 (1995)
- [1378] 其它信息
- [1379] 官方符号:GPNMB
- [1380] 其它别名:UNQ1725/PRO9925,HGFIN,NMB
- [1381] 其它命名:糖蛋白NMB;糖蛋白nmb样蛋白;骨激活素;跨膜糖蛋白HGFIN;跨膜糖蛋白NMB
- [1382] 抗体
- [1383] Celldex Therapeutics:CR011 (Tse KF., 等人, Clin Cancer Res.2006Feb15;12 (4) :1373-82)
- [1384] 例如,参见EP1827492B1SEQ ID NO:22、24、26、31、33和35
- [1385] (68) TIM-1-HAVCR1 (甲型肝炎病毒细胞受体1)
- [1386] 核苷酸
- [1387] Genbank收录号AF043724
- [1388] Genbank版本号AF043724.1GI:2827453
- [1389] Genbank记录更新日期:2010年3月10日06:24PM
- [1390] 多肽
- [1391] Genbank收录号AAC39862
- [1392] Genbank版本号AAC39862.1GI:2827454
- [1393] Genbank记录更新日期:2010年3月10日06:24PM
- [1394] 交叉引用

- [1395] Feigelsstock D., 等人, J.Virol.72 (8) ,6621-6628 (1998)
- [1396] 其它信息
- [1397] 官方符号:HAVCR1
- [1398] 其它别名:HAVCR,HAVCR-1,KIM-1,KIM1,TIM,TIM-1,TIM1,TIMD-1,TIMD1
- [1399] 其它命名:T细胞免疫球蛋白结构域和黏液素结构域蛋白1;T细胞膜蛋白1;肾损伤分子1
- [1400] (69) RG-1/前列腺肿瘤靶向Mindin-Mindin/RG-1
- [1401] 交叉引用
- [1402] Parry R., 等人, Cancer Res.2005Sep 15;65 (18) :8397-405
- [1403] (70) B7-H4-VTCN1 (含有T细胞激活抑制剂1的V-set结构域)
- [1404] 核苷酸
- [1405] Genbank收录号BX648021
- [1406] Genbank版本号BX648021.1GI:34367180
- [1407] Genbank记录更新日期:2011年2月2日08:40AM
- [1408] 交叉引用
- [1409] Sica GL., 等人, Immunity.2003Jun;18 (6) :849-61
- [1410] 其它信息
- [1411] 官方符号:VTCN1
- [1412] 其它别名:RP11-229A19.4,B7-H4,B7H4,B7S1,B7X,B7h.5,PR01291,VCTN1
- [1413] 其它命名:B7家族成员H4;B7超家族成员1;T细胞共刺激分子B7x;T细胞共刺激分子B7x;含有T细胞激活抑制剂1的V-set结构域;免疫共刺激蛋白B7-H4
- [1414] (71) PTK7 (PTK7蛋白酪氨酸激酶7)
- [1415] 核苷酸
- [1416] Genbank收录号AF447176
- [1417] Genbank版本号AF447176.1GI:17432420
- [1418] Genbank记录更新日期:2008年11月28日01:51PM
- [1419] 多肽
- [1420] Genbank收录号AAL39062
- [1421] Genbank版本号AAL39062.1GI:17432421
- [1422] Genbank记录更新日期:2008年11月28日01:51PM
- [1423] 交叉引用
- [1424] Park S.K., et al J.Biochem.119 (2) ,235-239 (1996)
- [1425] 其它信息
- [1426] 官方符号:PTK7
- [1427] 其它别名:CCK-4,CCK4
- [1428] 其它命名:结肠癌激酶4;失活的酪氨酸-蛋白激酶7;伪酪氨酸激酶受体7;酪氨酸-蛋白激酶样7
- [1429] (72) CD37 (CD37分子)
- [1430] 核苷酸

- [1431] Genbank收录号NM_001040031
- [1432] Genbank版本号NM_001040031.1GI:91807109
- [1433] Genbank记录更新日期:2012年7月29日02:08PM
- [1434] 多肽
- [1435] Genbank收录号NP_001035120
- [1436] Genbank版本号NP_001035120.1GI:91807110
- [1437] Genbank记录更新日期:2012年7月29日02:08PM
- [1438] 交叉引用
- [1439] Schwartz-Albiez R., 等人, J. Immunol. 140 (3), 905-914 (1988)
- [1440] 其它信息
- [1441] 官方符号: CD37
- [1442] 其它别名: GP52-40, TSPAN26
- [1443] 其它命名: CD37抗原; 细胞分化抗原37; 白细胞抗原CD37; 白细胞表面抗原CD37; 四跨膜蛋白-26; tspan-26
- [1444] 抗体
- [1445] Boehringer Ingelheim: mAb 37.1 (Heider KH., 等人, Blood. 2011 Oct 13; 118 (15): 4159-68)
- [1446] Trubion: CD37-SMIP (G28-1scFv-Ig) ((Zhao X., 等人, Blood. 2007; 110: 2569-2577)
- [1447] 例如, 参见US20110171208A1SEQ ID NO: 253
- [1448] Immunogen: K7153A (Deckert J., 等人, Cancer Res April 15, 2012; 72 (8Supplement): 4625)
- [1449] (73) CD138-SDC1 (syndecan 1)
- [1450] 核苷酸
- [1451] Genbank收录号AJ551176
- [1452] Genbank版本号AJ551176.1GI:29243141
- [1453] Genbank记录更新日期:2011年2月1日12:09PM
- [1454] 多肽
- [1455] Genbank收录号CAD80245
- [1456] Genbank版本号CAD80245.1GI:29243142
- [1457] Genbank记录更新日期:2011年2月1日12:09PM
- [1458] 交叉引用
- [1459] O'Connell FP., 等人, Am J Clin Pathol. 2004 Feb; 121 (2): 254-63
- [1460] 其它信息
- [1461] 官方符号: SDC1
- [1462] 其它别名: CD138, SDC, SYND1, syndecan
- [1463] 其它命名: CD138抗原; 硫酸乙酰肝素蛋白多糖的成纤维细胞生长因子受体; syndecan蛋白多糖1; syndecan-1
- [1464] 抗体

- [1465] Biotest:嵌合的MAb (nBT062) - (Jagannath S., 等人, Poster ASH#3060, 2010; WIPO专利申请W0/2010/128087)
- [1466] 例如, 参见US20090232810SEQ ID NO:1和2
- [1467] Immunogen:B-B4 (Tassone P., 等人, Blood 104_3688-3696)
- [1468] 例如, 参见US20090175863A1SEQ ID NO:1和2
- [1469] (74) CD74 (CD74分子, 主要组织相容性复合体, II类不变链)
- [1470] 核苷酸
- [1471] Genbank收录号NM_004355
- [1472] Genbank版本号NM_004355.1GI:343403784
- [1473] Genbank记录更新日期:2012年9月23日02:30PM
- [1474] 多肽
- [1475] Genbank收录号NP_004346
- [1476] Genbank版本号NP_004346.1GI:10835071
- [1477] Genbank记录更新日期:2012年9月23日02:30PM
- [1478] 交叉引用
- [1479] Kudo, J., 等人, Nucleic Acids Res. 13 (24), 8827-8841 (1985)
- [1480] 其它信息
- [1481] 官方符号:CD74
- [1482] 其它别名:DHLA G, HLA D G, II, Ia- γ
- [1483] 其它命名:CD74抗原 (主要组织相容性复合体的不变多肽, II类抗原相关); HLA II类组织相容性抗原 γ 链; HLA-DR抗原相关的不变链; HLA-DR- γ ; Ia相关的不变链; MHC HLA-DR γ 链; II类抗原的 γ 链; p33
- [1484] 抗体
- [1485] Immunomedics:hLL1 (Milatuzumab,) -Berkova Z., 等人, Expert Opin Investig Drugs. 2010Jan; 19 (1) :141-9)
- [1486] 例如, 参见US20040115193SEQ ID NO:19、20、21、22、23和24
- [1487] Genmab:HuMax-CD74 (参见网页)
- [1488] (75) Claudins-CLs (Claudins)
- [1489] 交叉引用
- [1490] Offner S., 等人, Cancer Immunol Immunother. 2005May; 54 (5) :431-45, Suzuki H., 等人, Ann N Y Acad Sci. 2012Jul; 1258:65-70)
- [1491] 在人类中, 已描述了该家族的24种成员-参见引用文献。
- [1492] (76) EGFR (表皮生长因子受体)
- [1493] 核苷酸
- [1494] Genbank收录号NM_005228
- [1495] Genbank版本号NM_005228.3GI:41927737
- [1496] Genbank记录更新日期:2012年9月30日01:47PM
- [1497] 多肽
- [1498] Genbank收录号NP_005219

- [1499] Genbank版本号NP_005219.2GI:29725609
- [1500] Genbank记录更新日期:2012年9月30日01:47PM
- [1501] 交叉引用
- [1502] Dhomen NS., 等人, Crit Rev Oncog.2012;17(1):31-50
- [1503] 其它信息
- [1504] 官方符号:EGFR
- [1505] 其它别名:ERBB,ERBB1,HER1,PIG61,mENA
- [1506] 其它命名:禽成红细胞性白血病病毒(v-erb-b)致癌基因类似物;细胞生长抑制蛋白40;细胞增殖诱导蛋白61;原癌基因c-ErbB-1;受体酪氨酸-蛋白激酶erbB-1
- [1507] 抗体
- [1508] BMS:西妥昔单抗(Erbitux)-Broadbridge VT., 等人, Expert Rev Anticancer Ther.2012May;12(5):555-65.
- [1509] 例如, 参见US6217866-ATTC保藏号9764.
- [1510] Amgen:帕尼单抗(Vectibix)-Argiles G., 等人, Future Oncol.2012Apr;8(4):373-89
- [1511] 例如, 参见US6235883SEQ ID NO:23-38.
- [1512] Genmab:扎鲁木单抗-Rivera F., 等人, Expert Opin Biol Ther.2009May;9(5):667-74.
- [1513] YM Biosciences:尼妥珠单抗-Ramakrishnan MS., 等人, MAbs.2009Jan-Feb;1(1):41-8.
- [1514] 例如, 参见US5891996SEQ ID NO:27-34.
- [1515] (77)Her3(ErbB3)-ERBB3(v-erb-b2成红细胞性白血病病毒致癌基因类似物3(禽类))
- [1516] 核苷酸
- [1517] Genbank收录号M34309
- [1518] Genbank版本号M34309.1GI:183990
- [1519] Genbank记录更新日期:2010年6月23日08:47PM
- [1520] 多肽
- [1521] Genbank收录号AAA35979
- [1522] Genbank版本号AAA35979.1GI:306841
- [1523] Genbank记录更新日期:2010年6月23日08:47PM
- [1524] 交叉引用
- [1525] Plowman,G.D. 等人, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.87(13),4905-4909(1990)
- [1526] 其它信息
- [1527] 官方符号:ERBB3
- [1528] 其它别名:ErbB-3,HER3,LCCS2,MDA-BF-1,c-erbB-3,c-erbB3,erbB3-S,p180-ErbB3,p45-sErbB3,p85-sErbB3
- [1529] 其它命名:原癌基因样蛋白c-ErbB-3;受体酪氨酸-蛋白激酶erbB-3;酪氨酸激酶型细胞表面受体HER3

- [1530] 抗体
- [1531] Merimack Pharma:MM-121 (Schoeberl B., 等人, Cancer Res. 2010Mar15;70 (6) : 2485-2494)
- [1532] 例如, 参见US2011028129SEQ ID NO:1, 2, 3, 4, 5, 6, 7和8。
- [1533] (78) RON-MST1R (巨噬细胞刺激受体1 (c-met相关的酪氨酸激酶))
- [1534] 核苷酸
- [1535] Genbank收录号X70040
- [1536] Genbank版本号X70040.1GI:36109
- [1537] Genbank记录更新日期:2011年2月2日10:17PM
- [1538] 多肽
- [1539] Genbank收录号CCA49634
- [1540] Genbank版本号CCA49634.1GI:36110
- [1541] Genbank记录更新日期:2011年2月2日10:17PM
- [1542] 交叉引用
- [1543] Ronsin C., 等人, Oncogene 8 (5) , 1195-1202 (1993)
- [1544] 其它信息
- [1545] 官方符号:MST1R
- [1546] 其它别名:CD136, CDw136, PTK8, RON
- [1547] 其它命名:MSP受体;MST1R变体RON30;MST1R变体RON62;PTK8蛋白酪氨酸激酶8;RON变体E2E3;c-met相关的酪氨酸激酶;巨噬细胞-刺激蛋白受体;p185-Ron;可溶性RON变体1;可溶性RON变体2;可溶性RON变体3;可溶性RON变体4
- [1548] (79) EPHA2 (EPH受体A2)
- [1549] 核苷酸
- [1550] Genbank收录号BC037166
- [1551] Genbank版本号BC037166.2GI:33879863
- [1552] Genbank记录更新日期:2012年3月6日01:59PM
- [1553] 多肽
- [1554] Genbank收录号AAH37166
- [1555] Genbank版本号AAH37166.1GI:22713539
- [1556] Genbank记录更新日期:2012年3月6日01:59PM
- [1557] 交叉引用
- [1558] Strausberg R.L., 等人, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.99 (26) , 16899-16903 (2002)
- [1559] 其它信息
- [1560] 官方符号:EPHA2
- [1561] 其它别名:ARCC2, CTPA, CTPP1, ECK
- [1562] 其它命名:ephrin A型受体2;上皮细胞受体蛋白酪氨酸激酶;可溶性EPHA2变体1;酪氨酸-蛋白激酶受体ECK
- [1563] 抗体

- [1564] Medimmune:1C1 (Lee JW., 等人, Clin Cancer Res. 2010 May 1; 16 (9) : 2562-2570)
- [1565] 例如, 参见 US20090304721A1 图 7 和 8。
- [1566] (80) CD20-MS4A1 (跨膜 4-域, 亚家族 A, 成员 1)
- [1567] 核苷酸
- [1568] Genbank 收录号 M27394
- [1569] Genbank 版本号 M27394.1GI:179307
- [1570] Genbank 记录更新日期: 2009 年 11 月 30 日 11:16AM
- [1571] 多肽
- [1572] Genbank 收录号 AAA35581
- [1573] Genbank 版本号 AAA35581.1GI:179308
- [1574] Genbank 记录更新日期: 2009 年 11 月 30 日 11:16AM
- [1575] 交叉引用
- [1576] Tedder T.F., 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85 (1) , 208-212 (1988)
- [1577] 其它信息
- [1578] 官方符号: MS4A1
- [1579] 其它别名: B1, Bp35, CD20, CVID5, LEU-16, MS4A2, S7
- [1580] 其它命名: B 淋巴细胞抗原 CD20; B 淋巴细胞表面抗原 B1; CD20 抗原; CD20 受体; 淋巴细胞表面抗原 Leu-16
- [1581] 抗体
- [1582] Genentech/Roche: 利妥昔单抗-Abdulla NE., 等人, BioDrugs. 2012 Apr 1; 26 (2) : 71-82.
- [1583] 例如, 参见 US5736137, ATCC 保藏号 HB-69119。
- [1584] GSK/Genmab: 奥法木单抗-Nightingale G., 等人, Ann Pharmacother. 2011 Oct; 45 (10) : 1248-55.
- [1585] 例如, 参见 US20090169550A1 SEQ ID NO: 2、4 和 5。
- [1586] Immunomedics: 维妥珠单抗-Goldenberg DM., 等人, Leuk Lymphoma. 2010 May; 51 (5) : 747-55.
- [1587] 例如, 参见 US7919273B2 SEQ ID NO: 1、2、3、4、5 和 6。
- [1588] (81) 肌腱蛋白 C-TNC (肌腱蛋白 C)
- [1589] 核苷酸
- [1590] Genbank 收录号 NM_002160
- [1591] Genbank 版本号 NM_002160.3GI:340745336
- [1592] Genbank 记录更新日期: 2012 年 9 月 23 日 02:33PM
- [1593] 多肽
- [1594] Genbank 收录号 NP_002151
- [1595] Genbank 版本号 NP_002151.2GI:153946395
- [1596] Genbank 记录更新日期: 2012 年 9 月 23 日 02:33PM
- [1597] 交叉引用
- [1598] Nies D.E., 等人, J. Biol. Chem. 266 (5) , 2818-2823 (1991); Siri A., 等人,

Nucleic Acids Res.19 (3) ,525-531 (1991)

[1599] 其它信息

[1600] 官方符号:TNC

[1601] 其它别名:150-225,GMEM,GP,HXB,JI,TN,TN-C

[1602] 其它命名:GP 150-225;肌链抗原;神经胶质瘤相关的细胞外基质抗原;hexabrachion (肌腱蛋白);肌腱抗原;神经粘连蛋白;肌腱蛋白;肌腱蛋白-C同型物14/AD1/16

[1603] 抗体

[1604] Philogen:G11(von Lukowicz T.,et al J Nucl Med.2007Apr;48 (4) :582-7) 和 F16(Pedretti M.,等人,Lung Cancer.2009Apr;64 (1) :28-33)

[1605] 例如,参见US7968685SEQ ID NO:29、35、45和47。

[1606] (82)FAP (成纤维细胞激活蛋白, α)

[1607] 核苷酸

[1608] Genbank收录号U09278

[1609] Genbank版本号U09278.1GI:1888315

[1610] Genbank记录更新日期:2010年6月23日09:22AM

[1611] 多肽

[1612] Genbank收录号AAB49652

[1613] Genbank版本号AAB49652.1GI:1888316

[1614] Genbank记录更新日期:2010年6月23日09:22AM

[1615] 交叉引用

[1616] Scanlan,M.J.,et al Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.91 (12) ,5657-5661 (1994)

[1617] 其它信息

[1618] 官方符号:FAP

[1619] 其它别名:DPPIV,FAPA

[1620] 其它命名:170kDa黑素瘤膜结合明胶酶;整体膜丝氨酸蛋白酶;seprase

[1621] (83)DKK-1 (Dickkopf 1同系物(有爪蟾蜍))

[1622] 核苷酸

[1623] Genbank收录号NM_012242

[1624] Genbank版本号NM_012242.2GI:61676924

[1625] Genbank记录更新日期:2012年9月30日01:48PM

[1626] 多肽

[1627] Genbank收录号NP_036374

[1628] Genbank版本号NP_036374.1GI:7110719

[1629] Genbank记录更新日期:2012年9月30日01:48PM

[1630] 交叉引用

[1631] Fedi P.等人,J.Biol.Chem.274 (27) ,19465-19472 (1999)

[1632] 其它信息

[1633] 官方符号:DKK1

- [1634] 其它别名:UNQ492/PRO1008,DKK-1,SK
- [1635] 其它命名:dickkopf相关蛋白-1;dickkopf-1样;dickkopf样蛋白1;dickkopf-相关蛋白1;hDkk-1
- [1636] 抗体
- [1637] Novartis:BHQ880 (Fulciniti M.,等人,Blood.2009Jul 9;114(2):371-379)
- [1638] 例如,参见US20120052070A1SEQ ID NO:100和108。
- [1639] (84) CD52 (CD52分子)
- [1640] 核苷酸
- [1641] Genbank收录号NM_001803
- [1642] Genbank版本号NM_001803.2GI:68342029
- [1643] Genbank记录更新日期:2012年9月30日01:48PM
- [1644] 多肽
- [1645] Genbank收录号NP_001794
- [1646] Genbank版本号NP_001794.2GI:68342030
- [1647] Genbank记录更新日期:2012年9月30日01:48PM
- [1648] 交叉引用
- [1649] Xia M.Q.,等人,Eur.J.Immunol.21(7),1677-1684(1991)
- [1650] 其它信息
- [1651] 官方符号:CD52
- [1652] 其它别名:CDW52
- [1653] 其它命名:CAMPATH-1抗原;CD52抗原(CAMPATH-1抗原);CDW52抗原(CAMPATH-1抗原);剑桥病理抗原1;附睾分泌蛋白E5;he5;人附睾特异性蛋白5
- [1654] 抗体
- [1655] 阿仑单抗(Campath)-Skoetz N.,等人,Cochrane Database Syst Rev.2012Feb 15;2:CD008078.
- [1656] 例如,参见Drugbank Acc.No.DB00087 (BIOD00109,BTD00109)
- [1657] (85) CS1-SLAMF7 (SLAM家族成员7)
- [1658] 核苷酸
- [1659] Genbank收录号NM_021181
- [1660] Genbank版本号NM_021181.3GI:1993571
- [1661] Genbank记录更新日期:2012年6月29日11:24AM
- [1662] 多肽
- [1663] Genbank收录号NP_067004
- [1664] Genbank版本号NP_067004.3GI:19923572
- [1665] Genbank记录更新日期:2012年6月29日11:24AM
- [1666] 交叉引用
- [1667] Boles K.S.,等人,Immunogenetics 52(3-4),302-307(2001)
- [1668] 其它信息
- [1669] 官方符号:SLAMF7

- [1670] 其它别名:UNQ576/PR01138,19A,CD319,CRACC,CS1
- [1671] 其它命名:19A24蛋白;CD2亚组1;CD2样受体激活细胞毒素细胞;CD2样受体激活细胞毒素细胞;膜蛋白FOAP-12;新LY9(淋巴细胞抗原9)样蛋白;蛋白19A
- [1672] 抗体
- [1673] BMS:埃罗妥珠单抗/HuLuc63 (Benson DM.,等人,J Clin Oncol.2012Jun1;30(16):2013-2015)
- [1674] 例如,参见US20110206701SEQ ID NO:9、10、11、12、13、14、15和16。
- [1675] (86) Endoglin-ENG (Endoglin)
- [1676] 核苷酸
- [1677] Genbank收录号AF035753
- [1678] Genbank版本号AF035753.1GI:3452260
- [1679] Genbank记录更新日期:2010年3月10日06:36PM
- [1680] 多肽
- [1681] Genbank收录号AAC32802
- [1682] Genbank版本号AAC32802.1GI:3452261
- [1683] Genbank记录更新日期:2010年3月10日06:36PM
- [1684] 交叉引用
- [1685] Rius C.,等人,Blood 92(12),4677-4690(1998)
- [1686] 官方符号:ENG
- [1687] 其它信息
- [1688] 其它别名:RP11-228B15.2,CD105,END,HHT1,ORW,ORW1
- [1689] 其它命名:CD105抗原
- [1690] (87) 膜联蛋白A1-ANXA1(膜联蛋白A1)
- [1691] 核苷酸
- [1692] Genbank收录号X05908
- [1693] Genbank版本号X05908.1GI:34387
- [1694] Genbank记录更新日期:2011年2月2日10:02AM
- [1695] 多肽
- [1696] Genbank收录号CCA29338
- [1697] Genbank版本号CCA29338.1GI:34388
- [1698] Genbank记录更新日期:2011年2月2日10:02AM
- [1699] 交叉引用
- [1700] Wallner B.P等人,Nature 320(6057),77-81(1986)
- [1701] 其它信息
- [1702] 官方符号:ANXA1
- [1703] 其它别名:RP11-71A24.1,ANX1,LPC1
- [1704] 其它命名:膜联蛋白I(脂皮质蛋白I);膜联蛋白-1;依钙蛋白II;依钙蛋白-2;嗜铬粒结合蛋白-9;脂皮质蛋白I;p35;磷脂酶A2抑制性蛋白
- [1705] (88) V-CAM(CD106)-VCAM1(血管细胞粘附分子1)

- [1706] 核苷酸
- [1707] Genbank收录号M60335
- [1708] Genbank版本号M60335.1GI:340193
- [1709] Genbank记录更新日期:2010年6月23日08:56AM
- [1710] 多肽
- [1711] Genbank收录号AAA61269
- [1712] Genbank版本号AAA61269.1GI:340194
- [1713] Genbank记录更新日期:2010年6月23日08:56AM
- [1714] 交叉引用
- [1715] Hession C., 等人, J. Biol. Chem. 266 (11), 6682-6685 (1991)
- [1716] 其它信息
- [1717] 官方符号: VCAM1
- [1718] 其它别名: CD106, INCAM-100
- [1719] 其它命名: CD106抗原; 血管细胞粘附蛋白1
- [1720] 一些实施方案
- [1721] 下面列出了一些具体考虑的实施例。
- [1722] 链间半胱氨酸残基的取代
- [1723] AbLJ IgG1
- [1724] 本发明所述缀合物的抗体包含含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链、含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链、V_H结构域和V_L结构域;
- [1725] 其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地, 药物缀合至SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸。
- [1726] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [1727] 重链, 其包含氨基酸序列SEQ ID NO.110;
- [1728] 轻链, 其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151、SEQ ID NO.152、SEQ ID NO.153、SEQ ID NO.161、SEQ ID NO.162或SEQ ID NO.163;
- [1729] V_H结构域; 和
- [1730] V_L结构域。
- [1731] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [1732] 重链, 其包含氨基酸序列SEQ ID NO.110;
- [1733] 轻链, 其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151;
- [1734] V_H结构域; 和
- [1735] V_L结构域。
- [1736] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [1737] 重链, 其包含氨基酸序列SEQ ID NO.110;
- [1738] 轻链, 其包含氨基酸序列SEQ ID NO.152;
- [1739] V_H结构域; 和
- [1740] V_L结构域。
- [1741] 本发明所述缀合物的抗体包含:

- [1742] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.110;
- [1743] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.153;
- [1744] V_H结构域;和
- [1745] V_L结构域。
- [1746] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [1747] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.110;
- [1748] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.161;
- [1749] V_H结构域;和
- [1750] V_L结构域。
- [1751] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [1752] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.110;
- [1753] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.162;
- [1754] V_H结构域;和
- [1755] V_L结构域,
- [1756] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [1757] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.110;
- [1758] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.163;
- [1759] V_H结构域;和
- [1760] V_L结构域。
- [1761] AbHJ IgG1
- [1762] 本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链、含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链、V_H结构域和V_L结构域;
- [1763] 其中SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸,SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。
- [1764] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [1765] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.111;
- [1766] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160;
- [1767] V_H结构域;和
- [1768] V_L结构域。
- [1769] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [1770] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.112;
- [1771] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160;
- [1772] V_H结构域;和
- [1773] V_L结构域。
- [1774] AbBJ IgG1
- [1775] 本发明所述缀合物的抗体包含:含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链、含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链、V_H结构域和V_L结构域;
- [1776] 其中SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[1777] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸.优选地,SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸被缬氨酸取代。

[1778] 本发明所述缀合物的抗体包含:

[1779] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.113;

[1780] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151、SEQ ID NO.152、SEQ ID NO.153、SEQ ID NO.161、SEQ ID NO.162或SEQ ID NO.163;

[1781] V_H结构域;和

[1782] V_L结构域。

[1783] 本发明所述缀合物的抗体包含:

[1784] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.113;

[1785] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151;

[1786] V_H结构域;和

[1787] V_L结构域。

[1788] 本发明所述缀合物的抗体包含:

[1789] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.113;

[1790] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.152;

[1791] V_H结构域;和

[1792] V_L结构域。

[1793] 本发明所述缀合物的抗体包含:

[1794] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.113;

[1795] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.153;

[1796] V_H结构域;和

[1797] V_L结构域。

[1798] 本发明所述缀合物的抗体包含:

[1799] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.113;

[1800] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.161;

[1801] V_H结构域;和

[1802] V_L结构域。

[1803] 本发明所述缀合物的抗体包含:

[1804] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.113;

[1805] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.162;

[1806] V_H结构域;和

[1807] V_L结构域。

[1808] 本发明所述缀合物的抗体包含:

[1809] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.113;

[1810] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.163;

[1811] V_H结构域;和

[1812] V_L结构域。

- [1813] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [1814] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.114；
- [1815] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151、SEQ ID NO.152、SEQ ID NO.153、SEQ ID NO.161、SEQ ID NO.162或SEQ ID NO.163；
- [1816] V_H结构域；和
- [1817] V_L结构域。
- [1818] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [1819] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.114；
- [1820] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151；
- [1821] V_H结构域；和
- [1822] V_L结构域。
- [1823] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [1824] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.114；
- [1825] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.152；
- [1826] V_H结构域；和
- [1827] V_L结构域。
- [1828] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [1829] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.114；
- [1830] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.153；
- [1831] V_H结构域；和
- [1832] V_L结构域。
- [1833] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [1834] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.114；
- [1835] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.161；
- [1836] V_H结构域；和
- [1837] V_L结构域。
- [1838] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [1839] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.114；
- [1840] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.162；
- [1841] V_H结构域；和
- [1842] V_L结构域。
- [1843] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [1844] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.114；
- [1845] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.163；
- [1846] V_H结构域；和
- [1847] V_L结构域。
- [1848] 本发明所述缀合物的抗体包含含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链、含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链、V_H结构域和V_L结构域；
- [1849] 其中SEQ ID NO:110中109位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代且SEQ ID

NO:110中112位的半胱氨酸未被取代;

[1850] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:110中103和112位的半胱氨酸。优选地,SEQ ID NO:110中109位的半胱氨酸被缬氨酸取代。

[1851] 本发明所述缀合物的抗体包含含有SEQ ID NO:110的氨基酸序列的重链、含有SEQ ID NO:150或SEQ ID NO:160的氨基酸序列的轻链、V_H结构域和V_L结构域;

[1852] 其中SEQ ID NO:110中112位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代且SEQ ID NO:110中109位的半胱氨酸未被取代;

[1853] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:110中103和109位的半胱氨酸。优选地,SEQ ID NO:110中112位的半胱氨酸被缬氨酸取代。

[1854] AbDJ IgG1

[1855] 本发明所述缀合物的抗体包含含有SEQ ID NO:110的氨基酸序列的重链、含有SEQ ID NO:150或SEQ ID NO:160的氨基酸序列的轻链、V_H结构域和V_L结构域;

[1856] 其中SEQ ID NO:110中103、109和112位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。优选地,SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸被缬氨酸取代。

[1857] 本发明所述缀合物的抗体包含:

[1858] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:115;

[1859] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:150或SEQ ID NO:160;

[1860] V_H结构域;和

[1861] V_L结构域。

[1862] 本发明所述缀合物的抗体包含:

[1863] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:116;

[1864] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO:150或SEQ ID NO:160;

[1865] V_H结构域;和

[1866] V_L结构域。

[1867] 本发明所述缀合物的抗体包含含有SEQ ID NO:110的氨基酸序列的重链、含有SEQ ID NO:150或SEQ ID NO:160的氨基酸序列的轻链、V_H结构域和V_L结构域;

[1868] 其中SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代,且SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸未被取代。优选地,药物缀合至:(i) SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸;和(ii) SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸。优选地,SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸被缬氨酸取代。

[1869] 本发明所述缀合物的抗体包含含有SEQ ID NO:110的氨基酸序列的重链、含有SEQ ID NO:150或SEQ ID NO:160的氨基酸序列的轻链、V_H结构域和V_L结构域;

[1870] 其中SEQ ID NO:110中103和112位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代且SEQ ID NO:110中109位的半胱氨酸未被取代。优选地,药物缀合至:(i) SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸;和(ii) SEQ ID NO:110中109位的半胱氨酸。优选地,SEQ ID NO:110中112位的半胱氨酸被缬氨酸取代。

[1871] 本发明所述缀合物的抗体包含含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链、含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链、V_H结构域和V_L结构域；

[1872] 其中SEQ ID NO:110中103和109位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代，且SEQ ID NO.110中112位的半胱氨酸未被取代。优选地，药物缀合至：(i) SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸；和(ii) SEQ ID NO:110中112位的半胱氨酸。优选地，SEQ ID NO.110中109位的半胱氨酸被缬氨酸取代。

[1873] -----

[1874] Kabat EU残基234和/或235的取代

[1875] 本发明所述缀合物的抗体包含含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链、轻链、V_H结构域和V_L结构域；其中SEQ ID NO.110的117位的亮氨酸和/或SEQ ID NO.110的118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代。

[1876] 本发明所述缀合物的抗体包含：

[1877] 含有SEQ ID NO.1101的氨基酸序列的重链；

[1878] 轻链；

[1879] V_H结构域；和

[1880] V_L结构域。

[1881] 本发明所述缀合物的抗体包含：

[1882] 含有SEQ ID NO.1102的氨基酸序列的重链；

[1883] 轻链；

[1884] V_H结构域；和

[1885] V_L结构域。

[1886] 本发明所述缀合物的抗体包含：

[1887] 含有SEQ ID NO.1103的氨基酸序列的重链；

[1888] 轻链；

[1889] V_H结构域；和

[1890] V_L结构域。

[1891] 本发明所述缀合物的抗体包含：

[1892] 含有SEQ ID NO.1104的氨基酸序列的重链；

[1893] 轻链；

[1894] V_H结构域；和

[1895] V_L结构域。

[1896] 本发明所述缀合物的抗体包含：

[1897] 含有SEQ ID NO.1105的氨基酸序列的重链；

[1898] 轻链；

[1899] V_H结构域；和

[1900] V_L结构域。

[1901] 本发明所述缀合物的抗体包含：

[1902] 含有SEQ ID NO.1106的氨基酸序列的重链；

[1903] 轻链；

[1904] V_H结构域;和

[1905] V_L结构域。

[1906] 本发明所述缀合物的抗体包含含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链、轻链、V_H结构域和V_L结构域;其中SEQ ID NO.130中164位的亮氨酸和/或SEQ ID NO.130中165位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代。

[1907] 本发明所述缀合物的抗体包含:

[1908] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.131;

[1909] 轻链;

[1910] V_H结构域;和

[1911] V_L结构域。

[1912] 本发明所述缀合物的抗体包含:

[1913] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.132;

[1914] 轻链;

[1915] V_H结构域;和

[1916] V_L结构域。

[1917] 本发明所述缀合物的抗体包含:

[1918] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.133;

[1919] 轻链;

[1920] V_H结构域;和

[1921] V_L结构域。

[1922] 本发明所述缀合物的抗体包含:

[1923] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.134;

[1924] 轻链;

[1925] V_H结构域;和

[1926] V_L结构域。

[1927] 本发明所述缀合物的抗体包含:

[1928] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.135;

[1929] 轻链;

[1930] V_H结构域;和

[1931] V_L结构域。

[1932] 本发明所述缀合物的抗体包含:

[1933] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.136;

[1934] 轻链;

[1935] V_H结构域;和

[1936] V_L结构域。

[1937] 本发明所述缀合物的抗体包含含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链、轻链、V_H结构域和V_L结构域;其中115位的亮氨酸of SEQ ID NO.140被非亮氨酸的氨基酸所取代。

[1938] 本发明所述缀合物的抗体包含:

[1939] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.141;

- [1940] 轻链；
- [1941] V_H结构域；和
- [1942] V_L结构域。
- [1943] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [1944] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.142；
- [1945] 轻链；
- [1946] V_H结构域；和
- [1947] V_L结构域。
- [1948] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [1949] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.143；
- [1950] 轻链；
- [1951] V_H结构域；和
- [1952] V_L结构域。
- [1953] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [1954] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.144；
- [1955] 轻链；
- [1956] V_H结构域；和
- [1957] V_L结构域。
- [1958] -----
- [1959] 链间半胱氨酸残基的取代与Kabat EU残基234和/或235的取代的组合
- [1960] AbLJ (LALA) IgG1
- [1961] 本发明所述缀合物的抗体包含含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链、含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链、V_H结构域和V_L结构域；
- [1962] 其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代；
- [1963] 且其中SEQ ID NO.110的117位的亮氨酸和/或SEQ ID NO.110的118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代。优选地，药物缀合至SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸。
- [1964] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [1965] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1101、SEQ ID NO.1102、SEQ ID NO.1103、SEQ ID NO.1104、SEQ ID NO.1105、SEQ ID NO.1106；
- [1966] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151、SEQ ID NO.152、SEQ ID NO.153、SEQ ID NO.161、SEQ ID NO.162或SEQ ID NO.163；
- [1967] V_H结构域；和
- [1968] V_L结构域。
- [1969] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [1970] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1103；
- [1971] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151；
- [1972] V_H结构域；和
- [1973] V_L结构域。

- [1974] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [1975] 重链，其包含SEQ ID NO.1103的氨基酸序列；
- [1976] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.152；
- [1977] V_H结构域；和
- [1978] V_L结构域。
- [1979] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [1980] 重链，其包含SEQ ID NO.1103的氨基酸序列；
- [1981] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.153；
- [1982] V_H结构域；和
- [1983] V_L结构域。
- [1984] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [1985] 重链，其包含SEQ ID NO.1103的氨基酸序列；
- [1986] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.161；
- [1987] V_H结构域；和
- [1988] V_L结构域。
- [1989] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [1990] 重链，其包含SEQ ID NO.1103的氨基酸序列；
- [1991] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.162；
- [1992] V_H结构域；和
- [1993] V_L结构域。
- [1994] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [1995] 重链，其包含SEQ ID NO.1103的氨基酸序列；
- [1996] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.163；
- [1997] V_H结构域；和
- [1998] V_L结构域。
- [1999] AbHJ (LALA) IgG1
- [2000] 本发明所述缀合物的抗体包含含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链、含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链、V_H结构域和V_L结构域；
- [2001] 其中SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代；
- [2002] 且其中SEQ ID NO.110的117位的亮氨酸和/或SEQ ID NO.110的118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代。优选地，药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。
- [2003] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [2004] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1111；
- [2005] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160；
- [2006] V_H结构域；和
- [2007] V_L结构域。
- [2008] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [2009] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1112；

- [2010] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160;
- [2011] V_H结构域;和
- [2012] V_L结构域。
- [2013] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2014] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1113;
- [2015] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160;
- [2016] V_H结构域;和
- [2017] V_L结构域。
- [2018] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2019] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1114;
- [2020] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160;
- [2021] V_H结构域;和
- [2022] V_L结构域。
- [2023] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2024] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1115;
- [2025] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160;
- [2026] V_H结构域;和
- [2027] V_L结构域。
- [2028] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2029] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1116;
- [2030] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160;
- [2031] V_H结构域;和
- [2032] V_L结构域。
- [2033] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2034] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1121;
- [2035] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160;
- [2036] V_H结构域;和
- [2037] V_L结构域。
- [2038] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2039] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1122;
- [2040] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160;
- [2041] V_H结构域;和
- [2042] V_L结构域。
- [2043] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2044] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1123;
- [2045] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160;
- [2046] V_H结构域;和
- [2047] V_L结构域。
- [2048] 本发明所述缀合物的抗体包含:

- [2049] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1124;
- [2050] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160;
- [2051] V_H结构域;和
- [2052] V_L结构域。
- [2053] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2054] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1125;
- [2055] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160;
- [2056] V_H结构域;和
- [2057] V_L结构域。
- [2058] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2059] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1126;
- [2060] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160;
- [2061] V_H结构域;和
- [2062] V_L结构域。
- [2063] AbBJ (LALA) IgG1
- [2064] 本发明所述缀合物的抗体包含含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链、含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链、V_H结构域和V_L结构域;
- [2065] 其中SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;
- [2066] 且其中SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸被非半胱氨酸的氨基酸取代;
- [2067] 且其中SEQ ID NO.110的117位的亮氨酸和/或SEQ ID NO.110的118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代。优选地,药物缀合至SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸。优选地,SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸被缬氨酸取代。
- [2068] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2069] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1131、SEQ ID NO.1132、SEQ ID NO.1133、SEQ ID NO.1134、SEQ ID NO.1135、SEQ ID NO.1136;
- [2070] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151、SEQ ID NO.152、SEQ ID NO.153、SEQ ID NO.161、SEQ ID NO.162或SEQ ID NO.163;
- [2071] V_H结构域;和
- [2072] V_L结构域。
- [2073] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2074] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1133;
- [2075] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151;
- [2076] V_H结构域;和
- [2077] V_L结构域。
- [2078] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2079] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1133;
- [2080] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.152;

- [2081] V_H结构域;和
- [2082] V_L结构域。
- [2083] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2084] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1133;
- [2085] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.153;
- [2086] V_H结构域;和
- [2087] V_L结构域。
- [2088] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2089] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1133;
- [2090] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.161;
- [2091] V_H结构域;和
- [2092] V_L结构域。
- [2093] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2094] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1133;
- [2095] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.162;
- [2096] V_H结构域;和
- [2097] V_L结构域。
- [2098] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2099] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1133;
- [2100] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.163;
- [2101] V_H结构域;和
- [2102] V_L结构域。
- [2103] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2104] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1141、SEQ ID NO.1142、SEQ ID NO.1143、SEQ ID NO.1144、SEQ ID NO.1145、SEQ ID NO.1146;
- [2105] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151、SEQ ID NO.152、SEQ ID NO.153、SEQ ID NO.161、SEQ ID NO.162或SEQ ID NO.163;
- [2106] V_H结构域;和
- [2107] V_L结构域。
- [2108] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2109] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1143;
- [2110] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151;
- [2111] V_H结构域;和
- [2112] V_L结构域。
- [2113] 本发明所述缀合物的抗体包含:
- [2114] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1143;
- [2115] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.152;
- [2116] V_H结构域;和
- [2117] V_L结构域。

- [2118] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [2119] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1143；
- [2120] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.153；
- [2121] V_H结构域；和
- [2122] V_L结构域。
- [2123] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [2124] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1143；
- [2125] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.161；
- [2126] V_H结构域；和
- [2127] V_L结构域。
- [2128] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [2129] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1143；
- [2130] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.162；
- [2131] V_H结构域；和
- [2132] V_L结构域。
- [2133] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [2134] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1143；
- [2135] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.163；
- [2136] V_H结构域；和
- [2137] V_L结构域。
- [2138] AbDJ IgG1
- [2139] 本发明所述缀合物的抗体包含含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链、含有SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的氨基酸序列的轻链、V_H结构域和V_L结构域；
- [2140] 其中SEQ ID NO:110中103、109和112位的半胱氨酸各自被非半胱氨酸的氨基酸取代；
- [2141] 且其中SEQ ID NO.110的117位的亮氨酸和/或SEQ ID NO.110的118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代。优选地，药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。优选地，SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸被缬氨酸取代。
- [2142] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [2143] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1151；
- [2144] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160；
- [2145] V_H结构域；和
- [2146] V_L结构域。
- [2147] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [2148] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1152；
- [2149] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160；
- [2150] V_H结构域；和
- [2151] V_L结构域。

- [2152] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [2153] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1153；
- [2154] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160；
- [2155] V_H结构域；和
- [2156] V_L结构域。
- [2157] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [2158] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1154；
- [2159] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160；
- [2160] V_H结构域；和
- [2161] V_L结构域。
- [2162] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [2163] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1155；
- [2164] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160；
- [2165] V_H结构域；和
- [2166] V_L结构域。
- [2167] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [2168] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1156；
- [2169] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160；
- [2170] V_H结构域；和
- [2171] V_L结构域。
- [2172] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [2173] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.116；
- [2174] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160；
- [2175] V_H结构域；和
- [2176] V_L结构域。
- [2177] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [2178] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1161；
- [2179] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160；
- [2180] V_H结构域；和
- [2181] V_L结构域。
- [2182] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [2183] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1162；
- [2184] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160；
- [2185] V_H结构域；和
- [2186] V_L结构域。
- [2187] 本发明所述缀合物的抗体包含：
- [2188] 重链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1163；
- [2189] 轻链，其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160；
- [2190] V_H结构域；和

[2191] V_L 结构域。

[2192] 本发明所述缀合物的抗体包含：

[2193] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1164;

[2194] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160;

[2195] V_H 结构域;和

[2196] V_L 结构域。

[2197] 本发明所述缀合物的抗体包含：

[2198] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1165;

[2199] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160;

[2200] V_H 结构域;和

[2201] V_L 结构域。

[2202] 本发明所述缀合物的抗体包含：

[2203] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1166;

[2204] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160;

[2205] V_H 结构域;和

[2206] V_L 结构域。

[2207] 定义

[2208] 免疫球蛋白(Ig)分子中氨基酸位置的编号

[2209] 本发明使用的氨基酸的编号是根据Kabat等人(1991,NIH Publication91-3242, National Technical Information Service, Springfield, VA, 以下称为“Kabat”)中所述的EUindex编号系统。“Kabat”中所述的“EUindex”是指如上述Kabat等人所述的人IgG 1EU抗体的残基编号。

[2210] 在例如IgG2、IgG3和IgG4(或IgG1、IgG2、IgD、IgE、IgM等)中存在取代的情况下,本领域技术人员可以容易地使用序列比对程序,例如NCBI **BLAST**® (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)以使序列与IgG1对齐以确定所需同种型的哪些残基对应于本发明所述的Kabat位置。

[2211] 抗体

[2212] 所用术语“抗体”涵盖任何包含抗体抗原结合位点的(例如,由成对的 V_H 结构域和 V_L 结构域形成)的分子因此,例如,术语“抗体”涵盖单克隆抗体(包括完整单克隆抗体)、多克隆抗体、由至少两个不同表位结合片段形成的多特异性抗体(例如,双特异性抗体)、人抗体、人源化抗体、骆驼抗体、嵌合抗体、单链抗体(如与CH3融合的scFv)、表现出所需生物活性的抗体片段(如抗原结合部分;例如微抗体)和抗独特型(抗-Id)抗体、胞内抗体和上述任何一种的表位结合片段,只要它们具有所需的生物活性,例如,结合同源抗原的能力。抗体可能是鼠、人、人源化、嵌合或衍生自其他物种。在一个实施方案中,抗体是融合到CH3结构域的单链Fv抗体(scFv-CH3)。在一个实施方案中,抗体是融合到Fc区的单链Fv抗体(scFv-Fc)。在一个实施方案中,抗体是微抗体。

[2213] 抗体是由能够识别和结合特异性抗原的免疫系统产生的蛋白质(Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York)。靶标抗原通常具有多个结合位点,也被称为表位,其由多重抗体上

的CDR识别。特异性结合不同的表位每种抗体具有不同的结构。因此,一种抗原可以具有多于一种的对应抗体。抗体包括完整的免疫球蛋白分子或完整的免疫球蛋白分子的免疫活性部分,即包含免疫特异性结合感兴趣的抗原或其一部分的抗原结合位点的分子,该靶标包括但不限于癌细胞或产生与自身免疫疾病相关的自身免疫抗体的细胞。

[2214] 特别地,抗体包括免疫球蛋白分子和免疫球蛋白分子的免疫活性片段,即含有至少一个抗原结合位点的分子。抗体可以是任何同种型(如IgG、IgE、IgM、IgD和IgA)、类(如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或亚类、或同种异型(例如人G1m1、G1m2、G1m3、非G1m1[除了G1m1以外的任何同种异型]、G1m17、G2m23、G3m21、G3m28、G3m11、G3m5、G3m13、G3m14、G3m10、G3m15、G3m16、G3m6、G3m24、G3m26、G3m27、A2m1、A2m2、Km1、Km2和Km3)。免疫球蛋白可以衍生自任何物种,包括人类、鼠或兔子来源。

[2215] 本发明的“完整抗体”是包含V_L结构域和V_H结构域以及轻链恒定结构域(CL)和重链恒定结构域CH1、CH2和CH3的抗体。恒定结构域可以是天然的序列恒定结构域(例如,人类天然序列恒定结构域)或它的氨基酸序列变体。完整抗体可以具有一种或多种“效应子功能”,其是指由抗体的Fc区(天然序列Fc区或氨基酸序列变体Fc区)引起的生物活性。抗体效应子功能的实例包括C1q结合;补体依赖的细胞毒性;Fc受体结合;抗体依赖的细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;和细胞表面受体(如B细胞受体和BCR)的下调。

[2216] 抗体重链恒定区或其一部分

[2217] 术语“抗体重链恒定区”、“Fc区”、“Fc结构域”和“Fc”如本发明所用,是指与通过木瓜蛋白酶消化IgG分子获得的可结晶片段相关的抗体分子部分。

[2218] 如本发明所用,术语“Fc区”、“Fc结构域”和“Fc”涉及除免疫球蛋白结构域第一恒定区之外的抗体的恒定区,并且还涉及该区域的各部分,因此Fc是指IgA、IgD和IgG的最后两个免疫球蛋白结构域恒定区,以及IgE和IgM的最后三个免疫球蛋白结构域恒定区,以及这些结构域的灵活铰链区N末端,或其各部分。对于IgG和IgG,Fc可以包括J链。

[2219] 对于IgG,Fc包含免疫球蛋白结构域Cy2和Cy3(C γ 2和C γ 3)以及Cy1(C γ 1)和Cy2(C γ 2)之间的铰链区。尽管Fc区的边界可以变化,但是人IgG重链Fc区通常被定义为在其羧基末端包含残基C226或P230(根据上文Kabat等人所述的EUindex的编号系统编号)。通常,Fc结构域包含人IgG1恒定结构域的大约氨基酸残基236至约447。

[2220] Fc多肽可以指独立的该区域,或者在抗体中的该区域、或其抗原结合部分,或Fc融合蛋白。

[2221] “完整重链恒定区”包含Fc区,并且还包含IgG重链的CH1结构域和铰链以及CH2和CH3(以及任选地,IgA和IgE的CH4)结构域。

[2222] “铰链区”如本发明所用,通常定义为从人类IgG1的Glu216延伸至Pro230(Burton, 1985, *Malec. Immunol.* 22:161-206),并且是指包含CH1结构域的C-末端部分和CH2结构域的N末端部分的IgG分子的部分。在美国专利6,165,476中,在第4栏第54行至第5栏第15行的表格中提供了人IgG1、IgG2、IgG2和IgG4和鼠IgG1和IgG2A的示例性铰链区,其也在例如Janeway等人,1999, *Immunology: The Immune System in Health and Disease*, 第4版(Elsevier Science Ltd.); Bloom等人,1997, *Protein Science* 6:407-415; Humphreys等人,1997, *J. Immunol. Methods* 209:193-202中有所说明。通过将形成链间S-S键的第一个和最后一个半胱氨酸残基置于相同位置将其他IgG同种型的铰链区可以与IgG1序列对齐。

[2223] Fc区的“下铰链区”通常被定义为紧邻C末端的残基延伸至铰链区,即Fe区的残基233至239。

[2224] 如本发明所用的术语“1gG铰链-Fc区”或“铰链-Fc片段”,指铰链区(大约残基216-230)和Fc区(残基231-447)C末端(通向那里)。

[2225] 术语“片段”用于描述短于本发明公开的全长序列的序列部分。优选地,包含本发明所公开的“片段”的抗体保留了结合靶标抗原的能力,最优选地,与除了包含本发明公开的全长序列以外在其他方面相同的抗体相比,具有约70%或更多的特异性结合活性(例如约10%或更多、50%或更多、75%或更多、80%或更多、85%或更多、90%或更多、95%或更多的结合活性)。在一些实施方案中,特异性结合活性是体外的。有时通过体外同质测定或体外异质测定来定量特异性结合活性。在一些实施方案中,特异性结合活性是体内的,而有时,特异性结合活性是原位确定的。在一些实施方案中,“片段”长度为至少50个氨基酸,如长度为至少75个、至少100个、至少150个、至少200个、至少250个或至少300个氨基酸。

[2226] 序列修饰

[2227] 本发明公开的抗体重链可变区和/或轻链可变区的序列可以通过取代、插入或缺失来修饰。与本发明所述序列基本相同的氨基酸序列包括包含保守氨基酸取代以及氨基酸缺失和/或插入的序列。保守氨基酸取代是指通过第二个氨基酸替换第一个氨基酸,所述第二个氨基酸具有与第一个氨基酸相似的化学和/或物理性质(例如电荷、结构、极性、疏水性/亲水性)。优选的保守取代是其中一个氨基酸被取代为以下所示氨基酸组中的另一个:

[2228] • 具有极性侧链的氨基酸(Asp、Glu、Lys、Arg、His、Asn、Gln、Ser、Thr、Tyr和Cys)

[2229] • 具有非极性侧链的氨基酸(Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Trp、Pro和Met)

[2230] • 具有脂族侧链的氨基酸(Gly、Ala、Val、Leu、Ile)

[2231] • 具有环状侧链的氨基酸(Phe、Tyr、Trp、His、Pro)

[2232] • 具有芳族侧链的氨基酸(Phe、Tyr、Trp)

[2233] • 具有酸性侧链的氨基酸(Asp、Glu)

[2234] • 具有碱性侧链的氨基酸(Lys、Arg、His)

[2235] • 具有酰胺侧链的氨基酸(Asn、Gln)

[2236] • 具有羟基侧链的氨基酸(Ser、Thr)

[2237] • 具有含硫侧链的氨基酸(Cys、Met),

[2238] • 中性、弱疏水性氨基酸(Pro、Ala、Gly、Ser、Thr)

[2239] • 亲水性、酸性氨基酸(Gln、Asn、Glu、Asp)和

[2240] • 疏水性氨基酸(Leu、Ile、Val)

[2241] 尤其优选的保守氨基酸取代组为:Val-Leu-Ile、Phe-Tyr、Lys-Arg、Ala-Val和Asn-Gln。

[2242] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含与本发明所述的重链具有80%或更多的氨基酸序列同一性的重链(例如,约85%或更多、86%或更多、87%或更多、88%或更多、89%或更多、90%或更多、91%或更多、92%或更多、93%或更多、94%或更多、95%或更多、96%或更多、97%或更多、98%或更多、99%或更多的序列同一性)。在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含的轻链与本发明所述的轻链具有80%或更多的氨基酸序列同一性(例如,约85%或更多、86%或更多、87%或更多、88%或更多、89%或更多、90%或

更多、91%或更多、92%或更多、93%或更多、94%或更多、95%或更多、96%或更多、97%或更多、98%或更多、99%或更多的序列同一性)。

[2243] 在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含重链,其氨基酸序列与本发明所述的重链氨基酸序列相同,除了其相对于本发明所述的重链的氨基酸序列包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸修饰(例如,取代、插入和/或缺失)。在一些实施方案中,本发明所述缀合物的抗体包含轻链,其氨基酸序列与本发明所述的轻链的氨基酸序列相同,除了其相对于本发明所述的轻链的氨基酸序列包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸修饰(例如,取代、插入和/或缺失)。

[2244] 降低免疫原性

[2245] 可以修饰本发明公开的抗体。例如,使它们对人类受试者具有更少的免疫原性。这可以使用本领域技术人员熟知的多项技术中的任一项实现。以下更详细地描述了这些技术中的一些。

[2246] 人源化

[2247] 降低非人类抗体或抗体片段的体内免疫原性的技术包括称作“人源化”的那些。

[2248] “人源化抗体”是指包含人类抗体的至少一部分修饰的可变区的多肽,其中,一部分可变区(优选地明显小于完整的人类可变结构域的部分)已经被来自非人类物种的对应序列取代,并且其中,修饰的可变区连接至另一蛋白质的至少另一部分,优选地连接至人类抗体的恒定区。表述“人源化抗体”包括人类抗体,其中,一个或多个互补决定区(“CDR”)氨基酸残基和/或一个或多个框架区(“FW”或“FR”)氨基酸残基被来自啮齿动物或其他非人类抗体中的同功(analogous)位点取代。表述“人源化抗体”还包含免疫球蛋白氨基酸序列变体或其片段,其包含基本上具有人类免疫球蛋白的氨基酸序列的FR和基本上具有非人类免疫球蛋白的氨基酸序列的CDR。

[2249] “人源化”形式的非人类(例如,鼠类)抗体是包含源自非人类免疫球蛋白的最小序列的嵌合抗体。或以另一种方式看,人源化抗体是还包含代替人类序列的、来在非人类(例如,鼠类)抗体的选定序列的人类抗体。人源化抗体可以包括来自相同或不同物种的不显著改变其结合和/或生物活性的保守性氨基酸取代或非天然残基。这种抗体是包含源自非人类免疫球蛋白的最小序列的嵌合抗体。

[2250] 存在大量人源化技术,包括‘CDR移植’、‘定向选择’、‘去免疫’、‘表面重建’(还称为‘外饰(veneering)’)、‘复合物抗体’、‘人类链含量优化(Human String Content Optimisation)’和框架混合。

[2251] CDR移植

[2252] 在该技术中,人源化抗体是人类免疫球蛋白(受体抗体),其中,来自受体抗体的互补决定区(CDR)的残基被具有期望性质的来自非人类物种如小鼠、大鼠、骆驼、牛、山羊或兔的CDR(供体抗体)的残基替代(实际上,非人类CDR被‘移植’至人类框架上)。在一些实施例中,人类免疫球蛋白的框架区(FR)残基被对应的非人类残基替代(例如,这可以发生在当特定的FR残基对抗原结合具有显著作用时)。

[2253] 此外,人源化抗体可以包含在受体抗体或植入的CDR或框架序列中都不能找到的残基。进行这些修饰以进一步改善和最大化抗体性能。因此,一般来说,人源化抗体将包含至少一种以及在一方面中两种的所有可变结构域,其中,所有的可变结构域或全部的高可

变区环对应于非人类免疫球蛋白的那些,并且所有或基本所有的FR区是人类免疫球蛋白序列的那些。人源化抗体任选地还将包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分或人类免疫球蛋白的至少一部分。

[2254] 定向选择

[2255] 该方法由以下组成:将对特定表位特异性的给定非人类抗体的V_H或V_L结构域与人类V_H或V_L文库组合并且针对感兴趣的抗原选择特异的人类V结构域。然后将该选定的人类V_H与V_L文库组合以产生完整的人类V_HxV_L组合。Nature Biotechnology (N.Y.) 12, (1994) 899-903中描述了该方法。

[2256] 复合物抗体

[2257] 在该方法中,将来自人类抗体的氨基酸序列的两个或多个区段组合在最终的抗体分子内。它们通过将多个人类V_H和V_L序列区段组合在组合体中而构建,该组合体在最终的复合物抗体V区中限制或避开人类T细胞表位。当需要时,通过用避开T细胞表位的可替代片段交换有助于或编码T细胞表位的V区的区段来限制或避开T细胞表位。US 2008/0206239 A1中描述了该方法。

[2258] 去免疫

[2259] 该方法涉及从治疗性抗体(或其他分子)的V区除去人类(或其他第二物种)T细胞表位。例如,通过与MHC结合基序(如,存储在www.wehi.edu.au中的“基序”数据库)比较,分析治疗性抗体V区序列中MHC II类结合基序的存在。可替代地,可以使用如Altuvia等人(J.Mol.Biol.249 244-250 (1995))设计的计算线程方法识别MHC II类结合基序;在这些方法中,针对来自V区序列的连续的重叠肽测试了它们与MHC II类蛋白质的结合能。然后将该数据与其他序列特征上的信息组合,该信息涉及成功地呈递肽,如两亲性、Rothbard基序和组织蛋白酶B和其他加工酶的切割位点。

[2260] 当已经识别可能的第二物种(例如,人类)的T细胞表位时,通过改变一个或多个氨基酸消除它们。修饰的氨基酸通常在T细胞表位自身内,但是也可以在蛋白质的初级或二级结构中临近表位(因此,在初级结构中可以不临近的)。最常见地,改变是通过取代的方式,但是在一些情况中,氨基酸的添加或缺失会更合适。

[2261] 通过DNA重组技术可以实现所有改变,使得可以通过使用良好建立的方法(如位点定向的诱变)由重组宿主的表达制备最终的分子。然而,也可以使用蛋白质化学或任何其他分子改变方式。

[2262] 表面重建

[2263] 该方法涉及:

[2264] (a) 通过构建非人类抗体可变区的三维模型,确定非人类(例如,啮齿动物)抗体可变区(或它的片段)的构象结构;

[2265] (b) 使用来自足量的非人类和人类抗体可变区重链和轻链的x-射线晶体结构的相对可接近分布来产生序列对齐,以给出一组重链和轻链框架位置,其中,对齐位置在98%足量的非人类抗体重链和轻链中是相同的;

[2266] (c) 使用步骤(b)中产生的框架位置组确定待人源化的非人类抗体,即一组重链和轻链表面暴露的氨基酸残基;

[2267] (d) 从人类抗体氨基酸序列识别一组重链和轻链表面暴露的氨基酸残基,该氨基

酸残基与步骤(c)中限定的一组表面暴露的氨基酸残基最为相似,其中,来自人类抗体的重链和轻链自然成对或不能自然成对;

[2268] (e) 在待人源化的非人类抗体的氨基酸序列中,用在步骤(d)中识别的一组重链和轻链表面暴露的氨基酸残基取代步骤(c)中限定的一组重链和轻链表面暴露的氨基酸残基;

[2269] (f) 构建由步骤(e)指定的取代得到的非人类抗体的可变区的三维模型;

[2270] (g) 通过比较步骤(a)和(f)中构建的三维模型,识别步骤(c)或(d)中识别的组中的任何氨基酸残基,该氨基酸残基在待人源化的非人类抗体的互补决定区的任何残基的任何原子的5埃内;以及

[2271] (h) 将步骤(g)中识别的任何残基从人类氨基酸残基变化为原始的非人类氨基酸残基,从而限定表面暴露的氨基酸残基的非人类抗体人源化组;条件是不需要首先进行步骤(a),但是必须在步骤(g)之前进行步骤(a)。

[2272] 超人源化

[2273] 该方法将非人类序列与功能性人类生殖种系基因谱系(human germline gene repertoire)比较。选择编码与非人类序列相同或密切相关的典型(canonical)结构的那些人类基因。将在CDR内具有最高同源性的这些选定的基因选作FR供体。最终,非人类CDR被移植到这些人类FR上。专利WO 2005/079479A2中描述了该方法。

[2274] 人类链含量优化

[2275] 该方法将非人类(例如,小鼠)序列与人类生殖种系基因的谱系比较,并且将差异评分为在可能的MHC/T细胞表位的水平上定量序列的人类链含量(Human String Content)(HSC)。然后通过使靶序列的HSC最大化而不是使用全局同一性测量来将靶序列人源化以产生多种不同的人源化变体(在Molecular Immunology,44,(2007)1986-1998中描述)。

[2276] 框架混合

[2277] 将非人类抗体的CDR框内融合至涵盖所有已知的重链和轻链人类生殖种系基因框架的cDNA池中。然后通过例如淘选(panning)噬菌体展示的抗体文库选择人源化抗体。这在Methods 36,43-60(2005)中被描述。

[2278] 表位结合结构域

[2279] 如本发明所用,术语表位结合域是指能够特异性识别并结合抗原表位的结构域。表位结合结构域的经典实例是包含形成抗原结合位点的V_H结构域和V_L结构域的抗体决定簇。

[2280] 本发明公开的抗体重链可变区和/或轻链可变区的序列可以通过例如插入、取代和/或缺失来修饰,使得表位结合结构域保持结合同源抗原的能力。本领域技术人员可以通过进行本发明所述或本领域已知的功能测定来确定该活性的维持。因此,在一些实施方案中,重链可变区包括不超过20个插入、取代和/或删除,如不超过15个、不超过10个、不超过9个、不超过8个、不超过7个、不超过6个、不超过5个、不超过4个、不超过3个、不超过2个或不超过1个插入、取代和/或删除。在一些实施方案中,轻链可变区不超过20个插入、取代和/或删除,如不超过15个、不超过10个、不超过9个、不超过8个、不超过7个、不超过6个、不超过5个、不超过4个、不超过3个、不超过2个或不超过1个插入、取代和/或删除。在一些实施方案中,本发明的抗体包括V_H和V_L结构域,其氨基酸序列与本发明所述的序列相同。

