TRANSLATOR'S DECLARATION

I, the below-named translator, certify that I am familiar with both the Korean and the English languages, that I have prepared the attached English translation (Exhibit A) of US Ser. No. 62/815,557 (Exhibit B), and that the English translation is a true, faithful and exact translation of the corresponding Korean language application US Ser. No. 62/815,557 (Exhibit B).

I further declare that all statements made in this declaration of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further, that these statements were made with the knowledge that willful, false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such willful, false statements may jeopardize the validity of legal decisions of any nature based on them.

May 31, 2024
Date

Ji-Young Park
Name: Ji-Young Park

Exhibit 1040
AJINOMOTO CO., INC.
IPR2025-00283
Page 1 of 470

Exhibit A

[Title of the Invention]

A compound for antibody-drug conjugate, antibody-drug conjugate and the manufacturing method thereof.

[Description]

The terms "antibody" and "immunoglobulin" may refer to a heterotetrameric glycoprotein of about 150,000 Da composed of two identical light chains and two identical heavy chains. Each light chain is linked to a heavy chain by one disulfide bond, while the number of disulfide linkages may vary between the heavy chains of different immunoglobulin isotypes. Each heavy chain and light chain may also contain regularly spaced intra-chain disulfide bridges. Each heavy chain may contain a variable domain (Heavy chain variable domain; VH) at one end, followed by a number of constant domains. Each light chain may have a variable domain (Light chain variable domain; VL) at one end and a constant domain at the other end. The constant domain of a light chain may be aligned with the first constant domain of a heavy chain, and the variable domain of a light chain with the variable domain of a heavy chain.

The term "variable region" may comprise framework regions (FRs) and complementarity determining regions (CDRs; hypervariable regions (HVRs)). The sequence of a variable region domain may differ between antibodies. Variable region domains may be responsible for binding and specificity of each particular antibody for a particular antigen. However, the variability is not evenly distributed throughout the variable domains of an antibody. It is concentrated in three segments called hypervariable regions both in the light chain and heavy chain variable regions. The more highly conserved portions of the variable domains are called framework regions (FRs). Each of the variable regions of heavy and light chains comprises four FRs (FR1, FR2, FR3 and FR4, respectively), largely adopting a β-sheet configuration, connected by three HVRs, which form loops connecting, and in some cases forming part of, the β-sheet structures. The HVRs in each chain are held together in close proximity by the FRs, and together with the HVRs from the other chain, contribute to the formation of the antigen binding site of an antibody [*see* Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991), pp. 647-669]. The constant domains are not involved directly in the binding of an antibody to an antigen but exhibit various effector functions, such as participating in the antibody-dependent cytotoxicity of antibodies. In addition, constant domains make antibodies available for the recycling pathway by binding to FcRn.

The term "hypervariable region" refers to amino acid residues of an antibody that are responsible for antigen binding. A hypervariable region comprises amino acid residues from a "complementarity determining region" or "CDR" and/or residues from a "hypervariable loop." "Framework" or "FR" residues are those variable domain residues other than the hypervariable region residues as herein defined.

The "light chain" of a vertebrate antibody (immunoglobulin) can be classified as one of the two obviously different classes (referred to as κ and λ) based on the amino acid sequence of its constant region.

Immunoglobulins can be classified into different classes according to the amino acid sequences of their heavy chain constant domains. There are mainly five classes of immunoglobulins: IgA, IgD, IgE, IgG, and IgM, some of which can be further classified into subclasses (isotypes), such as IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, and IgA2. The heavy chain constant domains corresponding to the different classes of immunoglobulins are called α, δ, ε, γ, and μ, respectively. The subunit structures and three-dimensional configurations of different classes of immunoglobulins are well known to those skilled in the art.

The term "antibody variant" refers to a molecule having an amino acid sequence different from the amino acid sequence of an original antibody due to the addition, deletion, and/or substitution of one or more amino acid residues in the original antibody, with one or more desired activities of the original antibody retained. Such desired activities may include specific binding activity to a certain antigen and anticancer activity.

Usually, the antibody variant will have an amino acid sequence exhibiting an amino acid sequence identity of at least 50%, more preferably at least 65%, more preferably at least 75%, more preferably at least 80%, more preferably at least 85%, more preferably at least 90%, and most preferably at least 95% with the amino acid sequence of a heavy or light chain variable domain of the original antibody.

The antibody variant may be any one or more of Fab (antigen-binding fragment), F(ab)'2, monospecific Fab2, bispecific Fab2, trispecific Fab2, monovalent Ig, scFv (single-chain variable fragment), bispecific diabody, scFv-Fc (single-chain variable fragment-fragment crystallizable), minibody, IgNAR (immunoglobulin new antigen receptor), V-NAR(Variable-new antigen receptor), hcIgG (heavy chain immunoglobulin G), and VhH (variable domain of heavy chain antibody) but is not limited thereto.

The term "fusion protein" or "fusion proteome" refers to a molecule having an amino acid sequence different from the amino acid sequence of an original antibody due to the addition, deletion, and/or substitution of one or more amino acid residues in the original antibody, with one or more desired activities of the original antibody retained. Such desired activities may include specific binding activity to FcRn.

Usually, the fusion protein or fusion proteome will have an amino acid sequence exhibiting an amino acid sequence identity of at least 50%, more preferably at least 65%, more preferably at least 75%, more preferably at least 80%, more preferably at least 85%, more preferably at least 90%, and most preferably at least 95% with the amino acid sequence of heavy chain constant CH2 domain of the original antibody. The fusion protein or fusion proteome will have an amino acid sequence exhibiting an amino acid sequence identity of at least 50%, more preferably at least 65%, more preferably at least 75%, more preferably at least 80%, more preferably at least 85%, more preferably at least 90%, and most preferably at least 95% with the amino acid sequence of heavy chain constant CH2-CH3 domain of the original antibody.

The term "pharmaceutically acceptable carrier" may be used in the sense of including an excipient, a diluent, or an adjuvant. The carrier may be, for example, selected from the group consisting of lactose, dextrose, sucrose, sorbitol, mannitol, xylitol, erythritol, maltitol, starch, acacia gum, alginate, gelatin, calcium phosphate, calcium silicate, cellulose, methyl cellulose,

polyvinyl pyrrolidone, water, physiological saline, a buffer such as PBS, methylhydroxy benzoate, propylhydroxy benzoate, talc, magnesium stearate, and mineral oil. The carrier may include a filler, an anti-agglomerating agent, a lubricant, a wetting agent, a flavoring agent, an emulsifying agent, a preservative, or a combination thereof.

The term "pharmaceutically acceptable salt" refers to a salt in which biological effectiveness and properties of a proteome and a compound according to the present invention are preserved and that is not undesirable in biological or other aspects. In many cases, the proteome and compound of the present invention may form an acidic and/or basic salt in the presence of a charged group, for example, a charged amino and/or carboxyl group or the likes. A pharmaceutically acceptable acid addition salt may be prepared from an inorganic and organic acid, and a pharmaceutically acceptable base addition salt may be prepared from an inorganic and organic base.

The term "treatment" refers to an approach to obtain beneficial or desirable clinical outcomes. For the object of the present invention, non-limiting examples of the beneficial or desirable clinical outcomes include palliation of symptoms, reduction of a disease range, stabilization (i.e., not worsening) of a disease state, delay of progression or reduction of a progression rate of a disease, (partially or totally) improvement or temporal palliation and mitigation of a disease condition, and whether detectable or not. The treatment denotes all therapeutic treatments, and prophylactic or preventative methods. The treatments include treatments required for disorders to be prevented and already-occurring disorders. "Palliating" a disease means that a range of disease conditions and/or undesirable clinical signs are lowered and/or a time course of progression of the disease is delayed or extended, compared to when the disease is not treated.

The term "combination therapy" refers to a therapeutic regimen that involves the provision of at least two distinct therapies to achieve an indicated therapeutic effect. For example, a combination therapy may involve the administration of an antibody-drug conjugate reactive against a disease-causing factor and the administration of one or more other chemotherapeutic agents. Alternatively, a combination therapy may involve administration of an antibody-drug conjugate together with the delivery of another treatment, such as radiation therapy and/or surgery. Further, a combination therapy may involve administration of an antibody-drug conjugate together with one or more other biological agents, chemotherapeutic agents, and another treatment such as radiation and/or surgery. In the context of combination therapy using two or more distinct active ingredients, it is understood that the active ingredients may be administered as part of the same composition or as different compositions. When administered as separate compositions, the compositions comprising the different active ingredients may be administered at the same or different times, by the same or different routes, using the same or different dosing regimens, all as the particular context requires and as determined by the attending physician.

The term "monotherapy" refers to a treatment regimen based on the delivery of one therapeutically effective compound, whether administered as a single dose or several doses over time.

The "therapeutically effective amount" (or "effective amount") refers to a sufficient amount of an active ingredient, for example, an agent according to the present invention, to achieve

the treatment when administered to a subject or a patient. Therefore, what constitutes a therapeutically effective amount of a composition according to the present invention may be easily determined by those skilled in the related art. In the context of vision therapy, the "therapeutically effective amount" is an amount that causes an objectively measured change in one or more parameters associated with the treatment of eye diseases or conditions, which include an increase or decrease in expression of one or more genes associated with the eye diseases or conditions, an induction of apoptosis or other cell death pathways, a clinical improvement in symptoms, a decrease in abnormal neovascularization or inflammation, and the like. Of course, the therapeutically effective amount may vary depending on a certain subject and condition to be treated, the weight and age of a subject, the severity of a disease condition, a certain compound to be selected, a subsequent dosing schedule, the administration time adjustment, a mode of administration, and the like, all of which may be easily determined by those skilled in the related art. In the context of combination therapy, it should be understood that what constitutes a therapeutically effective amount of a certain active ingredient may be different from what constitutes a therapeutically effective amount of an active ingredient that is administered for monotherapy (that is, a treatment regimen using one chemical entity as the active ingredient).

The "subject" or "patient" refers to an animal in need of treatment which may be achieved by the molecule of the present invention. The animal to be treated according to the present invention includes a vertebrate. Particularly preferred examples of the animal include mammals, for example, bovine, canine, equine, feline, ovine, porcine, and primate animals (including human and non-human primates).

The term "diagnosis" means identifying the presence or features of pathological states.

The term "about" or "approximately" refers to an amount, level, value, number, frequency, percentage, dimension, size, quantity, weight, or length that varies by 30, 25, 20, 25, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, or 1% with respect to the reference amount, level, value, number, frequency, percentage, dimension, size, quantity, weight, or length.

In addition to the terms explained above, others are defined elsewhere in the specification, as necessary. Unless otherwise expressly defined herein, terms of art used in this specification will have their art-recognized meanings.

Throughout this specification, unless the context requires otherwise, the words "comprise," "comprises," and "comprising" will be understood to imply the inclusion of a stated step or element or group of steps or elements but not the exclusion of any other step or element or group of steps or elements.

In the prior art, antibodies have long been employed as antibody drugs. Also, antibody-drug conjugates generated by adding a payload to an antibody were utilized as new antibody drugs. As for preparation processes for antibody-drug conjugates, first-generation preparation processes for antibody-drug conjugates were developed in which a payload is added to random amino acid residues in an antibody, for example, any Lys or Cys amino acid residue. However, such processes had the problem that the drug-antibody ratio (DAR) cannot be easily controlled in the manufacturing process and reproducibility for specific amino acid residues and/or homogeneity was poor. Another problem was that payloads were added to

variable regions of an antibody, particularly CDRs, potentially reducing antigen-antibody specificity.

Then, second-generation preparation processes for antibody-drug conjugates were developed in which DNA sequences encoding an antibody are genetically engineered and antibodies expressed therefrom are enzymatically modified so as to add payloads to specific amino acid residues of an antibody. However, these processes have low process efficiencies as they require genetic modification of the DNA sequence encoding antibodies.

In addition, due to the nature of antibody drugs, the sequence of a suitable antibody differs from one disease to another. As a result, DNA sequences of an antibody applicable to a particular target disease should be genetically manipulated, leading to great inefficiency.

As another type of second-generation antibody-drug conjugates, preparation processes of antibody-drug conjugates were developed in which a payload is added to specific amino acid residues of an antibody through enzymatic modification of glycans linked to the Fc domain of the antibody. However, such processes may be problematic in that they remove glycans, which are involved in recognition and other physiological functions of proteins.

According to the present invention, a preparation process for an antibody-drug conjugate free from the above-mentioned problems is provided.

According to a preparation process for an antibody-drug conjugate disclosed herein, antibody-drug conjugates may be prepared from various kinds of antibodies without requiring genetic engineering and/or enzymatic modification.

According to a preparation process for an antibody-drug conjugate disclosed herein, antibody-drug conjugates may be prepared from various kinds of antibodies without removing glycans from the antibody.

According to a preparation process for an antibody-drug conjugate disclosed herein, antibody-drug conjugates may be prepared in which various kinds of payloads have been added to various kinds of antibodies.

In an antibody-drug conjugate prepared by a preparation process for an antibody-drug conjugate disclosed herein, payloads are linked to specific amino acid residues in the antibody. The payloads linked to specific amino acid positions have reproducibility and/or homogeneity.

To prepare an antibody-drug conjugate disclosed herein, a peptide having binding affinity to a region in a constant domain of an antibody (site specific interactome; SSI) is employed. The peptide may be, for example, the IgG binding peptide Fc-III (DeLano, WL et al., Science, 2000, 287, pp. 1279-1283). Fc-III has binding affinity to a region in the CH2-CH3 domain of an IgG isotype antibody. The CH2-CH3 domain is transcribed and/or translated from the human IgG constant region CH2-CH3 segment.

Peptides having binding affinity to the Fc domain of human IgG (SSIs) are known to be diverse (e.g., Elisabeth Squer-Eriksson et al, Structure, 15 March 1995, 3:265-278; DeLano,

WL et al., Science, 2000, 287, pp. 1279-1283). If there are a first SSI and a second SSI, the first SSI may have binding affinity for a first region in the human IgG Fc domain while the second SSI may have binding affinity for a second region in the human IgG Fc domain. The first and second regions of the human IgG Fc domain may be the same. The first and second regions of the human IgG Fc domain may partially overlap with each other or differ from each other.

In particular, among such peptides having binding affinity to the Fc domain of human IgG (SSIs), the SSI used in the present invention is an FcBP that has a similar sequence to Fc-III. The FcBP has binding affinity for a region extending over the CH2 domain and CH3 domain of the human IgG Fc domain. Hereinafter, the FcBP used according to the present invention is named FcBP(I).

FcBP(I) comprises as its amino acid residue at position 6 an amino acid having an amine group or a thiol group. FcBP(I) has a cyclic peptide structure due to a sulfide bond formed by a thiol group contained in amino acid residue(s) at position(s) 2 and/or 12. For example, FcBP(I) is a cyclic peptide comprising lysine at amino acid position 6 (6Lysine; 6K) (FIG. 37). For example, FcBP(I) is a cyclic peptide comprising cysteine (Cys; C) at amino acid position 2 and/or 12.

FcBP (I) has binding affinity to a region in the CH2-CH3 domain of an IgG isotype antibody, which involves 6K of FcBP(I) approaching the amine group of Lys246, Lys 248, Lys 288, Lys 290 or Lys 392 of a human IgG Fc domain (FIG. 61 or FIG. 62). The distance between 6K of FcBP(I) and the amine group of Lys 246, Lys 248 or Lys 392 in a human IgG Fc domain is 20Å or less. In particular, the distance between 6K of FcBP(I) and the amine group of Lys 248 in a human IgG Fc domain is 6Å or less, and the distance between 6K of FcBP(I) and the amine group of Lys 246 in a human IgG Fc domain is 16Å or less. Results of a computer simulation using Discovery Studio Visualizer v19.1.0.18287 indicated that the distance between 6K of FcBP(I) and the amine group of Lys 246 in a human IgG Fc domain is 14.833Å, the distance between 6K of FcBP(I) and the amine group of Lys 248 in a human IgG Fc domain is 4.091Å, and the distance between 6K of FcBP(I) and the amine group of Lys 392 in a human IgG Fc domain is 17.700Å (FIG. 54). Herein, residues in the Fc domain of a human IgG are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The distances between 6K of FcBP(I) and amino acid residues in a human IgG Fc domain affect the decision on reactions between an SSI-IC-R compound and specific amino acid residues in a human IgG Fc domain explained below.

The peptide having binding affinity to the human IgG Fc domain (SSI) is chemically reacted with the compound R-IC-R' to form SSI-IC-R. The compound R-IC-R' undergoes a substitution reaction with an amine group or thiol group included in the amino acid sequence of the SSI, generating SSI-IC-R. The resulting SSI-IC-R is used to make a reactive group comprising R covalently bonded to a specific amino acid residue in the CH2-CH3 domain of an IgG isotype antibody. The specific amino acid in the CH2-CH3 domain of an IgG isotype antibody may include lysine.

When the SSI is FcBP(I), the compound R-IC-R' undergoes a substitution reaction with an

amine group provided by 6K included in the amino acid sequence of FcBP(I) to generate R-IC-FcBP. In this case, R is a structure linked to 6K of FcBP. The R-IC portion of the resulting R-IC-FcBP can undergo nucleophilic substitution with an amine group in the vicinity. Accordingly, when the FcBP binds to a region in the CH2-CH3 domain of the IgG isotype antibody, the R-IC portion of the R-IC-FcBP can transfer R to an amine group in the CH2-CH3 domain of the antibody, leaving R to be covalently bonded. The distance between 6K of FcBP(I) and the Lys246, Lys248 or Lys392 amine group in the human IgG Fc domain is 20Å or less, and due to the structure in which R of R-IC-FcBP is linked to 6K of FcBP(I), the distance between R-IC-FcBP and the Lys246, Lys 248 or Lys 392 amine group of the antibody becomes further smaller than 20Å. As a result, R-IC-FcBP allows a reactive group comprising R to be located at a distance from the Lys246 and/or Lys248 of the CH2-CH3 domain of the antibody that is favorable for a substitution reaction with R. Thus, via substitution by R-IC-FcBP, an antibody 246 Lys-R conjugate and/or antibody 248 Lys-R conjugate is prepared.

R may be a payload suitable for an antibody-drug conjugate. R may be a moiety of a click chemistry chemical for the preparation of an antibody-drug conjugate. If R is a moiety of a click chemistry chemical (c'), the antibody-R may be reacted with a conjugate of another moiety of a click chemistry chemical and a payload (c"-payload) to give an antibody-drug conjugate.

R' of the R-IC-R' compound has reactivity to an amine group (NH_2) of FcBP(I). Also, R of the R-IC-FcBP compound has reactivity to an amine group (NH_2) of an antibody.

FcBP(I) has an amine group provided by 6K and an amine group provided by the N-terminus. The antibody has an amine group provided by, for example, a lysine residue.

In a three-dimensional configuration in which FcBP(I) is bound to the Fc domain of an antibody IgG, no Lys residues of the antibody are present in the vicinity of the N-terminus of FcBP(I). Thus, it is important for the subsequent reaction between R-IC-FcBP and the antibody IgG Fc domain that the reaction between R' of the compound R-IC-R' and FcBP(I) takes place not at the N-terminus of FcBP(I) but at 6K of FcBP(I). Accordingly, in the preparation process for antibody-drug conjugates according to the present invention, only those R-IC-FcBP in which R is linked to an amine group provided by 6K are used in producing antibody-drug conjugates. For this purpose, an R-IC-FcBP may be prepared after capping the N-terminus of FcBP(I).

As disclosed in the present invention, FcBP(I) only leads R-IC-FcBP to be located in a region within the CH2-CH3 domain of the antibody, thereby facilitating the bonding of antibody Lys246 or Lys 248 residue and a payload and leaving thereafter. It is not retained in the antibody-drug conjugate. Thus, antibody-drug conjugates disclosed herein have a payload bonded to the antibody Lys246 or Lys 248 residue, with the antibody-drug conjugates not comprising FcBP. Hereinbelow, residues in the CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

Since the antibody comprises two CH2-CH3 domains, antibody-drug conjugates with a DAR of 1 or 2 can be provided. Here, a payload may be linked to Lys246 in one or two CH2-CH3 domains in the antibody. Here, a payload may be linked to Lys248 in one or two CH2-CH3

domains in the antibody. The antibody-drug conjugate has reproducibility and/or homogeneity.

Thus, according to a preparation process for an antibody-drug conjugate disclosed herein, an antibody-drug conjugate in which a payload is bound to a certain amino acid sequence in one or two CH2-CH3 domains in an antibody, and as a result, DAR is controlled, and an antibody-drug conjugate having reproducibility and homogeneity is provided. According to a preparation process disclosed herein, an antibody-drug conjugate is prepared by site-specifically substituting the Fc domain of the antibody with a drug, thus requiring no genetic engineering and/or enzymatic modification of the antibody sequence. Also, a process of removing glycans of an antibody is not necessary.

The region extending over the CH2 domain and CH3 domain of a human IgG Fc domain to which FcBP(I) used according to the present invention has binding affinity partially overlaps with an FcRn binding site.

The CH2 domain among the CH2-CH3 domain of the antibody comprises an FcRn binding region. That is, the Fc domain of the antibody comprises an FcRn binding region. When an IgG isotype antibody is internalized into a cell, the FcRn binds the Fc domain of the IgG isotype antibody to have the IgG isotype antibody released into plasma, thereby making the recycling pathway for the IgG isotype antibody to progress. Thus, the recycling pathway dictates the serum half-life of an IgG isotype antibody.

In the prior art, a preparation process for an antibody-drug conjugate in which a payload is added to the Lys246 or Lys 248 residue of an antibody using FcBP was made public by Ito Yuji (US 20180141976A1). However, this document discloses a mechanism for linking FcBP and antibody using the compound DSG (disuccinimidyl glutarate) and/or DSS (disuccinimidyl suberate). Thus, an antibody-drug conjugate prepared according to the disclosure in the above-mentioned document will comprise FcBP.

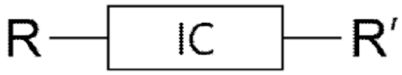
The region responsible for the binding affinity between FcBP and antibody CH2-CH3 overlaps with region responsible for the binding affinity between antibody Fc and FcRn. Accordingly, if FcBP remains in the antibody-drug conjugate, binding between antibody Fc-FcRn will be blocked. As a result, the FcRn-mediated recycling pathway is inhibited, and the half-life of an IgG isotype antibody-drug conjugate including FcBP is reduced.

According to the present invention, an antibody-drug conjugate comprising no FcBP is provided. Thus, the antibody-drug conjugate according to the present invention does not inhibit binding between antibody Fc-FcRn because the FcRn binding site of the antibody is not blocked. Accordingly, the FcRn-mediated recycling pathway is not inhibited. In turn, the half-life of an IgG isotype antibody is not reduced due to the recycling pathway. Thus, the inventors of the present invention have solved the problems of the invention disclosed in Ito Yuji.

1. R-IC-R'

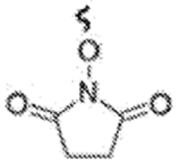
According to an embodiment of the present invention, a compound 100 comprising an IC (Interposed Chemical) structure can be provided.

[Formula 1]



In Formula 1, R 102 may be either of a click chemistry chemical and a payload.
In Formula 1, R' 101 may be either of N-hydroxysuccinimide (NHS) of Formula 2 and maleimide of Formula 3.

[Formula 2]



[Formula 3]



Formula 1 may comprise:

an electrophilic carbon of a first carbonyl group; and
an electrophilic carbon of a second carbonyl group.

The electrophilic carbon of the first carbonyl group may be connected to a1 and to b1.

a1-electrophilic carbon of a first carbonyl group-b1

a1 may be connected to R 102. a1 may be directly connected to R 102. a1 may be indirectly connected to R 102.

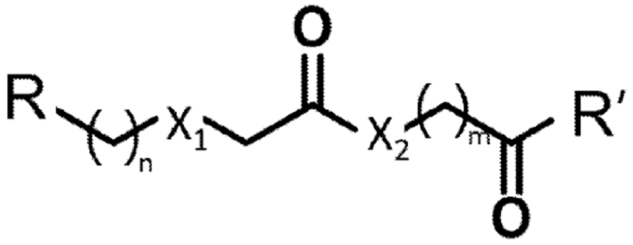
The electrophilic carbon of the second carbonyl group may be connected to a2 and to b2.

a2-electrophilic carbon of a second carbonyl group-b2

b2 may be connected to R' 101. b2 may be directly connected to R' 101. b2 may be indirectly connected to R' 101.

The magnitude of the partial positive charge (δ^+) of the electrophilic carbon of the first carbonyl group is smaller than the magnitude of the partial positive charge (δ^+) of the electrophilic carbon of the second carbonyl group.

[Formula 4]



In Formula 4, X_1 may be any one of S, O, NH, Se and CH_2.
In Formula 4, X_2 may be any one of S, O, NH and Se.
For example, in Formula 4, X_1 is S, and X_2 is S.
For example, in Formula 4, X_1 is S, and X_2 is O.
For example, in Formula 4, X_1 is S, and X_2 is NH.
For example, in Formula 4, X_1 is S, and X_2 is Se.
For example, in Formula 4, X_1 is O, and X_2 is S.
For example, in Formula 4, X_1 is O, and X_2 is O.
For example, in Formula 4, X_1 is O, and X_2 is NH.
For example, in Formula 4, X_1 is O, and X_2 is Se.
For example, in Formula 4, X_1 is NH, and X_2 is S.
For example, in Formula 4, X_1 is NH, and X_2 is O.
For example, in Formula 4, X_1 is NH, and X_2 is NH.
For example, in Formula 4, X_1 is NH, and X_2 is Se.
For example, in Formula 4, X_1 is Se, and X_2 is S.
For example, in Formula 4, X_1 is Se, and X_2 is O.
For example, in Formula 4, X_1 is Se, and X_2 is NH.
For example, in Formula 4, X_1 is Se, and X_2 is Se.
For example, in Formula 4, X_1 is CH_2, and X_2 is S.
For example, in Formula 4, X_1 is CH_2, and X_2 is O.
For example, in Formula 4, X_1 is CH_2, and X_2 is NH.
For example, in Formula 4, X_1 is CH_2, and X_2 is Se.

In Formula 4, R 102 may be either of a click chemistry chemical and a payload.

In Formula 4, R' 101 may be either of N-hydroxysuccinimide (NHS) of Formula 2 and maleimide of Formula 3.

In Formula 4, m and n each may be 0 or a natural number.

The click chemistry chemical may be any one or more of an alkyne, a cyclooctyne, a cyclononyne (e.g., a cycloalkyne such as bicyclo[6.1.0]non-4-yn-9-ylmethanol), a trans-cyclooctene, a nitrone, a nitrile oxide, an azide, a conjugated diene, and a dienophile such as an alkene, but is not limited thereto. The click chemistry chemical may be any one or more of acetylene, an azide, a transcyclooctene (TCO), a tetrazine, a cyclooctyne, a diarylcyclooctyne (DBCO), a methyl ester phosphine, norbornene, a methylcyclopropene, an azetine and a cyanide. Preferably, the click chemistry chemical may be any one or more of a transcyclooctene (TCO), a tetrazine, a cyclooctyne, an azide, a methylcyclopropene and norbornene.

The payload may be any one or more of a nucleic acid, a peptide and a compound.

The nucleic acid may be any one or more of DNA, RNA, PNA and LNA, but is not limited thereto. The nucleic acid may be any one or more of single-stranded, double-stranded, triple-stranded and quadruplex, but is not limited thereto.

The peptide may be composed of natural amino acid(s) and/or non-natural amino acid(s) linked by peptidyl bonds. The peptide may be a ligand for an antibody, an antibody fragment, a protein, an enzyme, a peptide, a peptoid, a toxin, or a biomarker, but is not limited thereto.

The compound may be any one or more of a drug complex, an imaging moiety, and a compound other than the foregoing.

The drug complex may be a prodrug, a precursor drug, or a drug. The drug complex may be an anticancer drug, an anti-inflammatory agent, another anti-disease agent, an antimicrobial agent (antibacterial agent, antifungal agent, antiviral agent).

The drug complex may be one that destroys microtubules and microfilaments or inhibits their elongation. The drug complex may be one that causes DNA impairment. The drug complex may be one that causes inhibition of transcription.

For example, the drug complex may be any one or more of DM1, DM4, MMAE, MMAF, calicheamicin, duocarmicins, SN-38, D6.5, PDB dimers, amanitin, auristatins, maytansinoid, anthracyclines, camptothecins and tubulysins, but is not limited thereto.

The imaging moiety may be a contrast agent, a radioisotope, or a fluorescent material.

The compound other than a drug complex or an imaging moiety may be an optical agent, a vitamin, a toxin, or the like, but is not limited thereto.

The payload may include a linker.

The linker may be any one or more of a hydrazone linker, a peptide linker, a disulfide linker, and a thioether linker.

The linker may be a cleavable linker or an uncleavable linker. For example, the cleavable linker may be a VC linker.

The payload may comprise a hydrophilic moiety.

The hydrophilic moiety may be a polyethylene glycol (PEG).

Formula 4 may comprise:

an electrophilic carbon of a first carbonyl group; and

an electrophilic carbon of a second carbonyl group.

The electrophilic carbon of the first carbonyl group may be connected to a1 and to b1.

a1-electrophilic carbon of a first carbonyl group-b1

a1 may be connected to R. a1 may be directly connected to R. a1 may be indirectly connected to R.

b1 may be X_2.

The electrophilic carbon of the second carbonyl group may be connected to a2 and to b2.

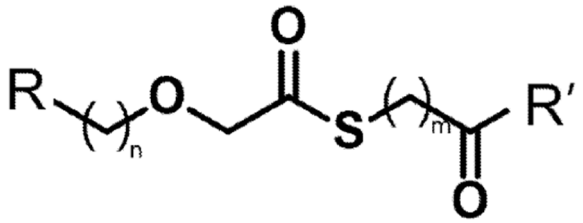
a2-electrophilic carbon of a second carbonyl group-b2

b2 may be connected to R'. b2 may be directly connected to R'. b2 may be indirectly connected to R'.

a2 may be connected to X_2. a2 may be directly connected to X_2. a2 may be indirectly connected to X_2.

The magnitude of the partial positive charge (δ^+) of the electrophilic carbon of the first carbonyl group is smaller than the magnitude of the partial positive charge (δ^+) of the electrophilic carbon of the second carbonyl group.

In an embodiment of the present invention, a compound of Formula 5 can be provided.
[Formula 5]



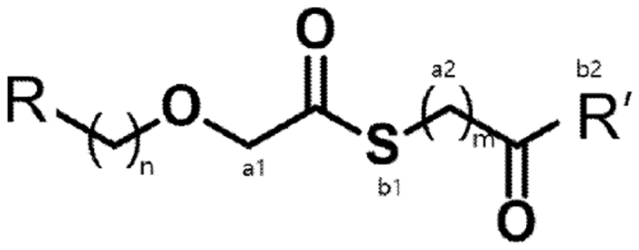
In Formula 5, R may be either of a click chemistry chemical and a payload.

In Formula 5, R' may be either of N-hydroxysuccinimide (NHS) of Formula 1 and maleimide of Formula 2.

In Formula 5, m and n each may be 0 or a natural number.

The click chemistry chemical and payload are as described above.

[Formula 5]



Formula 5 may comprise:

an electrophilic carbon of a first carbonyl group; and

an electrophilic carbon of a second carbonyl group.

The electrophilic carbon of the first carbonyl group may be connected to a1 and to b1.

a1-electrophilic carbon of a first carbonyl group-b1

a1 may be connected to R. a1 may be directly connected to R. a1 may be indirectly connected to R. For example, a1 may be C. Said a1 may be indirectly connected to R.

b1 may be X_2. For example, b1 may be S.

The electrophilic carbon of the second carbonyl group may be connected to a2 and to b2.

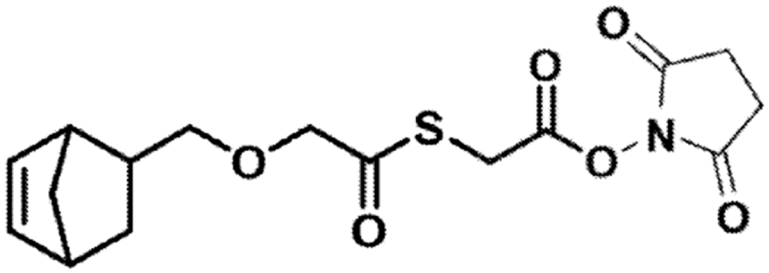
a2-electrophilic carbon of a second carbonyl group-b2

b2 may be connected to R'. b2 may be directly connected to R'. b2 may be indirectly connected to R'.

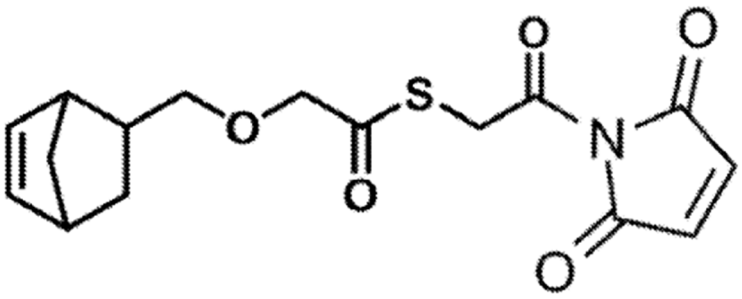
a2 may be connected to X_2. a2 may be directly connected to X_2. a2 may be indirectly connected to X_2. For example, X_2 may be S. a2 may be $(CH_2)_n$.

The magnitude of the partial positive charge (δ^+) of the electrophilic carbon of the first carbonyl group is smaller than the magnitude of the partial positive charge (δ^+) of the electrophilic carbon of the second carbonyl group.

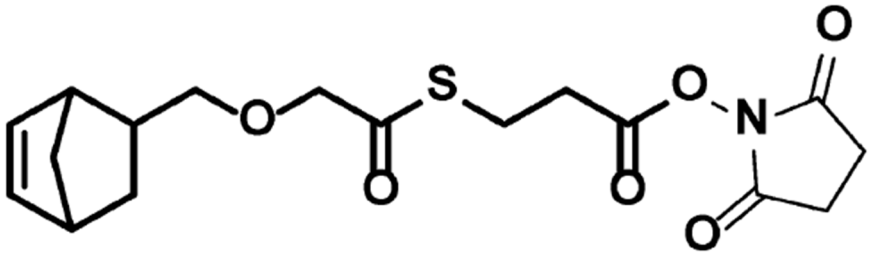
In a specific embodiment of the present invention, a compound of Formula 6 can be provided.
[Formula 6]



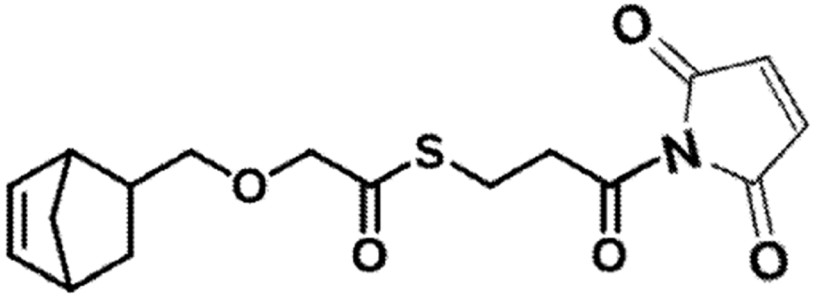
In another specific embodiment of the present invention, a compound of Formula 7 can be provided.
[Formula 7]



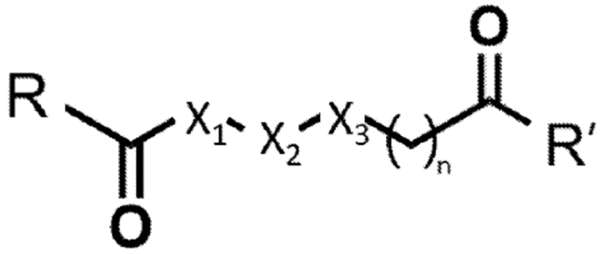
In another specific embodiment of the present invention, a compound of Formula 8 can be provided.
[Formula 8]



In another specific embodiment of the present invention, a compound of Formula 9 can be provided.
[Formula 9]



In another embodiment of the present invention, a compound of Formula 10 can be provided.
[Formula 10]



In Formula 10, X_1 may be any one of S, O, and NH.
In Formula 10, X_2 may be any one of NCH_3, S, O, NH and CH_2.
In Formula 10, X_3 may be any one of C=O (carbonyl), S, O, NH and CH_2.

In Formula 10, when X_3 is C=O, X_1 may become an anion more easily than X_2.
In Formula 10, when X_3 is C=O, X_1 may have a greater tendency to become an anion than X_2.
In Formula 10, when X_3 is C=O, X_1 may have a greater electron affinity than X_2.
In Formula 10, when X_3 is C=O, X_1 may have a larger atom size than X_2.
In Formula 10, when X_3 is C=O, an anion of X_1 may be more stable than an anion of X_2.

For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is NCH_3, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is NCH_3, and X_3 is S.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is NCH_3, and X_3 is O.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is NCH_3, and X_3 is NH.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is NCH_3, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is S, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is S, and X_3 is S.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is S, and X_3 is O.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is S, and X_3 is NH.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is S, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is O, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is O, and X_3 is S.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is O, and X_3 is O.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is O, and X_3 is NH.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is O, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is NH, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is NH, and X_3 is S.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is NH, and X_3 is O.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is NH, and X_3 is NH.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is NH, and X_3 is CH_2
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is CH_2, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is CH_2, and X_3 is S.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is CH_2, and X_3 is O.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is CH_2, and X_3 is NH.
For example, in Formula 10, X_1 is S, X_2 is CH_2, and X_3 is CH_2

For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is NCH_3, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is NCH_3, and X_3 is S.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is NCH_3, and X_3 is O.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is NCH_3, and X_3 is NH.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is NCH_3, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is S, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is S, and X_3 is S.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is S, and X_3 is O.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is S, and X_3 is NH.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is S, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is O, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is O, and X_3 is S.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is O, and X_3 is O.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is O, and X_3 is NH.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is O, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is NH, and X_3 is C=O.

For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is NH, and X_3 is S.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is NH, and X_3 is O.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is NH, and X_3 is NH.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is NH, and X_3 is CH_2
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is CH_2, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is CH_2, and X_3 is S.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is CH_2, and X_3 is O.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is CH_2, and X_3 is NH.
For example, in Formula 10, X_1 is O, X_2 is CH_2, and X_3 is CH_2

For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is NCH_3, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is NCH_3, and X_3 is S.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is NCH_3, and X_3 is O.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is NCH_3, and X_3 is NH.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is NCH_3, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is S, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is S, and X_3 is S.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is S, and X_3 is O.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is S, and X_3 is NH.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is S, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is O, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is O, and X_3 is S.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is O, and X_3 is O.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is O, and X_3 is NH.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is O, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is NH, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is NH, and X_3 is S.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is NH, and X_3 is O.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is NH, and X_3 is NH.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is NH, and X_3 is CH_2
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is CH_2, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is CH_2, and X_3 is S.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is CH_2, and X_3 is O.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is CH_2, and X_3 is NH.
For example, in Formula 10, X_1 is NH, X_2 is CH_2, and X_3 is CH_2

In Formula 10, R 102 may be either of a click chemistry chemical and a payload.
In Formula 10, R' 101 may be either of N-hydroxysuccinimide (NHS) of Formula 1 and maleimide of Formula 2.
In Formula 10, n may be 0 or a natural number.

The click chemistry chemical may be any one or more of an alkyne, a cyclooctyne, a cyclononyne (e.g., a cycloalkyne such as bicyclo[6.1.0]non-4-yn-9-ylmethanol), a trans-cyclooctene, a nitrone, a nitrile oxide, an azide, a conjugated diene, and a dienophile such as an alkene, but is not limited thereto. The click chemistry chemical may be any one or more of acetylene, an azide, a transcyclooctene (TCO), a tetrazine, a cyclooctyne, a diarylcyclooctyne (DBCO), a methyl ester phosphine, norbornene, a methylcyclopropene, an azetine and a cyanide. Preferably, the click chemistry chemical may be any one or more of a

transcyclooctene (TCO), a tetrazine, a cyclooctyne, an azide, a methylcyclopropene and norbornene.

The payload may be any one or more of a nucleic acid, a peptide and a compound.

The nucleic acid may be any one or more of DNA, RNA, PNA and LNA, but is not limited thereto. The nucleic acid may be any one or more of single-stranded, double-stranded, triple-stranded and quadruplex, but is not limited thereto.

The peptide may be composed of natural amino acid(s) and/or non-natural amino acid(s) linked by peptidyl bonds. The peptide may be a ligand for an antibody, an antibody fragment, a protein, an enzyme, a peptide, a peptoid, a toxin, or a biomarker, but is not limited thereto.

The compound may be any one or more of a drug complex, an imaging moiety, and a compound other than the foregoing.

The drug complex may be a prodrug, a precursor drug, or a drug. The drug complex may be an anticancer drug, an anti-inflammatory agent, another anti-disease agent, an antimicrobial agent (antibacterial agent, antifungal agent, antiviral agent).

The imaging moiety may be a contrast agent, a radioisotope, or a fluorescent material.

The compound other than a drug complex or an imaging moiety may be an optical agent, a vitamin, a toxin, or the like, but is not limited thereto.

The payload may include a linker.

The linker may be any one or more of a hydrazone linker, a peptide linker, a disulfide linker, and a thioether linker.

The linker may be a cleavable linker or an uncleavable linker. For example, the cleavable linker may be a VC linker.

The payload may comprise a hydrophilic moiety.

The hydrophilic moiety may be a polyethylene glycol (PEG).

Formula 10 may comprise:

an electrophilic carbon of a first carbonyl group; and
an electrophilic carbon of a second carbonyl group.

The electrophilic carbon of the first carbonyl group may be connected to a1 and to b1.

a1-electrophilic carbon of a first carbonyl group-b1

a1 may be R. a1 may be connected to R. a1 may be directly connected to R. a1 may be indirectly connected to R.

b1 may be X_1

The electrophilic carbon of the second carbonyl group may be connected to a2 and to b2.

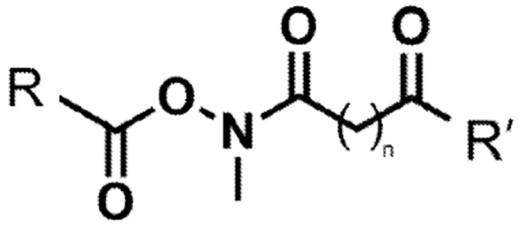
a2-electrophilic carbon of a second carbonyl group-b2

b2 may be R'. b2 may be connected to R'. b2 may be directly connected to R'. b2 may be indirectly connected to R'.

a2 may be connected to X_3. a2 may be directly connected to X_3. a2 may be indirectly connected to X_3.

The magnitude of the partial positive charge (δ^+) of the electrophilic carbon of the first carbonyl group is smaller than the magnitude of the partial positive charge (δ^+) of the electrophilic carbon of the second carbonyl group.

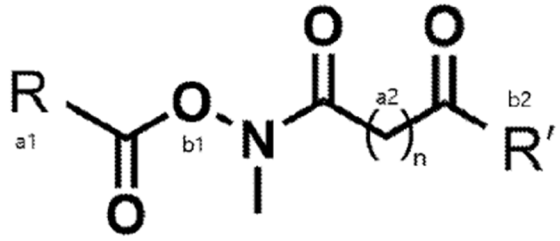
In an embodiment of the present invention, a compound of Formula 11 can be provided.
[Formula 11]



In Formula 11, R may be either of a click chemistry chemical and a payload.
In Formula 11, R' may be either of N-hydroxysuccinimide (NHS) of Formula 2 and maleimide of Formula 3.
In Formula 11, n may be 0 or a natural number.

The click chemistry chemical and payload are as described above.

[Formula 12]



Formula 12 may comprise:
an electrophilic carbon of a first carbonyl group; and
an electrophilic carbon of a second carbonyl group.

The electrophilic carbon of the first carbonyl group may be connected to a1 and to b1.

a1-electrophilic carbon of a first carbonyl group-b1

a1 may be R. a1 may be connected to R. a1 may be directly connected to R. a1 may be indirectly connected to R. For example, a1 may be R.

b1 may be X_1. For example, b1 may be O.

The electrophilic carbon of the second carbonyl group may be connected to a2 and to b2.

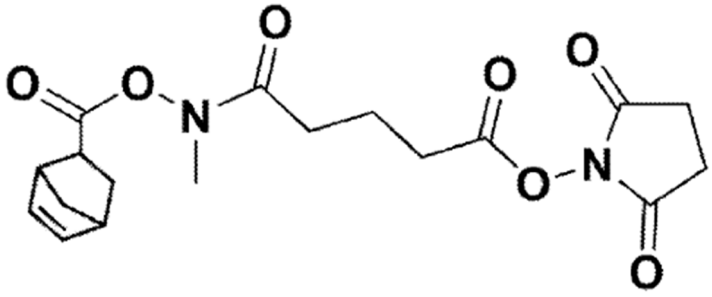
a2-electrophilic carbon of a second carbonyl group-b2

b2 may be R'. b2 may be connected to R'. b2 may be directly connected to R'. b2 may be indirectly connected to R'. For example, b2 may be R'.

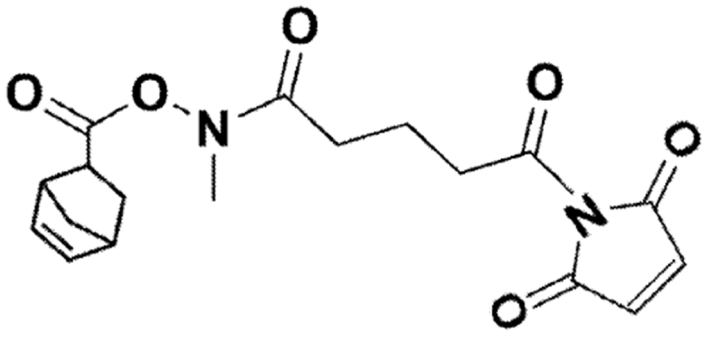
a2 may be connected to X_3. a2 may be directly connected to X_3. a2 may be indirectly connected to X_3. For example, X_3 may be C=O (carbonyl). Said a2 may be indirectly connected to the C=O (carbonyl).

The magnitude of the partial positive charge (δ^+) of the electrophilic carbon of the first carbonyl group is smaller than the magnitude of the partial positive charge (δ^+) of the electrophilic carbon of the second carbonyl group.

In a specific embodiment of the present invention, a compound of Formula 13 can be provided.
[Formula 13]

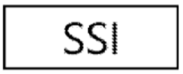


In another specific embodiment of the present invention, a compound of Formula 14 can be provided.
[Formula 14]



2. Site-specific Interactome

According to another embodiment of the present invention, a site-specific interactome (SSI) 200 can be provided.



Regarding a specific molecule B interacting with a specific molecule A, an interactome may refer to each of the specific molecule A and specific molecule B.

Regarding a specific molecule B interacting with an identifiable site in the specific molecule A, the site-specific interactome may refer to the specific molecule B.

The specific molecule A may be any one or more of a nucleic acid, a peptide and a compound.

The specific molecule B may be any one or more of a nucleic acid, a peptide and a compound.

When the specific molecule A is a peptide or protein having a certain structure, the site-specific interactome may refer to specific molecule B which interacts with an amino acid species on the specific molecule A. For example, the amino acid species may be a lysine (Lys) in the specific molecule A. Then, the site-specific interactome may be the specific molecule B interacting with a lysine (Lys) in the specific molecule A. For example, the amino acid species may be a cysteine in the specific molecule A. Then, the site-specific interactome may be the specific molecule B interacting with a cysteine in the specific molecule A. It should be understood, however, that the amino acid species is not limited to those recited above.

When the specific molecule A is a peptide or protein having a certain structure, the site-specific interactome may refer to specific molecule B which interacts with specific amino acid sequence on the specific molecule A. For example, the specific amino acid sequence may be an amino acid at the mth position in the specific molecule A (consisting of n amino acids) ($n \geq m > 0$, n and m each are an integer). Then, the site-specific interactome may be the specific molecule B interacting with the amino acid at the mth position in the specific molecule A. For example, the specific amino acid sequence may be an amino acid at the m'th position in the specific molecule A (consisting of n amino acids) ($n \geq m' > 0$, n and m' each are an integer). Then, the site-specific interactome may be the specific molecule B interacting with the amino acid at the m'th position in the specific molecule A. For example, the specific amino acid sequence may be amino acids at the mth and m'th positions in the specific molecule A (consisting of n amino acids) ($n \geq m, m' > 0, m \neq m'$, n, m, and m' each are an integer). Then, the site-specific interactome may be the specific molecule B interacting with the amino acids at the mth and m'th positions in the specific molecule A. It should be understood, however, that the number of specific amino acids is not limited to those recited above.

In a working example of the present invention, the following Site-specific interactome I 200 can be provided.

[Site-specific interactome I]

(X_1)-(X_2)-(X_3)-(X_4)-(X_5)-(X_6)-(X_7)-(X_8)-(X_9)-(X_{10})-(X_{11})-(X_{12})-(X_{13}) (I)

(I) 200 may be a peptide comprising 13 amino acids.

X_1 of (I) 200 may be any amino acid, which may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.

X_3 of (I) 200 may be any amino acid, which may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.

X_4 of (I) 200 may be any amino acid, which may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.

X_{13} of (I) 200 may be any amino acid, which may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.

X_5 of (I) 200 may be an amino acid comprising a positively charged R. The amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid. For example, X_5 may be any one of lysine (Lys; K), arginine (Arg; R) and histidine (His; H). For example, X_5 may be histidine (His; H).

X_7 of (I) 200 may be an amino acid comprising a polar, uncharged R. The amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid. For example, X_7 may be any one of serine (Ser; S), threonine (Thr; T), tyrosine (Tyr; Y), asparagine (Asn; N), glutamine (Gin; Q) and glycine (Gly; G). For example, X_7 may be glycine (Gly; G).

X_8 of (I) 200 may be an amino acid comprising a positively charged R or an amino acid comprising a negatively charged R. The amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid. For example, X_8 may be any one of glutamic acid (Glu; E), aspartic acid (Asp; D), lysine (Lys; K), arginine (Arg; R) and histidine (His; H). For example, X_8 may be any one of glutamic acid (Glu; E), aspartic acid (Asp; D) and lysine (Lys; K). For example, X_8 may be either of glutamic acid (Glu; E) and aspartic acid (Asp; D).

X_9 of (I) 200 may be an amino acid comprising a nonpolar R. The amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid. For example, X_9 may be alanine (Ala; A), valine (Val; V), isoleucine (Ile; I), proline (Pro; P), methionine (Met; M), phenylalanine (Phe; F), tryptophan (Trp; W) and leucine (Leu; L). For example, X_9 may be leucine (Leu; L).

X_{10} of (I) 200 may be an amino acid comprising a nonpolar R. The amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid. For example, X_{10} may be alanine (Ala; A), valine (Val; V), isoleucine (Ile; I), proline (Pro; P), methionine (Met; M), phenylalanine (Phe; F), tryptophan (Trp; W) and leucine (Leu; L). For example, X_{10} may be valine (Val; V).

X_{11} of (I) 200 may be an amino acid comprising a nonpolar R. The amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid. For example, X_{11} may be alanine (Ala; A),

valine (Val; V), isoleucine (Ile; I), proline (Pro; P), methionine (Met; M), phenylalanine (Phe; F), tryptophan (Trp; W) and leucine (Leu; L). For example, X_{11} may be tryptophan (Trp; W). For example, X_{11} may be naphthylalanine.

X_2 of (I) 200 may be any one of cysteine (Cys; C), homocysteine (HC), and vinyl alanine.

X_{12} of (I) 200 may be any one of cysteine (Cys; C), homocysteine (HC), and vinyl alanine.

X_6 of (I) 200 may be an amino acid comprising an amine R. The amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.

The amine R of X_6 may comprise an amine (NH_2) bonded to m^{th} carbon in 2,m-diamino-n-alkanoic acid. The amine R may be one that comprises any one or more of ε-NH_2, δ-NH_2, γ-NH_2, β-NH_2, and α-NH_2 with respect to the amino acid residue located at X_6.

For example, X_6 may be any one of lysine (Lys; K), ornithine and β-aminoalanine.

X_6 of (I) 200 may be an amino acid comprising an thiol R. The amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.

The thiol R of X_6 may comprise a thiol (SH) bonded to m^{th} carbon in 2-amino-m-thiol-n-alkanoic acid. The thiol R may be one that comprises any one or more of δ-SH, γ-SH, β-SH, and α-SH with respect to the amino acid residue located at X_6.

For example, X_6 may be either of cysteine (Cys; C) and homocysteine (HC).

(I) 200 may be capable of binding a specific molecule.

The specific molecule may be an antibody. The specific molecule may be antibody IgG. The specific molecule may be a CH2-CH3 domain of antibody IgG. The specific molecule may be a human gene-derived CH2- CH3 domain of antibody IgG. The specific molecule may be a human gene-derived CH2- CH3 domain of antibody IgG1. The specific molecule may be a human gene-derived CH2- CH3 domain of antibody IgG2.

The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2- CH3 domain of antibody IgG. The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2- CH3 domain of antibody IgG1. The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2- CH3 domain of antibody IgG2. The protein may be an antibody, an antibody variant and a fusion protein, but is not limited thereto.

In an embodiment of the present invention, a site-specific interactome represented by SEQ ID NO. 1 can be provided.

In a specific embodiment of the present invention, Peptide 1 can be provided.

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-($\mathbf{X_6}$)-(G)-(E)-(L)-(V)-(W)-(C)-(X_{13}) (Peptide 1)

wherein,

X_1 in Peptide 1 is any amino acid,
X_{13} in Peptide 1 is any amino acid,
X_6 in Peptide 1 is any one of lysine (Lys; K), ornithine, β-aminoalanine, and homocysteine (HC),
C is cysteine (Cys; C),
A is alanine (Ala; A),
W is tryptophan (Trp; W),
H is histidine (His; H),
G is glycine (Gly; G),
E is glutamic acid (Glu; E),
L is leucine (Leu; L), and
V is valine (Val; V).

In another specific embodiment of the present invention, Peptide 2 can be provided.

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**X_6**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(Np)-(C)-(X_{13}) (Peptide 2)

wherein,
X_1 in Peptide 2 is any amino acid,
X_{13} in Peptide 2 is any amino acid,
X_6 in Peptide 2 is any one of lysine (Lys; K), ornithine, β-aminoalanine, and homocysteine (HC),
C is cysteine (Cys; C),
A is alanine (Ala; A),
W is tryptophan (Trp; W),
H is histidine (His; H),
G is glycine (Gly; G),
E is glutamic acid (Glu; E),
L is leucine (Leu; L),
V is valine (Val; V), and
Np is naphthylalanine.

In an embodiment of the present invention, a site-specific interactome of SEQ ID NO. 1 can be provided.

[SEQ ID NO. 1]
(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**K**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(W)-(C)-(X_{13}) (SEQ ID NO. 1)

X_1 in SEQ ID NO. 1 may be any amino acid. Said any amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.
X_{13} in SEQ ID NO. 1 may be any amino acid. Said any amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.
C is cysteine (Cys; C).
A is alanine (Ala; A).
W is tryptophan (Trp; W).
H is histidine (His; H).
K is lysine (Lys; K).
G is glycine (Gly; G).

E is glutamic acid (Glu; E).
L is leucine (Leu; L).
V is valine (Val; V).

The site-specific interactome of SEQ ID NO. 1 may be capable of binding a specific molecule.

The specific molecule may be an antibody. The specific molecule may be an antibody IgG. The specific molecule may be a CH2-CH3 domain of an antibody IgG. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of an antibody IgG. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG1. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG2.

The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of an antibody IgG.
The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG1.
The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG2.
The protein may be an antibody, an antibody variant and a fusion protein but is not limited thereto.

In another embodiment of the present invention, a site-specific interactome of SEQ ID NO. 2 can be provided.

[SEQ ID NO. 2]
(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**K**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(Np)-(C)-(X_{13}) (SEQ ID NO. 2)

X_1 in SEQ ID NO. 2 may be any amino acid. Said any amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.
X_{13} in SEQ ID NO. 2 may be any amino acid. Said any amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.
C is cysteine (Cys; C).
A is alanine (Ala; A).
W is tryptophan (Trp; W).
H is histidine (His; H).
K is lysine (Lys; K).
G is glycine (Gly; G).
E is glutamic acid (Glu; E).
L is leucine (Leu; L).
V is valine (Val; V).
Np is naphthylalanine.

The site-specific interactome of SEQ ID NO. 2 may be capable of binding a specific molecule.

The specific molecule may be an antibody. The specific molecule may be an antibody IgG. The specific molecule may be a CH2-CH3 domain of an antibody IgG. The specific

molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of an antibody IgG. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG1. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG2.

The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of an antibody IgG.
The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG1.
The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG2.
The protein may be an antibody, an antibody variant and a fusion protein but is not limited thereto.

In still another embodiment of the present invention, a site-specific interactome of SEQ ID NO. 4 can be provided.

[SEQ ID NO. 4]
(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**Orn**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(W)-(C)-(X_{13}) (SEQ ID NO. 4)

X_1 in SEQ ID NO. 4 may be any amino acid. Said any amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.
X_{13} in SEQ ID NO. 4 may be any amino acid. Said any amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.
C is cysteine (Cys; C).
A is alanine (Ala; A).
W is tryptophan (Trp; W).
H is histidine (His; H).
Orn is ornithine.
G is glycine (Gly; G).
E is glutamic acid (Glu; E).
L is leucine (Leu; L).
V is valine (Val; V).

The site-specific interactome of SEQ ID NO. 4 may be capable of binding a specific molecule.

The specific molecule may be an antibody. The specific molecule may be an antibody IgG. The specific molecule may be a CH2-CH3 domain of an antibody IgG. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of an antibody IgG. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG1. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG2.

The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of an antibody IgG.
The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG1.
The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG2.

The protein may be an antibody, an antibody variant and a fusion protein but is not limited thereto.

In another embodiment of the present invention, a site-specific interactome of SEQ ID NO. 5 can be provided.

[SEQ ID NO. 5]
(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**Orn**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(Np)-(C)-(X_{13}) (SEQ ID NO. 5)

X_1 in SEQ ID NO. 5 may be any amino acid. Said any amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.
X_{13} in SEQ ID NO. 5 may be any amino acid. Said any amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.
C is cysteine (Cys; C).
A is alanine (Ala; A).
W is tryptophan (Trp; W).
H is histidine (His; H).
Orn is ornithine.
G is glycine (Gly; G).
E is glutamic acid (Glu; E).
L is leucine (Leu; L).
V is valine (Val; V).
Np is naphthylalanine.

The site-specific interactome of SEQ ID NO. 5 may be capable of binding a specific molecule.

The specific molecule may be an antibody. The specific molecule may be an antibody IgG. The specific molecule may be a CH2-CH3 domain of an antibody IgG. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of an antibody IgG. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG1. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG2.

The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of an antibody IgG.
The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG1.
The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG2.
The protein may be an antibody, an antibody variant and a fusion protein but is not limited thereto.

In another embodiment of the present invention, a site-specific interactome of SEQ ID NO. 7 can be provided.

[SEQ ID NO. 7]
(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**β-AA**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(W)-(C)-(X_{13}) (SEQ ID NO. 7)

X_1 in SEQ ID NO. 7 may be any amino acid. Said any amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.
X_{13} in SEQ ID NO. 7 may be any amino acid. Said any amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.
C is cysteine (Cys; C).
A is alanine (Ala; A).
W is tryptophan (Trp; W).
H is histidine (His; H).
β-AA is β-aminoalanine.
G is glycine (Gly; G).
E is glutamic acid (Glu; E).
L is leucine (Leu; L).
V is valine (Val; V).

The site-specific interactome of SEQ ID NO. 7 may be capable of binding a specific molecule.

The specific molecule may be an antibody. The specific molecule may be an antibody IgG. The specific molecule may be a CH2-CH3 domain of an antibody IgG. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of an antibody IgG. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG1. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG2.

The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of an antibody IgG.
The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG1.
The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG2.
The protein may be an antibody, an antibody variant and a fusion protein but is not limited thereto.

In another embodiment of the present invention, a site-specific interactome of SEQ ID NO. 8 can be provided.

[SEQ ID NO. 8]
(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**β-AA**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(Np)-(C)-(X_{13}) (SEQ ID NO. 8)

X_1 in SEQ ID NO. 8 may be any amino acid. Said any amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.
X_{13} in SEQ ID NO. 8 may be any amino acid. Said any amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.
C is cysteine (Cys; C).
A is alanine (Ala; A).
W is tryptophan (Trp; W).
H is histidine (His; H).
β-AA is β-aminoalanine.
G is glycine (Gly; G).

E is glutamic acid (Glu; E).
L is leucine (Leu; L).
V is valine (Val; V).
Np is naphthylalanine.

The site-specific interactome of SEQ ID NO. 8 may be capable of binding a specific molecule.

The specific molecule may be an antibody. The specific molecule may be an antibody IgG. The specific molecule may be a CH2-CH3 domain of an antibody IgG. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of an antibody IgG. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG1. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG2.

The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of an antibody IgG.
The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG1.
The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG2.
The protein may be an antibody, an antibody variant and a fusion protein but is not limited thereto.

In another embodiment of the present invention, a site-specific interactome of SEQ ID NO. 10 can be provided.

[SEQ ID NO. 10]
(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**HC**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(W)-(C)-(X_{13}) (SEQ ID NO. 10)

X_1 in SEQ ID NO. 10 may be any amino acid. Said any amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.
X_{13} in SEQ ID NO. 10 may be any amino acid. Said any amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.
C is cysteine (Cys; C).
A is alanine (Ala; A).
W is tryptophan (Trp; W).
H is histidine (His; H).
HC is homocysteine (HC).
G is glycine (Gly; G).
E is glutamic acid (Glu; E).
L is leucine (Leu; L).
V is valine (Val; V).

The site-specific interactome of SEQ ID NO. 10 may be capable of binding a specific molecule.

The specific molecule may be an antibody. The specific molecule may be an antibody IgG. The specific molecule may be a CH2-CH3 domain of an antibody IgG. The specific

molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of an antibody IgG. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG1. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG2.

The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of an antibody IgG.
The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG1.
The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG2.
The protein may be an antibody, an antibody variant and a fusion protein but is not limited thereto.

In another embodiment of the present invention, a site-specific interactome of SEQ ID NO. 11 can be provided.

[SEQ ID NO. 11]
(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**HC**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(Np)-(C)-(X_{13}) (SEQ ID NO. 11)

X_1 in SEQ ID NO. 11 may be any amino acid. Said any amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.
X_{13} in SEQ ID NO. 11 may be any amino acid. Said any amino acid may be a natural amino acid or a non-natural amino acid.
C is cysteine (Cys; C).
A is alanine (Ala; A).
W is tryptophan (Trp; W).
H is histidine (His; H).
HC is homocysteine (HC).
G is glycine (Gly; G).
E is glutamic acid (Glu; E).
L is leucine (Leu; L).
V is valine (Val; V).
Np is naphthylalanine.

The site-specific interactome of SEQ ID NO. 11 may be capable of binding a specific molecule.

The specific molecule may be an antibody. The specific molecule may be an antibody IgG. The specific molecule may be a CH2-CH3 domain of an antibody IgG. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of an antibody IgG. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG1. The specific molecule may be a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG2.

The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of an antibody IgG.
The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain of antibody IgG1.
The specific molecule may be a protein comprising a human gene-derived CH2-CH3 domain

of antibody IgG2.
The protein may be an antibody, an antibody variant and a fusion protein but is not limited thereto.

3. CH2-CH3 Domains of Antibody

In another aspect of the present invention, a CH2 domain of an antibody (2 or 8) may be used.

The CH2 domain may be one that is included in any one or more of antibodies IgG, IgM, IgA, IgD and IgE. The IgG may be any one or more of IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4.

CH2 Domains of Antibody

In a working example of the present invention, CH2 domains of an antibody (2 or 8) may be used.

The CH2 domains may comprise an IgG CH2 domain. The CH2 domains may comprise a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain.

The CH2 domains may comprise human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domains. The IgG1 CH2 domains may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The IgG1 may comprise the CH2 domain in a number of 1, 2, 3 or 4.

The CH2 domains may comprise human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domains. The IgG2 CH2 domains may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The IgG2 may comprise the CH2 domain in a number of 1, 2, 3 or 4.

CH2-CH3 Domains of Antibody

In another working example of the present invention, CH2-CH3 domains of an antibody (13 or 14) may be used.

The CH2-CH3 domains have a structure in which a CH2 domain and a CH3 domain are connected to each other. The CH2 and the CH3 may be connected by a craft region. The CH2 and the CH3 domain may be connected by a crosslinking agent.

The CH2-CH3 domains may comprise an IgG CH2-CH3 domain. The CH2-CH3 domains may comprise a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The CH3 domain may comprise a human IgG CH3 gene-derived CH3 domain.

The CH2-CH3 domains may comprise human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domains. The CH2-CH3 domains may comprise human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domains. The IgG1 CH2 domains may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The IgG1 CH3 domains may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain. The IgG1 may comprise the CH2 domain in a number of 1, 2, 3 or 4. The IgG1 may comprise the CH3 domain in a number of 1, 2, 3 or 4.

The CH2-CH3 domains may comprise human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domains. The CH2-CH3 domains may comprise human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domains. The IgG2 CH2 domains may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The IgG2 CH3 domains may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain. The IgG2 may comprise the CH2 domain in a number of 1, 2, 3 or 4. The IgG2 may comprise the CH3 domain in a number of 1, 2, 3 or 4.

Antibody

In another working example of the present invention, an antibody can be used.

The antibody may be any one or more of IgG, IgM, IgA, IgD and IgE. The IgG may be any one or more of IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4.

The antibody may comprise variable regions (4, 6, 10, 12) and constant regions (1, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 11).

The variable regions (4, 6, 10, 12) may include light chain variable regions (6, 12) and heavy chain variable regions (4, 10).

The variable regions may include hypervariable regions (HVR) and framework regions (FR). The hypervariable regions (HVR) may refer to complementarity determining regions (CDR).

The light chain variable region may comprise light chain hypervariable regions and light chain framework regions. The light chain hypervariable regions may include CDR L1, CDR L2 and CDR L3. The light chain framework regions may include FR L1, FR L2, FR L3 and FR L4. An antibody may comprise two domains each of CDR L1, CDR L2 and CDR L3. The antibody may comprise two domains each of FR L1, FR L2, FRL3 and FRL4.

The heavy chain variable region may comprise heavy chain hypervariable regions and heavy chain framework regions. The heavy chain hypervariable regions may include CDR H1, CDR H2 and CDR H3. The heavy chain framework regions may include FR H1, FR H2, FR H3 and FR H4. An antibody may comprise two domains each of CDR H1, CDR H2 and CDR H3. The antibody may comprise two domains each of FR H1, FR H2, FR H3 and FR H4.

The constant regions (1, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 11) may include light chain constant regions (5, 11) and heavy chain constant regions (1, 2, 3, 7, 8, 9).

The light chain constant regions (5, 11) may include CL. The antibody may comprise a first CL (5) and/or a second CL (11).

The heavy chain constant region may include CH1, CH2 and CH3, or CH1, CH2, CH3 and CH4. For example, IgG, IgD and IgA may comprise CH1, CH2 and CH3. For example, IgE and IgM may comprise CH1, CH2, CH3 and CH4. The antibody may comprise two domains each of CH1, CH2 and CH3. The antibody may comprise two domains each of CH1, CH2, CH3 and CH4.

IgG may comprise a γ-heavy chain in the constant region. IgM may comprise a μ-heavy chain in the constant region. IgA may comprise an α-heavy chain in the constant region. IgD may comprise a δ-heavy chain in the constant region. IgE may comprise an ε-heavy chain in the constant region.

VL (6, 12), VH (4, 10) in the variable region and CL (5, 11) and CH1 (3, 9) in the constant region can form the Fab region (antigen binding fragment; Fab).

CH2 (2, 8) and CH3 (1, 7), or CH2, CH3 and CH4 in the constant region can form the Fc region (fragment crystallizable region; Fc Region).

The heavy chain in the Fab region (3, 9) and the heavy chain in the Fc region (13, 14) may be connected by a hinge region.

The antibody may be any one or more of a chimeric antibody, a humanized antibody and a human antibody.

The chimeric antibody may indicate that the gene for a component of Fab is heterologous. The chimeric antibody may indicate that genes for the variable region and the constant region are heterologous. For example, the chimeric antibody may indicate that the variable region is derived from mouse gene sequences and the constant region is derived from human gene sequences.

The humanized antibody may indicate the gene for a component of the variable region is heterologous. The humanized antibody may indicate that genes for the variable region CDRs and framework regions are heterologous. For example, the humanized antibody may indicate that the variable region CDRs are derived from mouse gene sequences while the variable region framework regions are derived from human gene sequences.

The human antibody may mean that the genes for the constant region, the variable region CDRs and the variable region FR regions are derived from human.

Immunoglobulin G (IgG)

In an embodiment of the present invention, an immunoglobulin G (IgG) can be used.

The IgG may be any one or more of IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4. For example, in a working example of the present invention, any one or more of IgG1 and IgG2 may be used.

The IgG may comprise variable regions (4, 6, 10, 12) and constant regions (1, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 11).

The variable regions of IgG (4, 6, 10, 12) may include light chain variable regions (6, 12) and heavy chain variable regions (4, 10).

The variable regions of IgG may include hypervariable regions (HVR) and framework regions (FR). The hypervariable regions (HVR) may refer to complementarity determining regions (CDR).

The light chain variable region of IgG may comprise light chain hypervariable regions and light chain framework regions. The light chain hypervariable regions may include CDR L1, CDR L2 and CDR L3. The light chain framework regions may include FR L1, FR L2, FR L3 and FR L4. IgG may comprise two domains each of CDR L1, CDR L2 and CDR L3. IgG may comprise two domains each of FR L1, FR L2, FRL3 and FRL4.

The heavy chain variable region of IgG may comprise heavy chain hypervariable regions and heavy chain framework regions. The heavy chain hypervariable regions may include CDR H1, CDR H2 and CDR H3. The heavy chain framework regions may include FR H1, FR H2, FR H3 and FR H4. IgG may comprise two domains each of CDR H1, CDR H2 and CDR H3. IgG may comprise two domains each of FR H1, FR H2, FR H3 and FR H4.

The constant regions of IgG (1, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 11) may include light chain constant regions (5, 11) and heavy chain constant regions (1, 2, 3, 7, 8, 9).

The light chain constant regions (5, 11) may include CL. The antibody may comprise a first CL (5) and/or a second CL (11).

The heavy chain constant region of IgG may include CH1, CH2 and CH3. The IgG may comprise two domains each of CH1, CH2 and CH3.

IgG may comprise a γ-heavy chain in the constant region.

VL (6, 12), VH (4, 10) in the variable region and CL (5, 11) and CH1 (3, 9) in the constant region of IgG can form the Fab region (antigen binding fragment; Fab).

CH2 (2, 8) and CH3 (1, 7) in the constant region of IgG can form the Fc region (fragment crystallizable region; Fc Region) (13, 14).

The heavy chain in the Fab region (3, 9) and the heavy chain in the Fc region (13, 14) in IgG may be connected by a hinge region.

The IgG may be any one or more of a chimeric antibody, a humanized antibody and a human antibody.

The chimeric antibody IgG may indicate that the gene for a component of Fab is heterologous. The chimeric antibody IgG may indicate that genes for the variable region and the constant region are heterologous. For example, the chimeric antibody may indicate that the variable region is derived from mouse IgG gene sequences and the constant region is derived from human IgG gene sequences.

The humanized antibody IgG may indicate the gene for a component of the variable region is heterologous. The humanized antibody IgG may indicate that genes for the variable region CDRs and framework regions are heterologous. For example, the humanized antibody may indicate that the variable region CDRs are derived from mouse IgG gene sequences while the variable region framework regions are derived from human IgG gene sequences.

The human antibody IgG may mean that the genes for the constant region, the variable region CDRs and the variable region FR regions are derived from human IgG gene sequences.

The IgG1 may comprise a human-derived CH2 domain. The IgG1 may comprise a human-derived CH3 domain. The CH2 domain of IgG1 may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The CH3 domain of IgG1 may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain. The IgG1 may comprise two CH2 domains. The IgG1 may comprise two CH3 domains.

The IgG2 may comprise a human-derived CH2 domain. The IgG2 may comprise a human-derived CH3 domain. The CH2 domain of IgG2 may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The CH3 domain of IgG2 may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain. The IgG2 may comprise two CH2 domains. The IgG2 may comprise two CH3 domains.

In a specific embodiment of the present invention, as an example of the IgG, Herceptin may be used, but the IgG is not limited thereto.

Antibody Variant

In another working example of the present invention, an antibody variant can be used.

The antibody variant may be any one or more of an Fab (antigen-binding fragment), an F(ab)'2, a monospecific Fab2, a bispecific Fab2, a trispecific Fab2, a monovalent Ig, an scFv (single-chain variable fragment), a bispecific diabody, a scFv-Fc (single-chain variable fragment-fragment crystallizable), a minibody, an IgNAR (immunoglobulin new antigen receptor), V-NAR (Variable-new antigen receptor), an hcIgG (heavy chain immunoglobulin G), and a VhH(variable domain of heavy chain antibody), but is not limited thereto.

The antibody variant may be any one or more of a chimeric antibody variant, a humanized antibody variant and a human antibody variant.

The antibody variant may be any one or more of an IgG variant, an IgM variant, an IgA variant, an IgD variant and an IgE variant. The IgG variant may be any one or more of an IgG1 variant, an IgG2 variant, an IgG3 variant and an IgG4 variant.

The antibody variant may comprise an IgG CH2-CH3 domain.

The antibody variant may comprise a human IgG CH2-CH3 gene-derived CH2-CH3 domain.

The antibody variant may comprise a human IgG1 CH2-CH3 gene-derived CH2-CH3 domain.

The IgG1 CH2 domains may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The IgG1 CH3 domains may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain. The IgG1 may comprise the CH2 domain in a number of 1, 2, 3 or 4. The IgG1 may comprise the CH3 domain in a number of 1, 2, 3 or 4.

The antibody variant may comprise a human IgG2 CH2-CH3 gene-derived CH2-CH3 domain.

The IgG2 CH2 domains may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The IgG2 CH3 domains may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain. The IgG2 may comprise the CH2 domain in a number of 1, 2, 3 or 4. The IgG2 may comprise the CH3 domain in a number of 1, 2, 3 or 4.

Fusion Protein

In another working example of the present invention, a fusion protein can be used.

The fusion protein may have a structure in which a target molecule and a CH2-CH3 domain of an antibody are connected. The target molecule may have a structure involving the target molecule connected to a region of the CH2-CH3 domain. The target molecule and the CH2-CH3 domain may be connected by a linking peptide. The target molecule and the CH2-CH3 domain may be connected by a crosslinking agent.

The target molecule may be any one or more of a variable region of an antibody, a peptide interacting with a certain molecule, a protein interacting with a certain molecule, a compound interacting with a certain molecule, and a nucleic acid interacting with a certain molecule, but is not limited thereto.

The CH2-CH3 domains may comprise an IgG CH2-CH3 domain. The CH2-CH3 domains may comprise a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The CH3 domain may comprise a human IgG CH3 gene-derived CH3 domain.

The CH2-CH3 domains may comprise human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domains. The CH2-CH3 domains may comprise human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domains. The IgG1 CH2 domains may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The IgG1 CH3 domains may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain. The IgG1 may comprise the CH2 domain in a number of 1, 2, 3 or 4. The IgG1 may comprise the CH3 domain in a number of 1, 2, 3 or 4.

The CH2-CH3 domains may comprise human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domains. The CH2-CH3 domains may comprise human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domains. The IgG2 CH2 domains may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The IgG2 CH3 domains may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain. The IgG2 may comprise the CH2 domain in a number of 1, 2, 3 or 4. The IgG2 may comprise the CH3 domain in a number of 1, 2, 3 or 4.

The fusion protein may have additional structures in addition to the target molecule and CH2-CH3 domain described above.

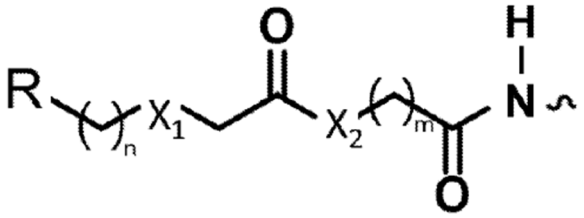
4. Site-specific Interactome-IC-R Conjugate (SSI-IC-R)

In another aspect of the present invention, an SSI-IC-R compound 300 comprising the following structures of IC and site-specific interactome can be provided.



In the SSI-IC-R, R 102 may be either of a click chemistry chemical and a payload.
The IC and the site-specific interactome (SSI) are as described above.

In a working example of the present invention, a compound of Formula 20 can be provided.
[Formula 20]



In Formula 20, X_1 may be any one of S, O, NH, Se and CH_2.
In Formula 20, X_2 may be any one of S, O, NH and Se.
For example, in Formula 20, X_1 is S, and X_2 is S.
For example, in Formula 20, X_1 is S, and X_2 is O.
For example, in Formula 20, X_1 is S, and X_2 is NH.
For example, in Formula 20, X_1 is S, and X_2 is Se.
For example, in Formula 20, X_1 is O, and X_2 is S.
For example, in Formula 20, X_1 is O, and X_2 is O.
For example, in Formula 20, X_1 is O, and X_2 is NH.
For example, in Formula 20, X_1 is O, and X_2 is Se.
For example, in Formula 20, X_1 is NH, and X_2 is S.
For example, in Formula 20, X_1 is NH, and X_2 is O.
For example, in Formula 20, X_1 is NH, and X_2 is NH.
For example, in Formula 20, X_1 is NH, and X_2 is Se.
For example, in Formula 20, X_1 is Se, and X_2 is S.
For example, in Formula 20, X_1 is Se, and X_2 is O.
For example, in Formula 20, X_1 is Se, and X_2 is NH.
For example, in Formula 20, X_1 is Se, and X_2 is Se.
For example, in Formula 20, X_1 is CH_2, and X_2 is S.
For example, in Formula 20, X_1 is CH_2, and X_2 is O.
For example, in Formula 20, X_1 is CH_2, and X_2 is NH.
For example, in Formula 20, X_1 is CH_2, and X_2 is Se.

In Formula 20, R 102 may be either of a click chemistry chemical and a payload.

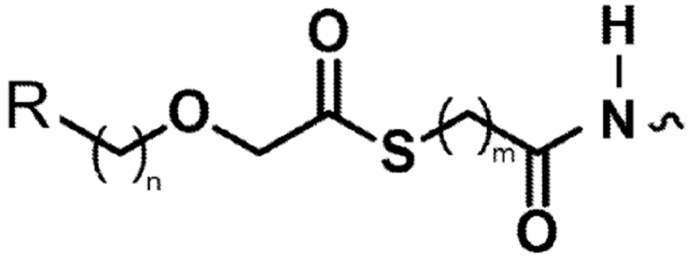
In Formula 20, m and n each may be 0 or a natural number.

The click chemistry chemical and payload are as described above.

The -NH may be provided by an amine group. The -NH may be provided by an amine

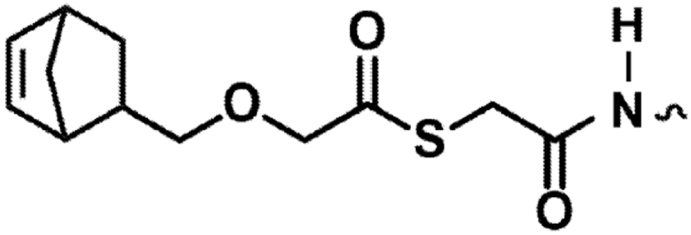
residue of an amino acid. The -NH may be provided by an amine group or amine residue included in a peptide substance. The -NH may be provided by an amine group or amine residue included in a non-peptide substance.

In an embodiment of the present invention, a compound of Formula 21 can be provided.
[Formula 21]



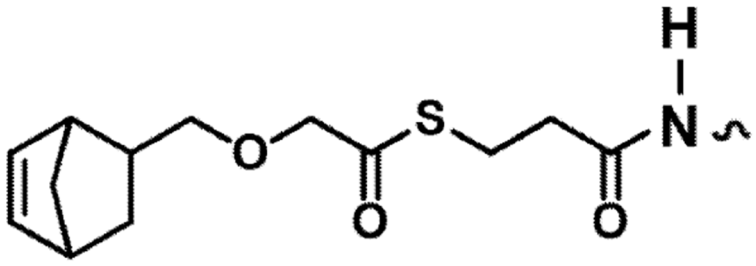
In Formula 21, R 102 may be either of a click chemistry chemical and a payload.
In Formula 21, m and n each may be 0 or a natural number.

In a specific embodiment of the present invention, a compound of Formula 22 can be provided.
[Formula 22]



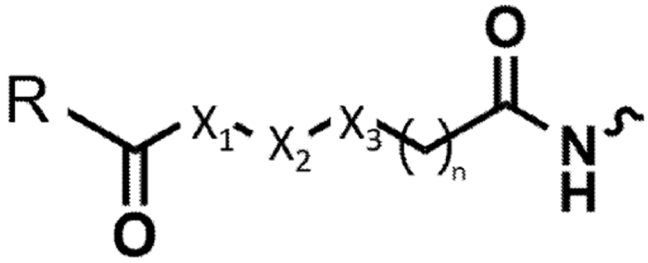
The -NH in Formula 22 may be provided by an amine group or amine residue included in a peptide substance. The -NH in Formula 22 may be provided by an amine group or amine residue included in the site-specific interactome. The -NH in Formula 22 may be provided by an amine residue included in Site-specific interactome I. The -NH may be provided by an amine residue included in X_6 of Site-specific interactome I. The -NH may be provided by an amine residue included in K of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 1. The -NH may be provided by an amine residue included in K of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 2. The -NH may be provided by an amine residue included in Orn of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 4. The -NH may be provided by an amine residue included in Orn of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 5. The -NH may be provided by an amine residue included in β-AA of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 7. The -NH may be provided by an amine residue included in β-AA of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 8.

In another specific embodiment of the present invention, a compound of Formula 23 can be provided.
[Formula 23]



The -NH in Formula 23 may be provided by an amine group or amine residue included in a peptide substance. The -NH in Formula 23 may be provided by an amine group or amine residue included in the site-specific interactome. The -NH in Formula 23 may be provided by an amine residue included in Site-specific interactome I. The -NH may be provided by an amine residue included in X_6 of Site-specific interactome I. The -NH may be provided by an amine residue included in K of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 1. The -NH may be provided by an amine residue included in K of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 2. The -NH may be provided by an amine residue included in Orn of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 4. The -NH may be provided by an amine residue included in Orn of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 5. The -NH may be provided by an amine residue included in β-AA of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 7. The -NH may be provided by an amine residue included in β-AA of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 8.

In another working example of the present invention, a compound of Formula 24 can be provided.
[Formula 24]



In Formula 24, X_1 may be any one of S, O, and NH.
In Formula 24, X_2 may be any one of NCH_3, S, O, NH and CH_2.
In Formula 24, X_3 may be any one of C=O (carbonyl), S, O, NH and CH_2.
In Formula 24, when X_3 is C=O, X_1 may become an anion more easily than X_2.
In Formula 24, when X_3 is C=O, X_1 may have a greater tendency to become an anion than X_2.
In Formula 24, when X_3 is C=O, X_1 may have a greater electron affinity than X_2.
In Formula 24, when X_3 is C=O, X_1 may have a larger atom size than X_2.
In Formula 24, when X_3 is C=O, an anion of X_1 may be more stable than an anion of X_2.

For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is NCH_3, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is NCH_3, and X_3 is S.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is NCH_3, and X_3 is O.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is NCH_3, and X_3 is NH.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is NCH_3, and X_3 is CH_2.

For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is S, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is S, and X_3 is S.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is S, and X_3 is O.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is S, and X_3 is NH.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is S, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is O, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is O, and X_3 is S.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is O, and X_3 is O.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is O, and X_3 is NH.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is O, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is NH, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is NH, and X_3 is S.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is NH, and X_3 is O.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is NH, and X_3 is NH.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is NH, and X_3 is CH_2
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is CH_2, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is CH_2, and X_3 is S.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is CH_2, and X_3 is O.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is CH_2, and X_3 is NH.
For example, in Formula 24, X_1 is S, X_2 is CH_2, and X_3 is CH_2

For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is NCH_3, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is NCH_3, and X_3 is S.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is NCH_3, and X_3 is O.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is NCH_3, and X_3 is NH.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is NCH_3, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is S, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is S, and X_3 is S.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is S, and X_3 is O.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is S, and X_3 is NH.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is S, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is O, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is O, and X_3 is S.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is O, and X_3 is O.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is O, and X_3 is NH.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is O, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is NH, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is NH, and X_3 is S.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is NH, and X_3 is O.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is NH, and X_3 is NH.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is NH, and X_3 is CH_2
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is CH_2, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is CH_2, and X_3 is S.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is CH_2, and X_3 is O.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is CH_2, and X_3 is NH.
For example, in Formula 24, X_1 is O, X_2 is CH_2, and X_3 is CH_2

For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is NCH_3, and X_3 is C=O.

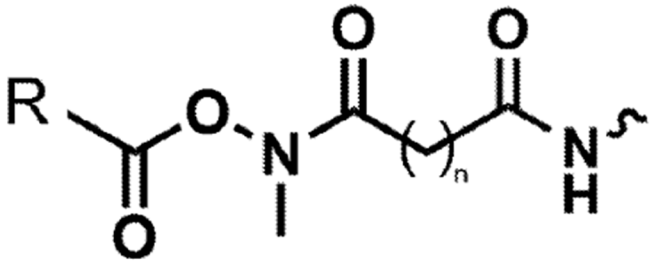
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is NCH_3, and X_3 is S.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is NCH_3, and X_3 is O.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is NCH_3, and X_3 is NH.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is NCH_3, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is S, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is S, and X_3 is S.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is S, and X_3 is O.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is S, and X_3 is NH.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is S, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is O, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is O, and X_3 is S.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is O, and X_3 is O.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is O, and X_3 is NH.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is O, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is NH, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is NH, and X_3 is S.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is NH, and X_3 is O.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is NH, and X_3 is NH.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is NH, and X_3 is CH_2
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is CH_2, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is CH_2, and X_3 is S.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is CH_2, and X_3 is O.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is CH_2, and X_3 is NH.
For example, in Formula 24, X_1 is NH, X_2 is CH_2, and X_3 is CH_2

In Formula 24, R 102 may be either of a click chemistry chemical and a payload.
In Formula 24, n may be 0 or a natural number.

The click chemistry chemical and payload are as described above.

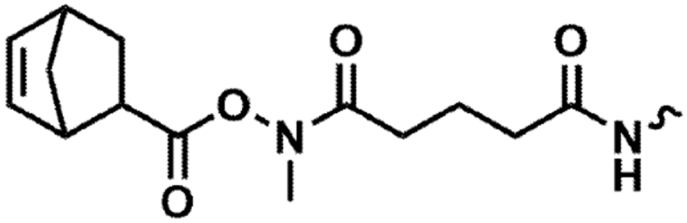
The -NH may be provided by an amine group. The -NH may be provided by an amine residue of an amino acid. The -NH may be provided by an amine group or amine residue included in a peptide substance. The -NH may be provided by an amine group or amine residue included in a non-peptide substance.

In an embodiment of the present invention, a compound of Formula 25 can be provided.
[Formula 25]



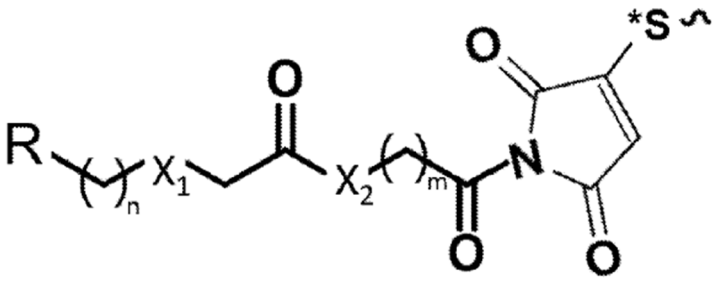
In Formula 25, R may be either of a click chemistry chemical and a payload.
In Formula 25, n may be 0 or a natural number.

In a specific embodiment of the present invention, a compound of Formula 26 can be provided.
[Formula 26]



The -NH in Formula 26 may be provided by an amine group or amine residue included in a peptide substance. The -NH in Formula 26 may be provided by an amine group or amine residue included in the site-specific interactome. The -NH in Formula 26 may be provided by an amine residue included in Site-specific interactome I. The -NH may be provided by an amine residue included in X_6 of Site-specific interactome I. The -NH may be provided by an amine residue included in K of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 1. The -NH may be provided by an amine residue included in K of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 2. The -NH may be provided by an amine residue included in Orn of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 4. The -NH may be provided by an amine residue included in Orn of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 5. The -NH may be provided by an amine residue included in β-AA of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 7. The -NH may be provided by an amine residue included in β-AA of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 8.

In still another working example of the present invention, a compound of Formula 27 can be provided.
[Formula 27]



In Formula 27, X_1 may be any one of S, O, NH, Se and CH_2.
In Formula 27, X_2 may be any one of S, O, NH and Se.
For example, in Formula 27, X_1 is S, and X_2 is S.
For example, in Formula 27, X_1 is S, and X_2 is O.
For example, in Formula 27, X_1 is S, and X_2 is NH.
For example, in Formula 27, X_1 is S, and X_2 is Se.
For example, in Formula 27, X_1 is O, and X_2 is S.
For example, in Formula 27, X_1 is O, and X_2 is O.
For example, in Formula 27, X_1 is O, and X_2 is NH.
For example, in Formula 27, X_1 is O, and X_2 is Se.
For example, in Formula 27, X_1 is NH, and X_2 is S.

For example, in Formula 27, X_1 is NH, and X_2 is O.
For example, in Formula 27, X_1 is NH, and X_2 is NH.
For example, in Formula 27, X_1 is NH, and X_2 is Se.
For example, in Formula 27, X_1 is Se, and X_2 is S.
For example, in Formula 27, X_1 is Se, and X_2 is O.
For example, in Formula 27, X_1 is Se, and X_2 is NH.
For example, in Formula 27, X_1 is Se, and X_2 is Se.
For example, in Formula 27, X_1 is CH_2, and X_2 is S.
For example, in Formula 27, X_1 is CH_2, and X_2 is O.
For example, in Formula 27, X_1 is CH_2, and X_2 is NH.
For example, in Formula 27, X_1 is CH_2, and X_2 is Se.

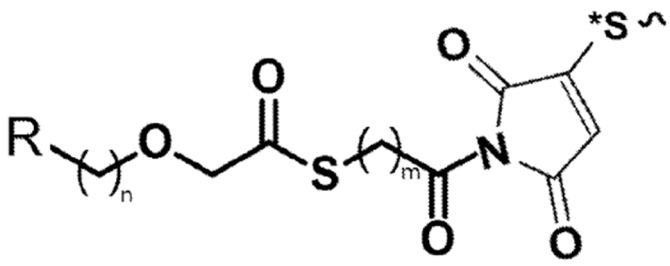
In Formula 27, R 102 may be either of a click chemistry chemical and a payload.

In Formula 27, m and n each may be 0 or a natural number.

The click chemistry chemical and payload are as described above.

The -*S may be provided by a thiol group. The -*S may be provided by a thiol residue of an amino acid. The -*S may be provided by a thiol group or thiol residue included in a peptide substance. The -*S may be provided by a thiol group or thiol residue included in a non-peptide substance.

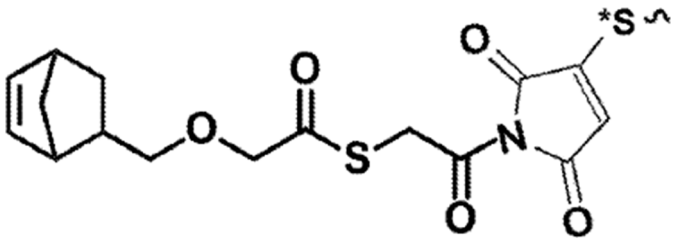
In an embodiment of the present invention, a compound of Formula 28 can be provided.
[Formula 28]



In Formula 28, R may be either of a click chemistry chemical and a payload.

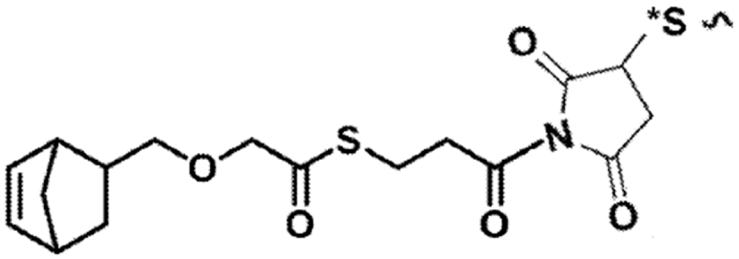
In Formula 28, m and n each may be 0 or a natural number.

In a specific embodiment of the present invention, a compound of Formula 29 can be provided.
[Formula 29]



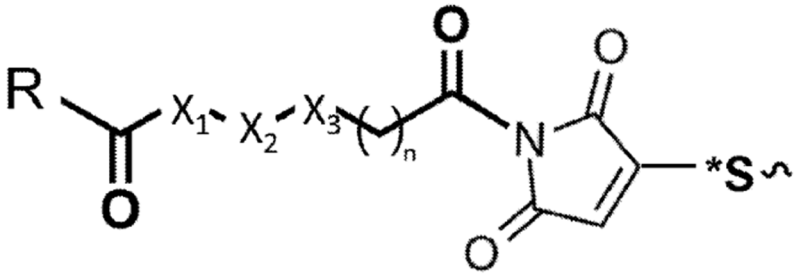
The -S* in Formula 29 may be provided by a thiol residue included in a peptide substance. The -S* in Formula 29 may be provided by a thiol residue included in the site-specific interactome. The -S* in Formula 29 may be provided by a thiol residue included in Site-specific interactome I. The -S* may be provided by a thiol residue included in X_6 of Site-specific interactome I. The -S* may be provided by a thiol residue included in HC of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 10. The -S* may be provided by a thiol residue included in HC of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 11.

In another specific embodiment of the present invention, a compound of Formula 30 can be provided.
[Formula 30]



The -S* in Formula 30 may be provided by a thiol residue included in a peptide substance. The -S* in Formula 30 may be provided by a thiol residue included in the site-specific interactome. The -S* in Formula 30 may be provided by a thiol residue included in Site-specific interactome I. The -S* may be provided by a thiol residue included in X_6 of Site-specific interactome I. The -S* may be provided by a thiol residue included in HC of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 10. The -S* may be provided by a thiol residue included in HC of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 11.

In still another working example of the present invention, a compound of Formula 31 can be provided.
[Formula 31]



In Formula 31, X_1 may be any one of S, O, and NH.
In Formula 31, X_2 may be any one of NCH_3, S, O, NH and CH_2.
In Formula 31, X_3 may be any one of C=O (carbonyl), S, O, NH and CH_2.
In Formula 31, when X_3 is C=O, X_1 may become an anion more easily than X_2.
In Formula 31, when X_3 is C=O, X_1 may have a greater tendency to become an anion than X_2.
In Formula 31, when X_3 is C=O, X_1 may have a greater electron affinity than X_2.
In Formula 31, when X_3 is C=O, X_1 may have a larger atom size than X_2.
In Formula 31, when X_3 is C=O, an anion of X_1 may be more stable than an anion of X_2.

For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is NCH_3, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is NCH_3, and X_3 is S.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is NCH_3, and X_3 is O.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is NCH_3, and X_3 is NH.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is NCH_3, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is S, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is S, and X_3 is S.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is S, and X_3 is O.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is S, and X_3 is NH.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is S, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is O, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is O, and X_3 is S.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is O, and X_3 is O.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is O, and X_3 is NH.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is O, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is NH, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is NH, and X_3 is S.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is NH, and X_3 is O.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is NH, and X_3 is NH.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is NH, and X_3 is CH_2
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is CH_2, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is CH_2, and X_3 is S.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is CH_2, and X_3 is O.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is CH_2, and X_3 is NH.
For example, in Formula 31, X_1 is S, X_2 is CH_2, and X_3 is CH_2

For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is NCH_3, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is NCH_3, and X_3 is S.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is NCH_3, and X_3 is O.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is NCH_3, and X_3 is NH.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is NCH_3, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is S, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is S, and X_3 is S.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is S, and X_3 is O.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is S, and X_3 is NH.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is S, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is O, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is O, and X_3 is S.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is O, and X_3 is O.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is O, and X_3 is NH.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is O, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is NH, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is NH, and X_3 is S.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is NH, and X_3 is O.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is NH, and X_3 is NH.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is NH, and X_3 is CH_2
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is CH_2, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is CH_2, and X_3 is S.

For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is CH_2, and X_3 is O.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is CH_2, and X_3 is NH.
For example, in Formula 31, X_1 is O, X_2 is CH_2, and X_3 is CH_2

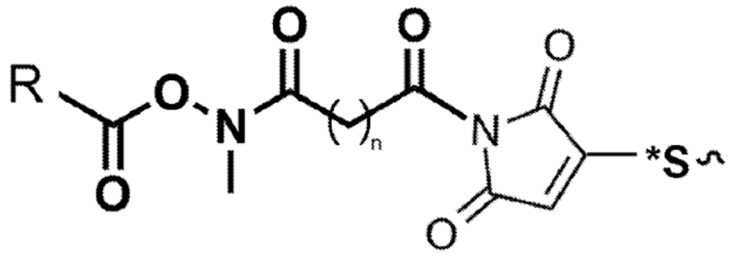
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is NCH_3, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is NCH_3, and X_3 is S.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is NCH_3, and X_3 is O.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is NCH_3, and X_3 is NH.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is NCH_3, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is S, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is S, and X_3 is S.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is S, and X_3 is O.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is S, and X_3 is NH.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is S, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is O, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is O, and X_3 is S.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is O, and X_3 is O.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is O, and X_3 is NH.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is O, and X_3 is CH_2.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is NH, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is NH, and X_3 is S.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is NH, and X_3 is O.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is NH, and X_3 is NH.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is NH, and X_3 is CH_2
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is CH_2, and X_3 is C=O.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is CH_2, and X_3 is S.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is CH_2, and X_3 is O.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is CH_2, and X_3 is NH.
For example, in Formula 31, X_1 is NH, X_2 is CH_2, and X_3 is CH_2

In Formula 31, R 102 may be either of a click chemistry chemical and a payload.
In Formula 31, n may be 0 or a natural number.

The click chemistry chemical and payload are as described above.

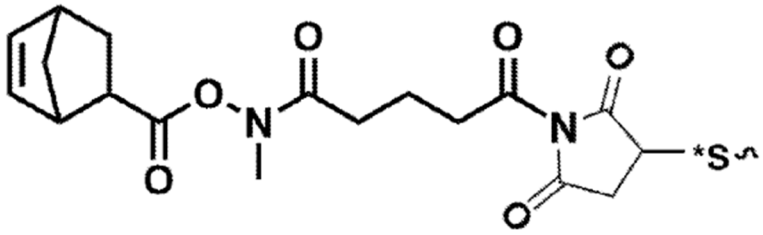
The -*S may be provided by a thiol group. The -*S may be provided by a thiol residue of an amino acid. The -*S may be provided by a thiol group or thiol residue included in a peptide substance. The -*S may be provided by a thiol group or thiol residue included in a non-peptide substance.

In an embodiment of the present invention, a compound of Formula 32 can be provided.
[Formula 32]



In Formula 32, R may be either of a click chemistry chemical and a payload.
In Formula 32, n may be 0 or a natural number.

In a specific embodiment of the present invention, a compound of Formula 33 can be provided.
[Formula 33]



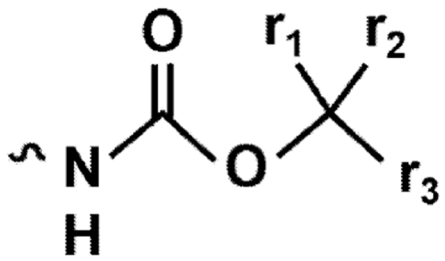
The -S* in Formula 33 may be provided by a thiol residue included in a peptide substance. The -S* in Formula 33 may be provided by a thiol residue included in the site-specific interactome. The -S* in Formula 33 may be provided by a thiol residue included in Site-specific interactome I. The -S* may be provided by a thiol residue included in X_6 of Site-specific interactome I. The -S* may be provided by a thiol residue included in HC of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 10. The -S* may be provided by a thiol residue included in HC of the site-specific interactome of SEQ ID NO. 11.

5. Protein Amine Group-R Proteome

In another aspect of the present invention, a proteome 400 comprising R 102 can be provided. The proteome 400 comprising R may comprise an amine group or amine residue.

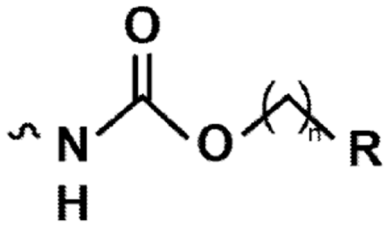
The proteome 400 comprising R may include a structure of Formula 40.

[Formula 40]



In Formula 40, r1 and r2 each may be any one of H, alkyl, aryl, arylalkyl and heterocycle.
In Formula 40, r3 may comprise R 102. R 102 may be either of a click chemistry chemical and a payload. For example, R may be norbornene.

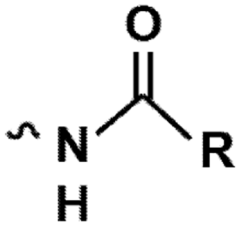
For example, the proteome comprising R may include a structure of Formula 41.
[Formula 41]



In Formula 41, n may be 0 or a natural number.

In Formula 41, R may be either of a click chemistry chemical and a payload. For example, R may be norbornene.

The proteome comprising R may include a structure of Formula 42.
[Formula 42]



In Formula 42, R may be either of a click chemistry chemical and a payload. For example, R may be norbornene.

CH2-R

In a working example of the present invention, a CH2 domain proteome of an antibody including the structure of one or more of Formula 40 and Formula 42 can be provided.

A CH2 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 40 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain; and
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group,
r1 and r2 of the alkyl ester each are any one of H, alkyl, aryl, arylalkyl and heterocycle, and
r3 of the alkyl ester comprises R.

Here, R is either of a click chemistry chemical and a payload.

A CH2 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 42 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain;

a group R which is either of a click chemistry chemical and a payload; and
a ketone group connecting the group R and the amine group.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

The group R which is either of a click chemistry chemical and a payload is as described above.

The CH2 domain of an antibody may be any one or more of a CH2 domain of IgG, a CH2 domain of IgM, a CH2 domain of IgA, a CH2 domain of IgD and a CH2 domain of IgE. The CH2 domain of IgG may be any one or more of a CH2 domain of IgG1, a CH2 domain of IgG2, a CH2 domain of IgG3 and a CH2 domain of IgG4.

The CH2 domain of an antibody may be a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain.

The CH2 domain of an antibody may be a human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The CH2 domain of an antibody may be a human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

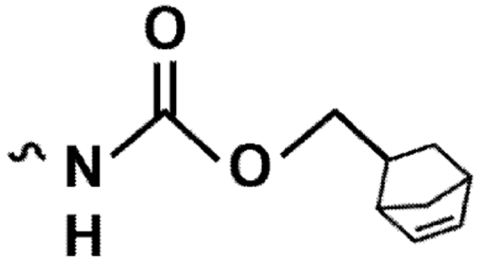
The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at

position 248 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

In an embodiment of the present invention, a CH2 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 43 can be provided.

[Formula 43]



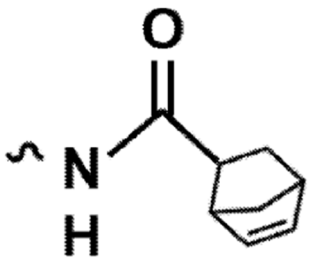
The CH2 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 43 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain; and
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group, and
the alkyl ester comprises norbornene.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

In another embodiment of the present invention, a CH2 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 44 can be provided.

[Formula 44]



The CH2 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 44 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain;
norbornene; and
a ketone group connecting the norbornene and the amine group.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be one that is derived from a lysine residue in a specific sequence. The CH2 domain may be a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

CH2-CH3-R

In a working example of the present invention, a CH2-CH3 domain proteome 400 of an antibody including the structure of one or more of Formula 40 and Formula 42 can be provided.

A CH2-CH3 domain proteome 400 of an antibody including the structure of Formula 40 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain 13, 14; and
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group,
r1 and r2 of the alkyl ester each are any one of H, alkyl, aryl, arylalkyl and heterocycle, and
r3 the alkyl ester comprises R.

Here, R 102 is either of a click chemistry chemical and a payload.

A CH2-CH3 domain proteome 400 of an antibody including the structure of Formula 42 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain 13, 14;
a group R which is either of a click chemistry chemical and a payload; and
a ketone group connecting the group R 102 and the amine group.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH3 domain.

The group R 102 which is either of a click chemistry chemical and a payload is as described above.

The CH2-CH3 domain of an antibody may be any one or more of the CH2 domain of IgG, CH2 domain of IgM, CH2 domain of IgA, CH2 domain of IgD, CH2 domain of IgE, CH3 domain of IgG, CH3 domain of IgM, CH3 domain of IgA, CH3 domain of IgD and CH3 domain of IgE. The CH2 domain of IgG may be any one or more of the CH2 domain of IgG1, CH2 domain of IgG2, CH2 domain of IgG3 and CH2 domain of IgG4. The CH3

domain of IgG may be any one or more of the CH3 domain of IgG1, CH3 domain of IgG2, CH3 domain of IgG3 and CH3 domain of IgG4

The CH2-CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The CH2-CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG CH3 gene-derived CH3 domain.

The CH2-CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The CH2 domain of an antibody may comprise a human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain.

The CH2-CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain. The CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain. The human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain. The human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The human IgG CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH3 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH3 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH3 domain. R may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

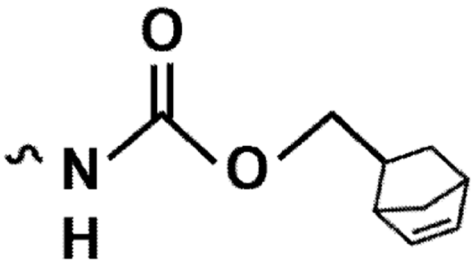
The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

In an embodiment of the present invention, a CH2-CH3 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 43 can be provided.

[Formula 43]



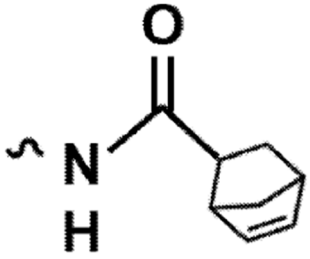
The CH2-CH3 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 43 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain; and
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group, and
the alkyl ester comprises norbornene.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

In another embodiment of the present invention, a CH2-CH3 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 44 can be provided.

[Formula 44]



The CH2-CH3 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 44 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain; norbornene; and
a ketone group connecting the norbornene and the amine group.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH3 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be one that is derived from a lysine residue in a specific sequence. The CH2-CH3 domain may comprise a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The CH2-CH3 domain may comprise a human IgG CH3 gene-derived CH3 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH3 gene-derived CH3 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH3 gene-

derived CH3 domain. Here, residues in a CH3 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH3 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH3 domain. R may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

Antibody-R

In another working example of the present invention, an antibody 500 including the structure of one or more of Formula 40 and Formula 42 can be provided.

An antibody 500 including the structure of Formula 40 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the antibody; and
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group,
r1 and r2 of the alkyl ester each are any one of H, alkyl, aryl, arylalkyl and heterocycle, and
r3 the alkyl ester comprises R.

Here, R 102 is either of a click chemistry chemical and a payload.

An antibody 500 including the structure of Formula 42 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the antibody;
a group R which is either of a click chemistry chemical and a payload; and
a ketone group connecting the group R 102 and the amine group.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH2 domain included in the antibody. The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH3 domain included in the antibody.

The group R 102 which is either of a click chemistry chemical and a payload is as described above.

The antibody may be any one or more of a chimeric antibody, a humanized antibody and a human antibody.

The antibody may be any one or more of IgG, IgM, IgA, IgD and IgE. The IgG may be any one or more of IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4.

The antibody may comprise a human IgG gene-derived domain.

The antibody may comprise a human IgG1 gene-derived domain. The antibody may comprise a human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The antibody may comprise a human IgG2 gene-derived domain. The antibody may comprise a human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain.

The antibody may comprise a human IgG1 gene-derived domain. The antibody may comprise a human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain. The antibody may comprise a human IgG2 gene-derived domain. The antibody may comprise a human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain. The human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain. The human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in

the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The human IgG CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH3 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH3 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH3 domain. R may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

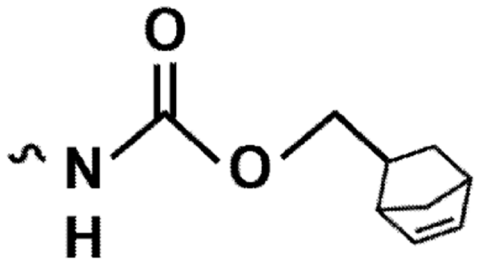
The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

In an embodiment of the present invention, an antibody including the structure of Formula 43 can be provided.

