



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I558413 B

(45)公告日：中華民國 105 (2016) 年 11 月 21 日

(21)申請案號：098113922

(22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 04 月 27 日

(51)Int. Cl. : A61K39/395 (2006.01)

C07K16/18 (2006.01)

A61P37/00 (2006.01)

A61P27/02 (2006.01)

(30)優先權：2008/04/28 美國

61/048,431

2008/04/29 美國

61/048,689

(71)申請人：建南德克公司 (美國) GENENTECH, INC. (US)

美國

(72)發明人：黃 亞瑟 J HUANG, ARTHUR J. (US)；凱力 羅伯特 F KELLEY, ROBERT F.

(US)；羅門 亨利 LOWMAN, HENRY (US)；凡 魯克恩 迦配恩 曼諾 VAN

LOOKEREN CAMPAGNE, MENNO (NL)；維特 查理斯 M WINTER, CHARLES

M. (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

TW 200827373

TW 201211063

US 6407213B1

US 2002/0081293A1

審查人員：顏逸瑜

申請專利範圍項數：53 項 圖式數：13 共 183 頁

(54)名稱

人類化之抗因子 D 抗體及其用途

HUMANIZED ANTI-FACTOR D ANTIBODIES AND USES THEREOF

(57)摘要

本發明係關於抗因子 D 抗體，其核酸及胺基酸序列，含有此等抗體之細胞及載體，及其產生，及其用於製備用於治療與過度或不受控制之補體活化有關之疾病及病症的組合物及藥劑之用途。此等抗體可用於診斷、預防及治療疾病。

The invention relates to anti-Factor D antibodies, their nucleic acid and amino acid sequences, the cells and vectors that harbor these antibodies and their production and their use in the preparation of compositions and medicaments for treatment of diseases and disorders associated with excessive or uncontrolled complement activation. These antibodies are useful for diagnostics, prophylaxis and treatment of disease.

指定代表圖：

符號簡單說明：
(無元件符號說明)

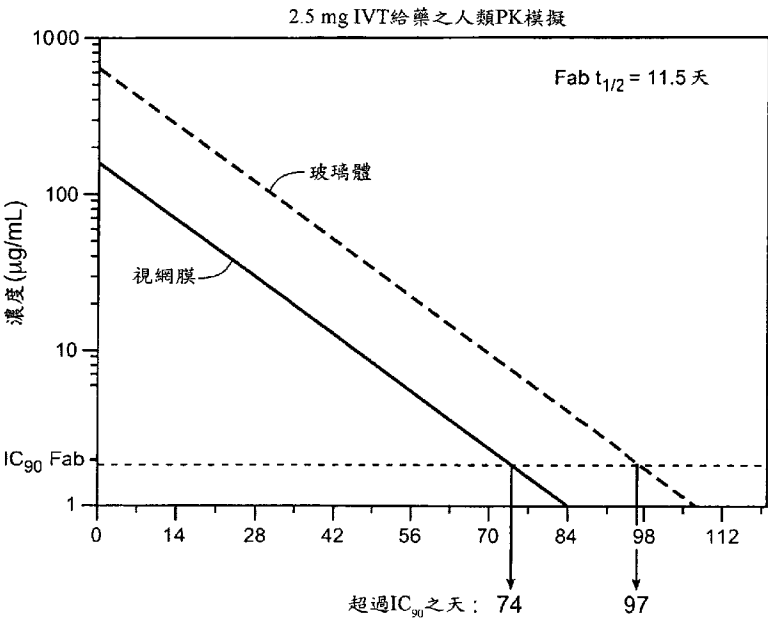


圖13

發明專利說明書

A61K³⁹/₃₉ 12005.0
C07K¹⁶/₁₈ 12005.0
A61P³¹/₆₀ 12006.0
A61P²⁷/₆₂ 12006.0

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 98 11 39 22

※ 申請日： 98. 4. 27 ※IPC 分類：~~C07K~~; ~~C12N~~; A61K; A61P

一、發明名稱：(中文/英文)

人類化之抗因子D抗體及其用途

HUMANIZED ANTI-FACTOR D ANTIBODIES AND USES
THEREOF

二、中文發明摘要：

本發明係關於抗因子D抗體，其核酸及胺基酸序列，含有此等抗體之細胞及載體，及其產生，及其用於製備用於治療與過度或不受控制之補體活化有關之疾病及病症的組合物及藥劑之用途。此等抗體可用於診斷、預防及治療疾病。

三、英文發明摘要：

The invention relates to anti-Factor D antibodies, their nucleic acid and amino acid sequences, the cells and vectors that harbor these antibodies and their production and their use in the preparation of compositions and medicaments for treatment of diseases and disorders associated with excessive or uncontrolled complement activation. These antibodies are useful for diagnostics, prophylaxis and treatment of disease.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (13) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

六、發明說明：

依據37 CFR §1.53(b)申請之本非臨時申請案主張2008年4月28日申請之美國臨時申請案第61/048,431號及2008年4月29日申請之美國臨時申請案第61/048,689號依據35 USC §119(e)之權利，該等臨時申請案之內容以全文引用的方式併入本文中。

【先前技術】

補體系統在免疫複合物之清除及對傳染性病原體、外來抗原、病毒感染之細胞及腫瘤細胞之免疫反應中起著重要作用。然而，補體亦涉及於病理性炎症及自體免疫疾病中。因此，抑制補體級聯之過度或不受控制之活化可為患有該等疾病及病狀之患者提供臨床益處。

補體系統包含兩個不同活化路徑，稱為經典途徑與替代途徑(V.M. Holers, *Clinical Immunology: Principles and Practice*, R.R. Rich編，Mosby Press; 1996, 363-391)。經典途徑為鈣/鎂依賴性級聯，其通常藉由抗原-抗體複合物之形成而活化。替代途徑為鎂依賴性級聯，其藉由某些易受影響之表面(例如，酵母及細菌之細胞壁多醣及某些生物聚合物物質)上C3之沈積及活化而活化。補體途徑之活化產生具生物活性之補體蛋白片段，例如C3a、C4a及C5a過敏毒素及C5b-9攻膜複合物(MAC)，該等具生物活性之片段介導涉及白細胞趨化性、巨噬細胞、嗜中性白血球、血小板、肥大細胞及內皮細胞之活化、血管通透性、細胞溶解作用及組織損傷之發炎活性。

因子D為一種為替代補體途徑之活化所必需的高度特異性絲胺酸蛋白酶。其使與C3b結合之因子B裂解，產生作為替代途徑C3/C5轉化酶之活性組份的C3b/Bb酶。因子D可為抑制之合適標靶，此係因為其在人類中之血漿濃度極低(1.8 $\mu\text{g/ml}$)，且已展示其為活化替代補體途徑之限制性酶(P.H. Lesavre及H.J. Müller-Eberhard. *J. Exp. Med.*, 1978; 148: 1498-1510; J.E. Volanakis等人, *New Eng. J. Med.*, 1985; 312: 395-401)。

已證明補體活化之下調有效治療動物模型及離體研究中之若干疾病指徵，例如全身性紅斑狼瘡及絲球體腎炎(Y. Wang等人, *Proc. Natl. Acad. Sci.*; 1996, 93: 8563-8568)、類風濕性關節炎(Y. Wang等人, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1995; 92: 8955-8959)、心肺繞道手術及血液透析(C.S. Rinder, *J. Clin. Invest.*, 1995; 96: 1564-1572)、器官移植中之過急性排斥反應(T.J. Kroshus等人, *Transplantation*, 1995; 60: 1194-1202)、心肌梗塞(J. W. Homeister等人, *J. Immunol.*, 1993; 150: 1055-1064; H.F. Weisman等人, *Science*, 1990; 249: 146-151)、再灌注損傷(E.A. Amsterdam等人, *Am. J. Physiol.*, 1995; 268: H448-H457)及成人呼吸窘迫症候群(R. Rabinovici等人, *J. Immunol.*, 1992; 149: 1744-1750)。此外，其他發炎病狀及自體免疫/免疫複合體性疾病亦與補體活化密切相關(V.M. Holers, 同上文, B.P. Morgan. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1994; 24: 219-228)，包括熱損傷、重度哮喘、過敏性休克、腸炎症、蕁

麻疹、血管性水腫、血管炎、多發性硬化症、重症肌無力、膜增生性絲球體腎炎及休格連氏症候群(Sjögren's syndrome)。

對補體介導之病症領域中的抗體治療劑存在需要，且本發明之人類化抗因子D抗體及其抗體變異體及其片段(例如，抗原結合片段)提供可用於滿足此需要之高親和力抗體。

【發明內容】

在一態樣中，本發明大體而言係關於能夠抑制與因子D有關之生物活性的抗體。

在一態樣中，本發明係關於具有多種治療所需特徵之人類化抗因子D抗體。本發明包括此等人類化抗因子D抗體之HVR之胺基酸序列及其相應核酸序列。本發明包括該等人類化抗因子D抗體之重鏈及輕鏈可變域之胺基酸序列及其相應核酸序列。本發明包括該等人類化抗因子D抗體之重鏈及輕鏈之胺基酸序列及其相應核酸序列。

在一態樣中，在本發明之範疇內的特異性抗體包括(但不限於)包含人類化抗因子D Fab純系#238、238-1、238-2、238-3、238-4、238-5、238-6、238-7、238-8、238-9、238-10或238-11之HVR的人類化抗因子D抗體。在一實施例中，該等人類化抗因子D抗體包含人類化抗因子D Fab純系#238、238-1、238-2、238-3、238-4、238-5、238-6、238-7、238-8、238-9、238-10或238-11之重鏈及/或輕鏈之可變域。在一實施例中，該等人類化抗因子D抗體包含人

類化抗因子D Fab純系#238、238-1、238-2、238-3、238-4、238-5、238-6、238-7、238-8、238-9、238-10或238-11之重鏈及/或輕鏈。在一實施例中，本發明包括人類化抗因子D Fab純系#238、238-1、238-2、238-3、238-4、238-5、238-6、238-7、238-8、238-9、238-10或238-11。在一實施例中，本發明包括人類化抗因子D Fab純系#238、238-1、238-2、238-3、238-4、238-5、238-6、238-7、238-8、238-9、238-10或238-11之全長抗體之抗體片段(例如，抗原結合片段)。在一實施例中，本發明包括包含人類化抗因子D Fab純系#238、238-1、238-2、238-3、238-4、238-5、238-6、238-7、238-8、238-9、238-10或238-11之重鏈及/或輕鏈之抗原結合序列的全長抗體或其抗原結合片段。在一實施例中，該等抗原結合序列包含至少一個、兩個或三個重鏈HVR。在一實施例中，該等抗原結合序列包含至少一個、兩個或三個輕鏈HVR。在一實施例中，該等抗原結合序列包含重鏈可變域之至少一部分或全部。在一實施例中，該等抗原結合序列包含輕鏈可變域之至少一部分或全部。

在一態樣中，本發明提供包含人類化抗因子D Fab純系#111之序列之至少一種修飾的人類化抗因子D Fab純系#111之抗體片段(例如，抗原結合片段)或全長抗體，其中該等全長抗體或該等抗原結合片段包含人類化抗因子D Fab純系#111之重鏈及/或輕鏈之抗原結合序列。在一實施例中，包含人類化抗因子D Fab純系#111之序列之至少一

種修飾，包含人類化抗因子D Fab純系#111之重鏈及/或輕鏈之抗原結合序列的人類化抗因子D Fab純系#111之抗體片段(例如，抗原結合片段)或全長抗體進一步結合基本上與Fab純系#111相同之抗原決定基。在一實施例中，該等抗原結合序列包含至少一個、兩個或三個重鏈HVR。在一實施例中，該等抗原結合序列包含至少一個、兩個或三個輕鏈HVR。在一實施例中，該等抗原結合序列包含重鏈可變域之至少一部分或全部。在一實施例中，該等抗原結合序列包含輕鏈可變域之至少一部分或全部。在一實施例中，該等抗體片段或該等全長抗體中之該修飾在重鏈中。在一實施例中，該等抗體片段或該等全長抗體中之該修飾在輕鏈中。在一實施例中，該等抗體片段或該等全長抗體中之該修飾在重鏈可變域中。在一實施例中，該等抗體片段或該等全長抗體中之該修飾在輕鏈可變域中。在一實施例中，該等抗體片段或該等全長抗體中之該修飾在至少一個、兩個或三個重鏈HVR中。在一實施例中，該等抗體片段或該等全長抗體中之該修飾在至少一個、兩個或三個輕鏈HVR中。

在一態樣中，本發明係關於以至少約 10^{-9} 至 10^{-12} M之結合親和力結合因子D的本發明之抗體或其片段(例如，抗原結合片段)。

在一態樣中，本發明係關於本發明之抗體或其片段(例如，抗原結合片段)，其中該等抗體之Fab片段以約0.05:1(0.05)至約10:1(10)或約0.09:1(0.09)至約8:1(8)或約

0.1:1(0.1) 至 約 6:1(6) 或 約 0.15:1(0.15) 至 約 5:1(5) 或 約 0.19:1(0.19) 至 約 4:1(4) 或 約 0.2:1(0.2) 至 約 3:1(3) 或 約 0.3:1(0.3) 至 約 2:1(2) 或 約 0.4:1(0.4) 至 約 1:1(1) 或 約 0.5:1(0.5) 至 約 1:2(0.5) 或 約 0.6:1(0.6) 至 約 1:3(0.33) 或 約 0.7:1(0.7) 至 約 1:4(0.25) 或 約 0.8:1(0.8) 至 約 1:5(0.2) 或 約 0.9:1(0.9) 至 約 1:6(0.17) 之 Fab 片段與因子 D 的莫耳比抑制因子 D 之生物功能。

在一態樣中，本發明之抗體包括人類、人類化或嵌合抗體。

在另一態樣中，本發明包括人類化抗因子 D 抗體之抗體片段(例如，抗原結合片段)。本發明之抗體片段可為(例如) Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv、(scFv)₂、dAb、互補判定區(CDR)片段、線性抗體、單鏈抗體分子、微型抗體、雙功能抗體或由抗體片段形成之多特異性抗體。

在本發明之其他態樣中，本發明包括包含本發明之抗體或其片段(例如，抗原結合片段)之組合物。在另一實施例中，本發明提供編碼本發明之抗體或其片段(例如，抗原結合片段)之至少一部分的細胞株及載體。在一態樣中，本發明包括本發明之抗體或其片段(例如，抗原結合片段)及組合物之製造方法、產生方法及使用方法。在一實施例中，本發明之抗體或其片段(例如，抗原結合片段)之製造方法，其中該方法包含：(a)在適於表現編碼本發明之抗體或其片段(例如，抗原結合片段)之聚核苷酸的條件下培養包含載體，進一步包含編碼該抗體或其片段(例如，抗原

結合片段)之聚核苷酸的宿主細胞，例如真核細胞或CHO細胞；及(b)分離該抗體或其片段(例如，抗原結合片段)。

在另一態樣中，本發明係關於包含如本文所述之本發明之抗體或其片段(例如，抗原結合片段)以及載劑的組合物。視情況，載劑為醫藥學上可接受之載劑。

本發明之另一態樣為此等人類化抗體或其抗體片段(例如，抗原結合片段)用於製備用於預防及/或治療與過度或不受控制之補體活化有關之病症的藥劑或組合物之用途。其包括：在心肺繞道手術期間之補體活化；歸因於急性心肌梗塞、動脈瘤、中風、出血性休克、壓傷、多器官衰竭、血量減少性休克、腸局部缺血或引起局部缺血之其他事件後的局部缺血-再灌注之補體活化。亦已展示補體活化與諸如重度燒傷、內毒素血症、敗血性休克、成人呼吸窘迫症候群、血液透析、過敏性休克、重度哮喘、血管性水腫、克羅恩氏病(Crohn's disease)、鐮狀細胞性貧血、鏈球菌感染後絲球體腎炎及胰腺炎之發炎病狀相關。病症可為不良藥物反應、藥物過敏、IL-2誘發之血管滲漏症候群或放射攝影顯影劑過敏引起。其亦包括自體免疫疾病，諸如全身性紅斑狼瘡、重症肌無力、類風濕性關節炎、阿茲海默氏症(Alzheimer's disease)及多發性硬化症。在另一實施例中，補體活化亦與移植排斥反應相關。在另一實施例中，補體活化亦與眼睛疾病(病理涉及補體(包括補體之經典及替代途徑)之所有眼睛病狀及疾病)相關，該等眼睛疾病諸如(但不限於)黃斑變性疾病(諸如，所有階段之年齡相

關之黃斑變性(AMD)，包括乾性及濕性(非滲出性及滲出性)形式)、糖尿病性視網膜病及其他局部缺血相關之視網膜病、脈絡膜新生血管(CNV)、葡萄膜炎、糖尿病性黃斑水腫、病理性近視、逢希伯-林道疾病(von Hippel-Lindau disease)、眼睛之組織漿菌病、視網膜中央靜脈阻塞(CRVO)、角膜新生血管及視網膜新生血管。在一實例中，與補體相關之眼部病狀包括年齡相關之黃斑變性(AMD)(包括非滲出性(例如，中期乾性AMD或地圖狀萎縮(geographic atrophy, GA))及滲出性(例如，濕性AMD(脈絡膜新生血管(CNV)))AMD)、糖尿病性視網膜病(DR)、眼內炎及葡萄膜炎。在另一實例中，非滲出性AMD可包括存在硬脈絡膜疣、軟脈絡膜疣、地圖狀萎縮及/或色素凝集。在另一實例中，與補體相關之眼部病狀包括年齡相關之黃斑變性(AMD)，包括早期AMD(例如，包括多個小脈絡膜疣至一或多個非廣泛性中等大小之脈絡膜疣)、中期AMD(例如，包括廣泛中等脈絡膜疣至一或多個大脈絡膜疣)及晚期AMD(例如，包括地圖狀萎縮或晚期濕性AMD(CNV))。在另一實例中，中期乾性AMD可包括大的融合性脈絡膜疣。在另一實例中，地圖狀萎縮可包括受光體及/或視網膜色素上皮(RPE)缺失。在另一實例中，地圖狀萎縮之區域可為小或大的，且/或可在黃斑區域中或周圍視網膜中。在一實例中，與補體相關之眼部病狀為中期乾性AMD。在一實例中，與補體相關之眼部病狀為地圖狀萎縮。在一實例中，與補體相關之眼部病狀為濕性AMD

(脈絡膜新生血管(CNV))。

在另一態樣中，本發明提供包含本發明之抗體或其片段(例如，抗原結合片段)之套組。在一實施例中，本發明提供包含本發明之抗體或其片段(例如，抗原結合片段)及使用說明書之套組。在一實施例中，本發明係關於包含本發明之抗體或其片段(例如，抗原結合片段)及關於投與該抗體以治療與補體相關之病症之說明書的套組。在一實施例中，本發明提供一種套組，該套組包含：包含有含一或多種本發明之抗體或其抗體片段(例如，抗原結合片段)之組合物的第一容器；及包含緩衝劑之第二容器。在一實施例中，該緩衝劑為醫藥學上可接受之緩衝劑。在一實施例中，包含本發明之抗體或其片段(例如，抗原結合片段)之組合物進一步包含載劑，在一些實施例中該載劑為醫藥學上可接受之載劑。在一實施例中，套組進一步包含關於向受檢者投與組合物(例如，抗體或其抗體片段(例如，抗原結合片段))之說明書。在一實施例中，套組進一步包含該套組之使用說明書。

在一態樣中，本發明係關於一種含有可用於治療、預防及/或診斷與補體相關之病症之物質的製造物件。在一實施例中，本發明係關於一種製造物件，其包含：(a)容器；(b)該容器上之標籤；及(c)該容器所含之包含本發明之抗體或其變異體或其片段(例如，抗原結合片段)的組合物，其中該容器上之標籤指示該組合物可用於治療、預防及/或診斷與補體相關之病症。

在一態樣中，本發明提供本發明之抗因子D抗體或其抗體片段(例如，抗原結合片段)、本發明之核酸、本發明之表現載體或本發明之宿主細胞用以製備用於治療性及/或預防性治療諸如與補體相關之眼部病狀之疾病的藥劑之用途。在一實施例中，與補體相關之眼部病狀係選自年齡相關之黃斑變性(AMD)(包括非滲出性(例如，中期乾性AMD或地圖狀萎縮(GA))及滲出性(例如，濕性AMD(脈絡膜新生血管(CNV)))AMD)、糖尿病性視網膜病(DR)、眼內炎及葡萄膜炎。在一實例中，與補體相關之眼部病狀為中間乾性AMD。在一實例中，與補體相關之眼部病狀為地圖狀萎縮。在一實例中，與補體相關之眼部病狀為濕性AMD(脈絡膜新生血管(CNV))。

在一態樣中，本發明提供本發明之製造物件用以製備用於治療性及/或預防性治療諸如與補體相關之眼部病狀之疾病的藥劑之用途。在一實施例中，與補體相關之眼部病狀係選自年齡相關之黃斑變性(AMD)(包括非滲出性(例如，中期乾性AMD或地圖狀萎縮(GA))及滲出性(例如，濕性AMD(脈絡膜新生血管(CNV)))AMD)、糖尿病性視網膜病(DR)、眼內炎及葡萄膜炎。在一實例中，與補體相關之眼部病狀為中期乾性AMD。在一實例中，與補體相關之眼部病狀為地圖狀萎縮。在一實例中，與補體相關之眼部病狀為濕性AMD(脈絡膜新生血管(CNV))。

在一態樣中，本發明提供本發明之套組用以製備用於治療性及/或預防性治療諸如與補體相關之眼部病狀之疾病

的藥劑之用途。在一實施例中，與補體相關之眼部病狀係選自年齡相關之黃斑變性(AMD)(包括非滲出性(例如，中期乾性AMD或地圖狀萎縮(GA))及滲出性(例如，濕性AMD(脈絡膜新生血管(CNV)))AMD)、糖尿病性視網膜病(DR)、眼內炎及葡萄膜炎。在一實例中，與補體相關之眼部病狀為中期乾性AMD。在一實例中，與補體相關之眼部病狀為地圖狀萎縮。在一實例中，與補體相關之眼部病狀為濕性AMD(脈絡膜新生血管(CNV))。

【實施方式】

I. 定義

本申請案通篇所用之術語應以一般熟習此項技術者之普通及典型含義來解釋。然而，申請者期望給以下術語以如下定義之特定定義。

關於抗體鏈多肽序列之短語「實質上一致」可理解為展現對參考多肽序列至少70%或80%或90%或95%序列一致性的抗體鏈。關於核酸序列之此術語可理解為展現對參考核酸序列至少約85%或90%或95%或97%序列一致性之核苷酸序列。

術語「一致性」或「同源性」應理解為意謂在將序列比對且必要時引入空位以實現整條序列之最大一致性百分比後且不將任何保守取代視為序列一致性之一部分，候選序列中與與其比較之相應序列之殘基一致的胺基酸殘基百分比。N末端或C末端之延長與插入均不應理解為降低一致性或同源性。此項技術中熟知用於比對之方法及電腦程

式。序列一致性可使用序列分析軟體來量測。

術語「抗體」以最廣泛之意義使用且特別涵蓋單株抗體(包括全長單株抗體)、多株抗體及多特異性抗體(例如, 雙特異性抗體)。抗體(Ab)及免疫球蛋白(Ig)為具有相同結構特徵之醣蛋白。雖然抗體展現對特定標靶之結合特異性, 但免疫球蛋白包括抗體與缺乏標靶特異性之其他抗體樣分子兩者。天然抗體及免疫球蛋白通常為由兩個相同輕(L)鏈及兩個相同重(H)鏈組成之約150,000道爾頓(dalton)之異四聚醣蛋白。各重鏈在一末端具有可變域(V_H), 其後為大量恆定域。各輕鏈在一末端具有可變域(V_L)且在其另一末端具有恆定域。