[2281] 治疗指数

[2282] 如本发明所用,术语“治疗指数”用作将引发治疗效果的治疗剂的量与引发死亡(动物研究)或毒性(人体研究)的治疗剂的量的比较。

[2283] 治疗指数= LD_{50}/ED_{50} (动物研究),或= TD_{50}/ED_{50} (人体研究),

[2284] 其中LD=使50%的群体致死的剂量,TD=对50%的群体有毒的剂量,且ED=对50%的群体的最小有效剂量。“有效”和“有毒”剂量的水平可以由医生或本领域技术人员容易地确定。当比较位点特异性和非位点特异性缀合物的治疗指数时,以相同的方式确定“有效”和“有毒”水平。

[2285] 其它方面相同

[2286] 本发明所用术语“其它方面相同的非位点特异性缀合物”是指,除了药物单元(D^L)与抗体重链恒定区或其一部分缀合的位置以外,在所有方面与所定义或要求保护的位点特异性缀合物相同的缀合物。具体来说,在所定义或要求保护的位点特异性缀合物中,药物单元(D^L)均匀且一致地与特定的残基缀合,而在其它方面相同的非位点特异性缀合物中,药物单元(D^L)对抗体的缀合程度和位置在批次间是变化的。

[2287] 例如,在本发明的位点特异性抗体-药物缀合物的一个实施方案中,有两个药物单元(D^L),各自缀合在两个抗体重链恒定区或其一部分中各442位残基(kabat编号)处。本实施例的“其它方面相同的非位点特异性缀合物”是具有相同氨基酸序列和多肽结构的抗体,也具有两个缀合的药物单元(D^L);然而,药物单元(D^L)没有均匀并且一致地缀合到每个442位,而是缀合到选定的不同位置上,其精确组合在群体内的缀合物间变化(例如,缀合可以通过赖氨酸侧链或通过还原的链间二硫键)。

[2288] 如本发明所述,诸如亲和力、治疗指数和稳定性等性质是在群体水平上测量的批次性质,而不是在分子水平上测量。因此,本发明中的位点特异性缀合物的性质与“其它方面相同的非位点特异性缀合物”的比较是这些分子的群体显示出的性质的比较。

[2289] 功能性部分

[2290] 本公开的人源化抗体可与功能性部分缀合。功能性部分的实例包括氨基酸、肽、蛋白质、多糖、核苷、核苷酸、寡核苷酸、核酸、药物、激素、脂质、脂质组合体、合成聚合物、聚合物微粒、生物细胞、病毒、报告基因(例如荧光团、发色团或染料)、毒素、半抗原、酶、结合成员(例如抗体或抗体片段)、放射性同位素、固体基质、半固体基质及其组合或有机部分。

[2291] 药物的实例包括细胞毒性剂、化疗剂、肽、肽模拟物、蛋白质支架、DNA、RNA、siRNA、微RNA和肽核酸。在优选的实施方案中,功能性部分是PBD药物。在其它实施方案中,人源化抗体缀合至经修饰提供生物反应的治疗剂或药物。治疗剂或药物不应被解释为限于经典的化学治疗剂。例如,药物可以是具有所需生物活性的蛋白质或多肽。这样的蛋白质可以包括例如,毒素如相思豆毒素(abrin)、蓖麻毒素A(ricin A)、假单胞菌外毒素、霍乱毒素或白喉毒素;蛋白质如肿瘤坏死因子、 α -干扰素、 β -干扰素、神经生长因子、血小板衍生生长因子、组织纤维蛋白溶酶原激活剂、凋亡剂例如TNF- α 、TNF- β 、AIM I(参见国际公开W0 97/33899)、AIM II(参见国际公开W0 97/34911)、Fas配体(Takahashi等人,1994,J Immunol., 6:1567)和VEGF(参见国际公开W0 99/23105)、血栓形成剂或抗血管生成剂例如血管抑素或内皮抑制素;或者生物应答调节剂,例如白介素-1(“IL-1”)、白介素-2(“IL-2”)、白介素-4(“IL-4”)、白介素-6(“IL-6”)、白介素-7(“IL-7”)、白介素-9(“IL-9”)、白介素-15(“IL-

15”)、白介素-12 (“IL-12”)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (“GM-CSF”) 和粒细胞集落刺激因子 (“G-CSF”) 或生长因子 (例如、生长激素 (“GH”))。

[2292] 报告基因的实例包括荧光团、发色团、放射性核素和酶。这种抗体-报告基因缀合物可作为临床测试程序的一部分用于监测或预测疾病 (例如但不限于癌症) 的发展或进展, 如确定特定疗法的功效。这样的诊断和检测可以通过将抗体融合或缀合到可检测物质上来实现, 该物质包括但不限于: 各种酶, 例如但不限于辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶; 辅基, 例如但不限于链霉亲和素/生物素和亲和素/生物素; 荧光材料, 例如但不限于伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、二氯三嗪氨荧光素、丹磺酰氯或藻红蛋白; 发光材料, 例如但不限于生物发光材料, 例如但不限于虫荧光素酶、虫荧光素和水母发光蛋白; 放射性物质, 例如但不限于, 铋 (^{213}Bi)、碳 (^{14}C)、铬 (^{51}Cr)、钴 (^{57}Co)、氟 (^{18}F)、钆 (^{153}Gd 、 ^{159}Gd)、镓 (^{68}Ga 、 ^{67}Ga)、锗 (^{68}Ge)、钬 (^{166}Ho)、铟 (^{115}In 、 ^{113}In 、 ^{112}In 、 ^{111}In)、碘 (^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{121}I)、镧 (^{140}La)、镱 (^{177}Lu)、锰 (^{54}Mn)、钼 (^{99}Mo)、钯 (^{103}Pd)、磷 (^{32}P)、镨 (^{142}Pr)、钷 (^{149}Pm)、铼 (^{186}Re 、 ^{188}Re)、铑 (^{105}Rh)、钌 (^{97}Ru)、钐 (^{153}Sm)、钪 (^{47}Sc)、硒 (^{75}Se)、锶 (^{85}Sr)、硫 (^{35}S)、锝 (^{99}Tc)、钛 (^{201}Ti)、锡 (^{113}Sn 、 ^{117}Sn)、氚 (^3H)、氙 (^{133}Xe)、镱 (^{169}Yb 、 ^{175}Yb)、钇 (^{90}Y)、锌 (^{65}Zn); 使用各种正电子发射断层扫描的正电子发射金属和非放射性顺磁性金属离子。

[2293] 结合成员的实例包括抗体或抗体片段, 以及生物素和/或链霉亲和素。

[2294] 毒素、细胞毒素或细胞毒性剂包括对细胞有害的任何试剂。毒素的实例包括放射性同位素例如 ^{131}I 、核糖体灭活蛋白如假单胞菌外毒素 (PE38 片段)、植物或细菌毒素如蓖麻毒素, 蓖麻毒素 α 链, 皂草素, 美洲商陆抗病毒蛋白, 白喉毒素或假单胞菌外毒素 A (Kreitman 和 Pastan (1998) *Adv. Drug Delivery Rev.* 31:53.)。其他毒素和细胞毒素包括例如细胞抑制剂或杀细胞剂, 或放射性金属离子例如 α -发射体。实例包括紫杉醇、细胞松弛素 B、短杆菌肽 D、溴化乙锭、依米丁、丝裂霉素、依托泊苷、替尼泊苷、长春新碱、长春碱、秋水仙碱、多柔比星、柔红霉素、二羟基蒽环二酮、米托蒽醌、光辉霉素、放线菌素 D、1-脱氢睾酮、糖皮质激素、普鲁卡因、丁卡因、利多卡因、普萘洛尔、嘌呤霉素、表柔比星和环磷酰胺及其类似物或同系物、抗代谢物 (例如甲氨蝶呤、6-巯基嘌呤、6-巯鸟嘌呤、阿糖胞苷、5-氟尿嘧啶、氨烯咪胺)、烷化剂 (例如双氯乙基甲胺氮芥、噻替派、苯丁酸氮芥、美法仑、卡莫司汀 (BCNU) 和洛莫司汀 (CCNU)、环磷酰胺、白消安、二溴甘露醇、链脲霉素、丝裂霉素 C 和顺二氯二氨基铂 (II) (DDP) 顺铂)、蒽环类 (例如柔红霉素 (以前称为道诺霉素) 和多柔比星)、抗生素 (例如、更生霉素 (以前称为放线菌素)、博来霉素、光辉霉素和安曲霉素 (AMC)) 和抗有丝分裂剂 (例如长春新碱和长春碱)。化学毒素也可取自选自以下的组: 倍癌霉素 (duocarmycin) (美国专利号 5,703,080; 4,923,990)、甲氨蝶呤、多柔比星、美法仑、苯丁酸氮芥、ARA-C、长春地辛、丝裂霉素 C、顺铂、依托泊苷、博来霉素和 5-氟尿嘧啶。化疗剂的实例还包括阿霉素、多柔比星、5-氟尿嘧啶、阿糖胞苷 (Ara-C)、环磷酰胺、噻替派、泰索帝 (多西他赛)、白消安、细胞毒素、紫杉醇、甲氨蝶呤。在一个实施方案中, 细胞毒性剂选自烯二炔、lexitropsin、倍癌霉素、紫杉烷、嘌呤霉素、多拉司他汀、美登木素 (maytansinoid) 和长春花生物碱。在其它实施方案中, 细胞毒性剂是紫杉醇、多西紫杉醇、CC-I 065、SN-38、拓扑替康、吗啉代多柔比星、根霉素、氰基吗啉代多柔比星、多拉司他汀-10、棘霉素、考布他汀、卡奇霉素、美登素、DM-I、阿里他汀 (auristatin) 或其他多拉司他汀衍生物、如阿里他汀 E 或阿里他汀 F、AEB、AEVB、AEFP、MMAE (单甲基阿里他汀 E)、MMAF (单甲基阿里他汀 F)、eleutherobin 或纺锤霉素

(netropsin)。在一些实施方案中,细胞毒剂是美登素或美登木素及其衍生物,其中本发明的抗体(全长或片段)与一个或多个美登木素分子缀合。美登木素是通过抑制微管蛋白聚合而起作用的有丝分裂抑制剂。在其他实施方案中,毒素是小分子或蛋白质毒素,例如但不限于相思豆毒素、马钱子碱、毒芹素、白喉毒素、蟾毒素、肉毒杆菌毒素、志贺毒素、内毒素、假单胞菌外毒素、假单胞菌内毒素、破伤风毒素、百日咳毒素、炭疽毒素、霍乱毒素、falcarinol、伏马菌毒素B1、伏马菌毒素B2、黄曲霉毒素、maurotoxin、agitoxin、卡律蝎毒素、马格毒素(Margatoxin)、slo toxin、scyllatoxin、hefutoxin、calciseptine、taicatoxin、calcicludeine、格尔德霉素、白树毒素(gelonin)、百脉根甙(lotaustralin)、ocratoxin A、棒曲霉素、蓖麻毒素、马钱子碱、单端孢霉烯、玉米赤霉烯酮(Zearlenone)和河豚毒素。可以使用的酶活性毒素及其片段包括白喉A链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素A链(来自绿脓假单胞菌)、蓖麻毒素A链、相思豆毒素A链、莨菪根毒素A链、 α -sarcin、油桐蛋白、石竹素蛋白、美洲商陆(*Phytolacca americana*)蛋白(PAPI、P APII和PAP-S)、苦瓜属抑制剂、麻疯树毒蛋白、巴豆毒素、石碱草(*Saponaire officinalis*)抑制剂、白树毒素、丝裂胶素(mitogellin)、局限曲菌素(restrictocin)、酚霉素(phenomycin)、依诺霉素(enomycin)和单端孢霉烯。

[2295] 可以通过与有机部分的缀合来修饰人源化抗体。这种修饰可以产生具有改善的药代动力学性质(例如,体内血清半衰期增加)的抗体或抗原结合片段。有机部分可以是直链或支链亲水性聚合物基团、脂肪酸基团或脂肪酸酯基团。在具体实施方案中,亲水性聚合物基团可以具有约800至约120,000道尔顿的分子量,并且可以是聚链烷二醇(例如,聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇(PPG))、碳水化合物聚合物、氨基酸聚合物或聚乙烯基吡咯烷酮,并且脂肪酸或脂肪酸酯基团可以包含约8至约40个碳原子。在一些实施方案中,细胞毒性剂或细胞抑制剂是多拉司他汀。在更具体的实施方案中,多拉司他汀是阿里他汀类。在本发明的具体实施方案中,细胞毒性剂或细胞抑制剂是MMAE。在本发明的另一具体实施方案中,细胞毒性剂或细胞抑制剂是AEFP。在本发明的另一个具体实施方案中,细胞毒性剂或细胞抑制剂是MMAF。

[2296] 人源化抗体和抗原结合片段可以包含一个或多个直接或间接共价键合到抗体上的有机部分。与本发明所述的抗体或抗原结合片段结合的有机部分可各自独立地为亲水性聚合物基团、脂肪酸基团或脂肪酸酯基团。如本发明所用,术语“脂肪酸”涵盖单羧酸和二羧酸。本发明所用的术语“亲水性聚合物基团”是指在水中比在辛烷中更易溶的有机聚合物。例如,聚赖氨酸在水中比在辛烷中更易溶。因此,本发明涵盖了通过共价连接聚赖氨酸而修饰的抗体。适于修饰本发明所述的抗体的亲水性聚合物可以是直链或支链的,包括例如聚链烷二醇(例如,PEG、单甲氧基-聚乙二醇(mPEG)、PPG等)、碳水化合物(例如,右旋糖、纤维素、低聚糖、多糖等)、亲水性氨基酸的聚合物(例如,聚赖氨酸、聚精氨酸、聚天冬氨酸等)、聚烷氧化物(例如,聚环氧乙烷、聚环氧丙烷等)和聚乙烯吡咯烷酮。优选地,修饰本发明所述的抗体的亲水性聚合物作为单独的分子实体具有约800至约150,000道尔顿的分子量,例如,可以使用PEG5000和PEG20,000,其中名称中的数值部分是聚合物的以道尔顿为单位的平均分子量。亲水性聚合物基团可以被一至约六个烷基、脂肪酸或脂肪酸酯基团取代。被脂肪酸或脂肪酸酯基取代的亲水性聚合物可以通过采用合适的方法制备。例如,包含胺基的聚合物可以与脂肪酸或脂肪酸酯的羧酸酯偶联,以及脂肪酸或脂肪酸酯上活化的羧酸酯

(例如,用N,N-羰基二咪唑活化)可以与聚合物上的羟基偶联。

[2297] 适于修饰本发明所述抗体的脂肪酸和脂肪酸酯可以是饱和的,或可以含有一个或多个不饱和单元。适于修饰本发明所述抗体的脂肪酸包括例如,正十二烷酸酯(C12,月桂酸酯)、正十四烷酸酯(C14,肉豆蔻酸酯)、正十八烷酸酯(C 18,硬脂酸酯)、正二十烷酸酯(C20,花生酸酯)、正二十二烷酸酯(C22,山嵛酸酯)、正三十烷酸酯(C30)、正四十烷酸酯(C40)、顺式- δ 9-十八烷酸酯(C18,油酸酯)、全顺式 δ 5,8,11,14-二十碳四烯酸酯(C20,花生四烯酸)、辛二酸、十四烷二酸、十八烷二酸、二十二烷二酸和类似的脂肪酸。适用的脂肪酸酯包括包含直链或支链低级烷基的二羧酸的单酯。低级烷基可包含1至约12个碳原子,优选1至约6个碳原子。

[2298] 上述缀合物可以使用合适的方法制备,如通过与一种或多种改性剂反应:本发明使用的术语“改性剂”是指包含活性基团的合适的有机基团(例如亲水性聚合物、脂肪酸、脂肪酸酯);“活性基团”是化学部分或官能团,其在合适的条件下可以与第二化学基团反应,从而在改性剂和第二化学基团之间形成共价键。

[2299] 例如,胺反应活性基团包括:亲电子基团如甲苯磺酸根、甲磺酸根、卤素(氯、溴、氟、碘)、N-羟基琥珀酰亚胺基酯(NHS)等。可与硫醇反应的活性基团包括,例如,马来酰亚胺、碘乙酰基、丙烯酰基、吡啶基二硫化物、5-巯基-2-硝基苯甲酸硫醇(TNB-硫醇)等。醛官能团可以与含胺或酰肼的分子偶联,并且叠氮基可以与三价磷基团反应形成氨基磷酸酯或磷酰亚胺接头。适用于将活性基团引入分子的方法在本领域已知(参见例如,Hernanson, G.T., *Bioconjugate Techniques*, Academic Press: San Diego, Calif. (1996))。活化基团可以直接键合到有机基团(例如亲水性聚合物、脂肪酸、脂肪酸酯)或通过接头部分,例如二价C1-C12基团,在该基团中一个或多个碳原子可以被诸如氧、氮或硫的杂原子代替。合适的接头部分包括例如四乙二醇、--(CH₂)₃--、--NH--(CH₂)₆--NH--、--(CH₂)₂--NH--和--CH₂--O--CH₂--CH₂--O--CH₂--CH₂--O--CH--NH--。可以制备包含接头部分的改性剂,例如通过使单-Boc-烷基二胺(例如,单-Boc-乙二胺、单-Boc-二氨基己烷)在1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)存在下,与脂肪酸反应,以在游离胺和脂肪酸羧酸酯之间形成酰胺键。可以通过用三氟乙酸(TFA)处理将Boc保护基团从产物中除去,以暴露伯胺,该伯胺可以如所述那样与其它羧酸酯偶联或者可以与马来酸酐反应,得到的产物被环化以产生脂肪酸的活化的马来酰亚胺衍生物。参见,例如,Thompson等人,W092/16221,将该文献教导的内容并入本申请作为参考。

[2300] 上述缀合物可以通过使人抗体或抗原结合片段与改性剂反应来制备。例如,有机部分可以通过使用胺反应性改性剂例如PEG的NHS酯以非位点特异性方式与抗体键合。还可以通过还原抗体或抗原结合片段的二硫键(例如,链间二硫键)来制备改性的人抗体或抗原结合片段。被还原的抗体或抗原结合片段然后可以与硫醇反应性改性剂反应以产生本发明所述的修饰的抗体。包含与本发明所述的抗体的特异性位点键合的有机部分的经修饰的人抗体和抗原结合片段可以使用合适的方法制备,如反向蛋白水解(Fisch等人, *Bioconjugate Chem.*, 3:147-153 (1992); Werlen等人, *Bioconjugate Chem.*, 5:411-417 (1994); Kumaran等人, *Protein Sci.* 6(10):2233-2241 (1997); Itoh等人, *Bioorg. Chem.*, 24(1):59-68 (1996); Capellas等人, *Biotechnol. Bioeng.*, 56(4):456-463 (1997)),以及 Hermanson, G.T., *Bioconjugate Techniques*, Academic Press: San Diego, Calif. (1996)

中所述的方法。

[2301] 药学上可接受的阳离子

[2302] 药学上可接受的单价和二价阳离子的实例讨论于Berge等人, J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977), 其通过引用并入本申请。

[2303] 药学上可接受的阳离子可以是无机阳离子或有机阳离子。

[2304] 药学上可接受的单价无机阳离子的实例包括但不限于碱金属离子如 Na^+ 和 K^+ 。药学上可接受的二价无机阳离子的实例包括但不限于碱土金属阳离子如 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 。药学上可接受的有机阳离子的实例包括但不限于铵离子(即 NH_4^+)和取代的铵离子(例如 NH_3R^+ 、 NH_2R_2^+ 、 NHR_3^+ 、 NR_4^+)。一些适合的取代的铵离子的实例是源自以下的那些取代的铵离子:乙胺、二乙胺、二环己胺、三乙胺、丁胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪、苄胺、苯基苄胺、胆碱、葡甲胺和氨丁三醇以及氨基酸,如赖氨酸和精氨酸。常见的季铵离子的实例是 $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$ 。

[2305] 取代基

[2306] 如在本发明中所使用的,短语“任选取代的”涉及其可以是未取代的或其可以是取代的母基团。

[2307] 除非另有规定,如在本发明中所使用的术语“取代的”涉及带有一个或多个取代基的母基团。术语“取代基”在本发明中是在常规意义上使用并且是指这样的化学部分,其共价连接于,或者如果合适的话,稠合于母基团。各种的取代基是众所周知的,并且用于它们的形成和引入至各种母基团中的方法也是众所周知的。

[2308] 在下文更详细描述取代基的实例。

[2309] C_{1-12} 烷基:如在本发明中所使用的,术语“ C_{1-12} 烷基”涉及通过从具有1至12个碳原子的烃化合物的碳原子去除氢原子所获得的单价部分,其可以是脂族或脂环族,并且其可以是饱和或不饱和的(例如部分不饱和的、完全不饱和的)。如在本发明中所使用的,术语“ C_{1-4} 烷基”涉及通过从具有1至4个碳原子的烃化合物的碳原子去除氢原子所获得的单价部分,其可以是脂族或脂环族,并且其可以是饱和或不饱和的(例如部分不饱和的、完全不饱和的)。因此,术语“烷基”包括下文讨论的亚类:烯基、炔基、环烷基等。

[2310] 饱和烷基的实例包括但不限于甲基(C_1)、乙基(C_2)、丙基(C_3)、丁基(C_4)、戊基(C_5)、己基(C_6)和庚基(C_7)。

[2311] 饱和直链烷基的实例包括但不限于甲基(C_1)、乙基(C_2)、正丙基(C_3)、正丁基(C_4)、正戊基(戊基)(C_5)、正己基(C_6)和正庚基(C_7)。

[2312] 饱和支链烷基的实例包括异丙基(C_3)、异丁基(C_4)、仲丁基(C_4)、叔丁基(C_4)、异戊基(C_5)和新戊基(C_5)。

[2313] C_{2-12} 烯基:如在本发明中所使用的,术语“ C_{2-12} 烯基”涉及具有一个或多个碳-碳双键的烷基。

[2314] 不饱和烯基的实例包括但不限于乙烯基(乙烯基)(乙烯基(vinyl), $-\text{CH}=\text{CH}_2$)、1-丙烯基($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$)、2-丙烯基(烯丙基, $-\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$)、异丙烯基(1-甲基乙烯基, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$)、丁烯基(C_4)、戊烯基(C_5)和己烯基(C_6)。

[2315] C_{2-12} 炔基:如在本发明中所使用的,术语“ C_{2-12} 炔基”涉及具有一个或多个碳-碳三键的烷基。

[2316] 不饱和炔基的实例包括但不限于乙炔基($-\text{C}\equiv\text{CH}$)和2-丙炔基(2-propynyl)(炔丙

基(propargyl), $-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{CH}$)。

[2317] C_{3-12} 环烷基:如在本发明中所使用的,术语“ C_{3-12} 环烷基”涉及也是环基的烷基;即,通过从环烃(碳环)化合物的脂环原子去除氢原子所获得的单价部分,该单价部分具有3至7个碳原子,包括3至7个环原子。

[2318] 环烷基的实例包括但不限于那些环烷基,其源自:

[2319] 饱和单环烃化合物:

[2320] 环丙烷(C_3)、环丁烷(C_4)、环戊烷(C_5)、环己烷(C_6)、环庚烷(C_7)、甲基环丙烷(C_4)、二甲基环丙烷(C_5)、甲基环丁烷(C_5)、二甲基环丁烷(C_6)、甲基环戊烷(C_6)、二甲基环戊烷(C_7)和甲基环己烷(C_7);

[2321] 不饱和单环烃化合物:

[2322] 环丙烯(C_3)、环丁烯(C_4)、环戊烯(C_5)、环己烯(C_6)、甲基环丙烯(C_4)、二甲基环丙烯(C_5)、甲基环丁烯(C_5)、二甲基环丁烯(C_6)、甲基环戊烯(C_6)、二甲基环戊烯(C_7)和甲基环己烯(C_7);以及

[2323] 饱和多环烃化合物:

[2324] 降莰烷(norcarane) (C_7)、降蒎烷(norpinane) (C_7)、降莰烷(降冰片烷, norbornane) (C_7)。

[2325] C_{3-20} 杂环基:如在本发明中所使用的,术语“ C_{3-20} 杂环基”涉及通过从杂环化合物的环原子去除氢原子所获得的单价部分,该部分具有3至20个环原子,其中1至10个是环杂原子。优选地,每个环具有3至7个环原子,其中1至4个是环杂原子。

[2326] 在此上下文中,前缀(例如 C_{3-20} 、 C_{3-7} 、 C_{5-6} ,等)表示环原子的数目或环原子的数目的范围,而不管是碳原子或杂原子。例如,如在本发明中所使用的,术语“ C_{5-6} 杂环基”涉及具有5或6个环原子的杂环基。

[2327] 单环杂环基的实例包括但不限于源自以下的那些单环杂环基:

[2328] N_1 :氮丙啶(C_3)、氮杂环丁烷(C_4)、吡咯烷(四氢吡咯) (C_5)、吡咯啉(例如,3-吡咯啉、2,5-二氢吡咯) (C_5)、2H-吡咯或3H-吡咯(异吡咯,异噁唑) (C_5)、哌啶(C_6)、二氢吡啶(C_6)、四氢吡啶(C_6)、氮杂(C_7);

[2329] O_1 :氧杂环丙烷(oxirane) (C_3)、氧杂环丁烷(oxetane) (C_4)、氧杂环戊烷(四氢呋喃) (C_5)、氧杂环戊二烯(oxole) (二氢呋喃) (C_5)、氧杂环己烷(oxane) (四氢吡喃) (C_6)、二氢吡喃(C_6)、吡喃(C_6)、氧杂环庚三烯(oxepin) (C_7);

[2330] S_1 :硫杂环丙烷(C_3)、硫杂环丁烷(C_4)、硫杂环戊烷(四氢噻吩) (C_5)、硫杂环己烷(四氢噻喃) (C_6)、硫杂环庚烷(thiepane) (C_7);

[2331] O_2 :二氧杂环戊烷(C_5)、二氧杂环己烷(C_6)和二氧杂环庚烷(dioxepane) (C_7);

[2332] O_3 :三氧杂环己烷(C_6);

[2333] N_2 :咪唑烷(C_5)、吡唑烷(二偶氮烷) (C_5)、咪唑啉(C_5)、吡唑啉(二氢吡唑) (C_5)、哌嗪(C_6);

[2334] N_1O_1 :四氢噁唑(C_5)、二氢噁唑(C_5)、四氢异噁唑(C_5)、二氢异噁唑(C_5)、吗啉(C_6)、四氢噁嗪(C_6)、二氢噁嗪(C_6)、噁嗪(C_6);

[2335] N_1S_1 :噻唑啉(C_5)、噻唑烷(C_5)、硫代吗啉(C_6);

[2336] N_2O_1 :噁二嗪(C_6);

[2337] O_1S_1 : 氧硫杂环戊二烯(噁噻吩, oxathiole) (C_5) 和氧硫杂环己烷(噻噁烷) (C_6); 以及

[2338] $N_1O_1S_1$: 噁噻嗪 (C_6)。

[2339] 取代的单环杂环基的实例包括那些源自: 环形式的糖类, 例如, 呋喃糖 (C_5), 如阿拉伯呋喃糖、来苏呋喃糖 (lyxofuranose)、呋喃核糖和呋喃木糖 (xylofuranse), 以及吡喃糖 (C_6), 如别吡喃糖 (allopynanose)、吡喃阿草糖、吡喃葡萄糖、吡喃甘露糖、吡喃古洛糖 (gulopyranose)、吡喃艾杜糖 (idopyranose)、吡喃半乳糖和吡喃塔罗糖 (talopyranose)。

[2340] C_{5-20} 芳基: 如在本发明中所使用的, 术语“ C_{5-20} 芳基”涉及通过从芳族化合物的芳环原子去除氢原子所获得的单价部分, 其具有3至20个环原子。如在本发明中所使用的, 术语“ C_{5-7} 芳基”涉及通过从芳族化合物的芳环原子去除氢原子所获得的单价部分, 其具有5至7个环原子, 以及如在本发明中所使用的, 术语“ C_{5-10} 芳基”涉及通过从芳族化合物的芳环原子去除氢原子所获得的单价部分, 其具有5至10个环原子。优选地, 每个环具有5至7个环原子。

[2341] 在此上下文中, 前缀 (例如 C_{3-20} 、 C_{5-7} 、 C_{5-6} 、 C_{5-10} 等) 表示环原子 (碳原子或杂原子) 的数目或环原子的数目的范围。例如, 如在本发明中所使用的, 术语“ C_{5-6} 芳基”涉及具有5或6个环原子的芳基。

[2342] 环原子可以都是碳原子, 如在“碳芳基”中。

[2343] 碳芳基的实例包括但不限于源自以下的那些碳芳基: 苯 (即苯基) (C_6)、萘 (C_{10})、萸 (C_{10})、蒽 (C_{14})、菲 (C_{14})、蒽并萘 (C_{18}) 和芘 (C_{16})。

[2344] 包含稠环 (其至少之一是芳环) 的芳基的实例包括但不限于源自以下的基团: 茛满 (例如 2,3-二氢-1H-茛) (C_9)、茛 (C_9)、异茛 (C_9)、四氢化萘 (1,2,3,4-四氢萘 (C_{10}))、茈 (C_{12})、芴 (C_{13})、非那烯 (C_{13})、醋菲 (C_{15}) 和醋蒽 (C_{16})。

[2345] 可替换地, 环原子可以包括一个或多个杂原子, 如在“杂芳基”中。单环杂芳基的实例包括但不限于源自以下的那些:

[2346] N_1 : 吡咯 (唑) (C_5)、吡啶 (吡嗪) (C_6);

[2347] O_1 : 呋喃 (氧杂环戊二烯) (C_5);

[2348] S_1 : 噻吩 (thiophene) (硫杂环戊二烯, thiole) (C_5);

[2349] N_1O_1 : 噁唑 (C_5)、异噁唑 (C_5)、异噁嗪 (C_6);

[2350] N_2O_1 : 噁二唑 (呋咱) (C_5);

[2351] N_3O_1 : 噁三唑 (C_5);

[2352] N_1S_1 : 噻唑 (C_5)、异噻唑 (C_5);

[2353] N_2 : 咪唑 (1,3-二唑) (C_5)、吡唑 (1,2-二唑) (C_5)、哒嗪 (1,2-二嗪) (C_6)、嘧啶 (1,3-二嗪) (C_6) (例如, 胞嘧啶、胸腺嘧啶、尿嘧啶)、吡嗪 (1,4-二嗪) (C_6);

[2354] N_3 : 三唑 (C_5)、三嗪 (C_6); 以及

[2355] N_4 : 四唑 (C_5)。

[2356] 包含稠环的杂芳基的实例包括但不限于:

[2357] 源自以下的 C_9 (具有2个稠环): 苯并呋喃 (O_1)、异苯并呋喃 (O_1)、吲哚 (N_1)、异吲哚 (N_1)、吲嗪 (N_1)、吲哚啉 (N_1)、异吲哚啉 (N_1)、嘌呤 (N_4) (例如, 腺嘌呤、鸟嘌呤)、苯并咪唑 (N_2)、吲唑 (N_2)、苯并噁唑 (N_1O_1)、苯并异噁唑 (N_1O_1)、苯并二氧杂环戊二烯 (O_2)、苯并呋咱

(N₂O₁)、苯并三唑(N₃)、苯并噻吩(S₁)、苯并噻唑(N₁S₁)、苯并噻二唑(N₂S)；

[2358] 源自以下的C₁₀(具有2个稠环):色烯(O₁)、异色烯(O₁)、色满(chroman)(O₁)、异色满(O₁)、苯并二噁烷(O₂)、喹啉(N₁)、异喹啉(N₁)、喹啉(N₁)、苯并噁嗪(N₁O₁)、苯并二嗪(N₂)、吡啶并吡啶(N₂)、喹啉(N₂)、喹啉(N₂)、噌啉(N₂)、酞嗪(phthalazine)(N₂)、蔡啶(N₂)、蝶啶(N₄)；

[2359] 源自以下的C₁₁(具有2个稠环):苯并二氮草(N₂)；

[2360] 源自以下的C₁₃(具有3个稠环):吡啶(N₁)、二苯并咪唑(O₁)、二苯并噻吩(S₁)、咪唑(N₂)、咪唑(perimidine)(N₂)、吡啶并咪唑(N₂)；以及

[2361] 源自以下的C₁₄(具有3个稠环):吡啶(N₁)、咕吨(xanthene)(O₁)、噻吨(S₁)、噻蒎(oxanthrene)(O₂)、吩噻噻(phenoxathiin)(O₁S₁)、吩噻(N₂)、吩噻噻(N₁O₁)、吩噻噻(N₁S₁)、噻蒎(S₂)、菲啶(N₁)、菲咯啉(N₂)、吩噻(N₂)。

[2362] 上述基团,无论单独地或是另一取代基的一部分,可以本身任选地被选自它们本身和以下列出的另外的取代基的一个或多个基团取代。

[2363] 卤素:-F、-Cl、-Br和-I。

[2364] 羟基:-OH。

[2365] 醚:-OR,其中R是醚取代基,例如,C₁₋₇烷基(还被称为C₁₋₇烷氧基,下文讨论)、C₃₋₂₀杂环基(还被称为C₃₋₂₀杂环氧基)或C₅₋₂₀芳基(还被称为C₅₋₂₀芳氧基),优选C₁₋₇烷基。

[2366] 烷氧基:-OR,其中R是烷基,例如,C₁₋₇烷基。C₁₋₇烷氧基的实例包括但不限于-OMe(甲氧基)、-OEt(乙氧基)、-O(nPr)(正丙氧基)、-O(iPr)(异丙氧基)、-O(nBu)(正丁氧基)、-O(sBu)(仲丁氧基)、-O(iBu)(异丁氧基)和-O(tBu)(叔丁氧基)。

[2367] 缩醛:-CH(OR¹)(OR²),其中R¹和R²独立地是缩醛取代基,例如,C₁₋₇烷基、C₃₋₂₀杂环基或C₅₋₂₀芳基,优选C₁₋₇烷基,或者,在“环状”缩醛基团的情况下,R¹和R²连同它们所连接的两个氧原子和它们所连接的碳原子一起形成具有4至8个环原子的杂环。缩醛基团的实例包括但不限于-CH(OMe)₂、-CH(OEt)₂和-CH(OMe)(OEt)。

[2368] 半缩醛:-CH(OH)(OR¹),其中R¹是半缩醛取代基,例如,C₁₋₇烷基、C₃₋₂₀杂环基或C₅₋₂₀芳基,优选C₁₋₇烷基。半缩醛基团的实例包括但不限于-CH(OH)(OMe)和-CH(OH)(OEt)。

[2369] 缩酮:-CR(OR¹)(OR²),其中R¹和R²是如针对缩醛所限定的,以及R是除氢以外的缩酮取代基,例如,C₁₋₇烷基、C₃₋₂₀杂环基或C₅₋₂₀芳基,优选C₁₋₇烷基。缩酮基团的实例包括但不限于-C(Me)(OMe)₂、-C(Me)(OEt)₂、-C(Me)(OMe)(OEt)、-C(Et)(OMe)₂、-C(Et)(OEt)₂和-C(Et)(OMe)(OEt)。

[2370] 半缩酮:-CR(OH)(OR¹),其中R¹是如针对半缩醛所限定,并且R是除氢以外的半缩酮取代基,例如,C₁₋₇烷基、C₃₋₂₀杂环基或C₅₋₂₀芳基,优选C₁₋₇烷基。半缩醛基团的实例包括但不限于-C(Me)(OH)(OMe)、-C(Et)(OH)(OMe)、-C(Me)(OH)(OEt)和-C(Et)(OH)(OEt)。

[2371] 氧代(酮基、-酮):=O。

[2372] 硫酮(Thione)(硫代酮,thioketone):=S。

[2373] 亚氨基(亚胺):=NR,其中R是亚氨基的取代基,例如,氢、C₁₋₇烷基、C₃₋₂₀杂环基或C₅₋₂₀芳基,优选氢或C₁₋₇烷基。酯基的实例包括但不限于=NH、=NMe、=Net和=NPh。

[2374] 甲酰基(carbaldehyde,carboxaldehyde):-C(=O)H。

[2375] 酰基(酮基):-C(=O)R,其中R是酰基的取代基,例如,C₁₋₇烷基(还被称为C₁₋₇烷基

酰基或C₁₋₇烷基酰基)、C₃₋₂₀杂环基(还被称为C₃₋₂₀杂环基酰基)或C₅₋₂₀芳基(还被称为C₅₋₂₀芳基酰基),优选C₁₋₇烷基。酰基的实例包括但不限于-C(=O)CH₃(乙酰基)、-C(=O)CH₂CH₃(丙酰基)、-C(=O)C(CH₃)₃(叔丁酰基)和-C(=O)Ph(苯甲酰基,苯酮)。

[2376] 羧基(羧酸): -C(=O)OH。

[2377] 硫代羧基(硫代羧酸): -C(=S)SH。

[2378] 巯基代羧基(巯基代羧酸): -C(=O)SH。

[2379] 硫羧基(硫羧酸): -C(=S)OH。

[2380] 亚胺酸(Imidic acid): -C(=NH)OH。

[2381] 异羟肟酸: -C(=NOH)OH。

[2382] 酯(羧酸酯(carboxylate),羧酸酯(carboxylic acid ester),氧基羰基(oxy羰基)): -C(=O)OR,其中R是酯的取代基,例如,C₁₋₇烷基、C₃₋₂₀杂环基或C₅₋₂₀芳基,优选C₁₋₇烷基。酯基的实例包括但不限于-C(=O)OCH₃、-C(=O)OCH₂CH₃、-C(=O)OC(CH₃)₃和-C(=O)Oph。

[2383] 酰氧基(反向酯): -OC(=O)R,其中R是酰氧基的取代基,例如,C₁₋₇烷基、C₃₋₂₀杂环基或C₅₋₂₀芳基,优选C₁₋₇烷基。酰氧基的实例包括但不限于-OC(=O)CH₃(乙酰氧基)、-OC(=O)CH₂CH₃、-OC(=O)C(CH₃)₃、-OC(=O)Ph、和-OC(=O)CH₂Ph。

[2384] 氧基羰基氧基: -OC(=O)OR,其中R是酯代基,例如,C₁₋₇烷基、C₃₋₂₀杂环基或C₅₋₂₀芳基,优选C₁₋₇烷基。酯基的实例包括但不限于-OC(=O)OCH₃、-OC(=O)OCH₂CH₃、-OC(=O)OC(CH₃)₃和-OC(=O)Oph。

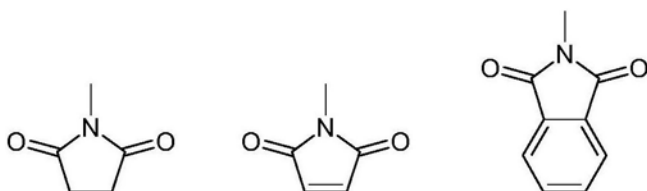
[2385] 氨基: -NR¹R²,其中R¹和R²独立地是氨基的取代基,例如,氢、C₁₋₇烷基(还被称为C₁₋₇烷基氨基或二C₁₋₇烷基氨基)、C₃₋₂₀杂环基或C₅₋₂₀芳基,优选H或C₁₋₇烷基,或者,在“环状”氨基的情况下,R¹和R²连同它们所连接的氮原子一起形成具有4至8个环原子的杂环。氨基可以是伯氨基(-NH₂)、仲氨基(-NHR¹)或叔氨基(-NHR¹R²),以及在阳离子形式中,可以是季氨基(-⁺NR¹R²R³)。氨基的实例包括但不限于-NH₂、-NHCH₃、-NHC(CH₃)₂、-N(CH₃)₂、-N(CH₂CH₃)₂和-NHPh。环状氨基的实例包括但不限于氮丙啶基、氮杂环丁烷基、吡咯烷子基(pyrrolidino)、哌啶子基(piperidino)、哌嗪子基(piperazino)、吗啉代和硫代吗啉代。

[2386] 酰胺基(氨基甲酰基,氨甲酰基,氨基羰基,甲酰胺): -C(=O)NR¹R²,其中R¹和R²独立地是氨基的取代基,如针对氨基所限定的。酰胺基的实例包括但不限于-C(=O)NH₂、-C(=O)NHCH₃、-C(=O)N(CH₃)₂、-C(=O)NHCH₂CH₃和-C(=O)N(CH₂CH₃)₂,以及其中R¹和R²连同它们所连接的氮原子一起形成杂环结构的酰胺基,如在,例如,哌啶子基羰基、吗啉代羰基、硫代吗啉代羰基和哌嗪子基羰基中那样。

[2387] 硫代酰胺基(硫代氨基甲酰基): -C(=S)NR¹R²,其中R¹和R²独立地是氨基的取代基,如针对氨基所限定的。酰胺基的实例包括但不限于-C(=S)NH₂、-C(=S)NHCH₃、-C(=S)N(CH₃)₂和-C(=S)NHCH₂CH₃。

[2388] 酰胺基(酰基氨基): -NR¹C(=O)R²,其中R¹是酰胺的取代基,例如,氢、C₁₋₇烷基、C₃₋₂₀杂环基或C₅₋₂₀芳基,优选氢或C₁₋₇烷基,以及R²是酰基的取代基,例如,C₁₋₇烷基、C₃₋₂₀杂环基或C₅₋₂₀芳基,优选氢或C₁₋₇烷基。酰胺基团的实例包括但不限于-NHC(=O)CH₃、-NHC(=O)CH₂CH₃和-NHC(=O)Ph。R¹和R²可以一起形成环状结构,如在,例如,琥珀酰亚胺基、马来酰亚胺基和邻苯二甲酰亚胺基中:

[2389]



[2390] 琥珀酰亚胺基马来酰亚胺基邻苯二甲酰亚胺基

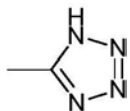
[2391] 氨基羰氧基： $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$ ，其中 R^1 和 R^2 独立地是氨基的取代基，如针对氨基所限定的。氨基羰氧基的实例包括但不限于 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NHMe}$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NMe}_2$ 和 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NEt}_2$ 。

[2392] 脲基： $-\text{N}(\text{R}^1)\text{CONR}^2\text{R}^3$ ，其中 R^2 和 R^3 独立地是氨基的取代基，如针对氨基所限定的，以及 R^1 是脲基的取代基，例如，氢、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基，优选氢或 C_{1-7} 烷基。脲基的实例包括但不限于 $-\text{NHCONH}_2$ 、 $-\text{NHCONHMe}$ 、 $-\text{NHCONHEt}$ 、 $-\text{NHCONMe}_2$ 、 $-\text{NHCONEt}_2$ 、 $-\text{NMeCONH}_2$ 、 $-\text{NMeCONHMe}$ 、 $-\text{NMeCONHEt}$ 、 $-\text{NMeCONMe}_2$ 和 $-\text{NMeCONEt}_2$ 。

[2393] 胍基： $-\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 。

[2394] 四唑基：具有4个氮原子和一个碳原子的五元芳环，

[2395]



[2396] 亚氨基： $=\text{NR}$ ，其中 R 是亚氨基的取代基，例如，氢、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基，优选 H 或 C_{1-7} 烷基。亚氨基的实例包括但不限于 $=\text{NH}$ 、 $=\text{NMe}$ 和 $=\text{NEt}$ 。

[2397] 脒(脒基)： $-\text{C}(=\text{NR})\text{NR}_2$ ，其中每个 R 是脒的取代基，例如，氢、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基，优选 H 或 C_{1-7} 烷基。脒基团的实例包括但不限于 $-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})\text{NMe}_2$ 和 $-\text{C}(=\text{NMe})\text{NMe}_2$ 。

[2398] 硝基： $-\text{NO}_2$ 。

[2399] 亚硝基： $-\text{NO}$ 。

[2400] 叠氮基： $-\text{N}_3$ 。

[2401] 氰基(腈, 甲腈)： $-\text{CN}$ 。

[2402] 异氰基： $-\text{NC}$ 。

[2403] 氰酸基(Cyanato)： $-\text{OCN}$ 。

[2404] 异氰酸基： $-\text{NCO}$ 。

[2405] 硫氰基(氰硫基)： $-\text{SCN}$ 。

[2406] 异硫氰基(异氰硫基)： $-\text{NCS}$ 。

[2407] 硫氢基(硫醇; 巯基)： $-\text{SH}$ 。

[2408] 硫醚(硫化物)： $-\text{SR}$ ，其中 R 是硫醚的取代基，例如， C_{1-7} 烷基(还被称为 C_{1-7} 烷硫基)、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基，优选 C_{1-7} 烷基。 C_{1-7} 烷硫基的实例包括但不限于 $-\text{SCH}_3$ 和 $-\text{SCH}_2\text{CH}_3$ 。

[2409] 二硫化物： $-\text{SS}-\text{R}$ ，其中 R 是二硫化物的取代基，例如， C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基，优选 C_{1-7} 烷基(在本发明中还称为 C_{1-7} 烷基二硫化物)。 C_{1-7} 烷基二硫化物基团的实例包括但不限于 $-\text{SSCH}_3$ 和 $-\text{SSCH}_2\text{CH}_3$ 。

[2410] 亚磺酰(sulfine)(亚磺酰基, 亚磺)： $-\text{S}(=\text{O})\text{R}$ ，其中 R 是亚磺酰的取代基，例如， C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基，优选 C_{1-7} 烷基。亚磺酰基团的实例包括但不限于 $-\text{S}(=\text{O})\text{CH}_3$ 。

和 $-S(=O)CH_2CH_3$ 。

[2411] 砜(磺酰基): $-S(=O)_2R$, 其中R是砜的取代基, 例如, C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 C_{1-7} 烷基, 包括, 例如, 氟化或全氟化 C_{1-7} 烷基。砜基团的实例包括但不限于 $-S(=O)_2CH_3$ (甲烷磺酰基, 甲磺酰基)、 $-S(=O)_2CF_3$ (三氟甲磺酰基, triflyl)、 $-S(=O)_2CH_2CH_3$ (乙磺酰基, esyl)、 $-S(=O)_2C_4F_9$ (九氟丁磺酰基, nonaflyl)、 $-S(=O)_2CH_2CF_3$ (三氟乙磺酰基, tresyl)、 $-S(=O)_2CH_2CH_2NH_2$ (牛磺酰基, tauryl)、 $-S(=O)_2Ph$ (苯基磺酰基, 苯磺酰基(besyl))、4-甲基苯基磺酰基(甲苯磺酰基(tosyl))、4-氯苯基磺酰基(氯苯磺酰基(closyl))、4-溴苯基磺酰基(溴苯磺酰基(brosyl))、4-硝基苯基(硝基苯磺酰基(nosyl))、2-萘磺酸酯(萘磺酰基, napsyl)和5-二甲基氨基-萘-1-基磺酸酯(丹磺酰基(dansyl))。

[2412] 亚磺酸(亚磺基): $-S(=O)OH$ 、 $-SO_2H$ 。

[2413] 磺酸(磺基): $-S(=O)_2OH$ 、 $-SO_3H$ 。

[2414] 亚磺酸酯(sulfinate)(亚磺酸酯, sulfinic acid ester): $-S(=O)OR$; 其中R是亚磺酸酯的取代基, 例如, C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 C_{1-7} 烷基。亚磺酸酯基团的实例包括但不限于 $-S(=O)OCH_3$ (甲氧基亚磺酰基; 亚磺酸甲酯基)和 $-S(=O)OCH_2CH_3$ (乙氧基亚磺酰基; 亚磺酸乙酯基)。

[2415] 磺酸酯(sulfonate)(磺酸酯, sulfonic acid ester): $-S(=O)_2OR$, 其中R是磺酸酯的取代基, 例如, C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 C_{1-7} 烷基。磺酸酯基团的实例包括但不限于 $-S(=O)_2OCH_3$ (甲氧基磺酰基; 磺酸甲酯基)和 $-S(=O)_2OCH_2CH_3$ (乙氧基磺酰基; 磺酸乙酯基)。

[2416] 亚磺酰氧基: $-OS(=O)R$, 其中R是亚磺酰氧基的取代基, 例如, C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 C_{1-7} 烷基。亚磺酰氧基的实例包括但不限于 $-OS(=O)CH_3$ 和 $-OS(=O)CH_2CH_3$ 。

[2417] 磺酰氧基: $-OS(=O)_2R$, 其中R是磺酰氧基的取代基, 例如, C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 C_{1-7} 烷基。磺酰氧基的实例包括但不限于 $-OS(=O)_2CH_3$ (甲磺酸酯基)和 $-OS(=O)_2CH_2CH_3$ (乙磺酸酯基)。

[2418] 硫酸酯: $-OS(=O)_2OR$; 其中R是硫酸酯的取代基, 例如, C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 C_{1-7} 烷基。硫酸酯基团的实例包括但不限于 $-OS(=O)_2OCH_3$ 和 $-SO(=O)_2OCH_2CH_3$ 。

[2419] 氨磺酰(sulfamyl)(氨磺酰基(sulfamoyl); 亚磺酸酰胺; 氨磺酰胺): $-S(=O)NR^1R^2$, 其中 R^1 和 R^2 独立地是氨基的取代基, 如针对氨基所限定的。氨磺酰的实例包括但不限于 $-S(=O)NH_2$ 、 $-S(=O)NH(CH_3)$ 、 $-S(=O)N(CH_3)_2$ 、 $-S(=O)NH(CH_2CH_3)$ 、 $-S(=O)N(CH_2CH_3)_2$ 和 $-S(=O)NPh$ 。

[2420] 亚磺酰氨基(亚氨磺酰基; 磺酸酰胺; 氨磺酰): $-S(=O)_2NR^1R^2$, 其中 R^1 和 R^2 独立地是氨基的取代基, 如针对氨基所限定的。亚磺酰氨基的实例包括但不限于 $-S(=O)_2NH_2$ 、 $-S(=O)_2NH(CH_3)$ 、 $-S(=O)_2N(CH_3)_2$ 、 $-S(=O)_2NH(CH_2CH_3)$ 、 $-S(=O)_2N(CH_2CH_3)_2$ 和 $-S(=O)_2NPh$ 。

[2421] 磺酸氨基: $-NR^1S(=O)_2OH$, 其中 R^1 是氨基的取代基, 如针对氨基所限定的。磺氨基的实例包括但不限于 $-NHS(=O)_2OH$ 和 $-N(CH_3)S(=O)_2OH$ 。

[2422] 磺酰氨基(Sulfonamino): $-NR^1S(=O)_2R$, 其中 R^1 是氨基的取代基, 如针对氨基所限定的, 以及R是磺酰氨基的取代基, 例如, C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 C_{1-7} 烷基。磺酰氨基的实例包括但不限于 $-NHS(=O)_2CH_3$ 和 $-N(CH_3)S(=O)_2C_6H_5$ 。

[2423] 亚磺酰氨基(Sulfinamino): $-\text{NR}^1\text{S}(=\text{O})\text{R}$, 其中 R^1 是氨基的取代基, 如针对氨基所限定的, 并且 R 是亚磺酰氨基的取代基, 例如, C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 C_{1-7} 烷基。亚磺酰氨基的实例包括但不限于 $-\text{NHS}(=\text{O})\text{CH}_3$ 和 $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{S}(=\text{O})\text{C}_6\text{H}_5$ 。

[2424] 膦基(麟): $-\text{PR}_2$, 其中 R 是膦基的取代基, 例如, $-\text{H}$ 、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 $-\text{H}$ 、 C_{1-7} 烷基或 C_{5-20} 芳基。膦基的实例包括但不限于 $-\text{PH}_2$ 、 $-\text{P}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{P}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{P}(\text{t-Bu})_2$ 和 $-\text{P}(\text{Ph})_2$ 。

[2425] 二氧代磷基: $-\text{P}(=\text{O})_2$ 。

[2426] 次膦酰基(氧化麟): $-\text{P}(=\text{O})\text{R}_2$, 其中 R 是次膦酰基的取代基, 例如, C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 C_{1-7} 烷基或 C_{5-20} 芳基。次膦酰基的实例包括但不限于 $-\text{P}(=\text{O})(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{t-Bu})_2$ 和 $-\text{P}(=\text{O})(\text{Ph})_2$ 。

[2427] 膦酸(膦酸基): $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})_2$ 。

[2428] 膦酸酯(膦酸基酯): $-\text{P}(=\text{O})(\text{OR})_2$, 其中 R 是膦酸酯的取代基, 例如, $-\text{H}$ 、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 $-\text{H}$ 、 C_{1-7} 烷基或 C_{5-20} 芳基。膦酸酯基团的实例包括但不限于 $-\text{P}(=\text{O})(\text{OCH}_3)_2$ 、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{O-t-Bu})_2$ 和 $-\text{P}(=\text{O})(\text{OPh})_2$ 。

[2429] 磷酸(磷酸基氧基): $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OH})_2$ 。

[2430] 磷酸酯(磷酸基氧基酯): $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OR})_2$, 其中 R 是磷酸酯的取代基, 例如, $-\text{H}$ 、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 $-\text{H}$ 、 C_{1-7} 烷基或 C_{5-20} 芳基。磷酸酯基团的实例包括但不限于 $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_3)_2$ 、 $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{OP}(=\text{O})(\text{O-t-Bu})_2$ 和 $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OPh})_2$ 。

[2431] 亚磷酸: $-\text{OP}(\text{OH})_2$ 。

[2432] 亚磷酸酯: $-\text{OP}(\text{OR})_2$, 其中 R 是亚磷酸酯的取代基, 例如, $-\text{H}$ 、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 $-\text{H}$ 、 C_{1-7} 烷基或 C_{5-20} 芳基。亚磷酸酯基团的实例包括但不限于 $-\text{OP}(\text{OCH}_3)_2$ 、 $-\text{OP}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{OP}(\text{O-t-Bu})_2$ 和 $-\text{OP}(\text{OPh})_2$ 。

[2433] 亚磷酰胺: $-\text{OP}(\text{OR}^1)-\text{NR}^2_2$, 其中 R^1 和 R^2 是亚磷酰胺的取代基, 例如, $-\text{H}$ 、(任选取代的) C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 $-\text{H}$ 、 C_{1-7} 烷基或 C_{5-20} 芳基。亚磷酰胺基团的实例包括但不限于 $-\text{OP}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{OP}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)-\text{N}(\text{i-Pr})_2$ 和 $-\text{OP}(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN})-\text{N}(\text{i-Pr})_2$ 。

[2434] 氨基磷酸酯: $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OR}^1)-\text{NR}^2_2$, 其中 R^1 和 R^2 是氨基磷酸酯的取代基, 例如, $-\text{H}$ 、(任选取代的) C_{1-7} 烷基、 C_{3-20} 杂环基或 C_{5-20} 芳基, 优选 $-\text{H}$ 、 C_{1-7} 烷基或 C_{5-20} 芳基。氨基磷酸酯基团的实例包括但不限于 $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_3)-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_3)-\text{N}(\text{i-Pr})_2$ 和 $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN})-\text{N}(\text{i-Pr})_2$ 。

[2435] 亚烷基

[2436] C_{3-12} 亚烷基: 如在本发明中所使用的, 术语“ C_{3-12} 亚烷基”涉及通过从具有3至12个碳原子(除非另有规定)的烃化合物的相同碳原子去除两个氢原子或从两个不同的碳原子各去除一个氢原子所获得的二齿部分, 其可以是脂族或脂环族, 并且其可以是饱和的、部分不饱和的或完全不饱和的。因此, 术语“亚烷基”包括下文讨论的以下亚类: 亚烯基、亚炔基、亚环烷基等。

[2437] 直链饱和 C_{3-12} 亚烷基的实例包括但不限于 $-(\text{CH}_2)_n-$, 其中 n 是3至12的整数, 例如, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (亚丙基)、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (亚丁基)、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (亚戊基)和 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (亚庚基)。

[2438] 支链饱和 C_{3-12} 亚烷基的实例包括但不限于 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}$

(CH₃)CH₂CH₂CH₂-、-CH₂CH(CH₃)CH₂-、-CH₂CH(CH₃)CH₂CH₂-、-CH(CH₂CH₃)-、-CH(CH₂CH₃)CH₂-和-CH₂CH(CH₂CH₃)CH₂-。

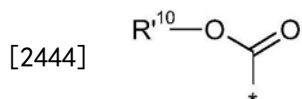
[2439] 直链部分不饱和的C₃₋₁₂亚烷基(C₃₋₁₂亚烯基和亚炔基)的实例包括但不限于-CH=CH-CH₂-、-CH₂-CH=CH₂-、-CH=CH-CH₂-CH₂-、-CH=CH-CH₂-CH₂-CH₂-、-CH=CH-CH=CH-、-CH=CH-CH=CH-CH₂-、-CH=CH-CH=CH-CH₂-CH₂-、-CH=CH-CH₂-CH=CH-、-CH=CH-CH₂-CH₂-CH=CH-和-CH₂-C≡C-CH₂-。

[2440] 支链部分不饱和的C₃₋₁₂亚烷基(C₃₋₁₂亚烯基和亚炔基)的实例包括但不限于-C(CH₃)=CH-、-C(CH₃)=CH-CH₂-、-CH=CH-CH(CH₃)-和-C≡C-CH(CH₃)-。

[2441] 脂环族饱和C₃₋₁₂亚烷基(C₃₋₁₂亚环烷基)的实例包括但不限于亚环戊基(例如环戊-1,3-亚基)和亚环己基(例如环己-1,4-亚基)。

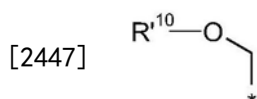
[2442] 脂环族部分不饱和的C₃₋₁₂亚烷基(C₃₋₁₂亚环烷基)的实例包括但不限于亚环戊烯基(例如4-环戊烯-1,3-亚基)、亚环己烯基(例如2-环己烯-1,4-亚基;3-环己烯-1,2-亚基;2,5-环己二烯-1,4-亚基)。

[2443] 氨基甲酸酯氮保护基团:术语“氨基甲酸酯氮保护基团”涉及这样的部分,其掩蔽在亚胺键中的氮,并且是本领域中众所周知的。这些基团具有以下结构:



[2445] 其中R'¹⁰是如上文所限定的R。大量的适合基团描述于Greene, T.W. 和Wuts, G.M., Protective Groups in Organic Synthesis, 第3版, John Wiley&Sons, Inc., 1999的第503至549页,其通过引用结合于此。

[2446] 半缩醛胺氮保护基团:术语“半缩醛胺氮保护基团”涉及具有以下结构的基团:



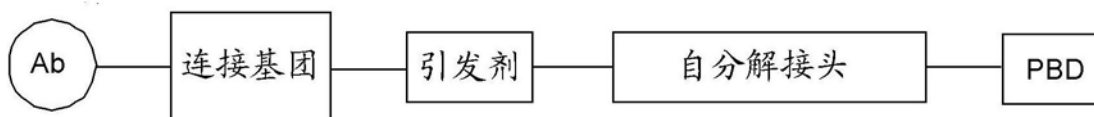
[2448] 其中R'¹⁰是如上文所限定的R。大量的适合基团描述于Greene, T.W. 和Wuts, G.M., Protective Groups in Organic Synthesis, 第3版, John Wiley&Sons, Inc., 1999的第633至647页针对酰胺保护基团所描述的基团,其通过引用结合于此。

[2449] 基团氨基甲酸酯氮保护基团和半缩醛胺氮保护基团可以共同地称为“用于合成的氮保护基团”。

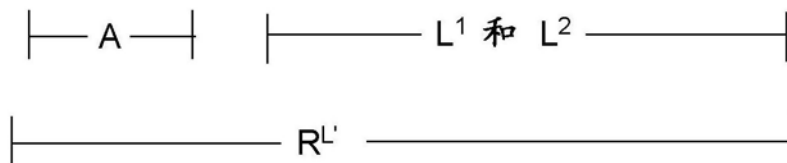
[2450] 缀合物

[2451] 本发明提供包含经由接头单元连接至抗体的PBD化合物的缀合物。

[2452] 在一个实施方案中,缀合物包含连接至间隔连接基团的抗体,该间隔基团连接至引发剂(trigger),该引发剂连接至自分解(self-immolative)接头且该自分解接头连接至PBD化合物的N10位置。以下说明了这种缀合物:



[2453]



[2454] 其中,Ab是以上限定的抗体并且PBD是本发明所描述的吡咯并苯并二氮杂萘化合物(D)。说明示出了对应于本发明的一些实施方案中的 $R^{L'}$ 、A、 L^1 和 L^2 的部分。 $R^{L'}$ 可以是 $R^{L1'}$ 或 $R^{L2'}$ 。D是其中除去 $R^{L1'}$ 或 $R^{L2'}$ 的 D^L 。

[2455] 本发明适用于将PBD化合物提供至受试者中优选的位置的用途。在优选的实施方案中,缀合物允许释放不保留任何接头部分的活性PBD化合物。不存在可以影响PBD化合物的反应活性的残留。

[2456] 接头通过一个或多个共价键将抗体连接至PBD药物D。接头是双官能的或多官能的部分,可被用于连接一个或多个药物(D)和抗体单元(Ab)以形成抗体-药物缀合物(ADC)。接头($R^{L'}$)在细胞之外(即,细胞外)可以是稳定的,或它是通过酶活性、水解或其他新陈代谢条件可切割的。使用具有用于将药物结合至抗体的反应功能性的接头可以方便地制备抗体-药物缀合物(ADC)。抗体(Ab)的半胱氨酸硫醇或胺,例如N端或氨基酸侧链(如赖氨酸),可以与接头或间隔基团试剂、PBD药物(D)或药物-接头试剂(D^L , $D-R^L$)的官能团形成键,其中, R^L 可以是 R^{L1} 或 R^{L2} 。

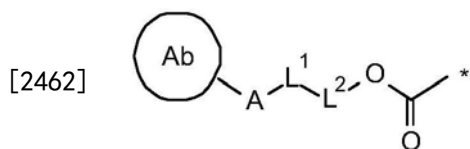
[2457] ADC的接头优选地防止ADC分子的聚集,并且保持ADC易溶于水性介质以及将其保持在单体状态。