[Formula 43]



The antibody including the structure of Formula 43 comprises:

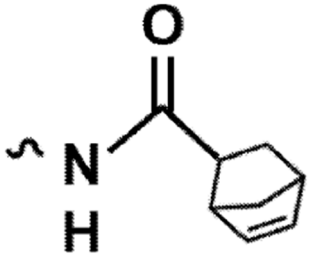
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain; and
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group, and
the alkyl ester comprises norbornene.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

In another embodiment of the present invention, an antibody including the structure of Formula 44 can be provided.

[Formula 44]



The antibody including the structure of Formula 44 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the antibody;
norbornene; and
a ketone group connecting the norbornene and the amine group.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH2 domain included in the antibody. The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH3 domain included in the antibody.

The antibody may be any one or more of a chimeric antibody, a humanized antibody and a human antibody. For example, the antibody may be any one or more of trastuzumab (Herceptin), bevacizumab (Avastin) and cetuximab (Erbitux), but is not limited thereto. For example, the antibody may be a commercially available antibody.

The antibody may be any one or more of IgG, IgM, IgA, IgD and IgE. The IgG may be any one or more of IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be one that is derived from a lysine residue in a specific sequence. The antibody may comprise a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The antibody may comprise a human IgG CH3 gene-derived CH3 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH3 gene-derived CH3 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain. Here, residues in a CH3 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH3 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH3 domain. R may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine

group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

Antibody Variant-R

In another working example of the present invention, an antibody variant including the structure of one or more of Formula 40 and Formula 42 can be provided.

An antibody variant including the structure of Formula 40 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant; and
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group,
r1 and r2 of the alkyl ester each are any one of H, alkyl, aryl, arylalkyl and heterocycle, and
r3 the alkyl ester comprises R.

Here, R is either of a click chemistry chemical and a payload.

An antibody variant including the structure of Formula 42 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant;
a group R which is either of a click chemistry chemical and a payload; and
a ketone group connecting the group R and the amine group.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH2 domain included in the antibody variant. The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH3 domain included in the antibody variant.

The group R which is either of a click chemistry chemical and a payload is as described above.

The antibody variant may be any one or more of an Fab (antigen-binding fragment), an F(ab)'2, a monospecific Fab2, a bispecific Fab2, a trispecific Fab2, a monovalent Ig, an scFv (single-chain variable fragment), a bispecific diabody, a scFv-Fc (single-chain variable fragment-fragment crystallizable), a minibody, an IgNAR (immunoglobulin new antigen receptor), V-NAR (Variable-new antigen receptor), an hcIgG (heavy chain immunoglobulin G), and a VhH(variable domain of heavy chain antibody), but is not limited thereto.

The antibody variant may be any one or more of a chimeric antibody variant, a humanized antibody variant and a human antibody variant.

The antibody variant may be any one or more of an IgG variant, an IgM variant, an IgA variant, an IgD variant and an IgE variant. The IgG variant may be any one or more of an IgG1 variant, an IgG2 variant, an IgG3 variant and an IgG4 variant.

The antibody variant may comprise a human IgG gene-derived domain.

The antibody variant may comprise a human IgG1 gene-derived domain. The antibody variant may comprise a human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The antibody variant may comprise a human IgG2 gene-derived domain. The antibody variant may comprise a human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain.

The antibody variant may comprise a human IgG1 gene-derived domain. The antibody variant may comprise a human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain. The antibody variant may comprise a human IgG2 gene-derived domain. The antibody variant may comprise a human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain. The human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain. The human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The human IgG CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH3 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH3 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH3 domain. R may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU

index of Kabat for residues in an Fc region.

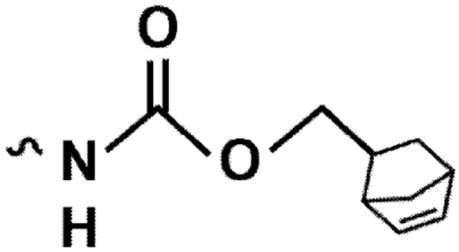
The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

In an embodiment of the present invention, an antibody variant including the structure of Formula 43 can be provided.

[Formula 43]



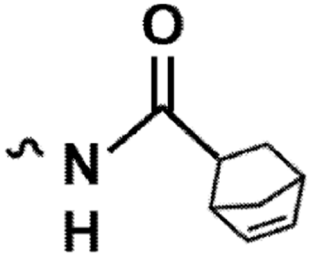
The antibody variant including the structure of Formula 43 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain; and
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group, and
the alkyl ester comprises norbornene.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

In another embodiment of the present invention, an antibody variant including the structure of Formula 44 can be provided.

[Formula 44]



The antibody variant including the structure of Formula 44 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant;
norbornene; and
a ketone group connecting the norbornene and the amine group.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH2 domain included in the antibody variant. The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH3 domain included in the antibody variant.

The antibody variant may be any one or more of an Fab (antigen-binding fragment), an F(ab)'2, a monospecific Fab2, a bispecific Fab2, a trispecific Fab2, a monovalent Ig, an scFv (single-chain variable fragment), a bispecific diabody, a scFv-Fc (single-chain variable fragment-fragment crystallizable), a minibody, an IgNAR (immunoglobulin new antigen receptor), V-NAR (Variable-new antigen receptor), an hcIgG (heavy chain immunoglobulin G), and a VhH(variable domain of heavy chain antibody), but is not limited thereto.

The antibody variant may be any one or more of a chimeric antibody variant, a humanized antibody variant and a human antibody variant.

The antibody variant may be any one or more of an IgG variant, an IgM variant, an IgA variant, an IgD variant and an IgE variant. The IgG variant may be any one or more of an IgG1 variant, an IgG2 variant, an IgG3 variant and an IgG4 variant.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be one that is derived from a lysine residue in a specific sequence. The antibody variant may comprise a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The antibody variant may comprise a human IgG CH3 gene-derived CH3 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU

index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH3 gene-derived CH3 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain. Here, residues in a CH3 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH3 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH3 domain. R may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

Fusion Protein (CH2 + Target Protein)-R

In another working example of the present invention, a fusion protein including the structure of one or more of Formula 40 and Formula 42 can be provided.

A fusion protein including the structure of Formula 40 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein; and
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group,
r1 and r2 of the alkyl ester each are any one of H, alkyl, aryl, arylalkyl and heterocycle, and
r3 the alkyl ester comprises R.
Here, R is either of a click chemistry chemical and a payload.

A fusion protein including the structure of Formula 42 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein;
a group R which is either of a click chemistry chemical and a payload; and
a ketone group connecting the group R and the amine group, and
the fusion protein comprises a target molecule and a CH2 domain of an antibody.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.
The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH2 domain included in the fusion protein.

The group R which is either of a click chemistry chemical and a payload is as described above.

The fusion protein may have a structure in which a target molecule and a CH2 domain of an antibody are connected. The target molecule may have a structure involving the target molecule connected to a region of the CH2 domain. The target molecule and the CH2 domain may be connected by a linking peptide. The target molecule and the CH2 domain may be connected by a crosslinking agent.

The target molecule may be any one or more of a variable region of an antibody, a peptide interacting with a certain molecule, a protein interacting with a certain molecule, a compound interacting with a certain molecule, and a nucleic acid interacting with a certain molecule, but is not limited thereto.

The CH2 domain of an antibody may be any one or more of a CH2 domain of IgG, a CH2 domain of IgM, a CH2 domain of IgA, a CH2 domain of IgD and a CH2 domain of IgE. The CH2 domain of IgG may be any one or more of a CH2 domain of IgG1, a CH2 domain of IgG2, a CH2 domain of IgG3, and a CH2 domain of IgG4.

The CH2 domain of an antibody may be a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain.

The CH2 domain of an antibody may be a human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The CH2 domain of an antibody may be a human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. The

human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

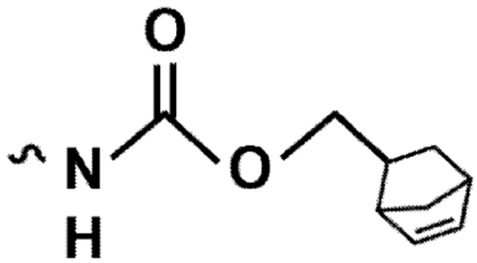
The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

In an embodiment of the present invention, a fusion protein including the structure of Formula 43 can be provided.

[Formula 43]



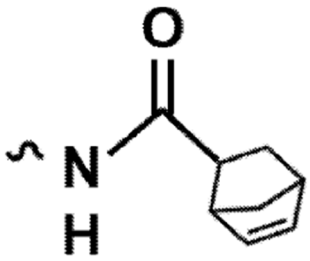
The fusion protein including the structure of Formula 43 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain; and
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group, and
the alkyl ester comprises norbornene.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

In another embodiment of the present invention, a fusion protein including the structure of Formula 44 can be provided.

[Formula 44]



The fusion protein including the structure of Formula 44 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein;
norbornene; and
a ketone group connecting the norbornene and the amine group, and
the fusion protein comprises a target molecule and a CH2 domain of an antibody.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain included in the fusion protein.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain included in the fusion protein.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be one that is derived from a lysine residue in a specific sequence. The CH2 domain may be a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

Fusion Protein (CH2-CH3 + Target Protein)-R

In another working example of the present invention, a fusion protein including the structure of one or more of Formula 40 and Formula 42 can be provided.

A fusion protein including the structure of Formula 40 comprises:

an amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein; and
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group,
r1 and r2 of the alkyl ester each are any one of H, alkyl, aryl, arylalkyl and heterocycle, and
r3 the alkyl ester comprises R.

Here, R is either of a click chemistry chemical and a payload.

A fusion protein including the structure of Formula 42 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein;
a group R which is either of a click chemistry chemical and a payload; and
a ketone group connecting the group R and the amine group, and
the fusion protein comprises a target molecule and a CH2-CH3 domain of an antibody.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH2 domain included in the fusion protein. The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH3 domain included in the fusion protein.

The group R which is either of a click chemistry chemical and a payload is as described above.

The fusion protein may have a structure in which a target molecule and a CH2-CH3 domain of an antibody are connected. The target molecule may have a structure involving the target molecule connected to a region of the CH2-CH3 domain. The target molecule and the CH2-CH3 domain may be connected by a linking peptide. The target molecule and the CH2-CH3 domain may be connected by a crosslinking agent.

The target molecule may be any one or more of a variable region of an antibody, a peptide interacting with a certain molecule, a protein interacting with a certain molecule, a compound interacting with a certain molecule, and a nucleic acid interacting with a certain molecule, but is not limited thereto.

The CH2-CH3 domain of an antibody may be any one or more of the CH2 domain of IgG, CH2 domain of IgM, CH2 domain of IgA, CH2 domain of IgD, CH2 domain of IgE, CH3 domain of IgG, CH3 domain of IgM, CH3 domain of IgA, CH3 domain of IgD and CH3 domain of IgE. The CH2 domain of IgG may be any one or more of the CH2 domain of IgG1, CH2 domain of IgG2, CH2 domain of IgG3 and CH2 domain of IgG4. The CH3 domain of IgG may be any one or more of the CH3 domain of IgG1, CH3 domain of IgG2, CH3 domain of IgG3 and CH3 domain of IgG4

The CH2-CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The CH2-CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG CH3 gene-derived CH3 domain.

The CH2-CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The CH2 domain of an antibody may comprise a human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain.

The CH2-CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain. The CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain. The human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain. The human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The human IgG CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH3 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH3 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH3 domain. R may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

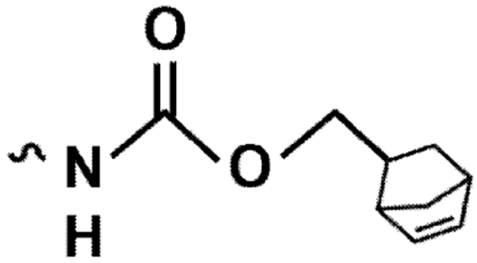
The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human

IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

In an embodiment of the present invention, a fusion protein including the structure of Formula 43 can be provided.

[Formula 43]



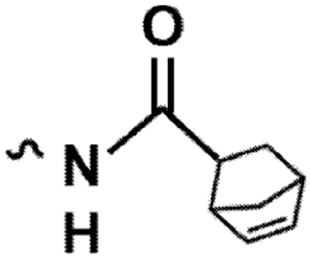
The fusion protein including the structure of Formula 43 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain; and
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group, and
the alkyl ester comprises norbornene.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

In another embodiment of the present invention, a fusion protein including the structure of Formula 44 can be provided.

[Formula 44]



The fusion protein including the structure of Formula 44 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein;

norbornene; and
a ketone group connecting the norbornene and the amine group, and
the fusion protein comprises a target molecule and a CH2-CH3 domain of an antibody.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain included in the fusion protein. The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH3 domain included in the fusion protein.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be one that is derived from a lysine residue in a specific sequence. The CH2 domain may be a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The CH3 domain may be a human IgG CH3 gene-derived CH3 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH3 gene-derived CH3 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain. Here, residues in a CH3 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH3 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH3 domain. R may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at

position 246 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

6. c"-Payload (c"-P)

In another aspect of the present invention, a compound 130 including the structure of Formula 50 can be provided.

[Formula 50]



In Formula 50, c" may be a click chemistry chemical).

In Formula 50, P may be a payload.

The click chemistry chemical may be any one or more of an alkyne, a cyclooctyne, a cyclononyne (e.g., a cycloalkyne such as bicyclo[6.1.0]non-4-yn-9-ylmethanol), a trans-cyclooctene, a nitrone, a nitrile oxide, an azide, a conjugated diene, and a dienophile such as an alkene, but is not limited thereto. The click chemistry chemical may be any one or more of acetylene, an azide, a transcyclooctene (TCO), a tetrazine, a cyclooctyne, a diarylcyclooctyne (DBCO), a methyl ester phosphine, norbornene, a methylcyclopropene, an azetine and a cyanide. Preferably, the click chemistry chemical may be any one or more of a transcyclooctene (TCO), a tetrazine, a cyclooctyne, an azide, a methylcyclopropene and norbornene.

The payload may be any one or more of a nucleic acid, a peptide and a compound.

The nucleic acid may be any one or more of DNA, RNA, PNA and LNA, but is not limited thereto. The nucleic acid may be any one or more of single-stranded, double-stranded, triple-stranded and quadruplex, but is not limited thereto.

The peptide may be composed of natural amino acid(s) and/or non-natural amino acid(s) linked by peptidyl bonds. The peptide may be a ligand for an antibody, an antibody fragment, a protein, an enzyme, a peptide, a peptoid, a toxin, or a biomarker, but is not limited thereto.

The compound may be any one or more of a drug complex, an imaging moiety, and a compound other than the foregoing.

The drug complex may be a prodrug, a precursor drug, or a drug. The drug complex may be an anticancer drug, an anti-inflammatory agent, another anti-disease agent, an antimicrobial agent (antibacterial agent, antifungal agent, antiviral agent).

The imaging moiety may be a contrast agent, a radioisotope, or a fluorescent material.

The compound other than a drug complex or an imaging moiety may be an optical agent, a vitamin, a toxin, or the like, but is not limited thereto.

The payload may include a linker.

The linker may be any one or more of a hydrazone linker, a peptide linker, a disulfide linker, and a thioether linker.

The linker may be a cleavable linker or an uncleavable linker. For example, the cleavable linker may be a VC linker.

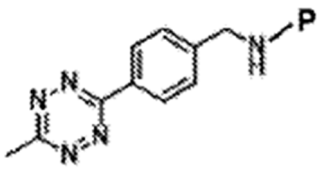
The linker may be a cleavable linker or an uncleavable linker. For example, the cleavable linker may be a VC linker.

The payload may comprise a hydrophilic moiety.

The hydrophilic moiety may be a polyethylene glycol (PEG).

In an embodiment of the present invention, a compound of Formula 51 can be provided.

[Formula 51]



In Formula 51, P may be a payload.

The payload may be any one or more of a nucleic acid, a peptide and a compound.

The nucleic acid may be any one or more of DNA, RNA, PNA and LNA, but is not limited thereto. The nucleic acid may be any one or more of single-stranded, double-stranded, triple-stranded and quadruplex, but is not limited thereto.

The peptide may be composed of natural amino acid(s) and/or non-natural amino acid(s) linked by peptidyl bonds. The peptide may be a ligand for an antibody, an antibody fragment, a protein, an enzyme, a peptide, a peptoid, a toxin, or a biomarker, but is not limited thereto.

The compound may be any one or more of a drug complex, an imaging moiety, and a compound other than the foregoing.

The drug complex may be a prodrug, a precursor drug, or a drug. The drug complex may be an anticancer drug, an anti-inflammatory agent, another anti-disease agent, an antimicrobial agent (antibacterial agent, antifungal agent, antiviral agent).

The imaging moiety may be a contrast agent, a radioisotope, or a fluorescent material.

The compound other than a drug complex or an imaging moiety may be an optical agent, a vitamin, a toxin, or the like, but is not limited thereto.

The payload may include a linker.

The linker may be any one or more of a hydrazone linker, a peptide linker, a disulfide linker, and a thioether linker.

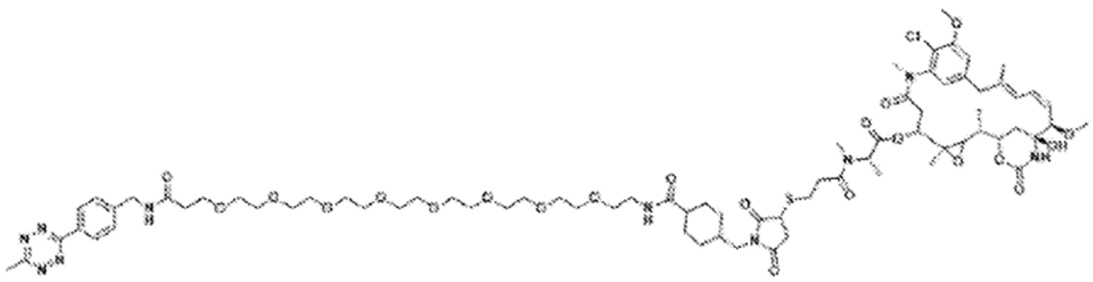
The linker may be a cleavable linker or an uncleavable linker. For example, the cleavable linker may be a VC linker.

The payload may comprise a hydrophilic moiety.

The hydrophilic moiety may be a polyethylene glycol (PEG).

In a specific embodiment of the present invention, a compound of Formula 52 can be provided.

[Formula 52]



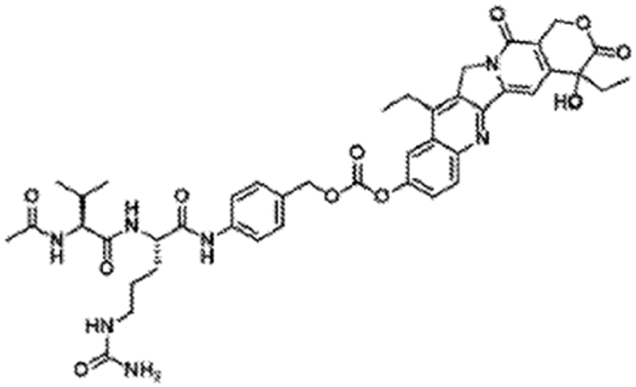
7. Linker

In another aspect of the present invention, a linker 109 can be provided.

The linker may be a cleavable linker. For example, the cleavable linker may be a VC linker.

In an embodiment of the present invention, a compound of Formula 60 can be provided.

[Formula 60]

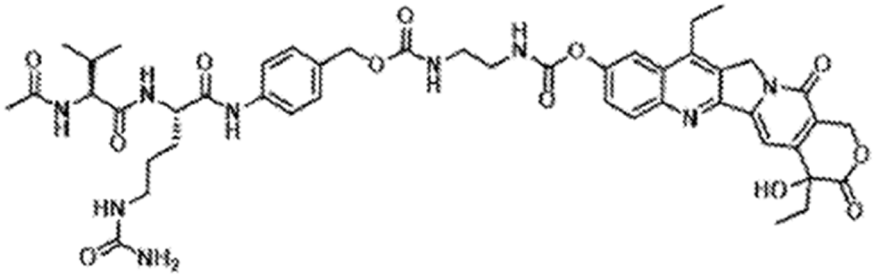


The linker of Formula 60 can be hydrolyzed by cathepsin B.

Cathepsin B can hydrolyze the peptide bond between valine and citrulline in the linker of Formula 60.

In another embodiment of the present invention, a compound of Formula 61 can be provided.

[Formula 61]

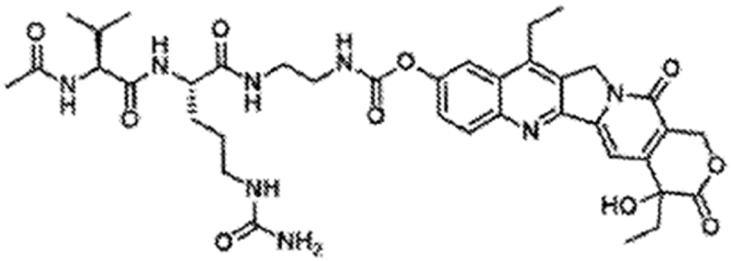


The linker of Formula 61 can be hydrolyzed by cathepsin B.

Cathepsin B can hydrolyze the peptide bond between valine and citrulline in the linker of Formula 61.

In still another embodiment of the present invention, a compound of Formula 62 can be provided.

[Formula 62]

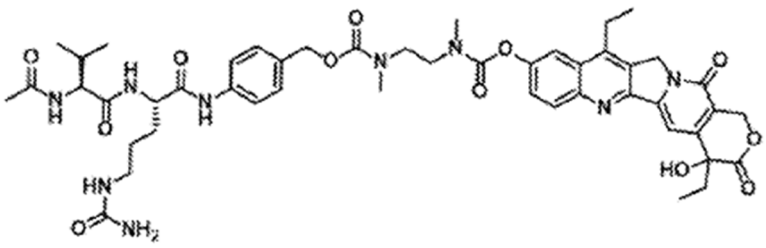


The linker of Formula 62 can be hydrolyzed by cathepsin B.

Cathepsin B can hydrolyze the peptide bond between valine and carbamate citrulline in the linker of Formula 62.

In still another embodiment of the present invention, a compound of Formula 63 can be provided.

[Formula 63]

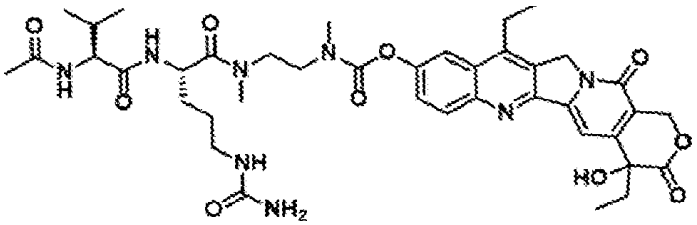


The linker of Formula 63 can be hydrolyzed by cathepsin B.

Cathepsin B can hydrolyze the peptide bond between valine and citrulline in the linker of Formula 63.

In still another embodiment of the present invention, a compound of Formula 64 can be provided.

[Formula 64]



The linker of Formula 64 can be hydrolyzed by cathepsin B.

Cathepsin B can hydrolyze the peptide bond between valine and N-methyl carbamate in the linker of Formula 64.

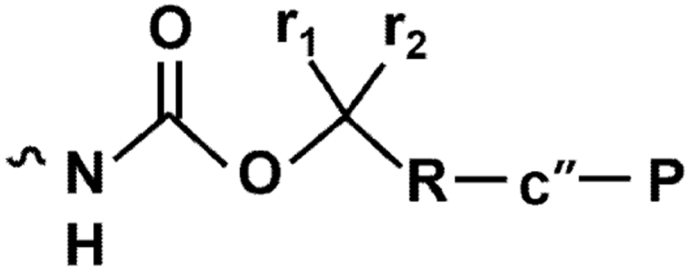
8. Protein Amine Group-R-c"-Payload Proteome (-NH_2-R-c"-P)

In another aspect of the present invention, a proteome 450 comprising a click chemistry chemical and a payload can be provided

The proteome 450 comprising a click chemistry chemical and a payload may comprise an amine group or amine residue.

The proteome 450 comprising a click chemistry chemical and a payload may include a structure of Formula 70.

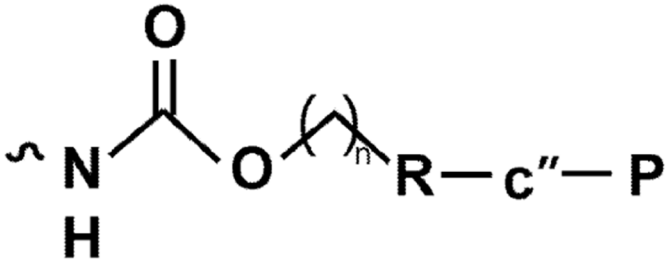
[Formula 70]



In Formula 70, r1 and r2 each may be any one of H, alkyl, aryl, arylalkyl and heterocycle.
In Formula 70, R may be a click chemistry chemical. For example, R may be norbornene.
In Formula 70, c" may be a click chemistry chemical. For example, c" may be tetrazine.
R may be a compound adapted to undergo a click chemistry reaction with c". c" may be a compound adapted to undergo a click chemistry reaction with R.
In Formula 70, P may be a payload. For example, P may be DM1.
The click chemistry chemical and payload are as described above.
The proteome may comprise an amine group or amine residue.

For example, the proteome comprising a click chemistry chemical and a payload may include a structure of Formula 71.

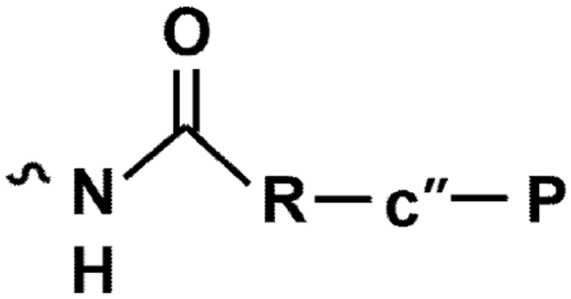
[Formula 71]



In Formula 71, n may be 0 or a natural number.
In Formula 71, R may be a click chemistry chemical. For example, R may be norbornene.
In Formula 71, c" may be a click chemistry chemical. For example, c" may be tetrazine.
R may be a compound adapted to undergo a click chemistry reaction with c". c" may be a compound adapted to undergo a click chemistry reaction with R.
In Formula 71, P may be a payload. For example, P may be DM1.
The click chemistry chemical and payload are as described above.
The proteome may comprise an amine group or amine residue.

The proteome comprising a click chemistry chemical and a payload may include a structure of Formula 72.

[Formula 72]



In Formula 72, R may be a click chemistry chemical. For example, R may be norbornene.
In Formula 72, c" may be a click chemistry chemical. For example, c" may be tetrazine.
R may be a compound adapted to undergo a click chemistry reaction with c". c" may be a compound adapted to undergo a click chemistry reaction with R.
In Formula 72, P may be a payload. For example, P may be DM1.
The click chemistry chemical and payload are as described above.
The proteome may comprise an amine group or amine residue.

CH2-R-c"-P

In a working example of the present invention, a CH2 domain proteome of an antibody including the structure of one or more of Formula 70 and Formula 72 can be provided.

A CH2 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 70 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain;
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group,
r1 and r2 of the alkyl ester each are any one of H, alkyl, aryl, arylalkyl and heterocycle;
R which is a click chemistry chemical connected to the alkyl ester;
c" which is a click chemistry chemical connected to R; and
P which is a payload connected to c".

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.
The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.
The click chemistry chemical is as described above. The payload is as described above.

A CH2 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 72 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain;
a ketone group connected to the amine group;
R which is a click chemistry chemical connected to the ketone group;
c" which is a click chemistry chemical connected to R; and

P which is a payload connected to c".

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.
The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.
The click chemistry chemical is as described above. The payload is as described above.

The CH2 domain of an antibody may be any one or more of a CH2 domain of IgG, a CH2 domain of IgM, a CH2 domain of IgA, a CH2 domain of IgD and a CH2 domain of IgE. The CH2 domain of IgG may be any one or more of a CH2 domain of IgG1, a CH2 domain of IgG2, a CH2 domain of IgG3 and a CH2 domain of IgG4.

The CH2 domain of an antibody may be a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain.

The CH2 domain of an antibody may be a human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The CH2 domain of an antibody may be a human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

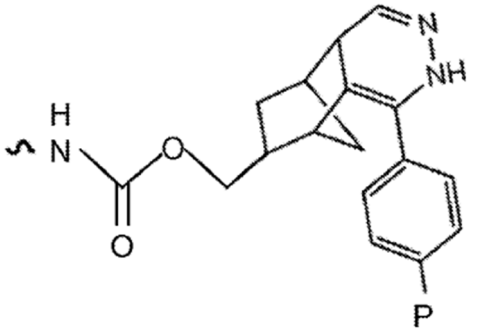
The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU

index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. R may be connected to the ketone group.

In an embodiment of the present invention, a CH2 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 73 can be provided.

[Formula 73]



The CH2 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 73 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain;
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group;
a norbornene-tetrazine reaction product connected to the alkyl ester; and
P which is a payload connected to the norbornene-tetrazine reaction product.

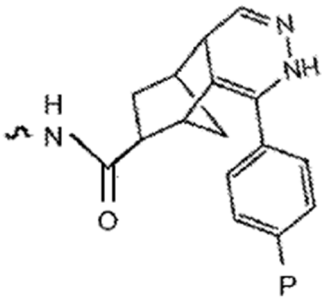
The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

The payload is as described above.

In another embodiment of the present invention, a CH2 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 74 can be provided.

[Formula 74]



The CH2 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 74 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain;
a ketone group connected to the amine group;
a norbornene-tetrazine conjugate connected to the ketone group;
P which is a payload connected to the norbornene-tetrazine reaction product.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

The payload is as described above.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be one that is derived from a lysine residue in a specific sequence. The CH2 domain may be a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the

human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

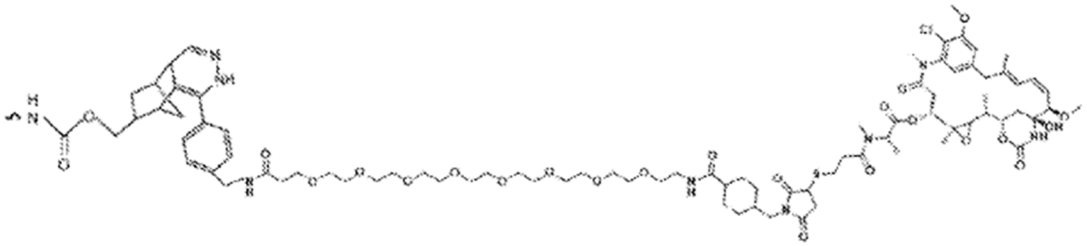
The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

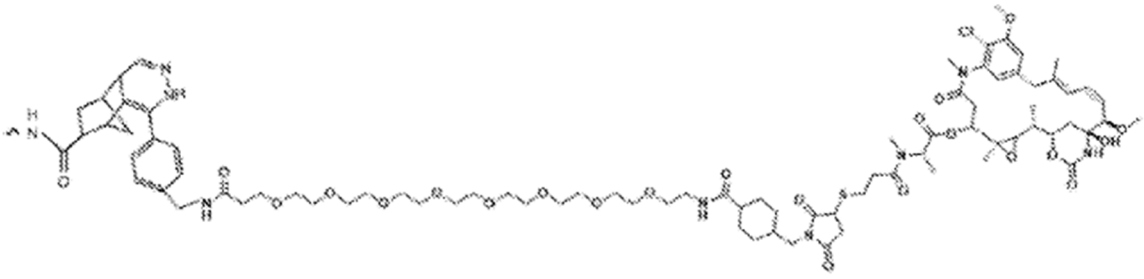
In a specific embodiment of the present invention, a CH2 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 75 can be provided.

[Formula 75]



In another specific embodiment of the present invention, a CH2 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 76 can be provided.

[Formula 76]



A CH2 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 76 comprises an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be one that is derived from a lysine residue in a specific sequence. The CH2 domain may be a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

CH2-CH3-R-c"-P

In another working example of the present invention, a CH2-CH3 domain proteome 450 of an antibody including the structure of one or more of Formula 70 and Formula 72 can be provided.

A CH2-CH3 domain proteome 450 of an antibody including the structure of Formula 70 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain;
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group,
r1 and r2 of the alkyl ester each are any one of H, alkyl, aryl, arylalkyl and heterocycle;
R which is a click chemistry chemical connected to the alkyl ester;
c" which is a click chemistry chemical connected to R; and
P which is a payload connected to c".

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

The click chemistry chemical is as described above. The payload is as described above.

A CH2-CH3 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 72 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain;
a ketone group connected to the amine group;
c which is a click chemistry chemical connected to the ketone group;
c" which is a click chemistry chemical connected to c; and
P which is a payload connected to c".

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

The click chemistry chemical is as described above. The payload is as described above.

The CH2-CH3 domain of an antibody may be any one or more of the CH2 domain of IgG, CH2 domain of IgM, CH2 domain of IgA, CH2 domain of IgD, CH2 domain of IgE, CH3 domain of IgG, CH3 domain of IgM, CH3 domain of IgA, CH3 domain of IgD and CH3 domain of IgE. The CH2 domain of IgG may be any one or more of the CH2 domain of IgG1, CH2 domain of IgG2, CH2 domain of IgG3 and CH2 domain of IgG4. The CH3 domain of IgG may be any one or more of the CH3 domain of IgG1, CH3 domain of IgG2, CH3 domain of IgG3 and CH3 domain of IgG4

The CH2-CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The CH2-CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG CH3 gene-derived CH3 domain.

The CH2-CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The CH2 domain of an antibody may comprise a human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain.

The CH2-CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain. The CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain. The human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain. The human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The human IgG CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH3 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH3 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH3 domain. c may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

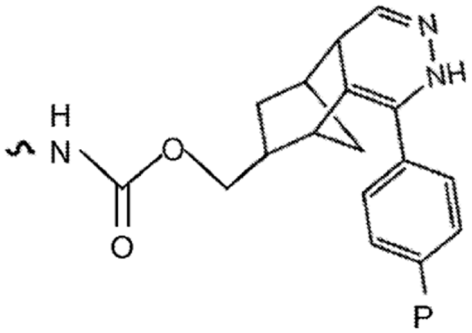
The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

In an embodiment of the present invention, a CH2-CH3 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 73 can be provided.

[Formula 73]



The CH2-CH3 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 73 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain;
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group;
a norbornene-tetrazine reaction product connected to the alkyl ester; and
P which is a payload connected to the norbornene-tetrazine reaction product.

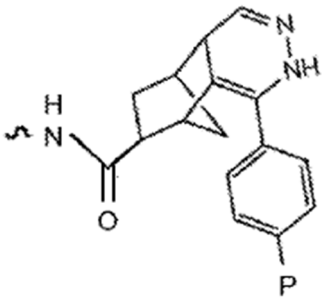
The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

The payload is as described above.

In another embodiment of the present invention, a CH2-CH3 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 74 can be provided.

[Formula 74]



A CH2-CH3 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 74 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain;
a ketone group connected to the amine group;
a norbornene-tetrazine conjugate connected to the ketone group;
P which is a payload connected to the norbornene-tetrazine reaction product.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH3 domain.

The payload is as described above.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be one that is derived from a lysine residue in a specific sequence. The CH2-CH3 domain may comprise a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The CH2-CH3 domain may comprise a human IgG CH3 gene-derived CH3 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH3 gene-derived CH3 domain. The amine group derived from an amino acid residue

included in the CH2-CH3 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain. Here, residues in a CH3 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH3 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH3 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

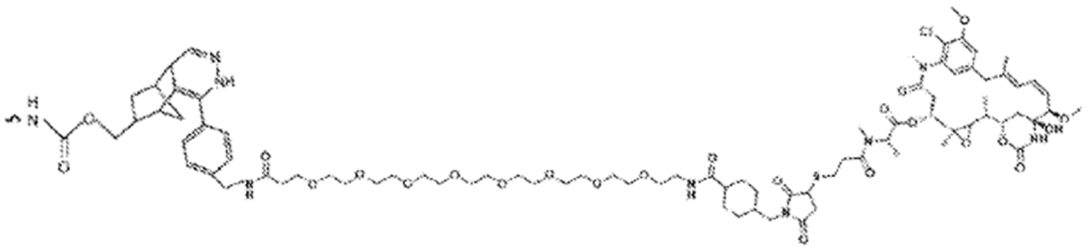
The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2-CH3 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

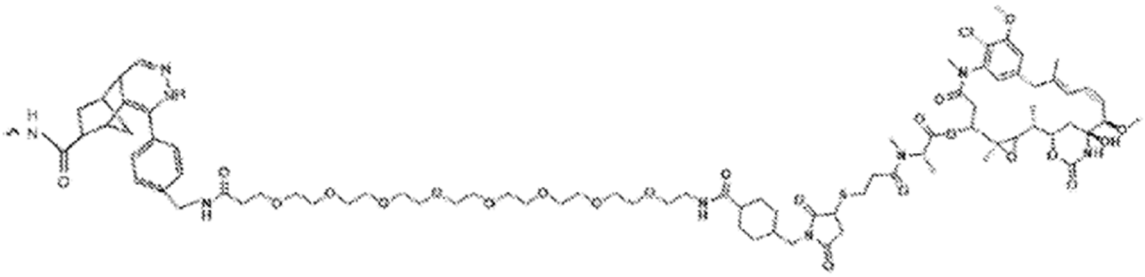
In a specific embodiment of the present invention, a CH2-CH3 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 75 can be provided.

[Formula 75]



In another specific embodiment of the present invention, a CH2-CH3 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 76 can be provided.

[Formula 76]



A CH2 domain proteome of an antibody including the structure of Formula 76 comprises an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be one that is derived from a lysine residue in a specific sequence. The CH2 domain may be a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be

one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

Antibody-R-c"-P

In another working example of the present invention, an antibody 550 including the structure of one or more of Formula 70 and Formula 72 can be provided.

An antibody including the structure of Formula 70 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the antibody;
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group,
r1 and r2 of the alkyl ester each are any one of H, alkyl, aryl, arylalkyl and heterocycle;
R which is a click chemistry chemical connected to the alkyl ester;
c" which is a click chemistry chemical connected to R; and
P which is a payload connected to c".

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

The click chemistry chemical is as described above. The payload is as described above.

An antibody 550 including the structure of Formula 72 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the antibody;
a ketone group connected to the amine group;

R which is a click chemistry chemical connected to the ketone group;
c" which is a click chemistry chemical connected to R; and
P which is a payload connected to c".

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH2 domain of the antibody. The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH3 domain of the antibody.

The click chemistry chemical is as described above. The payload is as described above.

The antibody may be any one or more of a chimeric antibody, a humanized antibody and a human antibody.

The antibody may be any one or more of IgG, IgM, IgA, IgD and IgE. The IgG may be any one or more of IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4.

The antibody may comprise a human IgG gene-derived domain.

The antibody may comprise a human IgG1 gene-derived domain. The antibody may comprise a human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The antibody may comprise a human IgG2 gene-derived domain. The antibody may comprise a human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain.

The antibody may comprise a human IgG1 gene-derived domain. The antibody may comprise a human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain. The antibody may comprise a human IgG2 gene-derived domain. The antibody may comprise a human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain. The human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain. The human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The human IgG CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain

may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH3 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH3 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH3 domain. c may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

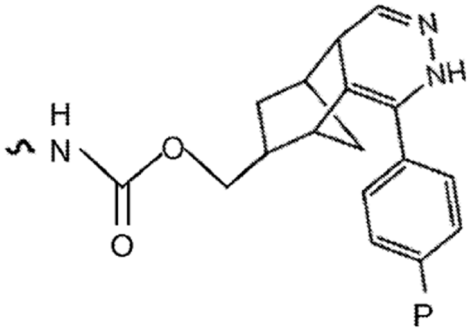
The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

In an embodiment of the present invention, an antibody including the structure of Formula 73 can be provided.

[Formula 73]



An antibody including the structure of Formula 73 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the antibody;
an alkyl ester connected to the amine group,

wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group;
a norbornene-tetrazine reaction product connected to the alkyl ester; and
P which is a payload connected to the norbornene-tetrazine reaction product.

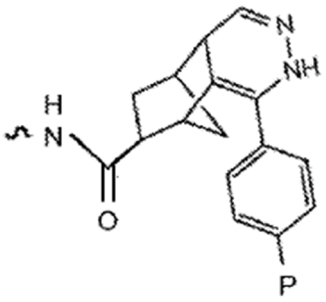
The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

The payload is as described above.

In another embodiment of the present invention, an antibody including the structure of Formula 74 can be provided.

[Formula 74]



An antibody including the structure of Formula 74 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the antibody;
a ketone group connected to the amine group;
a norbornene-tetrazine conjugate connected to the ketone group;
P which is a payload connected to the norbornene-tetrazine reaction product.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH2 domain of the antibody. The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH3 domain of the antibody.

The payload is as described above.

The antibody may be any one or more of a chimeric antibody, a humanized antibody and a human antibody. For example, the antibody may be any one or more of trastuzumab (Herceptin), bevacizumab (Avastin) and cetuximab (Erbitux), but is not limited thereto. For example, the antibody may be a commercially available antibody.

The antibody may be any one or more of IgG, IgM, IgA, IgD and IgE. The IgG may be any one or more of IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be one that is derived from a lysine residue in a specific sequence. The antibody may comprise a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The antibody may comprise a human IgG CH3 gene-derived CH3 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH3 gene-derived CH3 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain. Here, residues in a CH3 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH3 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH3 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

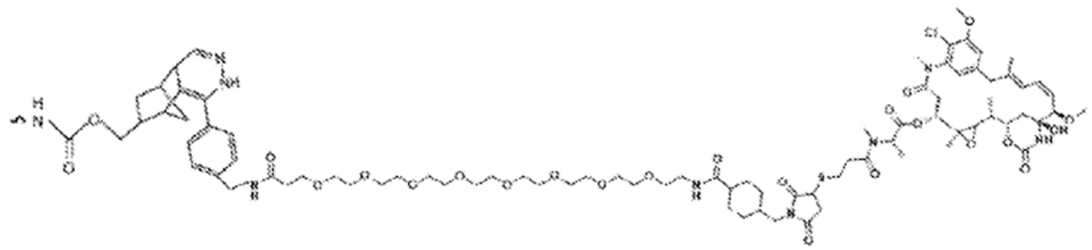
The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

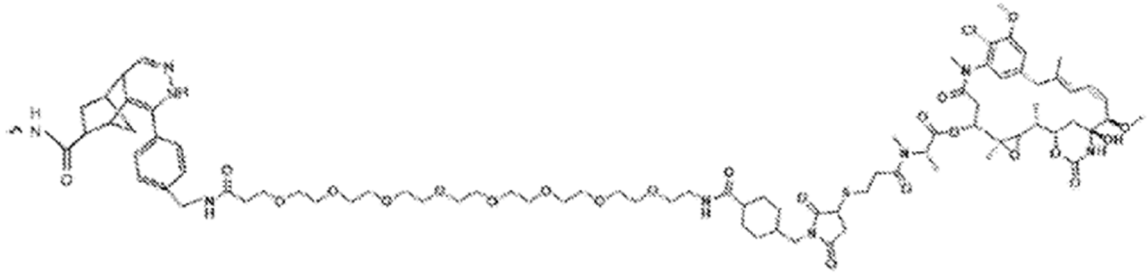
In a specific embodiment of the present invention, an antibody including the structure of Formula 75 can be provided.

[Formula 75]



In another specific embodiment of the present invention, an antibody including the structure of Formula 76 can be provided.

[Formula 76]



An antibody including the structure of Formula 76 comprises an amine group derived from an amino acid residue included in the antibody.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be one that is derived from a lysine residue in a specific sequence. The antibody may comprise a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The antibody may comprise a human IgG CH3 gene-derived CH3 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one

that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

Antibody Variant-R-c"-P

In another working example of the present invention, an antibody variant including the structure of one or more of Formula 70 and Formula 72 can be provided.

An antibody variant including the structure of Formula 70 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant;

an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group,
r1 and r2 of the alkyl ester each are any one of H, alkyl, aryl, arylalkyl and heterocycle;
R which is a click chemistry chemical connected to the alkyl ester;
c" which is a click chemistry chemical connected to R; and
P which is a payload connected to c".

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

The click chemistry chemical is as described above. The payload is as described above.

An antibody variant including the structure of Formula 72 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant;
a ketone group connected to the amine group;
R which is a click chemistry chemical connected to the ketone group;
c" which is a click chemistry chemical connected to R; and
P which is a payload connected to c".

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH2 domain of the antibody variant. The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH3 domain of the antibody variant.

The click chemistry chemical is as described above. The payload is as described above.

The antibody variant may be any one or more of an Fab (antigen-binding fragment), an F(ab)'2, a monospecific Fab2, a bispecific Fab2, a trispecific Fab2, a monovalent Ig, an scFv (single-chain variable fragment), a bispecific diabody, a scFv-Fc (single-chain variable fragment-fragment crystallizable), a minibody, an IgNAR (immunoglobulin new antigen receptor), V-NAR (Variable-new antigen receptor), an hcIgG (heavy chain immunoglobulin G), and a VhH(variable domain of heavy chain antibody), but is not limited thereto.

The antibody variant may be any one or more of a chimeric antibody variant, a humanized antibody variant and a human antibody variant.

The antibody variant may be any one or more of an IgG variant, an IgM variant, an IgA variant, an IgD variant and an IgE variant. The IgG variant may be any one or more of an IgG1 variant, an IgG2 variant, an IgG3 variant and an IgG4 variant.

The antibody variant may comprise a human IgG gene-derived domain.

The antibody variant may comprise a human IgG1 gene-derived domain. The antibody variant may comprise a human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The antibody variant may comprise a human IgG2 gene-derived domain. The antibody variant may comprise a human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain.

The antibody variant may comprise a human IgG1 gene-derived domain. The antibody variant may comprise a human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain. The antibody variant may comprise a human IgG2 gene-derived domain. The antibody variant may comprise a human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain. The human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain. The human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The human IgG CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH3 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH3 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH3 domain. c may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

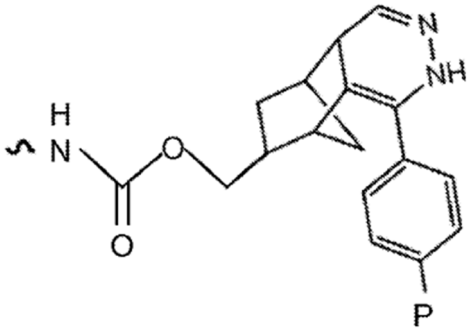
The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at

position 248 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

In an embodiment of the present invention, an antibody including the structure of Formula 73 can be provided.

[Formula 73]



An antibody variant including the structure of Formula 73 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant;
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group;
a norbornene-tetrazine reaction product connected to the alkyl ester; and
P which is a payload connected to the norbornene-tetrazine reaction product.

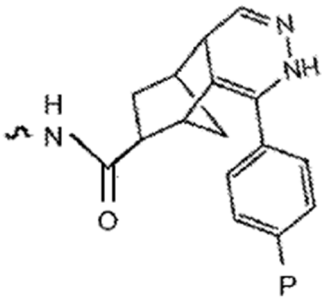
The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

The payload is as described above.

In another embodiment of the present invention, an antibody variant including the structure of Formula 74 can be provided.

[Formula 74]



An antibody variant including the structure of Formula 74 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant;
a ketone group connected to the amine group;
a norbornene-tetrazine conjugate connected to the ketone group;
P which is a payload connected to the norbornene-tetrazine reaction product.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH2 domain of the antibody variant. The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH3 domain of the antibody variant.

The payload is as described above.

The antibody variant may be any one or more of an Fab (antigen-binding fragment), an F(ab)'2, a monospecific Fab2, a bispecific Fab2, a trispecific Fab2, a monovalent Ig, an scFv (single-chain variable fragment), a bispecific diabody, a scFv-Fc (single-chain variable fragment-fragment crystallizable), a minibody, an IgNAR (immunoglobulin new antigen receptor), V-NAR (Variable-new antigen receptor), an hcIgG (heavy chain immunoglobulin G), and a VhH(variable domain of heavy chain antibody), but is not limited thereto.

The antibody variant may be any one or more of a chimeric antibody variant, a humanized antibody variant and a human antibody variant.

The antibody variant may be any one or more of an IgG variant, an IgM variant, an IgA variant, an IgD variant and an IgE variant. The IgG variant may be any one or more of an IgG1 variant, an IgG2 variant, an IgG3 variant and an IgG4 variant.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be one that is derived from a lysine residue in a specific sequence. The antibody variant may comprise a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The antibody variant may comprise a human IgG CH3 gene-derived CH3 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that comprises a lysine at a specific site in the

amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH3 gene-derived CH3 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain. Here, residues in a CH3 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH3 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH3 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

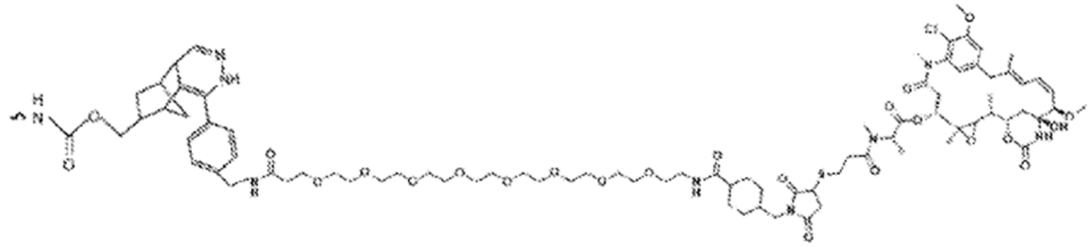
The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

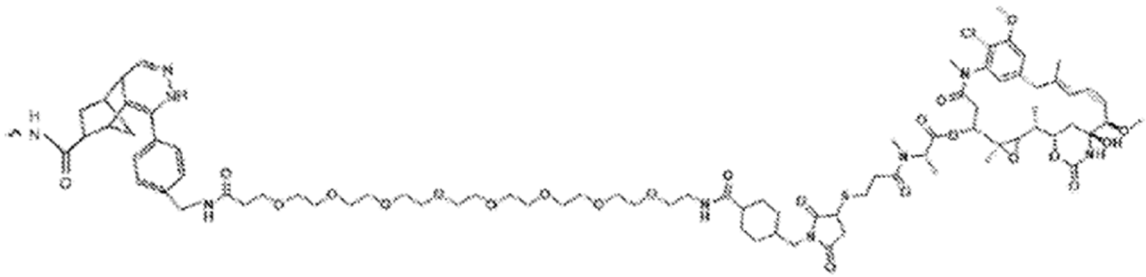
In a specific embodiment of the present invention, an antibody variant including the structure of Formula 75 can be provided.

[Formula 75]



In another specific embodiment of the present invention, an antibody variant including the structure of Formula 76 can be provided.

[Formula 76]



An antibody variant including the structure of Formula 76 comprises an amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be one that is derived from a lysine residue in a specific sequence. The antibody variant may comprise a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The antibody variant may comprise a human IgG CH3 gene-derived CH3 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the antibody variant may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

Fusion Protein (CH2 + Target Protein)-R-c"-P

In still another working example of the present invention, a fusion protein including the structure of one or more of Formula 70 and Formula 72 can be provided.

A fusion protein including the structure of Formula 70 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein;
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group,
r1 and r2 of the alkyl ester each are any one of H, alkyl, aryl, arylalkyl and heterocycle;
R which is a click chemistry chemical connected to the alkyl ester;
c" which is a click chemistry chemical connected to R; and
P which is a payload connected to c".

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-

amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

The click chemistry chemical is as described above. The payload is as described above.

A fusion protein including the structure of Formula 72 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein;
a ketone group connected to the amine group;
R which is a click chemistry chemical connected to the ketone group;
c" which is a click chemistry chemical connected to R; and
P which is a payload connected to c".

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain of the fusion protein.

The click chemistry chemical is as described above. The payload is as described above.

The fusion protein may have a structure in which a target molecule and a CH2 domain of an antibody are connected. The target molecule may have a structure involving the target molecule connected to a region of the CH2 domain. The target molecule and the CH2 domain may be connected by a linking peptide. The target molecule and the CH2 domain may be connected by a crosslinking agent.

The target molecule may be any one or more of a variable region of an antibody, a peptide interacting with a certain molecule, a protein interacting with a certain molecule, a compound interacting with a certain molecule, and a nucleic acid interacting with a certain molecule, but is not limited thereto.

The CH2 domain of an antibody may be any one or more of a CH2 domain of IgG, a CH2 domain of IgM, a CH2 domain of IgA, a CH2 domain of IgD and a CH2 domain of IgE. The CH2 domain of IgG may be any one or more of a CH2 domain of IgG1, a CH2 domain of IgG2, a CH2 domain of IgG3, and a CH2 domain of IgG4.

The CH2 domain of an antibody may be a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain.

The CH2 domain of an antibody may be a human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The CH2 domain of an antibody may be a human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain

may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

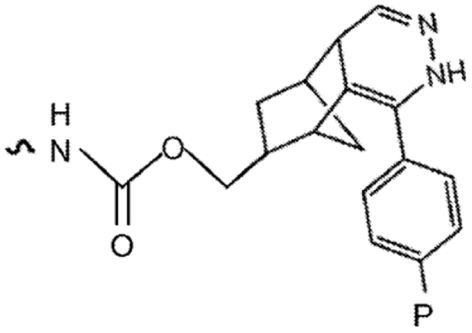
The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

In an embodiment of the present invention, a fusion protein including the structure of Formula 73 can be provided.

[Formula 73]



A fusion protein including the structure of Formula 73 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein;
an alkyl ester connected to the amine group,

wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group;
a norbornene-tetrazine reaction product connected to the alkyl ester; and
P which is a payload connected to the norbornene-tetrazine reaction product.

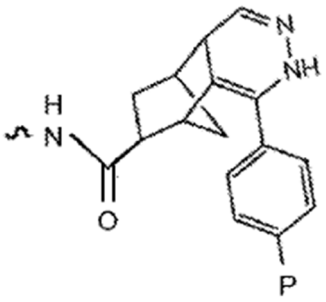
The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

The payload is as described above.

In another embodiment of the present invention, a fusion protein including the structure of Formula 74 can be provided.

[Formula 74]



A fusion protein including the structure of Formula 74 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein;
a ketone group connected to the amine group;
a norbornene-tetrazine conjugate connected to the ketone group;
P which is a payload connected to the norbornene-tetrazine reaction product.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH2 domain of the fusion protein.

The payload is as described above.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH2 domain included in the fusion protein.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be one that is derived from a lysine residue in a

specific sequence. The CH2 domain may be a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

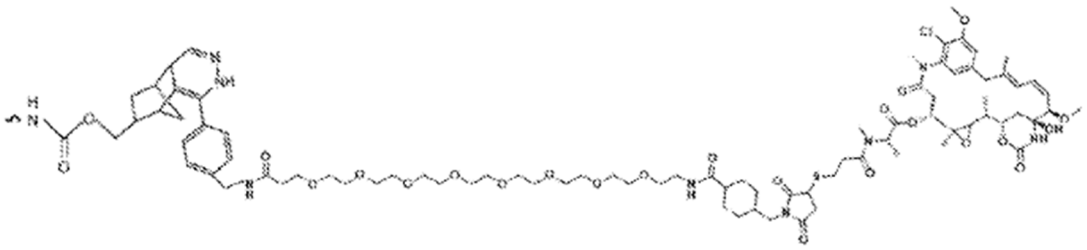
The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

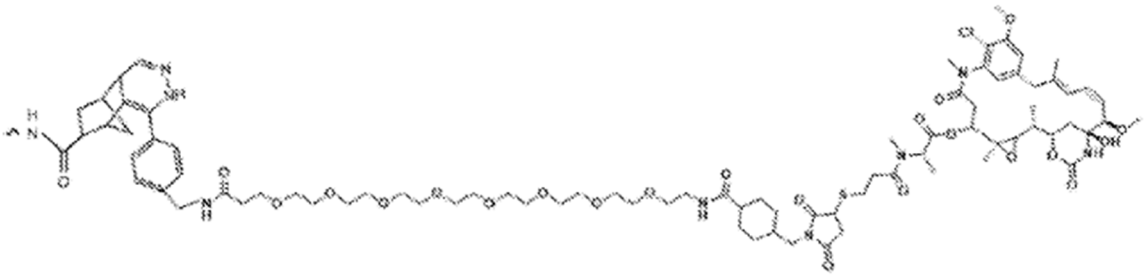
In a specific embodiment of the present invention, a fusion protein including the structure of Formula 75 can be provided.

[Formula 75]



In another specific embodiment of the present invention, a fusion protein including the structure of Formula 76 can be provided.

[Formula 76]



A fusion protein including the structure of Formula 76 comprises an amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be one that is derived from a lysine residue in a specific sequence. The CH2 domain may be a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be

one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

Fusion Protein (CH2-CH3 + Target Protein)-R-c"-P

In still another working example of the present invention, a fusion protein including the structure of one or more of Formula 70 and Formula 72 can be provided.

A fusion protein including the structure of Formula 70 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein;
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group,
r1 and r2 of the alkyl ester each are any one of H, alkyl, aryl, arylalkyl and heterocycle;
R which is a click chemistry chemical connected to the alkyl ester;
c" which is a click chemistry chemical connected to R; and
P which is a payload connected to c".

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

The click chemistry chemical is as described above. The payload is as described above.

A fusion protein including the structure of Formula 72 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein;
a ketone group connected to the amine group;

R which is a click chemistry chemical connected to the ketone group;
c" which is a click chemistry chemical connected to R; and
P which is a payload connected to c".

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain of the fusion protein. The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH3 domain of the fusion protein.

The click chemistry chemical is as described above. The payload is as described above.

The fusion protein may have a structure in which a target molecule and a CH2-CH3 domain of an antibody are connected. The target molecule may have a structure involving the target molecule connected to a region of the CH2-CH3 domain. The target molecule and the CH2-CH3 domain may be connected by a linking peptide. The target molecule and the CH2-CH3 domain may be connected by a crosslinking agent.

The target molecule may be any one or more of a variable region of an antibody, a peptide interacting with a certain molecule, a protein interacting with a certain molecule, a compound interacting with a certain molecule, and a nucleic acid interacting with a certain molecule, but is not limited thereto.

The CH2-CH3 domain of an antibody may be any one or more of the CH2 domain of IgG, CH2 domain of IgM, CH2 domain of IgA, CH2 domain of IgD, CH2 domain of IgE, CH3 domain of IgG, CH3 domain of IgM, CH3 domain of IgA, CH3 domain of IgD and CH3 domain of IgE. The CH2 domain of IgG may be any one or more of the CH2 domain of IgG1, CH2 domain of IgG2, CH2 domain of IgG3 and CH2 domain of IgG4. The CH3 domain of IgG may be any one or more of the CH3 domain of IgG1, CH3 domain of IgG2, CH3 domain of IgG3 and CH3 domain of IgG4

The CH2-CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The CH2-CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG CH3 gene-derived CH3 domain.

The CH2-CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The CH2 domain of an antibody may comprise a human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may comprise 12 lysines (Lys; K) in one CH2 domain.

The CH2-CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain. The CH3 domain of an antibody may comprise a human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain. The human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain. The human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain may comprise 6 lysines (Lys; K) in one CH3 domain.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The human IgG CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. The human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain may be one that comprises lysines at specific sites in its amino acid sequence. Here, residues in a CH3 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH3 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH3 domain. c may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 246 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

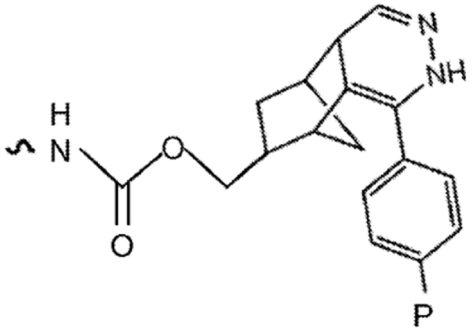
The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The human IgG CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. The human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain may be one that comprises a lysine at position 248 in its amino acid sequence. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

In an embodiment of the present invention, a fusion protein including the structure of Formula 73 can be provided.

[Formula 73]



A fusion protein including the structure of Formula 73 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein;
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group;
a norbornene-tetrazine reaction product connected to the alkyl ester; and
P which is a payload connected to the norbornene-tetrazine reaction product.

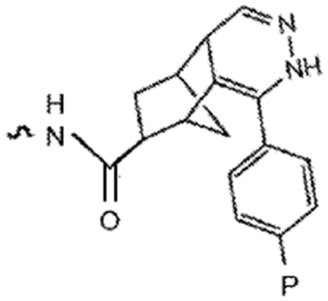
The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by the CH2 domain.

The payload is as described above.

In another embodiment of the present invention, a fusion protein including the structure of Formula 74 can be provided.

[Formula 74]



A fusion protein including the structure of Formula 74 comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein;
a ketone group connected to the amine group;
a norbornene-tetrazine conjugate connected to the ketone group;
P which is a payload connected to the norbornene-tetrazine reaction product.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH2 domain of the fusion protein. The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH3 domain of the fusion protein.

The payload is as described above.

The amine group derived from an amino acid residue provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be provided by a lysine.

The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH2 domain included in the fusion protein. The amine group derived from an amino acid residue may be one that is provided by a CH3 domain included in the fusion protein.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be one that is derived from a lysine residue in a specific sequence. The CH2 domain may be a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The CH3 domain may be a human IgG CH3 gene-derived CH3 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH3 gene-derived CH3 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH3 gene-derived CH3 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH3 gene-derived CH3 domain. Here, residues in a CH3 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH3 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH3 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be

one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

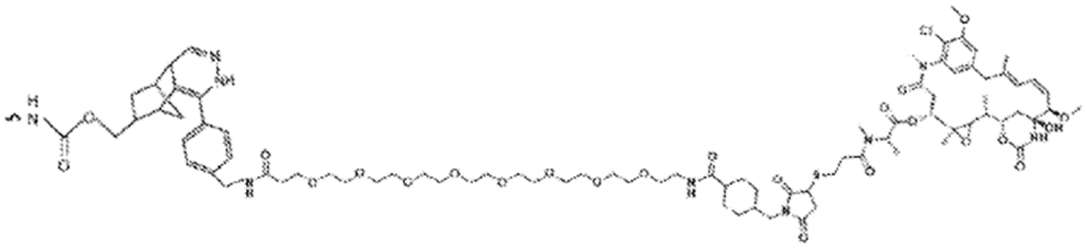
The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

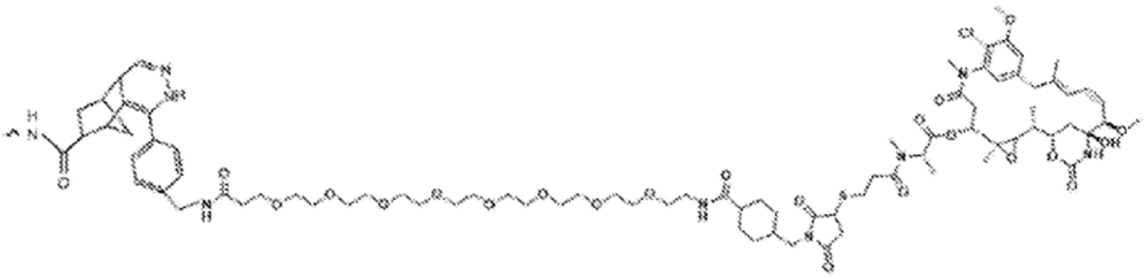
In a specific embodiment of the present invention, a fusion protein including the structure of Formula 75 can be provided.

[Formula 75]



In another specific embodiment of the present invention, a fusion protein including the structure of Formula 76 can be provided.

[Formula 76]



A fusion protein including the structure of Formula 76 comprises an amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein provides an ε-amine (ε-NH). The ε-amine may be one that is derived from a lysine residue in a specific sequence. The fusion protein may comprise a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The fusion protein may comprise a human IgG CH3 gene-derived CH3 domain.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that comprises a lysine at a specific site in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The specific site lysine included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the specific site lysine included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 246 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 246 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 246 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid

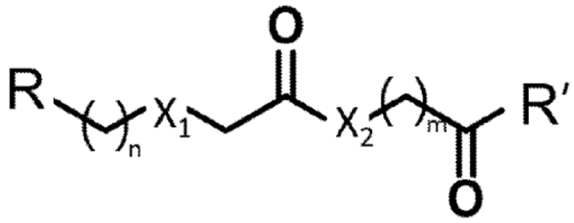
residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The amine group derived from an amino acid residue included in the fusion protein may be one that is derived from a lysine residue at position 248 in the amino acid sequence of the human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain. Here, residues in a CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region.

The lysine at position 248 included in the CH2 domain may provide an amine group. A ketone group may be connected to an amine group provided by the lysine at position 248 included in the CH2 domain. c may be connected to the ketone group.

9. Compositions

In another aspect of the present invention, a composition comprising any one or more of a compound of Formula 4, a compound of Formula10, Site-specific interactome I, an antibody CH2 domain-comprising proteome, a site-specific interactome-compound conjugate, a protein lysine residue-R, a c"-payload and a protein lysine residue-R-c"-P can be provided.

[Formula 4]

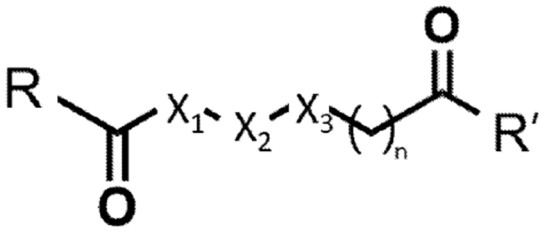


In Formula 4, m and n each may be 0 or a natural number.

In Formula 4, R may be either of a click chemistry chemical and a payload. The click chemistry chemical and payload are as described above.

In Formula 4, R' may be either of N-hydroxysuccinimide (NHS) of Formula 1 and maleimide of Formula 2.

[Formula 10]



In Formula 10, n may be 0 or a natural number.

In Formula 10, R may be either of a click chemistry chemical and a payload. The click chemistry chemical and payload are as described above.

In Formula 10, R' may be either of N-hydroxysuccinimide (NHS) of Formula 1 and maleimide of Formula 2.

[Site-specific interactome I]

(X_1)-(X_2)-(X_3)-(X_4)-(X_5)-(X_6)-(X_7)-(X_8)-(X_9)-(X_{10})-(X_{11})-(X_{12})-(X_{13}) (I)

In Site-specific interactome I, X_1 to X_{13} are as described above.

The antibody CH2 domain-comprising proteome, site-specific interactome-compound conjugate, protein lysine residue-R, c"-payload and protein lysine residue-R-c"-P are as described above.

Composition (1): Composition of a Compound of Formula 4 or Formula 10

In a working example of the present invention, a composition (1) comprising a compound of Formula 4 or a compound of Formula 10 can be provided.

The compound of Formula 4 may be provided as a first agent. The compound of Formula 10 may be provided as a first agent. The first agent may be provided in a dry state. The first agent may be provided in a wet state.

The composition (1) may additionally comprise as a second agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the compound of Formula 4. The composition (1) may additionally comprise as a second agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the compound of Formula 10. The composition (1) may additionally comprise as a second agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the compound of Formula 4. The composition (1) may additionally comprise as a second agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the compound of Formula 10. The second agent may be provided in a mixture with the compound of Formula 4. The second agent may be provided in a mixture with the compound of Formula 10. The second agent may be provided in a separate container.

The composition (1) may additionally comprise as a third agent any one or more of a reaction buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for a reaction employing the compound of Formula 4. The composition (1) may additionally comprise as a third agent any one or more of a reaction buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for a reaction employing the compound of Formula 10. The composition (1) may additionally comprise as a third agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for a reaction employing the compound of Formula 4. The composition (1) may additionally comprise as a third agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for a reaction employing the compound of Formula 10. The third agent may be provided in a separate container.

Composition (2): Composition comprising Site-specific interactome I and a compound of Formula 4 or Formula 10

In another working example of the present invention, a composition (2) comprising:

Site-specific interactome I; and
a compound of Formula 4,
or
Site-specific interactome I; and
a compound of Formula 10
can be provided.

Site-specific interactome I may be provided as a first agent. The first agent may be provided in a dry state. The first agent may be provided in a wet state.

The compound of Formula 4 may be provided as a second agent. The compound of Formula 10 may be provided as a second agent. The second agent may be provided in a dry state. The second agent may be provided in a wet state.

The composition (2) may additionally comprise as a third agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for Site-specific interactome I. The composition (2) may additionally comprise as a third agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for Site-specific interactome I. The third agent may be provided in a mixture with Site-specific interactome I. The third agent may be provided in a separate container.

The composition (2) may additionally comprise as a fourth agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the compound of Formula 4. The composition (2) may additionally comprise as a fourth agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the compound of Formula 10. The composition (2) may additionally comprise as a fourth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the compound of Formula 4. The composition (2) may additionally comprise as a fourth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the compound of Formula 10. The fourth agent may be provided in a mixture with the compound of Formula 4. The fourth agent may be provided in a mixture with the compound of Formula 10. The fourth agent may be provided in a separate container.

The composition (2) may additionally comprise as a fifth agent any one or more of a reaction buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for a reaction employing Site-specific interactome I and the compound of Formula 4. The composition (2) may additionally comprise as a fifth agent any one or more of a reaction buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for a reaction employing Site-specific interactome I and the compound of Formula 10. The composition (2) may additionally comprise as a fifth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for a reaction employing Site-specific interactome I and the compound of Formula 4. The composition (2) may additionally comprise as a fifth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for a reaction employing Site-specific interactome I and the compound of Formula 10. The fifth agent may be provided in a separate container.

Composition (3): Composition comprising an antibody CH2 domain-containing proteome, Site-specific interactome I and a compound of Formula 4 or Formula 10

In another working example of the present invention, a composition (3) comprising:

an antibody CH2 domain-containing proteome;
Site-specific interactome I; and
a compound of Formula 4,

or

an antibody CH2 domain-containing proteome;
Site-specific interactome I; and
a compound of Formula 10

can be provided.

The antibody CH2 domain-containing proteome may be provided as a first agent. The first agent may be provided in a dry state. The first agent may be provided in a wet state.

Site-specific interactome I may be provided as a second agent. The second agent may be provided in a dry state. The second agent may be provided in a wet state.

The compound of Formula 4 may be provided as a third agent. The compound of Formula 10 may be provided as a third agent. The third agent may be provided in a dry state. The third agent may be provided in a wet state.

The composition (3) may additionally comprise as a fourth agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the antibody CH2 domain-containing proteome. The composition (3) may additionally comprise as a fourth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the antibody CH2 domain-containing proteome. The fourth agent may be provided in a mixture with the antibody CH2 domain-containing proteome. The fourth agent may be provided in a separate container.

The composition (3) may additionally comprise as a fifth agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for Site-specific interactome I. The composition (3) may additionally comprise as a fifth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for Site-specific interactome I. The fifth agent may be provided in a mixture with Site-specific interactome I. The fifth agent may be provided in a separate container.

The composition (3) may additionally comprise as a sixth agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the compound of Formula 4. The composition (3) may additionally comprise as a sixth agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the compound of Formula 10. The composition (3) may additionally comprise as a sixth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the compound of Formula 4. The composition (3) may additionally comprise as a sixth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the compound of Formula 10. The sixth agent may be provided in a mixture with the compound of Formula 4. The sixth agent may be provided in a mixture with the compound of Formula 10. The sixth agent may be provided in a separate container.

The composition (3) may additionally comprise as a seventh agent any one or more of a reaction buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for a reaction employing Site-specific interactome I and the compound of Formula 4. The composition (3) may additionally comprise as a seventh agent any one or more of a reaction buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for a reaction employing Site-specific interactome I and the

compound of Formula 10. The composition (3) may additionally comprise as a seventh agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for a reaction employing Site-specific interactome I and the compound of Formula 4. The composition (3) may additionally comprise as a seventh agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for a reaction employing Site-specific interactome I and the compound of Formula 10. The seventh agent may be provided in a separate container.

The composition (3) may additionally comprise as an eighth agent any one or more of a reaction buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for reacting the antibody CH2 domain-containing proteome with a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and the compound of Formula 4. The composition (3) may additionally comprise as an eighth agent any one or more of a reaction buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for reacting the antibody CH2 domain-containing proteome with a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and the compound of Formula 10. The composition (3) may additionally comprise as an eighth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for reacting the antibody CH2 domain-containing proteome with a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and the compound of Formula 4. The composition (3) may additionally comprise as an eighth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for reacting the antibody CH2 domain-containing proteome with a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and the compound of Formula 10. The eighth agent may be provided in a separate container.

Composition (4): Composition comprising a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4 or Formula 10

In another working example of the present invention, a composition (4) comprising:

a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4; or

a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 10

can be provided.

The reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4 may be provided as a first agent. The reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 10 may be provided as a first agent. The first agent may be provided in a dry state. The first agent may be provided in a wet state.

The composition (4) may additionally comprise as a second agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4. The composition (4) may additionally comprise as a second agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 10. The composition (4) may additionally comprise as a second agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4. The composition (4) may additionally comprise as a second agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I

and a compound of Formula 10. The second agent may be provided in a mixture with the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4. The second agent may be provided in a mixture with the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 10. The second agent may be provided in a separate container.

The composition (4) may additionally comprise as a third agent any one or more of a reaction buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for a reaction employing the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4. The composition (4) may additionally comprise as a third agent any one or more of a reaction buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for a reaction employing the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 10. The composition (4) may additionally comprise as a third agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for a reaction employing the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4. The composition (4) may additionally comprise as a third agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for a reaction employing the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 10. The third agent may be provided in a separate container.

Composition (5): Composition comprising an antibody CH2 domain-containing proteome and a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4 or Formula 10

In another working example of the present invention, a composition (5) comprising:

an antibody CH2 domain-containing proteome; and

a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4,

or

an antibody CH2 domain-containing proteome; and

a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 10

can be provided.

The antibody CH2 domain-containing proteome may be provided as a first agent. The first agent may be provided in a dry state. The first agent may be provided in a wet state.

The reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4 may be provided as a second agent. The reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 10 may be provided as a second agent. The second agent may be provided in a dry state. The second agent may be provided in a wet state.

The composition (5) may additionally comprise as a third agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the antibody CH2 domain-containing proteome. The composition (5) may additionally comprise as a third agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the antibody CH2 domain-containing proteome. The third agent may be provided in a mixture with the antibody CH2 domain-containing proteome.

The third agent may be provided in a separate container.

The composition (5) may additionally comprise as a fourth agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4. The composition (5) may additionally comprise as a fourth agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 10. The composition (5) may additionally comprise as a fourth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4. The composition (5) may additionally comprise as a fourth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 10. The fourth agent may be provided in a mixture with the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4. The fourth agent may be provided in a mixture with the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 10. The fourth agent may be provided in a separate container.

The composition (5) may additionally comprise as a fifth agent any one or more of a reaction buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for reacting the antibody CH2 domain-containing proteome with a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and the compound of Formula 4. The composition (5) may additionally comprise as a fifth agent any one or more of a reaction buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for reacting the antibody CH2 domain-containing proteome with a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and the compound of Formula 10. The composition (5) may additionally comprise as a fifth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for reacting the antibody CH2 domain-containing proteome with a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and the compound of Formula 4. The composition (5) may additionally comprise as a fifth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for reacting the antibody CH2 domain-containing proteome with a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and the compound of Formula 10. The fifth agent may be provided in a separate container.

Composition (6): Composition comprising a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4 or Formula 10 and c"-payload

In another working example of the present invention, a composition (6) comprising:

a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4; and

c"-payload,

or

a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 10; and

c"-payload,

can be provided.

The reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of

Formula 4 may be provided as a first agent. The reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 10 may be provided as a first agent. The first agent may be provided in a dry state. The first agent may be provided in a wet state.

The c"- payload may be provided as a second agent. The first agent may be provided in a dry state. The first agent may be provided in a wet state.

The composition (6) may additionally comprise as a third agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4. The composition (6) may additionally comprise as a third agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 10. The composition (6) may additionally comprise as a third agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4. The composition (6) may additionally comprise as a third agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 10. The third agent may be provided in a mixture with the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 4. The third agent may be provided in a mixture with the reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and a compound of Formula 10. The third agent may be provided in a separate container.

The composition (6) may additionally comprise as a fourth agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the c"- payload. The composition (6) may additionally comprise as a fourth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the c"- payload. The fourth agent may be provided in a mixture with the c"- payload. The fourth agent may be provided in a separate container.

The composition (6) may additionally comprise as a fifth agent any one or more of a reaction buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for reacting the antibody CH2 domain-containing proteome with a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and the compound of Formula 4. The composition (6) may additionally comprise as a fifth agent any one or more of a reaction buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for reacting the antibody CH2 domain-containing proteome with a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and the compound of Formula 10. The composition (6) may additionally comprise as a fifth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for reacting the antibody CH2 domain-containing proteome with a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and the compound of Formula 4. The composition (6) may additionally comprise as a fifth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for reacting the antibody CH2 domain-containing proteome with a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and the compound of Formula 10. The fifth agent may be provided in a separate container.

The composition (6) may additionally comprise as a sixth agent any one or more of a reaction buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for reacting the product of a reaction between the antibody CH2 domain-containing proteome and a reaction intermediate from the

reaction of Site-specific interactome I and the compound of Formula 4, with the c"-P. The composition (6) may additionally comprise as a sixth agent any one or more of a reaction buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for reacting the product of a reaction between the antibody CH2 domain-containing proteome and a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and the compound of Formula 10, with the c"-P. The composition (6) may additionally comprise as a sixth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for reacting the product of a reaction between the antibody CH2 domain-containing proteome and a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and the compound of Formula 4, with the c"-P. The composition (6) may additionally comprise as a sixth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for reacting the product of a reaction between the antibody CH2 domain-containing proteome and a reaction intermediate from the reaction of Site-specific interactome I and the compound of Formula 10, with the c"-P. The sixth agent may be provided in a separate container.

Composition (7): Composition comprising a protein amine group-R proteome

In another working example of the present invention, a composition (7) comprising a protein amine group-R proteome can be provided.

The protein amine group-R proteome may be provided as a first agent. The first agent may be provided in a dry state. The first agent may be provided in a wet state.

The composition (7) may additionally comprise as a second agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the protein amine group-R proteome. The composition (7) may additionally comprise as a second agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the protein amine group-R proteome. The second agent may be provided in a mixture with the protein amine group-R proteome. The second agent may be provided in a separate container.

The composition (7) may additionally comprise as a third agent any one or more of a reaction buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for a reaction employing the protein amine group-R proteome. The composition (7) may additionally comprise as a third agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for a reaction employing the protein amine group-R proteome. The third agent may be provided in a separate container.

Composition (8): Composition comprising c"-payload

In another working example of the present invention, a composition (8) comprising c"-payload can be provided.

The c"- payload may be provided as a first agent. The first agent may be provided in a dry state. The first agent may be provided in a wet state.

The composition (8) may additionally comprise as a second agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the c"- payload. The composition (8) may additionally comprise as a second agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent

for the c"- payload. The second agent may be provided in a mixture with the c"- payload. The second agent may be provided in a separate container.

The composition (8) may additionally comprise as a third agent any one or more of a reaction buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for a reaction employing the c"- payload. The composition (8) may additionally comprise as a third agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for a reaction employing the c"- payload. The third agent may be provided in a separate container.

Composition (9): Composition comprising a protein amine group-R proteome and c"-P

In another working example of the present invention, a composition (9) comprising:

a protein amine group-R proteome; and

c"-payload

can be provided.

The protein amine group-R proteome may be provided as a first agent. The first agent may be provided in a dry state. The first agent may be provided in a wet state.

The c"- payload may be provided as a second agent. The second agent may be provided in a dry state. The second agent may be provided in a wet state.

The composition (9) may additionally comprise as a third agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the protein amine group-R proteome. The composition (9) may additionally comprise as a third agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the protein amine group-R proteome. The third agent may be provided in a mixture with the protein amine group-R proteome. The third agent may be provided in a separate container.

The composition (9) may additionally comprise as a fourth agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the c"- payload. The composition (9) may additionally comprise as a fourth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the c"- payload. The fourth agent may be provided in a mixture with the c"- payload. The fourth agent may be provided in a separate container.

The composition (9) may additionally comprise as a fifth agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator necessary for reacting the protein amine group-R proteome with the c"- payload. The composition (9) may additionally comprise as a fifth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for reacting the protein amine group-R proteome with the c"- payload. The composition (9) may additionally comprise as a fifth agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent necessary for reacting the protein amine group-R proteome with the c"- payload. The fifth agent may be provided in a separate container.

Composition (10): Composition comprising a protein amine group-R-c"-payload proteome

In another working example of the present invention, a composition (10) comprising a protein amine group-R-c"-payload proteome can be provided.

The protein amine group-R-c"-payload proteome may be provided as a first agent. The first agent may be provided in a dry state. The first agent may be provided in a wet state.

The composition (10) may additionally comprise as a second agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the protein amine group-R-c"-payload proteome. The composition (10) may additionally comprise as a second agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the protein amine group-R-c"-payload proteome. The second agent may be provided in a mixture with the protein amine group-R-c"-payload proteome. The second agent may be provided in a separate container.

Composition (11): Composition comprising a protein amine group-payload proteome

In another working example of the present invention, a composition (10) comprising a protein amine group-payload proteome can be provided.

The protein amine group-payload proteome may be provided as a first agent. The first agent may be provided in a dry state. The first agent may be provided in a wet state.

The composition (10) may additionally comprise as a second agent any one or more of a buffer, a pH adjuster and a salt regulator for the protein amine group-payload proteome. The composition (10) may additionally comprise as a second agent any one or more of a stabilizing agent and a co-stabilizing agent for the protein amine group-payload proteome. The second agent may be provided in a mixture with the protein amine group-payload proteome. The second agent may be provided in a separate container.

10. Formulation

In another aspect of the present invention, a preparation utilizing compositions (1) to (11) can be provided.

The preparation may be any one or more of a liquid formulation, a solid formulation, or a semi-solid formulation.

In a working example of the present invention, a liquid formulation utilizing compositions (1) to (11) can be provided.

The liquid formulation may be a solution, a syrup, a lotion, an emulsion, a suspension, or an injection, but is not limited thereto.

In another working example of the present invention, a solid or semi-solid formulation utilizing compositions (1) to (11) can be provided.

The solid or semi-solid formulation may be powder, capsules, tablets, pills, granules, an ointment, or suppositories, but is not limited thereto.

In an embodiment of the present invention, compositions (1) to (11) may be provided as a powder formulation.

In another embodiment of the present invention, compositions (1) to (11) may be provided as an injection formulation.

In another embodiment of the present invention, compositions (1) to (11) may be provided as suspension formulation.

11. Administration Methods and Administration Dosage

In another aspect of the present invention, administration method and administration dosage of a pharmaceutical composition comprising a composition (10) or a pharmaceutical composition comprising a composition (11) can be provided.

In a working example of the present invention, an administration method of a pharmaceutical composition comprising a composition (10) or a pharmaceutical composition comprising a composition (11) can be provided.

The administration method may be any one or more of per oral (P. O.), external application, injection and inhalation.

In an embodiment of the present invention, a method of administering a composition (10) or a composition (11) by injection can be provided.

The injection may be any one or more of intramuscular injection (IM), intradermal injection (ID), subcutaneous injection (SC), intraperitoneal injection (IP) and intravenous injection (IV) but is not limited thereto. Also, the injection may be systemic or local.

In a specific embodiment of the present invention, a composition (10) or a composition (11) may be administered by intravenous injection (IV).

In another specific embodiment of the present invention, a composition (10) or a composition (11) may be administered by intraperitoneal injection (IP).

In another working example of the present invention, dosages of a pharmaceutical composition comprising a composition (10) or a pharmaceutical composition comprising a composition (11) can be provided.

The pharmaceutical composition comprising a composition (10) or the pharmaceutical composition comprising a composition (11) may comprise the protein amine group-R-c"-payload proteome or the protein amine group-payload proteome in an effective amount.

The "effective amount" refers to an amount sufficient to provide a prophylactic or therapeutic effect when administered to a subject in need of prophylaxis or treatment. The effective amount may be suitably determined by those skilled in the art based on the selected cell or subject. It may be determined according to factors including severity of disease, patient's age, body weight, health, sex, and drug sensitivity, administration time, administration route and excretion rate, treatment period, and any concomitant drugs, and other factors well known in the medical field. The effective amount of a pharmaceutical composition may be about 0.5

μg to about 2 g, about 1 μg to about 1g, about 10 μg to about 500 mg, about 100 μg to about 100 mg, or about 1 mg to about 50 mg.

Dosage of the pharmaceutical composition comprising a composition (10) or the pharmaceutical composition comprising a composition (11) may be, for example, in the range of about 0.001 mg/kg to about 100 mg/kg, about 0.01 mg/kg to about 10 mg/kg, or about 0.1 mg/kg to about 1 mg/ kg, for an adult. Dosing can be done once daily, multiple times per day, weekly, biweekly, once every three weeks, once every four weeks, or once yearly.

12. Binding Affinity

In another aspect of the present invention, a proteome retaining binding affinity may be provided.

The binding affinity may be binding affinity for neonatal Fc receptor (FcRn). The proteome may be an antibody-drug conjugate (ADC) or an antibody fragment-drug conjugate (AFDC).

The binding affinity may be target molecule-proteome binding affinity. The proteome may be an antibody-drug conjugate (ADC) or an antibody fragment-drug conjugate (AFDC).

The antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate may be an antibody CH2 domain-containing proteome. The antibody CH2 domain may be IgG CH2 domain. The IgG CH2 domain may be any one or more of IgG1 CH2 domain, IgG2 CH2 domain, IgG3 CH2 domain and IgG4 CH2 domain.

The antibody CH2 domain may be a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The antibody CH2 domain may be a human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The antibody CH2 domain may be a human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain.

In a working example of the present invention, an antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate retaining binding affinity for FcRn can be provided.

The FcRn may refer to a molecule having binding affinity for a region of an IgG antibody-derived CH2 domain. The IgG antibody-derived CH2 domain may constitute an antibody-drug conjugate. The IgG antibody-derived CH2 domain may constitute an antibody fragment-drug conjugate.

In an embodiment of the present invention, surface plasmon resonance (SPR) analysis may be used to ascertain that the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate retains binding affinity for FcRn.

Using surface plasmon resonance (SPR) analysis, the dissociation rate constant kd of the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate for FcRn can be calculated. Using surface plasmon resonance (SPR) analysis, the association rate constant ka of the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate for FcRn can be calculated. Using surface plasmon resonance (SPR) analysis, the equilibrium dissociation constant KD of the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate for FcRn can be calculated. The value of KD corresponds to a value obtained by dividing the kd value by the

ka value.

In an embodiment of the present invention, half-life following administration *in vivo* may be measured to ascertain that the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate retains binding affinity for FcRn.

The half-life of the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate affected by FcRn may be determined by comparing:
the measured half-life of a control antibody or a control antibody fragment following administration *in vivo* (a); and
the measured half-life of an antibody-drug conjugate or an antibody fragment-drug conjugate following administration *in vivo* (b).

The control antibody or control antibody fragment refers to an antibody or fragment that is identical to the antibody constituting the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate but subjected to no intentional conjugation.

If the value of (b)/(a) is within the range of 0.90 to 1.10, the control antibody or control antibody fragment and the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate can be determined to have similar half-lives.

If the half-life of a control antibody or control antibody fragment and the half-life of an antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate are similar, the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate can be determined to retain the binding affinity for FcRn.

In another embodiment of the present invention, immunoprecipitation (IP) assay may be used to ascertain that the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate retains binding affinity for FcRn. The immunoprecipitation assay may be enzyme-linked immunosorbent assay (enzyme-linked immunospecific assay; ELISA). The ELISA may be any one or more of direct ELISA, indirect ELISA, sandwich ELISA and competitive ELISA.

ELISA of the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate for FcRn may be carried out by comparing:
the ELISA measurement of a control antibody or a control antibody fragment (a); and
the ELISA measurement of an antibody-drug conjugate or an antibody fragment-drug conjugate (b).

The control antibody or control antibody fragment refers to an antibody or fragment that is identical to the antibody constituting the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate but subjected to no intentional conjugation.

If the value of (b)/(a) is within the range of 0.90 to 1.10, the control antibody or control antibody fragment and the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate can be determined to have similar FcRn binding.

If the FcRn binding of a control antibody or control antibody fragment and the FcRn binding of an antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate are similar, the antibody-

drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate can be determined to retain the binding affinity for FcRn.

Competitive ELISA of the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate for FcRn may be carried out by:
treating a control antibody or control antibody fragment and an antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate simultaneously; and
comparing the FcRn binding quantity of the control antibody or control antibody fragment (a) and the FcRn binding quantity of the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate (b).

The control antibody or control antibody fragment refers to an antibody or fragment that is identical to the antibody constituting the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate but subjected to no intentional conjugation.

If the value of (b)/(a) is within the range of 0.90 to 1.10, the control antibody or control antibody fragment and the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate can be determined to have similar FcRn binding.

If the FcRn binding of a control antibody or control antibody fragment and the FcRn binding of an antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate are similar, the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate can be determined to retain the binding affinity for FcRn.

In another working example of the present invention, a proteome retaining target molecule-proteome binding affinity can be provided.

The target molecule-proteome binding affinity may be epitope-paratope binding affinity. The target molecule-proteome binding affinity may be epitope-proteome binding affinity. The target molecule-proteome binding affinity may be antigen-proteome binding affinity. The target molecule-proteome binding affinity may be binding affinity between a receptor for a specific antibody and a proteome.

The target molecule-proteome binding affinity may be binding affinity between an epitope and an antibody-drug conjugate. The target molecule-proteome binding affinity may be binding affinity between an epitope and an antibody fragment-drug conjugate. The target molecule-proteome binding affinity may be binding affinity between an antigen and an antibody-drug conjugate. The target molecule-proteome binding affinity may be binding affinity between an antigen and an antibody fragment-drug conjugate. The target molecule-proteome binding affinity may be binding affinity between a receptor for a specific antibody and an antibody-drug conjugate. The target molecule-proteome binding affinity may be binding affinity between a receptor for a specific antibody and an antibody fragment-drug conjugate.

The molecule constituting the target molecule-proteome binding may be any one or more of an epitope, an antigen and a receptor for a specific antibody. The molecule constituting the target molecule-proteome binding may refer to a molecule having binding affinity for a region of an IgG antibody paratope. The IgG antibody paratope may constitute an antibody-

drug conjugate. The IgG antibody paratope may constitute an antibody fragment-drug conjugate.

In an embodiment of the present invention, surface plasmon resonance (SPR) analysis may be used to ascertain that the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate retains binding affinity for the target molecule.

Using surface plasmon resonance (SPR) analysis, the dissociation rate constant kd of the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate for the target molecule can be calculated. Using surface plasmon resonance (SPR) analysis, the association rate constant ka of the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate for the target molecule can be calculated. Using surface plasmon resonance (SPR) analysis, the equilibrium dissociation constant KD of the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate for the target molecule can be calculated. The value of KD corresponds to a value obtained by dividing the kd value by the ka value.

In an embodiment of the present invention, imaging molecule measurement following administration *in vivo* may be used to ascertain that the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate retains binding affinity for the target molecule.

The imaging molecule measurement of the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate regarding the target molecule may be carried out by comparing:
the imaging molecule distribution pattern following *in vivo* administration of a control antibody or a control antibody fragment (a); and
the imaging molecule distribution pattern following *in vivo* administration of an antibody-drug conjugate or an antibody fragment-drug conjugate (b).

The control antibody or control antibody fragment refers to an antibody or fragment that is identical to the antibody constituting the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate but subjected to no intentional conjugation.

If the comparison of (a) and (b) shows that the distribution patterns of the imaging molecule are similar, the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate can be determined to retain the binding affinity for the target molecule.

In another embodiment of the present invention, immunoprecipitation (IP) assay may be used to ascertain that the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate retains binding affinity for the target molecule. The immunoprecipitation assay may be a protein chip analysis. A protein chip used for the protein chip analysis may comprise target molecules and non-target molecules densely immobilized on a slide.

The protein chip analysis of the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate for the target molecule may be carried out by comparing:
the analysis results on the affinity of a control antibody or a control antibody fragment for the protein chip (a); and
the analysis results on the affinity of an antibody-drug conjugate or an antibody fragment-drug conjugate for the protein chip (b).

The control antibody or control antibody fragment refers to an antibody or fragment that is identical to the antibody constituting the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate but subjected to no intentional conjugation.

By comparing (a) and (b), a quantitative analysis and/or a qualitative analysis can be carried out. If the results of the quantitative analysis and/or qualitative analysis show similar analysis results, the antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate can be determined to retain the binding affinity for the target molecule.

13. PK and PD

In another aspect of the present invention, the pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) properties of the proteome can be provided.

The PK can be calculated by measuring any one or mor of linker stability, half-life, excretion, and volume of distribution.

The PD can be calculated by measuring any one or mor of cell selectivity and tumor size.

The proteome may be an antibody-drug conjugate (ADC) or an antibody fragment-drug conjugate (AFDC).

The antibody-drug conjugate or antibody fragment-drug conjugate may be an antibody CH2 domain-containing proteome. The antibody CH2 domain may be IgG CH2 domain. The IgG CH2 domain may be any one or more of IgG1 CH2 domain, IgG2 CH2 domain, IgG3 CH2 domain and IgG4 CH2 domain.

The antibody CH2 domain may be a human IgG CH2 gene-derived CH2 domain. The antibody CH2 domain may be a human IgG1 CH2 gene-derived CH2 domain. The antibody CH2 domain may be a human IgG2 CH2 gene-derived CH2 domain.

In a working example of the present invention, PK properties of a proteome including any one or more of linker stability, half-life, excretion, and volume of distribution can be provided.

The linker stability of the proteome may be determined by the serum stability of the linker included in the proteome.

The linker stability of the proteome may be determined by the enzyme specificity of the linker included in the proteome. For example, the linker stability of the proteome may be determined by the cathepsin B specificity of a VC linker included in the proteome.

The half-life of the proteome can be determined by the proteome's FcRn binding affinity.

Excretion of the proteome can be determined by the extent of excretion by the kidney as a result of aggregation of the proteome.

The volume of distribution of the proteome can be determined by the serum partition

coefficient and cell tissue partition coefficient of the proteome.

In another working example of the present invention, PD properties of a proteome including any one or more of cell selectivity and tumor size can be provided.

The cell selectivity for the proteome can be determined by the extent of specific binding by the proteome to target cells and non-target cells. For example, when the proteome is an antibody-drug conjugate or antibody-fragment drug conjugate comprising a paratope of an anti-cancer antibody, the cell selectivity can be determined by the extent of the proteome's specific binding to target cancer cells and normal cells.

The tumor size relevant to the proteome can be determined by injecting the proteome *in vivo* to a subject having a tumor and monitoring changes in the tumor size in the subject. In this case, as a control, changes in the tumor size in a subject injected with an injection that does not comprise the proteome may be monitored for comparison. Or, as a control, changes in the tumor size in a subject who was not injected with the proteome may be monitored.

[Reference Numerals]

1: CH3 domain of a first heavy chain of an antibody

2: CH2 domain of a first heavy chain of an antibody

3: CH1 domain of a first heavy chain of an antibody

4: VH domain of a first heavy chain of an antibody

5: CL domain of a first light chain of an antibody

6: VL domain of a first light chain of an antibody

7: CH3 domain of a second heavy chain of an antibody

8: CH2 domain of a second heavy chain of an antibody

9: CH1 domain of a second heavy chain of an antibody

10: VH domain of a second heavy chain of an antibody

11: CL domain of a second light chain of an antibody

12: VL domain of a second light chain of an antibody

13: Fc domain of the first heavy chain of an antibody

14: Fc domain of the second heavy chain of an antibody

100: R-IC-R' compound

130: c"-P compound

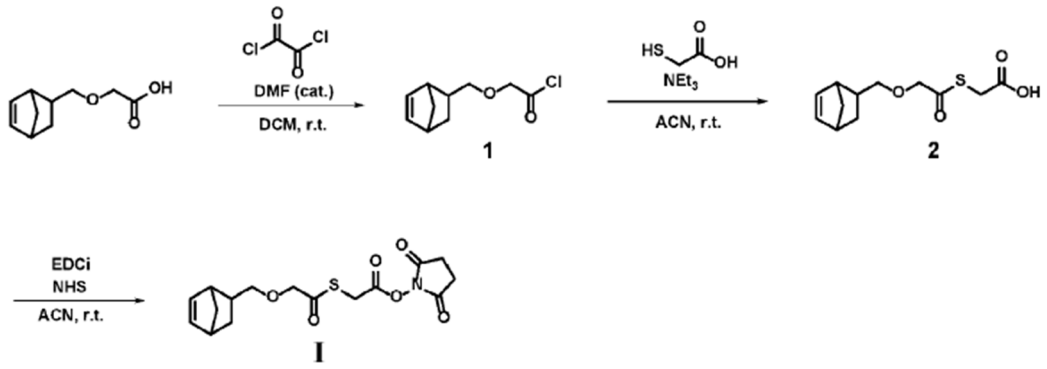
200: SSI

300: SSI-IC-R

[Experimental Examples]

[Example 1] Synthesis and confirmation of structure of compounds

Example 1-1: Compound I (SO1 Linker: NHS & Norbornene)



Example 1-1-1: Synthesis of Compound I

Synthesis of Compound 1

2 g (10.98 mmol, 1.0 eq.) of 2-(bicyclo[2.2.1]hept-5-ene-2-ylmethoxy)acetic acid was dissolved in 50 mL of DCM, and 0.085 mL (1.098 mmol, 0.1 eq.) of DMF and 1.91 mL (21.96 mmol, 2.0 eq.) of oxalyl chloride were then added dropwise while stirring at room temperature. The reaction solution was stirred for 3 hours, and then concentrated under reduced pressure to obtain 1.97 g of a target compound (yield: 90%).

Synthesis of Compound 2

1.97 g (9.88 mmol, 1.0 eq.) of Compound 1 was dissolved in 20 mL of acetonitrile (ACN), and 0.68 mL (9.88 mmol, 1.0 eq.) of thioglycolic acid and 2.06 mL (14.82 mmol, 1.5 eq.) of triethylamine were then added dropwise while stirring at room temperature. The reaction solution was stirred for 18 hours, and then concentrated under reduced pressure. Subsequently, water was added to the reaction solution, and the reaction solution was extracted three times with ethyl acetate (EA). An organic layer was dried over magnesium sulfate, concentrated under reduced pressure, and then purified by column chromatography (DCM:MeOH = 10:1) to obtain 2.05 g (yield: 79%) of a target compound.

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 6.15 - 6.01 (m, 2H), 4.20 (t, J = 5.0 Hz, 1H), 3.77 - 3.71 (m, 2H), 3.68 - 3.57 (m, 1H), 3.56 - 3.45 (m, 1H), 2.84 (s, 2H), 1.81 - 1.69 (m, 2H), 1.30 (ddd, J = 19.8, 14.5, 8.6 Hz, 4H), 1.15 (ddd, J = 16.0, 7.6, 3.3 Hz, 1H).

Synthesis of Compound I

2.05 g (7.81 mmol, 1.0 eq.) of Compound 2 was dissolved in 50 mL of ACN, and 2.76 g (14.44 mmol, 1.8 eq.) of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDCi) and 2.21 g (19.25 mmol, 2.46 eq.) of N-hydroxysuccinimide (NHS) were then added while stirring at room temperature. The reaction solution was stirred for 18 hours, and then concentrated

under reduced pressure. Subsequently, water was added to the reaction solution, and the reaction solution was extracted three times with EA. An organic layer was recovered, dried over magnesium sulfate, and then concentrated under reduced pressure. Then, the residue was purified on a silica gel column using chromatography (EA:Hex = 2:1) to obtain 2.7 g (yield: 98%) of a target compound.

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 6.15 - 6.03 (m, 2H), 4.45 (s, 1H), 4.21 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 3.97 (s, 1H), 3.65 (dd, J = 12.0, 7.3 Hz, 1H), 3.52 (t, J = 8.9 Hz, 1H), 2.83 (dd, J = 24.4, 11.8 Hz, 6H), 1.81 - 1.67 (m, 1H), 1.30 (dq, J = 27.0, 9.5 Hz, 4H), 1.16 (ddd, J = 15.3, 7.4, 3.8 Hz, 1H).

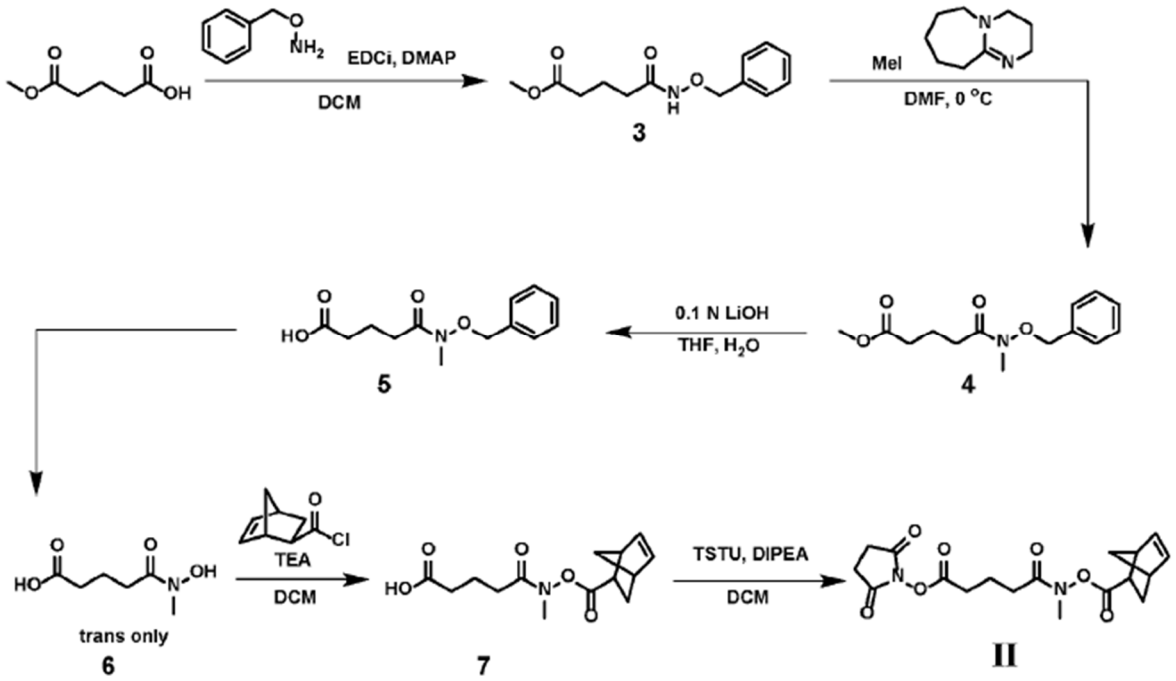
Example 1-1-2: Confirmation of structure of Compound I

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 6.15 - 6.03 (m, 2H), 4.45 (s, 1H), 4.21 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 3.97 (s, 1H), 3.65 (dd, J = 12.0, 7.3 Hz, 1H), 3.52 (t, J = 8.9 Hz, 1H), 2.83 (dd, J = 24.4, 11.8 Hz, 6H), 1.81 - 1.67 (m, 1H), 1.30 (dq, J = 27.0, 9.5 Hz, 4H), 1.16 (ddd, J = 15.3, 7.4, 3.8 Hz, 1H).

LRMS (ESI): m/z 371.2 [M+ NH_4^+]

The results are shown in FIG. 9 (FIG. 9).

Example 1-2: Compound II (Trans Linker: NHS & Norbornene)



Example 1-2-1: Synthesis of Compound II

Synthesis of Compound 3

10 g (68.4 mmol, 1.0 eq) of monomethylglutarate was dissolved in 250 mL of dichloromethane (DCM) and the resulting solution was stirred. 17.7 g (92.3 mmol, 1.34 eq) of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDCi) and 24 mL (138 mmol, 2.0 eq) of N,N-diisopropylethylamine (DIPEA) were slowly added dropwise thereto, the resulting solution was stirred for 20 minutes, and then 8 mL (68.7 mmol, 1.0 eq) of O-benzylhydroxyamine was slowly added dropwise thereto. After 18 hours, the reaction solution was removed by concentration under reduced pressure, and the residue was re-dissolved in ethyl acetate (EA). The organic layer was washed three times using a 10% citric acid solution and dried using a saturated salt solution and sodium sulfate. A target compound was used in the next reaction without purification (crude yield: 12.9 g, 88%). TLC (EA:Hex = 2:1); Rf = 0.5

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7.35 (d, J = 3.5 Hz, 5H), 4.75 (d, J = 3.5 Hz, 2H), 3.56 (d, J = 4.0 Hz, 3H), 2.26 (td, J = 7.3, 3.8 Hz, 2H), 1.96 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 1.78 - 1.61 (m, 2H).

Synthesis of Compound 4

After 12.9 g of Compound 3 was dissolved in 200 mL of N,N-dimethylformamide (DMF), the resulting solution was stirred at 0°C. 24 mL (160 mmol, 3.08 eq) of 1,8-diazabicyclo(5.4.0)undec-7-ene (DBU) and 10 mL (160 mmol, 3.08 eq) of methyl iodide (MeI) were slowly added dropwise thereto. 0.2 mL of diethylamine was slowly added dropwise thereto. After the resulting solution was stirred for 20 hours, the reaction solvent was mixed with Celite and removed by concentration under reduced pressure, and a target compound was purified by column chromatography (EA:Hex = 1:1) to obtain 7.6 g (yield : 56%). TLC (EA:Hex = 1:1); Rf = 0.5

^{1}H NMR (300 MHz, cdcl3) δ 7.44 - 7.33 (m, 5H), 4.82 (s, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.20 (s, 3H), 2.43 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 2.34 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 1.98 - 1.85 (m, 2H).

Synthesis of Compound 5

After 4.18 g (15.8 mmol, 1.0 eq) of Compound 4 was dissolved in 100 mL of tetrahydrofuran (THF), the resulting solution was stirred. 5 mL of 2 N lithium hydroxide (LiOH) was slowly added dropwise thereto at 0°C, and then the resulting solution was stirred for 3 hours. The reaction was terminated by adding 60 mL of H_2O thereto, and washing was performed twice on the aqueous layer using 150ml of EA. Then, the aqueous layer was titrated to pH 3.0 using 2N HCl solution, and the target compound was extracted three times using 50ml of EA. The organic layer was dried using a saturated salt solution and sodium sulfate to obtain 2.46 g (yield: 62%). TLC (EA:Hex = 1:1); Rf = 0.1

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) δ 12.06 (s, 1H), 7.51 - 7.29 (m, 5H), 4.86 (s, 2H), 3.13 (s, 3H), 2.38 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 2.22 (dt, J = 11.7, 7.4 Hz, 4H).

Synthesis of Compound 6

After 2.46 g of Compound 5 was dissolved in 40 mL of methanol (MeOH), a hydrogenation reaction was performed in the presence of palladium on carbon (Pd/C) over 18 hours, and after the reaction was terminated, the Pd/C was removed through a short-path column, and

then a target compound was purified and concentrated to obtain 1.2 g (yield: 76%).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) δ 3.06 (s, 3H), 2.30 (dd, J = 14.1, 7.0 Hz, 4H), 2.01 (d, J = 6.9 Hz, 2H).

Synthesis of Compound 7

0.17 g (1.06 mmol, 1.0 eq) of Compound 6 was dissolved in 10 mL of DCM and the resulting solution was stirred. 0.22 g (1.73 mmol, 1.63 eq) of exo-5-norbornene acid chloride and 0.2 mL (1.1 mmol, 1.0 eq) of DIPEA were slowly added dropwise thereto at 0°C. After the resulting solution was stirred for 2 hours, the organic layer was washed three times using a 10% citric acid solution, and dried using a saturated salt solution and sodium sulfate. A target compound was used in the next reaction without purification (crude yield: 0.24 g, 68%). TLC (DCM:MeOH = 10:1); Rf = 0.3

Expected M.W. $(M+H)^+$: 282.13 g/mol
Measured M.W. $(M+H)^+$: 282.1 g/mol

The results are shown in FIG. 10 (FIG. 10).