「經分離」抗體為已經鑑別且與其天然環境之組份分離及/或自其天然環境之組份中回收的抗體。其天然環境之污染組份為將干擾抗體之診斷或治療用途之物質, 且可包括酶、激素及其他蛋白質或非蛋白質溶解物。在一實例中, 抗體將純化至(1)如藉由勞立(Lowry)方法所測定95重量%以上之抗體, 且最佳在99重量%以上; (2)藉由使用旋杯式序列分析儀足以獲得N末端或內部胺基酸序列之至少15個殘基的程度, 或(3)使用考馬斯藍(Coomassie blue)或較佳銀染在還原或非還原條件下藉由SDS-PAGE的均質性。由於抗體之天然環境之至少一種組份將不存在, 所以經分離抗體包括原位處於重組細胞內之抗體。然而, 經分離抗體通常將藉由至少一個純化步驟來製備。

如本文所用之「抗人類因子D抗體」意謂以抑制或實質

上降低補體活化之方式特異性結合人類因子D之抗體。

在本文中術語「因子D」用以指天然序列及變異因子D多肽。

「天然序列」因子D為無論其製備模式如何，皆具有與自然界來源之因子D多肽相同之胺基酸序列的多肽。因此，天然序列因子D可自自然界分離或可藉由重組及/或合成方式產生。除成熟因子D蛋白(諸如，成熟人類因子D蛋白(NM_001928))外，術語「天然序列因子D」特別包含天然存在之因子D前驅體形式(例如無活性之前體蛋白，其經蛋白水解裂解以產生活性形式)、天然存在之變異形式(例如，替代性拼接形式)及天然存在之因子D對偶基因變異體以及具有與自然界來源之因子D多肽相同之胺基酸序列的因子D分子之結構構形變異體。非人類動物(包括高級靈長類動物及非人類哺乳動物)之因子D多肽特別包括在此定義內。

「因子D變異體」意謂如下定義之具有與天然序列因子D多肽(諸如，天然序列人類因子D多肽(NM_001928))至少約80%胺基酸序列一致性的活性因子D多肽。通常，因子D變異體將具有與成熟人類胺基酸序列(NM_001928)至少約80%胺基酸序列一致性或至少約85%胺基酸序列一致性或至少約90%胺基酸序列一致性或至少約95%胺基酸序列一致性或至少約98%胺基酸序列一致性或至少約99%胺基酸序列一致性。

「百分比(%)胺基酸序列一致性」定義為在將序列比對

且必要時引入空位以實現最大序列一致性百分比後，且不將任何保守取代視為序列一致性之一部分，候選序列中與參考因子D序列中之胺基酸殘基一致之胺基酸殘基的百分比。為測定胺基酸序列一致性百分比而進行之比對可以此項技術中熟知之多種方式來實現，例如使用公開可用之電腦軟體，諸如 BLAST、BLAST-2、ALIGN 或 Megalign (DNASTAR) 軟體。熟習此項技術者可測定用於量測比對之適當參數，包括實現在所比較之全長序列上的最大比對所需之任何演算法。接著相對於較長序列計算序列一致性，亦即即使較短序列展示與較長序列之一部分100%序列一致性，但總的序列一致性將小於100%。

「百分比(%)核酸序列一致性」定義為在將序列比對且必要時引入空位以實現最大序列一致性百分比後，候選序列中與參考因子D編碼序列中之核苷酸一致之核苷酸的百分比。為測定核酸序列一致性百分比而進行之比對可以此項技術內之多種方式來實現，例如使用公開可用之電腦軟體，諸如 BLAST、BLAST-2、ALIGN 或 Megalign (DNASTAR) 軟體。熟習此項技術者可測定用於量測比對之適當參數，包括實現在所比較之全長序列上的最大比對所需之任何演算法。接著相對於較長序列計算序列一致性，亦即即使較短序列展示與較長序列之一部分100%序列一致性，但總的序列一致性將小於100%。

「經分離」核酸分子為經鑑別且與在該核酸之天然來源中通常與其締合之至少一種污染核酸分子分離的核酸分

子。經分離核酸分子不同於自然界中所發現之形式或配置。因此，經分離核酸分子與其存在於天然細胞中時之核酸分子不同。然而，經分離核酸分子包括通常表現經編碼多肽之細胞中所含之核酸分子，其中(例如)該核酸分子處於與天然細胞之染色體位置不同的染色體位置。

「經分離」編碼因子D多肽之核酸分子為經鑑別且與在該編碼因子D之核酸之天然來源中通常與其締合之至少一種污染核酸分子分離的核酸分子。經分離編碼因子D多肽之核酸分子不同於自然界中所發現之形式或配置。因此，經分離編碼因子D多肽之核酸分子與其存在於天然細胞中時之編碼核酸分子不同。然而，經分離編碼因子D之核酸分子包括通常表現因子D之細胞中所含之核酸分子，其中(例如)該核酸分子處於與天然細胞之染色體位置不同的染色體位置。

術語「拮抗劑」以最廣泛之意義使用，且包括能夠中和、阻斷、部分或完全抑制、消除、降低或干擾因子D之生物活性的任何分子。因子D拮抗劑包括(但不限於)結合因子D且能夠中和、阻斷、部分或完全抑制、消除、降低或干擾因子D之活性(諸如，因子D參與與補體相關之眼部病狀之病理的能力)的抗因子D抗體及其抗體變異體、其抗原結合片段、其他結合多肽、肽及非肽小分子。

「小分子」在本文中定義為具有約600道爾頓以下、較佳約1000道爾頓以下之分子量。

在本發明之因子D拮抗劑之背景下的「活性」或「生物

活性」為拮抗(部分或完全抑制)因子D之生物活性的能力。因子D拮抗劑之生物活性之一實例為實現因子D相關之疾病或病狀(諸如，與補體相關之眼部病狀)的狀態(例如，病理)之可量測改良的能力。活性可在活體外或活體內測試(包括結合檢定、替代途徑溶血檢定(例如，量測替代途徑補體活性或活化之抑制之檢定))中使用相關動物模型或人類臨床試驗來測定。

術語「與補體相關之病症」以最廣泛之意義使用且包括與過度或不受控制之補體活化相關的病症。其包括：在心肺繞道手術期間之補體活化；歸因於急性心肌梗塞、動脈瘤、中風、出血性休克、壓傷、多器官衰竭、血量減少性休克、腸局部缺血或引起局部缺血之其他事件後的局部缺血-再灌注之補體活化。亦已展示補體活化與諸如重度燒傷、內毒素血症、敗血性休克、成人呼吸窘迫症候群、血液透析、過敏性休克、重度哮喘、血管性水腫、克羅恩氏病、鎌狀細胞性貧血、鏈球菌感染後絲球體腎炎及胰腺炎之發炎病狀相關聯。病症可為不良藥物反應、藥物過敏、IL-2誘發之血管滲漏症候群或放射攝影顯影劑過敏引起。其亦包括自體免疫疾病，諸如全身性紅斑狼瘡、重症肌無力、類風濕性關節炎、阿茲海默氏症及多發性硬化症。補體活化亦與移植排斥反應有關。補體活化亦與眼睛疾病相關，該等眼睛疾病諸如年齡相關之黃斑變性、糖尿病性視網膜病及其他局部缺血相關之視網膜病、脈絡膜新生血管(CNV)、葡萄膜炎、糖尿病性黃斑水腫、病理性近視、逢

希伯-林道疾病、眼睛之組織漿菌病、視網膜中央靜脈阻塞(CRVO)、角膜新生血管及視網膜新生血管。

術語「與補體相關之眼部病狀」以最廣泛之意義使用且包括病理涉及補體(包括經典途徑及替代途徑，且尤其補體替代途徑)之所有眼部病狀。與補體相關之眼部病狀包括(但不限於)黃斑變性疾病，諸如所有階段之年齡相關之黃斑變性(AMD)(包括乾性及濕性(非滲出性及滲出性)形式)、脈絡膜新生血管(CNV)、葡萄膜炎、糖尿病性及其他局部缺血相關之視網膜病及其他眼內新生血管疾病，諸如糖尿病性黃斑水腫、病理性近視、逢希伯-林道疾病、眼睛之組織漿菌病、視網膜中央靜脈阻塞(CRVO)、角膜新生血管及視網膜新生血管。在一實例中，與補體相關之眼部病狀包括年齡相關之黃斑變性(AMD)(包括非滲出性(例如，中期乾性AMD或地圖狀萎縮(GA))及滲出性(例如，濕性AMD(脈絡膜新生血管(CNV)))AMD)、糖尿病性視網膜病(DR)、眼內炎及葡萄膜炎。在另一實例中，非滲出性AMD可包括存在硬脈絡膜疣、軟脈絡膜疣、地圖狀萎縮及/或色素凝集。在一實例中，與補體相關之眼部病狀包括年齡相關之黃斑變性(AMD)，包括早期AMD(例如，包括多個小脈絡膜疣至一或多個非廣泛性中等大小之脈絡膜疣)、中期AMD(例如，包括廣泛中等脈絡膜疣至一或多個大脈絡膜疣)及晚期AMD(例如，包括地圖狀萎縮或晚期濕性AMD(CNV))。(Ferris等人，AREDS報告第18號；Sallo等人，Eye Res., 34(3): 238-40 (2009)；Jager等人，New

Engl. J. Med., 359(1): 1735 (2008))。在另一實例中，中期乾性AMD可包括大的融合性脈絡膜疣。在另一實例中，地圖狀萎縮可包括受光體及/或視網膜色素上皮(RPE)缺失。在另一實例中，地圖狀萎縮之區域可為小或大的，且/或可在黃斑區域中或周圍視網膜中。在一實例中，與補體相關之眼部病狀為中期乾性AMD。在一實例中，與補體相關之眼部病狀為地圖狀萎縮。在一實例中，與補體相關之眼部病狀為濕性AMD(脈絡膜新生血管(CNV))。

「治療」為出於防止病症發展或改變病症病理之目的而進行的介入。因此，「治療」係指治療性治療與預防性措施兩者。需要治療者包括已患有病症者以及有待預防病症者。在免疫相關疾病之治療中，治療劑可直接改變免疫反應之組份的反應程度，或致使疾病對其他治療劑(例如，抗生素、抗真菌劑、消炎劑、化學治療劑等)之治療更敏感。

疾病(諸如，與補體相關之眼部病狀)之「病理」包括損害患者健康之所有現象。此包括(但不限於)異常或不可控制之細胞生長(嗜中性細胞、嗜伊紅血球、單核細胞、淋巴細胞)、產生抗體、產生自體抗體、產生補體、干擾相鄰細胞之正常功能、細胞激素或其他分泌產物以異常水準釋放、任何發炎或免疫反應之抑制或加劇、發炎細胞(嗜中性細胞、嗜伊紅血球、單核細胞、淋巴細胞)浸潤至細胞空間等。

如本文所用之術語「哺乳動物」係指分類為哺乳動物之

任何動物，其包括(但不限於)人類、高級靈長類動物、家畜及農畜，及動物園、運動或玩賞動物(諸如，馬、豬、牛、狗、貓及雪貂等)。在本發明之一實施例中，該哺乳動物為人類。

與一或多種其他治療劑「組合」投與包括同時(並行)及以任何順序連續投與。

「治療有效量」為實現目標疾病或病狀(諸如，與補體相關之眼部病狀)之狀態(例如，病理)之可量測改良所需的「因子D拮抗劑」之量。

術語「控制序列」係指特定宿主生物體內表現可操作連接之編碼序列所需的DNA序列。適於原核生物之控制序列(例如)包括啟動子、視情況之操縱子序列(operator sequence)及核糖體結合位點。已知真核細胞利用啟動子、聚腺苷酸化信號及增強子。

當使核酸與另一核酸序列呈功能性關係時，其經「可操作連接」。舉例而言，若前序列或分泌性前導序列之DNA表現為參與多肽分泌之前體蛋白，則其與該多肽之DNA可操作連接；若啟動子或增強子影響編碼序列之轉錄，則其與該序列可操作連接；或若核糖體結合位點經定位以便有助於轉譯，則其與編碼序列可操作連接。一般而言，「可操作連接」意謂所連接之DNA序列為相鄰的，且在分泌性前導序列之狀況下為相鄰的且處於閱讀相中。然而，增強子不必為相鄰的。連接係藉由在適宜限制性位點處連接來實現。若該等位點不存在，則根據慣例使用合成寡核苷酸

接附子或連接子。

雜交反應之「嚴格性」可易於由一般熟習此項技術者確定，且一般為取決於探針長度、洗滌溫度及鹽濃度之經驗計算。一般而言，較長探針需要較高溫度以達成適當黏接，而較短探針需要較低溫度。雜交一般視互補鏈存在於低於其熔融溫度之環境中時已變性DNA再黏接之能力而定。探針與可雜交序列之間的所需同源性程度愈高，可使用之相對溫度愈高。因此，由此可見較高相對溫度將傾向於使得反應條件更為嚴格，而較低溫度將傾向於使得反應條件並不如此嚴格。關於雜交反應嚴格性之額外詳情及解釋參見 Ausubel 等人，*Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley Interscience Publishers, (1995)。

如本文所定義之「嚴格條件」或「高嚴格條件」可由以下要求來鑑別：(1)對於洗滌而言，採用低離子強度及高溫，例如在 50°C 下 0.015 M 氯化鈉 / 0.0015 M 檸檬酸鈉 / 0.1% 十二烷基硫酸鈉；(2)在雜交期間採用在 42°C 下之變性劑，諸如甲醯胺，例如 50%(v/v) 甲醯胺，以及 0.1% 牛血清白蛋白 / 0.1% Ficoll / 0.1% 聚乙炔吡咯啉酮 / 50 mM 磷酸鈉緩衝液 (pH 6.5) 及 750 mM 氯化鈉、75 mM 檸檬酸鈉；或 (3) 採用在 42°C 下之 50% 甲醯胺、5×SSC (0.75 M NaCl、0.075 M 檸檬酸鈉)、50 mM 磷酸鈉 (pH 6.8)、0.1% 焦磷酸鈉、5×丹哈德溶液 (Denhardt's solution)、經超音波處理之鮭魚精 DNA (50 µg/ml)、0.1% SDS 及 10% 硫酸葡聚糖，以及在 42°C 下 0.2×SSC (氯化鈉 / 檸檬酸鈉) 中之洗滌及在 55°C 下之 50% 甲

醯胺中的洗滌，接著在55°C下由含有EDTA之0.1×SSC組成的高嚴格洗滌。

「適度嚴格條件」可如 Sambrook 等人，*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor Press, 1989所述來鑑別，且包括使用不如上文所述者嚴格之洗滌溶液及雜交條件(例如，溫度、離子強度及%SDS)。適度嚴格條件之一實例為在37°C下在包含以下各者之溶液中隔夜培育：20%甲醯胺、5×SSC(150 mM NaCl、15 mM檸檬酸鈉)、50 mM磷酸鈉(pH 7.6)、5×丹哈德溶液、10%硫酸葡聚糖及20 mg/mL已變性剪切之鮭魚精DNA，接著在約37-50°C下在1×SSC中洗滌過濾器。熟習此項技術者將認識到如何根據需要來調整溫度、離子強度等以適應諸如探針長度及其類似物之因素。

在抗體可變域之背景下，術語「可變」係指可變域之某些部分之序列在抗體間廣泛不同且用於各特定抗體對其特定標靶之結合及特異性。然而，可變性在整個抗體可變域中並非均勻分布。其集中於輕鏈可變域與重鏈可變域兩者中的三個稱為互補判定區(CDR)(亦稱為高變區(HVR))之區段中。可變域之較高保守度部分稱為構架(FR)。天然重鏈及輕鏈之可變域各包含四個主要採用β-摺疊構型之由三個CDR連接的FR區，該三個CDR形成連接β-摺疊結構且在一些狀況下形成β-摺疊結構之一部分的環。各鏈中之CDR藉由FR區以緊密接近之方式固持在一起，且與來自另一鏈之CDR一起促進抗體之標靶結合位點之形成(參見Kabat等

人)。除非另外指示，否則如本文所用之免疫球蛋白胺基酸殘基之編號係根據Kabat等人(Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institute of Health, Bethesda, Md. 1987)之免疫球蛋白胺基酸殘基編號系統進行。

術語「高變區」、「HVR」或「HV」在用於本文中時係指抗體可變域中序列高變且/或形成結構上界定之環的區域。一般而言，抗體包含六個高變區；三個在VH中(H1、H2、H3)，且三個在VL中(L1、L2、L3)。本文中使用且包含許多有關高變區之描繪。Kabat互補判定區(CDR)係基於序列可變性且最常使用(Kabat等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest*，第5版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991))。Chothia另外指出結構環之位置(Chothia及Lesk *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987))。當使用Kabat編號協定編號時Chothia CDR-H1環之末端視環長度而定在H32與H34之間變化(此係因為Kabat編號方案在H35A及H35B處設置插入；若35A與35B均不存在，則環在32處終止；若僅存在35A，則環在33處終止；若35A與35B均存在，則環在34處終止)。AbM高變區代表Kabat CDR與Chothia結構環之間的折衷，且為Oxford Molecular之AbM抗體模型化軟體所用。「接觸」高變區係基於可用複晶體結構之分析。以下指示來自此等高變區中之每一者的殘基。

環	Kabat	AbM	Chothia	接觸
----	-----	---	-----	-----
L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32..34	H30-H35B
(Kabat編號)				
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35
(Chothia編號)				
H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102	H93-H101

高變區可包含如下「擴展之高變區」：VL中之24-36或24-34(L1)、46-56或50-56(L2)及89-97(L3)及VH中26-35B(H1)、50-65、47-65或49-65(H2)及93-102、94-102或95-102(H3)。可變域殘基係根據Kabat等人(同上文)針對此等定義各者進行編號。

「構架」或「FR」殘基為除本文中定義之高變區殘基或CDR殘基外的彼等可變域殘基。

術語「如Kabat中之可變域殘基編號」或「如Kabat中之胺基酸位置編號」及其變化形式係指Kabat等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD.(1991)中用於編譯抗體之重鏈可變域或輕鏈可變域的編號系統。使用此編號系統，實際線性胺基酸序

列可含有對應於可變域之FR或CDR之縮短或插入的較少或額外胺基酸。舉例而言，重鏈可變域可包括在H2之殘基52後插入之單個胺基酸(根據Kabat之殘基52a)及在重鏈FR殘基82後插入之殘基(例如，根據Kabat之殘基82a、82b及82c等)。藉由在同源區將抗體序列與「標準」Kabat編號序列比對，可確定給定抗體之殘基的Kabat編號。

當提及可變域中之殘基(約輕鏈之殘基1-107及重鏈之殘基1-113)時，一般使用Kabat編號系統(例如，Kabat等人，Sequences of Immunological Interest。第5版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)，其以引用的方式明確併入本文中)。當提及免疫球蛋白重鏈恆定區中之殘基時一般使用「EU編號系統」或「EU索引」(例如Kabat等人(同上文)中報導之EU索引；重鏈恆定域中之鉸鏈區為重鏈之約殘基216-230(EU編號))。「如Kabat中之EU索引」係指人類IgG1 EU抗體之殘基編號。除非本文中另有說明，否則提及抗體可變域中之殘基編號意謂藉由Kabat編號系統編號之殘基。除非本文中另有說明，否則提及抗體恆定域中之殘基編號意謂藉由EU編號系統編號之殘基(例如，參見美國臨時申請案第60/640,323號EU編號之圖)。

如本文所用之「多肽」一般係指具有超過約10個胺基酸之肽及蛋白質。在一實例中，該多肽為哺乳動物蛋白質，其實例包括因子D及因子D之片段及/或變異體。在另一實例中，多肽為結合人類因子D之全長抗體或其抗體片段(例

如，抗原結合片段)，其實例包括：Fab、Fab'、F(ab')₂及F_v片段；雙功能抗體、線性抗體；單鏈抗體分子；及由抗體片段(例如，抗原結合片段)形成之多特異性抗體。

起始多肽之「變異體」或「胺基酸序列變異體」為包含與起始多肽之胺基酸序列不同之胺基酸序列的多肽。一般而言，變異體將具有與天然多肽至少80%序列一致性，較佳至少90%序列一致性，更佳至少95%序列一致性，且最佳至少98%序列一致性。序列一致性百分比係(例如)藉由Fitch等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80: 1382-1386 (1983)、由Needleman等人，*J. Mol. Biol.*, 48: 443-453 (1970)描述之演算法版本在將序列比對以提供最大同源性後測定。多肽之胺基酸序列變異體可藉由將合適核苷酸變化引入編碼該多肽之DNA中或藉由肽合成來製備。該等變異體包括(例如)所關注之多肽之胺基酸序列內的殘基缺失及/或插入及/或取代。進行缺失、插入及取代之任何組合以獲得最終構築體，其限制條件為該最終構築體具有所需特徵。胺基酸變化亦可改變多肽之轉譯後過程，諸如改變糖基化位點之編號或位置。用於產生多肽之胺基酸序列變異體的方法描述於(例如)以引用的方式明確併入本文中之美國專利第5,534,615號中。

起始抗體之「抗體變異體」或「經修飾抗體」為包含與起始抗體之胺基酸序列不同之胺基酸序列的抗體，其中起始抗體之一或多個胺基酸殘基已經修飾。一般而言，抗體變異體將具有與起始抗體至少80%序列一致性，較佳至少

90%序列一致性，更佳至少95%序列一致性，且最佳至少98%序列一致性。序列一致性百分比係(例如)藉由Fitch等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80: 1382-1386 (1983)、由Needleman等人，*J. Mol. Biol.*, 48: 443-453(1970)描述之演算法版本在將起始抗體與候選抗體變異體之序列比對以提供最大同源性後測定。關於親本序列之一致性或相似性在本文中定義為在將序列比對且必要時引入空位以實現最大序列一致性百分比後，候選變異序列中與親本抗體殘基一致(亦即，相同殘基)或相似(亦即，來自基於常見側鏈性質之相同群的胺基酸殘基，見下文)之胺基酸殘基的百分比。抗體之胺基酸序列變異體可藉由將合適核苷酸變化引入編碼該抗體之DNA中或藉由肽合成來製備。該等變異體包括(例如)所關注之抗體之胺基酸序列內的殘基缺失及/或插入及/或取代。進行缺失、插入及取代之任何組合以獲得最終構築體，其限制條件為該最終構築體具有所需特徵。胺基酸變化亦可改變抗體之轉譯後過程，諸如改變糖基化位點之編號或位置。用於產生抗體之抗體序列變異體的方法類似於(例如)以引用的方式明確併入本文中之美國專利第5,534,615號中所描述之用於產生多肽之胺基酸序列變異體的方法。

多肽分子之「脫醯胺」變異體為其中初始多肽之一或多個天冬醯胺(N或Asn)殘基轉化為天冬胺酸(D或Asp)(亦即中性醯胺側鏈已轉化為具有總體酸性特徵之殘基)之多肽。脫醯胺可藉由將天冬醯胺(N或Asn)轉化為麩醯胺酸(Q

或 Gln) 或 丙 胺 酸 (A 或 Ala) 或 絲 胺 酸 (S 或 Ser) 來 預 防 (Amphlett, G. 等人, *Pharm. Biotechnol.*, 9:1-140 (1996))。

多肽分子之「氧化」變異體為其中初始多肽之一或多個甲硫胺酸(M或Met)或色胺酸(W或Trp)殘基經由甲硫胺酸之硫轉化為砒或亞砒的多肽。氧化可藉由將甲硫胺酸(M或Met)轉化為白胺酸(L或Leu)或異白胺酸(I或Ile)來預防 (Amphlett, G. 等人, *Pharm. Biotechnol.*, 9:1-140 (1996))。