[2458] ADC的接头优选地在细胞外稳定。在输送或递送至细胞之前,抗体-药物缀合物(ADC)优选地是稳定的并且保持完整,即,抗体保持连接至药物部分。接头在靶细胞外是稳定的,并且在细胞内可以以有效速率切割。有效的接头将:(i)保持抗体的特异性结合性质;(ii)允许缀合物或药物部分的细胞内递送;(iii)保持稳定和完整,即,直到缀合物被递送或输送至它的靶向位点才被切割;以及(iv)保持PBD药物部分的细胞毒性作用、细胞杀伤作用或细胞抑制作用。可以通过标准分析技术如质谱、HPLC和分离/分析技术LC/MS测量ADC的稳定性。

[2459] 抗体和药物的共价连接需要接头具有两个反应性官能团,即,反应意义上的二价。可用于连接两个或多个功能部分或生物活性部分如肽、核酸、药物、毒素、抗体、半抗原和报告基团的二价接头试剂是已知的,并且已经有方法描述了它们所得到的缀合物(Hermanson, G.T. (1996) Bioconjugate Techniques; Academic Press: New York, p 234-242)。

[2460] 在另一个实施方案中,接头可以由调节聚集、溶解度或反应性的基团取代。例如,磺酸酯取代基可以增加试剂的水溶解度并且促进接头试剂与抗体或药物的偶联反应,或促进 $Ab-L$ 与 D^L 或 D^L-L 与 Ab 的偶联反应,这取决于制备ADC使用的合成路径。

[2461] 在一个实施方案中, $L-R^{L'}$ 是以下基团:



[2463] 其中,星号表示连接至药物单元(D)的点,Ab是抗体(L), L^1 是接头,A是将 L^1 连接至抗体的连接基团, L^2 是共价键或与 $-OC(=O)-$ 一起形成自分解接头,以及 L^1 或 L^2 是可切割的接头。

[2464] L^1 优选地是可切割的接头,并且可被称为用于激活切割用接头的引发剂。

[2465] 当存在时, L^1 和 L^2 的性质可以广泛改变。基于它们的切割特征来选择的这些基团,其可以由缀合物所递送的位点的条件来决定。尽管也可以使用通过pH变化(例如,酸或碱不稳定性)、温度或通过辐射(例如,对光的不稳定性)可切割的接头,但是通过酶的作用切割的那些接头是优选的。也可以在本发明中使用在还原或氧化条件下可切割的接头。

[2466] L^1 可以包含连续的氨基酸序列。氨基酸序列可以是用于酶切割的靶底物,从而允许从N10位置释放 $L-R^1$ 。

[2467] 在一个实施方案中,可以由酶的作用切割 L^1 。在一个实施方案中,酶是酯酶或肽酶。

[2468] 在一个实施方案中,存在 L^2 并且与 $-C(=O)O-$ 一起形成自分解接头。在一个实施方案中, L^2 是用于酶活性的底物,从而允许从N10位置释放 $L-R^1$ 。

[2469] 在一个实施方案中,当 L^1 在酶的作用下是可切割的并且存在 L^2 时,酶切割 L^1 和 L^2 之间的键。

[2470] L^1 和 L^2 (当存在时)可以通过选自以下的键连接:

[2471] $-C(=O)NH-$,

[2472] $-C(=O)O-$,

[2473] $-NHC(=O)-$,

[2474] $-OC(=O)-$,

[2475] $-OC(=O)O-$,

[2476] $-NHC(=O)O-$,

[2477] $-OC(=O)NH-$,和

[2478] $-NHC(=O)NH-$ 。

[2479] 连接至 L^2 的 L^1 的氨基基团可以是氨基酸的N-端,或可以源自氨基酸侧链(例如赖氨酸氨基酸侧链)的氨基基团。

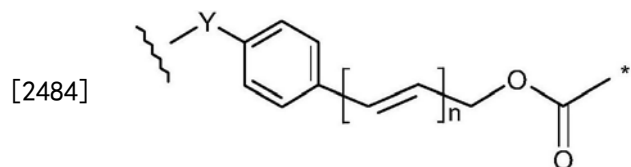
[2480] 连接至 L^2 的 L^1 的羧基基团可以是氨基酸的C-端,或可以源自氨基酸侧链(例如谷氨酸氨基酸侧链)的羧基基团。

[2481] 连接至 L^2 的 L^1 的羟基基团可以源自氨基酸侧链(例如丝氨酸氨基酸侧链)的羟基基团。

[2482] 术语“氨基酸侧链”包括在以下中发现的那些基团:(i)天然存在的氨基酸,如丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸;(ii)微量氨基酸(minoramino acids),如鸟氨酸和瓜氨酸;(iii)非天然氨基酸、 β -氨基酸、天然存在的氨基酸的合成类似物和衍生物;以及(iv)所有它们的对映异构体、非对映异构

体、富含的同分异构体、同位素标记的(例如, ^2H 、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N)、受保护形式和外消旋混合物。

[2483] 在一个实施方案中, $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ 和 L^2 一起形成以下基团:



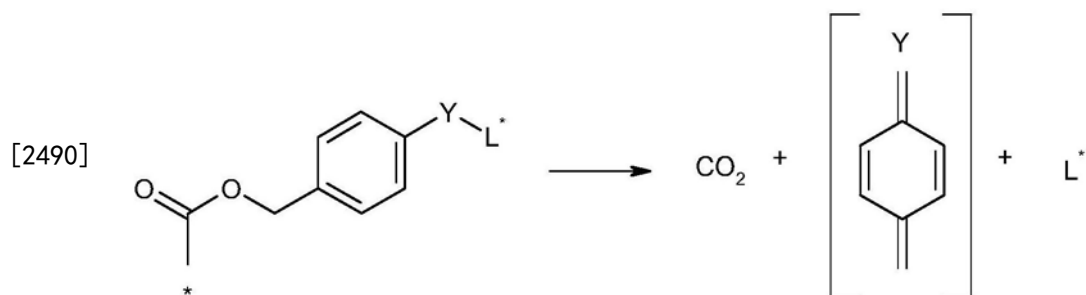
[2485] 其中,星号表示连接至N10位置的点,波浪线表示连接至接头 L^1 的点,Y是 $-\text{N}(\text{H})-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{H})-$ 或 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$,并且n是0至3。亚苯基环任选地被本发明所描述的一个、两个或三个取代基取代。在一个实施方案中,亚苯基基团任选地被卤素、 NO_2 、R或OR取代。

[2486] 在一个实施方案中,Y是NH。

[2487] 在一个实施方案中,n是0或1。优选地,n是0。

[2488] 当Y是NH并且n是0时,自分解接头可以被称为对氨基苄基羰基接头(PABC)。

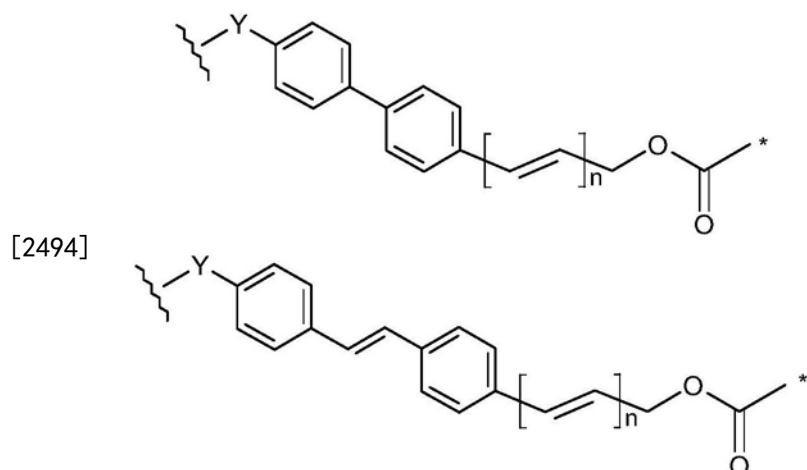
[2489] 当远端位点被活化时,自分解接头使受保护的化合物释放,其沿以下所示的路线进行(n=0):



[2491] 其中, L^* 是接头的剩余部分的活化形式。这些基团具有使活化位点与受保护的化合物分离的优势。如以上所描述的,亚苯基基团可以是任选取代的。

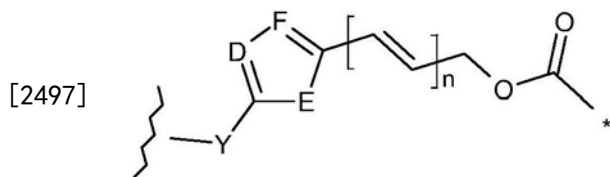
[2492] 在本发明所述的一个实施方案中,基团 L^* 是如本发明所描述的接头 L^1 ,其可以包括二肽基团。

[2493] 在另一个实施方案中, $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ 和 L^2 一起形成选自以下的基团:



[2495] 其中,星号、波浪线、Y和n如以上所限定的。每个亚苯基环任选地被本发明所描述的一个、两个或三个取代基取代。在一个实施方案中,具有Y取代基的亚苯基环是任选取代的并且不具有Y取代基的亚苯基环是未取代的。在一个实施方案中,具有Y取代基的亚苯基环是未取代的并且不具有Y取代基的亚苯基环是任选取代的。

[2496] 在另一个实施方案中, $-C(=O)O-$ 和 L^2 一起形成选自以下的基团:



[2498] 其中, 星号、波浪线、Y 和 n 是如以上所限定的, E 是 O、S 或 NR, D 是 N、CH 或 CR, 并且 F 是 N、CH 或 CR。

[2499] 在一个实施方案中, D 是 N。

[2500] 在一个实施方案中, D 是 CH。

[2501] 在一个实施方案中, E 是 O 或 S。

[2502] 在一个实施方案中, F 是 CH。

[2503] 在优选的实施方案中, 接头是组织蛋白酶不稳定性接头。

[2504] 在一个实施方案中, L^1 包括二肽。该二肽可以表示为 $-NH-X_1-X_2-CO-$, 其中, $-NH-$ 和 $-CO-$ 分别表示氨基酸基团 X_1 和 X_2 的 N 和 C 端。该二肽中的氨基酸可以是天然氨基酸的任何组合。当接头是组织蛋白酶不稳定性接头时, 二肽可以是组织蛋白酶介导的切割的作用位点。

[2505] 另外, 对于具有羧基或氨基侧链官能度的那些氨基酸基团, 分别例如 Glu 和 Lys, CO 和 NH 可以表示该侧链官能度。

[2506] 在一个实施方案中, 二肽 $-NH-X_1-X_2-CO-$ 中的基团 $-X_1-X_2-$, 选自:

[2507] $-Phe-Lys-$,

[2508] $-Val-Ala-$,

[2509] $-Val-Lys-$,

[2510] $-Ala-Lys-$,

[2511] $-Val-Cit-$,

[2512] $-Phe-Cit-$,

[2513] $-Leu-Cit-$,

[2514] $-Ile-Cit-$,

[2515] $-Phe-Arg-$,

[2516] $-Trp-Cit-$,

[2517] 其中, Cit 是瓜氨酸。

[2518] 优选地, 二肽 $-NH-X_1-X_2-CO-$ 中的基团 $-X_1-X_2-$, 选自:

[2519] $-Phe-Lys-$,

[2520] $-Val-Ala-$,

[2521] $-Val-Lys-$,

[2522] $-Ala-Lys-$,

[2523] $-Val-Cit-$ 。

[2524] 最优选地, 二肽 $-NH-X_1-X_2-CO-$ 中的基团 $-X_1-X_2-$ 是 $-Phe-Lys-$ 或 $-Val-Ala-$ 。

[2525] 可以使用其他二肽组合, 其包括 Dubowchik 等人, Bioconjugate Chemistry, 2002, 13, 855-869 描述的那些, 通过引用将其结合于此。

[2526] 在一个实施方案中, 在适当情况下, 氨基酸侧链是衍生的。例如, 氨基酸侧链的氨

基基团或羧基基团可以是衍生的。

[2527] 在一个实施方案中,侧链氨基酸(如赖氨酸)的氨基基团 NH_2 是选自 NHR 和 NRR' 的衍生形式。

[2528] 在一个实施方案中,侧链氨基酸(如天冬氨酸)的羧基基团 COOH 是选自 COOR 、 CONH_2 、 CONHR 和 CONRR' 的衍生形式。

[2529] 在一个实施方案中,在适当情况下,氨基酸侧链是化学保护的。侧链保护基团可以是以下关于基团 R^1 讨论的基团。本发明人已经确定受保护的氨基酸序列是酶可切割的。例如,已经确定包含Boc侧链保护的Lys残基的二肽序列是组织蛋白酶可切割的。

[2530] 用于氨基酸侧链的保护基团在本领域中是熟知的并且在Novabiochem目录中描述。在Protective Groups in Organic Synthesis, Greene和Wuts中描述了其他保护基团策略。

[2531] 对于具有反应性侧链官能度的那些氨基酸,以下示出了可能的侧链保护基团:

[2532] Arg:Z, Mtr, Tos;

[2533] Asn:Trt, Xan;

[2534] Asp:Bzl, t-Bu;

[2535] Cys:Acm, Bzl, Bzl-OMe, Bzl-Me, Trt;

[2536] Glu:Bzl, t-Bu;

[2537] Gln:Trt, Xan;

[2538] His:Boc, Dnp, Tos, Trt;

[2539] Lys:Boc, Z-Cl, Fmoc, Z, Alloc;

[2540] Ser:Bzl, TBDMS, TBDPS;

[2541] Thr:Bz;

[2542] Trp:Boc;

[2543] Tyr:Bzl, Z, Z-Br。

[2544] 在一个实施方案中,当存在时,选择侧链保护基与被提供作为封端基团或部分封端基团的基团正交。因此,除去侧链保护基团不会除去封端基团或任何是封端基团的一部分的保护基团官能度。

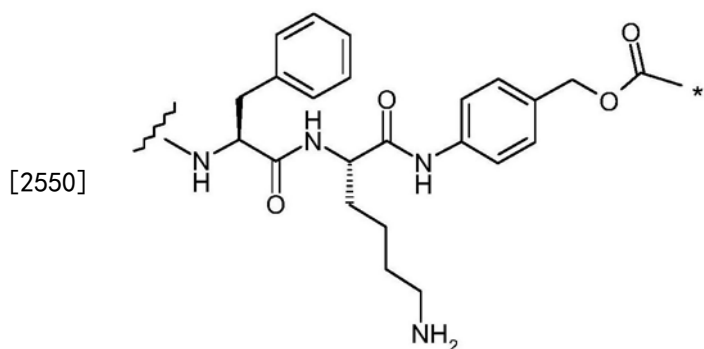
[2545] 在本发明的其他实施方案中,选定的氨基酸是不具有反应性侧链官能度的那些。例如,氨基酸可以选自:Ala、Gly、Ile、Leu、Met、Phe、Pro和Val。

[2546] 在一个实施方案中,与自分解接头组合使用二肽。自分解接头可以连接至 $-\text{X}_2-$ 。

[2547] 当存在自分解接头时, $-\text{X}_2-$ 直接连接至该自分解接头。优选地,基团 $-\text{X}_2-\text{CO}-$ 连接至Y,其中Y是NH,从而形成基团 $-\text{X}_2-\text{CO}-\text{NH}-$ 。

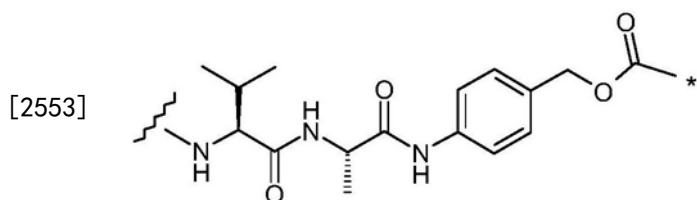
[2548] $-\text{NH}-\text{X}_1-$ 直接连接至A。A可以包含官能团 $-\text{CO}-$,从而形成与 $-\text{X}_1-$ 连接的酰胺。

[2549] 在一个实施方案中, L^1 和 L^2 与 $-\text{OC}(=\text{O})-$ 一起包含基团 $\text{NH}-\text{X}_1-\text{X}_2-\text{CO}-\text{PABC}-$ 。PABC基团直接连接至N10位置。优选地,自分解接头和二肽一起形成基团 $-\text{NH}-\text{Phe}-\text{Lys}-\text{CO}-\text{NH}-\text{PABC}-$,其在以下示出:



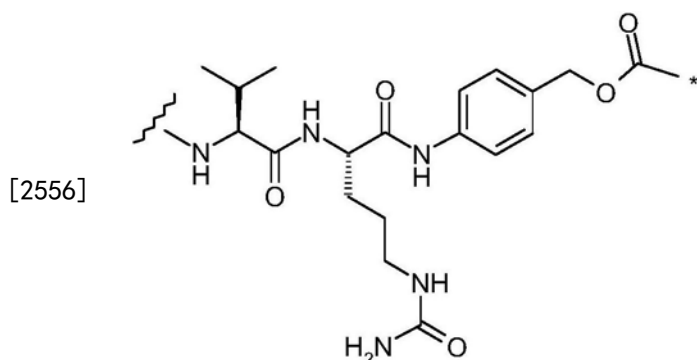
[2551] 其中,星号表示连接至N10位置的点,以及波浪线表示连接至接头L¹的剩余部分的点或连接至A的点。优选地,波浪线表示连接至A的点。Lys氨基酸的侧链可以是受保护的,例如,用以上描述的Boc、Fmoc或Alloc保护。

[2552] 可替代地,自分解接头和二肽一起形成基团-NH-Val-Ala-CO-NH-PABC-,其在以下示出:



[2554] 其中,星号和波浪线如以上所限定的。

[2555] 可替代地,自分解接头和二肽一起形成基团-NH-Val-Cit-CO-NH-PABC-,其在以下示出:



[2557] 其中,星号和波浪线如以上所限定的。

[2558] 在一个实施方案中,A是共价键。因此,L¹和抗体是直接连接的。例如,当L¹包含连续的氨基酸序列时,序列的N端可以直接连接至抗体。

[2559] 因此,当A是共价键时,抗体和L¹之间的连接可以选自:

[2560] -C(=O)NH-,

[2561] -C(=O)O-,

[2562] -NHC(=O)-,

[2563] -OC(=O)-,

[2564] -OC(=O)O-,

[2565] -NHC(=O)O-,

[2566] -OC(=O)NH-,

[2567] $-\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}-$,

[2568] $-\text{C}(=\text{O})\text{NHC}(=\text{O})-$,

[2569] $-\text{S}-$,

[2570] $-\text{S}-\text{S}-$,

[2571] $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-$ 和

[2572] $=\text{N}-\text{NH}-$ 。

[2573] 连接至抗体的 L^1 的氨基基团可以是氨基酸的N端,或可以源自氨基酸侧链(例如赖氨酸氨基酸侧链)的氨基基团。

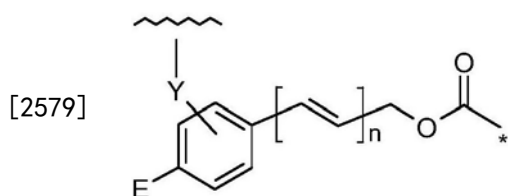
[2574] 连接至抗体的 L^1 的羧基基团可以是氨基酸的C端,或可以源自氨基酸侧链(例如谷氨酸氨基酸侧链)的羧基基团。

[2575] 连接至抗体的 L^1 的羟基基团可以源自氨基酸侧链(例如丝氨酸氨基酸侧链)的羟基基团。

[2576] 连接至抗体的 L^1 的硫醇基团可以源自氨基酸侧链(例如丝氨酸氨基酸侧链)的硫醇基团。

[2577] 以上关于 L^1 的氨基、羧基、羟基和硫醇基团的说明也可应用至抗体。

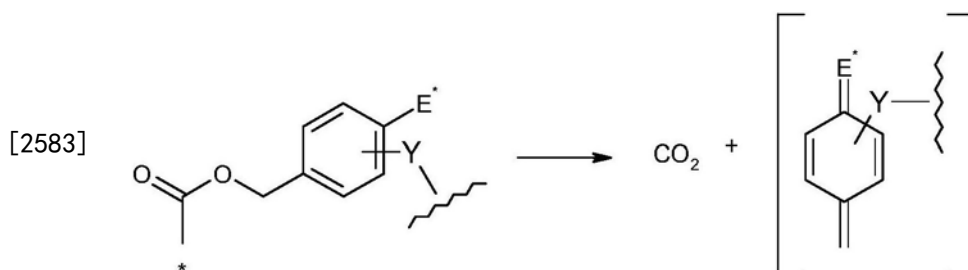
[2578] 在一个实施方案中, L^2 与 $-\text{OC}(=\text{O})-$ 一起表示:



[2580] 其中,星号表示连接至N10位置的点,波浪线表示连接至 L^1 的点, n 是0至3, Y 是共价键或官能团,以及 E 是可激活基团,例如通过酶作用或光从而产生自分解的单元。亚苯基环任选地被本发明所描述的一个、两个或三个取代基进一步取代。在一个实施方案中,亚苯基基团任选地被卤素、 NO_2 、 R 或 OR 进一步取代。优选地, n 是0或1,最优选地是0。

[2581] 选择 E 使得基团易于激活,例如,通过光或通过酶的作用激活。 E 可以是 $-\text{NO}_2$ 或葡萄糖醛酸。前者可易受硝基还原酶的作用,后者可易受 β -葡萄糖醛酸酶的作用。

[2582] 在该实施方案中,当 E 被活化时,自分解接头将允许释放受保护的化合物,其沿以下所示的路线进行($n=0$):



[2584] 其中,星号表示连接至N10位置的点, E^* 是 E 的活化形式,并且 Y 如以上所描述。这些基团具有使活化位点与受保护的化合物分离的优势。如以上所描述的,亚苯基基团可以是任选地进一步取代的。

[2585] 基团 Y 可以为连接至 L^1 的共价键。

[2586] 基团 Y 可以是选自以下的官能团:

[2587] $-C(=O)-$

[2588] $-NH-$

[2589] $-O-$

[2590] $-C(=O)NH-$,

[2591] $-C(=O)O-$,

[2592] $-NHC(=O)-$,

[2593] $-OC(=O)-$,

[2594] $-OC(=O)O-$,

[2595] $-NHC(=O)O-$,

[2596] $-OC(=O)NH-$,

[2597] $-NHC(=O)NH-$,

[2598] $-NHC(=O)NH$,

[2599] $-C(=O)NHC(=O)-$ 和

[2600] $-S-$ 。

[2601] 当 L^1 是二肽时,优选的是Y是 $-NH-$ 或 $-C(=O)-$,从而形成 L^1 和Y之间的酰胺键。在该实施方案中,二肽序列不需要是酶活性的底物。

[2602] 在另一个实施方案中,A是间隔基团。因此, L^1 和抗体是间接连接的。

[2603] L^1 和A可以通过选自以下的键连接:

[2604] $-C(=O)NH-$,

[2605] $-C(=O)O-$,

[2606] $-NHC(=O)-$,

[2607] $-OC(=O)-$,

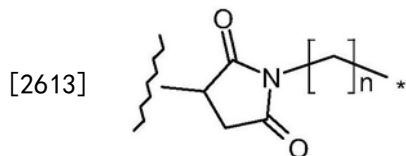
[2608] $-OC(=O)O-$,

[2609] $-NHC(=O)O-$,

[2610] $-OC(=O)NH-$ 和

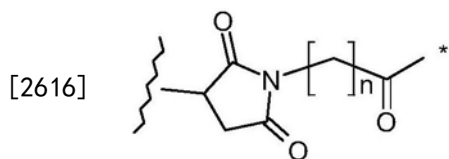
[2611] $-NHC(=O)NH-$ 。

[2612] 在一个实施方案中,基团A是:



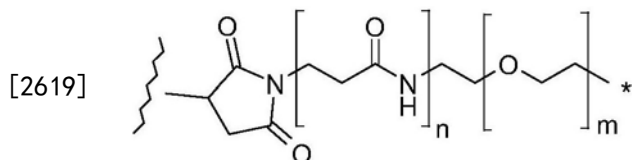
[2614] 其中,星号表示连接至 L^1 的点,波浪线表示连接至抗体的点,并且n是0至6。在一个实施方案中,n是5。

[2615] 在一个实施方案中,基团A是:



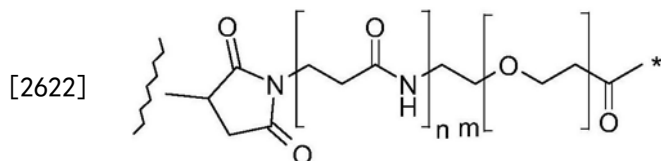
[2617] 其中,星号表示连接至 L^1 的点,波浪线表示连接至抗体的点,并且n是0至6。在一个实施方案中,n是5。

[2618] 在一个实施方案中,基团A是:



[2620] 其中,星号表示连接至 L^1 的点,波浪线表示连接至抗体的点,n是0或1,并且m是0至30。在一个优选的实施方案中,n是1并且m是0至10、1至8、优选地4至8以及最优选地4或8。在另一个实施方案中,m是10至30,并且优选地是20至30。可替代地,m是0至50。在该实施方案中,m优选地是10-40,并且n是1。

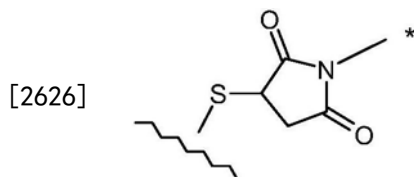
[2621] 在一个实施方案中,基团A是:



[2623] 其中,星号表示连接至 L^1 的点,波浪线表示连接至抗体的点,n是0或1,并且m是0至30。在一个优选的实施方案中,n是1并且m是0至10、1至8、优选地4至8以及最优选地4或8。在另一个实施方案中,m是10至30,并且优选地是20至30。可替代地,m是0至50。在该实施方案中,m优选地是10-40,并且n是1。

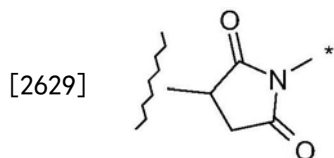
[2624] 在一个实施方案中,抗体和A之间的连接通过抗体的硫醇残基和A的马来酰亚胺基团。

[2625] 在一个实施方案中,抗体和A之间的连接是:



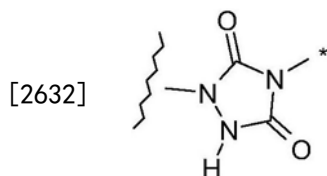
[2627] 其中,星号表示连接至A的剩余部分的点,并且波浪线表示连接至抗体的剩余部分的点。在这个实施方案中,S原子通常源自抗体。

[2628] 在以上实施方案的每一个中,可以使用可替代的官能团代替以下示出的源自马来酰亚胺的基团:



[2630] 其中,波浪线如之前一样表示连接至抗体的点,并且星号表示至A基团的剩余部分的键。

[2631] 在一个实施方案中,用以下基团代替源自马来酰亚胺的基团:

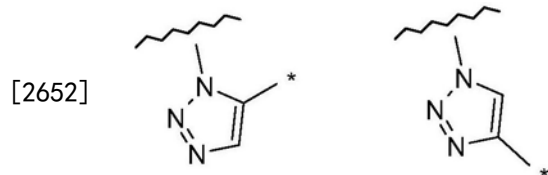


[2633] 其中,波浪线表示连接至抗体的点,并且星号表示连接至A基团的剩余部分的键。

[2634] 在一个实施方案中,源自马来酰亚胺的基团被选自以下的基团代替,该基团任选地与抗体一起:

- [2635] $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$,
- [2636] $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$,
- [2637] $-\text{NHC}(=\text{O})-$,
- [2638] $-\text{OC}(=\text{O})-$,
- [2639] $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$,
- [2640] $-\text{NHC}(=\text{O})\text{O}-$,
- [2641] $-\text{OC}(=\text{O})\text{NH}-$,
- [2642] $-\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}-$,
- [2643] $-\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}$,
- [2644] $-\text{C}(=\text{O})\text{NHC}(=\text{O})-$,
- [2645] $-\text{S}-$,
- [2646] $-\text{S}-\text{S}-$,
- [2647] $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-$
- [2648] $-\text{C}(=\text{O})\text{CH}_2-$,
- [2649] $=\text{N}-\text{NH}-$ 和
- [2650] $-\text{NH}-\text{N}=\text{O}$ 。

[2651] 在一个实施方案中,源自马来酰亚胺的基团被选自以下的基团代替,该基团任选地与抗体一起:




[2653] 其中,波浪线表示连接至抗体的点或连接至A基团的剩余部分的键,并且星号表示连接至抗体的另一个点或连接至A基团的剩余部分的键。

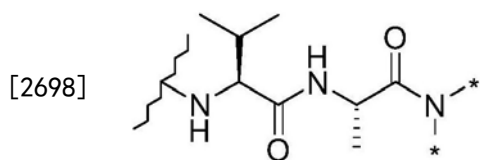
[2654] WO 2005/082023中描述了适用于将 L^1 连接至抗体的其他基团。

[2655] 在一个实施方案中,存在连接基团A,存在引发剂 L^1 并且不存在自分解接头 L^2 。因此, L^1 和药物单元经由键直接连接。同样在该实施方案中, L^2 是键。当 D^1 是式II时,这可以是特别有意义的。

[2656] L^1 和D可以通过选自以下的键连接:

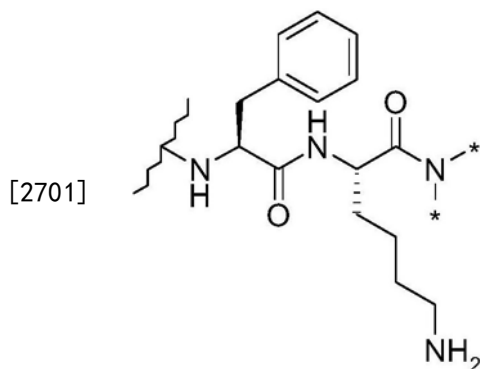
- [2657] $-\text{C}(=\text{O})\text{N}<$,
- [2658] $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$,
- [2659] $-\text{NHC}(=\text{O})-$,
- [2660] $-\text{OC}(=\text{O})-$,
- [2661] $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$,
- [2662] $-\text{NHC}(=\text{O})\text{O}-$,
- [2663] $-\text{OC}(=\text{O})\text{N}<$ 和

- [2664] $-\text{NHC}(=\text{O})\text{N}<$,
- [2665] 其中, $\text{N}<$ 或 $\text{O}-$ 是D的一部分。
- [2666] 在一个实施方案中, L^1 和D优选由选自以下的键连接:
- [2667] $-\text{C}(=\text{O})\text{N}<$ 和
- [2668] $-\text{NHC}(=\text{O})-$ 。
- [2669] 在一个实施方案中, L^1 包含二肽并且二肽的一端连接至D。如以上所描述的,二肽中的氨基酸可以是天然氨基酸和非天然氨基酸的任何组合。在一些实施方案中,二肽包含天然氨基酸。当接头是组织蛋白酶不稳定的接头时,二肽是组织蛋白酶介导的切割的作用位点。因此二肽是组织蛋白酶的识别位点。
- [2670] 在一个实施方案中,二肽 $-\text{NH}-\text{X}_1-\text{X}_2-\text{CO}-$ 中的基团 $-\text{X}_1-\text{X}_2-$,选自:
- [2671] $-\text{Phe}-\text{Lys}-$,
- [2672] $-\text{Val}-\text{Ala}-$,
- [2673] $-\text{Val}-\text{Lys}-$,
- [2674] $-\text{Ala}-\text{Lys}-$,
- [2675] $-\text{Val}-\text{Cit}-$,
- [2676] $-\text{Phe}-\text{Cit}-$,
- [2677] $-\text{Leu}-\text{Cit}-$,
- [2678] $-\text{Ile}-\text{Cit}-$,
- [2679] $-\text{Phe}-\text{Arg}-$ 和
- [2680] $-\text{Trp}-\text{Cit}-$;
- [2681] 其中,Cit是瓜氨酸。在这种二肽中, $-\text{NH}-$ 是 X_1 的氨基基团,并且 CO 是 X_2 的羧基基团。
- [2682] 优选地,二肽 $-\text{NH}-\text{X}_1-\text{X}_2-\text{CO}-$ 中的基团 $-\text{X}_1-\text{X}_2-$,选自:
- [2683] $-\text{Phe}-\text{Lys}-$,
- [2684] $-\text{Val}-\text{Ala}-$,
- [2685] $-\text{Val}-\text{Lys}-$,
- [2686] $-\text{Ala}-\text{Lys}-$ 和
- [2687] $-\text{Val}-\text{Cit}-$ 。
- [2688] 最优选地,二肽 $-\text{NH}-\text{X}_1-\text{X}_2-\text{CO}-$ 中的基团 $-\text{X}_1-\text{X}_2-$,是 $-\text{Phe}-\text{Lys}-$ 或 $-\text{Val}-\text{Ala}-$ 。
- [2689] 其他感兴趣的二肽组合包括:
- [2690] $-\text{Gly}-\text{Gly}-$,
- [2691] $-\text{Pro}-\text{Pro}-$ 和
- [2692] $-\text{Val}-\text{Glu}-$ 。
- [2693] 可以使用其他二肽组合,包括以上描述的那些。
- [2694] 在一个实施方案中, L^1 -D是:
- [2695]  $-\text{NH}-\text{X}_1-\text{X}_2-\text{CO}-\text{N}<^*$
- [2696] 其中, $-\text{NH}-\text{X}_1-\text{X}_2-\text{CO}$ 是二肽, $-\text{N}<$ 是药物单元的一部分,星号表示连接至药物单元的剩余部分的点,并且波浪线表示连接至 L^1 的剩余部分的点或连接至A的点。优选地,波浪线表示连接至A的点。
- [2697] 在一个实施方案中,二肽是缬氨酸-丙氨酸并且 L^1 -D是:



[2699] 其中星号、-N<和波浪线如以上所限定的。

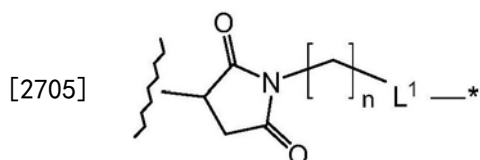
[2700] 在一个实施方案中,二肽是苯丙氨酸-赖氨酸并且L¹-D是:



[2702] 其中星号、-N<和波浪线如以上所限定的。

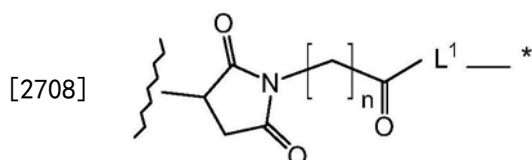
[2703] 在一个实施方案中,二肽是缬氨酸-瓜氨酸。

[2704] 在一个实施方案中,基团A-L¹是:



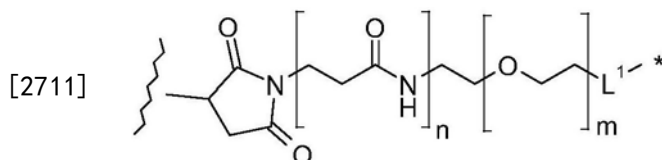
[2706] 其中,星号表示连接至L²或D的点,波浪线表示连接至配体单元的点,并且n是0至6。在一个实施方案中,n是5。

[2707] 在一个实施方案中,基团A-L¹是:



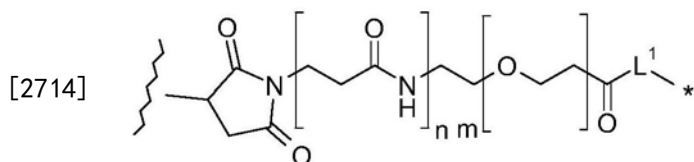
[2709] 其中,星号表示连接至L²或D的点,波浪线表示连接至配体单元的点,并且n是0至6。在一个实施方案中,n是5。

[2710] 在一个实施方案中,基团A-L¹是:



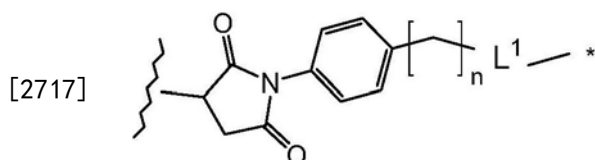
[2712] 其中,星号表示连接至L²或D的点,波浪线表示连接至配体单元的点,n是0或1,并且m是0至30。在一个优选的实施方案中,n是1并且m是0至10、1至8、优选地4至8、最优选4或8。

[2713] 在一个实施方案中,基团A-L¹是:



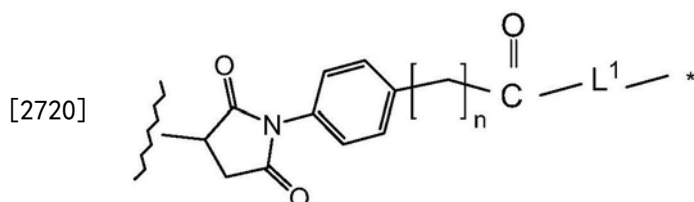
[2715] 其中,星号表示连接至 L^2 或D的点,波浪线表示连接至配体单元的点, n 是0或1,并且 m 是0至30。在一个优选的实施方案中, n 是1并且 m 是0至10、1至7、优选地3至7、最优选3或7。

[2716] 在一个实施方案中,基团A- L^1 是:



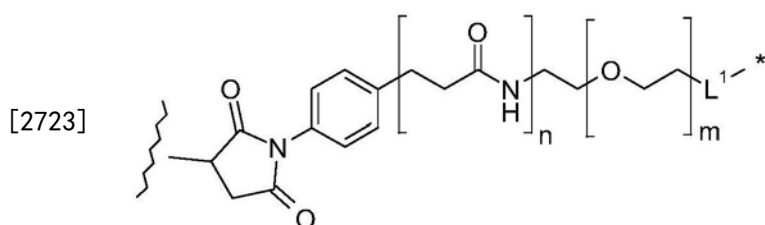
[2718] 其中,星号表示连接至 L^2 或D的点,波浪线表示连接至配体单元的点,并且 n 是0至6。在一个实施方案中, n 是5。

[2719] 在一个实施方案中,基团A- L^1 是:



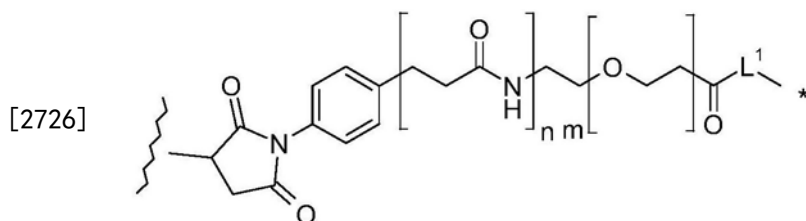
[2721] 其中,星号表示连接至 L^2 或D的点,波浪线表示连接至配体单元的点,并且 n 是0至6。在一个实施方案中, n 是5。

[2722] 在一个实施方案中,基团A- L^1 是:



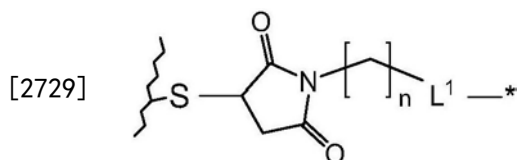
[2724] 其中,星号表示连接至 L^2 或D的点,波浪线表示连接至配体单元的点, n 是0或1,并且 m 是0至30。在一个优选的实施方案中, n 是1并且 m 是0至10、1至8、优选地4至8、最优选4或8。

[2725] 在一个实施方案中,基团A- L^1 是:



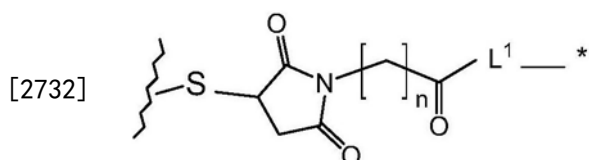
[2727] 其中,星号表示连接至 L^2 或D的点,波浪线表示连接至配体单元的点, n 是0或1,并且 m 是0至30。在一个优选的实施方案中, n 是1并且 m 是0至10、1至8、优选地4至8、最优选4或8。

[2728] 在一个实施方案中,基团A-L¹是:



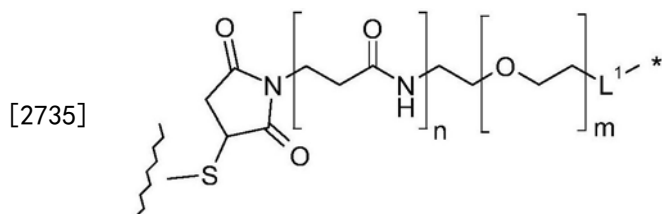
[2730] 其中,星号表示连接至L²或D的点,S是配体单元的硫基团,波浪线表示连接至配体单元的剩余部分的点,并且n是0至6。在一个实施方案中,n是5。

[2731] 在一个实施方案中,基团A-L¹是:



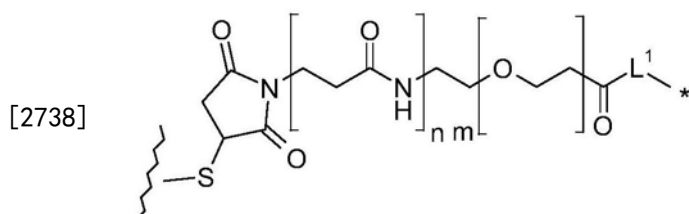
[2733] 其中,星号表示连接至L²或D的点,S是配体单元的硫基团,波浪线表示连接至配体单元的点,并且n是0至6。在一个实施方案中,n是5。

[2734] 在一个实施方案中,基团A¹-L¹是:



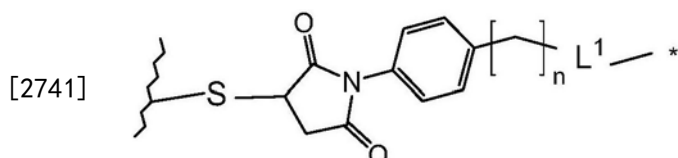
[2736] 其中,星号表示连接至L²或D的点,S是配体单元的硫基团,波浪线表示连接至配体单元的点,n是0或1,并且m是0至30。在一个优选的实施方案中,n是1并且m是0至10、1至8、优选地4至8、最优选4或8。

[2737] 在一个实施方案中,基团A¹-L¹是:



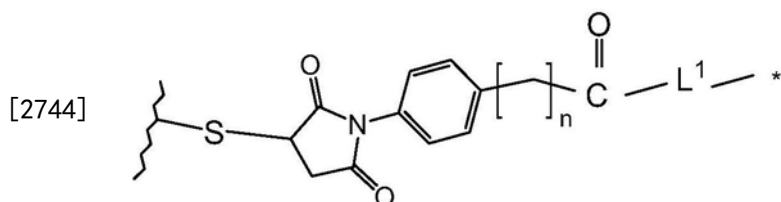
[2739] 其中,星号表示连接至L²或D的点,波浪线表示连接至配体单元的点,n是0或1,并且m是0至30。在一个优选的实施方案中,n是1并且m是0至10、1至7、优选地4至8、最优选4或8。

[2740] 在一个实施方案中,基团A¹-L¹是:



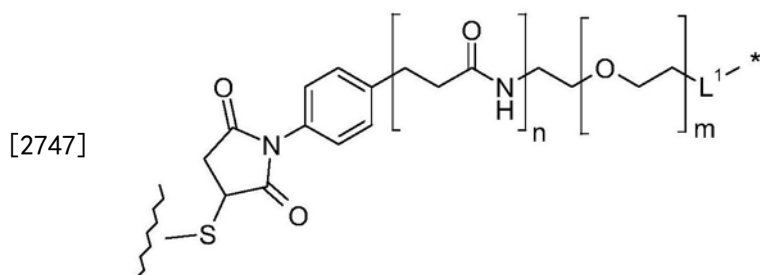
[2742] 其中,星号表示连接至L²或D的点,波浪线表示连接至配体单元的其余部分的点,并且n是0至6。在一个实施方案中,n是5。

[2743] 在一个实施方案中,基团A¹-L¹是:



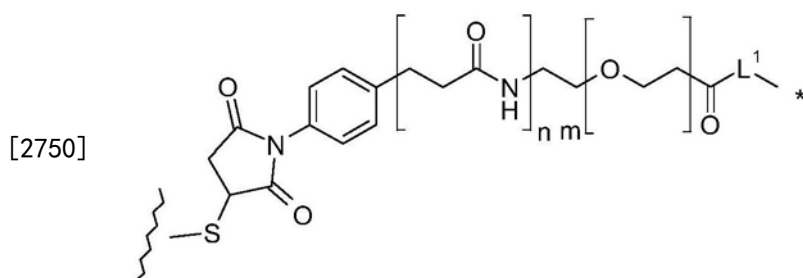
[2745] 其中,星号表示连接至 L^2 或D的点,波浪线表示连接至配体单元的其余部分的点,并且n是0至6。在一个实施方案中,n是5。

[2746] 在一个实施方案中,基团 A^1-L^1 是:



[2748] 其中,星号表示连接至 L^2 或D的点,波浪线表示连接至配体单元的其余部分的点,n是0或1,并且m是0至30。在优选的实施方案中,n为1且m为0至10、1至8,优选4至8,最优选4或8。

[2749] 在一个实施方案中,基团 A^1-L^1 是:



[2751] 其中,星号表示连接至 L^2 或D的点,波浪线表示连接至配体单元的剩余部分的点,n是0或1,并且m是0至30。在一个优选的实施方案中,n是1并且m是0至10、1至8、优选地4至8、最优选4或8。

[2752] 基团 $R^{L'}$ 可源自基团 R^L 。通过将抗体连接至 R^L 的官能团可以将基团 R^L 转化为基团 $R^{L'}$ 。可以采取其他步骤将 R^L 转化为 $R^{L'}$ 。这些步骤可以包括除去存在的保护基团或引入适当的官能团。

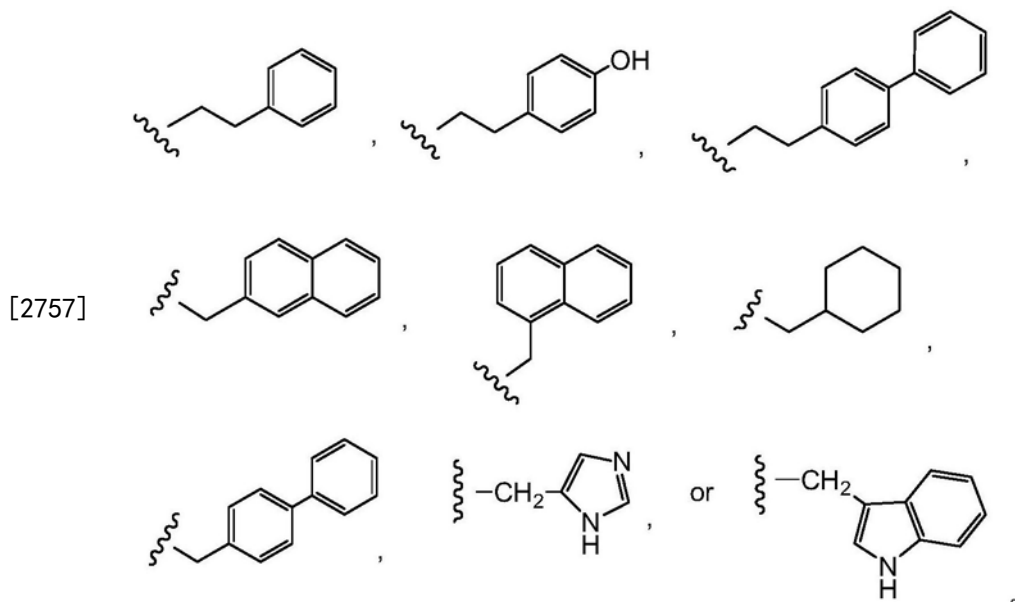
[2753] R^L

[2754] 接头可以包括包含一个或多个氨基酸单元的蛋白酶可切割的肽部分。可以通过肽化学领域熟知的固相或液相合成方法(E. Schröder和K. Lübke, The Peptides, volume 1, pp 76-136 (1965) Academic Press), 包括t-BOC化学(Geiser等人, "Automation of solid-phase peptide synthesis", Macromolecular Sequencing and Synthesis, Alan R. Liss, Inc., 1988, pp. 199-218) 和Fmoc/HBTU化学(Fields, G. 和Noble, R. (1990) "Solid phase peptide synthesis utilizing 9-fluorenylmethoxycarbonyl aminoacids", Int. J. Peptide Protein Res. 35:161-214), 在自动化合成仪如Rainin Symphony肽合成仪(Protein Technologies, Inc., Tucson, AZ) 或Model 433 (Applied Biosystems, Foster

City, CA) 上制备肽接头试剂。

[2755] 示例性的氨基酸接头包括二肽、三肽、四肽或五肽。示例性的二肽包括：缬氨酸-瓜氨酸(vc或val-cit)、丙氨酸-苯丙氨酸(af或ala-phe)。示例性的三肽包括：甘氨酸-缬氨酸-瓜氨酸(gly-val-cit)和甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸(gly-gly-gly)。包含氨基酸接头组分的氨基酸残基包括天然存在的那些以及微量氨基酸和非天然存在的氨基酸类似物,如瓜氨酸。在它们对于由特定酶例如肿瘤相关的蛋白酶、组织蛋白酶B、C和D或纤维蛋白酶的酶切割的选择性方面,可以设计和优化氨基酸接头。

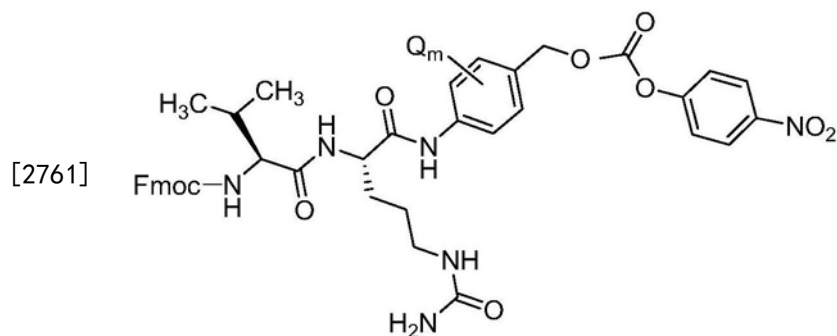
[2756] 氨基酸侧链包括天然存在的那些以及微量氨基酸和非天然存在的氨基酸类似物,如瓜氨酸。氨基酸侧链包括氢、甲基、异丙基、异丁基、仲丁基、苄基、对羟基苄基、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCHO}$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCOCH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCHO}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCONH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、2-吡啶基甲基、3-吡啶基甲基、4-吡啶基甲基、苄基、环己基以及以下结构:



[2758] 当包括除了氢之外(甘氨酸)的氨基酸侧链时,氨基酸侧链连接的碳原子是手性的。氨基酸侧链连接的每个碳原子独立地是(S)或(R)构型,或外消旋混合物。因此,药物-接头试剂可以是对映异构体纯的、外消旋的或非对映异构体的。

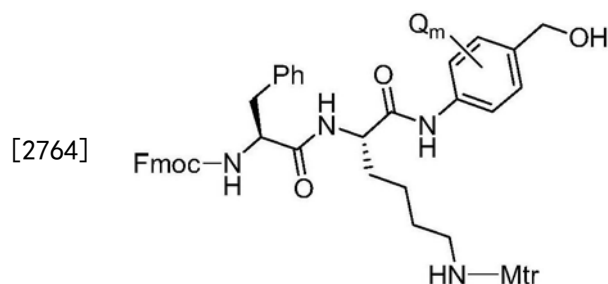
[2759] 在示例性的实施方案中,氨基酸侧链选自天然和非天然氨基酸的那些,包括丙氨酸、2-氨基-2-环己基乙酸、2-氨基-2-苄基乙酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、正亮氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸、 γ -氨基丁酸、 α,α -二甲基 γ -氨基丁酸、 β,β -二甲基 γ -氨基丁酸、鸟氨酸和瓜氨酸(Cit)。

[2760] 用于构建缀合至抗体用接头-PBD药物中间体的示例性缬氨酸-瓜氨酸(val-cit或vc)二肽接头试剂具有以下结构,其具有对氨基苄基氨甲酰基(PAB)自分解的间隔基团:



[2762] 其中, Q是C₁-C₈烷基、-O-(C₁-C₈烷基)、-卤素、-NO₂或-CN;并且m是0-4的整数。

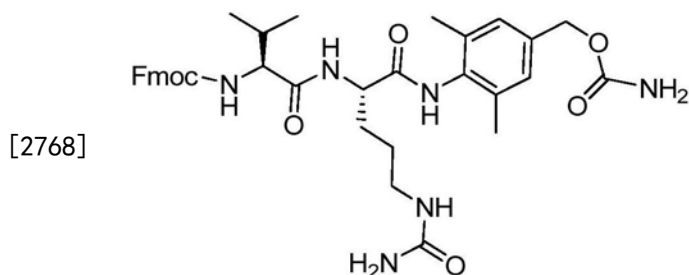
[2763] 可以根据Dubowchik等人, (1997) Tetrahedron Letters, 38:5257-60制备具有对氨基苄基基团的示例性phe-lys (Mtr) 二肽接头试剂, 并且具有以下结构:



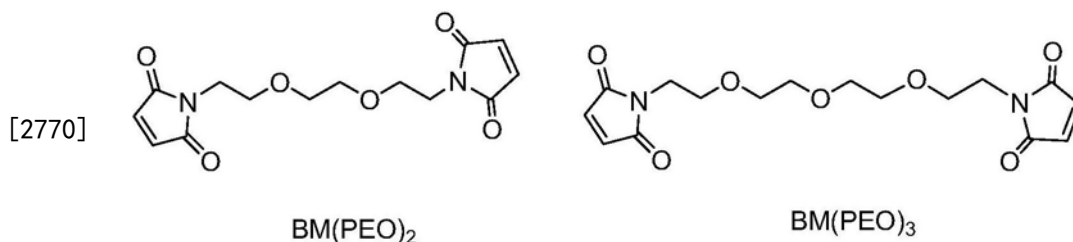
[2765] 其中, Mtr是单-4-甲氧基三苯甲基, Q是C₁-C₈烷基、-O-(C₁-C₈烷基)、-卤素、-NO₂或-CN;并且m是0-4范围的整数。

[2766] “自分解接头”PAB(对氨基苄氧基羰基)在抗体药物缀合物中将药物连接至抗体(Carl等人, (1981) J. Med. Chem. 24:479-480; Chakravarty等人, (1983) J. Med. Chem. 26:638-644; US 6214345; US20030130189; US20030096743; US6759509; US20040052793; US6218519; US6835807; US6268488; US20040018194; W098/13059; US20040052793; US6677435; US5621002; US20040121940; W02004/032828)。除PAB之外, 自分解的间隔基团的其他实例包括但不限于: (i) 电荷类似于PAB基团的芳香族化合物如2-氨基咪唑-5-甲醇衍生物(Hay等人(1999) Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237)、噻唑(US 7375078), 多个延伸的PAB单元(de Groot等人, (2001) J. Org. Chem. 66:8815-8830); 和邻-氨基苄基缩醛或对氨基苄基缩醛; 和(ii) 确认的苯乙烯基PAB类似物(US7223837)。可以使用通过酰胺键水解经历环化的间隔基团, 如取代的和未取代的4-氨基丁酸酰胺(Rodrigues等人, (1995) Chemistry Biology 2:223)、适当取代的双环[2.2.1]环体系和双环[2.2.2]环体系(Storm等人, (1972) J. Amer. Chem. Soc. 94:5815) 和2-氨基苄基丙酸酰胺(Amsberry, 等人, (1990) J. Org. Chem. 55:5867)。在甘氨酸处取代的含胺药物的消除(Kingsbury等人, (1984) J. Med. Chem. 27:1447) 也是在ADC中有用的自分解间隔基团的实例。

[2767] 在一个实施方案中, 缬氨酸-瓜氨酸二肽PAB类似物试剂具有2,6-二甲基苄基基团并且具有以下结构:



[2769] 有用于本发明的抗体药物缀合物的接头试剂包括但不限于:BMPEO、BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、磺基-EMCS、磺基-GMBS、磺基-KMUS、磺基-MBS、磺基-SIAB、磺基-SMCC和磺基-SMPB和SVSB(琥珀酰亚胺基-(4-乙烯基苄基)苯甲酸酯),以及双-马来酰亚胺试剂:DTME、BMB、BMDB、BMH、BMOE、1,8-双-马来酰亚胺二甘醇(BM(PEO)₂)和1,11-双-马来酰亚胺三甘醇(BM(PEO)₃),其由Pierce Biotechnology, Inc.、ThermoScientific、Rockford, IL和其他试剂供应商商业可获得。双-马来酰亚胺试剂允许以连续或同时的方式将抗体的半胱氨酸残基的游离硫醇基团连接至含硫醇的药物、标记或接头中间体。除马来酰亚胺之外,与抗体、PBD药物或接头中间体的硫醇基团反应的其他官能团还包括碘代乙酰胺、溴乙酰胺、乙烯基吡啶、二硫化物、吡啶基二硫化物、异氰酸酯和异硫氰酸酯。

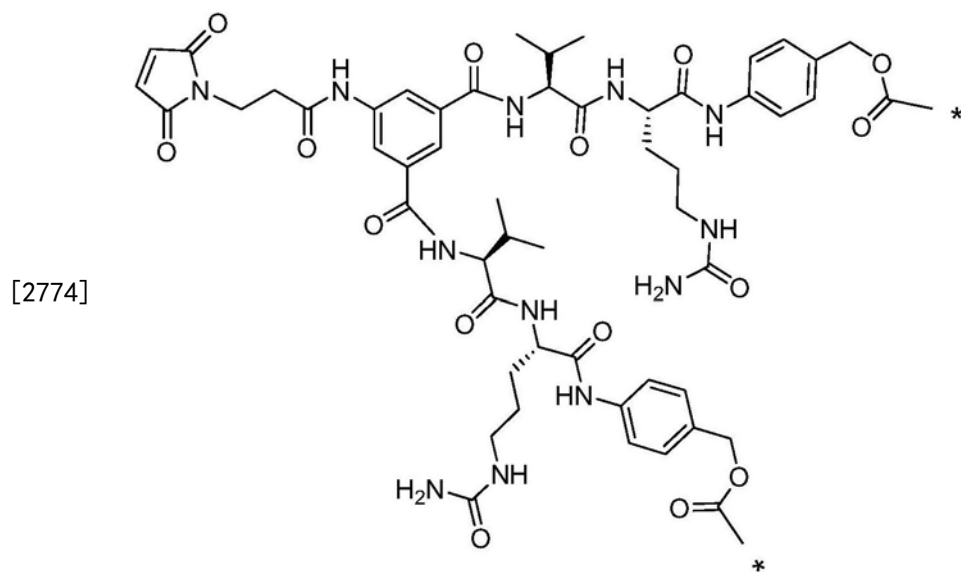


[2771] 接头试剂的其他实施方案是:N-琥珀酰亚胺基-4-(2-吡啶基硫基)戊酸酯(SPP)、N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP, Carlsson等人,(1978) Biochem. J. 173:723-737)、琥珀酰亚胺基-4-(N-马来酰亚氨基甲基)环己烷-1-羧酸酯(SMCC)、亚氨基硫杂环戊烷(IT)、酰亚胺酯的双官能衍生物(如二甲基己二酰亚胺酯HC1)、活性酯(如二琥珀酰亚胺基辛二酸酯)、醛(如戊二醛)、双叠氮化合物(如双(对叠氮基苯甲酰基)己二胺)、双-重氮衍生物(如双(对重氮苯甲酰基)-乙二胺)、二异氰酸酯(如甲苯2,6-二异氰酸酯)和双活性氟化合物(如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。通过其他商业来源,如Molecular Biosciences Inc. (Boulder, CO)也可以得到有用的接头试剂,或根据Toki等人,(2002) J. Org. Chem. 67:1866-1872; US 6214345; WO 02/088172; US 2003130189; US2003096743; WO 03/026577; WO 03/043583;和WO 04/032828中描述的步骤也可以合成有用的接头试剂。

[2772] 接头可以是用于通过支化的、多官能的接头部分将多于一个药物共价连接至抗体的树枝状型接头(US 2006/116422; US 2005/271615; de Groot等人,(2003) Angew. Chem. Int. Ed. 42:4490-4494; Amir等人,(2003) Angew. Chem. Int. Ed. 42:4494-4499; Shamis等人,(2004) J. Am. Chem. Soc. 126:1726-1731; Sun等人,(2002) Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 12:2213-2215; Sun等人,(2003) Bioorganic & Medicinal Chemistry 11:1761-1768; King等人,(2002) Tetrahedron Letters 43:1987-1990)。树枝状接头可以增加药物与抗体的摩尔比,即,载药量,其与ADC的效力相关。因此,当抗体仅带

有一个反应性半胱氨酸硫醇基团时,大量药物可以通过树枝状或支链接头连接。

[2773] 树枝状类型接头的一个示例性实施方案具有以下结构:



[2775] 其中,星号表示连接至PBD部分的N10位置的点。

[2776] R^C ,封端基团

[2777] 本发明的第一方面的缀合物在N10位置处可以具有封端基团 R^C 。

[2778] 从PBD部分的N10位置可除去基团 R^C 从而剩余N10-C11亚胺键、甲醇胺、取代的甲醇胺,其中, QR^{11} 是 OSO_3M 、二硫化物加合物、硫代甲醇胺、取代的硫代甲醇胺或取代的氨基甲胺(carbinalamine)。

[2779] 在一个实施方案中, R^C 可以是可除去的保护基团从而剩余N10-C11亚胺键、甲醇胺、取代的甲醇胺,或二硫化物加合物,其中, QR^{11} 是 OSO_3M 。在一个实施方案中, R^C 是可除去从而剩余N10-C11亚胺键的保护基团。

[2780] 希望在与用于除去基团 R^{10} 所需条件相同的条件下除去基团 R^C ,例如产生N10-C11亚胺键、甲醇胺等。封端基团起N10位置处的预期官能团的保护基团的作用。希望封端基团不与抗体反应。例如, R^C 与 R^L 不同。

[2781] 在具有亚胺单体的二聚体的合成中,可以将具有封端基团的化合物用作中间体。可替代地,可以将具有封端基团的化合物用作缀合物,其中,从靶向位置除去封端基团以产生亚胺、甲醇胺、取代的甲醇胺等。因此,在该实施方案中,封端基团可被称为治疗上可除去的氮保护基团,如在发明人的早期申请W0 00/12507中所限定的。