Synthesis of Compound II

0.24 g (0.72 mmol, 1.0 eq) of Compound 7 was dissolved in 3 mL of DCM and the resulting solution was stirred. 0.26 g (0.87 mmol, 1.2 eq) of N,N,N′,N′- tetramethyl-O-(N-succinimidyl)uroniumtetrafluorborate (TSTU) and 0.15 mL (0.87 mmol, 1.2 eq) of DIPEA were slowly added dropwise thereto. After the resulting solution was stirred for 1 hour, the organic layer was washed three times using a 10% citric acid solution, and dried using a saturated salt solution and sodium sulfate. A target compound was purified through column chromatography (EA:Hex = 1:1) to obtain 0.04 g (yield: 15%). TLC (EA:Hex = 1:1); Rf = 0.3

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) δ 6.18 (ddd, J = 16.9, 5.5, 3.0 Hz, 2H), 2.94 (s, 1H), 2.80 (s, 4H), 2.71 (s, 1H), 2.67 (q, J = 1.0 Hz, 3H), 2.25 (dd, J = 25.9, 18.6 Hz, 4H), 1.86 (ddd, J = 18.9, 11.5, 5.8 Hz, 4H), 1.45 - 1.26 (m, 4H).

Example 1-2-2: Confirmation of structure of Compound II

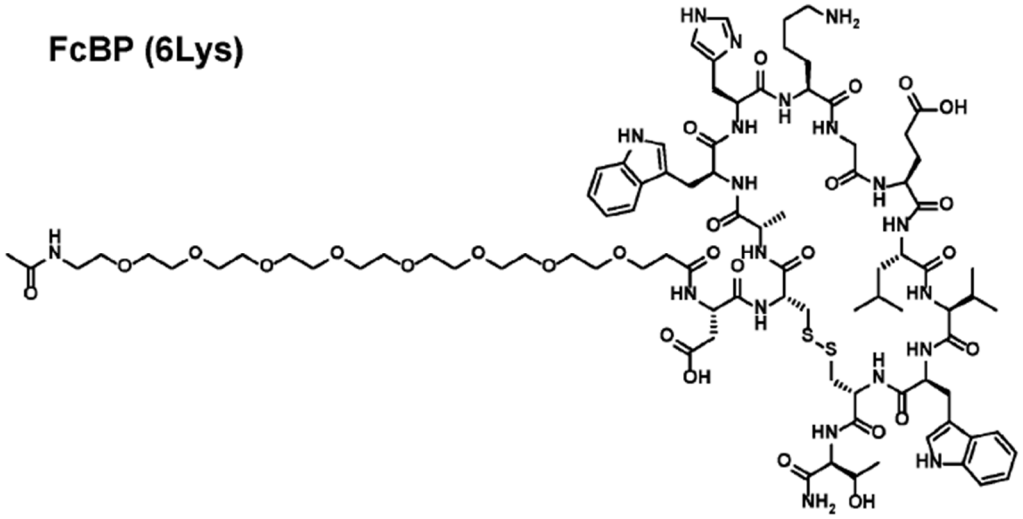
^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) δ 6.18 (ddd, J = 16.9, 5.5, 3.0 Hz, 2H), 2.94 (s, 1H), 2.80 (s, 4H), 2.71 (s, 1H), 2.67 (q, J = 1.0 Hz, 3H), 2.25 (dd, J = 25.9, 18.6 Hz, 4H), 1.86 (ddd, J = 18.9, 11.5, 5.8 Hz, 4H), 1.45 - 1.26 (m, 4H).

[Example 2] Synthesis and confirmation of structure of site-specific interactomes

Example 2-1. Synthesis and confirmation of structure of FcBP(6Lys)

Example 2-1-1: Synthesis of FcBP(6Lys)

FcBP (6Lys)



List and order of introduction of Fmoc amino acids used

Fmoc-L-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-L-Trp(Boc)-OH, Fmoc-L-Val-OH, Fmoc-L-Leu-OH, Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-L-His(Trt)-OH, Fmoc-L-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(tBu)-OH.

Preparation method

(a) Introduction of amino acids

Amounts of reagents used in the following process were based on 0.25 mmole. 0.5 g (0.48 mmole/g) of a clear amide resin (Peptide International Inc., USA) was put into a synthesis reactor, and 1 mmole of each Fmoc-amino acid block was weighed to prepare a peptide amino acid sequence from the C-terminus to the N-terminus in the above order.

A reaction for activating an Fmoc-amino acid to attach the activated residue to a clear amide resin was performed sequentially from the C-terminal amino acid.

Removal of Fmoc was performed in 20% piperidine-containing DMF, and activation and introduction of the residue was performed by mixing amino acids prepared to correspond to the sequence with 2 mL of a 0.5 M HOBt-containing DMF solution, 2 mL of a 0.5 M HBTU-containing DMF solution, and 174 μL of DIPEA for 5 minutes, and mixing the resulting mixture for 2 hours in a reactor containing the resin.

Confirmation of an introduction reaction was carried out using a Kaiser test method. When the introduction reaction was confirmed to be incomplete, the introduction reaction was repeated once more, or capping was performed using a 20% Ac_2O-containing DMF solution. In each of the introduction reaction and the Fmoc removal, the resin was thoroughly washed with DMF and DCM before moving to the next step. This process was repeatedly performed until the targeted peptide sequence was completed.

(b) Introduction of H-PEG8-OH

To introduce H-PEG$_8$-OH to the N-terminus of the sequence after the introduction of the amino acids was completed, 1 mL of a 0.5 M Fmoc-N-amido-dPEG8-acid in DMF solution, 1 mL of a 0.5 M HBTU-containing DMF solution, 1 mL of a 0.5 M HOBt-containing DMF solution, and 87 μL of DIPEA were mixed for 5 minutes, and the resulting mixture was mixed for 2 hours in a reactor containing a reactive resin.

Progression of the reaction was monitored by the Kaiser test method. When the unreacted amine was found to remain, the reaction time was extended for another 1 to 3 hours, or the reaction solution was discarded, and the aforementioned reaction process was repeated again. Removal of the N-terminal Fmoc protective group was performed using 20% piperidine-containing DMF, and the resin to which the peptide was attached was then dried and weighed.

(c) 250 mg of the resin to which the peptide was attached as prepared in the step (b) was stirred with 2 mL of a mixed solution of TFA, TIS, water and EDT (94:1.0:2.5:2.5) at room temperature for 120 minutes to cleave the peptide from the resin. The cleaved mixture was filtered, and the filtrate was concentrated to about half its volume using nitrogen gas. Thereafter, ether was poured into the mixture to precipitate the peptide. The precipitated peptide was washed three times with ether and dried under nitrogen gas. The dried precipitate was dissolved in 0.1% TFA-30% ACN-containing water, stirred for 6 hours, and then concentrated.

The concentrate was dissolved at a concentration of 0.1 mg/mL in a 5%-DMSO-20%-ACN-containing 0.01 M ammonium acetate buffer (pH 6.5) solution, and then stirred for 3 days while being exposed to air. Progression of a disulfide bond-forming reaction was monitored by HPLC. When the reaction was found not to progress anymore, the reaction solution was freeze-dried to obtain a peptide precipitate.

(d) Purification

The peptide precipitate obtained by freeze-drying in the step (c) was separated under the prep-LC primary purification conditions listed in the following Table 1, further purified under the prep-LC secondary purification conditions listed in the following Table 2, and then freeze-dried. The resulting peptide was confirmed to have a purity of 90% or more by analytical HPLC, and the molecular weight of the synthesized peptide was confirmed using an LC/MS mass spectrometer.

H-PEG8-Asp-Cys*-Ala-Trp-His-Lys-Gly-Glu-Leu-Val-Trp-Cys*-Thr-NH_2 (Cys*: disulfide bonding sites)

[Table 1] Prep-LC primary purification conditions

Prep-LC primary purification conditions			
Equipment name	Waters 2525 pump, Waters 2487 UV detector		
Column	Waters, XBridge Prep C18 5 μm OBD 19 x 250 mm		
Mobile phase A/B	0.1% TFA-20% ACN / 0.1% TFA in 80% ACN		
Gradient	0 min → 30 min : B 0% → B 100%		
Flow rate	17 mL/min	Detection wavelength	UV 280 nm

[Table 2] Prep-LC secondary purification conditions

Prep-LC secondary purification conditions			
Equipment name	Waters 2525 pump, Waters 2487 UV detector		
Column	Waters, XBridge Prep C18 5 μm OBD 19 x 250 mm		
Mobile phase A/B	0.1 % TFA-30% ACN / 0.1 % TFA in 70% ACN		
Gradient	0 min → 30 min : B 0% → B 100%		
Flow rate	15 mL/min	Detection wavelength	UV 280 nm

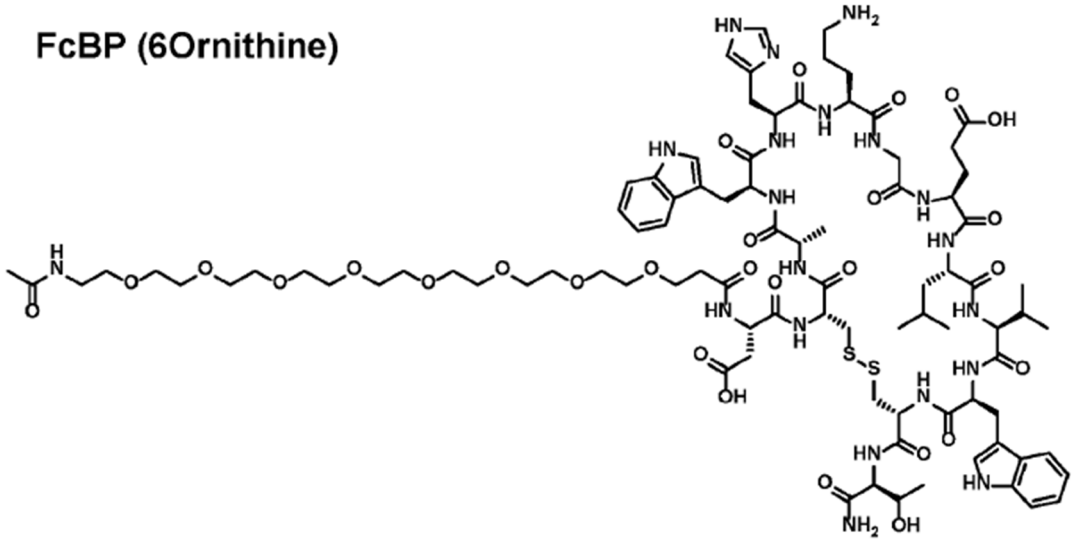
Example 2-1-2: Confirmation of structure of FcBP(6Lys)

Synthesis of FcBP(6Lys) was confirmed by molecular weight measurement by matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) mass spectrometry.

Measuring equipment: Ultraflextreme (Bruker)
Measuring matrix: CHCA (α-Cyano-4-hydroxycinnamic acid) & DHB (2,5-Dihydroxybenzoic acid)
Calculated molecular weight: 2010.29 g/mol
Measured molecular weight $(M+H)^+$: 2011.89 g/mol

The results are shown in FIG. 11 (FIG. 11).

Example 2-2. Synthesis and confirmation of structure of FcBP(6Ornithine)



Example 2-2-1: Synthesis of FcBP(6Ornithine)

List and order of introduction of Fmoc amino acids used

Fmoc-L-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-L-Trp(Boc)-OH, Fmoc-L-Val-OH, Fmoc-L-Leu-OH, Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Orn(Boc)-OH, Fmoc-L-His(Trt)-

OH, Fmoc-L-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(tBu)-OH.

Preparation method

(a) Introduction of amino acids

Amounts of reagents used in the following process were based on 0.25 mmole. 0.5 g (0.48 mmole/g) of a clear amide resin (Peptide International Inc., USA) was put into a synthesis reactor, and 1 mmole of each Fmoc-amino acid block was weighed to prepare a peptide amino acid sequence from the C-terminus to the N-terminus in the above.

A reaction for activating an Fmoc-amino acid to attach the activated residue to a clear amide resin was performed sequentially from the C-terminal amino acid.

Removal of Fmoc was performed in 20% piperidine-containing DMF, and activation and introduction of the residue was performed by mixing amino acids prepared to correspond to the sequence with 2 mL of a 0.5 M HOBt-containing DMF solution, 2 mL of a 0.5 M HBTU-containing DMF solution, and 174 μL of DIPEA for 5 minutes, and mixing the resulting mixture for 2 hours in a reactor containing the resin.

Confirmation of an introduction reaction was carried out using a Kaiser test method. When the introduction reaction was confirmed to be incomplete, the introduction reaction was repeated once more, or capping was performed using a 20% Ac_2O-containing DMF solution. In each of the introduction reaction and the Fmoc removal, the resin was thoroughly washed with DMF and DCM before moving to the next step. This process was repeatedly performed until the targeted peptide sequence was completed.

(b) Introduction of H-PEG8-OH

To introduce H-PEG_8-OH to the N-terminus of the sequence after the introduction of the amino acids was completed, 1 mL of a 0.5 M Fmoc-N-amido-dPEG8-acid in DMF solution, 1 mL of a 0.5 M HBTU-containing DMF solution, 1 mL of a 0.5 M HOBt-containing DMF solution, and 87 μL of DIPEA were mixed for 5 minutes, and the resulting mixture was mixed for 2 hours in a reactor containing a reactive resin.

Progression of the reaction was monitored by the Kaiser test method. When the unreacted amine was found to remain, the reaction time was extended for another 1 to 3 hours, or the reaction solution was discarded, and the aforementioned reaction process was repeated again. Removal of the N-terminal Fmoc protective group was performed using 20% piperidine-containing DMF, and the resin to which the peptide was attached was then dried and weighed.

(c) 250 mg of the resin to which the peptide was attached as prepared in the step (b) was stirred with 2 mL of a mixed solution of TFA, TIS, water and EDT (94:1.0:2.5:2.5) at room temperature for 120 minutes to cleave the peptide from the resin. The cleaved mixture was filtered, and the filtrate was concentrated to about half its volume using nitrogen gas. Thereafter, ether was poured into the mixture to precipitate the peptide. The precipitated peptide was washed three times with ether and dried under nitrogen gas. The dried precipitate was dissolved in 0.1% TFA-30% ACN-containing water, stirred for 6 hours, and then

concentrated.

The concentrate was dissolved at a concentration of 0.1 mg/mL in a 5%-DMSO-20%-ACN-containing 0.01 M ammonium acetate buffer (pH 6.5) solution, and then stirred for 3 days while being exposed to air. Progression of a disulfide bond-forming reaction was monitored by HPLC. When the reaction was found not to progress anymore, the reaction solution was freeze-dried to obtain a peptide precipitate.

(d) Purification

The peptide precipitate obtained by freeze-drying in the step (c) was separated under the prep-LC primary purification conditions listed in the following Table 1, further purified under the prep-LC secondary purification conditions listed in the following Table 2, and then freeze-dried. The resulting peptide was confirmed to have a purity of 90% or more by analytical HPLC, and the molecular weight of the synthesized peptide was confirmed using an LC/MS mass spectrometer.

H-PEG8-Asp-Cys*-Ala-Trp-His-Orn-Gly-Glu-Leu-Val-Trp-Cys*-Thr-NH_2 (Cys*: disulfide bonding sites)

[Table 1] Prep-LC primary purification conditions

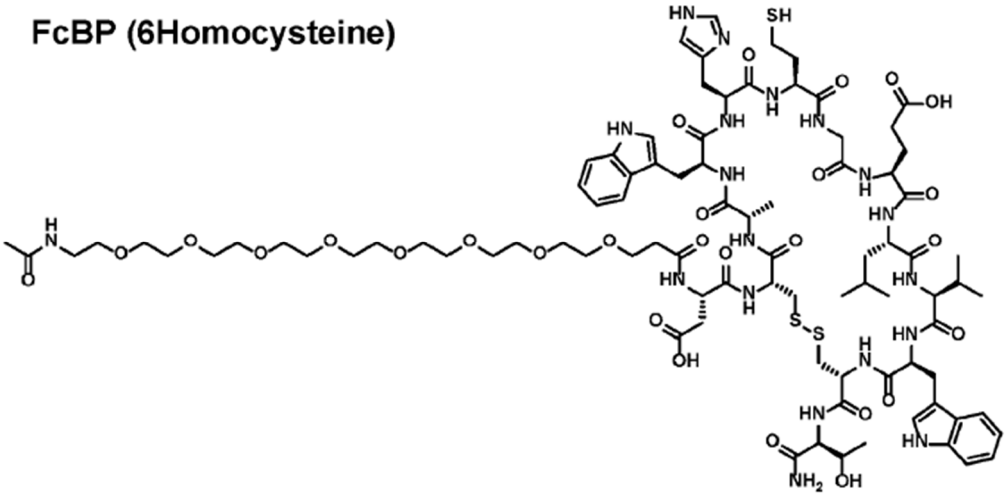
Prep-LC primary purification conditions			
Equipment name	Waters 2525 pump, Waters 2487 UV detector		
Column	Waters, XBridge Prep C18 5 μm OBD 19 x 250 mm		
Mobile phase A/B	0.1% TFA-20% ACN / 0.1% TFA in 80% ACN		
Gradient	0 min → 30 min : B 0% → B 100%		
Flow rate	17 mL/min	Detection wavelength	UV 280 nm

[Table 2] Prep-LC secondary purification conditions

Prep-LC secondary purification conditions			
Equipment name	Waters 2525 pump, Waters 2487 UV detector		
Column	Waters, XBridge Prep C18 5 μm OBD 19 x 250 mm		
Mobile phase A/B	0.1 % TFA-30% ACN / 0.1 % TFA in 70% ACN		
Gradient	0 min → 30 min : B 0% → B 100%		
Flow rate	15 mL/min	Detection wavelength	UV 280 nm

Example 2-3. Synthesis and confirmation of structure of FcBP(6Homocysteine)

FcBP (6Homocysteine)



Example 2-3-1: Synthesis of FcBP(6Homocysteine)

List and order of introduction of Fmoc amino acids used

Fmoc-L-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-L-Trp(Boc)-OH, Fmoc-L-Val-OH, Fmoc-L-Leu-OH, Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-hcys(Trt)-OH, Fmoc-L-His(Trt)-OH, Fmoc-L-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(tBu)-OH,

Preparation method

(a) Introduction of amino acids

Amounts of reagents used in the following process were based on 0.25 mmole. 0.5 g (0.48 mmole/g) of a clear amide resin (Peptide International Inc., USA) was put into a synthesis reactor, and 1 mmole of each Fmoc-amino acid block was weighed to prepare a peptide amino acid sequence from the C-terminus to the N-terminus in the above.

A reaction for activating an Fmoc-amino acid to attach the activated residue to a clear amide resin was performed sequentially from the C-terminal amino acid.

Removal of Fmoc was performed in 20% piperidine-containing DMF, and activation and introduction of the residue was performed by mixing amino acids prepared to correspond to the sequence with 2 mL of a 0.5 M HOBt-containing DMF solution, 2 mL of a 0.5 M HBTU-containing DMF solution, and 174 μL of DIPEA for 5 minutes, and mixing the resulting mixture for 2 hours in a reactor containing the resin.

Confirmation of an introduction reaction was carried out using a Kaiser test method. When the introduction reaction was confirmed to be incomplete, the introduction reaction was repeated once more, or capping was performed using a 20% Ac_2O-containing DMF solution. In each of the introduction reaction and the Fmoc removal, the resin was thoroughly washed with DMF and DCM before moving to the next step. This process was repeatedly performed until the targeted peptide sequence was completed.

(b) Introduction of H-PEG8-OH

To introduce H-PEG$_8$-OH to the N-terminus of the sequence after the introduction of the amino acids was completed, 1 mL of a 0.5 M Fmoc-N-amido-dPEG8-acid in DMF solution, 1 mL of a 0.5 M HBTU-containing DMF solution, 1 mL of a 0.5 M HOBt-containing DMF solution, and 87 μL of DIPEA were mixed for 5 minutes, and the resulting mixture was mixed for 2 hours in a reactor containing a reactive resin.

Progression of the reaction was monitored by the Kaiser test method. When the unreacted amine was found to remain, the reaction time was extended for another 1 to 3 hours, or the reaction solution was discarded, and the aforementioned reaction process was repeated again. Removal of the N-terminal Fmoc protective group was performed using 20% piperidine-containing DMF, and the resin to which the peptide was attached was then dried and weighed.

(c) 250 mg of the resin to which the peptide was attached as prepared in the step (b) was stirred with 2 mL of a mixed solution of TFA, TIS, water and EDT (94:1.0:2.5:2.5) at room temperature for 120 minutes to cleave the peptide from the resin. The cleaved mixture was filtered, and the filtrate was concentrated to about half its volume using nitrogen gas. Thereafter, ether was poured into the mixture to precipitate the peptide. The precipitated peptide was washed three times with ether and dried under nitrogen gas. The dried precipitate was dissolved in 0.1% TFA-30% ACN-containing water, stirred for 6 hours, and then concentrated.

The concentrate was dissolved at a concentration of 0.1 mg/mL in a 5%-DMSO-20%-ACN-containing 0.01 M ammonium acetate buffer (pH 6.5) solution, and then stirred for 3 days while being exposed to air. Progression of a disulfide bond-forming reaction was monitored by HPLC. When the reaction was found not to progress anymore, the reaction solution was freeze-dried to obtain a peptide precipitate.

(d) Purification

The peptide precipitate obtained by freeze-drying in the step (c) was separated under the prep-LC primary purification conditions listed in the following Table 1, further purified under the prep-LC secondary purification conditions listed in the following Table 2, and then freeze-dried. The resulting peptide was confirmed to have a purity of 90% or more by analytical HPLC, and the molecular weight of the synthesized peptide was confirmed using an LC/MS mass spectrometer.

H-PEG8-Asp-Cys*-Ala-Trp-His-hCys-Gly-Glu-Leu-Val-Trp-Cys*-Thr-NH_2 (Cys*: disulfide bonding sites)

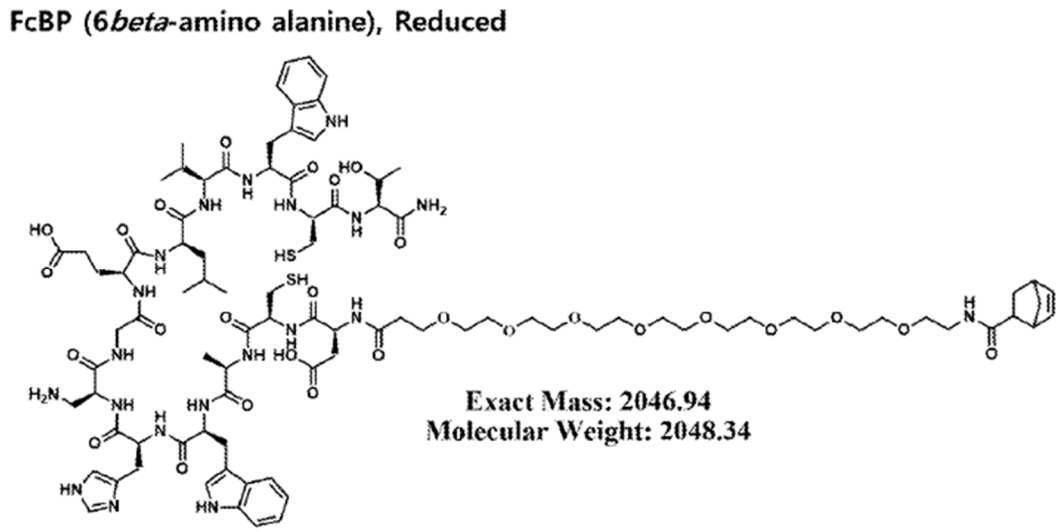
[Table 1] Prep-LC primary purification conditions

Prep-LC primary purification conditions			
Equipment name	Waters 2525 pump, Waters 2487 UV detector		
Column	Waters, XBridge Prep C18 5 μm OBD 19 x 250 mm		
Mobile phase A/B	0.1% TFA-20% ACN / 0.1% TFA in 80% ACN		
Gradient	0 min → 30 min : B 0% → B 100%		
Flow rate	17 mL/min	Detection wavelength	UV 280 nm

[Table 2] Prep-LC secondary purification conditions

Prep-LC secondary purification conditions			
Equipment name	Waters 2525 pump, Waters 2487 UV detector		
Column	Waters, XBridge Prep C18 5 μm OBD 19 x 250 mm		
Mobile phase A/B	0.1 % TFA-30% ACN / 0.1 % TFA in 70% ACN		
Gradient	0 min → 30 min : B 0% → B 100%		
Flow rate	15 mL/min	Detection wavelength	UV 280 nm

Example 2-4. Synthesis and confirmation of structure of FcBP(6β-amino alanine)



Example 2-4-1: Synthesis of FcBP(6β-amino alanine)

Sequence: Nor.-PEG8-DCAWHA(beta amino)GELVWCT-$CONH_2$

List and order of introduction of Fmoc amino acids used

Fmoc-L-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-L-Trp(Boc)-OH, Fmoc-L-Val-OH, Fmoc-L-Leu-OH, Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-β amino Ala(Boc)-OH, Fmoc-L-His(Trt)-OH, Fmoc-L-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(tBu)-OH.

Preparation method

(a) Introduction of amino acids

Amounts of reagents used in the following process were based on 0.25 mmole. 0.5 g (0.48 mmole/g) of a clear amide resin (Peptide International Inc., USA) was put into a synthesis reactor, and 1 mmole of each Fmoc-amino acid block was weighed to prepare a peptide amino acid sequence from the C-terminus to the N-terminus in the above.

A reaction for activating an Fmoc-amino acid to attach the activated residue to a clear amide resin was performed sequentially from the C-terminal amino acid.

Removal of Fmoc was performed in 20% piperidine-containing DMF, and activation and introduction of the residue was performed by mixing amino acids prepared to correspond to the sequence with 2 mL of a 0.5 M HOBt-containing DMF solution, 2 mL of a 0.5 M HBTU-containing DMF solution, and 174 μL of DIPEA for 5 minutes, and mixing the resulting mixture for 2 hours in a reactor containing the resin.

Confirmation of an introduction reaction was carried out using a Kaiser test method. When the introduction reaction was confirmed to be incomplete, the introduction reaction was repeated once more, or capping was performed using a 20% Ac_2O-containing DMF solution. In each of the introduction reaction and the Fmoc removal, the resin was thoroughly washed with DMF and DCM before moving to the next step. This process was repeatedly performed until the targeted peptide sequence was completed.

(b) Introduction of H-PEG8-OH

To introduce H-PEG_8-OH to the N-terminus of the sequence after the introduction of the amino acids was completed, 1 mL of a 0.5 M Fmoc-N-amido-dPEG8-acid in DMF solution, 1 mL of a 0.5 M HBTU-containing DMF solution, 1 mL of a 0.5 M HOBt-containing DMF solution, and 87 μL of DIPEA were mixed for 5 minutes, and the resulting mixture was mixed for 2 hours in a reactor containing a reactive resin.

Progression of the reaction was monitored by the Kaiser test method. When the unreacted amine was found to remain, the reaction time was extended for another 1 to 3 hours, or the reaction solution was discarded, and the aforementioned reaction process was repeated again. Removal of the N-terminal Fmoc protective group was performed using 20% piperidine-containing DMF, and the resin to which the peptide was attached was then dried and weighed.

(c) Introduction of norbornene

To introduce norbornene to the N-terminus of the sequence, 1 mL of a 0.5 M norbornene in DMF solution, 1 mL of a 0.5 M HBTU-containing DMF solution, 1 mL of a 0.5 M HOBt-containing DMF solution, and 87 μL of DIPEA were mixed for 5 minutes, and the resulting mixture was mixed for 2 hours in a reactor containing a reactive resin.

Progression of the reaction was monitored by the Kaiser test method. When the unreacted amine was found to remain, the reaction time was extended for another 1 to 3 hours, or the reaction solution was discarded, and the aforementioned reaction process was repeated again. After completion of the reaction, the resin to which the peptide was attached was dried and weighed.

(d) 250 mg of the resin to which the peptide was attached as prepared in the step (c) was stirred with 2 mL of a mixed solution of TFA, TIS, water and EDT (94:1.0:2.5:2.5) at room temperature for 120 minutes to cleave the peptide from the resin. The cleaved mixture was filtered, and the filtrate was concentrated to about half its volume using nitrogen gas. Thereafter, ether was poured into the mixture to precipitate the peptide. The precipitated

peptide was washed three times with ether and dried under nitrogen gas. The dried precipitate was dissolved in 0.1% TFA-30% ACN-containing water, stirred for 6 hours, and then concentrated.

The concentrate was dissolved at a concentration of 0.1 mg/mL in a 5%-DMSO-20%-ACN-containing 0.01 M ammonium acetate buffer (pH 6.5) solution, and then stirred for 3 days while being exposed to air. Progression of a disulfide bond-forming reaction was monitored by HPLC. When the reaction was found not to progress anymore, the reaction solution was freeze-dried to obtain a peptide precipitate.

(e) Purification

The peptide precipitate obtained by freeze-drying in the step (d) was separated under the prep-LC primary purification conditions listed in the following Table 1, further purified under the prep-LC secondary purification conditions listed in the following Table 2, and then freeze-dried. The resulting peptide was confirmed to have a purity of 90% or more by analytical HPLC, and the molecular weight of the synthesized peptide was confirmed using an LC/MS mass spectrometer.

H-PEG8-Asp-Cys*-Ala-Trp-His-Dap-Gly-Glu-Leu-Val-Trp-Cys*-Thr-NH_2 (Cys*: disulfide bonding sites)

[Table 1] Prep-LC primary purification conditions

Prep-LC primary purification conditions			
Equipment name	Waters 2525 pump, Waters 2487 UV detector		
Column	Waters, XBridge Prep C18 5 μm OBD 19 x 250 mm		
Mobile phase A/B	0.1% TFA-20% ACN / 0.1% TFA in 80% ACN		
Gradient	0 min → 30 min : B 0% → B 100%		
Flow rate	17 mL/min	Detection wavelength	UV 280 nm

[Table 2] Prep-LC secondary purification conditions

Prep-LC secondary purification conditions			
Equipment name	Waters 2525 pump, Waters 2487 UV detector		
Column	Waters, XBridge Prep C18 5 μm OBD 19 x 250 mm		
Mobile phase A/B	0.1 % TFA-30% ACN / 0.1 % TFA in 70% ACN		
Gradient	0 min → 30 min : B 0% → B 100%		
Flow rate	15 mL/min	Detection wavelength	UV 280 nm

Example 2-4-2: Confirmation of structure of FcBP(6β-amino alanine)

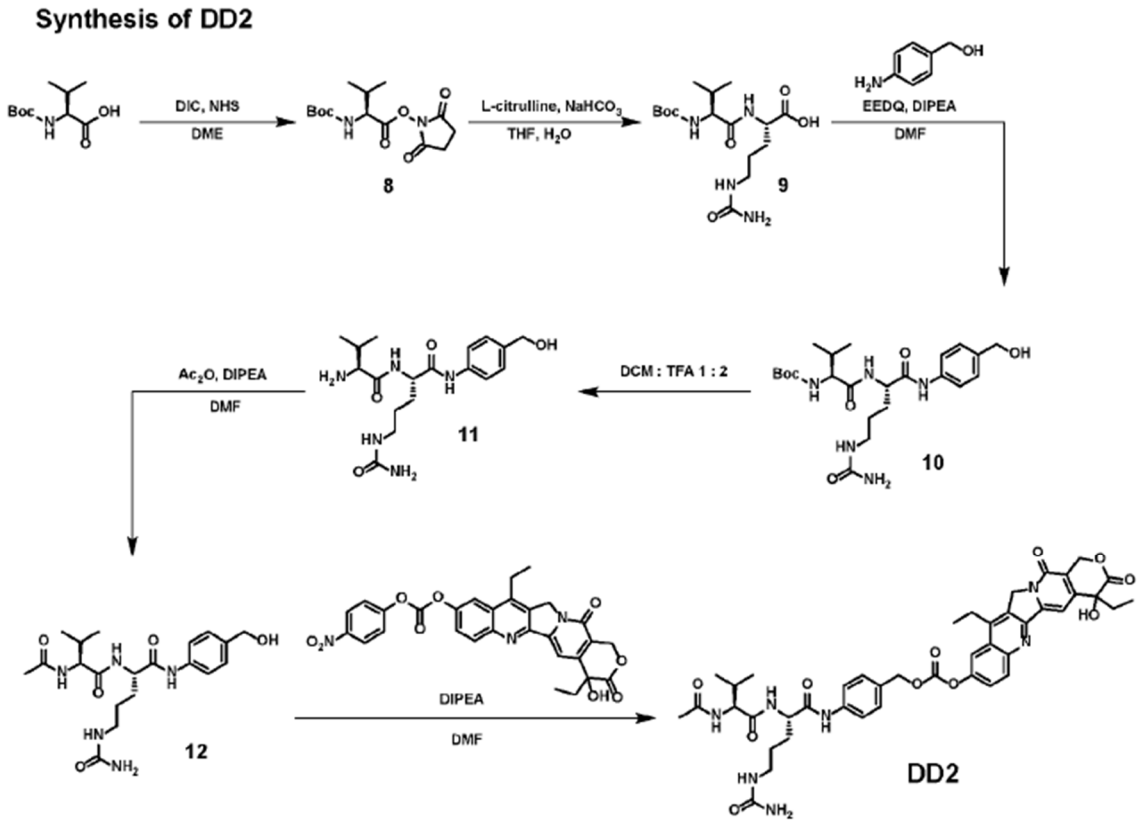
Measuring equipment: Quattro premier xe (Waters)

Calculated exact mass: 2046.94 g/mol
Measured molecular weight: 1024.7 g/mol (M+2H, M/2)

The results are shown in FIG. 12 (FIG. 12).

[Example 3] Synthesis and confirmation of structure of VC Linkers

Example 3-1. Synthesis and confirmation of structure of VC Linker (DD2)



Example 3-1-1: Synthesis of VC Linker (DD2)

Synthesis of Compound 8

5 g (14.7 mmol, 1.0 eq.) of Fmoc-Val-OH and 1.7 g (14.7 mmol, 1.0 eq.) of N-hydroxysuccinimide (NHS) were dissolved in 140 mL of dimethoxyethane (DME) and stirred. 2.5 mL (16.2 mmol, 1.1 eq.) of N,N'-diisopropylcarbodiimide (DIC) was added dropwise at 0°C, and stirred for 16 hours. The reaction solution was filtered under reduced pressure to remove floating matter, and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in acetone and stored at a low temperature for 4 hours in a refrigerator. Thereafter, the resulting solution was filtered under reduced pressure to remove the re-formed floating matter, and used in the next reaction without any purification (crude yield: 5.5 g, 86%). TLC (EA:Hex = 1:1); Rf = 0.5.

Synthesis of Compound 9

2.0 g (11.5 mmol, 1.0 eq.) of L-citrulline was dissolved in 100 mL of a 1:1 mixed solution of tetrahydrofuran (THF) and water and stirred. 988 mg of sodium hydrogen carbonate was added thereto and stirred. Thereafter, 5.0 g (11.5 mmol, 1.0 eq.) of Compound 8 was dissolved in 80 mL of acetone, added dropwise to the reaction solution, and then stirred. The

resulting mixture was stirred for 21 hours, and then concentrated under reduced pressure to remove the organic solvent. An aqueous layer was washed with ethyl acetate (EA), and then titrated to pH 3 by slow dropwise addition of 2 N HCl. EA was added thereto so that the precipitate in an organic layer was extracted. Then, the organic layer was dried over a saturated saline solution and sodium sulfate, and used in the next reaction without any purification (crude yield: 5.6 g, 98%). TLC (DCM:MeOH = 10:1, one drop of formic acid); Rf = 0.1.

Synthesis of Compound 10

50 mL of 10% piperidine in N,N-dimethylformamide (DMF) was added dropwise to 2.84 g (5.72 mmol, 1.0 eq.) of Compound 9, and stirred. After 4 hours, the resulting mixture was concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution, and the residue was dissolved in water, and filtered under reduced pressure to remove the formed floating matter. An aqueous layer was concentrated to obtain a target compound, which was used in the next reaction without any purification. TLC (DCM:MeOH = 10:1); Rf = 0.01.

Synthesis of Compound 11

54 mg (0.22 mmol, 1.0 eq.) of Compound 10 was dissolved in 2 mL of DMF, and 0.05 mL (0.264 mmol, 1.2 eq.) of N,N-diisopropylethylamine (DIPEA) was added dropwise thereto. Compound 10 was completely dissolved by adding 2 mL of water, and 0.05 mL (0.528 mmol, 2.4 eq.) of an acetic anhydride was added dropwise thereto at room temperature. After 3 hours, the resulting mixture was concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution, and the concentrate was purified by reversed-phase column chromatography to obtain a target compound. TLC (DCM:MeOH = 10:1); Rf = 0.05.

Synthesis of Compound 12

1 g (3.16 mmol, 1.0 eq.) of Compound 11 was dissolved in 30 mL of a 2:1 mixed solution of DCM and methanol, and 868 mg (3.48 mmol, 1.1 eq.) of N-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline (EEDQ) was added thereto and stirred. 451 mg (3.66 mmol, 1.16 eq.) of 4-aminobenzyl alcohol was added thereto and stirred for 5 hours. The resulting mixture was concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution, and the concentrate was purified by column chromatography (10% MeOH in DCM) to obtain 419 mg of a target compound (yield: 32%). TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.1.

Synthesis of Compound DD2

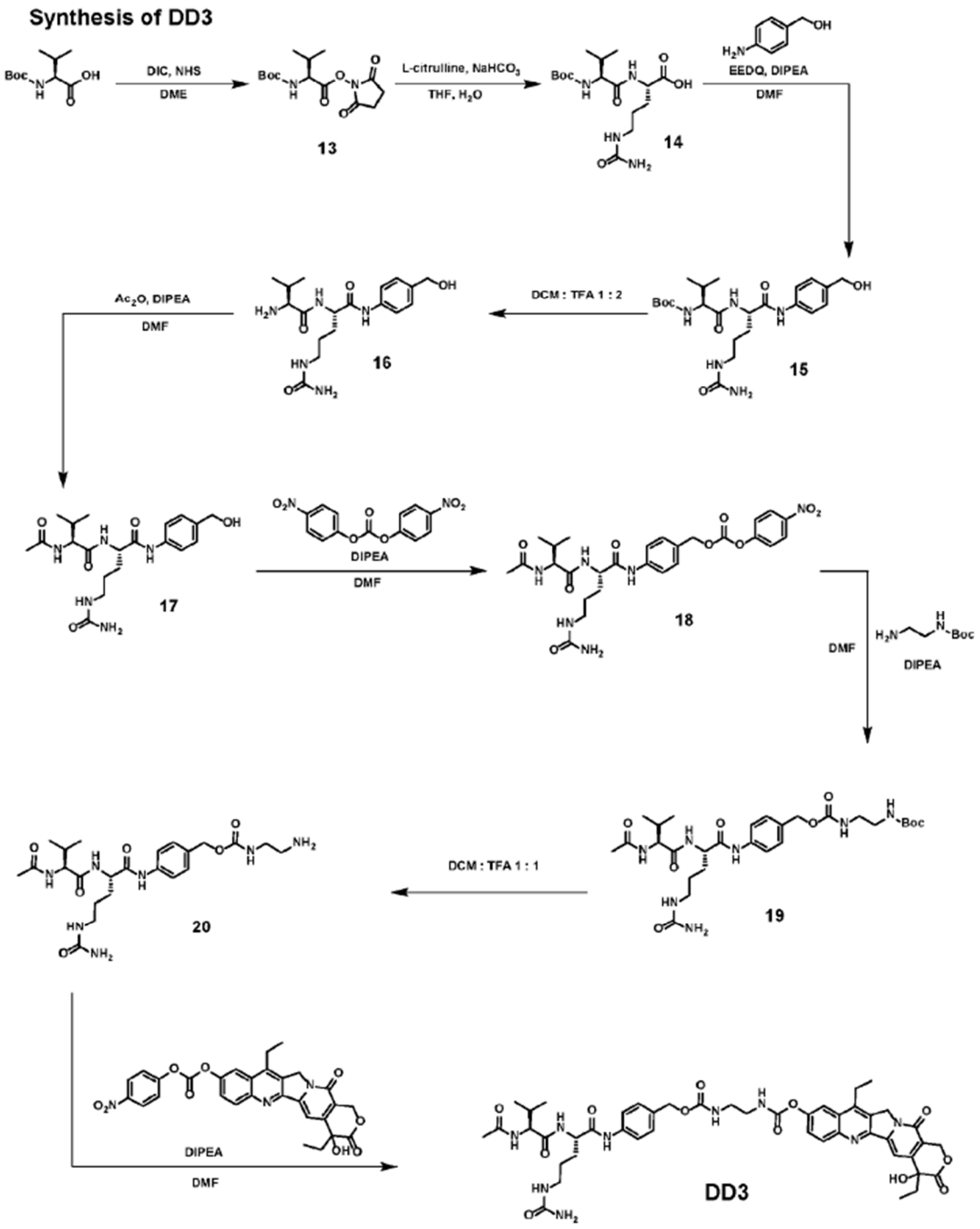
109 mg (0.3 mmol, 1.2 eq.) of phenol-activated SN38 and 0.06 mL (0.33 mmol, 1.3 eq.) of DIPEA were added dropwise to a solution obtained by dissolving 105 mg (0.25 mmol, 1.0 eq.) of Compound 12 in 10 mL of DMF. The resulting mixture was stirred for 20 hours, and then concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution. The concentrate was purified by column chromatography (10% MeOH in DCM) to obtain a target compound. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.2.

Example 3-1-2: Confirmation of structure of VC linker (DD2)

LRMS (ESI): m/z 840.4 [M+H$^+$]

The results are shown in FIG. 13 (FIG. 13).

Example 3-2. Synthesis and confirmation of structure of VC Linker (DD3)



Example 3-2-1: Synthesis of VC Linker (DD3)

Synthesis of Compound 13

5 g (14.7 mmol, 1.0 eq.) of Fmoc-Val-OH and 1.7 g (14.7 mmol, 1.0 eq.) of N-hydroxysuccinimide (NHS) were dissolved in 140 mL of dimethoxyethane (DME) and stirred. 2.5 mL (16.2 mmol, 1.1 eq.) of N,N'-diisopropylcarbodiimide (DIC) was added dropwise at 0°C, and stirred for 16 hours. The reaction solution was filtered under reduced pressure to remove floating matter, and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in acetone and stored at a low temperature for 4 hours in a refrigerator. Thereafter, the resulting solution was filtered under reduced pressure to remove the re-formed floating matter, and used in the next reaction without any purification (crude yield: 5.5 g, 86%). TLC (EA:Hex = 1:1); Rf = 0.5.

Synthesis of Compound 14

2.0 g (11.5 mmol, 1.0 eq.) of L-citrulline was dissolved in 100 mL of a 1:1 mixed solution of tetrahydrofuran (THF) and water and stirred. 988 mg of sodium hydrogen carbonate was added thereto and stirred. Thereafter, 5.0 g (11.5 mmol, 1.0 eq.) of Compound 13 was dissolved in 80 mL of acetone, added dropwise to the reaction solution, and then stirred. The resulting mixture was stirred for 21 hours, and then concentrated under reduced pressure to remove the organic solvent. An aqueous layer was washed with ethyl acetate (EA), and then titrated to pH 3 by dropwise addition of 2 N HCl. EA was added thereto so that the precipitate in an organic layer was extracted. Then, the organic layer was dried over a saturated saline solution and sodium sulfate, and used in the next reaction without any purification (crude yield: 5.6 g, 98%). TLC (DCM:MeOH = 10:1, one drop of formic acid); Rf = 0.1.

Synthesis of Compound 15

50 mL of 10% piperidine in N,N-dimethylformamide (DMF) was added dropwise to 2.84 g (5.72 mmol, 1.0 eq.) of Compound 14, and stirred. After 4 hours, the resulting mixture was concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution, and the residue was dissolved in water, and filtered under reduced pressure to remove the formed floating matter. An aqueous layer was concentrated to obtain a target compound, which was used in the next reaction without any purification. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.01.

Synthesis of Compound 16

54 mg (0.22 mmol, 1.0 eq.) of Compound 15 was dissolved in 2 mL of DMF, and 0.05 mL (0.264 mmol, 1.2 eq.) of N,N-diisopropylethylamine (DIPEA) was added dropwise thereto. Compound 15 was completely dissolved by adding 2 mL of water, and 0.05 mL (0.528 mmol, 2.4 eq.) of an acetic anhydride was added dropwise thereto at room temperature. After 3 hours, the resulting mixture was concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution, and the concentrate was purified by reversed-phase column chromatography to obtain a target compound. TLC (DCM:MeOH = 10:1); Rf = 0.05.

Synthesis of Compound 17

1 g (3.16 mmol, 1.0 eq.) of Compound 16 was dissolved in 30 mL of a 2:1 mixed solution of DCM and methanol, and 868 mg (3.48 mmol, 1.1 eq.) of N-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline (EEDQ) was added thereto and stirred. 451 mg (3.66 mmol, 1.16 eq.) of 4-

aminobenzyl alcohol was added thereto and stirred for 5 hours. The resulting mixture was concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution, and the concentrate was purified by column chromatography (10% MeOH in DCM) to obtain 419 mg of a target compound (yield: 32%). TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.1.

Synthesis of Compound 18

240 mg (0.55 mmol, 1.0 eq.) of Compound 17 was dissolved in 10 mL of DMF, and 0.3 mL (1.65 mmol, 3.0 eq.) of DIPEA was added dropwise thereto and stirred. Thereafter, a reaction was carried out by adding 509 mg (1.65 mmol, 3.0 eq.) of bis-(4-aminophenyl) carbonate. After 3 hours, the resulting mixture was concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution, and diethyl ether was added thereto to precipitate a target compound, which was filtered under reduced pressure. The obtained target compound was used in the next reaction without any purification.

Synthesis of Compound 19

33 mg (0.06 mmol, 1.0 eq.) of Compound 18 was dissolved in 5 mL of DMF, and 16 mg (0.08 mmol, 1.3 eq.) of 1-[(tert-butoxycarbonyl)amino]-2-aminoethane and 0.02 mL (0.08 mmol, 1.3 eq.) of DIPEA were added dropwise thereto and stirred. The resulting mixture was stirred for 7 hours and then concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution, and diethyl ether was added thereto to precipitate a target compound, which was filtered under reduced pressure. The obtained target compound was used in the next reaction without any purification. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.1.

Synthesis of Compound 20

17 mg (0.03 mmol, 1.0 eq.) of Compound 19 was dissolved in 1 mL of DCM, and 1 mL of trifluoroacetic acid (TFA) was then added dropwise thereto at 0°C. A reaction was carried out by stirring the resulting mixture at 0°C for 30 minutes, followed by stirring at room temperature for 30 minutes. Thereafter, the mixture was concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution such as DCM, and this concentration was then repeated three times. The concentrated matter was dried under high vacuum and purified by reversed-phase column chromatography to obtain 13 mg of a target compound. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.01.

Synthesis of Compound DD3

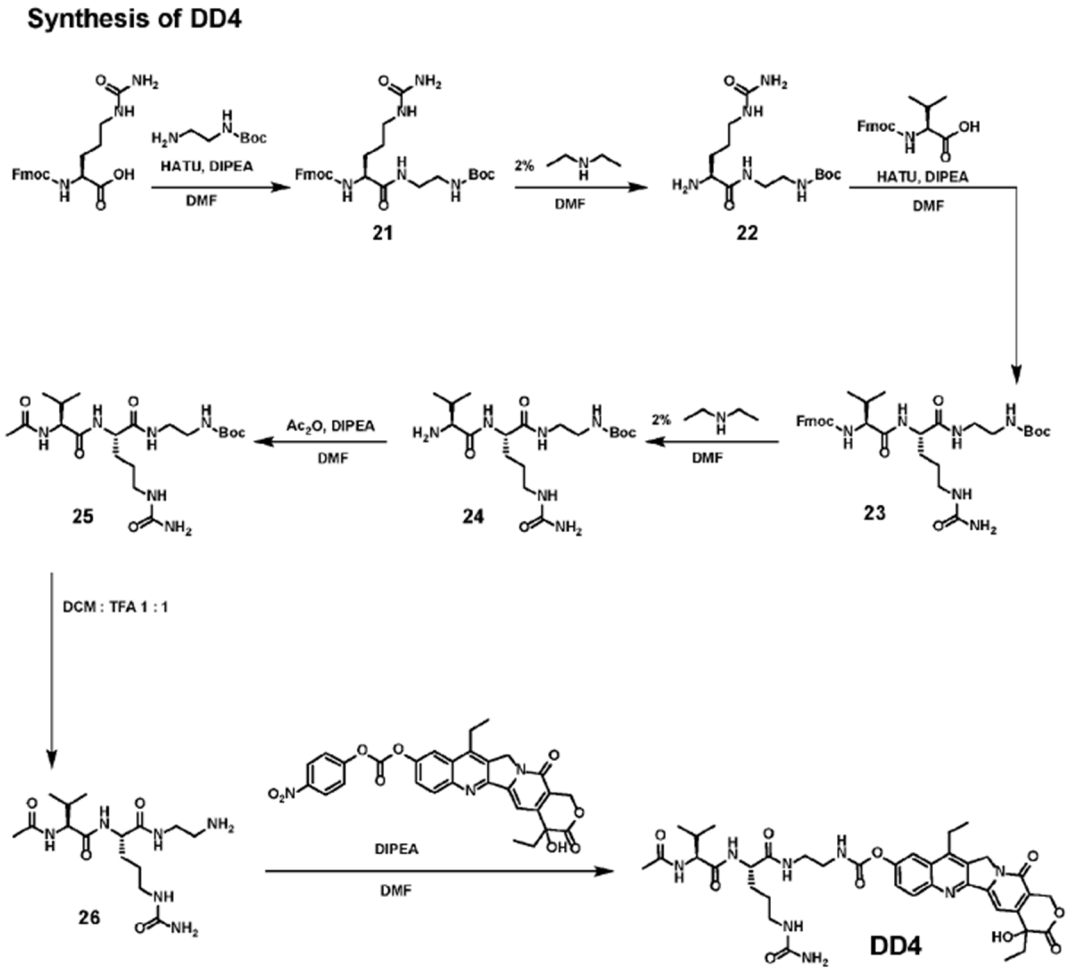
0.01 mL (0.04 mmol, 1.5 eq.) of DIPEA was added dropwise to a solution obtained by dissolving 13 mg (0.03 mmol, 1.0 eq.) of Compound 20 in 3 mL of DMF, and 22 mg (0.04 mmol, 1.5 eq.) of phenol-activated SN38 was added thereto. The resulting mixture was stirred for an hour, and then concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution. The concentrate was purified by column chromatography (10% MeOH in DCM) to obtain a target compound. TLC (DCM:MeOH = 10:1); Rf = 0.2.

Example 3-2-2: Confirmation of structure of VC linker (DD3)

LRMS (ESI): m/z 926.4 [$M+H^+$]

The results are shown in FIG. 14 (FIG. 14).

Example 3-3. Synthesis and confirmation of structure of VC Linker (DD4)



Example 3-3-1: Synthesis of VC Linker (DD4)

Synthesis of Compound 21

5 g (14.7 mmol, 1.0 eq.) of Fmoc-Val-OH and 1.7 g (14.7 mmol, 1.0 eq.) of N-hydroxysuccinimide (NHS) were dissolved in 140 mL of dimethoxyethane (DME) and stirred. 2.5 mL (16.2 mmol, 1.1 eq.) of N,N'-diisopropylcarbodiimide (DIC) was added dropwise at 0°C, and stirred for 16 hours. The reaction solution was filtered under reduced pressure to remove floating matter, and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in acetone and stored at a low temperature for 4 hours in a refrigerator. Thereafter, the resulting solution was filtered under reduced pressure to remove the re-formed floating matter, and used in the next reaction without any purification (crude yield: 5.5 g, 86%). TLC (EA:Hex = 1:1); Rf = 0.5.

Synthesis of Compound 22

2.0 g (11.5 mmol, 1.0 eq.) of L-citrulline was dissolved in 100 mL of a 1:1 mixed solution of tetrahydrofuran (THF) and water and stirred. 988 mg of sodium hydrogen carbonate was added thereto and stirred. Thereafter, 5.0 g of Compound 21 (11.5 mmol, 1.0 eq.) was dissolved in 80 mL of acetone, added dropwise to the reaction solution, and then stirred. The resulting mixture was stirred for 21 hours, and then concentrated under reduced pressure to remove the organic solvent. An aqueous layer was washed with ethyl acetate (EA), and then titrated to pH 3 by slow dropwise addition of 2 N HCl. EA was added thereto so that the precipitate in an organic layer was extracted. Then, the organic layer was dried over a saturated saline solution and sodium sulfate, and used in the next reaction without any purification (crude yield: 5.6 g, 98%). TLC (DCM:MeOH = 10:1, one drop of formic acid); R_f = 0.1.

Synthesis of Compound 23

50 mL of 10% piperidine in N,N-dimethylformamide (DMF) was added dropwise to 2.84 g (5.72 mmol, 1.0 eq.) of Compound 22 and stirred. After 4 hours, the resulting mixture was concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution, and the residue was dissolved in water, and filtered under reduced pressure to remove the formed floating matter. An aqueous layer was concentrated to obtain a target compound, which was used in the next reaction without any purification. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.01.

Synthesis of Compound 24

54 mg (0.22 mmol, 1.0 eq.) of Compound 23 was dissolved in 2 mL of DMF, and 0.05 mL (0.264 mmol, 1.2 eq.) of N,N-diisopropylethylamine (DIPEA) was added dropwise thereto. Compound 23 was completely dissolved by adding 2 mL of water, and 0.05 mL (0.528 mmol, 2.4 eq.) of an acetic anhydride was added dropwise thereto at room temperature. After 3 hours, the resulting mixture was concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution, and the concentrate was purified by reversed-phase column chromatography to obtain a target compound. TLC (DCM:MeOH = 10:1); Rf = 0.05.

Synthesis of Compound 25

300 mg (0.95 mmol, 1.0 eq.) of Compound 24 was dissolved in 6 mL of DMF, and 550 mg (1.43 mmol, 1.5 eq.) of 1-[bis(dimethylamino)methylene]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridinium 3-oxide hexafluorophosphate (HATU) was then added thereto. Thereafter, 0.25 mL (1.43 mmol, 1.5 eq.) of DIPEA was added dropwise, and 230 mg (1.43 mmol, 1.5 eq.) of 1-[(tert-butoxycarbonyl)amino]-2-aminoethane was dissolved in 3.5 mL of DMF, and added dropwise at room temperature. After 7 hours, the reaction solution was diluted with ethyl acetate (EA), and an organic layer was washed with a saturated sodium hydrogen carbonate solution. Then, the organic layer was dried over a saturated saline solution and sodium sulfate, and filtered to obtain a target compound. The obtained target compound was used in the next reaction without any purification. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.5.

Synthesis of Compound 26

Compound 25 was dissolved in a 2:1 mixed solution of DCM and TFA, and a reaction was then carried out at 0°C. Thereafter, the reaction mixture was concentrated under reduced

pressure to remove a reaction solution such as DCM, and this concentration was then repeated three times. The residue was dried under high vacuum and purified by reversed-phase column chromatography to obtain 370 mg of a target compound. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.01.

Synthesis of Compound DD4

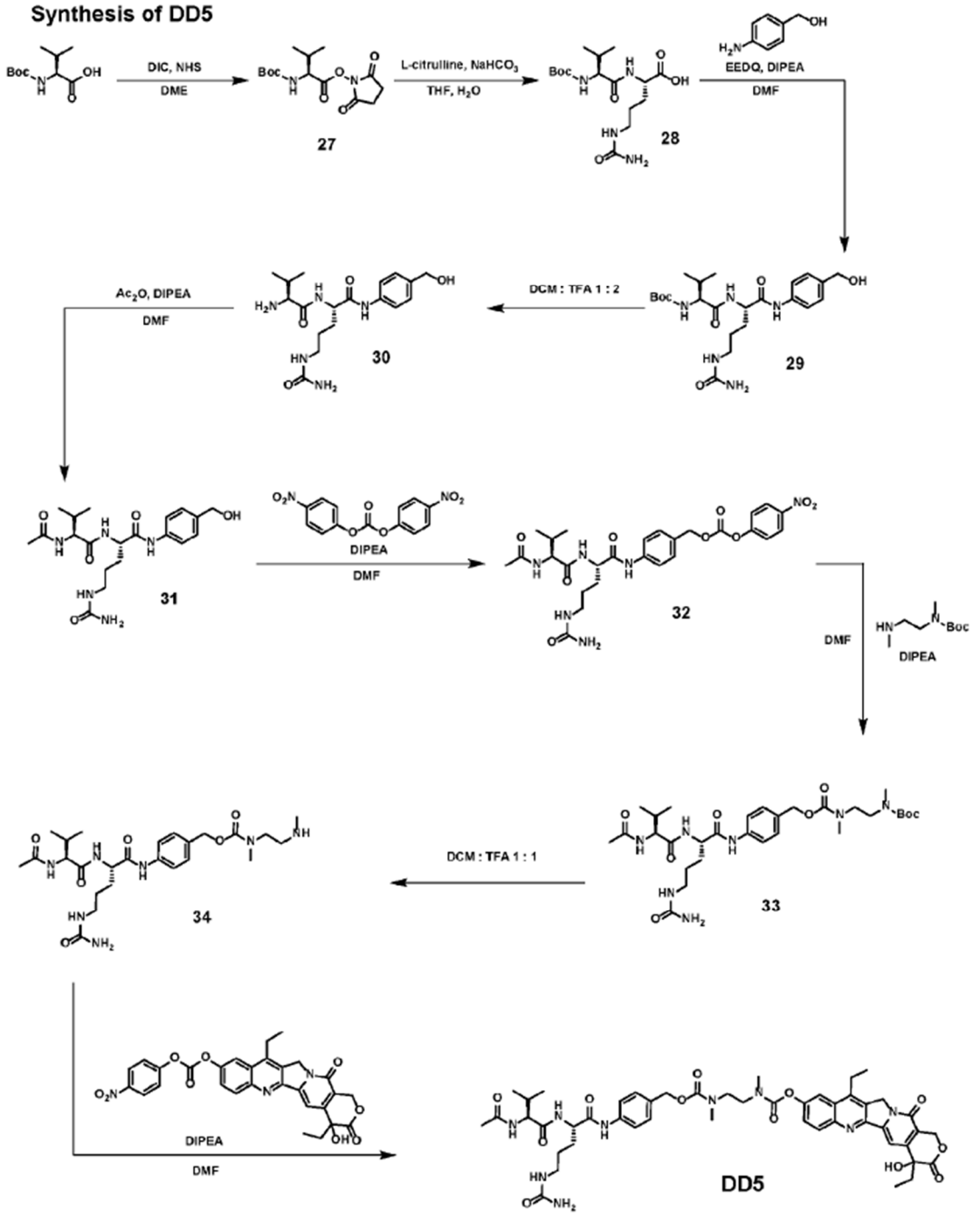
0.03 mL (0.17 mmol, 1.2 eq.) of DIPEA was added dropwise to a solution obtained by dissolving 50 mg (0.14 mmol, 1.0 eq.) of Compound 26 in 3 mL of DMF, and 107 mg (0.21 mmol, 1.5 eq.) of phenol-activated SN38 was added thereto. The resulting mixture was stirred for an hour, and then concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution. The concentrate was purified by column chromatography (10% MeOH in DCM) to obtain a target compound. TLC (DCM:MeOH = 10:1); Rf = 0.1.

Example 3-3-2: Confirmation of structure of VC linker (DD4)

LRMS (ESI): m/z 777.3 [$M+H^+$]

The results are shown in FIG. 15 (FIG. 15).

Example 3-4. Synthesis and confirmation of structure of VC Linker (DD5)



Example 3-4-1: Synthesis of VC Linker (DD5)

Synthesis of Compound 27

5 g (14.7 mmol, 1.0 eq.) of Fmoc-Val-OH and 1.7 g (14.7 mmol, 1.0 eq.) of N-hydroxysuccinimide (NHS) were dissolved in 140 mL of dimethoxyethane (DME) and stirred. 2.5 mL (16.2 mmol, 1.1 eq.) of N,N'-diisopropylcarbodiimide (DIC) was added dropwise at 0°C, and stirred for 16 hours. The reaction solution was filtered under reduced pressure to remove floating matter, and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue

was dissolved in acetone and stored at a low temperature for 4 hours in a refrigerator. Thereafter, the resulting solution was filtered under reduced pressure to remove the re-formed floating matter, and used in the next reaction without any purification (crude yield: 5.5 g, 86%). TLC (EA:Hex = 1:1); Rf = 0.5.

Synthesis of Compound 28

2.0 g (11.5 mmol, 1.0 eq.) of L-citrulline was dissolved in 100 mL of a 1:1 mixed solution of tetrahydrofuran (THF) and water and stirred. 988 mg of sodium hydrogen carbonate was added thereto and stirred. Thereafter, 5.0 g (11.5 mmol, 1.0 eq.) of Compound 27 was dissolved in 80 mL of acetone, added dropwise to the reaction solution, and then stirred. The resulting mixture was stirred for 21 hours, and then concentrated under reduced pressure to remove the organic solvent. An aqueous layer was washed with ethyl acetate (EA), and then titrated to pH 3 by slow dropwise addition of 2 N HCl. EA was added thereto so that the precipitate in an organic layer was extracted. Then, the organic layer was dried over a saturated saline solution and sodium sulfate, and used in the next reaction without any purification (crude yield: 5.6 g, 98%). TLC (DCM:MeOH = 10:1, one drop of formic acid); Rf = 0.1.

Synthesis of Compound 29

50 mL of 10% piperidine in N,N-dimethylformamide (DMF) was added dropwise to 2.84 g (5.72 mmol, 1.0 eq.) of Compound 28 and stirred. After 4 hours, the resulting mixture was concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution, and the residue was dissolved in water, and filtered under reduced pressure to remove the formed floating matter. An aqueous layer was concentrated to obtain a target compound, which was used in the next reaction without any purification. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.01.

Synthesis of Compound 30

54 mg (0.22 mmol, 1.0 eq.) of Compound 29 was dissolved in 2 mL of DMF, and 0.05 mL (0.264 mmol, 1.2 eq.) of N,N-diisopropylethylamine (DIPEA) was added dropwise thereto. Compound 29 was completely dissolved by adding 2 mL of water, and 0.05 mL (0.528 mmol, 2.4 eq.) of an acetic anhydride was added dropwise thereto at room temperature. After 3 hours, the resulting mixture was concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution, and the concentrate was purified by reversed-phase column chromatography to obtain a target compound. TLC (DCM:MeOH = 10:1); Rf = 0.05.

Synthesis of Compound 31

1 g (3.16 mmol, 1.0 eq.) of Compound 30 was dissolved in 30 mL of a 2:1 mixed solution of DCM and methanol, and 868 mg (3.48 mmol, 1.1 eq.) of N-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline (EEDQ) was added thereto and stirred. 451 mg (3.66 mmol, 1.16 eq.) of 4-aminobenzyl alcohol was added thereto and stirred for 5 hours. The resulting mixture was concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution, and the concentrate was purified by column chromatography (10% MeOH in DCM) to obtain 419 mg of a target compound (yield: 32%). TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.1.

Synthesis of Compound 32

240 mg (0.55 mmol, 1.0 eq.) of Compound 31 was dissolved in 10 mL of DMF, and 0.3 mL (1.65 mmol, 3.0 eq.) of DIPEA was added dropwise thereto, and stirred. Thereafter, a reaction was carried out by adding 509 mg (1.65 mmol, 3.0 eq.) of bis-(4-aminophenyl) carbonate. After 3 hours, the resulting mixture was concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution, and diethyl ether was added thereto to precipitate a target compound, which was filtered under reduced pressure. The obtained target compound was used in the next reaction without any purification.

Synthesis of Compound 33

33 mg (0.06 mmol, 1.0 eq.) of Compound 32 was dissolved in 5 mL of DMF, and 16 mg (0.08 mmol, 1.3 eq.) of N-[(tert-butoxy)carbonyl]-N,N'-dimethylethylenediamine and 0.02 mL (0.08 mmol, 1.3 eq.) of DIPEA were added dropwise thereto and stirred. The resulting mixture was stirred for 7 hours, and then concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution, and diethyl ether was added thereto to precipitate a target compound, which was filtered under reduced pressure. The obtained target compound was used in the next reaction without any purification. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.1.

Synthesis of Compound 34

17 mg (0.03 mmol, 1.0 eq.) of Compound 33 was dissolved in 1 mL of DCM, and 1 mL of trifluoroacetic acid (TFA) was then added dropwise thereto at 0°C. A reaction was carried out by stirring the resulting mixture at 0°C for 30 minutes, followed by stirring at room temperature for 30 minutes. Thereafter, the mixture was concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution such as DCM, and this concentration was then repeated three times. The concentrated matter was dried under high vacuum and purified by reversed-phase column chromatography to obtain 13 mg of a target compound. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.01.

Synthesis of Compound DD5

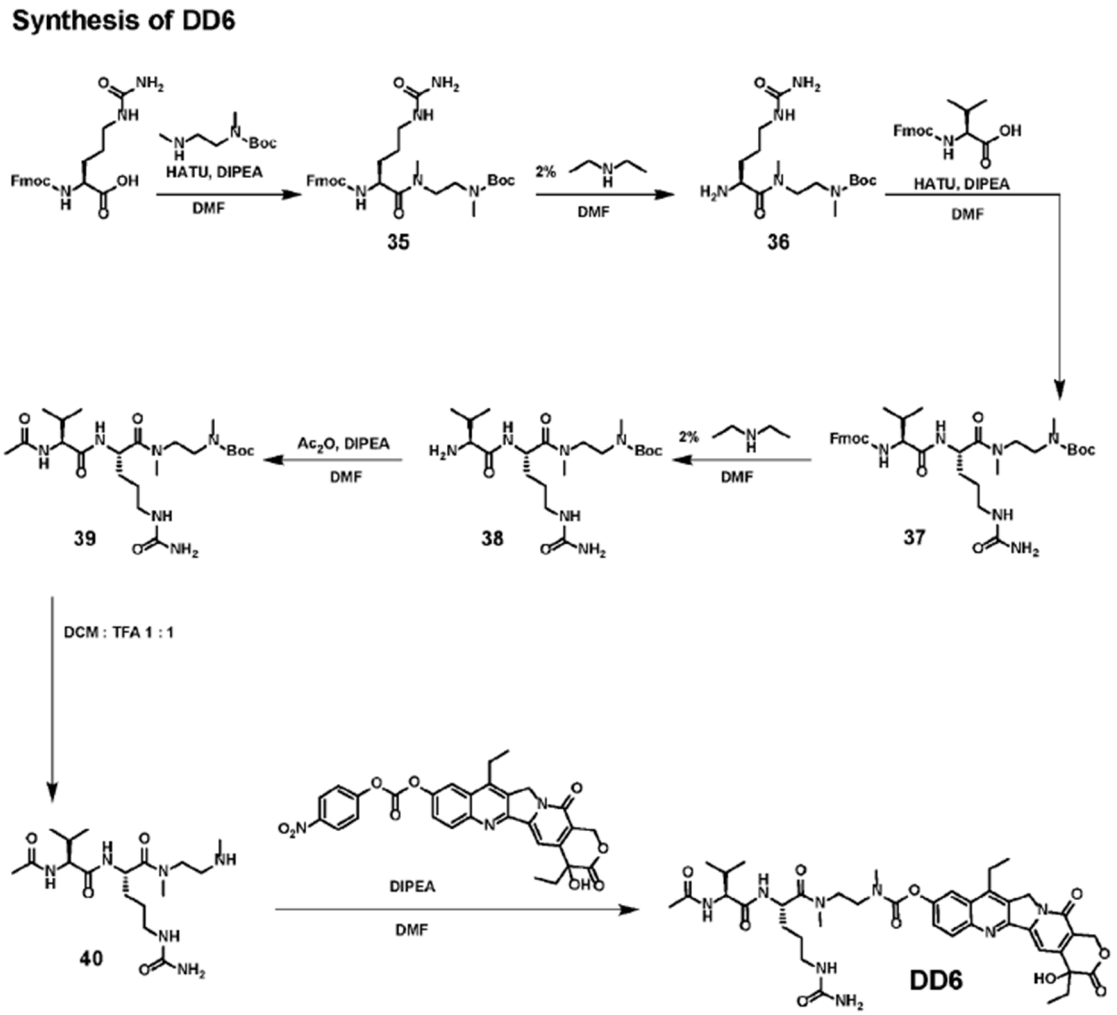
0.01 mL (0.04 mmol, 1.5 eq.) of DIPEA was added dropwise to a solution obtained by dissolving 13 mg (0.03 mmol, 1.0 eq.) of Compound 34 in 3 mL of DMF, and 22 mg (0.04 mmol, 1.5 eq.) of phenol-activated SN38 was added thereto. The resulting mixture was stirred for an hour, and then concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution. The concentrate was purified by column chromatography (10% MeOH in DCM) to obtain a target compound. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.2.

Example 3-4-2: Confirmation of structure of VC linker (DD5)

LRMS (ESI): m/z 954.4 [$M+H^+$]

The results are shown in FIG. 16 (FIG. 16).

Example 3-5. Synthesis and confirmation of structure of VC Linker (DD6)



Example 3-5-1: Synthesis of VC Linker (DD6)

Synthesis of Compound 35

5 g (14.7 mmol, 1.0 eq.) of Fmoc-Val-OH and 1.7 g (14.7 mmol, 1.0 eq.) of N-hydroxysuccinimide (NHS) were dissolved in 140 mL of dimethoxyethane (DME) and stirred. 2.5 mL (16.2 mmol, 1.1 eq.) of N,N'-diisopropylcarbodiimide (DIC) was added dropwise at 0°C, and stirred for 16 hours. The reaction solution was filtered under reduced pressure to remove floating matter, and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in acetone and stored at a low temperature for 4 hours in a refrigerator. Thereafter, the resulting solution was filtered under reduced pressure to remove the re-formed floating matter, and used in the next reaction without any purification (crude yield: 5.5 g, 86%). TLC (EA:Hex = 1:1); R_f = 0.5.

Synthesis of Compound 36

2.0 g (11.5 mmol, 1.0 eq.) of L-citrulline was dissolved in 100 mL of a 1:1 mixed solution of tetrahydrofuran (THF) and water and stirred. 988 mg of sodium hydrogen carbonate was added thereto and stirred. Thereafter, 5.0 g (11.5 mmol, 1.0 eq.) of Compound 35 was dissolved in 80 mL of acetone, added dropwise to the reaction solution, and then stirred. The

resulting mixture was stirred for 21 hours, and then concentrated under reduced pressure to remove the organic solvent. An aqueous layer was washed with ethyl acetate (EA), and then titrated to pH 3 by slow dropwise addition of 2 N HCl. EA was added thereto so that the precipitate in an organic layer was extracted. Then, the organic layer was dried over a saturated saline solution and sodium sulfate, and used in the next reaction without any purification (crude yield: 5.6 g, 98%). TLC (DCM:MeOH = 10:1, one drop of formic acid); R_f = 0.1.

Synthesis of Compound 37

50 mL of 10% piperidine in N,N-dimethylformamide (DMF) was added dropwise to 2.84 g (5.72 mmol, 1.0 eq.) of Compound 36 and stirred. After 4 hours, the resulting mixture was concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution, and the residue was dissolved in water, and filtered under reduced pressure to remove the formed floating matter. An aqueous layer was concentrated to obtain a target compound, which was used in the next reaction without any purification. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.01.

Synthesis of Compound 38

54 mg (0.22 mmol, 1.0 eq.) of Compound 37 was dissolved in 2 mL of DMF, and 0.05 mL (0.264 mmol, 1.2 eq.) of N,N-diisopropylethylamine (DIPEA) was added dropwise thereto. Compound 37 was completely dissolved by adding 2 mL of water, and 0.05 mL (0.528 mmol, 2.4 eq.) of an acetic anhydride was added dropwise thereto at room temperature. After 3 hours, the resulting mixture was concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution, and the concentrate was purified by reversed-phase column chromatography to obtain a target compound. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.05.

Synthesis of Compound 39

300 mg (0.95 mmol, 1.0 eq.) of Compound 38 was dissolved in 6 mL of DMF, and 550 mg (1.43 mmol, 1.5 eq.) of 1-[bis(dimethylamino)methylene]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridinium 3-oxide hexafluorophosphate (HATU) was then added thereto. Thereafter, 0.25 mL (1.43 mmol, 1.5 eq.) of DIPEA was added dropwise, and 230 mg (1.43 mmol, 1.5 eq.) of N-[(tert-butoxy)carbonyl]-N,N'-dimethylethylenediamine was dissolved in 3.5 mL of DMF, and added dropwise at room temperature. After 7 hours, the reaction solution was diluted with ethyl acetate (EA), and an organic layer was washed with a saturated sodium hydrogen carbonate solution. Then, the organic layer was dried over a saturated saline solution and sodium sulfate, and filtered to obtain a target compound. The obtained target compound was used in the next reaction without any purification. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.5.

Synthesis of Compound 40

Compound 39 was dissolved in a 2:1 mixed solution of DCM and TFA, and a reaction was then carried out at 0°C. Thereafter, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution such as DCM, and this concentration was then repeated three times. The residue was dried under high vacuum and purified by reversed-phase column chromatography to obtain 370 mg of a target compound. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.01.

Synthesis of Compound DD6

0.03 mL (0.17 mmol, 1.2 eq.) of DIPEA was added dropwise to a solution obtained by dissolving 50 mg (0.14 mmol, 1.0 eq.) of Compound 40 in 3 mL of DMF, and 107 mg (0.21 mmol, 1.5 eq.) of phenol-activated SN38 was added thereto. The resulting mixture was stirred for an hour, and then concentrated under reduced pressure to remove a reaction solution. The concentrate was purified by column chromatography (10% MeOH in DCM) to obtain a target compound. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.1.

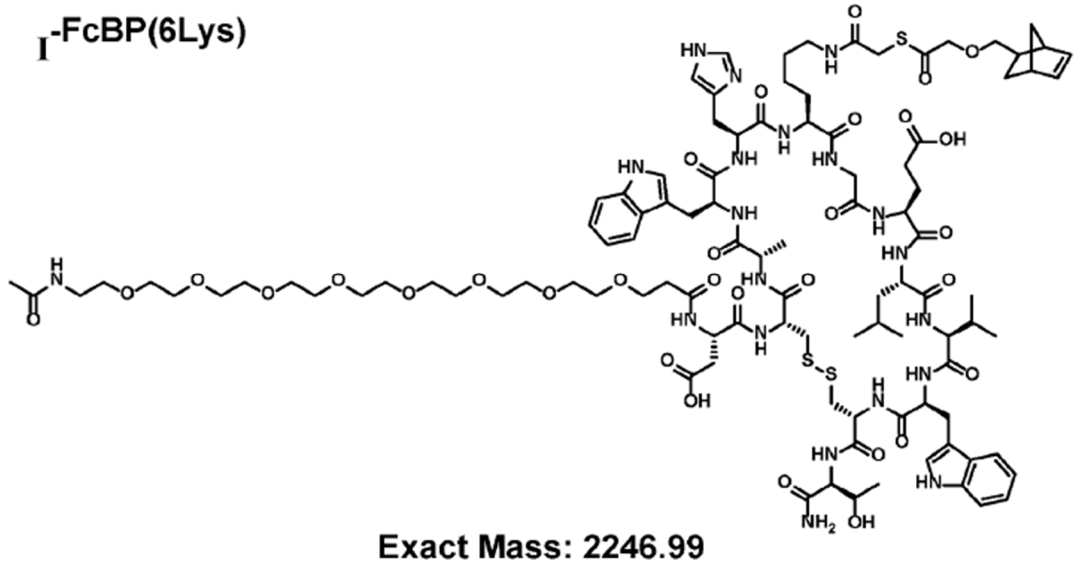
Example 3-5-2: Confirmation of structure of VC linker (DD6)

LRMS (ESI): m/z 805.5 [$M+H^+$]

The results are shown in FIG. 17 (FIG. 17).

[Example 4] Synthesis and confirmation of structure of compound-site-specific interactomes

Example 4-1: Compound I-FcBP(6Lys)



Example 4-1-1: Synthesis of Compound I-FcBP(6Lys)

Synthesis of Compound I-FcBP was carried out in DMF, and 2.2 equivalents of DIPEA and 0.003 mmol of SO1 were added to 1 mL of 0.0025 μM FcBP(6Lys) in DMF solution, and the mixture was poured into a reactor and stirred to introduce SO1 into FcBP(6Lys).

The introduction reaction was monitored by HPLC analysis, and if the reaction was not terminated, DIPEA was added in 1 eq increments until the termination of the reaction was observed.

After the termination of the reaction was confirmed, the reaction solution was concentrated,

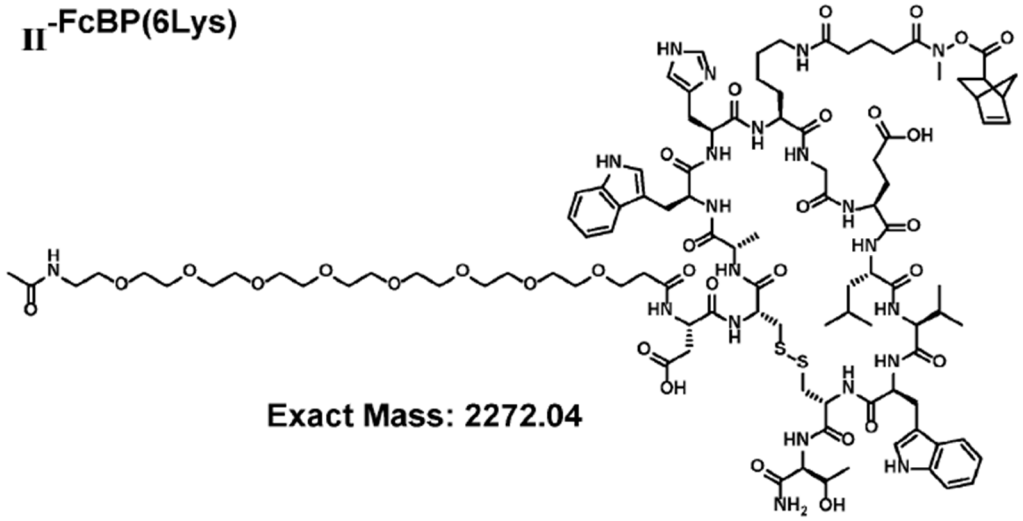
and purification of Compound I-FcBP by preparative-HPLC was attempted. After the purification, the Compound I-FcBP was freeze-dried to obtain a target compound, the amount of which was confirmed to be 3 mg (purity: 95% up (HPLC), yield: 56%).

Example 4-1-2: Confirmation of structure of Compound I-FcBP(6Lys)

LRMS (ESI): m/z 1124.9 [M+2H$^+$]

The results are shown in FIG. 18 (FIG. 18).

Example 4-2: Compound II-FcBP(6Lys)



Example 4-2-1: Synthesis of Compound II-FcBP(6Lys)

Synthesis of Compound II-FcBP was carried out in DMF, and 2.2 equivalents of DIPEA and 0.003 mmol of SO1 were added to 1 mL of 0.0025 μM FcBP(6Lys) in DMF solution, and the mixture was poured into a reactor and stirred to introduce SO1 into FcBP(6Lys).

The introduction reaction was monitored by HPLC analysis, and if the reaction was not terminated, DIPEA was added in 1 eq increments until the termination of the reaction was observed.

After the termination of the reaction was confirmed, the reaction solution was concentrated, and purification of Compound II-FcBP by preparative-HPLC was attempted. After the purification, the Compound II-FcBP was freeze-dried to obtain a target compound, the amount of which was confirmed to be 3 mg (purity: 95% up (HPLC), yield: 56%).

Example 4-2-2: Confirmation of structure of Compound II-FcBP(6Lys)

LRMS (ESI): m/z 1135.3 [M+2H$^+$]

The results are shown in FIG. 19 (FIG. 19).

[Example 5] Synthesis and confirmation of structure of antibody-click chemistry chemical

Example 5-1: Antibody-Norbornene

Example 5-1-1: Synthesis of Herceptin-Norbornene (1)

Introduction reaction using Compound I-FcBP

Ab(246/248 Lys)-norbornene was synthesized in a buffer using Compound I-FcBP. The buffer used was 5 mM histidine buffer (0.01% Tween 20) with pH 6.0, 6.5, or 7.0, and 0.1 M arginine buffer with pH 7.5 or 8.0 was used for the synthesis. To introduce norbornene into two sites of the antibody, 8 eq of Compound I-FcBP was used per Fc site (16 eq per antibody). The reaction took about 20 days at pH 6.0, 2 weeks at pH 6.5, 10 days at pH 7.0, 1 week at pH 7.5, and 4 days at pH 8.0. The introduction reaction was monitored by HPLC using an HIC column until termination of reaction was observed. Purification was performed through dialysis, with the target compound purified once using 0.1 M glycine buffer with pH 2.5 and three times using 5 mM histidine buffer (0.01 % Tween 20) with pH 6.0.

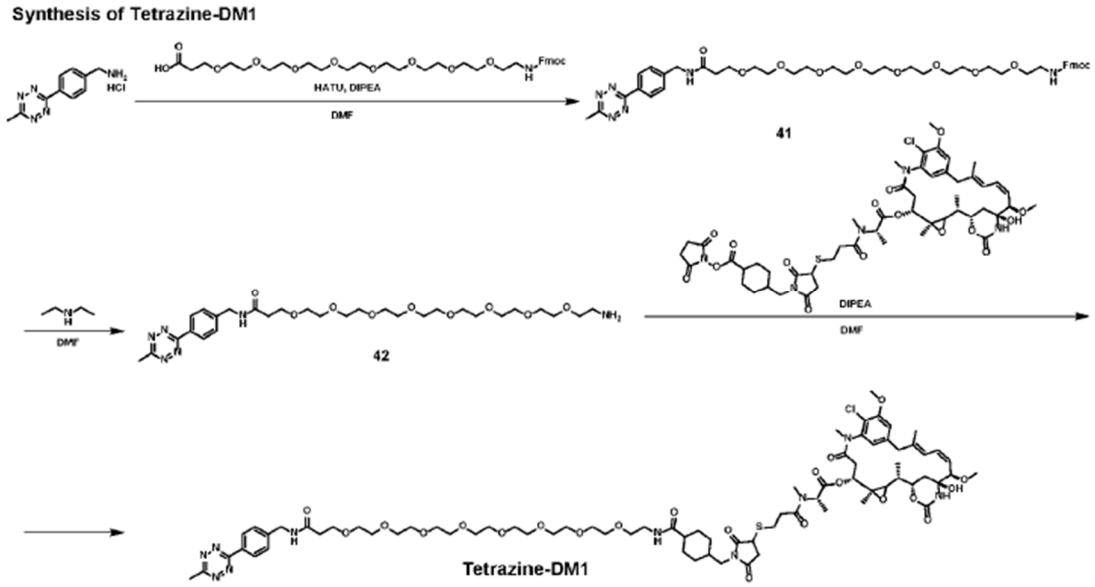
Example 5-1-2: Synthesis of Herceptin-Norbornene (2)

Introduction reaction using Compound II-FcBP

Ab(246/248 Lys)-norbornene was synthesized in a buffer using Compound II-FcBP. The buffer used was 5 mM histidine buffer (0.01% Tween 20) with pH 6.0, 6.5, or 7.0, and 0.1 M arginine buffer with pH 7.5 or 8.0 was used for the synthesis. To introduce norbornene into two sites of the antibody, 8 eq of Compound II-FcBP was used per Fc site (16 eq per antibody). The reaction took about 20 days at pH 6.0, 2 weeks at pH 6.5, 10 days at pH 7.0, 1 week at pH 7.5, and 4 days at pH 8.0. The reaction was monitored by HPLC using an HIC column until termination of reaction was observed. Purification was performed through dialysis, with the target compound purified once using 0.1 M glycine buffer with pH 2.5 and three times using 5 mM histidine buffer (0.01 % Tween 20) with pH 6.0.

[Example 6] Synthesis and confirmation of structure of click chemistry chemical-payload

Example 6-1: Tetrazine-DM1



Example 6-1-1: Synthesis of tetrazine-DM1

Synthesis of Compound 41

0.53 g (0.8 mmol, 1.0 eq.) of Fmoc-PEG_8-OH was dissolved in 7 mL of DMF, and then stirred. Thereafter, 0.38 g (1.0 mmol, 1.25 eq.) of HATU and 0.3 mL (1.7 mmol, 2.1 eq.) of DIPEA were added dropwise thereto. 0.205 g (0.86 mmol, 1.1 eq.) of methyltetrazine-amine·HCl was added dropwise, and 0.3 mL (1.7 mmol, 2.1 eq.) of DIPEA was added dropwise thereto. The resulting mixture was stirred for 4 hours, and then concentrated under reduced pressure to remove the solvent. The mixture was purified by column chromatography (5% MeOH in DCM) to obtain a target compound. TLC (DCM:MeOH = 20:1); R_f = 0.3.

Synthesis of Compound 42

0.527 g (0.62 mmol, 1.0 eq.) of Compound 41 was dissolved in 6 mL of DMF, and 0.3 mL of diethylamine was added dropwise thereto. The resulting mixture was stirred for 2.5 hours, and then concentrated under reduced pressure to remove the solvent. The mixture was purified by column chromatography (DCM:MeOH:NH_4OH= 80:25:2.5) to obtain a target compound, the amount of which was confirmed to be 0.273 g (yield: 70%). TLC (DCM:MeOH:NH_4OH = 80:25:2.5); R_f = 0.1.

Synthesis of tetrazine-DM1

0.355 g (0.57 mmol, 1.5 eq.) of Compound 42 was dissolved in 25 mL of DMF, and then stirred. 0.405 g (0.38 mmol, 1.0 eq.) of DM1-SMCC-NHS was added thereto, and DIPEA was added dropwise until the pH of the mixture reached pH 9.0. Thereafter, the mixture was stirred for 2 hours. The reaction solution was concentrated under reduced pressure, and then purified by column chromatography (10% MeOH in DCM) to obtain a target compound, the amount of which was confirmed to be 0.434 g (yield: 73%). TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.5.

Example 6-1-2: Confirmation of structure of tetrazine-DM1

LRMS (ESI): m/z 782.6 [$M+2H^+$]

The results are shown in FIG. 20 (FIG. 20).

[Example 7] Synthesis and confirmation of structure of antibody-click chemistry chemical pair-payload

Example 7-1: Antibody-Norene-Tetrazine-DM1

Example 7-1-1: Synthesis of Herceptin-Norene-Tetrazine-DM1 (1)

Introduction of tetrazine-payload into Ab-norbornene using Compound I-FcBP

Ab-norbornene-tetrazine-payload was synthesized in a buffer using Compound I-Ab-norbornene (Compound I-FcBP). The buffer used was 5 mM histidine buffer (0.01% Tween 20) with pH 6.0. To introduce tetrazine-payload into two sites of the antibody, 20 eq of tetrazine-payload was used per Fc site (40 eq per antibody). The reaction took about 1 day. The introduction reaction was monitored by HPLC using an HIC column until termination of reaction was observed. Purification was performed through dialysis, with the target compound purified once using 0.1 M glycine buffer with pH 2.5 and three times using 5 mM histidine buffer (0.01 % Tween 20) with pH 6.0.

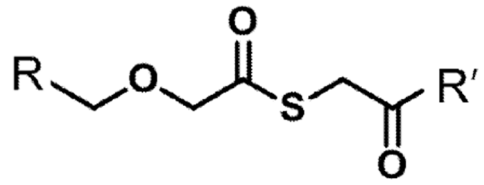
Example 7-1-2: Synthesis of Herceptin-Norene-Tetrazine-DM1 (2)

Introduction of tetrazine-payload into Ab-norbornene using Compound II-FcBP

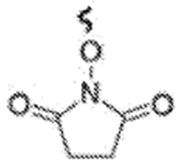
Ab-norbornene-tetrazine-payload was synthesized in a buffer using Compound II-Ab-norbornene (Compound II-FcBP). The buffer used was 5 mM histidine buffer (0.01% Tween 20) with pH 6.0. To introduce tetrazine-payload into two sites of the antibody, 20 eq of tetrazine-payload was used per Fc site (40 eq per antibody). The reaction took about 1 day. The introduction reaction was monitored by HPLC using an HIC column until termination of reaction was observed. Purification was performed through dialysis, with the target compound purified once using 0.1 M glycine buffer with pH 2.5 and three times using 5 mM histidine buffer (0.01 % Tween 20) with pH 6.0.

[Claims]

1. A compound of Formula 5:
[Formula 5]



wherein,
R is either of a click chemistry chemical and a payload, and
R' is either of N-hydroxysuccinimide (NHS) of Formula 2 and maleimide of Formula 3.
[Formula 2]

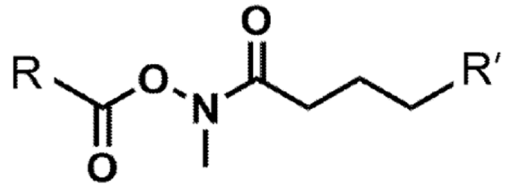


[Formula 3]

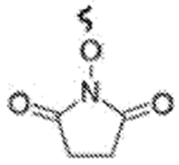


2. A compound of claim 1, wherein
R is norbornene, and
R' is NHS.

3. A compound of Formula 11:
[Formula 11]



wherein,
R is either of a click chemistry chemical and a payload, and
R' is either of N-hydroxysuccinimide (NHS) of Formula 2 and maleimide of Formula 3.
[Formula 2]



[Formula 3]



4. A compound of claim 3, wherein
R is norbornene, and
R' is NHS.

5. A peptide:

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**K**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(W)-(C)-(X_{13}) (SEQ ID NO. 1)

wherein,
X_1 is any amino acid,
X_{13} is any amino acid,
C is cysteine (Cys; C),
A is alanine (Ala; A),
W is tryptophan (Trp; W),
H is histidine (His; H),
K is lysine (Lys; K),
G is glycine (Gly; G),
E is glutamic acid (Glu; E),
L is leucine (Leu; L), and
V is valine (Val; V).

6. A peptide:

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**K**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(Np)-(C)-(X_{13}) (SEQ ID NO. 2)

wherein,
X_1 is any amino acid,
X_{13} is any amino acid,
C is cysteine (Cys; C),
A is alanine (Ala; A),
W is tryptophan (Trp; W),
H is histidine (His; H),
K is lysine (Lys; K),
G is glycine (Gly; G),
E is glutamic acid (Glu; E),
L is leucine (Leu; L),
V is valine (Val; V), and
Np is naphthylalanine.

7. A peptide:

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**Orn**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(W)-(C)-(X_{13}) (SEQ ID NO. 4)

wherein,

X_1 is any amino acid,
X_{13} is any amino acid,
C is cysteine (Cys; C),
A is alanine (Ala; A),
W is tryptophan (Trp; W),
H is histidine (His; H),
Orn is ornithine,
G is glycine (Gly; G),
E is glutamic acid (Glu; E),
L is leucine (Leu; L), and
V is valine (Val; V).

8. A peptide:

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**Orn**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(Np)-(C)-(X_{13}) (SEQ ID NO. 5)

wherein,

X_1 is any amino acid,
X_{13} is any amino acid,
C is cysteine (Cys; C),
A is alanine (Ala; A),
W is tryptophan (Trp; W),
H is histidine (His; H),
Orn is ornithine,
G is glycine (Gly; G),
E is glutamic acid (Glu; E),
L is leucine (Leu; L),
V is valine (Val; V) and
Np is naphthylalanine.

9. A peptide:

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**β-AA**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(W)-(C)-(X_{13}) (SEQ ID NO. 7)

wherein,

X_1 is any amino acid,
X_{13} is any amino acid,
C is cysteine (Cys; C),
A is alanine (Ala; A),
W is tryptophan (Trp; W),
H is histidine (His; H),
β-AA is β-aminoalanine,
G is glycine (Gly; G),
E is glutamic acid (Glu; E),
L is leucine (Leu; L), and

V is valine (Val; V).

10. A peptide:

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**β-AA**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(Np)-(C)-(X_{13}) (SEQ ID NO. 8)

wherein,
X_1 is any amino acid,
X_{13} is any amino acid,
C is cysteine (Cys; C),
A is alanine (Ala; A),
W is tryptophan (Trp; W),
H is histidine (His; H),
β-AA is β-aminoalanine,
G is glycine (Gly; G),
E is glutamic acid (Glu; E),
L is leucine (Leu; L),
V is valine (Val; V) and
Np is naphthylalanine.

11. A peptide:

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**HC**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(W)-(C)-(X_{13}) (SEQ ID NO. 10)

wherein,
X_1 is any amino acid,
X_{13} is any amino acid,
C is cysteine (Cys; C),
A is alanine (Ala; A),
W is tryptophan (Trp; W),
H is histidine (His; H),
HC is homocysteine (HC),
G is glycine (Gly; G),
E is glutamic acid (Glu; E),
L is leucine (Leu; L), and
V is valine (Val; V).

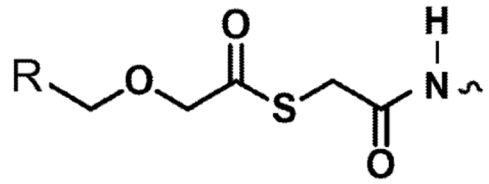
12. A peptide:

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**HC**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(Np)-(C)-(X_{13}) (SEQ ID NO. 11)

wherein,
X_1 is any amino acid,
X_{13} is any amino acid,
C is cysteine (Cys; C),
A is alanine (Ala; A),
W is tryptophan (Trp; W),
H is histidine (His; H),

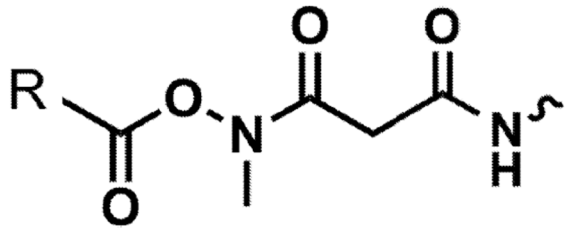
HC is homocysteine (HC),
G is glycine (Gly; G),
E is glutamic acid (Glu; E),
L is leucine (Leu; L),
V is valine (Val; V), and
Np is naphthylalanine.

14. A compound of Formula 21:
[Formula 21]



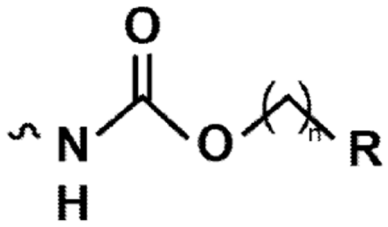
wherein,
R is either of a click chemistry chemical and a payload, and
NH is either of a peptide according to claim 5 and a peptide according to claim 6.

15. A compound of Formula 25:
[Formula 25]



wherein,
R is either of a click chemistry chemical and a payload, and
NH is either of a peptide according to claim 5 and a peptide according to claim 6.

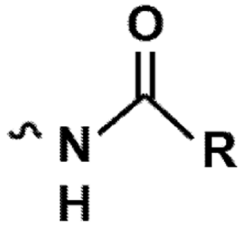
16. A CH2 domain proteome of an antibody having the structure of Formula 41:
[Formula 41]



wherein,
the antibody is IgG;
wherein the CH2 domain proteome of an antibody comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain; and
an alkyl ester connected to the amine group,
wherein,
the carbonyl carbon of the alkyl ester is bonded to the amine group,
the alkyl ester comprises R; and

wherein the amine group is provided by Lys 248 or Lys 248 included in the CH2 domain;
wherein residues in the CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region; and
wherein in Formula 41,
n is a natural number, and
R is either of a click chemistry chemical and a payload.

17. A CH2 domain proteome of an antibody having the structure of Formula 42:
[Formula 42]



wherein,
the antibody is IgG;
wherein the CH2 domain proteome of an antibody comprises:
an amine group derived from an amino acid residue included in the CH2 domain;
R; and
a ketone group connecting R and the amine group,
wherein,
the amine group is provided by Lys 246 or Lys 248 included in the CH2 domain;
wherein residues in the CH2 domain are numbered according to the EU index of Kabat for residues in an Fc region; and
wherein in Formula 42, R is either of a click chemistry chemical and a payload.

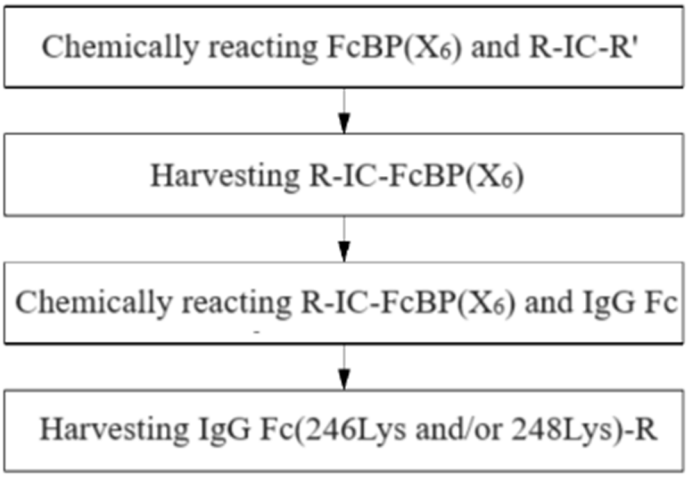
18. The CH2 domain proteome of an antibody of claim 16 or 17, wherein R is norbornene.

19. The CH2 domain proteome of an antibody of claim 16 or 17, wherein the CH2 domain proteome of an antibody is included in any one or more of an antibody, an antibody variant and a fusion protein.

[Figures]

FIGs. 1-20 (*omitted*)

FIG. 21



FIGs. 22-70 (*omitted*)

Exhibit B

【발명의 명칭】

A compound for antibody-drug conjugate, antibody-drug conjugate and the manufacturing method thereof.

【발명의 상세한 설명】

용어 "항체" 및 "면역글로불린"은 2개의 동일한 경쇄(Light Chain) 및 2개의 동일한 중쇄 (Heavy Chain)로 구성된, 약 150,000 달톤의 이종사량체성 당단백질을 의미할 수 있다. 각각의 경쇄는 1개의 이황화 결합(Disulfide Bond)에 의해 중쇄에 연결되고, 상기 이황화 결합의 연결 개수는 여러 면역글로불린 이소타입(Isotype)의 중쇄들 간에 상이할 수 있다. 또한 각각의 중쇄 및 경쇄는 규칙적인 간격의 사슬내 이황화 다리를 포함할 수 있다. 각각의 중쇄는 다수의 불변 도메인이 이어지는 가변 도메인 (Heavy Chain Variable Domain; VH)을 한쪽 말단에 포함할 수 있다. 각각의 경쇄는 한쪽 말단에 가변 도메인 (Light Chain Variable Domain; VL)을 갖고 다른쪽 말단에 불변 도메인을 포함할 수 있다. 경쇄의 불변 도메인은 중쇄의 첫번째 불변 도메인과 정렬되고, 경쇄 가변 도메인은 중쇄의 가변 도메인과 정렬될 수 있다.

용어 "가변부"는 프레임워크영역(Framework Region; FR) 및 CDR 영역 (complementarity determining region; 상보성 결정부; 초가변 영역; hypervariable region; HVR)을 포함할 수 있다. 상기 가변부 도메인은 항체 간 서열이 상이할 수 있다. 상기 가변부 도메인은 각각의 특정 항체의 특정 항원에 대한 결합 및 특이성에서 사용될 수 있다. 그러나, 가변성은 항체의 가변 도메인 전반에 걸쳐 고르게 분포되지 않다. 이는 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 모두에서 초가변 영역으로 칭해지는 3개의 절편에 집중된다. 가변 도메인의 더욱 고도로 보존된 부분은 프레임워크 영역 (FR)으로 칭해진다. 중쇄 및 경쇄 각각의 가변 도메인은 3개의 초가변 영역에 의해 연결된, β-시트 형상을 주로 채택한 4개의 FR (각각 FR1, FR2, FR3 및 FR4)을 포함하고, 상기 초가변 영역은 β-시트 구조를 연결하고 일부 경우에는 β-시트 구조의 일부를 형성하는 루프를 형성한다. 각각의 사슬내의 초가변 영역은 FR에 의해 매우 근접하게 함께 유지되고, 다른 사슬로부터의 초가변 영역들과 함께 항체의 항원-결합 부위를 형성하는데 기여한다 ([Kabat, et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991), pp 647-669] 참조). 불변 도메인은 항체가 항원에 결합하는 것에 직접적으로 수반되지는 않지만, 항체-의존적 세포형 독성에서의 항체의 참여와 같은 다양한 이펙터 기능을 나타낸다. 또한 상기 불변 도메인은 FcRn에 대한 결합에 의하여 항체 재사용(Recycling) 경로에 이용되게 한다.

용어 "초가변 영역"은 항원 결합을 담당하는 항체의 아미노산 잔기를 지칭한다. 초가변 영역은 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"로부터의 아미노산 및/또는 "초가변 루프"로부터의 잔기를 포함한다. "프레임워크" 또는 "FR" 잔기는 본원에서 정의된 초가변 영역 잔기 이외의 가변 도메인 잔기이다.

임의의 척추동물 종으로부터의 항체 (면역글로불린)의 "경쇄"는 불변 도메인의 아미노산 서열을 기초로 하여, 카파 (κ) 및 람다 (λ)로 칭해지는 명백하게 상이한 2가지 유형 중의 하나로 지정될 수 있다.

중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라, 면역글로불린은 여러 클래스로 지정될 수 있다. 현재, 면역글로불린에는 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM의 주요 5개 클래스가 있고, 이들 중 몇몇은 서브클래스(subclass) (이소타입(isotype)), 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2로 추가로 분류될 수 있다. 상이한 클래스의 면역글로불린에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤로 칭해진다. 상이한 클래스의 면역글로불린의 서브유닛 구조 및 3차원 형상은 주지되어 있다.

용어 "항체 변형체(Antibody Variant)"는 원항체(Original Antibody) 서열에서의 하나 이상의 아미노산 잔기(들)의 부가, 결실 및/또는 치환에 의해 원항체 아미노산 서열과 아미노산 서열이 상이하고, 원항체의 하나 이상의 원하는 활성이 유지된 분자를 지칭한다. 상기 원하는 활성에는 항원에 특이적으로 결합하는 능력 및 항암 활성 능력이 포함될 수 있다.

통상적으로, 상기 항체 변형체의 아미노산 서열은 원항체 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인 서열과의 아미노산 서열 동일성이 50% 이상, 더욱 바람직하게는 65% 이상, 더욱 바람직하게는 75% 이상, 더욱 바람직하게는 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상일 것이다.

상기 항체 변형체는 Fab(antigen-binding fragment), F(ab')2, Monospecific Fab2, Bispecific Fab2, Trispecific Fab2, Monovalent Ig, scFv(single-chain variable fragment), Bispecific Diabody, scFv-Fc(single-chain variable fragment-fragment crystallizable), Minibody, IgNAR(immunoglobulin new antigen receptor), V-NAR(Variable-New Antigen Receptor), hcIgG(heavy chain Immunoglobulin G), 및 VhH(variable domain of heavy chain antibody) 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

용어 "융합 단백질(Fusion Protein)" 또는 융합 단백질체(Fusion Proteome)"은 원항체(Original

Antibody) 서열에서의 하나 이상의 아미노산 잔기(들)의 부가, 결실 및/또는 치환에 의해 원항체 아미노산 서열과 아미노산 서열이 상이하고, 원항체의 하나 이상의 원하는 활성이 유지된 분자를 지칭한다. 상기 원하는 활성에는 FcRn에 특이적으로 결합하는 능력이 포함될 수 있다.

통상적으로, 상기 융합 단백질 또는 융합 단백질체는 아미노산 서열은 원항체 중쇄 불변부 CH2 도메인 서열과의 아미노산 서열 동일성이 50% 이상, 더욱 바람직하게는 65% 이상, 더욱 바람직하게는 75% 이상, 더욱 바람직하게는 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상일 것이다. 상기 융합 단백질 또는 융합 단백질체는 아미노산 서열은 원항체 중쇄 불변부 CH2-CH3 도메인 서열과의 아미노산 서열 동일성이 50% 이상, 더욱 바람직하게는 65% 이상, 더욱 바람직하게는 75% 이상, 더욱 바람직하게는 80% 이상, 더욱 바람직하게는 85% 이상, 더욱 바람직하게는 90% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상일 것이다.

용어 "약학적으로 허용가능한 담체(Pharmaceutically acceptable carrier)"는 부형제, 희석제 또는 보조제를 포함하는 의미로 사용된다. 상기 담체는 예를 들면, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 소르비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리트리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알기네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 생리식염수, PBS와 같은 완충액, 메틸히드록시 벤조에이트, 프로필히드록시 벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트, 및 미네랄 오일로 이루어진 군으로부터 선택된 것일 수 있다. 상기 담체는 충진제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 풍미제, 유화제, 보존제, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

용어 "약학적으로 허용가능한 염(Pharmaceutically acceptable salt)"은 본 출원의 단백질체 및 화합물의 생물학적 유효성 및 성질이 유지되고, 생물학적으로 또는 다른 방식으로 바람직하지 않지 않은 염을 지칭한다. 많은 경우에, 본 발명의 단백질체제 및 화합물은 전하를 띠는 기, 예를 들어, 전하를 띠는 아미노 및/또는 카르복실기 또는 이와 유사한 기의 존재에 의해 산 및/또는 염기 염을 형성할 수 있다. 약학적으로 허용가능한 산 부가염은 무기 및 유기 산으로부터 제조될 수 있고, 약학적으로 허용가능한 염기 부가염은 무기 및 유기 염기로부터 제조될 수 있다.

용어 "치료"는 이롭거나 바람직한 임상적 결과를 수득하기 위한 접근을 의미한다. 본 발명의 목적을 위해서, 이롭거나 바람직한 임상적 결과는 비제한적으로, 증상의 완화, 질병 범위의 감소, 질병 상태의 안정화 (즉, 악화되지 않음), 질병 진행의 지연 또는 속도의 감소, 질병 상태의 개선 또는 일시적 완화 및 경감 (부분적이거나 전체적으로), 검출가능하거나 또는 검출되지 않거나의 여부를 포함한다. 상기 치료는 치료학적 치료 및 예방적 또는 예방조치 방법 모두를 가리킨다. 상기 치료

들은 예방되는 장애뿐만 아니라 이미 발생한 장애에 있어서 요구되는 치료를 포함한다. 질병을 "완화(Palliating)"하는 것은 치료를 하지 않은 경우와 비교하여, 질병 상태의 범위 및/또는 바람직하지 않은 임상적 징후가 감소되거나 및/또는 진행의 시간적 추이(time course)가 늦춰지거나 길어지는 것을 의미한다.

용어 "조합 요법"은 지시된 치료 효과를 달성하기 위해 2가지 이상의 상이한 요법을 제공하는 것을 수반하는 치료 계획을 지칭한다. 상기 조합 요법은 질환 유발 인자에 대해 반응성인 항체약물컨쥬게이트의 투여 및 하나 이상의 또다른 화학요법제의 투여를 수반할 수 있다. 별법적으로, 조합 요법은 항체약물컨쥬게이트의 투여와 함께 또다른 처치, 예컨대 방사선조사 요법 및/또는 수술의 전달을 수반할 수 있다. 또한, 조합 요법은 항체약물컨쥬게이트의 투여와 함께 하나 이상의 또다른 생물학적 작용제, 화학요법제 및 또다른 처치 예컨대 방사선조사 및/또는 수술을 수반할 수 있다. 2가지 이상의 상이한 활성 성분을 사용하는 조합 요법의 정황에서, 활성 성분은 동일한 조성물의 일부로서 또는 상이한 조성물로서 투여될 수 있는 것으로 이해된다. 별도의 조성물로서 투여되는 경우, 상이한 활성 성분들을 포함하는 조성물들은 동시에 또는 상이한 시간에, 동일한 경로 또는 상이한 경로에 의해, 동일한 투약 계획 또는 상이한 투약 계획을 사용하여 투여될 수 있고, 이들은 모두 특정 정황이 요구하는 바 및 주치의의 결정에 따른다.

용어 "단독요법"은 단일 용량으로 투여되든지 또는 경시적으로 수회의 용량으로 투여되든지, 1가지의 치료적으로 효과적인 화합물의 전달을 기초로 하는 처치 계획을 지칭한다.

"치료적 유효량" (또는 "유효량")은 대상 또는 환자에게 투여되는 경우 처치를 달성하는데 충분한 활성 성분, 예를 들어, 본 발명에 따른 작용제의 양을 지칭한다. 따라서, 본 발명에 따른 조성물의 치료적 유효량을 구성하는 것은 당업자에게 의해 용이하게 결정될 수 있다. 눈 요법의 문맥에서, "치료적 유효량"은 눈 질환 또는 용태와 상관된 하나 이상의 유전자의 발현에서의 증가 또는 감소, 세포자멸사 또는 기타 세포 사망 경로의 유도, 증상에서의 임상 개선, 비정상적인 혈관신생 또는 염증에서의 감소 등이 포함되는, 눈 질환 또는 용태의 처치와 관련된 하나 이상의 파라메터에서 객관적으로 측정된 변화를 일으키는 양이다. 물론, 치료적 유효량은 처치될 특정 대상 및 용태, 대상의 체중 및 연령, 질환 용태의 중증도, 선택된 특정 화합물, 이어지는 투약 계획, 투여 시간조정, 투여 방식 등에 따라 변할 것이고, 이들 모두는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 조합 요법의 상황에서, 특정 활성 성분의 치료적 유효량을 구성하는 것은 단독요법 (즉, 활성 성분으로서 하나의 화학 본체만을 사용하는 치료 계획)으로서 투여되는 활성 성분의 치료적 유효량을 구성하는 것과 다를 수 있다는 것이 이해될 것이다.