多肽分子之「焦麩胺酸」變異體為其中初始多肽之一或多個麩醯胺酸(Q或Gln)殘基轉化為焦麩胺酸之多肽，當麩醯胺酸殘基(例如，N末端麩醯胺酸殘基)自發環化，產生焦麩胺酸時，發生此轉化。焦麩胺酸轉化可藉由將麩醯胺酸(Q或Gln)殘基轉化為麩胺酸(E或Glu)來預防 (Amphlett, G. 等人, *Pharm. Biotechnol.*, 9:1-140 (1996))。

術語「抗體片段」係指全長抗體之一部分，一般指標靶結合區或可變區。抗體片段之實例包括Fab、Fab'、F(ab')₂及Fv片段。短語抗體之「功能性片段或類似物」為具有與全長抗體相同之定性生物活性的化合物。舉例而言，抗人類因子D抗體之功能性片段或類似物為可以預防或實質上降低補體活化之方式結合因子D的片段或類似物。如本文所用之關於抗體之「功能性片段」係指Fv、F(ab)及F(ab')₂片段。「Fv」片段為含有完整標靶識別及結合位點之最小抗體片段。此區由一重鏈可變域及一輕鏈可變域呈緊密非共價結合之二聚體(V_H-V_L二聚體)組成。正是在此構型中各可變域之三個CDR相互作用以界定V_H-V_L二聚體之表面

上的標靶結合位點。6個CDR共同賦予抗體以標靶結合特异性。然而，甚至單個可變域(或僅包含三個對標靶具特异性之CDR的一半Fv)亦具有識別且結合標靶之能力。「單鏈Fv」或「sFv」抗體片段包含抗體之V_H及V_L域，其中此等域存在於單一多肽鏈中。一般而言，Fv多肽進一步包含在V_H與V_L域之間的多肽連接子，該多肽連接子使得sFv能夠形成標靶結合所需之結構。

Fab片段含有輕鏈之恆定域及重鏈之第一恆定域(CH1)。Fab'片段因在重鏈CH1域之羧基末端添加數個殘基(包括一或多個來自抗體鉸鏈區之半胱胺酸)而與Fab片段不同。藉由使F(ab')₂胃蛋白酶消化產物之鉸鏈半胱胺酸處的二硫鍵裂解來產生F(ab')片段。抗體片段(例如，抗原結合片段)之其他化學偶合為一般熟習此項技術者所知。

如本文所用之「文庫」係指複數個抗體或抗體片段序列(例如，本發明之多肽)或編碼此等序列之核酸，該等序列在根據本發明之方法引入此等序列中之變異胺基酸之組合方面不同。

如本文所用之術語「單株抗體」係指自實質上均質之抗體群體獲得之抗體，亦即構成此群體之個別抗體除可少量存在之可能天然存在之突變外為相同的。單株抗體針對單一標靶位點具有高度特异性。此外，與通常包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體的習知(多株)抗體製劑相比，各單株抗體係針對標靶上之單一決定子。除其特异性外，單株抗體之有利之處在於其可藉由融合瘤培養物合

成，不受其他免疫球蛋白污染。修飾語「單株」指示抗體係自實質上均質之抗體群體獲得之特徵，且不應理解為需要藉由任何特定方法產生該抗體。舉例而言，可使用熟知之技術自噬菌體抗體文庫分離供本發明使用之單株抗體。根據本發明使用之親本單株抗體可藉由最先由Kohler及Milstein, Nature 256, 495(1975)描述之融合瘤方法製備，或可藉由重組方法製備。

非人類(例如，鼠科)抗體之「人類化」形式為含有來源於非人類免疫球蛋白之最小序列之嵌合免疫球蛋白、其免疫球蛋白鏈或片段(諸如，Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂或抗體之其他標靶結合子序列)。一般而言，人類化抗體將包含實質上所有之至少一個且通常兩個可變域，其中所有或實質上所有CDR區對應於非人類免疫球蛋白之彼等CDR區且所有或實質上所有FR區為人類免疫球蛋白一致序列之彼等FR區。人類化抗體亦可包含免疫球蛋白恆定區(Fc)(通常為所選人類免疫球蛋白模板之免疫球蛋白恆定區)之至少一部分。

術語「細胞」、「細胞株」及「細胞培養物」包括後代。亦瞭解所有後代可能由於有意或無意的突變而在DNA含量上不精確一致。包括具有與在經初始轉型細胞中所篩選相同之功能或生物性質的變異子代。本發明中所用之「宿主細胞」一般為原核或真核宿主。

術語「載體」意謂含有與能夠實現DNA在合適宿主中表現之合適控制序列可操作連接之DNA序列的DNA構築體。

該等控制序列包括實現轉錄之啟動子、控制該轉錄之可選操縱子序列、編碼合適mRNA核糖體結合位點之序列及控制轉錄及轉譯終止之序列。載體可為質體、噬菌體粒子或僅為潛在基因組插入物。一旦轉型至合適宿主中，載體即可獨立於宿主基因組複製且起作用，或在一些情況下可整合至基因組本身中。在本說明書中，「質體」及「載體」有時可互換使用，此係因為質體為最常使用之載體形式。然而，本發明意欲包括發揮此項技術中已知之等效功能且為或成為此項技術中已知的該等其他形式載體。

字詞「標記」在用於本文中時係指可與分子或蛋白質(例如，抗體)直接或間接接合的可偵測之化合物或組合物。標記自身可偵測(例如，放射性同位素標記或螢光標記)或在酶標記之狀況下可催化可偵測之受質化合物或組合物發生化學變化。

如本文所用之「固相」意謂本發明之抗體可黏著之非水性基質。本文中所包含之固相之實例包括部分或完全由玻璃(例如，可控孔度玻璃)、多醣(例如，瓊脂糖)、聚丙烯醯胺、聚苯乙烯、聚乙醇醇及聚矽氧形成之彼等固相。在某些實施例中，視上下文而定，固相可包含檢定盤之孔；在其他實施例中，其為純化管柱(例如，親和層析管柱)。

「噬菌體呈現」為一種使變異多肽以與至少一部分鞘蛋白之融合蛋白形式呈現於噬菌體(例如，絲狀噬菌體)粒子表面上的技術。噬菌體呈現之實用性在於可自隨機化蛋白質變異體之龐大文庫中快速且有效分選彼等以高親和力與

標靶抗原結合之序列。已使用肽及蛋白質文庫於噬菌體上之呈現來自數百萬多肽中篩選具有特異性結合性質之多肽。多價噬菌體呈現方法已用於經由與絲狀噬菌體之基因III或基因VIII之融合來呈現小型隨機肽及小型蛋白質。Wells及Lowman (1992) *Curr. Opin. Struct. Biol.* 3:355-362 及其中引用之參考文獻。在單價噬菌體呈現中，使蛋白質或肽文庫與基因III或其一部分融合，且在野生型基因III蛋白質存在下以低程度表現以使噬菌體粒子呈現融合蛋白之一個複本或不呈現。相對於多價噬菌體而言，親和力作用降低，因此分選係基於固有配位體親和力，且使用簡化DNA操作之噬菌粒載體。Lowman及Wells (1991) *Methods: A companion to Methods in Enzymology* 3:205-0216。

「噬粒」為具有例如ColE1之細菌複製起點及噬菌體之基因間區域之複本的質體載體。噬粒可用於任何已知之噬菌體，包括絲狀噬菌體及人字形噬菌體。質體一般亦將含有用於抗生素抗性之選擇標記物。選殖至此等載體中之DNA區段可繁殖為質體。當含有此等載體之細胞具有產生噬菌體粒子所需之所有基因時，質體之複製模式變為滾環式複製(rolling circle replication)以產生質體DNA之一條鏈之複本且封裝噬菌體粒子。噬粒可形成感染性或非感染性噬菌體粒子。此術語包括含有與異源多肽基因連接成基因融合體以使該異源多肽呈現於噬菌體粒子之表面上的噬菌體鞘蛋白基因或其片段之噬粒。

「變異Fc區」包含由於如本文中定義之至少一種「胺基

酸修飾」而與另一Fc區之胺基酸序列不同的胺基酸序列。較佳地，變異Fc區與天然序列Fc區或親本多肽之Fc區相比，具有至少一個胺基酸取代，例如天然序列Fc區或親本多肽之Fc區中約1至約10個胺基酸取代且較佳約1至約5個胺基酸取代。本文中變異Fc區較佳將具有與天然序列Fc區及/或親本多肽之Fc區至少約80%同源性，且最佳具有與其至少約90%同源性，更佳具有與其至少約95%同源性。「天然序列人類Fc區」之實例展示於WO 00/42072之圖23中且包括天然序列人類IgG1 Fc區(非A及A異型)、天然序列人類IgG2 Fc區、天然序列人類IgG3 Fc區及天然序列人類IgG4 Fc區以及其天然存在之變異體。天然序列鼠科Fc區展示於WO 00/42072之圖22A中。

根據本發明，「改變」FcRn結合親和力為與親本多肽或包含天然序列Fc區之多肽相比具有增強或削弱之FcRn結合活性者。在一實例中，具有改變FcRn結合親和力之抗體在pH 6.0下與FcRn之結合增加且/或在pH 7.0下與FcRn之結合減少。「顯示增加結合」FcR之變異體以與親本多肽相比較佳之親和力結合至少一個FcR。「顯示減少結合」FcR之變異體以與親本多肽相比較差之親和力結合至少一個FcR。以與親本多肽相比「較佳之親和力」結合FcR的變異體為當結合檢定中多肽變異體之量與親本多肽之量基本上相同時以與親本抗體相比實質上較佳之結合親和力結合FcR的變異體。舉例而言，具有改良FcR結合親和力之多肽變異體可顯示與親本多肽相比FcR結合親和力約1.15倍至約100

倍、例如約1.2倍至約50倍之改良，其中測定FcR結合親和力。

「胺基酸修飾」係指預定胺基酸序列之胺基酸序列變化。例示性修飾包括胺基酸取代、插入及/或缺失。本文中之胺基酸修飾之一實例為取代。

指定位置上(例如，Fc區)之「胺基酸修飾」係指指定殘基之取代或缺失或至少一個胺基酸殘基與指定殘基相鄰插入。與指定殘基「相鄰」插入意謂在其一至兩個殘基內插入。插入可在指定殘基之N末端或C末端。

「胺基酸取代」係指預定胺基酸序列中至少一個現有胺基酸殘基經另一不同「置換」胺基酸殘基置換。置換殘基可為「天然存在之胺基酸殘基」(亦即，藉由遺傳密碼編碼)且選自由以下各者組成之群：丙胺酸(ala)；精胺酸(Arg)；天冬醯胺(Asn)；天冬胺酸(Asp)；半胱胺酸(Cys)；麩醯胺酸(Gln)；麩胺酸(Glu)；甘胺酸(Gly)；組胺酸(His)；異白胺酸(Ile)；白胺酸(Leu)；離胺酸(Lys)；甲硫胺酸(Met)；苯丙胺酸(Phe)；脯胺酸(Pro)；絲胺酸(Ser)；蘇胺酸(Thr)；色胺酸(Trp)；酪胺酸(Tyr)；及纈胺酸(Val)。本文中之胺基酸取代之定義亦包含經一或多個非天然存在之胺基酸殘基取代。「非天然存在之胺基酸殘基」係指除上文所列之彼等天然存在之胺基酸殘基以外，能夠共價結合多肽鏈中之相鄰胺基酸殘基的殘基。非天然存在之胺基酸殘基之實例包括正白胺酸、鳥胺酸、正纈胺酸、高絲胺酸及其他胺基酸殘基類似物，諸如 Ellman 等人，

Meth. Enzym, 202: 301-336 (1991)中所述之彼等胺基酸殘基。為產生該等非天然存在之胺基酸殘基，可使用 Noren 等人，*Science*, 244: 182 (1989)及 Ellman 等人(同上文)之程序。簡言之，此等程序包含用非天然存在之胺基酸殘基化學活化抑制劑 tRNA，接著活體外轉錄及轉譯該 RNA。

「胺基酸插入」係指將至少一個胺基酸併入預定胺基酸序列中。雖然插入通常將由一或兩個胺基酸殘基之插入組成，但本申請案涵蓋更大「肽插入」，例如約3至約5個或甚至多達約10個胺基酸殘基之插入。插入之殘基可為如上揭示之天然存在或非天然存在之殘基。

「胺基酸缺失」係指自預定胺基酸序列中移除至少一個胺基酸殘基。

II. 詳細描述

本文中本發明提供可用於預防及治療與補體相關之病狀之因子D拮抗劑，包括抗因子D抗體及其變異體及其片段(例如，抗原結合片段)，該等病狀包括眼部病狀(病理涉及補體(包括經典途徑及替代途徑，且尤其補體替代途徑)之所有眼部病狀及疾病)，諸如黃斑變性疾病(諸如，所有階段之年齡相關之黃斑變性(AMD)，包括乾性及濕性(非滲出性及滲出性)形式)、脈絡膜新生血管(CNV)、葡萄膜炎、糖尿病性視網膜病及其他局部缺血相關之視網膜病、眼內炎及其他眼內新生血管疾病，諸如糖尿病性黃斑水腫、病理性近視、逢希伯-林道疾病、眼睛之組織漿菌病、視網膜中央靜脈阻塞(CRVO)、角膜新生血管及視網

膜新生血管。一組與補體相關之眼部病狀包括年齡相關之黃斑變性(AMD)(包括非滲出性(例如，中期乾性AMD或地圖狀萎縮(GA))及滲出性(例如，濕性AMD(脈絡膜新生血管(CNV))AMD)、糖尿病性視網膜病(DR)、眼內炎及葡萄膜炎。在一實例中，與補體相關之眼部病狀為中期乾性AMD。在一實例中，與補體相關之眼部病狀為地圖狀萎縮。在一實例中，與補體相關之眼部病狀為濕性AMD(脈絡膜新生血管(CNV))。

AMD為年齡相關之黃斑變性，其為60歲以上之個體之不可逆視覺功能障礙的主要原因。存在兩種類型之AMD：非滲出性(乾性)及滲出性(濕性)AMD。乾性或非滲出性形式涉及視網膜中央(黃斑)下面之視網膜色素上皮細胞(RPE)之萎縮及肥大變化以及RPE上之沈積物(脈絡膜小疣)。患有非滲出性AMD之患者可發展至濕性或滲出性形式之AMD，其中稱為脈絡膜新生血管膜(CNVM)之異常血管在視網膜下形成，漏出流體及血液，且最終引起視網膜中及視網膜下的致盲性橢圓形疤痕。非滲出性AMD(其通常為滲出性AMD之前驅體)更為常見。非滲出性AMD之表現變化：可存在硬脈絡膜小疣、軟脈絡膜小疣、RPE地圖狀萎縮及色素凝集。補體組份在AMD早期沈積於RPE上且為脈絡膜小疣之主要成份。

1.人類化抗因子D抗體

本文中本發明包括人類化抗因子D抗體及其片段之產生及用途。用於產生抗體之例示性方法更詳細地描述於以下

部分中。

用於使非人類抗體人類化之方法為此項技術中所熟知。一般而言，人類化抗體具有一或多個自非人類來源引入其中之胺基酸殘基。此等非人類胺基酸殘基通常稱為「輸入」殘基，其通常係取自「輸入」可變域。人類化可基本上根據 Winter 及合作者之方法 [Jones 等人，*Nature*, **321**:522-525 (1986)；Riechmann 等人，*Nature*, **332**:323-327 (1988)；Verhoeyen 等人，*Science*, **239**:1534-1536 (1988)]，藉由用齧齒動物 CDR 或 CDR 序列取代人類抗體之相應序列來執行。因此，該等「人類化」抗體為嵌合抗體 (美國專利第 4,816,567 號)，其中實質上小於完整之人類可變域經來自非人類物種之相應序列取代。實際上，人類化抗體通常為一些 CDR 殘基及可能之一些 FR 殘基由來自齧齒動物抗體中之類似位點之殘基取代的人類抗體。

當抗體意欲用於人類治療用途時，為減少抗原性及 HAMA 反應 (人類抗小鼠抗體)，有待用於製造人類化抗體之人類可變域 (輕鏈與重鏈兩者) 之選擇在一些情況下可為重要的。HAMA 反應之減少或消除一般為合適治療劑之臨床開發的重要態樣。參見例如 Khaxzaeli 等人，*J. Natl. Cancer Inst.* (1988), **80**:937；Jaffers 等人，*Transplantation* (1986), **41**:572；Shawler 等人，*J. Immunol.* (1985), **135**:1530；Sears 等人，*J. Biol. Response Mod.* (1984), **3**:138；Miller 等人，*Blood* (1983), **62**:988；Hakimi 等人，*J. Immunol.* (1991), **147**:1352；Reichmann 等人，*Nature*

(1988), 332:323 ; Junghans 等人 , Cancer Res. (1990), 50:1495。如本文所述，本發明提供經人類化以使得HAMA反應減少或消除之抗體。可使用此項技術中已知之常規方法進一步獲得此等抗體之變異體，其中一些方法在下文中進一步描述。根據所謂「最佳匹配」方法，針對已知人類可變域序列之完整文庫篩選齧齒動物抗體之可變域序列。與齧齒動物之V域序列最接近之人類V域序列經鑑別且其內部之人類架構區(FR)為人類化抗體所接受(Sims等人，J. Immunol. 151:2296 (1993)；Chothia等人，J. Mol. Biol., 196:901 (1987))。另一方法使用來源於輕鏈或重鏈特定亞群之所有人類抗體之一致序列的特定構架區。若干不同人類化抗體可使用同一構架(Carter等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992)；Presta等人，J. Immunol. 151:2623 (1993))。

舉例而言，來自如本文所述之抗體之胺基酸序列可充當使構架及/或高變序列多樣化之起始(親本)序列。與起始高變序列連接之所選構架序列在本文中稱為受體人類構架。雖然受體人類構架可來自或來源於人類免疫球蛋白(其VL及/或VH區)，但受體人類構架可來自或來源於人類一致構架序列，此係因為已證明該等構架在人類患者中具有最低免疫原性或不具有免疫原性。出於本文中之目的，「受體人類框架」為包含來源於人類免疫球蛋白構架或來源於人類一致構架之VL或VH構架之胺基酸序列的構架。「來源於」人類免疫球蛋白構架或人類一致構架之受體人類構架

可包含其相同胺基酸序列或可含有預先存在之胺基酸序列變化。在存在預先存在之胺基酸變化的情況下，較佳存在不超過5處，且較佳4處或4處以下或3處或3處以下預先存在之胺基酸變化。在一實施例中，VH受體人類構架之序列與VH人類免疫球蛋白構架序列或人類一致構架序列一致。在一實施例中，VL受體人類構架之序列與VL人類免疫球蛋白構架序列或人類一致構架序列一致。「人類一致框架」為在選擇人類免疫球蛋白VL或VH構架序列時代表最通常存在之胺基酸殘基的構架。一般而言，人類免疫球蛋白VL或VH序列係選自可變域序列之亞群。一般而言，該序列亞群為如Kabat等人中之亞群。在一實施例中，對於VL而言，亞群為如Kabat等人中之亞群κI。在一實施例中，對於VH而言，亞群為如Kabat等人中之亞群III。

在受體來源於人類免疫球蛋白的情況下，視情況可選擇藉由將供體構架序列與一系列人類構架序列中之多種人類構架序列比對基於與供體構架序列之同源性所選擇的人類構架序列，且選擇最具同源性之構架序列作為受體。受體人類構架可來自或來源於在公眾資料庫中可用之人類抗體生殖系序列。

在一實施例中，本文中之人類一致構架來自或來源於VH亞群VII及/或VLκ亞群I一致構架序列。

在一實施例中，用於產生抗因子D抗體之人類構架模板可包含來自包含VH鏈之VI-4.1b+(VH7家族)與JH4d之組合及/或VL鏈之DPK4(VκI家族)與JK2之組合的模板之構架序

列。

在一實施例中，VH受體人類構架包含以下構架序列中之一者、二者、三者或所有者：

FR1，包含 QVQLVQSGPELKKPGASVKVSCAS(SEQ ID NO: 2之胺基酸1-25)，

FR2，包含 WVRQAPGQGLE(SEQ ID NO: 2之胺基酸36-49)，

FR3，包含 RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCER (SEQ ID NO: 2之胺基酸67-98)，

RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCE(SEQ ID NO: 2之胺基酸67-97)，

RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYC(SEQ ID NO: 2之胺基酸67-96)，

RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCS(SEQ ID NO: 3)或

RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCSR(SEQ ID NO: 4)

FR4，包含 WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO: 2之胺基酸105-115)。

在一個實施例中，VL接受體人類構架可包含以下構架序列之一者、二者、三者或全部：

FR1，包含 DIQVTQSPSSLSASVGDRVITC(SEQ ID NO: 1之胺基酸1-23)，

FR2，包含 WYQQKPGKVPKLLIS(SEQ ID NO: 1之胺基酸

35-49)，

FR3，包含 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYC
(SEQ ID NO: 1之胺基酸57-88)，

FR4，包含 FGQGTKLEIK(SEQ ID NO: 1之胺基酸98-107)，或

FGQGTKVEIK(SEQ ID NO: 5)。

雖然接受體序列可與所選之人類構架序列一致，無論是來自人類免疫球蛋白或來自人類一致構架，但本發明意欲該接受體序列可包含預先存在之相對於人類免疫球蛋白序列或人類一致構架序列之胺基酸取代。此等預先存在之取代較佳為最少；通常相對於人類免疫球蛋白序列或一致構架序列僅有四個、三個、兩個或一個胺基酸差異。

將非人類抗體之高變區殘基併入VL及/或VH接受體人類構架中。舉例而言，可併入對應於Kabat CDR殘基、Chothia高變環殘基、Abm殘基及/或接觸殘基之殘基。視情況，併入如下擴展之高變區殘基：24-36或24-34(L1)、46-56或50-56(L2)及89-97(L3)、26-35B(H1)、50-65、47-65或49-65(H2)及93-102、94-102或95-102(H3)。

在一態樣中，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 2之重鏈可變域的抗因子D抗體。在一態樣中，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 1之輕鏈可變域的抗因子D抗體。在一態樣中，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 2之重鏈可變域及含有SEQ ID NO: 1之輕鏈可變域的抗因子D抗體。在一個實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如抗原結合

片段)。

在一態樣中，本發明提供包含含有與SEQ ID NO: 2之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之胺基酸序列的重鏈可變域之抗因子D抗體。在一些實施例中，雖然具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之胺基酸序列含有相對於參考序列之取代、插入或缺失，但是包含該胺基酸序列之抗體保留結合因子D之能力。在一些實施例中，SEQ ID NO: 2之序列中總共1至10個胺基酸經取代、插入或缺失。在一些實施例中，取代、插入或缺失發生在HVR外之區域中(亦即，FR中)。在一些實施例中，抗因子D抗體包含含有SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之重鏈可變域。在一實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一些實施例中，本發明提供包含含有具有與SEQ ID NO: 1之胺基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之胺基酸序列的輕鏈可變域之抗因子D抗體。在一些實施例中，雖然具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之胺基酸序列含有相對於參考序列之取代、插入或缺失，但包含彼胺基酸序列之抗體保留結合因子D之能力。在一些實施例中，SEQ ID NO: 1之序列中總共1至10個胺基酸經取代、插入或缺失。在一些實施例中，取代、插入或缺失發生在HVR外之區域中(亦即，

FR中)。在一些實施例中，抗因子D抗體包含含有SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之輕鏈可變域。在一實施例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