[2782] 在一个实施方案中,可在切割 R^{10} 基团的接头 R^L 的条件下除去基团 R^C 。因此,在一个实施方案中,封端基团在酶作用下可切割。

[2783] 在一个可替代的实施方案中,在将接头 R^L 连接至抗体之前,可除去封端基团。在该实施方案中,可在不切割接头 R^L 的条件下除去封端基团。

[2784] 当化合物包含官能团 G^1 形成与抗体的连接时,在添加或未掩蔽 G^1 之前,可除去封端基团。

[2785] 可以将封端基团用作保护基团策略的一部分,以确保二聚体中的仅一个单体单元连接至抗体。

[2786] 可以将封端基团用作N10-C11亚胺键的掩蔽物(mask)。可以在化合物中需要亚胺

官能团时除去封端基团。封端基团也是以上所描述的甲醇胺、取代的甲醇胺和二硫化物加合物的掩蔽物。

[2787] R^C 可以是N10保护基团,如在发明人的早期申请WO 00/12507中描述的那些基团。在一个实施方案中, R^C 是治疗上可除去的氮保护基团,如在发明人的早期申请WO 00/12507中所限定的。

[2788] 在一个实施方案中, R^C 是氨基甲酸酯保护基团。

[2789] 在一个实施方案中,氨基甲酸酯保护基团选自:

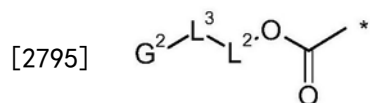
[2790] Alloc、Fmoc、Boc、Troc、Teoc、Psec、Cbz和PNZ。

[2791] 任选地,氨基甲酸酯保护基团进一步选自Moc。

[2792] 在一个实施方案中, R^C 是缺少用于连接至抗体的官能团的接头基团 R^L 。

[2793] 本申请特别考虑了那些是氨基甲酸酯的 R^C 基团。

[2794] 在一个实施方案中, R^C 是以下基团:



[2796] 其中,星号表示连接至N10位置的点, G^2 是封端基团, L^3 是共价键或可切割的接头 L^1 , L^2 是共价键或与 $OC(=O)$ 一起形成自分解接头。

[2797] 当 L^3 和 L^2 都是共价键时, G^2 和 $OC(=O)$ 一起形成以上限定的氨基甲酸酯保护基。

[2798] L^1 如以上就 R^{10} 所定义。

[2799] L^2 如以上就 R^{10} 所定义。

[2800] 在以下描述了多种封端基团,包括基于熟知的保护基团的那些。

[2801] 在一个实施方案中, L^3 是可切割的接头 L^1 ,并且 L^2 与 $OC(=O)$ 一起形成自分解接头。在该实施方案中, G^2 是Ac(乙酰基)或Moc,或选自以下的氨基甲酸酯保护基团:

[2802] Alloc、Fmoc、Boc、Troc、Teoc、Psec、Cbz和PNZ。

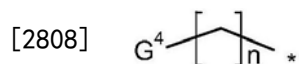
[2803] 任选地,氨基甲酸酯保护基团进一步选自Moc。

[2804] 在另一个实施方案中, G^2 是酰基基团 $-C(=O)G^3$,其中, G^3 选自烷基(包括环烷基、烯基和炔基)、杂烷基、杂环基和芳基(包括杂芳基和碳芳基(carboaryl))。这些基团可以是任选取代的。合适时,酰基基团与 L^3 或 L^2 的氨基基团一起可以形成酰胺键。合适时,酰基基团与 L^3 或 L^2 的羟基基团一起可以形成酯键。

[2805] 在一个实施方案中, G^3 是杂烷基。杂烷基基团可以包括聚乙二醇。杂烷基基团可以具有临近芳基基团的杂原子,如O或N,从而在合适时,与存在于基团 L^3 或 L^2 中的杂原子形成氨基甲酸酯或碳酸酯基团。

[2806] 在一个实施方案中, G^3 选自 NH_2 、 NHR 和 NRR' 。优选地, G^3 是 NRR' 。

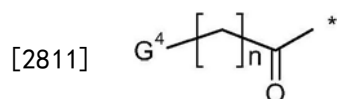
[2807] 在一个实施方案中, G^2 是以下基团:



[2809] 其中,星号表示连接至 L^3 的点, n 是0至6,并且 G^4 选自OH、OR、SH、SR、COOR、CONH₂、CONHR、CONRR'、NH₂、NHR、NRR'、NO₂和卤素。基团OH、SH、NH₂和NHR是受保护的。在一个实施方案中, n 是1至6,并且优选地 n 是5。在一个实施方案中, G^4 是OR、SR、COOR、CONH₂、CONHR、CONRR'和NRR'。在一个实施方案中, G^4 是OR、SR和NRR'。优选地, G^4 选自OR和NRR',最优选地, G^4 是OR。

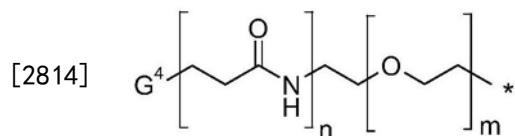
最优选地, G^4 是 OMe。

[2810] 在一个实施方案中, 基团 G^2 是:



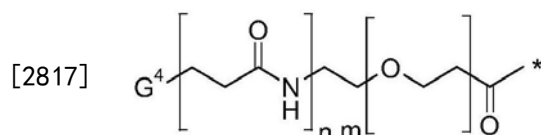
[2812] 其中, 星号表示连接至 L^3 的点, 并且 n 和 G^4 如以上所限定。

[2813] 在一个实施方案中, 基团 G^2 是:



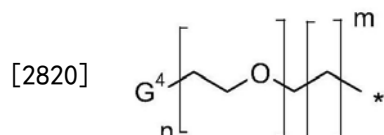
[2815] 其中, 星号表示连接至 L^3 的点, n 是 0 或 1, m 是 0 至 50, 并且 G^4 选自 OH、OR、SH、SR、COOR、CONH₂、CONHR、CONRR'、NH₂、NHR、NRR'、NO₂ 和卤素。在一个优选的实施方案中, n 是 1 并且 m 是 0 至 10、1 至 2、优选地 4 至 8 以及最优选地 4 或 8。在另一个实施方案中, n 是 1 并且 m 是 10 至 50, 优选地是 20 至 40。基团 OH、SH、NH₂ 和 NHR 是受保护的。在一个实施方案中, G^4 是 OR、SR、COOR、CONH₂、CONHR、CONRR' 和 NRR'。在一个实施方案中, G^4 是 OR、SR 和 NRR'。优选地, G^4 选自 OR 和 NRR', 最优选地, G^4 是 OR。优选地, G^4 是 OMe。

[2816] 在一个实施方案中, 基团 G^2 是:



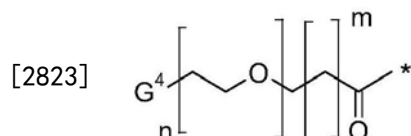
[2818] 其中, 星号表示连接至 L^3 的点, 以及 n 、 m 和 G^4 如以上所限定的。

[2819] 在一个实施方案中, 基团 G^2 是:



[2821] 其中, n 是 1-20, m 是 0-6, 并且 G^4 选自 OH、OR、SH、SR、COOR、CONH₂、CONHR、CONRR'、NH₂、NHR、NRR'、NO₂ 和卤素。在一个实施方案中, n 是 1-10。在另一个实施方案中, n 是 10 至 50, 优选地是 20 至 40。在一个实施方案中, n 是 1。在一个实施方案中, m 是 1。基团 OH、SH、NH₂ 和 NHR 是受保护的。在一个实施方案中, G^4 是 OR、SR、COOR、CONH₂、CONHR、CONRR' 和 NRR'。在一个实施方案中, G^4 是 OR、SR 和 NRR'。优选地, G^4 选自 OR 和 NRR', 最优选地, G^4 是 OR。优选地, G^4 是 OMe。

[2822] 在一个实施方案中, 基团 G^2 是:



[2824] 其中, 星号表示连接至 L^3 的点, 以及 n 、 m 和 G^4 如以上所限定的。

[2825] 在以上实施方案的每个中, G^4 可以是 OH、SH、NH₂ 和 NHR。这些基团优选地是受保护的。

[2826] 在一个实施方案中, 用 Bzl、TBDMS 或 TBDPS 保护 OH。

[2827] 在一个实施方案中, 用 AcM、Bzl、Bzl-OMe、Bzl-Me 或 Trt 保护 SH。

[2828] 在一个实施方案中,用Boc、Moc、Z-Cl、Fmoc、Z或Alloc保护NH₂或NHR。

[2829] 在一个实施方案中,基团G²与基团L³组合存在,该基团L³是二肽。

[2830] 封端基团不旨在用于连接至抗体。因此,存在于二聚体中的其他单体用作经由接头连接至抗体的点。因此,优选的是存在于封端基团中的官能团不可用于与抗体反应。因此,优选地避免反应性官能团,如OH、SH、NH₂、COOH。然而,如果受保护,则这种官能团可以存在于封端基团中,如以上所描述的。

[2831] 实施方案

[2832] 本发明的实施方案包括ConjA,其中,抗体如以上所限定的。

[2833] 本发明的实施方案包括ConjB,其中,抗体如以上所限定的。

[2834] 本发明的实施方案包括ConjC,其中,抗体如以上所限定的。

[2835] 本发明的实施方案包括ConjD,其中,抗体如以上所限定的。

[2836] 本发明的实施方案包括ConjE,其中,抗体如以上所限定的。

[2837] 本发明的实施方案包括ConjF,其中,抗体如以上所限定的。

[2838] 本发明的实施方案包括ConjG,其中,抗体如以上所限定的。

[2839] 本发明的实施方案包括ConjH,其中,抗体如以上所限定的。

[2840] 载药量

[2841] 载药量是每抗体(例如,抗体)的PBD药物的平均数目。当本发明的化合物键连至天然半胱氨酸时,载药量可以在每抗体1至8个药物(D^L)的范围内,即,其中1、2、3、4、5、6、7和8个药物共价连接至抗体。缀合物的组成包括缀合有1至8个药物的抗体的集合。当本发明的化合物键连至赖氨酸时,载药量可以在每抗体1至80个药物(D^L)的范围内,但优选上限为40、20、10或8个。缀合物的组成包括缀合有1至80、1至40、1至20、1至10或1至8个范围内的药物的抗体的集合。

[2842] 在来自缀合反应的ADC制品中,每个抗体的药物的平均数目可以由常规方式来表征,如UV、反向HPLC、HIC、质谱、ELISA测定和电泳。也可以确定用p表示的ADC的定量分布。通过ELISA,可以确定在特定的ADC的制品中p的平均值(Hamblett等人,(2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070; Sanderson等人,(2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852)。然而,通过抗体-抗原结合和ELISA的检测限,p(药物)值的分布是不可识别的。另外,用于检测抗体-药物缀合物的ELISA测定不能确定药物在什么位置连接至抗体,如重链或轻链片段或特定的氨基酸残基。在一些情况下,可以通过如反相HPLC或电泳的方式来实现均相ADC(其中p是来自具有其他载药量的ADC的特定值)的分离、纯化和表征。这种技术也适用于其他类型的缀合物。

[2843] 对于一些抗体-药物缀合物,p可受到抗体上连接位点的数目的限制。例如,抗体可以仅具有一个或具有多个半胱氨酸硫醇基团,或可以仅具有一个或具有多个充分反应性的硫醇基团,通过该硫醇基团可以连接至接头。较高的载药量,例如p>5,可以引起一些抗体-药物缀合物的聚集、不溶、毒性或丧失细胞通透性。

[2844] 通常,将少于理论最大量的药物通过缀合反应结合至抗体。例如,抗体可以包含许多不与药物-接头中间体(D-L)或接头试剂反应的赖氨酸残基。仅最具反应性的赖氨酸基团可以与胺反应性接头试剂反应。另外,仅最具反应性的半胱氨酸基团可以与硫醇反应性接头试剂反应。通常,抗体不包含许多(如果有的话)游离的和反应性的可以连接至药物的半

胱氨酸硫醇基团。缀合物 (compound) 的抗体中的大多数半胱氨酸硫醇残基作为二硫桥存在,并且必须在部分或全部还原条件下用还原剂如二硫苏糖醇 (DTT) 或TCEP将其还原。可以以多种方式控制ADC的载药量 (药物/抗体比),包括:(i) 限制药物-接头中间体 (D-L) 或接头试剂相对于抗体的摩尔过量;(ii) 限制缀合反应时间或温度;以及(iii) 用于半胱氨酸硫醇修饰的部分或限制性还原条件。

[2845] 一些抗体具有可还原的链内二硫化物,即,半胱氨酸桥。对于与接头试剂的结合,通过用还原剂如DTT (二硫苏糖醇) 处理可以使抗体变得具有反应性。因此,理论上每个半胱氨酸桥将形成两个反应性硫醇亲核体。通过由胺向硫醇的转化所得到的2-亚氨基硫杂环戊烷 (Traut's试剂) 与赖氨酸的反应,可以将另外的亲核基团引入至抗体中。通过设计1、2、3、4或更多半胱氨酸残基 (例如,制备包含一个或多个非天然半胱氨酸残基的突变抗体) 可以将反应性硫醇基团引入至抗体 (或它们的片段)。US 7521541教导通过引入反应性半胱氨酸氨基酸设计抗体。

[2846] 可以在抗体中的反应位点处加工半胱氨酸残基并且其不形成链内或分子内二硫键 (Junutula等人,2008b Nature Biotech.,26 (8):925-932;Dornan等人,(2009) Blood 114 (13):2721-2729;US 7521541;US 7723485;W02009/052249)。经加工的半胱氨酸硫醇可以与具有硫醇反应性、亲电基团 (如马来酰亚胺或 α -卤代酰胺) 的接头试剂或本发明的药物-接头试剂反应以形成具有半胱氨酸加工的抗体和PBD药物的ADC。因此,可以设计、控制以及已知药物的位置。由于经加工的半胱氨酸硫醇基团通常以高产率与硫醇反应性接头试剂或药物-接头试剂反应,所以可以控制载药量。通过在重链或轻链的单一位点进行取代以引入半胱氨酸氨基酸来加工IgG抗体,从而在对称抗体上产生两个新的半胱氨酸。通过复合物ADC的接近同质性,可以实现接近2的载药量。

[2847] 可替代地,如Axup等人 ((2012),Proc Natl Acad Sci U S A.109 (40):16101-16116所描述的,通过加工抗体以在它们的重链和/或轻链包含非天然氨基酸,可以实现位点特异性结合。非天然氨基酸提供了另外的优势,即可以设计正交化学来连接接头试剂和药物。

[2848] 当抗体的多于一个亲核或亲电基团与药物-接头中间体或接头试剂以及随后与药物试剂反应时,那么得到的产物是ADC化合物的混合物,其中药物连接至抗体的分布为例如,1、2、3个等。液相色谱法,如聚合物反相 (PLRP) 和疏水相互作用可以通过载药量值分离混合物中的化合物。可以分离具有单一载药量值 (p) 的ADC的制品,然而,这些单一载药量值ADC仍然可以是异质混合物,因为药物可以经由接头连接在抗体的不同位点上。

[2849] 因此,本发明的抗体-药物缀合物组合物包括抗体-药物缀合物化合物的混合物,其中,抗体具有一个或多个PBD药物,并且其中,药物可以在不同氨基酸残基处连接至抗体。

[2850] 在一个实施方式中,每个抗体的二聚体吡咯并苯并二氮杂萘基团的平均数目在1至20的范围内。在一些实施方式中,该范围选自1至8、2至8、2至6、2至4和4至8个。

[2851] 在一些实施方式中,每抗体中存在一个二聚体吡咯并苯并二氮杂萘。

[2852] 包括其它形式

[2853] 除非另有规定,在上文中包括这些取代基的众所周知的离子、盐、溶剂化物和保护形式。例如,提及羧酸 ($-COOH$) 还包括其阴离子 (羧酸根) 形式 ($-COO^-$)、盐或溶剂化物,以及

常规保护形式。类似地,提及氨基包括氨基的质子化形式($-N^+HR^1R^2$)、盐或溶剂化物,例如,盐酸盐,以及氨基的常规保护形式。类似地,提及羟基还包括其阴离子形式($-O^-$)、盐或溶剂化物,以及常规保护形式。

[2854] 盐

[2855] 制备、纯化和/或处理活性化合物的相应盐,例如,药学上可接受的盐可以是方便的或期望的。药学上可接受的盐的实例讨论于Berge等人, *J. Pharm. Sci.*, 66, 1-19 (1977) 中。

[2856] 例如,如果化合物是阴离子化合物,或具有可以是阴离子的官能团(例如, $-COOH$ 可以是 $-COO^-$),那么可以与合适的阳离子形成盐。适合的无机阳离子的实例包括但不限于碱金属离子如 Na^+ 和 K^+ 、碱土金属阳离子如 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 、以及其他阳离子如 Al^{+3} 。适合的有机阳离子的实例包括但不限于铵离子(即 NH_4^+)和取代的铵离子(例如 NH_3R^+ 、 $NH_2R_2^+$ 、 NHR_3^+ 、 NR_4^+)。一些适合的取代的铵离子的实例是源自以下的取代的铵离子:乙胺、二乙胺、二环己胺、三乙胺、丁胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪、苄胺、苯基苄胺、胆碱、葡甲胺和氨丁三醇(tromethamine),以及氨基酸,如赖氨酸和精氨酸。常见的季铵离子的实例是 $N(CH_3)_4^+$ 。

[2857] 如果化合物是阳离子化合物,或具有可以是阳离子的官能团(例如 $-NH_2$ 可以是 $-NH_3^+$),那么可以与合适的阴离子形成盐。适合的无机阴离子的实例包括但不限于源自以下无机酸的那些:盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硫酸、亚硫酸、硝酸、亚硝酸、磷酸和亚磷酸。

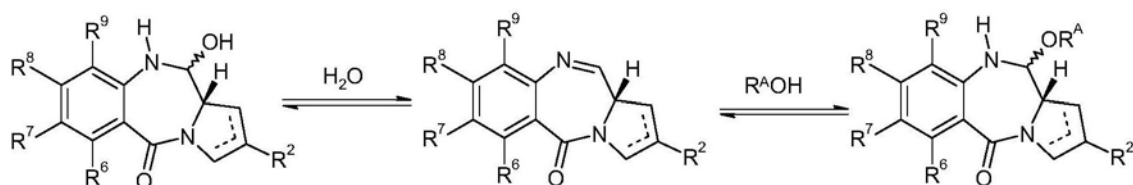
[2858] 适合的有机阴离子的实例包括但不限于源自以下有机酸的那些:2-乙酰氧基苯甲酸、乙酸、抗坏血酸、天冬氨酸、苯甲酸、樟脑磺酸、肉桂酸、柠檬酸、乙二胺四乙酸、乙烷二磺酸、乙磺酸、富马酸、葡庚糖酸、葡萄糖酸、谷氨酸、乙醇酸、羟基马来酸、羟基萘甲酸、羟乙磺酸、乳酸、乳糖酸、月桂酸、马来酸、苹果酸、甲磺酸、粘酸、油酸、草酸、棕榈酸、扑酸、泛酸、苯乙酸、苯磺酸、丙酸、丙酮酸、水杨酸、硬脂酸、琥珀酸、对氨基苯磺酸、酒石酸、甲苯磺酸、三氟乙酸和戊酸。适合的高分子有机阴离子的实例包括但不限于源自以下聚合酸的那些:丹宁酸、羧甲基纤维素。

[2859] 溶剂合物

[2860] 制备、纯化和/或处理活性化合物的相应溶剂化物可以是方便或期望的。术语“溶剂化物”在本发明中以常规含义来使用,用来指溶质(例如活性化合物、活性化合物的盐)和溶剂的络合物。如果溶剂是水,溶剂化物可以方便地被称作水合物,例如,一水合物、二水合物、三水合物等。

[2861] 本发明包括其中添加溶剂打破PBD部分的亚胺键的化合物,其在以下示出,其中溶剂是水或醇($R^A OH$,其中 R^A 是 C_{1-4} 烷基):

[2862]



[2863] 这些形式可以被PBD的甲醇胺和甲醇胺醚形式(如在以上关于 R^{10} 的部分中所描述的)。这些等式的平衡取决于发现化合物的条件以及该部分本身的特性。

[2864] 例如,可以通过冻干以固体形式来分离这些特定化合物。

[2865] 异构体

[2866] 本发明的一些化合物可以以一种或多种特定的几何形式、光学形式、对映异构体形式、非对映异构体形式、差向异构体形式、阻转异构体 (atropic) 形式、立体异构体形式、互变异构体形式、构象形式或端基异构体 (anomeric) 形式存在,包括但不限于顺式和反式; E型和Z型; c式和t式和r式; 内形式和外形式; R型、S型和内消旋型; D型和L型; d型和l型; (+) 和(-) 形式; 酮式、烯醇式和烯醇化物形式; 顺式和反式; 顺错形式和反错形式; α 形式和 β 形式; 轴向形式和平伏形式; 船式、椅式、扭式、信封式和半椅式; 以及它们的组合,在下文中统称为“异构体”(或“异构体形式”)。

[2867] 术语“手性”是指具有镜像配偶体非重叠 (non-superimposability) 性质的分子,而术语“非手性”是指可与它们的镜像配偶体重叠的分子。

[2868] 术语“立体异构体”是指具有相同化学构成、但是在空间上原子或基团的排布不同的化合物。

[2869] “非对映异构体”是指具有两个或多个手性中心、并且其分子相互不是另一个的镜像的立体异构体。非对映异构体具有不同的物理性质,例如,熔点、沸点、光谱性质和反应性。可以用高分辨率的分析方法如电泳和色谱分离非对映异构体的混合物。

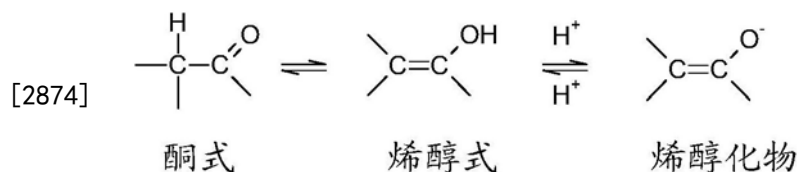
[2870] “对映异构体”是指化合物的两种立体异构体,其彼此为非重叠镜像。

[2871] 本发明使用的立体化学定义和规定通常遵循S.P.Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; 和Elieil, E.和Wilens, S., “Stereochemistry of Organic Compounds”, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994。本发明的化合物可以包含不对称或手性中心,因此以不同的立体异构体形式存在。本发明的化合物的所有立体异构体形式,包括但不限于非对映异构体、对映异构体和阻转异构体 (atropisomer) 以及它们的混合物 (如外消旋混合物),旨在形成本发明的一部分。许多有机化合物以光学活性形式存在,即,它们具有使平面偏振光的平面旋转的能力。在描述光学活性化合物中,前缀D和L或R和S用于表示分子关于手性中心的绝对构型。使用前缀d和l或(+)和(-)来指定化合物使平面偏振光旋转的符号,其中(-)或l是指化合物是左旋的。前缀为(+)或d的化合物是右旋的。对于给定的化学结构,这些立体异构体除了它们是彼此的镜像外是相同的。特定的立体异构体也可被称为对映异构体,并且经常将这种异构体的混合物称为对映异构体混合物。对映异构体的50:50混合物称为外消旋混合物或外消旋体,这可在不具有立体选择性或立体特异性的化学反应或过程中产生。术语“外消旋混合物”和“外消旋体”是指两种对映异构体物质的等摩尔混合物,其没有光学活性。

[2872] 要注意的是,除非如下文针对互变异构体形式所讨论的,从术语“异构体”(如在本发明中所使用的)明确排除了结构(或构造)异构体(即,其差异在于在原子之间的连接而不仅在于原子在空间中的位置的异构体)。例如,提及甲氧基($-OCH_3$)并不被理解为提及它的结构异构体羟甲基($-CH_2OH$)。类似地,提及邻氯苯基并不被理解为提及它的结构异构体间氯苯基。然而,提及一类结构可以包括落在上述类型的范围之内的结构异构体形式(例如C₁₋₇烷基包括正丙基和异丙基;丁基包括正丁基、异丁基、仲丁基和叔丁基;甲氧基苯基包括邻甲氧基苯基、间甲氧基苯基和对甲氧基苯基)。

[2873] 上述排除并不涉及互变异构体形式,如在,例如,以下互变异构体对中:酮/烯醇(如下图所示)、亚胺/烯胺、酰胺/亚氨基醇、脒/脒、亚硝基/肟、硫酮/烯硫醇、N-亚硝基/羟

基偶氮和硝基/异硝基中的例如酮式-、烯醇式-和烯醇化物形式。



[2875] 术语“互变异构体”或“互变异构体形式”是指不同能量的结构异构体,其通过低能量势垒是可互变的。例如,质子互变异构体(也称为质子性互变异构体)包括通过质子的迁移的互变现象,如酮-烯醇和亚胺-烯胺异构化。化合价互变异构体包括通过一些成键电子的重组(reorganization)的互变现象。

[2876] 要注意的是,术语“异构体”特别包括具有一个或多个同位素取代的化合物。例如,H可以是任何同位素形式,包括¹H、²H(D)和³H(T);C可以是任何同位素形式,包括¹²C、¹³C和¹⁴C;O可以是任何同位素形式,包括¹⁶O和¹⁸O;等等。

[2877] 可以结合至本发明的化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素,例如但不限于²H(氘,D)、³H(氚)、¹¹C、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸F、³¹P、³²P、³⁵S、³⁶Cl和¹²⁵I。本发明的各种同位素标记的化合物,例如其中并入了放射性同位素如³H、¹³C、¹⁴C的那些。这样的同位素标记的化合物可以用于代谢研究、反应动力学研究、检测或成像技术,如正电子断层扫描成像(PET)或单光子发射计算机断层成像术(SPECT),包括药物或底物组织分布分析,或在患者的放射性治疗中。本发明的氘标记的或取代的治疗性化合物可以具有改善的DMPK(药物代谢及药物动力学)性质,其涉及分布、代谢以及排泄(ADME)。用较重的同位素(如氘)取代可以提供因更高的代谢稳定性而产生的某种治疗优点,例如,体内半衰期增加或所需的剂量减少。¹⁸F标记的化合物对PET或SPECT研究是有用的。本发明的同位素标记的化合物及其前药通常能够通过以下制备:实施在如下所述的反应方案或实施例以及制备例中披露的方法,用容易获得的同位素标记的试剂代替非同位素标记的试剂。另外,用较重的同位素,尤其是氘(即,²H或D)取代,可以提供因更高的代谢稳定性而产生的某种治疗优点,例如,体内半衰期增加或所需的剂量减少或治疗指数增加。应当理解的是将上下文中的氘视作取代基。这种较重同位素(尤其是氘)的浓度可以通过同位素富集因子来限定。在本发明的化合物中,任何没有明确指明为具体同位素的原子是指该原子的任何稳定的同位素。

[2878] 除非另外说明,否则提到的具体化合物包括全部这些异构体形式,包括其(全部或部分地)外消旋和其他混合物。用于这种异构体形式的制备(例如,不对称合成)和分离(例如,分步结晶和色谱法)的方法是本领域已知的,或者通过已知的方式调整本发明所教导的方法或已知的方法是容易得到的。

[2879] 生物活性

[2880] 体外细胞增殖测定

[2881] 通常,通过以下测量抗体-药物缀合物(ADC)的细胞毒性或细胞抑制活性:将具有受体蛋白质的哺乳细胞暴露于细胞培养基中的ADC的抗体;培养细胞一段约6小时至约5-7天的时间段;以及测量细胞存活力。基于细胞的体外测定用于测量本发明的ADC的存活力(增殖)、细胞毒性和细胞死亡的诱导(半胱天冬酶激活)。

[2882] 可以通过细胞增殖测定测量抗体-药物缀合物的体外效力。**CellTiter-Glo[®]** Luminescent细胞存活力测定是商业可得的(Promega Corp.,Madison,WI)、基于鞘翅目荧

光素酶 (Coleoptera luciferase) 的重组表达的同质测定方法 (US 专利 5583024; 5674713 和 5700670)。该细胞增殖测定基于对存在的 ATP 的定量来确定培养基中存活细胞的数目, 该 ATP 是代谢活性细胞的指示物 (Crouch 等人, (1993) J. Immunol. Meth. 160: 81-88; US 6602677)。在 96 孔板中进行 **CellTiter-Glo[®]** 测定, 使它可经受自动化高通量筛选 (HTS) 的检验 (Cree 等人, (1995) AntiCancer Drugs 6: 398-404)。同质测定方法涉及直接添加单一试剂 (**CellTiter-Glo[®]** 试剂) 至在补充血清培养基中培养的细胞中。不需要细胞洗涤、除去培养基和多次移液步骤。添加试剂并混合之后, 在 10 分钟内系统检测到 384 孔板中低至 15 个细胞/孔。可以用 ADC 连续处理细胞, 或可以处理细胞并将其与 ADC 分离。通常, 简单处理 (即, 3 小时) 的细胞显示出与连续处理的细胞的相同效力。

[2883] 同质的“添加-混合-测量”模式导致胞溶作用和与存在的 ATP 的量成比例的发光 (luminescent) 信号的产生。ATP 的量与存在于培养基中的细胞的数目直接成比例。**CellTiter-Glo[®]** 测定产生由荧光素酶反应产生的“生长型”发光信号, 取决于使用的细胞类型和培养基, 其具有通常大于 5 小时的半衰期。存活细胞反映为相对发光单元 (RLU)。通过重组萤火虫荧光素酶并伴随 ATP 至 AMP 的转化和光子的产生, 底物甲虫荧光素 (Beetle Luciferin) 被氧化脱羧基。

[2884] 也可以通过细胞毒性测定测量抗体-药物缀合物的体外效力。将培养的粘附细胞用 PBS 洗涤, 用胰蛋白酶脱离, 将其稀释在包含 10% FCS 的完全培养基中, 离心, 再悬浮于新鲜培养基中, 并用血细胞计数器 (haemocytometer) 计数。直接计数悬浮培养物。适用于计数的单分散细胞悬浮物可能需要通过重复送气以打散细胞团来搅动悬浮物。

[2885] 将细胞悬浮物稀释至期望的接种密度并将其分散 (100 μ l/孔) 至黑色的 96 孔板中。孵育粘附细胞系的板过夜以允许粘附。可以在接种当天使用培养的悬浮细胞。

[2886] 在适当的细胞培养基中制备 ADC (20 μ g/ml) 的储备液 (1ml)。通过顺序转移 100 μ l 至 900 μ l 的细胞培养基, 在 15ml 离心管中制备储备 ADC 的一系列 10 倍稀释液。

[2887] 将每种 ADC 稀释液 (100 μ l) 的四个重复孔分散在 96 孔黑板中, 所述板之前用细胞悬浮液 (100 μ l) 铺板, 得到最终体积 200 μ l。对照孔接收细胞培养基 (100 μ l)。

[2888] 如果细胞系的倍增时间大于 30 小时, 那么 ADC 孵育 5 天, 否则在四天内完成孵育。

[2889] 在孵育时间段最后, 用阿尔玛 (Alamar) 蓝测定评估细胞存活力。将阿尔玛蓝 (Invitrogen) 分散在整个板上 (20 μ l/孔) 并且孵育 4 小时。在 Varioskan 快速读板器上以 570nm 激发、585nm 发射测量阿尔玛蓝荧光。与对照孔中的平均荧光相比, 由 ADC 处理的孔中的平均荧光计算细胞存活百分比。

[2890] 用途

[2891] 本发明的缀合物可被用于在靶向位置提供 PBD 化合物。

[2892] 靶向位置优选是增殖的细胞群, 如增殖的癌细胞群。其它靶向位置包括静止细胞群, 如静止癌细胞群或癌干细胞群。抗体是存在于增殖细胞群上的抗原的抗体。

[2893] 在一个实施方式中, 与存在于增殖细胞群 (例如, 肿瘤细胞群) 中的抗原的量相比, 抗原不存在或以降低水平存在于非增殖细胞群中。

[2894] 在靶向位置, 接头可以被切割, 从而释放化合物 RelA、RelB、RelC、RelD、RelE 或 RelG。因此, 可以将缀合物用于将化合物 RelA、RelB、RelC、RelD、RelE 或 RelG 选择性提供至靶向位置。

[2895] 接头可以由存在于靶向位置的酶切割。

[2896] 靶向位置可以是体外、体内或离体。

[2897] 本发明的抗体-药物缀合物(ADC)化合物包括具有抗癌活性效用的那些。具体地,化合物包括缀合(即通过接头共价连接)至PBD药物(即,毒素)的抗体。当药物没有缀合至抗体时,PBD药物具有细胞毒性作用。因此,与抗体的缀合调节了PBD药物的生物活性。本发明的抗体-药物缀合物(ADC)将有效剂量的细胞毒性试剂选择性递送至肿瘤组织,从而可以实现较高的选择性,即,较少的有效剂量。

[2898] 因此,一方面,本发明提供本发明所描述的缀合物化合物,其用于治疗。

[2899] 在进一步的方面,还提供本发明所描述的缀合物化合物,其用于治疗增殖性疾病。本发明的第二方面提供缀合物化合物在制备用于治疗增殖性疾病的药物中的用途。

[2900] 本领域普通技术人员能够容易地确定候选缀合物是否治疗任何特定细胞类型的增殖性病症。例如,在以下的实例中描述了这样的测定法,它们可以方便地用于评估由特定化合物所提供的活性。

[2901] 术语“增殖性疾病”涉及不希望的过度或异常细胞的不需要的或不受控制的细胞增殖,如,新生性或增生性生长(不管是体外或体内)。

[2902] 增殖性病症的实例包括但不限于良性、恶化前和恶性细胞增生,包括但不限于新生物和肿瘤(例如,组织细胞瘤、胶质瘤、星形细胞瘤、骨瘤)、癌症(例如肺癌、小细胞肺癌、胃肠癌、肠癌、结肠癌、乳癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、肝癌、肾癌、膀胱癌、胰腺癌、脑癌、肉瘤、骨肉瘤、卡波西肉瘤、黑素瘤)、淋巴瘤、白血病、牛皮癣、骨病、纤维增殖性疾病(例如结缔组织的纤维增殖性疾病)和动脉粥样硬化。特别感兴趣的癌症包括但不限于前列腺癌、白血病和卵巢癌。

[2903] 可以治疗任何类型的细胞,包括但不限于肺、胃肠道(包括,例如,肠、结肠)、乳(乳房)、卵巢、前列腺、肝脏(肝)、肾脏(肾)、膀胱、胰腺、脑和皮肤。

[2904] 预期本发明的抗体-药物缀合物(ADC)可被用于治疗多种疾病或障碍,例如,以肿瘤抗原的过表达为特征的那些。示例性病症或过度增殖性障碍包括良性或恶性肿瘤;白血病、血液和淋巴系统恶性肿瘤。其他包括以下的障碍:神经元障碍、神经胶质障碍、星形细胞障碍、下丘脑障碍、腺体障碍、巨噬细胞障碍、上皮障碍、基质障碍、囊胚腔障碍、炎症性障碍、血管生成障碍和免疫学障碍,包括自身免疫性障碍。

[2905] 通常,待治疗的疾病或障碍是过度增殖性疾病,如癌症。本发明中待治疗的癌症的实例包括但不限于癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤和白血病或淋巴恶性肿瘤。这种癌症的更具体的实例包括鳞状细胞癌(例如,上皮鳞状细胞癌)、肺癌(包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺的腺癌和肺的鳞状细胞癌)、腹膜癌、肝细胞癌、胃癌或胃部癌(包括胃肠癌)、胰腺癌、成胶质细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳癌、结肠癌、直肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌或子宫癌、唾液腺癌、肾癌或肾脏癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝肿瘤、肛门癌、阴茎癌以及头颈癌。

[2906] 在治疗中可以使用ADC的自身免疫疾病包括风湿性疾病(如例如,类风湿关节炎、舍格伦综合征、硬皮病、狼疮如SLE和狼疮性肾炎、多肌炎/皮肌炎、冷球蛋白血症、抗磷脂抗体综合征和银屑病关节炎),骨关节炎、自身免疫性胃肠和肝紊乱(如例如,炎症性肠疾病(例如,溃疡性结肠炎和克罗恩病)、自身免疫性胃炎和恶性贫血、自身免疫性肝炎、原发性

胆汁性肝硬化、原发性硬化性胆管炎和乳糜泻、血管炎(如例如, ANCA相关的血管炎, 包括丘-施血管炎、韦格纳肉芽肿病和多动脉炎)、自身免疫性神经紊乱(如, 例如, 多发性硬化、斜视眼肌阵挛综合征、重症肌无力、视神经脊髓炎、帕金森氏病、阿尔茨海默氏病和自身免疫性多发性神经病变)、肾脏疾病(例如, 肾小球肾炎、古德帕斯彻氏综合征和贝格尔氏病)、自身免疫性皮肤病紊乱(例如, 牛皮癣、荨麻疹、麻疹、寻常天疱疮、大疱性类天疱疮和皮肤红斑狼疮)、血液学紊乱(例如, 血小板减少性紫癜、血栓性血小板减少性紫癜、输血后紫癜和自身免疫性溶血性贫血)、动脉粥样硬化、葡萄膜炎、自身免疫性听觉紊乱(例如, 内耳病和听力损失)、贝切特氏病、雷诺氏综合征、器官移植和自身免疫性内分泌紊乱(如例如, 糖尿病相关自身免疫病诸如胰岛素依赖性糖尿病(IDDM)、阿狄森氏病和自身免疫性甲状腺病(例如, 格雷夫斯病和甲状腺炎))。更优选的, 这种疾病包括, 例如, 类风湿性关节炎、溃疡性结肠炎、ANCA相关的血管炎、狼疮、多发性硬化症、舍格伦综合征、格雷夫斯病、IDDM、恶性贫血、甲状腺炎和肾小球肾炎。

[2907] 治疗方法

[2908] 本发明的缀合物可以在治疗方法中使用。还提供的是是一种治疗的方法, 包括向需要的受试者给药治疗有效量的本发明的缀合物化合物。术语“治疗有效量”是足以显示对患者有益处的量。上述益处可以是至少改善至少一种症状。给药的量以及给药的速率和时程将取决于待治疗的疾病的性质和严重性。治疗处方, 例如剂量决定, 在全科医师和其他医生的责任范围内。

[2909] 可以单独给药或与其他治疗组合给药本发明的化合物, 同时给药还是顺序给药取决于待治疗的病症。治疗和疗法的实例包括但不限于化学疗法(给药活性剂, 包括例如药物, 如化疗); 手术; 和放射疗法。

[2910] 不考虑作用机制, “化疗剂”是在癌症治疗中有用的化学化合物。化疗剂的类别包括但不限于烷化剂、抗代谢物、纺锤体毒植物生物碱、细胞毒性/抗肿瘤抗生素、拓扑异构酶抑制剂、抗体、光敏剂和激酶抑制剂。化疗剂包括在“靶向疗法”和常规化疗中使用的化合物。

[2911] 化疗剂的实例包括: 厄洛替尼(TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.)、多西他赛(TAXOTERE®, Sanofi-Aventis)、5-FU(氟尿嘧啶, 5-氟尿嘧啶, CAS No. 51-21-8)、吉西他滨(GEMZAR®, Lilly)、PD-0325901 (CAS No. 391210-10-9, Pfizer)、顺铂(顺-二胺, 二氯铂(II), CAS No. 15663-27-1)、卡铂(CAS No. 41575-94-4)、紫杉醇(TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)、曲妥珠单抗(HERCEPTIN®, Genentech)、替莫唑胺(4-甲基-5-氧代-2, 3, 4, 6, 8-五氮杂双环[4.3.0]壬-2, 7, 9-三烯-9-甲酰胺, CAS No. 85622-93-1, TEMODAR®, TEMODAL®, Schering Plough)、他莫昔芬((Z)-2-[4-(1, 2-二苯基丁-1-烯基)苯氧基]-N,N-二甲基乙胺、NOLVADEX®, ISTUBAL®, VALODEX®)和多柔比星(ADRIAMUCIN®)、Akti-1/2、HPPD和雷帕霉素。

[2912] 化疗剂的更多实例包括: 奥沙利铂(ELOXATIN®, Sanofi)、硼替佐米(VELCADE®, Millennium Pharm.)、索坦(SUNITINIB®, SU11248, Pfizer)、来曲唑(

FEMARA[®],Novartis)、甲磺酸伊马替尼(GLEEVEC[®],Novartis)、XL-518(Mek抑制剂,Exelixis,WO 2007/044515)、ARRY-886(Mek抑制剂,AZD6244,Array BioPharma,AstraZeneca)、SF-1126(PI3K抑制剂,Semafore Pharmaceuticals)、BEZ-235(PI3K抑制剂,Novartis)、XL-147(PI3K抑制剂,Exelixis)、PTK787/ZK 222584(Novartis)、氟维司群(FASLODEX[®],AstraZeneca)、亚叶酸钙(亚叶酸)、雷帕霉素(西罗莫司,RAPAMUNE[®],Wyeth)、拉帕替尼(TYKERB[®],GSK572016,Glaxo Smith Kline)、洛那法尼(SARASAR[™],SCH 66336,Schering Plough)、索拉非尼(NEXAVAR[®],BAY43-9006,Bayer Labs)、吉非替尼(IRESSA[®],AstraZeneca)、伊立替康(CAMPTOSAR[®],CPT-11,Pfizer)、替吡法尼(ZARNESTRA[™],Johnson&Johnson)、ABRAXANE[™](不含聚氧乙烯蓖麻油)、紫杉醇的白蛋白工程化的纳米颗粒制剂(American Pharmaceutical Partners,Schaumburg,Il)、凡德他尼(rINN,ZD6474,ZACTIMA[®],AstraZeneca)、苯丁酸氮芥、AG1478、AG1571(SU 5271;Sugen)、西罗莫司(TORISEL[®],Wyeth)、帕唑帕尼(GlaxoSmithKline)、茨佛(TELCYTA[®],Telik)、塞替派和环磷酰胺(CYTOXAN[®], NEOSAR[®]);烷基磺酸酯如白消安、英丙舒凡和哌泊舒凡;氮丙啶类例如苯佐替哌(benzodopa)、卡波醌、美妥替哌(meturedopa)和乌瑞替哌(uredopa);乙撑亚胺和甲基蜜胺(甲基蜜胺类(methylamelamines),包括六甲蜜胺、三乙撑蜜胺、三乙撑磷酰胺、三乙撑硫代磷酰胺和三羟甲基蜜胺(trimethylomelamine);多聚乙酰(尤其是布拉它辛和布拉它辛酮);喜树碱(包括合成的类似物托泊替康);苔藓抑素;callystatin;CC-1065(包括它的阿多来新、卡折来新和比折来新合成类似物);隐藻素(特别是隐藻素1和的隐藻素8);多拉司他汀;倍癌霉素(包括合成类似物,KW-2189和CB1-TM1);软珊瑚醇(eleutherobin);水鬼蕉碱(pancratistatin);匍枝珊瑚醇(sarcodictyin);海绵抑制素(spongistatin);氮芥如苯丁酸氮芥、萘氮芥、氯磷酰胺(chlorophosphamide)、雌莫司汀、异环磷酰胺、双氯乙基甲胺、双氯乙基甲胺氧化物盐酸盐、美法仑、新恩比兴、苯芥胆甾醇、泼尼莫司汀、曲磷胺、尿嘧啶氮芥;亚硝基脲如卡莫司汀、氯脲霉素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀和雷莫司汀(ranimustine);抗生素如烯二炔抗生素(例如卡里奇霉素(calicheamicin)、卡里奇霉素 γ II、卡里奇霉素 Ω II(Angew Chem.Intl.Ed.Engl.(1994) 33:183-186);达内霉素(dynemicin)、达内霉素A;二膦酸盐,如氯膦酸盐;埃斯培拉霉素;以及新制癌菌素生色团和相关色蛋白烯二炔抗生素生色团)、阿克拉霉素、放线菌素、氨茴霉素(authramycin)、偶氮丝氨酸、博来霉素、放线菌素C、carabycin、洋红霉素、嗜癌素、色霉素(chromomycinis)、更生霉素、柔红霉素、地托比星、6-重氨基-5-氧代-L-正亮氨酸、吗啉代-多柔比星、氰基吗啉代-多柔比星、2-吡咯啉基-多柔比星和脱氧多柔比星、表柔比星、依索比星、伊达比星、奈莫柔比星、麻西罗霉素、丝裂霉素如丝裂霉素C、霉酚酸、诺加霉素、橄榄霉素类、培洛霉素、泊非霉素、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑菌素、链脲菌素、结核菌素(tubercidin)、乌苯美司、净司他丁、佐柔比星;抗代谢物如甲氨蝶呤和5-氟尿嘧啶(5-FU);叶酸类似物如二甲叶酸、甲氨蝶呤、蝶罗呤、三甲曲沙;嘌呤类似物如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤;嘧啶类似物如安西他滨、阿扎胞苷、6-氮尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、二脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨、氟尿苷;雄激素如卡普睾酮、屈他雄酮丙酸酯、环硫雄醇、美雄烷、睾内酯;抗肾上腺如氨鲁米特(aminoglutethimide)、米托坦、曲洛司坦;叶

酸补充剂如亚叶酸;醋葡醛内酯(aceglatone);醛磷酰胺糖苷;氨基乙酰丙酸;恩尿嘧啶;安吡啶;百垂布昔(bestrabucil);比生群;依达曲沙(edatraxate);地磷酰胺(defosfamide);地美可辛(demecolcine);地吡醌;依氟鸟氨酸(elfornithine);依利醋铵;埃博霉素;依托格鲁;硝酸镓;羟基脲;香菇多糖;氯尼达明(lonidainine);美登醇(maytansinoid)如美登素(maytansine)和安丝菌素(ansamitocin);米托胍脘;米托蒽醌;莫哌达醇(mopidanmol);根瘤菌剂(nitraerine);喷司他丁;苯来美特;吡柔比星;洛索蒽醌;鬼臼酸(podophyllinic acid);2-乙基肼;甲基苄肼;**PSK®**多糖络合物(JHS Natural Products,Eugene,OR);雷佐生;根霉素;西佐喃;锗螺胺(spirogermanium);细交链孢菌酮酸;三亚胺醌;2,2',2"-三氯三乙胺;单端孢霉烯族毒素类(尤其是T-2毒素、疣孢菌素A(verracurin A)、杆孢菌素A和蛇形菌素);乌拉坦;长春地辛;达卡巴嗪;甘露莫司汀;二溴甘露醇;二溴卫矛醇;哌泊溴烷;gacytosine;阿糖胞苷("Ara-C");环磷酰胺;塞替派;6-硫鸟嘌呤;巯基嘌呤;甲氨蝶呤;铂类似物如顺铂和卡铂;长春花碱;依托泊苷(VP-16);异环磷酰胺;米托蒽醌;长春新碱;长春瑞滨(**NAVELBINE®**);诺消灵(novantrone);替尼泊苷;依达曲沙;柔红霉素;氨基蝶呤;卡培他滨(**XELODA®**,Roche);伊班膦酸盐;CPT-11;拓扑异构酶抑制剂RFS2000;二氟甲基鸟氨酸(DFMO);类视黄醇如视黄酸;以上任一种的药学上可接受的盐、酸和衍生物。

[2913] 还包括在“化疗剂”的定义中的是:(i)作用为调节或抑制肿瘤上的激素作用的抗激素试剂如抗雌激素和选择性雌激素受体调节剂(SERM),例如包括它莫西芬(**NOLVADEX®**);柠檬酸它莫西芬、雷洛昔芬、屈洛昔芬、4-羟基它莫西芬、曲沃昔芬、那洛昔芬(keoxifene)、LY117018、奥那司酮和**FARESTON®**(柠檬酸托瑞米芬);(ii)抑制酶芳香酶的芳香酶抑制剂,其调节产生于肾上腺的雌激素如例如4(5)-咪唑、氨鲁米特、**MEGASE®**(醋酸甲地孕酮)、**AROMASIN®**(依西美坦;Pfizer)、福美司坦(formestane)、法倔唑、**RIVISOR®**(伏氯唑)、**FEMARA®**(来曲唑;Novartis)和**ARIMIDEX®**(阿那曲唑;AstraZeneca);(iii)抗雄激素如氟他米特、尼鲁米特、比卡鲁胺、亮丙瑞林和戈舍瑞林;以及曲沙他滨(1,3-二氧戊环核苷胞嘧啶类似物);(iv)蛋白质激酶抑制剂如MEK抑制剂(WO 2007/044515);(v)脂质激酶抑制剂;(vi)反义寡核苷酸,特别是抑制异常细胞增殖中受影响的信号通路的基因例如PKC- α 、Raf和H-Ras表达的那些,如奥利默森(**GENASENSE®**,Genta Inc.);(vii)核糖酶如VEGF表达抑制剂(例如,**ANGIOZYME®**);(viii)疫苗如基因疗法疫苗,例如**ALLOVECTIN®**,**LEUVECTIN®**和**VAXID®**;**PROLEUKIN®**rIL-2;拓扑异构酶1抑制剂如**LURTOTECAN®**;**ABARELIX®**rmRH;(ix)抗血管产生剂如贝伐珠单抗(**AVASTIN®**,Genentech)和以上任一种的药学上可接受的盐、酸和衍生物。

[2914] 还包括在“化疗剂”定义中的是治疗性抗体如阿仑单抗(CamPATH)、贝伐珠单抗(**AVASTIN®**,Genentech);西妥昔单抗(**ERBITUX®**,Imclone);帕尼单抗(**VECTIBIX®**,Amgen)、利妥昔单抗(**RITUXAN®**,Genentech/Biogen Idec)、奥法木单抗(**ARZERRA®**,GSK)、帕妥珠单抗(PERJETA™,OMNITARG™,2C4,Genentech)、曲妥珠单抗(**HERCEPTIN®**,Genentech)、托西莫单抗(Bexxar,Corixa)和抗体药物缀合物、吉妥珠单抗(gemtuzumab ozogamicin)(**MYLOTARG®**,Wyeth)。

[2915] 具有与本发明的缀合物组合作为化疗剂的治疗潜力的人源化单克隆抗体包括:阿仑单抗、阿泊珠单抗、阿塞珠单抗、atlizumab、巴品珠单抗(bapineuzumab)、贝伐珠单抗、莫比伐珠单抗(bivatuzumab mertansine)、莫坎妥珠单抗(cantuzumab mertansine)、西利珠单抗、赛妥珠单抗(certolizumab pegol)、cidfusituzumab、cidtuzumab、达利珠单抗、依库丽单抗、依法利珠单抗、依帕珠单抗、厄利珠单抗、非维珠单抗、芳妥珠单抗(Fontolizumab)、吉妥珠单抗、英妥珠单抗(Inotuzumab Ozogamicin)、伊匹单抗、拉贝珠单抗、林妥珠单抗、马妥珠单抗、美泊利单抗、莫维珠单抗、motovizumab、那他珠单抗、尼妥珠单抗、nolovizumab、numavizumab、奥瑞珠单抗(ocrelizumab)、奥马珠单抗、帕利珠单抗、帕考珠单抗、pecfusituzumab、pectuzumab、帕妥珠单抗、培克珠单抗、ralivizumab、雷珠单抗、reslivizumab、瑞利珠单抗、resyvizumab、rovelizumab、鲁利单抗、西罗珠单抗、西利珠单抗(Siplizumab)、索土珠单抗、他珠单抗(tacatuzumab tetraxetan)、他度珠单抗、他利珠单抗、特非珠单抗、塔西单抗、托利珠单抗(toralizumab)、曲妥单抗、tucotuzumab celmoleukin、tucosituzumab、umavizumab、乌珠单抗和维西珠单抗(visilizumab)。

[2916] 本发明的组合物和按照本发明使用的药物组合物,除活性成分(即,缀合物化合物)以外,还可以包含药学上可接受的赋形剂、载体、缓冲剂、稳定剂或本领域技术人员熟知的其他物质。这样的物质应是无毒的,并且不应干扰活性成分的效力。载体或其他物质的确切性质将取决于给药途径,该给药途径可以是口服或通过注射(例如皮肤、皮下或静脉内)。

[2917] 用于口服给药的药物组合物可以是片剂、胶囊剂、散剂或液体形式。片剂可以包含固体载体或佐剂。液体药物组合物通常包含液体载体如水、石油(petroleum)、动物油或植物油、矿物油或合成油。可以包括生理盐水溶液、右旋糖或其他糖溶液或二醇类如乙二醇、丙二醇或聚乙二醇。胶囊剂可以包含固体载体如明胶。

[2918] 对于静脉内、皮肤或皮下注射,或在病痛部位处的注射,活性成分将具有胃肠道外可接受的水溶液的形式,其是无热原的并具有适合的pH、等渗性和稳定性。本领域技术人员能够使用例如,等渗载体如氯化钠注射液、林格氏注射液、乳酸林格氏注射液来很好地制备适合的溶液。根据需要,可以包含防腐剂、稳定剂、缓冲剂、抗氧化剂和/或其他添加剂。

[2919] 制剂

[2920] 尽管可以单独使用(例如,给药)缀合物化合物,但往往优选的是使其作为组合物或制剂存在。

[2921] 在一个实施方式中,组合物是包含本发明所描述的缀合物化合物和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的药物组合物(例如,制剂、制品、药物)。

[2922] 在一个实施方式中,组合物是包含至少一种本发明所描述的缀合物化合物与一种或多种本领域技术人员熟知的药学上可接受的成分的药物组合物,该成分包括但不限于药学上可接受的载体、稀释剂、赋形剂、佐剂、填料、缓冲液、防腐剂、抗氧化剂、润滑剂、稳定剂、增溶剂、表面活性剂(例如,润湿剂)、掩蔽剂、着色剂、调味剂和甜味剂。

[2923] 在一个实施方式中,组合物进一步包含其他活性剂,例如,其他治疗剂或预防剂。

[2924] 可以在标准药品文本中找到合适的载体、稀释剂、赋形剂等。参见,例如,Handbook of Pharmaceutical Additives,第二版(eds.M.Ash和I.Ash),2001(Synapse Information Resources,Inc.,Endicott,New York,USA),Remington's Pharmaceutical Sciences,第20版,pub.Lippincott,Williams & Wilkins,2000;和Handbook of Pharmaceutical

Excipients, 第二版, 1994。

[2925] 本发明的另一方面涉及制备药物组合物的方法, 包括将本发明限定的至少一种 [^{11}C]-放射性同位素标记的缀合物或缀合物样化合物与一种或多种本领域技术人员熟知的其他药学上可接受的成分混合在一起, 例如, 载体、稀释剂、赋形剂等。如果配制为离散单元 (例如, 片剂等), 那么每个单元包含预定量 (剂量) 的活性化合物。

[2926] 本发明所用的术语“药学上可接受的”涉及化合物、成分、材料、组合物、剂型等, 其在合理的医学判断范围内、适用于与所讨论的受试者 (例如, 人类) 的组织接触而没有过度的毒性、刺激、过敏反应或其他问题或并发症, 并与合理的利益/风险比相称。每种载体、稀释剂、赋形剂等在与制剂的其他成分相容的意义上也必须是“可接受的”。

[2927] 可通过药学领域熟知的任何方法来制备制剂。这样的方法包括使活性化合物与构成一种或多种辅助成分的载体结合的步骤。一般而言, 制剂通过使活性化合物与载体 (例如, 液体载体、微细分散的固体载体等) 均匀和紧密地结合, 然后如必要的话使产品成形来制备。

[2928] 可以将制剂制备为快速或慢速释放; 立即、延迟、定时或持续释放; 或它们的组合。

[2929] 适于胃肠外给药 (例如, 通过注射) 的制剂包括水性或非水性的、等渗的、无热原的、无菌液体 (例如溶液, 悬浮液), 其中活性成分被溶解、悬浮或以其他方式提供 (例如, 在脂质体或其他微粒中)。这种液体可以另外含有其他药学上可接受的成分如抗氧化剂、缓冲剂、防腐剂、稳定剂、抑菌剂、助悬剂、增稠剂以及使制剂与预期受试者的血液 (或其他相关体液) 等渗的溶质。赋形剂的实例包括, 例如, 水、醇、多元醇、甘油、植物油等。用于此类制剂的合适等渗载体的实例包括氯化钠注射液、林格氏液 (Ringer's Solution) 或乳酸林格氏注射液。通常, 液体中活性成分的浓度是约 1ng/ml 至约 $10\mu\text{g/mL}$, 例如约 10ng/mL 至约 $1\mu\text{g/mL}$ 。该制剂可存在于单位剂量或多剂量密封容器, 例如安瓿和小瓶中, 并且可在冷冻干燥 (冻干) 条件下储藏, 仅需在临用前加入无菌液体载体例如注射用水。可以由无菌的粉末、颗粒和片剂当场制备注射溶液和悬浮液。

[2930] 剂量

[2931] 本领域技术人员应当理解的是, 缀合物化合物和包含该缀合物化合物的组合物的适当剂量可因患者而异。确定最佳剂量一般将牵涉使治疗益处的水平与任何风险或有害副作用平衡。选择的剂量水平将取决于多个因素, 包括但不限于特定化合物的活性、给药途径、给药时间、化合物的排泄速度、治疗的持续时间、组合使用的其他药物、化合物和/或物质、病症的严重性和人种、性别、年龄、体重、病症、总体健康状况和患者的病史。化合物的量和给药途径最终将由医师、兽医或临床医师慎重决定, 但是一般而言, 将选择剂量以在作用部位达到实现所期望的作用而不会造成实质性损害或有害副作用的局部浓度。

[2932] 在整个治疗过程中, 可以单剂量、连续或间歇地 (例如, 以适当时间间隔分剂量) 实现给药。确定最有效的给药方式和剂量的方法是本领域技术人员熟知的, 并且将随用于治疗制剂、治疗目的、所治疗的 (多种) 靶细胞和所治疗的受试者的不同而改变。可以用治疗医师、兽医或临床医师选择的剂量水平和模式进行单次或多次给药。

[2933] 一般而言, 活性化合物的合适剂量是在约 100ng 至约 25mg (更通常地约 $1\mu\text{g}$ 至约 10mg) / 千克受试者体重/天的范围内。在该活性化合物是盐、酯、酰胺、前药等的情况下, 基于母体化合物计算给药量, 所以所用的实际重量成比例增加。

[2934] 在一个实施方式中,根据以下剂量方案将活性化合物给药至人类患者:约100mg,每天3次。

[2935] 在一个实施方式中,根据以下剂量方案将活性化合物给药至人类患者:约150mg,每天2次。

[2936] 在一个实施方式中,根据以下剂量方案将活性化合物给药至人类患者:约200mg,每天2次。

[2937] 然而,在一个实施方式中,根据以下剂量方案将缀合物化合物给药至人类患者:约50或约75mg,每天3或4次。

[2938] 在一个实施方式中,根据以下剂量方案将缀合物化合物给药至人类患者:约100或约125mg,每天2次。

[2939] 以上描述的剂量可以适用于缀合物(包含PBD部分和与抗体连接的接头)或适用于所提供有效量的PBD化合物,例如,接头切割后释放的化合物的量。

[2940] 对于预防或治疗疾病,本发明的ADC的适当剂量将取决于待治疗的疾病类型(如以上限定)、疾病的严重度和进程(无论给药分子是用于预防还是治疗目的)、治疗史、患者的临床病史和对抗体的反应,以及主治医生的判断。一次或通过一系列治疗将分子合适地给药至患者。根据疾病的类型和严重程度,无论是,例如通过一次或多次独立给药或通过连续输注,约1 μ g/kg至15mg/kg(例如,0.1–20mg/kg)的分子是用于给药至患者的初始候选剂量。通常的每日剂量可以在约1 μ g/kg至100mg/kg或更多的范围内,这取决于上述的因素。给药至患者的ADC的示例性剂量在约0.1至约10mg/kg患者重量的范围内。对于几天或更长时间的重复给药,根据病症,治疗持续到实现对疾病症状的期望抑制。示例性剂量方案包括给药约4mg/kg初始载药量的情况,随后每周、每两周或每三周添加另外剂量的ADC。其他剂量方案可以是有用的。该疗法的进展易于通过常规技术和测定法监测。

[2941] 治疗

[2942] 在治疗病症的情况下本发明所使用的术语“治疗”通常涉及治疗和疗法,其中,无论是人类或动物(例如,兽医应用),其中实现了一些期望的疗效,例如,对病症发展的抑制,并且包括发展速度降低、发展速度停止、病症消退、病症改善和病症治愈。还包括作为预防性措施(即,预防、防止)的治疗。

[2943] 本发明所使用的术语“治疗有效量”涉及活性化合物或包含活性化合物的物质、组合物或剂型的量,当根据期望的治疗方案给药时,其对于产生一些期望的疗效是有效的、与合理的利益/风险比相当。

[2944] 类似地,本发明所使用的术语“预防有效量”涉及活性化合物或包含活性化合物的物质、组合物或剂型的量,当根据期望的治疗方案给药时,其对于产生一些期望的预防效果是有效的、与合理的利益/风险比相当。

[2945] 制备药物缀合物

[2946] 可以通过多种途径,使用本领域技术人员已知的有机化学反应、条件和试剂,包括抗体的亲核基团与药物-接头试剂的反应来制备抗体药物缀合物。可以使用该方法来制备本发明的抗体-药物缀合物。

[2947] 抗体上的亲核基团包括但不限于侧链硫醇基团,例如,半胱氨酸。硫醇基团是亲核的并且能够与接头部分上的亲电基团(如本发明的那些)反应形成共价键。一些抗体具有可

还原的链内二硫化物,即,半胱氨酸桥。通过用还原剂如DTT(克莱兰氏试剂(Cleland's),二硫代苏糖醇)或TCEP(三(2-羧乙基)磷化氢盐酸化物;Getz等人,(1999) Anal. Biochem. Vol 273:73-80;Soltec Ventures, Beverly, MA)处理可以使抗体与接头试剂的缀合变得易反应。因此,理论上,每个半胱氨酸二硫桥将形成两个反应性硫醇亲核体。通过赖氨酸与2-亚氨基硫杂环戊烷(特劳特氏(Traut's)试剂)反应导致胺转化为硫醇,可以将其他亲核基团引入至抗体中。

[2948] 受试者/患者

[2949] 受试者/患者可以是动物、哺乳动物、胎盘哺乳动物、有袋动物(例如,袋鼠、袋熊)、单孔目动物(例如,鸭嘴兽)、啮齿动物(例如,豚鼠、仓鼠、大鼠、小鼠)、鼠科动物(例如,小鼠)、兔类动物(例如,家兔)、禽类(例如,鸟)、犬科动物(例如,家犬)、猫科动物(例如,家猫)、马科动物(例如,马)、猪科动物(例如,家猪)、绵羊类(例如,绵羊)、牛科动物(例如,奶牛)、灵长类动物、猿类(例如,猴子或类人猿)、猴(例如,狨猴、狒狒)、类人猿(例如,大猩猩、黑猩猩、猩猩、长臂猿)或人类。

[2950] 此外,受试者/患者可是其发育的任何形式,例如胎儿。在一个优选实施方式中,受试者/患者是人类。

[2951] 进一步的优选项

[2952] 以下优选可以适用于以上描述的发明的所有方面或可涉及单一方面。该优选可以以任何组合方式组合在一起

[2953] 在一些实施方式中, $R^{6'}$ 、 $R^{7'}$ 、 $R^{9'}$ 和 Y' 优选地分别与 R^6 、 R^7 、 R^9 和 Y 相同。