"대상" 또는 "환자"는 본 발명의 분자에 의해 달성될 수 있는 처치를 필요로 하는 동물을 지칭한다. 본 발명에 따라 처치될 수 있는 동물에는 척추동물이 포함되고, 포유동물 예컨대 소과, 개과, 말과, 고양이과, 양과, 돼지과 및 영장류 (인간 및 비-인간 영장류 포함) 동물이 특히 바람직한 예이다.

용어 "진단"은 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인하는 것을 의미한다.

용어 "약"이라는 것은 참조 양, 수준, 값, 수, 빈도, 퍼센트, 치수, 크기, 양, 중량 또는 길이에 대해 30, 25, 20, 25, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1% 정도로 변하는 양, 수준, 값, 수, 빈도, 퍼센트, 치수, 크기, 양, 중량 또는 길이를 의미한다.

이러한 용어들에 더하여, 필요한 경우 기타 용어들이 명세서 내의 다른 곳에서 정의된다. 본원에서 달리 명확하게 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 업계 용어들은 업계에서 인식하는 의미를 가질 것이다.

본 명세서를 통해, 문맥에서 달리 필요하지 않으면, "함유하다" 및 "포함하다"란 말은 제시된 단계 또는 원소, 또는 단계 또는 원소들의 군을 포함하나, 임의의 다른 단계 또는 원소, 또는 단계 또는 원소들의 군이 배제되지는 않음을 내포하는 것으로 이해하여야 한다.

종래, 항체는 항체 의약품으로 활용되었다. 나아가, 상기 항체에 페이로드를 부가한 항체약물컨쥬게이트가 신-항체 의약품으로 활용되었다. 항체약물컨쥬게이트 제조 방법은 항체 내의 무작위적 아미노산 잔기, 예를 들어 임의의 Lys 아미노산 잔기 또는 임의의 Cys 아미노산 잔기에 페이로드가 부가되는 1 세대 항체약물컨쥬게이트 제조 방법이 개발되었다. 다만, 이는 제조 공정에서 DAR (Drug-Antibody Ration) 조절이 어렵고, 특정 아미노산 잔기에 대한 반복 재현성 및/또는 균일성(homogeneity)이 낮은 점에서 문제되었다. 또한, 항체의 가변부, 특히 CDR 에 페이로드가 부가되어 항원-항체 특이성을 저해할 수 있는 점에서 문제되었다.

이후, 항체를 암호화하는 DNA 서열에 유전적 조작을 가하고, 이로부터 발현된 항체에 효소적 변형을 가하여 항체의 특정 아미노산 잔기에 페이로드를 부가하는 2세대 항체약물컨쥬게이트 제조 방법이 개발되었다. 다만, 이는 항체를 암호화하는 DNA 서열에 유전적 변형이 필요한 점에서 공정상 비효율을 발생시킨다.

또한, 항체 의약품의 특징에 의해, 질환마다 항체의 서열은 서로 다르다. 이로 인해, 타겟 질환에 대응되는 항체에 대하여, DNA 서열을 유전적 조작하여야 하기 때문에, 큰 비효율을 야기한다는 점에서 문제되었다.

다른 2세대 항체약물컨쥬게이트로서, 항체의 Fc 도메인에 결합된 당 사슬에 효소적 변형을 통하여, 항체의 특정 아미노산 잔기에 페이로드를 부가한 항체약물컨쥬게이트 제조 방법이 개발되었

다. 다만, 이는 단백질의 인식 및 기타 생리작용에 관여하는 당 사슬을 제거한다는 점에서 문제가 될 수 있다.

본 명세서에 개시된 내용에 따르면, 상기 문제점을 해결한 항체약물컨쥬게이트 제조 방법이 제공된다.

본 명세서에 개시된 항체약물컨쥬게이트 제조 방법에 따르면, 유전적 조작 및/또는 효소적 변형을 거치지 않고, 다양한 종류의 항체로부터 항체약물컨쥬게이트를 제조하는 방법이 제공된다.

본 명세서에 개시된 항체약물컨쥬게이트 제조 방법에 따르면, 항체의 당사슬을 제거하지 않고, 다양한 종류의 항체로부터 항체약물컨쥬게이트를 제조하는 방법이 제공된다.

본 명세서에 개시된 항체약물컨쥬게이트 제조 방법에 따르면, 다양한 종류의 페이로드를 다양한 종류의 항체에 부가한 항체약물컨쥬게이트 제조 방법이 제공된다.

본 명세서에 개시된 항제약물컨쥬게이트 제조 방법에 의하여 제조된 항체약물컨쥬게이트는 항체 내 특정 아미노산 잔기에 페이로드가 연결된다. 상기 특정 아미노산 자리에 연결된 페이로드는 반복 재현성 및/또는 균일성(homogeneity)이 있다.

본 명세서에 개시된 항체약물컨쥬게이트를 제조하기 위하여, 항체 불변부 도메인의 일 영역에 결합 친화성을 가지는 펩타이드(site specific interactome; SSI)가 이용된다. 상기 펩타이드는, 예를 들어, IgG 결합 펩타이드인 Fc-III (DeLano, WL et al., Science, 2000, 287, pp. 1279-1283)이다. 상기 Fc-III 는 IgG 이소타입 항체의 CH2-CH3 도메인의 일 영역에 결합 친화성을 가진다. 상기 CH2-CH3 도메인은 human IgG constant region CH2-CH3 segment 로부터 전사 및/또는 번역된 것이다.

Human IgG 의 Fc 도메인에 결합 친화성을 가지는 펩타이드(SSI)의 다양성은 공지되었다(예로, Elisabeth Squer-Eriksson et al, Structure, 15 March 1995, 3:265-278; DeLano, WL et al., Science, 2000, 287, pp. 1279-1283). 제 1 SSI 및 제 2 SSI 가 있다면, 상기 제 1 SSI 는 Human IgG Fc 도메인의 제 1 영역에 결합 친화성을 가질 수 있고, 제 2 SSI 는 Human IgG Fc 도메인의 제 2 영역에 결합 친화성을 가질 수 있다. 상기 Human IgG Fc 도메인의 제 1 영역 및 상기 Human IgG Fc 도메인의 제 2 영역은 같을 수 있다. 상기 Human IgG Fc 도메인의 제 1 영역 및 상기 Human IgG Fc 도메인의 제 2 영역은 일부 중첩되거나, 또는 상이할 수 있다.

특히, 이러한 Human IgG 의 Fc 도메인에 결합 친화성을 가지는 펩타이드(SSI) 중에, 본 출원에 개시된 내용에 의해 사용되는 SSI 는 상기 Fc-III 와 유사 서열을 가지는 FcBP 로서, Human IgG Fc

도메인의 CH2 도메인 및 CH3 도메인에 걸친 일 영역에 결합 친화성을 가진다. 이하, 본 출원에 개시된 내용에 의해 사용되는 FcBP 를 FcBP(Ⅰ) 로 명명한다.

상기 FcBP(Ⅰ)는 6 번째 아미노산 잔기에 아민기 또는 티올기를 가지는 아미노산을 포함한다. 상기 FcBP(Ⅰ)는 2 번째 및/또는 12 번째 아미노산 잔기에 포함된 티올기의 결합(sulfide bond)에 의하여 Cyclic peptide 구조를 가진다. 일 예로, 상기 FcBP(Ⅰ)는 6 번째 아미노산에 라이신(6 Lysine; 6K)을 포함하는 Cyclic peptide 이다(FIG. 37). 일 예로, 상기 FcBP(Ⅰ)는 2 번째 아미노산 및/또는 12 번째 아미노산에 시스테인(Cysteine; Cys; C)을 포함하는 Cyclic peptide 이다.

상기 FcBP(Ⅰ)는 IgG 이소타입 항체의 CH2-CH3 도메인의 일 영역에 결합 친화성을 가지며, 이 때, 상기 FcBP(Ⅰ)의 6K 는 Human IgG Fc 도메인의 Lys246, Lys 248, Lys 288, Lys 290 또는 Lys 392 아민기에 근접한다(FIG. 61 또는 FIG. 62). 상기 FcBP(Ⅰ)의 6K 및 Human IgG Fc 도메인의 Lys246, Lys 248 또는 Lys 392 아민기 간 거리는 20Å 이내이다. 특히, 상기 FcBP(Ⅰ)의 6K 와 Human IgG Fc 도메인의 Lys248 아민기 간 거리는 6Å 이내이고, 상기 FcBP(Ⅰ)의 6K 와 Human IgG Fc 도메인의 Lys246 아민기 간 거리는 16Å 이내이다. Discovery Studio Visualizer v19.1.0.18287 컴퓨터 시뮬레이션 결과 상, 상기 FcBP(Ⅰ)의 6K 와 Human IgG Fc 도메인의 Lys246 아민기 간 거리는 14.833Å, 상기 FcBP(Ⅰ)의 6K 와 Human IgG Fc 도메인의 Lys248 아민기 간 거리는 4.091Å, 상기 FcBP(Ⅰ)의 6K 와 Human IgG Fc 도메인의 Lys392 아민기 간 거리는 17.700Å 인 것으로 확인되었다(FIG. 54). 여기서, Human IgG 의 Fc 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 FcBP(Ⅰ)의 6K 와 Human IgG Fc 도메인에 포함된 아미노산 잔기 간의 거리는 이하에서 설명되는 SSI-IC-R 화합물 및 Human IgG Fc 도메인의 특정 아미노산 잔기 간 반응을 결정하는 데에 영향을 미친다.

상기 Human IgG 의 Fc 도메인에 결합 친화성을 가지는 펩타이드(SSI)는 R-IC-R' 화합물과 화학반응을 통하여 SSI-IC-R 을 형성한다. 상기 R-IC-R' 화합물은 상기 SSI 의 아미노산 서열 내부에 포함된 아민기 또는 티올기와 치환 반응을 통해 SSI-IC-R 을 형성한다. 상기 SSI-IC-R 은 상기 IgG 이소타입 항체의 CH2-CH3 도메인의 특정 아미노산 잔기에 R 을 포함하는 반응기를 공유결합시키는 데 이용된다. 상기 IgG 이소타입 항체의 CH2-CH3 도메인의 특정 아미노산은 라이신을 포함할 수 있다.

상기 SSI 가 FcBP(Ⅰ)일 때, 상기 R-IC-R' 화합물은 상기 FcBP(Ⅰ)의 아미노산 서열 내부에 포함된 6K 로부터 제공된 아민 잔기와 치환 반응을 통해 R-IC-FcBP 을 형성한다. 이 경우, 상기 R 은 상기 FcBP 의 6K 에 연결(linked)된 구조이다. 상기 R-IC-FcBP 의 R-IC 는 주변의 아민기와 친핵성 치환 반응할 수 있다. 따라서, 상기 FcBP 가 상기 IgG 이소타입 항체의 CH2-CH3 도메인의 일 영역에

결합하면, 상기 R-IC-FcBP 의 R-IC 는 항체 CH2-CH3 도메인에 포함된 일 아민기에 R 을 공유결합 시킬 수 있다. 상기 FcBP(Ⅰ)의 6K와 Human IgG Fc 도메인의 Lys246, Lys 248 또는 Lys 392 아민기 간 거리는 20Å 이내이고, 상기 R-IC-FcBP 의 상기 R 은 상기 FcBP(Ⅰ)의 6K 에 연결된 구조로 인하여 R-IC-FcBP 및 상기 항체의 Lys246, Lys 248 또는 Lys 392 아민기 간 거리는 20Å 보다 더욱 작아진다. 따라서, 상기 R-IC-FcBP 에 의하여 항체의 CH2-CH3 도메인의 Lys246 및/또는 Lys248 에 R 을 포함하는 반응기를 치환 반응하기 용이한 거리에 위치된다. 이에, 상기 R-IC-FcBP 로부터 치환 반응에 의하여 항체 246 Lys-R 컨쥬게이트 및/또는 항체 248 Lys-R 컨쥬게이트가 제조된다.

상기 R 은 항체약물컨쥬게이트에 적합한 페이로드일 수 있다. 상기 R 은 항체약물컨쥬게이트의 제작을 위한 click chemistry chemical 의 일 moiety 일 수 있다. 상기 R 이 click chemistry chemical 의 일 moiety(c')이면, 상기 항체-R 은 click chemistry chemical 의 다른 moiety 및 페이로드 복합체 (c"-페이로드)와의 반응에 의하여 항체약물컨쥬게이트로 제작될 수 있다.

상기 R-IC-R' 화합물의 R'은 상기 FcBP(Ⅰ)의 아민기(NH_2)와 반응성을 가진다. 아울러, 상기 R-IC-FcBP 화합물의 R 은 항체의 아민기(NH_2)와 반응성을 가진다.

상기 FcBP(Ⅰ)는 6K 로부터 제공되는 아민기 및 N 말단으로부터 제공되는 아민기를 가진다. 상기 항체는 예를 들어, 라이신 잔기로부터 제공되는 아민기를 가진다.

상기 FcBP(Ⅰ)이 항체 IgG Fc 도메인에 결합된 3 차원적 구조 상에서, FcBP(Ⅰ)의 N 말단 부근에 항체의 Lys 잔기는 존재하지 않는다. 따라서, 상기 R-IC-R' 화합물의 R' 및 상기 FcBP (Ⅰ) 의 반응이 FcBP(Ⅰ)의 N 말단이 아니라, 6K 에서 일어나는 것은, 추후 R-IC-FcBP 및 항체 IgG Fc 도메인 간의 반응에 있어 중요하다. 이에, 본 명세서에 개시된 항체약물컨쥬게이트 제작 방법에서는, 6K 로부터 제공되는 아민기에 R 이 결합된 R-IC-FcBP 만을 항체약물컨쥬게이트 제작에 이용한다. 이를 위하여, FcBP(Ⅰ)의 N 말단을 캡핑(Capping)한 후, R-IC-FcBP 를 제작할 수 있다.

본 명세서에 개시된 FcBP(Ⅰ)은 상기 R-IC-FcBP 가 항체의 CH2-CH3 도메인의 일 영역에 위치하게 함으로써, 항체 Lys246 또는 Lys 248 잔기 및 페이로드의 결합을 매개한 이후 이탈할 뿐, 항체약물컨쥬게이트에 포함되는 것은 아니다. 따라서, 본 명세서에 개시된 항체약물컨쥬게이트는 항체 Lys246 또는 Lys 248 잔기에 페이로드가 결합된 것이며, 이 때 상기 항체약물컨쥬게이트는 FcBP 를 포함하지 않는다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 항체는 2 개의 CH2-CH3 도메인을 포함하므로, DAR(Drug-Antibody Ratio) 1 또는 2 의 항체약물컨쥬게이트가 제공될 수 있다. 이 때, 항체에 포함된 1 또는 2 개의 CH2-CH3 도메인 내

Lys246 에 페이로드가 연결될 수 있다. 이 때, 항체에 포함된 1 또는 2 개의 CH2-CH3 도메인 내 Lys248 에 페이로드가 연결될 수 있다. 상기 항체약물컨쥬게이트는 반복 재현성 및/또는 균일성(homogeneity)이 있다.

따라서, 본 명세서에 개시된 항체약물컨쥬게이트 제조 방법에 따르면, 항체에 포함된 1 또는 2 개의 CH2-CH3 도메인의 특정 아미노산 서열에 페이로드가 결합된 항체약물컨쥬게이트가 제조되므로, DAR 이 조절되며, 반복 재현성 및 균일성 있는 항체약물컨쥬게이트가 제공된다. 본 명세서에 개시된 제조 방법에 따르면, 항체의 Fc 도메인에 약물을 위치 특이적으로 치환 반응시킴으로써, 항체약물컨쥬게이트를 제조하므로, 항체 서열에 유전적 조작 및/또는 효소적 변형을 거치지 않는다. 또한, 항체의 당사슬을 제거하는 과정이 불필요하다.

본 출원에 개시된 내용에 의해 사용되는 FcBP(Ⅰ)가 상기 Human IgG Fc 도메인의 CH2 도메인 및 CH3 도메인에 걸친 일 영역에 결합 친화성(binding affinity)을 가지는 영역은, FcRn 결합 부위(binding site)와 일부 중첩된다.

상기 항체의 CH2-CH3 도메인 중 CH2 도메인은, FcRn 결합부를 포함한다. 즉, 상기 항체의 Fc 도메인은 FcRn 결합부를 포함한다. 상기 FcRn 는 IgG 이소타입 항체가 세포 내로 내재화(internalization)된 경우, IgG 이소타입 항체의 Fc 도메인과 결합하여 IgG 이소타입 항체를 혈장으로 방출하게 함으로써, IgG 이소타입 항체의 재사용 경로(Recycling Pathway)를 진행하게 한다. 따라서, 상기 재사용 경로에 의하여 IgG 이소타입 항체의 혈장 내 반감기가 결정된다.

종래 FcBP 를 이용하여 항체 Lys246 또는 Lys 248 잔기에 페이로드를 부가하는 항체약물컨쥬게이트 제조 방법이 Ito Yuji 에 의하여 공지되었다(US20180141976A1). 다만, 상기 문헌은 DSG(disuccinimidyl glutarate) 및/또는 DSS(disuccinimidyl suberate) 화합물을 사용하여 FcBP 및 항체를 연결하는 기작을 개시한다. 따라서, 상기 문헌에 개시된 내용에 의해 제조된 항체약물컨쥬게이트는 FcBP 가 포함된다.

상기 FcBP 및 항체 CH2-CH3 결합 친화성 영역은 항체의 Fc 및 FcRn 결합 친화성 영역과 중첩된다. 따라서 FcBP 가 항체약물컨쥬게이트에 잔류할 시, 항체의 Fc-FcRn 간 결합 이 블로킹(Blocking)된다. 이에 따라, FcRn 에 의한 재사용 경로가 저해되고, FcBP 가 잔류하는 IgG 이소타입 항체약물컨쥬게이트의 반감기가 낮아진다.

본 명세서에 의해 개시된 바에 의하면 FcBP 가 포함되지 않은 항체약물컨쥬게이트가 제공된다. 따라서, 본 명세서에 개시된 항체약물컨쥬게이트는 항체의 FcRn 결합부를 블로킹(blocking)하지 않으므로, 항체의 Fc-FcRn 간 결합을 저해하지 않는다. 따라서, FcRn 에 의한 재사용 경로가

저해되지 않는다. 따라서, 상기 재사용 경로에 의하여 의하여 IgG 이소타입 항체의 반감기가 낮아지지 않는다. 이에, 본 발명자들은, Ito Yuji 의 문헌에 개시된 발명의 문제점을 해결하였다.

1. R-IC-R'

본 명세서에 개시된 일 양태에 의하면, 하기 IC(Interposed Chemical)의 구조를 포함하는 화합물(100)이 제공될 수 있다.

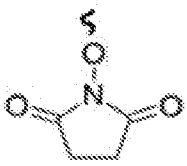
[화학식 **1**]



상기 화학식 **1** 에서, R(102)은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 **1** 에서, R'(101)은 하기 화학식 2의 NHS(N-Hydroxysuccinimide) 및 하기 화학식 3의 말레이미드(maleimide) 중 어느 하나일 수 있다.

[화학식 2]



[화학식 3]



상기 화학식 **1**은

제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자(electrophilic carbon of the carbonyl group); 및

제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자;

를 포함할 수 있다.

상기 제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자는 a1에 연결(connect)되고, b1에도 연결(connect)될 수 있다.

a1-제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자-b1

상기 a1은 상기 R(102)에 연결(connect)될 수 있다. 상기 a1은 상기 R(102)에 직접적으로 연결(directly connect)될 수 있다. 상기 a1은 상기 R(102)에 간접적으로 연결(indirectly connect)될 수 있다.

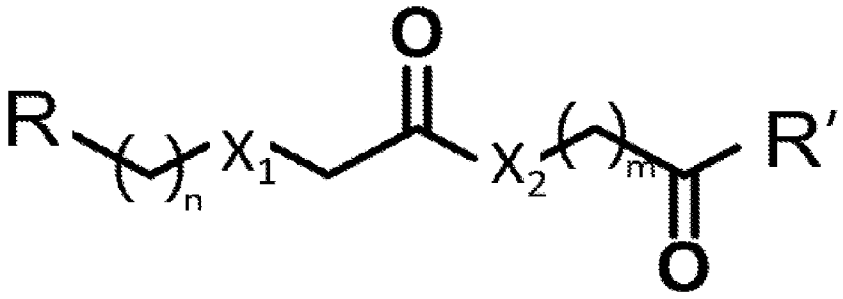
상기 제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자는 a2에 연결(connect)되고, b2에도 연결(connect)될 수 있다.

a2-제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자-b2

상기 b2는 상기 R'(101)에 연결(connect)될 수 있다. 상기 b2는 상기 R'(101)에 직접적으로 연결(directly connect)될 수 있다. 상기 b2는 상기 R'(101)에 간접적으로 연결(indirectly connect)될 수 있다.

상기 제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자의 부분 양전하(δ^+)의 크기는 상기 제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자의 부분 양전하(δ^+)의 크기에 비해 작다.

[화학식 **4**]



상기 화학식 **4**에서, X_1은 S, O, NH, Se 및 CH_2 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 **4**에서, X_2는 S, O, NH 및 Se 중 어느 하나일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 S이고, X_2는 S일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 S이고, X_2는 O일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 S이고, X_2는 NH일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 S이고, X_2는 Se일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 O이고, X_2는 S일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 O이고, X_2는 O일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 O이고, X_2는 NH일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 O이고, X_2는 Se일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 NH이고, X_2는 S일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 NH이고, X_2는 O일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 NH이고, X_2는 NH일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 NH이고, X_2는 Se일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 Se이고, X_2는 S일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 Se이고, X_2는 O일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 Se이고, X_2는 NH일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 Se이고, X_2는 Se일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 CH_2이고, X_2는 S일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 CH_2이고, X_2는 O일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 CH_2이고, X_2는 NH일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **4**에서, X_1은 CH_2이고, X_2는 Se일 수 있다.

상기 화학식 **4**에서, R(102)은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 **4**에서, R'(101)은 상기 화학식 2의 NHS(N-Hydroxysuccinimide) 및 상기 화학식 3의 말레이미드(maleimide) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 **4**에서, m및 n은 각각 0 또는 자연수 일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical)은 알킨(alkyne), 사이클로옥틴(cyclooctyne) 및 사

이클로노닌(cyclononyne) (예로, 바이사이클로[6.1.0]-논-4-인-9-일 메탄올(bicyclo[6.1.0]non-4-yn-9-ylmethanol) 과 같은 사이클로알킨(cycloalkyne), 트랜스-사이클로옥텐(trans-cyclooctene), 니트론(nitrone), 니트릴 옥사이드(nitrile oxide), 아자이드(azide), 컨쥬게이티드 다이엔(Conjugated Diene) 및 알켄(alkene) 등의 친다이엔체(dienophile) 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 클릭 화학 화합물은 아세틸렌(Acetylene), 아자이드(azide), TCO(Transcyclooctene), 테트라진(Tetrazine), 사이클로옥틴(cyclooctyne), DBCO(Diarylcyclooctyne), Methyl ester phosphine, Norbornene, Methylcyclopropene, Azetine 및 Cyanide 중 어느 하나 이상일 수 있다. 바람직하게는, 상기 클릭 화학 화합물은 TCO(Transcyclooctene), 테트라진(Tetrazine), 사이클로옥틴(cyclooctyne), 아자이드(azide), Methylcyclopropene 및 Norbornene 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 페이로드는 핵산, 펩타이드 및 화합물 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 핵산은 DNA, RNA, PNA 및 LNA 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 핵산은 단일 가닥(single strand), 이중 가닥(Double strand), 삼중 가닥(Triple strand) 및 사중 가닥(quadruplex) 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 펩타이드는 천연 아미노산(들) 및/또는 비천연 아미노산(들)이 펩티딜 결합(peptidyl bond)에 의하여 연결된 것일 수 있다. 상기 펩타이드는 항체, 항체 단편, 단백질, 효소, 펩티드, 펩토이드(Peptoid), 독소, 바이오마커에 대한 리간드일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 화합물은 약물 복합체, 이미징 모이어티(imaging moiety), 기타 화합물 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 약물복합체는 프로드러그(Prodrug), 약물전구체(precursor drug), 약물(drug)일 수 있다. 상기 약물복합체는 항암제, 항염증제, 기타 항질환제, 항미생물제(항생제, 항진균제, 항바이러스제) 일 수 있다.

상기 약물복합체는 미세소관 및 미세섬유를 파괴하거나 신장 저해하는 것일 수 있다. 상기 약물복합체는 DNA 손상을 유발하는 것일 수 있다. 상기 약물 복합체는 전사 저해를 유발하는 것일 수 있다.

예를 들어, 상기 약물복합체는 DM1, DM4, MMAE, MMAF, calicheamicin, duocarmicin, SN-38, D6.5, PDB dimers, 아마니틴(amanitin), auristatins, Maytansinoid, anthracyclines, camptothecins 및 tubulysins 중 어느 하나 이상 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 이미징 모이어티(imaging moiety)는 조영제, 방사성 동위원소, 형광 물질일 수 있다.

상기 기타 화합물은 광학 작용제, 비타민, 독소 등일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 페이로드는 Linker를 포함할 수 있다.

상기 Linker는 Hydrazone Linker, Peptide Linker, Disulfide Linker, Thioether Linker 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 Linker는 Cleavable Linker 또는 Uncleavable Linker일 수 있다. 예로, 상기 Cleavable Linker는 VC Linker일 수 있다.

상기 페이로드는 친수성 모이어티(hydrophilic moiety)를 포함할 수 있다.

상기 친수성 모이어티는 폴리에틸렌 글라이콜(Polyethylene glycol; PEG) 일 수 있다.

상기 화학식 **4**는

제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자(electrophilic carbon of the carbonyl group); 및

제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자;

를 포함할 수 있다.

상기 제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자는 a1에 연결(connect)되고, b1에도 연결(connect)될 수 있다.

a1-제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자-b1

상기 a1은 상기 R에 연결(connect)될 수 있다. 상기 a1은 상기 R에 직접적으로 연결(directly connect)될 수 있다. 상기 a1은 상기 R에 간접적으로 연결(indirectly connect)될 수 있다.

상기 b1은 상기 X2일 수 있다.

상기 제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자는 a2에 연결(connect)되고, b2에도 연결(connect)될 수 있다.

a2-제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자-b2

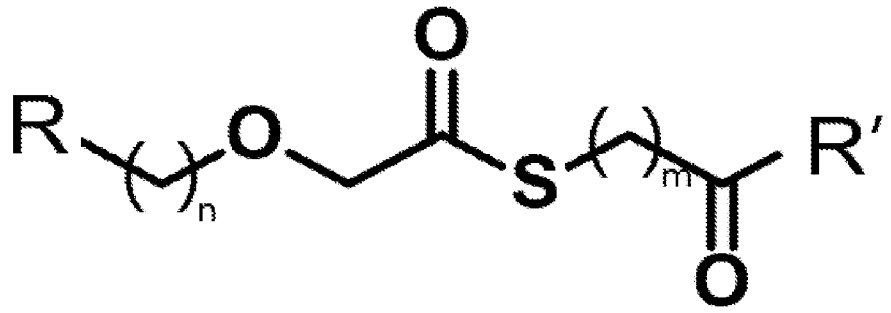
상기 b2는 상기 R′에 연결(connect)될 수 있다. 상기 b2는 상기 R′에 직접적으로 연결(directly connect)될 수 있다. 상기 b2는 상기 R′에 간접적으로 연결(indirectly connect)될 수 있다.

상기 a2는 상기 X2에 연결(connect)될 수 있다. 상기 a2는 상기 X2에 직접적으로 연결(directly connect)될 수 있다. 상기 a2는 상기 X2에 간접적으로 연결(indirectly connect)될 수 있다.

상기 제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자의 부분 양전하(δ^+)의 크기는 상기 제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자의 부분 양전하(δ^+)의 크기에 비해 작다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 **5**의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 **5**]



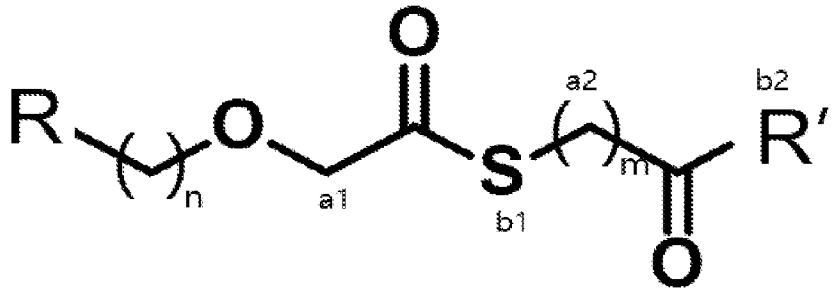
상기 화학식 **5**에서, R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 **5**에서, R'은 상기 화학식 1의 NHS(N-Hydroxysuccinimide) 및 상기 화학식 2의 말레이미드(maleimide) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 **5**에서, m 및 n은 각각 0 또는 자연수 일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

[화학식 **5**]



상기 화학식 **5**는

제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자(electrophilic carbon of the carbonyl group); 및

제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자;

를 포함할 수 있다.

상기 제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자는 a1에 연결(connect)되고, b1에도 연결(connect)될 수 있다.

a1-제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자-b1

상기 a1은 상기 R에 연결(connect)될 수 있다. 상기 a1은 상기 R에 직접적으로 연결(directly connect)될 수 있다. 상기 a1은 상기 R에 간접적으로 연결(indirectly connect)될 수 있다. 예를 들어, 상기 a1은 C일 수 있다. 상기 a1은 상기 R에 간접적으로 연결(indirectly connect)될 수 있다.

상기 b1은 상기 X2일 수 있다. 예를 들어, 상기 b1은 S일 수 있다.

상기 제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자는 a2에 연결(connect)되고, b2에도 연결(connect)될 수 있다.

a2-제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자-b2

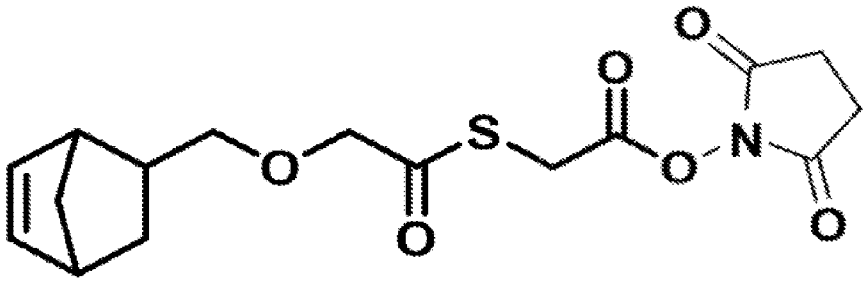
상기 b2는 상기 R'에 연결(connect)될 수 있다. 상기 b2는 상기 R'에 직접적으로 연결(directly connect)될 수 있다. 상기 b2는 상기 R'에 간접적으로 연결(indirectly connect)될 수 있다.

상기 a2는 상기 X2에 연결(connect)될 수 있다. 상기 a2는 상기 X2에 직접적으로 연결(directly connect)될 수 있다. 상기 a2는 상기 X2에 간접적으로 연결(indirectly connect)될 수 있다. 예를 들어, 상기 X2는 S일 수 있다. 상기 a2는 $(CH_2)n$ 일 수 있다.

상기 제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자의 부분 양전하(δ^+)의 크기는 상기 제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자의 부분 양전하(δ^+)의 크기에 비해 작다.

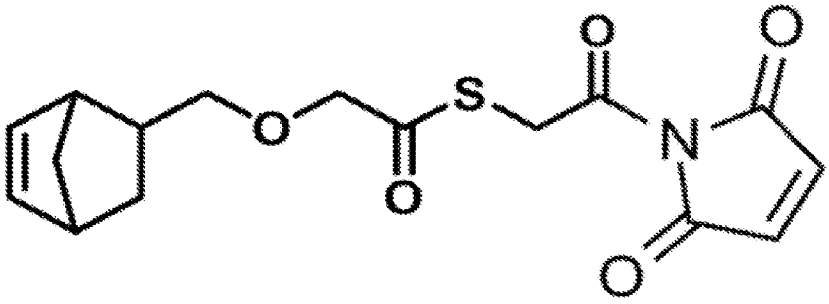
본 명세서에 개시된 일 구체예에 의하면, 하기 화학식 **6**의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 **6**]



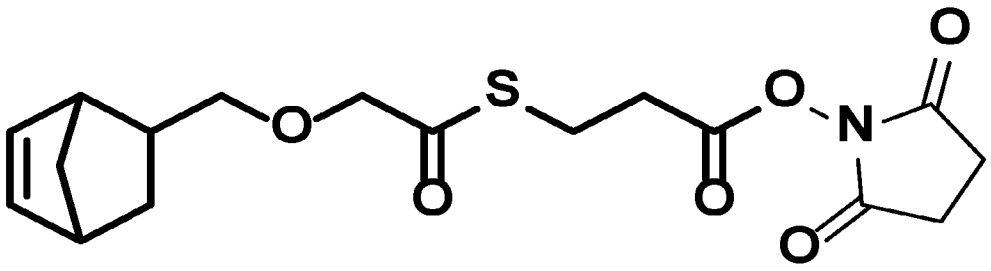
본 명세서에 개시된 다른 구체예에 의하면, 하기 화학식 **7**의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 **7**]



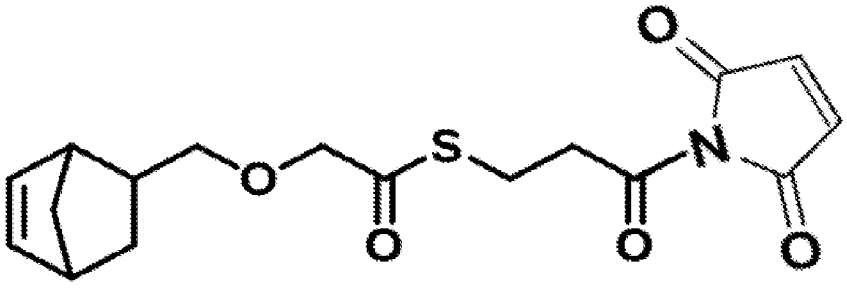
본 명세서에 개시된 또다른 구체예에 의하면, 하기 화학식 **8**의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 **8**]



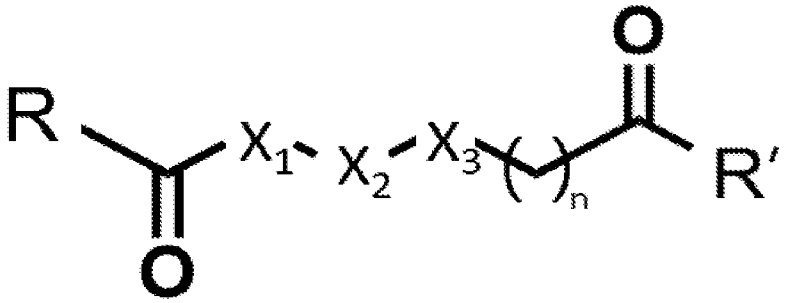
본 명세서에 개시된 또다른 구체예에 의하면, 하기 화학식 **9**의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 **9**]



본 명세서에 개시된 다른 실시예에 의하면, 하기 화학식 **10**의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 **10**]



상기 화학식 **10**에서, X_1은 S, O 및 NH 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 **10**에서, X_2는 NCH_3, S, O, NH 및 CH_2 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 **10**에서, X_3은 C=O(carbonyl), S, O, NH 및 CH_2 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 **10**에서, X_3가 C=O일 때, X_1은 X_2 보다 음이온이 되기 쉽다.

상기 화학식 **10**에서, X_3가 C=O일 때, X_1은 X_2 보다 음이온이 되려는 경향이 클 수 있다.

상기 화학식 **10**에서, X_3가 C=O일 때, X_1의 전자친화도보다 X_2 전자친화도보다 클 수 있다.

상기 화학식 **10**에서, X_3가 C=O일 때, X_1의 원자의 크기가 X_2 의 원자의 크기보다 클 수 있다.

상기 화학식 **10**에서, X_3가 C=O일 때, X_1의 음이온이 X_2 의 음이온보다 안정할 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 S이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 S이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 S이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 S이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 S이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 O이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 O이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 O이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 O이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 O이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 NH이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 NH이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 NH이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 NH이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 NH이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 S이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 S이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 S이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 S이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 S이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 S이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 O이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 O이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 O이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 O이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 O이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 NH이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 NH이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 NH이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 NH이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 NH이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 O이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 S이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NHS이고, X_2는 S이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 S이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NHS이고, X_2는 S이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 S이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 O이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 O이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 O이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 O이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 O이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 NH이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 NH이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 NH이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 NH이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 NH이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 **10**에서, X_1은 NH이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

상기 화학식 **10**에서, R(102)은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 **10**에서, R'(101)은 상기 화학식 1의 NHS(N-Hydroxysuccinimide) 및 상기 화학식 2의 말레이미드(maleimide) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 **10**에서, n은 0 또는 자연수 일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical)은 알킨(alkyne), 사이클로옥틴(cyclooctyne) 및 사이클로노닌(cyclononyne) (예로, 바이사이클로[6.1.0]-논-4-인-9-일 메탄올(bicyclo[6.1.0]non-4-yn-9-ylmethanol) 과 같은 사이클로알킨(cycloalkyne), 트랜스-사이클로옥텐(trans-cyclooctene), 니트론(nitrone), 니트릴 옥사이드(nitrile oxide), 아자이드(azide), 컨쥬게이티드 다이엔(Conjugated Diene) 및 알켄(alkene) 등의 친다이엔체(dienophile) 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 클릭 화학 화합물은 아세틸렌(Acetylene), 아자이드(azide), TCO(Transcyclooctene), 테트라진(Tetrazine), 사이클로옥틴(cyclooctyne), DBCO(Diarylcyclooctyne), Methyl ester phosphine, Norbornene, Methylcyclopropene, Azetine 및 Cyanide 중 어느 하나 이상일 수 있다. 바람직하게는, 상기 클릭 화학 화합물은 TCO(Transcyclooctene), 테트라진(Tetrazine), 사이클로옥틴(cyclooctyne), 아자이드(azide), Methylcyclopropene 및 Norbornene 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 페이로드는 핵산, 펩타이드 및 화합물 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 핵산은 DNA, RNA, PNA 및 LNA 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 핵산은 단일 가닥(single strand), 이중 가닥(Double strand), 삼중 가닥(Triple strand) 및 사중 가닥(quadruplex) 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 펩타이드는 천연 아미노산(들) 및/또는 비천연 아미노산(들)이 펩티딜 결합(peptidyl bond)에 의하여 연결된 것일 수 있다. 상기 펩타이드는 항체, 항체 단편, 단백질, 효소, 펩티드, 펩토이드(Peptoid), 독소, 바이오마커에 대한 리간드일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 화합물은 약물 복합체, 이미징 모이어티(imaging moiety), 기타 화합물 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 약물복합체는 프로드러그(Prodrug), 약물전구체(precursor drug), 약물(drug)일 수 있다. 상기 약물복합체는 항암제, 항염증제, 기타 항질환제, 항미생물제(항생제, 항진균제, 항바이러스제) 일 수 있다.

상기 이미징 모이어티(imaging moiety)는 조영제, 방사성 동위원소, 형광 물질일 수 있다.

상기 기타 화합물은 광학 작용제, 비타민, 독소 등일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 페이로드는 Linker를 포함할 수 있다.

상기 Linker는 Hydrazone Linker, Peptide Linker, Disulfide Linker, Thioether Linker 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 Linker는 Cleavable Linker 또는 Uncleavable Linker일 수 있다. 예로, 상기 Cleavable Linker는 VC Linker일 수 있다.

상기 페이로드는 친수성 모이어티(hydrophilic moiety)를 포함할 수 있다.

상기 친수성 모이어티는 폴리에틸렌 글라이콜(Polyethylene glycol; PEG) 일 수 있다.

상기 화학식 **10**은

제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자(electrophilic carbon of the carbonyl group); 및

제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자;

를 포함할 수 있다.

상기 제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자는 a1에 연결(connect)되고, b1에도 연결(connect)될 수 있다.

a1-제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자-b1

상기 a1은 상기 R일 수 있다. 상기 a1은 상기 R에 연결(connect)될 수 있다. 상기 a1은 상기 R에 직접적으로 연결(directly connect)될 수 있다. 상기 a1은 상기 R에 간접적으로 연결(indirectly connect)될 수 있다.

상기 b1은 상기 X1일 수 있다.

상기 제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자는 a2에 연결(connect)되고, b2에도 연결(connect)될 수 있다.

a2-제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자-b2

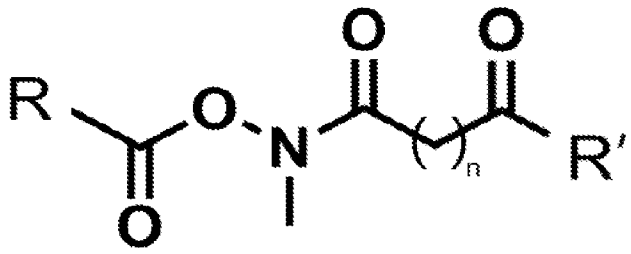
상기 b2는 상기 R'일 수 있다. 상기 b2는 상기 R'에 연결(connect)될 수 있다. 상기 b2는 상기 R'에 직접적으로 연결(directly connect)될 수 있다. 상기 b2는 상기 R'에 간접적으로 연결(indirectly connect)될 수 있다.

상기 a2는 상기 X3에 연결(connect)될 수 있다. 상기 a2는 상기 X3에 직접적으로 연결(directly connect)될 수 있다. 상기 a2는 상기 X3에 간접적으로 연결(indirectly connect)될 수 있다.

상기 제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자의 부분 양전하(δ^+)의 크기는 상기 제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자의 부분 양전하(δ^+)의 크기에 비해 작다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 **11**의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 **11**]



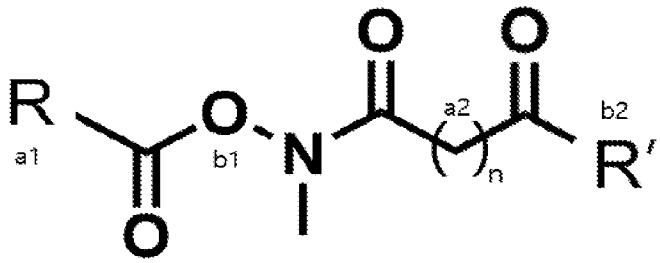
상기 화학식 **11**에서, R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 **11**에서, R'은 상기 화학식 2의 NHS(N-Hydroxysuccinimide) 및 상기 화학식 3의 말레이미드(maleimide) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 **11**에서, n은 0 또는 자연수 일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

[화학식 **12**]



상기 화학식 **12**는

제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자(electrophilic carbon of the carbonyl group); 및

제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자;

를 포함할 수 있다.

상기 제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자는 a1에 연결(connect)되고, b1에도 연결(connect)될 수 있다.

a1-제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자-b1

상기 a1은 상기 R일 수 있다. 상기 a1은 상기 R에 연결(connect)될 수 있다. 상기 a1은 상기 R에

직접적으로 연결(directly connect)될 수 있다. 상기 a1은 상기 R에 간접적으로 연결(indirectly connect)될 수 있다. 예로, 상기 a1은 R일 수 있다.

상기 b1은 상기 X1일 수 있다. 예를 들어, 상기 b1은 O일 수 있다.

상기 제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자는 a2에 연결(connect)되고, b2에도 연결(connect)될 수 있다.

a2-제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자-b2

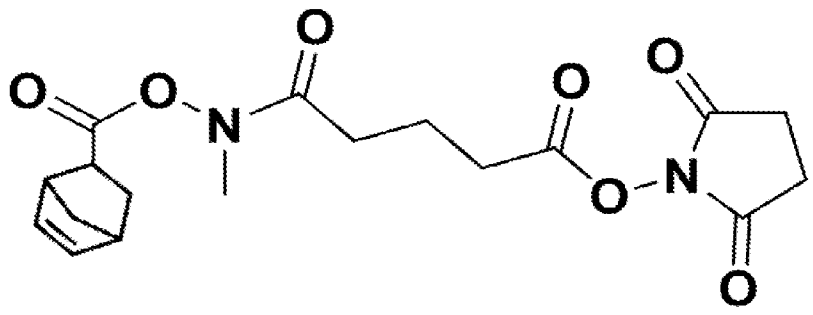
상기 b2는 상기 R'일 수 있다. 상기 b2는 상기 R'에 연결(connect)될 수 있다. 상기 b2는 상기 R'에 직접적으로 연결(directly connect)될 수 있다. 상기 b2는 상기 R'에 간접적으로 연결(indirectly connect)될 수 있다. 예로, 상기 b2는 R'일 수 있다.

상기 a2는 상기 X3에 연결(connect)될 수 있다. 상기 a2는 상기 X3에 직접적으로 연결(directly connect)될 수 있다. 상기 a2는 상기 X3에 간접적으로 연결(indirectly connect)될 수 있다. 예로, 상기 X3은 C=O(carbonyl)일 수 있다. 상기 상기 a2는 상기 C=O(carbonyl)에 간접적으로 연결될 수 있다.

상기 제1 카보닐기의 친전자성 탄소 원자의 부분 양전하(δ^+)의 크기는 상기 제2 카보닐기의 친전자성 탄소 원자의 부분 양전하(δ^+)의 크기에 비해 작다.

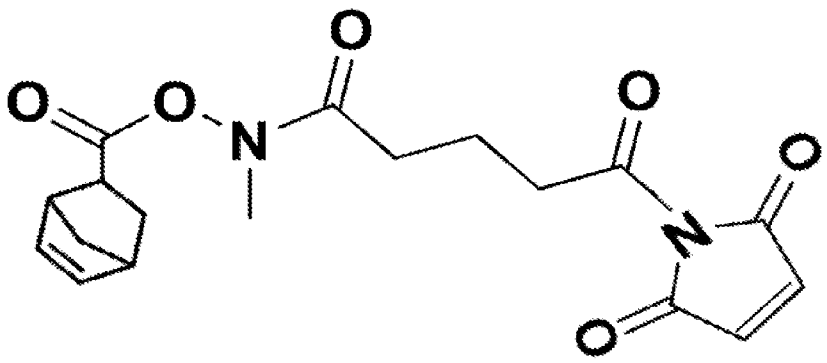
본 명세서에 개시된 일 구체예에 의하면, 하기 화학식 **13**의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 **13**]



본 명세서에 개시된 다른 구체예에 의하면, 하기 화학식 **14**의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 **14**]



2. 위치-특이적 인터랙톰(Site-Specific Interactome)

본 명세서에 개시된 다른 양태에 의하면, 위치-특이적 인터랙톰(Site-Specific Interactome; SSI)(200)이 제공될 수 있다.

SSI

상기 인터랙톰(Interactome)은 특정 분자 A와 상호작용하는 특정 분자 B에 있어, 상기 특정 분자 A, 특정 분자 B 각각을 뜻하는 것일 수 있다.

상기 위치-특이적 인터랙톰(Site-Specific Interactome)은 상기 특정 분자의 A의 특정 가능한 위치에 상호작용하는 특정 분자 B에 있어, 특정 분자 B를 뜻하는 것일 수 있다.

상기 특정 분자 A는 핵산, 펩타이드 및 화합물 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 특정 분자 B는 핵산, 펩타이드 및 화합물 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 특정 분자 A가 특정 구조의 Peptide 또는 Protein인 경우, 상기 위치-특이적 인터랙톰(Site-Specific Interactome)은 상기 특정 분자의 A의 일 아미노산 종류에 상호작용하는 특정 분자 B에 있어, 상기 특정 분자 B를 뜻하는 것일 수 있다. 일 예로, 상기 일 아미노산의 종류는 상기 특정 분자 A에 포함된 라이신(Lys)일 수 있다. 이때, 상기 위치-특이적 인터랙톰(Site-Specific Interactome)은 상기 특정 분자 A에 포함된 라이신(Lys)과 상호작용하는 특정 분자 B일 수 있다. 일 예로, 상기 일 아미노산 종류는 상기 특정 분자 A에 포함된 시스테인(Cysteine)일 수 있다. 이때, 상기 위치-특이적 인터랙톰(Site-Specific Interactome)은 상기 특정 분자 A에 포함된 시스테인(Cysteine)과 상호작용하는 특정 분자 B일 수 있다. 다만, 상기 일 아미노산 종류는 예시된 바로

제한되는 것은 아니다.

상기 특정 분자 A가 특정 구조의 Peptide 또는 Protein인 경우, 상기 위치-특이적 인터랙톰(Site-Specific Interactome)은 상기 특정 분자의 A의 특정 아미노산 서열에 상호작용하는 특정 분자 B에 있어, 상기 특정 분자 B를 뜻하는 것일 수 있다. 일 예로, 상기 특정 아미노산 서열은 상기 특정 분자 A(n개의 아미노산으로 구성됨)포함된 m번째의 아미노산일 수 있다($n \geq m > 0$, n 및 m은 각각 정수). 이때, 상기 위치-특이적 인터랙톰(Site-Specific Interactome)은 상기 특정 분자 A에 포함된 m번째의 아미노산과 상호작용하는 특정 분자 B일 수 있다. 일 예로, 상기 특정 아미노산 서열은 상기 특정분자 A(n개의 아미노산으로 구성됨)포함된 m'번째의 아미노산일 수 있다($n \geq m' > 0$, n 및 m'은 각각 정수). 이때, 상기 위치-특이적 인터랙톰(Site-Specific Interactome)은 상기 특정 분자 A에 포함된 m'번째의 아미노산과 상호작용하는 특정 분자 B일 수 있다. 일 예로, 상기 특정 아미노산 서열은 상기 특정분자 A(n개의 아미노산으로 구성됨)에 포함된 m 및 m'번째의 아미노산일 수 있다 ($n \geq m, m' > 0, m \neq m'$, n, m 및 m'은 각각 정수). 이때, 상기 위치-특이적 인터랙톰(Site-Specific Interactome)은 상기 특정 분자 A에 포함된 m 및 m'번째의 아미노산과 상호작용하는 특정 분자 B일 수 있다. 다만, 상기 특정 아미노산 개수는 예시된 바로 제한되는 것은 아니다.

본 명세서에 개시된 일 실시예에 의하면, 하기 위치-특이적 인터랙톰 **I** (Site-Specific Interactome **I**)(200)이 제공될 수 있다.

[위치-특이적 인터랙톰 **I**]

(X_1)-(X_2)-(X_3)-(X_4)-(X_5)-(X_6)-(X_7)-(X_8)-(X_9)-(X_{10})-(X_{11})-(X_{12})-(X_{13}) (**I**)

상기 (**I**) (200)은 13개의 아미노산을 포함하는 peptide일 수 있다.

상기 (**I**) (200)의 상기 X_1은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 (**I**) (200)의 상기 X_3은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 (**I**) (200)의 상기 X_4은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 (**I**) (200)의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 (**I**) (200)의 상기 X_5는 양전하성 R기를 포함하는 아미노산일 수 있다. 상기 아미노산은 천연

아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다. 예로, 상기 X_5는 라이신(Lysine; Lys; K), 아르기닌(Arginine; Arg; R) 및 히스티딘(Histidine; His; H) 중 어느 하나일 수 있다. 예로, 상기 X_5는 히스티딘(Histidine; His; H) 일 수 있다.

상기 (**I**) (200)의 상기 X_7은 극성 비전하성 R 기를 포함하는 아미노산일 수 있다. 상기 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산일 수 있다. 예로, 상기 X_7은 세린(Serine; Ser; S), 트레오닌(Threonine; Thr; T), 타이로신(Tyrosine; Tyr; Y), 아스파라긴(Asparagine; Asn; N), 글루타민(Glutamine; Gln; Q) 및 글라이신(Glycine; Gly; G) 중 어느 하나일 수 있다. 예로, 상기 X_7은 글라이신(Glycine; Gly; G) 일 수 있다.

상기 (**I**) (200)의 상기 X_8은 양전하성 R기를 포함하는 아미노산 또는 음전하성 R기를 포함하는 아미노산 일 수 있다. 상기 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산일 수 있다. 예로, 상기 X_8은 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E), 아스파라트산(Aspartic Acid; Asp; D), 라이신(Lysine; Lys; K), 아르기닌(Arginine; Arg; R) 및 히스티딘(Histidine; His; H) 중 어느 하나 일 수 있다. 예로, 상기 X_8은 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E), 아스파라트산(Aspartic Acid; Asp; D) 및 라이신(Lysine; Lys; K) 중 어느 하나일 수 있다. 예로, X_8은 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E) 및 아스파라트산(Aspartic Acid; Asp; D) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 (**I**) (200)의 상기 X_9은 비극성 R기를 포함하는 아미노산일 수 있다. 상기 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산일 수 있다. 예로, 상기 X_9은 알라닌(Alanine; Ala; A), 발린(Valine; Val; V), 이소류신(Isoleucine; Ile; I), 프롤린(Proline; Pro; P), 메티오닌(Methionine; Met; M), 페닐알라닌(Phenylalanine; Phe; F), 트립토판(Tryptophan; Trp; W) 및 류신(Leucine; Leu; L) 일 수 있다. 예로, 상기 X_9은 류신(Leucine; Leu; L) 일 수 있다.

상기 (**I**) (200)의 상기 X_{10}은 비극성 R기를 포함하는 아미노산일 수 있다. 상기 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산일 수 있다. 예로, 상기 X_{10}은 알라닌(Alanine; Ala; A), 발린(Valine; Val; V), 이소류신(Isoleucine; Ile; I), 프롤린(Proline; Pro; P), 메티오닌(Methionine; Met; M), 페닐알라닌(Phenylalanine; Phe; F), 트립토판(Tryptophan; Trp; W) 및 류신(Leucine; Leu; L) 일 수 있다. 예로, 상기 X_{10}은 발린(Valine; Val; V) 일 수 있다.

상기 (**I**) (200)의 상기 X_{11}은 비극성 R기를 포함하는 아미노산일 수 있다. 상기 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산일 수 있다. 예로, 상기 X_{11}은 알라닌(Alanine; Ala; A), 발린(Valine; Val; V), 이소류신(Isoleucine; Ile; I), 프롤린(Proline; Pro; P), 메티오닌(Methionine; Met; M), 페닐알라닌(Phenylalanine; Phe; F), 트립토판(Tryptophan; Trp; W) 및 류신(Leucine; Leu; L) 일 수 있다. 예로, 상기 X_{11}은 트립토판(Tryptophan; Trp; W) 일 수 있다. 예로, 상기 X_{11}은 나프틸알라닌(Naphthylalanine)일 수 있다.

상기 (**I**) (200)의 상기 X_2은 시스테인(Cysteine; Cys; C), 호모시스테인(Homocysteine; HC), 바이닐

알라닌(vinyl alanine) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 (Ⅰ) (200)의 상기 X_{12}은 시스테인(Cysteine; Cys; C), 호모시스테인(Homocysteine; HC), 바이닐 알라닌(vinyl alanine) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 (Ⅰ) (200)의 상기 X_6은 아민(amine) R기를 가지는 아미노산일 수 있다. 상기 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산일 수 있다.

상기 X_6의 상기 아민 R기는 2,m-diamino-n-alkanoic acid 에서, m번째 탄소에 결합된 아민(NH_2)을 포함 할 수 있다. 상기 아민 R기는 상기 X_6에 포함된 아미노산의 잔기에 대하여, ε-NH_2, δ-NH_2, γ-NH_2, β-NH_2 및 α-NH_2 중 어느 하나 이상을 포함하는 것일 수 있다.

예를 들어, 상기 X_6은 라이신(Lysine; Lys; K), 오르니틴(Ornithine) 및 β-아미노 알라닌(β-amino alanine) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 (Ⅰ) (200)의 상기 X_6은 티올(Thiol) R기를 가지는 아미노산일 수 있다. 상기 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산일 수 있다.

상기 X_6의 상기 티올 R기는 2-amino-m-thiol-n-alkanoic acid 에서, m번째 탄소에 결합된 티올(SH)을 포함 할 수 있다. 상기 티올 R기는 상기 X_6에 포함된 아미노산의 잔기에 대하여, δ-SH, γ-SH, β-SH 및 α-SH 중 어느 하나 이상을 포함하는 것일 수 있다.

예를 들어, 상기 X_6은 시스테인(Cysteine; Cys; C), 및 호모시스테인(Homocysteine; HC) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 (Ⅰ) (200)은 특정 분자에 대한 결합력을 가지는 것일 수 있다.

상기 특정 분자는, 항체일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG의 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG1의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG2의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다.

상기 특정 분자는 항체 IgG의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG1의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG2의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 단백질은 항체, 항체 변형체 및 융합 단백질 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 서열 번호 1의 위치 특이적 인터랙톰이 제공될 수

있다.

본 명세서에 개시된 일 구체예에 의하면, 하기 펩타이드 1이 제공될 수 있다.

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**X_6**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(W)-(C)-(X_{13}) (펩타이드 1)

상기 펩타이드 1의 상기 X_1은 임의의 아미노산이고,

상기 펩타이드 1의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산이고,

상기 펩타이드 1의 상기 X_6은 라이신(Lysine; Lys; K), 오르니틴(Ornithine), β-아미노알라닌(β-aminoalanine) 및 호모시스테인(Homocysteine; HC) 중 어느 하나이고,

상기 C는 시스테인(Cysteine; Cys; C)이고,

상기 A는 알라닌(Alanine; Ala; A)이고,

상기 W는 트립토판(Tryptophan; Trp; W)이고,

상기 H는 히스티딘(Histidine; His; H)이고,

상기 G는 글라이신(Glycine; Gly; G)이고,

상기 E는 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E)이고,

상기 L은 류신(Leucine; Leu; L)이고,

상기 V는 발린(Valine; Val; V)인 펩타이드.

본 명세서에 개시된 다른 구체예에 의하면, 하기 펩타이드 2가 제공될 수 있다.

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**X_6**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(Np)-(C)-(X_{13}) (펩타이드 2)

상기 펩타이드 2의 상기 X_1은 임의의 아미노산이고,

상기 펩타이드 2의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산이고,

상기 펩타이드 2의 상기 **X_6**은 라이신(Lysine; Lys; K), 오르니틴(Ornithine), β-아미노알라닌(β-aminoalanine) 및 호모시스테인(Homocysteine; HC) 중 어느 하나이고,

상기 C는 시스테인(Cysteine; Cys; C)이고,

상기 A는 알라닌(Alanine; Ala; A)이고,

상기 W는 트립토판(Tryptophan; Trp; W)이고,

상기 H는 히스티딘(Histidine; His; H)이고,

상기 G는 글라이신(Glycine; Gly; G)이고,

상기 E는 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E)이고,

상기 L은 류신(Leucine; Leu; L)이고,

상기 V는 발린(Valine; Val; V)이고,

상기 Np는 나프틸알라닌(Naphthylalanine)인 펩타이드.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 따르면, 하기 서열번호 1의 위치 특이적 인터랙톰이 제공될 수 있다.

[서열 번호 1]

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**K**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(W)-(C)-(X_{13}) (서열 번호 1)

상기 서열 번호 1의 상기 X_1은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 서열 번호 1의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 C는 시스테인(Cysteine; Cys; C)이다.

상기 A는 알라닌(Alanine; Ala; A)이다.

상기 W는 트립토판(Tryptophan; Trp; W)이다.

상기 H는 히스티딘(Histidine; His; H)이다.

상기 K는 라이신(Lysine; Lys; K)이다.

상기 G는 글라이신(Glycine; Gly; G)이다.

상기 E는 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E)이다.

상기 L은 류신(Leucine; Leu; L)이다.

상기 V는 발린(Valine; Val; V)이다.

상기 서열 번호 1의 위치 특이적 인터랙톰은 특정 분자에 대한 결합력을 가지는 것일 수 있다.

상기 특정 분자는, 항체일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG의 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG1의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG2의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다.

상기 특정 분자는 항체 IgG의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG1의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG2의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 단백질은 항체, 항체 변형체 및 융합 단백질 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본 명세서에 개시된 다른 구현예에 의하면, 하기 서열 번호 2의 위치 특이적 인터랙톰이 제공될 수 있다.

[서열 번호 2]

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**K**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(Np)-(C)-(X_{13}) (서열 번호 2)

상기 서열 번호 2의 상기 X_1은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 서열 번호 2의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 C는 시스테인(Cysteine; Cys; C)이다.

상기 A는 알라닌(Alanine; Ala; A)이다.

상기 W는 트립토판(Tryptophan; Trp; W)이다.

상기 H는 히스티딘(Histidine; His; H)이다.

상기 K는 라이신(Lysine; Lys; K)이다.

상기 G는 글라이신(Glycine; Gly; G)이다.

상기 E는 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E)이다.

상기 L은 류신(Leucine; Leu; L)이다.

상기 V는 발린(Valine; Val; V)이다.

상기 Np는 나프틸알라닌(Naphthylalanine)이다.

상기 서열 번호 2의 위치 특이적 인터랙톰은 특정 분자에 대한 결합력을 가지는 것일 수 있다.

상기 특정 분자는, 항체일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG의 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG1의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG2의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다.

상기 특정 분자는 항체 IgG의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG1의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG2의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 단백질은 항체, 항체 변형체 및 융합 단백질 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본 명세서에 개시된 또다른 구현예에 의하면, 하기 서열 번호 4의 위치 특이적 인터랙톰이 제공될 수 있다.

[서열 번호 4]

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**Orn**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(W)-(C)-(X_{13}) (서열 번호 4)

상기 서열 번호 4의 상기 X_1은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 서열 번호 4의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 C는 시스테인(Cysteine; Cys; C)이다.

상기 A는 알라닌(Alanine; Ala; A)이다.

상기 W는 트립토판(Tryptophan; Trp; W)이다.

상기 H는 히스티딘(Histidine; His; H)이다.

상기 Orn은 오르니틴(Ornithine)이다.

상기 G는 글라이신(Glycine; Gly; G)이다.

상기 E는 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E)이다.

상기 L은 류신(Leucine; Leu; L)이다.

상기 V는 발린(Valine; Val; V)이다.

상기 서열 번호 4의 위치 특이적 인터랙톰은 특정 분자에 대한 결합력을 가지는 것일 수 있다.

상기 특정 분자는, 항체일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG의 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG1의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG2의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다.

상기 특정 분자는 항체 IgG의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG1의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG2의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 단백질은 항체, 항체 변형체 및 융합 단백질 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본 명세서에 개시된 또다른 구현예에 의하면, 하기 서열 번호 5의 위치 특이적 인터랙톰이 제공될 수 있다.

[서열 번호 5]

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**Orn**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(Np)-(C)-(X_{13}) (서열 번호 5)

상기 서열 번호 5의 상기 X_1은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 서열 번호 5의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 C는 시스테인(Cysteine; Cys; C)이다.

상기 A는 알라닌(Alanine; Ala; A)이다.

상기 W는 트립토판(Tryptophan; Trp; W)이다.

상기 H는 히스티딘(Histidine; His; H)이다.

상기 Orn은 오르니틴(Ornithine)이다.

상기 G는 글라이신(Glycine; Gly; G)이다.

상기 E는 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E)이다.

상기 L은 류신(Leucine; Leu; L)이다.

상기 V는 발린(Valine; Val; V)이다.

상기 Np는 나프틸알라닌(Naphthylalanine)이다.

상기 서열 번호 5의 위치 특이적 인터랙톰은 특정 분자에 대한 결합력을 가지는 것일 수 있다.

상기 특정 분자는, 항체일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG의 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG1의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG2의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다.

상기 특정 분자는 항체 IgG의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG1의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG2의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 단백질은 항체, 항체 변형체 및 융합 단백질 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본 명세서에 개시된 또다른 구현예에 의하면, 하기 서열 번호 7의 위치 특이적 인터랙톰이 제공될 수 있다.

[서열 번호 7]

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**β-AA**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(W)-(C)-(X_{13}) (서열 번호 7)

상기 서열 번호 7의 상기 X_1은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 서열 번호 7의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 C는 시스테인(Cysteine; Cys; C)이다.

상기 A는 알라닌(Alanine; Ala; A)이다.

상기 W는 트립토판(Tryptophan; Trp; W)이다.

상기 H는 히스티딘(Histidine; His; H)이다.

상기 β-AA는 β-아미노알라닌(β-aminoalanine)이다.

상기 G는 글라이신(Glycine; Gly; G)이다.

상기 E는 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E)이다.

상기 L은 류신(Leucine; Leu; L)이다.

상기 V는 발린(Valine; Val; V)이다.

상기 서열 번호 7의 위치 특이적 인터랙톰은 특정 분자에 대한 결합력을 가지는 것일 수 있다.

상기 특정 분자는, 항체일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG의 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG1의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG2의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다.

상기 특정 분자는 항체 IgG의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG1의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG2의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 단백질은 항체, 항체 변형체 및 융합 단백질 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본 명세서에 개시된 또다른 구현예에 의하면, 하기 서열 번호 8의 위치 특이적 인터랙톰이 제공될 수 있다.

[서열 번호 8]

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**β-AA**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(Np)-(C)-(X_{13}) (서열 번호 8)

상기 서열 번호 8의 상기 X_1은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 서열 번호 8의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 C는 시스테인(Cysteine; Cys; C)이다.

상기 A는 알라닌(Alanine; Ala; A)이다.

상기 W는 트립토판(Tryptophan; Trp; W)이다.

상기 H는 히스티딘(Histidine; His; H)이다.

상기 β-AA는 β-아미노알라닌(β-aminoalanine)이다.

상기 G는 글라이신(Glycine; Gly; G)이다.

상기 E는 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E)이다.

상기 L은 류신(Leucine; Leu; L)이다.

상기 V는 발린(Valine; Val; V)이다.

상기 Np는 나프틸알라닌(Naphthylalanine)이다.

상기 서열 번호 8의 위치 특이적 인터랙톰은 특정 분자에 대한 결합력을 가지는 것일 수 있다.

상기 특정 분자는, 항체일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG의 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG1의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG2의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다.

상기 특정 분자는 항체 IgG의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG1의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG2의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 단백질은 항체, 항체 변형체 및 융합 단백질 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본 명세서에 개시된 또다른 구현예에 의하면, 하기 서열 번호 10의 위치 특이적 인터랙톰이 제공될 수 있다.

[서열 번호 10]

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**HC**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(W)-(C)-(X_{13}) (서열 번호 10)

상기 서열 번호 10의 상기 X_1은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 서열 번호 10의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 C는 시스테인(Cysteine; Cys; C)이다.

상기 A는 알라닌(Alanine; Ala; A)이다.

상기 W는 트립토판(Tryptophan; Trp; W)이다.

상기 H는 히스티딘(Histidine; His; H)이다.

상기 HC는 호모시스테인(Homocysteine; HC)이다.

상기 G는 글라이신(Glycine; Gly; G)이다.

상기 E는 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E)이다.

상기 L은 류신(Leucine; Leu; L)이다.

상기 V는 발린(Valine; Val; V)이다.

상기 서열 번호 10의 위치 특이적 인터랙톰은 특정 분자에 대한 결합력을 가지는 것일 수 있다.

상기 특정 분자는, 항체일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG의 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG1의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG2의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다.

상기 특정 분자는 항체 IgG의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG1의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG2의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 단백질은 항체, 항체 변형체 및 융합 단백질 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본 명세서에 개시된 또다른 구현예에 의하면, 하기 서열 번호 11의 위치 특이적 인터랙톰이 제공될 수 있다.

[서열 번호 11]

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**HC**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(Np)-(C)-(X_{13}) (서열 번호 11)

상기 서열 번호 11의 상기 X_1은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 서열 번호 11의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산일 수 있다. 상기 임의의 아미노산은 천연 아미

노산 또는 비천연 아미노산 일 수 있다.

상기 C는 시스테인(Cysteine; Cys; C)이다.

상기 A는 알라닌(Alanine; Ala; A)이다.

상기 W는 트립토판(Tryptophan; Trp; W)이다.

상기 H는 히스티딘(Histidine; His; H)이다.

상기 HC는 호모시스테인(Homocysteine; HC)이다.

상기 G는 글라이신(Glycine; Gly; G)이다.

상기 E는 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E)이다.

상기 L은 류신(Leucine; Leu; L)이다.

상기 V는 발린(Valine; Val; V)이다.

상기 Np는 나프틸알라닌(Naphthylalanine)이다.

상기 서열 번호 11의 위치 특이적 인터랙톰은 특정 분자에 대한 결합력을 가지는 것일 수 있다.

상기 특정 분자는, 항체일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG의 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG1의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG2의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인 일 수 있다.

상기 특정 분자는 항체 IgG의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG1의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 특정 분자는 항체 IgG2의 인간 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 단백질일 수 있다. 상기 단백질은 항체, 항체 변형체 및 융합 단백질 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

3. 항체의 CH2 도메인 (CH2-CH3 Domains of Antibody)

본 명세서에 개시된 또다른 양태에 의하면, 항체(Antibody)의 CH2 도메인(2 또는 8)이 이용될 수 있다.

상기 CH2 도메인은 항체 IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE 중 어느 하나 이상에 포함된 것일 수 있다. 상기 IgG는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 중 어느 하나 이상일 수 있다.

항체의 CH2 도메인(CH2 Domains of Antibody)

본 명세서에 개시된 일 실시예에 의하면, 항체의 CH2 도메인(2 또는 8)이 이용될 수 있다.

상기 CH2 도메인은 IgG CH2 도메인을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함하는 것일 수 있다.

상기 CH2 도메인은 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함하는 것일 수 있다. 상기 IgG1의 상기 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 IgG1는 상기 CH2를 1, 2, 3 또는 4 도메인 포함할 수 있다.

상기 CH2 도메인은 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함하는 것일 수 있다. 상기 IgG2의 상기 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 IgG2는 상기 CH2를 1, 2, 3 또는 4 도메인 포함할 수 있다.

항체의 CH2-CH3 도메인(CH2-CH3 Domains of Antibody)

본 명세서에 개시된 다른 실시예에 의하면, 항체의 CH2-CH3 도메인(13 또는 14)이 이용될 수 있다.

상기 CH2-CH3 도메인은 CH2 도메인 및 CH3 도메인이 연결된 구조일 수 있다. 상기 CH2 및 상기 CH3는 Craft Region에 의해 연결된 것일 수 있다. 상기 CH2 및 상기 CH3는 가교제(Cross Linking Agent)에 의해 연결된 것일 수 있다.

상기 CH2-CH3 도메인은 IgG CH2-CH3 도메인을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH3 도메인은 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함하는 것일 수 있다.

상기 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함하는 것일 수 있다. 상기 IgG1의 상기 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 IgG1의 상기 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 IgG1는 상기 CH2를 1, 2, 3 또는 4 도메인 포함할 수 있다. 상기 IgG1는 상기 CH3를 1, 2, 3 또는 4 도메인 포함할 수 있다.

상기 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함하는 것일 수 있다. 상기

IgG2의 상기 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 IgG2의 상기 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 IgG2는 상기 CH2를 1, 2, 3 또는 4 도메인 포함할 수 있다. 상기 IgG2는 상기 CH3를 1, 2, 3 또는 4 도메인 포함할 수 있다.

항체 (Antibody)

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면, 항체(Antibody)가 이용될 수 있다.

상기 항체는 IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG 는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 항체는 가변부(Variable Region)(4, 6, 10, 12) 및 불변부(Constant Region)(1, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 11)를 포함할 수 있다.

상기 가변부(4, 6, 10, 12)는 경쇄 가변부(Light Chain Variable Region)(6, 12) 및 중쇄 가변부(Heavy Chain Variable Region) (4, 10) 를 포함할 수 있다.

상기 가변부는 초가변 영역(hypervariable region; HVR) 및 프레임워크 영역(Framework Region; FR)을 포함할 수 있다. 상기 초가변 영역(hypervariable region; HVR)은 상보성 결정부(complementarity determining region; CDR)을 의미할 수 있다.

상기 경쇄 가변부는 경쇄 초가변 영역 및 경쇄 프레임워크 영역을 포함할 수 있다. 상기 경쇄 초가변 영역은 CDR L1, CDR L2 및 CDR L3을 포함할 수 있다. 상기 경쇄 프레임워크 영역은 FR L1, FR L2, FR L3 및 FR L4을 포함할 수 있다. 항체는 상기 CDR L1, CDR L2 및 CDR L3을 각각 2 도메인 포함할 수 있다. 상기 항체는 상기 FR L1, FR L2, FR L3 및 FR L4을 각각 2 도메인 포함할 수 있다.

상기 중쇄 가변부는 중쇄 초가변 영역 및 중쇄 프레임워크 영역을 포함할 수 있다. 상기 중쇄 초가변 영역은 CDR H1, CDR H2 및 CDR H3을 포함할 수 있다. 상기 중쇄 프레임워크 영역은 FR H1, FR H2, FR H3 및 FR H4을 포함할 수 있다. 상기 항체는 상기 CDR H1, CDR H2 및 CDR H3을 각각 2 도메인 포함할 수 있다. 상기 항체는 상기 FR H1, FR H2, FR H3 및 FR H4을 각각 2 도메인 포함할 수 있다.

상기 불변부(1, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 11)는 경쇄 불변부(Light Chain Constant Region)(5, 11) 및 중쇄 불변부(Heavy Chain Constant Region)(1, 2, 3, 7, 8, 9)를 포함할 수 있다.

상기 경쇄 불변부(5, 11)는 CL을 포함할 수 있다. 상기 항체는 제1 CL(5) 및/또는 제 2CL(11)을 포함할 수 있다.

상기 중쇄 불변부는 CH1, CH2 및 CH3 또는 CH1, CH2, CH3 및 CH4를 포함할 수 있다. 예로, 상기 IgG, IgD 및 IgA는 CH1, CH2 및 CH3을 포함할 수 있다. 예로, 상기 IgE 및 IgM은 CH1, CH2, CH3 및 CH4을 포함할 수 있다. 상기 항체는 상기 CH1, CH2 및 CH3을 각각 2 도메인 포함할 수 있다. 상기 항체는 상기 CH1, CH2, CH3 및 CH4을 각각 2 도메인 포함할 수 있다.

상기 IgG는 불변부에 γ-중쇄(Gamma Heavy Chain)를 포함할 수 있다. 상기IgM은 불변부에 μ-중쇄(Mu Heavy Chain)을 포함할 수 있다. 상기 IgA는 불변부에 α-중쇄(Alpha Heavy Chain)을 포함할 수 있다. 상기 IgD는 불변부에 δ-중쇄(Delta Heavy Chain)을 포함할 수 있다. 상기 IgE는 불변부에 ε-중쇄(Epsilon Heavy Chain)을 포함할 수 있다

상기 가변부의 VL(6, 12), VH(4, 10) 및 상기 불변부의 CL(5, 11), CH1(3, 9)은 Fab 영역(Antigen-binding Fragment; 항원 결합 부위 Fab)를 구성할 수 있다.

상기 불변부의 CH2(2, 8) 및 CH3(1, 7) 또는 CH2, CH3 및 CH4는 Fc 영역(Fragment Crystallizable Region; Fc Region)를 구성할 수 있다.

상기 Fab영역의 중쇄(3, 9) 및 상기 Fc영역의 중쇄(13, 14)는 경첩 영역(Hinge Region)에 의하여 연결될 수 있다.

상기 항체는 키메릭 항체(Chimeric Antibody), 인간화 항체(Humanized Antibody) 및 인간 항체(Human Antibody) 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 키메릭 항체는 상기 Fab를 구성하는 일 구성요소의 유전자가 이종 유래인 것을 의미할 수 있다. 상기 키메릭 항체는 가변부 및 불변부를 구성하는 유전자가 이종 유래인 것을 의미할 수 있다. 예를 들어, 상기 키메릭 항체는 상기 가변부가 마우스 유전자 서열로부터 유래되고, 상기 불변부가 인간 유전자 서열로부터 유래된 것을 의미할 수 있다.

상기 인간화 항체는 상기 가변부를 구성하는 일 구성요소의 유전자가 이종 유래인 것을 의미할 수 있다. 상기 인간화 항체는 가변부 상보성 결정부 및 프레임워크 영역을 구성하는 유전자가 이종 유래인 것을 의미할 수 있다. 예를 들어, 상기 인간화 항체는 상기 가변부 상보성 결정부가 마우스 유전자 서열로부터 유래되고, 상기 가변부 프레임워크 영역이 인간 유전자 서열로부터 유래된 것을 의미할 수 있다.

상기 인간 항체는 불변부, 가변부 상보성 결정부 및 가변부 프레임워크 영역의 유전자가 인간 유래인 것을 의미할 수 있다.

면역글로불린 G (Immunoglobulin G; IgG)

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, IgG(Immunoglobulin G)가 이용될 수 있다.

상기 IgG 는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 중 어느 하나 이상일 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에서 제공하는 일 실시예에 의하면, 상기 IgG1 및 IgG2 중 어느 하나 이상이 이용될 수 있다.

상기 IgG는 가변부(Variable Region)(4, 6, 10, 12) 및 불변부(Constant Region)(1, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 11)를 포함할 수 있다.

상기 IgG의 상기 가변부(4, 6, 10, 12)는 경쇄 가변부(Light Chain Variable Region)(6, 12) 및 중쇄 가변부(Heavy Chain Variable Region) (4, 10) 를 포함할 수 있다.

상기 IgG의 상기 가변부는 초가변 영역(hypervariable region; HVR) 및 프레임워크 영역(Framework Region; FR)을 포함할 수 있다. 상기 초가변 영역(hypervariable region; HVR)은 상보성 결정부(complementarity determining region; CDR)을 의미할 수 있다.

상기 IgG의 상기 경쇄 가변부는 경쇄 초가변 영역 및 경쇄 프레임워크 영역을 포함할 수 있다. 상기 경쇄 초가변 영역은 CDR L1, CDR L2 및 CDR L3을 포함할 수 있다. 상기 경쇄 프레임워크 영역은 FR L1, FR L2, FR L3 및 FR L4을 포함할 수 있다. 상기 IgG는 상기 CDR L1, CDR L2 및 CDR L3을 각각 2 도메인 포함할 수 있다. 상기 IgG는 상기 FR L1, FR L2, FR L3 및 FR L4을 각각 2 도메인 포함할 수 있다.

상기 IgG의 상기 중쇄 가변부는 중쇄 초가변 영역 및 중쇄 프레임워크 영역을 포함할 수 있다. 상기 중쇄 초가변 영역은 CDR H1, CDR H2 및 CDR H3을 포함할 수 있다. 상기 중쇄 프레임워크 영역은 FR H1, FR H2, FR H3 및 FR H4을 포함할 수 있다. 상기 IgG는 상기 CDR H1, CDR H2 및 CDR H3을 각각 2 도메인 포함할 수 있다. 상기 IgG는 상기 FR H1, FR H2, FR H3 및 FR H4을 각각 2 도메인 포함할 수 있다.

상기 IgG의 상기 불변부(1, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 11)는 경쇄 불변부(Light Chain Constant Region)(5, 11) 및 중쇄 불변부(Heavy Chain Constant Region)(1, 2, 3, 7, 8, 9)를 포함할 수 있다.

상기 경쇄 불변부(5, 11)는 CL을 포함할 수 있다. 상기 항체는 제1 CL(5) 및/또는 제 2CL(11)을 포함할 수 있다.

상기 IgG의 상기 중쇄 불변부는 CH1, CH2 및 CH3를 포함할 수 있다. 상기 IgG는 상기 CH1, CH2 및 CH3을 각각 2 도메인 포함할 수 있다.

상기 IgG는 불변부에 γ-중쇄(Gamma Heavy Chain)를 포함할 수 있다.

상기 IgG의 상기 가변부의 VL(6, 12), VH(4, 10) 및 상기 불변부의 CL(5, 11), CH1(3, 9)은 Fab 영역(Antigen-binding Fragment; 항원 결합 부위 Fab)를 구성할 수 있다.

상기 IgG의 상기 불변부의 CH2(2, 8) 및 CH3(1, 7)은 Fc 영역(Fragment Crystallizable Region; Fc Region)(13, 14)를 구성할 수 있다.

상기 IgG의 상기 Fab영역의 중쇄(3, 9) 및 상기 Fc영역의 중쇄(13, 14)는 경첩 영역(Hinge Region)에 의하여 연결될 수 있다.

상기 IgG는 키메릭 항체(Chimeric Antibody) IgG, 인간화 항체(Humanized Antibody) IgG 및 인간 항체(Human Antibody) IgG 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 키메릭 항체 IgG는 상기 Fab를 구성하는 일 구성요소의 유전자가 이종 유래인 것을 의미할 수 있다. 상기 키메릭 항체 IgG는 가변부 및 불변부를 구성하는 유전자가 이종 유래인 것을 의미할 수 있다. 예를 들어, 상기 키메릭 항체는 상기 가변부가 마우스 *IgG* 유전자 서열로부터 유래되고, 상기 불변부가 인간 *IgG* 유전자 서열로부터 유래된 것을 의미할 수 있다.

상기 인간화 항체 IgG는 상기 가변부를 구성하는 일 구성요소의 유전자가 이종 유래인 것을 의미할 수 있다. 상기 인간화 항체 IgG는 가변부 상보성 결정부 및 프레임워크 영역을 구성하는 유전자가 이종 유래인 것을 의미할 수 있다. 예를 들어, 상기 인간화 항체는 상기 가변부 상보성 결정부가 마우스 *IgG* 유전자 서열로부터 유래되고, 상기 가변부 프레임워크 영역이 인간 *IgG* 유전자 서열로부터 유래된 것을 의미할 수 있다.

상기 인간 항체 IgG는 불변부, 가변부 상보성 결정부 및 가변부 프레임워크 영역의 유전자가 인간 *IgG* 유전자 서열 유래인 것을 의미할 수 있다.

상기 IgG1은 인간 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 IgG1은 인간 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 상기 IgG1의 상기 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 IgG1의 상기 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 IgG1는 상기 CH2를 2 도메인 포함할 수 있다. 상기 IgG1는 상기 CH3를 2 도메인 포함할 수 있다.

상기 IgG2은 인간 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 IgG2은 인간 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 상기 IgG2의 상기 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 IgG2의 상기 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 IgG2는 상기 CH2를 2 도메인 포함할 수 있다. 상기 IgG2는 상기 CH3를 2 도메인 포함할 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구체예에 의하면, 상기 IgG의 일 예로, 허셉틴(Herceptin)이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

항체 변형체(Antibody Variant)

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면, 항체 변형체(Antibody Variant)가 이용될 수 있다.

상기 항체 변형체는 Fab(antigen-binding fragment), F(ab)'2, Monospecific Fab2, Bispecific Fab2, Trispecific Fab2, Monovalent Ig, scFv(single-chain variable fragment), Bispecific Diabody, scFv-Fc(single-chain variable fragment-fragment crystallizable), Minibody, IgNAR(immunoglobulin new antigen receptor), V-NAR(Variable-New Antigen Receptor), hcIgG(heavy chain Immunoglobulin G), 및 VhH(variable domain of heavy chain antibody) 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 항체 변형체는 키메릭 항체 변형체(Chimeric Antibody Variant), 인간화 항체 변형체(Humanized Antibody Variant) 및 인간 항체 변형체(Human Antibody Variant) 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 항체 변형체는 IgG 변형체, IgM 변형체, IgA 변형체, IgD 변형체 및 IgE 변형체 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG 변형체는 IgG1 변형체, IgG2 변형체, IgG3 변형체 및 IgG4 변형체 중 어느 하나 이상일 수 있다

상기 항체 변형체는 IgG CH2-CH3 도메인을 포함하는 것일 수 있다.

상기 항체 변형체는 인간 *IgG CH2-CH3* 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 것일 수 있다.

상기 항체 변형체는 인간 *IgG1 CH2-CH3* 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 것일 수 있다.

상기 IgG1의 상기 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 IgG1의 상기 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 IgG1는 상기 CH2를 1, 2, 3 또는 4 도메인 포함할 수 있다. 상기 IgG1는 상기 CH3를 1, 2, 3 또는 4 도메인 포함할 수 있다.

상기 항체 변형체는 인간 *IgG2 CH2-CH3* 유전자 유래 CH2-CH3 도메인을 포함하는 것일 수 있다

상기 IgG2의 상기 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 IgG2의 상기 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 IgG2는 상기 CH2를 1, 2, 3 또는 4 도메인 포함할 수 있다. 상기 IgG2는 상기 CH3를 1, 2, 3 또는 4 도메인 포함할 수 있다.

융합 단백질(Fusion Protein)

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면, 융합 단백질(Fusion Protein)이 이용될 수 있다.

상기 융합 단백질은 표적 물질 및 항체의 CH2-CH3 도메인이 연결된 구조일 수 있다. 상기 표적 물질은 상기 CH2-CH3 도메인의 일 영역에 연결된 구조일 수 있다. 상기 표적 물질 및 상기 CH2-CH3 도메인은 Linking Peptide에 의해 연결된 것일 수 있다. 상기 표적 물질 및 상기 CH2-CH3 도메인은 가교제(Cross Linking Agent)에 의해 연결된 것일 수 있다.

상기 표적 물질은 항체의 가변부, 특정 분자와 상호작용하는 펩타이드, 특정 분자와 상호작용하는 단백질, 특정 분자와 상호작용하는 화합물 및 특정 분자와 상호작용하는 핵산 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 CH2-CH3 도메인은 IgG CH2-CH3 도메인을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인은 인간 IgG CH2 유전자 유래 CH2 도메인을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH3 도메인은 인간 IgG CH3 유전자 유래 CH3 도메인을 포함하는 것일 수 있다.

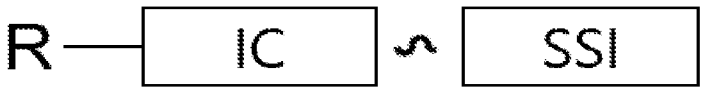
상기 CH2-CH3 도메인은 인간 IgG1 CH2 유전자 유래 CH2 도메인을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인은 인간 IgG1 CH3 유전자 유래 CH3 도메인을 포함하는 것일 수 있다. 상기 IgG1의 상기 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 IgG1의 상기 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 IgG1는 상기 CH2를 1, 2, 3 또는 4 도메인 포함할 수 있다. 상기 IgG1는 상기 CH3를 1, 2, 3 또는 4 도메인 포함할 수 있다.

상기 CH2-CH3 도메인은 인간 IgG2 CH2 유전자 유래 CH2 도메인을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인은 인간 IgG2 CH3 유전자 유래 CH3 도메인을 포함하는 것일 수 있다. 상기 IgG2의 상기 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 IgG2의 상기 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 IgG2는 상기 CH2를 1, 2, 3 또는 4 도메인 포함할 수 있다. 상기 IgG2는 상기 CH3를 1, 2, 3 또는 4 도메인 포함할 수 있다.

상기 융합 단백질은 전술한 표적 물질 및 CH2-CH3 도메인 외 부가적인 구조체를 가질 수 있다.

4. 위치 특이적 인터랙톰-IC-R 복합체 (SSI-IC-R)

본 명세서에 개시된 또다른 양태에 의하면, 하기 IC의 구조 및 위치 특이적 인터랙톰의 구조를 포함하는 SSI-IC-R 화합물 (300)이 제공될 수 있다.

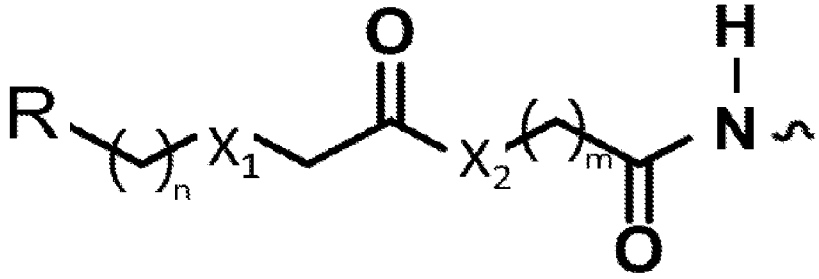


상기 SSI-IC-R 에서, R(102)은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 IC 및 상기 위치 특이적 인터랙톰(SSI)는 전술하였다.

본 명세서에 개시된 일 실시예에 의하면, 하기 화학식 20의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 20]



상기 화학식 20에서, X_1은 S, O, NH, Se 및 CH_2 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 20에서, X_2는 S, O, NH 및 Se 중 어느 하나일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 S이고, X_2는 S일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 S이고, X_2는 O일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 S이고, X_2는 NH일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 S이고, X_2는 Se일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 O이고, X_2는 S일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 O이고, X_2는 O일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 O이고, X_2는 NH일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 O이고, X_2는 Se일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 NH이고, X_2는 S일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 NH이고, X_2는 O일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 NH이고, X_2는 NH일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 NH이고, X_2는 Se일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 Se이고, X_2는 S일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 Se이고, X_2는 O일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 Se이고, X_2는 NH일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 Se이고, X_2는 Se일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 CH_2이고, X_2는 S일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 CH_2이고, X_2는 O일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 CH_2이고, X_2는 NH일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 20에서, X_1은 CH_2이고, X_2는 Se일 수 있다.

상기 화학식 20에서, R(102)은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다.

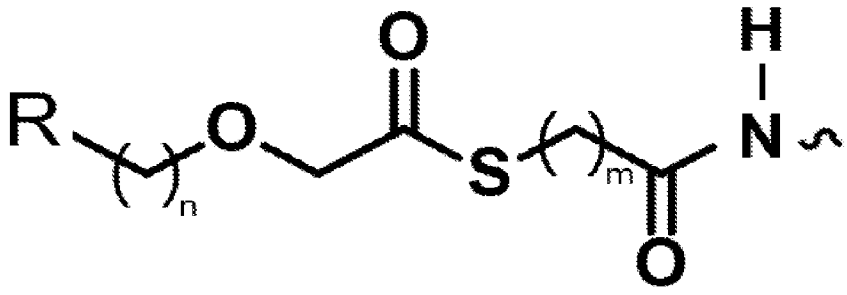
상기 화학식 20에서, m 및 n은 각각 0 또는 자연수 일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물 및 상기 페이로드는 전술하였다.

상기 –NH는 아민기(Amine Group)로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –NH는 일 아미노산의 하나의 아민 잔기(Amine Residue)로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –NH는 일 펩타이드 물질에 포함된 하나의 아민기 또는 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –NH는 비-펩타이드 물질에 포함된 하나의 아민기 또는 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 21의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 21]

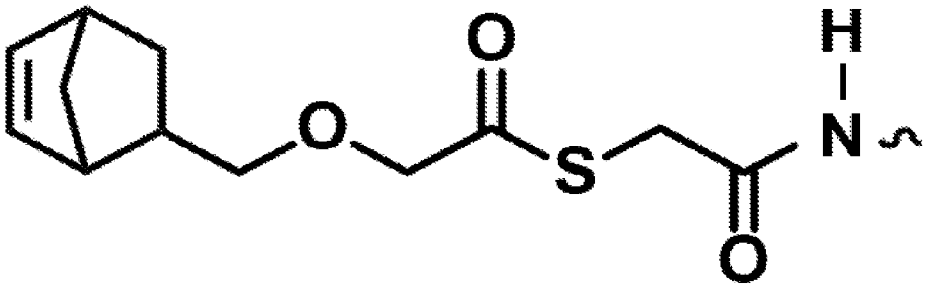


상기 화학식 21에서, R(102)은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 21에서, m 및 n은 각각 0 또는 자연수 일 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구체예에 의하면, 하기 화학식 22의 화합물이 제공될 수 있다.

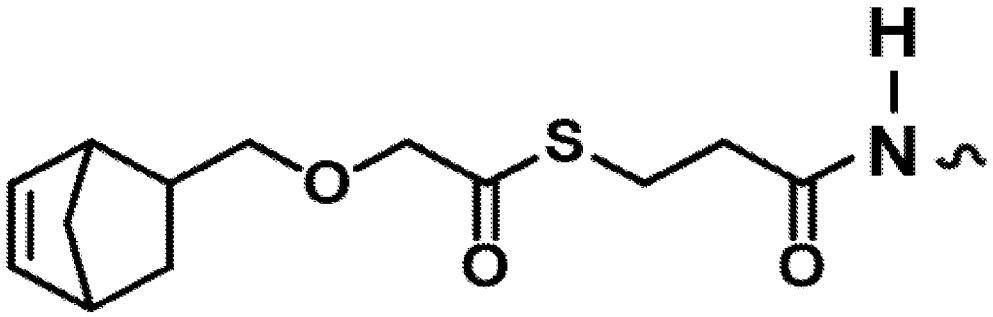
[화학식 22]



상기 화학식 22의 상기 –NH는 일 펩타이드 물질에 포함된 하나의 아민기 또는 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 화학식 22의 상기 –NH는 상기 위치 특이적 인터랙톰에 포함된 하나의 아민기 또는 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 화학식 12의 상기 –NH는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –NH는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**의 X_6에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–NH는 상기 서열 번호 1의 위치 특이적 인터랙톰의 K에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–NH는 상기 서열 번호 2의 위치 특이적 인터랙톰의 K에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–NH는 상기 서열 번호 4의 위치 특이적 인터랙톰의 Orn에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–NH는 상기 서열 번호 5의 위치 특이적 인터랙톰의 Orn에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–NH는 상기 서열 번호 7의 위치 특이적 인터랙톰의 β-AA에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–NH는 상기 서열 번호 8의 위치 특이적 인터랙톰의 β-AA에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다.

본 명세서에 개시된 다른 구체예에 의하면, 하기 화학식 23의 화합물이 제공될 수 있다.

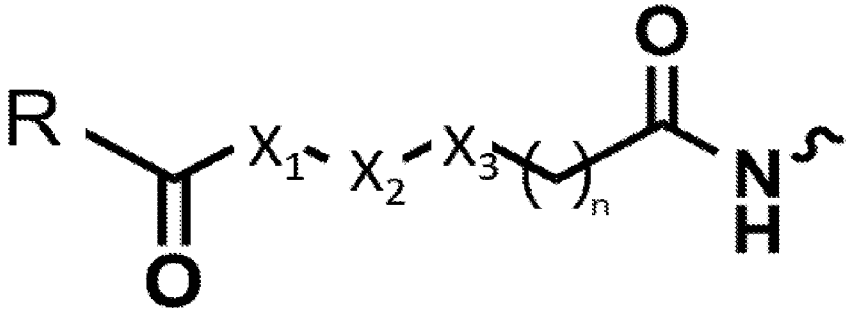
[화학식 23]



상기 화학식 23의 상기 –NH는 일 펩타이드 물질에 포함된 하나의 아민기 또는 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 화학식 23의 상기 –NH는 상기 위치 특이적 인터랙톰에 포함된 하나의 아민기 또는 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 화학식 23의 상기 –NH는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –NH는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**의 X_6에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–NH는 상기 서열 번호 1의 위치 특이적 인터랙톰의 K에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–NH는 상기 서열 번호 2의 위치 특이적 인터랙톰의 K에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–NH는 상기 서열 번호 4의 위치 특이적 인터랙톰의 Orn에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–NH는 상기 서열 번호 5의 위치 특이적 인터랙톰의 Orn에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–NH는 상기 서열 번호 7의 위치 특이적 인터랙톰의 β-AA에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–NH는 상기 서열 번호 8의 위치 특이적 인터랙톰의 β-AA에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다.

본 명세서에 개시된 다른 실시예에 의하면, 하기 화학식 24의 화합물이 제공될 수 있다

[화학식 24]



상기 화학식 24에서, X_1은 S, O 및 NH 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 24에서, X_2는 NCH_3, S, O, NH 및 CH_2 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 24에서, X_3은 C=O(carbonyl), S, O, NH 및 CH_2 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 24에서, X_3가 C=O일 때, X_1은 X_2 보다 음이온이 되기 쉽다.

상기 화학식 24에서, X_3가 C=O일 때, X_1은 X_2 보다 음이온이 되려는 경향이 클 수 있다.

상기 화학식 24에서, X_3가 C=O일 때, X_1의 전자친화도보다 X_2 전자친화도보다 클 수 있다.

상기 화학식 24에서, X_3가 C=O일 때, X_1의 원자의 크기가 X_2 의 원자의 크기보다 클 수 있다.

상기 화학식 24에서, X_3가 C=O일 때, X_1의 음이온이 X_2 의 음이온보다 안정할 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 S이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 S이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 S이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 S이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 S이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 O이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 O이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 O이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 O이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 O이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 NH이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 NH이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 NH이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 NH이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 NH이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 S이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 S이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 S이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 S이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 S이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 S이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 O이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 O이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 O이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 O이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 O이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 NH이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 NH이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 NH이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 NH이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 NH이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 O이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 S이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NHS이고, X_2는 S이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 S이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NHS이고, X_2는 S이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 S이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 O이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 O이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 O이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 O이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 O이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 NH이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 NH이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 NH이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 NH이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 NH이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 24에서, X_1은 NH이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

상기 화학식 24에서, R(102)은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다.

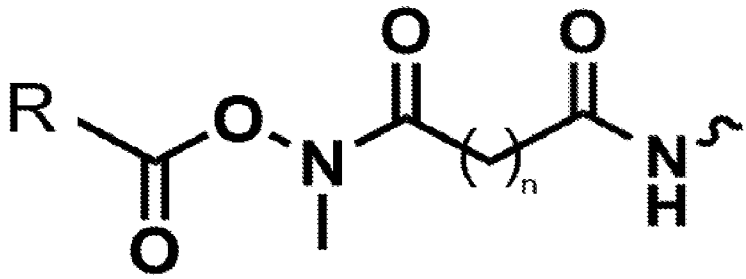
상기 화학식 24에서, n은 0 또는 자연수 일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물 및 상기 페이로드는 전술하였다.

상기 –NH는 아민기(Amine Group)로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –NH는 일 아미노산의 하나의 아민 잔기(Amine Residue)로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –NH는 일 펩타이드 물질에 포함된 하나의 아민기 또는 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –NH는 비-펩타이드 물질에 포함된 하나의 아민기 또는 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 25의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 25]

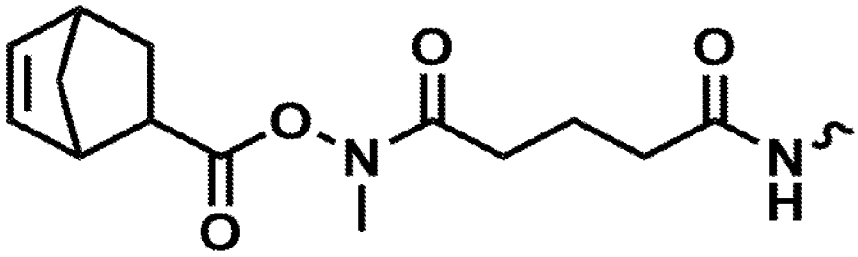


상기 화학식 25에서, R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 25에서, n은 0 또는 자연수 일 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구체예에 의하면, 하기 화학식 26의 화합물이 제공될 수 있다.

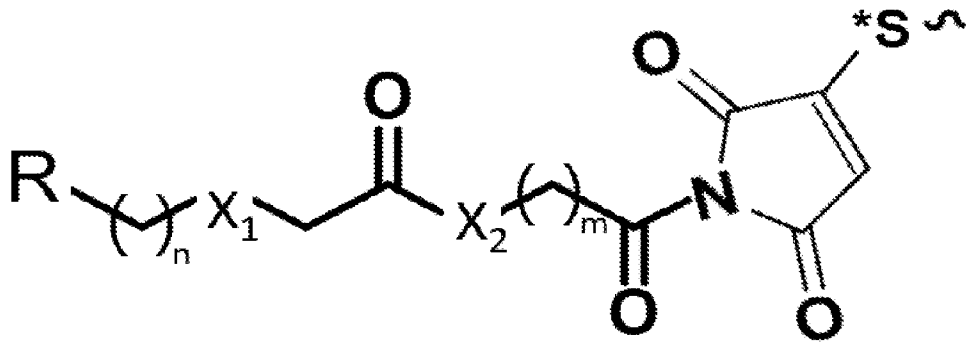
[화학식 26]



상기 화학식 26의 상기 –NH는 일 펩타이드 물질에 포함된 하나의 아민기 또는 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 화학식 26의 상기 –NH는 상기 위치 특이적 인터랙톰에 포함된 하나의 아민기 또는 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 화학식 26의 상기 –NH는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –NH는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**의 X_6에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–NH는 상기 서열 번호 1의 위치 특이적 인터랙톰의 K에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–NH는 상기 서열 번호 2의 위치 특이적 인터랙톰의 K에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–NH는 상기 서열 번호 4의 위치 특이적 인터랙톰의 Orn에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–NH는 상기 서열 번호 5의 위치 특이적 인터랙톰의 Orn에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–NH는 상기 서열 번호 7의 위치 특이적 인터랙톰의 β-AA에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–NH는 상기 서열 번호 8의 위치 특이적 인터랙톰의 β-AA에 포함된 아민 잔기로부터 제공된 것일 수 있다.

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면, 하기 화학식 27의 화합물이 제공될 수 있다

[화학식 27]



상기 화학식 27에서, X_1 은 S, O, NH, Se 및 CH_2 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 27에서, X_2는 S, O, NH 및 Se 중 어느 하나일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 S이고, X_2는 S일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 S이고, X_2는 O일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 S이고, X_2는 NH일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 S이고, X_2는 Se일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 O이고, X_2는 S일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 O이고, X_2는 O일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 O이고, X_2는 NH일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 O이고, X_2는 Se일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 NH이고, X_2는 S일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 NH이고, X_2는 O일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 NH이고, X_2는 NH일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 NH이고, X_2는 Se일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 Se이고, X_2는 S일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 Se이고, X_2는 O일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 Se이고, X_2는 NH일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 Se이고, X_2는 Se일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 CH_2이고, X_2는 S일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 CH_2이고, X_2는 O일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 CH_2이고, X_2는 NH일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 27에서, X_1은 CH_2이고, X_2는 Se일 수 있다.

상기 화학식 27에서, R(102)은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다.

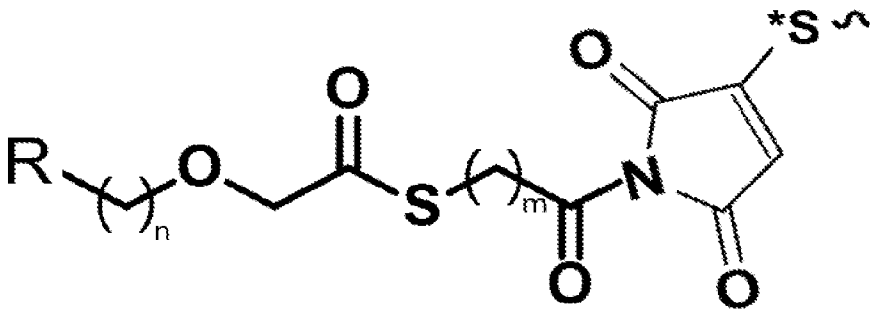
상기 화학식 27에서, m 및 n은 각각 0 또는 자연수 일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물 및 상기 페이로드는 전술하였다.

상기 –*S는 티올기(Thiol Group)로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –*S는 일 아미노산의 하나의 티올 잔기(Thiol Residue)로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –*S는 일 펩타이드 물질에 포함된 하나의 티올기 또는 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –*S는 비-펩타이드 물질에 포함된 하나의 티올기 또는 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 28의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 28]

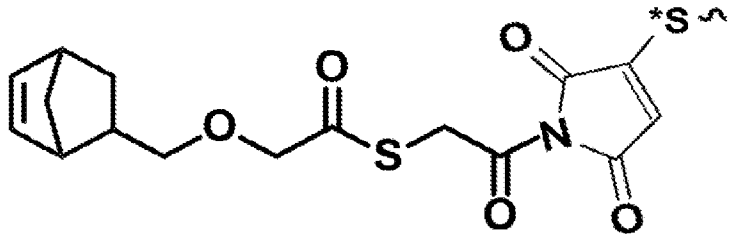


상기 화학식 28에서, R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 28에서, m 및 n은 각각 0 또는 자연수 일 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구체예에 의하면, 하기 화학식 29의 화합물이 제공될 수 있다.

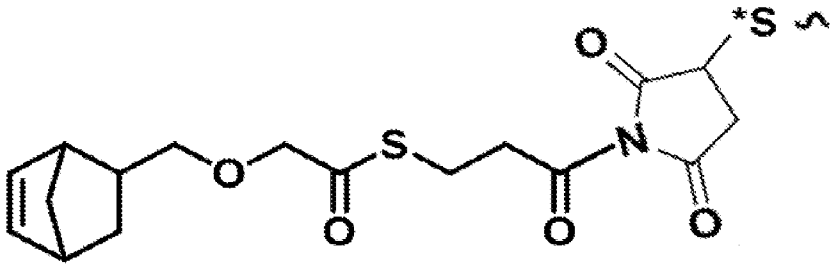
[화학식 29]



상기 화학식 29의 상기 –S*는 일 펩타이드 물질에 포함된 하나의 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 화학식 29의 상기 –S*는 상기 위치 특이적 인터랙톰에 포함된 하나의 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 화학식 17의 상기 –S*는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**에 포함된 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –S*는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**의 X_6에 포함된 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–S*는 상기 서열 번호 10의 위치 특이적 인터랙톰의 HC에 포함된 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –S*는 상기 서열 번호 11의 위치 특이적 인터랙톰의 HC에 포함된 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다.

본 명세서에 개시된 다른 구체예에 의하면, 하기 화학식 30의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 30]

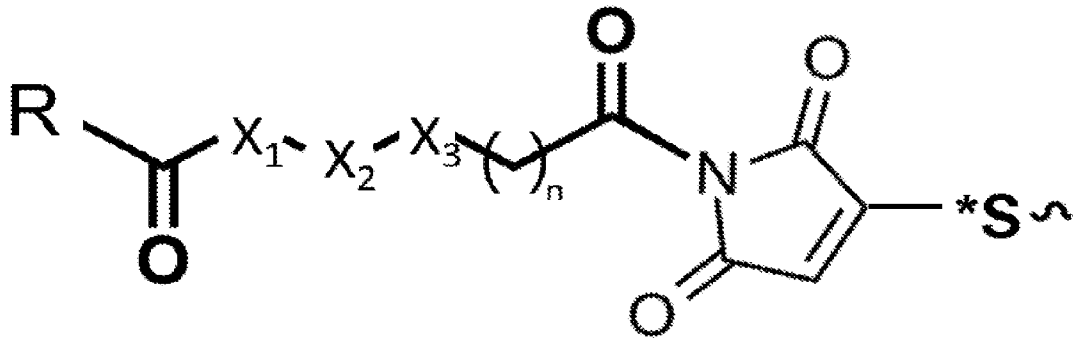


상기 화학식 30의 상기 –S*는 일 펩타이드 물질에 포함된 하나의 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 화학식 30의 상기 –S*는 상기 위치 특이적 인터랙톰에 포함된 하나의 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 화학식 30의 상기 –S*는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**에 포함된 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –S*는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**의 X_6에 포함된 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–S*는 상기 서열 번호 10의 위치 특이적 인터랙

톰의 HC에 포함된 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –S*는 상기 서열 번호 11의 위치 특이적 인터랙톰의 HC에 포함된 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다.

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면, 하기 화학식 31의 화합물이 제공될 수 있다

[화학식 31]



상기 화학식 31에서, X_1은 S, O 및 NH 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 31에서, X_2는 NCH_3, S, O, NH 및 CH_2 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 31에서, X_3은 C=O(carbonyl), S, O, NH 및 CH_2 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 31에서, X_3가 C=O일 때, X_1은 X_2 보다 음이온이 되기 쉽다.

상기 화학식 31에서, X_3가 C=O일 때, X_1은 X_2 보다 음이온이 되려는 경향이 클 수 있다.

상기 화학식 31에서, X_3가 C=O일 때, X_1의 전자친화도보다 X_2 전자친화도보다 클 수 있다.

상기 화학식 31에서, X_3가 C=O일 때, X_1의 원자의 크기가 X_2 의 원자의 크기보다 클 수 있다.

상기 화학식 31에서, X_3가 C=O일 때, X_1의 음이온이 X_2 의 음이온보다 안정할 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 S이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 S이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 S이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 S이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 S이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 O이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 O이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 O이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 O이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 O이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 NH이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 NH이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 NH이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 NH이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 NH이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 S이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 S이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 S이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 S이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 S이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 S이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 O이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 O이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 O이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 O이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 O이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 NH이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 NH이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 NH이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 NH이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 NH이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 O이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 NCH_3이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 S이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NHS이고, X_2는 S이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 S이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NHS이고, X_2는 S이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 S이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 O이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 O이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 O이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 O이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 O이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 NH이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 NH이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 NH이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 NH이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 NH이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 C=O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 S 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 O 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 NH 일 수 있다.

일 예로, 상기 화학식 31에서, X_1은 NH이고, X_2는 CH_2이고, X_3는 CH_2 일 수 있다.