抗因子D抗體可包含任何合適之構架可變域序列，其限制條件為抗體保留結合因子D之能力。舉例而言，在一些實施例中，本發明之抗因子D抗體包含作為VI.4.1 b+與JH4d之組合的重鏈可變域構架序列(參見圖3)。在一些實施例中，本發明之抗因子D抗體包含人類亞群VII重鏈構架一致序列。在一些實施例中，本發明之抗因子D抗體包含含有包含SEQ ID NO: 2之胺基酸1-25之FR1、包含SEQ ID NO: 2之胺基酸36-49之FR2、包含SEQ ID NO: 2之胺基酸67-98之FR3及包含SEQ ID NO: 2之胺基酸105-115之FR4的重鏈可變域構架序列。在此等抗體之一實施例中，重鏈可變域序列包含位置40及/或88(Kabat編號)處之取代。在此等抗體之一實施例中，位置40為半胱胺酸(C)或丙胺酸(A)且/或位置88為半胱胺酸(C)或丙胺酸(A)。在一些實施例中，本發明之抗因子D抗體包含作為DPK4與JK2之組合的輕鏈可變域構架序列(參見圖4)。在一些實施例中，本發明之抗因子D抗體包含人類κI輕鏈構架一致序列。在一些實施例中，本發明之抗因子D抗體包含含有包含SEQ ID NO: 1之胺基酸1-23之FR1、包含SEQ ID NO: 1之胺基酸35-49之FR2、包含SEQ ID NO: 1之胺基酸57-88之FR3及包含SEQ ID NO: 1之胺基酸98-107之FR4的輕鏈可變域構架序列。在此等抗體之一實施例中，輕鏈可變域構架序列包含位

置15、43及/或104(Kabat編號)處之一或多個取代。在此等抗體之一實施例中，位置15為半胱胺酸(C)或纈胺酸(V)，位置43為半胱胺酸(C)或丙胺酸(A)，位置104為纈胺酸(V)或白胺酸(L)。在一實施例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

此外，抗因子D抗體可包含任何合適之恆定域序列，其限制條件為抗體保留結合因子D之能力。舉例而言，在一些實施例中，本發明之抗因子D抗體包含重鏈恆定域之至少一部分。在一實施例中，本發明之抗因子D抗體包含 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 或 μ 重鏈中之一者或組合的重鏈恆定域。視抗體重鏈之恆定域(C_H)之胺基酸序列而定，免疫球蛋白可歸於不同類別或同型。存在5種類別之免疫球蛋白：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，分別具有稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 之重鏈。基於 C_H 序列及功能之相對較小的差異，將 γ 及 α 類別進一步分成亞類，例如人類表現以下亞類：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2。在一實施例中，本發明之抗因子D抗體包含在產生對效應功能(例如，結合親和力)之所需作用之胺基酸位置處包含取代的重鏈恆定域。在一實施例中，本發明之抗因子D抗體包含在不產生對效應功能(例如，結合親和力)之作用之胺基酸位置處包含取代的重鏈恆定域。在一實施例中，本發明之抗因子D抗體包含IgG類型(例如，IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)之重鏈恆定域且進一步包含位置114(Kabat編號；相當於EU編號中之118)、168(Kabat編號；相當於EU編號中之172)、172(Kabat編

號；相當於EU編號中之176)及/或228(EU編號)處之取代。在一實施例中，本發明之抗因子D抗體包含IgG(例如，IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)類型之重鏈恆定域且進一步包含位置114處之取代，其中位置114為半胱胺酸(C)或丙胺酸(A)，位置168為半胱胺酸(C)或丙胺酸(A)，位置172為半胱胺酸(C)或丙胺酸(A)，且/或位置228為脯胺酸(P)、精胺酸(R)或絲胺酸(S)。在一實施例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

此外，舉例而言，在一些實施例中，本發明之抗因子D抗體包含輕鏈恆定域之至少一部分。在一實施例中，本發明之抗因子D抗體包含 κ 或 λ 輕鏈中之一者或組合之輕鏈恆定域，此係因為來自任何脊椎動物物種之輕鏈可基於其恆定域之胺基酸序列而歸為兩種明顯不同之類型(稱為 κ 及 λ)之一。在一實施例中，本發明之抗因子D抗體包含在產生對效應功能(例如，結合親和力)之所需作用之胺基酸位置處包含取代的輕鏈恆定域。在一實施例中，本發明之抗因子D抗體包含在不產生對效應功能(例如，結合親和力)之作用之胺基酸位置處包含取代的輕鏈恆定域。在一實施例中，本發明之抗因子D抗體包含 κ 類型之輕鏈恆定域且進一步包含位置110、144、146及/或168(Kabat編號)處之取代。在一實施例中，本發明之抗因子D抗體包含 κ 類型之輕鏈恆定域且進一步包含位置110(其中110為半胱胺酸(C)或纈胺酸(V))、位置144(其中144為半胱胺酸(C)或丙胺酸(A))、位置146(其中146為異白胺酸(I)或纈胺酸(V))及/或

位置168(其中168為半胱胺酸(C)或絲胺酸(S))處之取代。在一實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

2.經修飾之抗因子D抗體

本文中本發明包括經修飾之抗因子D抗體(例如，經修飾之人類化抗因子D抗體)及其變異體及其片段(例如，抗原結合片段)之產生及用途。用於產生經修飾之抗體之例示性方法更詳細地描述於以下部分中。

包括人類化抗因子D抗體之親本抗因子D抗體可經修飾以產生經修飾之抗因子D抗體及其變異體。在一實施例中，經修飾之抗因子D抗體及其變異體可具有比親本抗體改良之物理、化學、生物或均質性質。在一實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明之抗體包含親本抗體之一或多個高變區中之一或多個胺基酸改變(例如，取代)。其他或另外，構架區殘基之一或多個改變(例如，取代)可引入親本抗體中。修飾之構架區殘基之實例包括直接非共價結合抗原(Amit等人，(1986) *Science*, 233: 747-753)、與CDR之構形相互作用/影響CDR之構形(Chothia等人(1987) *J. Mol. Biol.*, 196: 901-917)及/或參與V_L-V_H界面(EP 239 400B1)之彼等構架區殘基。在某些實施例中，一或多個該等構架區殘基之修飾引起抗體對抗原之結合親和力增強。舉例而言，在本發明之此實施例中，可改變約1至約5個構架殘基。修飾之構架或HVR區殘基之實例包括位點，其中該等

位點處之修飾引起脫醯胺變異體(例如，天冬醯胺(N或Asn)殘基經修飾成天冬胺酸(D或Asp))、氧化變異體(例如，甲硫胺酸(M或Met)殘基及/或色胺酸(W或Trp)殘基經修飾成砜或亞砜)或焦麩胺酸變異體(例如，麩醯胺酸(Q或Gln)殘基經修飾成焦麩胺酸)的產生。修飾之構架區殘基或HVR區殘基之實例包括可能之脫醯胺位點(亦即，天冬醯胺(N或Asn))、氧化位點(亦即，甲硫胺酸(M或Met)或色胺酸(W或Trp))或焦麩胺酸轉化位點(亦即，麩醯胺酸(Q或Gln))，其中該等位點處之修飾分別防止脫醯胺及/或氧化及/或焦麩胺酸轉化。為防止脫醯胺變異體之形成，天冬醯胺(N或Asn)可突變為丙胺酸(A或Ala)、麩醯胺酸(Q或Gln)或絲胺酸(S或Ser)。為防止氧化變異體之形成，甲硫胺酸(Met)或色胺酸(W或Trp)可突變為白胺酸(L)或異白胺酸(I)。為防止焦麩胺酸變異體之形成，麩醯胺酸(Q或Gln)可突變為麩胺酸(E或Glu)。(Amphlett, G.等人，*Pharm. Biotechnol.*, 9:1-140 (1996))。其他或另外，構架區殘基之一或多個改變(例如，取代)可在親本抗體中之Fc區中。在一實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明之抗體包含變異Fc區，以使得抗體在活體內之半衰期相對於親本抗體或包含天然序列Fc區之抗體增加或減少。在一實施例中，抗體包含增加或減小新生Fc受體(FcRn)對抗體之結合親和力的變異Fc區(參見WO 2000042072，以全文引用的方式併入)。舉例而言，該

抗體可包含Fc區之胺基酸位置238、252、253、254、255、256、265、272、286、288、303、305、307、309、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、386、388、400、413、415、424、433、434、435、436、439或447中之任一或多處上的胺基酸修飾，其中Fc區中之殘基編號為如Kabat中EU索引之殘基編號。與FcRn之結合減少的該等多肽變異體可包含Fc區之胺基酸位置252、253、254、255、288、309、386、388、400、415、433、435、436、439或447中之任一或多處上的胺基酸修飾，其中Fc區中之殘基編號為如Kabat中EU索引之殘基編號。或者，以上提及之多肽變異體可顯示與FcRn之結合增加且包含Fc區之胺基酸位置238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434中之任一或多處上的胺基酸修飾，其中Fc區中之殘基編號為如Kabat中EU索引之殘基編號。舉例而言，抗體包含以相對於親本抗體或包含天然序列Fc區之抗體增加之活體內半衰期結合的變異Fc區。舉例而言，抗體包含以相對於親本抗體或包含天然序列Fc區之抗體增加之對FcRn之親和力結合的變異Fc區。

FcRn結合親和力可如下量測：

本發明之抗體對人類FcRn之結合可藉由表面電漿共振使用(例如)BiaCore 3000儀器來研究。使用胺偶聯套組將人類FcRn偶聯至感應器晶片。舉例而言，CM5感應器晶片可用EDC/NHS以5 μ l/min活化7 min。可以10 μ l/min之流動速

率將 100 $\mu\text{g/ml}$ 之人類 FcRn 注射於經活化之晶片上，歷時 30 秒至 2 min，以產生 100 至 200 之最終結合反應單元 (RU)。接合後，FcRn 偶聯晶片可藉由以 5 $\mu\text{l/min}$ 注射 35 μl 1M 乙醇胺鹽酸鹽來阻斷。

可測定 pH 6.0 或 pH 7.4 下本發明之抗體與人類 FcRn 之結合。用於結合實驗之電泳緩衝液為含有 0.01% P20 及 0.02% 疊氮化鈉之 pH 6.0 或 pH 7.4 之 PBS。本發明之抗體可經緩衝液更換至 pH 6.0 或 pH 7.4 電泳緩衝液中。在一實施例中，實驗在 25°C 下執行。對於 pH 6.0 電泳而言，使濃度在 4 μM 至 0.7 nM 之範圍內的抗體以 30 $\mu\text{l/min}$ 流經塗布 FcRn 之晶片，歷時 4 min，且接著使其自晶片解離，歷時 5 min。對於 pH 7.4 電泳而言，將濃度在 12 μM 至 100 nM 之範圍內的抗體以 20 $\mu\text{l/min}$ 注射在塗布 FcRn 之晶片上，歷時 1.5 min，且接著釋放，歷時 2 min。抗體亦流經感應器晶片上未接合之點以自與偶聯 FcRn 之晶片之結合中減去背景非特异性結合。在各次注射之間可用 0.1M TRIS (pH 8.3) 之 30 sec 脈衝使晶片再生。可在各注射階段結束時記錄各次注射之穩態 RU，且隨後藉由繪製穩態 RU 對注射濃度之曲線來計算解離常數 (K_D)。

一種用於產生該等經修飾之抗體及其片段 (例如，抗原結合片段) 及其變異體的有效程序稱作「丙胺酸掃描突變誘發」(Cunningham 及 Wells (1989) *Science* 244:1081-1085)。此處，一或多個高變區殘基經丙胺酸或聚丙胺酸殘基置換以影響胺基酸與抗原的相互作用。接著藉由在取

代位點處或針對取代位點引入進一步或其他突變來改進彼等顯示對取代之功能敏感性之高變區殘基。因此，雖然引入胺基酸序列變異之位點預先確定，但突變之性質自身無需預先確定。如本文所述，針對生物活性來篩選以此方式產生之ala突變體(亦即，結合親和力或溶血檢定)。

通常將開始保守取代，諸如下文「較佳取代」之標題下所示的彼等保守取代。若該等取代引起生物活性(例如，結合親和力)之變化，則引入下表中稱為「例示性取代」或如下文關於胺基酸類別進一步描述之更實質性變化且篩選產物。較佳取代列於下表中。

表 1：較佳取代

初始殘基	例示性取代	較佳取代
Ala(A)	val ; leu ; ile	val
Arg(R)	lys ; gln ; asn	lys
Asn(N)	gln ; his ; lys ; arg	gln
Asp(D)	Glu	glu
Cys(C)	Ser	ser
Gln(Q)	Asn	asn
Glu(E)	Asp	asp
Gly(G)	pro ; ala	ala
His(H)	asn ; gln ; lys ; arg	arg
Ile(I)	leu ; val ; met ; ala ; phe ; 正白胺酸	leu
Leu(L)	正白胺酸 ; ile ; val ; met ; ala ; phe	ile
Lys(K)	arg ; gln ; asn	arg
Met(M)	leu ; phe ; ile	leu
Phe(F)	leu ; val ; ile ; ala ; tyr	leu
Pro(P)	Ala	ala
Ser(S)	Thr	thr
Thr(T)	Ser	ser
Trp(W)	tyr ; phe	tyr
Tyr(Y)	trp ; phe ; thr ; ser	phe
Val(V)	ile ; leu ; met ; phe ; ala ; 正白胺酸	leu

抗體或其片段(例如，抗原結合片段)生物性質之甚至更

實質性修飾係藉由選擇對維持以下各者之作用顯著不同的取代來實現：(a)取代區之多肽主鏈結構(例如，呈摺疊或螺旋構形)；(b)標靶位點處分子之電荷或疏水性；或(c)側鏈之大小。基於常見側鏈性質，將天然存在之殘基分組：

- (1)疏水性：正白胺酸、met、ala、val、leu、ile；
- (2)中性親水性：cys、ser、thr、asn、gln；
- (3)酸性：asp、glu；
- (4)鹼性：his、lys、arg；
- (5)影響鏈取向之殘基：gly、pro；及
- (6)芳香性：trp、tyr、phe。

非保守取代將需要將此等類別中之一者之成員換成另一類別。

在另一實施例中，對選擇進行修飾之位點進行修飾，且藉由噬菌體呈現來選擇具有改良之結合親和力的彼等修飾。

藉由此項技術中已知之多種方法製備編碼胺基酸序列突變體或經修飾之胺基酸序列的核酸分子。此等方法包括(但不限於)對早期製備之親本抗體之變異或非變異型式進行寡核苷酸介導(或定點)之突變誘發、PCR突變誘發及盒式突變誘發。一種用於製備突變體或變異體或經修飾之胺基酸序列的方法為定點突變誘發(參見例如Kunkel (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:488)。

在某些實施例中，經修飾之抗體將僅具有單一高變區殘基經取代。在其他實施例中，親本抗體之兩個或兩個以上

高變區殘基將經取代，例如約2至約10個高變區取代。在一實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

通常，經修飾之抗體將具有對親本抗體之重鏈或輕鏈可變域之胺基酸序列具有至少75%、更佳至少80%、更佳至少85%、更佳至少90%且最佳至少95%胺基酸序列一致性或相似性(上文在定義部分中定義)的胺基酸序列。在一實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在產生經修飾之抗體或其片段(例如，抗原結合片段)之後，測定彼分子相對於親本抗體或其片段(例如，抗原結合片段)之生物活性。如上所述，此可包含測定抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)之結合親和力及/或其他生物活性。在本發明之一實施例中，製備一組經修飾之抗體或其片段(例如，抗原結合片段)且關於對諸如因子D或其片段之抗原的結合親和力進行篩選。視情況對選自此初始篩選之一或多個抗體突變體或經修飾之抗體或其片段(例如，抗原結合片段)進行一或多個另外生物活性檢定以證實抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)確實適用於(例如)臨床前研究。

通常視經修飾之抗體或其片段(例如，抗原結合片段)之預期用途而定，可對本文所述之經修飾之抗因子D抗體或其片段(例如，抗原結合片段)進行進一步修飾。該等修飾可包含進一步改變胺基酸序列、與異源多肽融合及/或共

價修飾(諸如，下文詳細說明之彼等修飾)。上文詳細說明關於胺基酸序列改變之例示性修飾。舉例而言，亦可取代維持經修飾之抗體之適當構形並不涉及的任何半胱胺酸殘基，一般以絲胺酸來取代，以改良分子之氧化穩定性且防止異常交聯。反之，可在抗體中添加半胱胺酸鍵以改良其穩定性(尤其在抗體為諸如Fv片段之抗體片段的情況下)。另一類型之胺基酸突變體具有改變之糖基化模式。此可藉由使抗體中發現之一或多個碳水化合物部分缺失及/或添加抗體中不存在之一或多個糖基化位點來實現。抗體或抗體片段(例如，抗原結合片段)之糖基化通常為N-連接型或O-連接型。N-連接型係指碳水化合物部分與天冬醯胺殘基之側鏈連接。三肽序列天冬醯胺-X-絲胺酸及天冬醯胺-X-蘇胺酸(其中X為除脯胺酸以外之任何胺基酸)為碳水化合物部分與天冬醯胺側鏈之酶促連接的識別序列。因此，多肽中此等三肽序列中任一者之存在產生潛在糖基化位點。O-連接型糖基化係指糖N-乙醯基半乳糖胺、半乳糖或木糖中之一者連接至羥基胺基酸，最常見為絲胺酸或蘇胺酸，不過亦可使用5-羥基脯胺酸或5-羥基離胺酸。在抗體中添加糖基化位點便利地藉由改變胺基酸序列，以使其含有上述三肽序列中之一或多者來實現(針對N-連接型糖基化位點)。該改變亦可藉由在初始抗體之序列中添加一或多個絲胺酸或蘇胺酸殘基或用一或多個絲胺酸或蘇胺酸殘基進行取代來實現(針對O-連接型糖基化位點)。

在一實施例中，本發明提供本申請案之親本抗因子D抗

體的經修飾之抗因子D抗體，其中該經修飾之抗因子D抗體包含本申請案之該親本抗因子D抗體之胺基酸序列，其中本申請案之該親本抗因子D抗體之胺基酸序列的至少一個位置(根據Kabat編號)經以下各者中之一或多者取代：

- (a)輕鏈之位置33處的胺基酸為L或I；
- (b)輕鏈之位置34處的胺基酸為A或Q；
- (c)輕鏈之位置52處的胺基酸為S或A；
- (d)輕鏈之位置104處的胺基酸為V。

在一實例中，本發明提供該抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明提供本申請案之親本抗因子D抗體的經修飾之抗因子D抗體，其中該經修飾之抗因子D抗體變異體包含本申請案之該親本抗因子D抗體之胺基酸序列，其中本申請案之該親本抗因子D抗體之胺基酸序列的至少一個位置(根據Kabat編號)經以下各者中之一或多者取代：

- (a)重鏈之位置1處的胺基酸為E；
- (b)重鏈之位置99處的胺基酸為A或Q；或
- (c)重鏈之位置100處的胺基酸為A或Q。

在一實例中，本發明提供該抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明提供本申請案之親本抗因子D抗體的經修飾之抗因子D抗體，其中該經修飾之抗因子D抗體包含本申請案之該親本抗因子D抗體之胺基酸序列，其

中本申請案之該親本抗因子D抗體之胺基酸序列的至少一個位置(根據Kabat編號)經以下各者中之一或多者取代：

- (a)輕鏈之位置33處的胺基酸為L或I；
- (b)輕鏈之位置34處的胺基酸為A或Q；
- (c)輕鏈之位置52處的胺基酸為S或A；
- (d)輕鏈之位置104處的胺基酸為V；
- (e)重鏈之位置1處的胺基酸為E；
- (f)重鏈之位置99處的胺基酸為A或Q；或
- (g)重鏈之位置100處的胺基酸為A或Q。

在一實例中，本發明提供該抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明提供本申請案之親本抗因子D抗體的經修飾之抗因子D抗體，其中該經修飾之抗因子D抗體包含本申請案之該親本抗因子D抗體之胺基酸序列，其中本申請案之該親本抗因子D抗體之胺基酸序列的至少兩個位置(根據Kabat編號)經以下各者中之一或多者取代：

- (a)輕鏈之位置33處的胺基酸為L或I；
- (b)輕鏈之位置34處的胺基酸為A或Q；
- (c)輕鏈之位置52處的胺基酸為S或A；
- (d)輕鏈之位置104處的胺基酸為V。

在一實施例中，本發明提供本申請案之親本抗因子D抗體的經修飾之抗因子D抗體，其中該經修飾之抗因子D抗體包含本申請案之該親本抗因子D抗體之胺基酸序列，其中本申請案之該親本抗因子D抗體之胺基酸序列的至少兩

個位置(根據Kabat編號)經以下各者中之一或多者取代：

- (a)重鏈之位置1處的胺基酸為E；
- (b)重鏈之位置99處的胺基酸為A或Q；或
- (c)重鏈之位置100處的胺基酸為A或Q。

在一實例中，本發明提供該抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明提供本申請案之親本抗因子D抗體的經修飾之抗因子D抗體，其中該經修飾之抗因子D抗體包含本申請案之該親本抗因子D抗體之胺基酸序列，其中本申請案之該親本抗因子D抗體之胺基酸序列的至少兩個位置(根據Kabat編號)經以下各者中之一或多者取代：

- (a)輕鏈之位置33處的胺基酸為L或I；
- (b)輕鏈之位置34處的胺基酸為A或Q；
- (c)輕鏈之位置52處的胺基酸為S或A；
- (d)輕鏈之位置104處的胺基酸為V；
- (e)重鏈之位置1處的胺基酸為E；
- (f)重鏈之位置99處的胺基酸為A或Q；或
- (g)重鏈之位置100處的胺基酸為A或Q。

在一實例中，本發明提供該抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明提供本申請案之親本抗因子D抗體的經修飾之抗因子D抗體，其中該經修飾之抗因子D抗體包含本申請案之該親本抗因子D抗體之胺基酸序列，其中本申請案之該親本抗因子D抗體之胺基酸序列的至少三

個位置(根據Kabat編號)經以下各者中之一或多者取代：

- (a)輕鏈之位置33處的胺基酸為L或I；
- (b)輕鏈之位置34處的胺基酸為A或Q；
- (c)輕鏈之位置52處的胺基酸為S或A；
- (d)輕鏈之位置104處的胺基酸為V。

在一實例中，本發明提供該抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明提供本申請案之親本抗因子D抗體的經修飾之抗因子D抗體，其中該經修飾之抗因子D抗體包含本申請案之該親本抗因子D抗體之胺基酸序列，其中本申請案之該親本抗因子D抗體之胺基酸序列的至少三個位置(根據Kabat編號)經以下各者中之一或多者取代：

- (a)重鏈之位置1處的胺基酸為E；
- (b)重鏈之位置99處的胺基酸為A或Q；或
- (c)重鏈之位置100處的胺基酸為A或Q。

在一實例中，本發明提供該抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明提供本申請案之親本抗因子D抗體的經修飾之抗因子D抗體，其中該經修飾之抗因子D抗體包含本申請案之該親本抗因子D抗體之胺基酸序列，其中本申請案之該親本抗因子D抗體之胺基酸序列的至少三個位置(根據Kabat編號)經以下各者中之一或多者取代：

- (a)輕鏈之位置33處的胺基酸為L或I；
- (b)輕鏈之位置34處的胺基酸為A或Q；

- (c)輕鏈之位置52處的胺基酸為S或A；
- (d)輕鏈之位置104處的胺基酸為V；
- (e)重鏈之位置1處的胺基酸為E；
- (f)重鏈之位置99處的胺基酸為A或Q；或
- (g)重鏈之位置100處的胺基酸為A或Q。

在一實例中，本發明提供該抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明提供包含參考抗體之輕鏈HVR之抗因子D抗體，其中該抗因子D抗體進一步包含該參考抗體之一或多個位置處的取代，其中該參考抗體包含含有ITSTDIDDDMN(SEQ ID NO: 30)之輕鏈HVR-1、含有GGNTLRP(SEQ ID NO: 35)之輕鏈HVR-2及含有LQSDSLPYT(SEQ ID NO: 38)之輕鏈HVR-3，且其中該取代為以下各者中之一或多者：