[2954] 二聚体连接

[2955] Y 和 Y' 优选是 O 。

[2956] R'' 优选是没有取代基的 C_{3-7} 亚烷基。更优选地, R'' 是 C_3 、 C_5 或 C_7 亚烷基。最优选地, R'' 是 C_3 或 C_5 亚烷基。

[2957] R^6 至 R^9

[2958] R^9 优选是 H 。

[2959] R^6 优选选自 H 、 OH 、 OR 、 SH 、 NH_2 、硝基和卤素,并且更优选 H 或卤素,并且最优选地是 H 。

[2960] R^7 优选选自 H 、 OH 、 OR 、 SH 、 SR 、 NH_2 、 NHR 、 NRR' 和卤素,并且更优选地独立选自 H 、 OH 和 OR ,其中 R 优选选自任选取代的 C_{1-7} 烷基、 C_{3-10} 杂环基和 C_{5-10} 芳基。 R 可以更优选地是取代或不被取代的 C_{1-4} 烷基。感兴趣的取代基是 C_{5-6} 芳基(例如苯基)。在7位的特别优选的取代基是 OMe 和 OCH_2Ph 。特别令人感兴趣的其他取代基是二甲基氨基(即 $-NMe_2$); $-(OC_2H_4)_qOMe$,其中 q 是0至2;含氮 C_6 杂环基,包括吗啉代、哌啶基和 N -甲基-哌嗪基。

[2961] 这些优选项分别适用于 $R^{9'}$ 、 $R^{6'}$ 和 $R^{7'}$ 。

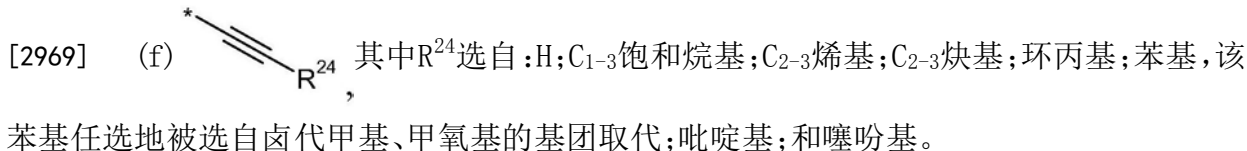
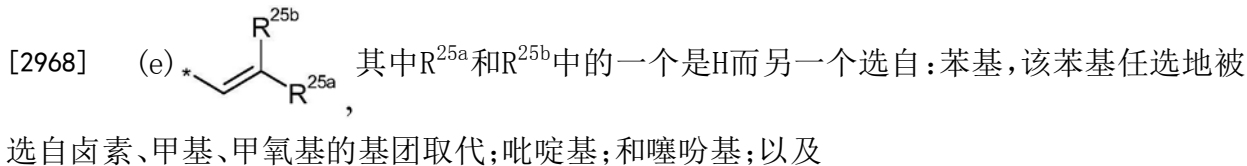
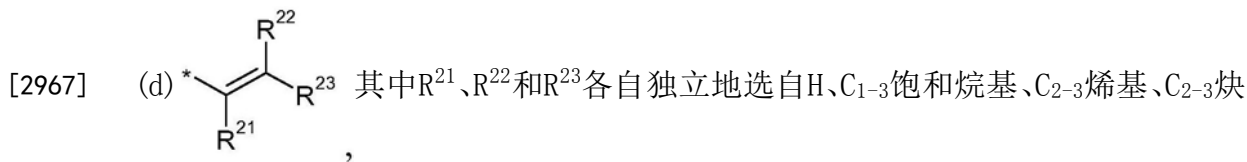
[2962] R^{12}

[2963] 当 $C2'$ 和 $C3'$ 之间存在双键时, R^{12} 选自:

[2964] (a) C_{5-10} 芳基,任选地由选自以下的一个或多个取代基取代:卤素、硝基、氰基、醚、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-7} 杂环基和双-氧基- C_{1-3} 亚烷基;

[2965] (b) C_{1-5} 饱和脂族烷基;

[2966] (c) C_{3-6} 饱和环烷基;



[2970] 当R¹²是C₅₋₁₀芳基时,它可以是C₅₋₇芳基。C₅₋₇芳基可以是苯基或C₅₋₇杂芳基,例如呋喃基、噻吩基和吡啶基。在一些实施方式中,R¹²优选是苯基。在其他实施方式中,R¹²优选是噻吩基,例如,噻吩-2-基和噻吩-3-基。

[2971] 当R¹²是C₅₋₁₀芳基时,它可以是C₈₋₁₀芳基,例如喹啉基或异喹啉基。喹啉基或异喹啉基可以通过任何可用的环位置结合于PBD核心。例如,喹啉基可以是喹啉-2-基、喹啉-3-基、喹啉-4-基、喹啉-5-基、喹啉-6-基、喹啉-7-基和喹啉-8-基。其中,喹啉-3-基和喹啉-6-基可以是优选的。异喹啉基可以是异喹啉-1-基、异喹啉-3-基、异喹啉-4-基、异喹啉-5-基、异喹啉-6-基、异喹啉-7-基和异喹啉-8-基。其中,异喹啉-3-基和异喹啉-6-基可以是优选的。

[2972] 当R¹²是C₅₋₁₀芳基时,它可以带有任何数量的取代基。它优选带有1至3个取代基,其中1和2个取代基是更加优选的,并且单取代的基团是最优选的。取代基可以是在任何位置。

[2973] 在R¹²是C₅₋₇芳基的情况下,单取代基优选是在环原子上,该环原子不在与化合物的剩余部分相连的键的邻位,即,它优选是与化合物的剩余部分相连的键的β或γ位。因此,在C₅₋₇芳基是苯基的情况下,取代基优选是在间位或对位,并且更优选地是在对位。

[2974] 在R¹²是C₈₋₁₀芳基,例如喹啉基或异喹啉基的情况下,它可以在喹啉或异喹啉环的任何位置处带有任何数量的取代基。在一些实施方式中,它带有一个、两个或三个取代基,并且这些取代基可以是在近侧环或远侧环或两者上(如果是多于一个的取代基)。

[2975] R¹²取代基,当R¹²是C₅₋₁₀芳基基团时

[2976] 当R¹²是C₅₋₁₀芳基时,如果在R¹²上的取代基是卤素,则它优选是F或Cl,更优选Cl。

[2977] 当R¹²是C₅₋₁₀芳基时,如果在R¹²上的取代基是醚,则在一些实施方式中它可以是烷氧基,例如,C₁₋₇烷氧基(例如甲氧基、乙氧基),或在一些实施方式中它可以是C₅₋₇芳氧基(例如苯氧基、吡啶氧基、呋喃氧基)。烷氧基本身可以进一步被取代,例如由氨基(例如二甲基氨基)取代。

[2978] 当R¹²是C₅₋₁₀芳基时,如果在R¹²上的取代基是C₁₋₇烷基,它可以优选为C₁₋₄烷基(例如甲基、乙基、丙基、丁基)。

[2979] 当R¹²是C₅₋₁₀芳基时,如果在R¹²上的取代基是C₃₋₇杂环基,则在一些实施方式中它可以是C₆含氮杂环基,例如吗啉代、硫代吗啉代、哌啶基、哌嗪基。这些基团可以经由氮原子结合于PBD部分的剩余部分。这些基团可以进一步被取代,例如,由C₁₋₄烷基取代。如果C₆含氮

杂环基是哌嗪基,则所述进一步的取代基可以是在第二氮环原子上。

[2980] 当 R^{12} 是 C_{5-10} 芳基时,如果在 R^{12} 上的取代基是双-氧基- C_{1-3} 亚烷基,这优选是双-氧基-亚甲基或双-氧基-亚乙基。

[2981] 当 R^{12} 是 C_{5-10} 芳基时,如果 R^{12} 上的取代基是酯,那么它优选地是甲基酯或乙基酯。

[2982] 当 R^{12} 是 C_{5-10} 芳基时,特别优选的取代基包括甲氧基、乙氧基、氟基、氯基、氰基、双-氧基-亚甲基、甲基-哌嗪基、吗啉代和甲基-噻吩基。 R^{12} 的其他特别优选的取代基是二甲基氨基丙氧基和羧基。

[2983] 当 R^{12} 是 C_{5-10} 芳基时,特别优选的取代的 R^{12} 基团包括但不限于:4-甲氧基-苯基、3-甲氧基苯基、4-乙氧基-苯基、3-乙氧基-苯基、4-氟-苯基、4-氯-苯基、3,4-二氧亚甲基-苯基、4-甲基噻吩基、4-氰基苯基、4-苯氧基苯基、喹啉-3-基和喹啉-6-基、异喹啉-3-基和异喹啉-6-基、2-噻吩基、2-呋喃基、甲氧基萘基和萘基。另一种可能的取代的 R^{12} 基团是4-硝基苯基。特别感兴趣的 R^{12} 基团包括4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基和3,4-双氧亚甲基-苯基。

[2984] 当 R^{12} 是 C_{1-5} 饱和脂族烷基时,它可以是甲基、乙基、丙基、丁基或戊基。在一些实施方式中,它可以是甲基、乙基或丙基(正戊基或异丙基)。在这些实施方式的一些中,它可以是甲基。在其他实施方式中,它可以是丁基或戊基,其可以是直链或支链的。

[2985] 当 R^{12} 是 C_{3-6} 饱和环烷基时,它可以是环丙基、环丁基、环戊基或环己基。在一些实施方式中,它可以是环丙基。

[2986] 当 R^{12} 是 $\begin{array}{c} R^{22} \\ | \\ * - C = C - R^{23} \\ | \\ R^{21} \end{array}$ 时, R^{21} 、 R^{22} 和 R^{23} 各自独立地选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3}

炔基和环丙基,其中在 R^{12} 基团中的碳原子的总数不大于5。在一些实施方式中,在 R^{12} 基团中的碳原子的总数不大于4或不大于3。

[2987] 在一些实施方式中, R^{21} 、 R^{22} 和 R^{23} 中的一个H,而其他两个基团选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基和环丙基。

[2988] 在其他实施方式中, R^{21} 、 R^{22} 和 R^{23} 中的两个是H,而其他一个基团选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基和环丙基。

[2989] 在一些实施方式中,不是H的基团选自甲基和乙基。在这些实施方式的一些中,不是H的基团是甲基。

[2990] 在一些实施方式中, R^{21} 是氢。

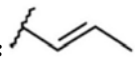
[2991] 在一些实施方式中, R^{22} 是氢。

[2992] 在一些实施方式中, R^{23} 是氢。

[2993] 在一些实施方式中, R^{21} 和 R^{22} 是H。

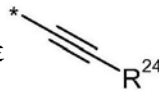
[2994] 在一些实施方式中, R^{21} 和 R^{23} 是H。

[2995] 在一些实施方式中, R^{22} 和 R^{23} 是H。

[2996] 特别令人感兴趣的 R^{12} 基团是:。当 R^{12} 是 $\begin{array}{c} R^{25b} \\ | \\ * - C = C - R^{25a} \\ | \\ H \end{array}$ 时, R^{25a} 和 R^{25b} 中的一个

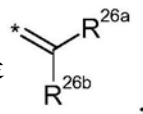
是氢,而另一个选自:苯基,该苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;和噻吩基。在一些实施方式中,不是H的基团是任选取代的苯基。如果苯基任选的取代基是卤

素,则它优选是氟。在一些实施方式中,苯基是未取代的。

[2997] 当 R^{12} 是  时, R^{24} 选自:H; C_{1-3} 饱和烷基; C_{2-3} 烯基; C_{2-3} 炔基;环丙基;苯基,该苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代;吡啶基;以及噻吩基。如果苯基任选的取代基是卤素,则它优选是氟。在一些实施方式中,苯基是未取代的。

[2998] 在一些实施方式中, R^{24} 选自H、甲基、乙基、乙烯基和乙炔基。在这些实施方式的一些中, R^{24} 选自H和甲基。

[2999] 当 $C2'$ 和 $C3'$ 之间存在单键时,

[3000] R^{12} 是 , 其中, R^{26a} 和 R^{26b} 独立地选自H、F、 C_{1-4} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基,其中烷基和烯基基团任选地被选自 C_{1-4} 烷基酰胺和 C_{1-4} 烷基酯的基团取代;或者,当 R^{26a} 和 R^{26b} 中的一个H时,另一个选自腈和 C_{1-4} 烷基酯。

[3001] 在一些实施方式中,优选的是 R^{26a} 和 R^{26b} 都是H。

[3002] 在其他实施方式中,优选的是 R^{26a} 和 R^{26b} 都是甲基。

[3003] 在进一步的实施方式中,优选的是 R^{26a} 和 R^{26b} 中的一个H而另一个选自 C_{1-4} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基,其中烷基和烯基基团是任选取代的。在这些进一步的实施方式中,进一步优选非H的基团选自甲基和乙基。

[3004] R^2

[3005] 以上对于 R^{12} 的优选项同样适用于 R^2 。

[3006] R^{22}

[3007] 在一些实施方式中, R^{22} 是式IIa。

[3008] 当它是式IIa时, R^{22} 中的A可以是苯基基团或 C_{5-7} 杂芳基基团,例如呋喃基、噻吩基和吡啶基。在一些实施方式中,A优选是苯基。

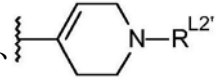
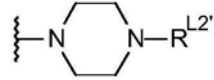
[3009] Q^2-X 可以在 C_{5-7} 芳基基团的任何可用的环原子上,但优选地在与化合物的剩余部分相邻的键不相邻的环原子上,即,优选地是在与化合物的剩余部分相邻的键的 β 或 γ 位。因此,当 C_{5-7} 芳基基团(A)是苯基时,取代基(Q^2-X)优选地在间位或对位,并且更优选地在对位。

[3010] 在一些实施方式中, Q^1 是单键。在这些实施方式中, Q^2 选自单键和 $-Z-(CH_2)_n-$,其中,Z选自单键、O、S和NH,并且n是1至3。在这些实施方式的一些中, Q^2 是单键。在其他实施方式中, Q^2 是 $-Z-(CH_2)_n-$ 。在这些实施方式中,Z可以是O或S,并且n可以是1或n可以是2。在这些实施方式的其他的中,Z可以是单键,并且n可以是1。

[3011] 在其他实施方式中, Q^1 是 $-CH=CH-$ 。

[3012] 在其他实施方式中, R^{22} 是式IIb。在这些实施方式中, R^{C1} 、 R^{C2} 和 R^{C3} 独立地选自H和未取代的 C_{1-2} 烷基。在一些优选的实施方式中, R^{C1} 、 R^{C2} 和 R^{C3} 都是H。在其他实施方式中, R^{C1} 、 R^{C2} 和 R^{C3} 都是甲基。在某些实施方式中, R^{C1} 、 R^{C2} 和 R^{C3} 独立地选自H和甲基。

[3013] X选自以下列表包含的基团: $O-R^{L2'}$ 、 $S-R^{L2'}$ 、 $CO_2-R^{L2'}$ 、 $CO-R^{L2'}$ 、 $NH-C(=O)-R^{L2'}$ 、

$NHNH-R^{L2'}$ 、 $CONHNH-R^{L2'}$ 、, , $NR^N R^{L2'}$, 其中, R^N 选自包括H和

C₁₋₄烷基。X可以优选地是：OH、SH、CO₂H、-N=C=O或NHR^N，并且可以更优选地是：O-R^{L2'}、S-R^{L2'}、CO₂-R^{L2'}、-NH-C(=O)-R^{L2'}或NH-R^{L2'}。特别优选的基团包括：O-R^{L2'}、S-R^{L2'}和NH-R^{L2'}，NH-R^{L2'}是最优选的基团。

[3014] 在一些实施方式中，R²²是式IIc。在这些实施方式中，优选Q是NR^N-R^{L2'}。在其他实施方式中，Q是O-R^{L2'}。在进一步的实施方式中，Q是S-R^{L2'}。R^N优选地选自H和甲基。在一些实施方式中，R^N是H。在其他实施方式中，R^N是甲基。

[3015] 在一些实施方式中，R²²可以是-A-CH₂-X和-A-X。在这些实施方式中，X可以是O-R^{L2'}、S-R^{L2'}、CO₂-R^{L2'}、CO-R^{L2'}和NH-R^{L2'}。在特别优选的实施方式中，X可以是NH-R^{L2'}。

[3016] R¹⁰, R¹¹

[3017] 在一些实施方式中，R¹⁰和R¹¹一起形成它们连接的氮和碳原子之间的双键。

[3018] 在一些实施方式中，R¹¹是OH。

[3019] 在一些实施方式中，R¹¹是OMe。

[3020] 在一些实施方式中，R¹¹是SO_zM，其中，z是2或3并且M是单价的药学上可接受的阳离子。

[3021] R^{11a}

[3022] 在一些实施方式中，R^{11a}是OH。

[3023] 在一些实施方式中，R^{11a}是OMe。

[3024] 在一些实施方式中，R^{11a}是SO_zM，其中，z是2或3并且M是单价的药学上可接受的阳离子。

[3025] R²⁰, R²¹

[3026] 在一些实施方式中，R²⁰和R²¹一起形成它们连接的氮和碳原子之间的双键。

[3027] 在一些实施方式中，R²⁰是H。

[3028] 在一些实施方式中，R²⁰是R^C。

[3029] 在一些实施方式中，R²¹是OH。

[3030] 在一些实施方式中，R²¹是OMe。

[3031] 在一些实施方式中，R²¹是SO_zM，其中，z是2或3并且M是单价的药学上可接受的阳离子。

[3032] R³⁰, R³¹

[3033] 在一些实施方式中，R³⁰和R³¹一起形成它们连接的氮和碳原子之间的双键。

[3034] 在一些实施方式中，R³¹是OH。

[3035] 在一些实施方式中，R³¹是OMe。

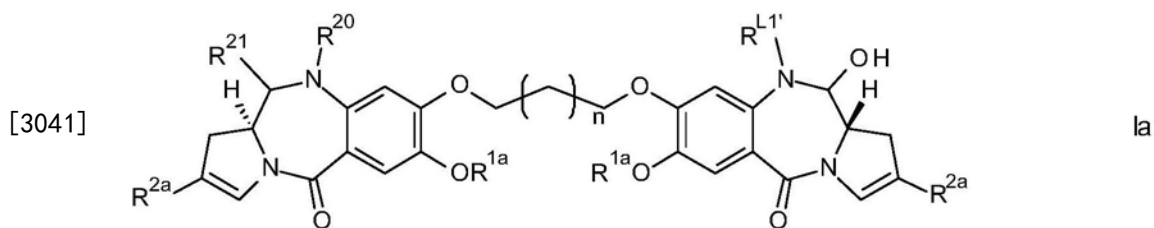
[3036] 在一些实施方式中，R³¹是SO_zM，其中，z是2或3并且M是单价的药学上可接受的阳离子。

[3037] M和z

[3038] 优选地，M是单价的药学上可接收的阳离子，并且更优选地是Na⁺。

[3039] z优选地是3。

[3040] 本发明的第一方面的优选缀合物可以具有式Ia的D^L：



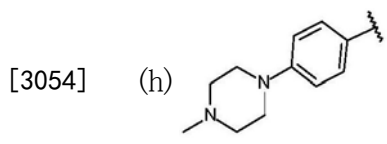
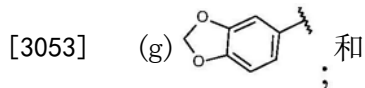
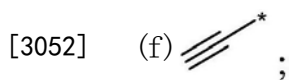
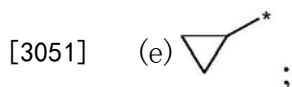
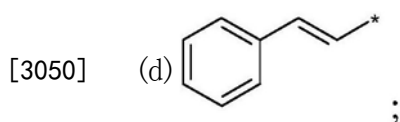
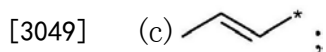
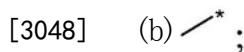
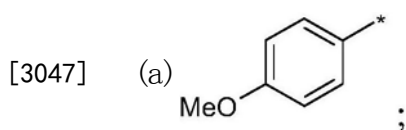
[3042] 其中,

[3043] $R^{L1'}$ 、 R^{20} 和 R^{21} 是如以上所限定的;

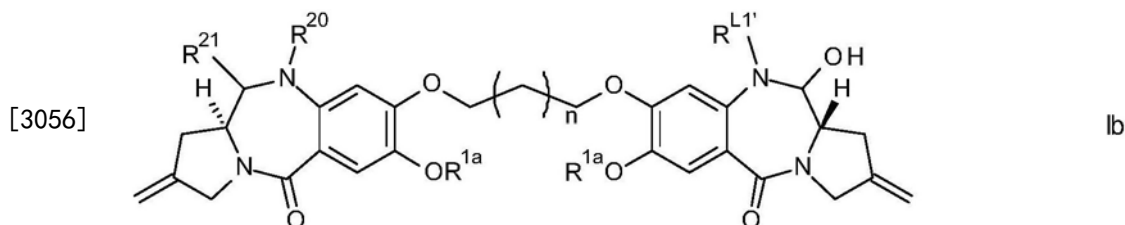
[3044] n是1或3;

[3045] R^{1a} 是甲基或苯基;并且

[3046] R^{2a} 选自:



[3055] 本发明的第一方面的优选缀合物可以具有式Ib的 D^L :



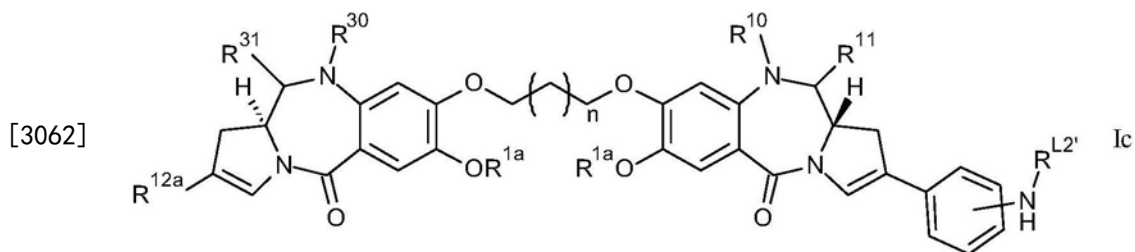
[3057] 其中,

[3058] $R^{L1'}$ 、 R^{20} 和 R^{21} 如以上所限定的;

[3059] n是1或3;并且

[3060] R^{1a} 是甲基或苯基。

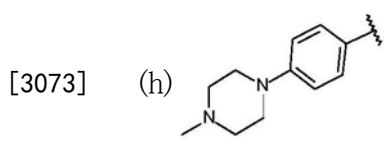
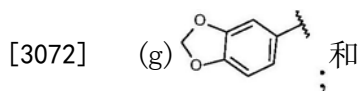
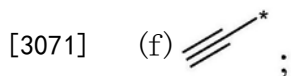
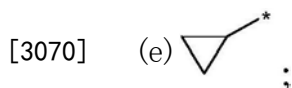
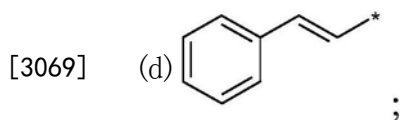
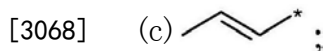
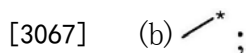
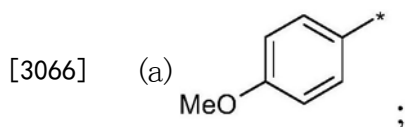
[3061] 本发明的第一方面的优选缀合物可以具有式Ic的 D^L :



[3063] 其中, $R^{L2'}$ 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{30} 和 R^{31} 如以上所限定的,

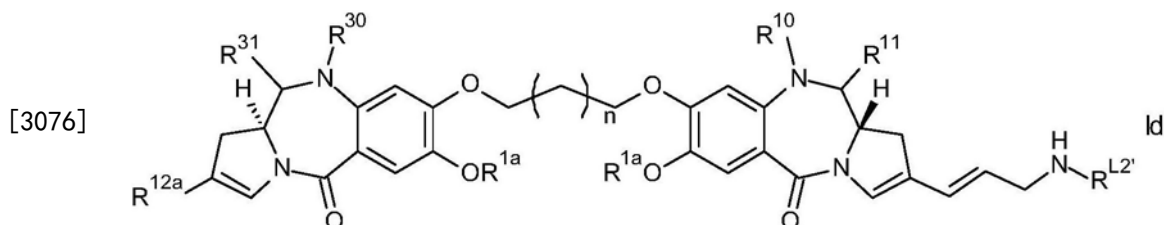
[3064] n 是1或3;

[3065] R^{12a} 选自:



[3074] 氨基基团在苯基基团的间位或对位。

[3075] 本发明的第一方面的优选缀合物可以具有式Id的 D^L :

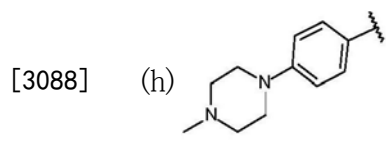
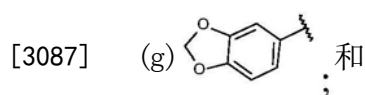
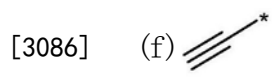
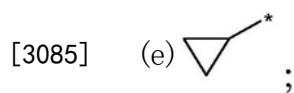
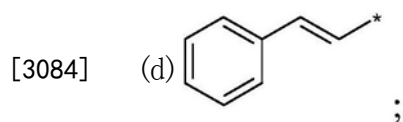
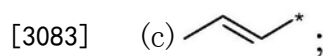
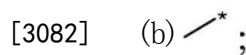
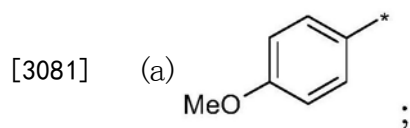


[3077] 其中, $R^{L2'}$ 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{30} 和 R^{31} 如以上所限定的,

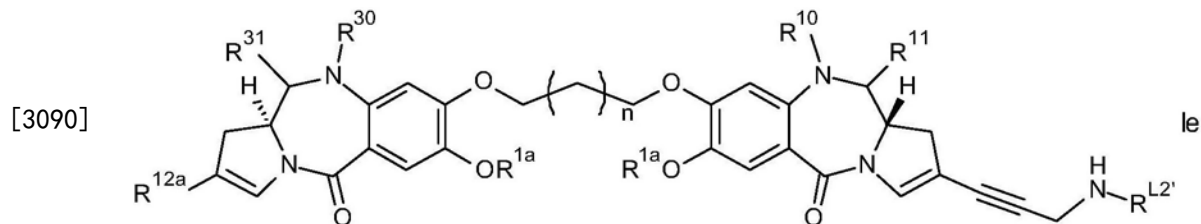
[3078] n 是1或3;

[3079] R^{1a} 是甲基或苯基;

[3080] R^{12a} 选自:



[3089] 本发明的第一方面的优选缀合物可以具有式Ie的D^L：

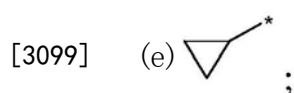
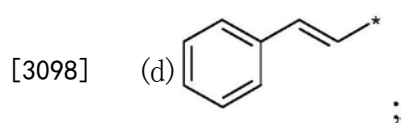
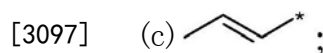
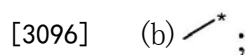
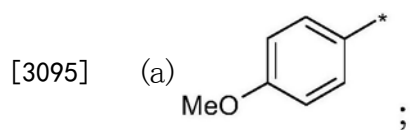


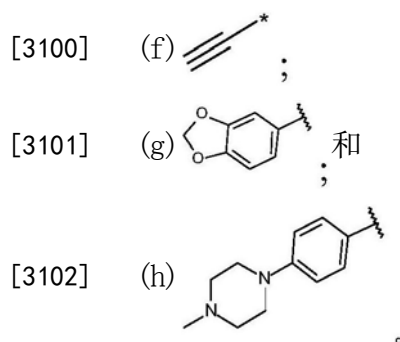
[3091] 其中, R^{L2'}、R¹⁰、R¹¹、R³⁰和R³¹如以上所限定的,

[3092] n是1或3;

[3093] R^{1a}是甲基或苯基;

[3094] R^{12a}选自:





实施例

[3103] 通用实验方法

[3104] 在ADP 220旋光仪(Bellingham Stanley Ltd.)上测量旋光性并以g/100mL为单位来给出浓度(c)。使用数字熔点仪(Electrothermal)来测量熔点。用Perkin-Elmer Spectrum 1000FT IR分光计来记录IR谱。在300K下,利用Bruker Avance NMR波谱仪,分别在400和100MHz处获得¹H和¹³C NMR谱。相对于TMS($\delta=0.0$ ppm)报告化学位移,并将信号指示为s(单峰)、d(二重峰)、t(三重峰)、dt(双三重峰)、dd(双二重峰)、ddd(双双二重峰)或m(多重峰),其中以赫兹(Hz)为单位来给出偶合常数。利用连接于具有Waters 2996PDA的Waters 2695HPLC上的Waters Micromass ZQ仪器来收集质谱(MS)数据。使用的Waters Micromass ZQ参数是:毛细管(kV),3.38;锥电压(V),35;提取器(V),3.0;源温度(°C),100;去溶剂化温度(°C),200;锥流速(L/h),50;去溶剂化流速(L/h),250。使用金属涂覆的硼硅玻璃尖端来将样品引入仪器,以正W模式在Waters Micromass QTOF Global上记录高分辨率质谱(HRMS)数据。在硅胶铝板(Merck 60,F₂₅₄)上进行薄层色谱(TLC),并利用硅胶(Merck 60,230-400目ASTM)来进行快速色谱。除HOBt(NovaBiochem)和固体支持剂(Argonaut)之外,所有其他化学品和溶剂购自Sigma-Aldrich并原样使用而没有进一步的纯化。在有适当干燥剂存在的条件下,在干燥氮气气氛下,通过蒸馏来制备无水溶剂,并存储在4Å分子筛或钠线上。石油醚是指在40-60°C沸腾的馏分。

[3105] 通用的LC/MS条件:

[3106] 使用水(A)(甲酸0.1%)和乙腈(B)(甲酸0.1%)的流动相运行HPLC(Waters Alliance 2695)。梯度:初始组成为5%B,持续1.0分钟,然后,在3分钟内,从5%B升高到95%B。将上述组成保持在95%B下0.1分钟,然后在0.03分钟内回到5%B并保持0.87min。总梯度运行时间等于5分钟。

[3107] 流速为3.0mL/min,经由零死容积T形管(其通入质谱仪)来分开400μL。波长检测范围:220至400nm。功能类型:二极管阵列(535扫描)。柱:Phenomenex Onyx Monolithic C18 50x 4.60mm。

[3108] 反相快速纯化条件如下:使用水(A)和乙腈(B)的流动相运行快速纯化系统(Varian 971-Fp)。梯度:在20C.V.(柱体积)下,初始组成为5%B,然后在60C.V.内从5%B至70%B。将95%B的组成保持15C.V.,然后在5C.V.内回到5%B,并保持在5%B持续10C.V.。总梯度运行时间等于120C.V。流速:6.0mL/min。波长检测范围:254nm。柱:Agilent AX1372-1SF10-5.5gC8。

[3109] 制备型HPLC:在以下尺寸的Phenomenex Gemini NX 5 μ C-18柱上进行反相超高效液相色谱法(UPLC):150 \times 4.6mm用于分析,以及150 \times 21.20mm用于制备工作。通过梯度条件进行所有UPLC实验。洗脱液是溶剂A(具有0.1%富马酸的H₂O)和溶剂B(具有0.1%富马酸的CH₃CN)。使用的流速是1.0ml/min用于分析,和20.0ml/min用于制备型HPLC。在254nm和280nm处检测。

[3110] 实施例1:形成缀合物

[3111] AbHJ、AbDJ、AbBJ的缀合

[3112] 制备抗体AbHJ、AbDJ、AbBJ以用于在含有1mM EDTA/PBS的缓冲液pH7.4中以1-10mg/mL的抗体浓度进行还原。将TCEP还原剂以相对于抗体过量50倍摩尔量的量加入该批次中,并将还原混合物在缓慢的轨道振荡下在培养箱中在+37 $^{\circ}$ C加热3小时。通过RP-HPLC确认还原完成后,将抗体冷却至室温,并将缓冲液更换为含有1mM EDTA的PBS缓冲液以除去过量的TCEP。通过加入50mM脱氢抗坏血酸(DHAA)(相对于抗体为50倍摩尔过量),还原的抗体被再氧化,并且通过HPLC监测使再氧化混合物进行总共2小时,然后无菌过滤除去DHAA。通过加入稀释到DMSO中且相对于抗体10倍过量的10mM药物接头原料(至最终的10%v/v的浓度)引发缀合。将缀合反应物在室温下孵育16小时。缀合后,用10倍摩尔过量的N-乙酰半胱氨酸将反应淬灭并再孵育30分钟。将最终产物更换到制剂缓冲液中(30mM组氨酸,200mM山梨糖醇,0.02%Tween-20),并通过SEC、HIC、RP-HPLC分析。

[3113] AbLJ的缀合

[3114] 直接缀合AbLJ或在完全还原/再氧化后缀合AbLJ的初步尝试导致完全缺乏缀合,这证实了未配对的重链Cys被二硫键桥接在一起,并以与重链-重链二硫键相同的速率再次被氧化。在溶液中和树脂上尝试了基于文献先例(mAbs 1:6,563-571;2009年11月/12月)的位点特异性还原方法。两种方法都是成功的,但固相方法具有一定的实际优点:

[3115] • 避免需要优化方法以增加还原过程中的蛋白质浓度-以保持后续步骤中的浓度;

[3116] • 使还原的抗体浓缩而非被稀释;

[3117] • 确保充分去除毒素接头,对于基于溶液的方法来说,这会需要多次通过G25或TFF。

[3118] 预计多种树脂都能够支持该方法,同时要求树脂:

[3119] • 能够捕获来自还原过程的还原抗体;

[3120] • 缺少Cys的亲和力/结合

[3121] • 不封阻靶标游离硫醇。

[3122] 可以用于这里的树脂的实例为蛋白质A。

[3123] -----

[3124] 固相

[3125] 将AbLJ(25.5mg,在PBS中5.1mg/mL)与化合物E以多步骤方法缀合。在第一步中,通过G25柱色谱(NAP25,GE Healthcare)将AbLJ抗体的缓冲液更换为20mM HEPES pH 8.0,并稀释至1mg/mL。然后从新鲜制备的500mM的去离子水储液中添加半胱氨酸,直至5mM的终浓度。使该位点特异性还原过程在37 $^{\circ}$ C下进行90分钟。然后将还原的AbLJ捕获在2mL蛋白L模拟树脂柱上,以快速并完全除去还原剂(FabSorbent F1P HF,Prometic biosciences

Ltd)。立即用20柱体积的磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤柱子,然后用含有5%v/v二甲基乙酰胺(DMA)的PBS洗涤。将树脂悬浮在5%v/v DMA的10mLPBS中,其含有化合物E并且相对于抗体为5倍摩尔过量,使其在室温下缀合60分钟。然后将柱用20个柱体积的含有5%v/v二甲基乙酰胺(DMA)的PBS洗涤,然后用20倍柱体积的磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤。然后将纯化的缀合物用0.1M的甘氨酸(pH 3.0)从树脂中洗脱,并立即通过G25柱色谱(HiTrap G25, GE Healthcare)将其缓冲液更换为30mM组氨酸、200mM山梨糖醇pH 6。然后从新鲜制备的1%w/v的聚山梨醇酯20的去离子水储液中添加聚山梨糖醇酯20至0.01%w/v。然后将配制的缀合物通过0.22 μ m聚醚砜膜(Steriflip, EMD Millipore)进行灭菌等级的过滤。

[3126] 通过疏水相互作用色谱(HIC)分析AbLJ-ConjE ADC,以确定DAR2相对于不想要的DAR<2和DAR>2物质的量。通过RP-HPLC测定靶标重链缀合的百分比,并通过尺寸排阻色谱法测定单体含量。

[3127] 溶液相

[3128] 将AbLJ(25.5mg,在PBS中5.1mg/mL)与化合物E以多步骤方法缀合。在第一步中,通过G25柱色谱(NAP25, GE Healthcare)将AbLJ抗体的缓冲液更换为20mM HEPES pH 8.0,并稀释至1mg/mL。然后从新鲜制备的500mM的去离子水储液中添加半胱氨酸,直至5mM的终浓度。使该位点特异性还原过程在37℃下进行90分钟。然后通过G25柱色谱(NAP25, GE Healthcare)将还原的AbLJ的缓冲液更换为5%v/v DMA的PBS,并添加相对于抗体为5倍摩尔过量的化合物E,并使其在室温下缀合60分钟。然后通过G25柱色谱(HiTrap G25, GE Healthcare)将缀合物的缓冲液更换为30mM组氨酸、200mM山梨糖醇pH 6。然后从新鲜制备的1%w/v的聚山梨醇酯20的去离子水储液中添加聚山梨糖醇酯20至0.01%w/v。然后将配制的缀合物通过0.22 μ m聚醚砜膜(Steriflip, EMD Millipore)进行灭菌等级的过滤。

[3129] 通过疏水相互作用色谱(HIC)分析AbLJ-ConjE ADC,以确定DAR2相对于不想要的DAR<2和DAR>2物质的量。通过RP-HPLC测定靶标重链缀合的百分比,并通过尺寸排阻色谱法测定单体含量。

[3130] AbLJ的缀合#2

[3131] AbLJ-ConjE

[3132] 使用G25精细脱盐柱(GE Healthcare HiPrep 26/10)将PBS中4mL(约5mg/mL)的AbLJ的缓冲液更换为20mM Tris/Cl、1M赖氨酸、5mM EDTA pH8.0。

[3133] 基于UV吸收将抗体稀释至1mg/mL(约20mL体积),并通过加入N-乙酰基半胱氨酸(在水中,500mM NAC, Sigma A7250)至5mM的终浓度引发还原。使还原过程进行75分钟。通过以间歇模式将还原蛋白与蛋白A模拟树脂结合而去除NAC来终止还原过程。

[3134] 将2mL Fabsorbent™F1P HF(Prometics Biosciences)用磷酸盐缓冲盐水预平衡,过滤以除去PBS,然后悬浮于还原的抗体溶液中并轻轻在滚筒上混合15分钟。将树脂用10mL 20mM Tris/Cl、5mM EDTA洗涤5次。然后将经洗涤的树脂悬浮于10mL体积的20mM Tris/Cl、5mM EDTA、5%v/v二甲基乙酰胺(DMA)中。将化合物E从DMA中的10mM储备溶液中以相对于总抗体的5当量加入。将该缀合反应物在滚筒上轻轻混合60分钟。然后依次用3 \times 10mL PBS/5%v/v DMA、3 \times 10mL PBS洗涤结合了树脂的缀合物。

[3135] 通过将树脂悬浮在10mL 0.1M甘氨酸pH3.0中5分钟而将缀合物从树脂中释放,并通过过滤树脂来收集含有缀合物的上清液。重复洗脱过程,并将两个洗脱级分结合并立即

通过使用G25精细脱盐柱(GE Healthcare PD10或HiPrep 26/10)将缓冲液更换为30M组氨酸/C1、200mM山梨糖醇pH 6.0来进行配制。然后从10%w/v于水中的储备溶液将聚山梨醇酯20加入至0.02%w/v。

[3136] 将最终配制的缀合物进行0.2 μ m过滤(Steriflip-GP PES过滤单元, Merck Millipore)。

[3137] 如上所述,通过RP-HPLC (PLRP) 测定重链的位点特异性结合和平均DAR,通过尺寸排阻色谱法测定单体含量。最终缀合物的平均DAR为1.8,单体/HMW含量分别为95.2%和1.6%。

[3138] AbLJ (LALA) 的缀合

[3139] AbLJ (LALA) -ConjE

[3140] 如以上对Ab1J的缀合#2所述的一样,将AbLJ (LALA) 抗体与化合物E缀合。

[3141] 最终缀合物的平均DAR为1.8,且单体/HMW含量分别为95%和1.8%。

[3142] -----

[3143] DAR确定

[3144] 通过添加10 μ L硼酸盐缓冲溶液(100mM, pH 8.4)和5 μ L DTT(在水中0.5M)还原抗体或ADC(35 μ L中约35 μ g)并在37 $^{\circ}$ C加热15分钟。用1体积的乙腈:水:甲酸(49%:49%:2%v/v)稀释样品并在将其注射至UPLC系统(Shimadzu Nexera)中、80 $^{\circ}$ C的Widapore 3.6 μ XB-C18 150x 2.1mm(P/N00F-4482-AN)柱(Phenomenex Aeris)中,流动速率为1ml/min,用75%缓冲溶液A(水,三氟乙酸(0.1%v/v)(TFA)、25%缓冲溶液B(乙腈:水:TFA90%:10%:0.1%v/v)平衡。在10min内使用25%至55%缓冲溶液B梯度洗脱结合的物质。对214nm处的UV吸收峰进行积分。对每个ADC或抗体识别以下的峰:天然抗体轻链(L0)、天然抗体重链(H0)和添加有药物-接头的这些链中的每个(将具有一个药物的轻链标记为L1,并将具有1、2或3个连接的药物-接头的重链标记为H1、H2、H3)。将330nm处的UV色谱用于识别包含药物-接头的片段(即,L1、H1、H2、H3)。

[3145] 计算轻链和重链的PBD/蛋白质摩尔比:

[3146] 轻链上的 $\frac{\text{药物}}{\text{蛋白质}}$ 比例 = $\frac{\text{L1在214nm处的面积\%}}{\text{L0和L1在214nm处的面积\%}}$

[3147] 重链上的 $\frac{\text{药物}}{\text{蛋白质}}$ 比例 = $\frac{\sum_{n=0}^3 n \times (H_n \text{在214处的面积\%})}{\sum_{n=0}^3 H_n \text{在214处的面积\%}}$

[3148] 按照以下计算最终的DAR:

[3149] $DAR = 2 \times \left(\text{轻链上的} \frac{\text{药物}}{\text{蛋白质}} \text{比例} + \text{重链上的} \frac{\text{药物}}{\text{蛋白质}} \text{比例} \right)$

[3150] 在214nm处进行DAR测量,因为在214nm来自药物-接头吸收的干扰最小。

[3151]

测试	AbHJ-ConjE	AbDJ-ConjE	AbBJ-ConjE	AbLJ-ConjE
外观	透明, 无色, 无颗粒	透明, 无色, 无颗粒	透明, 无色, 无颗粒	0.63
C (通过 A280/330 nm), 单位 mg/ml*	0.77*	1.0*	Nd*	Nd
C (SEC 214 nm), 单位 mg/mL*	0.88*	Nd*	1.18*	1.8
DAR, 通过 HIC	1.5	1.9	1.7	1.8
DAR, 通过 PLRP	1.5	1.9	1.8	100%
SEC (单体%)	99.4%	98.1%	95.6%	Nd
游离药物-接头	< LOD	< LOD	< LOD	Nd
DMA	未使用 DMA	未使用 DMA	未使用 DMA	0.63

[3152] *使用两种浓度方法:SEC (214nm) 相对于已知浓度参考样品或A280/A330,如专利所述。当数据可用时,使用该公式重新计算浓度。

[3153] 实施例2:缀合物的体外细胞毒性

[3154] 细胞毒性测定

[3155] 通过与台盼 (Trypan) 蓝以1:1混合确定悬浮细胞培养物(至多 1×10^6 /ml)的浓度和存活力并用血细胞计数器计数透明(活)/蓝(死)细胞。将细胞悬浮液稀释至所需的接种密度(通常是 10^5 /ml)并将其分配至96孔平底板中。对于阿尔玛蓝测定,按100 μ l/孔在黑孔板中分配。对于MTS测定,按50 μ l/孔在透明的孔板中分配。通过将无菌过滤的ADC稀释至细胞培养基中制备ADC (20 μ g/ml)的储备液(1ml)。通过将100 μ l连续转移至900 μ l的细胞培养基中,在24孔板中制备一组储备ADC的 8×10 倍稀释液。将每个ADC稀释液(对于阿尔玛蓝为100 μ l/孔,对于MTS为50 μ l/孔)分配至包含细胞悬浮液的96孔板的4个重复孔中。对照孔仅接收相同体积的培养基。孵育4天后,通过阿尔玛蓝或MTS分析测量细胞存活力。

[3156] 将AlamarBlue® (Invitrogen, 目录编号DAL1025) 分配至每个孔中(20 μ l/孔)并在37°C在供应CO₂的孵育器中孵育4小时。在激发570nm、发射585nm处测量孔荧光。由4个ADC处理的孔中的平均荧光与4个对照孔中的平均荧光相比(100%)的比值计算细胞存活率(%)。

[3157] 将MTS (Promega, 目录编号G5421) 分配至每个孔中(20 μ l/孔)并在37°C在供应CO₂的孵育器中孵育4小时。在490nm处测量吸收。由4个ADC处理的孔中的平均吸收与4个对照孔中的平均吸收相比(100%)计算细胞存活率(%)。由3组重复实验的平均数据产生剂量响应曲线并通过使用Prism (GraphPad, San Diego, CA) 将数据拟合为具有可变斜率的S形的剂量响应曲线来确定EC₅₀。

[3158] 结果

[3159] 为了产生ADC的位点特异性版本,将AbJ抗体的加工版本与PBD弹头(warhead)接头ConjE缀合。在CHO细胞中瞬时产生经加工的AbJ抗体。将位点特异性ADC的体外细胞毒作用与野生型AbJ-ADC缀合物(AbJ-ConjE)进行比较。

- [3160] AbJ →
[3161] 抗体,其包含:
[3162] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.110;
[3163] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150;
[3164] V_H结构域;和
[3165] V_L结构域。
[3166] AbJ-ConjE →与化合物E随机缀合的AbJ
[3167] AbHJ-ConjE→
[3168] 抗体,其包含:
[3169] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.111;
[3170] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150;
[3171] V_H结构域;和
[3172] V_L结构域;
[3173] 其在SEQ ID NO.150的C105处与化合物E缀合。
[3174] AbDJ-ConjE→
[3175] 抗体,其包含:
[3176] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.115;
[3177] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150;
[3178] V_H结构域;和
[3179] V_L结构域;
[3180] 其在SEQ ID NO.150的C105处与化合物E缀合。
[3181] AbBJ-ConjE→
[3182] 抗体,其包含:
[3183] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.113;
[3184] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151;
[3185] V_H结构域;和
[3186] V_L结构域;
[3187] 其在SEQ ID NO.113的C103处与化合物E缀合。
[3188] AbLJ-ConjE→
[3189] 抗体,其包含:
[3190] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.110;
[3191] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151;
[3192] V_H结构域;和
[3193] V_L结构域;
[3194] 其在SEQ ID NO.110的C103处与化合物E缀合。
[3195]

ADC候选物	结合EC ₅₀ (ng/ml)	细胞毒性IC ₅₀ (ng/ml)
AbJ	59	—
AbJ-ConjE	44	56

AbHJ-ConjE	55	18
AbDJ-ConjE	44	12
AbBJ-ConjE	49	23

[3196] 当将位点特异性AbJ缀合物与相应的野生型缀合物进行比较时,EC₅₀值没有显著差异。

[3197] 实施例3

[3198] 位点特异性和非位点特异性缀合物的体内效力

[3199] 对8-12周龄的CB.17SCID小鼠的胁腹皮下注射于50%Matrigel中的 1×10^7 个肿瘤细胞。在研究的第1天,将具有建立的异种移植物(平均大小为100-150mm³)的小鼠分入治疗组(n=10),并以0.33mg/kg或1.0mg/kg开始给药。每周测量两次肿瘤直到研究结束。

[3200] 结果

[3201] 在异种移植模型中测试各种ADC。在0.3mg/kg qd × 1时,AbHJ-ConjE和AbBJ-ConjE同样有效,提供30天的肿瘤停滞。AbDJ-ConjE稍微更有效,提供了长达35天的肿瘤停滞。在1.0mg/kg qd × 1时,AbBJ-ConjE、AbHJ-ConjE和AbDJ-ConjE提供了55天、70天和>95天的肿瘤停滞。

[3202] 实施例4

[3203] 位点特异性和非位点特异性缀合物的血浆/血清稳定性:

[3204] 将随机缀合的ADC(AbJ)和位点特异性缀合的ADC以60μg/ml的浓度掺入食蟹猴或人的血浆或PBS中,并在37℃下孵育24小时、一周和三周。

[3205] 一周后收集样品并测定ADC的体外细胞毒性。由于ADC中的弹头释放,ADC的不稳定性将导致对细胞的功效丧失。

[3206] 通过使用Graph Pad Prism v6.03,将来自CellTiter96® Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay (MTS) 的OD490数据的最小二乘拟合到Sigmoidal, 4PL (X是log(浓度))的算法来产生GI₅₀数据。在应用中描述的MTS测定之前,用ADC-血浆混合物将细胞培养6天。

[3207]

	细胞中的 GI ₅₀ (ng/ml)				
	人血浆稳定性				
	未冷冻的对照	保持在 37°C 的天数, 然后在-80°C 保存直至测定			
		0	1	7	21
AbJ-ConjE	16.8	65.0	95.9	62.4	480.9
AbBJ-ConjE	12.8	22.5	18.1	48.0	287.1
AbHJ-ConjE	11.3	9.0	10.7	39.5	234.8
AbDJ-ConjE	7.1	7.2	7.6	20.2	258.2
食蟹猴血浆稳定性					
AbJ-ConjE	16.8	26.2	32.1	74.4	111.8
AbBJ-ConjE	12.8	14.0	19.6	56.7	74.4
AbHJ-ConjE	11.3	9.8	13.3	24.3	44.4
AbDJ-ConjE	7.1	7.6	8.7	13.0	48.2

[3208] 在人类和食蟹猴血浆中在37°C下孵育1天、7天或21天后,与随机缀合物AbJ-ConjE相比,AbBJ-ConjE、AbDJ-ConjE和AbHJ-ConjE显示出改善的稳定性。

[3209] 实施例5

[3210] 不同位点特异性缀合物的耐受性

[3211] 研究了Kabat EU 234位和235位的残基突变对大鼠的ADC耐受性的影响。

[3212] 在雄性Sprague-dawley大鼠中进行单剂量研究,在给药后第21天进行尸体解剖检查。经常监测体重和食物消耗量,同时进行用于临床病理学的活体(in-life)采样(第8天和第21天的血液)以及用于药代动力学的重复取样。尸体解剖是,进行肉眼观察,同时对选定的器官称重并保留以用于可能的组织病理学。

[3213] 结果

[3214] AbLJ-ConjE→

[3215] 抗体,其包含:

[3216] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1103;

[3217] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151;

[3218] V_H结构域;和

[3219] V_L结构域;

[3220] 在SEQ ID NO.1103的C103处缀合至化合物E。

[3221] AbLJ (LALA) -ConjE→

[3222] 抗体,其包含:

[3223] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.1103;

- [3224] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151;
- [3225] V_H结构域;和
- [3226] V_L结构域;
- [3227] 在SEQ ID NO.1103的C103处缀合至化合物E。
- [3228] AbLJ-ConjE缀合物中的V_H和V_L结构域与AbLJ (LALA) -ConjE缀合物中的相同。
- [3229]

大鼠毒性研究观察 ¹	AbLJ-ConjE (2 mg/kg)	AbLJ(LALA)-ConjE (2 mg/kg)
临床观察	毛发中度生长/姿势蜷缩&四肢苍白	毛发轻度生长/姿势蜷缩
体重增加 ²	-78%	-45%
血液学 ³		

[3230]

	网织红细胞	-93%	-56%
	血小板	-72%	-60%
	嗜中性粒细胞	-98%	-97%
	贫血	最小	最小
器官重量 ⁴			
	肝	-23%	-12%
	肺	+16%	+16%
	胸腺	-81%	-73%
	脾脏	-41%	-33%
	肾	-27%	-17%
	睾丸	-23%	-19%

- [3231] ¹ 21天的研究,第一天单次给药(雄性SD大鼠)
- [3232] ²与食物摄取减少相关
- [3233] ³第8天达到最低点,在第21天趋于恢复
- [3234] ⁴绝对器官重量
- [3235] 结果表明,Kabat EU 234位和235位的残基突变显著提高了ADC耐受性。
- [3236] 实施例6
- [3237] 不同位点特异性缀合物的药代动力学
- [3238] 研究了Kabat EU 234位和235位的残基突变对药代动力学的影响。使用如实施例5中所述的AbLJ-ConjE和AbLJ (LALA) -ConjE。
- [3239] 用2mg/kg的ADC对大鼠给药,并定期取出血清样品,直到第20天。开发了适合目的的ELISA以测量缀合的抗体。将校准曲线、QC和研究样品在低粘附板中稀释,并加入到涂覆有针对抗-SG3249的小鼠单克隆抗体的板中。孵育和洗涤后,将板进行孵育,其中小鼠单克隆抗体与人Fc-HRP缀合。

[3240] 使用3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)作为底物,用1M HCl停止反应,并在Versamax读板器上以450nm的吸光度读数板。定量下限(LL0Q)在大鼠血清中为750ng/ml。使用PBD-ADC特异性测定来测量所有样品,并使用Phoenix 64WinNonlin 6.4(Pharsight)软件计算AbLJ(LALA)-ConjE和AbLJ-ConjE的测量终末半衰期(3只动物的均值)。

[3241] 结果

[3242]

ADC	终末半衰期(h)
AbLJ(LALA)-ConjE	306.3
AbLJ-ConjE	200.1

[3243] 结果表明,Kabat EU 234位和235位的残基突变大大提高了ADC终末半衰期。

[3244] 实施例7

[3245] 降低的全身毒性

[3246] 将对人抗原X具有特异性的AbCJ设计成在442位含有半胱氨酸而不是丝氨酸(称为AbCJX),并与药物接头ConjH和ConjE缀合。

[3247] 将AbCJX-ConjH和AbCJX-ConjE在食蟹猴中的毒性与AbBJX-ConjE(上述实施例2中描述的针对人抗原X具有特异性的AbBJ-ConjE抗体)的毒性进行了比较。

[3248] 该研究每组使用三只食蟹猴(雄性或雌性),给药时猴子大约3岁(4kg)。所有动物在第1天给药一次,数据表示为直至第22天存活的动物。

[3249] 结果

[3250] 由于不利的临床症状,包括与血小板显著减少有关的出血,对于AbCJX-ConjH(第13天)和AbCJX-ConjE(第16天),发现动物较早死亡或被安乐死;参见图1。AbBJX-ConjE不引起明显的血小板减少,并且猴子在第21天接受第二给药。

[3251] 实施例8



[3256] (b) (9H-芴-9-基) 甲基 ((S)-1-((S)-1-(4-((S)-7-甲氧基-8-(3-((S)-7-甲氧

基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)-5,11-二氧代-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂^草-8-基)氧基)丙氧基)-5,11-二氧代-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂^草-2-基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(83)

[3257] 将PBD-三氟甲磺酸酯82(359mg,0.314mmol)、硼酸频那醇酯20(250mg,0.408mmol)(WO 2014/057073中的化合物20)和三乙胺(0.35mL,2.51mmol)溶于混合物甲苯/MeOH/H₂O,2:1:1(3mL)中。将微波容器用氩气吹扫并填充三次,然后加入四(三苯基磷)钼(0)(21.7mg,0.018mmol)并将反应混合物在微波中在80℃放置10分钟。随后,添加CH₂Cl₂(100mL)并用水(2x50mL)和盐水(50mL)洗涤有机物,然后用MgSO₄干燥,过滤并通过减压旋转蒸发而除去挥发物。用硅胶色谱柱纯化粗产物(CHCl₃/MeOH,100%至9:1),提供了纯的83(200mg,43%收率)。LC/MS 3.27min(ES+)m/z(相对强度)1478([M+H]⁺,100%)。

[3258] (c) (9H-芴-9-基)甲基((S)-1-((S)-1-((4-((S)-7-甲氧基-8-(3-((S)-7-甲氧基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)-5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂^草-8-基)氧基)丙氧基)-5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂^草-2-基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(84)

[3259] 在-78℃在氩气气氛下,将Super-Hydride®溶液(0.34mL,于THF中1M)滴加至SEM-双内酰胺83(200mg,0.135mmol)的THF溶液中(5mL)。在5分钟内完成添加以保持反应混合物的内部温度恒定。20分钟后,用水淬灭一部分反应以进行LC/MS分析,该分析显示反应完成。添加水(20mL)至反应混合物中并除去冷浴。用EtOAc(3x30mL)萃取有机层,并用盐水(50mL)洗涤合并的有机物,用MgSO₄干燥,过滤并在减压下通过旋转蒸发除去溶剂。将粗产物溶解在MeOH(6mL)、CH₂Cl₂(3mL)和水(1mL)以及足够的硅胶中以形成稠密的搅拌悬浮液。5天后,通过烧结漏斗过滤悬浮液,并且用CH₂Cl₂/MeOH(9:1)(100mL)洗涤直到产物被完全洗脱。用盐水(2 x 50mL)洗涤有机层,用MgSO₄干燥,过滤并在减压下通过旋转蒸发除去溶剂。通过硅胶柱色谱(100%CHCl₃至96%CHCl₃/4%MeOH)纯化,提供了作为黄色固体的产物84(100mg,63%)。LC/MS 2.67min(ES+)m/z(相对强度)1186([M+H]⁺,5%)。

[3260] (d) (S)-2-氨基-N-((S)-1-((4-((R)-7-甲氧基-8-(3-((R)-7-甲氧基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)-5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂^草-8-基)氧基)丙氧基)-5-氧代-5,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂^草-2-基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)-3-甲基丁酰胺(85)

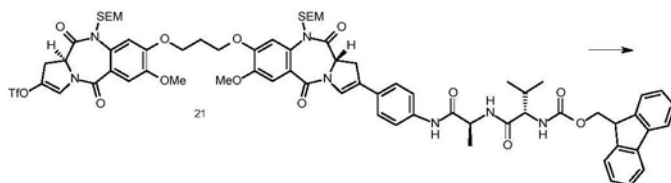
[3261] 添加过量哌啶(0.1mL,1mmol)至PBD 84(36.4mg,0.03mmol)在DMF(0.9mL)中的溶液中。允许在室温下搅拌混合物20分钟,此时,反应进行至完成(通过LC/MS监测)。用CH₂Cl₂(50mL)稀释反应混合物,并且使用H₂O(3x 50mL)洗涤有机相直至完全去除哌啶。用MgSO₄干燥有机相,在减压下过滤并通过旋转蒸发除去过量溶剂以提供粗产物85,直接在下一步骤中使用。LC/MS 2.20min(ES+)m/z(相对强度)964([M+H]⁺,5%)。

[3262] (e) 1-(3-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰胺基)-N-((2S)-1-((2S)-1-((4-(7-甲氧基-8-(3-((7-甲氧基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂^草-8-基)氧基)丙氧基)-5-氧代-5,11a-二氢-

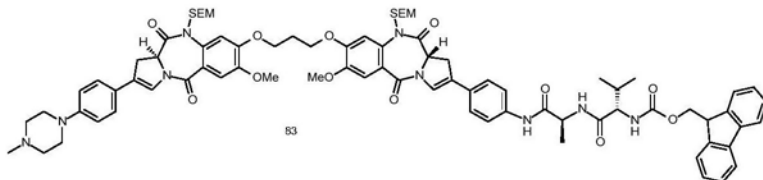
1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-2-基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七烷-27-酰胺(86)

[3263] 在氩气气氛下,将EDCI盐酸盐(8mg,0.042mmol)添加至马来酰亚胺-PEG₈-酸(25mg,0.042mmol)在无水CH₂Cl₂(4mL)中的悬浮液中。直接添加PBD 85(42mg,粗产物),在室温下搅拌混合物直至反应完成(3小时)。用CH₂Cl₂稀释反应物,并用H₂O和盐水洗涤有机相,然后用MgSO₄干燥,过滤且在减压下通过旋转蒸发除去过量的溶剂。通过小心的硅胶色谱(从100%CHCl₃开始至9:1CHCl₃/MeOH缓慢洗脱)纯化产物,随后进行反相HPLC以除去未反应的马来酰亚胺-PEG₈-酸。以10%(6.6mg)的两步产率分离产物86。LC/MS 1.16min(ES+) m/z(相对强度)770.20([M+2H]⁺,40%)。

[3264] 实施例9-化合物83的替代合成



[3265]

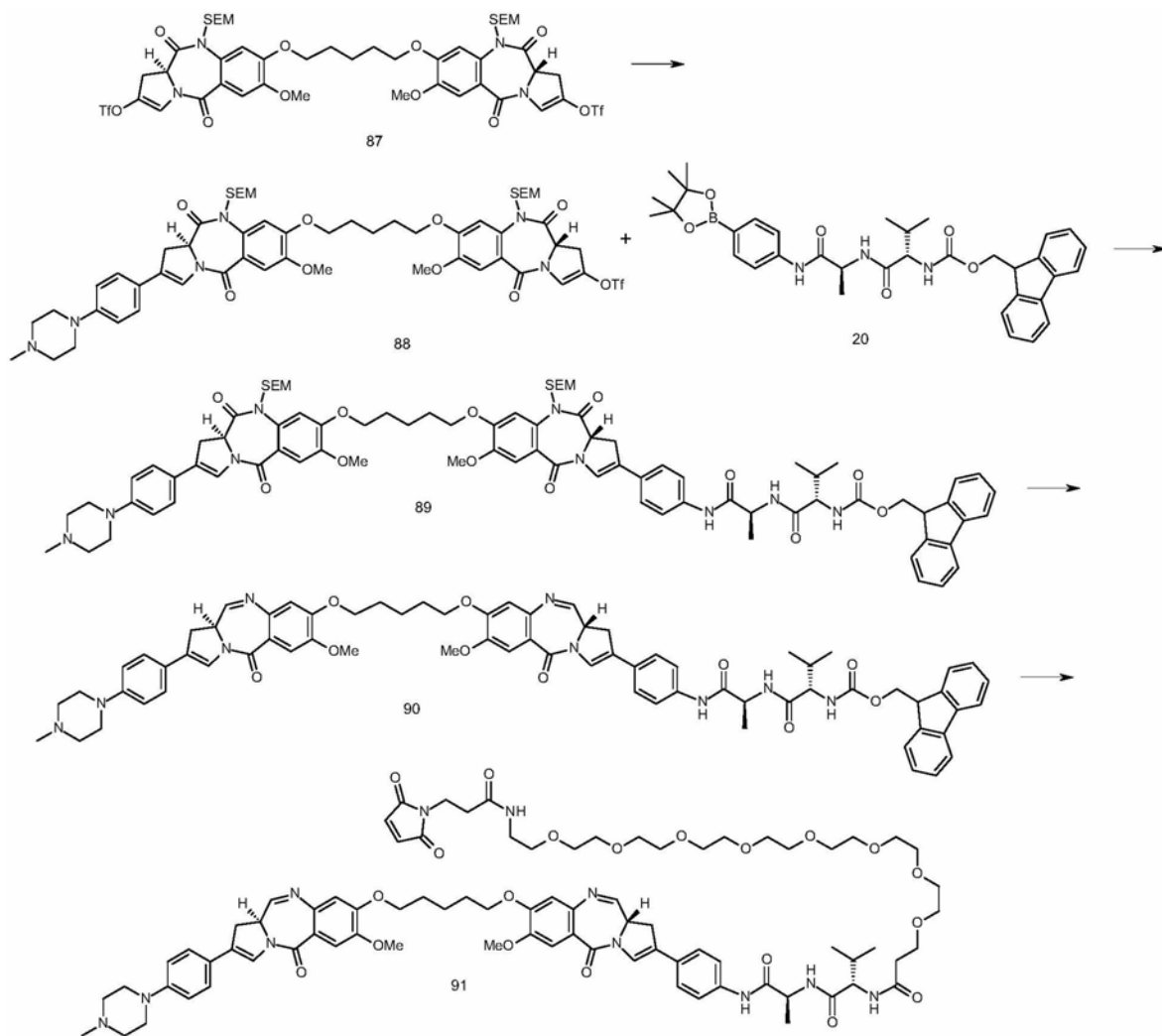


[3266] (9H-芴-9-基)甲基((S)-1-(((S)-1-((4-((S)-7-甲氧基-8-(3-(((S)-7-甲氧基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)-5,11-二氧代-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)丙氧基)-5,11-二氧代-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-2-基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)氨基甲酸酯(83)