상기 화학식 31에서, R(102)은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다.

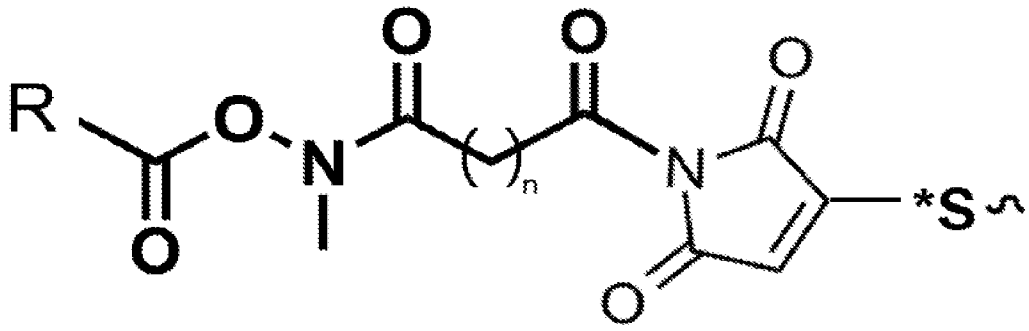
상기 화학식 31에서, n은 0 또는 자연수 일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물 및 상기 페이로드는 전술하였다.

상기 –*S는 티올기(Thiol Group)로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –*S는 일 아미노산의 하나의 티올 잔기(Thiol Residue)로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –*S는 일 펩타이드 물질에 포함된 하나의 티올기 또는 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –*S는 비-펩타이드 물질에 포함된 하나의 티올기 또는 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 32의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 32]

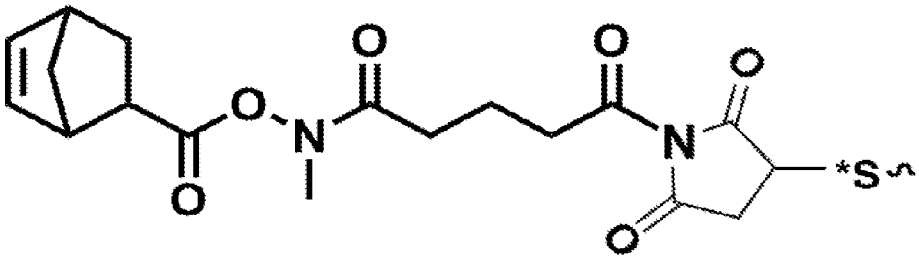


상기 화학식 32에서, R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 32에서, n은 0 또는 자연수 일 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구체예에 의하면, 하기 화학식 33의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 33]



상기 화학식 33의 상기 –S*는 일 펩타이드 물질에 포함된 하나의 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 화학식 33의 상기 –S*는 상기 위치 특이적 인터랙톰에 포함된 하나의 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 화학식 33의 상기 –S*는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**에 포함된 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –S*는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**의 X_6에 포함된 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기–S*는 상기 서열 번호 10의 위치 특이적 인터랙톰의 HC에 포함된 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 –S*는 상기 서열 번호 11의 위치 특이적 인터랙톰의 HC에 포함된 티올 잔기로부터 제공된 것일 수 있다.

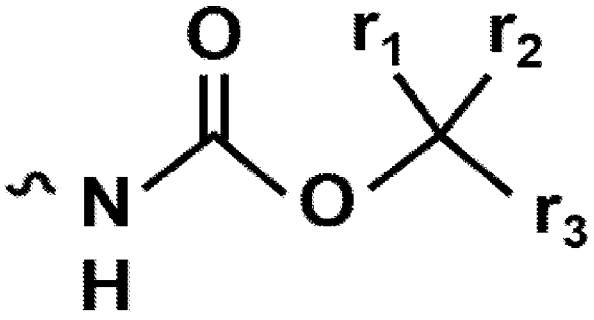
5. 단백질(Protein)의 아민기-R 단백질체

본 명세서에 개시된 또다른 양태에 의하면, R(102)을 포함하는 단백질체 (400)가 제공될 수 있다.

상기 R을 포함하는 단백질체(400)는 아민기 또는 아민 잔기를 포함하는 것일 수 있다.

상기 R을 포함하는 단백질체(400)는 하기 화학식 40의 구조를 포함할 수 있다.

[화학식 40]

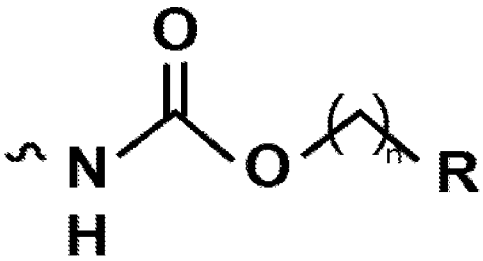


상기 화학식 40에서, r1 및 r2는 각각 H, 알킬, 아릴, 아릴알킬 및 헤테로사이클 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 40에서, 상기 r3은 R(102)을 포함할 수 있다. 상기 R(102)은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다. 예를 들어, 상기 R은 Norbornene일 수 있다.

예로, 상기 R을 포함하는 단백질체는 하기 화학식 41의 구조를 포함할 수 있다.

[화학식 41]

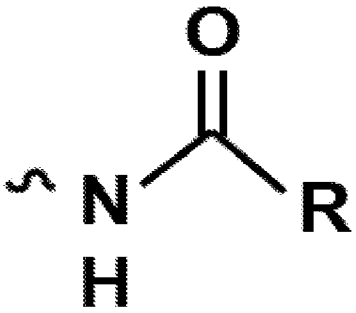


상기 화학식 41에서, n은 0 또는 자연수 일 수 있다.

상기 화학식 41에서, 상기 R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다. 예를 들어, 상기 R은 Norbornene일 수 있다.

상기 R을 포함하는 단백질체는 하기 화학식 42의 구조를 포함할 수 있다.

[화학식 42]



상기 화학식 42에서, 상기 R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다. 예를 들어, 상기 R은 Norbornene일 수 있다.

CH2-R

본 명세서에 개시된 일 실시예에 의하면, 상기 화학식 40 및 상기 화학식 42 중 어느 하나 이상의 구조를 포함하는 항체의 CH2 도메인 단백질체가 제공될 수 있다.

상기 화학식 40의 구조를 포함하는 항체의 CH2 도메인 단백질체는

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 알킬에스터(alkyl ester);를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터의 r1 및 r2는 각각 H, 알킬, 아릴, 아릴알킬 및 헤테로사이클 중 어느 하나이고,

상기 알킬에스터의 r3는 R를 포함한다.

이 때, 상기 R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나이다.

상기 화학식 42의 구조를 포함하는 항체의 CH2 도메인 단백질체는

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나인 R; 및

상기 R기 및 상기 아민기를 연결하는 케톤기; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나인 R은 전술하였다.

상기 항체의 CH2 도메인은 IgG의 CH2 도메인, IgM의 CH2 도메인, IgA의 CH2 도메인, IgD의 CH2 도메인 및 IgE의 CH2 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG의 CH2 도메인은 IgG1의 CH2 도메인, IgG2의 CH2 도메인, IgG3의 CH2 도메인 및 IgG4의 CH2 도메인 중 어느 하나 이상

일 수 있다

상기 항체의 CH2 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다.

상기 항체의 CH2 도메인은 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다. 상기 항체의 CH2 도메인은 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

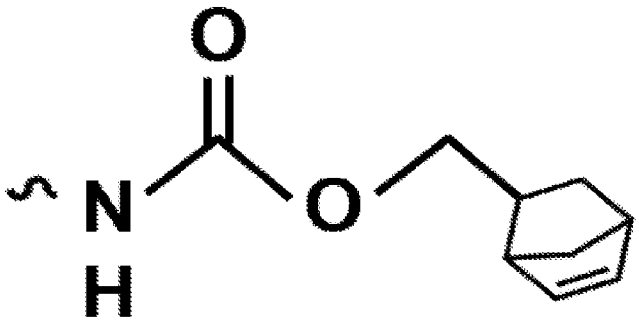
상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 43의 구조를 포함하는 항체의 CH2 도메인 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 43]



상기 화학식 43의 구조를 포함하는 항체의 CH2 도메인 단백질체는

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 알킬에스터;를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

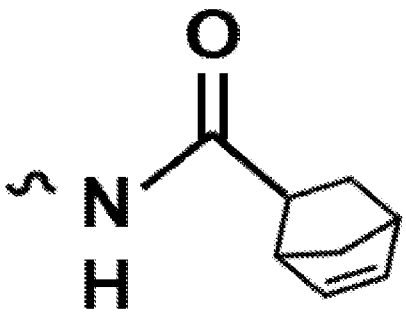
상기 알킬에스터는 Norbornene을 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

본 명세서에 개시된 다른 구현예에 의하면, 하기 화학식 44의 구조를 포함하는 항체의 CH2 도메인 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 44]



상기 화학식 44의 구조를 포함하는 항체의 CH2 도메인 단백질체는

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

Norbornene; 및

상기 Norbornene 및 상기 아민기를 연결하는 케톤기; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 특정 서열의 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다.

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

CH2-CH3-R

본 명세서에 개시된 일 실시예에 의하면, 상기 화학식 40 및 상기 화학식 42 중 어느 하나 이상의 구조를 포함하는 항체의 CH2-CH3 도메인 단백질체(400)가 제공될 수 있다.

상기 화학식 40의 구조를 포함하는 항체의 CH2-CH3 도메인 단백질체(400)는

상기 CH2-CH3 도메인(13, 14) 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 알킬에스터(alkyl ester);를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터의 r1 및 r2는 각각 H, 알킬, 아릴, 아릴알킬 및 헤테로사이클 중 어느 하나이고,

상기 알킬에스터의 r3는 R를 포함한다.

이 때, 상기 R(102)은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나이다.

상기 화학식 42의 구조를 포함하는 항체의 CH2-CH3 도메인 단백질체(400)는

상기 CH2-CH3 도메인(13, 14) 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나인 R; 및

상기 R(102)기 및 상기 아민기를 연결하는 케톤기; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH3 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나인 R(102)은 전술하였다.

상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 IgG의 CH2 도메인, IgM의 CH2 도메인, IgA의 CH2 도메인, IgD의 CH2 도메인, IgE의 CH2, IgG의 CH3 도메인, IgM의 CH3 도메인, IgA의 CH3 도메인, IgD의 CH3 도메인 및 IgE의 CH3 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG의 CH2 도메인은 IgG1의 CH2 도메인, IgG2의 CH2 도메인, IgG3의 CH2 도메인 및 IgG4의 CH2 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG의 CH3 도메인은 IgG1의 CH3 도메인, IgG2의 CH3 도메인, IgG3의 CH3 도메인 및 IgG4의 CH3 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다

상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체의 CH2 도메인은 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체의 CH3 도메인은 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH3 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

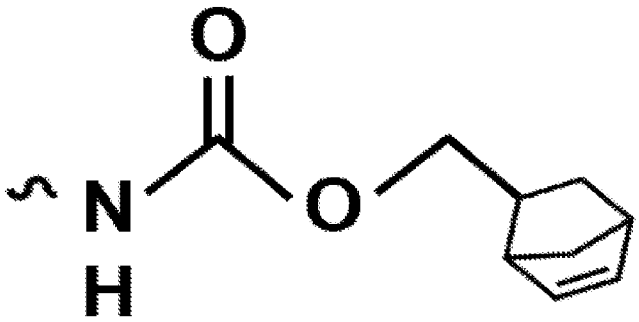
상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째

에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 43의 구조를 포함하는 항체의 CH2-CH3 도메인 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 43]



상기 화학식 43의 구조를 포함하는 항체의 CH2-CH3 도메인 단백질체는

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 알킬에스터;를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

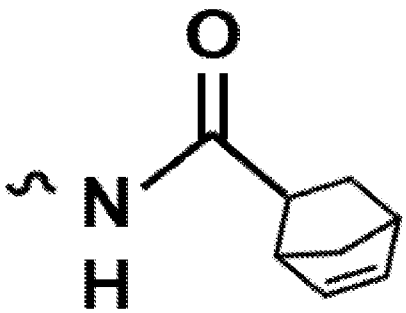
상기 알킬에스터는 Norbornene을 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

본 명세서에 개시된 다른 구현예에 의하면, 하기 화학식 44의 구조를 포함하는 항체의 CH2-CH3 도메인 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 44]



상기 화학식 44의 구조를 포함하는 항체의 CH2-CH3 도메인 단백질체는

상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

Norbornene; 및

상기 Norbornene 및 상기 아민기를 연결하는 케톤기; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH3 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 특정 서열의 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤

기에 R이 연결될 수 있다.

상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH3 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

Antibody-R

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면, 상기 화학식 40 및 상기 화학식 42 중 어느 하나 이상의 구조를 포함하는 항체(500)가 제공될 수 있다.

상기 화학식 40의 구조를 포함하는 항체(500)는

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 알킬에스터(alkyl ester);를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터의 r1 및 r2는 각각 H, 알킬, 아릴, 아릴알킬 및 헤테로사이클 중 어느 하나이고,

상기 알킬에스터의 r3는 R를 포함한다.

이 때, 상기 R(102)은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나이다.

상기 화학식 42의 구조를 포함하는 항체(500)는

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나인 R; 및

상기 R(102)기 및 상기 아민기를 연결하는 케톤기; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 항체에 포함된 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 항체에 포함된 CH3 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나인 R(102)은 전술하였다.

상기 항체는 키메릭 항체(Chimeric Antibody), 인간화 항체(Humanized Antibody) 및 인간 항체

(Human Antibody) 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 항체는 IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 중 어느 하나 이상일 수 있다

상기 항체는 인간 *IgG* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다.

상기 항체는 인간 *IgG1* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체는 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체는 인간 *IgG2* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체는 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 항체는 인간 *IgG1* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체는 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체는 인간 *IgG2* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체는 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH3 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤

기에 R이 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

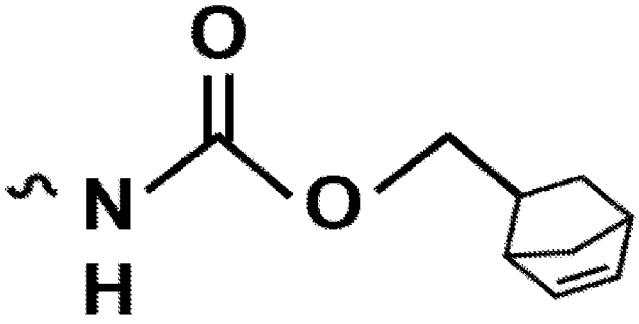
상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 43의 구조를 포함하는 항체가 제공될 수 있다.

[화학식 43]



상기 화학식 43의 구조를 포함하는 항체는

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 알킬에스터;를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

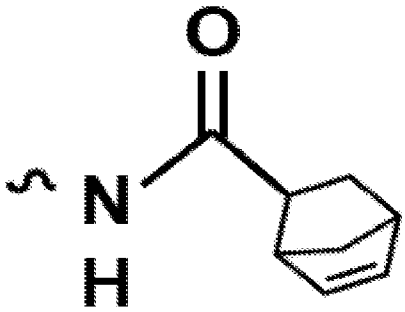
상기 알킬에스터는 Norbornene을 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

본 명세서에 개시된 다른 구현예에 의하면, 하기 화학식 44의 구조를 포함하는 항체가 제공될 수 있다.

[화학식 44]



상기 화학식 44의 구조를 포함하는 항체는

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

Norbornene; 및

상기 Norbornene 및 상기 아민기를 연결하는 케톤기; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 항체에 포함된 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 항체에 포함된 CH3 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 항체는 키메릭 항체(Chimeric Antibody), 인간화 항체(Humanized Antibody) 및 인간 항체(Human Antibody) 중 어느 하나 이상일 수 있다. 예로, 상기 항체는 트라스투주맙(Trastuzumab; Herceptin; 허셉틴), 베바시주맙(Bevacizumab; Avastin; 아바스틴) 및 세툭시맙(Cetuximab; Erbitux; 얼비툭스) 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 예로, 상기 항체는 상업적으로 구입 가능한 항체일 수 있다.

상기 항체는 IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 특정 서열의 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체는 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체는 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH3 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

Antibody variant-R

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면, 상기 화학식 40 및 상기 화학식 42 중 어느 하나 이상의 구조를 포함하는 항체 변형체가 제공될 수 있다.

상기 화학식 40의 구조를 포함하는 항체 변형체는

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 알킬에스터(alkyl ester);를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터의 r1 및 r2는 각각 H, 알킬, 아릴, 아릴알킬 및 헤테로사이클 중 어느 하나이고,

상기 알킬에스터의 r3는 R를 포함한다.

이 때, 상기 R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나이다.

상기 화학식 42의 구조를 포함하는 항체 변형체는

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나인 R; 및

상기 R기 및 상기 아민기를 연결하는 케톤기; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 항체 변형체에 포함된 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 항체 변형체에 포함된 CH3 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나인 R은 전술하였다.

상기 항체 변형체는 Fab(antigen-binding fragment), F(ab')2, Monospecific Fab2, Bispecific Fab2, Trispecific Fab2, Monovalent Ig, scFv(single-chain variable fragment), Bispecific Diabody, scFv-Fc(single-chain variable fragment-fragment crystallizable), Minibody, IgNAR(immunoglobulin new antigen receptor), V-NAR(Variable-New Antigen Receptor), hcIgG(heavy chain Immunoglobulin G), 및 VhH(variable domain of heavy chain antibody) 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 항체 변형체는 키메릭 항체 변형체(Chimeric Antibody Variant), 인간화 항체 변형체(Humanized Antibody Variant) 및 인간 항체 변형체(Human Antibody Variant) 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 항체 변형체는 IgG 변형체, IgM 변형체, IgA 변형체, IgD 변형체 및 IgE 변형체 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG 변형체는 IgG1 변형체, IgG2 변형체, IgG3 변형체 및 IgG4 변형체 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 항체 변형체는 인간 *IgG* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다.

상기 항체 변형체는 인간 *IgG1* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체 변형체는 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체 변형체는 인간 *IgG2* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체 변형체는 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 항체 변형체는 인간 *IgG1* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체 변형체는 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체 변형체는 인간 *IgG2* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체 변형체는 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH3 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째

에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

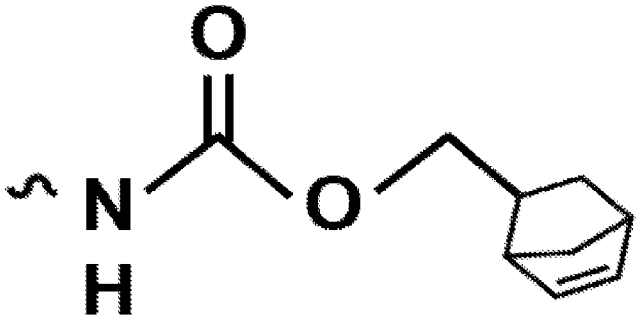
상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 43의 구조를 포함하는 항체 변형체가 제공될 수 있다.

[화학식 43]



상기 화학식 43의 구조를 포함하는 항체 변형체는

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 알킬에스터;를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

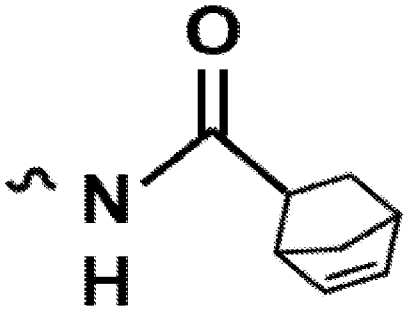
상기 알킬에스터는 Norbornene을 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

본 명세서에 개시된 다른 구현예에 의하면, 하기 화학식 44의 구조를 포함하는 항체 변형체가 제공될 수 있다.

[화학식 44]



상기 화학식 44의 구조를 포함하는 항체 변형체는

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

Norbornene; 및

상기 Norbornene 및 상기 아민기를 연결하는 케톤기; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 항체 변형체에 포함된 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 항체 변형체에 포함된 CH3 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 항체 변형체는 Fab(antigen-binding fragment), F(ab')2, Monospecific Fab2, Bispecific Fab2, Trispecific Fab2, Monovalent Ig, scFv(single-chain variable fragment), Bispecific Diabody, scFv-Fc(single-chain variable fragment-fragment crystallizable), Minibody, IgNAR(immunoglobulin new

antigen receptor), V-NAR(Variable-New Antigen Receptor), hcIgG(heavy chain Immunoglobulin G), 및 VhH(variable domain of heavy chain antibody) 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 항체 변형체는 키메릭 항체 변형체(Chimeric Antibody Variant), 인간화 항체 변형체(Humanized Antibody Variant) 및 인간 항체 변형체(Human Antibody Variant) 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 항체 변형체는 IgG 변형체, IgM 변형체, IgA 변형체, IgD 변형체 및 IgE 변형체 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG 변형체는 IgG1 변형체, IgG2 변형체, IgG3 변형체 및 IgG4 변형체 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 특정 서열의 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 변형체는 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체 변형체는 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH3 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤

기에 R이 연결될 수 있다.

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

융합 단백질 (CH2 + Target Protein)- R

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면, 상기 화학식 40 및 상기 화학식 42 중 어느 하나 이상의 구조를 포함하는 융합 단백질체가 제공될 수 있다.

상기 화학식 40의 구조를 포함하는 융합 단백질체는

상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 알킬에스터(alkyl ester);를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터의 r1 및 r2는 각각 H, 알킬, 아릴, 아릴알킬 및 헤테로사이클 중 어느 하나이고,

상기 알킬에스터의 r3는 R를 포함한다.

이 때, 상기 R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나이다.

상기 화학식 42의 구조를 포함하는 융합 단백질체는

상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나인 R; 및

상기 R기 및 상기 아민기를 연결하는 케톤기; 를 포함하고,

상기 융합 단백질체는 표적물질 및 항체의 CH2 도메인을 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 융합 단백질에 포함된 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나인 R은 전술하였다.

상기 융합 단백질은 표적 물질 및 항체의 CH2 도메인이 연결된 구조일 수 있다. 상기 표적 물질은 상기 CH2 도메인의 일 영역에 연결된 구조일 수 있다. 상기 표적 물질 및 상기 CH2 도메인은 Linking Peptide에 의해 연결된 것일 수 있다. 상기 표적 물질 및 상기 CH2 도메인은 가교제(Cross Linking Agent)에 의해 연결된 것일 수 있다.

상기 표적 물질은 항체의 가변부, 특정 분자와 상호작용하는 펩타이드, 특정 분자와 상호작용하는 단백질, 특정 분자와 상호작용하는 화합물 및 특정 분자와 상호작용하는 핵산 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 항체의 CH2 도메인은 IgG의 CH2 도메인, IgM의 CH2 도메인, IgA의 CH2 도메인, IgD의 CH2

도메인 및 IgE의 CH2 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG의 CH2 도메인은 IgG1의 CH2 도메인, IgG2의 CH2 도메인, IgG3의 CH2 도메인 및 IgG4의 CH2 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다

상기 항체의 CH2 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다.

상기 항체의 CH2 도메인은 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다. 상기 항체의 CH2 도메인은 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

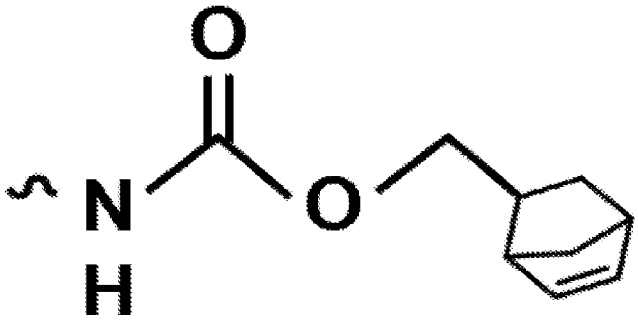
상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인

에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 43의 구조를 포함하는 융합 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 43]



상기 화학식 43의 구조를 포함하는 융합 단백질체는

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 알킬에스터;를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

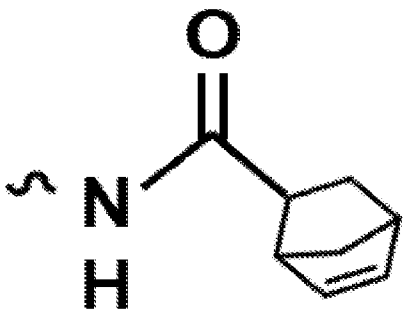
상기 알킬에스터는 Norbornene을 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

본 명세서에 개시된 다른 구현예에 의하면, 하기 화학식 44의 구조를 포함하는 융합 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 44]



상기 화학식 44의 구조를 포함하는 융합 단백질체는

상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

Norbornene; 및

상기 Norbornene 및 상기 아민기를 연결하는 케톤기; 를 포함하고,

상기 융합 단백질체는 표적물질 및 항체의 CH2 도메인을 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 융합 단백질에 포함된 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 융합 단백질에 포함된 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 특정 서열의 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 융합

단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

융합 단백질 (CH2-CH3 + Target Protein)- R

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면, 상기 화학식 40 및 상기 화학식 42 중 어느 하나

이상의 구조를 포함하는 융합 단백질체가 제공될 수 있다.

상기 화학식 40의 구조를 포함하는 융합 단백질체는

상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 알킬에스터(alkyl ester);를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터의 r1 및 r2는 각각 H, 알킬, 아릴, 아릴알킬 및 헤테로사이클 중 어느 하나이고,

상기 알킬에스터의 r3는 R를 포함한다.

이 때, 상기 R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나이다.

상기 화학식 42의 구조를 포함하는 융합 단백질체는

상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나인 R; 및

상기 R기 및 상기 아민기를 연결하는 케톤기; 를 포함하고,

상기 융합 단백질체는 표적물질 및 항체의 CH2-CH3 도메인을 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 융합 단백질에 포함된 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 융합 단백질에 포함된 상기 CH3 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나인 R은 전술하였다.

상기 융합 단백질은 표적 물질 및 항체의 CH2-CH3 도메인이 연결된 구조일 수 있다. 상기 표적 물질은 상기 CH2-CH3 도메인의 일 영역에 연결된 구조일 수 있다. 상기 표적 물질 및 상기

CH2-CH3 도메인은 Linking Peptide에 의해 연결된 것일 수 있다. 상기 표적 물질 및 상기 CH2-CH3 도메인은 가교제(Cross Linking Agent)에 의해 연결된 것일 수 있다.

상기 표적 물질은 항체의 가변부, 특정 분자와 상호작용하는 펩타이드, 특정 분자와 상호작용하는 단백질, 특정 분자와 상호작용하는 화합물 및 특정 분자와 상호작용하는 핵산 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 IgG의 CH2 도메인, IgM의 CH2 도메인, IgA의 CH2 도메인, IgD의 CH2 도메인, IgE의 CH2, IgG의 CH3 도메인, IgM의 CH3 도메인, IgA의 CH3 도메인, IgD의 CH3 도메인 및 IgE의 CH3 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG의 CH2 도메인은 IgG1의 CH2 도메인, IgG2의 CH2 도메인, IgG3의 CH2 도메인 및 IgG4의 CH2 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG의 CH3 도메인은 IgG1의 CH3 도메인, IgG2의 CH3 도메인, IgG3의 CH3 도메인 및 IgG4의 CH3 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다

상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체의 CH2 도메인은 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체의 CH3 도메인은 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH3 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

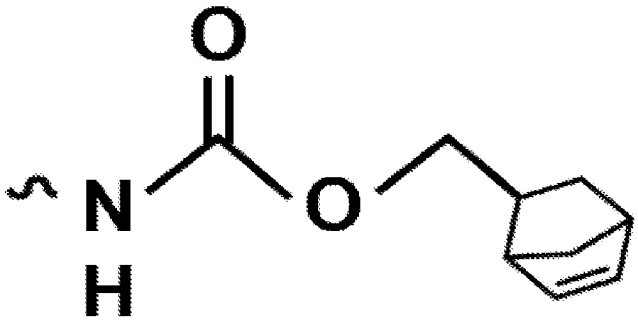
상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 43의 구조를 포함하는 융합 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 43]



상기 화학식 43의 구조를 포함하는 융합 단백질체는

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 알킬에스터;를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

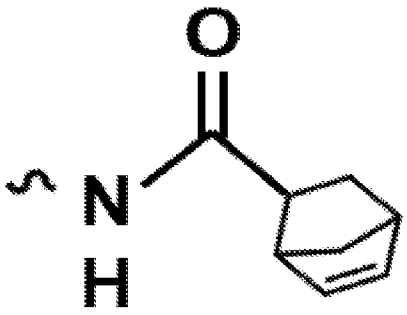
상기 알킬에스터는 Norbornene을 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

본 명세서에 개시된 다른 구현예에 의하면, 하기 화학식 44의 구조를 포함하는 융합 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 44]



상기 화학식 44의 구조를 포함하는 융합 단백질체는

상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

Norbornene; 및

상기 Norbornene 및 상기 아민기를 연결하는 케톤기; 를 포함하고,

상기 융합 단백질체는 표적물질 및 항체의 CH2-CH3 도메인을 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 융합 단백질에 포함된 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 융합 단백질에 포함된 상기 CH3 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 특정 서열의 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다. 상기 CH3 도메인은 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인일 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH3 도메인의 잔기는,

Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 R이 연결될 수 있다.

6. c"-페이로드 (c"-P)

본 명세서에 개시된 또다른 양태에 의하면, 하기 화학식 50의 구조를 포함하는 화합물(130)이 제공될 수 있다.

[화학식 50]



상기 화학식 50에서, c"은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 일 수 있다.

상기 화학식 50에서, P는 페이로드(Payload) 일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical)은 알킨(alkyne), 사이클로옥틴(cyclooctyne) 및 사이클로노닌(cyclononyne) (예로, 바이사이클로[6.1.0]-논-4-인-9-일 메탄올(bicyclo[6.1.0]non-4-yn-9-ylmethanol) 과 같은 사이클로알킨(cycloalkyne), 트랜스-사이클로옥텐(trans-cyclooctene), 니트론(nitrone), 니트릴 옥사이드(nitrile oxide), 아자이드(azide), 컨쥬게이티드 다이엔(Conjugated Diene) 및 알켄(alkene) 등의 친다이엔체(dienophile) 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 클릭 화학 화합물은 아세틸렌(Acetylene), 아자이드(azide), TCO(Transcyclooctene), 테트라진(Tetrazine), 사이클로옥틴(cyclooctyne), DBCO(Diarylcyclooctyne), Methyl ester phosphine, Norbornene, Methylcyclopropene, Azetine 및 Cyanide 중 어느 하나 이상일 수 있다. 바람직하게는, 상기 클릭 화학 화합물은 TCO(Transcyclooctene), 테트라진(Tetrazine), 사이클로옥틴(cyclooctyne), 아자이드(azide), Methylcyclopropene 및 Norbornene 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 페이로드는 핵산, 펩타이드 및 화합물 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 핵산은 DNA, RNA, PNA 및 LNA 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 핵산은 단일 가닥(single strand), 이중 가닥(Double strand), 삼중 가닥(Triple strand) 및 사중 가닥(quadruplex) 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 펩타이드는 천연 아미노산(들) 및/또는 비천연 아미노산(들)이 펩티딜 결합(peptidyl bond)에 의하여 연결된 것일 수 있다. 상기 펩타이드는 항체, 항체 단편, 단백질, 효소, 펩티드, 펩토이드(Peptoid), 독소, 바이오마커에 대한 리간드일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 화합물은 약물 복합체, 이미징 모이어티(imaging moiety), 기타 화합물 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 약물복합체는 프로드러그(Prodrug), 약물전구체(precursor drug), 약물(drug)일 수 있다. 상기 약물복합체는 항암제, 항염증제, 기타 항질환제, 항미생물제(항생제, 항진균제, 항바이러스제) 일 수 있다.

상기 이미징 모이어티(imaging moiety)는 조영제, 방사성 동위원소, 형광 물질일 수 있다.

상기 기타 화합물은 광학 작용제, 비타민, 독소 등일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 페이로드는 Linker를 포함할 수 있다.

상기 Linker는 Hydrazone Linker, Peptide Linker, Disulfide Linker, Thioether Linker 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 Linker는 Cleavable Linker 또는 Uncleavable Linker일 수 있다. 예로, 상기 Cleavable Linker는 VC Linker일 수 있다.

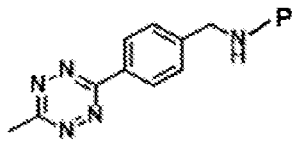
상기 Linker는 Cleavable Linker 또는 Uncleavable Linker일 수 있다. 예로, 상기 Cleavable Linker는 VC Linker일 수 있다.

상기 페이로드는 친수성 모이어티(hydrophilic moiety)를 포함할 수 있다.

상기 친수성 모이어티는 폴리에틸렌 글라이콜(Polyethylene glycol; PEG) 일 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 51의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 51]



상기 화학식 51에서, P는 페이로드(Payload) 일 수 있다.

상기 페이로드는 핵산, 펩타이드 및 화합물 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 핵산은 DNA, RNA, PNA 및 LNA 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 핵산은 단일 가닥(single strand), 이중 가닥(Double strand), 삼중 가닥(Triple strand) 및 사중 가닥(quadruplex) 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 펩타이드는 천연 아미노산(들) 및/또는 비천연 아미노산(들)이 펩티딜 결합(peptidyl bond)에 의하여 연결된 것일 수 있다. 상기 펩타이드는 항체, 항체 단편, 단백질, 효소, 펩티드, 펩토이드(Peptoid), 독소, 바이오마커에 대한 리간드일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 화합물은 약물 복합체, 이미징 모이어티(imaging moiety), 기타 화합물 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 약물복합체는 프로드러그(Prodrug), 약물전구체(precursor drug), 약물(drug)일 수 있다. 상기

약물복합체는 항암제, 항염증제, 기타 항질환제, 항미생물제(항생제, 항진균제, 항바이러스제) 일 수 있다.

상기 이미징 모이어티(imaging moiety)는 조영제, 방사성 동위원소, 형광 물질일 수 있다.

상기 기타 화합물은 광학 작용제, 비타민, 독소 등일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 페이로드는 Linker를 포함할 수 있다.

상기 Linker는 Hydrazone Linker, Peptide Linker, Disulfide Linker, Thioether Linker 중 어느 하나 이상일 수 있다.

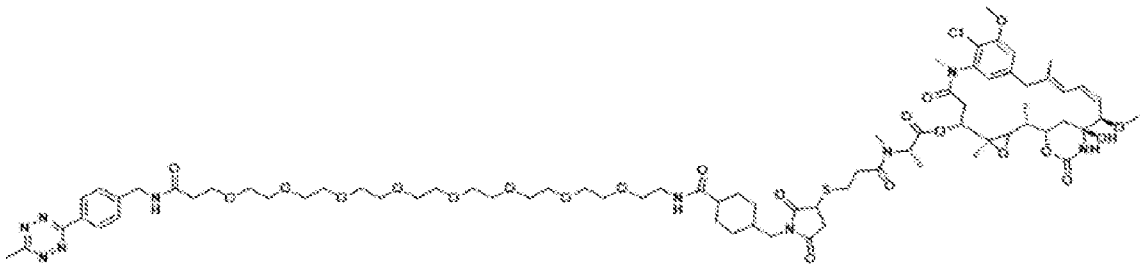
상기 링커는 Cleavable Linker 또는 Uncleavable Linker일 수 있다. 예로, 상기 Cleavable Linker는 VC Linker일 수 있다.

상기 페이로드는 친수성 모이어티(hydrophilic moiety)를 포함할 수 있다.

상기 친수성 모이어티는 폴리에틸렌 글라이콜(Polyethylene glycol; PEG) 일 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구체예에 의하면, 하기 화학식 52의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 52]



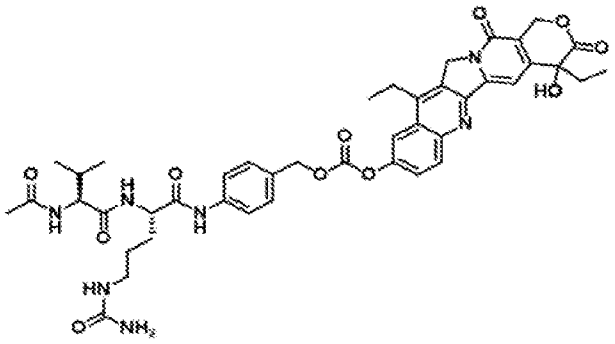
7. Linker

본 명세서에 개시된 또다른 양태에 의하면, 링커(109)가 제공될 수 있다.

상기 링커는 Cleavable Linker 일 수 있다. 예로, 상기 Cleavable Linker는 VC Linker일 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 60의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 60]

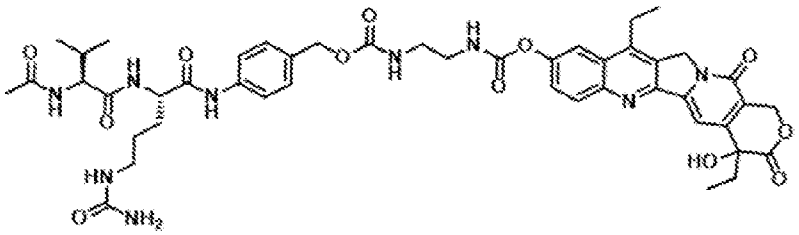


상기 화학식 60의 링커는 카텝신 B(Cathepsin B)에 의해 분해될 수 있다.

상기 카텝신 B는 상기 화학식 60의 링커의 발린(valine) 및 시트룰린(citrulline) 사이의 펩타이드 결합을 분해할 수 있다.

본 명세서에 개시된 다른 구현예에 의하면, 하기 화학식 61의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 61]

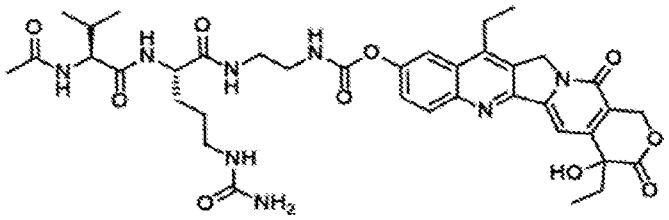


상기 화학식 61의 링커는 카텝신 B(Cathepsin B)에 의해 분해될 수 있다.

상기 카텝신 B는 상기 화학식 61의 링커의 발린(valine) 및 시트룰린(citrulline) 사이의 펩타이드 결합을 분해할 수 있다.

본 명세서에 개시된 또다른 구현예에 의하면, 하기 화학식 62의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 62]

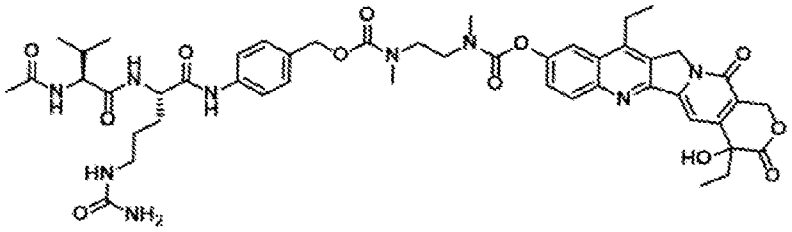


상기 화학식 62의 링커는 카텝신 B(Cathepsin B)에 의해 분해될 수 있다.

상기 카텝신 B는 상기 화학식 62의 링커의 발린(valine) 및 카바메이트 시트룰린(carbamate citrulline) 사이의 펩타이드 결합을 분해할 수 있다.

본 명세서에 개시된 또다른 구현예에 의하면, 하기 화학식 63의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 63]

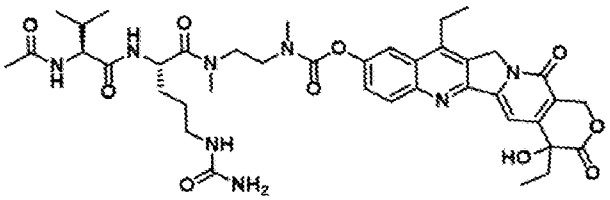


상기 화학식 63의 링커는 카텝신 B(Cathepsin B)에 의해 분해될 수 있다.

상기 카텝신 B는 상기 화학식 63의 링커의 발린(valine) 및 시트룰린(citrulline) 사이의 펩타이드 결합을 분해할 수 있다.

본 명세서에 개시된 또다른 구현예에 의하면, 하기 화학식 64의 화합물이 제공될 수 있다.

[화학식 64]



상기 화학식 64의 링커는 카텝신 B(Cathepsin B)에 의해 분해될 수 있다.

상기 카텝신 B는 상기 화학식 64의 링커의 발린(valine) 및 N-메틸 카바메이트(N-methyl carbamate) 사이의 펩타이드 결합을 절단할 수 있다.

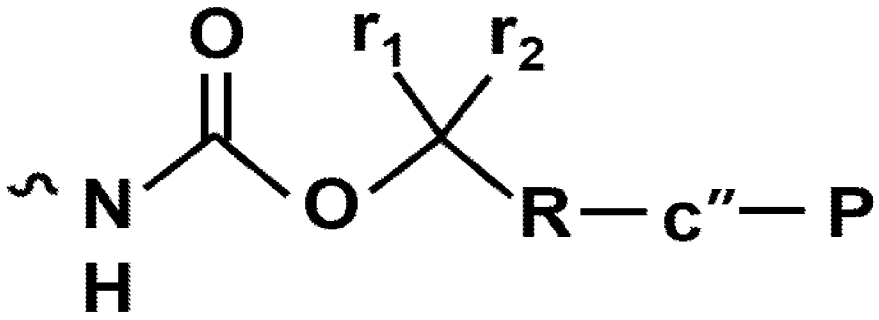
8. 단백질(Protein)의 아민기-R-c"-페이로드 단백질체 (-NH_2-R-c"-P)

본 명세서에 개시된 또다른 양태에 의하면, 클릭화학 화합물 및 페이로드를 포함하는 단백질체(450)가 제공될 수 있다.

상기 클릭화학 화합물 및 페이로드를 포함하는 단백질체(450)는 아민기 또는 아민 잔기를 포함하는 것일 수 있다.

상기 클릭화학 화합물 및 페이로드를 포함하는 단백질체(450)는 하기 화학식 70의 구조를 포함할 수 있다.

[화학식 70]



상기 화학식 70에서, r1 및 r2는 각각 H, 알킬, 아릴, 아릴알킬 및 헤테로사이클 중 어느 하나일 수 있다.

상기 화학식 70에서, 상기 R는 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 일 수 있다. 예를 들어, 상기 R은 Norbornene일 수 있다.

상기 화학식 70에서, 상기 c"는 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 일 수 있다. 예를 들어, 상기 c"는 Tetrazine일 수 있다.

상기 R은 상기 c"에 대하여 클릭 화학 반응하는 화합물 일 수 있다. 상기 c"는 상기 R에 대하여 클릭 화학 반응하는 화합물 일 수 있다.

상기 화학식 70에서, 상기 P는 페이로드(Payload) 일 수 있다. 예를 들어, 상기 P는 DM1일 수 있

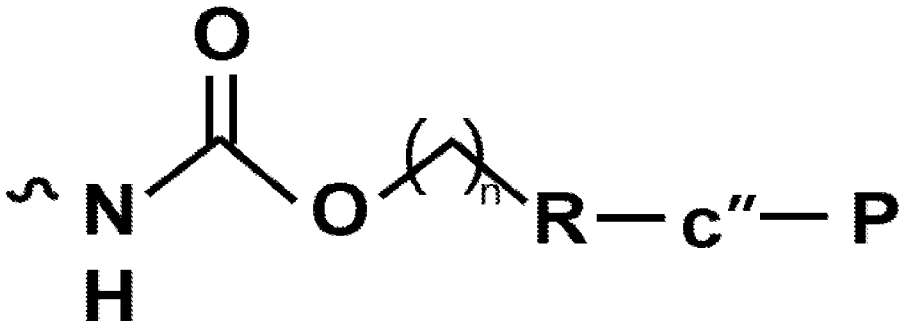
다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 단백질체는 아민기 또는 아민 잔기를 포함하는 것일 수 있다.

예로, 상기 클릭화학 화합물 및 페이로드를 포함하는 단백질체는 하기 화학식 71의 구조를 포함할 수 있다.

[화학식 71]



상기 화학식 71에서, n은 0 또는 자연수 일 수 있다.

상기 화학식 71에서, 상기 R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 일 수 있다. 예를 들어, 상기 R은 Norbornene일 수 있다.

상기 화학식 71에서, 상기 c"는 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 일 수 있다. 예를 들어, 상기 c"는 Tetrazine일 수 있다.

상기 R은 상기 c"에 대하여 클릭 화학 반응하는 화합물 일 수 있다. 상기 c"는 상기 R에 대하여 클릭 화학 반응하는 화합물 일 수 있다.

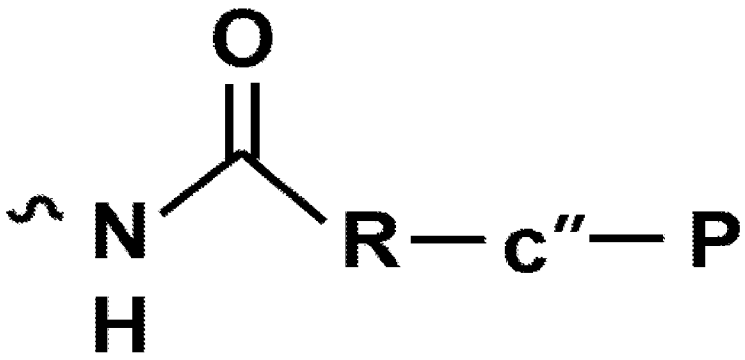
상기 화학식 71에서, 상기 P는 페이로드(Payload) 일 수 있다. 예를 들어, 상기 P는 DM1일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 단백질체는 아민기 또는 아민 잔기를 포함하는 것일 수 있다.

상기 클릭화학 화합물 및 페이로드를 포함하는 단백질체는 하기 화학식 72의 구조를 포함할 수 있다.

[화학식 72]



상기 화학식 72 에서, 상기 R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 일 수 있다. 예를 들어, 상기 R은 Norbornene일 수 있다.

상기 화학식 72에서, 상기 c"는 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 일 수 있다. 예를 들어, 상기 c"는 Tetrazine일 수 있다.

상기 R은 상기 c"에 대하여 클릭 화학 반응하는 화합물 일 수 있다. 상기 c"는 상기 R에 대하여 클릭 화학 반응하는 화합물 일 수 있다.

상기 화학식 72에서, 상기 P는 페이로드(Payload) 일 수 있다. 예를 들어, 상기 P는 DM1일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 단백질체는 아민기 또는 아민 잔기를 포함하는 것일 수 있다.

CH2-R-c"-P

본 명세서에 개시된 일 실시예에 의하면, 상기 화학식 70 및 상기 화학식 72 중 어느 하나 이상의 구조를 포함하는 항체의 CH2 도메인 단백질체가 제공될 수 있다.

상기 화학식 70 의 구조를 포함하는 항체의 CH2 도메인 단백질체는

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 알킬에스터(alkyl ester);를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터의 r1 및 r2는 각각 H, 알킬, 아릴, 아릴알킬 및 헤테로사이클 중 어느 하나이고,

상기 알킬에스터에 연결된 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 인 R;

상기 R에 연결된 클릭 화학 화합물인 c"; 및

상기 c"에 연결된 페이로드인 P; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical)은 전술하였다. 상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 화학식 72의 구조를 포함하는 항체의 CH2 도메인 단백질체는

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 케톤기;

상기 케톤기에 연결된 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 인 R;

상기 R에 연결된 클릭 화학 화합물인 c"; 및

상기 c"에 연결된 페이로드인 P; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical)은 전술하였다. 상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 항체의 CH2 도메인은 IgG의 CH2 도메인, IgM의 CH2 도메인, IgA의 CH2 도메인, IgD의 CH2 도메인 및 IgE의 CH2 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG의 CH2 도메인은 IgG1의

CH2 도메인, IgG2의 CH2 도메인, IgG3의 CH2 도메인 및 IgG4의 CH2 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다

상기 항체의 CH2 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다.

상기 항체의 CH2 도메인은 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다. 상기 항체의 CH2 도메인은 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

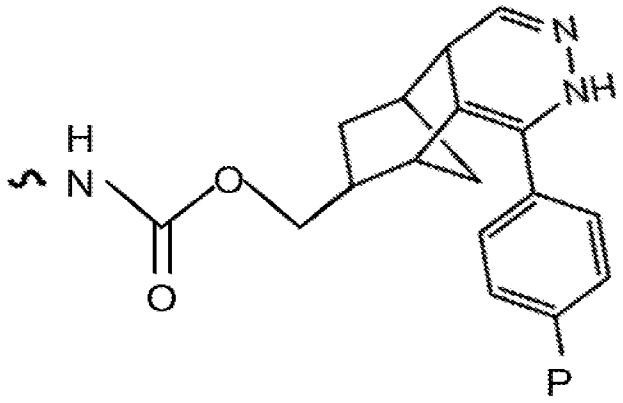
상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기

에 c가 연결될 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 73의 구조를 포함하는 항체의 CH2 도메인 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 73]



상기 화학식 73의 구조를 포함하는 항체의 CH2 도메인 단백질체는

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 알킬에스터(alkyl ester);를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터에 연결된 Norbornene-tetrazine 반응체;

상기 Norbornene-tetrazine 반응체 연결된 페이로드인 P ; 를 포함한다.

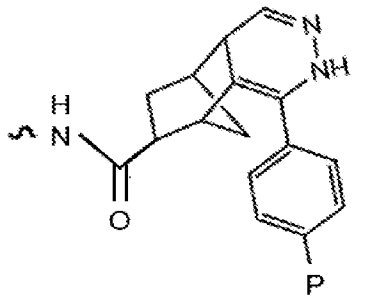
상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

본 명세서에 개시된 다른 구현예에 의하면, 하기 화학식 74의 구조를 포함하는 항체의 CH2 도메인 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 74]



상기 화학식 74의 구조를 포함하는 항체의 CH2 도메인 단백질체는

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 케톤기;

상기 케톤기에 연결된 Norbornene-tetrazine 컨쥬게이트;

상기 Norbornene-tetrazine 반응체 연결된 페이로드인 P; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 특정 서열의 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다.

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤

기에 c가 연결될 수 있다.

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

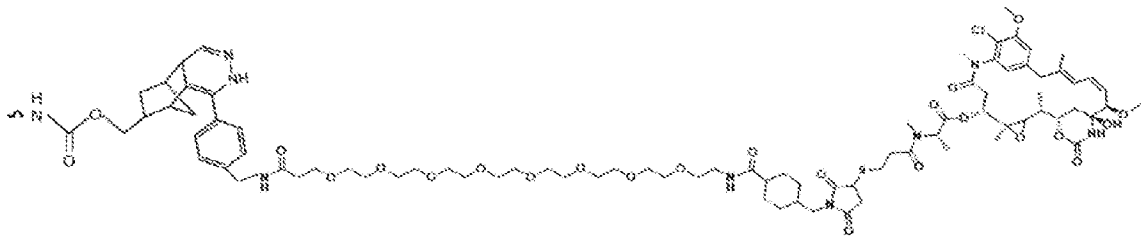
상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

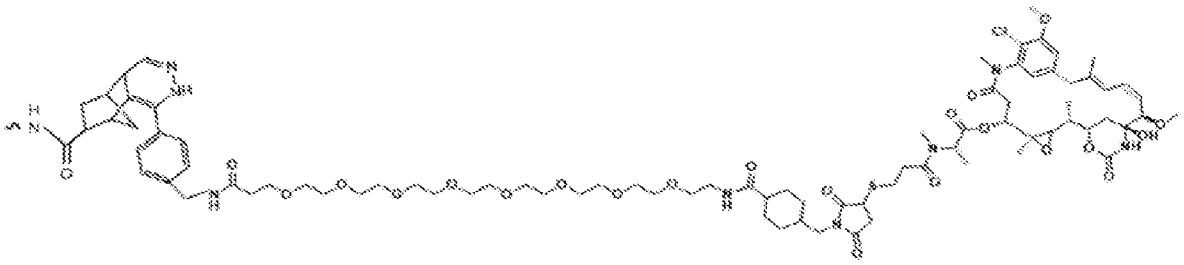
본 명세서에 개시된 일 구체예에 의하면, 하기 화학식 75의 구조를 포함하는 항체의 CH2 도메인 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 75]



본 명세서에 개시된 다른 구체예에 의하면, 하기 화학식 76의 구조를 포함하는 항체의 CH2 도메인 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 76]



상기 화학식 76의 구조를 포함하는 항체의 CH2 도메인 단백질체는 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기를 포함한다.

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 특정 서열의 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다.

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아

미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

CH2-CH3-R-c"-P

본 명세서에 개시된 다른 실시예에 의하면, 상기 화학식 70 및 상기 화학식 72 중 어느 하나 이상의 구조를 포함하는 항체의 CH2-CH3 도메인 단백질체(450)가 제공될 수 있다.

상기 화학식 70의 구조를 포함하는 항체의 CH2-CH3 도메인 단백질체(450)는

상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 알킬에스터(alkyl ester);를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터의 r1 및 r2는 각각 H, 알킬, 아릴, 아릴알킬 및 헤테로사이클 중 어느 하나이고,

상기 알킬에스터에 연결된 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 인 R;

상기 R에 연결된 클릭 화학 화합물인 c"; 및

상기 c"에 연결된 페이로드인 P; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical)은 전술하였다. 상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 화학식 72의 구조를 포함하는 항체의 CH2-CH3 도메인 단백질체(450)는

상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 케톤기;

상기 케톤기에 연결된 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 인 c;

상기 c에 연결된 클릭 화학 화합물인 c"; 및

상기 c"에 연결된 페이로드인 P; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH3 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical)은 전술하였다. 상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 IgG의 CH2 도메인, IgM의 CH2 도메인, IgA의 CH2 도메인, IgD의 CH2 도메인, IgE의 CH2, IgG의 CH3 도메인, IgM의 CH3 도메인, IgA의 CH3 도메인, IgD의 CH3 도메인 및 IgE의 CH3 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG의 CH2 도메인은 IgG1의 CH2 도메인, IgG2의 CH2 도메인, IgG3의 CH2 도메인 및 IgG4의 CH2 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG의 CH3 도메인은 IgG1의 CH3 도메인, IgG2의 CH3 도메인, IgG3의 CH3 도메인 및 IgG4의 CH3 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다

상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체의 CH2 도메인은 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체의 CH3 도메인은 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH3 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인

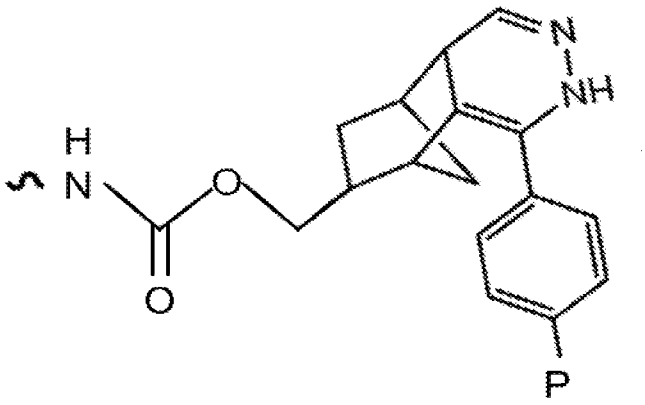
에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 73의 구조를 포함하는 항체의 CH2-CH3 도메인 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 73]



상기 화학식 73의 구조를 포함하는 항체의 CH2-CH3 도메인 단백질체는

상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 알킬에스터(alkyl ester);를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터에 연결된 Norbornene-tetrazine 반응체;

상기 Norbornene-tetrazine 반응체 연결된 페이로드인 P ; 를 포함한다.

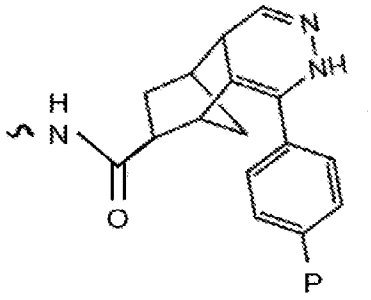
상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

본 명세서에 개시된 다른 구현예에 의하면, 하기 화학식 74의 구조를 포함하는 항체의 CH2-CH3 도메인 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 74]



상기 화학식 74의 구조를 포함하는 항체의 CH2-CH3 도메인 단백질체는

상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 케톤기;

상기 케톤기에 연결된 Norbornene-tetrazine 컨쥬게이트;

상기 Norbornene-tetrazine 반응체 연결된 페이로드인 P; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH3 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 특정 서열의 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도

메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH3 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

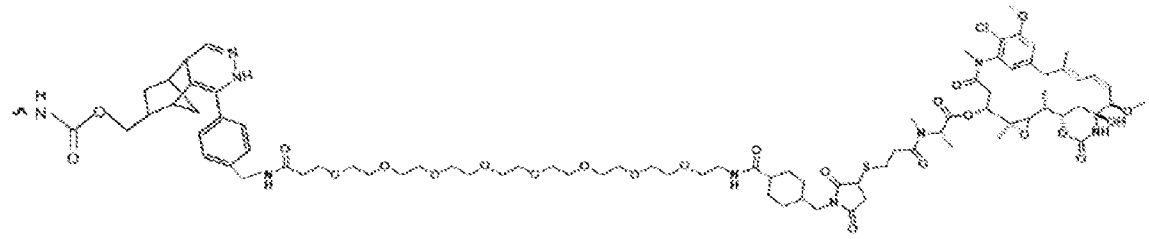
상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2-CH3 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

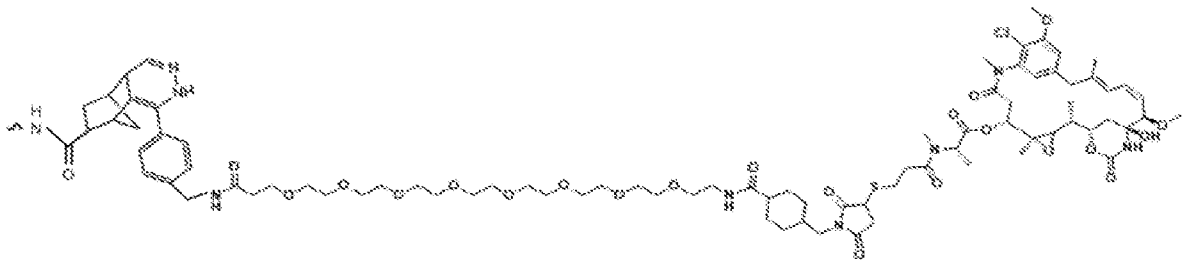
본 명세서에 개시된 일 구체예에 의하면, 하기 화학식 75의 구조를 포함하는 항체의 CH2-CH3 도메인 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 75]



본 명세서에 개시된 다른 구체예에 의하면, 하기 화학식 76의 구조를 포함하는 항체의 CH2-CH3 도메인 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 76]



상기 화학식 76의 구조를 포함하는 항체의 CH2 도메인 단백질체는 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기를 포함한다.

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 특정 서열의 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다.

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기

에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

Antibody-R-c"-P

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면, 상기 화학식 70 및 상기 화학식 72 중 어느 하나 이상의 구조를 포함하는 항체(550)가 제공될 수 있다.

상기 화학식 70 의 구조를 포함하는 항체는

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 알킬에스터(alkyl ester);를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터의 r1 및 r2는 각각 H, 알킬, 아릴, 아릴알킬 및 헤테로사이클 중 어느 하나이고,

상기 알킬에스터에 연결된 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 인 R;

상기 R에 연결된 클릭 화학 화합물인 c"; 및

상기 c"에 연결된 페이로드인 P; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical)은 전술하였다. 상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 화학식 72의 구조를 포함하는 항체(550)는

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 케톤기;

상기 케톤기에 연결된 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 인 R;

상기 R에 연결된 클릭 화학 화합물인 c"; 및

상기 c"에 연결된 페이로드인 P; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 항체의 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 항체의 CH3 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical)은 전술하였다. 상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 항체는 키메릭 항체(Chimeric Antibody), 인간화 항체(Humanized Antibody) 및 인간 항체(Human Antibody) 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 항체는 IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 중 어느 하나 이상일 수 있다

상기 항체는 인간 *IgG* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다.

상기 항체는 인간 *IgG1* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체는 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체는 인간 *IgG2* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체는 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 항체는 인간 *IgG1* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체는 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체는 인간 *IgG2* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체는 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하

는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH3 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

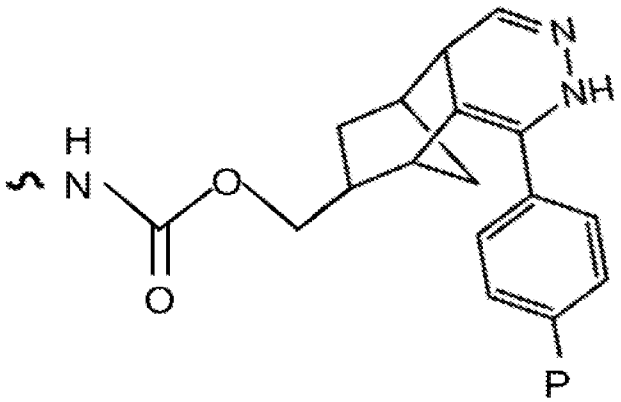
상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 73의 구조를 포함하는 항체가 제공될 수 있다.

[화학식 73]



상기 화학식 73의 구조를 포함하는 항체는

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 알킬에스터(alkyl ester);를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터에 연결된 Norbornene-tetrazine 반응체;

상기 Norbornene-tetrazine 반응체 연결된 페이로드인 P ; 를 포함한다.

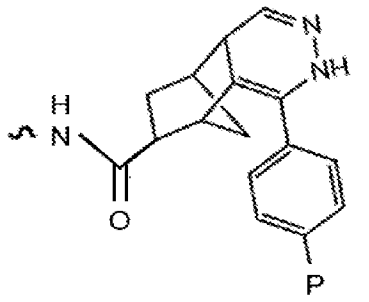
상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

본 명세서에 개시된 다른 구현예에 의하면, 하기 화학식 74의 구조를 포함하는 항체가 제공될 수 있다.

[화학식 74]



상기 화학식 74의 구조를 포함하는 항체는

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 케톤기;

상기 케톤기에 연결된 Norbornene-tetrazine 컨쥬게이트;

상기 Norbornene-tetrazine 반응체 연결된 페이로드인 P; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 항체의 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 항체의 CH3 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 항체는 키메릭 항체(Chimeric Antibody), 인간화 항체(Humanized Antibody) 및 인간 항체(Human Antibody) 중 어느 하나 이상일 수 있다. 예로, 상기 항체는 트라스투주맙(Trastuzumab; Herceptin; 허셉틴), 베바시주맙(Bevacizumab; Avastin; 아바스틴) 및 세툭시맙(Cetuximab; Erbitux; 얼비툭스) 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 예로, 상기 항체는 상업적으로 구입 가능한 항체일 수 있다.

상기 항체는 IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 특정 서열의 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체는 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체는 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인

을 포함할 수 있다.

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH3 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

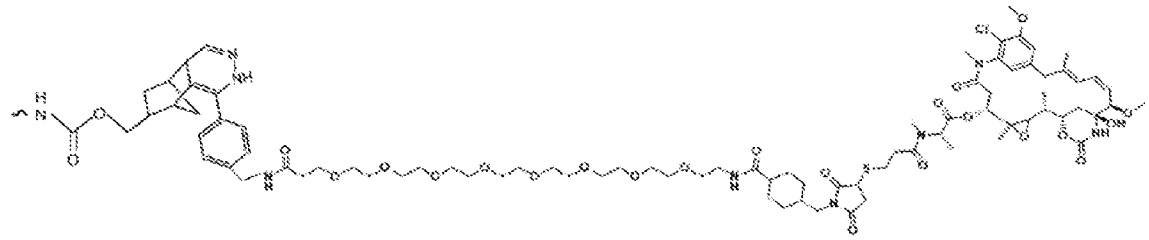
상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래

CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

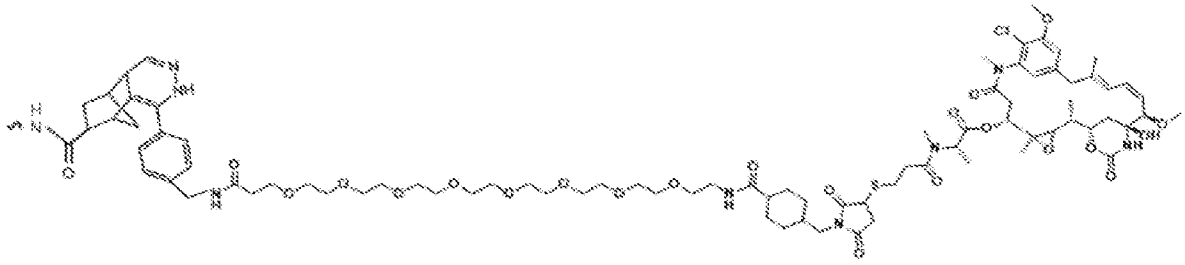
본 명세서에 개시된 일 구체예에 의하면, 하기 화학식 75의 구조를 포함하는 항체가 제공될 수 있다.

[화학식 75]



본 명세서에 개시된 다른 구체예에 의하면, 하기 화학식 76의 구조를 포함하는 항체가 제공될 수 있다.

[화학식 76]



상기 화학식 76의 구조를 포함하는 항체는 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아

민기를 포함한다.

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 특정 서열의 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체는 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체는 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)

의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

Antibody variant-R-c"-P

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면, 상기 화학식 70 및 상기 화학식 72 중 어느 하나 이상의 구조를 포함하는 항체 변형체가 제공될 수 있다.

상기 화학식 70 의 구조를 포함하는 항체 변형체는

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 알킬에스터(alkyl ester);를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터의 r1 및 r2는 각각 H, 알킬, 아릴, 아릴알킬 및 헤테로사이클 중 어느 하나이고,

상기 알킬에스터에 연결된 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 인 R;

상기 R에 연결된 클릭 화학 화합물인 c"; 및

상기 c"에 연결된 페이로드인 P; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical)은 전술하였다. 상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 화학식 72의 구조를 포함하는 항체 변형체는

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 케톤기;

상기 케톤기에 연결된 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 인 R;

상기 R에 연결된 클릭 화학 화합물인 c"; 및

상기 c"에 연결된 페이로드인 P; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 항체 변형체의 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 항체 변형체의 CH3 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical)은 전술하였다. 상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 항체 변형체는 Fab(antigen-binding fragment), F(ab')2, Monospecific Fab2, Bispecific Fab2, Trispecific Fab2, Monovalent Ig, scFv(single-chain variable fragment), Bispecific Diabody, scFv-Fc(single-chain variable fragment-fragment crystallizable), Minibody, IgNAR(immunoglobulin new antigen receptor), V-NAR(Variable-New Antigen Receptor), hcIgG(heavy chain Immunoglobulin G), 및 VhH(variable domain of heavy chain antibody) 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 항체 변형체는 키메릭 항체 변형체(Chimeric Antibody Variant), 인간화 항체 변형체(Humanized Antibody Variant) 및 인간 항체 변형체(Human Antibody Variant) 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 항체 변형체는 IgG 변형체, IgM 변형체, IgA 변형체, IgD 변형체 및 IgE 변형체 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG 변형체는 IgG1 변형체, IgG2 변형체, IgG3 변형체 및 IgG4 변형체 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 항체 변형체는 인간 *IgG* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다.

상기 항체 변형체는 인간 *IgG1* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체 변형체는 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체 변형체는 인간 *IgG2* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체 변형체는 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 항체 변형체는 인간 *IgG1* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체 변형체는 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체 변형체는 인간 *IgG2* 유전자 유래 일 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체 변형체는 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH3 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

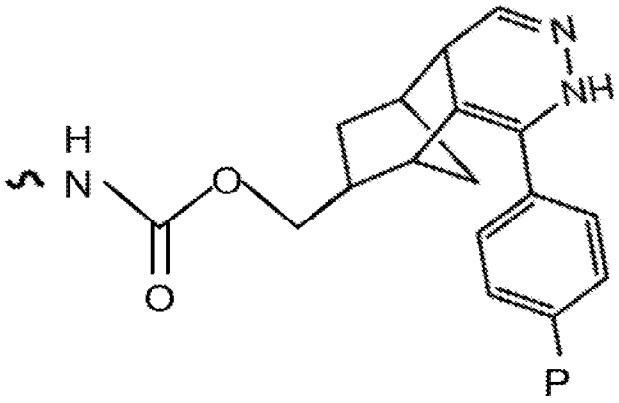
상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을

포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 73의 구조를 포함하는 항체가 제공될 수 있다.

[화학식 73]



상기 화학식 73의 구조를 포함하는 항체 변형체는

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 알킬에스터(alkyl ester);를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터에 연결된 Norbornene-tetrazine 반응체;

상기 Norbornene-tetrazine 반응체 연결된 페이로드인 P ; 를 포함한다.

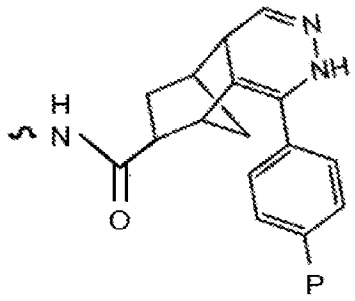
상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

본 명세서에 개시된 다른 구현예에 의하면, 하기 화학식 74의 구조를 포함하는 항체 변형체가 제공될 수 있다.

[화학식 74]



상기 화학식 74의 구조를 포함하는 항체 변형체는

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 케톤기;

상기 케톤기에 연결된 Norbornene-tetrazine 컨쥬게이트;

상기 Norbornene-tetrazine 반응체 연결된 페이로드인 P; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 항체 변형체의 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 항체 변형체의 CH3 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 항체 변형체는 Fab(antigen-binding fragment), F(ab')2, Monospecific Fab2, Bispecific Fab2, Trispecific Fab2, Monovalent Ig, scFv(single-chain variable fragment), Bispecific Diabody, scFv-Fc(single-chain variable fragment-fragment crystallizable), Minibody, IgNAR(immunoglobulin new antigen receptor), V-NAR(Variable-New Antigen Receptor), hcIgG(heavy chain Immunoglobulin G),

및 VhH(variable domain of heavy chain antibody) 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 항체 변형체는 키메릭 항체 변형체(Chimeric Antibody Variant), 인간화 항체 변형체(Humanized Antibody Variant) 및 인간 항체 변형체(Human Antibody Variant) 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 항체 변형체는 IgG 변형체, IgM 변형체, IgA 변형체, IgD 변형체 및 IgE 변형체 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG 변형체는 IgG1 변형체, IgG2 변형체, IgG3 변형체 및 IgG4 변형체 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 특정 서열의 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 변형체는 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체 변형체는 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH3 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

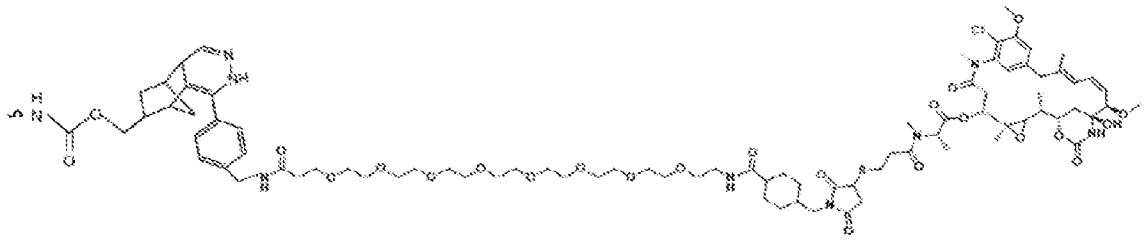
상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

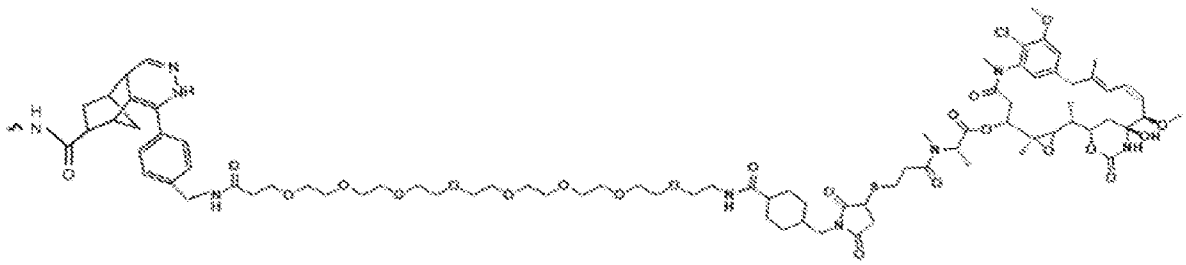
본 명세서에 개시된 일 구체예에 의하면, 하기 화학식 75의 구조를 포함하는 항체 변형체가 제공될 수 있다.

[화학식 75]



본 명세서에 개시된 다른 구체예에 의하면, 하기 화학식 76의 구조를 포함하는 항체 변형체가 제공될 수 있다.

[화학식 76]



상기 화학식 76의 구조를 포함하는 항체 변형체는 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기를 포함한다.

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 특정 서열의 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 변형체는 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체 변형체는 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 변형체 내 포함된 아

미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 항체 변형체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 항체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

융합단백질(CH2+Target Protein)-R-c"-P

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면, 상기 화학식 70 및 상기 화학식 72 중 어느 하나 이상의 구조를 포함하는 융합 단백질체가 제공될 수 있다.

상기 화학식 70 의 구조를 포함하는 융합 단백질체는

상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 알킬에스터(alkyl ester);를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터의 r1 및 r2는 각각 H, 알킬, 아릴, 아릴알킬 및 헤테로사이클 중 어느 하나이고,

상기 알킬에스터에 연결된 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 인 R;

상기 R에 연결된 클릭 화학 화합물인 c"; 및

상기 c"에 연결된 페이로드인 P; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical)은 전술하였다. 상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 화학식 72의 구조를 포함하는 융합 단백질체는

상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 케톤기;

상기 케톤기에 연결된 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 인 R;

상기 R에 연결된 클릭 화학 화합물인 c"; 및

상기 c"에 연결된 페이로드인 P; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 융합 단백질체체의 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical)은 전술하였다. 상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 융합 단백질은 표적 물질 및 항체의 CH2 도메인이 연결된 구조일 수 있다. 상기 표적 물질은 상기 CH2 도메인의 일 영역에 연결된 구조일 수 있다. 상기 표적 물질 및 상기 CH2 도메인은 Linking Peptide에 의해 연결된 것일 수 있다. 상기 표적 물질 및 상기 CH2 도메인은 가교제(Cross Linking Agent)에 의해 연결된 것일 수 있다.

상기 표적 물질은 항체의 가변부, 특정 분자와 상호작용하는 펩타이드, 특정 분자와 상호작용하는 단백질, 특정 분자와 상호작용하는 화합물 및 특정 분자와 상호작용하는 핵산 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 항체의 CH2 도메인은 IgG의 CH2 도메인, IgM의 CH2 도메인, IgA의 CH2 도메인, IgD의 CH2 도메인 및 IgE의 CH2 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG의 CH2 도메인은 IgG1의 CH2 도메인, IgG2의 CH2 도메인, IgG3의 CH2 도메인 및 IgG4의 CH2 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다

상기 항체의 CH2 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다.

상기 항체의 CH2 도메인은 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다. 상기 항체의 CH2 도메인은 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

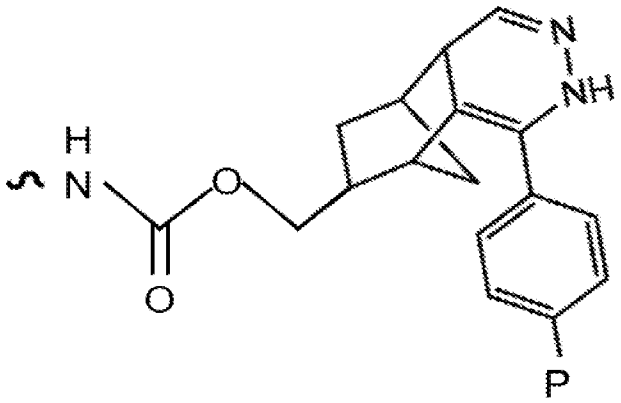
상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 73의 구조를 포함하는 융합 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 73]



상기 화학식 73의 구조를 포함하는 융합 단백질체는

상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 알킬에스터(alkyl ester);를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터에 연결된 Norbornene-tetrazine 반응체;

상기 Norbornene-tetrazine 반응체 연결된 페이로드인 P ; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

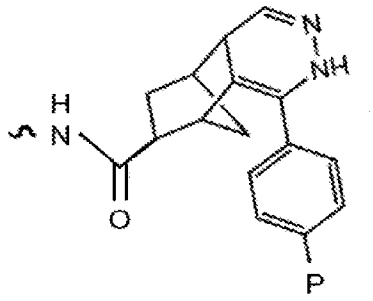
상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

본 명세서에 개시된 다른 구현예에 의하면, 하기 화학식 74의 구조를 포함하는 융합 단백질체가

제공될 수 있다.

[화학식 74]



상기 화학식 74의 구조를 포함하는 융합 단백질체는

상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 케톤기;

상기 케톤기에 연결된 Norbornene-tetrazine 반응체;

상기 Norbornene-tetrazine 반응체 연결된 페이로드인 P; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 융합 단백질체의 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 융합 단백질에 포함된 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 특정 서열의 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

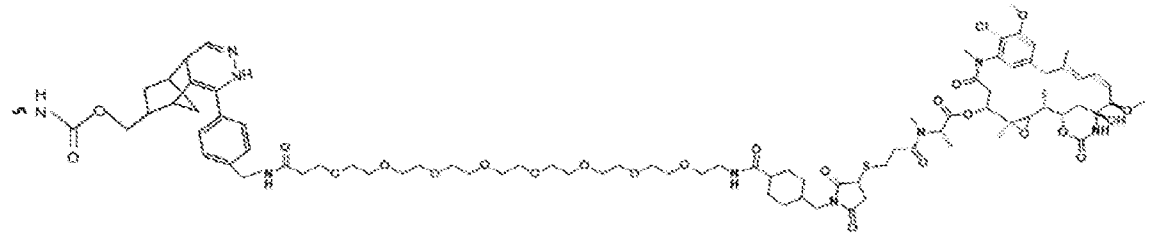
상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구체예에 의하면, 하기 화학식 75의 구조를 포함하는 융합 단백질체가 제

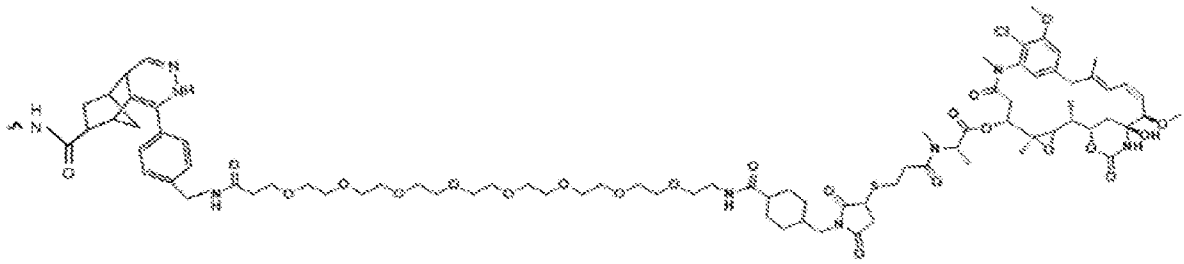
공될 수 있다.

[화학식 75]



본 명세서에 개시된 다른 구체예에 의하면, 하기 화학식 76의 구조를 포함하는 융합 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 76]



상기 화학식 76의 구조를 포함하는 융합 단백질체는 상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기를 포함한다.

상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 특정 서열의 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질체는 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다.

상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기

는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

융합단백질(CH2-CH3+Target Protein)-R-c"-P

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면, 상기 화학식 70 및 상기 화학식 72 중 어느 하나 이상의 구조를 포함하는 융합 단백질체가 제공될 수 있다.

상기 화학식 70 의 구조를 포함하는 융합 단백질체는

상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 알킬에스터(alkyl ester);를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터의 r1 및 r2는 각각 H, 알킬, 아릴, 아릴알킬 및 헤테로사이클 중 어느 하나이고,

상기 알킬에스터에 연결된 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 인 R;

상기 R에 연결된 클릭 화학 화합물인 c"; 및

상기 c"에 연결된 페이로드인 P; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical)은 전술하였다. 상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 화학식 72의 구조를 포함하는 융합 단백질체는

상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 케톤기;

상기 케톤기에 연결된 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 인 R;

상기 R에 연결된 클릭 화학 화합물인 c"; 및

상기 c"에 연결된 페이로드인 P; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 융합 단백질체의 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 융합 단백질체의 CH3 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical)은 전술하였다. 상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 융합 단백질은 표적 물질 및 항체의 CH2-CH3 도메인이 연결된 구조일 수 있다. 상기 표적 물질은 상기 CH2-CH3 도메인의 일 영역에 연결된 구조일 수 있다. 상기 표적 물질 및 상기 CH2-CH3 도메인은 Linking Peptide에 의해 연결된 것일 수 있다. 상기 표적 물질 및 상기 CH2-CH3 도메인은 가교제(Cross Linking Agent)에 의해 연결된 것일 수 있다.

상기 표적 물질은 항체의 가변부, 특정 분자와 상호작용하는 펩타이드, 특정 분자와 상호작용하는 단백질, 특정 분자와 상호작용하는 화합물 및 특정 분자와 상호작용하는 핵산 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 IgG의 CH2 도메인, IgM의 CH2 도메인, IgA의 CH2 도메인, IgD의 CH2 도메인, IgE의 CH2, IgG의 CH3 도메인, IgM의 CH3 도메인, IgA의 CH3 도메인, IgD의 CH3 도메인 및 IgE의 CH3 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG의 CH2 도메인은 IgG1의 CH2 도메인, IgG2의 CH2 도메인, IgG3의 CH2 도메인 및 IgG4의 CH2 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 IgG의 CH3 도메인은 IgG1의 CH3 도메인, IgG2의 CH3 도메인, IgG3의 CH3 도메인 및 IgG4의 CH3 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다

상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체의 CH2 도메인은 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은, 1개의 CH2 도메인에 12개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 항체의 CH2-CH3 도메인은 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 상기 항체의 CH3 도메인은 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은, 1개의 CH3 도메인에 6개의 라이신(Lysine; Lys; K)을 포함할 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인은 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH3 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 246 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

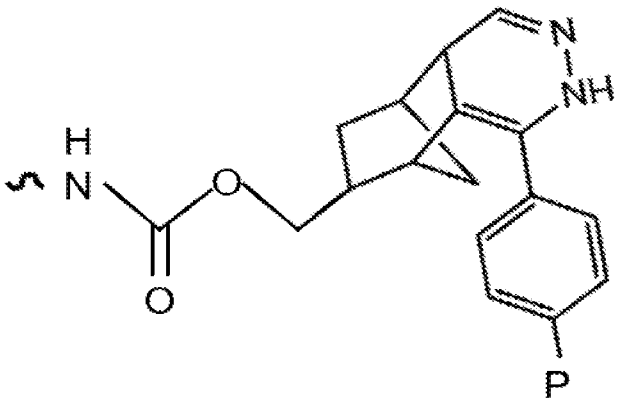
상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 아미노산 서열 248 번째에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 하기 화학식 73의 구조를 포함하는 융합 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 73]



상기 화학식 73의 구조를 포함하는 융합 단백질체는

상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 알킬에스터(alkyl ester);를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터에 연결된 Norbornene-tetrazine 반응체;

상기 Norbornene-tetrazine 반응체 연결된 페이로드인 P ; 를 포함한다.

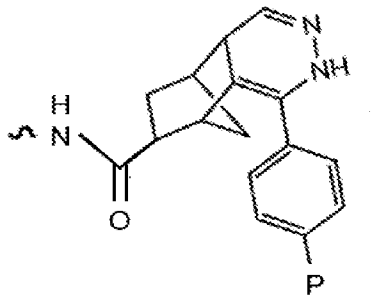
상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

본 명세서에 개시된 다른 구현예에 의하면, 하기 화학식 74의 구조를 포함하는 융합 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 74]



상기 화학식 74의 구조를 포함하는 융합 단백질체는

상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

상기 아민기에 연결된 케톤기;

상기 케톤기에 연결된 Norbornene-tetrazine 반응체;

상기 Norbornene-tetrazine 반응체 연결된 페이로드인 P; 를 포함한다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 융합 단백질체의 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 융합 단백질체의 CH3 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 페이로드(Payload)는 전술하였다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 라이신에 의하여 제공될 수 있다.

상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 융합 단백질에 포함된 상기 CH2 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다. 상기 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 융합 단백질에 포함된 상기 CH3 도메인으로부터 제공된 것일 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 특정 서열의 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 CH2 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다. 상기 CH3 도메인은 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인일 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH3* 유전자 유래 CH3 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH3 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH3 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

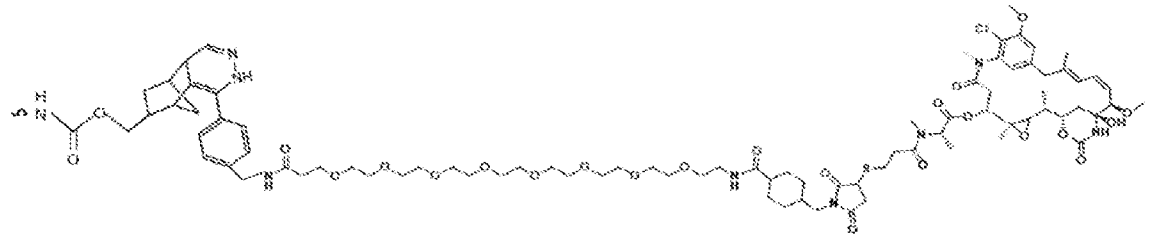
상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백

질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

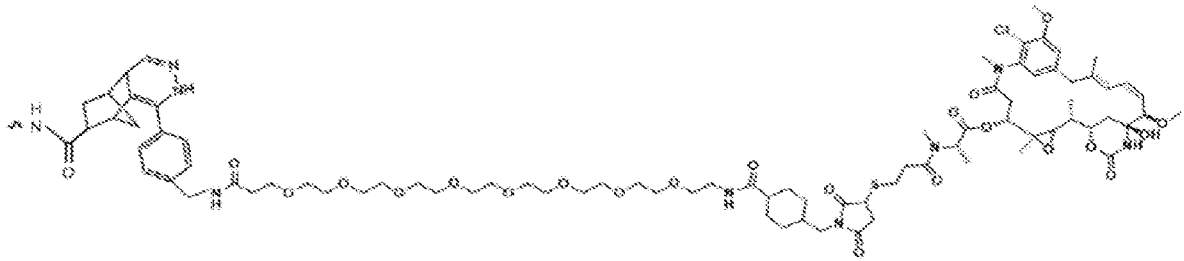
본 명세서에 개시된 일 구체예에 의하면, 하기 화학식 75의 구조를 포함하는 융합 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 75]



본 명세서에 개시된 다른 구체예에 의하면, 하기 화학식 76의 구조를 포함하는 융합 단백질체가 제공될 수 있다.

[화학식 76]



상기 화학식 76의 구조를 포함하는 융합 단백질체는 상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기를 포함한다.

상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 ε-아민(ε-amine; ε-NH)를 제공한다. 상기 ε-아민은 특정 서열의 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질체는 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 상기 융합 단백질체는 인간 *IgG CH3* 유전자 유래 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 상기 융합 단백질체 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 서열 중 특정 위치에 라이신을 포함하는 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 특정 위치 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 246번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인에 포함된 상기 246번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 상기 융합 단백질 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기는 상기 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인의 아미노산 248번째 라이신 잔기로부터 유래된 것일 수 있다. 여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)된다.

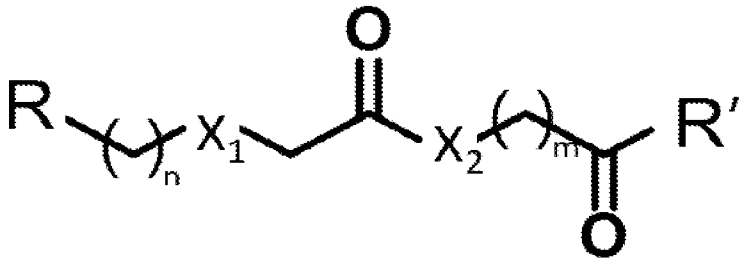
상기 CH2 도메인에 포함된 상기 248번째 라이신은 아민기를 제공할 수 있다. 상기 CH2 도메인

에 포함된 상기 248번째 라이신으로부터 제공된 아민기에 케톤기가 연결될 수 있다. 상기 케톤기에 c가 연결될 수 있다.

9. 조성물

본 명세서에 개시된 또다른 양태에 의하면, 하기 화학식 **4** 화합물, 하기 화학식 **10** 화합물, 하기 위치 특이적 인터랙톰 **I**, 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체, 상기 위치 특이적 인터랙톰-화합물 복합체, 단백질(Protein)의 라이신 잔기(Lysine Residue)-R, c"-페이로드 및 단백질(Protein)의 라이신 잔기-R-c"-P 중 어느 하나 이상을 포함하는 조성물이 제공될 수 있다.

[화학식 **4**]

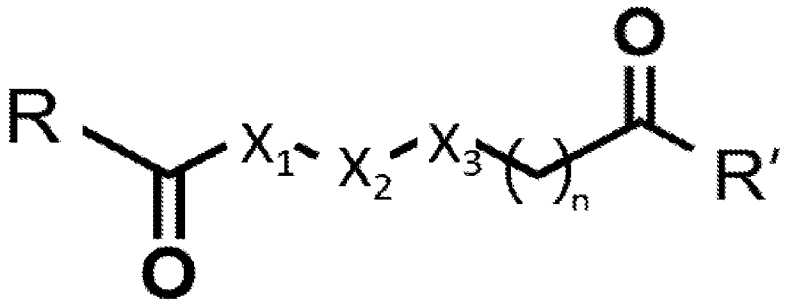


상기 화학식 **4**에서, m 및 n은 각각 0 또는 자연수 일 수 있다.

상기 화학식 **4**에서, R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다. 상기 클릭 화학 화합물 및 상기 페이로드는 전술하였다.

상기 화학식 **4**에서, R'은 상기 화학식 1의 NHS(N-Hydroxysuccinimide) 및 상기 화학식 2의 말레이미드(maleimide) 중 어느 하나일 수 있다.

[화학식 **10**]



상기 화학식 **10**에서, n은 0 또는 자연수 일 수 있다.

상기 화학식 **10**에서, R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나일 수 있다. 상기 클릭 화학 화합물 및 상기 페이로드는 전술하였다.

상기 화학식 **10**에서, R'은 상기 화학식 1의 NHS(N-Hydroxysuccinimide) 및 상기 화학식 2의 말레이미드(maleimide) 중 어느 하나일 수 있다.

[위치-특이적 인터랙톰 **I**]

(X_1)-(X_2)-(X_3)-(X_4)-(X_5)-(X_6)-(X_7)-(X_8)-(X_9)-(X_{10})-(X_{11})-(X_{12})-(X_{13}) (**I**)

상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**에서, 상기 X_1 내지 X_{13}은 전술하였다.

상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체, 상기 위치 특이적 인터랙톰-화합물 복합체, 단백질(Protein)의 라이신 잔기(Lysine Residue)-R, c"-페이로드 및 단백질(Protein)의 라이신 잔기-R-c"-P는 전술하였다.

조성물 (1): 화학식 4 화합물 또는 화학식 10 화합물 조성물

본 명세서에 개시된 일 실시예에 의하면, 화학식 **4** 화합물 또는 화학식 **10** 화합물을 포함하는 조성물 (**1**)이 제공될 수 있다.

상기 화학식 **4** 화합물은 제 1제로 제공될 수 있다. 또는 상기 화학식 **10** 화합물은 제 1제로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 건조 상태로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 습윤 상태로 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**1**)은 상기 화학식 **4** 화합물에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제2 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**1**)은 상기 화학식 **10** 화

합물에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제2 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**1**)은 상기 화학식 **4** 화합물에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제2 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**1**)은 상기 화학식 **10** 화합물에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제2 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제2 제는 상기 화학식 **4** 화합물에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제2 제는 상기 화학식 **10** 화합물에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제2 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**1**)은 상기 화학식 **4** 화합물을 이용한 반응에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**1**)은 상기 화학식 **10** 화합물을 이용한 반응에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**1**)은 상기 화학식 **4** 화합물을 이용한 반응에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (1)은 상기 화학식 **10** 화합물을 이용한 반응에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제3 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

조성물 (2): 위치 특이적 인터랙톰 I 및 화학식 4 화합물 또는 화학식 10 화합물 조성물

본 명세서에 개시된 다른 실시예에 의하면,

상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**; 및

화학식 **4** 화합물;

또는

위치 특이적 인터랙톰 **I**; 및

화학식 **10** 화합물; 을 포함하는 조성물 (**2**)이 제공될 수 있다.

상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**은 제 1제로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 건조 상태로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 습윤 상태로 제공될 수 있다.

상기 화학식 **4** 화합물은 제 2제로 제공될 수 있다. 상기 화학식 **10** 화합물은 제 2제로 제공될 수 있다. 상기 제 2제는 건조 상태로 제공될 수 있다. 상기 제 2제는 습윤 상태로 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**2**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**2**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제3 제는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제3 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**2**)는 상기 화학식 **4** 화합물에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제4 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**2**)는 상기 화학식 **10** 화합물에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제4 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**2**)는 상기 화학식 **4** 화합물에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제4 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**2**)는 상기 화학식 **10** 화합물에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제4 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제4 제는 상기 화학식 **4** 화합물에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제4 제는 상기 화학식 **10** 화합물에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제4 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**2**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물을 이용한 반응에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제5 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**2**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물을 이용한 반응에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제5 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**2**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물을 이용한 반응에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제5 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**2**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물을 이용한 반응에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제5 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제5 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

조성물 (3): 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체, 위치 특이적 인터랙톰 I 및 화학식 4 화합물 또는 화학식 10 화합물 조성물

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면,

항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체;

위치 특이적 인터랙톰 **I**; 및

화학식 **4** 화합물;

또는

항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체;

위치 특이적 인터랙톰 **I**; 및

화학식 **10** 화합물; 을 포함하는 조성물 (**3**)이 제공될 수 있다.

상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체는 제1 제로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 건조 상태로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 습윤 상태로 제공될 수 있다.

상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**은 제 2제로 제공될 수 있다. 상기 제 2제는 건조 상태로 제공될 수 있다. 상기 제 2제는 습윤 상태로 제공될 수 있다.

상기 화학식 **4** 화합물은 제 3제로 제공될 수 있다. 또는 상기 화학식 **10** 화합물은 제 3제로 제공될 수 있다. 상기 제 3제는 건조 상태로 제공될 수 있다. 상기 제 3제는 습윤 상태로 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**3**)은 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제4 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**3**)은 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제4 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제4 제는 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제4 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**3**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제5 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**3**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제5 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제5 제는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I**에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제5 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**3**)은 상기 화학식 **4** 화합물에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제6 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**3**)은 상기 화학식 **10** 화합물에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제6 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**3**)은 상기 화학식 **4** 화합물에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제6 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**3**)은 상기 화학식 **10** 화합물에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제6 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제6

제는 상기 화학식 **4** 화합물에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제6 제는 상기 화학식 **10** 화합물에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제6 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**3**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물을 이용한 반응에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제7 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**3**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물을 이용한 반응에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제7 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**3**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물을 이용한 반응에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제7 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**3**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물을 이용한 반응에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제7 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제7 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**3**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물에 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체을 반응시키는 것에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제8 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**3**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물에 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체을 반응시키는 것에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제8 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**3**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물에 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체을 반응시키는 것에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제8 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**3**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물에 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체을 반응시키는 것에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제8 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제8 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

조성물 (4): 위치 특이적 인터랙톰 I 및 상기 화학식 4 화합물 또는 상기 화학식 10 화합물의 반응 중간 생성물 조성물

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면,

위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물; 또는

위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물; 을 포함하는 조성물 (**4**)가 제공될 수 있다.

상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물은 제1 제로 제공될 수 있다. 또는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물은 제1 제로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 건조 상태로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 습윤 상태로 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**4**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제2 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**4**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제2 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**4**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제2 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**4**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제2 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제2 제는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제2 제는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제2 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**4**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물을 이용한 반응에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**4**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물을 이용한 반응에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**4**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물을 이용한 반응에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 기 조성물 (**4**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물을 이용한 반응에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제3 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

조성물 (5): 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체 및 위치 특이적 인터랙톰 I 및 상기 화학식 4 화합물 또는 상기 화학식 10 화합물의 반응 중간 생성물 조성물

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면,

항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체; 및

위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물;

또는

항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체; 및

위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물; 을 포함하는 조성물 (**5**)가 제공될 수 있다.

상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체는 제1제로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 건조 상태로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 습윤 상태로 제공될 수 있다.

상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물은 제 2제로 제공될 수 있다. 또는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물은 제 2제로 제공될 수 있다. 상기 제 2제는 건조 상태로 제공될 수 있다. 상기 제 2제는 습윤 상태로 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**5**)는 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**5**)는 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제3 제는 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제3 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**5**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제4 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**5**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제4 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**5**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제4 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**5**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제4 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제4 제는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물

의 반응 중간 생성물에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제4 제는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제4 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**5**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물에 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체을 반응시키는 것에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제5 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**5**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물에 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체을 반응시키는 것에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제5 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**5**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물에 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체을 반응시키는 것에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제5 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**5**)는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물에 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체을 반응시키는 것에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제5 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제5 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

조성물 (6): 위치 특이적 인터랙톰 I 및 상기 화학식 4 화합물 또는 상기 화학식 10 화합물의 반응 중간 생성물 및 c"-페이로드 조성물

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면,

위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물; 및

c"-페이로드

또는

위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물; 및

c"-페이로드; 를 포함하는 조성물 (**6**)이 제공될 수 있다.

상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물은 제 1제로 제공될 수 있다. 또는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물은 제 1제로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 건조 상태로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 습윤 상태로 제공될 수 있다.

상기 c"-페이로드는 제 2제로 제공될 수 있다. 상기 제1 제는 건조 상태로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 습윤 상태로 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**6**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**6**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**6**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**6**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제3 제는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제3 제는 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제3 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**6**)은 상기 c"-페이로드에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제4 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**6**)은 상기 c"-페이로드에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제4 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제4 제는 상기 c"-페이로드에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제4 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**6**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물에 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체을 반응시키는 것에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제5 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**6**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물에 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체을 반응시키는 것에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제5 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**6**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물에 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체을 반응시키는 것에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제5 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**6**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물에 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체을 반응시키는 것에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제5 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제5 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**6**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물 및 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체의 반응 산물에 상기 c"-페이로드를 반응시키는 것에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제6 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**6**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물 및 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체의 반응 산물에 상기 c"-페이로드를 반응시키는 것에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제6 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**6**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **4** 화합물의 반응 중간 생성물 및 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체의 반응 산물에 상기 c"-페이로드를 반응시키는 것에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제6 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**6**)은 상기 위치 특이적 인터랙톰 **I** 및 상기 화학식 **10** 화합물의 반응 중간 생성물 및 상기 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체의 반응 산물에 상기 c"-페이로드를 반응시키는 것에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제6 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제6 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

조성물 (7): 단백질(Protein)의 아민기-R 단백질체 조성물

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면,

단백질(Protein)의 아민기-R 단백질체를 포함하는 조성물 (**7**)이 제공될 수 있다.

상기 단백질(Protein)의 아민기-R 단백질체는 제 1제로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 건조 상태로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 습윤 상태로 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**7**)은 상기 단백질(Protein)의 아민기-R 단백질체에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제2 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**7**)은 단백질(Protein)의 아민기-R 단백질체에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제2 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제2 제는 상기 단백질(Protein)의 아민기-R 단백질체에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제2 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**7**)은 상기 단백질(Protein)의 아민기-R 단백질체를 이용한 반응에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**7**)은 상기 단백질(Protein)의 아민기-R 단백질체를 이용한 반응에 필요

한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제3 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

조성물 (8): c"-페이로드 조성물

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면,

c"-페이로드를 포함하는 조성물 (**8**)이 제공될 수 있다.

상기 c"-페이로드는 제 1제로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 건조 상태로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 습윤 상태로 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**8**)은 상기 c"-페이로드에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제2 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**8**)은 상기 c"-페이로드에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제2 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제2 제는 상기 c"-페이로드에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제2 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**8**)은 상기 c"-페이로드를 이용한 반응에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**8**)은 상기 c"-페이로드를 이용한 반응에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제3 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제3 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

조성물 (9): 단백질(Protein)의 아민기-R 단백질체 및 c"-페이로드 조성물

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면,

단백질(Protein)의 아민기-R 단백질체; 및

c"-페이로드; 를 포함하는 조성물 (**9**)가 제공될 수 있다.

상기 단백질(Protein)의 아민기-R 단백질체는 제 1제로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 건조 상태로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 습윤 상태로 제공될 수 있다.

상기 c"-페이로드는 제 2제로 제공될 수 있다. 상기 제 2제는 건조 상태로 제공될 수 있다. 상기

제 2제는 습윤 상태로 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**9**)는 상기 단백질(Protein)의 아민기-R 단백질체에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제 3제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**9**)는 단백질(Protein)의 아민기-R 단백질체에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제 3제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제 3제는 상기 단백질(Protein)의 아민기-R 단백질체에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제 3제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**9**)는 상기 c"-페이로드에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제 4제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**9**)는 상기 c"-페이로드에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제 4제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제 4제는 상기 c"-페이로드에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제 4제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**9**)은 상기 단백질(Protein)의 아민기-R 단백질체에 상기 c"-페이로드를 반응시키는 것에 필요한 반응 완충 용액(reaction buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제 5제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**9**)는 상기 단백질(Protein)의 아민기-R 단백질체에 상기 c"-페이로드를 반응시키는 것에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제 5제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**9**)는 상기 단백질(Protein)의 아민기-R 단백질체에 상기 c"-페이로드를 반응시키는 것에 필요한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제 5제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제 5제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

조성물 (10): 단백질(Protein)의 아민기-R-c"-페이로드 단백질체 조성물

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면,

단백질(Protein)의 아민기-R-c"-페이로드 단백질체를 포함하는 조성물 (**10**)이 제공될 수 있다.

상기 단백질(Protein)의 아민기-R-c"-페이로드 단백질체는 제 1제로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 건조 상태로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 습윤 상태로 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**10**)은 상기 단백질(Protein)의 아민기-R-c"-페이로드 단백질체에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제2 제로서 추가적으로 포함할 수 있다.

상기 조성물 (**10**)은 단백질(Protein)의 아민기-R-c"-페이로드 단백질체에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제2 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제2 제는 상기 단백질(Protein)의 아민기-R-c"-페이로드 단백질체에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제2 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

조성물 (11): 단백질(Protein)의 아민기-페이로드 단백질체 조성물

본 명세서에 개시된 또다른 실시예에 의하면,

단백질(Protein)의 아민기-페이로드 단백질체를 포함하는 조성물 (**10**)이 제공될 수 있다.

상기 단백질(Protein)의 아민기-페이로드 단백질체는 제 1제로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 건조 상태로 제공될 수 있다. 상기 제 1제는 습윤 상태로 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**10**)은 상기 단백질(Protein)의 아민기-페이로드 단백질체에 대한 완충 용액(buffer), pH 조절제 및 염 조절제 중 어느 하나 이상을 제2 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 조성물 (**10**)은 단백질(Protein)의 아민기-페이로드 단백질체에 대한 안정화제(stabilizing agent) 및 보조 안정화제(co-stabilizing agent) 중 어느 하나 이상을 제2 제로서 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 제2 제는 상기 단백질(Protein)의 아민기-페이로드 단백질체에 혼합된 형태로 제공될 수 있다. 상기 제2 제는 별도의 용기에 제공될 수 있다.

10. 제형

본 명세서에 개시된 또다른 양태에 의하면, 상기 조성물 (**1**) 내지 상기 조성물(**11**)을 이용한 제제가 제공될 수 있다.

상기 제제는 액체 제형, 고체 제형 및 반고체 제형 중 어느 하나 이상일 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 실시예에 의하면, 상기 조성물 (**1**) 내지 상기 조성물(**11**)을 이용한 액체 제형 제제가 제공될 수 있다.

상기 액체 제형 제제는 물약(solution), 시럽(syrup), 도포제, 유제(emulsion), 현탁제(Suspension) 및 주사제(injection)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본 명세서에 개시된 다른 실시예에 의하면, 상기 조성물 (**1**) 내지 상기 조성물(**11**)을 이용한 고체 제형 제제 또는 반고체 제형 제제가 제공될 수 있다.

상기 고체 제형 제제 또는 반고체 제형 제제는 가루약(Powder), 캡슐(Capsule), 정제(Tablet), 알약, 과립, 연고(Ointment), 좌약(suppository)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 상기 조성물 (**1**) 내지 상기 조성물 (**11**)은 가루약(Powder)의 제형으로 제공될 수 있다.

본 명세서에 개시된 다른 구현예에 의하면, 상기 조성물 (**10**) 또는 상기 조성물 (**11**)은 주사제(injection)의 제형으로 제공될 수 있다.

본 명세서에 개시된 또다른 구현예에 의하면, 상기 조성물 (**10**) 또는 상기 조성물 (**11**)은 현탁제(Suspension)의 제형으로 제공될 수 있다.

11. 투여 방법 및 투여 용량

본 명세서에 개시된 또다른 양태에 의하면, 상기 조성물 (**10**)을 포함하는 약학적 조성물 또는 상기 조성물 (**11**)을 포함하는 약학적 조성물의 투여 방법또는 투여 용량이 제공될 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 실시예에 의하면, 상기 조성물 (**10**)을 포함하는 약학적 조성물 또는 상기 조성물 (**11**)을 포함하는 약학적 조성물의 투여 방법이 제공될 수 있다.

상기 투여 방법은 경구투여(per oral; P. O), 도포 투여, 주사 투여(injection) 및 흡입 투여 중 어느 하나 이상일 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 상기 조성물 (**10**) 또는 상기 조성물(**11**)의 주사 투여 방법이 제공될 수 있다.

상기 주사 투여는 근육 주사(intramuscular injection; IM), 피내 주사(intradermal injection; ID), 피하 주사(subcutaneous injection; SC), 복강내 주사(intraperitoneal injection; IP) 및 정맥주사(intravenous injection; IV) 중 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한 상기 주사 투여는 전신 또는 국부 투여 될 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구체예에 의하면, 상기 조성물 (**10**) 또는 상기 조성물(**11**)은 정맥주사(intravenous injection; IV)로 투여될 수 있다.

본 명세서에 개시된 다른 구체예에 의하면, 상기 조성물 (**10**) 또는 상기 조성물(**11**)은 복강내 주사(intraperitoneal injection; IP)로 투여될 수 있다.

본 명세서에 개시된 다른 실시예에 의하면, 상기 조성물 (**10**)을 포함하는 약학적 조성물 또는 상기 조성물 (**11**)을 포함하는 약학적 조성물의 투여 용량이 제공될 수 있다.

상기 조성물 (**10**)을 포함하는 약학적 조성물 또는 상기 조성물 (**11**)을 포함하는 약학적 조성물은 상기 단백질(Protein)의 아민기-R-c”-페이로드 단백질체 또는 상기 단백질(Protein)의 아민기-페이로드 단백질체를 유효한 양으로 포함할 수 있다.

상기 "유효한 양"은 예방 또는 치료를 필요로 하는 개체에게 투여되는 경우 예방 또는 치료의 효과를 나타내기에 충분한 양을 말한다. 상기 유효한 양은 당업자가 선택되는 세포 또는 개체에 따라 적절하게 선택할 수 있다. 질환의 중증도, 환자의 연령, 체중, 건강, 성별, 환자의 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료 기간, 사용된 조성물과 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 상기 유효한 양은 상기 약학적 조성물 당 약 0.5 μg 내지 약 2 g, 약 1 μg 내지 약 1 g, 약 10 μg 내지 약 500 mg, 약 100 μg 내지 약 100 mg, 또는 약 1 mg 내지 약 50 mg일 수 있다.

상기 상기 조성물 (**10**)을 포함하는 약학적 조성물 또는 상기 조성물 (**11**)을 포함하는 약학적 조성물의 투여량은 예를 들어, 성인 기준으로 약 0.001 ㎎/kg 내지 약 100 ㎎/kg, 약 0.01 ㎎/kg 내지 약 10 ㎎/kg, 또는 약 0.1 ㎎/kg 내지 약 1 ㎎/kg의 범위 내 일 수 있다. 상기 투여는 1일 1회, 1일 다회, 또는 1주일에 1회, 2주일에 1회, 3주일에 1회, 또는 4주일에 1회 내지 1년에 1회 투여될 수 있다.

12. 결합 친화성(Binding Affinity)

본 명세서에 개시된 또다른 양태에 의하면, 결합 친화성이 유지된 단백질체가 제공될 수 있다.

상기 결합친화성은 FcRn (Neonatal Fc receptor)에 대한 결합 친화성일 수 있다. 상기 단백질체는 항체약물컨쥬게이트(Antibody Drug Conjugate; ADC) 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트(Antibody

Fragment Drug Conjugate; AFDC) 일 수 있다.