- (a)輕鏈之位置33處的胺基酸為L或I；
- (b)輕鏈之位置34處的胺基酸為A或Q；
- (c)輕鏈之位置52處的胺基酸為S或A；
- (d)輕鏈之位置104處的胺基酸為V；
- (e)重鏈之位置1處的胺基酸為E；
- (f)重鏈之位置99處的胺基酸為A或Q；或
- (g)重鏈之位置100處的胺基酸為A或Q。

在一實例中，本發明提供該抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明提供包含參考抗體之重鏈HVR之

抗因子D抗體，其中該抗因子D抗體進一步包含該參考抗體之一或多個位置處的取代，其中該參考抗體包含含有GYTFTNYGMN(SEQ ID NO: 39)之重鏈HVR-1、含有WINTYTGETTYADDFKG(SEQ ID NO: 40)之重鏈HVR-2及含有EGGVNN(SEQ ID NO: 41)之重鏈HVR-3，且其中該取代為以下各者中之一或多者：

- (a)輕鏈之位置33處的胺基酸為L或I；
- (b)輕鏈之位置34處的胺基酸為A或Q；
- (c)輕鏈之位置52處的胺基酸為S或A；
- (d)輕鏈之位置104處的胺基酸為V；
- (e)重鏈之位置1處的胺基酸為E；
- (f)重鏈之位置99處的胺基酸為A或Q；或
- (g)重鏈之位置100處的胺基酸為A或Q。

在一實例中，本發明提供該抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明提供包含參考抗體之輕鏈HVR及重鏈HVR之抗因子D抗體，其中該抗因子D抗體進一步包含該參考抗體之一或多個位置處的取代，其中該參考抗體包含含有ITSTDIDDDMN(SEQ ID NO: 30)之輕鏈HVR-1、含有GGNTLRP(SEQ ID NO: 35)之輕鏈HVR-2及含有LQSDSLPYT(SEQ ID NO: 38)之輕鏈HVR-3及含有GYTFTNYGMN(SEQ ID NO: 39)之重鏈HVR-1、含有WINTYTGETTYADDFKG(SEQ ID NO: 40)之重鏈HVR-2及含有EGGVNN(SEQ ID NO: 41)之重鏈HVR-3，且其中該取

代為以下各者中之一或多者：

- (a)輕鏈之位置33處的胺基酸為L或I；
- (b)輕鏈之位置34處的胺基酸為A或Q；
- (c)輕鏈之位置52處的胺基酸為S或A；
- (d)輕鏈之位置104處的胺基酸為V；
- (e)重鏈之位置1處的胺基酸為E；
- (f)重鏈之位置99處的胺基酸為A或Q；或
- (g)重鏈之位置100處的胺基酸為A或Q。

在一實例中，本發明提供該抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一態樣中，本發明提供包含以下各者之經修飾之抗因子D抗體：

- (a)至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下各者之HVR：

- (i) HVR-H1，其包含具有與選自SEQ ID NO: 39之胺基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之胺基酸序列；
- (ii) HVR-H2，其包含具有與選自SEQ ID NO: 40之胺基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之胺基酸序列；
- (iii) HVR-H3，其包含具有與選自SEQ ID NO: 41、SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO: 44及SEQ ID NO: 45之胺基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致

性之胺基酸序列；

(iv) HVR-L1，其包含具有與選自SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 33及SEQ ID NO: 34之胺基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之胺基酸序列；

(v) HVR-L2，其包含具有與選自SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 36及SEQ ID NO: 37之胺基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之胺基酸序列；及

(vi) HVR-L3，其包含具有與選自SEQ ID NO: 38之胺基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之胺基酸序列；
或

(b)至少一個變異HVR，其中該變異HVR包含以SEQ ID NO: 39、40、41、42、43、44、45、30、31、32、33、34、35、36、37或38描繪之序列之至少一個殘基的修飾。

在一實例中，本發明提供該抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一些實施例中，雖然具有擁有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之胺基酸序列的HVR含有相對於參考序列之取代、插入或缺失，但包含彼胺基酸序列之抗體保留結合因子D之能

力。在一些實施例中，選自由以下各者組成之群之參考序列中總共1至10個胺基酸經取代、插入或缺失：SEQ ID NO: 39、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 41、SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 34、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 37及SEQ ID NO: 38。

在一態樣中，本發明提供包含以下各者之經修飾之抗因子D抗體：

(a)至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下各者之HVR：

(i) HVR-H1，其包含選自SEQ ID NO: 39之胺基酸序列；

(ii) HVR-H2，其包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列；

(iii) HVR-H3，其包含選自SEQ ID NO: 41、SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO: 44及SEQ ID NO: 45之胺基酸序列；

(iv) HVR-L1，其包含選自SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 33及SEQ ID NO: 34之胺基酸序列；

(v) HVR-L2，其包含選自SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 36及SEQ ID NO: 37之胺基酸序列；及

(vi) HVR-L3，其包含選自SEQ ID NO: 38之胺基酸序列；或

(b)至少一個變異HVR，其中該變異HVR包含以SEQ ID NO: 39、40、41、42、43、44、45、30、31、32、33、34、35、36、37或38描繪之序列之至少一個殘基的修飾。

在一實例中，本發明提供該抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 39之胺基酸序列之HVR-H1的經修飾之抗因子D抗體。在另一實施例中，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 40之胺基酸序列之HVR-H2的經修飾之抗因子D抗體。在另一實施例中，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 41之胺基酸序列之HVR-H3的經修飾之抗因子D抗體。在另一實施例中，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 30之胺基酸序列之HVR-L1的經修飾之抗因子D抗體。在另一實施例中，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 35之胺基酸序列之HVR-L2的經修飾之抗因子D抗體。在另一實施例中，本發明提供包含SEQ ID NO: 38之胺基酸序列的經修飾之抗因子D抗體。在一實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在另一實施例中，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 39之胺基酸序列之HVR-H1、含有SEQ ID NO: 40之胺基酸序列之HVR-H2及含有SEQ ID NO: 41之胺基酸序列之HVR-H3的經修飾之抗因子D抗體。在一實例中，本發明提供該抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在另一實施例中，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 30之胺基酸序列之HVR-L1、含有SEQ ID NO: 35之胺基酸序列之HVR-L2及含有SEQ ID NO: 38之胺基酸序列之HVR-L3的經修飾之抗因子D抗體。在一實例中，本發明提供該抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在另一實施例中，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 39之胺基酸序列之HVR-H1、含有SEQ ID NO: 40之胺基酸序列之HVR-H2、含有SEQ ID NO: 41之胺基酸序列之HVR-H3、含有SEQ ID NO: 30之胺基酸序列之HVR-L1、含有SEQ ID NO: 35之胺基酸序列之HVR-L2及含有SEQ ID NO: 38之胺基酸序列之HVR-L3的經修飾之抗因子D抗體。在一實例中，本發明提供該抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一態樣中，本發明提供包含含有具有與選自由以下各者組成之群之胺基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之胺基酸序列的重鏈可變域之經修飾之抗因子D抗體：SEQ ID NO: 18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28及29。在一些實施例中，雖然具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之胺基酸序列含有相對於參考序列之取代、插入或缺失，但包含彼胺基酸序列之抗體保留結合因子D之能力。在一些實施例中，在選自由以下各者組成之群之序列中總共1至10個胺基酸經取代、插入或缺失：SEQ ID NO: 18、19、20、

21、22、23、24、25、26、27、28及29。在一些實施例中，取代、插入或缺失發生在HVR外之區域中(亦即，FR中)。在一些實施例中，經修飾之抗因子D抗體包含含有選自由以下各者組成之群之胺基酸序列的重鏈可變域：SEQ ID NO: 18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28及29。在一實施例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一態樣中，本發明提供包含含有具有與選自由以下各者組成之群之胺基酸序列至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之胺基酸序列的輕鏈可變域之經修飾之抗因子D抗體：SEQ ID NO: 6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16及17。在一些實施例中，雖然具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之胺基酸序列含有相對於參考序列之取代、插入或缺失，但包含彼胺基酸序列之抗體保留結合因子D之能力。在一些實施例中，在選自由以下各者組成之群之序列中總共1至10個胺基酸經取代、插入或缺失：SEQ ID NO: 6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16及17。在一些實施例中，取代、插入或缺失發生在HVR外之區域中(亦即，FR中)。在一些實施例中，經修飾之抗因子D抗體包含含有選自由以下各者組成之群之胺基酸序列的輕鏈可變域：SEQ ID NO: 6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16及17。在一實施例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片

段)。

舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 18之重鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 6之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 18之重鏈可變域及含有SEQ ID NO: 6之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 19之重鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 7之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 19之重鏈可變域及含有SEQ ID NO: 7之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 20之重鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 8之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 20之重鏈可變域及含有SEQ ID NO: 8之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 21之重鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 9之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 21之重鏈可變域及含有SEQ ID NO: 9之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 22之重鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提

供包含含有SEQ ID NO: 10之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 22之重鏈可變域及含有SEQ ID NO: 10之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 23之重鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 11之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 23之重鏈可變域及含有SEQ ID NO: 11之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 24之重鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 12之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 24之重鏈可變域及含有SEQ ID NO: 12之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 25之重鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 13之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 25之重鏈可變域及含有SEQ ID NO: 13之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 26之重鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 14之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 26之重鏈可變域及含有SEQ ID NO: 14之輕鏈可變域的經

修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 27之重鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 15之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 27之重鏈可變域及含有SEQ ID NO: 15之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 28之重鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 16之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 28之重鏈可變域及含有SEQ ID NO: 16之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 29之重鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 17之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。舉例而言，本發明提供包含含有SEQ ID NO: 29之重鏈可變域及含有SEQ ID NO: 17之輕鏈可變域的經修飾之抗因子D抗體。在一實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明提供包含以下胺基酸序列之多肽：

X₁VQLVQSGPELKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVR
QAPGQGLEWMGWINTYTGETTYADDFKGRFVFSLDTSVS
TAYLQISSLKAE₂DTAVYYCERE₃GGVX₂X₃WGQGT₂LVTVSS
(SEQ ID NO: 74)，其中X₁為Q或E；X₂為N、A或Q；且X₃

為N、A或Q。在一實施例中，本發明提供包含以下胺基酸序列之經修飾之抗因子D抗體：X₁VQLVQSGPELKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGETTYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCEREGGVX₂X₃WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO: 74)，其中X₁為Q或E；X₂為N、A或Q；且X₃為N、A或Q。在一實施例中，本發明提供該多肽之片段。

在一實施例中，本發明提供包含以下胺基酸序列之多肽：DIQVTQSPSSLSASVGDRVTITCITSTDIDDDX₄X₅WYQQKPGKVPKLLISGGX₆TLRPGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DVATYYCLQSDSLPYTFGQGTX₇EIK(SEQ ID NO: 73)，其中X₄為M、L或I；X₅為N、A或Q；X₆為N、S或A；且X₇為L或V。在一實施例中，本發明提供包含含有以下胺基酸序列之多肽的經修飾之抗因子D抗體：DIQVTQSPSSLSASVGDRVTITCITSTDIDDDX₄X₅WYQQKPGKVPKLLISGGX₆TLRPGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DVATYYCLQSDSLPYTFGQGTX₇EIK(SEQ ID NO: 73)，其中X₄為M、L或I；X₅為N、A或Q；X₆為N、S或A；且X₇為L或V。在一實施例中，本發明提供該多肽之片段。

在一實施例中，本發明提供包含選自包含以下各者之群之胺基酸序列的多肽：SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28及SEQ ID NO:

29。在另一實施例中，本發明提供包含選自包含以下各者之群之胺基酸序列的多肽：SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 16及SEQ ID NO: 17。在一實例中，本發明提供該多肽之片段。

在一態樣中，本發明提供經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈域包含SEQ ID NO: 47之序列。在另一態樣中，本發明提供經修飾之抗因子D抗體，其中重鏈域包含SEQ ID NO: 54之序列。在一態樣中，本發明提供經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈域包含SEQ ID NO: 61之序列。在另一態樣中，本發明提供經修飾之抗因子D抗體，其中重鏈域包含SEQ ID NO: 63之序列。在一實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一態樣中，本發明提供包含SEQ ID NO: 47之序列之多肽。在另一態樣中，本發明提供包含SEQ ID NO: 54之序列之多肽。在一態樣中，本發明提供包含SEQ ID NO: 61之序列之多肽。在另一態樣中，本發明提供包含SEQ ID NO: 63之序列之多肽。在一實例中，本發明提供該多肽之片段。

在一態樣中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈可變域包含選自由以下各者組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID

NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 16及SEQ ID NO: 17。在一實例中，本發明提供該抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一態樣中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中重鏈可變域包含選自由以下各者組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28及SEQ ID NO: 29。在一實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一態樣中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈域包含SEQ ID NO: 47之序列。在另一態樣中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中重鏈域包含SEQ ID NO: 54之序列。在一態樣中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈域包含SEQ ID NO: 61之序列。在另一態樣中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中重鏈域包含SEQ ID NO: 63之序列。在一實例中，本發明提供該抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一態樣中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 6之序

列且重鏈可變域包含SEQ ID NO: 18之序列。在一實施例中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 7之序列且重鏈可變域包含SEQ ID NO: 19之序列。在另一實施例中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 8之序列且重鏈可變域包含SEQ ID NO: 20之序列。在另一實施例中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 9之序列且重鏈可變域包含SEQ ID NO: 21之序列。在另一實施例中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 10之序列且重鏈可變域包含SEQ ID NO: 22之序列。在另一實施例中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 11之序列且重鏈可變域包含SEQ ID NO: 23之序列。在另一實施例中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 12之序列且重鏈可變域包含SEQ ID NO: 24之序列。在另一實施例中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 13之序列且重鏈可變域包含SEQ ID NO: 25之序列。在另一實施例中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 14之序列且重鏈可變域包含SEQ ID NO: 26之序列。在另一實施例中，本發

明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 15之序列且重鏈可變域包含SEQ ID NO: 27之序列。在另一實施例中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 16之序列且重鏈可變域包含SEQ ID NO: 28之序列。在另一實施例中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 17之序列且重鏈可變域包含SEQ ID NO: 29之序列。在一實施例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一態樣中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈域包含SEQ ID NO: 47之序列且重鏈域包含SEQ ID NO: 54之序列。在一態樣中，本發明提供人類化抗因子D#111之經修飾之抗因子D抗體，其中輕鏈域包含SEQ ID NO: 61之序列且重鏈域包含SEQ ID NO: 63之序列。

3. 抗因子D抗體之親和力及生物活性

本文中本發明包括具有本文中鑑別為抗因子D抗體中所期望之特徵的抗體及其變異體或其片段(例如，抗原結合片段)。可針對(例如)在活體外或活體內之抑制生物活性或藉由量測結合親和力來篩選具有本文中鑑別為抗因子D抗體中所期望之特徵的抗體及其變異體或其片段(例如，抗原結合片段)。

a. 親和力

為確定抗因子D抗體及其變異體或其片段(例如，抗原結合片段)是否結合人類因子D上與所關注之抗體(例如，拮抗因子D活性之彼等抗體)所結合之抗原決定基相同的抗原決定基，可執行交叉阻斷檢定(Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Harlow及David Lane編(1988))。或者，可執行抗原決定基定位以確定抗因子D抗體是否結合所關注之抗原決定基(Champe等人，*J. Biol. Chem.*, 270: 1388-1394 (1995))。可使用標準方法，包括實例3中所述之彼等方法，確定(例如)對人類因子D之抗體親和力。

在一態樣中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)，其與鼠科抗因子D抗體及/或人類化抗因子D抗體純系#111及/或包含人類化抗因子D抗體純系#111之可變域或HVR序列之抗體競爭。亦提供結合與鼠科抗因子D抗體及/或人類化抗因子D抗體純系#111及/或包含人類化抗因子D抗體純系#111之可變域或HVR序列之抗體結合之抗原決定基相同的抗原決定基之抗因子D抗體或其變異體或其片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中抗體對因子D之單價親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)比包含來自鼠科抗因子D抗體之輕鏈可變域及重鏈可變域、由其組成或基本上由其組成的嵌合抗體之單價親和力(例如，呈Fab片段形式之嵌合抗體對因子D之親和力)低，例如低至少1倍或2倍。在一實例

中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中抗體對因子D之二價親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)比包含來自鼠科抗因子D抗體之輕鏈可變域及重鏈可變域、由其組成或基本上由其組成的嵌合抗體之二價親和力(例如，呈IgG形式之嵌合抗體對因子D之親和力)低，例如低至少1倍或2倍。在一實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中抗體對因子D之單價親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)比包含來自鼠科抗因子D抗體之輕鏈可變域及重鏈可變域、由其組成或基本上由其組成的嵌合抗體之單價親和力(例如，呈Fab片段形式之嵌合抗體對因子D之親和力)大，例如大至少1倍或2倍。在一實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中抗體對因子D之二價親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)比包含來自鼠科抗因子D抗體之輕鏈可變域及重鏈可變域、由其組成或基本上由其組成的嵌合抗體之二價親和力(例如，呈IgG形式之嵌合抗體對因子D之親和力)大，例如大至少1倍或2倍。在一實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片

段)。

在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈單價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)為20 nM(20×10^{-9} M)或更佳。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈單價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)為10 nM(10×10^{-9} M)或更佳。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈單價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)為1.0 nM(1.0×10^{-9} M)或更佳。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈單價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)為0.5 nM(0.5×10^{-9} M)或更佳。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈單價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)為1.0 pM(1.0×10^{-12} M)或更佳。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈單價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)為0.5 pM(0.5×10^{-12} M)或更佳。在一實施例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈二價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈

IgG形式之抗體對因子D之親和力)為10.0 nM(10.0×10^{-9} M)或更佳。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈二價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)為5.0 nM(5.0×10^{-9} M)或更佳。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈二價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)為1.0 nM(1.0×10^{-9} M)或更佳。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈二價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)為0.5 nM(0.5×10^{-9} M)或更佳。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈二價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)為5.0 Pm (5.0×10^{-12} M)或更佳。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈二價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)為2.0 pM(2.0×10^{-12} M)或更佳。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈二價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)為1.0 pM(1.0×10^{-12} M)或更佳。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈二價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)為0.5 pM(0.5×10^{-12} M)或更佳。在一實施例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈單價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)在0.5 mM(0.5×10^{-6} M)與0.5 pM(0.5×10^{-12} M)之間。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈單價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)在15 nM(15×10^{-9} M)與0.1 nM(0.1×10^{-9} M)之間。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈單價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)在5.5 nM(5.5×10^{-9} M)與1 nM(1×10^{-9} M)之間。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈單價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)在0.5 pM(0.5×10^{-12} M)與2 pM(2×10^{-12} M)之間。在一實施例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈二價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)在0.5 mM(0.5×10^{-6} M)與0.5 pM(0.5×10^{-12} M)之間。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈二價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)在10 nM(10×10^{-9} M)與0.05 nM(0.05×10^{-9} M)之間。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，

其中呈二價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)在5.5 nM(5.5×10^{-9} M)與1 nM(1×10^{-9} M)之間。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈二價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)在0.5 pM(0.5×10^{-12} M)與2 pM(2×10^{-12} M)之間。在一實施例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈單價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)為約1.4 pM(1.4×10^{-12} M)。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈二價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)為約1.1 pM(1.1×10^{-12} M)。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈單價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)為約0.19 nM(0.19×10^{-9} M)。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈二價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)為約0.08 nM(0.08×10^{-9} M)。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈單價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)為約12.3 nM(12.3×10^{-9} M)。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈二價形式之抗體對因子

D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)為約9.0 nM(9.0×10^{-9} M)。在一實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈單價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)為約1.4 pM(1.4×10^{-12} M) $\pm$ 0.5。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈二價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)為約1.1 pM(1.1×10^{-12} M) $\pm$ 0.6。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈單價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)為約0.19 nM(0.19×10^{-9} M) $\pm$.01。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈二價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)為約0.08 nM(0.08×10^{-9} M) $\pm$ 0.01。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈單價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)為約12.3 nM(12.3×10^{-9} M) $\pm$ 2。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體或其抗體變異體，其中呈二價形式之抗體對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)為約9.0 nM(9.0×10^{-9} M) $\pm$ 1。在一實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在另一實施例中，呈單價形式之抗因子D抗體或其抗體變異體可具有約 $1.4\text{ pM}(1.4\times 10^{-12}\text{ M})\pm 2$ 之對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)。在另一實施例中，呈二價形式之抗因子D抗體或其抗體變異體可具有約 $1.1\text{ pM}(1.1\times 10^{-12}\text{ M})\pm 2$ 之對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)。在另一實施例中，呈單價形式之抗因子D抗體或其抗體變異體可具有約 $0.19\text{ nM}(0.19\times 10^{-9}\text{ M})\pm 2$ 之對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)。在另一實施例中，呈二價形式之抗因子D抗體或其抗體變異體可具有約 $0.08\text{ nM}(0.08\times 10^{-9}\text{ M})\pm 2$ 之對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)。在另一實施例中，呈單價形式之抗因子D抗體或其抗體變異體可具有約 $12.3\text{ nM}(12.3\times 10^{-9}\text{ M})\pm 2$ 之對因子D之親和力(例如，呈Fab片段形式之抗體對因子D之親和力)。在另一實施例中，呈二價形式之抗因子D抗體或其抗體變異體可具有約 $9.0\text{ nM}(9.0\times 10^{-9}\text{ M})\pm 2$ 之對因子D之親和力(例如，呈IgG形式之抗體對因子D之親和力)。在一實施例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

如此項技術中所公認，配位體對其受體之結合親和力可使用多種檢定中之任一者來測定且以多種數量值表示。因此，在一實施例中，結合親和力係表示為 K_D 值且反映固有結合親和力(例如，具有最小化親合力作用)。一般且較佳地，結合親和力在活體外量測，以無細胞配置或細胞相關

配置。如本文中更詳細地描述，結合親和力之差異倍數可根據人類化抗體(例如，呈Fab形式)之單價結合親和力值與參考/比較抗體(例如，呈Fab形式)(例如，具有供體高變區序列之鼠科抗體)之單價結合親和力值的比率來定量，其中該等結合親和力值在相似檢定條件下測定。因此，在一實施例中，結合親和力之差異倍數係以呈Fab形式之人類化抗體與該參考/比較Fab抗體之 K_D 值的比率測定。舉例而言，在一實施例中，若本發明之抗體(A)具有比參考抗體(M)之親和力「低3倍」之親和力，則若A之 K_D 值為 $3\times$ ，則M之 K_D 值將為 $1\times$ ，且A之 K_D 與M之 K_D 的比率將為3:1。反之，在一實施例中，若本發明之抗體(C)具有比參考抗體(R)之親和力「大3倍」之親和力，則若C之 K_D 值為 $1\times$ ，則R之 K_D 值將為 $3\times$ ，且C之 K_D 與R之 K_D 的比率將為1:3。此項技術中已知之大量檢定(包括本文所述之彼等檢定)中之任一者可用於獲得結合親和力量測，包括(例如)Biacore、放射免疫檢定(RIA)及ELISA。

此外，本發明之抗體之 K_D 值可視所用特定檢定之條件而變化。舉例而言，在一實施例中，結合親和力量測可在如下檢定中獲得，其中將Fab或抗體固定且量測配位體(亦即，因子D)之結合，或者將Fab或抗體之配位體(亦即，因子D)固定且量測Fab或抗體之結合。在一實施例中，結合親和力量測可在如下檢定中獲得，其中再生條件可包含(1) pH 1.5下之10 mM甘胺酸或4 M $MgCl_2$ 及(2) pH 1.0與pH 7.5之間的pH值，包括pH 1.5、pH 5.0、pH 6.0及pH 7.2。在