[3267] 将PBD-三氟甲磺酸酯21(469mg,0.323mmol)(WO 2014/057073中的化合物21)、硼酸频哪醇酯(146.5mg,0.484mmol)和Na₂CO₃(157mg,1.48mmol)溶解在甲苯/MeOH/H₂O(2:1:1,10mL)的混合物中。用氩气吹扫反应烧瓶三次,然后添加四(三苯基膦)钯(0)(7.41mg,0.0064mmol)并且将反应混合物在30℃加热过夜。在减压下除去溶剂,并将残留物吸收在水中(50mL),并用EtOAc(3x 50mL)萃取。用盐水(100mL)洗涤合并的有机相,用MgSO₄干燥,过滤且在减压下通过旋转蒸发除去挥发物。通过硅胶柱色谱(CHCl₃ 100%至CHCl₃/MeOH 95%:5%)纯化粗产物,以提供纯的83(885mg,33%产率)。LC/MS 3.27min(ES+) m/z(相对强度)1478([M+H]⁺,100%)。

[3268] 实施例10

[3269]



[3270] (a) 三氟甲磺酸(S)-7-甲氧基-8-((5-((S)-7-甲氧基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)-5,11-二氧代-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂^草-8-基)氧基)戊基)氧基)-5,11-二氧代-10-((2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂^草-2-基酯(88)

[3271] 将Pd(PPh₃)₄(30mg, 26μmol)添加至双-烯醇三氟甲磺酸酯87(1g, 0.87mmol)(W0 2010/043880中的化合物8b)、4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基硼酸频那酯(264mg, 0.87mmol)、Na₂CO₃(138mg, 1.30mmol)、EtOH(5mL)、甲苯(10mL)和水(5mL)的搅拌混合物中。允许在氮气氛下搅拌反应混合物过夜,该时间之后,通过TLC(EtOAc)和LC/MS(1.52min(ES+) m/z(相对强度)1171.40([M+H]⁺, 100))观察到所有起始材料被耗尽。用EtOAc(400mL)稀释反应混合物,并且用H₂O(2 x 300mL)、盐水(200mL)洗涤,干燥(MgSO₄)、过滤并在减压下蒸发以提供粗产物。通过快速色谱法纯化(梯度洗脱:100:0v/v EtOAc/MeOH至85:15v/v EtOAc/MeOH),提供了不对称的三氟甲磺酸酯88(285mg, 28%)。¹H NMR(400MHz, CDC13) δ7.39(s, 1H), 7.37-7.29(m, 4H), 7.23(d, J=2.8Hz, 2H), 7.14(t, J=2.0Hz, 1H), 6.89(d, J=9.0Hz, 2H), 5.54(d, J=10.0Hz, 2H), 4.71(dd, J=10.0, 2.6Hz, 2H), 4.62(td, J=10.7, 3.5Hz, 2H), 4.13-

4.01 (m, 4H), 3.97-3.87 (m, 8H), 3.85-3.75 (m, 2H), 3.74-3.63 (m, 2H), 3.31-3.22 (m, 4H), 3.14 (tdd, $J=16.2, 10.8, 2.2\text{Hz}$, 2H), 2.73-2.56 (m, 4H), 2.38 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 3H), 2.02-1.92 (m, 4H), 1.73 (dd, $J=9.4, 6.0\text{Hz}$, 2H), 1.04-0.90 (m, 4H), 0.05--0.00 (m, 18H). MS (ES⁺) m/z (相对强度) 1171.40 ($[M+H]^+$, 100)。

[3272] (b) (9H-苻-9-基) 甲基 ((S)-1-(((S)-1-((4-((S)-7-甲氧基-8-((5-((S)-7-甲氧基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基) 苯基)-5,11-二氧化-10-((2-(三甲基甲硅烷基) 乙氧基) 甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂^草-8-基) 氧基) 戊基) 氧基)-5,11-二氧化-10-((2-(三甲基甲硅烷基) 乙氧基) 甲基)-5,10,11,11a-四氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂^草-2-基) 苯基) 氨基)-1-氧代丙-2-基) 氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基) 氨基甲酸酯 (89)

[3273] 将Pd(PPh₃)₄ (8mg, 7 μmol) 添加至不对称三氟甲磺酸酯88 (269mg, 0.23mmol)、Fmoc-Val-Ala-4-氨基苯基硼酸频那酯20 (210mg, 0.34mmol)、Na₂CO₃ (36.5mg, 0.34mmol)、EtOH (5mL)、甲苯 (10mL)、THF (1mL) 和水 (5mL) 的搅拌混合物中。允许在氮气氛下在35℃搅拌反应混合物2小时, 该时间之后, 通过TLC (80:20v/v EtOAc/MeOH) 和LC/MS (1.68min (ES⁺) m/z (相对强度) 1508.10 ($[M+H]^+$, 100)) 观察到所有起始材料被耗尽。用EtOAc (100mL) 稀释反应混合物, 并且用H₂O (1 x 100mL)、盐水 (200mL) 洗涤, 干燥 (MgSO₄)、过滤并在减压下蒸发以提供粗产物。通过快速色谱法纯化 (梯度洗脱: 100:0v/v EtOAc/MeOH至80:20v/v EtOAc/MeOH), 提供了SEM保护的二聚体89 (240mg, 69%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.42 (s, 1H), 7.76 (d, $J=7.5\text{Hz}$, 2H), 7.63-7.49 (m, 4H), 7.45-7.28 (m, 9H), 7.25 (d, $J=2.9\text{Hz}$, 1H), 6.87 (t, $J=14.0\text{Hz}$, 2H), 6.41 (s, 1H), 5.63-5.49 (m, 2H), 5.25 (s, 1H), 4.71 (d, $J=10.1\text{Hz}$, 2H), 4.68-4.57 (m, 2H), 4.49 (d, $J=6.7\text{Hz}$, 2H), 4.20 (s, 1H), 4.16-4.02 (m, 4H), 4.00-3.87 (m, 7H), 3.86-3.61 (m, 7H), 3.30-3.21 (m, 4H), 3.19-3.05 (m, 2H), 2.69-2.54 (m, 4H), 2.37 (s, 3H), 2.04-1.92 (m, 4H), 1.91-1.79 (m, 4H), 1.72 (s, 2H), 1.46 (d, $J=6.9\text{Hz}$, 3H), 1.04-0.82 (m, 8H), 0.04--0.02 (m, 18H). MS (ES⁺) m/z (相对强度) 1508.10 ($[M+H]^+$, 100)。

[3274] (c) (9H-苻-9-基) 甲基 ((S)-1-(((S)-1-((4-((S)-7-甲氧基-8-((5-((S)-7-甲氧基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基) 苯基)-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂^草-8-基) 氧基) 戊基) 氧基)-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂^草-2-基) 苯基) 氨基)-1-氧代丙-2-基) 氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基) 氨基甲酸酯 (90)

[3275] 在-78℃将超氢化物 (0.358mL, 0.358mmol, 在THF中1M) 滴加至SEM-双内酰胺89 (216mg, 0.143mmol) 在无水THF (10mL) 中的溶液中。使反应混合物搅拌3小时, 在该时间后, 直接通过LC/MS (1.37min (ES⁺) m/z (相对强度) 608.15 ($([M+2H]^{2+})/2$, 100)) 观察到起始产物被完全转化。小心地用H₂O (100mL) 将反应混合物稀释, 并用DCM (100mL) 萃取。用盐水 (100mL) 洗涤有机层, 用MgSO₄干燥, 过滤并在减压下蒸发, 以提供中间体SEM-甲醇胺。立即将白色固体溶于MeOH (100mL)、DCM (10mL) 和H₂O (20mL), 并用快速硅胶 (50g) 处理。使稠厚的悬浮液在室温搅拌4天, 该时间后通过TLC (90:10v/v CHCl₃/MeOH) 观察到形成显著量的所需产物。然后通过孔率为3的烧结漏斗过滤反应混合物, 并用90:10v/v CHCl₃/MeOH缓慢且完全地润洗过滤垫, 直至不再洗脱任何产物 (通过TLC检查)。用盐水 (100mL) 洗涤滤物, 干燥

(MgSO₄), 过滤并真空蒸发, 随后进行高真空度干燥, 以提供粗产物。通过快速色谱法纯化(梯度洗脱: HPLC级98:2v/v CHCl₃/MeOH至88:12v/v CHCl₃/MeOH), 得到作为甲醇胺醚和亚胺混合物的90 (80mg, 46%)。

[3276] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.52 (s, 1H), 7.87 (d, J=3.9Hz, 2H), 7.75 (d, J=7.5Hz, 2H), 7.66-7.26 (m, 12H), 6.90 (d, J=8.8Hz, 2H), 6.81 (s, 1H), 6.64 (d, J=6.0Hz, 1H), 5.37 (d, J=5.7Hz, 1H), 4.74-4.58 (m, 2H), 4.54-4.31 (m, 4H), 4.26-3.98 (m, 6H), 3.94 (s, 2H), 3.86 (dd, J=13.6, 6.6Hz, 1H), 3.63-3.48 (m, 2H), 3.37 (dd, J=16.5, 5.6Hz, 2H), 3.31-3.17 (m, 4H), 2.66-2.51 (m, 4H), 2.36 (s, 3H), 2.16 (d, J=5.1Hz, 1H), 2.06-1.88 (m, 4H), 1.78-1.55 (m, 6H), 1.46 (d, J=6.8Hz, 3H), 0.94 (d, J=6.8Hz, 6H)。MS (ES⁺) m/z (相对强度) 608.15 ([M+2H]²⁺)/2, 100)。

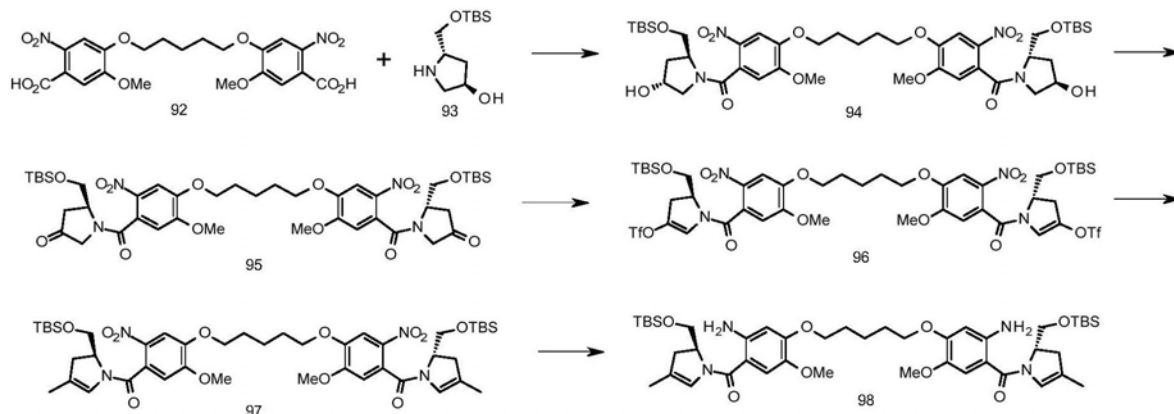
[3277] (d) 1-(3-(2,5-二氧化-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)丙酰胺基)-N-((S)-1-(((S)-1-((4-((S)-7-甲氧基-8-((5-((S)-7-甲氧基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基)-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-5-氧代-5,11a-二氢-1H-苯并[e]吡咯并[1,2-a][1,4]二氮杂~~草~~-2-基)苯基)氨基)-1-氧代丙-2-基)氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基)-3,6,9,12,15,18,21,24-八氧杂二十七烷-27-酰胺(91)

[3278] 向90 (77mg, 63.4μmol) 在DMF (1mL) 的溶液中添加哌啶 (0.2mL)。使反应混合物搅拌20分钟。小心地用DCM (50mL) 稀释反应混合物, 并用水 (50mL) 清洗。用盐水 (100mL) 清洗有机层, 用MgSO₄干燥, 过滤并在减压下蒸发, 以提供未保护的缬氨酸中间体。立即将粗残留物再溶解在氯仿 (5mL) 中。添加Mal (Peg)₈-酸 (56mg, 95μmol) 和EDCI (18mg, 95μmol), 随后添加甲醇 (0.1mL)。使反应物在室温下搅拌3小时, 该时间后通过TLC和LC/MS (1.19min (ES⁺) m/z (相对强度) 784.25 ([M+2H]²⁺)/2, 100)) 观察到反应完成。用氯仿 (50mL) 稀释反应混合物, 用水 (100mL) 洗涤, 用MgSO₄干燥, 过滤并真空蒸干, 随后进行高真空度干燥, 以提供粗产物。通过快速色谱法纯化(梯度洗脱: HPLC级96:4v/v CHCl₃/MeOH至90:10v/v CHCl₃/MeOH), 给出作为黄色固体的91 (43mg, 43%)。¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ8.73 (s, 1H), 7.88 (dd, J=7.6, 3.9Hz, 2H), 7.75 (d, J=8.6Hz, 2H), 7.52 (d, J=2.0Hz, 2H), 7.44 (s, 1H), 7.40-7.28 (m, 4H), 6.91 (d, J=8.8Hz, 2H), 6.81 (s, 2H), 6.69 (s, 2H), 6.48 (s, 1H), 4.72-4.63 (m, 1H), 4.46-4.34 (m, 2H), 4.25-4.03 (m, 6H), 3.95 (s, 4H), 3.84 (dd, J=17.2, 10.1Hz, 4H), 3.72-3.46 (m, 30H), 3.44-3.32 (m, 4H), 3.30-3.20 (m, 4H), 2.75-2.63 (m, 1H), 2.59 (s, 4H), 2.55-2.43 (m, 3H), 2.37 (s, 3H), 2.29 (dd, J=12.7, 6.7Hz, 1H), 2.03-1.89 (m, 4H), 1.72 (d, J=22.7Hz, 8H), 1.46 (d, J=7.2Hz, 3H), 1.01 (dd, J=11.5, 6.9Hz, 6H)。MS (ES⁺) m/z (相对强度) 784.25 ([M+2H]²⁺)/2, 100)。

[3279] 实施例11

[3280] (i) (S)-((戊烷-1,5-二基双(氧基))双(2-氨基-5-甲氧基-4,1-亚苯基))双(((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-基)甲酮)
(98)

[3281]



[3282] (a) (S,R)-((戊烷-1,5-二基双(氧基))双(5-甲氧基-2-硝基-4,1-亚苯基))双(((2S,4R)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-羟基吡咯烷-1-基)甲酮) (94)

[3283] 将无水DMF (约0.5mL) 滴加至4,4'-(戊烷-1,5-二基双(氧基))双(5-甲氧基-2-硝基苯甲酸) (92) (36.64g, 74.0mmol) 和草酰氯 (18.79mL, 0.222mol, 3.0eq.) 在无水DCM (450mL) 中的搅拌悬浮液中, 直至发生剧烈冒泡, 并将反应混合物过夜搅拌。将反应混合物蒸干, 并与二乙醚一起研磨。将所得黄色沉淀从溶液中过滤, 用二乙醚 (100mL) 洗涤, 并在-40℃立即添加至(3R,5S)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基氧基)甲基)吡咯烷-3-醇 (93) (39.40g, 0.170mol, 2.3eq.) 和无水三乙胺 (82.63mL, 0.592mol, 8eq.) 于无水DCM (400mL) 中的溶液中。使反应混合物缓慢升温至室温 (历时2.5小时), 在这之后, LCMS分析表明反应完全。添加DCM (250mL) 并将混合物转移至分液漏斗中。随后依次用0.1M HCl (2x 800mL)、饱和NaHCO₃ (500mL) 和盐水 (300mL) 洗涤有机层。用MgSO₄干燥并过滤后, 蒸发溶剂, 得到作为黄色泡沫的产物 (62.8g, 92%)。LC/MS: RT 1.96min; MS (ES+) m/z (相对强度) 921.45 ([M+H]⁺, 100)。

[3284] (b) (5S,5'S)-1,1'-(4,4'-(戊烷-1,5-二基双(氧基))双(5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基))双(5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)吡咯烷-3-酮) (95)

[3285] 在0℃在氩气氛下, 一次性将三氯异氰尿酸 (21.86g, 94.07mmol, 1.4eq) 添加至二醇94 (61.90g, 67.20mmol) 和TEMPO (2.10g, 13.44mmol, 0.2eq) 的无水DCM (500mL) 溶液中。此后将反应混合物在0℃搅拌20分钟, 对反应混合物的LCMS分析显示反应完全。用DCM (400mL) 稀释反应混合物, 并用饱和碳酸氢钠 (500mL)、0.2M硫代硫酸钠溶液 (600mL)、盐水 (400mL) 洗涤, 并干燥 (MgSO₄)。蒸发溶剂获得粗产物。快速色谱法[梯度洗脱80%正己烷/20%乙酸乙酯至100%乙酸乙酯]得到作为黄色固体的纯95 (49.30g, 80%)。LC/MS: RT 2.03min; MS (ES+) m/z (相对强度) 917.55 ([M+H]⁺, 100)。

[3286] (c) (5S,5'S)-1,1'-(4,4'-(戊烷-1,5-二基双(氧基))双(5-甲氧基-2-硝基苯甲酰基))双(5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4,5-二氢-1H-吡咯-3,1-二基)双(三氟甲磺酸酯), (96)

[3287] 在-40℃, 将三氟甲磺酸酐 (24.19mL, 0.144mol, 6.0eq) 滴加至含有2,6-二甲基吡啶 (22.33mL, 0.192mol, 8.0eq) 的二酮95 (21.98g, 23.96mmol) 于无水DCM (400mL) 中的剧烈搅拌的溶液中。此后在-40℃将反应混合物搅拌30min, LCMS分析表明反应完全。将反应混合物用DCM (500mL) 快速稀释, 并用冰水 (600mL)、冰的饱和碳酸氢钠 (400mL) 和盐水 (500mL) 洗

涤,用MgSO₄干燥,过滤并蒸发以获得粗制棕色油状物。快速色谱法[梯度洗脱80%正己烷/20%乙酸乙酯至66%正己烷/33%乙酸乙酯]得到作为棕色泡沫的纯96(16.40g,58%)。LC/MS:RT 2.28min;MS(ES+)m/z(相对强度)无数据。

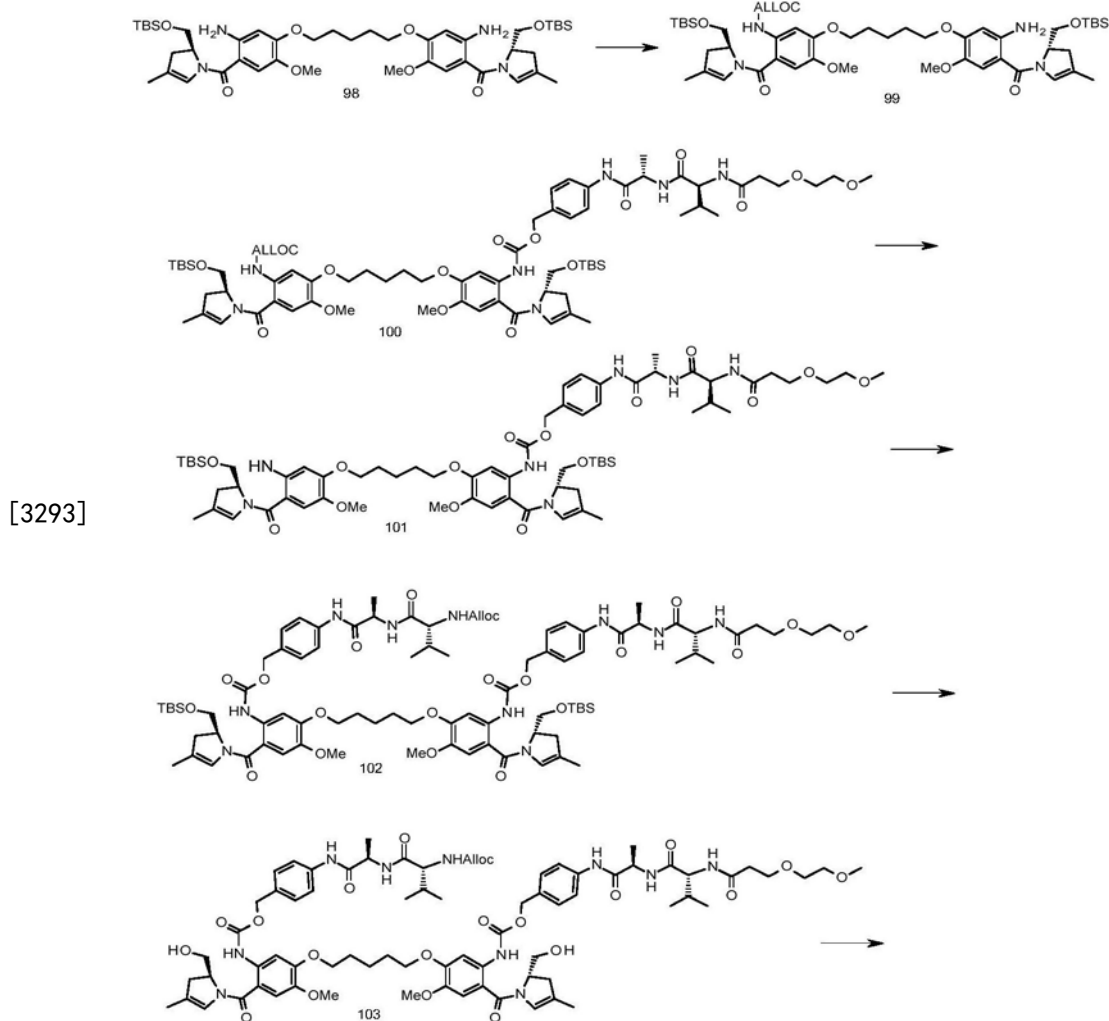
[3288] (d) (S)-((戊烷-1,5-二基双(氧基))双(5-甲氧基-2-硝基-4,1-亚苯基))双(((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-基)甲酮)(97)

[3289] 将三氟甲磺酸酯96(5.06g,4.29mmol)、甲基硼酸(1.80g,30.00mmol,7eq)和三苯基肿(1.05g,3.43mmol,0.8eq)溶于无水二噁烷中,并在氩气下搅拌。然后添加二苯甲腈氯化钡(II),并将反应混合物快速加热至80℃,保持20min。冷却反应混合物,通过硅藻土过滤(用乙酸乙酯洗涤),用水(500mL)、盐水(500mL)洗涤滤液,用MgSO₄干燥,过滤并蒸发。快速色谱法[梯度洗脱50%正己烷/50%乙酸乙酯]得到作为棕色泡沫的纯97(4.31g,59%)。LC/MS:RT 2.23min;MS(ES+)m/z(相对强度)913.50([M+H]⁺,100)。

[3290] (e) (S)-((戊烷-1,5-二基双(氧基))双(2-氨基-5-甲氧基-4,1-亚苯基))双(((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-基)甲酮)(98)

[3291] 向二硝基化合物97(10.26g,11.24mmol)在5%甲酸/甲醇(200mL)中的溶液中一次性添加锌粉(26.48g,0.405mol,36.0eq),并通过冰水浴将温度保持在25-30℃。随后在30℃将反应物搅拌20分钟,LCMS显示反应完全。将反应混合物通过硅藻土过滤以除去过量的锌,用乙酸乙酯(600mL)洗涤锌粉。用水(500mL)、饱和碳酸氢钠(500mL)和盐水(400mL)洗涤有机部分,用MgSO₄干燥并蒸发。快速色谱法[梯度洗脱100%氯仿至99%氯仿/1%甲醇]给出作为橙色泡沫的纯98(6.22g,65%)。LC/MS:RT 2.20min;MS(ES+)m/z(相对强度)853.50([M+H]⁺,100)。

[3292] (ii) 4-((R)-2-((R)-2-(((烯丙基氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基4-((10R,13R)-10-异丙基-13-甲基-8,11-二氧代-2,5-二氧杂-9,12-二氮杂十四烷酰胺基)苄基((S)-((戊烷-1,5-二基双(氧基))双(2-((S)-2-(羟基甲基)-4-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-4-甲氧基-5,1-亚苯基))二氨基甲酸酯(103)



[3294] (a) (5-((5-(5-氨基-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基)戊基)氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-4-甲氧基苯基)氨基甲酸烯丙基酯 (99)

[3295] 在氩气气氛下,在 -78°C ,将吡啶(1.156mL,14.30mmol,1.5eq)添加至二-苯胺98(8.14g,9.54mmol)的无水DCM(350mL)溶液中。5分钟后,添加氯甲酸烯丙基酯(0.911mL,8.58mmol,0.9eq),并将反应混合物升至室温。用DCM(250mL)稀释反应混合物,用饱和 CuSO_4 溶液(400mL)、饱和碳酸氢钠(400mL)和盐水(400mL)洗涤,用 MgSO_4 干燥。快速色谱法[梯度洗脱66%正己烷/33%乙酸乙酯至33%正己烷/66%乙酸乙酯]得到作为橙色泡沫的纯99(3.88g,43%)。LC/MS:RT 2.27min;MS(ES+)m/z(相对强度)937.55($[\text{M}+\text{H}]^+$,100)。

[3296] (b) 烯丙基4-((10S,13S)-10-异丙基-13-甲基-8,11-二氧代-2,5-二氧杂-9,12-二氮杂十四烷酰胺基)苄基((S)-(戊烷-1,5-二基双(氧基))双(2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-4-甲基-2,3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-4-甲氧基-5,1-亚苯基))二氨基甲酸酯(100)

[3297] 在 0°C 在氩气中,将三乙胺(0.854mL,6.14mmol,2.2eq)添加至苯胺99(2.62g,2.79mmol)和三光气(0.30g,1.00mmol,0.36eq)在无水THF(50mL)中的搅拌溶液中。将反应混合物在室温搅拌5分钟。对被甲醇淬灭的一部分等分液的LCMS分析显示形成了异氰酸酯。

一次性添加mPEG₂-Val-Ala-PAB-OH (1.54g, 3.63mmol, 1.3eq) 和三乙胺 (0.583mL, 4.19mmol, 1.5eq) 在无水THF (50mL) 中的溶液, 并在40℃将所得混合物搅拌过夜。将反应混合物的溶剂蒸发得到粗产物。快速色谱法[梯度洗脱100%氯仿至98%氯仿/2%甲醇]得到作为淡橙色固体的纯100 (2.38g, 62%)。LC/MS:RT 2.29min;MS (ES+) m/z (相对强度) 无数据。

[3298] (c) 4-((10S, 13S)-10-异丙基-13-甲基-8, 11-二氧化-2, 5-二氧杂-9, 12-二氮杂十四烷酰胺基) 苄基 (5-((5-(5-氨基-4-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基) 氧基) 甲基)-4-甲基-2, 3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-2-甲氧基苯氧基) 戊基) 氧基)-2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基) 氧基) 甲基)-4-甲基-2, 3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-4-甲氧基苯基) 氨基甲酸酯 (101)

[3299] 在室温下, 在氩气中将四(三苯基膦) 钯 (39mg, 0.034mmol, 0.02eq) 加入100 (2.35g, 1.69mmol) 和吡咯烷 (0.35mL, 4.24mmol, 2.5eq) 在无水DCM (25mL) 中的搅拌溶液中。使反应混合物搅拌45分钟, 然后用DCM (100mL) 稀释, 用饱和氯化铵溶液 (100mL)、盐水 (100mL) 洗涤, 用MgSO₄干燥, 过滤并蒸发。快速色谱法[梯度洗脱100%氯仿至95%氯仿/5%甲醇]得到作为黄色固体的纯101 (1.81g, 82%)。LC/MS:RT 2.21min;MS (ES+) m/z (相对强度) 1303.65 ([M+H]⁺, 100)。

[3300] (d) 4-((R)-2-((R)-2-(((烯丙基氧基) 羰基) 氨基)-3-甲基丁酰胺基) 丙酰胺基) 苄基4-((10R, 13R)-10-异丙基-13-甲基-8, 11-二氧化-2, 5-二氧杂-9, 12-二氮杂十四烷酰胺基) 苄基 ((S)-(戊烷-1, 5-二基双(氧基)) 双(2-((S)-2-(((叔丁基二甲基甲硅烷基) 氧基) 甲基)-4-甲基-2, 3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-4-甲氧基-5, 1-亚苯基)) 二氨基甲酸酯 (102)

[3301] 在氩气和在0℃, 将三乙胺 (0.419mL, 3.01mmol, 2.2eq) 加至苯胺101 (1.78g, 1.37mmol) 和三光气 (0.15g, 0.49mmol, 0.36eq) 于无水THF (50mL) 中的搅拌的溶液中。将反应混合物在室温搅拌5分钟。LCMS分析用甲醇淬灭的一等分液, 显示形成了异氰酸酯。一次性加入Alloc-Val-Ala-PAB-OH (0.67g, 1.78mmol, 1.3eq) 和三乙胺 (0.29mL, 2.05mmol, 1.5eq) 在无水THF (45mL) 中的溶液并将所得混合物在40℃搅拌过夜蒸发反应混合物的溶液得到粗制产物。快速色谱法[梯度洗脱100%乙酸乙酯至97%乙酸乙酯/3%甲醇]得到纯的102, 其为浅黄色固体 (1.33g, 57%)。

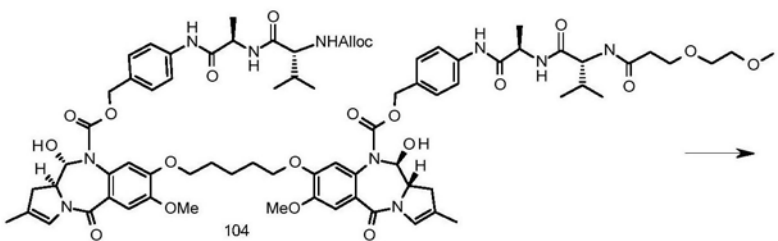
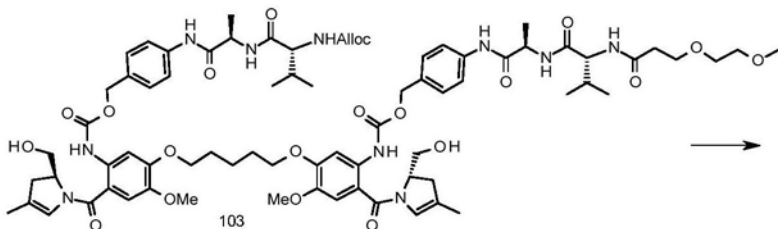
[3302] LC/MS:RT 2.21min;MS (ES+) m/z (相对强度) 无数据。

[3303] (e) 4-((R)-2-((R)-2-(((烯丙基氧基) 羰基) 氨基)-3-甲基丁酰胺基) 丙酰胺基) 苄基4-((10R, 13R)-10-异丙基-13-甲基-8, 11-二氧化-2, 5-二氧杂-9, 12-二氮杂十四烷酰胺基) 苄基 ((S)-(戊烷-1, 5-二基双(氧基)) 双(2-((S)-2-(羟基甲基)-4-甲基-2, 3-二氢-1H-吡咯-1-羰基)-4-甲氧基-5, 1-亚苯基)) 二氨基甲酸酯 (103)

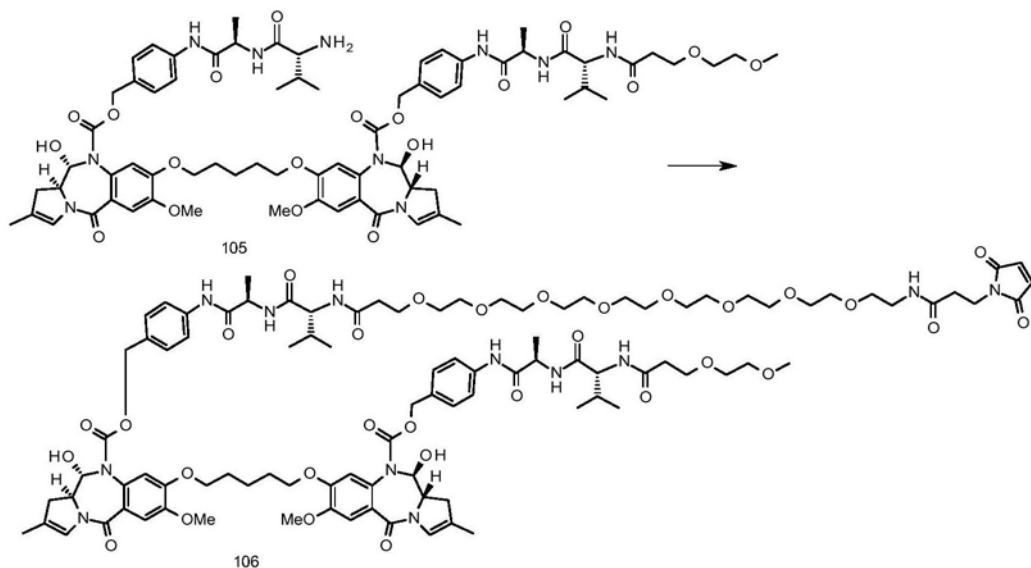
[3304] 将四正丁基氟化铵 (1M, 1.52mL, 1.52mmol, 2.0eq) 添加至TBS保护的化合物102 (1.30g, 0.76mmol) 在无水THF (15mL) 中的溶液中。将反应混合物在室温搅拌4小时。用氯仿 (100mL) 稀释反应混合物, 并随后用水 (40mL) 和盐水 (40mL) 洗涤。用MgSO₄干燥有机相, 并蒸发以得到黄色固体。快速色谱法[梯度洗脱95%乙酸乙酯/5%甲醇至90%乙酸乙酯/10%甲醇]得到作为淡黄色固体的纯103 (1.00g, 89%)。LC/MS:RT 1.60min;MS (ES+) m/z (相对强度) 1478.45 (100)。

[3305] (iii) (11S, 11aS)-4-((2R, 5R)-37-(2, 5-二氧化-2, 5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-异

丙基-2-甲基-4,7,35-三氧代-10,13,16,19,22,25,28,31-八氧杂-3,6,34-三氮杂三十七烷酰胺基) 苄基11-羟基-8-((5-(((11S,11aS)-11-羟基-10-((4-((10R,13R)-10-异丙基-13-甲基-8,11-二氧代-2,5-二氧杂-9,12-二氮杂十四烷酰胺基) 苄基) 氧基) 羰基)-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂^草-8-基) 氧基) 戊基) 氧基)-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-11,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂^草-10(5H)-羧酸酯(106)



[3306]



[3307] (a) (11S,11aS)-4-((R)-2-((R)-2-(((烯丙基氧基) 羰基) 氨基)-3-甲基丁酰胺基) 丙酰胺基) 苄基11-羟基-8-((5-(((11S,11aS)-11-羟基-10-((4-((10R,13R)-10-异丙基-13-甲基-8,11-二氧代-2,5-二氧杂-9,12-二氮杂十四烷酰胺基) 苄基) 氧基) 羰基)-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂^草-8-基) 氧基) 戊基) 氧基)-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-11,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂^草-10(5H)-羧酸酯(104)

[3308] 在氩气中,在室温,将戴斯-马丁过碘烷(0.59g,1.38mmol,2.1eq)添加至103(0.97g,0.66mmol)在无水DCM中的搅拌溶液中。使反应混合物搅拌4小时。用DCM(100mL)稀释反应混合物,用饱和碳酸氢钠溶液(3 x 100mL)、水(100mL)、盐水(100mL)洗涤,用MgSO₄

干燥,过滤并蒸发。快速色谱法[梯度洗脱100%氯仿至95%氯仿/5%甲醇]给出作为淡黄色固体的纯104(0.88g,90%)。LC/MS:RT 1.57min;MS (ES+) m/z (相对强度) 1473.35 (100)。

[3309] (b) (11S,11aS)-4-((R)-2-((R)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)丙酰胺基)苄基11-羟基-8-((5-(((11S,11aS)-11-羟基-10-((4-((10R,13R)-10-异丙基-13-甲基-8,11-二氧代-2,5-二氧杂-9,12-二氮杂十四烷酰胺基)苄基)氧基)羰基)-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-11,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸酯(105)

[3310] 将四(三苯基膦)钯(5mg,0.004mmol,0.06eq)添加至104(105mg,0.071mmol)和吡咯烷(7μL,0.086mmol,1.2eq)在无水DCM(5mL)中的溶液中。将反应混合物搅拌15分钟,然后用氯仿(50mL)稀释,随后用饱和氯化铵水溶液(30mL)和盐水(30mL)洗涤。用硫酸镁干燥有机相,过滤并蒸发。快速色谱法[梯度洗脱100%氯仿至90%氯仿/10%甲醇]得到作为淡黄色固体的纯105(54mg,55%)。LC/MS:RT 1.21min;MS (ES+) m/z (相对强度) 1389.50 (100)。

[3311] (c) (11S,11aS)-4-((2R,5R)-37-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-5-异丙基-2-甲基-4,7,35-三氧代-10,13,16,19,22,25,28,31-八氧杂-3,6,34-三氮杂三十七烷酰胺基)苄基11-羟基-8-((5-(((11S,11aS)-11-羟基-10-((4-((10R,13R)-10-异丙基-13-甲基-8,11-二氧代-2,5-二氧杂-9,12-二氮杂十四烷酰胺基)苄基)氧基)羰基)-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-5,10,11,11a-四氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-8-基)氧基)戊基)氧基)-7-甲氧基-2-甲基-5-氧代-11,11a-二氢-1H-吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂~~草~~-10(5H)-羧酸酯(106)

[3312] 将N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺(28mg,0.146mmol,1eq)加至105(203mg,0.146mmol)和马来酰亚胺-PEG₈酸(87mg,0.146mmol)在氯仿(5mL)的溶液中。将反应物搅拌1.5h,然后用氯仿(50mL)稀释,用水(50mL)、盐水(30mL)洗涤,用硫酸镁干燥,过滤并蒸发。快速色谱法[梯度洗脱100%DCM至90%DCM/10%甲醇]给出作为淡黄色固体的106(205mg,72%)。LC/MS:RT 5.75min;MS (ES+) m/z (相对强度) 982.90 (100),1963.70 (5)。

[3313] 实施例12:释放的化合物的活性

[3314] K562测定

[3315] 在37℃,在含5%CO₂的潮湿气氛中,将K562人类慢性髓性白血病细胞保持在补充有10%胎牛血清和2mM谷氨酰胺的RPMI 1640培养基中并且在37℃避光用特定剂量的药物孵育1小时或96小时。通过离心(5min,300g)终止孵育并用无药物的培养基洗涤细胞一次。在适当的药物处理后,将细胞转移至96-孔的微量滴定板中(10⁴细胞/孔,8孔/样品)。将该板避光保持在37℃、含5%CO₂的潮湿气氛中。该测定是以存活细胞将黄色可溶性四唑盐(溴化3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基-2H-四唑(MTT,Aldrich-Sigma))还原为不溶性紫色甲臢沉淀物的能力为基础的。接下来将该板孵育4天(以允许对照细胞在数量方面增加大约10倍),将20μL MTT溶液(于磷酸盐缓冲的生理盐水中,5mg/mL)添加至每个孔并将板进一步孵育5h。然后以300g将板离心5min,将大多数培养基从细胞沉淀吸出,留下10-20μL/孔。向每个孔中添加DMSO(200μL)并搅拌样品以确保完全混合。然后在Titertek Multiscan ELISA酶标仪上在550nm的波长下读取光密度并且构建剂量-响应曲线。对于每条曲线,将

IC₅₀值解读为将最终光密度降低至对照值的50%所需的剂量。

[3316] 缩写

[3317] Ac 乙酰基

[3318] Acn 乙酰胺基甲基

[3319] Alloc 烯丙基氧基羰基

[3320] Boc 一缩二碳酸二叔丁基酯

[3321] t-Bu 叔丁基

[3322] Bzl 苄基, 其中, Bzl-OMe 是甲氧基苄基以及 Bzl-Me 是甲基苄基 (methylbenzene)

[3323] Cbz或Z 苄氧基-羰基, 其中Z-Cl和Z-Br分别是氯苄氧基羰基和溴苄氧基羰基

[3324] DMF N,N-二甲基甲酰胺

[3325] Dnp 二硝基苯基

[3326] DTT 二硫苏糖醇

[3327] Fmoc 9H-芴-基甲氧基羰基

[3328] imp N-10亚胺保护基团: 3-(2-甲氧基乙氧基) 丙酸酯-Val-Ala-PAB

[3329] MC-OSu 马来酰亚胺基己酰基-O-N-琥珀酰亚胺

[3330] Moc 甲氧基羰基

[3331] MP 马来酰亚胺基丙酰胺

[3332] Mtr 4-甲氧基-2,3,6-三甲基苯磺酰基

[3333] PAB 对氨基苄氧基羰基

[3334] PEG 亚乙基氧基

[3335] PNZ 对硝基苄基氨基甲酸酯

[3336] Psec 2-(苯基磺酰基) 乙氧基羰基

[3337] TBDMS 叔丁基二甲基甲硅烷基

[3338] TBDPS 叔丁基二苯基甲硅烷基

[3339] Teoc 2-(三甲基甲硅烷基) 乙氧基羰基

[3340] Tos 甲苯磺酰基

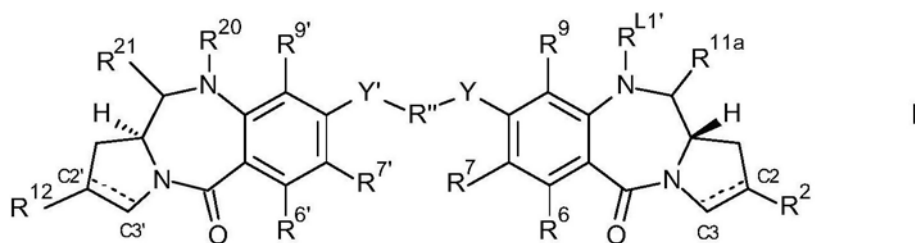
[3341] Troc 2,2,2-三氯乙氧基羰基氯

[3342] Trt 三苯甲基

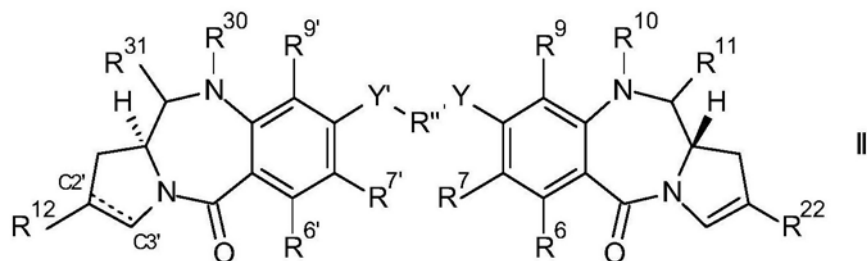
[3343] Xan 咕吨基

[3344] 发明声明

[3345] 1. 式L-(DL) p的缀合物, 其中DL为式I或II:



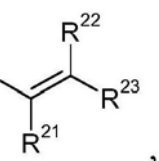
[3346]




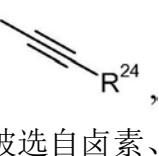
[3347] 其中：

[3348] L为抗体 (Ab) ；

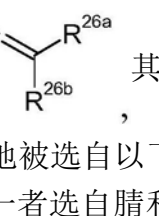
[3349] 当C2' 与C3' 之间存在双键时，R¹²选自：[3350] (ia) C₅₋₁₀芳基，其任选被一个或多个选自以下的取代基所取代：卤素、硝基、氰基、醚、羧基、酯、C₁₋₇烷基、C₃₋₇杂环基和双-氧基-C₁₋₃亚烷基；[3351] (ib) C₁₋₅饱和脂族烷基；[3352] (ic) C₃₋₆饱和环烷基；

[3353] (id)  其中R²¹、R²²和R²³各自独立地选自H、C₁₋₃饱和烷基、C₂₋₃烯基、C₂₋₃炔基和环丙基，其中R¹²基团中碳原子的总数不超过5；

[3354] (ie)  其中R^{25a}和R^{25b}中一者为H且另一者选自：苯基，该苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代；吡啶基；和噻吩基；和

[3355] (if)  其中R²⁴选自：H；C₁₋₃饱和烷基；C₂₋₃烯基；C₂₋₃炔基；环丙基；苯基，该苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代；吡啶基；和噻吩基；

[3356] 当C2' 和C3' 之间存在单键时，

[3357] R¹²为  其中R^{26a}和R^{26b}各自独立地选自H、F、C₁₋₄饱和烷基、C₂₋₃烯基，其中烷基和烯基任选地被选自以下的基团取代：C₁₋₄烷基酰胺基和C₁₋₄烷基酯；或者，当R^{26a}和R^{26b}中一者为H时，另一者选自腈和C₁₋₄烷基酯；

[3358] R⁶和R⁹各自独立地选自H、R、OH、OR、SH、SR、NH₂、NHR、NRR'、硝基、Me₃Sn和卤素；[3359] 其中R和R' 各自独立地选自任选取代的C₁₋₁₂烷基、C₃₋₂₀杂环基和C₅₋₂₀芳基；[3360] R⁷选自H、R、OH、OR、SH、SR、NH₂、NHR、NHRR'、硝基、Me₃Sn和卤素；

[3361] R'' 为 C_{3-12} 亚烷基, 其中链中可含有一个或多个杂原子如 O、S、 NR^{N2} (其中 R^{N2} 为 H 或 C_{1-4} 烷基) 和/或芳香环, 如苯或吡啶;

[3362] Y 和 Y' 选自 O、S 或 NH;

[3363] R^6 、 R^7 、 R^9 分别选自与 R^6 、 R^7 和 R^9 相同的基团;

[3364] [式 I]

[3365] $R^{L1'}$ 是用于连接至抗体 (Ab) 的接头;

[3366] R^{11a} 选自 OH、 OR^A 和 SO_zM , 其中 R^A 为 C_{1-4} 烷基, 其中 z 为 2 或 3 且 M 为单价的药学上可接受的阳离子;

[3367] R^{20} 和 R^{21} 或者一起形成与它们连接的氮和碳原子之间的双键; 或者

[3368] R^{20} 选自 H 和 R^C , 其中 R^C 为封端基团;

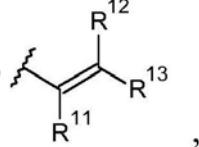
[3369] R^{21} 选自 OH、 OR^A 和 SO_zM ;

[3370] 当 C2 和 C3 之间存在双键时, R^2 选自:

[3371] (ia) C_{5-10} 芳基, 其任选被一个或多个选自以下的取代基所取代: 卤素、硝基、氰基、醚、羧基、酯、 C_{1-7} 烷基、 C_{3-7} 杂环基和双-氧基- C_{1-3} 亚烷基;

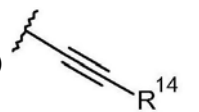
[3372] (ib) C_{1-5} 饱和脂族烷基;

[3373] (ic) C_{3-6} 饱和环烷基;

[3374] (id)  其中 R^{11} 、 R^{12} 和 R^{13} 各自独立地选自 H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基和环丙基, 其中 R^2 基团中碳原子的总数不超过 5;

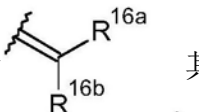
[3375] (ie)  其中 R^{15a} 和 R^{15b} 中一者为 H 且另一者选自: 苯基, 该苯基任

地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代; 吡啶基; 和噻吩基; 和

[3376] (if)  其中 R^{14} 选自: H; C_{1-3} 饱和烷基; C_{2-3} 烯基; C_{2-3} 炔基; 环丙基; 苯

基, 该苯基任选地被选自卤素、甲基、甲氧基的基团取代; 吡啶基; 和噻吩基;

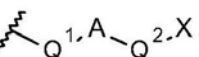
[3377] 当在 C2 和 C3 之间存在单键时,

[3378] R^2 为  其中 R^{16a} 和 R^{16b} 各自独立地选自 H、F、 C_{1-4} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基, 其中

烷基和烯基任选地被选自以下的基团取代: C_{1-4} 烷基酰胺基和 C_{1-4} 烷基酯; 或者, 当 R^{16a} 和 R^{16b} 中一者为 H 时, 另一者选自腈和 C_{1-4} 烷基酯;

[3379] [式 II]

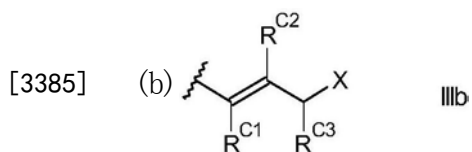
[3380] R^{22} 为式 IIIa、式 IIIb 或式 IIIc:

[3381] (a)  IIIa

[3382] 其中 A 为 C_{5-7} 芳基, 并且或者

[3383] (i) Q^1 为单键, 且 Q^2 选自单键和 $-Z-(CH_2)_n-$, 其中 Z 选自单键、O、S 和 NH 且 n 为 1 至 3; 或

[3384] (ii) Q^1 为 $-\text{CH}=\text{CH}-$, 且 Q^2 为单键;



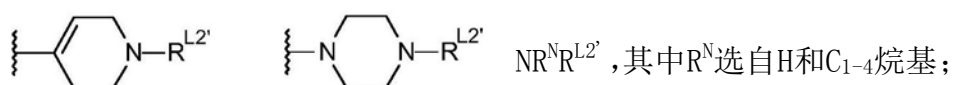
[3386] 其中;

[3387] R^{C1} 、 R^{C2} 和 R^{C3} 各自独立地选自 H 和未取代的 C_{1-2} 烷基;



[3389] 其中 Q 选自 $O-R^{L2'}$ 、 $S-R^{L2'}$ 和 $NR^N-R^{L2'}$, 且 R^N 选自 H、甲基和乙基,

[3390] X 选自: $O-R^{L2'}$ 、 $S-R^{L2'}$ 、 $CO_2-R^{L2'}$ 、 $CO-R^{L2'}$ 、 $NH-C(=O)-R^{L2'}$ 、 $NHNH-R^{L2'}$ 、 $CONHNH-R^{L2'}$ 、



[3391] $R^{L2'}$ 是用于连接至抗体 (Ab) 的接头;

[3392] R^{10} 和 R^{11} 或者一起形成与它们连接的氮和碳原子之间的双键; 或者

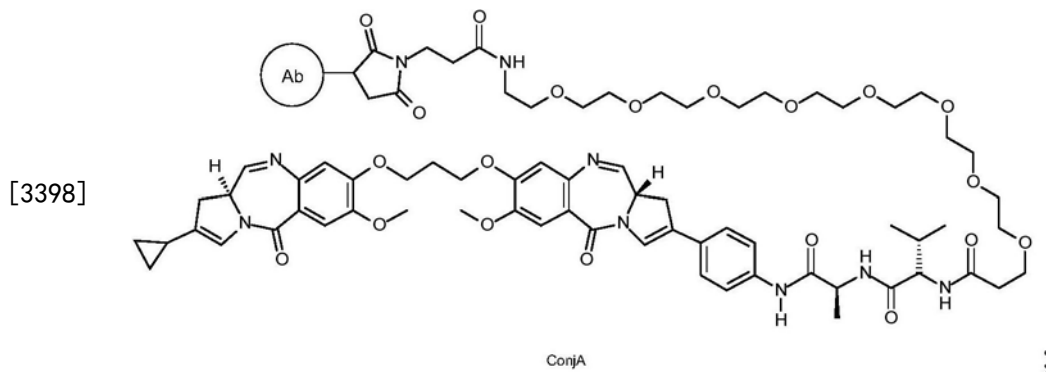
[3393] R^{10} 为 H 和 R^{11} 选自 OH、 OR^A 和 SO_2M ;

[3394] R^{30} 和 R^{31} 或者一起形成与它们连接的氮和碳原子之间的双键; 或者

[3395] R^{30} 为 H 和 R^{31} 选自 OH、 OR^A 和 SO_2M 。

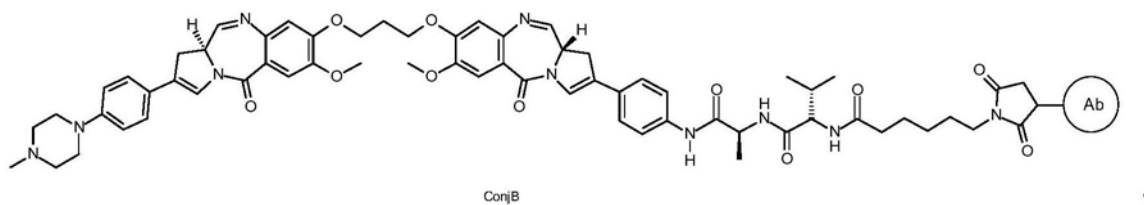
[3396] 2. 根据声明 1 的缀合物, 其中所述缀合物不为:

[3397] ConjA



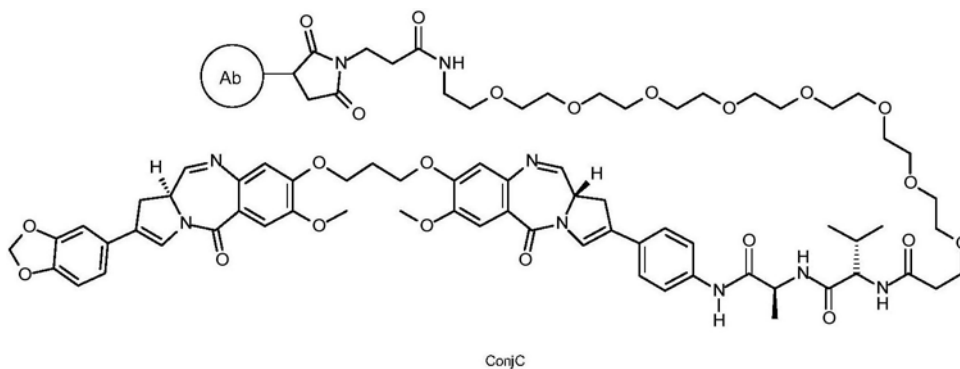
[3399] ConjB

[3400]



[3401] ConjC:

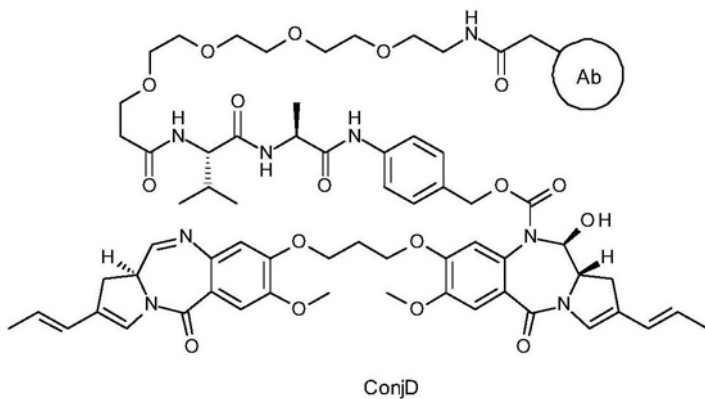
[3402]



;

[3403] ConjD

[3404]

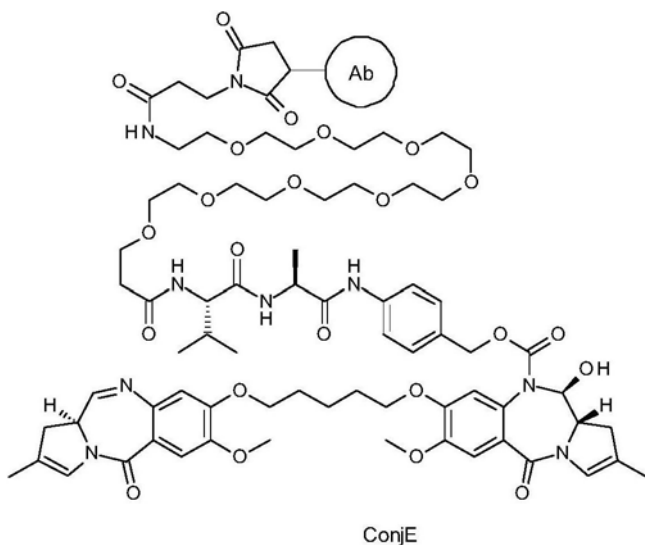


或

;

[3405] ConjE:

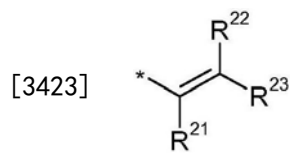
[3406]

[3407] 3. 根据声明1或2的缀合物, 其中 R^7 选自H、OH和OR。[3408] 4. 根据声明3的缀合物, 其中 R^7 为 C_{1-4} 烷氧基。

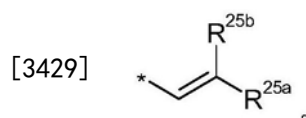
[3409] 5. 根据声明1至4中任一项的缀合物, 其中Y为O。

[3410] 6. 根据前述声明中任一项的缀合物, 其中 R'' 为 C_{3-7} 亚烷基。[3411] 7. 根据声明1至6中任一项的缀合物, 其中 R^9 为H。[3412] 8. 根据声明1至7中任一项的缀合物, 其中 R^6 选自H和卤素。[3413] 9. 根据声明1至8中任一项的缀合物, 其中在C2' 和C3' 之间存在双键, 且 R^{12} 为 C_{5-7} 芳基。

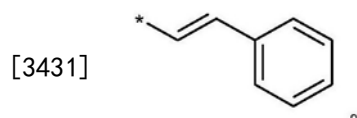
- [3414] 10. 根据声明9的缀合物, 其中 R^{12} 为苯基。
- [3415] 11. 根据声明1至8中任一项的缀合物, 其中在C2' 和C3' 之间存在双键, 且 R^{12} 为C₈₋₁₀芳基。
- [3416] 12. 根据声明9至11中任一项的缀合物, 其中 R^{12} 具有1至3个取代基。
- [3417] 13. 根据声明9至12中任一项的缀合物, 其中所述取代基选自甲氧基、乙氧基、氟、氯、氰基、双-氧基-亚甲基、甲基-哌嗪基、吗啉代和甲基-噻吩基。
- [3418] 14. 根据声明1至8中任一项的缀合物, 其中在C2' 和C3' 之间存在双键, 且 R^{12} 为C₁₋₅饱和脂族烷基。
- [3419] 15. 根据声明14的化合物, 其中 R^{12} 为甲基、乙基或丙基。
- [3420] 16. 根据声明1至8中任一项的缀合物, 其中在C2' 和C3' 之间存在双键, 且 R^{12} 为C₃₋₆饱和环烷基。
- [3421] 17. 根据声明16的缀合物, 其中 R^{12} 为环丙基。
- [3422] 18. 根据声明1至8中任一项的缀合物, 其中在C2' 和C3' 之间存在双键, 且 R^{12} 为以下式的基团:



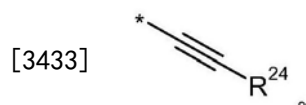
- [3424] 19. 根据声明18的缀合物, 其中 R^{12} 基团中碳原子的总数不超过4。
- [3425] 20. 根据声明19的缀合物, 其中 R^{12} 基团中碳原子的总数不超过3。
- [3426] 21. 根据声明18至20中任一项的缀合物, 其中 R^{21} 、 R^{22} 和 R^{23} 中的一者为H, 其它两个基团选自H、C₁₋₃饱和烷基、C₂₋₃烯基、C₂₋₃炔基和环丙基。
- [3427] 22. 根据声明18至20中任一项的缀合物, 其中 R^{21} 、 R^{22} 和 R^{23} 中的两者为H, 其它基团选自H、C₁₋₃饱和烷基、C₂₋₃烯基、C₂₋₃炔基和环丙基。
- [3428] 23. 根据声明1至8中任一项的缀合物, 其中在C2' 和C3' 之间存在双键, 且 R^{12} 为以下式的基团:



- [3430] 24. 根据声明23的缀合物, 其中 R^{12} 为基团:

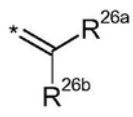


- [3432] 25. 根据声明1至8中任一项的缀合物, 其中在C2' 和C3' 之间存在双键, 且 R^{12} 为以下式的基团:



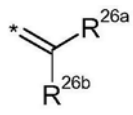
- [3434] 26. 根据声明25的缀合物, 其中 R^{24} 选自H、甲基、乙基、乙烯基和乙炔基。
- [3435] 27. 根据声明26的缀合物, 其中 R^{24} 选自H和甲基。

[3436] 28. 根据声明1至8中任一项的缀合物, 其中C2' 和C3' 之间存在单键, R^{12} 为



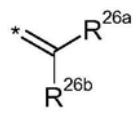
且 R^{26a} 和 R^{26b} 均为H。

[3437] 29. 根据声明1至8中任一项的缀合物, 其中C2' 和C3' 之间存在单键, R^{12} 为



且 R^{26a} 和 R^{26b} 均为甲基。

[3438] 30. 根据声明1至8中任一项的缀合物, 其中C2' 和C3' 之间存在单键, R^{12} 为



R^{26a} 和 R^{26b} 中的一者为H, 且另一者选自 C_{1-4} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基, 其中烷基和烯基被任选取代。