상기 결합 친화성은 표적 분자-단백질체 간 결합 친화성일 수 있다. 상기 단백질체는 항체약물컨쥬게이트(Antibody Drug Conjugate; ADC) 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트(Antibody Fragment Drug Conjugate; AFDC)일 수 있다.

상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트는 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체일 수 있다. 상기 항체의 CH2 도메인은 IgG CH2도메인 일 수 있다. 상기 IgG의 CH2 도메인은 IgG1의 CH2 도메인, IgG2의 CH2 도메인, IgG3의 CH2 도메인 및 IgG4의 CH2 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 항체의 CH2 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다. 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다. 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 실시예에 의하면, FcRn에 대한 결합 친화성이 유지된 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트가 제공될 수 있다.

상기 FcRn은 IgG 항체 유래 CH2 도메인의 일 영역에 대한 결합 친화성을 가지는 분자를 의미할 수 있다. 상기 IgG 항체 유래 CH2 도메인은 항체약물컨쥬게이트를 구성할 수 있다. 상기 IgG 항체 유래 CH2 도메인은 항체 단편-약물컨쥬게이트를 구성할 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트가 상기 FcRn에 대한 결합 친화성을 유지하는 것은 표면 플라즈몬 공명(Surface Plasmon Resonance; SPR) 분석으로 확인할 수 있다.

상기 표면 플라즈몬 공명 분석을 통하여, 상기 FcRn에 대한 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 속도상수 kd(dissociation rate constant) 값을 산출할 수 있다. 상기 표면 플라즈몬 공명 분석을 통하여, 상기 FcRn에 대한 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 속도상수 ka(association rate constrant) 값을 산출할 수 있다. 상기 표면 플라즈몬 공명 분석을 통하여, 상기 FcRn에 대한 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 평형상수 KD(equilibrium dissociation constant) 값을 산출할 수 있다. 상기 KD 값은 상기 kd 값을 상기 ka 값으로 나눈 값에 대응한다.

본 명세서에 개시된 다른 구현예에 의하면, 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게

이트가 상기 FcRn에 대한 결합 친화성을 유지하는 것은 생체 투여 후 반감기 측정을 통하여 확인할 수 있다.

상기 FcRn에 대한 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 반감기 측정은

대조군 항체 또는 대조군 항체 단편의 생체 투여 후 반감기 측정 값 (a); 및

상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 생체 투여 후 반감기 측정 값(b);

을 비교하여 측정 할 수 있다.

상기 대조군 항체 또는 대조군 항체 단편은 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트를 구성하는 항체와 동일하나, 인위적인 컨쥬게이션 조작을 가하지 않은 상태의 항체 또는 항체 단편을 의미한다.

상기 (b)/(a)값이 0.90 내지 1.10 사이인 경우, 상기 대조군 항체 또는 대조군 항체 단편의 반감기 및 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 반감기가 유사한 것으로 판단할 수 있다.

상기 대조군 항체 또는 대조군 항체 단편의 반감기 및 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 반감기가 유사한 경우, 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트는 상기 FcRn에 대한 결합 친화성을 유지하는 것으로 판단할 있다.

본 명세서에 개시된 또다른 구현예에 의하면, 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트가 상기 FcRn에 대한 결합 친화성을 유지하는 것은 면역 침강 반응(immunoprecipitation; IP) 측정을 통하여 확인할 수 있다. 상기 면역 침강 반응은 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay, enzyme-linked immunospecific assay)일 수 있다. 상기 ELISA는 직접 ELISA(Direct ELISA), 간접 ELISA(Indirect ELISA), 샌드위치 ELISA(Sandwich ELISA) 및 경쟁적 ELISA(Competitive ELISA) 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 FcRn에 대한 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 ELISA 측정은

대조군 항체 또는 대조군 항체 단편의 ELISA 측정 값 (a); 및

상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 ELISA 측정 값(b);

을 비교하여 측정 할 수 있다.

상기 대조군 항체 또는 대조군 항체 단편은 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트를 구성하는 항체와 동일하나, 인위적인 컨쥬게이션 조작을 가하지 않은 상태의 항체 또는 항체 단편을 의미한다.

상기 (b)/(a)값이 0.90 내지 1.10 사이인 경우, 상기 대조군 항체 또는 대조군 항체 단편의 FcRn 결합력 및 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 FcRn 결합력이 유사한 것으로 판단할 수 있다.

상기 대조군 항체 또는 대조군 항체 단편의 FcRn 결합력 및 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 FcRn 결합력이 유사한 경우, 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트는 상기 FcRn에 대한 결합 친화성을 유지하는 것으로 판단할 있다.

상기 FcRn에 대한 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 경쟁적 ELISA 측정은

대조군 항체 또는 대조군 항체 단편; 및

상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트; 를 동시에 처리하고,

대조군 항체 또는 대조군 항체 단편의 FcRn 결합량(a); 및

상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 FcRn 결합량(b); 을 비교하여 측정 할 수 있다.

상기 대조군 항체 또는 대조군 항체 단편은 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트를 구성하는 항체와 동일하나, 인위적인 컨쥬게이션 조작을 가하지 않은 상태의 항체 또는 항체 단편을 의미한다.

상기 (b)/(a)값이 0.90 내지 1.10 사이인 경우, 상기 대조군 항체 또는 대조군의 FcRn 결합력 항체 단편 및 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 FcRn 결합력이 유사한 것으로 판단할 수 있다.

상기 대조군 항체 또는 대조군 항체 단편의 FcRn 결합력 및 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 FcRn 결합력이 유사한 경우, 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트는 상기 FcRn에 대한 결합 친화성을 유지하는 것으로 판단할 있다.

본 명세서에 개시된 다른 실시예에 의하면, 표적 분자-단백질체 간 결합 친화성이 유지된 단백질체가 제공될 수 있다.

상기 표적 분자-단백질체 간 결합 친화성은 에피토프(epitope)-파라토프(paratope) 간 결합 친화성일 수 있다. 상기 표적 분자-단백질체 간 결합 친화성은 에피토프-단백질체 간 결합 친화성일 수 있다. 상기 표적 분자-단백질체 간 결합 친화성은 항원-단백질체 간 결합 친화성일 수 있다. 상기

표적 분자-단백질체 간 결합 친화성은 특정 항체에 대한 수용체-단백질체 간 결합 친화성일 수 있다.

상기 표적 분자-단백질체 간 결합 친화성은 에피토프-항체약물컨쥬게이트 간 결합 친화성일 수 있다. 상기 표적 분자-단백질체 간 결합 친화성은 에피토프-항체 단편-약물컨쥬게이트 간 결합 친화성일 수 있다. 상기 표적 분자-단백질체 간 결합 친화성은 항원-항체약물컨쥬게이트 간 결합 친화성일 수 있다. 상기 표적 분자-단백질체 간 결합 친화성은 항원-항체 단편-약물컨쥬게이트 간 결합 친화성일 수 있다. 상기 표적 분자-단백질체 간 결합 친화성은 특정 항체에 대한 수용체-항체약물컨쥬게이트 간 결합 친화성일 수 있다. 상기 표적 분자-단백질체 간 결합 친화성은 특정 항체에 대한 수용체-항체 단편-약물 컨쥬게이트 간 결합 친화성일 수 있다.

상기 분자-단백질체 간 결합을 구성하는 상기 분자는 에피토프(epitope), 항원 및 특정 항체에 대한 수용체 중 어느 하나 이상일 수 있다. 상기 표적 분자-단백질체 간 결합을 구성하는 상기 분자는 IgG 항체 파라토프의 일 영역에 대한 결합 친화성을 가지는 분자를 의미할 수 있다. 상기 IgG 항체 파라토프는 항체약물컨쥬게이트를 구성할 수 있다. 상기 IgG 항체 파라토프는 항체 단편-약물컨쥬게이트를 구성할 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 구현예에 의하면, 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트가 상기 표적 분자에 대한 결합 친화성을 유지하는 것은 표면 플라즈몬 공명(Surface Plasmon Resonance; SPR) 분석으로 확인할 수 있다.

상기 표면 플라즈몬 공명 분석을 통하여, 상기 표적 분자에 대한 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 속도상수 kd(dissociation rate constant) 값을 산출할 수 있다. 상기 표면 플라즈몬 공명 분석을 통하여, 상기 표적 분자에 대한 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 속도상수 ka(association rate constrant) 값을 산출할 수 있다. 상기 표면 플라즈몬 공명 분석을 통하여, 상기 표적 분자에 대한 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 평형상수 KD(equilibrium dissociation constant) 값을 산출할 수 있다. 상기 KD 값은 상기 kd 값을 상기 ka 값으로 나눈 값에 대응한다.

본 명세서에 개시된 다른 구현예에 의하면, 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트가 상기 표적 분자에 대한 결합 친화성을 유지하는 것은 생체 투여 후 이미징 분자 측정을 통하여 확인할 수 있다.

상기 표적 분자에 대한 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 생체 투여 후 이미징 분자 측정은

대조군 항체 또는 대조군 항체 단편의 생체 투여 후 이미징 분자 도포 경향 (a); 및

상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 생체 투여 후 이미징 분자 도포 경향 (b) ;

을 비교하여 확인 할 수 있다.

상기 대조군 항체 또는 대조군 항체 단편은 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트를 구성하는 항체와 동일하나, 인위적인 컨쥬게이션 조작을 가하지 않은 상태의 항체 또는 항체 단편을 의미한다.

상기 (a) 및 (b)를 대조한 결과, 이미징 분자의 도표 경향이 유사한 경우, 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트는 상기 표적 분자에 대한 결합 친화성을 유지하는 것으로 판단할 수 있다.

본 명세서에 개시된 또다른 구현예에 의하면, 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트가 상기 표적 분자에 대한 결합 친화성을 유지하는 것은 면역 침강 반응 (immunoprecipitation; IP) 측정을 통하여 확인할 수 있다. 상기 면역 침강 반응은 단백질 칩 분석 (Protein Chip Analysis)일 수 있다. 상기 단백질 칩 분석에 이용되는 단백질 칩은 슬라이드에 표적 분자 및 비표적 분자들을 고밀도로 집적한 것일 수 있다.

상기 표적 분자에 대한 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 단백질 칩 분석은

대조군 항체 또는 대조군 항체 단편의 단백질 칩 상 친화성 분석 결과 (a); 및

상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트의 단백질 칩 상 친화성 분석 결과 (b);

를 비교하여 수행 할 수 있다.

상기 대조군 항체 또는 대조군 항체 단편은 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트를 구성하는 항체와 동일하나, 인위적인 컨쥬게이션 조작을 가하지 않은 상태의 항체 또는 항체 단편을 의미한다.

상기 (a) 및 (b)를 대조하여, 친화성에 대한 정량적 분석 및 정성적 분석 중 어느 하나 이상을 수행할 수 있다. 상기 정량적 분석 및 상기 정성적 분석 중 어느 하나 이상의 결과로부터, 단백질 칩 상에서 분석값이 유사한 경우, 상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트는 상기 표적 분자에 대한 결합 친화성을 유지하는 것으로 판단할 수 있다.

13. PK 및 PD

본 명세서에 개시된 또다른 양태에 의하면, 상기 단백질체의 PK(Pharmacokinetics) 및 PD(Pharmacodynamics) 이 제공될 수 있다.

상기 PK는 링커안정성, 반감기, 배출 및 분포 용적(Volume of Distribution) 중 어느 하나 이상을 측정함으로써 산출할 수 있다.

상기 PD는 세포특이성(Cell Selectivity) 및 종양 크기(Tumor Size) 중 어느 하나 이상을 측정함으로써 산출할 수 있다.

상기 단백질체는 항체약물컨쥬게이트(Antibody Drug Conjugate; ADC) 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트(Antibody Fragment Drug Conjugate; AFDC)일 수 있다.

상기 항체약물컨쥬게이트 또는 항체 단편-약물컨쥬게이트는 항체의 CH2 도메인을 포함하는 단백질체일 수 있다. 상기 항체의 CH2 도메인은 IgG CH2도메인 일 수 있다. 상기 IgG의 CH2 도메인은 IgG1의 CH2 도메인, IgG2의 CH2 도메인, IgG3의 CH2 도메인 및 IgG4의 CH2 도메인 중 어느 하나 이상일 수 있다.

상기 항체의 CH2 도메인은 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다. 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 인간 *IgG1 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다. 상기 인간 *IgG CH2* 유전자 유래 CH2 도메인은 인간 *IgG2 CH2* 유전자 유래 CH2 도메인일 수 있다.

본 명세서에 개시된 일 실시예에 의하면, 상기 단백질체의 링커안정성, 반감기, 배출 및 분포 용적(Volume of Distribution) 중 어느 하나 이상을 포함한 PK(Pharmacokinetics) 값이 제공될 수 있다.

상기 단백질체의 상기 링커안정성은 상기 단백질체에 포함된 링커의 혈중 안정성에 의해 결정될 수 있다.

상기 단백질체의 상기 링커안정성은 상기 단백질체에 포함된 링커의 분해 효소 특이성에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 상기 단백질체의 상기 링커안정성은 상기 단백질체에 포함된 VC링커의 카텝신B 특이성에 의해 결정될 수 있다.

상기 단백질체의 상기 반감기는 상기 단백질체의 FcRn 결합 친화성에 의해 결정될 수 있다.

상기 단백질체의 상기 배출은 상기 단백질체의 응집(aggregation) 결과 신장에 의해 배출되는 정도에 의해 결정될 수 있다.

상기 단백질체의 상기 분포 용적은 상기 단백질체의 혈청 분배 계수 및 세포 조직 분배 계수에

의해 결정될 수 있다.

본 명세서에 개시된 다른 실시예에 의하면, 상기 단백질체의 세포특이성(Cell Selectivity) 및 종양 크기(Tumor Size) 중 어느 하나 이상을 포함한 PD(Pharmacodynamics) 값이 제공될 수 있다.

상기 단백질체의 상기 세포 특이성은 표적 세포 및 비표적 세포들에 대한 단백질체의 특이적 결합 정도에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 상기 단백질체가 항-암 항체의 파라토프를 포함하는 항체약물컨쥬게이트 또는 항체-단편 약물컨쥬게이트인 경우, 표적 암세포 및 정상세포에 대한 상기 단백질체의 특이적 결합 정도에 의해 결정될 수 있다.

상기 단백질체의 상기 종양 크기는 상기 단백질체를 종양을 포함하는 개체의 생체 내(*in vivo*)로 주입하고, 상기 단백질체를 주입한 개체의 종양 크기의 변화 추이에 의하여 결정될 수 있다. 이때, 대조군으로 상기 단백질체를 포함하지 않는 주입제를 주입한 개체의 종양 크기의 변화 추이를 비교할 수 있다. 또는, 이때, 대조군으로 상기 단백질체를 주입하지 않은 개체의 종양 크기의 변화 추이를 비교할 수 있다.

【부호의 설명】

1: 항체 제1 중쇄의 CH3 도메인

2: 항체 제1 중쇄의 CH2 도메인

3: 항체 제1 중쇄의 CH1 도메인

4: 항체 제1 중쇄의 VH 도메인

5: 항체 제1 경쇄의 CL 도메인

6: 항체 제1 경쇄의 VL 도메인

7: 항체 제2쇄의 CH3 도메인

8: 항체 제2중쇄의 CH2 도메인

9: 항체 제2중쇄의 CH1 도메인

10: 항체 제2 중쇄의 VH 도메인

11: 항체 제2 경쇄의 CL 도메인

12: 항체 제2 경쇄의 VL 도메인

13: 상기 항체 제1 중쇄의 Fc 도메인

14: 상기 항체 제2 중쇄의 Fc 도메인

100: R-IC-R' 화합물

130: c"-P 화합물

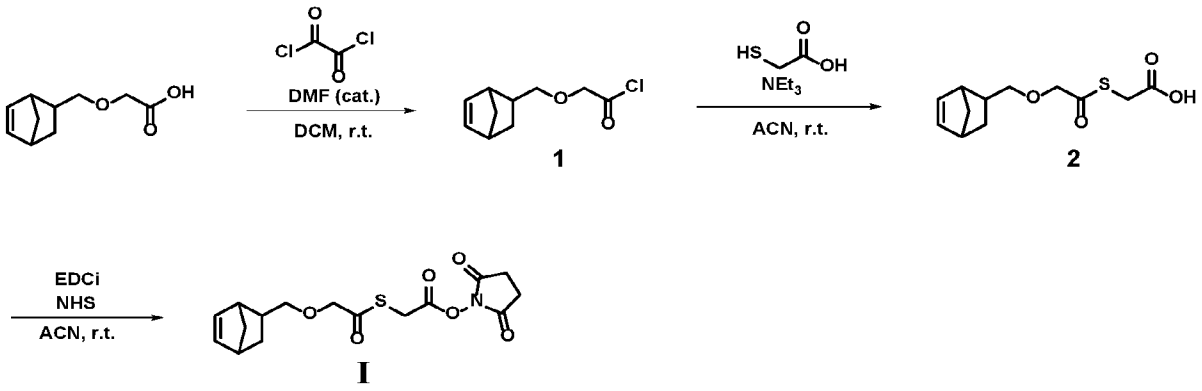
200: SSI

300: SSI-IC-R

【Experimental Example】

[실시예 1] 화합물 합성 방법 및 구조 확인

실시예 1-1: 화합물 I (SO1 Linker: NHS & Norbornene)



실시예 1-1-1: 화합물 I 합성 방법

화합물 1의 합성

2-(바이사이클로[2.2.1]헵트-5-엔-2-일메톡시)아세트산 2 g (10.98 mmol, 1.0 eq)을 DCM 50 mL에 용해시킨 후, 상온에서 교반하면서 DMF 0.085 mL (1.098 mmol, 0.1 eq), Oxallyl chloride 1.91 mL (21.96 mmol, 2.0 eq)를 천천히 적가하였다. 반응 용액을 3 시간 동안 교반한 뒤, 감압 농축하여 목적 화합물을 1.97 g 획득하였다 (yield: 90%).

화합물 2의 합성

1.97 g (9.88 mmol, 1.0 eq)의 화합물 1을 Acetonitrile (ACN) 20 mL에 용해시킨 후, 상온에서 교반하면서 Thioglycolic acid 0.68 mL (9.88 mmol, 1.0 eq), Triethylamine 2.06 mL (14.82 mmol, 1.5 eq)를 천천히 적가하였다. 18 시간 동안 교반시킨 후 반응 용액을 감압 농축하고 물을 추가하여 Ethylacetate (EA)로 3회 추출하였다. 황산 마그네슘을 이용하여 유기 층을 건조하고 감압 농축한 뒤 컬럼크로마토그래피 (DCM:MeOH = 10:1)를 이용하여 정제하였고, 목적 화합물을 2.05 g (yield: 79%)를 획득하였다.

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 6.15 – 6.01 (m, 2H), 4.20 (t, *J* = 5.0 Hz, 1H), 3.77 – 3.71 (m, 2H), 3.68 – 3.57 (m, 1H), 3.56 – 3.45 (m, 1H), 2.84 (s, 2H), 1.81 – 1.69 (m, 2H), 1.30 (ddd, *J* = 19.8, 14.5, 8.6 Hz, 4H), 1.15 (ddd, *J* = 16.0, 7.6, 3.3 Hz, 1H).

화합물 Ⅰ의 합성

2.05 g (7.81 mmol, 1.0 eq)의 화합물 2를 ACN 50 mL에 용해시킨 후, 상온에서 교반하면서 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDCi) 2.76 g (14.44 mmol, 1.8 eq), N-hydroxysuccinimide (NHS) 2.21 g (19.25 mmol, 2.46 eq)를 첨가하였다. 반응 용액을 18 시간 동안 교반한 뒤, 감압 농축하고 물을 추가하여 EA로 3회 추출하였다. 유기 층을 회수하여 황산마그네슘으로 건조하고 감압 농축한 뒤 잔류물을 실리카겔 컬럼 상에서 크로마토그래피 (EA:Hex = 2:1)로 정제하였고, 목적 화합물을 2.7 g (yield: 98%)을 수득하였다.

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 6.15 – 6.03 (m, 2H), 4.45 (s, 1H), 4.21 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 3.97 (s, 1H), 3.65 (dd, *J* = 12.0, 7.3 Hz, 1H), 3.52 (t, *J* = 8.9 Hz, 1H), 2.83 (dd, *J* = 24.4, 11.8 Hz, 6H), 1.81 – 1.67 (m, 1H), 1.30 (dq, *J* = 27.0, 9.5 Hz, 4H), 1.16 (ddd, *J* = 15.3, 7.4, 3.8 Hz, 1H).

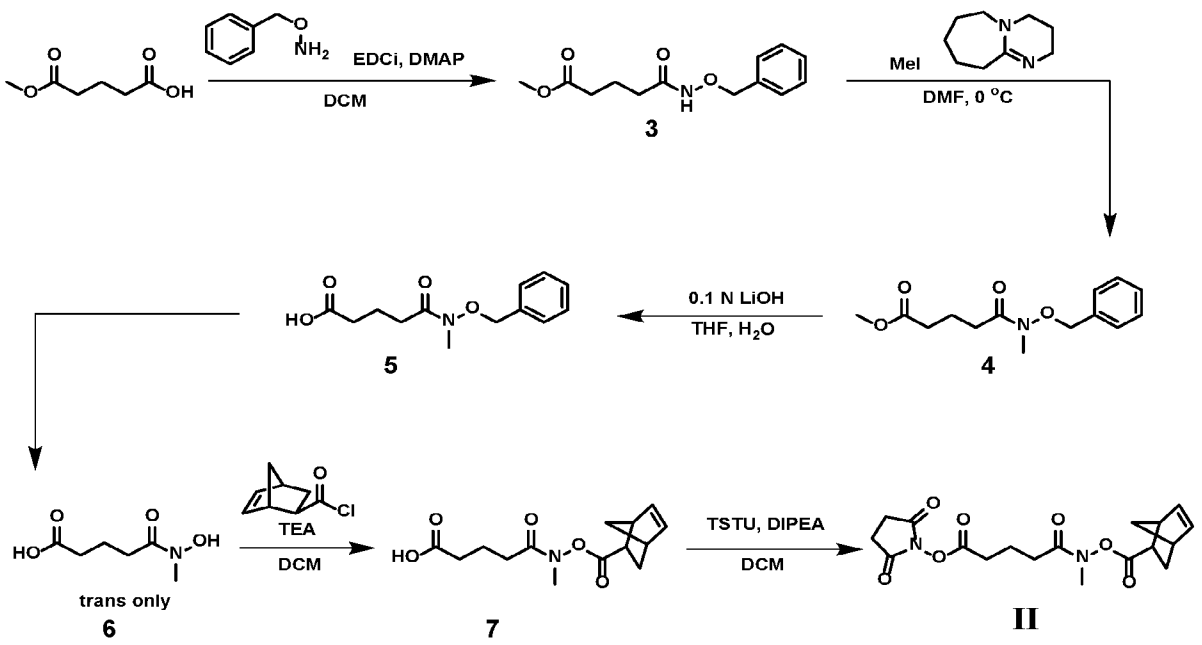
실시예 1-1-2: 화합물 Ⅰ 의 구조 확인

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 6.15 – 6.03 (m, 2H), 4.45 (s, 1H), 4.21 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 3.97 (s, 1H), 3.65 (dd, *J* = 12.0, 7.3 Hz, 1H), 3.52 (t, *J* = 8.9 Hz, 1H), 2.83 (dd, *J* = 24.4, 11.8 Hz, 6H), 1.81 – 1.67 (m, 1H), 1.30 (dq, *J* = 27.0, 9.5 Hz, 4H), 1.16 (ddd, *J* = 15.3, 7.4, 3.8 Hz, 1H).

LRMS (ESI): m/z 371.2 [M+ NH_4^+]

그 결과를 FIG. 9에 도시하였다 (FIG. 9).

실시예 1-2: 화합물 Ⅱ (Trans Linker: NHS & Norbornene)



실시예 1-2-1: 화합물 II 합성 방법

화합물 3의 합성

Monomethylglutarate 10 g (68.4 mmol, 1.0 eq)을 Dichloromethane (DCM) 250 mL에 녹여 교반시킨다. 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDCi) 17.7 g (92.3 mmol, 1.34 eq)와 *N,N*-Diisopropylethylamine (DIPEA) 24 mL (138 mmol, 2.0 eq)를 천천히 적가하여 20 분 동안 교반시킨 후 *O*-benzylhydroxyamine 8 mL (68.7 mmol, 1.0 eq)를 천천히 적가하였다. 18 시간 뒤 반응 용액을 감압농축하여 제거하였고, Ethylacetate (EA)에 다시 녹여주었다. 유기 층을 10% 시트르산 용액을 사용하여 3번 씻어주었고, 포화소금용액과 황산 나트륨을 사용하여 건조하였다. 목적 화합물을 정제없이 다음 반응에 사용하였다 (crude yield : 12.9 g, 88%). TLC (EA:Hex = 2:1); R_f = 0.5

^{1}H NMR (300 MHz, dmso) δ 7.35 (d, J = 3.5 Hz, 5H), 4.75 (d, J = 3.5 Hz, 2H), 3.56 (d, J = 4.0 Hz, 3H), 2.26 (td, J = 7.3, 3.8 Hz, 2H), 1.96 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 1.78 – 1.61 (m, 2H).

화합물 4의 합성

화합물 3 12.9 g을 *N,N*-Dimethylformamide (DMF) 200 mL에 녹인 후 0 ℃에서 교반시켰다. 1,8-Diazabicyclo(5.4.0)undec-7-ene (DBU) 24 mL (160 mmol, 3.08 eq)와 Methyliodide (MeI) 10 mL (160 mmol, 3.08 eq)를 천천히 적가하였다. Diethylamine 0.2 mL을 천천히 적가하였다. 20 시간 동안 교반시킨 후 반응 용매를 Celite와 섞어 감압농축하여 제거하였고, 컬럼크로마토그래피 (EA:Hex =

1:1)를 통하여 목적 화합물을 정제하였으며, 7.6 g을 획득하였다 (yield : 56%). TLC (EA:Hex = 1:1); R_f = 0.5

^{1}H NMR (300 MHz, cdcl3) δ 7.44 – 7.33 (m, 5H), 4.82 (s, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.20 (s, 3H), 2.43 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 2.34 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 1.98 – 1.85 (m, 2H).

화합물 5의 합성

화합물 4 4.18 g (15.8 mmol, 1.0 eq)을 Tetrahydrofuran (THF) 100 mL에 녹인 후 교반시킨다. 2 N Lithium hydroxide (LiOH) 5 mL를 0 ℃에서 천천히 적가한 뒤 3 시간 동안 교반하였다. H_2O 60 mL을 첨가하여 반응을 종결하였고, EA 150 mL을 사용하여 수층으로부터 2 회 씻어주었다. 이후 수층에 2 N HCl 용액을 사용하여 pH 3.0까지 적정하였고, EA 50 mL을 이용하여 목적화합물을 3 회 추출하였다. 유기 층을 포화소금용액과 황산 나트륨을 사용하여 건조하였고, 2.46 g 획득하였다 (yield : 62%). TLC (EA:Hex = 1:1); R_f = 0.1

^{1}H NMR (300 MHz, dmso) δ 12.06 (s, 1H), 7.51 – 7.29 (m, 5H), 4.86 (s, 2H), 3.13 (s, 3H), 2.38 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 2.22 (dt, J = 11.7, 7.4 Hz, 4H).

화합물 6의 합성

화합물 5 2.46 g을 Methanol (MeOH) 40 mL에 녹인 후 Palladium on carbon (Pd/C) 존재 하에 수소화반응을 18 시간에 걸쳐 진행하였고, 반응 종결 후 short-path column을 통하여 Pd/C 제거 후 목적 화합물을 정제, 농축하여 1.2 g을 획득하였다 (yield : 76%).

^{1}H NMR (300 MHz, dmso) δ 3.06 (s, 3H), 2.30 (dd, J = 14.1, 7.0 Hz, 4H), 2.01 (d, J = 6.9 Hz, 2H).

화합물 7의 합성

화합물 6을 0.17 g (1.06 mmol, 1.0 eq)를 DCM 10 mL에 녹여 교반시킨다. Exo-5-norbornene acid chloride 0.22 g (1.73 mmol, 1.63 eq)와 DIPEA 0.2 mL (1.1 mmol, 1.0 eq)를 0 ℃에서 천천히 적가하였다. 2 시간 동안 교반시킨 후 유기 층을 10% 시트르산 용액을 사용하여 3 번 씻어주었고, 포화소금용액과 황산 나트륨을 사용하여 건조하였다. 목적 화합물을 정제없이 다음 반응에 사용하였다 (crude yield : 0.24 g, 68%). TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.3

Expected M.W. $(M+H)^+$: 282.13 g/mol

Measured M.W. $(M+H)^+$: 282.1 g/mol

그 결과를 FIG. 10에 도시하였다 (FIG. 10).

화합물 II의 합성

화합물 7 0.24 g (0.72 mmol, 1.0 eq)을 DCM 3 mL에 녹여 교반시킨다. *N,N,N',N'*-Tetramethyl-*O*-(N-succinimidyl)uroniumtetrafluorborat (TSTU) 0.26 g (0.87 mmol, 1.2 eq)와 DIPEA 0.15 mL (0.87 mmol, 1.2 eq)를 천천히 적가하였다. 1 시간 동안 교반시킨 후 유기 층을 10% 시트르산 용액을 사용하여 3 번 씻어주었고, 포화소금용액과 황산 나트륨을 사용하여 건조하였다. 컬럼크로마토그래피 (EA:Hex = 1:1)를 통하여 목적 화합물을 정제하였으며, 0.04 g을 획득하였다 (yield : 15%). TLC (EA:Hex = 1:1); R_f = 0.3

^{1}H NMR (300 MHz, dmso) δ 6.18 (ddd, J = 16.9, 5.5, 3.0 Hz, 2H), 2.94 (s, 1H), 2.80 (s, 4H), 2.71 (s, 1H), 2.67 (q, J = 1.0 Hz, 3H), 2.25 (dd, J = 25.9, 18.6 Hz, 4H), 1.86 (ddd, J = 18.9, 11.5, 5.8 Hz, 4H), 1.45 – 1.26 (m, 4H).

실시예 1-2-2: 화합물 II 의 구조 확인

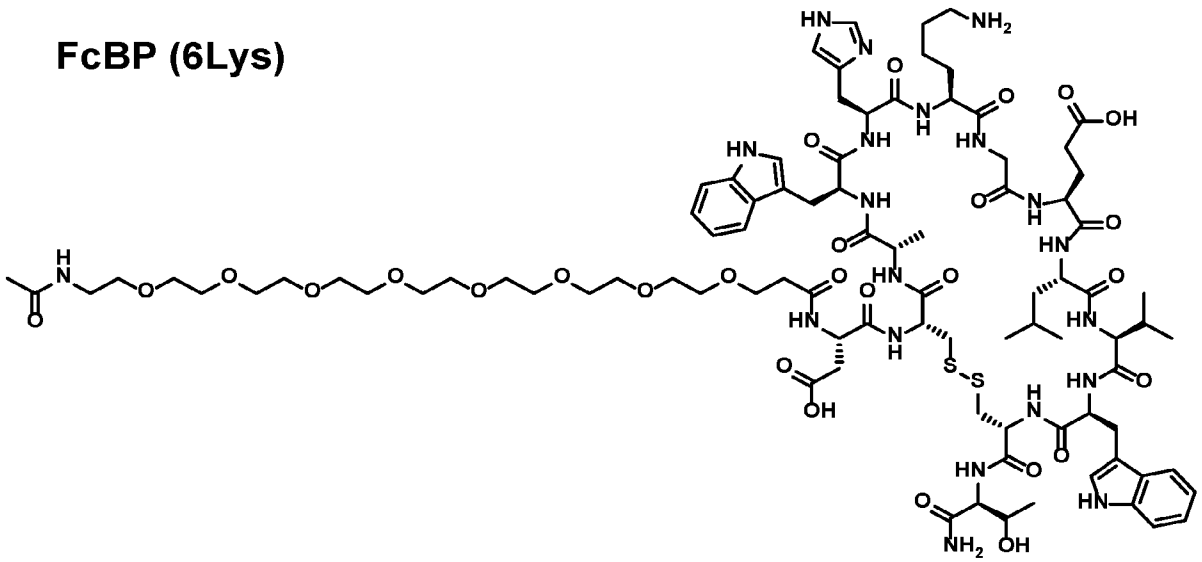
^{1}H NMR (300 MHz, dmso) δ 6.18 (ddd, J = 16.9, 5.5, 3.0 Hz, 2H), 2.94 (s, 1H), 2.80 (s, 4H), 2.71 (s, 1H), 2.67 (q, J = 1.0 Hz, 3H), 2.25 (dd, J = 25.9, 18.6 Hz, 4H), 1.86 (ddd, J = 18.9, 11.5, 5.8 Hz, 4H), 1.45 – 1.26 (m, 4H).

[실시예 2] 위치 특이적 인터랙톰 합성 및 구조 확인

실시예 2-1. FcBP(6Lys) 합성 및 구조 확인

실시예 2-1-1: FcBP(6Lys)의 합성

FcBP (6Lys)



사용된 Fmoc 아미노산 목록 및 도입순서

Fmoc-L-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-L-Trp(Boc)-OH, Fmoc-L-Val-OH, Fmoc-L-Leu-OH, Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-L-His(Trt)-OH, Fmoc-L-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(tBu)-OH.

제조 방법

(a) 아미노산 도입

하기 과정에서 사용된 시약의 양은 0.25 mmole에 기초하였다. 0.5 g의 Clear amide resin (0.48 mmole/g, PeptideInternational, 미국)를 합성 반응기에 넣고, 각각의 Fmoc-아미노산 블록 1 mmole의 무게를 달아 펩타이드 아미노산 서열 순서대로 C-말단에서부터 N-말단까지 준비하였다.

Fmoc-아미노산을 활성화하여 Clear amide resin에 활성화된 잔기를 부착하는 반응을 C-말단 아미노산부터 순차적으로 진행하였다.

Fmoc의 제거는 20% 피페리딘 함유 DMF에서 수행하였고 잔기의 활성화 및 도입은 서열에 맞추어 준비한 아미노산을 2 mL 0.5 M HOBt 함유 DMF 용액, 2 mL 0.5 M HBTU 함유 DMF 용액, 그리고 174 μL DIPEA와 5 분간 혼합한 다음 레진이 담긴 반응기에 부어 2 시간 동안 혼합하였다.

도입 반응의 확인은 카이저 시험법으로 수행하였으며 미반응으로 확인되면 도입 반응을

1회 더 반복하거나 20% Ac_2O함유 DMF용액으로 캡핑을 실시하였다. 각 도입 반응과 Fmoc 제거 과정에서 다음 단계로 넘어가기 전에 DMF와 DCM으로 수지를 충분히 세척하였다. 이러한 과정은 목표한 펩타이드 서열이 완성될 때까지 반복하여 진행하였다.

(b) H-PEG8-OH의 도입

아미노산 도입이 모두 끝난 다음에 N-말단에 H-PEG_8-OH를 도입하기 위하여 1 mL 0.5 M Fmoc-N-amido-dPEG8-acid in DMF 용액, 1 mL 0.5 M HBTU 함유 DMF 용액, 1 mL 0.5 M HOBt 함유 DMF 용액, 그리고 87 μL DIPEA와 5 분간 혼합한 다음 반응 레진이 담긴 반응기에 부어 2 시간 동안 혼합하였다.

반응의 진행은 카이저 시험법으로 확인하였으며, 미반응 아민이 남아있는 것으로 판단되면 반응 시간을 1 ~ 3시간 더 연장하거나 반응액을 비우고 상기의 반응 과정을 다시 반복하였다. N-말단의 Fmoc 보호기의 제거는 20% 피페리딘 함유 DMF를 사용하여 수행한 다음, 펩타이드가 부착된 레진을 건조하고 중량을 측정하였다.

(c) 상기 (b) 과정에서 준비한 펩타이드가 부착된 수지 250 mg을 TFA, TIS, 물 그리고 EDT (94:1.0:2.5:2.5)의 혼합액 2 mL과 함께 실온에서 120 분간 교반하여 레진에서 펩타이드를 절단하였다. 절단 혼합물을 여과하고 여과액을 질소 가스로 절반 가량 농축한 다음 에테르를 부어 펩타이드를 침전시켰다. 침전된 펩타이드를 에테르로 3 회 더 세척하고 질소 가스로 건조시켰따. 건조된 침전을 0.1% TFA-30% ACN 함유 물에 녹인 다음 6 시간 동안 교반한 다음 농축하였다.

농축액을 5%-DMSO-20%-ACN 함유 0.01 M ammonium acetate buffer (pH 6.5) 용액에 0.1 mg/mL 농도로 녹인 다음 공기 노출된 상태로 3 일 동안 교반하였다. 이황화 결합 형성 반응의 진행은 HPLC로 관측하였으며, 더 이상 진행하지 않는 것으로 판단되면 반응액을 동결건조하여 펩타이드 침전물을 얻었다.

(d) 정제

상기 (c) 과정에서 동결건조하여 얻은 펩타이드 침전물을 하기 표 1에 기재된 prep-LC 1차 정제 조건에서 분리한 다음 하기 표 2에 기재된 prep-LC 2차 정제 조건으로 추가 정제하고 동결 건조하였다. 얻어진 펩타이드는 각각 90% 이상의 순도임을 분석용 HPLC로 확인하였으며, 합성한 펩타이드의 분자량을 LC/MS 질량 분석기로 확인하였다.

H-PEG8-Asp-Cys*-Ala-Trp-His-Lys-Gly-Glu-Leu-Val-Trp-Cys*-Thr-NH_2 (Cys*: 이황화 결합 위치)

[표 1] Prep-LC 1차 정제조건

Prep-LC 1차 정제조건			
장비명	Waters 2525 pump, Waters 2487 UV detector		
컬럼	Waters, XBridge Prep C18 5 μm OBD 19 x 250 mm		
이동상 A/B	0.1% TFA-20% ACN / 0.1% TFA in 80% ACN		
구배	0 min → 30 min : B 0% → B 100%		
유속	17 mL/min	검출파장	UV 280 nm

[표 2] Prep-LC 2차 정제조건

Prep-LC 2차 정제조건			
장비명	Waters 2525 pump, Waters 2487 UV detector		
컬럼	Waters, XBridge Prep C18 5 μm OBD 19 x 250 mm		
이동상 A/B	0.1% TFA-30% ACN / 0.1% TFA in 70% ACN		
구배	0 min → 30 min : B 0% → B 100%		
유속	15 mL/min	검출파장	UV 280 nm

실시예 2-1-2: : FcBP(6Lys)의 구조 확인

매트릭스 보조 레이저 탈착 / 이온화(Matrix-assisted laser desorption/ionization, MALDI) 질량 분석에 의한 분자량 측정을 통해 FcBP(6Lys)의 합성을 확인하였음

측정 장비 : Ultraflextreme (Bruker)

측정 matrix : CHCA(α-Cyano-4-hydroxycinnamic acid) & DHB(2,5-Dihydroxybenzoic acid)

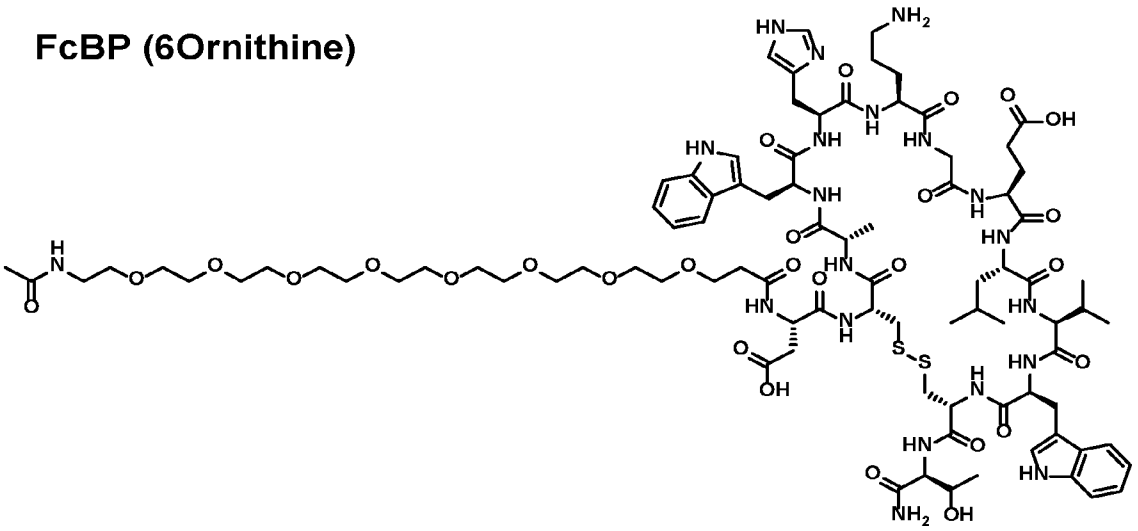
Calculated molecular weight : 2010.29 g/mol

Measured molecular weight $(M+H)^+$: 2011.89 g/mol

그 결과를 FIG. 11에 도시하였다 (FIG. 11).

실시예 2-2. FcBP(6Ornithine) 합성 및 구조 확인

FcBP (6Ornithine)



실시예 2-2-1: FcBP(6Ornithine)의 합성

사용된 Fmoc 아미노산 목록 및 도입순서

Fmoc-L-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-L-Trp(Boc)-OH, Fmoc-L-Val-OH, Fmoc-L-Leu-OH, Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Orn(Boc)-OH, Fmoc-L-His(Trt)-OH, Fmoc-L-Trp(Boc)-OH Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(tBu)-OH,

제조 방법

제조 방법

(a) 아미노산 도입

하기 과정에서 사용된 시약의 양은 0.25 mmole에 기초하였다. 0.5 g의 Clear amide resin (0.48 mmole/g, PeptideInternational, 미국)를 합성 반응기에 넣고, 각각의 Fmoc-아미노산 블록 1 mmole의 무게를 달아 펩타이드 아미노산 서열 순서대로 C-말단에서부터 N-말단까지 준비하였다.

Fmoc-아미노산을 활성화하여 Clear amide resin에 활성화된 잔기를 부착하는 반응을 C-말단 아미노산부터 순차적으로 진행하였다.

Fmoc의 제거는 20% 피페리딘 함유 DMF에서 수행하였고 잔기의 활성화 및 도입은 서열에 맞추어 준비한 아미노산을 2 mL 0.5 M HOBt 함유 DMF 용액, 2 mL 0.5 M HBTU 함유 DMF 용액, 그리고 174 μL DIPEA와 5 분간 혼합한 다음 레진이 담긴 반응기에 부어 2 시간 동안 혼합하였다.

도입 반응의 확인은 카이저 시험법으로 수행하였으며 미반응으로 확인되면 도입 반응을 1회 더 반복하거나 20% Ac_2O함유 DMF용액으로 캡핑을 실시하였다. 각 도입 반응과 Fmoc 제거 과정에서 다음 단계로 넘어가기 전에 DMF와 DCM으로 수지를 충분히 세척하였다. 이러한 과정은 목표한 펩타이드 서열이 완성될 때까지 반복하여 진행하였다.

(b) H-PEG8-OH의 도입

아미노산 도입이 모두 끝난 다음에 N-말단에 H-PEG_8-OH를 도입하기 위하여 1 mL 0.5 M Fmoc-N-amido-dPEG8-acid in DMF 용액, 1 mL 0.5 M HBTU 함유 DMF 용액, 1 mL 0.5 M HOBt 함유 DMF 용액, 그리고 87 μL DIPEA와 5 분간 혼합한 다음 반응 레진이 담긴 반응기에 부어 2 시간 동안 혼합하였다.

반응의 진행은 카이저 시험법으로 확인하였으며, 미반응 아민이 남아있는 것으로 판단되면 반응 시간을 1 ~ 3시간 더 연장하거나 반응액을 비우고 상기의 반응 과정을 다시 반복하였다. N-말단의 Fmoc 보호기의 제거는 20% 피페리딘 함유 DMF를 사용하여 수행한 다음, 펩타이드가 부착된 레진을 건조하고 중량을 측정하였다.

(c) 상기 (b) 과정에서 준비한 펩타이드가 부착된 수지 250 mg을 TFA, TIS, 물 그리고 EDT (94:1.0:2.5:2.5)의 혼합액 2 mL과 함께 실온에서 120 분간 교반하여 레진에서 펩타이드를 절단하였다. 절단 혼합물을 여과하고 여과액을 질소 가스로 절반 가량 농축한 다음 에테르를 부어 펩타이드를 침전시켰다. 침전된 펩타이드를 에테르로 3 회 더 세척하고 질소 가스로 건조시켰따. 건조된 침전을 0.1% TFA-30% ACN 함유 물에 녹인 다음 6 시간 동안 교반한 다음 농축하였다.

농축액을 5%-DMSO-20%-ACN 함유 0.01 M ammonium acetate buffer (pH 6.5) 용액에 0.1 mg/mL 농도로 녹인 다음 공기 노출된 상태로 3 일 동안 교반하였다. 이황화 결합 형성 반응의 진행은 HPLC로 관측하였으며, 더 이상 진행하지 않는 것으로 판단되면 반응액을 동결건조하여 펩타이드 침전물을 얻었다.

(d) 정제

상기 (c) 과정에서 동결건조하여 얻은 펩타이드 침전물을 하기 표 1에 기재된 prep-LC 1차 정제 조건에서 분리한 다음 하기 표 2에 기재된 prep-LC 2차 정제 조건으로 추가 정제하고 동결 건조하였다. 얻어진 펩타이드는 각각 90% 이상의 순도임을 분석용 HPLC로 확인하였으며, 합성한 펩타이드의 분자량을 LC/MS 질량 분석기로 확인하였다.

H-PEG8-Asp-Cys*-Ala-Trp-His-Orn-Gly-Glu-Leu-Val-Trp-Cys*-Thr-NH_2 (Cys* : 이황화 결합 위치)

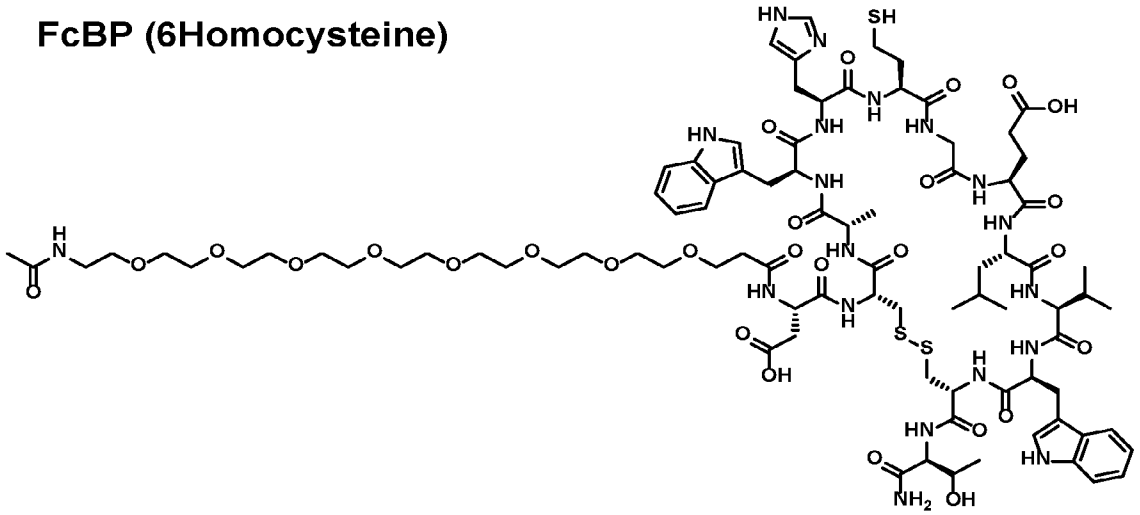
[표 1] prep-LC 1차 정제 조건

Prep-LC 1차 정제조건			
장비명	Waters 2525 pump, Waters 2487 UV detector		
컬럼	Waters, XBridge Prep C18 5 μm OBD 19 x 250 mm		
이동상 A/B	0.1% TFA-20% ACN / 0.1% TFA in 80% ACN		
구배	0 min → 30 min : B 0% → B 100%		
유속	17 mL/min	검출파장	UV 280 nm

[표 2] prep-LC 2차 정제 조건

Prep-LC 2차 정제조건			
장비명	Waters 2525 pump, Waters 2487 UV detector		
컬럼	Waters, XBridge Prep C18 5 μm OBD 19 x 250 mm		
이동상 A/B	0.1% TFA-30% ACN / 0.1% TFA in 70% ACN		
구배	0 min → 30 min : B 0% → B 100%		
유속	15 mL/min	검출파장	UV 280 nm

실시예 2-3. FcBP(6Homocysteine) 합성 및 구조 확인



실시예 2-3-1: FcBP(6Homocysteine)의 합성

사용된 Fmoc 아미노산 목록 및 도입순서

Fmoc-L-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-L-Trp(Boc)-OH, Fmoc-L-Val-OH, Fmoc-L-Leu-OH,

Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-hcys(Trt)-OH, Fmoc-L-His(Trt)-OH, Fmoc-L-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(tBu)-OH,

제조 방법

(a) 아미노산 도입

하기 과정에서 사용된 시약의 양은 0.25 mmole에 기초하였다. 0.5 g의 Clear amide resin (0.48 mmole/g, PeptideInternational, 미국)를 합성 반응기에 넣고, 각각의 Fmoc-아미노산 블록 1 mmole의 무게를 달아 펩타이드 아미노산 서열 순서대로 C-말단에서부터 N-말단까지 준비하였다.

Fmoc-아미노산을 활성화하여 Clear amide resin에 활성화된 잔기를 부착하는 반응을 C-말단 아미노산부터 순차적으로 진행하였다.

Fmoc의 제거는 20% 피페리딘 함유 DMF에서 수행하였고 잔기의 활성화 및 도입은 서열에 맞추어 준비한 아미노산을 2 mL 0.5 M HOBt 함유 DMF 용액, 2 mL 0.5 M HBTU 함유 DMF 용액, 그리고 174 μL DIPEA와 5 분간 혼합한 다음 레진이 담긴 반응기에 부어 2 시간 동안 혼합하였다.

도입 반응의 확인은 카이저 시험법으로 수행하였으며 미반응으로 확인되면 도입 반응을 1회 더 반복하거나 20% Ac_2O함유 DMF용액으로 캡핑을 실시하였다. 각 도입 반응과 Fmoc 제거 과정에서 다음 단계로 넘어가기 전에 DMF와 DCM으로 수지를 충분히 세척하였다. 이러한 과정은 목표한 펩타이드 서열이 완성될 때까지 반복하여 진행하였다.

(b) H-PEG8-OH의 도입

아미노산 도입이 모두 끝난 다음에 N-말단에 H-PEG_8-OH를 도입하기 위하여 1 mL 0.5 M Fmoc-N-amido-dPEG8-acid in DMF 용액, 1 mL 0.5 M HBTU 함유 DMF 용액, 1 mL 0.5 M HOBt 함유 DMF 용액, 그리고 87 μL DIPEA와 5 분간 혼합한 다음 반응 레진이 담긴 반응기에 부어 2 시간 동안 혼합하였다.

반응의 진행은 카이저 시험법으로 확인하였으며, 미반응 아민이 남아있는 것으로 판단되면 반응 시간을 1 ~ 3시간 더 연장하거나 반응액을 비우고 상기의 반응 과정을 다시 반복하였다. N-말단의 Fmoc 보호기의 제거는 20% 피페리딘 함유 DMF를 사용하여 수행한 다음, 펩타이드가 부착된 레진을 건조하고 중량을 측정하였다.

(c) 상기 (b) 과정에서 준비한 펩타이드가 부착된 수지 250 mg을 TFA, TIS, 물 그리고 EDT (94:1.0:2.5:2.5)의 혼합액 2 mL과 함께 실온에서 120 분간 교반하여 레진에서 펩타이드를

절단하였다. 절단 혼합물을 여과하고 여과액을 질소 가스로 절반 가량 농축한 다음 에테르를 부어 펩타이드를 침전시켰다. 침전된 펩타이드를 에테르로 3 회 더 세척하고 질소 가스로 건조시켰따. 건조된 침전을 0.1% TFA-30% ACN 함유 물에 녹인 다음 6 시간 동안 교반한 다음 농축하였다.

농축액을 5%-DMSO-20%-ACN 함유 0.01 M ammonium acetate buffer (pH 6.5) 용액에 0.1 mg/mL 농도로 녹인 다음 공기 노출된 상태로 3 일 동안 교반하였다. 이황화 결합 형성 반응의 진행은 HPLC로 관측하였으며, 더 이상 진행하지 않는 것으로 판단되면 반응액을 동결건조하여 펩타이드 침전물을 얻었다.

(d) 정제

상기 (c) 과정에서 동결건조하여 얻은 펩타이드 침전물을 하기 표 1에 기재된 prep-LC 1차 정제 조건에서 분리한 다음 하기 표 2에 기재된 prep-LC 2차 정제 조건으로 추가 정제하고 동결 건조하였다. 얻어진 펩타이드는 각각 90% 이상의 순도임을 분석용 HPLC로 확인하였으며, 합성한 펩타이드의 분자량을 LC/MS 질량 분석기로 확인하였다.

H-PEG8-Asp-Cys*-Ala-Trp-His-hCys-Gly-Glu-Leu-Val-Trp-Cys*-Thr-NH_2 (Cys* : 이황화 결합 위치)

[표 1] prep-LC 1차 정제 조건

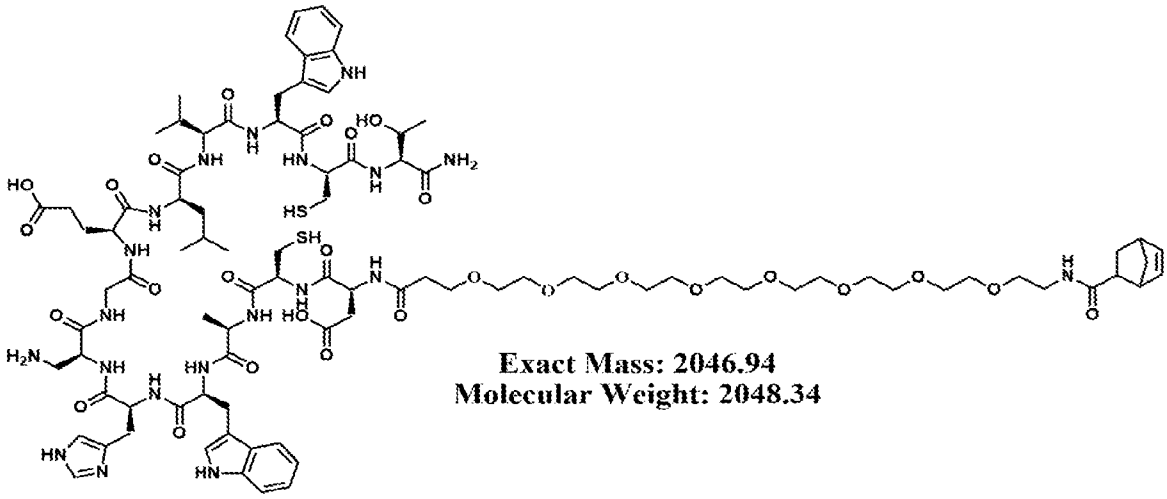
Prep-LC 1차 정제조건			
장비명	Waters 2525 pump, Waters 2487 UV detector		
컬럼	Waters, XBridge Prep C18 5 μm OBD 19 x 250 mm		
이동상 A/B	0.1% TFA-20% ACN / 0.1% TFA in 80% ACN		
구배	0 min → 30 min : B 0% → B 100%		
유속	17 mL/min	검출파장	UV 280 nm

[표 2] prep-LC 2차 정제 조건

Prep-LC 2차 정제조건			
장비명	Waters 2525 pump, Waters 2487 UV detector		
컬럼	Waters, XBridge Prep C18 5 μm OBD 19 x 250 mm		
이동상 A/B	0.1% TFA-30% ACN / 0.1% TFA in 70% ACN		
구배	0 min → 30 min : B 0% → B 100%		
유속	15 mL/min	검출파장	UV 280 nm

실시예 2-4. FcBP(6β-amino alanine) 합성 및 구조 확인

FcBP (6*beta*-amino alanine), Reduced



실시예 2-4-1: FcBP(6β-amino alanine)의 합성

Sequence: Nor.-PEG8-DCAWHA(beta amino)GELVWCT-$CONH_2$

사용된 Fmoc 아미노산 목록 및 도입순서

Fmoc-L-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-L-Trp(Boc)-OH, Fmoc-L-Val-OH, Fmoc-L-Leu-OH, Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-β amino Ala(Boc)-OH, Fmoc-L-His(Trt)-OH, Fmoc-L-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Asp(tBu)-OH,

제조 방법

(a) 아미노산 도입

하기 과정에서 사용된 시약의 양은 0.25 mmole에 기초하였다. 0.5 g의 Clear amide resin (0.48 mmole/g, PeptideInternational, 미국)를 합성 반응기에 넣고, 각각의 Fmoc-아미노산 블록 1 mmole의 무게를 달아 펩타이드 아미노산 서열 순서대로 C-말단에서부터 N-말단까지 준비하였다.

Fmoc-아미노산을 활성화하여 Clear amide resin에 활성화된 잔기를 부착하는 반응을 C-말

단 아미노산부터 순차적으로 진행하였다.

Fmoc의 제거는 20% 피페리딘 함유 DMF에서 수행하였고 잔기의 활성화 및 도입은 서열에 맞추어 준비한 아미노산을 2 mL 0.5 M HOBt 함유 DMF 용액, 2 mL 0.5 M HBTU 함유 DMF 용액, 그리고 174 μL DIPEA와 5 분간 혼합한 다음 레진이 담긴 반응기에 부어 2 시간 동안 혼합하였다.

도입 반응의 확인은 카이저 시험법으로 수행하였으며 미반응으로 확인되면 도입 반응을 1회 더 반복하거나 20% Ac_2O함유 DMF용액으로 캡핑을 실시하였다. 각 도입 반응과 Fmoc 제거 과정에서 다음 단계로 넘어가기 전에 DMF와 DCM으로 수지를 충분히 세척하였다. 이러한 과정은 목표한 펩타이드 서열이 완성될 때까지 반복하여 진행하였다.

(b) H-PEG8-OH의 도입

아미노산 도입이 모두 끝난 다음에 N-말단에 H-PEG_8-OH를 도입하기 위하여 1 mL 0.5 M Fmoc-N-amido-dPEG8-acid in DMF 용액, 1 mL 0.5 M HBTU 함유 DMF 용액, 1 mL 0.5 M HOBt 함유 DMF 용액, 그리고 87 μL DIPEA와 5 분간 혼합한 다음 반응 레진이 담긴 반응기에 부어 2 시간 동안 혼합하였다.

반응의 진행은 카이저 시험법으로 확인하였으며, 미반응 아민이 남아있는 것으로 판단되면 반응 시간을 1 ~ 3시간 더 연장하거나 반응액을 비우고 상기의 반응 과정을 다시 반복하였다. N-말단의 Fmoc 보호기의 제거는 20% 피페리딘 함유 DMF를 사용하여 수행한 다음, 펩타이드가 부착된 레진을 건조하고 중량을 측정하였다.

(c) Norbornene의 도입

N-말단에 norbornene를 도입하기 위하여 1 mL 0.5 M norbornene in DMF 용액, 1 mL 0.5 M HBTU 함유 DMF 용액, 1 mL 0.5 M HOBt 함유 DMF 용액, 그리고 87 μL DIPEA와 5 분간 혼합한 다음 반응 레진이 담긴 반응기에 부어 2 시간 동안 혼합하였다.

반응의 진행은 카이저 시험법으로 확인하였으며, 미반응 아민이 남아있는 것으로 판단되면 반응 시간을 1 ~ 3시간 더 연장하거나 반응액을 비우고 상기의 반응 과정을 다시 반복하였다. 반응 완료 후 펩타이드가 부착된 레진을 건조하고 중량을 측정하였다.

(d) 상기 (c) 과정에서 준비한 펩타이드가 부착된 수지 250 mg을 TFA, TIS, 물 그리고 EDT (94:1.0:2.5:2.5)의 혼합액 2 mL과 함께 실온에서 120 분간 교반하여 레진에서 펩타이드를 절단하였다. 절단 혼합물을 여과하고 여과액을 질소 가스로 절반 가량 농축한 다음 에테르를 부어 펩타이드를 침전시켰다. 침전된 펩타이드를 에테르로 3 회 더 세척하고 질소 가스로 건조시켰따. 건조된 침전을 0.1% TFA-30% ACN 함유 물에 녹인 다음 6 시간 동안 교반한 다음 농축하였다.

농축액을 5%-DMSO-20%-ACN 함유 0.01 M ammonium acetate buffer (pH 6.5) 용액에 0.1 mg/mL 농도로 녹인 다음 공기 노출된 상태로 3 일 동안 교반하였다. 이황화 결합 형성 반응의 진행은 HPLC로 관측하였으며, 더 이상 진행하지 않는 것으로 판단되면 반응액을 동결건조하여 펩타이드 침전물을 얻었다.

(e) 정제

상기 (d) 과정에서 동결건조하여 얻은 펩타이드 침전물을 하기 표 1에 기재된 prep-LC 1차 정제 조건에서 분리한 다음 하기 표 2에 기재된 prep-LC 2차 정제 조건으로 추가 정제하고 동결 건조하였다. 얻어진 펩타이드는 각각 90% 이상의 순도임을 분석용 HPLC로 확인하였으며, 합성한 펩타이드의 분자량을 LC/MS 질량 분석기로 확인하였다.

H-PEG8-Asp-Cys*-Ala-Trp-His-Dap-Gly-Glu-Leu-Val-Trp-Cys*-Thr-NH_2 (Cys* : 이황화 결합 위치)

[표 1] prep-LC 1차 정제 조건

Prep-LC 1차 정제조건			
장비명	Waters 2525 pump, Waters 2487 UV detector		
컬럼	Waters, XBridge Prep C18 5 μm OBD 19 x 250 mm		
이동상 A/B	0.1% TFA-20% ACN / 0.1% TFA in 80% ACN		
구배	0 min → 30 min : B 0% → B 100%		
유속	17 mL/min	검출파장	UV 280 nm

[표 2] prep-LC 2차 정제 조건

Prep-LC 2차 정제조건			
장비명	Waters 2525 pump, Waters 2487 UV detector		
컬럼	Waters, XBridge Prep C18 5 μm OBD 19 x 250 mm		
이동상 A/B	0.1% TFA-30% ACN / 0.1% TFA in 70% ACN		
구배	0 min → 30 min : B 0% → B 100%		
유속	15 mL/min	검출파장	UV 280 nm

실시예 2-4-2: FcBP(6β-amino alanine)의 구조 확인

측정 장비 : Quattro premier xe (Waters)

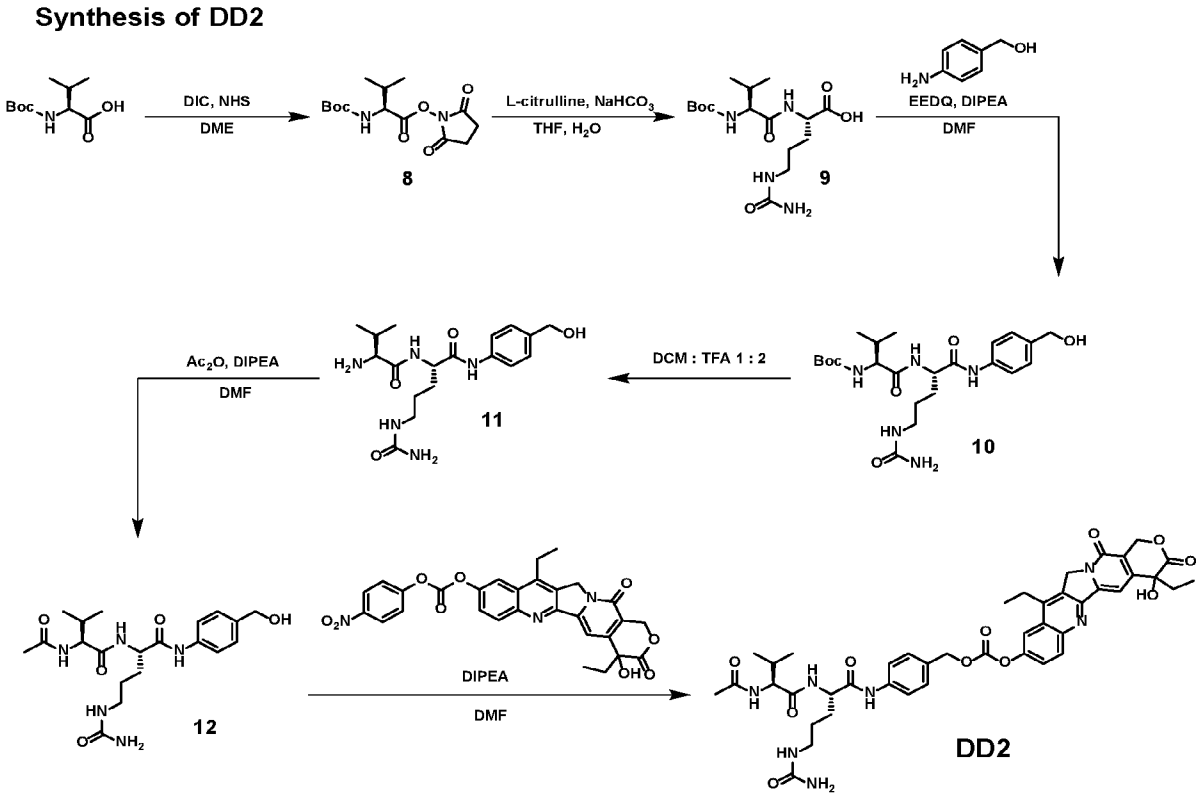
Calculated exact mass :2046.94 g/mol

Measured molecular weight : 1024.7 g/mol (M+2H, M/2)

그 결과를 FIG. 12에 도시하였다 (FIG. 12).

[실시예 3] VC Linker 합성 및 구조 확인

실시예 3-1. VC Linker (DD2) 합성 및 구조 확인



실시예 3-1-1: VC Linker (DD2)의 합성

화합물 8의 합성

Fmoc-Val-OH 5 g (14.7 mmol, 1.0 eq)과 *N*-hydroxysuccinimide (NHS) 1.7 g (14.7 mmol, 1.0 eq)을 Dimethoxyethane (DME) 140 mL에 녹여 교반시킨다. *N,N'*-Diisopropylcarbodiimide (DIC) 2.5 mL (16.2 mmol, 1.1 eq)를 0 ℃에서 천천히 적가하여 16 시간동안 교반시켰다. 반응 용액에 부유물을 감압필터하여 제거하였고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 아세톤에 녹여 냉장고에 4 시간동

안 저온 보관한 뒤, 다시 생긴 부유물을 감압 필터하여 제거하였고, 정제없이 다음 반응에 사용하였다. (crude yield : 5.5 g, 86%). TLC (EA:Hex = 1:1); R_f = 0.5

화합물 9의 합성

2.0 g (11.5 mmol, 1.0 eq)의 L-citrulline을 Tetrahydrofuran (THF)과 물의 1:1 혼합 용액 100 mL에 녹여 교반시킨다. 탄산수소나트륨 988 mg을 첨가하여 교반시킨 후, 5.0 g의 화합물 8 (11.5 mmol, 1.0 eq)을 아세톤 80 mL에 녹여 반응 용액에 천천히 적가하여 교반시켰다. 21 시간 동안 교반시킨 후 감압농축하여 유기 용매를 제거하였다. 수층에 Ethyl acetate (EA)를 넣어 씻어준 후, 2 N HCl을 천천히 적가하여 pH 3까지 적정하였고, EA를 넣어 침전물을 유기층으로 추출하였다. 이후 유기층을 포화 소금용액과 황산나트륨으로 건조하였고 정제없이 다음 반응에 사용하였다 (crude yield : 5.6 g, 98%). TLC (DCM:MeOH = 10:1, formic acid 1 drop); R_f = 0.1

화합물 10의 합성

10% piperidine in *N*,*N*-Dimethylformamide (DMF) 50 mL을 2.84 g (5.72 mmol, 1.0 eq)의 화합물 9에 천천히 적가하여 교반시킨다. 4 시간 뒤, 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하고, 잔류물을 물에 녹여 생긴 부유물을 감압 필터를 통해 제거하였다. 수층을 농축하여 목적화합물을 획득하였고, 정제없이 다음 반응에 사용하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.01

화합물 11의 합성

54 mg (0.22 mmol, 1.0 eq)의 화합물 10을 DMF 2 mL에 녹인 후, *N*,*N*-Diisopropylethylamine (DIPEA) 0.05 mL (0.264 mmol, 1.2 eq)를 천천히 적가하였다. 물 2 mL을 추가하여 화합물 10을 완전히 녹여준 뒤 Acetic anhydride 0.05 mL (0.528 mmol, 2.4 eq)를 상온에서 천천히 적가하였다. 3 시간 후 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하였고, 역상 컬럼크로마토그래피를 이용하여 목적화합물을 정제하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.05

화합물 12의 합성

1 g (3.16 mmol, 1.0 eq)의 화합물 11을 DCM과 Methanol의 2:1 혼합 용액 30 mL에 녹이고 *N*-Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline (EEDQ) 868 mg (3.48 mmol, 1.1 eq)를 첨가하여 교반시켰다. 4-aminobenzylalcohol 451 mg (3.66 mmol, 1.16 eq)를 첨가하여 5 시간 동안 교반시켜주었다. 감압 농축하여 반응 용액을 제거하였고 컬럼크로마토그래피 (10% MeOH in DCM)를 통하여

목적 화합물을 정제하였고 419 mg을 획득하였다 (yield : 32%). TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.1

화합물 DD2의 합성

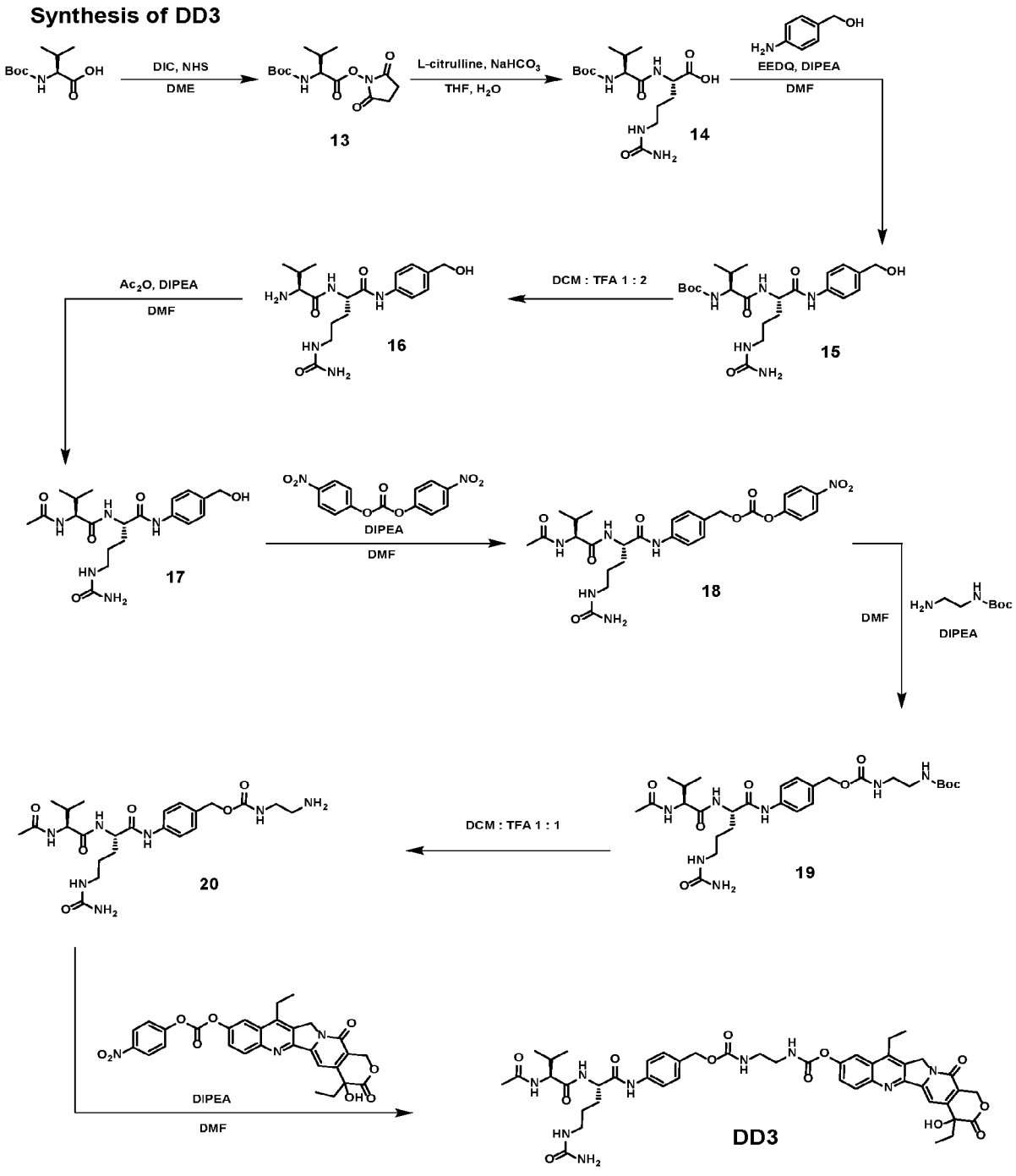
105 mg (0.25 mmol, 1.0 eq)의 화합물 12를 DMF 10 mL에 녹인 용액에 Phenol-activated SN38 109 mg (0.3 mmol, 1.2 eq)과 DIPEA 0.06 mL (0.33 mmol, 1.3 eq)를 천천히 적가하였다. 20 시간 동안 교반시킨 후 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하였다. 컬럼크로마토그래피 (10% MeOH in DCM)를 통하여 목적 화합물을 정제하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.2

실시예 3-1-2: VC Linker (DD2)의 구조 확인

LRMS (ESI): m/z 840.4 [$M+H^+$]

그 결과를 FIG. 13에 도시하였다 (FIG. 13).

실시예 3-2. VC Linker (DD3) 합성 및 구조 확인



실시예 3-2-1: VC Linker (DD3)의 합성

화합물 13의 합성

Fmoc-Val-OH 5 g (14.7 mmol, 1.0 eq)과 *N*-hydroxysuccinimide (NHS) 1.7 g (14.7 mmol, 1.0 eq)을

Dimethoxyethane (DME) 140 mL에 녹여 교반시킨다. *N,N'*-Diisopropylcarbodiimide (DIC) 2.5 mL (16.2 mmol, 1.1 eq)를 0 ℃에서 천천히 적가하여 16 시간동안 교반시켰다. 반응 용액에 부유물을 감압필터하여 제거하였고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 아세톤에 녹여 냉장고에 4 시간동안 저온 보관한 뒤, 다시 생긴 부유물을 감압 필터하여 제거하였고, 정제없이 다음 반응에 사용하였다. (crude yield : 5.5 g, 86%). TLC (EA:Hex = 1:1); R_f = 0.5

화합물 14의 합성

2.0 g (11.5 mmol, 1.0 eq)의 L-citrulline을 Tetrahydrofuran (THF)과 물의 1:1 혼합 용액 100 mL에 녹여 교반시킨다. 탄산수소나트륨 988 mg을 첨가하여 교반시킨 후, 5.0 g의 화합물 13 (11.5 mmol, 1.0 eq)을 아세톤 80 mL에 녹여 반응 용액에 천천히 적가하여 교반시켰다. 21 시간 동안 교반시킨 후 감압농축하여 유기 용매를 제거하였다. 수층에 Ethyl acetate (EA)를 넣어 씻어준 후, 2 N HCl을 천천히 적가하여 pH 3까지 적정하였고, EA를 넣어 침전물을 유기층으로 추출하였다. 이후 유기층을 포화 소금용액과 황산나트륨으로 건조하였고 정제없이 다음 반응에 사용하였다 (crude yield : 5.6 g, 98%). TLC (DCM:MeOH = 10:1, formic acid 1 drop); R_f = 0.1

화합물 15의 합성

10% piperidine in *N,N*-Dimethylformamide (DMF) 50 mL을 2.84 g (5.72 mmol, 1.0 eq)의 화합물 14에 천천히 적가하여 교반시킨다. 4 시간 뒤, 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하고, 잔류물을 물에 녹여 생긴 부유물을 감압 필터를 통해 제거하였다. 수층을 농축하여 목적화합물을 획득하였고, 정제없이 다음 반응에 사용하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.01

화합물 16의 합성

54 mg (0.22 mmol, 1.0 eq)의 화합물 15를 DMF 2 mL에 녹인 후, *N,N*-Diisopropylethylamine (DIPEA) 0.05 mL (0.264 mmol, 1.2 eq)를 천천히 적가하였다. 물 2 mL을 추가하여 화합물 15를 완전히 녹여준 뒤 Acetic anhydride 0.05 mL (0.528 mmol, 2.4 eq)를 상온에서 천천히 적가하였다. 3 시간 후 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하였고, 역상 컬럼크로마토그래피를 이용하여 목적화합물을 정제하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.05

화합물 17의 합성

1 g (3.16 mmol, 1.0 eq)의 화합물 16을 DCM과 Methanol의 2:1 혼합 용액 30 mL에 녹이고 *N*-

Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline (EEDQ) 868 mg (3.48 mmol, 1.1 eq)를 첨가하여 교반시켰다. 4-aminobenzylalcohol 451 mg (3.66 mmol, 1.16 eq)를 첨가하여 5 시간 동안 교반시켜주었다. 감압 농축하여 반응 용액을 제거하였고 컬럼크로마토그래피 (10% MeOH in DCM)를 통하여 목적 화합물을 정제하였고 419 mg을 획득하였다 (yield : 32%). TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.1

화합물 18의 합성

240 mg (0.55 mmol, 1.0 eq)의 화합물 17을 DMF 10 mL에 녹이고 DIPEA 0.3 mL (1.65 mmol, 3.0 eq)를 천천히 적가하여 교반시켜주었다. 이후, bis-(4-aminophenyl) carbonate 509 mg (1.65 mmol, 3.0 eq)를 첨가하여 반응을 진행하였다. 3 시간 후 감압 농축하여 반응 용액을 제거하였고, 디에틸에테르를 첨가하여 목적화합물을 침전시켜 감압 필터하였다. 획득한 목적화합물은 정제없이 다음 반응에 사용하였다.

화합물 19의 합성

33 mg (0.06 mmol, 1.0 eq)의 화합물 18을 DMF에 5 mL에 녹이고 1-[(tert-Butoxycarbonyl)amino]-2-aminoethane 16 mg (0.08 mmol, 1.3 eq)과 DIPEA 0.02 mL (0.08 mmol, 1.3 eq)를 천천히 적가하여 교반시켜주었다. 7 시간 동안 교반시킨 후 감압 농축하여 반응 용액을 제거하였고 디에틸에테르를 첨가하여 목적화합물을 침전시켜 감압 필터하였다. 획득한 목적화합물은 정제없이 다음 반응에 사용하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.1

화합물 20의 합성

17 mg (0.03 mmol, 1.0 eq)의 화합물 19를 DCM 1 mL에 녹인 후 Trifluoroacetic acid (TFA) 1 mL를 0 ℃에서 천천히 적가하였다. 30 분 동안 0 ℃에서 교반시킨 후, 상온에서 30 분 동안 교반시켜 반응을 진행하였다. 이후 DCM과 같이 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하였고 3 회 반복하였다. 농축된 물질을 고진공하에서 건조하였고 역상 컬럼크로마토그래피를 이용하여 목적화합물을 정제하여 13 mg의 목적화합물을 획득하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.01

화합물 DD3의 합성

13 mg (0.03 mmol, 1.0 eq)의 화합물 20을 DMF 3 mL에 녹인 용액에 DIPEA 0.01 mL (0.04 mmol, 1.5 eq)를 천천히 적가하고 22 mg (0.04 mmol, 1.5 eq)의 Phenol-activated SN38를 첨가하였다. 1 시간 동안 교반시킨 후 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하였다. 컬럼크로마토그래피 (10%

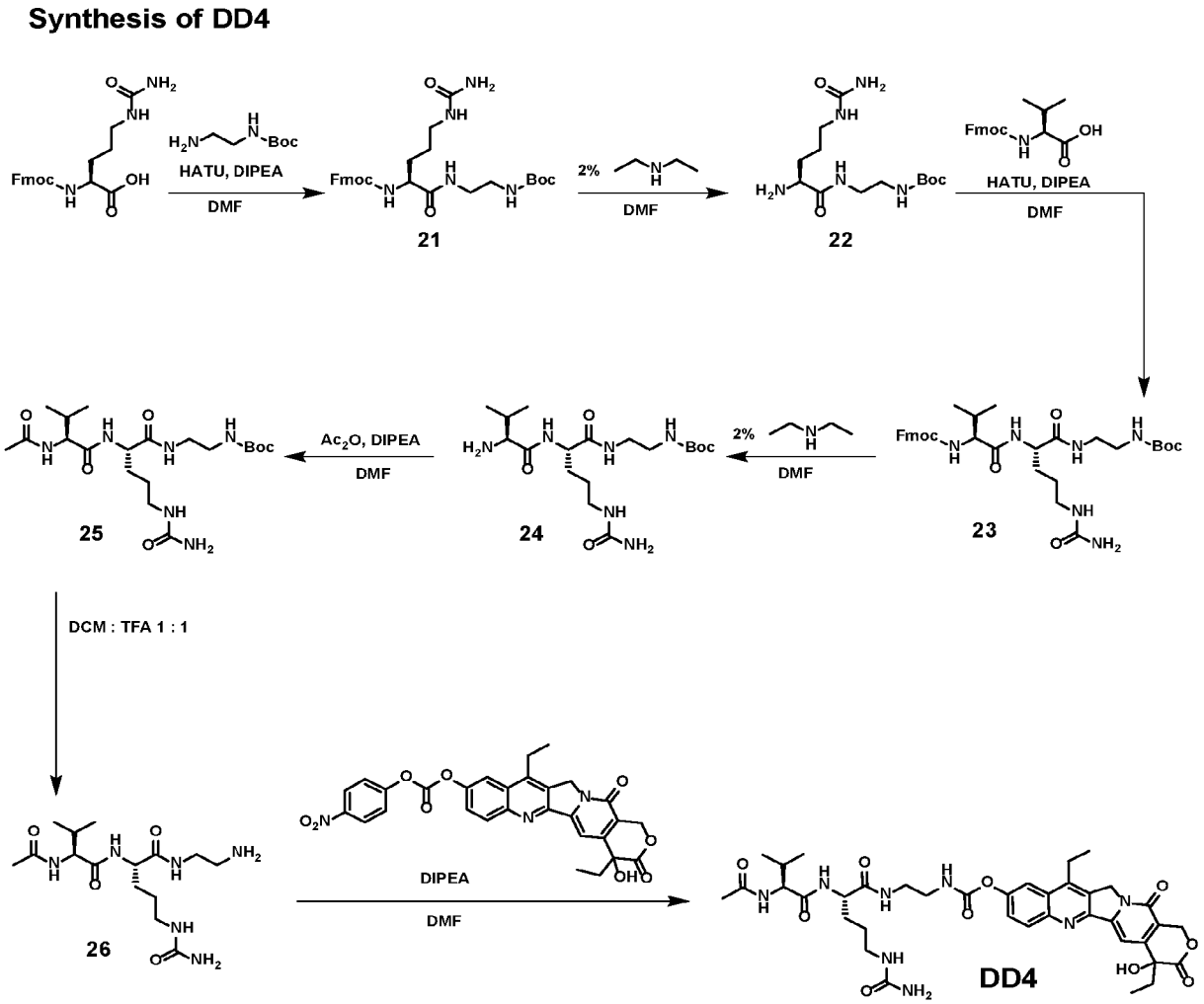
MeOH in DCM)를 통하여 목적 화합물을 정제하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.2

실시예 3-2-2: VC Linker (DD3)의 구조 확인

LRMS (ESI): m/z 926.4 [M+H$^+$]

그 결과를 FIG. 14에 도시하였다 (FIG. 14).

실시예 3-3. VC Linker (DD4) 합성 및 구조 확인



실시예 3-3-1: VC Linker (DD4)의 합성

화합물 21의 합성

Fmoc-Val-OH 5 g (14.7 mmol, 1.0 eq)과 *N*-hydroxysuccinimide (NHS) 1.7 g (14.7 mmol, 1.0 eq)을 Dimethoxyethane (DME) 140 mL에 녹여 교반시킨다. *N,N'*-Diisopropylcarbodiimide (DIC) 2.5 mL (16.2 mmol, 1.1 eq)를 0 ℃에서 천천히 적가하여 16 시간동안 교반시켰다. 반응 용액에 부유물을 감압필터하여 제거하였고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 아세톤에 녹여 냉장고에 4 시간동안 저온 보관한 뒤, 다시 생긴 부유물을 감압 필터하여 제거하였고, 정제없이 다음 반응에 사용하였다. (crude yield : 5.5 g, 86%). TLC (EA:Hex = 1:1); R_f = 0.5

화합물 22의 합성

2.0 g (11.5 mmol, 1.0 eq)의 L-citrulline을 Tetrahydrofuran (THF)과 물의 1:1 혼합 용액 100 mL에 녹여 교반시킨다. 탄산수소나트륨 988 mg을 첨가하여 교반시킨 후, 5.0 g의 화합물 21 (11.5 mmol, 1.0 eq)을 아세톤 80 mL에 녹여 반응 용액에 천천히 적가하여 교반시켰다. 21 시간 동안 교반시킨 후 감압농축하여 유기 용매를 제거하였다. 수층에 Ethyl acetate (EA)를 넣어 씻어준 후, 2 N HCl을 천천히 적가하여 pH 3까지 적정하였고, EA를 넣어 침전물을 유기층으로 추출하였다. 이후 유기층을 포화 소금용액과 황산나트륨으로 건조하였고 정제없이 다음 반응에 사용하였다 (crude yield : 5.6 g, 98%). TLC (DCM:MeOH = 10:1, formic acid 1 drop); R_f = 0.1

화합물 23의 합성

10% piperidine in *N,N*-Dimethylformamide (DMF) 50 mL을 2.84 g (5.72 mmol, 1.0 eq)의 화합물 22에 천천히 적가하여 교반시킨다. 4 시간 뒤, 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하고, 잔류물을 물에 녹여 생긴 부유물을 감압 필터를 통해 제거하였다. 수층을 농축하여 목적화합물을 획득하였고, 정제없이 다음 반응에 사용하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.01

화합물 24의 합성

54 mg (0.22 mmol, 1.0 eq)의 화합물 23을 DMF 2 mL에 녹인 후, *N,N*-Diisopropylethylamine (DIPEA) 0.05 mL (0.264 mmol, 1.2 eq)를 천천히 적가하였다. 물 2 mL을 추가하여 화합물 23을 완전히 녹여준 뒤 Acetic anhydride 0.05 mL (0.528 mmol, 2.4 eq)를 상온에서 천천히 적가하였다. 3 시간 후 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하였고, 역상 컬럼크로마토그래피를 이용하여 목적화합물을 정제하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.05

화합물 25의 합성

300 mg (0.95 mmol, 1.0 eq)의 화합물 24를 DMF 6 mL에 녹인 후, 550 mg (1.43 mmol, 1.5 eq)의 1-[Bis(dimethylamino)methylene]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridinium 3-oxide hexafluorophosphate (HATU)를 첨가하였다. 이후 DIPEA 0.25 mL (1.43 mmol, 1.5 eq)를 천천히 적가하였고, 1-[(tert-Butoxycarbonyl)amino]-2-aminoethane 230 mg (1.43 mmol, 1.5 eq)을 DMF 3.5 mL에 녹여 상온에서 천천히 적가하였다. 7 시간 후 Ethyl acetate (EA)를 이용하여 반응 용액을 묽혀주었고, 포화 탄산수소나트륨 용액을 사용하여 유기층을 씻어주었다. 이후 포화 소금용액과 황산나트륨을 사용하여 건조하였고, 여과하여 목적화합물을 획득하였다. 획득한 목적화합물은 정제없이 다음 반응에 사용되었다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.5

화합물 26의 합성

화합물 25를 DCM과 TFA의 2:1 혼합 용액에 녹인 후, 0 ℃에서 반응을 진행하였다. 이후 DCM과 같이 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하였고 3 회 반복하였다. 잔류물을 고진공하에서 건조하였고 역상 컬럼크로마토그래피를 이용하여 목적화합물을 정제하여 370 mg의 목적화합물을 획득하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.01

화합물 DD4의 합성

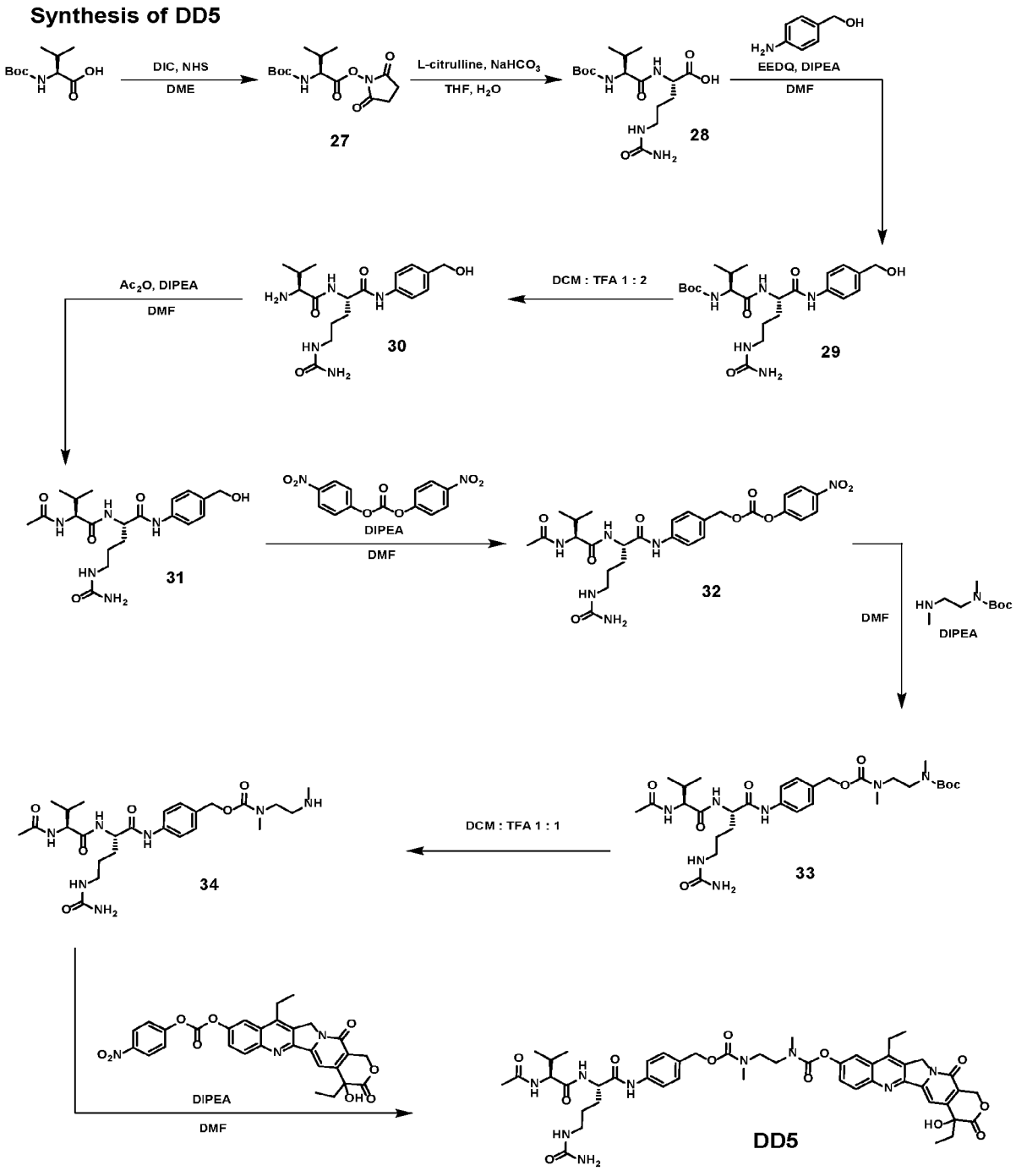
50 mg (0.14 mmol, 1.0 eq)의 화합물 26을 DMF 3 mL에 녹인 용액에 DIPEA 0.03 mL (0.17 mmol, 1.2 eq)를 천천히 적가하고, 107 mg (0.21 mmol, 1.5 eq)의 Phenol-activated SN38를 첨가하였다. 1 시간 동안 교반시킨 후 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하였고, 컬럼크로마토그래피 (10% MeOH in DCM)를 통하여 목적 화합물을 정제하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.1

실시예 3-3-2: VC Linker (DD4)의 구조 확인

LRMS (ESI): m/z 777.3 [$M+H^+$]

그 결과를 FIG. 15에 도시하였다 (Fig. 15).

실시예 3-4. VC Linker (DD5) 합성 및 구조 확인



실시예 3-4-1: VC Linker (DD5)의 합성

화합물 27의 합성

Fmoc-Val-OH 5 g (14.7 mmol, 1.0 eq)과 *N*-hydroxysuccinimide (NHS) 1.7 g (14.7 mmol, 1.0 eq)을

Dimethoxyethane (DME) 140 mL에 녹여 교반시킨다. *N,N'*-Diisopropylcarbodiimide (DIC) 2.5 mL (16.2 mmol, 1.1 eq)를 0 ℃에서 천천히 적가하여 16 시간동안 교반시켰다. 반응 용액에 부유물을 감압필터하여 제거하였고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 아세톤에 녹여 냉장고에 4 시간동안 저온 보관한 뒤, 다시 생긴 부유물을 감압 필터하여 제거하였고, 정제없이 다음 반응에 사용하였다. (crude yield : 5.5 g, 86%). TLC (EA:Hex = 1:1); R_f = 0.5

화합물 28의 합성

2.0 g (11.5 mmol, 1.0 eq)의 L-citrulline을 Tetrahydrofuran (THF)과 물의 1:1 혼합 용액 100 mL에 녹여 교반시킨다. 탄산수소나트륨 988 mg을 첨가하여 교반시킨 후, 5.0 g의 화합물 27 (11.5 mmol, 1.0 eq)을 아세톤 80 mL에 녹여 반응 용액에 천천히 적가하여 교반시켰다. 21 시간 동안 교반시킨 후 감압농축하여 유기 용매를 제거하였다. 수층에 Ethyl acetate (EA)를 넣어 씻어준 후, 2 N HCl을 천천히 적가하여 pH 3까지 적정하였고, EA를 넣어 침전물을 유기층으로 추출하였다. 이후 유기층을 포화 소금용액과 황산나트륨으로 건조하였고 정제없이 다음 반응에 사용하였다 (crude yield : 5.6 g, 98%). TLC (DCM:MeOH = 10:1, formic acid 1 drop); R_f = 0.1

화합물 29의 합성

10% piperidine in *N,N*-Dimethylformamide (DMF) 50 mL을 2.84 g (5.72 mmol, 1.0 eq)의 화합물 28에 천천히 적가하여 교반시킨다. 4 시간 뒤, 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하고, 잔류물을 물에 녹여 생긴 부유물을 감압 필터를 통해 제거하였다. 수층을 농축하여 목적화합물을 획득하였고, 정제없이 다음 반응에 사용하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.01

화합물 30의 합성

54 mg (0.22 mmol, 1.0 eq)의 화합물 29를 DMF 2 mL에 녹인 후, *N,N*-Diisopropylethylamine (DIPEA) 0.05 mL (0.264 mmol, 1.2 eq)를 천천히 적가하였다. 물 2 mL을 추가하여 화합물 29를 완전히 녹여준 뒤 Acetic anhydride 0.05 mL (0.528 mmol, 2.4 eq)를 상온에서 천천히 적가하였다. 3 시간 후 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하였고, 역상 컬럼크로마토그래피를 이용하여 목적화합물을 정제하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.05

화합물 31의 합성

1 g (3.16 mmol, 1.0 eq)의 화합물 30을 DCM과 Methanol의 2:1 혼합 용액 30 mL에 녹이고 *N*-

Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline (EEDQ) 868 mg (3.48 mmol, 1.1 eq)를 첨가하여 교반시켰다. 4-aminobenzylalcohol 451 mg (3.66 mmol, 1.16 eq)를 첨가하여 5 시간 동안 교반시켜주었다. 감압 농축하여 반응 용액을 제거하였고 컬럼크로마토그래피 (10% MeOH in DCM)를 통하여 목적 화합물을 정제하였고 419 mg을 획득하였다 (yield : 32%). TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.1

화합물 32의 합성

240 mg (0.55 mmol, 1.0 eq)의 화합물 31을 DMF 10 mL에 녹이고 DIPEA 0.3 mL (1.65 mmol, 3.0 eq)를 천천히 적가하여 교반시켜주었다. 이후, bis-(4-aminophenyl) carbonate 509 mg (1.65 mmol, 3.0 eq)를 첨가하여 반응을 진행하였다. 3 시간 후 감압 농축하여 반응 용액을 제거하였고, 디에틸에테르를 첨가하여 목적화합물을 침전시켜 감압 필터하였다. 획득한 목적화합물은 정제없이 다음 반응에 사용하였다.

화합물 33의 합성

33 mg (0.06 mmol, 1.0 eq)의 화합물 32을 DMF에 5 mL에 녹이고 *N*-[(tert-Butoxy)carbonyl]-*N,N'*-dimethylethylenediamine 16 mg (0.08 mmol, 1.3 eq)과 DIPEA 0.02 mL (0.08 mmol, 1.3 eq)를 천천히 적가하여 교반시켜주었다. 7 시간 동안 교반시킨 후 감압 농축하여 반응 용액을 제거하였고 디에틸에테르를 첨가하여 목적화합물을 침전시켜 감압 필터하였다. 획득한 목적화합물은 정제없이 다음 반응에 사용하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.1

화합물 34의 합성

17 mg (0.03 mmol, 1.0 eq)의 화합물 33을 DCM 1 mL에 녹인 후 Trifluoroacetic acid (TFA) 1 mL를 0 ℃에서 천천히 적가하였다. 30 분 동안 0 ℃에서 교반시킨 후, 상온에서 30 분 동안 교반시켜 반응을 진행하였다. 이후 DCM과 같이 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하였고 3 회 반복하였다. 농축된 물질을 고진공하에서 건조하였고 역상 컬럼크로마토그래피를 이용하여 목적화합물을 정제하여 13 mg의 목적화합물을 획득하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.01

화합물 DD5의 합성

13 mg (0.03 mmol, 1.0 eq)의 화합물 34를 DMF 3 mL에 녹인 용액에 DIPEA 0.01 mL (0.04 mmol, 1.5 eq)를 천천히 적가하고 22 mg (0.04 mmol, 1.5 eq)의 Phenol-activated SN38를 첨가하였다. 1 시간 동안 교반시킨 후 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하였다. 컬럼크로마토그래피 (10%

MeOH in DCM)를 통하여 목적 화합물을 정제하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.2

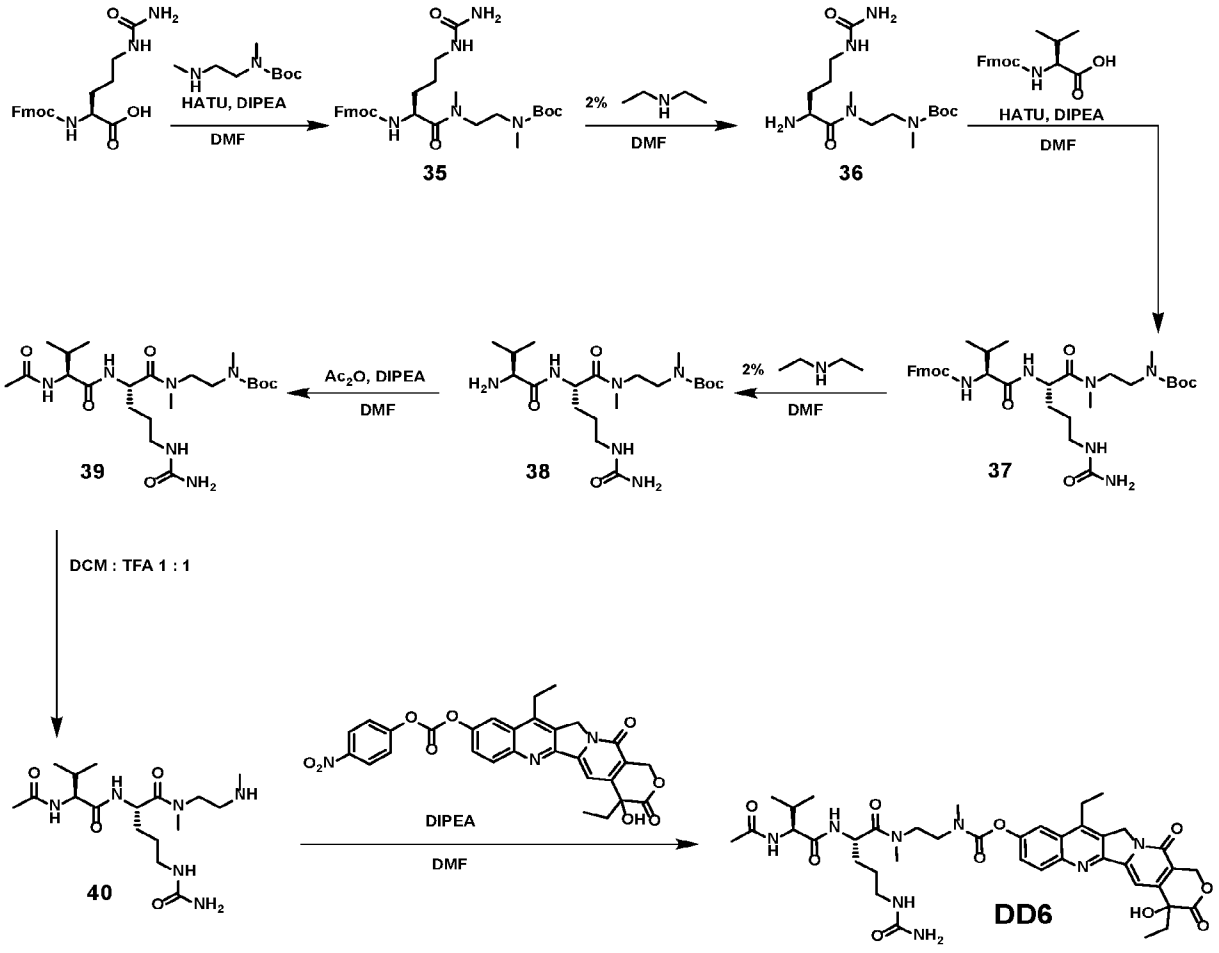
실시예 3-4-2: VC Linker (DD5)의 구조 확인

LRMS (ESI): m/z 954.4 [M+H$^+$]

그 결과를 FIG. 16에 도시하였다 (FIG. 16).

실시예 3-5. VC Linker (DD6) 합성 및 구조 확인

Synthesis of DD6



실시예 3-5-1: VC Linker (DD6)의 합성

화합물 35의 합성

Fmoc-Val-OH 5 g (14.7 mmol, 1.0 eq)과 *N*-hydroxysuccinimide (NHS) 1.7 g (14.7 mmol, 1.0 eq)을 Dimethoxyethane (DME) 140 mL에 녹여 교반시킨다. *N,N'*-Diisopropylcarbodiimide (DIC) 2.5 mL (16.2 mmol, 1.1 eq)를 0 °C에서 천천히 적가하여 16 시간동안 교반시켰다. 반응 용액에 부유물을 감압필터하여 제거하였고, 여과액을 감압 농축하였다. 잔류물을 아세톤에 녹여 냉장고에 4 시간동안 저온 보관한 뒤, 다시 생긴 부유물을 감압 필터하여 제거하였고, 정제없이 다음 반응에 사용하였다. (crude yield : 5.5 g, 86%). TLC (EA:Hex = 1:1); R_f = 0.5

화합물 36의 합성

2.0 g (11.5 mmol, 1.0 eq)의 L-citrulline을 Tetrahydrofuran (THF)과 물의 1:1 혼합 용액 100 mL에 녹여 교반시킨다. 탄산수소나트륨 988 mg을 첨가하여 교반시킨 후, 5.0 g의 화합물 35 (11.5 mmol, 1.0 eq)를 아세톤 80 mL에 녹여 반응 용액에 천천히 적가하여 교반시켰다. 21 시간 동안 교반시킨 후 감압농축하여 유기 용매를 제거하였다. 수층에 Ethyl acetate (EA)를 넣어 씻어준 후, 2 N HCl을 천천히 적가하여 pH 3까지 적정하였고, EA를 넣어 침전물을 유기층으로 추출하였다. 이후 유기층을 포화 소금용액과 황산나트륨으로 건조하였고 정제없이 다음 반응에 사용하였다 (crude yield : 5.6 g, 98%). TLC (DCM:MeOH = 10:1, formic acid 1 drop); R_f = 0.1

화합물 37의 합성

10% piperidine in *N,N*-Dimethylformamide (DMF) 50 mL을 2.84 g (5.72 mmol, 1.0 eq)의 화합물 36에 천천히 적가하여 교반시킨다. 4 시간 뒤, 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하고, 잔류물을 물에 녹여 생긴 부유물을 감압 필터를 통해 제거하였다. 수층을 농축하여 목적화합물을 획득하였고, 정제없이 다음 반응에 사용하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.01

화합물 38의 합성

54 mg (0.22 mmol, 1.0 eq)의 화합물 37을 DMF 2 mL에 녹인 후, *N,N*-Diisopropylethylamine (DIPEA) 0.05 mL (0.264 mmol, 1.2 eq)를 천천히 적가하였다. 물 2 mL을 추가하여 화합물 37을 완전히 녹여준 뒤 Acetic anhydride 0.05 mL (0.528 mmol, 2.4 eq)를 상온에서 천천히 적가하였다. 3 시간 후 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하였고, 역상 컬럼크로마토그래피를 이용하여 목적화합물을 정제하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.05

화합물 39의 합성

300 mg (0.95 mmol, 1.0 eq)의 화합물 38을 DMF 6 mL에 녹인 후, 550 mg (1.43 mmol, 1.5 eq)의 1-[Bis(dimethylamino)methylene]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridinium 3-oxide hexafluorophosphate (HATU)를 첨가하였다. 이후 DIPEA 0.25 mL (1.43 mmol, 1.5 eq)를 천천히 적가하였고, *N*-[(tert-Butoxy)carbonyl]-*N*,*N*'-dimethylethylenediamine 230 mg (1.43 mmol, 1.5 eq)을 DMF 3.5 mL에 녹여 상온에서 천천히 적가하였다. 7 시간 후 Ethyl acetate (EA)를 이용하여 반응 용액을 묽혀주었고, 포화 탄산수소나트륨 용액을 사용하여 유기층을 씻어주었다. 이후 포화 소금용액과 황산나트륨을 사용하여 건조하였고, 여과하여 목적화합물을 획득하였다. 획득한 목적화합물은 정제없이 다음 반응에 사용되었다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.5

화합물 40의 합성

화합물 39를 DCM과 TFA의 2:1 혼합 용액에 녹인 후, 0 ℃에서 반응을 진행하였다. 이후 DCM과 같이 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하였고 3 회 반복하였다. 잔류물을 고진공하에서 건조하였고 역상 컬럼크로마토그래피를 이용하여 목적화합물을 정제하여 370 mg의 목적화합물을 획득하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.01

화합물 DD6의 합성

50 mg (0.14 mmol, 1.0 eq)의 화합물 40을 DMF 3 mL에 녹인 용액에 DIPEA 0.03 mL (0.17 mmol, 1.2 eq)를 천천히 적가하고, 107 mg (0.21 mmol, 1.5 eq)의 Phenol-activated SN38를 첨가하였다. 1 시간 동안 교반시킨 후 감압 농축을 통하여 반응 용액을 제거하였고, 컬럼크로마토그래피 (10% MeOH in DCM)를 통하여 목적 화합물을 정제하였다. TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.1

실시예 3-5-2: VC Linker (DD6)의 구조 확인

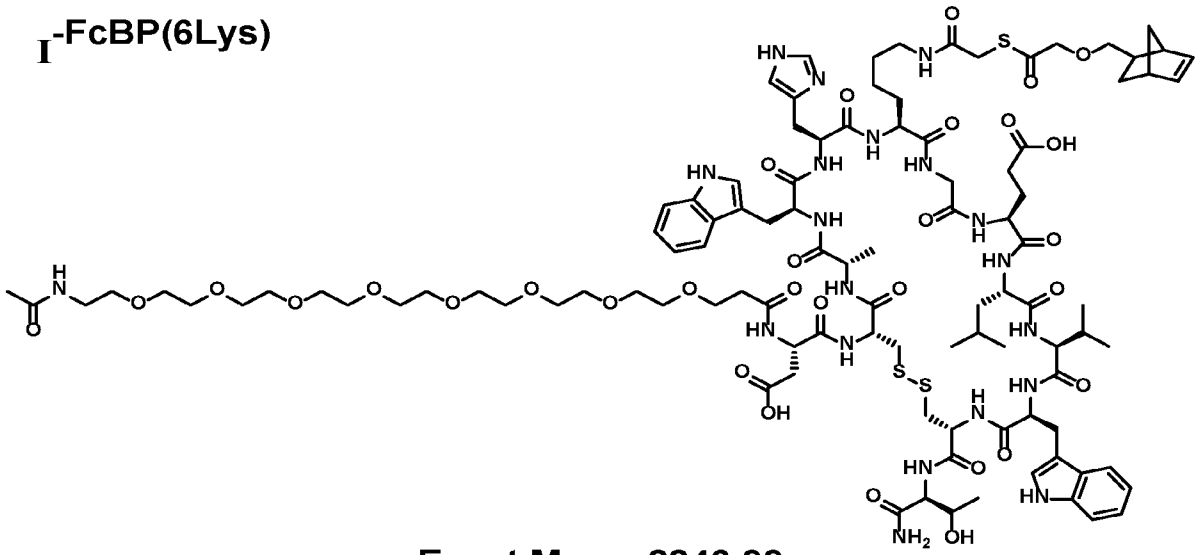
LRMS (ESI): m/z 805.5 [$M+H^+$]

그 결과를 FIG. 17에 도시하였다 (FIG. 17).