一實施例中，結合親和力量測可在如下檢定中獲得，其中結合條件可包含(1) PBS或HEPES緩衝之生理食鹽水及(2) Tween-20，亦即0.1% Tween-20。在一實施例中，結合親和力量測可在如下檢定中獲得，其中配位體(亦即，因子D)之來源可來自市售來源。在一實施例中，結合親和力量測可在如下檢定中獲得，其中(1)將Fab或抗體固定且量測配位體(亦即，因子D)之結合，(2)再生條件包含pH 7.2下之4 M MgCl_2 ，且(3)結合條件包含含有0.1% Tween-20之HEPES緩衝之生理食鹽水(pH 7.2)。在一實施例中，結合親和力量測可在如下檢定中獲得，其中(1)將配位體(亦即，因子D)固定且量測Fab或抗體之結合，(2)再生條件包含pH 1.5下之10 mM甘胺酸，且(3)結合條件包含PBS緩衝液。

b. 生物活性

為確定抗因子D抗體或其變異體或片段(例如，抗原結合片段)是否能夠結合因子D且發揮生物作用(例如，抑制替代途徑溶血)，可使用利用兔RBC進行之溶血抑制檢定，包括實例2中描述之彼等檢定。該溶血抑制可利用標準檢定(Kostavasili等人，*J of Immunology*, 158(4): 1763-72 (1997)；Wiesmann等人，*Nature*, 444(7116): 159-60 (2006))來測定。該等檢定中補體活化可以血清或血漿來引發。血清或血漿中因子D之合適濃度(Pascual等人，*Kidney International*, 34: 529-536 (1998)；Complement Facts Book, Bernard J. Morley及Mark J. Walport編，Academic

Press (2000)；Barnum等人，*J. Immunol. Methods*, 67: 303-309 (1984))可根據此項技術中已知之方法，包括諸如 Pascual等人，*Kidney International*, 34: 529-536(1998)及 Barnum等人，*J. Immunol. Methods*, 67: 303-309(1984)之參考文獻及實例4中描述之彼等方法來常規測定。本發明大體而言係關於能夠抑制與因子D有關之生物活性的抗體。舉例而言，在18 $\mu\text{g/ml}$ 之濃度(相當於約1.5倍於血液中人類因子D之莫耳濃度；抗因子D抗體與因子D之莫耳比為約1.5:1)下，可觀測到抗體對替代補體活性之顯著抑制(參見例如美國專利第6,956,107號)。

在一實施例中，本發明包括抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以小於30 nM之 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在一實施例中，本發明包括抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以小於15 nM之 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以小於10 nM之 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以小於5 nM之 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在一實施例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以30 nM與2 nM之間的 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以25 nM與7 nM之間的 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該

等抗體之Fab片段以20 nM與12 nM之間的 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以30 nM與15 nM之間的 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以12 nM與8 nM之間的 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以7 nM與2 nM之間的 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以6 nM與3 nM之間的 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以8 nM與5 nM之間的 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以5 nM與2 nM之間的 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以10 nM與5 nM之間的 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以8 nM與2 nM之間的 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以7 nM與3 nM之間的 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以6 nM與4 nM之間的 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以約 $4.7\text{ nM} \pm 0.6\text{ nM}$ 之 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在另一實施例

中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以約 $6.4\text{ nM} \pm 0.6\text{ nM}$ 之 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以約 $3.5\text{ nM} \pm 0.5\text{ nM}$ 之 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以約 $4.4\text{ nM} \pm 1.5\text{ nM}$ 之 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以約 $10.2\text{ nM} \pm 0.8\text{ nM}$ 之 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以約 $23.9\text{ nM} \pm 5.0\text{ nM}$ 之 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在一實施例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一個實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以小於 80 nM 之 IC_{90} 值抑制替代途徑溶血。在一個實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以小於 50 nM 之 IC_{90} 值抑制替代途徑溶血。在一個實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以小於 40 nM 之 IC_{90} 值抑制替代途徑溶血。在一個實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以小於 20 nM 之 IC_{90} 值抑制替代途徑溶血。在一個實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以小於 15 nM 之 IC_{50} 值抑制替代途徑溶血。在一個實施例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如抗原結合片段)。

在一個實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以80 nM與10 nM之間的IC₉₀值抑制替代途徑溶血。在一個實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以75 nM與15 nM之間的IC₉₀值抑制替代途徑溶血。在一個實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以70 nM與20 nM之間的IC₉₀值抑制替代途徑溶血。在一個實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以65 nM與25 nM之間的IC₉₀值抑制替代途徑溶血。在一個實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以60 nM與30 nM之間的IC₉₀值抑制替代途徑溶血。在一個實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以55 nM與35 nM之間的IC₉₀值抑制替代途徑溶血。在一個實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以50 nM與40 nM之間的IC₉₀值抑制替代途徑溶血。在一個實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以80 nM與70 nM之間的IC₉₀值抑制替代途徑溶血。在一個實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以55 nM與25 nM之間的IC₉₀值抑制替代途徑溶血。在一個實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以16 nM與12 nM之間的IC₉₀值抑制替代途徑溶血。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以約14.0 nM±1.0 nM之IC₉₀值抑制替代途徑溶血。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗

體，其中該等抗體之Fab片段以約 $38.0 \text{ nM} \pm 11.0 \text{ nM}$ 之 IC_{90} 值抑制替代途徑溶血。在另一實施例中，本發明提供抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段以約 $72.6 \text{ nM} \pm 4.8 \text{ nM}$ 之 IC_{90} 值抑制替代途徑溶血。在一個實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明係關於抗因子D抗體或其片段(例如，抗原結合片段)，其中該等抗體之Fab片段以約0.05:1(0.05)至約10:1(10)，或約0.09:1(0.09)至約8:1(8)，或約0.1:1(0.1)至約6:1(6)，或約0.15:1(0.15)至約5:1(5)，或約0.19:1(0.19)至約4:1(4)，或約0.2:1(0.2)至約3:1(3)，或約0.3:1(0.3)至約2:1(2)，或約0.4:1(0.4)至約1:1(1)，或約0.5:1(0.5)至約1:2(0.5)，或約0.6:1(0.6)至約1:3(0.33)，或約0.7:1(0.7)至約1:4(0.25)，或約0.8:1(0.8)至約1:5(0.2)，或約0.9:1(0.9)至約1:6(0.17)之抗體與因子D之莫耳比抑制替代途徑溶血。在一實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明包括人類化抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。本發明之抗體片段可為(例如)Fab、Fab'、 F(ab')_2 、scFv、 $(\text{scFv})_2$ 、dAb、互補判定區(CDR)片段、線性抗體、單鏈抗體分子、微型抗體、雙功能抗體或由抗體片段形成之多特異性抗體。在另一實施例中，本發明提供能夠實質上穿透整個視網膜的人類化抗因子D抗體片段(例如，抗原結合片段)。在另一實施例中，本發明提供能夠穿過視網膜之整個厚度的人類化抗因子D

抗體片段(例如，抗原結合片段)。在一實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

在一實施例中，本發明包括人類化抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段在經由單次玻璃體內注射向哺乳動物眼睛(例如，人類)投與後具有至少3、5、7、10或12天之半衰期。在另一實施例中，本發明包括人類化抗因子D抗體，其中該等抗體之Fab片段在經由單次玻璃體內注射向哺乳動物眼睛(例如，人類)投與後抑制替代途徑(AP)補體活化至少40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110或115天。在另一實施例中，本發明包括人類化抗因子D抗體，其中抑制替代途徑(AP)補體活化之該等抗體之Fab片段的濃度在經由單次玻璃體內注射向哺乳動物眼睛(例如，人類)投與後在視網膜組織中維持至少40、45、50、55、60、65、70、75、80或85天。在另一實施例中，本發明包括人類化抗因子D抗體，其中抑制替代途徑(AP)補體活化之該等抗體之Fab片段的濃度在經由單次玻璃體內注射向哺乳動物眼睛(例如，人類)投與後在玻璃體液中維持至少80、85、90、95、100、105、110或115天。在一實例中，本發明提供該等抗因子D抗體之片段(例如，抗原結合片段)。

抗體之產生

宿主細胞之選擇及轉型

以本文描述用於產生抗因子D抗體之表現或選殖載體將宿主細胞轉染或轉型，且將該等宿主細胞於適當時經改質

之習知營養培養基中培養以誘導啟動子、選擇轉型物或擴增編碼所需序列之基因。諸如培養基、溫度、pH值及其類似條件之培養條件可藉由熟習此項技術者在不進行過度實驗下選擇。一般而言，使細胞培養之生產力最大的原理、方案及實用技術可見於 **Mammalian Cell Biotechnology: a Practical Approach**, M. Butler 編 (IRL Press, 1991) 及 Sambrook 等人，同上文中。

意謂將DNA引入宿主中使得DNA可以外染色體成份形式或由染色體成份(integrand)複製的真核細胞轉染及原核細胞轉型之方法為一般熟習此項技術者所知，例如 CaCl_2 、 CaPO_4 、脂質體介導、聚乙二醇/DMSO及電穿孔法。視所用宿主細胞而定，使用對該等細胞適合之標準技術來執行轉型。採用氯化鈣之鈣處理(如 Sambrook 等人，同上文)或電穿孔法一般用於原核生物。如 Shaw 等人，**Gene**, 23:315(1983)及1989年6月29日公開之WO 89/05859所述，以根瘤土壤桿菌(*Agrobacterium tumefaciens*)感染用於某些植物細胞之轉型。對於無該等細胞壁之哺乳動物細胞而言，可採用 Graham及 van der Eb, **Virology**, 52:456-457(1978)之磷酸鈣沈澱方法。哺乳動物細胞宿主系統轉染之一般態樣已描述於美國專利第4,399,216號中。通常根據 Van Solingen 等人，**J. Bact.**, 130:946(1977)及 Hsiao 等人，**Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)**, 76:3829(1979)之方法進行至酵母中之轉型。然而，亦可使用將DNA引入細胞中之其他方法，諸如藉由核微注射、電穿孔法、與完整細胞或聚陽

離子(例如，凝聚胺(polybrene)、聚鳥尿酸(polyornithine))之細菌原生質體融合。關於用於將哺乳動物細胞轉型之各種技術，參見 Keown 等人，**Methods in Enzymology**, 185:527-537(1990)及 Mansour 等人，**Nature**, 336:348-352 (1988)。

本文中用於選殖或表現載體中之DNA的合適宿主細胞為原核、酵母或高級真核細胞。達成此目的之合適原核生物包括革蘭氏陰性(Gram-negative)生物體與格蘭氏陽性生物體兩者，例如腸內菌(Enterobacteria)(諸如埃希氏菌(*Escherichia*)(例如大腸桿菌(*E. coli*))、腸桿菌(*Enterobacter*)、歐文菌(*Erwinia*)、克雷伯氏菌(*Klebsiella*)、變形菌(*Proteus*)、沙門氏菌(*Salmonella*)(例如，鼠傷寒沙門菌(*Salmonella typhimurium*))、沙雷氏菌(*Serratia*)(例如，黏質沙雷菌(*Serratia marcescans*))及志賀菌(*Shigella*))，以及芽孢桿菌(*Bacilli*)(諸如，枯草芽孢桿菌(*B. subtilis*)及地衣芽孢桿菌(*B. licheniformis*)(例如，1989年4月12日公開之DD 266,710中揭示之地衣芽孢桿菌41P))、假單胞菌(*Pseudomonas*)(諸如，綠膿桿菌(*P. aeruginosa*))、根瘤菌(*Rhizobia*)、透明顫菌(*Vitreoscilla*)、副球菌(*Paracoccus*)及鏈黴菌(*Streptomyces*)。一種較佳大腸桿菌選殖宿主為大腸桿菌294(ATCC 31,446)，不過諸如大腸桿菌B、大腸桿菌X1776(ATCC 31,537)、大腸桿菌W3110(ATCC 27,325)及K5772(ATCC 53,635)之其他菌株亦為合適的。此等實例為例

示性的而非限制性的。菌株 W3110 為一種尤其較佳之宿主或親本宿主，因為其為重組 DNA 產物醱酵之常用宿主菌株。較佳地，宿主細胞分泌最少量之蛋白水解酶。舉例而言，菌株 W3110 (Bachmann, **Cellular and Molecular Biology**, 第 2 卷 (Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1987), 第 1190-1219 頁；ATCC 寄存編號 27,325) 可經修飾以實現編碼宿主內源性蛋白質之基因中的基因突變，該等宿主之實例包括大腸桿菌 W3110 菌株 1A2，其具有完整基因型 *tonA*；大腸桿菌 W3110 菌株 9E4，其具有完整基因型 *tonA ptr3*；大腸桿菌 W3110 菌株 27C7 (ATCC 55,244)，其具有完整基因型 *tonA ptr3 phoA E15(argF-lac)169 degP ompT kan^r*；大腸桿菌 W3110 菌株 37D6，其具有完整基因型 *tonA ptr3 phoA E15(argF-lac)169 degP ompT rbs7 ilvG kan^r*；大腸桿菌 W3110 菌株 40B4，其為具有非卡那黴素 (kanamycin) 抗性 *degP* 缺失突變之菌株 37D6；大腸桿菌 W3110 菌株 33D3，其具有基因型 W3110 $\Delta fhuA(\Delta tonA) ptr3 lac Iq lacL8 \Delta ompT \Delta (nmpc-fepE) degP41 kan^R$ (美國專利第 5,639,635 號)；及揭示於 1990 年 8 月 7 日頒予之美國專利第 4,946,783 號中具有突變周質蛋白酶之大腸桿菌菌株。其他菌株及其衍生物 (諸如，大腸桿菌 294 (ATCC 31,446)、大腸桿菌 B、大腸桿菌 λ 1776 (ATCC 31,537) 及大腸桿菌 RV308 (ATCC 31,608)) 亦為合適的。此等實例為例示性的而非限制性的。具有確定基因型之以上提及之細菌中之任一者的衍生物之構築方法在此項技術中

已知且描述於(例如)Bass等人，**Proteins**, 8:309-314(1990)中。一般需要考慮複製子在細菌細胞中之可複製性來選擇適當細菌。舉例而言，當使用熟知之質體(諸如，pBR322、pBR325、pACYC177或pKN410)提供複製子時，大腸桿菌、沙雷氏菌或沙門氏菌菌種可適用作宿主。宿主細胞通常應分泌最少量之蛋白水解酶，且可理想地將額外蛋白酶抑制劑併入細胞培養物中。或者，例如PCR或其他核酸聚合酶反應之活體外選殖方法為合適的。

可於細菌中產生全長抗體、抗體片段(例如，抗原結合片段)及抗體融合蛋白，當不需要糖基化及Fc效應功能時，諸如當使治療抗體接合至細胞毒性劑(例如，毒素)且免疫接合物自身展示對腫瘤細胞破壞之有效性時尤其如此。全長抗體在循環中具有較大半衰期。在大腸桿菌中產生更快且更具成本效率。關於抗體片段及多肽在細菌中之表現，例如參見U.S. 5,648,237(Carter等人)、U.S. 5,789,199(Joly等人)及描述用於使表現及分泌最佳化的轉譯起始區(TIR)及信號序列之U.S. 5,840,523(Simmons等人)，該等專利以引用的方式併入本文中。表現後，可將抗體自大腸桿菌細胞糊狀物可溶部分中分離且可經由(例如)蛋白質A或G管柱(視同型而定)純化。可類似於用於純化在(例如)CHO細胞中表現之抗體的方法來進行最終純化。

除原核生物外，諸如絲狀真菌或酵母之真核微生物為編碼抗體之載體的合適選殖或表現宿主。釀酒酵母

(*Saccharomyces cerevisiae*)為低級真核宿主微生物中最常用者。然而，大量其他屬、種及菌株在本文中通常可利用且適用，諸如粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)；克魯維酵母菌(*Kluyveromyces*)；念珠菌(*Candida*)；木黴菌(*Trichoderma*)；粗糙脈孢菌(*Neurospora crassa*)；及絲狀真菌，諸如脈孢菌(*Neurospora*)、青黴菌(*Penicillium*)、彎頸黴菌(*Tolypocladium*)及曲黴菌(*Aspergillus*)宿主，諸如構巢麴黴(*A. nidulans*)及黑麴黴(*A. niger*)。嗜甲醇酵母在本文中為合適的且包括(但不限於)能夠在甲醇上生長之選自由以下各者組成之屬的酵母：漢森酵母(*Hansenula*)、念珠菌、克勒克酵母(*Kloeckera*)、畢赤氏酵母(*Pichia*)、酵母菌(*Saccharomyces*)、球擬酵母(*Torulopsis*)及紅酵母(*Rhodotorula*)。例示此類別酵母之特定種的清單可見於C. Anthony, **The Biochemistry of Methylophs**, 269(1982)中。

用於表現糖基化抗體之合適宿主細胞來源於多細胞生物體。原則上，無論來自脊椎動物抑或來自無脊椎動物培養物之任何高等真核細胞培養物均為可行的。無脊椎動物細胞之實例包括植物及昆蟲細胞，Luckow等人，*Bio/Technology* 6, 47-55 (1988)；Miller等人，*Genetic Engineering*, Setlow等人編，第8卷，第277-279頁(Plenum publishing 1986)；Mseda等人，*Nature* 315, 592-594 (1985)。已鑑別來自諸如草地黏蟲(*Spodoptera frugiperda*)(毛蟲)、伊蚊(*Aedes*)(蚊子)、黑腹果蠅

(*Drosophila melanogaster*)(果蠅)及家蠶(*Bombyx mori*)之宿主的大量桿狀病毒株及變異體及相應允許之昆蟲宿主細胞。用於轉染之多種病毒株公開可得，例如苜蓿丫紋夜蛾(*Autographa californica*)NPV之L-1變異體及家蠶NPV之Bm-5病毒株，且根據本發明該等病毒可用作本文中之病毒，尤其用於轉染草地黏蟲細胞。此外，棉花、玉米、馬鈴薯、大豆、矮牽牛、番茄及菸草之植物細胞培養物亦用作宿主。

脊椎動物細胞之培養(組織培養)及脊椎動物細胞在培養物(組織培養物)中之繁殖已成為一種常規程序。參見Tissue Culture, Academic Press, Kruse 及 Patterson 編(1973)。適用哺乳動物宿主細胞株之實例為猴腎；人類胚胎腎細胞株；幼倉鼠腎細胞；中國倉鼠卵巢細胞/-DHFR(CHO, Urlaub等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216 (1980))；小鼠塞氏細胞(mouse sertoli cell)；人類子宮頸癌細胞(HELA)；犬科腎細胞；人類肺細胞；人類肝細胞；小鼠乳房腫瘤；及NS0細胞。

為重組產生本發明之抗體或其抗體片段(例如，抗原結合片段)，將編碼其之核酸(例如，cDNA或基因組DNA)分離且插入可複製載體中以作進一步選殖(擴增DNA)或表現。編碼抗體或其片段(例如，抗原結合片段)之DNA易於使用習知程序(例如，藉由使用能夠特異性結合編碼抗體之重鏈及輕鏈之基因的寡核苷酸探針)分離及定序。可利用多種載體。載體之選擇部分地視待使用之宿主細胞而

定。一般而言，較佳宿主細胞源於原核生物或真核生物（一般哺乳動物）。

載體可（例如）呈質體、黏質體、病毒粒子或噬菌體之形式。可藉由多種程序將合適核酸序列插入載體中。一般而言，使用此項技術中已知之技術，將DNA插入合適限制性核酸內切酶位點中。載體組份一般包括（但不限於）以下各者中之一或多者：信號序列、複製起點、一或多個標記基因、增強元、啟動子及轉錄終止序列。含有此等組份中之一或多者之合適載體的構築採用熟習此項技術者已知之標準連接技術。

因子D不僅可直接重組產生，且亦可作為與異源多肽之融合多肽產生，該異源多肽可為信號序列或在成熟蛋白質或多肽之N末端具有特定分裂位點之其他多肽。一般而言，信號序列可為載體組份，或其可為插入載體中之編碼抗因子D抗體之DNA的一部分。信號序列可為選自（例如）鹼性磷酸酶、青黴素酶（penicillinase）、Ipp或熱穩定腸毒素II前導序列之群的原核生物信號序列。對於酵母分泌而言，信號序列可為（例如）酵母轉化酶前導序列、 α 因子前導序列（包括酵母菌及克魯維酵母菌 α -因子前導序列，後者描述於美國專利第5,010,182號中）或酸性磷酸酯酶前導序列，白色念珠菌（*C. albicans*）葡糖澱粉酶前導序列（1990年4月4日公開之EP 362,179）或描述於1990年11月15日公開之WO 90/13646中的信號。在哺乳動物細胞表現中，哺乳動物信號序列可用以指導蛋白質之分泌，諸如來自相同或

相關物種之分泌型多肽之信號序列以及病毒分泌前導序列。

以用於產生抗體之上述載體將宿主細胞轉型，且將其於適當時經改質之習知營養培養基中培養以誘導啟動子、選擇轉型物或擴增編碼所需序列之基因。

用以產生本發明之抗體或其抗體變異體或片段(例如，抗原結合片段)的宿主細胞可於多種培養基中培養。

a. 原核宿主細胞

用以產生本發明之多肽的原核細胞於此項技術中已知且適於培養所選宿主細胞之培養基中生長。合適培養基之實例包括溶菌肉湯(luria broth, LB)外加必需的營養補充物。在一些實施例中，培養基亦含有基於表現載體之構築而選擇之選擇劑，以選擇性地允許含有該表現載體之原核細胞生長。舉例而言，將安比西林(ampicillin)添加至培養基中以使表現安比西林抗性基因之細胞生長。

亦可包括除碳、氮及無機磷酸鹽來源外之任何必需補充物，其單獨或以與另一種補充物或培養基(諸如，複合氮源)之混合物的形式以適當濃度引入。視情況，培養基可含有一或多種選自由以下各者組成之群的還原劑：麩胱甘肽、半胱胺酸、胱胺、巰基乙酸酯、二硫赤蘚糖醇及二硫蘇糖醇。

將原核宿主細胞在合適之溫度下培養。對於大腸桿菌生長而言，舉例而言，較佳溫度在約20°C至約39°C之範圍內，更佳為約25°C至約37°C，甚至更佳為約30°C。培養基

之pH值可為在約5至約9之範圍內的任何pH值，主要視宿主生物體而定。對於大腸桿菌而言，pH值較佳為約6.8至約7.4，且更佳為約7.0。

若本發明之表現載體中使用誘導型啟動子，則在適於活化該啟動子之條件下誘導蛋白質表現。在本發明之一態樣中，PhoA啟動子用於控制多肽轉錄。因此，將經轉型之宿主細胞於磷酸鹽限制性培養基中培養以進行誘導。磷酸鹽限制性培養基較佳為C.R.A.P培養基(參見例如Simmons等人，*J. Immunol. Methods* (2002), 263:133-147)。如此項技術中所知，可根據所用載體構築體使用多種其他誘導劑。

在一實施例中，本發明之經表現多肽分泌至宿主細胞之周質中且自其回收。蛋白質回收通常包含一般藉由諸如滲透壓衝擊、超音波處理或溶解之方式使微生物碎裂。一旦細胞碎裂，則可藉由離心或過濾來移除細胞碎片或全細胞。蛋白質可例如藉由親和樹脂層析進一步純化。或者，可將蛋白質輸送至培養基中且在其中進行分離。可將細胞自培養物中移除，且將培養物上清液過濾且濃縮以進一步純化所產生之蛋白質。可使用諸如聚丙烯醯胺凝膠電泳(PAGE)及西方墨點檢定之通常已知之方法進一步分離經表現之多肽且加以鑑別。

在本發明之一態樣中，藉由醱酵方法大批量地產生抗體。可利用多種大規模饋料分批醱酵程序來產生重組蛋白。大規模醱酵具有至少1000公升之容量，較佳約1,000至100,000公升之容量。此等醱酵器使用葉輪攪拌器來分