[3439] [式I]

[3440] 31. 根据声明1至30中任一项的缀合物, 其中C2和C3之间存在双键, 且 R^2 为 C_{5-7} 芳基。

[3441] 32. 根据声明31的缀合物, 其中 R^2 为苯基。

[3442] 33. 根据声明1至30中任一项的缀合物, 其中C2和C3之间存在双键, 且 R^1 为 C_{8-10} 芳基。

[3443] 34. 根据声明31至33的化合物, 其中 R^2 具有1至3个取代基。

[3444] 35. 根据声明31至34中任一项的缀合物, 其中所述取代基选自甲氧基、乙氧基、氟、氯、氰基、双-氧基-亚甲基、甲基-哌嗪基、吗啉代和甲基-噻吩基。

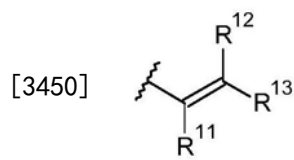
[3445] 36. 根据声明1至30中任一项的缀合物, 其中C2和C3之间存在双键, 且 R^2 为 C_{1-5} 饱和脂族烷基。

[3446] 37. 根据声明36的缀合物, 其中 R^2 为甲基、乙基或丙基。

[3447] 38. 根据声明1至30中任一项的缀合物, 其中C2和C3之间存在双键, 且 R^2 为 C_{3-6} 饱和环烷基。

[3448] 39. 根据声明38的缀合物, 其中 R^2 为环丙基。

[3449] 40. 根据声明1至30中任一项的缀合物, 其中C2和C3之间存在双键, 且 R^2 为以下式的基团:



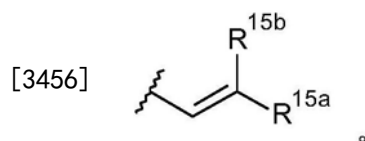
[3451] 41. 根据声明40的缀合物, 其中 R^2 基团中碳原子的总数不超过4。

[3452] 42. 根据声明41的缀合物, 其中 R^2 基团中碳原子的总数不超过3。

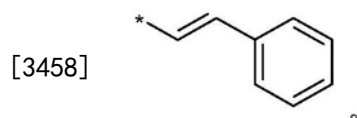
[3453] 43. 根据声明40至42中任一项的缀合物, 其中 R^{11} 、 R^{12} 和 R^{13} 中一者为H, 其它两个基团选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基和环丙基。

[3454] 44. 根据声明40至42中任一项的缀合物, 其中 R^{11} 、 R^{12} 和 R^{13} 中的两者为H, 其它基团选自H、 C_{1-3} 饱和烷基、 C_{2-3} 烯基、 C_{2-3} 炔基和环丙基。

[3455] 45. 根据声明1至30中任一项的缀合物, 其中C2和C3之间存在双键, 且 R^2 为以下式的基团:



[3457] 46. 根据声明45的缀合物, 其中 R^2 为基团:



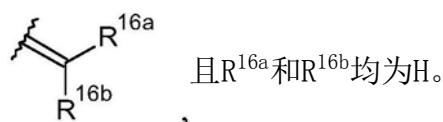
[3459] 47. 根据声明1至30中任一项的缀合物, 其中C2和C3之间存在双键, 且 R^2 为以下式的基团:



[3461] 48. 根据声明47的缀合物, 其中 R^{14} 选自H、甲基、乙基、乙烯基和乙炔基。

[3462] 49. 根据声明47的缀合物, 其中 R^{14} 选自H和甲基。

[3463] 50. 根据声明1至30中任一项的缀合物, 其中C2和C3之间存在单键, R^2 为



[3464] 51. 根据声明1至30中任一项的缀合物, 其中C2和C3之间存在单键, R^2 为



[3465] 52. 根据声明1至30中任一项的缀合物, 其中C2和C3之间存在单键, R^2 为



任选取代。

[3466] 53. 根据声明1至52中任一项的缀合物, 其中 R^{11a} 为OH。

[3467] 54. 根据声明1至53中任一项的缀合物, 其中 R^{21} 为OH。

[3468] 55. 根据声明1至53中任一项的缀合物, 其中 R^{21} 为OMe。

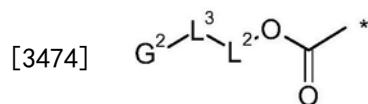
[3469] 56. 根据声明1至55中任一项的缀合物, 其中 R^{20} 为H。

[3470] 57. 根据声明1至55中任一项的缀合物, 其中 R^{20} 为 R^C 。

[3471] 58. 根据声明57的缀合物, 其中 R^C 选自: Alloc、Fmoc、Boc和Troc。

[3472] 59. 根据声明57的缀合物, 其中 R^C 选自: Teoc、Psec、Cbz和PNZ。

[3473] 60. 根据声明57的缀合物, 其中 R^C 为基团:



[3475] 其中,星号表示连接至N10位置的点, G^2 为末端基团, L^3 为共价键或可切割接头, L^1 、 L^2 为共价键或与 $OC(=O)$ 一起形成自分解接头。

[3476] 61.根据声明60的缀合物,其中 G^2 为Ac或Moc,或选自:Alloc、Fmoc、Boc、Troc、Teoc、Psec、Cbz和PNZ。

[3477] 62.根据声明1至53中任一项的缀合物,其中 R^{20} 和 R^{21} 一起形成与它们连接的氮和碳原子之间的双键。

[3478] [式II]

[3479] 63.根据声明1至30中任一项的缀合物,其中 R^{22} 为式IIIa,且A为苯基。

[3480] 64.根据声明1至30和声明63中任一项的缀合物,其中 R^{22} 为式IIa,且 Q^1 为单键。

[3481] 65.根据声明63的缀合物,其中 Q^2 为单键。

[3482] 66.根据声明63的缀合物,其中 Q^2 为 $-Z-(CH_2)_n-$,Z为O或S,且n为1或2。

[3483] 67.根据声明1至30和声明63中任一项的缀合物,其中 R^{22} 为式IIIa,且 Q^1 为 $-CH=CH-$ 。

[3484] 68.根据声明1至30中任一项的缀合物,其中 R^{22} 为式IIIb,且 R^{C1} 、 R^{C2} 和 R^{C3} 各自独立地选自H和甲基。

[3485] 69.根据声明68的缀合物,其中 R^{C1} 、 R^{C2} 和 R^{C3} 全部为H。

[3486] 70.根据声明的缀合物68,其中 R^{C1} 、 R^{C2} 和 R^{C3} 全部为甲基。

[3487] 71.根据声明1至30和声明63至70中任一项的缀合物,其中 R^{22} 为式IIIa或式IIIb,且X选自 $O-R^{L2'}$ 、 $S-R^{L2'}$ 、 $CO_2-R^{L2'}$ 、 $-N-C(=O)-R^{L2'}$ 和 $NH-R^{L2'}$ 。

[3488] 72.根据声明71的缀合物,其中X为 $NH-R^{L2'}$ 。

[3489] 73.根据声明1至30中任一项的缀合物,其中 R^{22} 为式IIIc,且Q为 $NR^N-R^{L2'}$ 。

[3490] 74.根据声明73的缀合物,其中 R^N 为H或甲基。

[3491] 75.根据声明1至30中任一项的缀合物,其中 R^{22} 为式IIIc,且Q为 $O-R^{L2'}$ 或 $S-R^{L2'}$ 。

[3492] 76.根据声明1至30和声明63至75中任一项的缀合物,其中 R^{11} 为OH。

[3493] 77.根据声明1至30和声明63至75中任一项的缀合物,其中 R^{11} 为OMe。

[3494] 78.根据声明1至30和声明63至77中任一项的缀合物,其中 R^{10} 为H。

[3495] 79.根据声明1至30和声明63至75中任一项的缀合物,其中 R^{10} 和 R^{11} 一起形成与它们连接的氮和碳原子之间的双键。

[3496] 80.根据声明1至30和声明63至79中任一项的缀合物,其中 R^{31} 为OH。

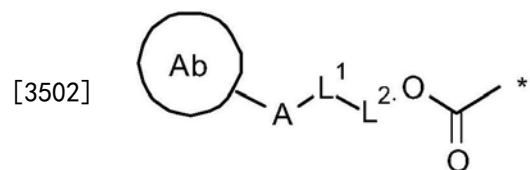
[3497] 81.根据声明1至30和声明63至79中任一项的缀合物,其中 R^{31} 为OMe。

[3498] 82.根据声明1至30和声明63至81中任一项的缀合物,其中 R^{30} 为H。

[3499] 83.根据声明1至30和声明63至79中任一项的缀合物,其中 R^{30} 和 R^{31} 一起形成与它们连接的氮和碳原子之间的双键。

[3500] 84.根据声明1至83中任一项的缀合物,其中 $R^{6'}$ 、 $R^{7'}$ 、 $R^{9'}$ 和 Y' 与 R^6 、 R^7 、 R^9 和Y相同。

[3501] 85.根据声明中任一项的缀合物1至84,其中 $L-R^{L1'}$ 或 $L-R^{L2'}$ 为以下基团:



[3503] 其中,星号表示连接至PBD的点,Ab为抗体, L^1 为可切割接头,A为连接 L^1 至抗体的连接基团, L^2 为共价键或与 $OC(=O)$ 一起形成自分解接头。

[3504] 86.根据声明85的缀合物,其中 L^1 可被酶切割。

[3505] 87.根据声明85或声明86的缀合物,其中 L^1 包含连续的氨基酸序列的氨基酸。

[3506] 88.根据声明87的缀合物,其中 L^1 包含二肽,且二肽 $-NH-X_1-X_2-CO-$ 中的基团 $-X_1-X_2-$ 选自:

[3507] $-Phe-Lys-$,

[3508] $-Val-Ala-$,

[3509] $-Val-Lys-$,

[3510] $-Ala-Lys-$,

[3511] $-Val-Cit-$,

[3512] $-Phe-Cit-$,

[3513] $-Leu-Cit-$,

[3514] $-Ile-Cit-$,

[3515] $-Phe-Arg-$,

[3516] $-Trp-Cit-$ 。

[3517] 89.根据声明88的缀合物,其中二肽 $-NH-X_1-X_2-CO-$ 中的基团 $-X_1-X_2-$ 选自:

[3518] $-Phe-Lys-$,

[3519] $-Val-Ala-$,

[3520] $-Val-Lys-$,

[3521] $-Ala-Lys-$,

[3522] $-Val-Cit-$ 。

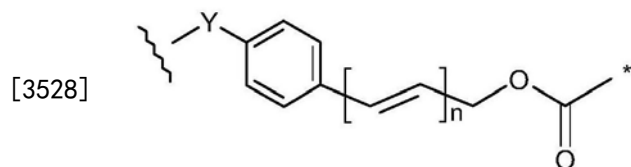
[3523] 90.根据声明89的缀合物,其中二肽 $-NH-X_1-X_2-CO-$ 中的基团 $-X_1-X_2-$ 为 $-Phe-Lys-$ 、 $-Val-Ala-$ 或 $-Val-Cit-$ 。

[3524] 91.根据声明88至90中任一项的缀合物,其中基团 X_2-CO- 连接至 L^2 。

[3525] 92.根据声明88至91中任一项的缀合物,其中基团 $NH-X_1-$ 连接至A。

[3526] 93.根据声明88至92中任一项的缀合物,其中 L^2 与 $OC(=O)$ 一起形成自分解接头。

[3527] 94.根据声明93的缀合物,其中 $C(=O)O$ 和 L^2 一起形成以下基团:

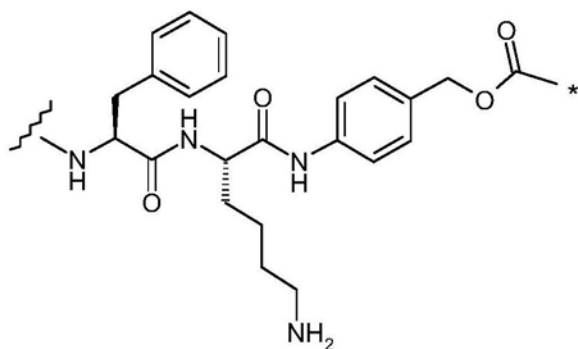


[3529] 其中,星号表示连接至PBD的点,波浪线表示连接至接头 L^1 的点,Y为 NH 、 O 、 $C(=O)NH$ 或 $C(=O)O$,且n为0至3。

[3530] 95.根据声明94的缀合物,其中Y为 NH 。

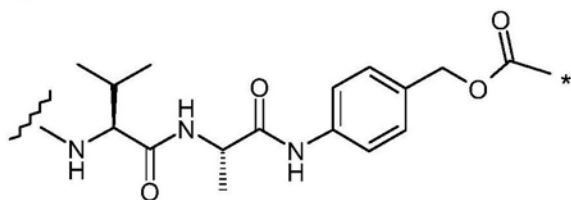
[3531] 96.根据声明94或声明95的缀合物,其中n为0。

[3532] 97.根据声明95的缀合物,其中 L^1 和 L^2 与 $OC(=O)$ 一起包含选自以下的基团:



[3533]

或

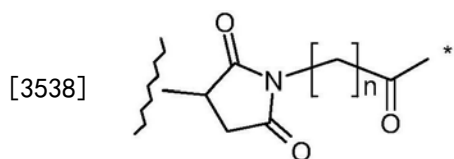


[3534] 其中,星号表示连接至PBD的点,且波浪线表示连接至接头L¹剩余部分的点或连接至A的点。

[3535] 98. 根据声明97的缀合物,其中波浪线表示连接至A的点。

[3536] 99. 根据声明85至98中任一项的缀合物,其中A为:

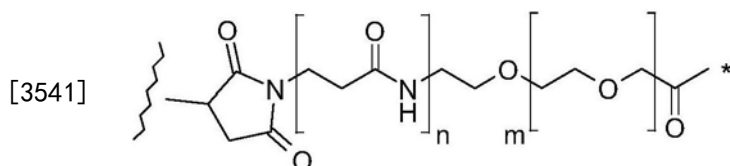
[3537] (i)



[3538]

[3539] 其中星号表示连接至L¹的点,波浪线表示连接至抗体的点,且n为0至6;或

[3540] (ii)

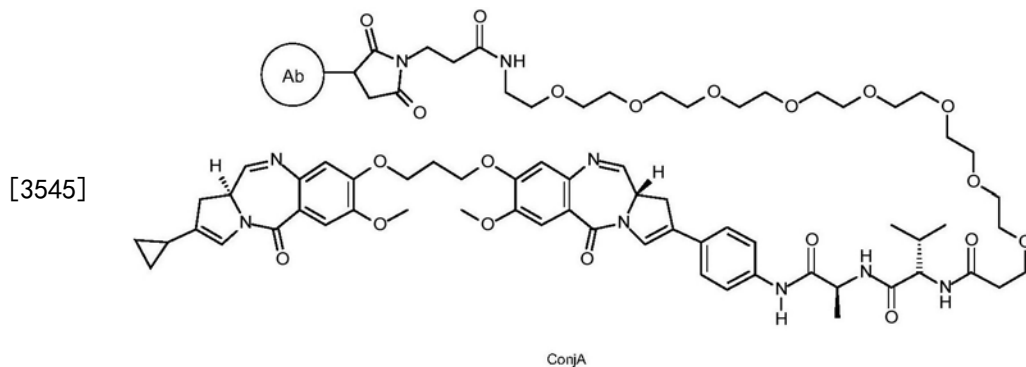


[3541]

[3542] 其中星号表示连接至L¹的点,波浪线表示连接至抗体的点,n为0或1,且m为0至30。

[3543] 100. 根据声明1的缀合物,其为:

[3544] 式ConjA:

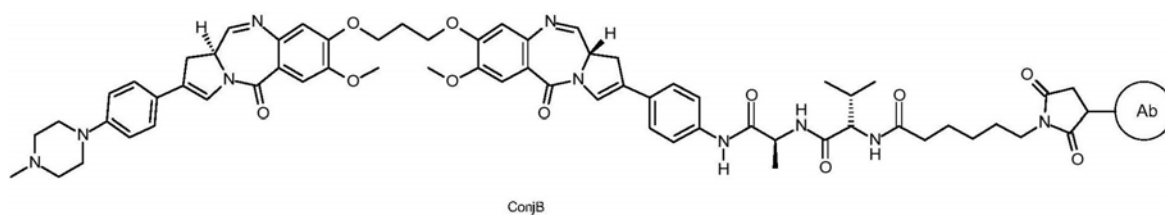


[3545]

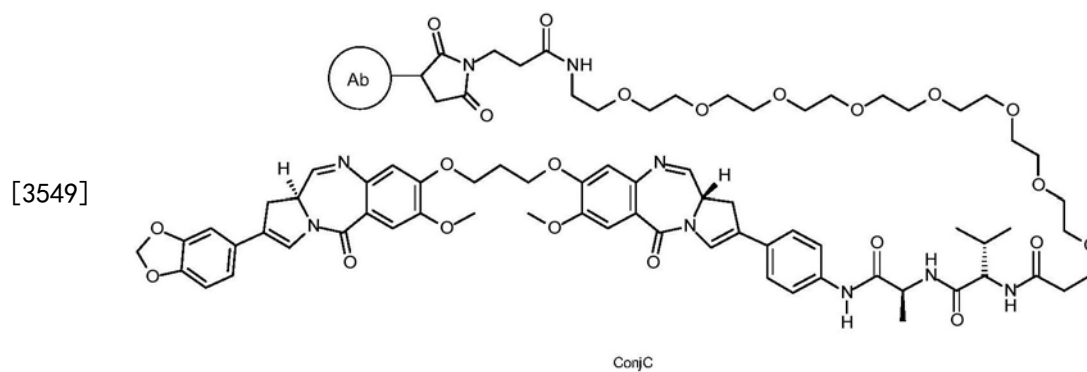
ConjA

[3546] 式ConjB:

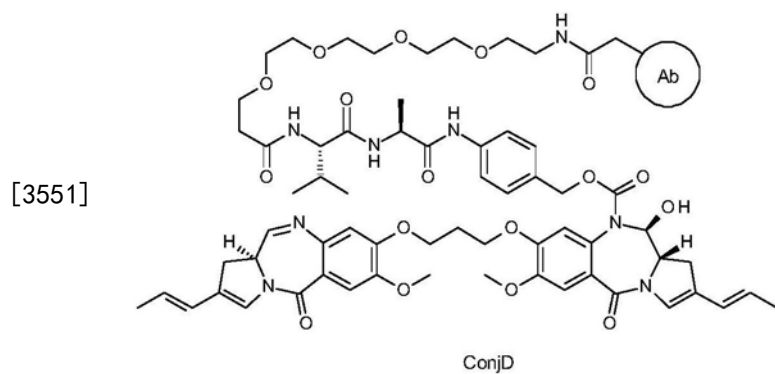
[3547]



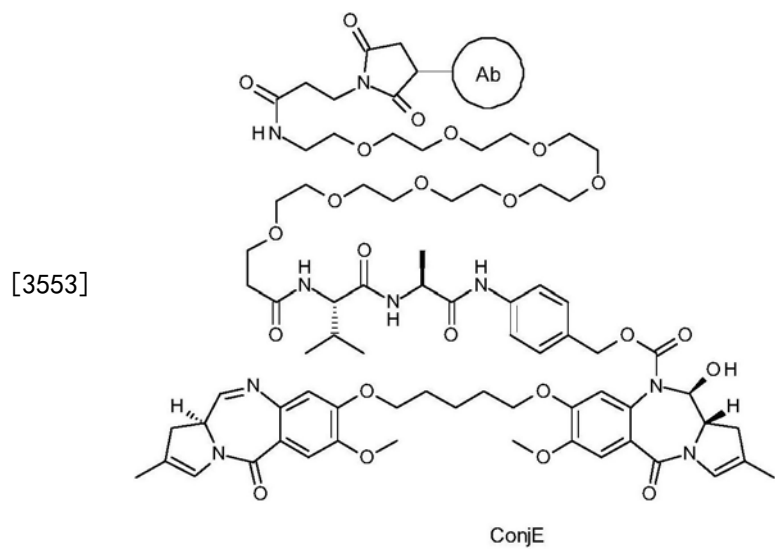
[3548] 式ConjC:



[3550] 式ConjD:

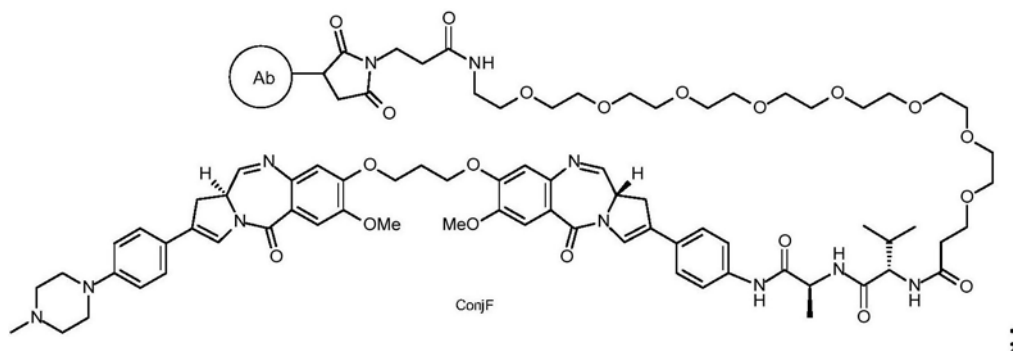


[3552] 式ConjE:



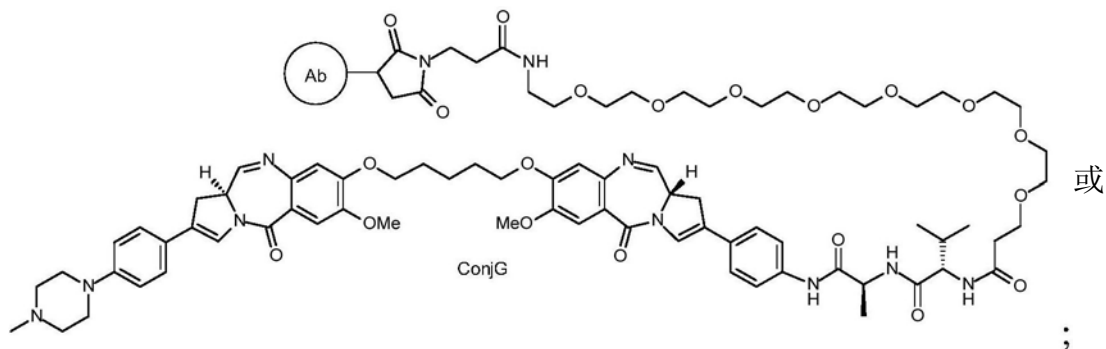
[3554] 式ConjF:

[3555]



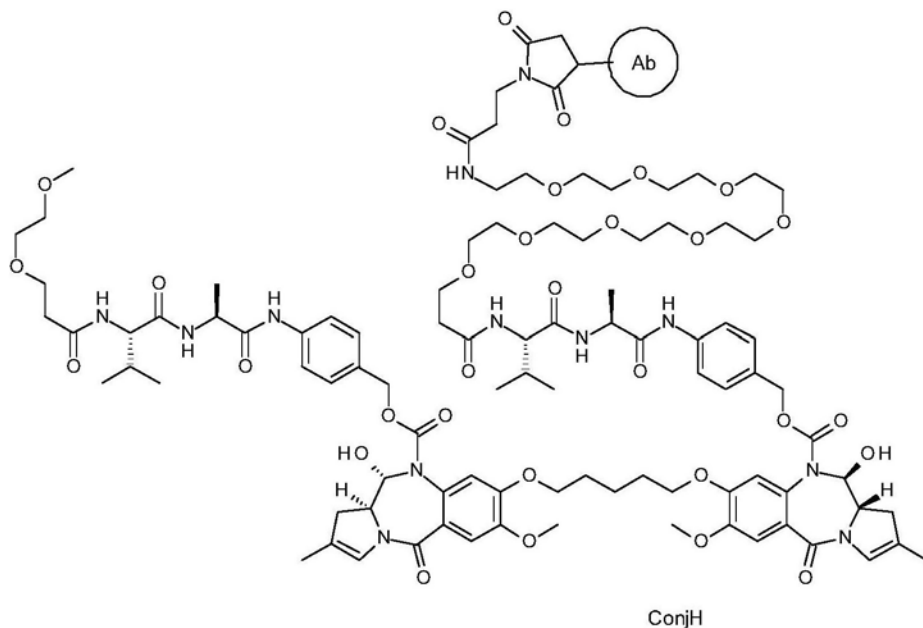
[3556] 式ConjG:

[3557]



[3558] 式ConjH:

[3559]



[3560] 101. 根据声明1至100中任一项的缀合物, 其中该抗体包含非半胱氨酸的氨基酸对链间半胱氨酸残基的氨基酸取代, 且药物在链间半胱氨酸残基处与抗体缀合。

[3561] 102. 根据声明101的缀合物, 其中该抗体包含: 含有SEQ ID NO.110或其片段、SEQ ID NO.120或其片段、SEQ ID NO.130或其片段或SEQ ID NO.140或其片段的氨基酸序列的重链。

[3562] 103. 根据声明102的缀合物, 其中药物缀合至SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸、SEQ ID NO.120中14位的半胱氨酸、SEQ ID NO:120中103位的半胱氨酸、SEQ ID NO.130中14位的半胱氨酸或SEQ ID NO.140中14位的半胱氨酸。

- [3563] 104. 根据声明102或103的缀合物, 其中该抗体包含:
- [3564] 轻链, 其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或其片段, 其中105位的半胱氨酸如果存在, 其被非半胱氨酸的氨基酸取代; 或
- [3565] 轻链, 其包含氨基酸序列SEQ ID NO.160或其片段, 其中102位的半胱氨酸如果存在, 其被非半胱氨酸的氨基酸取代。
- [3566] 105. 根据声明101的缀合物, 其中该抗体包含:
- [3567] 重链, 其包含氨基酸序列SEQ ID NO.110, 和轻链, 其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151、SEQ ID NO.152、SEQ ID NO.153、SEQ ID NO.161、SEQ ID NO.162或SEQ ID NO.163;
- [3568] 任选地, 其中药物缀合至SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸。
- [3569] 106. 根据声明101的缀合物, 其中该抗体包含:
- [3570] 含有氨基酸序列SEQ ID NO.110或其片段的重链, 其中SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸如果存在, 其被非半胱氨酸的氨基酸取代;
- [3571] 含有氨基酸序列SEQ ID NO.120或其片段的重链, 其中SEQ ID NO.120中14位和103位的半胱氨酸如果存在, 其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;
- [3572] 含有氨基酸序列SEQ ID NO.130或其片段的重链, 其中SEQ ID NO:130中14位的半胱氨酸如果存在, 其被非半胱氨酸的氨基酸取代; 或
- [3573] 含有氨基酸序列SEQ ID NO.140或其片段的重链, 其中SEQ ID NO:140中14位的半胱氨酸如果存在, 其被非半胱氨酸的氨基酸取代。
- [3574] 107. 根据声明106的缀合物, 其中该抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的轻链。
- [3575] 108. 根据声明101的缀合物, 其中该抗体包含:
- [3576] 重链, 其包含氨基酸序列SEQ ID NO.111; 和轻链, 其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160。
- [3577] 109. 根据声明101的缀合物, 其中该抗体包含:
- [3578] 重链, 其包含氨基酸序列SEQ ID NO.112; 和轻链, 其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160。
- [3579] 110. 根据声明107至109中任一项的缀合物, 其中药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸或SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。
- [3580] 111. 根据声明101的缀合物, 其中该抗体包含:
- [3581] 含有氨基酸序列SEQ ID NO.110或其片段的重链, 其中SEQ ID NO:110中109位和112位的半胱氨酸如果存在, 其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;
- [3582] 含有氨基酸序列SEQ ID NO.120或其片段的重链, 其中SEQ ID NO:120中103位、106位和109位的半胱氨酸如果存在, 其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;
- [3583] 含有氨基酸序列SEQ ID NO.120或其片段的重链, 其中SEQ ID NO:120中14、106和112位的半胱氨酸如果存在, 其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;
- [3584] 含有氨基酸序列SEQ ID NO.130或其片段的重链, 其中SEQ ID NO:130中111、114、120、126、129、135、141、144、150、156和159位的半胱氨酸如果存在, 其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代; 或

[3585] 含有氨基酸序列SEQ ID NO.140或其片段的重链,其中SEQ ID NO:140中106和109位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[3586] 112.根据声明111的缀合物,SEQ ID NO:120中102位的半胱氨酸如果存在,其也被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[3587] 113.根据声明111或112的缀合物,其中药物缀合至SEQ ID NO:110中103位的半胱氨酸、SEQ ID NO.120中14位的半胱氨酸、SEQ ID NO:120中103位的半胱氨酸、SEQ ID NO.130中14位的半胱氨酸或SEQ ID NO.140中14位的半胱氨酸。

[3588] 114.根据声明111至113中任一项的缀合物,其中该抗体包含:

[3589] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或其片段,其中105位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代;或

[3590] 轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.160或其片段,其中102位的半胱氨酸如果存在,其被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[3591] 115.根据声明101的缀合物,其中该抗体包含:

[3592] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.113;和轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151、SEQ ID NO.152、SEQ ID NO.153、SEQ ID NO.161、SEQ ID NO.162或SEQ ID NO.163;

[3593] 任选地其中药物缀合至SEQ ID NO.113中103位的半胱氨酸。

[3594] 116.根据声明101的缀合物,其中该抗体包含:

[3595] 重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.114;和轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.151、SEQ ID NO.152、SEQ ID NO.153、SEQ ID NO.161、SEQ ID NO.162或SEQ ID NO.163;

[3596] 任选地其中药物缀合至SEQ ID NO.114中103位的半胱氨酸。

[3597] 117.根据声明101的缀合物,其中该抗体包含:

[3598] 含有氨基酸序列SEQ ID NO.110或其片段的重链,其中SEQ ID NO:110中103、109和112位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[3599] 含有氨基酸序列SEQ ID NO.120或其片段的重链,其中SEQ ID NO:120中14、103、106和109位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;

[3600] 含有氨基酸序列SEQ ID NO.130或其片段的重链,其中SEQ ID NO:130中14、111、114、120、126、129、135、141、144、150、156和159位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代;或者

[3601] 含有氨基酸序列SEQ ID NO.140或其片段的重链,其中SEQ ID NO:140中14、106和109位的半胱氨酸如果存在,其各自被非半胱氨酸的氨基酸取代。

[3602] 118.根据声明117的缀合物,其中该抗体包含含有氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160的轻链。

[3603] 119.根据声明101的缀合物,其中该抗体包含:重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.115;和轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160。

[3604] 120.根据声明101的缀合物,其中该抗体包含:重链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.116;和轻链,其包含氨基酸序列SEQ ID NO.150或SEQ ID NO.160。

[3605] 121.根据声明118的缀合物,其中药物缀合至SEQ ID NO:150中105位的半胱氨酸、

SEQ ID NO:160中102位的半胱氨酸。

[3606] 122.根据声明1至100中任一项的缀合物,其中该抗体包含在按照Kabat的EUindex编号系统为234位和/或按照Kabat的EUindex编号系统为235位的残基具有氨基酸取代的重链。

[3607] 123.根据声明122的缀合物,其中该抗体包含在按照Kabat的EUindex编号系统为234位和按照Kabat的EUindex编号系统为235位的残基具有氨基酸取代的重链。

[3608] 124.根据声明122的缀合物,其中该抗体包含:含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,且其中117位的亮氨酸和/或118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代。

[3609] 125.根据声明124的缀合物,其中该抗体包含:含有SEQ ID NO.110的氨基酸序列的重链,且其中117位的亮氨酸和118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代。

[3610] 126.根据声明122的缀合物,其中该抗体包含:含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链,且其中164位的亮氨酸和/或165位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代。

[3611] 127.根据声明126的缀合物,其中该抗体包含:含有SEQ ID NO.130的氨基酸序列的重链,且其中164位的亮氨酸和165位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代。

[3612] 128.根据声明122的缀合物,其中该抗体包含:含有SEQ ID NO.140的氨基酸序列的重链,且其中115位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代。

[3613] 129.根据声明102至121中任一项的缀合物,其中:

[3614] SEQ ID NO:110中117位的亮氨酸和/或SEQ ID NO:110中118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代;

[3615] SEQ ID NO:130中164位的亮氨酸和/或SEQ ID NO:130中165位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代;或

[3616] SEQ ID NO:140中115位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代。

[3617] 130.根据声明129的缀合物,其中:

[3618] SEQ ID NO:110中117位的亮氨酸和SEQ ID NO:110中118位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代;或

[3619] SEQ ID NO:130中164位的亮氨酸和SEQ ID NO:130中165位的亮氨酸被非亮氨酸的氨基酸所取代。

[3620] 131.根据声明122至130中任一项的缀合物,其中被取代的氨基酸被丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸或异亮氨酸替换。

[3621] 132.根据声明122至131中任一项的缀合物,其中被取代的氨基酸被丙氨酸替换。

[3622] 133.根据声明1至132中任一项的缀合物,其中该抗体包含V_H结构域,且任选地还包含V_L结构域。

[3623] 134.根据声明1至132中任一项的缀合物,其中该抗体或抗体片段结合至一个或多个选自(1)-(88)的肿瘤相关的抗原或细胞表面受体:

[3624] (1) BMPR1B; (2) E16; (3) STEAP1; (4) 0772P; (5) MPF; (6) Napi3b; (7) Sema 5b; (8) PSCA hlg; (9) ETBR; (10) MSG783; (11) STEAP2; (12) TrpM4; (13) CRIPTO; (14) CD21; (15) CD79b; (16) FcRH2; (18) NCA; (19) MDP; (20) IL20R- α ; (21) Brevican; (22) EphB2R; (23) ASLG659; (24) PSCA; (25) GEDA; (26) BAFF-R; (28) CD79a; (29) CXCR5; (30) HLA-DOB; (31) P2X5; (32) CD72; (33) LY64; (34) FcRH1; (35) IRTA2; (36) TENB2; (38) SST; (38.1) SSTR2;

(38.2) SSTR5; (38.3) SSTR1; (38.4) SSTR3; (38.5) SSTR4; (39) ITGAV; (40) ITGB6; (41) CEACAM5; (42) MET; (44) CA9; (45) EGFRvIII; (46) CD33; (50) CD30-TNFRSF8; (51) BCMA-TNFRSF17; (52) CT Ags-CTA; (53) CD174 (Lewis Y) -FUT3; (54) CLEC14A; (55) GRP78-HSPA5; (56) CD70; (57) 干细胞特异性抗原; (58) ASG-5; (59) ENPP3; (60) PRR4; (61) GCC-GUCY2C; (62) Liv-1-SLC39A6; (63) 5T4; (64) CD56-NCMA1; (65) CanAg; (66) FOLR1; (67) GPNMB; (68) TIM-1-HAVCR1; (69) RG-1/前列腺肿瘤靶向Mindin-Mindin/RG-1; (70) B7-H4-VTCN1; (71) PTK7; (72) CD37; (73) CD138-SDC1; (74) CD74; (75) Claudins-CLs; (76) EGFR; (77) Her3; (78) RON-MST1R; (79) EPHA2; (80) CD20-MS4A1; (81) 肌腱蛋白C-TNC; (82) FAP; (83) DKK-1; (84) CD52; (85) CS1-SLAMF7; (86) Endoglin-ENG; (87) 膜联蛋白A1-ANXA1; (88) V-CAM (CD106) -VCAM1。

[3625] 135. 根据前述声明中任一项的缀合物, 其中该抗体为完整抗体。

[3626] 136. 根据前述声明中任一项的缀合物, 其中该抗体为人源化的、去免疫化的或表面重建的。

[3627] 137. 根据前述声明中任一项的缀合物, 其中在以单次剂量递送时, 该缀合物在大鼠中的最大耐受剂量为至少2.0mg/kg。

[3628] 138. 根据前述声明中任一项的缀合物, 其中药物 (D) 对抗体 (Ab) 的载药量 (p) 为2或4。

[3629] 139. 根据声明1至138中任一项的缀合物, 其用于治疗。

[3630] 140. 根据声明1至138中任一项的缀合物, 其用于在受试者中治疗增殖性疾病。

[3631] 141. 根据声明140的缀合物, 其中该疾病为癌症。

[3632] 142. 药物组合物, 其包含根据声明1至138中任一项的缀合物, 以及药学上可接受的稀释剂、载体或赋形剂。

[3633] 143. 根据声明142的药物组合物, 其还包含治疗有效量的化疗剂。

[3634] 144. 根据声明1至138中任一项的缀合物在制备用于在受试者中治疗增殖性疾病的药物中的用途。

[3635] 145. 治疗癌症的方法, 包括向患者给药根据声明142的药物组合物。

[3636] 146. 根据声明145的方法, 其中向该患者给药化疗剂与所述缀合物的组合。

[3637] 序列

[3638] SEQ ID NO.110 (IgG1 HC恒定区)

[3639] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3640] SEQ ID NO.1101 (IgG1 HC恒定区, L117A)

[3641] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEALGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW

QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3642] SEQ ID NO.1102 (IgG1 HC恒定区,L118A)

[3643] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3644] SEQ ID NO.1103 (IgG1 HC恒定区,L117A & L118A)

[3645] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3646] SEQ ID NO.1104 (IgG1 HC恒定区,L117G & L118G)

[3647] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3648] SEQ ID NO.1105 (IgG1 HC恒定区,L117V & L118V)

[3649] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEVGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3650] SEQ ID NO.1106 (IgG1 HC恒定区,L117I & L118I)

[3651] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEIIGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3652] SEQ ID NO.111 (IgG1 HC恒定区,HJ C→S)

[3653] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3654] SEQ ID NO.1111 (IgG1 HC恒定区,HJ C→S,L117A)

[3655] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSSDKTHTCPPCPAPEALGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3656] SEQ ID NO.1112 (IgG1 HC恒定区, HJ C→S, L118A)

[3657] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSSDKTHTCPPCPAPELAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3658] SEQ ID NO.1113 (IgG1 HC恒定区, HJ C→S, L117A & L118A)

[3659] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3660] SEQ ID NO.1114 (IgG1 HC恒定区, HJ C→S, L117G & L118G)

[3661] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSSDKTHTCPPCPAPEGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3662] SEQ ID NO.1115 (IgG1 HC恒定区, HJ C→S, L117V & L118V)

[3663] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSSDKTHTCPPCPAPEVGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3664] SEQ ID NO.1116 (IgG1 HC恒定区, HJ C→S, L117I & L118I)

[3665] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSSDKTHTCPPCPAPEIIGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3666] SEQ ID NO.112 (IgG1 HC恒定区, HJ C→V)

[3667] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSVDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW

QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3668] SEQ ID NO.1121 (IgG1 HC恒定区, HJ C→V, L117A)

[3669] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSVDKTHTCPPCPAPEALGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3670] SEQ ID NO.1122 (IgG1 HC恒定区, HJ C→V, L118A)

[3671] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSVDKTHTCPPCPAPELAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3672] SEQ ID NO.1123 (IgG1 HC恒定区, HJ C→V, L117A & L118A)

[3673] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSVDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3674] SEQ ID NO.1124 (IgG1 HC恒定区, HJ C→V, L117G & L118G)

[3675] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSVDKTHTCPPCPAPEGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3676] SEQ ID NO.1125 (IgG1 HC恒定区, HJ C→V, L117V & L118V)

[3677] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSVDKTHTCPPCPAPEVGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3678] SEQ ID NO.1126 (IgG1 HC恒定区, HJ C→V, L117I & L118I)

[3679] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSVDKTHTCPPCPAPEIIGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3680] SEQ ID NO.113 (IgG1 HC恒定区, BJ C→S)

[3681] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSVDKTHTCPPCPAPEIIGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTSPSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3682] SEQ ID NO.1131 (IgG1 HC恒定区,BJ C→S,L117A)

[3683] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTSPSPAPEALGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3684] SEQ ID NO.1132 (IgG1 HC恒定区,BJ C→S,L118A)

[3685] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTSPSPAPELAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3686] SEQ ID NO.1133 (IgG1 HC恒定区,BJ C→S,L117A & L118A)

[3687] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTSPSPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3688] SEQ ID NO.1134 (IgG1 HC恒定区,BJ C→S,L117G & L118G)

[3689] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTSPSPAPEGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3690] SEQ ID NO.1135 (IgG1 HC恒定区,BJC→S,L117V & L118V)

[3691] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTSPSPAPEVGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3692] SEQ ID NO.1136 (IgG1 HC恒定区,BJ C→S,L117I & L118I)

[3693] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTSPSPAPEIIGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW

QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3694] SEQ ID NO.114 (IgG1 HC恒定区, BJ C→V)

[3695] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTVPPVPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3696] SEQ ID NO.1141 (IgG1 HC恒定区, BJ C→V, L117A)

[3697] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTVPPVPAPEALGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3698] SEQ ID NO.1142 (IgG1 HC恒定区, BJ C→V, L118A)

[3699] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTVPPVPAPELAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3700] SEQ ID NO.1143 (IgG1 HC恒定区, BJ C→V, L117A & L118A)

[3701] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTVPPVPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3702] SEQ ID NO.1144 (IgG1 HC恒定区, BJ C→V, L117G & L118G)

[3703] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTVPPVPAPEGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3704] SEQ ID NO.1145 (IgG1 HC恒定区, BJ C→V, L117V & L118V)

[3705] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTVPPVPAPEVGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3706] SEQ ID NO.1146 (IgG1 HC恒定区, BJC→V, L117I & L118I)

[3707] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTVPPVPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSSDKTHTVPPVPAPETIIGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3708] SEQ ID NO.115 (IgG1 HC恒定区,DJ C→S)

[3709] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSSDKTHTSPPSPAPELGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3710] SEQ ID NO.1151 (IgG1 HC恒定区,DJ C→S,L117A)

[3711] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSSDKTHTSPPSPAPEALGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3712] SEQ ID NO.1152 (IgG1 HC恒定区,DJ C→S,L118A)

[3713] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSSDKTHTSPPSPAPELAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3714] SEQ ID NO.1153 (IgG1 HC恒定区,DJ C→S,L117A & L118A)

[3715] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSSDKTHTSPPSPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3716] SEQ ID NO.1154 (IgG1 HC恒定区,DJ C→S,L117G & L118G)

[3717] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSSDKTHTSPPSPAPEGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3718] SEQ ID NO.1155 (IgG1 HC恒定区,DJ C→S,L117V & L118V)

[3719] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSSDKTHTSPPSPAPEVGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW

QQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3720] SEQ ID NO.1156 (IgG1 HC恒定区,DJ C→S,L117I & L118I)

[3721] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSSDKTHTSPSPAPEIIIGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3722] SEQ ID NO.116 (IgG1 HC恒定区,DJ C→V)

[3723] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSSDKTHTVPPVPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3724] SEQ ID NO.1161 (IgG1 HC恒定区,DJ C→V,L117A)

[3725] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSSDKTHTVPPVPAPEALGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3726] SEQ ID NO.1162 (IgG1 HC恒定区,DJ C→V,L118A)

[3727] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSSDKTHTVPPVPAPELAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3728] SEQ ID NO.1163 (IgG1 HC恒定区,DJ C→V,L117A & L118A)

[3729] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSSDKTHTVPPVPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3730] SEQ ID NO.1164 (IgG1 HC恒定区,DJ C→V,L117G & L118G)

[3731] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSSDKTHTVPPVPAPEGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3732] SEQ ID NO.1165 (IgG1 HC恒定区,DJ C→V,L117V & L118V)

[3733] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV

TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSVDKTHTVPPVPAPPEVVGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3734] SEQ ID NO.1166 (IgG1 HC恒定区,DJ C→V,L117I & L118I)

[3735] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSVDKTHTVPPVPAPPEIIGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3736] SEQ ID NO.120 (IgG2 HC恒定区)

[3737] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSNFGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKTVKCCVECPAPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPR
EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[3738] SEQ ID NO.130 (IgG3 HC恒定区)

[3739] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKRVELKTPLGDTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPE
PKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESSGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCFSVMHEALHNHFTQKSLSLSPGK

[3740] SEQ ID NO.131 (IgG3 HC恒定区,L164A)

[3741] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKRVELKTPLGDTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPE
PKSCDTPPPCPRCPAPEALGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESSGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCFSVMHEALHNHFTQKSLSLSPGK

[3742] SEQ ID NO.132 (IgG3 HC恒定区,L165A)

[3743] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKRVELKTPLGDTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPE
PKSCDTPPPCPRCPAPELAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESSGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCFSVMHEALHNHFTQKSLSLSPGK

[3744] SEQ ID NO.133 (IgG3 HC恒定区,L164A & L165A)

[3745] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKRVELKTPLGDTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPE
PKSCDTPPPCPRCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK

- GFYPSDIAVEWESSGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMEALHNHFTQKSLSLSPGK
- [3746] SEQ ID NO.134 (IgG3 HC恒定区, L164G & L165G)
- [3747] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRVELKTPLGDTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPAVEGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMEALHNHFTQKSLSLSPGK
- [3748] SEQ ID NO.135 (IgG3 HC恒定区, L164V & L165V)
- [3749] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRVELKTPLGDTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPAVEVGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMEALHNHFTQKSLSLSPGK
- [3750] SEQ ID NO.136 (IgG3 HC恒定区, L164I & L165I)
- [3751] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRVELKTPLGDTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPAVEIIGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMEALHNHFTQKSLSLSPGK
- [3752] SEQ ID NO.140 (IgG4 HC恒定区)
- [3753] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVERESKYGPPCSCPAPEFLGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSEQDEPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK
- [3754] SEQ ID NO.141 (IgG4 HC恒定区, L115A)
- [3755] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVERESKYGPPCSCPAPEFAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSEQDEPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK
- [3756] SEQ ID NO.142 (IgG4 HC恒定区, L115G)
- [3757] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVERESKYGPPCSCPAPEFAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSEQDEPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK
- [3758] SEQ ID NO.143 (IgG4 HC恒定区, L115V)
- [3759] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVERESKYGPPCSCPAPEFAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSEQDEPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK

TVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFVGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEG
NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK

[3760] SEQ ID NO.144 (IgG4 HC恒定区,L115I)

[3761] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFIGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEG
NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK

[3762] SEQ ID NO.150 (κLC恒定区)

[3763] VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST
LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[3764] SEQ ID NO.151 (κLC恒定区,C105S)

[3765] VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST
LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGES

[3766] SEQ ID NO.152 (κLC恒定区,C105V)

[3767] VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST
LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEV

[3768] SEQ ID NO.153 (κLC恒定区,C105del)

[3769] VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST
LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE

[3770] SEQ ID NO.160 (λLC恒定区)

[3771] KAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYL
SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

[3772] SEQ ID NO.161 (λLC恒定区,C102S)

[3773] KAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYL
SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTESS

[3774] SEQ ID NO.162 (λLC恒定区,C102V)

[3775] KAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYL
SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTEVS

[3776] SEQ ID NO.163 (λLC恒定区,C102&S 103del)

[3777] KAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYL
SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTE

序列表

<110> 医学免疫有限公司 (MEDIMMUNE LIMITED)

<120> 位点特异性抗体-药物缀合物

<130> RKA/7169162

<150> GB 1506389.4

<151> 2015-04-15

<160> 1166

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<400> 1

000

<210> 2

<400> 2

000

<210> 3

<400> 3

000

<210> 4

<400> 4

000

<210> 5

<400> 5

000

<210> 6

<400> 6

000

<210> 7

<400> 7

000

<210> 8

<400> 8

000

<210> 9

<400> 9

000

<210> 10

<400> 10

000

<210> 11
<400> 11
000
<210> 12
<400> 12
000
<210> 13
<400> 13
000
<210> 14
<400> 14
000
<210> 15
<400> 15
000
<210> 16
<400> 16
000
<210> 17
<400> 17
000
<210> 18
<400> 18
000
<210> 19
<400> 19
000
<210> 20
<400> 20
000
<210> 21
<400> 21
000
<210> 22
<400> 22
000
<210> 23
<400> 23
000

<210> 24
<400> 24
000
<210> 25
<400> 25
000
<210> 26
<400> 26
000
<210> 27
<400> 27
000
<210> 28
<400> 28
000
<210> 29
<400> 29
000
<210> 30
<400> 30
000
<210> 31
<400> 31
000
<210> 32
<400> 32
000
<210> 33
<400> 33
000
<210> 34
<400> 34
000
<210> 35
<400> 35
000
<210> 36
<400> 36
000

<210> 37
<400> 37
000
<210> 38
<400> 38
000
<210> 39
<400> 39
000
<210> 40
<400> 40
000
<210> 41
<400> 41
000
<210> 42
<400> 42
000
<210> 43
<400> 43
000
<210> 44
<400> 44
000
<210> 45
<400> 45
000
<210> 46
<400> 46
000
<210> 47
<400> 47
000
<210> 48
<400> 48
000
<210> 49
<400> 49
000

<210> 50
<400> 50
000
<210> 51
<400> 51
000
<210> 52
<400> 52
000
<210> 53
<400> 53
000
<210> 54
<400> 54
000
<210> 55
<400> 55
000
<210> 56
<400> 56
000
<210> 57
<400> 57
000
<210> 58
<400> 58
000
<210> 59
<400> 59
000
<210> 60
<400> 60
000
<210> 61
<400> 61
000
<210> 62
<400> 62
000

<210> 63
<400> 63
000
<210> 64
<400> 64
000
<210> 65
<400> 65
000
<210> 66
<400> 66
000
<210> 67
<400> 67
000
<210> 68
<400> 68
000
<210> 69
<400> 69
000
<210> 70
<400> 70
000
<210> 71
<400> 71
000
<210> 72
<400> 72
000
<210> 73
<400> 73
000
<210> 74
<400> 74
000
<210> 75
<400> 75
000

<210> 76
<400> 76
000
<210> 77
<400> 77
000
<210> 78
<400> 78
000
<210> 79
<400> 79
000
<210> 80
<400> 80
000
<210> 81
<400> 81
000
<210> 82
<400> 82
000
<210> 83
<400> 83
000
<210> 84
<400> 84
000
<210> 85
<400> 85
000
<210> 86
<400> 86
000
<210> 87
<400> 87
000
<210> 88
<400> 88
000

<210> 89
<400> 89
000
<210> 90
<400> 90
000
<210> 91
<400> 91
000
<210> 92
<400> 92
000
<210> 93
<400> 93
000
<210> 94
<400> 94
000
<210> 95
<400> 95
000
<210> 96
<400> 96
000
<210> 97
<400> 97
000
<210> 98
<400> 98
000
<210> 99
<400> 99
000
<210> 100
<400> 100
000
<210> 101
<400> 101
000

<210> 102

<400> 102

000

<210> 103

<400> 103

000

<210> 104

<400> 104

000

<210> 105

<400> 105

000

<210> 106

<400> 106

000

<210> 107

<400> 107

000

<210> 108

<400> 108

000

<210> 109

<400> 109

000

<210> 110

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区

<400> 110

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70					75					80
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85						90					95	
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
			100						105				110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
			115					120				125			
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
			130				135				140				
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145					150					155					160
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
			165						170					175	
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
			180					185					190		
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
			195				200					205			
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
			210				215				220				
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225					230					235					240
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
			245						250					255	
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
			260					265					270		
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
			275					280				285			
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
			290				295				300				
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305					310					315					320
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
			325						330						

<210> 111

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, HJ C->S

<400> 111

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
			35				40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
		50				55					60				
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70				75					80	
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85					90					95		
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
			100					105					110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
			115				120					125			
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
			130				135					140			
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145					150				155					160	
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
			165					170					175		
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
			180					185				190			
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
			195				200					205			
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
			210				215				220				
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225					230				235					240	
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
			245					250					255		
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
			260					265				270			
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
			275				280					285			
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn

290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser	Val Met His Glu Ala	Leu His Asn His Tyr Thr
305	310	315 320
Gln Lys Ser Leu Ser	Leu Ser Pro Gly Lys	
	325	330
<210> 112		
<211> 330		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的IgG1 HC恒定区, HJ C→V		
<400> 112		
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys		
1	5	10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
	20	25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		
	35	40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
	50	55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		
65	70	75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
	85	90 95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys		
	100	105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
	115	120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
	130	135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
145	150	155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
	165	170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
	180	185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
	195	200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		

210	215	220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu		
225	230	235
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		240
	245	250
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		255
	260	265
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		270
	275	280
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		285
290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
305	310	315
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		320
	325	330
<210> 113		
<211> 330		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的IgG1 HC恒定区, BJ C->S		
<400> 113		
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys		
1	5	10
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
	20	25
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		30
	35	40
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		45
50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		
65	70	75
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		80
	85	90
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser		95
	100	105
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		110
	115	120
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		125

130	135	140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
145	150	155
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
165	170	175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
180	185	190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
195	200	205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
210	215	220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu		
225	230	235
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
245	250	255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
260	265	270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
305	310	315
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
325	330	

<210> 114

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, BJ C->V

<400> 114

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		
65	70	75
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		80
	85	90
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Val Pro Pro Val		95
100	105	110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
115	120	125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
130	135	140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
145	150	155
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
	165	170
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		175
180	185	190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
195	200	205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
210	215	220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu		
225	230	235
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
	245	250
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		255
260	265	270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
305	310	315
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		320
	325	330

<210> 115

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, DJ C→S

<400> 115

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
			35					40					45		
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
			50					55					60		
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70					75					80
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
				85						90					95
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Ser	Pro	Pro	Ser
				100						105				110	
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
				115						120				125	
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
				130						135				140	
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145						150					155				160
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
				165						170					175
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
				180						185				190	
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
				195						200				205	
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
				210						215				220	
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225						230					235				240
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
				245						250					255
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
				260						265				270	
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
				275						280					285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330
 <210> 116
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的IgG1 HC恒定区, DJ C->V
 <400> 116
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Val Asp Lys Thr His Thr Val Pro Pro Val
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 117

<400> 117

000

<210> 118

<400> 118

000

<210> 119

<400> 119

000

<210> 120

<211> 326

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG2 HC恒定区

<400> 120

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr		
65	70	75
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		80
	85	90
Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro		95
	100	105
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp		110
	115	120
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp		125
	130	140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly		
145	150	155
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn		160
	165	170
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp		175
	180	185
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro		190
	195	200
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu		205
	210	215
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn		220
225	230	235
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile		240
	245	250
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr		255
	260	265
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys		270
	275	280
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys		285
	290	295
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu		300
305	310	315
Ser Leu Ser Pro Gly Lys		320
	325	
<210> 121		
<400> 121		
000		
<210> 122		

<400> 122

000

<210> 123

<400> 123

000

<210> 124

<400> 124

000

<210> 125

<400> 125

000

<210> 126

<400> 126

000

<210> 127

<400> 127

000

<210> 128

<400> 128

000

<210> 129

<400> 129

000

<210> 130

<211> 377

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG3 HC恒定区

<400> 130

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65	70	75	80
Tyr Thr Cys Asn Val	Asn His Lys Pro Ser	Asn Thr Lys Val	Asp Lys
85	90	95	
Arg Val Glu Leu Lys	Thr Pro Leu Gly Asp	Thr Thr His Thr	Cys Pro
100	105	110	
Arg Cys Pro Glu Pro	Lys Ser Cys Asp Thr	Pro Pro Pro Cys	Pro Arg
115	120	125	
Cys Pro Glu Pro Lys	Ser Cys Asp Thr Pro	Pro Pro Cys Pro	Arg Cys
130	135	140	
Pro Glu Pro Lys Ser	Cys Asp Thr Pro Pro	Pro Cys Pro Arg	Cys Pro
145	150	155	160
Ala Pro Glu Leu Leu	Gly Gly Pro Ser Val	Phe Leu Phe Pro	Pro Lys
165	170	175	
Pro Lys Asp Thr Leu	Met Ile Ser Arg Thr	Pro Glu Val Thr	Cys Val
180	185	190	
Val Val Asp Val Ser	His Glu Asp Pro Glu	Val Gln Phe Asn	Trp Tyr
195	200	205	
Val Asp Gly Val Glu	Val His Asn Ala Lys	Thr Lys Pro Arg	Glu Glu
210	215	220	
Gln Tyr Asn Ser Thr	Tyr Arg Val Val Ser	Val Leu Thr Val	Leu His
225	230	235	240
Gln Asp Trp Leu Asn	Gly Lys Glu Tyr Lys	Cys Lys Val Ser	Asn Lys
245	250	255	
Ala Leu Pro Ala Pro	Ile Glu Lys Thr Ile	Ser Lys Thr Lys	Gly Gln
260	265	270	
Pro Arg Glu Pro Gln	Val Tyr Thr Leu Pro	Pro Ser Arg Glu	Glu Met
275	280	285	
Thr Lys Asn Gln Val	Ser Leu Thr Cys Leu	Val Lys Gly Phe	Tyr Pro
290	295	300	
Ser Asp Ile Ala Val	Glu Trp Glu Ser Ser	Gly Gln Pro Glu	Asn Asn
305	310	315	320
Tyr Lys Thr Thr Pro	Pro Val Leu Asp Ser	Asp Gly Ser Phe	Phe Leu
325	330	335	
Tyr Ser Lys Leu Thr	Val Asp Lys Ser Arg	Trp Gln Gln Gly	Asn Ile
340	345	350	
Phe Ser Cys Ser Val	Met His Glu Ala Leu	His Asn His Phe	Thr Gln
355	360	365	
Lys Ser Leu Ser Leu	Ser Pro Gly Lys		
370	375		

<210> 131

<211> 377

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG3 HC恒定区, L164A

<400> 131

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
		35					40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
	50					55					60				
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70				75					80	
Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85					90					95		
Arg	Val	Glu	Leu	Lys	Thr	Pro	Leu	Gly	Asp	Thr	Thr	His	Thr	Cys	Pro
		100						105					110		
Arg	Cys	Pro	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Cys	Pro	Arg
	115						120					125			
Cys	Pro	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Cys	Pro	Arg	Cys
	130						135					140			
Pro	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Cys	Pro	Arg	Cys	Pro
145					150				155					160	
Ala	Pro	Glu	Ala	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys
			165					170					175		
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val
		180						185					190		
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr
	195						200					205			
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu
	210					215					220				
Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His
225					230				235					240	
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
			245					250					255		

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln		
260	265	270
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met		
275	280	285
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro		
290	295	300
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn		
305	310	315
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu		
325	330	335
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile		
340	345	350
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Phe Thr Gln		
355	360	365
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
370	375	

<210> 132

<211> 377

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG3 HC恒定区, L165A

<400> 132

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg		
1	5	10
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
20	25	30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		
35	40	45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		
65	70	75
Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
85	90	95
Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro		
100	105	110
Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg		
115	120	125

Cys	Pro	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Cys	Pro	Arg	Cys
130						135						140			
Pro	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Cys	Pro	Arg	Cys	Pro
145					150					155				160	
Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys
				165					170					175	
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val
			180					185						190	
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr
		195					200					205			
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu
		210				215					220				
Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His
225					230					235					240
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
				245						250				255	
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln
			260						265					270	
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met
		275						280					285		
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
		290				295					300				
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Ser	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
305					310					315					320
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
				325					330				335		
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Ile
			340					345					350		
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Phe	Thr	Gln
		355					360						365		
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys							
		370					375								

<210> 133

<211> 377

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG3 HC恒定区, L164A & L165A

<400> 133

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
		35					40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
	50					55					60				
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70				75					80	
Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85					90					95		
Arg	Val	Glu	Leu	Lys	Thr	Pro	Leu	Gly	Asp	Thr	Thr	His	Thr	Cys	Pro
		100						105					110		
Arg	Cys	Pro	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Cys	Pro	Arg
	115						120					125			
Cys	Pro	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Cys	Pro	Arg	Cys
	130					135					140				
Pro	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Cys	Pro	Arg	Cys	Pro
145					150				155					160	
Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys
			165					170					175		
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val
		180						185					190		
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr
	195						200					205			
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu
	210					215					220				
Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His
225					230				235					240	
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
			245					250					255		
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln
		260						265					270		
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met
	275						280					285			
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
	290					295					300				
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Ser	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn

305	310	315	320
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu			
	325	330	335
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile			
	340	345	350
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Phe Thr Gln			
	355	360	365
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	370	375	
<210> 134			
<211> 377			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的IgG3 HC恒定区, L164G & L165G			
<400> 134			
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg			
1	5	10	15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr			
	20	25	30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser			
	35	40	45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser			
	50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr			
65	70	75	80
Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys			
	85	90	95
Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro			
	100	105	110
Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg			
	115	120	125
Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys			
	130	135	140
Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro			
145	150	155	160
Ala Pro Glu Gly Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys			
	165	170	175
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val			

180	185	190
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr		
195	200	205
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu		
210	215	220
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		
225	230	235
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys		
245	250	255
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln		
260	265	270
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met		
275	280	285
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro		
290	295	300
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn		
305	310	315
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu		
325	330	335
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile		
340	345	350
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Phe Thr Gln		
355	360	365
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
370	375	

<210> 135

<211> 377

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG3 HC恒定区, L164V & L165V

<400> 135

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg		
1	5	10
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
20	25	30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		
35	40	45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		

50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		
65	70	75
Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		80
	85	90
Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro		95
	100	105
Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg		110
	115	120
Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys		125
	130	135
Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro		140
	145	150
Ala Pro Glu Val Val Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys		155
	165	170
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val		175
	180	185
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr		190
	195	200
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu		205
	210	215
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His		220
	225	230
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys		235
	245	250
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln		255
	260	265
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met		270
	275	280
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro		285
	290	295
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn		300
	305	310
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu		315
	325	330
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile		335
	340	345
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Phe Thr Gln		350
	355	360
		365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

370

375

<210> 136

<211> 377

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG3 HC恒定区, L164I & L165I

<400> 136

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1

5

10

15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20

25

30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35

40

45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50

55

60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65

70

75

80

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85

90

95

Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro

100

105

110

Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg

115

120

125

Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys

130

135

140

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro

145

150

155

160

Ala Pro Glu Ile Ile Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

165

170

175

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

180

185

190

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr

195

200

205

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

210

215

220

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

225

230

235

240

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys			
	245	250	255
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln			
	260	265	270
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met			
	275	280	285
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro			
	290	295	300
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn			
305	310	315	320
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu			
	325	330	335
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile			
	340	345	350
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Phe Thr Gln			
	355	360	365
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	370	375	
<210> 137			
<400> 137			
000			
<210> 138			
<400> 138			
000			
<210> 139			
<400> 139			
000			
<210> 140			
<211> 327			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的IgG4 HC恒定区			
<400> 140			
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg			
1	5	10	15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr			
	20	25	30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser			