[실시예 4] 화합물-위치 특이적 인터랙톰 합성 방법 및 구조 확인

실시예 4-1: 화합물 Ⅰ-FcBP(6Lys)

Ⅰ-FcBP(6Lys)



Exact Mass: 2246.99

실시예 4-1-1: 화합물 Ⅰ-FcBP(6Lys) 합성 방법

화합물 Ⅰ-FcBP의 합성은 DMF에서 수행하였고 FcBP (6Lys)에 SO1을 도입하기 위해 1 mL 0.0025 uM FcBP (6Lys) in DMF 용액에 2.2 eq의 DIPEA와 0.003 mmol의 SO1을 반응기에 부어 교반하였다.

도입 반응의 확인은 HPLC를 통한 분석을 시행하였으며 반응이 종결되지 않았으면 DIPEA를 1 eq 씩 추가하여 반응의 종결을 관찰하였다

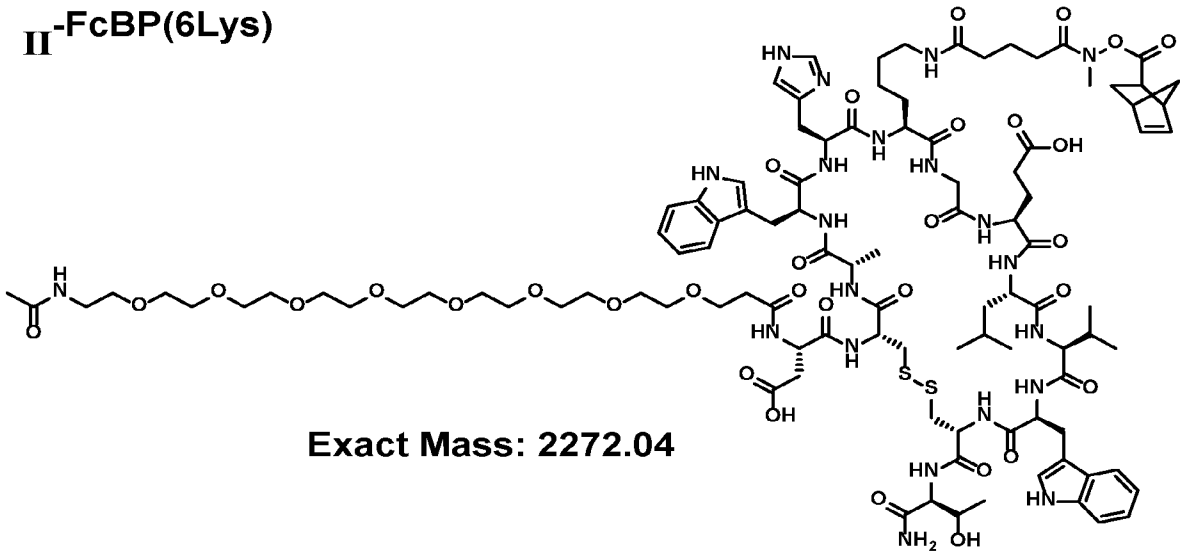
반응의 종결을 확인한 후 반응 용액을 농축하였으며, Preparative-HPLC를 통하여 Ⅰ-FcBP의 정제를 시도하였다. 정제 후 동결 건조를 통하여 물질을 확보하였고, 3 mg을 확보하였다 (Purity; 95% up (HPLC), yield: 56%).

실시예 4-1-2: 화합물 Ⅰ-FcBP(6Lys) 의 구조 확인

LRMS (ESI): m/z 1124.9 [M+2H$^+$]

그 결과를 FIG. 18에 도시하였다 (FIG. 18).

실시예 4-2: 화합물 Ⅱ-FcBP(6Lys)



실시예 4-2-1: 화합물 Ⅱ-FcBP(6Lys) 합성 방법

화합물 Ⅱ-FcBP의 합성은 DMF에서 수행하였고 FcBP (8ys)에 SO1을 도입하기 위해 1 mL 0.0025 uM FcBP (8ys) in DMF 용액에 2.2 eq의 DIPEA와 0.003 mmol의 SO1을 반응기에 부어 교반하였다.

도입 반응의 확인은 HPLC를 통한 분석을 시행하였으며 반응이 종결되지 않았으면 DIPEA를 1 eq 씩 추가하여 반응의 종결을 관찰하였다

반응의 종결을 확인한 후 반응 용액을 농축하였으며, Preparative-HPLC를 통하여 Ⅱ-FcBP의 정제를 시도하였다. 정제 후 동결 건조를 통하여 물질을 확보하였고, 3 mg을 확보하였다 (Purity; 95% up (HPLC), yield: 56%).

실시예 4-2-2: 화합물 Ⅱ-FcBP(6Lys) 의 구조 확인

LRMS (ESI): m/z 1135.3 [M-2H$^+$]

그 결과를 FIG. 19에 도시하였다 (FIG. 19).

[실시예 5] Antibody-Click Chemistry Chemical 합성 방법 및 구조 확인

실시예 5-1: Antibody-Norbornene

실시예 5-1-1: Herceptin-Norbornene 합성 방법 (1)

화합물 Ⅰ-FcBP를 이용한 도입 반응

Ab (246/248 Lys)-Norbornene의 합성은 buffer 상에서 진행하였으며, 화합물 Ⅰ-FcBP를 이용하여 진행하였다. 사용된 buffer는 5 mM Histidine buffer (0.01% Tween 20) pH 6.0, 6.5, 7.0을 사용하였으며, 0.1 M Arginine buffer pH 7.5, 8.0을 사용하여 진행하였다. Norbornene 2 개를 도입하기 위하여 항체의 Fc Site당 8 eq의 Ⅰ-FcBP를 사용하였다 (항체 기준 16 eq). 반응 시간은 pH 6.0의 경우 20 일, pH 6.5의 경우 2주, pH 7.0의 경우 10 일, pH 7.5, 1 주일, pH 8.0의 경우 4 일 정도의 시간이 소요되었다. 도입 반응의 확인은 HIC column을 이용한 HPLC 분석을 통하여 확인하였고, 반응의 종결을 관찰하였다. 또한 Dialysis 기법을 이용하여 정제를 진행하였으며, pH 2.5 0.1 M glycine buffer 1 회, pH 6.0 5 mM Histidine buffer (0.01% Tween 20) 3 회 진행하여 목적 화합물을 정제하였다.

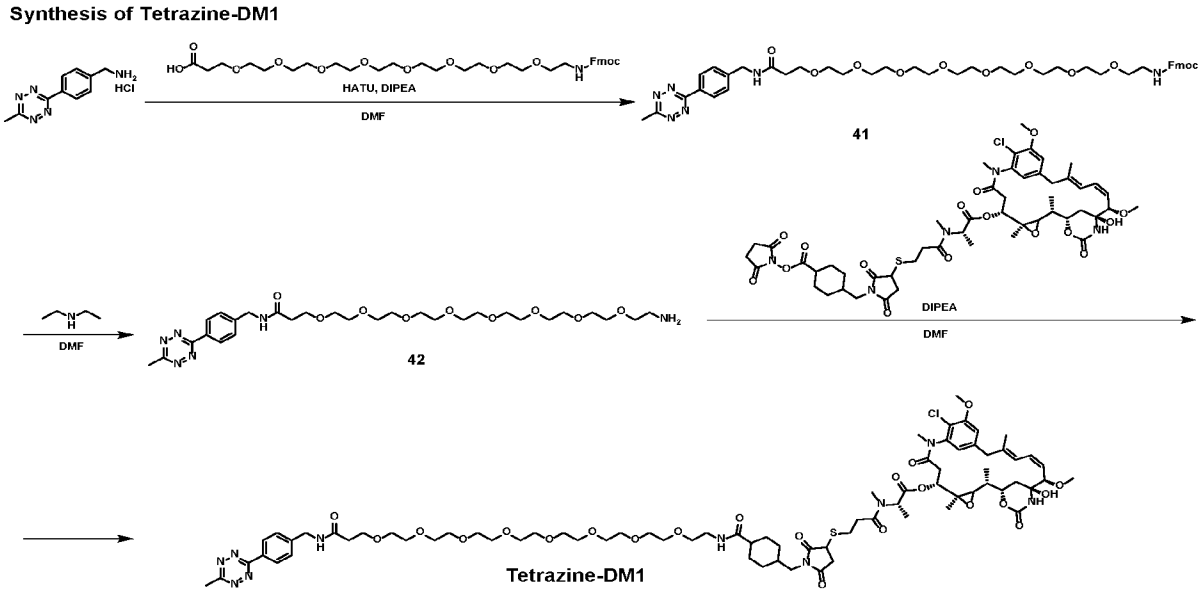
실시예 5-1-2: Herceptin-Norbornene 합성 방법 (2)

화합물 Ⅱ-FcBP를 이용한 도입 반응

Ab (246/248 Lys)-Norbornene의 합성은 buffer 상에서 진행하였으며, 화합물 Ⅱ-FcBP를 이용하여 진행하였다. 사용된 buffer는 5 mM Histidine buffer (0.01% Tween 20) pH 6.0, 6.5, 7.0을 사용하였으며, 0.1 M Arginine buffer pH 7.5, 8.0을 사용하여 진행하였다. Norbornene 2 개를 도입하기 위하여 항체의 Fc Site당 8 eq의 Ⅱ-FcBP를 사용하였다 (항체 기준 16 eq). 반응 시간은 pH 6.0의 경우 20 일, pH 6.5의 경우 2 주, pH 7.0의 경우 10 일, pH 7.5, 1 주일, pH 8.0의 경우 4 일 정도의 시간이 소요되었다. 도입 반응의 확인은 HIC column을 이용한 HPLC 분석을 통하여 확인하였고, 반응의 종결을 관찰하였다. 또한 Dialysis 기법을 이용하여 정제를 진행하였으며, pH 2.5 0.1 M glycine buffer 1 회, pH 6.0 5 mM Histidine buffer (0.01% Tween 20) 3 회 진행하여 목적 화합물을 정제하였다.

[실시예 6] Click Chemistry Chemical -Payload 합성 방법 및 구조 확인

실시예 6-1: Tetrazine-DM1



실시예 6-1-1: Tetrazine–DM1 합성 방법

화합물 41의 합성

Fmoc-PEG_8-OH 0.53 g (0.8 mmol, 1.0 eq)을 DMF 7 mL에 녹인 후 교반시킨 후 HATU 0.38 g (1.0 mmol, 1.25 eq)과 DIPEA 0.3 mL (1.7 mmol, 2.1 eq)을 천천히 적가하였다. Methyltetrazine-amine·HCl 0.205 g (0.86 mmol, 1.1 eq)을 적가하고 DIPEA 0.3 mL (1.7 mmol, 2.1 eq)을 천천히 적가하였다. 4 시간 동안 교반시킨 후 용매를 감압농축하여 제거하였고, 컬럼크로마토그래피 (5% MeOH in DCM)을 통하여 목적 화합물을 정제하였다. TLC (DCM:MeOH = 20:1); R_f = 0.3

화합물 42의 합성

0.527 g (0.62 mmol, 1.0 eq)의 화합물 41를 DMF 6 mL에 녹인 후 Diethylamine 0.3 mL을 천천히 적가하였다. 2.5 시간 동안 교반시킨 후 용매를 감압농축하여 제거하였고, 컬럼크로마토그래피 (DCM:MeOH:NH_4OH= 80:25:2.5)를 통하여 목적 화합물을 정제하였고, 0.273 g을 획득하였다 (yield : 70%). TLC (DCM:MeOH:NH_4OH = 80:25:2.5); R_f = 0.1

Tetrazine-DM1의 합성

0.355 g (0.57 mmol, 1.5 eq)의 화합물 42를 DMF 25 mL에 녹인 후 교반시킨다. DM1-SMCC-NHS 0.405 g (0.38 mmol, 1.0 eq)를 넣어주고 DIPEA를 pH 9.0까지 천천히 적가한 뒤 2 시간 동안 교반하였다. 반응 용액을 감압농축 한 뒤, 컬럼크로마토그래피 (10% MeOH in DCM)를 사용하여 목적

화합물을 정제하였고, 0.434 g 획득하였다 (yield: 73%). TLC (DCM:MeOH = 10:1); R_f = 0.5

실시예 6-1-2: Tetrazine-DM1의 구조 확인

LRMS (ESI): m/z 782.6 [M+2H$^+$]

그 결과를 FIG. 20에 도시하였다 (FIG. 20).

[실시예 7] Antibody-Click Chemistry Chemical Pair-Payload 합성 방법 및 구조 확인

실시예 7-1: Antibody-Norene-Tetrazine-DM1

실시예 7-1-1: Herceptin-Norene-Tetrazine-DM1 합성 방법 (1)

화합물 Ⅰ-FcBP를 이용한 Ab-Norbornene로의 Tetrazine-Payload의 도입 반응

Ab-Norbornene-tetrazine-Payload의 합성은 buffer 상에서 진행하였으며, 화합물 Ab-Norbornene (Ⅰ-FcBP)을 이용하여 진행하였다. buffer는 5 mM Histidine buffer (0.01% Tween 20) pH 6.0을 사용하여 진행하였다. Tetrazine-Payload 2 개를 도입하기 위하여 항체의 Fc Site당 20 eq의 Tetrazine-Payload를 사용하였다 (항체 기준 40 eq). 반응 시간은 1 일 정도의 시간이 소요되었다. 도입 반응의 확인은 HIC column을 이용한 HPLC 분석을 통하여 확인하였고, 반응의 종결을 관찰하였다. 또한 Dialysis 기법을 이용하여 정제를 진행하였으며, pH 2.5 0.1 M glycine buffer 1 회, pH 6.0 5 mM Histidine buffer (0.01% Tween 20) 3 회 진행하여 목적 화합물을 정제하였다.

실시예 7-1-2: Herceptin-Norene-Tetrazine-DM1 합성 방법 (2)

화합물 Ⅱ-FcBP를 이용한 Ab-Norbornene로의 Tetrzaine-Payload의 도입 반응

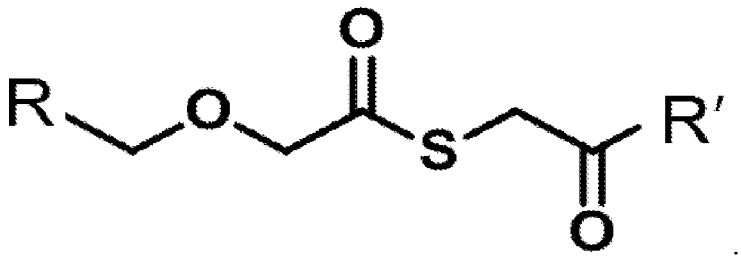
Ab-Norbornene-Tetrazine-Payload의 합성은 buffer 상에서 진행하였으며, 화합물 Ab-Norbornene (Ⅱ-FcBP)를 이용하여 진행하였다. buffer는 5 mM Histidine buffer (0.01% Tween 20) pH 6.0을 사용하여 진행하였다. Tetrazine-Payload 2 개를 도입하기 위하여 항체의 Fc Site당 20 eq의 Tetrazine-Payload를 사용하였다 (항체 기준 40 eq). 반응 시간은 1 일 정도의 시간이 소요되었다. 도입 반응의 확인은 HIC column을 이용한 HPLC 분석을 통하여 확인하였고, 반응의 종결을 관찰하였다. 또한 Dialysis 기법을 이용하여 정제를 진행하였으며, pH 2.5 0.1 M glycine buffer 1 회, pH 6.0 5 mM Histidine buffer (0.01% Tween 20) 3 회 진행하여 목적 화합물을 정제하였다.

【청구범위】

【제1항】

하기 화학식 5의 구조를 가지는 화합물

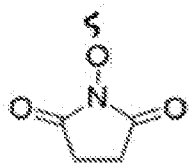
[화학식 **5**]



상기 화학식 **5**에서, R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나이고,

상기 화학식 **5**에서, R'은 하기 화학식 2의 NHS(N-Hydroxysuccinimide) 및 하기 화학식 3의 말레이미드(maleimide) 중 어느 하나임.

[화학식 2]



[화학식 3]



【제2항】

제1항에 있어서,

상기 R은 Norborene이고

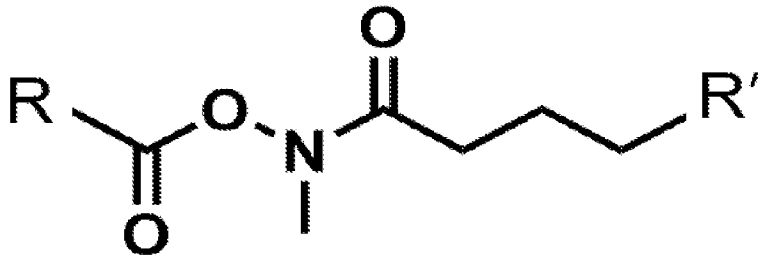
상기 R'는 NHS인

상기 화학식 5의 구조를 가지는 화합물.

【제3항】

하기 화학식 11의 구조를 가지는 화합물

[화학식 **11**]

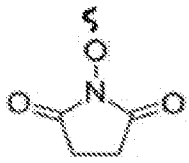


.

상기 화학식 **11**에서, R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나이고,

상기 화학식 **11**에서, R'은 하기 화학식 2의 NHS(N-Hydroxysuccinimide) 및 하기 화학식 3의 말레이미드(maleimide) 중 어느 하나임.

[화학식 2]



[화학식 3]



【제4항】

제3항에 있어서,

상기 R은 Norborene이고

상기 R'는 NHS인

상기 화학식 11의 구조를 가지는 화합물.

【제5항】

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**K**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(W)-(C)-(X_{13}) (서열 번호 1)

상기 서열 번호 1의 상기 X_1은 임의의 아미노산이고,

상기 서열 번호 1의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산이고,

상기 C는 시스테인(Cysteine; Cys; C)이고,

상기 A는 알라닌(Alanine; Ala; A)이고,

상기 W는 트립토판(Tryptophan; Trp; W)이고,

상기 H는 히스티딘(Histidine; His; H)이고,

상기 K는 라이신(Lysine; Lys; K)이고,

상기 G는 글라이신(Glycine; Gly; G)이고,

상기 E는 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E)이고,

상기 L은 류신(Leucine; Leu; L)이고,

상기 V는 발린(Valine; Val; V)인

펩타이드.

【제6항】

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**K**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(Np)-(C)-(X_{13})　　(서열 번호 2)

상기 서열 번호 2의 상기 X_1은 임의의 아미노산이고,

상기 서열 번호 2의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산이고,

상기 C는 시스테인(Cysteine; Cys; C)이고,

상기 A는 알라닌(Alanine; Ala; A)이고,

상기 W는 트립토판(Tryptophan; Trp; W)이고,

상기 H는 히스티딘(Histidine; His; H)이고,

상기 K는 라이신(Lysine; Lys; K)이고,

상기 G는 글라이신(Glycine; Gly; G)이고,

상기 E는 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E)이고,

상기 L은 류신(Leucine; Leu; L)이고,

상기 V는 발린(Valine; Val; V)이고,

상기 Np는 나프틸알라닌(Naphthylalanine)인

펩타이드

【제7항】

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**Orn**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(W)-(C)-(X_{13})　　(서열 번호 4)

상기 서열 번호 4의 상기 X_1은 임의의 아미노산이고,

상기 서열 번호 4의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산이고,

상기 C는 시스테인(Cysteine; Cys; C)이고,

상기 A는 알라닌(Alanine; Ala; A)이고,

상기 W는 트립토판(Tryptophan; Trp; W)이고,

상기 H는 히스티딘(Histidine; His; H)이고,

상기 Orn은 오르니틴(Ornithine)이고,

상기 G는 글라이신(Glycine; Gly; G)이고,

상기 E는 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E)이고,

상기 L은 류신(Leucine; Leu; L)이고,

상기 V는 발린(Valine; Val; V)인

펩타이드.

【제8항】

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**Orn**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(Np)-(C)-(X_{13}) (서열 번호 5)

상기 서열 번호 5의 상기 X_1은 임의의 아미노산이고,

상기 서열 번호 5의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산이고,

상기 C는 시스테인(Cysteine; Cys; C)이고,

상기 A는 알라닌(Alanine; Ala; A)이고,

상기 W는 트립토판(Tryptophan; Trp; W)이고,

상기 H는 히스티딘(Histidine; His; H)이고,

상기 Orn은 오르니틴(Ornithine)이고,

상기 G는 글라이신(Glycine; Gly; G)이고,

상기 E는 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E)이고,

상기 L은 류신(Leucine; Leu; L)이고,

상기 V는 발린(Valine; Val; V)이고,

상기 Np는 나프틸알라닌(Naphthylalanine)인

펩타이드.

【제9항】

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**β-AA**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(W)-(C)-(X_{13})　　(서열 번호 7)

상기 서열 번호 7의 상기 X_1은 임의의 아미노산이고,

상기 서열 번호 7의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산이고,

상기 C는 시스테인(Cysteine; Cys; C)이고,

상기 A는 알라닌(Alanine; Ala; A)이고,

상기 W는 트립토판(Tryptophan; Trp; W)이고,

상기 H는 히스티딘(Histidine; His; H)이고,

상기 β-AA는 β-아미노알라닌(β-aminoalanine)이고,

상기 G는 글라이신(Glycine; Gly; G)이고,

상기 E는 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E)이고,

상기 L은 류신(Leucine; Leu; L)이고,

상기 V는 발린(Valine; Val; V)인

펩타이드.

【제10항】

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**β-AA**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(Np)-(C)-(X_{13})　　(서열 번호 8)

상기 서열 번호 8의 상기 X_1은 임의의 아미노산이고,

상기 서열 번호 8의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산이고,

상기 C는 시스테인(Cysteine; Cys; C)이고,

상기 A는 알라닌(Alanine; Ala; A)이고,

상기 W는 트립토판(Tryptophan; Trp; W)이고,

상기 H는 히스티딘(Histidine; His; H)이고,

상기 β-AA는 β-아미노알라닌(β-aminoalanine)이고,

상기 G는 글라이신(Glycine; Gly; G)이고,

상기 E는 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E)이고,

상기 L은 류신(Leucine; Leu; L)이고,

상기 V는 발린(Valine; Val; V)이고,

상기 Np는 나프틸알라닌(Naphthylalanine)인

펩타이드.

【제11항】

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**HC**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(W)-(C)-(X_{13}) (서열 번호 10)

상기 서열 번호 10의 상기 X_1은 임의의 아미노산이고,

상기 서열 번호 10의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산이고,

상기 C는 시스테인(Cysteine; Cys; C)이고,

상기 A는 알라닌(Alanine; Ala; A)이고,

상기 W는 트립토판(Tryptophan; Trp; W)이고,

상기 H는 히스티딘(Histidine; His; H)이고,

상기 HC는 호모시스테인(Homocysteine; HC)이고,

상기 G는 글라이신(Glycine; Gly; G)이고,

상기 E는 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E)이고,

상기 L은 류신(Leucine; Leu; L)이고,

상기 V는 발린(Valine; Val; V)인

펩타이드.

【제12항】

(X_1)-(C)-(A)-(W)-(H)-(**HC**)-(G)-(E)-(L)-(V)-(Np)-(C)-(X_{13}) (서열 번호 11)

상기 서열 번호 11의 상기 X_1은 임의의 아미노산이고,

상기 서열 번호 11의 상기 X_{13}은 임의의 아미노산이고,

상기 C는 시스테인(Cysteine; Cys; C)이고,

상기 A는 알라닌(Alanine; Ala; A)이고,

상기 W는 트립토판(Tryptophan; Trp; W)이고,

상기 H는 히스티딘(Histidine; His; H)이고,

상기 HC는 호모시스테인(Homocysteine; HC)이고,

상기 G는 글라이신(Glycine; Gly; G)이고,

상기 E는 글루탐산(Glutamic acid; Glu; E)이고,

상기 L은 류신(Leucine; Leu; L)이고,

상기 V는 발린(Valine; Val; V)이고,

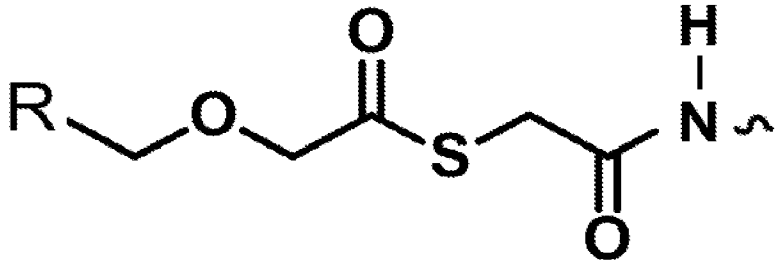
상기 Np는 나프틸알라닌(Naphthylalanine)인

펩타이드.

【제14항】

하기 화학식 **21**의 구조를 가지는 화합물

[화학식 **21**]



.

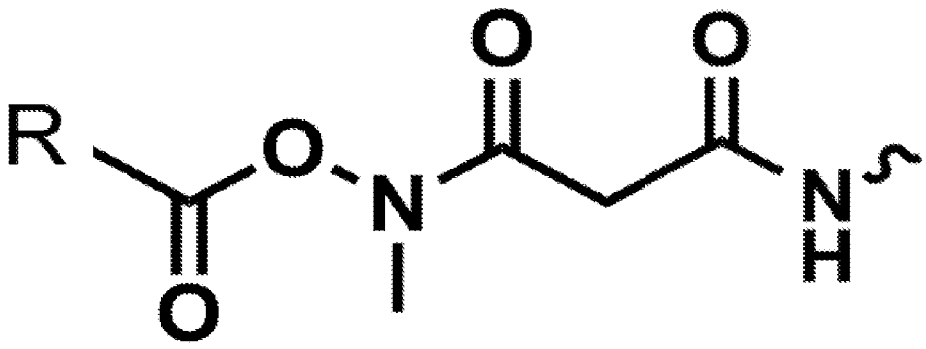
상기 화학식 **21**에서, R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나이고,

상기 화학식 **21**에서, 상기 NH는 상기 청구항 5에 개시된 펩타이드 및 상기 청구항 6에 개시된 펩타이드 중 어느 하나임.

【제15항】

하기 화학식 **25**의 구조를 가지는 화합물

[화학식 **25**]



.

상기 화학식 **25**에서, R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나이고,

상기 화학식 **25**에서, 상기 NH는 상기 청구항 5에 개시된 펩타이드 및 상기 청구항 6에 개시된 펩타이드 중 어느 하나임.

【제16항】

하기 화학식 41의 구조를 가지는 항체의 CH2 도메인 단백질체로서,

상기 항체는 IgG 이고,

상기 항체의 CH2 도메인 단백질체는

상기 CH2 도메인 내 포함된 아미노산 잔기로부터 유래된 아민기;

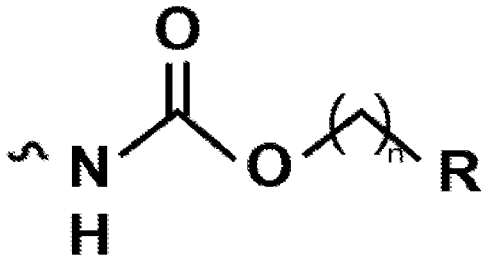
상기 아민기에 연결된 알킬에스터; 를 포함하고,

상기 알킬에스터의 카보닐 탄소는 상기 아민기에 결합하고,

상기 알킬에스터는 R를 포함하고,

상기 아민기는 상기 CH2 도메인 내 포함된 Lys 248 또는 Lys 248으로부터 제공된 것인 항체의 CH2 도메인 단백질체

[화학식 41]



.

여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering) 되고,

상기 화학식 41에서, 상기 n은 자연수이고,

상기 화학식 41에서, 상기 R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나임.

【제17항】

하기 화학식 42의 구조를 가지는 항체의 CH2 도메인 단백질체로서,

상기 항체는 IgG 이고,

상기 항체의 CH2 도메인 단백질체는

상기 CH2 도메인 내 포함된 아마노산 잔기로부터 유래된 아민기;

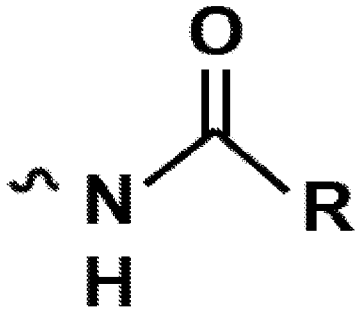
R; 및

상기 R 및 상기 아민기를 연결하는 케톤기;

를 포함하고,

상기 아민기는 상기 CH2 도메인 내 포함된 Lys 246 또는 Lys 248으로부터 제공된 것인 항체의 CH2 도메인 단백질체

[화학식 42]



.

여기서, CH2 도메인의 잔기는, Fc-영역 내 잔기에 대한 카바트(Kabat)의 EU 지수에 따라 넘버링(numbering)되고,

상기 화학식 42에서, 상기 R은 클릭 화학 화합물(Click Chemistry Chemical) 및 페이로드(Payload) 중 어느 하나임.

【제18항】

제16항 또는 제17항에 있어서,

상기 R은 norbornene인

항체의 CH2 도메인 단백질체.

【제19항】

제16항 또는 제17항에 있어서,

상기 항체의 CH2 도메인 단백질체는

항체, 항체 변형체 및 융합 단백질 중 어느 하나 이상에 포함되는

항체의 CH2 도메인 단백질체.

【도면】

FIG. 1

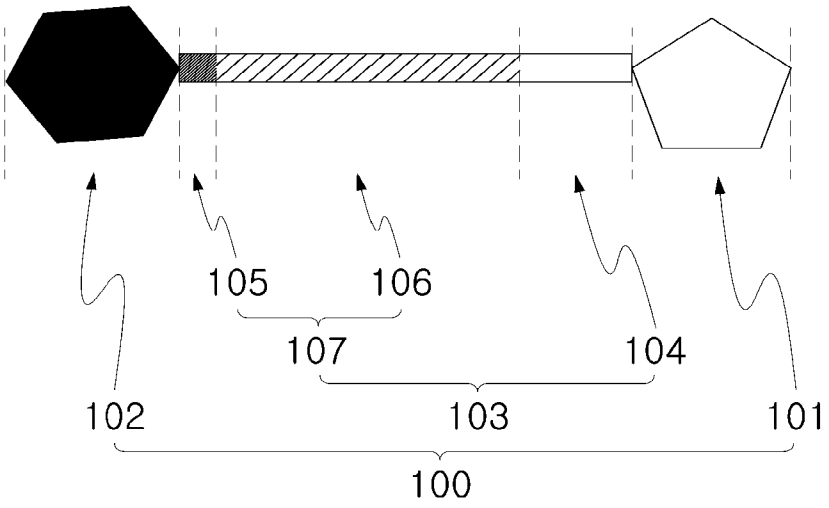
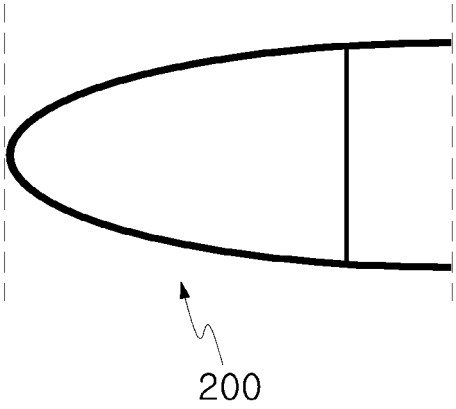


FIG. 2



225

FIG. 3

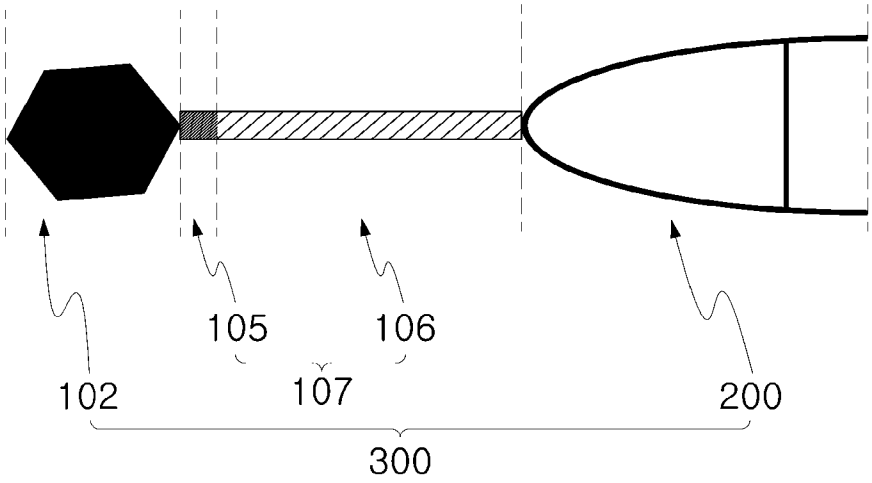


FIG. 4

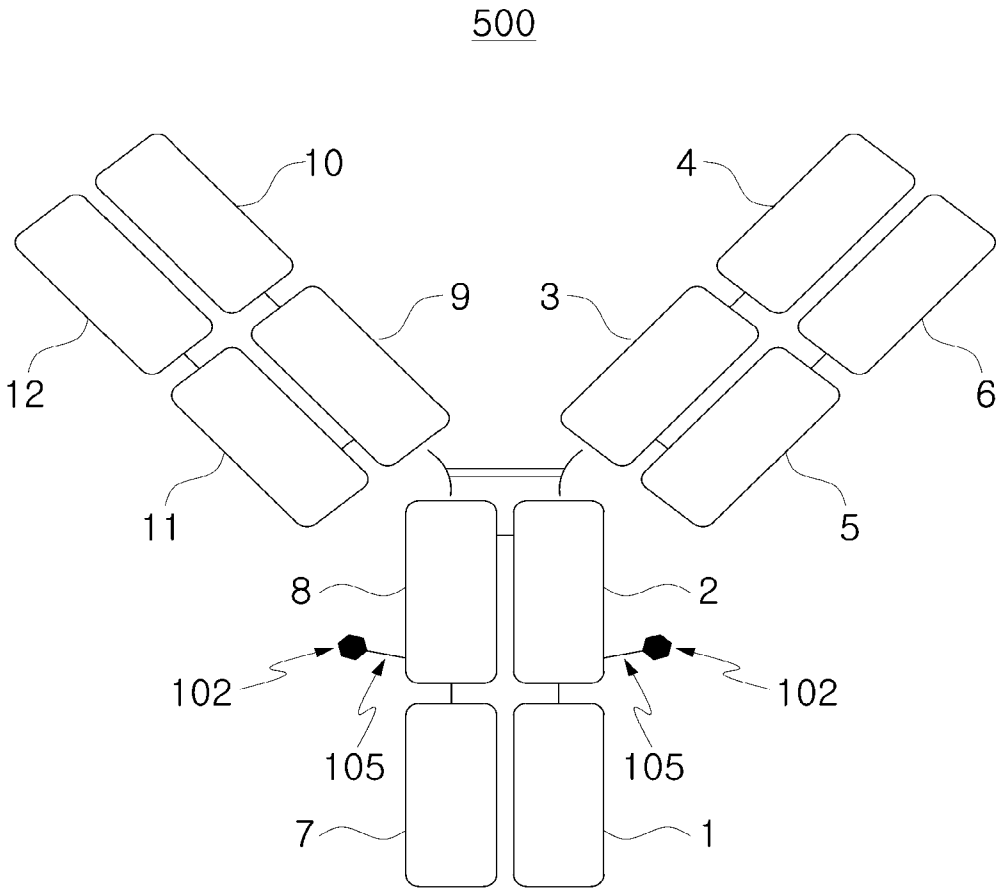


FIG. 5

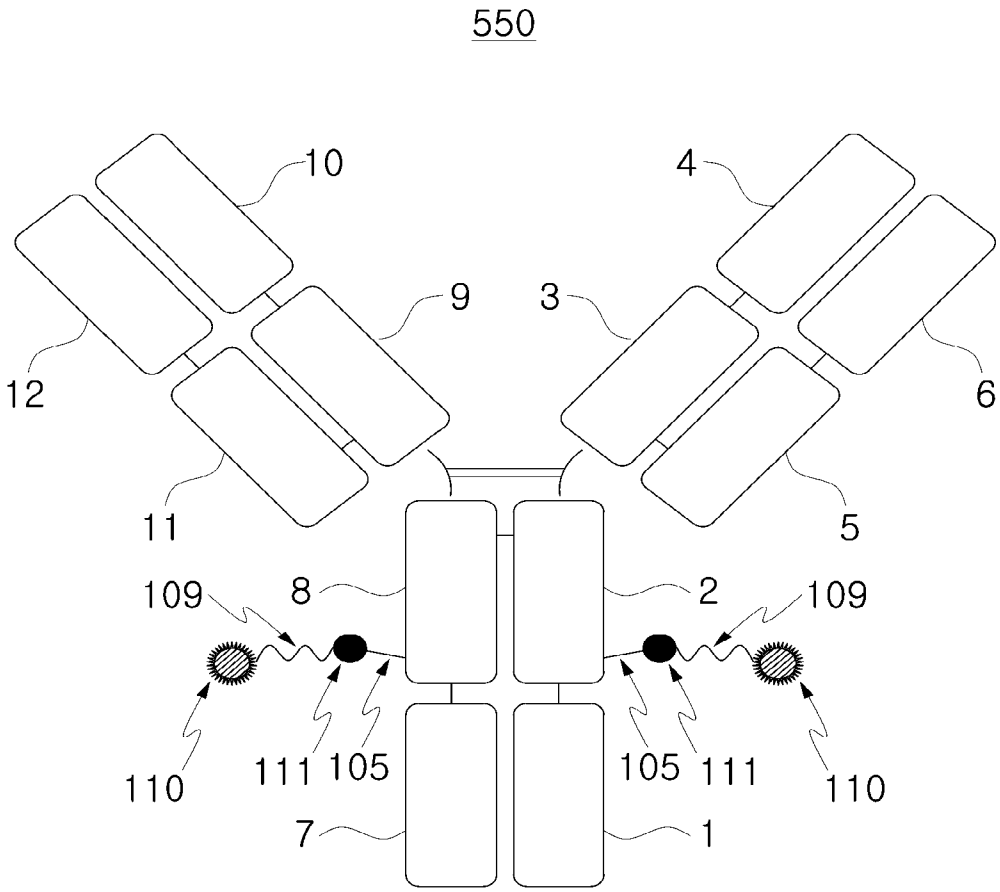


FIG. 6

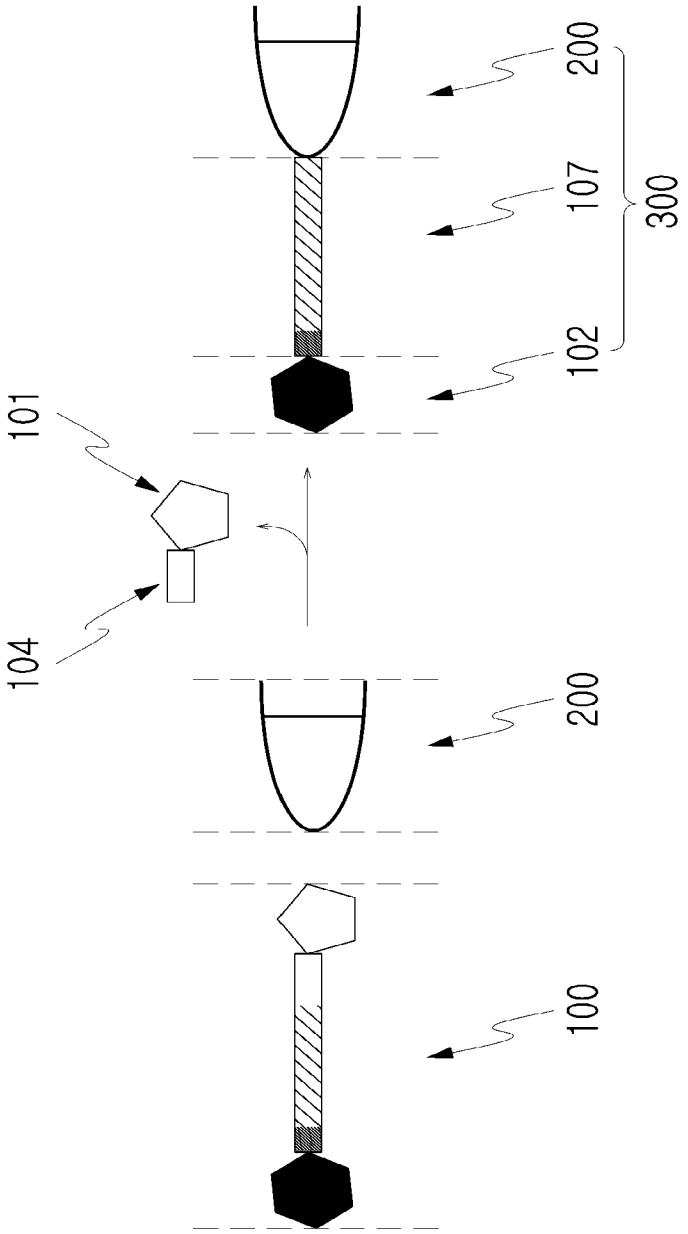
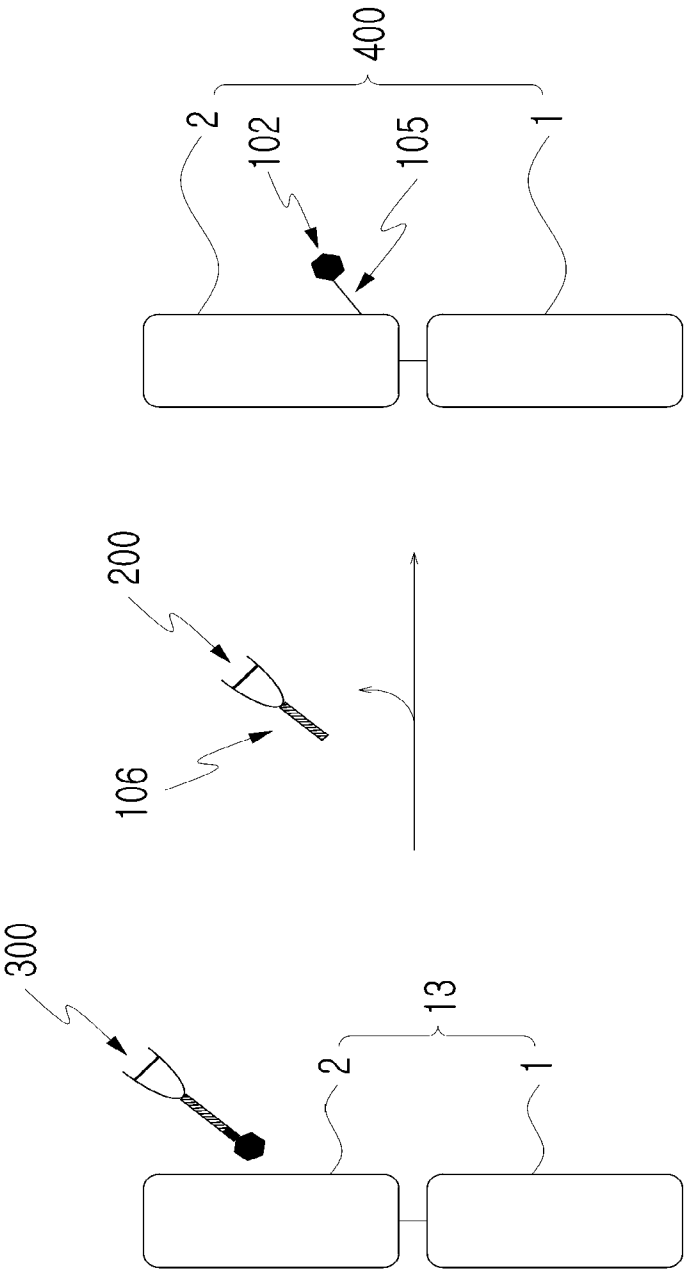


FIG. 7



230

FIG. 8

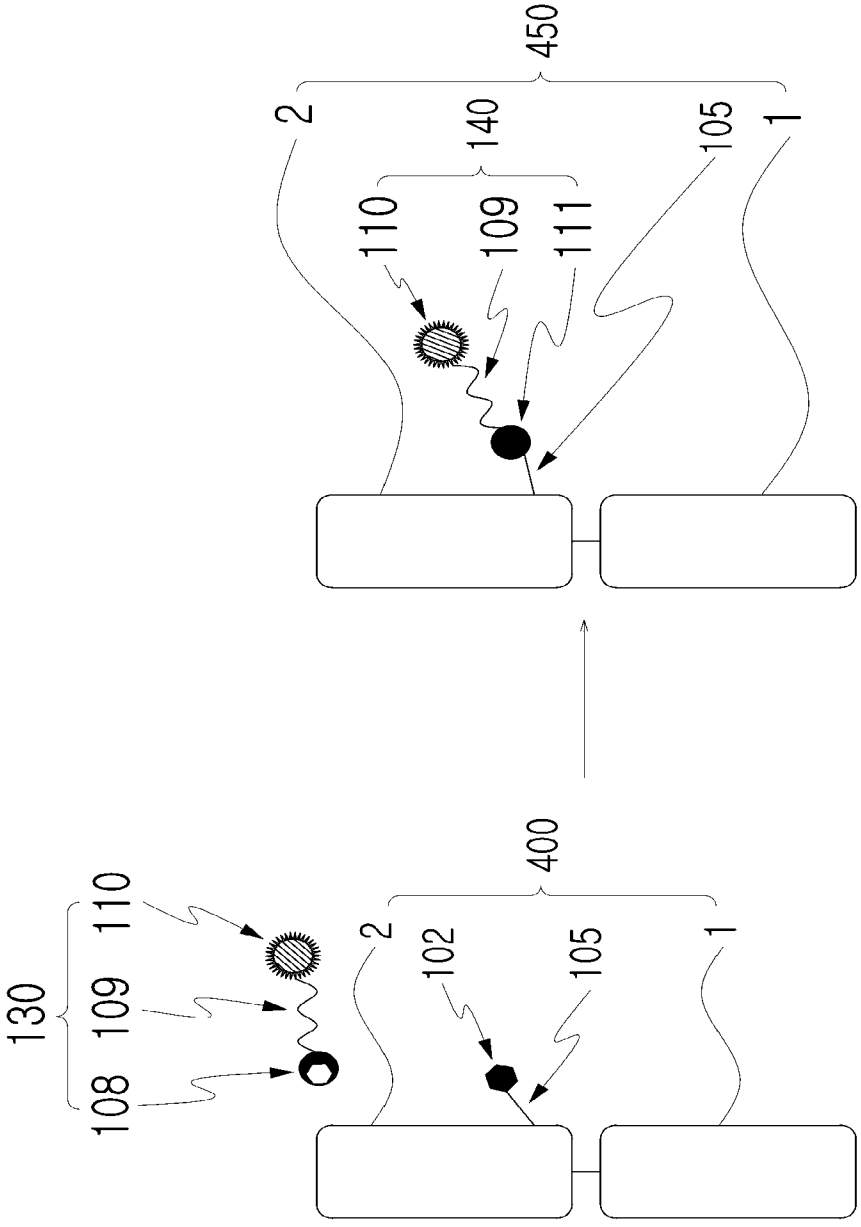


FIG. 9

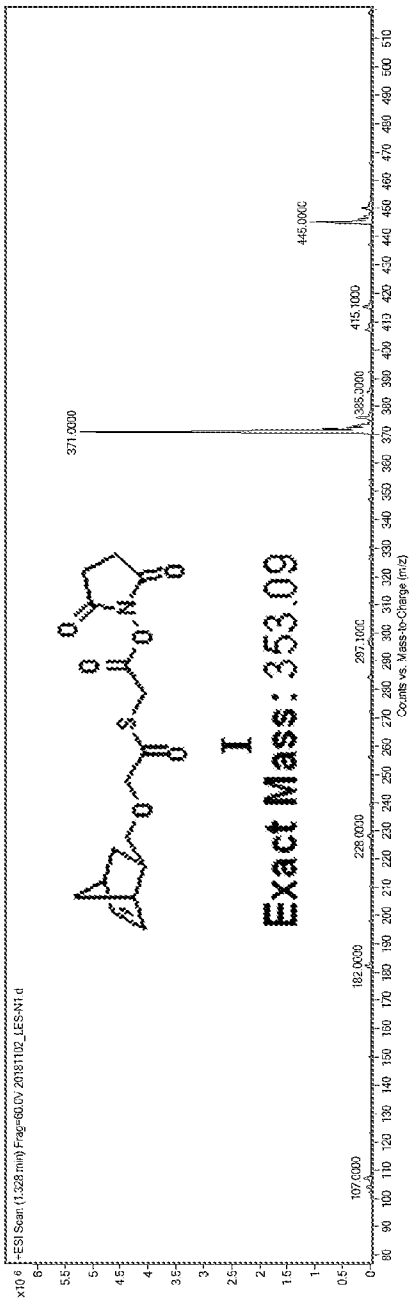

I
Exact Mass: 353.09
371.0000
445.0000
415.1000
385.0000
297.1000
228.0000
182.0000
107.0000
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

FIG. 10

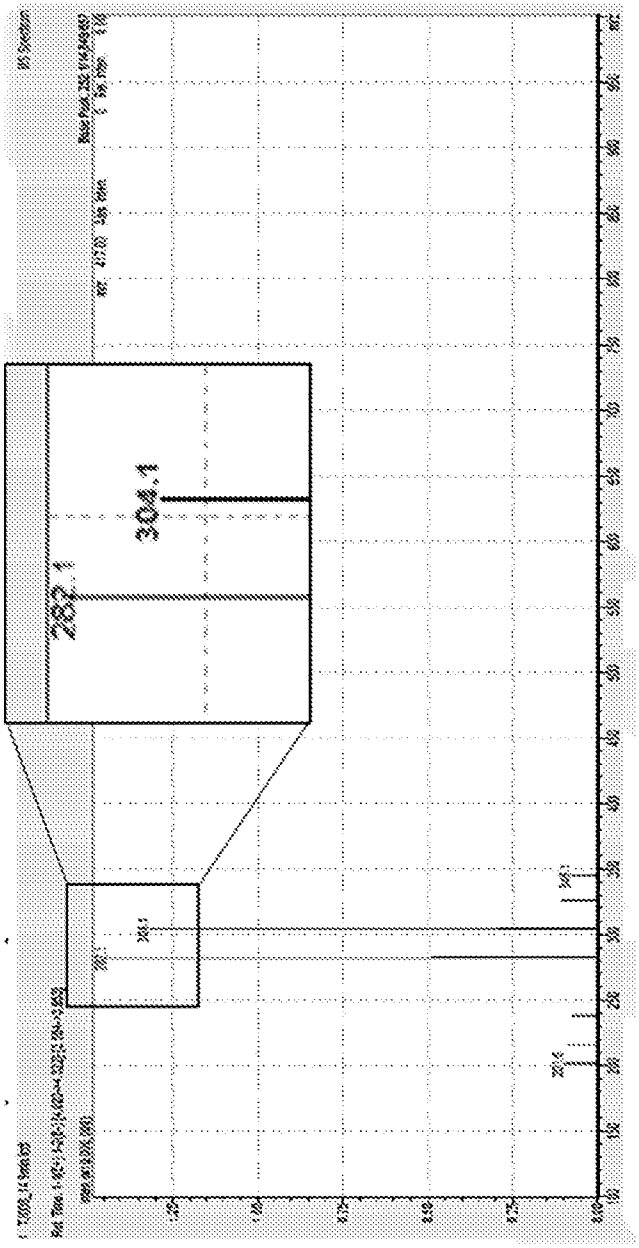


FIG. 11

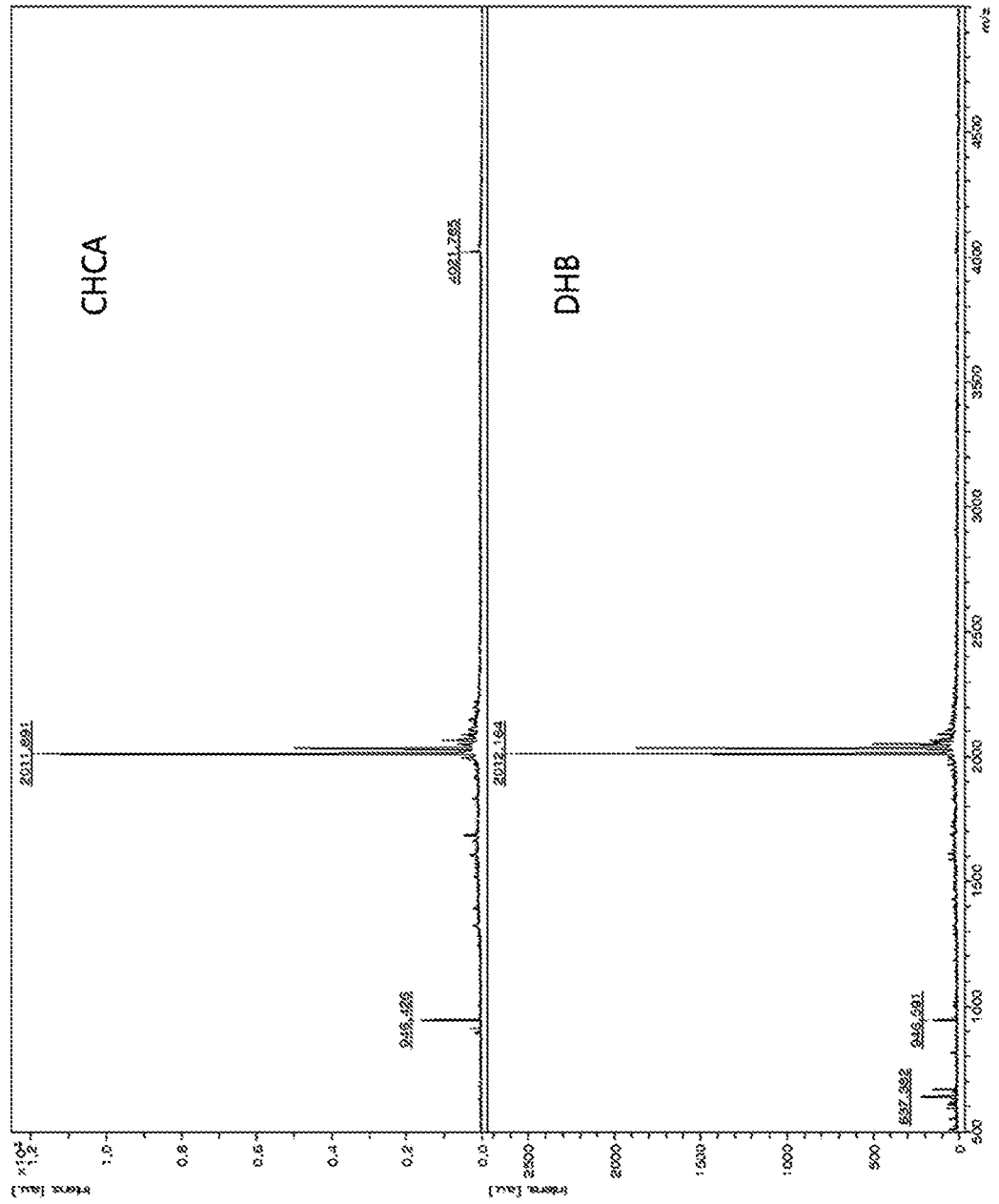


FIG. 12

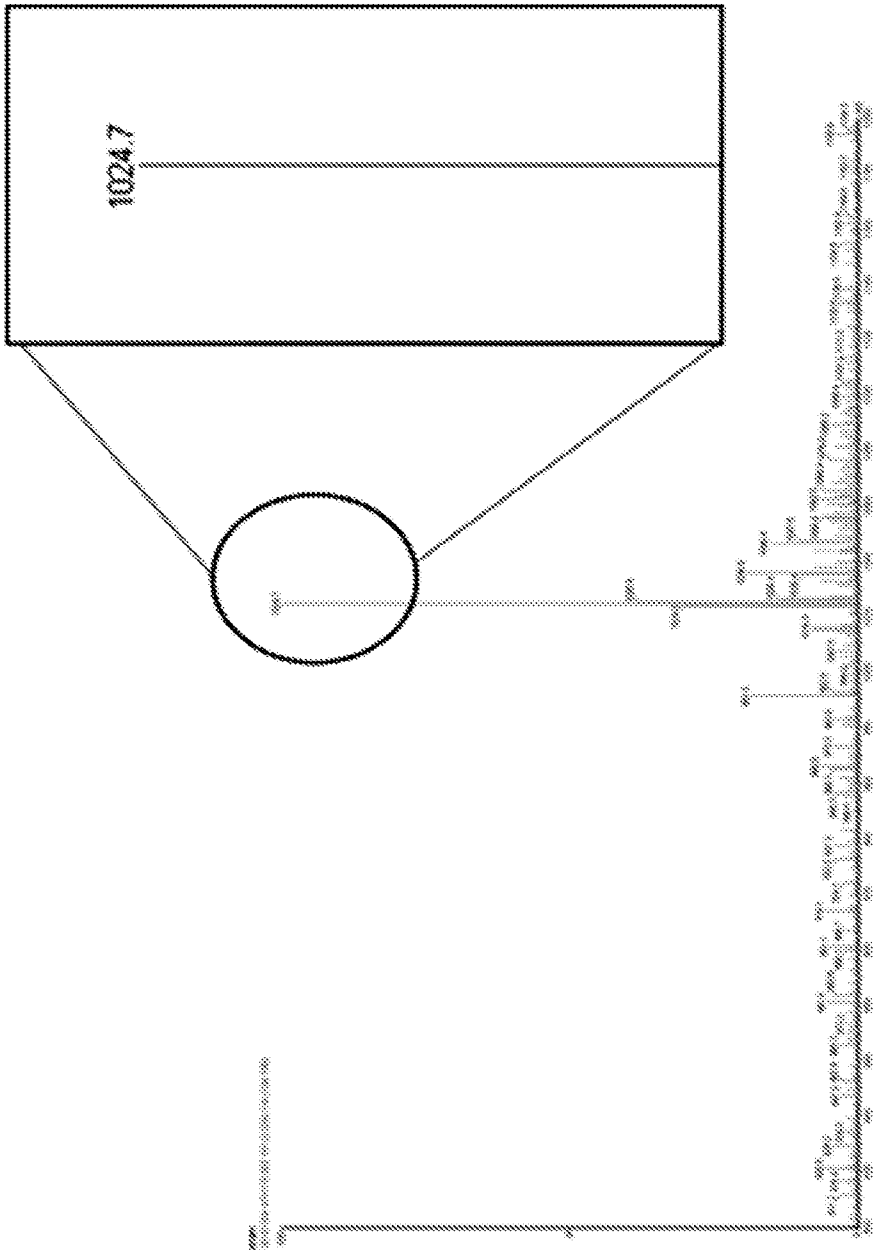


FIG. 13

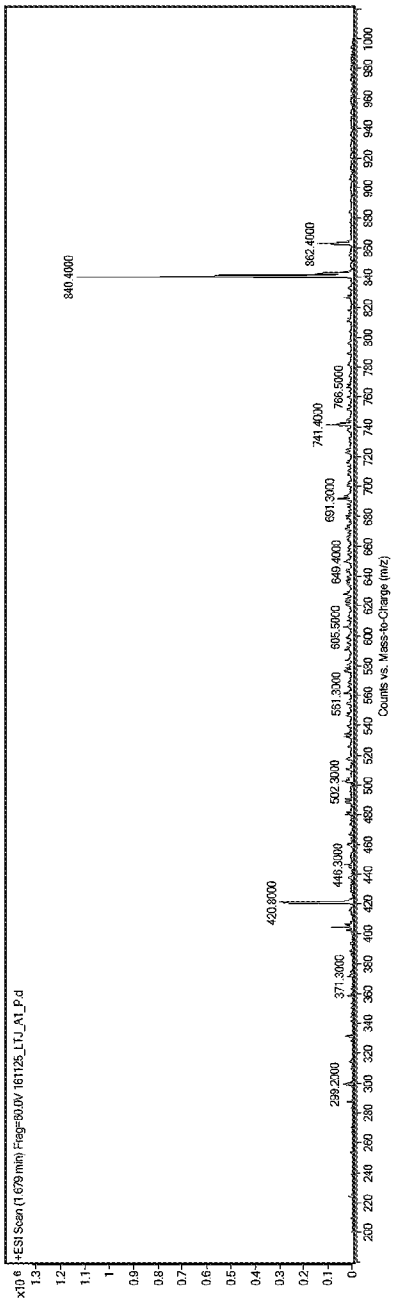

+ESI Scan (1.679 min) Frag=80.0V 161125_LTJ_A1_P.d
x10 6
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)
840.4000
862.4000
741.4000
766.5000
691.3000
649.4000
605.5000
551.3000
502.3000
449.3000
420.8000
371.3000
299.2000

FIG. 14

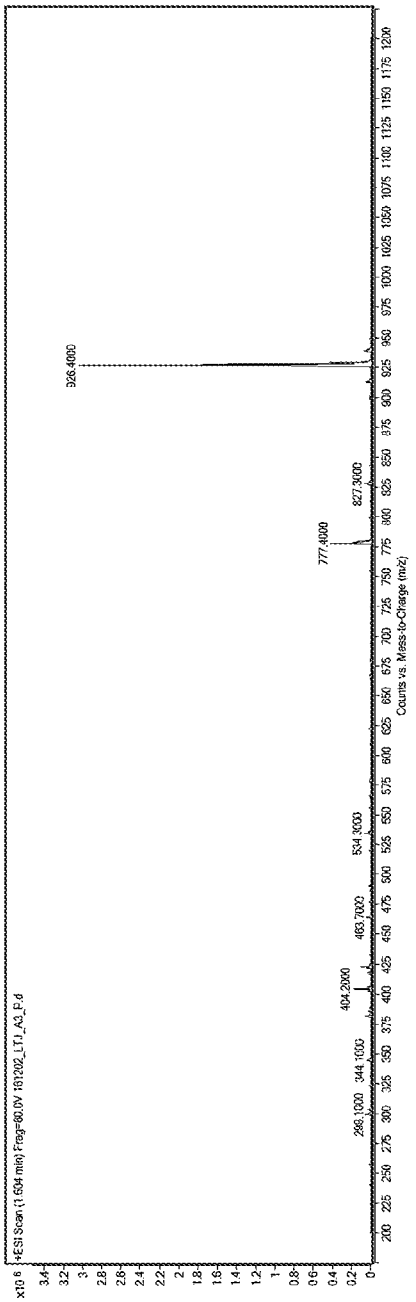

x10 6 +ESI Scan (1.594 min) Frag=60.0V 191202_LT1_A3_P.d
3.4
3.2
3
2.8
2.6
2.4
2.2
2
1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
200 225 250 275 300 325 350 375 400 425 450 475 500 525 550 575 600 625 650 675 700 725 750 775 800 825 850 875 900 925 950 975 1000 1025 1050 1075 1100 1125 1150 1175 1200
286.1000
344.1000
404.2000
463.7000
534.3000
777.4000
827.3000
926.4000
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

FIG. 15

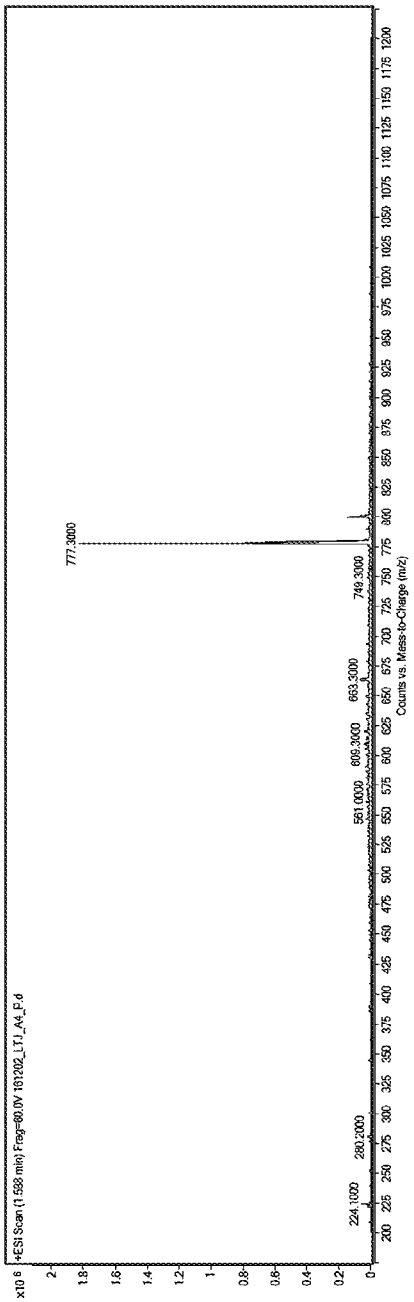

x10 6
+ESI Scan (1.588 min) Frag=60.0V 191202_LT1_A4_P.d
777.3000
749.3000
663.3000
609.3000
581.0000
224.1000
280.2000
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

FIG. 16

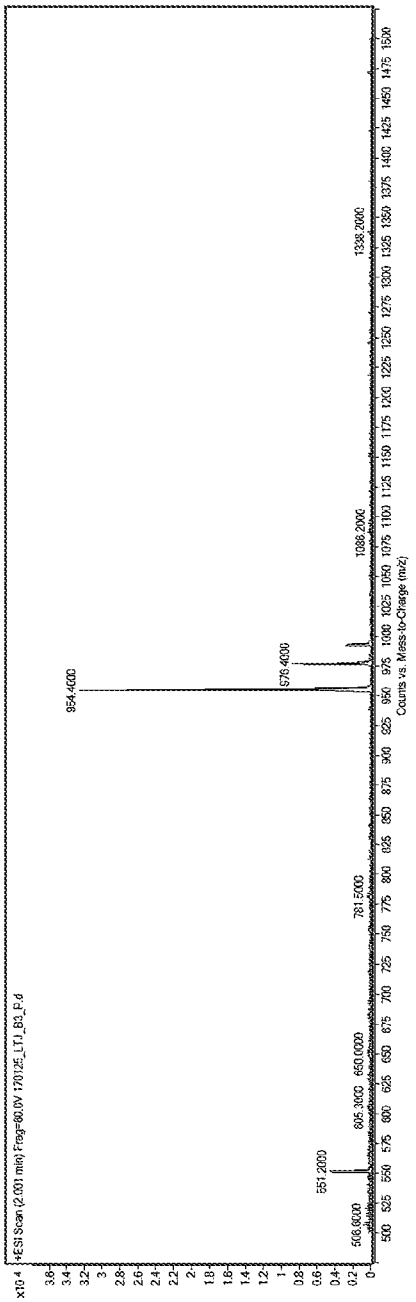

x10 4 +ESI Scan (2.091 min) Frag=60.0V 170125_LT1_B3_P.d
954.4000
576.4000
1088.2000
1338.2000
781.5000
650.0000
605.2000
551.2000
566.6000
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

FIG. 17

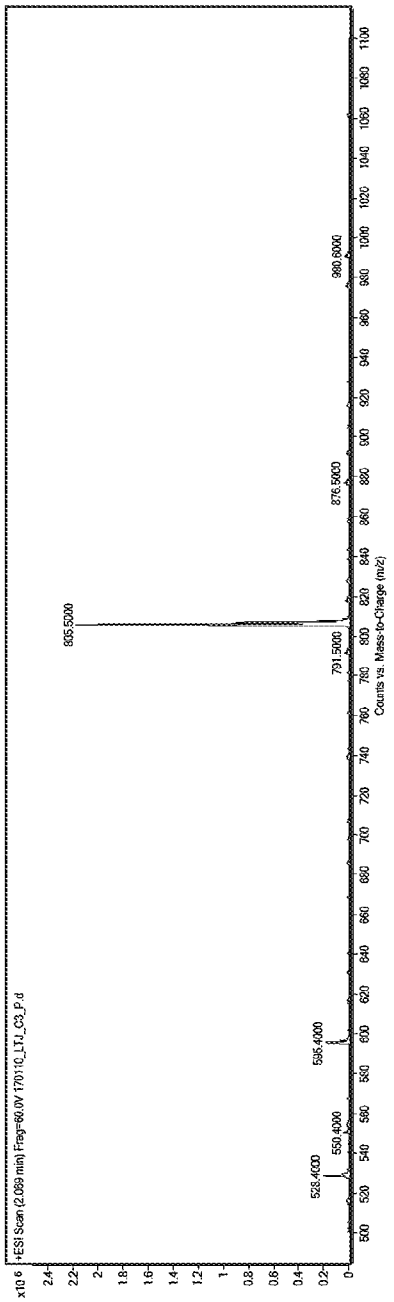

x10 6
2.4
2.2
2
1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
528.4000
550.4000
585.4000
605.5000
791.5000
876.5000
980.8000
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

FIG. 18

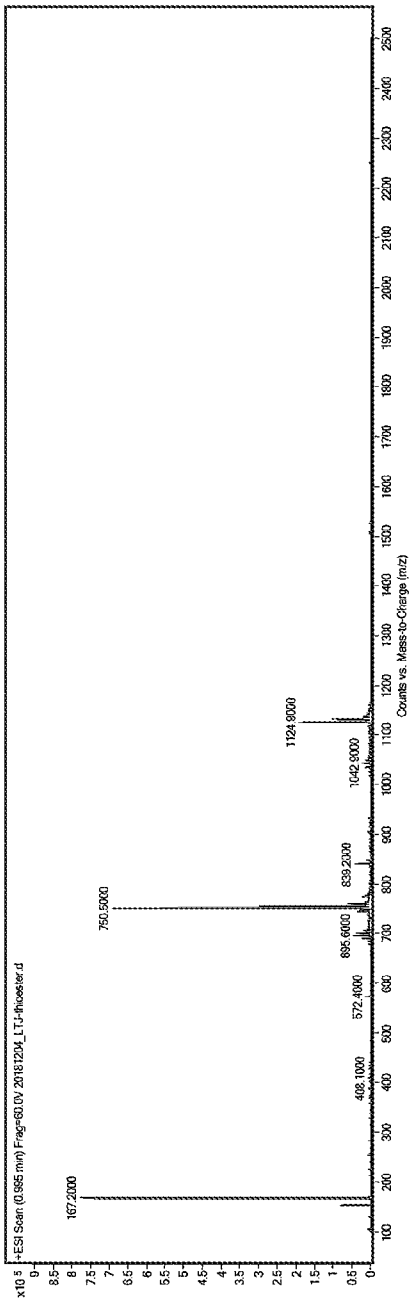

+ESI Scan (0.985 min) Frag=60.0V 20161204_LTJ-Rhoester.d
x10 5
167.2000
408.1000
572.4000
695.6000
750.5000
839.2000
1042.9000
1124.9000
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

FIG. 19

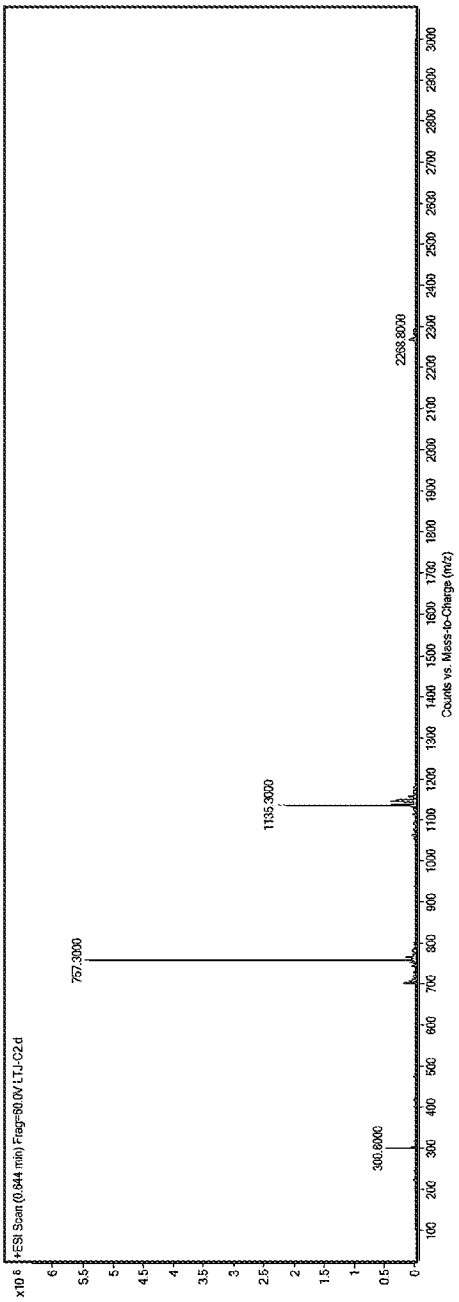

+ESI Scan (0.044 min) Frag=80.0V LTJ-C2.d
x10 6
757.3000
1135.3000
2268.8000
300.8000
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

FIG. 20

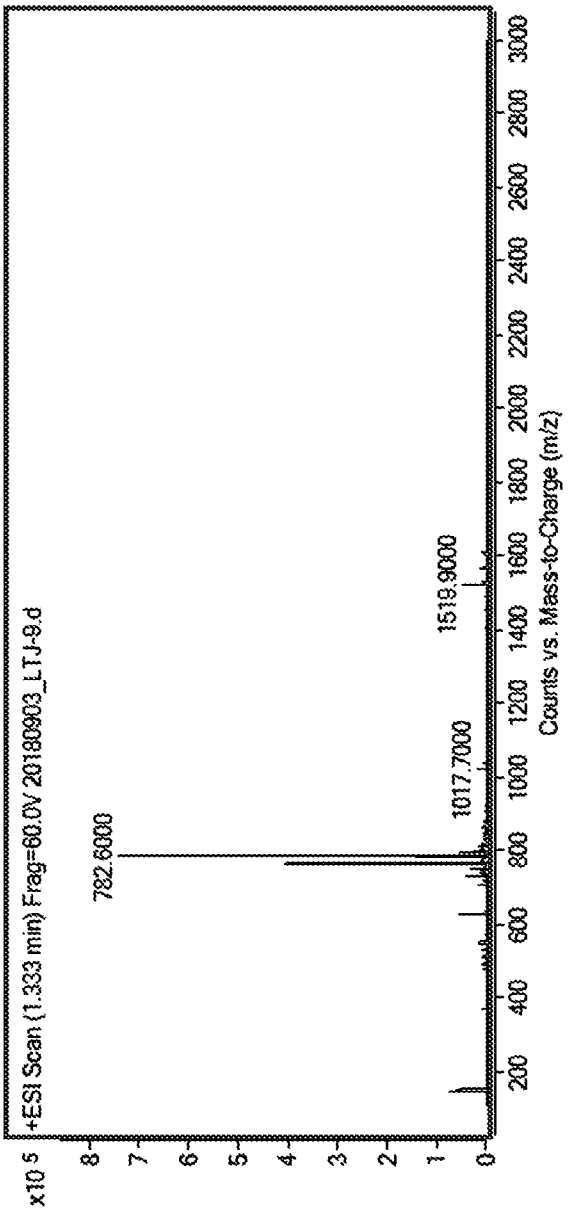

+ESI Scan (1.333 min) Frag=60.0V 20180903_LTJ-9.d
x10 5
8
7
6
5
4
3
2
1
0
782.6000
1017.7000
1519.9000
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
2000
2200
2400
2600
2800
3000
Counts vs. Mass-to-Charge (m/z)

FIG. 21

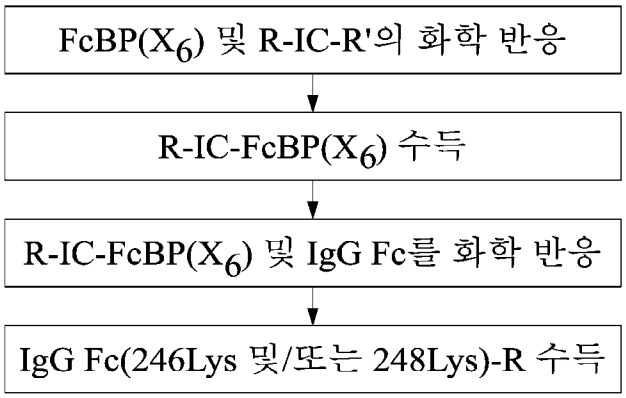

FcBP(X_6) 및 R-IC-R'의 화학 반응
R-IC-FcBP(X_6) 수득
R-IC-FcBP(X_6) 및 IgG Fc를 화학 반응
IgG Fc(246Lys 및/또는 248Lys)-R 수득