配氧及養分，尤其葡萄糖(較佳碳/能量來源)。小規模醱酵一般係指在容量不超過約100公升且可在約1公升至約100公升範圍內之醱酵器中進行的醱酵。

在醱酵過程中，通常在細胞已於合適條件下生長至所需密度(例如，OD₅₅₀為約180-220，在此階段細胞處於穩定期早期)後開始誘導蛋白質表現。如此項技術中已知且如上文所述，可根據所用載體構築體使用多種誘導劑。可在誘導之前使細胞生長較短之時期。通常誘導細胞約12-50小時，不過可使用更長或更短之誘導時間。

為改良本發明之多肽的產率及品質，可改變多種醱酵條件。舉例而言，為改良分泌之抗體多肽之適當組裝及摺疊，可使用過度表現伴侶蛋白(chaperone protein)之額外載體共轉型宿主原核細胞，該等伴侶蛋白諸如Dsb蛋白(DsbA、DsbB、DsbC、DsbD及/或DsbG)或FkpA(具有伴侶蛋白活性之肽基脯胺醯基順,反-異構酶)。已證實伴侶蛋白促進細菌宿主細胞中所產生之異源蛋白質之適當摺疊及溶解性。Chen等人(1999)*J Bio Chem* 274:19601-19605；Georgiou等人，美國專利第6,083,715號；Georgiou等人，美國專利第6,027,888號；Bothmann及Pluckthun (2000) *J. Biol. Chem.* 275:17100-17105；Ramm及Pluckthun (2000) *J. Biol. Chem.* 275:17106-17113；Arie等人(2001)*Mol. Microbiol.* 39:199-210。

為使所表現之異源蛋白質(尤其對蛋白水解敏感之蛋白質)之蛋白水解降至最低，某些缺乏蛋白水解酶之宿主菌

株可用於本發明。舉例而言，宿主細胞菌株可經修飾以實現編碼已知細菌蛋白酶(諸如，蛋白酶III、OmpT、DegP、Tsp、蛋白酶I、蛋白酶Mi、蛋白酶V、蛋白酶VI及其組合)之基因中的基因突變。可利用一些缺乏大腸桿菌蛋白酶之菌株且其描述於(例如)Joly等人(1998)，同上文；Georgiou等人，美國專利第5,264,365號；Georgiou等人，美國專利第5,508,192號；Hara等人，*Microbial Drug Resistance*, 2:63-72 (1996)中。

在一實施例中，缺乏蛋白水解酶且經過度表現一或多種伴侶蛋白之質體轉型的大腸桿菌菌株用作本發明之表現系統中之宿主細胞。

b. 真核宿主細胞

諸如 Ham's F10(Sigma)、最低必需培養基(MEM, Sigma)、RPMI-1640(Sigma)及達爾伯克改良伊格爾培養基(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)(DMEM, Sigma)之市售培養基適於培養宿主細胞。此外，Ham等人，*Meth. Enzymol.* 58: 44 (1979)、Barnes等人，*Anal. Biochem.* 102: 255 (1980)、美國專利第4,767,704號、第4,657,866號、第4,560,655號、第5,122,469號、第5,712,163號或第6,048,728號中描述之任何培養基可用作宿主細胞之培養基。任何此等培養基可在必要時補充激素及/或其他生長因子(諸如，胰島素、運鐵蛋白或表皮生長因子)、鹽(諸如X-氯化物，其中X為鈉、鈣、鎂；及磷酸鹽)、緩衝液(諸如，HEPES)、核苷酸(諸如，腺苷及胸苷)、抗生素(諸

如，GENTAMYCIN.TM.藥物)、微量元素(定義為通常以在微莫耳範圍內之最終濃度存在的無機化合物)及葡萄糖或等效能量來源。亦可包括熟習此項技術者已知之合適濃度的任何其他必需補充劑。培養條件(諸如，溫度、pH值及其類似條件)為先前選擇進行表現之宿主細胞所用的條件，且為一般熟習此項技術者所瞭解。

抗體純化

抗因子D抗體或其片段(例如，抗原結合片段)之形式可自培養基或自宿主細胞溶解產物中回收。若與膜結合，則可使用合適清潔劑溶液(例如，Triton-X 100)或藉由酶促裂解使其自膜釋放。可藉由各種物理或化學方式使表現抗因子D抗體所用之細胞碎裂，該等方法諸如凍融循環、超音波處理、機械破壞或細胞溶解劑。

可能需要自重組細胞蛋白質或多肽純化抗因子D抗體。以下程序例示合適純化程序：藉由離子交換管柱分化；乙醇沈澱；逆相HPLC；二氧化矽或陽離子交換樹脂(諸如，DEAE)層析；層析聚焦；SDS-PAGE；硫酸銨沈澱；使用(例如)Sephadex G-75進行之凝膠過濾；蛋白質A瓊脂糖管柱，以移除諸如IgG之污染物；及結合抗因子D抗體之經抗原決定基標記之形式的金屬螯合管柱。可採用各種蛋白質純化方法且該等方法在此項技術中已知且描述於(例如)Deutscher, **Methods in Enzymology**, 182 (1990)；Scopes, **Protein Purification: Principles and Practice**, Springer-Verlag, New York (1982)中。所選純化步驟將視

(例如)所用產生方法及所產生之特定抗因子D抗體之性質而定。

當使用重組技術時，抗體或其抗體變異體或片段(例如，抗原結合片段)可在細胞內、周質間隙中產生或直接分泌至培養基中。若抗體或其抗體變異體或片段(例如，抗原結合片段)在細胞內產生，則作為第一步，可例如藉由離心或超濾來移除宿主細胞或溶胞片段之微粒碎片。Carter等人，*Bio/Technology* 10: 163-167 (1992)描述一種用於分離被分泌至大腸桿菌周質間隙中的抗體之程序。簡言之，在乙酸鈉(pH 3.5)、EDTA及苯甲基磺醯氟(PMSF)存在下經約30分鐘使細胞糊狀物融解。可藉由離心來移除細胞碎片。在抗體或其抗體變異體或片段(例如，抗原結合片段)被分泌至培養基中的情況下，一般首先使用市售蛋白質濃縮過濾器(例如，Amicon或Millipore Pellicon超濾單元)來濃縮來自該等表現系統之上清液。在任何先前步驟中可包括諸如PMSF之蛋白酶抑制劑以抑制蛋白水解，且可包括抗生素以防止外來污染物生長。

自細胞製備之抗體組合物可使用(例如)羧基磷灰石層析、凝膠電泳、透析及親和層析來純化，其中親和層析為一種純化技術。蛋白質A作為親和配位體之適宜性視存在於抗體或其抗體變異體或片段(例如，抗原結合片段)中之任何免疫球蛋白Fc域的種類及同型而定。蛋白質A可用於純化基於人類IgG1、IgG2或IgG4重鏈之抗體(Lindmark等人，*J. Immunol Meth.* 62: 1-13 (1983))。蛋白質G推薦用於所有小

鼠同型及人類IgG3(Guss等人, EMBO J. 5: 1567-1575 (1986))。雖然親和配位體所連接之基質最常為瓊脂糖, 但可利用其他基質。與用瓊脂糖可達成之流動速率及處理時間相比, 機械穩定性基質(諸如, 可控孔度玻璃或聚(苯乙烯二乙烯基)苯)允許更快之流動速率及更短之處理時間。在抗體或其抗體變異體或片段(例如, 抗原結合片段)包含CH3域之情況下, Bakerbond ABXTM樹脂(J. T. Baker, Phillipsburg, N.J.)可用於純化。視待回收之抗體或其抗體變異體或片段(例如, 抗原結合片段)而定, 亦可利用其他蛋白質純化技術, 諸如離子交換管柱分化、乙醇沈澱、逆相HPLC、二氧化矽層析、肝素SEPHAROSE™層析、陰離子或陽離子交換樹脂(諸如, 聚天冬胺酸管柱)層析、層析聚焦、SDS-PAGE及硫酸銨沈澱。

在任何初步純化步驟後, 可使包含所關注之抗體或其抗體變異體或片段(例如, 抗原結合片段)及污染物之混合物經受使用pH值在約2.5-4.5之間的溶離緩衝液較佳在低鹽濃度(例如, 約0-0.25 M鹽)下執行之低pH值疏水相互作用層析。

醫藥調配物

多肽或抗體或其抗體片段(例如, 抗原結合片段)或其抗體變異體之治療調配物可藉由將具有所需純度之多肽與此項技術中通常採用之可選「醫藥學上可接受」之載劑、賦形劑或穩定劑(均稱為「賦形劑」)混合而製備成凍乾調配物或水溶液以供儲存。例如緩衝劑、穩定劑、防腐劑、等

張劑(isotonifier)、非離子型清潔劑、抗氧化劑及其他混雜添加劑。(參見Remington's Pharmaceutical Sciences, 第16版, A. Osol編(1980))。該等添加劑在所用劑量及濃度下對接受者而言必須無毒。

緩衝劑有助於將pH值維持在接近生理條件之範圍內。其較佳以約2 mM至約50 mM範圍內之濃度存在。供本發明使用之合適緩衝劑包括有機酸與無機酸及其鹽, 諸如檸檬酸鹽緩衝劑(例如, 檸檬酸一鈉-檸檬酸二鈉混合物、檸檬酸-檸檬酸三鈉混合物、檸檬酸-檸檬酸一鈉混合物等)、琥珀酸鹽緩衝劑(例如, 琥珀酸-琥珀酸一鈉混合物、琥珀酸-氫氧化鈉混合物、琥珀酸-琥珀酸二鈉混合物等)、酒石酸鹽緩衝劑(例如酒石酸-酒石酸鈉混合物、酒石酸-酒石酸鉀混合物、酒石酸-氫氧化鈉混合物等)、反丁烯二酸鹽緩衝劑(例如, 反丁烯二酸-反丁烯二酸一鈉混合物等)、反丁烯二酸鹽緩衝劑(例如, 反丁烯二酸-反丁烯二酸一鈉混合物、反丁烯二酸-反丁烯二酸二鈉混合物、反丁烯二酸一鈉-反丁烯二酸二鈉混合物等)、葡糖酸鹽緩衝劑(例如, 葡糖酸-葡糖酸鈉混合物、葡糖酸-氫氧化鈉混合物、葡糖酸-葡糖酸鉀混合物等)、草酸鹽緩衝劑(例如, 草酸-草酸鈉混合物、草酸-氫氧化鈉混合物、草酸-草酸鉀混合物等)、乳酸鹽緩衝劑(例如, 乳酸-乳酸鈉混合物、乳酸-氫氧化鈉混合物、乳酸-乳酸鉀混合物等)及乙酸鹽緩衝劑(例如, 乙酸-乙酸鈉混合物、乙酸-氫氧化鈉混合物等)。此外, 可提及磷酸鹽緩衝劑、組胺酸緩衝劑及三甲胺鹽, 諸如Tris。

可添加防腐劑以阻止微生物生長且其可以0.2%-1% (w/v)範圍內之量添加。供本發明使用之合適防腐劑包括苯酚、苜醇、間甲酚、對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯、氯化十八基二甲基苜基銨、苯二甲羥銨鹵化物(benzalconium halide)(例如，氯化物、溴化物及碘化物)、氯化六煙季銨(hexamethonium chloride)、對羥基苯甲酸烷酯(諸如，對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯)、兒茶酚、間苯二酚、環己醇及3-戊醇。

可添加等張劑(有時稱為「穩定劑」)以確保本發明之液體組合物之等張性且其包括多羥基糖醇，較佳三羥基或更高羥基糖醇，諸如甘油、赤藻糖醇、阿拉伯糖醇、木糖醇、山梨糖醇及甘露糖醇。

穩定劑係指一大類賦形劑，其在功能上可在增積劑至使治療劑溶解或有助於防止變性或與容器壁黏著之添加劑的範圍內。典型穩定劑可為多羥基糖醇(上文列舉)；胺基酸，諸如精胺酸、離胺酸、甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、丙胺酸、鳥胺酸、L-白胺酸、2-苜丙胺酸、麩胺酸、蘇胺酸等；有機糖或糖醇，諸如乳糖、海藻糖、水蘇糖、甘露糖醇、山梨糖醇、木糖醇、核糖醇、肌醇(myoinisitol)、半乳糖醇、甘油及其類似物，包括環醇(cyclitol)，諸如纖維醇(inositol)；聚乙二醇；胺基酸聚合物；含硫還原劑，諸如尿素、麩胱甘肽、硫辛酸(thioctic acid)、硫代乙酸鈉、硫代甘油、 α -單硫代甘油及硫代硫酸鈉；低分子量多肽(亦即<10個殘基)；蛋白質，諸如人類

血清白蛋白、牛血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啉酮；單醣，諸如木糖、甘露糖、果糖、葡萄糖；雙醣，諸如乳糖、麥芽糖、蔗糖；及三醣，諸如棉子糖；及多醣，諸如葡聚糖。穩定劑可在每重量份活性蛋白質0.1至10,000重量之範圍內存在。

可添加非離子型界面活性劑或清潔劑(亦稱為「濕潤劑」)以助於使治療劑溶解以及保護治療蛋白質免於發生攪動誘發之聚集，其亦允許調配物暴露於承受應力之剪切面而不引起蛋白質變性。合適非離子型界面活性劑包括聚山梨醇酯(20、80等)、泊洛沙姆(polyoxamer)(184、188等)、Pluronic.RTM.多元醇、聚氧乙烯脫水山梨糖醇單醚(Tween.RTM.-20、Tween.RTM.-80等)。非離子型界面活性劑可在約0.05 mg/ml至約1.0 mg/ml，較佳約0.07 mg/ml至約0.2 mg/ml之範圍內存在。

其他混雜賦形劑包括增積劑(例如，澱粉)、螯合劑(例如，EDTA)、抗氧化劑(例如，抗壞血酸、甲硫胺酸、維生素E)及共溶劑。如為所治療之特定適應症所需，本文中之調配物亦可含有一種以上活性化合物，較佳為具有不會對彼此產生不利影響之互補活性的活性化合物。舉例而言，可能需要進一步提供免疫抑制劑。該等分子適當地以有效達成預期目的之量組合存在。亦可將活性成份包埋於(例如)藉由凝聚(coascervation)技術或藉由界面聚合而製備之微膠囊(分別例如羥甲基纖維素或明膠-微膠囊及聚(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊)、膠狀藥物傳遞系統(例如，脂質體、白

蛋白微球體、微乳液、奈米粒子及奈米膠囊)或巨乳液中。該等技術揭示於 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第16版, A. Osal編(1980)中。

待用於活體內投藥之調配物必須無菌。此易於(例如)藉由經由無菌過濾膜過濾來實現。可製備持續釋放製劑。持續釋放製劑之合適實例包括含有抗體或其抗體變異體或片段(例如, 抗原結合片段)之固體疏水性聚合物之半透性基質, 該等基質呈成形物件之形式, 例如膜或微膠囊。持續釋放基質之實例包括聚酯、水凝膠(例如, 聚(2-羥乙基-甲基丙烯酸酯)或聚(乙烯醇))、聚交酯(美國專利第3,773,919號)、L-麩胺酸與乙基-L-麩胺酸酯之共聚物、不可降解之乙烯-乙酸乙烯酯、可降解之乳酸-乙醇酸共聚物(諸如, LUPRON DEPOT™)(由乳酸-乙醇酸共聚物與乙酸亮丙立德(leuprolide acetate)組成之可注射微球體)及聚-D-(-)-3-羥基丁酸。雖然聚合物(諸如, 乙烯-乙酸乙烯酯及乳酸-乙醇酸)使分子能夠經100天釋放, 但某些水凝膠經較短時期釋放蛋白質。當經囊封抗體長時間保留於體內時, 其可能因暴露於37°C下之濕度而變性或聚集, 導致生物活性喪失且可能使免疫原性發生變化。視所涉及之機制而定, 可設計合理策略以達成穩定化。舉例而言, 若發現聚集機制係經由巰基-二硫化物互換而形成分子間S-S鍵, 則穩定化可藉由改變巰基殘基、自酸性溶液凍乾、控制水分含量、使用合適添加劑及開發特定聚合基質組合物來達成。

用於預防或治療眼睛疾病或病狀之本發明之化合物通常

藉由眼睛、眼內及/或玻璃體內注射及/或近鞏膜注射(juxtасcleral injection)及/或結膜下注射(subtenon injection)及/或脈絡膜上注射(superchoroidal injection)及/或局部投藥以滴眼劑及/或軟膏形式投與。該等本發明之化合物可藉由多種方法傳遞，例如經玻璃體內作為允許化合物緩慢釋放至玻璃體中之裝置及/或儲存物投與，包括諸如 Intraocular Drug Delivery, Jaffe, Jaffe, Ashton 及 Pearson編輯，Taylor & Francis(2006年3月)之參考文獻中描述的彼等方法。在一實例中，裝置可呈經較長時間段釋放化合物之微型泵及/或基質及/或被動擴散系統及/或囊封細胞的形式(Intraocular Drug Delivery, Jaffe, Jaffe, Ashton 及 Pearson編輯，Taylor & Francis(2006年3月))。亦可使用其他投藥方法，包括(但不限於)局部、非經腸、皮下、腹膜內、肺內、鼻內及病灶內投藥。非經腸輸液包括肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內或皮下投藥。

用於眼睛、眼內或玻璃體內投藥之調配物可藉由此項技術中已知之方法及使用此項技術中已知之成份來製備。有效治療之主要要求為適當穿透眼睛。不同於眼睛前部之疾病(其中藥物可局部傳遞)，視網膜疾病需要更具位點特異性之方法。滴眼劑及軟膏很少穿透眼睛後部，且血眼障壁阻礙全身投與之藥物穿透至眼睛組織中。因此，用於藥物傳遞以治療視網膜疾病(諸如，AMD及CNV)之精選方法通常為直接玻璃體內注射。玻璃體內注射通常每隔一段時間重複進行，該時間間隔視患者病狀及所傳遞藥物之性質及

半衰期而定。對於眼內(例如，玻璃體內)穿透而言，通常較小尺寸之分子為較佳的。

對與補體相關之眼部病狀(諸如，AMD或CNV)之治療功效可藉由通常用於評估眼內疾病之各種終點來量測。舉例而言，可評估視力損失。可藉由例如(但不限於)以下方式來評估視力損失：量測最佳矯正視覺敏銳度(BCVA)自基線至所需時間點之平均變化(例如，其中BCVA係基於在4公尺之測試距離下的糖尿病性視網膜病早期治療研究(Early Treatment Diabetic Retinopathy Study，ETDRS)視覺敏銳度圖及評估)、量測與基線相比在所需時間點視覺敏銳度損失少於15個字母之受檢者的比例、量測與基線相比在所需時間點視覺敏銳度增加大於或等於15個字母之受檢者的比例、量測在所需時間點視覺敏銳度Snellen等效值為20/2000或更差之受檢者的比例、量測NEI視覺功能調查表、量測在所需時間點CNV之尺寸及CNV之滲漏量(例如，藉由螢光素血管攝影術)等。可進行眼睛評估，例如其包括(但不限於)(例如)執行眼部檢驗、量測眼內壓、評估視覺敏銳度、量測狹縫燈壓力、評估眼內炎症等。

將有效治療特定病症或病狀之治療性多肽、抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)之量將視該病症或病狀之性質而定且可藉由標準臨床技術確定。在可能的情況下，需要在人類中測試之前，首先在活體外且接著在適用動物模型系統中測定劑量反應曲線及本發明之醫藥組合物。

在一實施例中，治療性多肽、抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)之水溶液係藉由皮下注射投與。在另一實施例中，治療性多肽、抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)之水溶液係藉由玻璃體內注射投與。各劑量可在每公斤體重約0.5 μg 至約50 μg 或更佳每公斤體重約3 μg 至約30 μg 之範圍內。

皮下投藥之給藥時程可在一月一次至一天一次之間變化，其視大量臨床因素而定，該等臨床因素包括疾病類型、疾病嚴重程度及受檢者對治療劑之敏感性。

提供以下實施例僅為達成說明之目的且不欲以任何方式限制本發明之範疇。

本說明書中所引用之所有專利及參考文獻均以全文引用的方式明確併入本文中。

製造物件及套組

本發明之另一實施例為含有可用於治療、預防及/或診斷本發明之抗體或其變異體或其片段(例如，抗原結合片段)所靶向之病狀的物質之製造物件。舉例而言，本發明係關於一種含有可用於治療、預防及/或診斷與補體相關之病症之物質的製造物件。該製造物件包含容器及在該容器上或與該容器相關聯之標籤或包裝插頁。合適之容器包括(例如)瓶子、小瓶、注射器等。容器可由諸如玻璃或塑膠之各種材料形成。容器容納有效治療、預防及/或診斷與補體相關之病狀之組合物且可具有無菌接取口(舉例而言，該容器可為靜脈內溶液袋或具有可由皮下注射針刺穿

之塞子的小瓶)。組合物中之至少一種活性劑為本發明之抗因子D抗體或其片段(例如，抗原結合片段)。標籤或包裝插頁指示該組合物可用於治療、預防及/或診斷特定病狀。

包裝插頁係指通常包括在治療產品之商業包裝內的說明書，其含有關於適應症、用法、劑量、投藥、禁忌症及/或關於該等治療產品使用之警告的資訊。在一實施例中，標籤或包裝插頁指示組合物用於治療與補體相關之病症，諸如先前所列之任何病狀，包括眼部病症，例如年齡相關之黃斑變性(AMD)。標籤或包裝插頁將進一步包含用於向患者投與抗體組合物之說明書。

此外，製造物件可進一步包含第二容器，該容器包含醫藥學上可接受之緩衝劑，諸如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸鹽緩衝之生理食鹽水、林格氏溶液(Ringer's solution)及右旋糖溶液。其可進一步包括就商業及使用者觀點而言所需之其他物質，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

在另一實施例中，亦提供套組，該等套組可用於達成各種目的，例如治療、預防及/或診斷與補體相關之病症、與補體相關之溶血檢定、因子D多肽自細胞之純化或免疫沈澱。為分離及純化因子D多肽，該套組可含有偶聯至珠粒(例如，瓊脂糖珠粒)之抗因子D抗體。可提供含有用於在活體外(例如，在ELISA或西方墨點法中)偵測及量化因子D多肽之抗體的套組。如同製造物件般，該套組包含容

器及在該容器上或與該容器相關聯之標籤或包裝插頁。該容器容納包含至少一種本發明之抗因子D抗體或其片段(例如，抗原結合片段)之組合物。可包括含有(例如)稀釋劑及緩衝劑、對照抗體之其他容器。標籤或包裝插頁可提供組合物描述以及關於預期活體外或偵測用途之說明書。標籤或包裝插頁可提供關於向受檢者投與(例如，抗體或其抗體片段(例如，抗原結合片段))之說明書。

人類化抗體之用途

本發明之人類化抗體或其片段(例如，抗原結合片段)或其變異體可用於診斷檢定中，例如用於偵測特定細胞、組織或血清中所關注標靶之表現。對於診斷應用而言，抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)通常將經可偵測部分標記。可利用多種標記。上文描述用於量化螢光變化的技術。化學發光受質藉由化學反應電子激發且接著可發出可(例如，使用化學發光計)量測之光或向螢光受體供予能量。酶標記之實例包括螢光素酶(例如，螢光蟲螢光素酶及細菌螢光素酶；美國專利第4,737,456號)、螢光素、2,3-二氫酞嗪二酮、蘋果酸脫氫酶、脲酶、過氧化物酶(諸如，辣根過氧化物酶(HRPO))、鹼性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、葡糖澱粉酶、溶菌酶、醣類氧化酶(例如，葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶及葡萄糖-6-磷酸脫氫酶)、雜環氧化酶(諸如，尿酸酶及黃嘌呤氧化酶)、乳過氧化物酶、微過氧化物酶及其類似物。用於使酶與抗體接合之技術描述於O'Sullivan等人，Methods for the Preparation of