35	40	45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr		
65	70	75
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
85	90	95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro		
100	105	110
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys		
115	120	125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val		
130	135	140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp		
145	150	155
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe		
165	170	175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp		
180	185	190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu		
195	200	205
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg		
210	215	220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys		
225	230	235
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp		
245	250	255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys		
260	265	270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser		
275	280	285
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser		
290	295	300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser		
305	310	315
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys		
325		

<210> 141

<211> 327

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG4 HC恒定区, L115A

<400> 141

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
			35				40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
			50				55					60			
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr
65					70				75					80	
Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85					90						95	
Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Ser	Cys	Pro	Ala	Pro
			100					105					110		
Glu	Phe	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
			115				120					125			
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
			130				135					140			
Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
145					150				155					160	
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe
				165					170					175	
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
			180					185					190		
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu
			195				200					205			
Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
			210				215					220			
Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys
225					230					235				240	
Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp
				245					250					255	
Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys
			260					265						270	

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320
 Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 325

<210> 142

<211> 327

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG4 HC恒定区, L115G

<400> 142

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
 65 70 75 80
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 Glu Phe Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 165 170 175
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320
 Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 325

<210> 143

<211> 327

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG4 HC恒定区, L115V

<400> 143

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
 65 70 75 80
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
 100 105 110

Glu Phe Val Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 165 170 175
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320
 Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 325

<210> 144

<211> 327

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG4 HC恒定区, L115I

<400> 144

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
35				40				45							
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
50				55				60							
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr
65				70				75				80			
Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
85				90				95							
Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Ser	Cys	Pro	Ala	Pro
100				105				110							
Glu	Phe	Ile	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
115				120				125							
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
130				135				140							
Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
145				150				155				160			
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe
165				170				175							
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
180				185				190							
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu
195				200				205							
Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
210				215				220							
Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys
225				230				235				240			
Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp
245				250				255							
Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys
260				265				270							
Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser
275				280				285							
Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser
290				295				300							
Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser
305				310				315				320			
Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys									
325															

<210> 145

<400> 145

000

<210> 146

<400> 146

000

<210> 147

<400> 147

000

<210> 148

<400> 148

000

<210> 149

<400> 149

000

<210> 150

<211> 105

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> kappa LC恒定区

<400> 150

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

1 5 10 15

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

20 25 30

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

35 40 45

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

50 55 60

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

65 70 75 80

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

85 90 95

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 151

<211> 105

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> kappa LC恒定区, C105S

<400> 151

Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu
1				5					10					15	
Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro
			20					25					30		
Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly
		35					40					45			
Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr
	50					55					60				
Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His
65					70				75					80	
Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val
				85					90					95	
Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Ser							
			100					105							

<210> 152

<211> 105

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> kappa LC恒定区, C105V

<400> 152

Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu
1				5					10					15	
Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro
			20					25					30		
Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly
		35					40					45			
Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr
	50					55					60				
Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His
65					70				75					80	
Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val
				85					90					95	
Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Val							
			100					105							

<210> 153

<211> 104
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> kappa LC恒定区, C105del
 <400> 153
 Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
 1 5 10 15
 Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
 20 25 30
 Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
 35 40 45
 Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
 50 55 60
 Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
 65 70 75 80
 Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
 85 90 95
 Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
 100
 <210> 154
 <400> 154
 000
 <210> 155
 <400> 155
 000
 <210> 156
 <400> 156
 000
 <210> 157
 <400> 157
 000
 <210> 158
 <400> 158
 000
 <210> 159
 <400> 159
 000
 <210> 160

<211> 103

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> lambda LC恒定区

<400> 160

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
1 5 10 15
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
 20 25 30
Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
 35 40 45
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
50 55 60
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
65 70 75 80
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
 85 90 95
Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 100

<210> 161

<211> 103

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> lambda LC恒定区, C102S

<400> 161

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
1 5 10 15
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
 20 25 30
Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
 35 40 45
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
50 55 60
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
65 70 75 80
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
 85 90 95

Val Ala Pro Thr Glu Ser Ser
100

<210> 162

<211> 103

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> lambda LC恒定区, C102V

<400> 162

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
1 5 10 15
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
 20 25 30
Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
 35 40 45
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
 50 55 60
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
65 70 75 80
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
 85 90 95
Val Ala Pro Thr Glu Val Ser
100

<210> 163

<211> 101

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> lambda LC恒定区, C102&S103del

<400> 163

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
1 5 10 15
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
 20 25 30
Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
 35 40 45
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
 50 55 60
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg

65	70	75	80
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr			
	85	90	95
Val Ala Pro Thr Glu			
100			
<210> 164			
<400> 164			
000			
<210> 165			
<400> 165			
000			
<210> 166			
<400> 166			
000			
<210> 167			
<400> 167			
000			
<210> 168			
<400> 168			
000			
<210> 169			
<400> 169			
000			
<210> 170			
<400> 170			
000			
<210> 171			
<400> 171			
000			
<210> 172			
<400> 172			
000			
<210> 173			
<400> 173			
000			
<210> 174			
<400> 174			
000			
<210> 175			

<400> 175
000
<210> 176
<400> 176
000
<210> 177
<400> 177
000
<210> 178
<400> 178
000
<210> 179
<400> 179
000
<210> 180
<400> 180
000
<210> 181
<400> 181
000
<210> 182
<400> 182
000
<210> 183
<400> 183
000
<210> 184
<400> 184
000
<210> 185
<400> 185
000
<210> 186
<400> 186
000
<210> 187
<400> 187
000
<210> 188

<400> 188
000
<210> 189
<400> 189
000
<210> 190
<400> 190
000
<210> 191
<400> 191
000
<210> 192
<400> 192
000
<210> 193
<400> 193
000
<210> 194
<400> 194
000
<210> 195
<400> 195
000
<210> 196
<400> 196
000
<210> 197
<400> 197
000
<210> 198
<400> 198
000
<210> 199
<400> 199
000
<210> 200
<400> 200
000
<210> 201

<400> 201
000
<210> 202
<400> 202
000
<210> 203
<400> 203
000
<210> 204
<400> 204
000
<210> 205
<400> 205
000
<210> 206
<400> 206
000
<210> 207
<400> 207
000
<210> 208
<400> 208
000
<210> 209
<400> 209
000
<210> 210
<400> 210
000
<210> 211
<400> 211
000
<210> 212
<400> 212
000
<210> 213
<400> 213
000
<210> 214

<400> 214
000
<210> 215
<400> 215
000
<210> 216
<400> 216
000
<210> 217
<400> 217
000
<210> 218
<400> 218
000
<210> 219
<400> 219
000
<210> 220
<400> 220
000
<210> 221
<400> 221
000
<210> 222
<400> 222
000
<210> 223
<400> 223
000
<210> 224
<400> 224
000
<210> 225
<400> 225
000
<210> 226
<400> 226
000
<210> 227

<400> 227
000
<210> 228
<400> 228
000
<210> 229
<400> 229
000
<210> 230
<400> 230
000
<210> 231
<400> 231
000
<210> 232
<400> 232
000
<210> 233
<400> 233
000
<210> 234
<400> 234
000
<210> 235
<400> 235
000
<210> 236
<400> 236
000
<210> 237
<400> 237
000
<210> 238
<400> 238
000
<210> 239
<400> 239
000
<210> 240

<400> 240
000
<210> 241
<400> 241
000
<210> 242
<400> 242
000
<210> 243
<400> 243
000
<210> 244
<400> 244
000
<210> 245
<400> 245
000
<210> 246
<400> 246
000
<210> 247
<400> 247
000
<210> 248
<400> 248
000
<210> 249
<400> 249
000
<210> 250
<400> 250
000
<210> 251
<400> 251
000
<210> 252
<400> 252
000
<210> 253

<400> 253
000
<210> 254
<400> 254
000
<210> 255
<400> 255
000
<210> 256
<400> 256
000
<210> 257
<400> 257
000
<210> 258
<400> 258
000
<210> 259
<400> 259
000
<210> 260
<400> 260
000
<210> 261
<400> 261
000
<210> 262
<400> 262
000
<210> 263
<400> 263
000
<210> 264
<400> 264
000
<210> 265
<400> 265
000
<210> 266

<400> 266
000
<210> 267
<400> 267
000
<210> 268
<400> 268
000
<210> 269
<400> 269
000
<210> 270
<400> 270
000
<210> 271
<400> 271
000
<210> 272
<400> 272
000
<210> 273
<400> 273
000
<210> 274
<400> 274
000
<210> 275
<400> 275
000
<210> 276
<400> 276
000
<210> 277
<400> 277
000
<210> 278
<400> 278
000
<210> 279

<400> 279
000
<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
<400> 300
000
<210> 301
<400> 301
000
<210> 302
<400> 302
000
<210> 303
<400> 303
000
<210> 304
<400> 304
000
<210> 305

<400> 305
000
<210> 306
<400> 306
000
<210> 307
<400> 307
000
<210> 308
<400> 308
000
<210> 309
<400> 309
000
<210> 310
<400> 310
000
<210> 311
<400> 311
000
<210> 312
<400> 312
000
<210> 313
<400> 313
000
<210> 314
<400> 314
000
<210> 315
<400> 315
000
<210> 316
<400> 316
000
<210> 317
<400> 317
000
<210> 318

<400> 318
000
<210> 319
<400> 319
000
<210> 320
<400> 320
000
<210> 321
<400> 321
000
<210> 322
<400> 322
000
<210> 323
<400> 323
000
<210> 324
<400> 324
000
<210> 325
<400> 325
000
<210> 326
<400> 326
000
<210> 327
<400> 327
000
<210> 328
<400> 328
000
<210> 329
<400> 329
000
<210> 330
<400> 330
000
<210> 331

<400> 331
000
<210> 332
<400> 332
000
<210> 333
<400> 333
000
<210> 334
<400> 334
000
<210> 335
<400> 335
000
<210> 336
<400> 336
000
<210> 337
<400> 337
000
<210> 338
<400> 338
000
<210> 339
<400> 339
000
<210> 340
<400> 340
000
<210> 341
<400> 341
000
<210> 342
<400> 342
000
<210> 343
<400> 343
000
<210> 344

<400> 344
000
<210> 345
<400> 345
000
<210> 346
<400> 346
000
<210> 347
<400> 347
000
<210> 348
<400> 348
000
<210> 349
<400> 349
000
<210> 350
<400> 350
000
<210> 351
<400> 351
000
<210> 352
<400> 352
000
<210> 353
<400> 353
000
<210> 354
<400> 354
000
<210> 355
<400> 355
000
<210> 356
<400> 356
000
<210> 357

<400> 357
000
<210> 358
<400> 358
000
<210> 359
<400> 359
000
<210> 360
<400> 360
000
<210> 361
<400> 361
000
<210> 362
<400> 362
000
<210> 363
<400> 363
000
<210> 364
<400> 364
000
<210> 365
<400> 365
000
<210> 366
<400> 366
000
<210> 367
<400> 367
000
<210> 368
<400> 368
000
<210> 369
<400> 369
000
<210> 370

<400> 370
000
<210> 371
<400> 371
000
<210> 372
<400> 372
000
<210> 373
<400> 373
000
<210> 374
<400> 374
000
<210> 375
<400> 375
000
<210> 376
<400> 376
000
<210> 377
<400> 377
000
<210> 378
<400> 378
000
<210> 379
<400> 379
000
<210> 380
<400> 380
000
<210> 381
<400> 381
000
<210> 382
<400> 382
000
<210> 383

<400> 383
000
<210> 384
<400> 384
000
<210> 385
<400> 385
000
<210> 386
<400> 386
000
<210> 387
<400> 387
000
<210> 388
<400> 388
000
<210> 389
<400> 389
000
<210> 390
<400> 390
000
<210> 391
<400> 391
000
<210> 392
<400> 392
000
<210> 393
<400> 393
000
<210> 394
<400> 394
000
<210> 395
<400> 395
000
<210> 396

<400> 396
000
<210> 397
<400> 397
000
<210> 398
<400> 398
000
<210> 399
<400> 399
000
<210> 400
<400> 400
000
<210> 401
<400> 401
000
<210> 402
<400> 402
000
<210> 403
<400> 403
000
<210> 404
<400> 404
000
<210> 405
<400> 405
000
<210> 406
<400> 406
000
<210> 407
<400> 407
000
<210> 408
<400> 408
000
<210> 409

<400> 409
000
<210> 410
<400> 410
000
<210> 411
<400> 411
000
<210> 412
<400> 412
000
<210> 413
<400> 413
000
<210> 414
<400> 414
000
<210> 415
<400> 415
000
<210> 416
<400> 416
000
<210> 417
<400> 417
000
<210> 418
<400> 418
000
<210> 419
<400> 419
000
<210> 420
<400> 420
000
<210> 421
<400> 421
000
<210> 422

<400> 422
000
<210> 423
<400> 423
000
<210> 424
<400> 424
000
<210> 425
<400> 425
000
<210> 426
<400> 426
000
<210> 427
<400> 427
000
<210> 428
<400> 428
000
<210> 429
<400> 429
000
<210> 430
<400> 430
000
<210> 431
<400> 431
000
<210> 432
<400> 432
000
<210> 433
<400> 433
000
<210> 434
<400> 434
000
<210> 435

<400> 435
000
<210> 436
<400> 436
000
<210> 437
<400> 437
000
<210> 438
<400> 438
000
<210> 439
<400> 439
000
<210> 440
<400> 440
000
<210> 441
<400> 441
000
<210> 442
<400> 442
000
<210> 443
<400> 443
000
<210> 444
<400> 444
000
<210> 445
<400> 445
000
<210> 446
<400> 446
000
<210> 447
<400> 447
000
<210> 448

<400> 448
000
<210> 449
<400> 449
000
<210> 450
<400> 450
000
<210> 451
<400> 451
000
<210> 452
<400> 452
000
<210> 453
<400> 453
000
<210> 454
<400> 454
000
<210> 455
<400> 455
000
<210> 456
<400> 456
000
<210> 457
<400> 457
000
<210> 458
<400> 458
000
<210> 459
<400> 459
000
<210> 460
<400> 460
000
<210> 461

<400> 461
000
<210> 462
<400> 462
000
<210> 463
<400> 463
000
<210> 464
<400> 464
000
<210> 465
<400> 465
000
<210> 466
<400> 466
000
<210> 467
<400> 467
000
<210> 468
<400> 468
000
<210> 469
<400> 469
000
<210> 470
<400> 470
000
<210> 471
<400> 471
000
<210> 472
<400> 472
000
<210> 473
<400> 473
000
<210> 474

<400> 474
000
<210> 475
<400> 475
000
<210> 476
<400> 476
000
<210> 477
<400> 477
000
<210> 478
<400> 478
000
<210> 479
<400> 479
000
<210> 480
<400> 480
000
<210> 481
<400> 481
000
<210> 482
<400> 482
000
<210> 483
<400> 483
000
<210> 484
<400> 484
000
<210> 485
<400> 485
000
<210> 486
<400> 486
000
<210> 487

<400> 487
000
<210> 488
<400> 488
000
<210> 489
<400> 489
000
<210> 490
<400> 490
000
<210> 491
<400> 491
000
<210> 492
<400> 492
000
<210> 493
<400> 493
000
<210> 494
<400> 494
000
<210> 495
<400> 495
000
<210> 496
<400> 496
000
<210> 497
<400> 497
000
<210> 498
<400> 498
000
<210> 499
<400> 499
000
<210> 500

<400> 500
000
<210> 501
<400> 501
000
<210> 502
<400> 502
000
<210> 503
<400> 503
000
<210> 504
<400> 504
000
<210> 505
<400> 505
000
<210> 506
<400> 506
000
<210> 507
<400> 507
000
<210> 508
<400> 508
000
<210> 509
<400> 509
000
<210> 510
<400> 510
000
<210> 511
<400> 511
000
<210> 512
<400> 512
000
<210> 513

<400> 513
000
<210> 514
<400> 514
000
<210> 515
<400> 515
000
<210> 516
<400> 516
000
<210> 517
<400> 517
000
<210> 518
<400> 518
000
<210> 519
<400> 519
000
<210> 520
<400> 520
000
<210> 521
<400> 521
000
<210> 522
<400> 522
000
<210> 523
<400> 523
000
<210> 524
<400> 524
000
<210> 525
<400> 525
000
<210> 526

<400> 526
000
<210> 527
<400> 527
000
<210> 528
<400> 528
000
<210> 529
<400> 529
000
<210> 530
<400> 530
000
<210> 531
<400> 531
000
<210> 532
<400> 532
000
<210> 533
<400> 533
000
<210> 534
<400> 534
000
<210> 535
<400> 535
000
<210> 536
<400> 536
000
<210> 537
<400> 537
000
<210> 538
<400> 538
000
<210> 539

<400> 539
000
<210> 540
<400> 540
000
<210> 541
<400> 541
000
<210> 542
<400> 542
000
<210> 543
<400> 543
000
<210> 544
<400> 544
000
<210> 545
<400> 545
000
<210> 546
<400> 546
000
<210> 547
<400> 547
000
<210> 548
<400> 548
000
<210> 549
<400> 549
000
<210> 550
<400> 550
000
<210> 551
<400> 551
000
<210> 552

<400> 552
000
<210> 553
<400> 553
000
<210> 554
<400> 554
000
<210> 555
<400> 555
000
<210> 556
<400> 556
000
<210> 557
<400> 557
000
<210> 558
<400> 558
000
<210> 559
<400> 559
000
<210> 560
<400> 560
000
<210> 561
<400> 561
000
<210> 562
<400> 562
000
<210> 563
<400> 563
000
<210> 564
<400> 564
000
<210> 565

<400> 565
000
<210> 566
<400> 566
000
<210> 567
<400> 567
000
<210> 568
<400> 568
000
<210> 569
<400> 569
000
<210> 570
<400> 570
000
<210> 571
<400> 571
000
<210> 572
<400> 572
000
<210> 573
<400> 573
000
<210> 574
<400> 574
000
<210> 575
<400> 575
000
<210> 576
<400> 576
000
<210> 577
<400> 577
000
<210> 578

<400> 578
000
<210> 579
<400> 579
000
<210> 580
<400> 580
000
<210> 581
<400> 581
000
<210> 582
<400> 582
000
<210> 583
<400> 583
000
<210> 584
<400> 584
000
<210> 585
<400> 585
000
<210> 586
<400> 586
000
<210> 587
<400> 587
000
<210> 588
<400> 588
000
<210> 589
<400> 589
000
<210> 590
<400> 590
000
<210> 591

<400> 591
000
<210> 592
<400> 592
000
<210> 593
<400> 593
000
<210> 594
<400> 594
000
<210> 595
<400> 595
000
<210> 596
<400> 596
000
<210> 597
<400> 597
000
<210> 598
<400> 598
000
<210> 599
<400> 599
000
<210> 600
<400> 600
000
<210> 601
<400> 601
000
<210> 602
<400> 602
000
<210> 603
<400> 603
000
<210> 604

<400> 604
000
<210> 605
<400> 605
000
<210> 606
<400> 606
000
<210> 607
<400> 607
000
<210> 608
<400> 608
000
<210> 609
<400> 609
000
<210> 610
<400> 610
000
<210> 611
<400> 611
000
<210> 612
<400> 612
000
<210> 613
<400> 613
000
<210> 614
<400> 614
000
<210> 615
<400> 615
000
<210> 616
<400> 616
000
<210> 617

<400> 617
000
<210> 618
<400> 618
000
<210> 619
<400> 619
000
<210> 620
<400> 620
000
<210> 621
<400> 621
000
<210> 622
<400> 622
000
<210> 623
<400> 623
000
<210> 624
<400> 624
000
<210> 625
<400> 625
000
<210> 626
<400> 626
000
<210> 627
<400> 627
000
<210> 628
<400> 628
000
<210> 629
<400> 629
000
<210> 630

<400> 630
000
<210> 631
<400> 631
000
<210> 632
<400> 632
000
<210> 633
<400> 633
000
<210> 634
<400> 634
000
<210> 635
<400> 635
000
<210> 636
<400> 636
000
<210> 637
<400> 637
000
<210> 638
<400> 638
000
<210> 639
<400> 639
000
<210> 640
<400> 640
000
<210> 641
<400> 641
000
<210> 642
<400> 642
000
<210> 643

<400> 643
000
<210> 644
<400> 644
000
<210> 645
<400> 645
000
<210> 646
<400> 646
000
<210> 647
<400> 647
000
<210> 648
<400> 648
000
<210> 649
<400> 649
000
<210> 650
<400> 650
000
<210> 651
<400> 651
000
<210> 652
<400> 652
000
<210> 653
<400> 653
000
<210> 654
<400> 654
000
<210> 655
<400> 655
000
<210> 656

<400> 656
000
<210> 657
<400> 657
000
<210> 658
<400> 658
000
<210> 659
<400> 659
000
<210> 660
<400> 660
000
<210> 661
<400> 661
000
<210> 662
<400> 662
000
<210> 663
<400> 663
000
<210> 664
<400> 664
000
<210> 665
<400> 665
000
<210> 666
<400> 666
000
<210> 667
<400> 667
000
<210> 668
<400> 668
000
<210> 669

<400> 669
000
<210> 670
<400> 670
000
<210> 671
<400> 671
000
<210> 672
<400> 672
000
<210> 673
<400> 673
000
<210> 674
<400> 674
000
<210> 675
<400> 675
000
<210> 676
<400> 676
000
<210> 677
<400> 677
000
<210> 678
<400> 678
000
<210> 679
<400> 679
000
<210> 680
<400> 680
000
<210> 681
<400> 681
000
<210> 682

<400> 682
000
<210> 683
<400> 683
000
<210> 684
<400> 684
000
<210> 685
<400> 685
000
<210> 686
<400> 686
000
<210> 687
<400> 687
000
<210> 688
<400> 688
000
<210> 689
<400> 689
000
<210> 690
<400> 690
000
<210> 691
<400> 691
000
<210> 692
<400> 692
000
<210> 693
<400> 693
000
<210> 694
<400> 694
000
<210> 695

<400> 695
000
<210> 696
<400> 696
000
<210> 697
<400> 697
000
<210> 698
<400> 698
000
<210> 699
<400> 699
000
<210> 700
<400> 700
000
<210> 701
<400> 701
000
<210> 702
<400> 702
000
<210> 703
<400> 703
000
<210> 704
<400> 704
000
<210> 705
<400> 705
000
<210> 706
<400> 706
000
<210> 707
<400> 707
000
<210> 708

<400> 708
000
<210> 709
<400> 709
000
<210> 710
<400> 710
000
<210> 711
<400> 711
000
<210> 712
<400> 712
000
<210> 713
<400> 713
000
<210> 714
<400> 714
000
<210> 715
<400> 715
000
<210> 716
<400> 716
000
<210> 717
<400> 717
000
<210> 718
<400> 718
000
<210> 719
<400> 719
000
<210> 720
<400> 720
000
<210> 721

<400> 721
000
<210> 722
<400> 722
000
<210> 723
<400> 723
000
<210> 724
<400> 724
000
<210> 725
<400> 725
000
<210> 726
<400> 726
000
<210> 727
<400> 727
000
<210> 728
<400> 728
000
<210> 729
<400> 729
000
<210> 730
<400> 730
000
<210> 731
<400> 731
000
<210> 732
<400> 732
000
<210> 733
<400> 733
000
<210> 734

<400> 734
000
<210> 735
<400> 735
000
<210> 736
<400> 736
000
<210> 737
<400> 737
000
<210> 738
<400> 738
000
<210> 739
<400> 739
000
<210> 740
<400> 740
000
<210> 741
<400> 741
000
<210> 742
<400> 742
000
<210> 743
<400> 743
000
<210> 744
<400> 744
000
<210> 745
<400> 745
000
<210> 746
<400> 746
000
<210> 747

<400> 747
000
<210> 748
<400> 748
000
<210> 749
<400> 749
000
<210> 750
<400> 750
000
<210> 751
<400> 751
000
<210> 752
<400> 752
000
<210> 753
<400> 753
000
<210> 754
<400> 754
000
<210> 755
<400> 755
000
<210> 756
<400> 756
000
<210> 757
<400> 757
000
<210> 758
<400> 758
000
<210> 759
<400> 759
000
<210> 760

<400> 760
000
<210> 761
<400> 761
000
<210> 762
<400> 762
000
<210> 763
<400> 763
000
<210> 764
<400> 764
000
<210> 765
<400> 765
000
<210> 766
<400> 766
000
<210> 767
<400> 767
000
<210> 768
<400> 768
000
<210> 769
<400> 769
000
<210> 770
<400> 770
000
<210> 771
<400> 771
000
<210> 772
<400> 772
000
<210> 773

<400> 773
000
<210> 774
<400> 774
000
<210> 775
<400> 775
000
<210> 776
<400> 776
000
<210> 777
<400> 777
000
<210> 778
<400> 778
000
<210> 779
<400> 779
000
<210> 780
<400> 780
000
<210> 781
<400> 781
000
<210> 782
<400> 782
000
<210> 783
<400> 783
000
<210> 784
<400> 784
000
<210> 785
<400> 785
000
<210> 786

<400> 786
000
<210> 787
<400> 787
000
<210> 788
<400> 788
000
<210> 789
<400> 789
000
<210> 790
<400> 790
000
<210> 791
<400> 791
000
<210> 792
<400> 792
000
<210> 793
<400> 793
000
<210> 794
<400> 794
000
<210> 795
<400> 795
000
<210> 796
<400> 796
000
<210> 797
<400> 797
000
<210> 798
<400> 798
000
<210> 799

<400> 799
000
<210> 800
<400> 800
000
<210> 801
<400> 801
000
<210> 802
<400> 802
000
<210> 803
<400> 803
000
<210> 804
<400> 804
000
<210> 805
<400> 805
000
<210> 806
<400> 806
000
<210> 807
<400> 807
000
<210> 808
<400> 808
000
<210> 809
<400> 809
000
<210> 810
<400> 810
000
<210> 811
<400> 811
000
<210> 812

<400> 812
000
<210> 813
<400> 813
000
<210> 814
<400> 814
000
<210> 815
<400> 815
000
<210> 816
<400> 816
000
<210> 817
<400> 817
000
<210> 818
<400> 818
000
<210> 819
<400> 819
000
<210> 820
<400> 820
000
<210> 821
<400> 821
000
<210> 822
<400> 822
000
<210> 823
<400> 823
000
<210> 824
<400> 824
000
<210> 825

<400> 825
000
<210> 826
<400> 826
000
<210> 827
<400> 827
000
<210> 828
<400> 828
000
<210> 829
<400> 829
000
<210> 830
<400> 830
000
<210> 831
<400> 831
000
<210> 832
<400> 832
000
<210> 833
<400> 833
000
<210> 834
<400> 834
000
<210> 835
<400> 835
000
<210> 836
<400> 836
000
<210> 837
<400> 837
000
<210> 838

<400> 838
000
<210> 839
<400> 839
000
<210> 840
<400> 840
000
<210> 841
<400> 841
000
<210> 842
<400> 842
000
<210> 843
<400> 843
000
<210> 844
<400> 844
000
<210> 845
<400> 845
000
<210> 846
<400> 846
000
<210> 847
<400> 847
000
<210> 848
<400> 848
000
<210> 849
<400> 849
000
<210> 850
<400> 850
000
<210> 851

<400> 851
000
<210> 852
<400> 852
000
<210> 853
<400> 853
000
<210> 854
<400> 854
000
<210> 855
<400> 855
000
<210> 856
<400> 856
000
<210> 857
<400> 857
000
<210> 858
<400> 858
000
<210> 859
<400> 859
000
<210> 860
<400> 860
000
<210> 861
<400> 861
000
<210> 862
<400> 862
000
<210> 863
<400> 863
000
<210> 864

<400> 864
000
<210> 865
<400> 865
000
<210> 866
<400> 866
000
<210> 867
<400> 867
000
<210> 868
<400> 868
000
<210> 869
<400> 869
000
<210> 870
<400> 870
000
<210> 871
<400> 871
000
<210> 872
<400> 872
000
<210> 873
<400> 873
000
<210> 874
<400> 874
000
<210> 875
<400> 875
000
<210> 876
<400> 876
000
<210> 877

<400> 877
000
<210> 878
<400> 878
000
<210> 879
<400> 879
000
<210> 880
<400> 880
000
<210> 881
<400> 881
000
<210> 882
<400> 882
000
<210> 883
<400> 883
000
<210> 884
<400> 884
000
<210> 885
<400> 885
000
<210> 886
<400> 886
000
<210> 887
<400> 887
000
<210> 888
<400> 888
000
<210> 889
<400> 889
000
<210> 890

<400> 890
000
<210> 891
<400> 891
000
<210> 892
<400> 892
000
<210> 893
<400> 893
000
<210> 894
<400> 894
000
<210> 895
<400> 895
000
<210> 896
<400> 896
000
<210> 897
<400> 897
000
<210> 898
<400> 898
000
<210> 899
<400> 899
000
<210> 900
<400> 900
000
<210> 901
<400> 901
000
<210> 902
<400> 902
000
<210> 903

<400> 903
000
<210> 904
<400> 904
000
<210> 905
<400> 905
000
<210> 906
<400> 906
000
<210> 907
<400> 907
000
<210> 908
<400> 908
000
<210> 909
<400> 909
000
<210> 910
<400> 910
000
<210> 911
<400> 911
000
<210> 912
<400> 912
000
<210> 913
<400> 913
000
<210> 914
<400> 914
000
<210> 915
<400> 915
000
<210> 916

<400> 916
000
<210> 917
<400> 917
000
<210> 918
<400> 918
000
<210> 919
<400> 919
000
<210> 920
<400> 920
000
<210> 921
<400> 921
000
<210> 922
<400> 922
000
<210> 923
<400> 923
000
<210> 924
<400> 924
000
<210> 925
<400> 925
000
<210> 926
<400> 926
000
<210> 927
<400> 927
000
<210> 928
<400> 928
000
<210> 929

<400> 929
000
<210> 930
<400> 930
000
<210> 931
<400> 931
000
<210> 932
<400> 932
000
<210> 933
<400> 933
000
<210> 934
<400> 934
000
<210> 935
<400> 935
000
<210> 936
<400> 936
000
<210> 937
<400> 937
000
<210> 938
<400> 938
000
<210> 939
<400> 939
000
<210> 940
<400> 940
000
<210> 941
<400> 941
000
<210> 942

<400> 942
000
<210> 943
<400> 943
000
<210> 944
<400> 944
000
<210> 945
<400> 945
000
<210> 946
<400> 946
000
<210> 947
<400> 947
000
<210> 948
<400> 948
000
<210> 949
<400> 949
000
<210> 950
<400> 950
000
<210> 951
<400> 951
000
<210> 952
<400> 952
000
<210> 953
<400> 953
000
<210> 954
<400> 954
000
<210> 955

<400> 955
000
<210> 956
<400> 956
000
<210> 957
<400> 957
000
<210> 958
<400> 958
000
<210> 959
<400> 959
000
<210> 960
<400> 960
000
<210> 961
<400> 961
000
<210> 962
<400> 962
000
<210> 963
<400> 963
000
<210> 964
<400> 964
000
<210> 965
<400> 965
000
<210> 966
<400> 966
000
<210> 967
<400> 967
000
<210> 968

<400> 968
000
<210> 969
<400> 969
000
<210> 970
<400> 970
000
<210> 971
<400> 971
000
<210> 972
<400> 972
000
<210> 973
<400> 973
000
<210> 974
<400> 974
000
<210> 975
<400> 975
000
<210> 976
<400> 976
000
<210> 977
<400> 977
000
<210> 978
<400> 978
000
<210> 979
<400> 979
000
<210> 980
<400> 980
000
<210> 981

<400> 981
000
<210> 982
<400> 982
000
<210> 983
<400> 983
000
<210> 984
<400> 984
000
<210> 985
<400> 985
000
<210> 986
<400> 986
000
<210> 987
<400> 987
000
<210> 988
<400> 988
000
<210> 989
<400> 989
000
<210> 990
<400> 990
000
<210> 991
<400> 991
000
<210> 992
<400> 992
000
<210> 993
<400> 993
000
<210> 994

<400> 994
000
<210> 995
<400> 995
000
<210> 996
<400> 996
000
<210> 997
<400> 997
000
<210> 998
<400> 998
000
<210> 999
<400> 999
000
<210> 1000
<400> 1000
000
<210> 1001
<400> 1001
000
<210> 1002
<400> 1002
000
<210> 1003
<400> 1003
000
<210> 1004
<400> 1004
000
<210> 1005
<400> 1005
000
<210> 1006
<400> 1006
000
<210> 1007

<400> 1007
000
<210> 1008
<400> 1008
000
<210> 1009
<400> 1009
000
<210> 1010
<400> 1010
000
<210> 1011
<400> 1011
000
<210> 1012
<400> 1012
000
<210> 1013
<400> 1013
000
<210> 1014
<400> 1014
000
<210> 1015
<400> 1015
000
<210> 1016
<400> 1016
000
<210> 1017
<400> 1017
000
<210> 1018
<400> 1018
000
<210> 1019
<400> 1019
000
<210> 1020

<400> 1020
000
<210> 1021
<400> 1021
000
<210> 1022
<400> 1022
000
<210> 1023
<400> 1023
000
<210> 1024
<400> 1024
000
<210> 1025
<400> 1025
000
<210> 1026
<400> 1026
000
<210> 1027
<400> 1027
000
<210> 1028
<400> 1028
000
<210> 1029
<400> 1029
000
<210> 1030
<400> 1030
000
<210> 1031
<400> 1031
000
<210> 1032
<400> 1032
000
<210> 1033

<400> 1033
000
<210> 1034
<400> 1034
000
<210> 1035
<400> 1035
000
<210> 1036
<400> 1036
000
<210> 1037
<400> 1037
000
<210> 1038
<400> 1038
000
<210> 1039
<400> 1039
000
<210> 1040
<400> 1040
000
<210> 1041
<400> 1041
000
<210> 1042
<400> 1042
000
<210> 1043
<400> 1043
000
<210> 1044
<400> 1044
000
<210> 1045
<400> 1045
000
<210> 1046

<400> 1046
000
<210> 1047
<400> 1047
000
<210> 1048
<400> 1048
000
<210> 1049
<400> 1049
000
<210> 1050
<400> 1050
000
<210> 1051
<400> 1051
000
<210> 1052
<400> 1052
000
<210> 1053
<400> 1053
000
<210> 1054
<400> 1054
000
<210> 1055
<400> 1055
000
<210> 1056
<400> 1056
000
<210> 1057
<400> 1057
000
<210> 1058
<400> 1058
000
<210> 1059

<400> 1059
000
<210> 1060
<400> 1060
000
<210> 1061
<400> 1061
000
<210> 1062
<400> 1062
000
<210> 1063
<400> 1063
000
<210> 1064
<400> 1064
000
<210> 1065
<400> 1065
000
<210> 1066
<400> 1066
000
<210> 1067
<400> 1067
000
<210> 1068
<400> 1068
000
<210> 1069
<400> 1069
000
<210> 1070
<400> 1070
000
<210> 1071
<400> 1071
000
<210> 1072

<400> 1072
000
<210> 1073
<400> 1073
000
<210> 1074
<400> 1074
000
<210> 1075
<400> 1075
000
<210> 1076
<400> 1076
000
<210> 1077
<400> 1077
000
<210> 1078
<400> 1078
000
<210> 1079
<400> 1079
000
<210> 1080
<400> 1080
000
<210> 1081
<400> 1081
000
<210> 1082
<400> 1082
000
<210> 1083
<400> 1083
000
<210> 1084
<400> 1084
000
<210> 1085

<400> 1085
000
<210> 1086
<400> 1086
000
<210> 1087
<400> 1087
000
<210> 1088
<400> 1088
000
<210> 1089
<400> 1089
000
<210> 1090
<400> 1090
000
<210> 1091
<400> 1091
000
<210> 1092
<400> 1092
000
<210> 1093
<400> 1093
000
<210> 1094
<400> 1094
000
<210> 1095
<400> 1095
000
<210> 1096
<400> 1096
000
<210> 1097
<400> 1097
000
<210> 1098

<400> 1098

000

<210> 1099

<400> 1099

000

<210> 1100

<400> 1100

000

<210> 1101

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, L117A

<400> 1101

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
195				200				205							
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
210				215				220							
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225				230				235				240			
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
				245				250				255			
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
				260				265				270			
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
				275				280				285			
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
290				295				300							
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305				310				315				320			
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
				325				330							

<210> 1102

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, L118A

<400> 1102

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1	5				10				15						
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
20				25				30							
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
35				40				45							
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
50				55				60							
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65				70				75				80			
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
				85				90				95			
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
100				105				110							

Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
115				120				125							
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
130				135				140							
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145				150				155				160			
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
				165				170				175			
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
				180				185				190			
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
195				200				205							
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
210				215				220							
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225				230				235				240			
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
				245				250				255			
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
260				265				270							
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
275				280				285							
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
290				295				300							
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305				310				315				320			
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
				325				330							

<210> 1103

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, L117A & L118A

<400> 1103

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5				10					15		
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
				20				25				30			

Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
35				40				45							
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
50				55				60							
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65				70				75				80			
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
85				90				95							
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
100				105				110							
Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
115				120				125							
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
130				135				140							
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145				150				155				160			
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
165				170				175							
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
180				185				190							
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
195				200				205							
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
210				215				220							
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225				230				235				240			
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
245				250				255							
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
260				265				270							
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
275				280				285							
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
290				295				300							
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305				310				315				320			
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
325				330											

<210> 1104

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, L117G & L118G

<400> 1104

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5				10						15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
			35				40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
			50				55					60			
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70					75					80
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
				85						90				95	
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
				100						105				110	
Pro	Ala	Pro	Glu	Gly	Gly	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
				115						120				125	
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
				130						135				140	
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145						150				155					160
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
				165						170				175	
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
				180						185				190	
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
				195						200				205	
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
				210						215				220	
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225						230				235					240
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
				245						250				255	
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn

260	265	270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
305	310	315
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		320
325	330	
<210> 1105		
<211> 330		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的IgG1 HC恒定区, L117V & L118V		
<400> 1105		
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys		
1	5	10
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
20	25	30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		
35	40	45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		
65	70	75
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
85	90	95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys		
100	105	110
Pro Ala Pro Glu Val Val Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
115	120	125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
130	135	140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
145	150	155
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
165	170	175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		

180	185	190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
195	200	205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
210	215	220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu		
225	230	235
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
245	250	255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
260	265	270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
305	310	315
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
325	330	

<210> 1106

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, L117I & L118I

<400> 1106

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys		
1	5	10
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
20	25	30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		
35	40	45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		
65	70	75
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
85	90	95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys		

$\langle 210 \rangle$ 1107
 $\langle 400 \rangle$ 1107
 000
 $\langle 210 \rangle$ 1108
 $\langle 400 \rangle$ 1108
 000
 $\langle 210 \rangle$ 1109
 $\langle 400 \rangle$ 1109
 000
 $\langle 210 \rangle$ 1110

<400> 1110

000

<210> 1111

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, HJ C→S, L117A

<400> 1111

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
			35				40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
			50				55					60			
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70				75					80	
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85					90						95	
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
			100					105					110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
			115				120					125			
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
			130				135					140			
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145					150				155					160	
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
			165					170						175	
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
			180					185					190		
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
			195				200					205			
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
			210				215					220			
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225					230				235					240	

Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
					165				170					175	
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
					180				185					190	
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
					195				200					205	
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
					210				215					220	
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
					225				230					235	
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
					245				250					255	
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
					260				265					270	
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
					275				280					285	
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
					290				295					300	
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
					305				310					315	
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
					325				330						

<210> 1113

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, HJ C→S, L117A & L118A

<400> 1113

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5				10						15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
				20				25						30	
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
				35				40						45	
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
				50				55						60	
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70									75	
															80

Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
				85					90					95	
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
			100					105					110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
			115					120					125		
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
			130				135						140		
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145						150				155					160
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
				165					170					175	
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
			180					185						190	
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
			195					200					205		
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
			210					215					220		
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225						230				235					240
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
				245					250					255	
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
			260					265					270		
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
			275					280					285		
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
			290					295					300		
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305						310				315					320
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
				325					330						

<210> 1114

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, HJ C→S, L117G & L118G

<400> 1114

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
		35					40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
	50					55					60				
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70				75					80	
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85					90					95		
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
			100					105					110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Gly	Gly	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
		115					120					125			
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
		130				135					140				
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145					150				155					160	
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
			165					170					175		
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
		180					185					190			
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
		195				200					205				
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
	210					215				220					
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225					230				235					240	
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
			245					250					255		
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
		260					265					270			
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
		275					280					285			
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
	290					295					300				
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr

305	310	315	320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	325	330	
<210> 1115			
<211> 330			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成的IgG1 HC恒定区, HJ C→S, L117V & L118V			
<400> 1115			
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys			
1 5 10 15			
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr			
20 25 30			
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser			
35 40 45			
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser			
50 55 60			
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr			
65 70 75 80			
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys			
85 90 95			
Arg Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys			
100 105 110			
Pro Ala Pro Glu Val Val Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro			
115 120 125			
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys			
130 135 140			
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp			
145 150 155 160			
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu			
165 170 175			
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu			
180 185 190			
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn			
195 200 205			
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly			
210 215 220			
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu			

225	230	235	240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr			
	245	250	255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn			
	260	265	270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe			
	275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn			
	290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr			
305	310	315	320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	325	330	

<210> 1116

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, HJ C→S, L117I & L118I

<400> 1116

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys			
1	5	10	15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr			
	20	25	30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser			
	35	40	45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser			
	50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr			
65	70	75	80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys			
	85	90	95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys			
	100	105	110
Pro Ala Pro Glu Ile Ile Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro			
	115	120	125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys			
	130	135	140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp			

145	150	155	160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu			
	165	170	175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu			
	180	185	190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn			
	195	200	205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly			
	210	215	220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu			
225	230	235	240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr			
	245	250	255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn			
	260	265	270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe			
	275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn			
	290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr			
305	310	315	320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	325	330	

<210> 1117

<400> 1117

000

<210> 1118

<400> 1118

000

<210> 1119

<400> 1119

000

<210> 1120

<400> 1120

000

<210> 1121

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, HJ C->V, L117A

<400> 1121

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
			35					40					45		
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
			50				55					60			
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70				75					80	
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85					90						95	
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Val	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
			100					105					110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
			115				120					125			
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
			130				135					140			
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145					150				155					160	
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
			165					170						175	
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
			180					185					190		
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
			195				200					205			
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
			210				215					220			
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225					230				235					240	
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
			245					250					255		
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
			260					265					270		
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
			275				280					285			

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330
 <210> 1122
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的IgG1 HC恒定区, HJ C→V, L118A
 <400> 1122
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 1123

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, HJ C→V, L117A & L118A

<400> 1123

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125

Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
130						135					140				
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145					150					155					160
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
				165					170					175	
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
			180					185					190		
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
		195					200					205			
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
	210					215					220				
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225					230					235					240
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
				245					250					255	
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
			260					265					270		
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
		275					280					285			
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
	290					295					300				
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305					310				315						320
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
			325					330							

<210> 1124

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, HJ C→V, L117G & L118G

<400> 1124

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25				30			
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
		35					40					45			

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		
65	70	75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
85	90	95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys		
100	105	110
Pro Ala Pro Glu Gly Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
115	120	125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
130	135	140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
145	150	155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
165	170	175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
180	185	190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
195	200	205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
210	215	220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu		
225	230	235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
245	250	255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
260	265	270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
305	310	315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
325	330	

<210> 1125

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, HJ C->V, L117V & L118V

<400> 1125

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5				10					15		
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
			35					40					45		
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
			50					55					60		
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65						70				75					80
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
				85						90					95
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Val	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
				100						105					110
Pro	Ala	Pro	Glu	Val	Val	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
				115				120							125
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
				130						135					140
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145						150				155					160
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
				165						170					175
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
				180						185					190
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
				195						200					205
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
				210						215					220
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225						230				235					240
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
				245						250					255
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
				260						265					270
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe

275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
305	310	315
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		320
325	330	
<210> 1126		
<211> 330		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的IgG1 HC恒定区, HJ C→V, L117I & L118I		
<400> 1126		
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys		
1	5	10
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
20	25	30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		
35	40	45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		
65	70	75
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
85	90	95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys		
100	105	110
Pro Ala Pro Glu Ile Ile Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
115	120	125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
130	135	140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
145	150	155
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
165	170	175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
180	185	190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		

195				200				205							
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
210				215				220							
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225				230				235				240			
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
245				250				255							
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
260				265				270							
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
275				280				285							
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
290				295				300							
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305				310				315				320			
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
325				330											

1127

<400> 1127

000

$\langle 210 \rangle$ 1128

$\langle 400 \rangle$ 1128

000

1129 <210>

<400> 1129

000

 $\langle 210 \rangle$ 1130 $\langle 400 \rangle$ 1130

000

1131 $\langle 210 \rangle$ $\langle 211 \rangle$ 330

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 合成的IgG1 HC恒定区, BJ C→S, L117A

〈400〉 1131

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20	25	30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		
35	40	45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		
65	70	75
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
85	90	95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser		
100	105	110
Pro Ala Pro Glu Ala Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
115	120	125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
130	135	140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
145	150	155
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
165	170	175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
180	185	190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
195	200	205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
210	215	220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu		
225	230	235
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
245	250	255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
260	265	270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
305	310	315
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
325	330	

<210> 1132

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, BJ C→S, L118A

<400> 1132

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
			35				40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
		50				55					60				
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70				75					80	
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85					90						95	
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Ser	Pro	Pro	Ser
			100					105					110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
			115				120					125			
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
			130				135				140				
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145					150				155					160	
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
			165					170						175	
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
			180					185					190		
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
			195				200					205			
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
			210				215				220				
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225					230				235					240	
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
			245						250					255	

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 1133

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, BJ C→S, L117A & L118A

<400> 1133

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
180	185	190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
195	200	205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
210	215	220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu		
225	230	235
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
245	250	255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
260	265	270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
305	310	315
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
325	330	

<210> 1134

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, BJ C→S, L117G & L118G

<400> 1134

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys		
1	5	10
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
20	25	30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		
35	40	45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		
65	70	75
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
85	90	95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser																	
100								105						110			
Pro Ala Pro Glu Gly Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro																	
115								120						125			
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys																	
130								135						140			
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp																	
145								150						155			160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu																	
								165						170			175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu																	
								180						185			190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn																	
								195						200			205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly																	
								210						215			220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu																	
225								230						235			240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr																	
								245						250			255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn																	
								260						265			270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe																	
								275						280			285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn																	
								290						295			300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr																	
305								310						315			320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys																	
								325						330			
<210> 1135																	
<211> 330																	
<212> PRT																	
<213> 人工序列																	
<220>																	
<223> 合成的IgG1 HC恒定区, BJ C→S, L117V & L118V																	
<400> 1135																	
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys																	
1								5						10			15

Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
20				25				30							
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
35				40				45							
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
50				55				60							
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65				70				75				80			
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
85				90				95							
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Ser	Pro	Pro	Ser
100				105				110							
Pro	Ala	Pro	Glu	Val	Val	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
115				120				125							
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
130				135				140							
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145				150				155				160			
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
165				170				175							
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
180				185				190							
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
195				200				205							
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
210				215				220							
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225				230				235				240			
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
245				250				255							
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
260				265				270							
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
275				280				285							
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
290				295				300							
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305				310				315				320			
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						

325	330
<210> 1136	
<211> 330	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的IgG1 HC恒定区, BJ C→S, L117I & L118I	
<400> 1136	
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys	
1 5 10 15	
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr	
20 25 30	
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser	
35 40 45	
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser	
50 55 60	
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr	
65 70 75 80	
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys	
85 90 95	
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser	
100 105 110	
Pro Ala Pro Glu Ile Ile Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro	
115 120 125	
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys	
130 135 140	
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp	
145 150 155 160	
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu	
165 170 175	
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu	
180 185 190	
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn	
195 200 205	
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly	
210 215 220	
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu	
225 230 235 240	
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr	

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65	70	75	80
Tyr Ile Cys Asn Val	Asn His Lys Pro Ser	Asn Thr Lys Val	Asp Lys
85	90	95	
Arg Val Glu Pro Lys	Ser Cys Asp Lys Thr	His Thr Val Pro	Pro Val
100	105	110	
Pro Ala Pro Glu Ala	Leu Gly Gly Pro Ser	Val Phe Leu Phe	Pro Pro
115	120	125	
Lys Pro Lys Asp Thr	Leu Met Ile Ser Arg	Thr Pro Glu Val	Thr Cys
130	135	140	
Val Val Val Asp Val	Ser His Glu Asp Pro	Glu Val Lys Phe	Asn Trp
145	150	155	160
Tyr Val Asp Gly Val	Glu Val His Asn Ala	Lys Thr Lys Pro	Arg Glu
165	170	175	
Glu Gln Tyr Asn Ser	Thr Tyr Arg Val Val	Ser Val Leu Thr	Val Leu
180	185	190	
His Gln Asp Trp Leu	Asn Gly Lys Glu Tyr	Lys Cys Lys Val	Ser Asn
195	200	205	
Lys Ala Leu Pro Ala	Pro Ile Glu Lys Thr	Ile Ser Lys Ala	Lys Gly
210	215	220	
Gln Pro Arg Glu Pro	Gln Val Tyr Thr Leu	Pro Pro Ser Arg	Glu Glu
225	230	235	240
Met Thr Lys Asn Gln	Val Ser Leu Thr Cys	Leu Val Lys Gly	Phe Tyr
245	250	255	
Pro Ser Asp Ile Ala	Val Glu Trp Glu Ser	Asn Gly Gln Pro	Glu Asn
260	265	270	
Asn Tyr Lys Thr Thr	Pro Pro Val Leu Asp	Ser Asp Gly Ser	Phe Phe
275	280	285	
Leu Tyr Ser Lys Leu	Thr Val Asp Lys Ser	Arg Trp Gln Gln	Gly Asn
290	295	300	
Val Phe Ser Cys Ser	Val Met His Glu Ala	Leu His Asn His	Tyr Thr
305	310	315	320
Gln Lys Ser Leu Ser	Leu Ser Pro Gly Lys		
325	330		

<210> 1142

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, BJ C->V, L118A

<400> 1142

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
		35					40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
	50					55					60				
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70				75					80	
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85					90						95	
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Val	Pro	Pro	Val
		100						105					110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
	115					120					125				
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
	130					135					140				
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145					150				155					160	
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
			165					170						175	
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
		180						185					190		
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
	195					200						205			
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
	210					215					220				
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225					230				235					240	
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
			245					250					255		
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
		260						265					270		
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
	275						280					285			
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
	290					295					300				

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330
 <210> 1143
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成的IgG1 HC恒定区, BJ C→V, L117A & L118A
 <400> 1143
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Val Pro Pro Val
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225					230					235					240
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
			245						250					255	
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
			260					265					270		
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
		275					280					285			
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
		290				295					300				
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305					310					315					320
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
			325						330						

<210> 1144

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, BJ C->V, L117G & L118G

<400> 1144

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1			5					10					15		
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
		20					25					30			
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
		35				40					45				
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
	50					55				60					
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65				70					75					80	
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85					90					95		
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Val	Pro	Pro	Val
			100					105					110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Gly	Gly	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
		115					120					125			
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
		130				135						140			

Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145					150					155					160
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
			165						170					175	
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
			180					185					190		
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
		195					200					205			
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
	210					215					220				
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225					230				235					240	
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
			245						250					255	
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
			260					265					270		
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
		275					280					285			
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
	290					295					300				
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305					310				315					320	
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
			325					330							

<210> 1145

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, BJ C→V, L117V & L118V

<400> 1145

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5				10						15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
			35				40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
	50					55					60				

Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70					75					80
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85						90					95	
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Val	Pro	Pro	Val
			100						105					110	
Pro	Ala	Pro	Glu	Val	Val	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
			115						120					125	
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
			130				135							140	
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145						150				155					160
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
						165				170					175
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
			180						185					190	
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
			195						200					205	
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
			210						215					220	
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225						230				235					240
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
						245				250					255
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
			260						265					270	
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
			275						280					285	
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
			290						295					300	
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305						310				315					320
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
						325									330

<210> 1146

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, BJ C->V, L117I & L118I

<400> 1146

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
			35				40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
		50				55					60				
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70				75					80	
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85					90					95		
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Val	Pro	Pro	Val
			100					105					110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Ile	Ile	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
			115				120					125			
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
			130				135					140			
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145					150				155					160	
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
			165					170					175		
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
			180					185				190			
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
			195				200					205			
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
			210				215				220				
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225					230				235					240	
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
			245					250					255		
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
			260					265				270			
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
			275				280					285			
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn

290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser	Val Met His Glu Ala Leu	His Asn His Tyr Thr
305	310	315
Gln Lys Ser Leu Ser	Leu Ser Pro Gly Lys	
	325	330
<210> 1147		
<400> 1147		
000		
<210> 1148		
<400> 1148		
000		
<210> 1149		
<400> 1149		
000		
<210> 1150		
<400> 1150		
000		
<210> 1151		
<211> 330		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 合成的IgG1 HC恒定区, DJ C→S, L117A		
<400> 1151		
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys		
1	5	10
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
	20	25
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		
	35	40
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
	50	55
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		
65	70	75
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
	85	90
Arg Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser		
	100	105
Pro Ala Pro Glu Ala Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		

115	120	125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
130	135	140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
145	150	155
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
165	170	175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
180	185	190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
195	200	205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
210	215	220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu		
225	230	235
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
245	250	255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
260	265	270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
305	310	315
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
325	330	

<210> 1152

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, DJ C→S, L118A

<400> 1152

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

35	40	45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		
65	70	75
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
85	90	95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser		
100	105	110
Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
115	120	125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
130	135	140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
145	150	155
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
165	170	175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
180	185	190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
195	200	205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
210	215	220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu		
225	230	235
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
245	250	255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
260	265	270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
305	310	315
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
325	330	

<210> 1153

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, DJ C→S, L117A & L118A

<400> 1153

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5				10					15		
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
			35					40					45		
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
			50					55					60		
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65						70				75					80
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85					90							95
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Ser	Pro	Pro	Ser
			100					105					110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
			115					120					125		
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
			130					135					140		
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145						150				155					160
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
			165					170							175
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
			180					185							190
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
			195					200							205
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
			210					215							220
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225						230				235					240
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
			245						250						255
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
			260						265						270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 1154

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, DJ C→S, L117G & L118G

<400> 1154

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Gly Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
195				200				205							
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
210				215				220							
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225				230				235				240			
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
				245				250				255			
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
				260				265				270			
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
				275				280				285			
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
290				295				300							
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305				310				315				320			
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
				325				330							

<210> 1155

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, DJ C→S, L117V & L118V

<400> 1155

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1	5				10				15						
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
20				25				30							
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
35				40				45							
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
50				55				60							
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65				70				75				80			
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
				85				90				95			
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Ser	Pro	Pro	Ser
100				105				110							

Pro Ala Pro Glu Val Val Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 1156

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, DJ C→S, L117I & L118I

<400> 1156

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
35						40						45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
50						55						60			
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65						70						75		80	
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
				85						90				95	
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Ser	Pro	Pro	Ser
		100						105						110	
Pro	Ala	Pro	Glu	Ile	Ile	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
		115						120						125	
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
130						135						140			
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145						150						155		160	
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
				165						170				175	
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
		180						185						190	
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
		195						200						205	
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
210						215						220			
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225						230						235		240	
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
				245						250				255	
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
		260						265						270	
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
		275						280				285			
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
290						295						300			
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305						310						315		320	
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
				325				330							

1157 <210>

<400> 1157

000

<210> 1158

<400> 1158

000

<210> 1159

<400> 1159

000

<210> 1160

<400> 1160

000

<210> 1161

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, DJ C→V, L117A

<400> 1161

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Val Asp Lys Thr His Thr Val Pro Pro Val

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165	170	175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
180	185	190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
195	200	205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
210	215	220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu		
225	230	235
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
245	250	255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
260	265	270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
305	310	315
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
325	330	

<210> 1162

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, DJ C->V, L118A

<400> 1162

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys		
1	5	10
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr		
20	25	30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser		
35	40	45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser		
50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr		
65	70	75
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		

				85					90					95			
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Val	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Val	Pro	Pro	Val		
				100					105					110			
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro		
				115					120					125			
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys		
				130					135					140			
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp		
				145					150					155			160
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu		
				165					170					175			
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu		
				180					185					190			
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn		
				195					200					205			
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly		
				210					215					220			
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu		
				225					230					235			240
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr		
				245					250					255			
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn		
				260					265					270			
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe		
				275					280					285			
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn		
				290					295					300			
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr		
				305					310					315			320
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys								
				325					330								

<210> 1163

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, DJ C->V, L117A & L118A

<400> 1163

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1	5	10	15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr			
20	25	30	
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser			
35	40	45	
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser			
50	55	60	
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr			
65	70	75	80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys			
85	90	95	
Arg Val Glu Pro Lys Ser Val Asp Lys Thr His Thr Val Pro Pro Val			
100	105	110	
Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro			
115	120	125	
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys			
130	135	140	
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp			
145	150	155	160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu			
165	170	175	
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu			
180	185	190	
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn			
195	200	205	
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly			
210	215	220	
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu			
225	230	235	240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr			
245	250	255	
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn			
260	265	270	
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe			
275	280	285	
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn			
290	295	300	
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr			
305	310	315	320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

330

<210> 1164

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的IgG1 HC恒定区, DJ C→V, L117G & L118G

<400> 1164

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1

5

10

15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20

25

30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35

40

45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50

55

60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65

70

75

80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85

90

95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Val Asp Lys Thr His Thr Val Pro Pro Val

100

105

110

Pro Ala Pro Glu Gly Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115

120

125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130

135

140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145

150

155

160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165

170

175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180

185

190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195

200

205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210

215

220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225

230

235

240

Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr		
245						250						255					
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn		
260						265						270					
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe		
275						280						285					
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn		
290						295						300					
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr		
305						310						315				320	
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys								
325						330											

$\langle 400 \rangle$ 1165

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
		35					40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
	50					55					60				
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70					75					80
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85						90					95	
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Val	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Val	Pro	Pro	Val
			100					105					110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Val	Val	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
		115					120					125			
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
	130					135					140				
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145					150					155					160

Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
165				170				175							
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
180				185				190							
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
195				200				205							
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
210				215				220							
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
225				230				235				240			
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
245				250				255							
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
260				265				270							
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
275				280				285							
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
290				295				300							
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305				310				315				320			
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys						
325				330											

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5					10					15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
		35					40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
	50					55					60				
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70					75					80

Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys			
					85				90					95				
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Val	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Val	Pro	Pro	Val			
					100				105					110				
Pro	Ala	Pro	Glu	Ile	Ile	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro			
					115				120					125				
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys			
					130				135					140				
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp			
					145				150					155				160
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu			
					165				170					175				
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu			
					180				185					190				
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn			
					195				200					205				
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly			
					210				215					220				
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu			
					225				230					235				240
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr			
					245				250					255				
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn			
					260				265					270				
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe			
					275				280					285				
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn			
					290				295					300				
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr			
					305				310					315				320
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys									
					325				330									

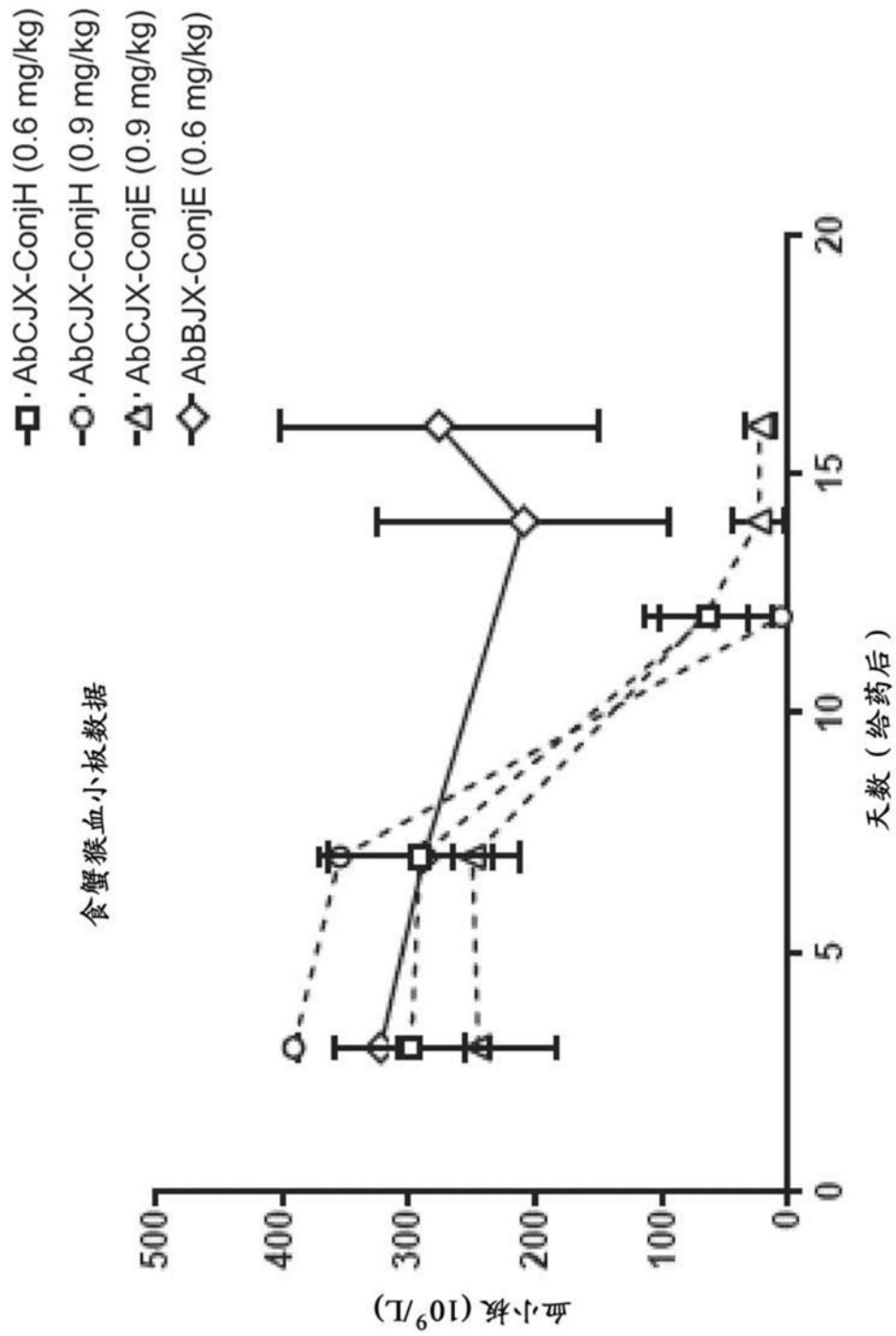


图1