FIG. 22

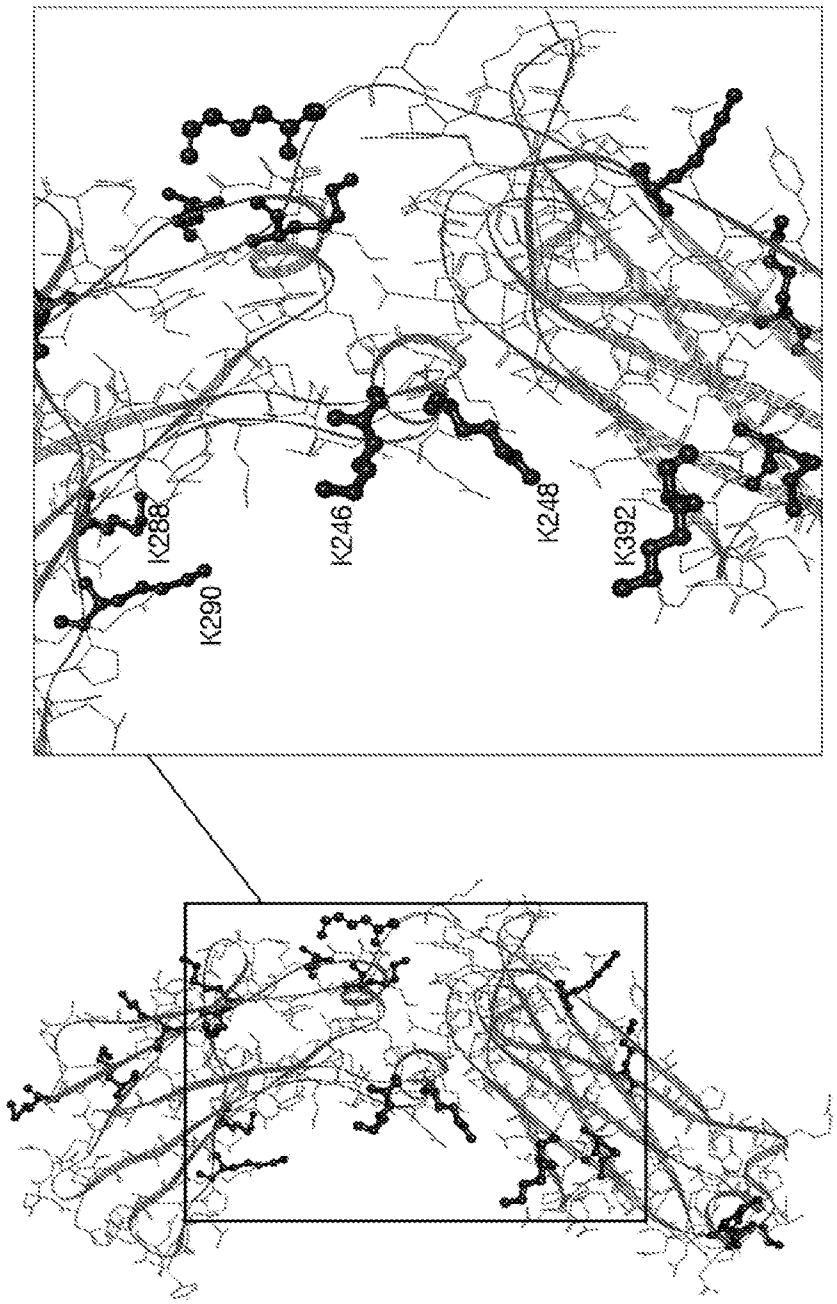


FIG. 23

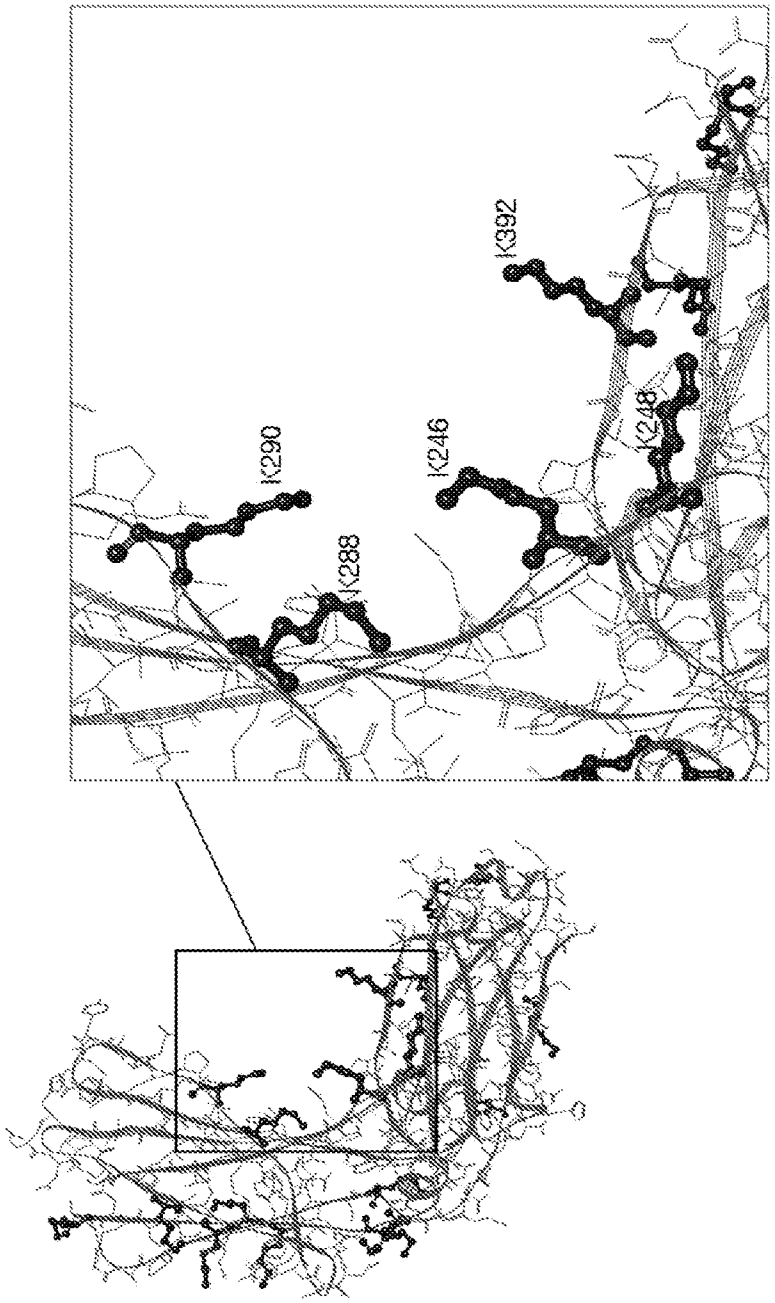


FIG. 24

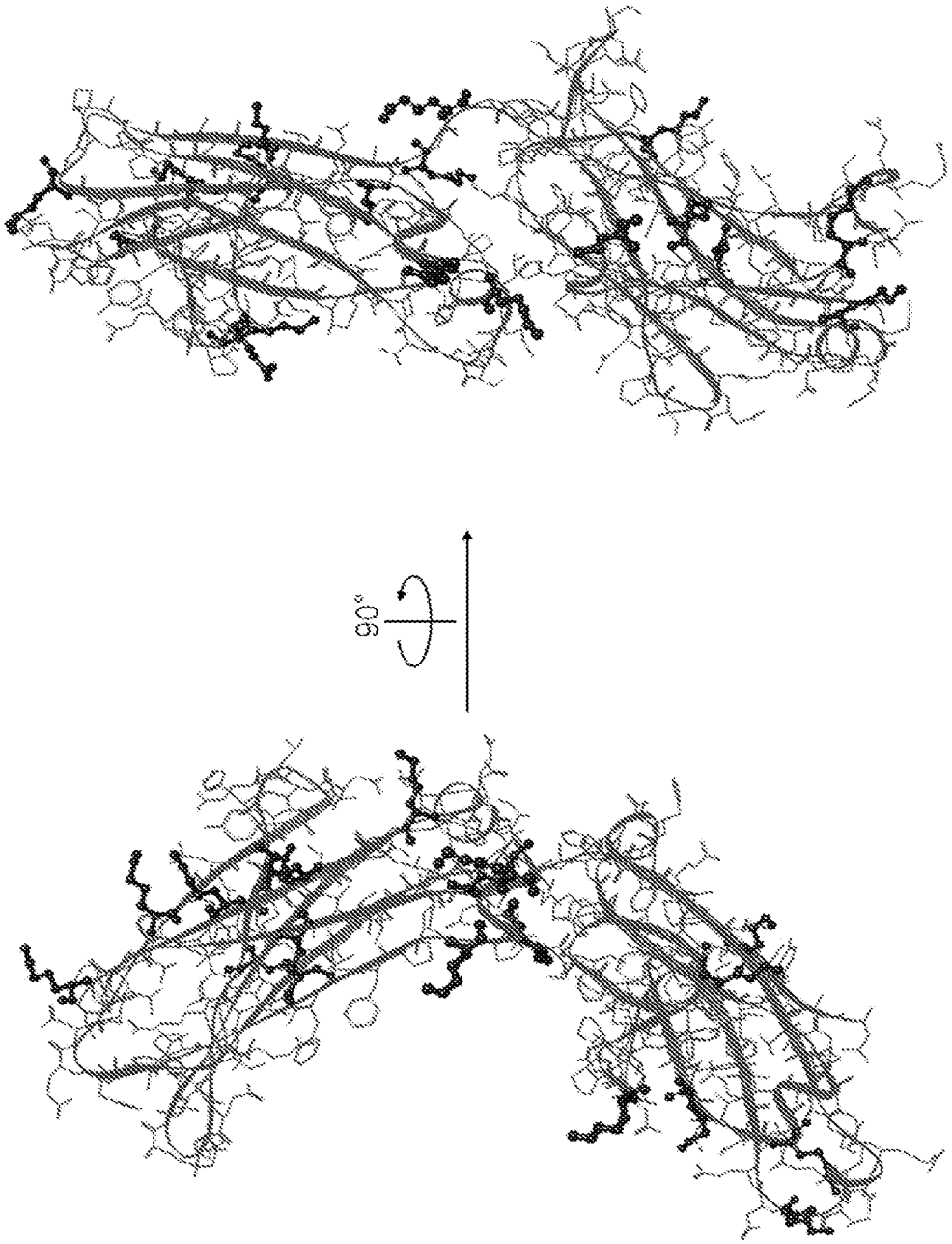


FIG. 25

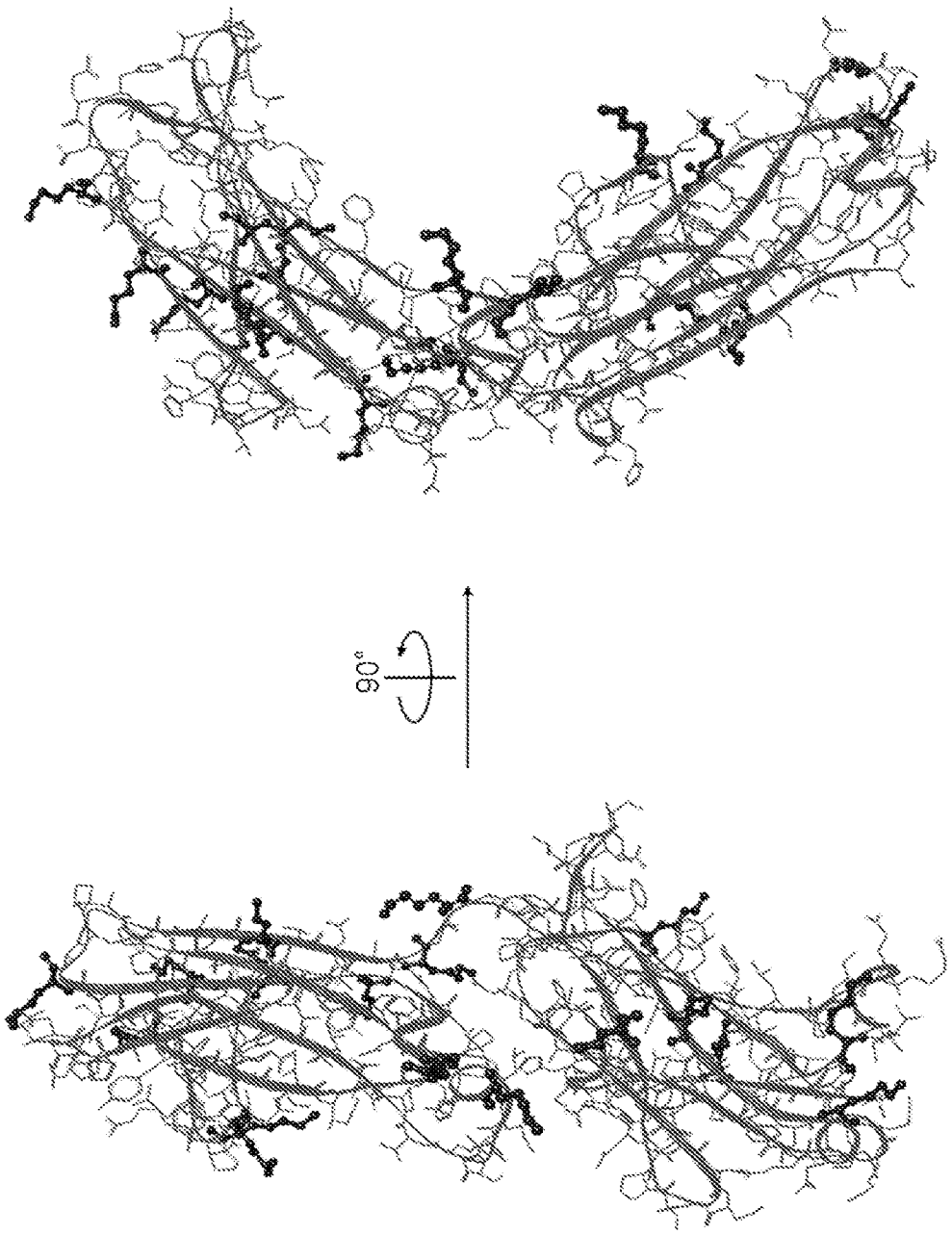


FIG. 26

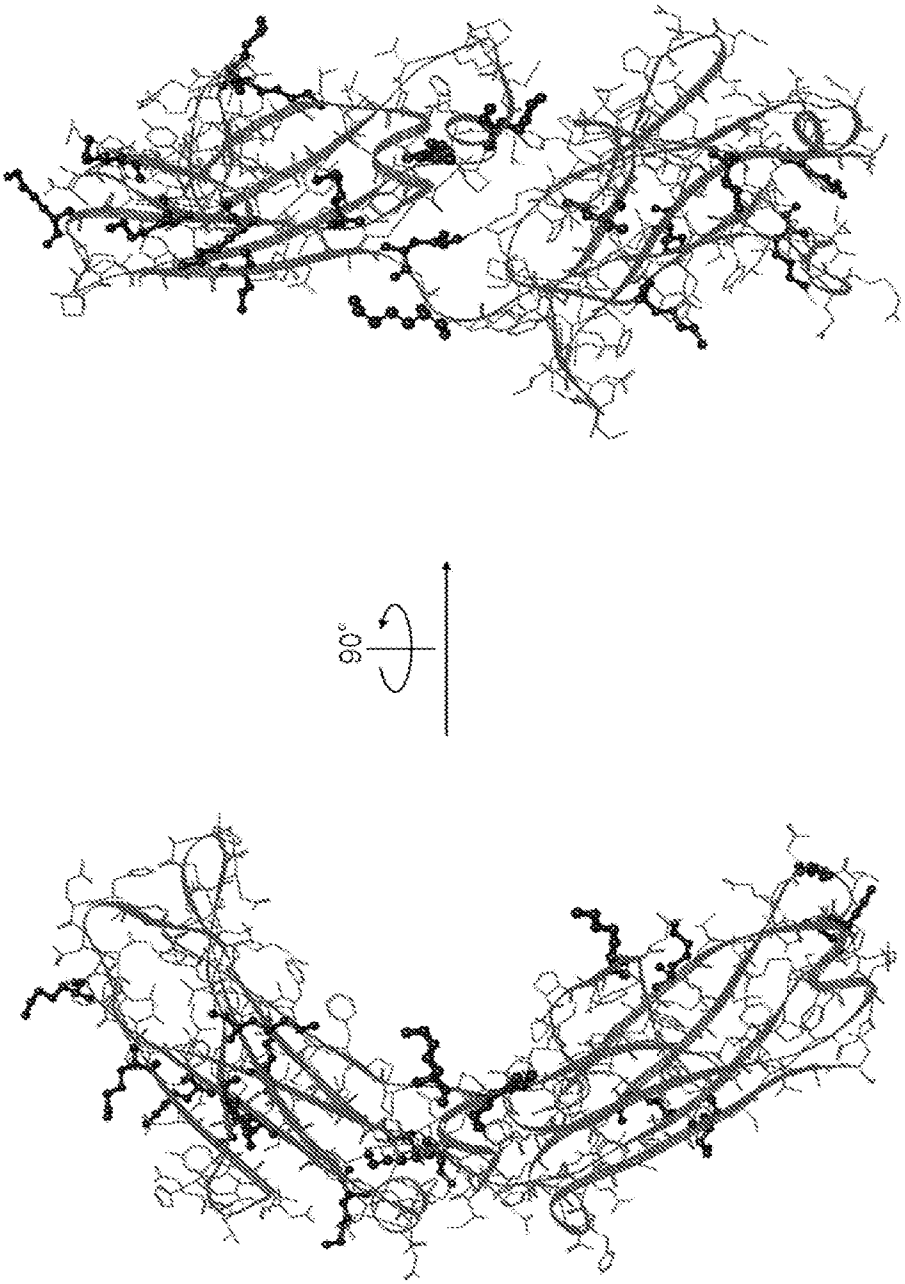


FIG. 27

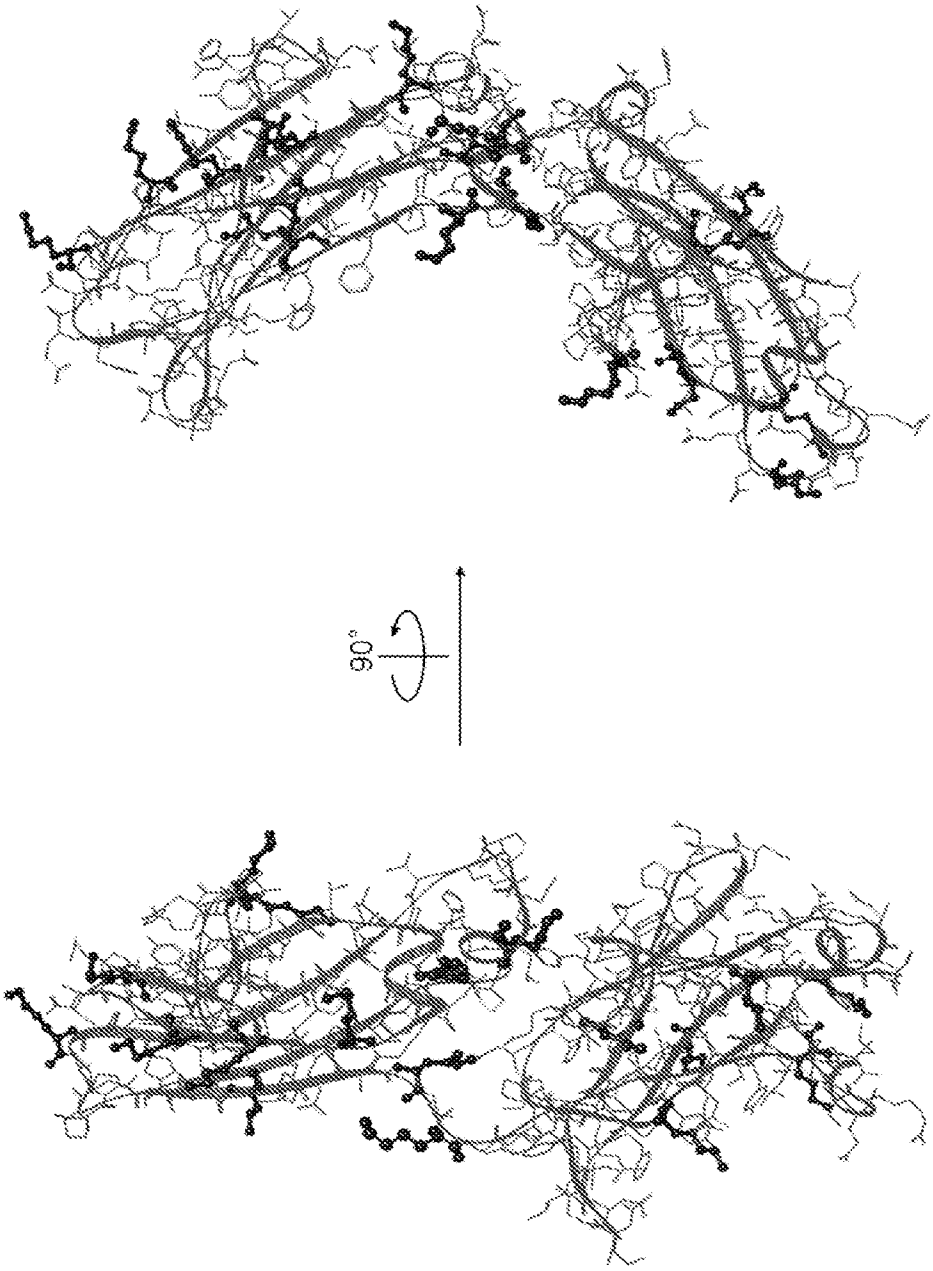


FIG. 28

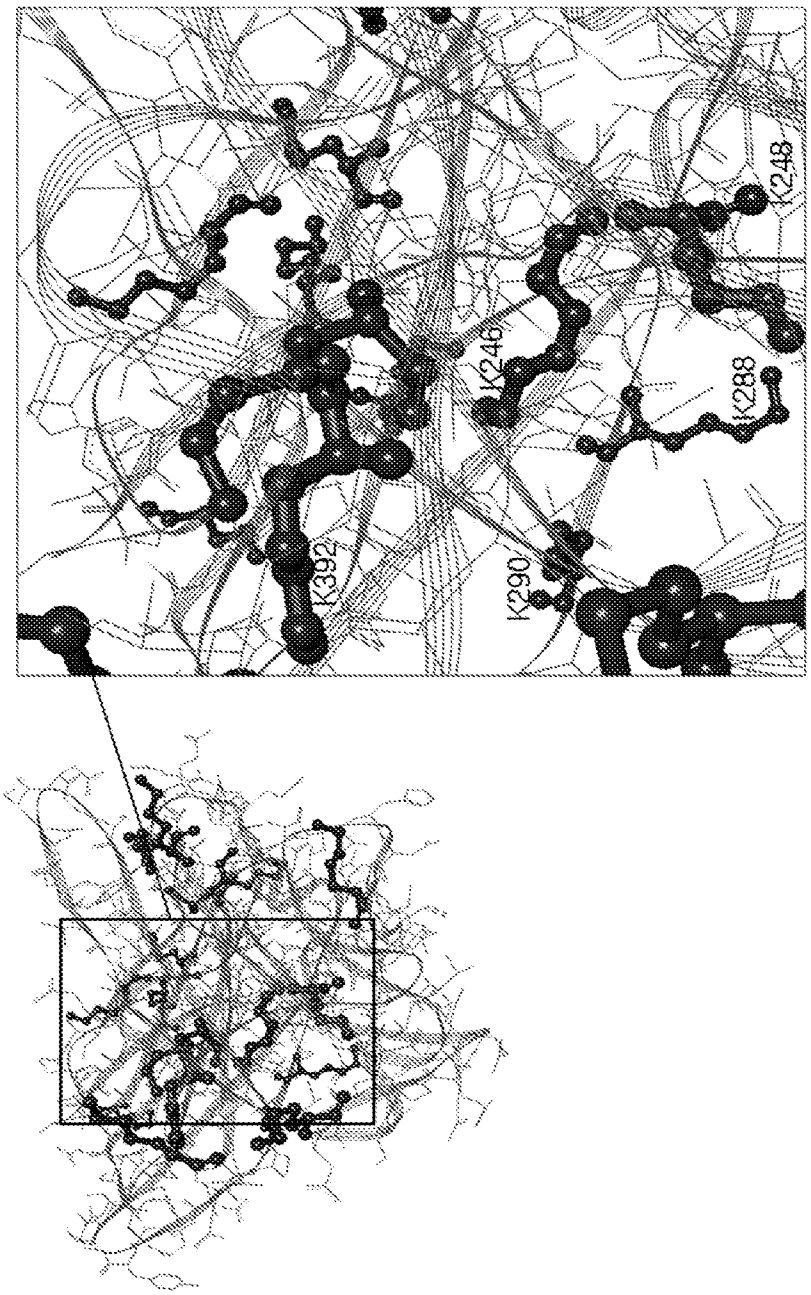


FIG. 29

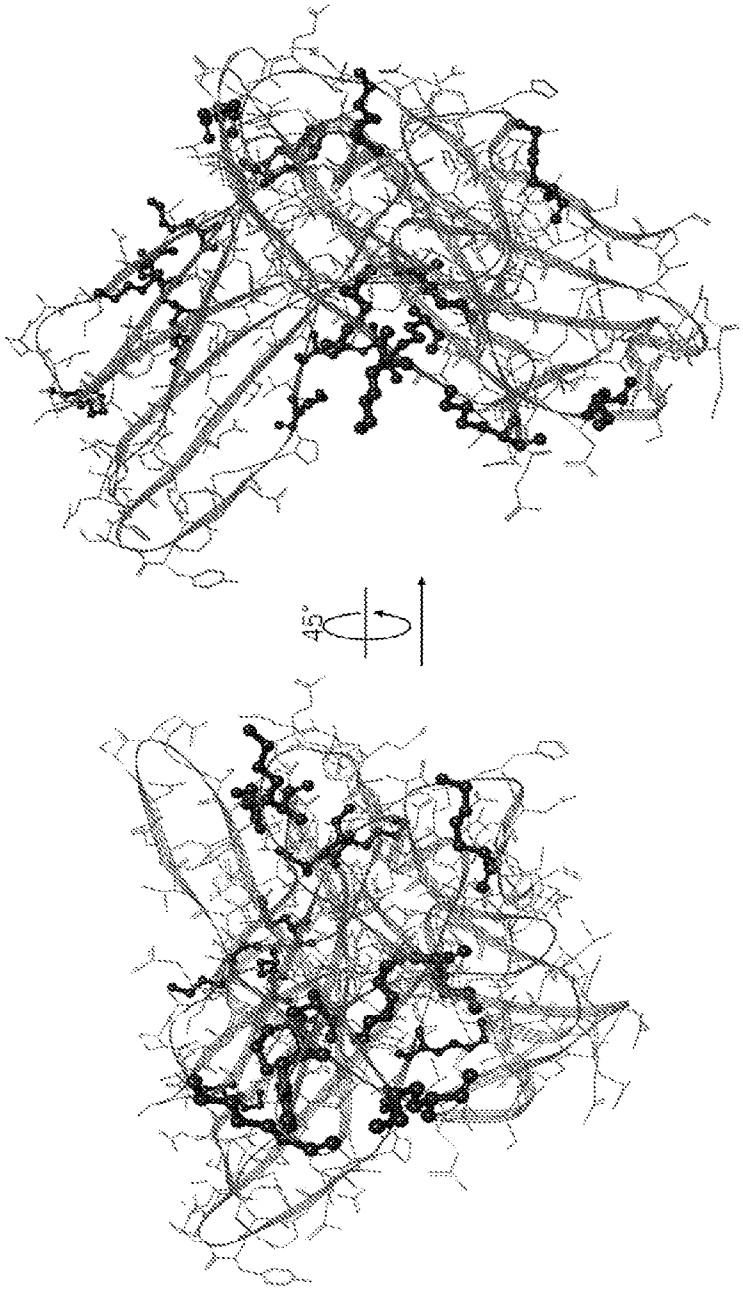


FIG. 30

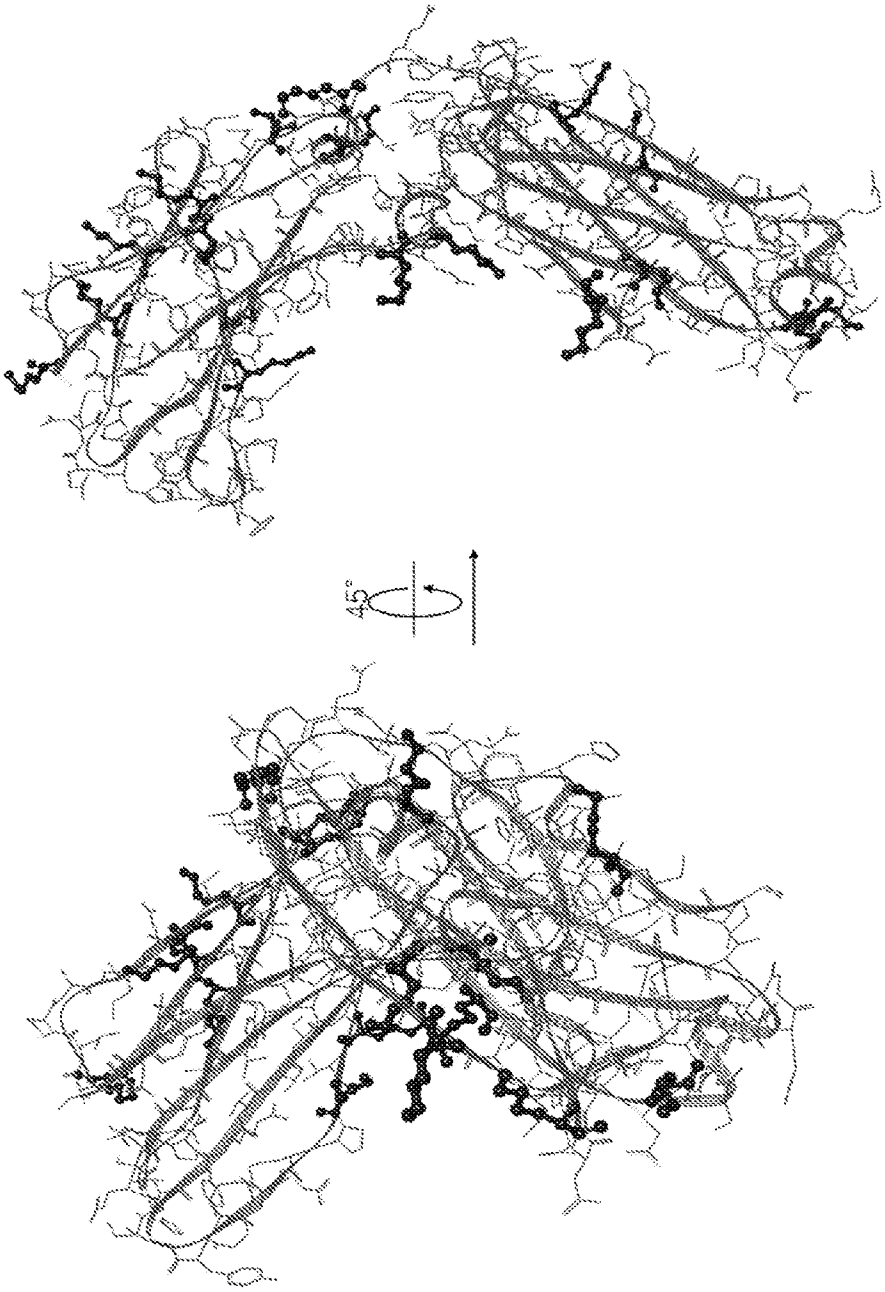


FIG. 31

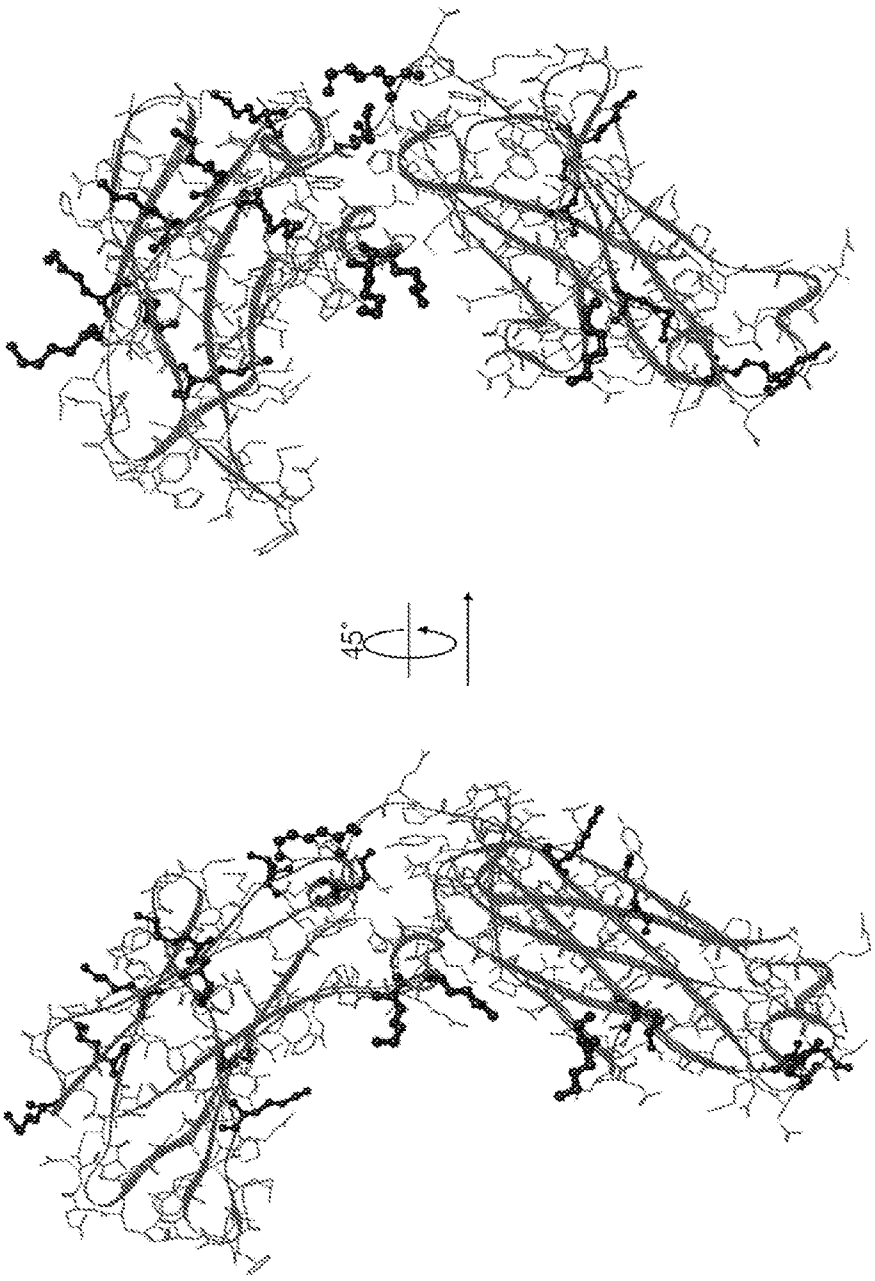


FIG. 32

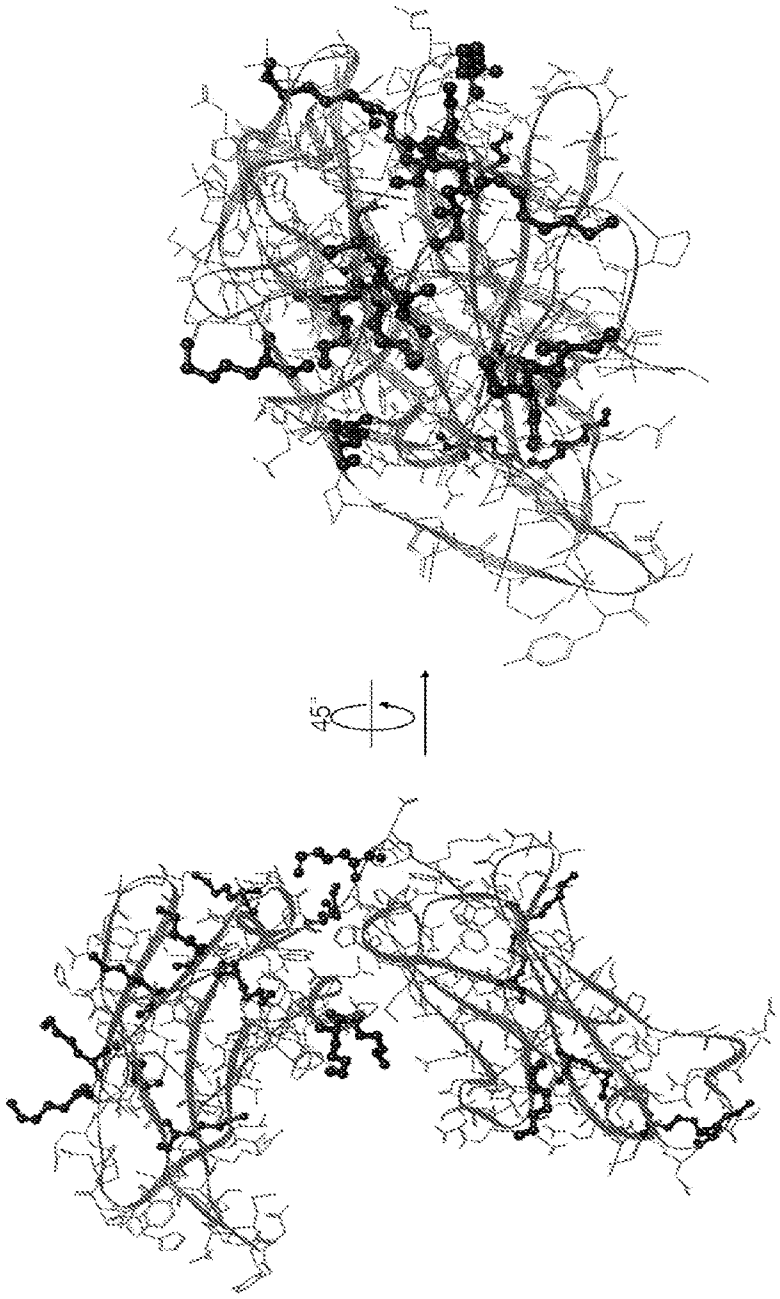


FIG. 33

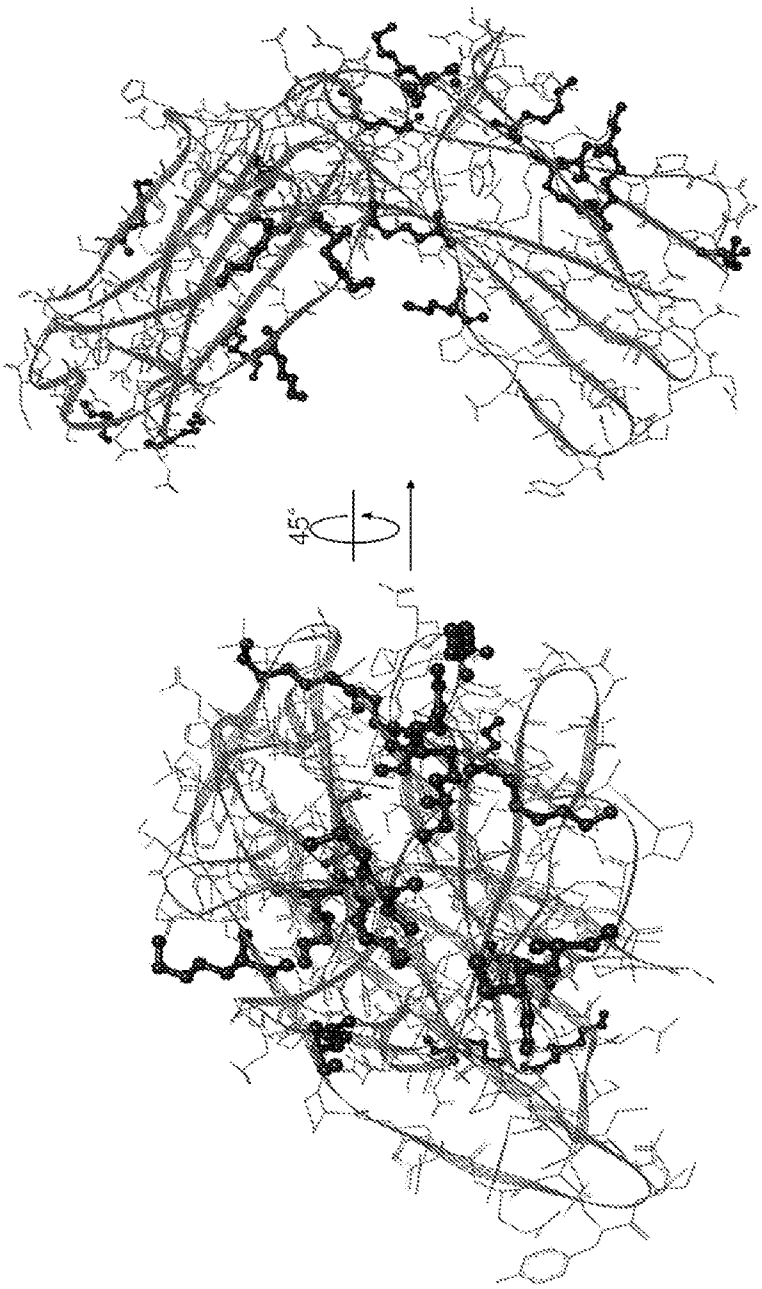


FIG. 34

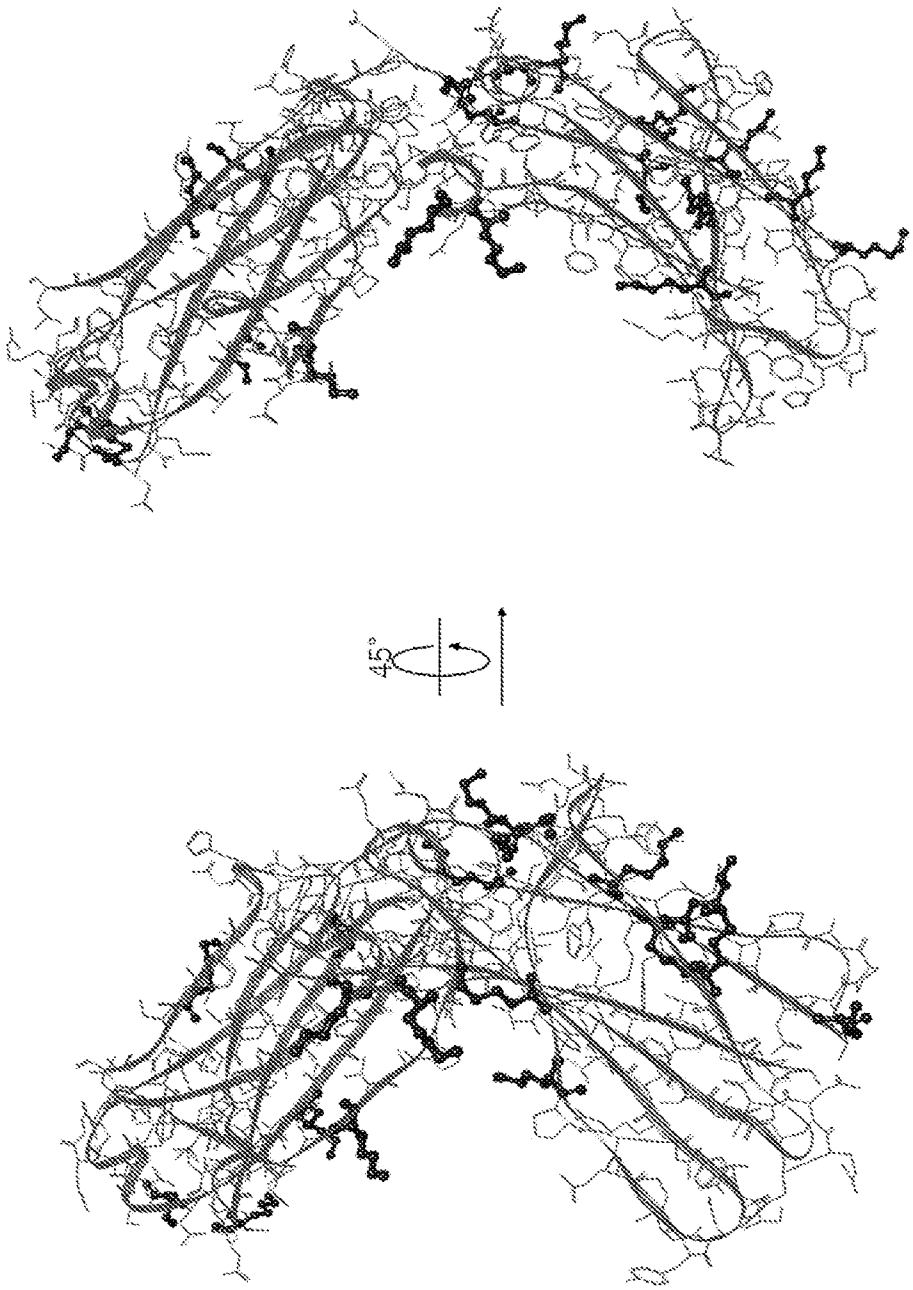


FIG. 35

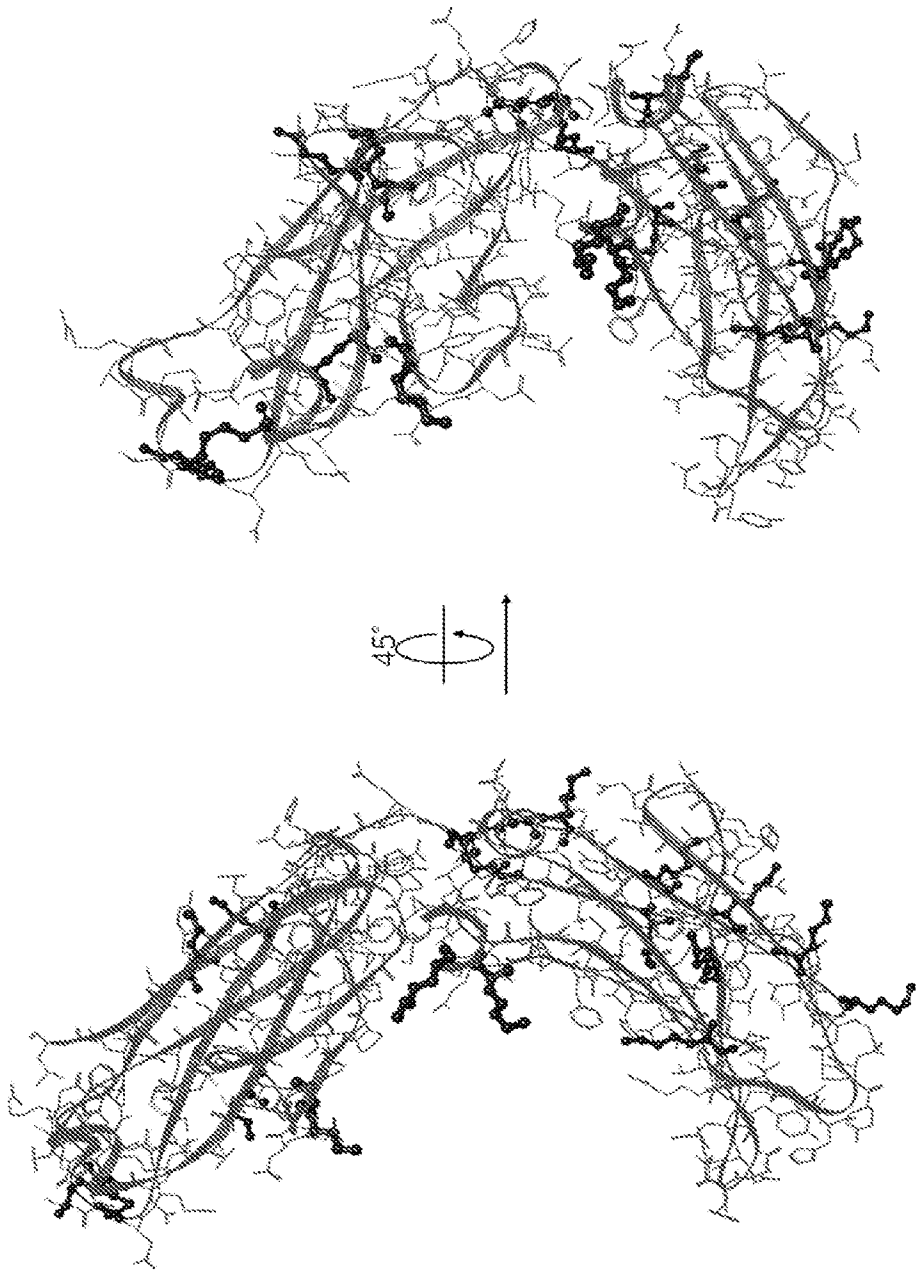


FIG. 36

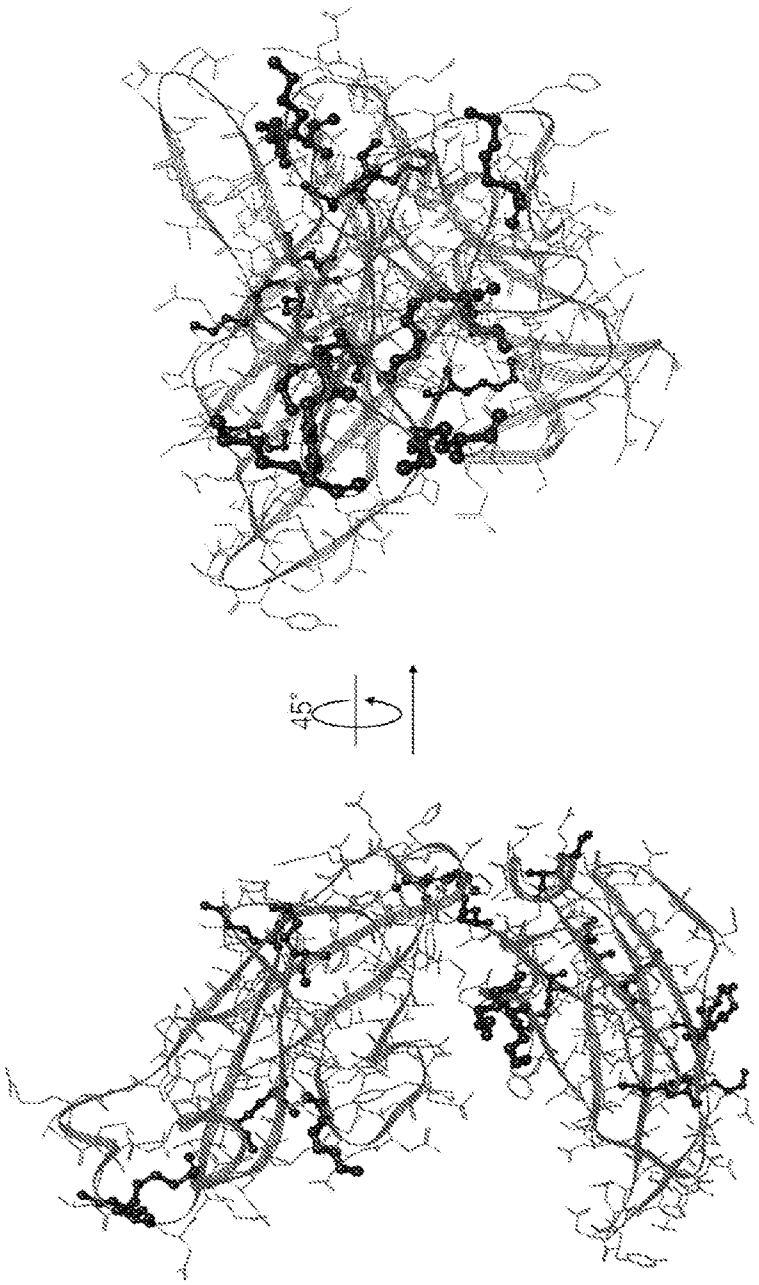


FIG. 37

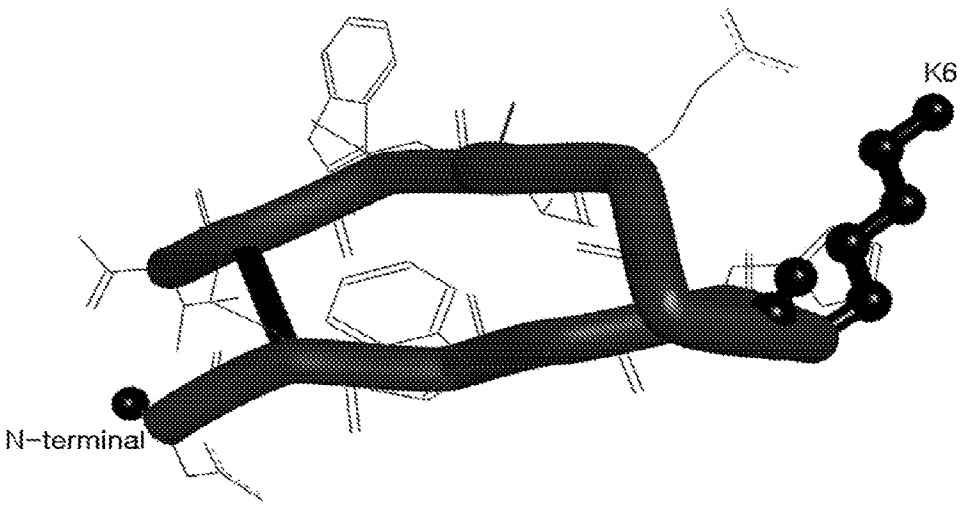


FIG. 38

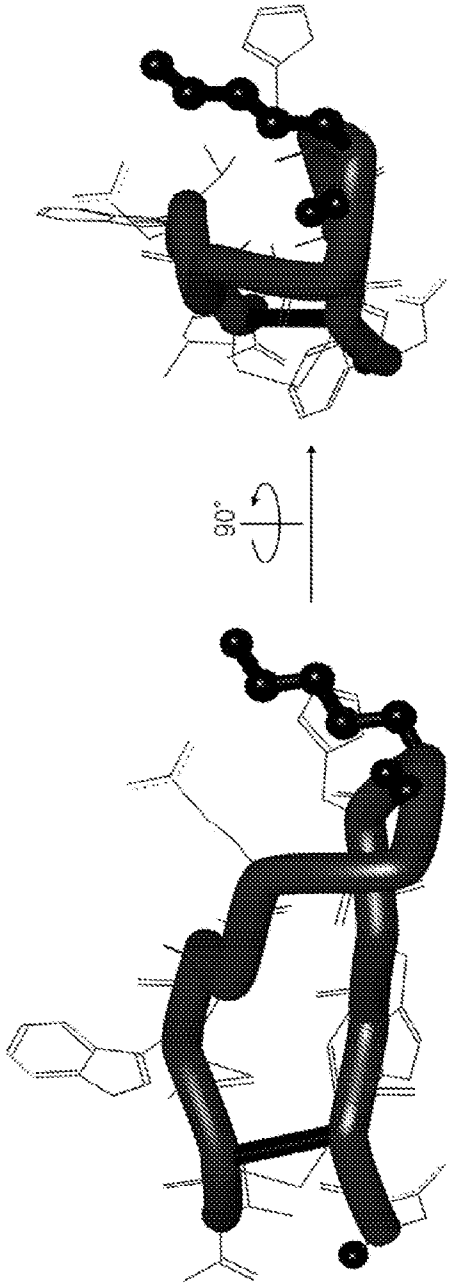


FIG. 39

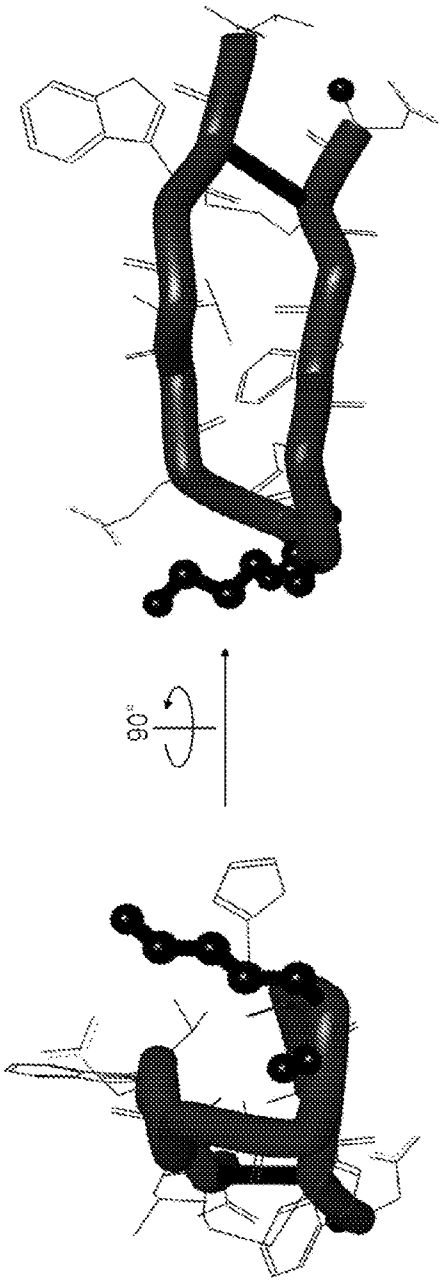


FIG. 40

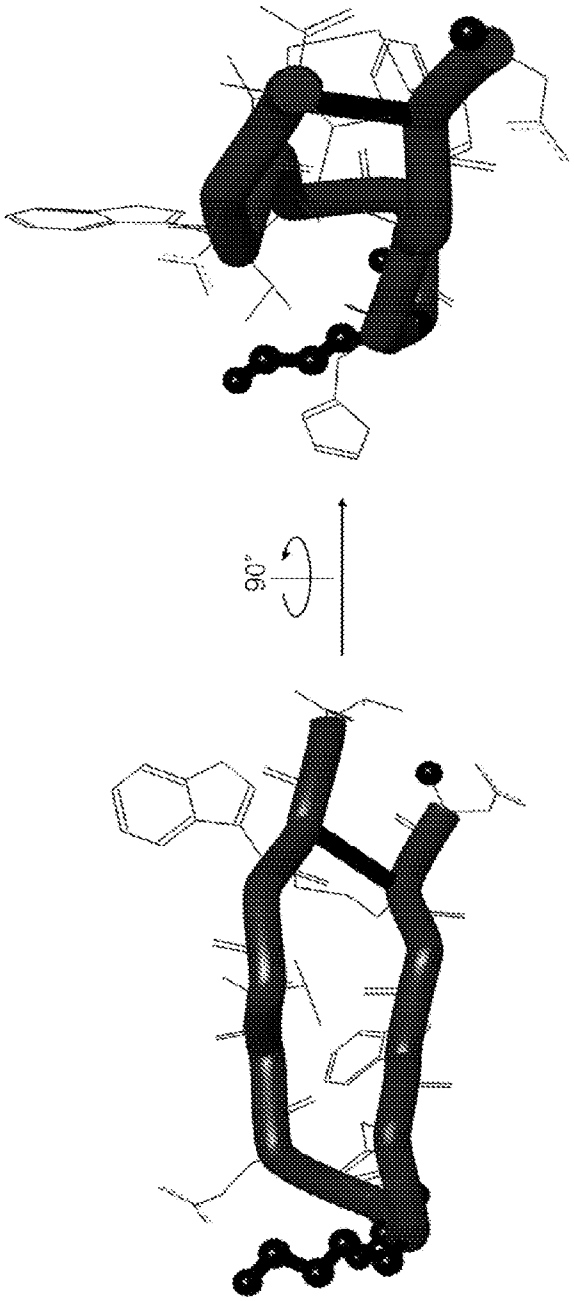


FIG. 41

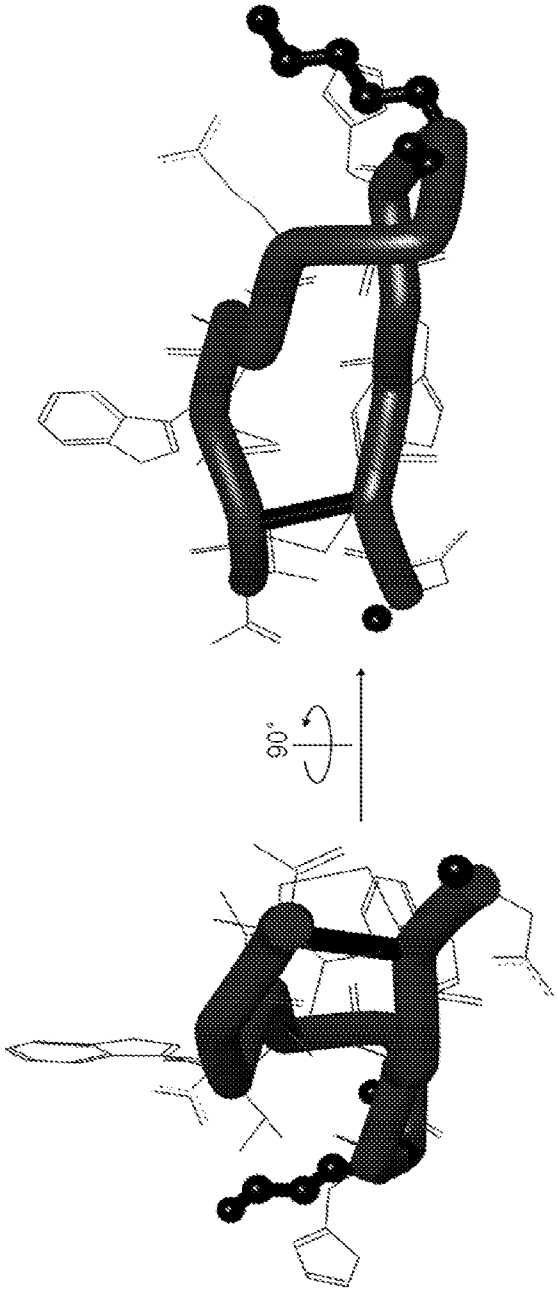


FIG. 42

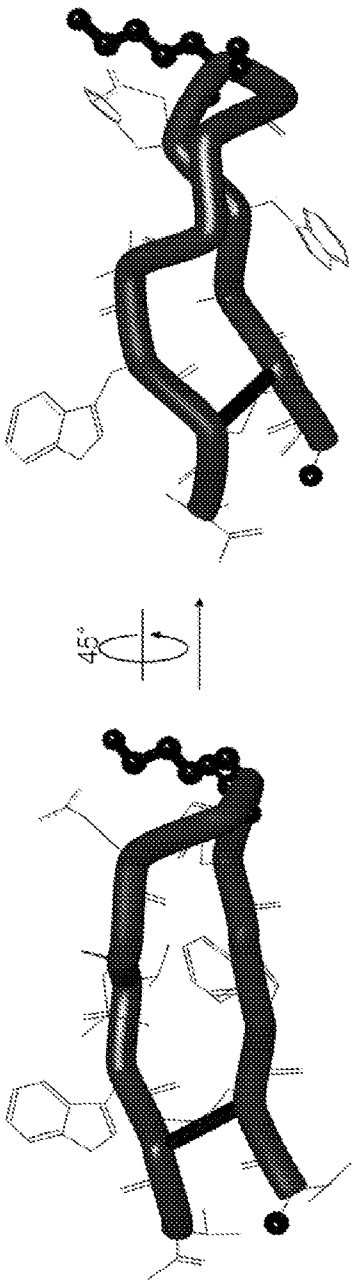


FIG. 43

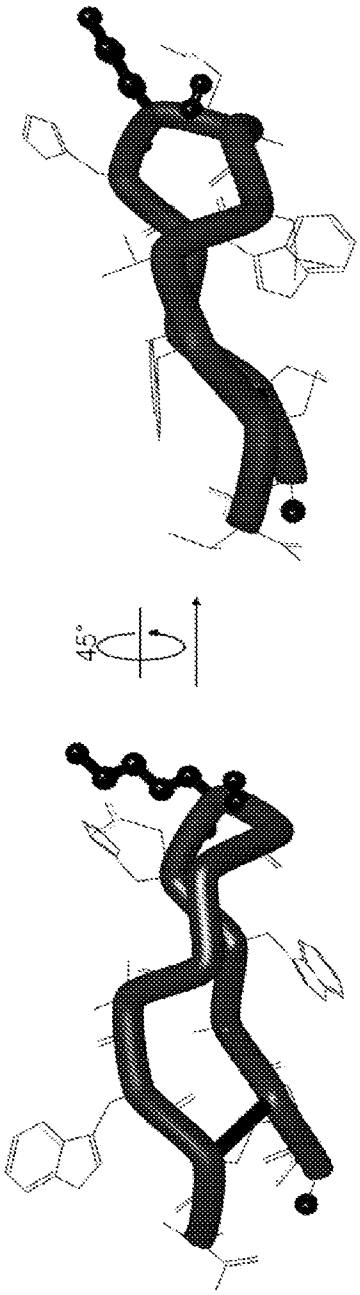


FIG. 44

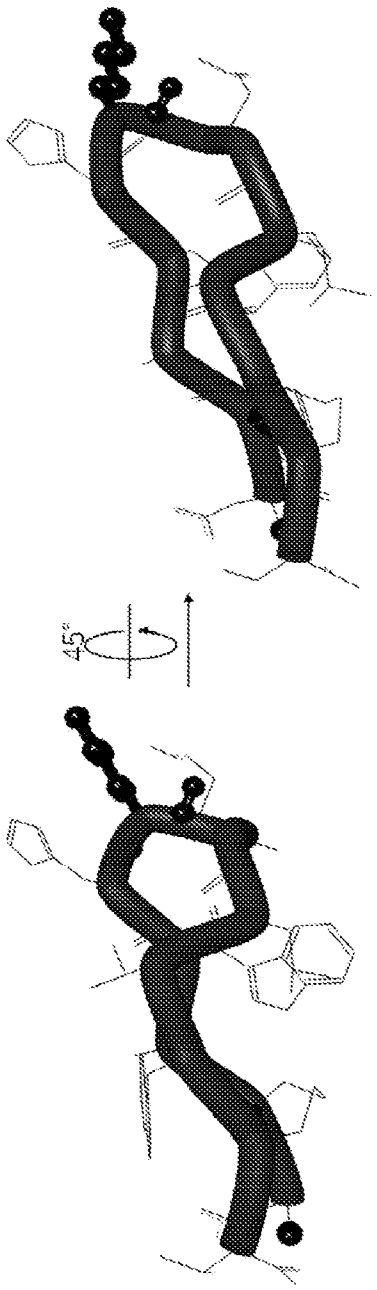


FIG. 45

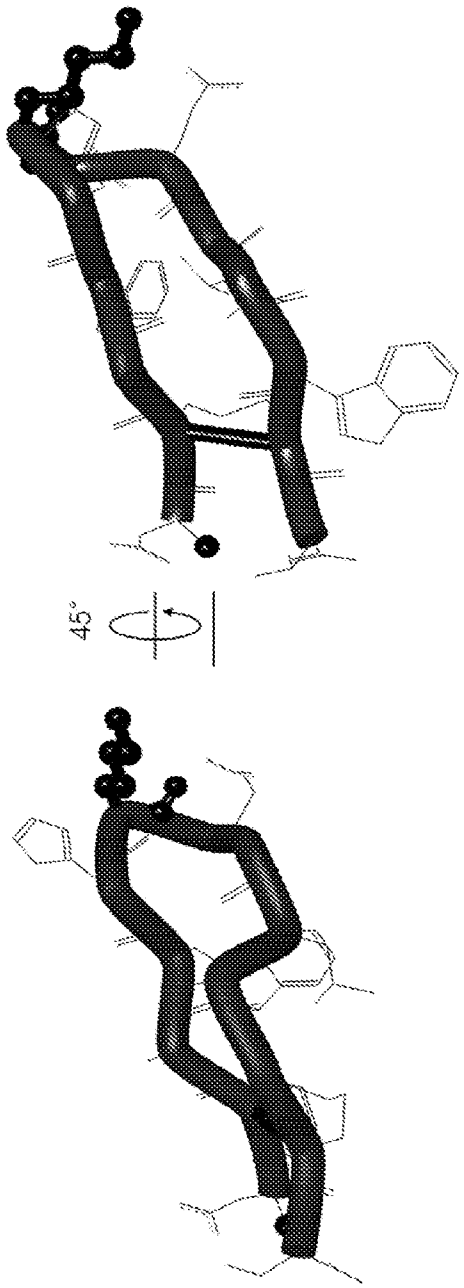


FIG. 46

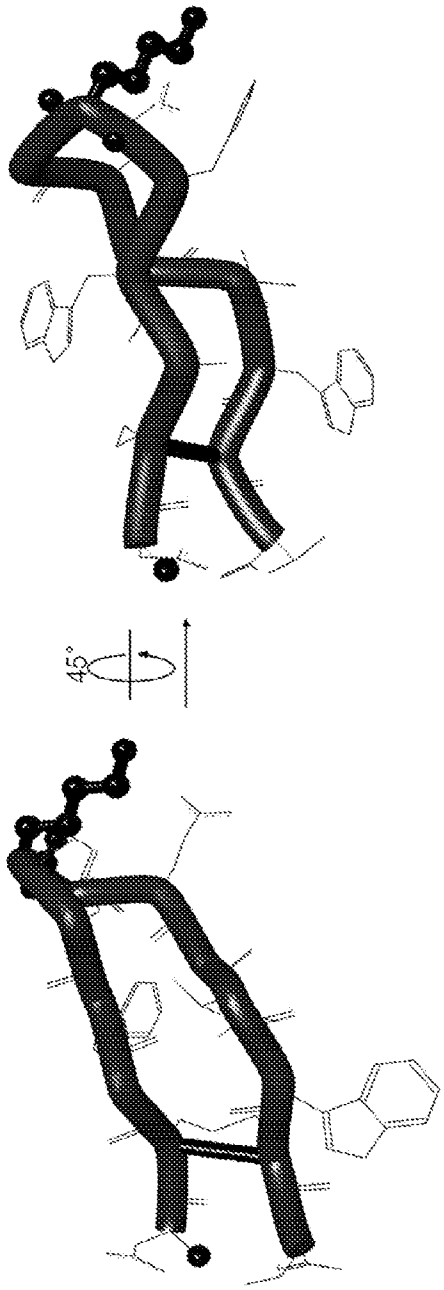


FIG. 47

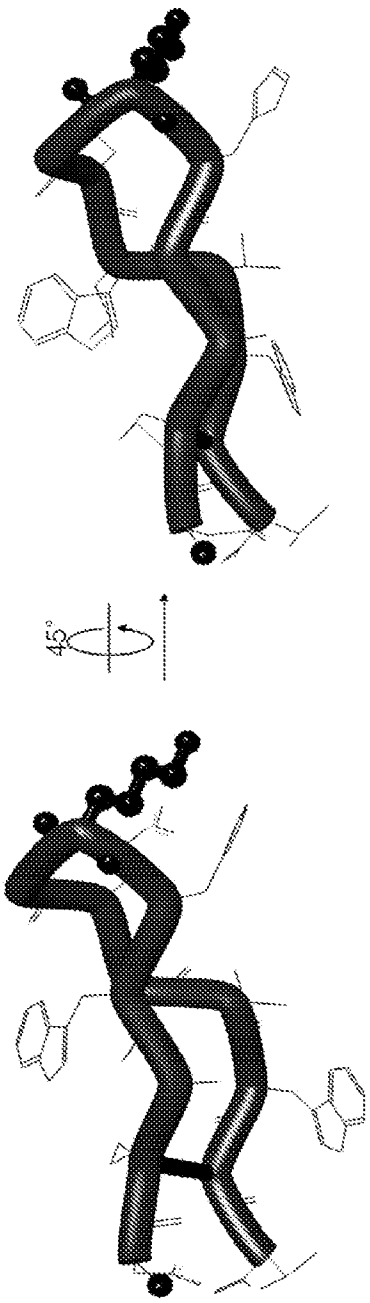


FIG. 48

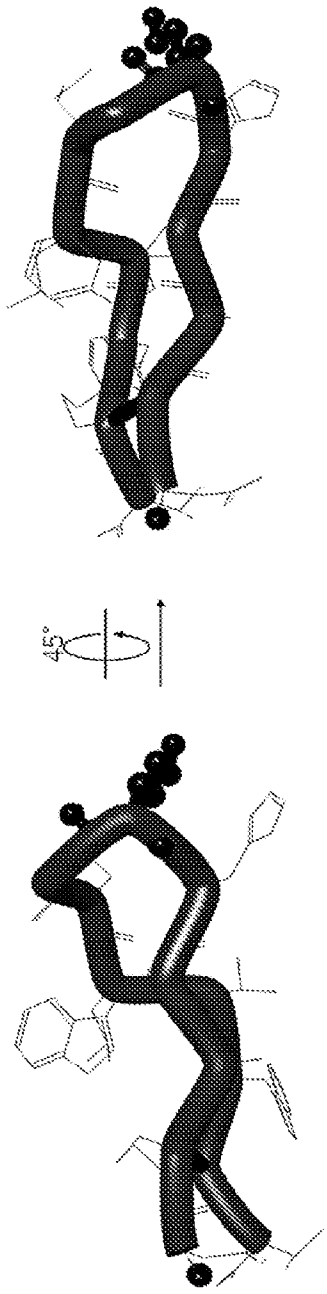


FIG. 49

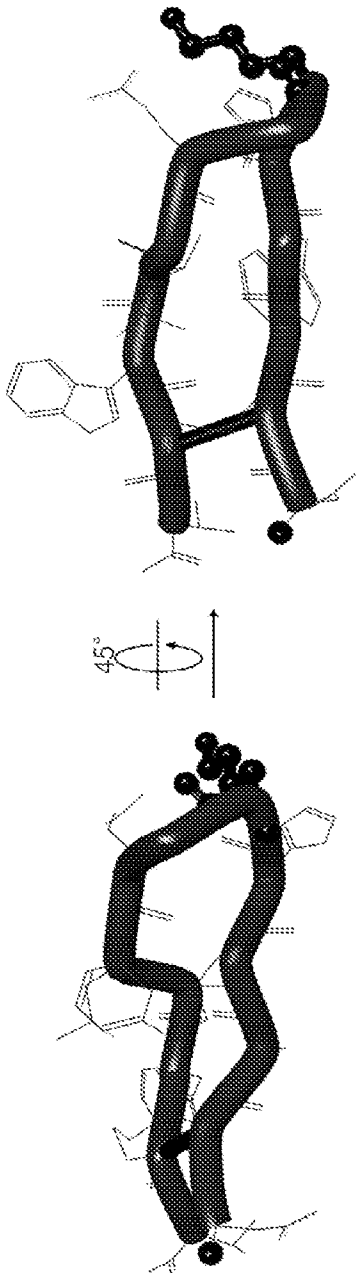


FIG. 50

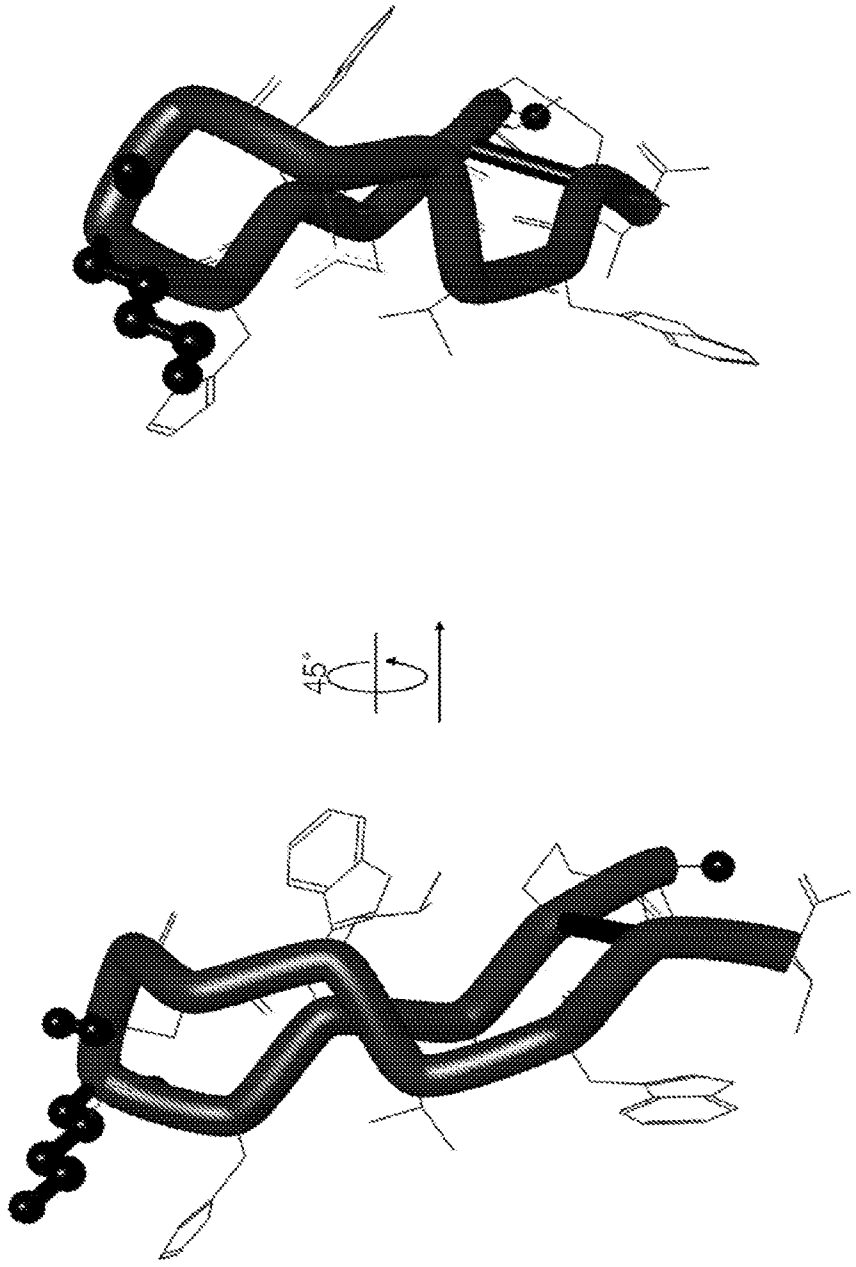


FIG. 51

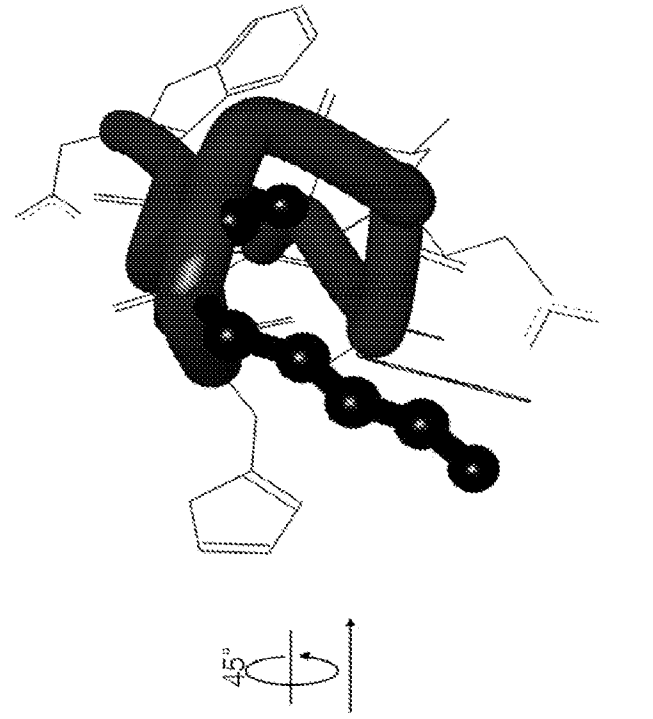


FIG. 52

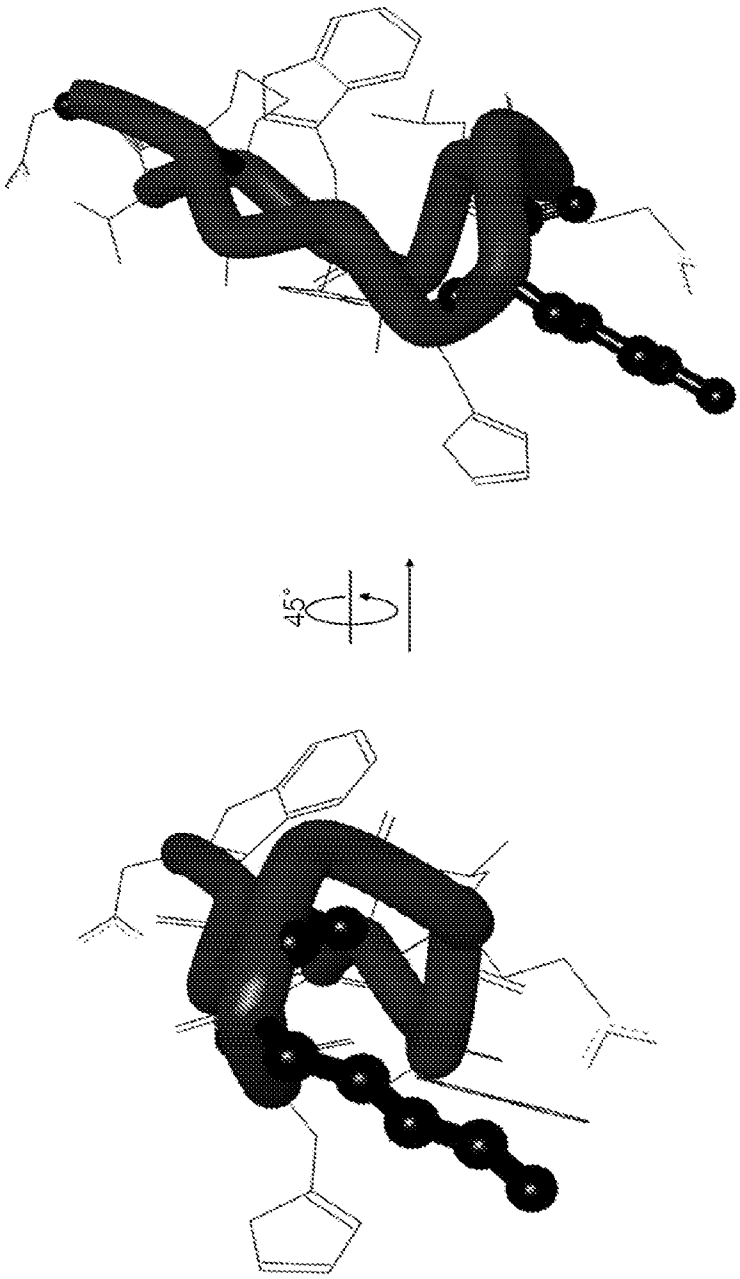


FIG. 53

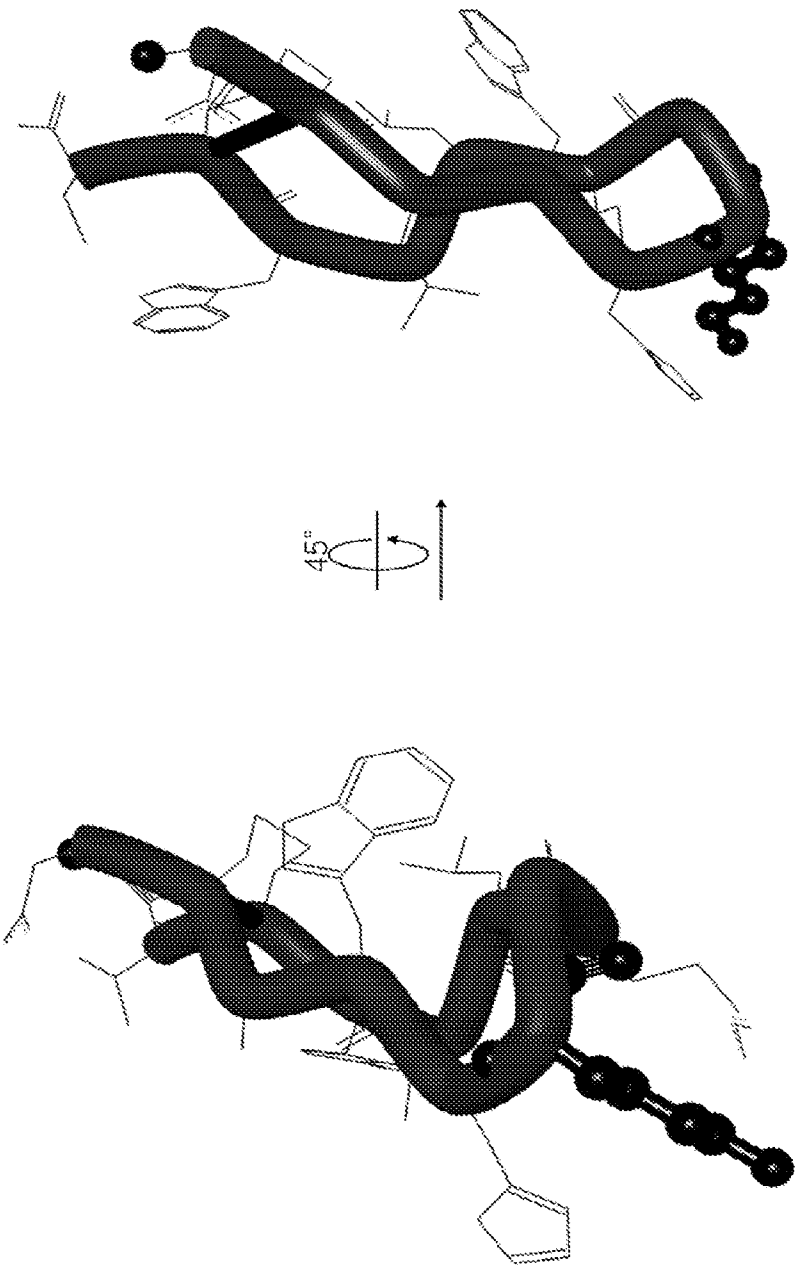


FIG. 54

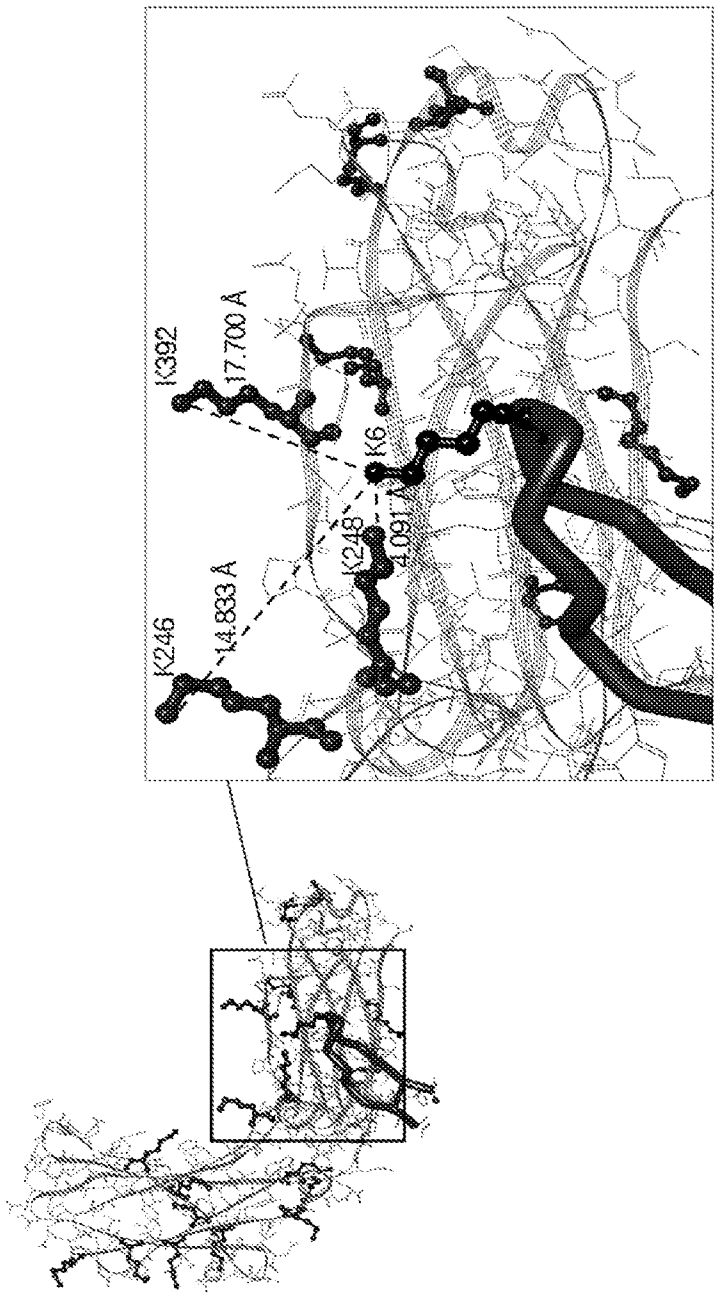


FIG. 55

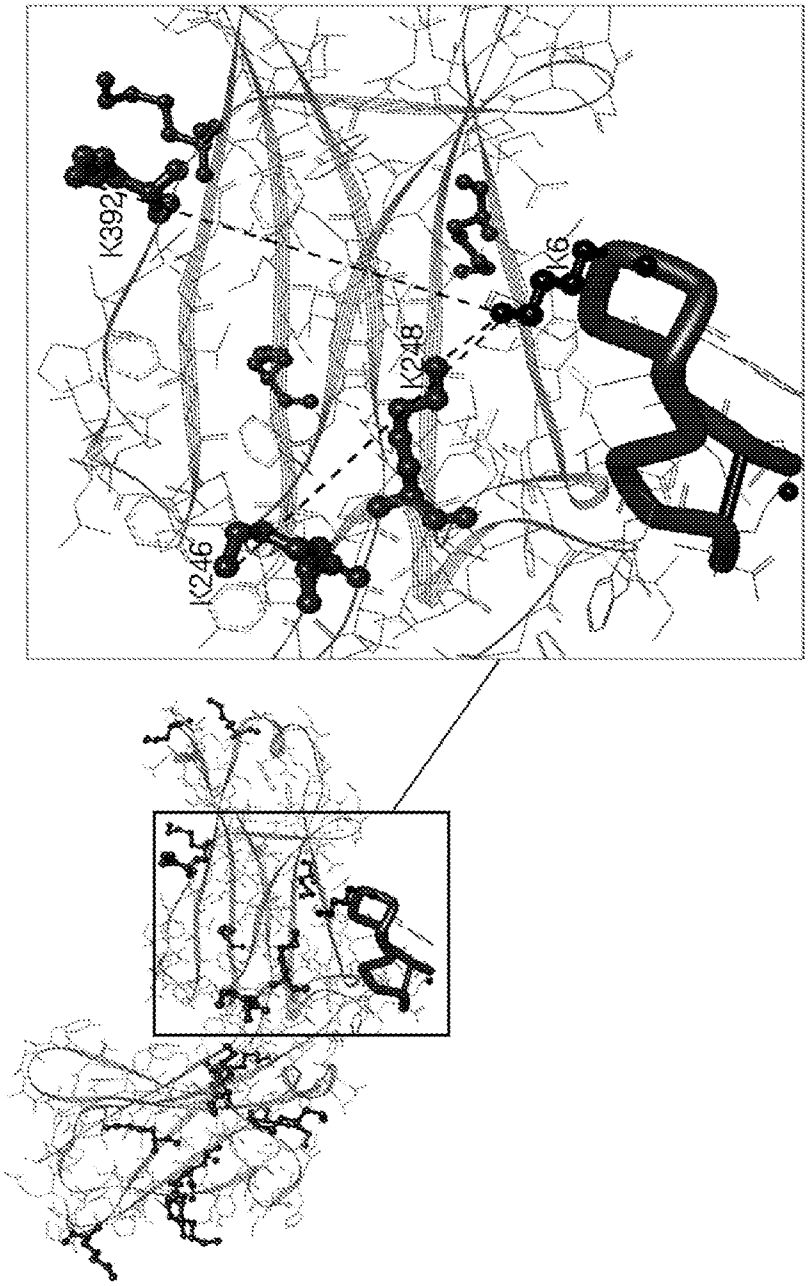


FIG. 56

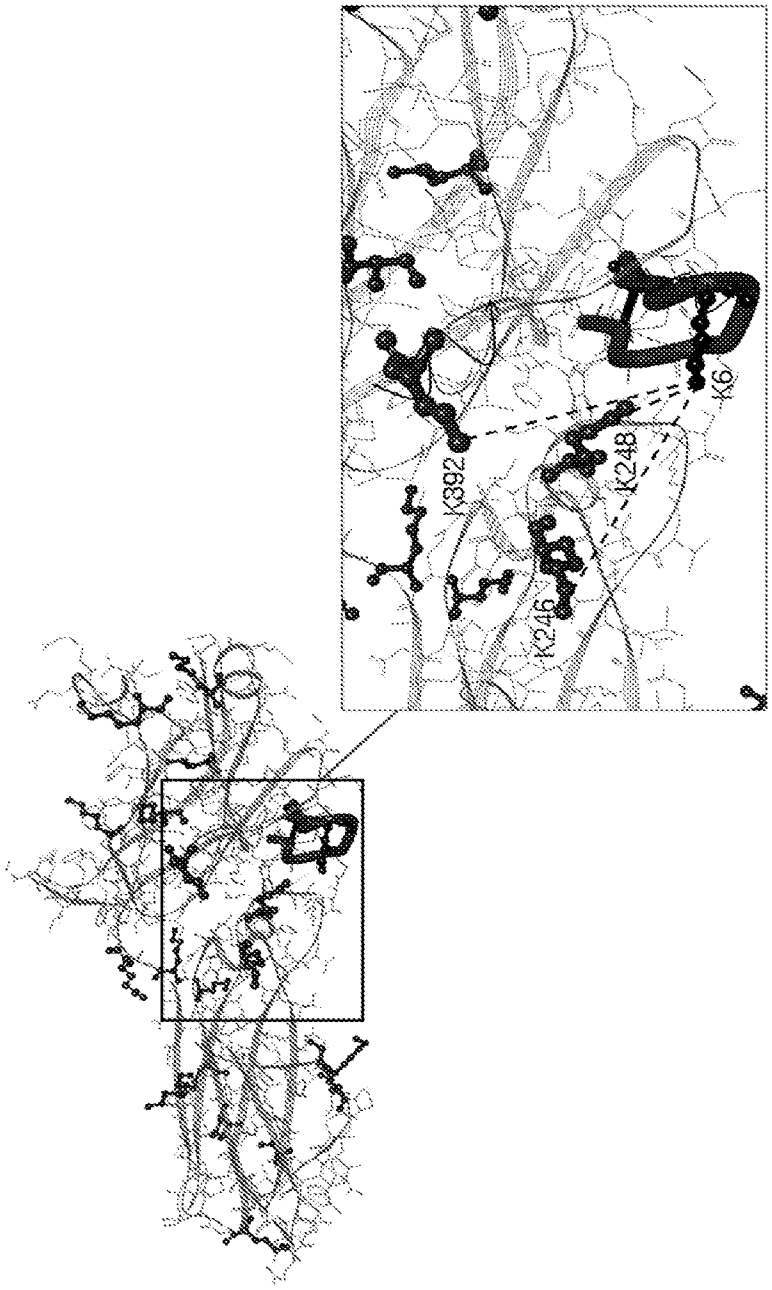


FIG. 57

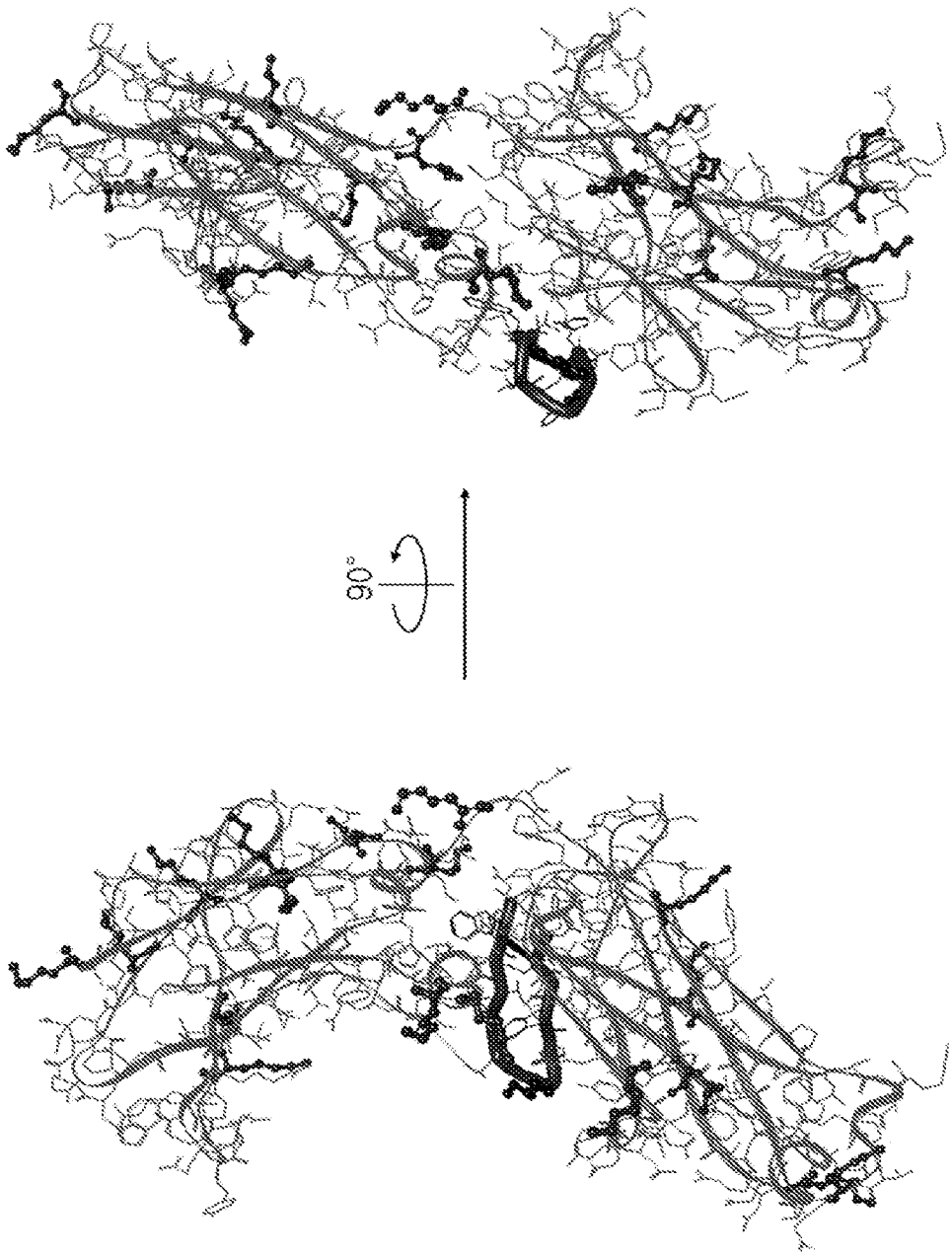


FIG. 58

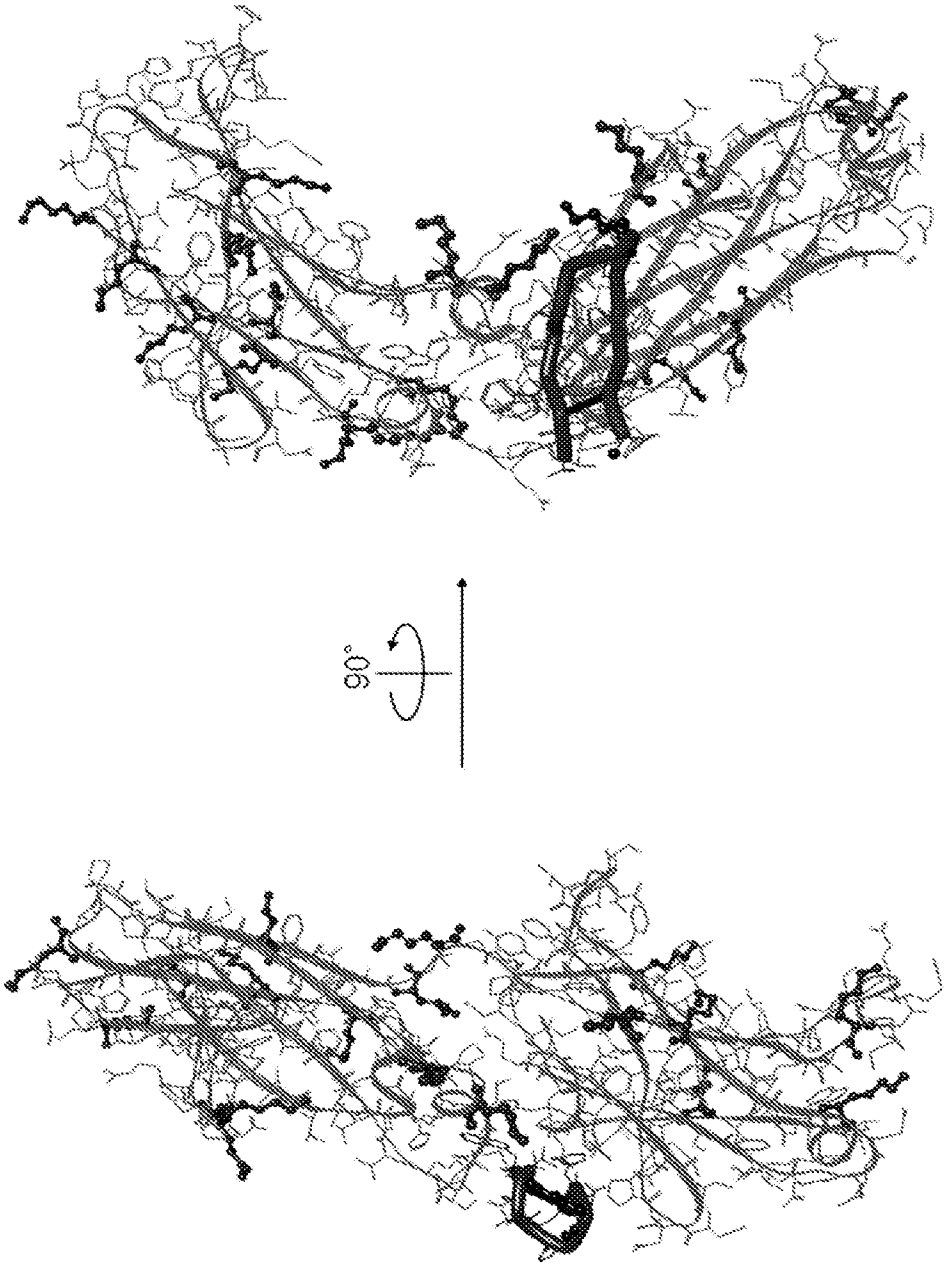


FIG. 59

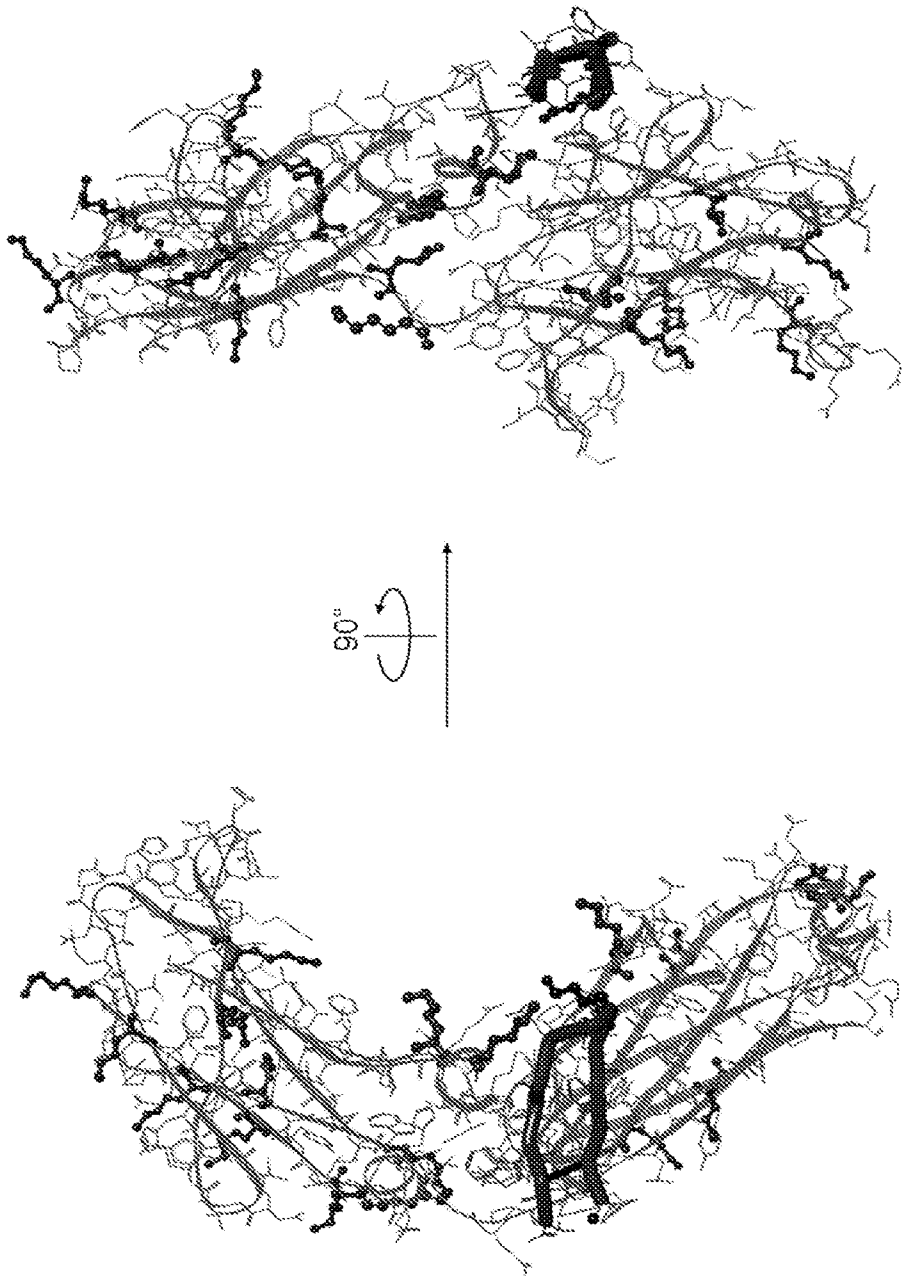


FIG. 60

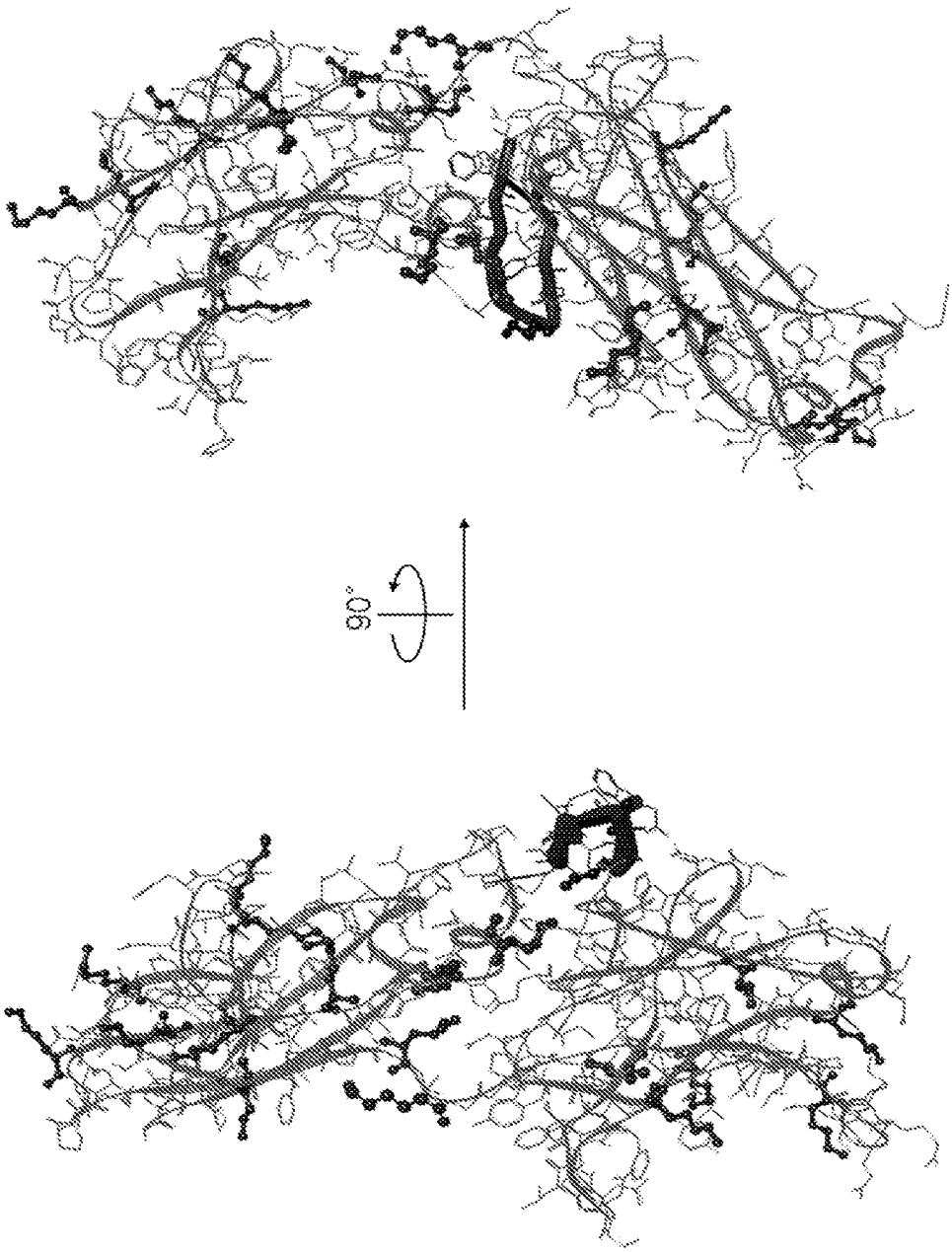


FIG. 61

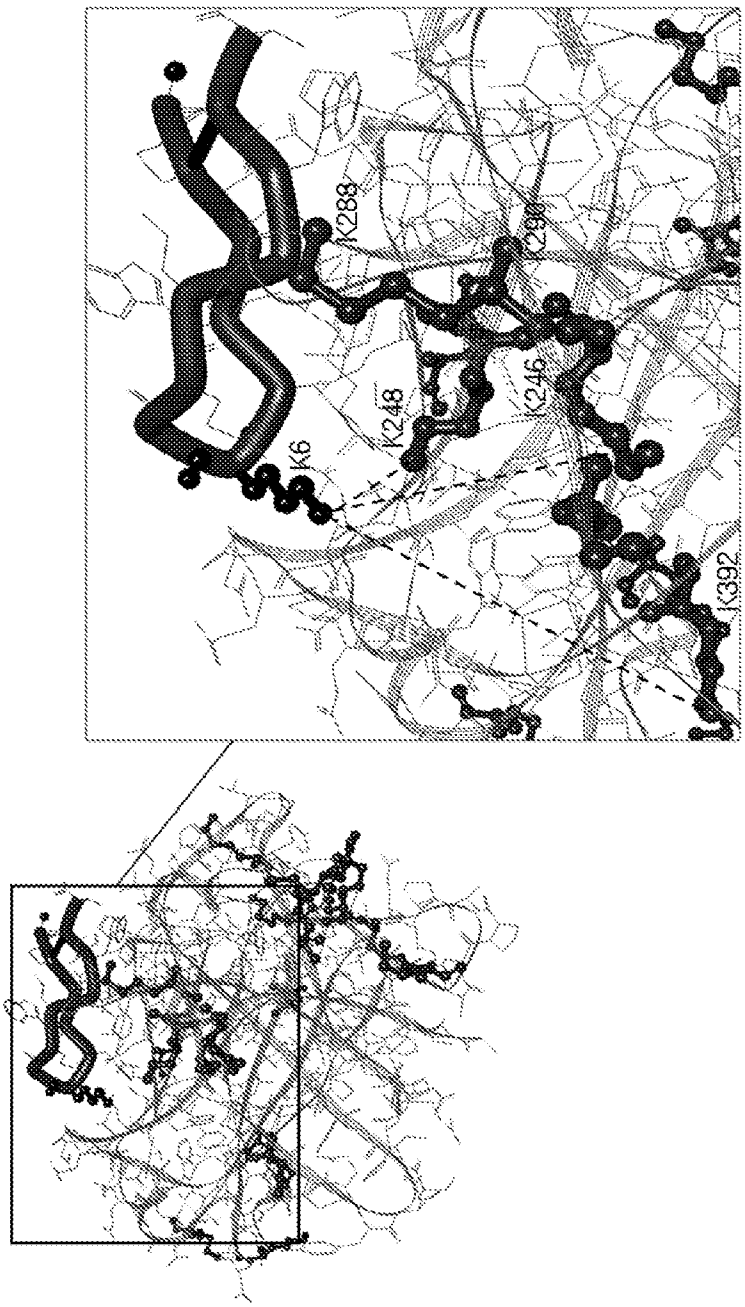


FIG. 62

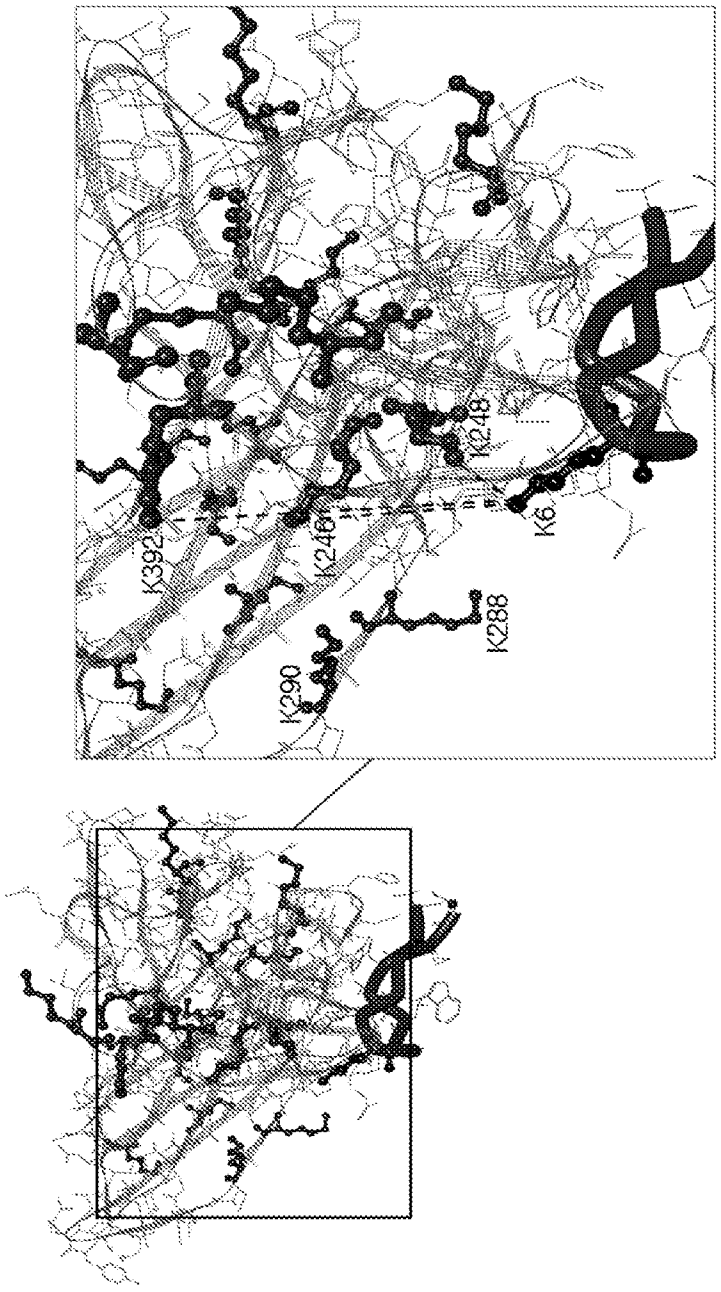


FIG. 63

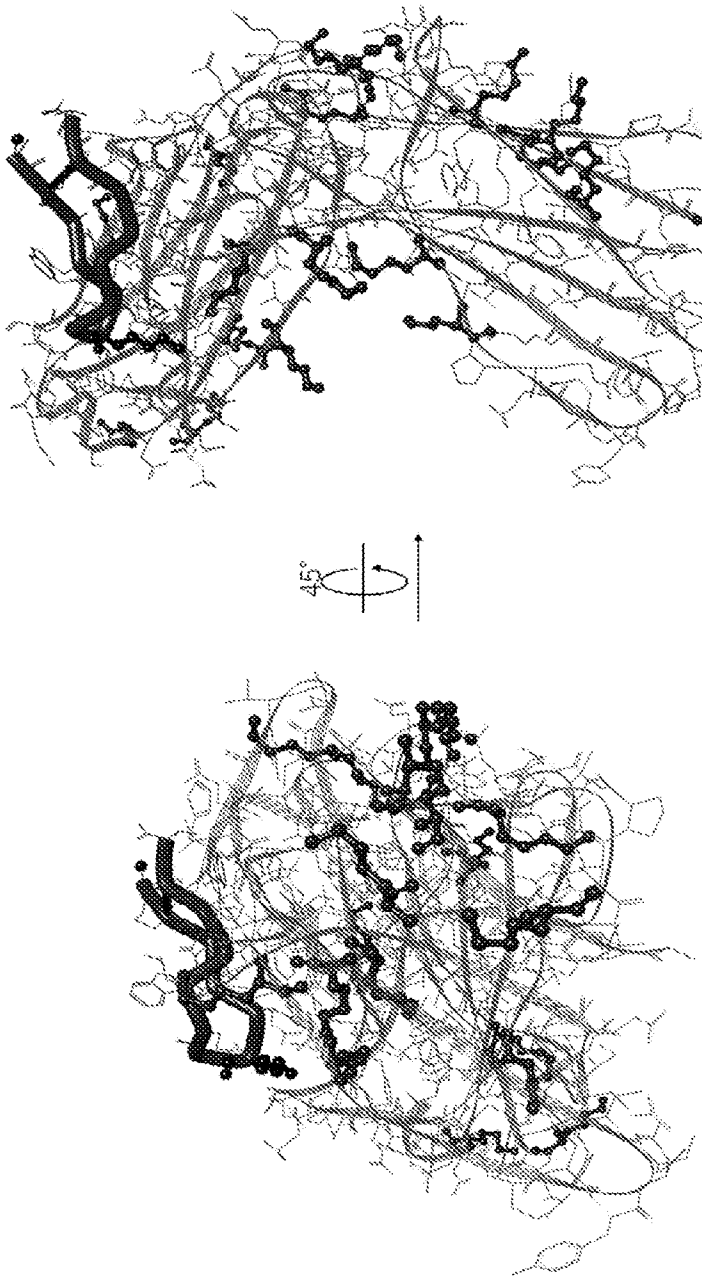


FIG. 64

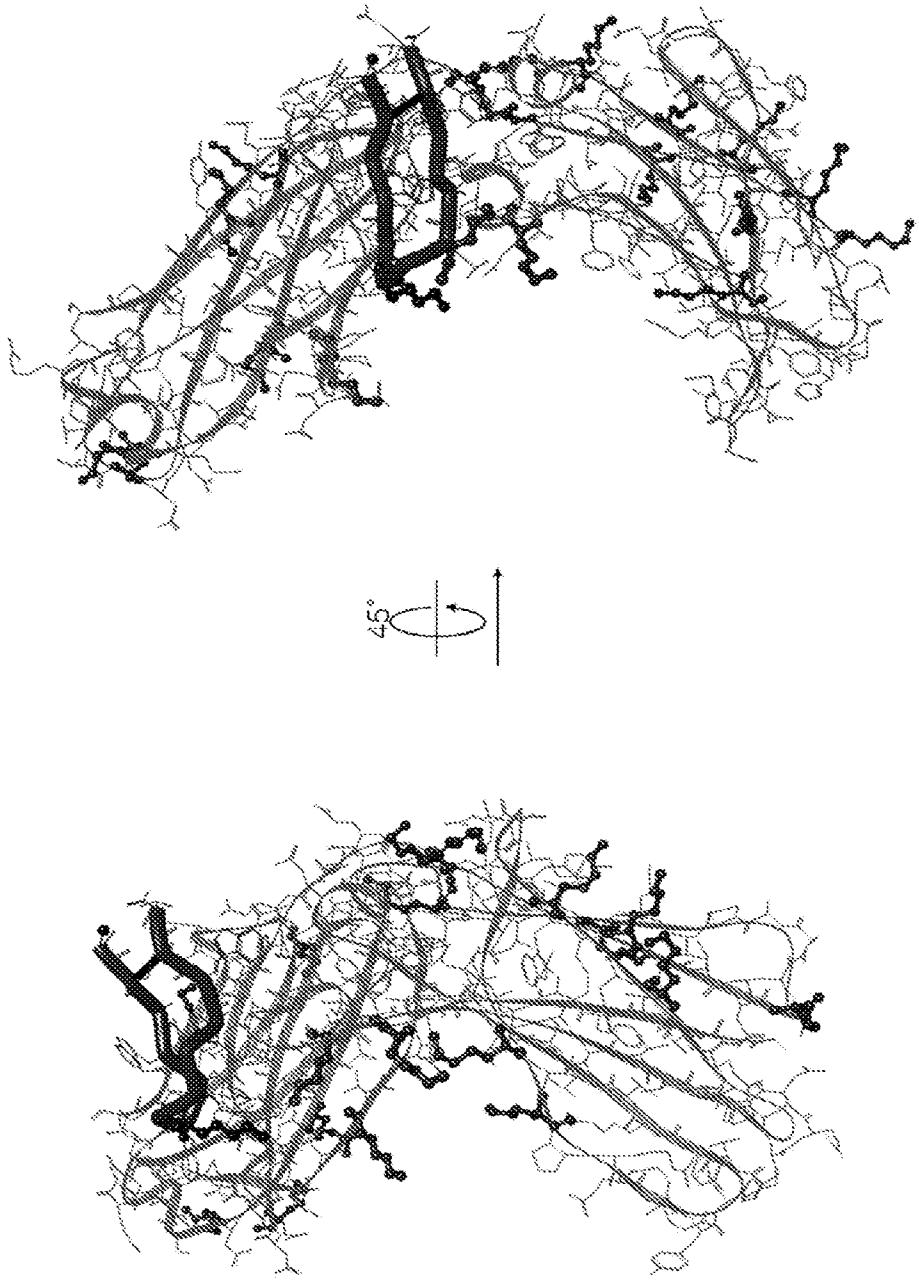


FIG. 65

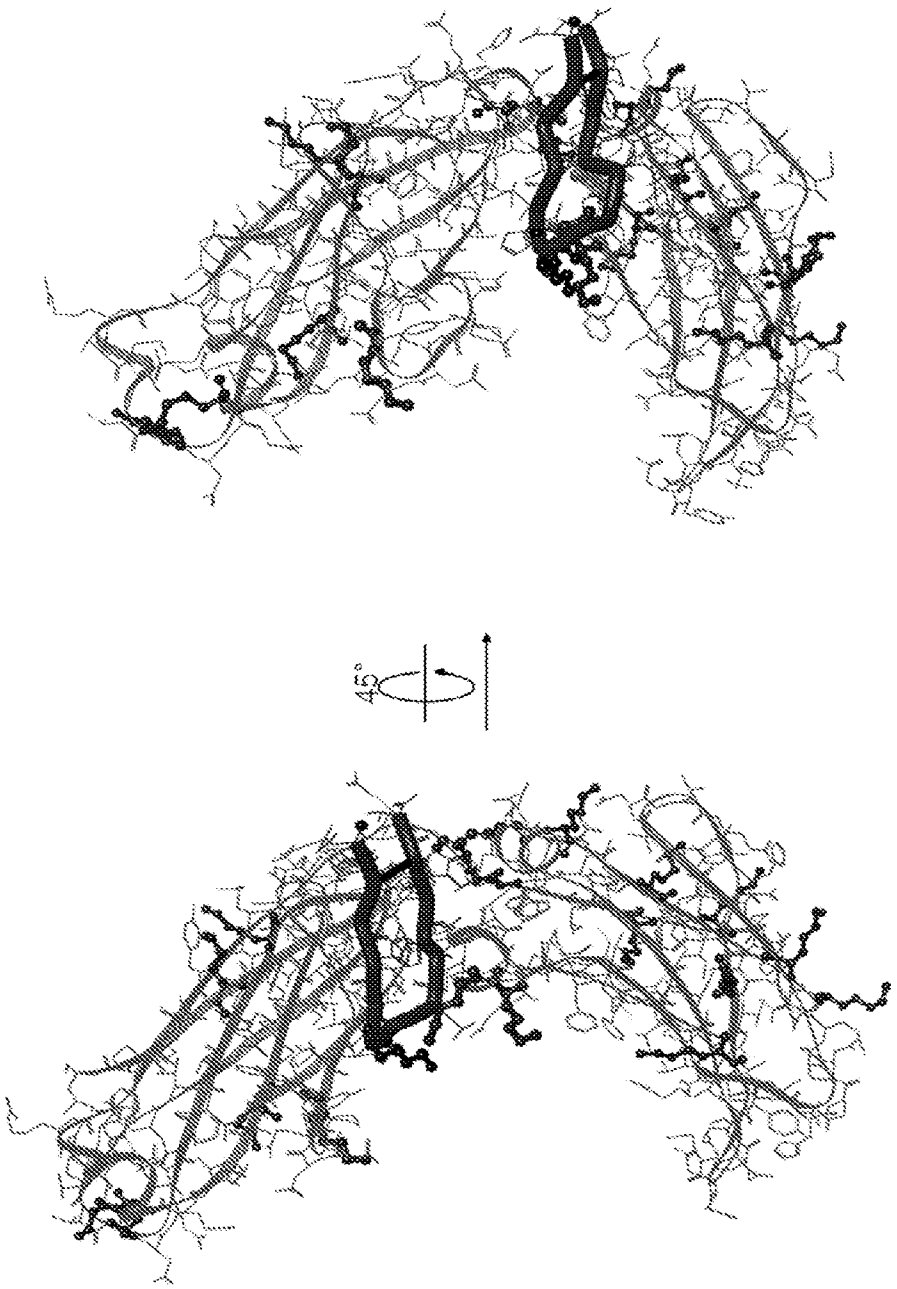


FIG. 66

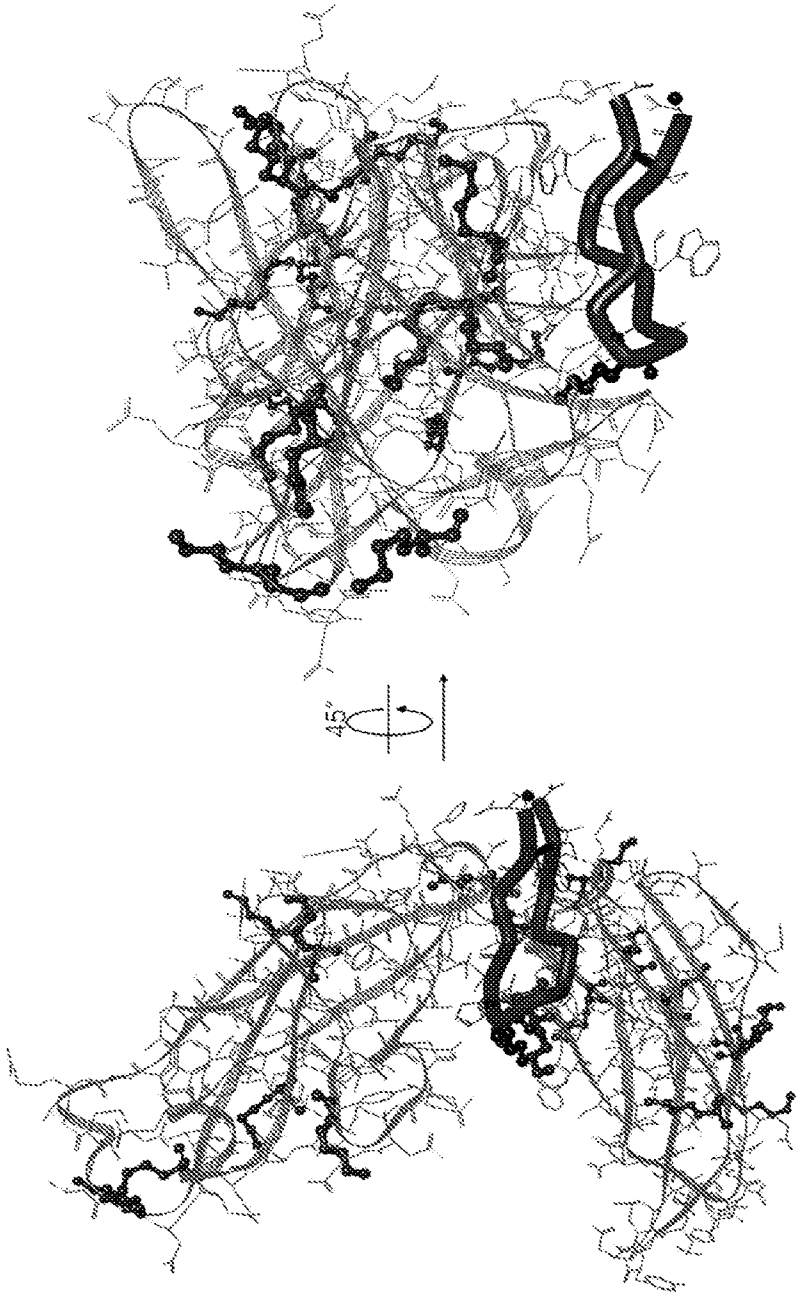


FIG. 67

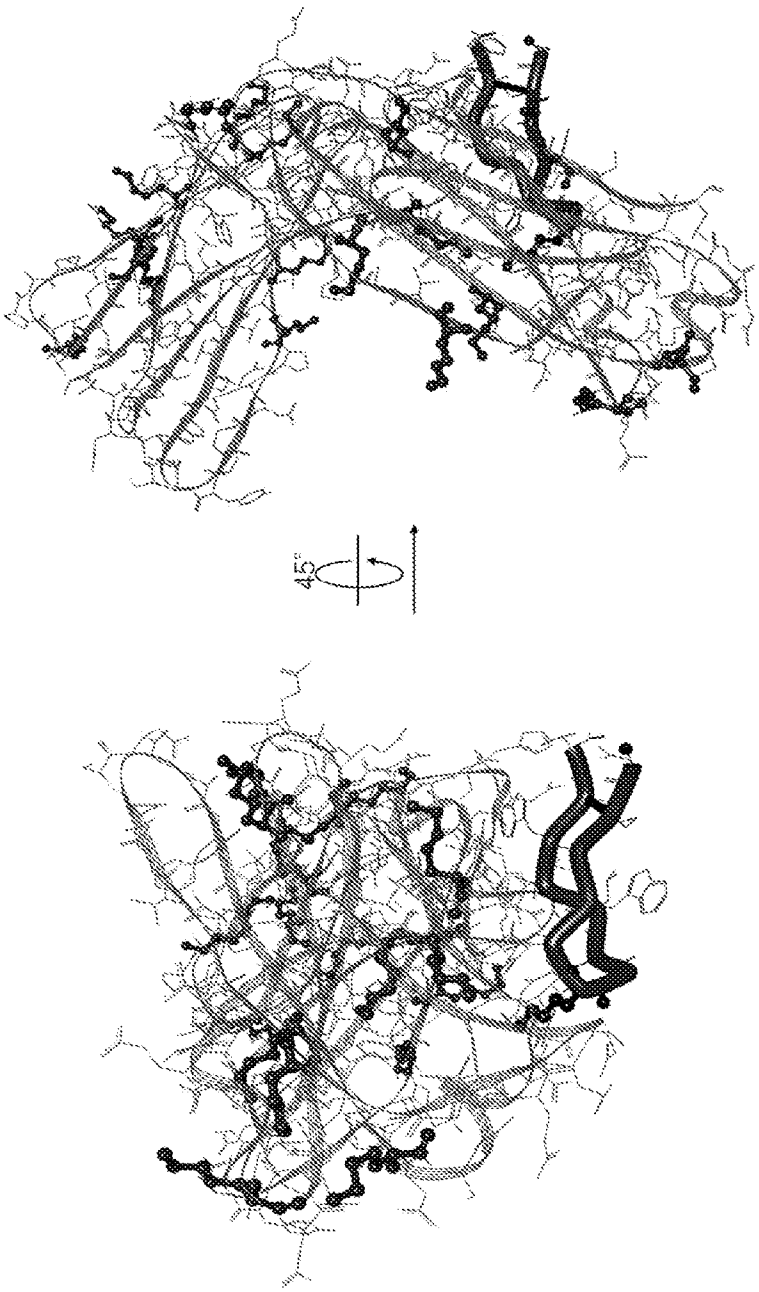


FIG. 68

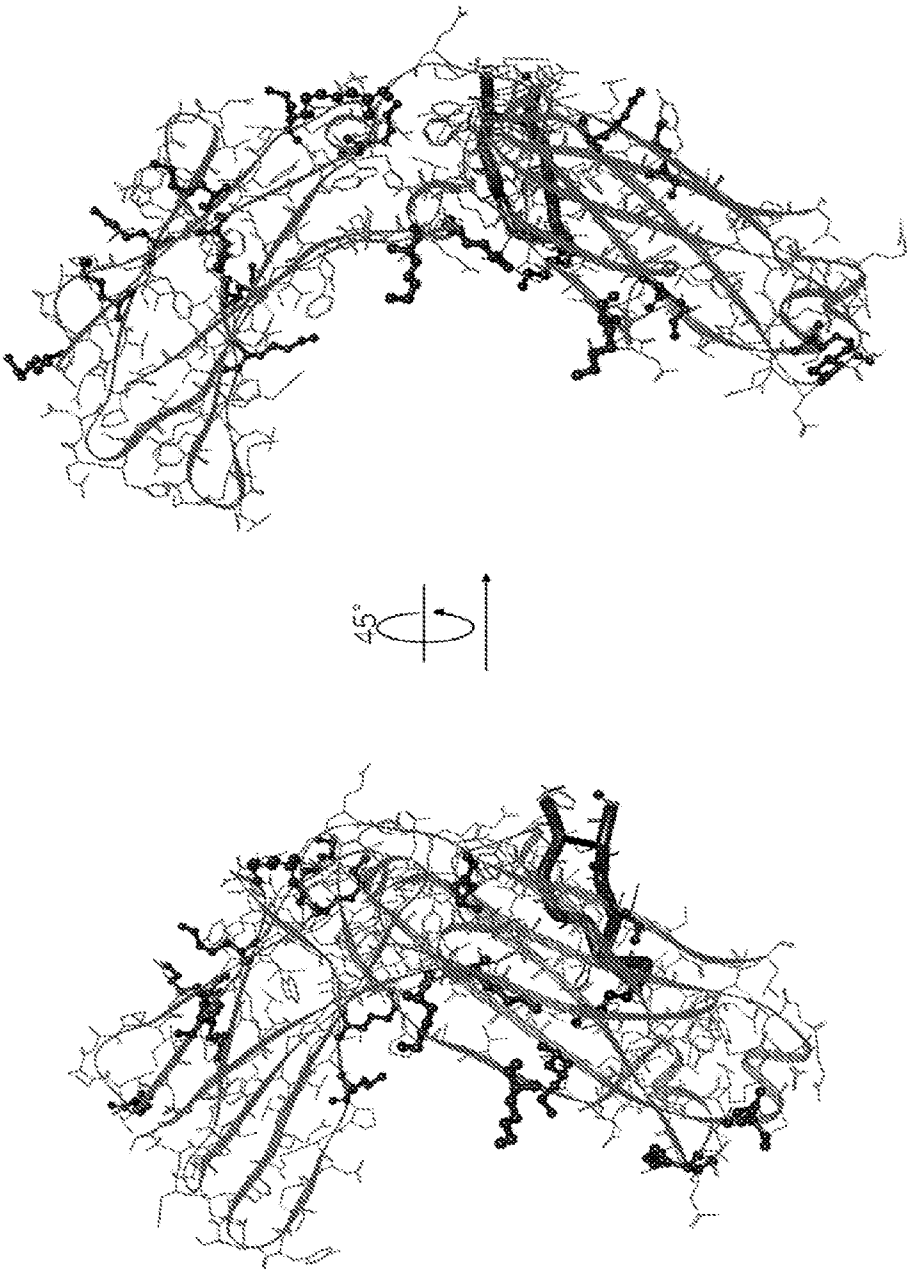


FIG. 69

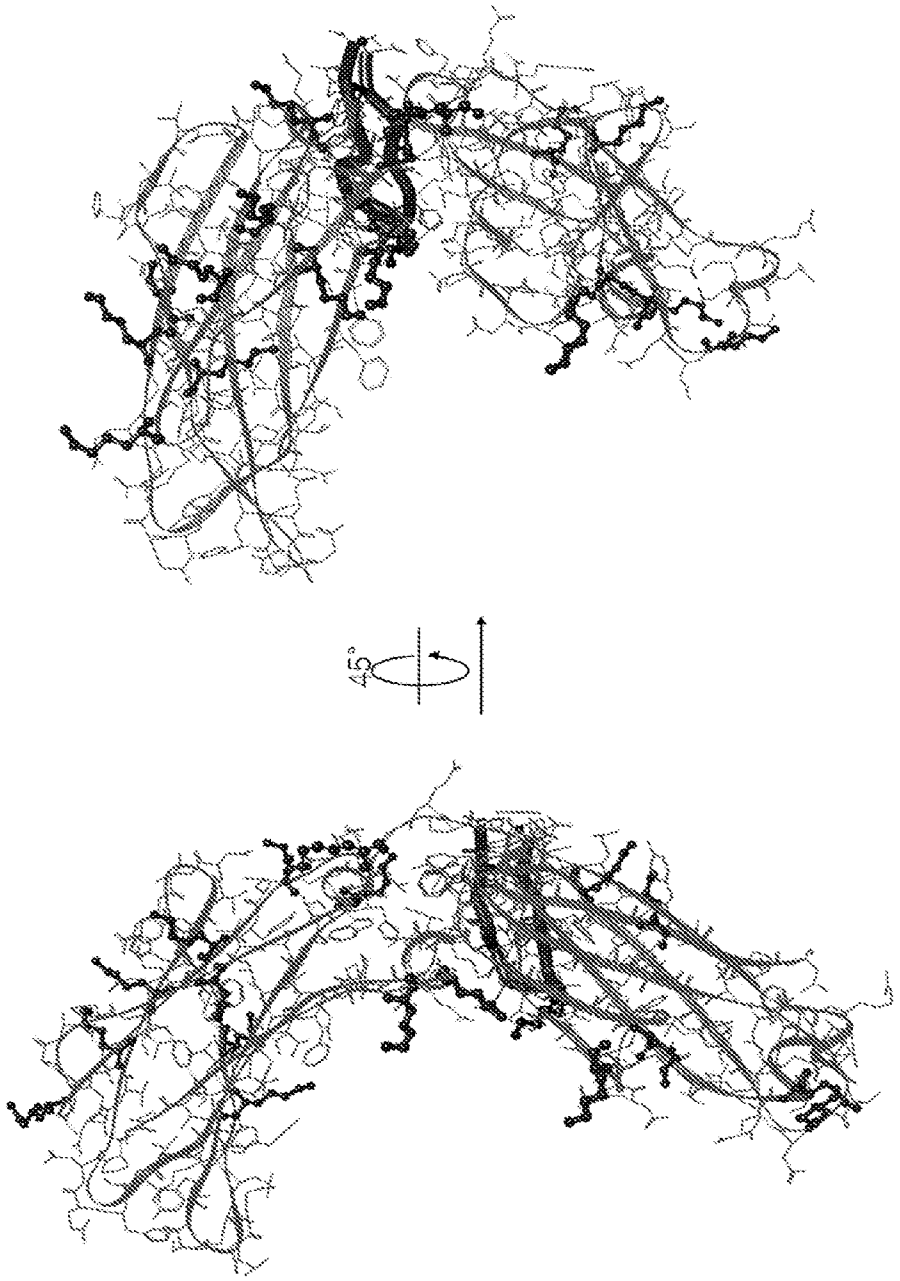


FIG. 70