Enzyme-Antibody Conjugates for Use in Enzyme Immunoassay、Methods in Enzym.(J. Langone 及 H. Van Vunakis 編), Academic press, New York, 73: 147-166(1981) 中。

有時，可使標記與抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)間接接合。熟習此項技術者將知道用於實現此舉之各種技術。舉例而言，可使抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)與生物素接合且可使上文所提及之三大類標記中之任一者與抗生物素蛋白接合，或可使抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)與抗生物素蛋白接合且可使上文所提及之三大類標記中之任一者與生物素接合。生物素選擇性地與親和素結合，且因此以此間接方式可使標記與抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)接合。或者，為實現標記與抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)之間接接合，使抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)與小的半抗原(例如，地高辛(digloxin))接合且使上文所提及之不同類型標記之一與抗半抗原抗體或其抗體變異體(例如，抗地高辛抗體)或其片段(例如，抗原結合片段)接合。因此，可實現標記與抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)之間接接合。

在本發明之另一實施例中，抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)無需標記，且其存在可使用結合該抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)之

經標記抗體來偵測。

本發明之抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)可用於已知之檢定法，諸如競爭性結合檢定、直接及間接夾心式檢定及免疫沈澱檢定。Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques，第147-158頁(CRC Press, Inc. 1987)。

競爭性結合檢定依賴於經標記標準物與測試樣品競爭與有限量之抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)結合的能力。測試樣品中標靶之量與結合抗體之標準物之量成反比。為便於測定結合之標準物之量，一般使抗體在競爭之前或之後不溶解。因此，可便利地將與抗體結合之標準物及測試樣品與仍未結合之標準物及測試樣品分離。

夾心式檢定包含使用兩個抗體或其片段(例如，抗原結合片段)，各抗體能夠與不同免疫原性部分或抗原決定基或待偵測之蛋白質結合。在夾心式檢定中，待分析之測試樣品由固定於固體支撐物上之第一抗體結合，且此後第二抗體與測試樣品結合，因此形成不溶性三部分複合物。參見例如美國專利第4,376,110號。第二抗體可自身經可偵測部分標記(直接夾心式檢定)或可使用經可偵測部分標記之抗免疫球蛋白抗體來量測(間接夾心式檢定)。舉例而言，一種類型之夾心式檢定為ELISA檢定，在此狀況下可偵測部分為酶。

對於免疫組織化學，腫瘤樣品可為新鮮的或冷凍的或例

如可包埋於石蠟中且用諸如福馬林(formalin)之防腐劑固定。

抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)亦可用於活體內診斷檢定。一般而言，抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)經放射性核苷酸(諸如， ^{111}In 、 ^{99}Tc 、 ^{14}C 、 ^{131}I 、 ^3H 、 ^{32}P 或 ^{35}S)標記，以便可使用免疫閃爍攝影術定位腫瘤。舉例而言，本發明之高親和力抗IgE抗體可用以偵測(例如)哮喘患者之肺中存在之IgE之量。

本發明之抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)可提供於套組(亦即預定量之試劑與用於執行診斷檢定之說明書的包裝組合)中。在抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)經酶標記的情況下，套組可包括受質及該酶所需之輔因子(例如，提供可偵測發色團或螢光團之受質前驅體)。此外，可包括其他添加劑，諸如穩定劑、緩衝劑(例如，阻斷緩衝劑或溶解緩衝劑)及其類似物。各種試劑之相對量可廣泛變化以提供於實質上使檢定靈敏度最佳之試劑溶液中之濃度。詳言之，試劑可提供為乾燥粉末，通常為凍乾粉末，包括一經溶解即提供具有合適濃度之試劑溶液的賦形劑。

抗體之活體內用途

預期本發明之抗體或其變異體或其片段(例如，抗原結合片段)可用以治療哺乳動物。在一實施例中，向非人類哺乳動物投與抗體或其變異體以達成(例如)獲得臨床前資

料之目的。待治療之例示性非人類哺乳動物包括非人類靈長類動物、狗、貓、齧齒動物及執行臨床前研究之其他哺乳動物。該等哺乳動物可為針對待用抗體或其變異體治療之疾病而言已確立之動物模型或可用以研究所關注之抗體之毒性。在此等實施例之每一者中，可對哺乳動物執行劑量放大研究。

抗體或其變異體或其片段(例如，抗原結合片段)或多肽藉由任何合適之方法投與，該等方法包括非經腸、皮下、腹膜內、肺內及鼻內，及局部免疫抑制劑治療所需之病灶內投與。非經腸輸液包括肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內或皮下投藥。此外，抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)適當地藉由脈衝輸液，尤其以降低劑量之抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)投與。給藥較佳藉由注射進行，最佳靜脈內或皮下注射，部分地視投藥為短期的抑或長期的而定。

為預防或治療疾病，抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)或多肽之合適劑量將視待治療之疾病類型、疾病之嚴重程度及病程、抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)係出於預防目的抑或治療目的投與、先前療法、患者病史及對抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)之反應及主治醫師之判斷而定。

視疾病類型及嚴重程度而定，約0.1 mg/kg至150 mg/kg(例如，0.1-20 mg/kg)之抗體或其抗體變異體或其片段(例

如，抗原結合片段)為向患者投與之初始候選劑量，例如藉由一或多次單獨投藥或藉由連續輸液。視以上所提及之因素而定，典型日劑量可在約1 mg/kg至100 mg/kg或更高之範圍內。對於經數天或更長時間重複投藥而言，視病狀而定，持續治療直至出現對疾病症狀之所需抑制為止。然而，其他給藥方案可為適用的。此療法之進程易於藉由習知技術及檢定監控。例示性給藥方案揭示於WO 94/04188中。

抗體組合物可以符合優良醫學規範之方式進行調配、給藥及投藥。在此背景下考慮之因素包括所治療之特定病症、所治療之特定哺乳動物、個別患者之臨床病狀、病症之起因、藥劑之傳遞位點、投藥方法、投藥時程及從業醫生已知之其他因素。待投與之抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)之「治療有效量」將由該等考慮因素決定且為預防、改善或治療疾病或病症所需之最小量。抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)不必但視情況與當前用以預防或治療所討論之病症之一或多種藥劑一起調配。該等其他藥劑之有效量視存在於調配物中之抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)之量、病症或治療之類型及以上所討論之其他因素而定。此等量一般以與上文所用相同之劑量及投藥途徑來使用或為約迄今所用劑量之1至99%。

識別因子D作為標靶之本發明之抗體或其抗體變異體或其片段(例如，抗原結合片段)可用以治療補體介導之病

症。此等病症與過度或不受控制之補體活化相關聯。其包括：在心肺繞道手術期間之補體活化；歸因於急性心肌梗塞、動脈瘤、中風、出血性休克、壓傷、多器官衰竭、血量減少性休克及腸局部缺血後的局部缺血-再灌注之補體活化。此等病症亦可包括作為發炎病狀之疾病或病狀，諸如重度燒傷、內毒素血症、敗血性休克、成人呼吸窘迫症候群、血液透析、過敏性休克、重度哮喘、血管性水腫、克羅恩氏病、鎌狀細胞性貧血、鏈球菌感染後絲球體腎炎及胰腺炎。病症可為不良藥物反應、藥物過敏、IL-2誘發之血管滲漏症候群或放射攝影顯影劑過敏引起。其亦包括自體免疫疾病，諸如全身性紅斑狼瘡、重症肌無力、類風濕性關節炎、阿茲海默氏症及多發性硬化症。補體活化亦與移植排斥反應有關。近來展示補體活化與眼睛疾病之間存在密切相關性，該等眼睛疾病諸如年齡相關之黃斑變性、糖尿病性視網膜病及其他局部缺血相關之視網膜病、脈絡膜新生血管(CNV)、葡萄膜炎、糖尿病性黃斑水腫、病理性近視、逢希伯-林道疾病、眼睛之組織漿菌病、視網膜中央靜脈阻塞(CRVO)、角膜新生血管及視網膜新生血管。

實例

以說明之方式而非限制之方式提供以下實例。除非另外指示，否則實例中提及之市售試劑係根據製造商之說明書使用。在以下實例及整篇說明書中，由ATCC寄存編號鑑別之彼等細胞之來源為美國菌種保存中心(American Type

Culture Collection), 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209。

實例 1：抗因子 D Ab 之修飾

為鑑別具有商業所需特徵(諸如，製造及產生期間或為達成分析特徵化之目的之均質性)之經修飾之抗因子 D 抗體及其變異體及其片段(例如，抗原結合片段)，使用定點突變誘發法來產生經修飾之人類化抗因子 D 抗體及其變異體及其片段(例如，抗原結合片段)。首先，將來自人類化抗因子 D Fab 純系 #111 之重鏈及輕鏈可變域(分別為 SEQ ID NO: 2 及 SEQ ID NO: 1)次選殖至表現質體中。其次，將編碼單一突變之寡核苷酸黏接至所得表現質體以引入定點突變。

最初，將人類化抗因子 D Fab 純系 #111 之重鏈及輕鏈可變域次選殖至質體 pAEP1(pAEP1 為一種用於在大腸桿菌中表現 Fab 抗體之質體)中，該次選殖致使在輕鏈可變域之位置 104(根據 Kabat 編號，參見圖 10)處引入纈胺酸(V)。

人類化抗因子 D Fab 純系 #111 之輕鏈可變域至 pAEP1 中之次選殖涉及兩個 DNA 片段之連接。第一片段為小 EcoRV/KpnI 片段已移除之 pAEP1 載體。第二片段為使用以下引子自人類化抗因子 D Fab 純系 #111 之輕鏈質體產生的約 300 鹼基對 EcoRV-KpnI PCR 片段：

5' - TTTCCCTTTGATATCCAGGTGACCCAGTCTCCATCCT-3' (SEQ ID NO: 67)

5' - TTTCCCTTTGGTACCCTGGCCAAACGTGTACGGCAAAGAATC-3' (SEQ ID NO: 68)。

人類化抗因子 D 純系 #111 之輕鏈可變域至 pAEP1 中之次選

殖在位置104處引入纈胺酸(V)，此係因為位置104處於限制酶位點EcoRV及KpnI下游2個胺基酸處，該等限制酶位點用以將人類化抗因子D純系#111之輕鏈可變域插入pAEP1中且因此插入pAEP1質體之主鏈中。此所得中間質體在本文中稱為「pAEP1-238-VL」。

人類化抗因子D純系#111之重鏈可變域至pAEP1-238-VL中之次選殖涉及兩個DNA片段之連接。第一片段為小BsiWI/PspOMI片段已移除之pAEP1-238-VL載體。第二片段為使用以下引子自人類化抗因子D Fab純系#111之重鏈質體產生的約364鹼基對BsiWI-PspOMI PCR片段：

5' - TTTGGGTTTCGTACGCTCAGGTCCAGCTGGTGCAATCTGGG-3' (SEQ ID NO: 69)

5' - TTTGGGTTTGGGCCCTTGGTGGAGGCTGAGGAGACGGTGACCAGGGT-3' (SEQ ID NO: 70)

兩個DNA片段之此連接產生人類化抗因子D Fab抗體變異體238(在本文中亦稱為「238」；質體在本文中稱為「p238」)之質體。

在人類化抗因子D#111之輕鏈及重鏈可變域次選殖後，使用定點PCR突變誘發使人類化抗因子D Fab抗體變異體238之可變重鏈之位置1(根據Kabat編號，參見圖1)處的麩醯胺酸(Q)突變成麩胺酸(E)，產生人類化抗因子D Fab抗體變異體238-1(本文中亦稱為「238-1」)。人類化抗因子D Fab抗體變異體238-1之質體(質體在本文中稱為「p238-1」)之構築涉及兩個DNA片段之連接。第一片段為小BsiWI/PspOMI片段已移除之p238載體。第二片段為使用以下引子自p238質體產生的約364鹼基對BsiWI-PspOMI PCR

片段：

5' - TTTGGGTTTCGTACGCTGAAGTCCAGCTGGTGCAATCTGGG-3' (SEQ ID NO: 71)

5' - TTTGGGTTTGGGCCCTTGGTGGAGGCTGAGGAGACGGTGACCAGGGT-3' (SEQ ID NO: 72)

兩個DNA片段之此連接產生人類化抗因子D Fab抗體變異體238-1(本文中亦稱為「238-1」；質體在本文中稱為「p238-1」)之質體，其包括位置1定點突變成麩胺酸(E)。發現此突變抑制人類化抗因子D Fab抗體變異體238-1中之麩醯胺酸(Q)部分轉化為焦麩胺酸(Amphlett, G. 等人，*Pharm. Biotechnol.*, 9:1-140 (1996))。

其他定點PCR突變誘發可用以使甲硫胺酸(M或Met)或色胺酸(W或Trp)殘基突變以防止氧化或使天冬醯胺(N或Asn)殘基突變以防止脫醯胺。為防止人類化抗因子D抗體之氧化變異體形成，可使(例如)輕鏈位置33處之甲硫胺酸(M或Met)突變成尺寸及疏水性與甲硫胺酸最相似但缺乏發生氧化之硫的白胺酸(L或Leu)，或者突變成異白胺酸(I或Ile)(Amphlett, G. 等人，*Pharm. Biotechnol.*, 9:1-140 (1996))。為防止人類化抗因子D抗體之脫醯胺變異體形成，可使(例如)輕鏈之位置34及52處及重鏈之位置99或100處的天冬醯胺(N或Asn)突變成在化學性質上與天冬醯胺(N或Asn)最相似之麩醯胺酸(Q或Gln)，或突變成在其他抗體中彼等位置上之常見取代之丙胺酸(A或Ala)或絲胺酸(S或Ser)(Amphlett, G. 等人，*Pharm. Biotechnol.*, 9:1-140 (1996))。

圖 1-2 展示人類化抗因子 D Fab 抗體變異體 238 之輕鏈可變域及重鏈可變域序列(分別為 SEQ ID No: 6 及 18)及人類化抗因子 D Fab 抗體變異體 238-1 之輕鏈可變域及重鏈可變域序列(分別為 SEQ ID NO: 7 及 19)。圖 4 及圖 6 展示人類化抗因子 D Fab 抗體變異體 238 之輕鏈及重鏈序列(分別為 SEQ ID NO: 47 及 54)。圖 8 及圖 10 展示人類化抗因子 D Fab 抗體變異體 238-1 之輕鏈及重鏈序列(分別為 SEQ ID NO: 61 及 63)。

BiaCore 資料展示人類化抗因子 D Fab 抗體變異體 238 對人類因子 D 之親和力以及純系 #111 之人類化抗因子 D 全長 mAb 型式(人類化抗因子 D 全長 mAb 234)(本文中稱為「234」或「抗因子 D 全長 mAb 234」或「人類化抗因子 D 全長 MAb 234」)之親和力(表 2)。亦在溶血抑制檢定中測試人類化抗因子 D Fab 抗體變異體 238 及 238-1(圖 11)以評估對替代途徑之抑制(參見實例 3)。

實例 2：AP 溶血檢定

使用利用去除 C1q 之人類血清的溶血抑制檢定及 BiaCore 分析(參見下文實例 3)測定經修飾之抗因子 D Ab 之生物功能。如下執行溶血檢定。

為測定替代途徑活性，將兔紅血球(Er, Colorado Serum)在 GVB 中洗滌 3 次且再懸浮至 $2 \times 10^9/\text{ml}$ 。將抑制劑(50 μl)及 20 μl Er 懸浮液與 GVB/0.1M EGTA/0.1M MgCl_2 1:1 混合。藉由添加去除 C1q 之人類血清(以避免經由經典途徑之任何補體活化)(CompTech; 30 μl , 1:3 稀釋於 GVB 中)引發補體

活化。在室溫下培育30分鐘後，添加200 μ l GVB/10 mM EDTA使反應停止且將樣品在500 g下離心5 min。藉由量測412 nm下之吸收率來測定200 μ l上清液中之溶血。資料表示為佔缺乏抑制劑之情況下引發之溶血的%。

圖11展示使用利用去除C1q之人類血清作為補體來源進行的兔紅血球溶血檢定，以下各者對替代途徑溶血之抑制：人類化抗因子D Fab純系#111($IC_{50}=4.7\pm0.6$ nM)、經修飾之抗因子D Fab 238($IC_{50}=6.4\pm0.6$ nM)及經修飾之抗因子D Fab 238-1($IC_{50}=3.5\pm0.5$ nM)。對照物為因子H(「人類fH」)(來自CompTech)及抗醣蛋白120(「xgp120」)抗體。

實例3：藉由BiaCore進行抗人類因子D Fab之動力學分析

藉由在BiaCore 3000與BiaCore A100兩種儀器上之表面電漿共振量測來測定人類因子D(Advanced Research, Inc.)與經固定之經修飾之抗因子D Fab 238(本文中稱為「238」；參見實例1)結合的動力學及親和力常數。對於表2中作為「BiaCore 3000/BiaCore A100」結果列出之值，在各儀器上進行單獨實驗，分析來自該等單獨實驗之資料以獲得動力學常數，且算出動力學常數之平均值以獲得表2中所示之值。或者，人類因子D結合之動力學及親和力常數可藉由固定人類因子D且量測mAb或Fab之結合來量測，可使用不同再生條件(例如，包含4M $MgCl_2$)來量測，及/或可使用不同結合緩衝劑(例如，包含PBS)來量測。亦分析純系#111之人類化抗因子D全長mAb型式(本文中稱為「234」或「抗因子D全長mAb 234」或「人類化抗因子D

全長 mAb 234」)。

1. 固定

使用由製造商供應之標準方案，經由胺偶聯來固定 mAb 或 Fab。偶聯密度藉由調整所注射之 mAb 或 Fab 溶液的濃度或 pH 值來調節，以使得人類因子 D 之結合飽和的總信號在 50 與 150 共振單位 (RU) 之間。在所需量之 mAb 或 Fab 偶聯後，藉由注射乙醇胺來阻斷感應器晶片上之未反應之官能基。

2. 動力學分析

藉由注射濃度在 500 nM 至 0.98 nM 之間以 2 倍增量變化的一系列人類因子 D 溶液之 60 μ L 等分試樣進行結合實驗。所有樣品均在由 150 mM NaCl、0.01% Tween-20 及以下緩衝劑組份之一構成的電泳緩衝液中稀釋：(a) pH 7.2 (10 mM HEPES (4-(2-羥乙基)-1-哌嗪乙烷磺酸))；(b) pH 6.0 (10 mM MES (2-[N-嗎啉基]乙烷磺酸))；或 pH 5.0 (10 mM 乙酸鈉)。流動速率為 30 μ L/min 且針對所測試之人類因子 D 之每一濃度，監測解離，歷時 10 分鐘。自感應圖中減去針對在參考單元 (reference cell) (經乙醇胺阻斷) 上注射相同溶液所觀測到之信號 (感應圖)。在感應圖之間，藉由注射 30 μ L 4 M $MgCl_2$ 以引起保持與經固定抗體結合之任何人類因子 D 解離來使表面再生。自人類因子 D 感應圖中減去針對在感應器晶片表面上僅注射緩衝劑所記錄之對照感應圖。根據 1:1 朗繆爾 (Langmuir) 結合模型使用 BIAevaluation 軟體 v4.1 藉由非線性回歸分析此等資料。動力學及親和力常數提供

於下表 2 中。BiaCore 技術受到限制且不能精確量測過快之結合速率(亦即， K_D 值小於約 10 pM)(Safsten 等人，*Anal. Biochem.*, 353: 181 (2006))。

表 2：BiaCore 結果

Fab 或抗體	$K_a(M^{-1}s^{-1})$	$K_d(s^{-1})$	$K_D(M)$
經修飾之抗因子 D Fab 238 (pH 7.2；A100)	1.5×10^8	1.7×10^{-4}	1.0×10^{-12} (1.0 pM $\pm$ 0.05)
經修飾之抗因子 D Fab 238 (pH 7.2；3000/A100)	$8.4 \pm 9 \times 10^8$	$1.4 \pm 1.7 \times 10^{-3}$	1.4×10^{-12} (1.4 pM $\pm$ 0.5)
經修飾之抗因子 D Fab 238 (pH 6；3000)	1.9×10^6	3.6×10^{-4}	0.19×10^{-9} (0.19 nM $\pm$ 0.01)
經修飾之抗因子 D Fab 238 (pH 5；A100)	1.2×10^6	0.02	12.3×10^{-9} (12.3 nM $\pm$ 2)
抗因子 D 全長 mAb 234 (pH 7.2；A100)	1.9×10^8	1.3×10^{-4}	0.7×10^{-12} (0.7 pM $\pm$ 0.04)
抗因子 D 全長 mAb 234 (pH 7.2；3000/A100)	$9.5 \pm 10 \times 10^8$	$1.3 \pm 1.7 \times 10^{-3}$	1.1×10^{-12} (1.1 pM $\pm$ 0.6)
抗因子 D 全長 mAb 234 (pH 6；3000)	2.8×10^6	2.2×10^{-4}	$.08 \times 10^{-9}$ (0.08 nM $\pm$ 0.01)
抗因子 D 全長 mAb 234 (pH 5；A100)	2.2×10^6	2.0×10^{-2}	9×10^{-9} (9.0 nM $\pm$ 1.0)

實例 4：在變化之因子 D 濃度下之 AP 溶血檢定

在三種血清濃度之因子 D 存在下，使用利用去除 C1q 之人類血清進行之溶血抑制檢定及 BiaCore 分析(參見上文實例 2)測定經修飾之抗因子 D 抗體(包括抗因子 D Fab 238)的生物功能。

在針對因子 D 之定量 ELISA 中分析去除 C1q 之人類血清 (CompTech)以及來自 AMD 患者之眼睛的玻璃體液及布魯赫氏膜 (Bruch's membrane) 組織(經由與 the Cole Eye Institute(Cleveland, OH)合作獲得)。去除 C1q 之血清中因

子D之濃度為97 nM，而來自AMD患者之玻璃體液及布魯赫氏膜組織中之含量為 16.2 ± 10.3 nM(平均值 $\pm$ SD， $n=10$)。

藉由在磷酸鹽緩衝之生理食鹽水(PBS)中將抗人類補體因子D山羊多株抗體(R & D Systems, Minneapolis, MN)稀釋至1 μ g/mL且在4°C下培育隔夜期間將該抗因子D多株抗體(R & D Systems, Minneapolis, MN)塗布至384孔ELISA培養盤(高結合培養盤；Greiner Bio One，經由VWR International, Bridgeport, NJ)上，來執行定量因子D ELISA。在用洗滌緩衝液(PBS/0.05% Tween-20)洗滌3次之後，將該等培養盤用PBS/0.5%牛血清白蛋白(BSA)阻斷1-2小時。此及所有其他培育均係在室溫下在回轉式震盪器上執行。在PBS/0.5% BSA/0.05% Tween-20中製備15.6-1,000 pg/ml之範圍內的因子D(Complement Technology, Inc., Tyler, Texas)之標準曲線。將經預先稀釋以在標準曲線之高、中及低區定量之冷凍對照樣品融解。使用檢定稀釋劑(PBS/0.5% BSA/0.5% Tween-20)稀釋去除C1q之人類血清及人類玻璃體液及布魯赫氏膜溶解產物樣品。阻斷步驟後，將該等培養盤洗滌，且添加經稀釋之樣品(血清、玻璃體液及布魯赫氏膜之溶解產物)、標準物及對照物且將其培育2小時。培育2 h後，將培養盤洗滌，且在與經生物素標記之抗因子D單株抗體(純系9G7.1.16，在Genentech產生，稀釋至62.5 ng/ml)一起培育1至2 h期間偵測經結合之因子D，接著與抗生蛋白鏈菌素-辣根過氧化物酶(SA-

HRP)-(Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ)一起培育30 min, 在檢定稀釋劑中1/10,000稀釋。在最終洗滌步驟後, 添加四甲基聯苯胺 (Kirkegaard & Perry Laboratories, Inc., Gaithersburg, MD)且顯色5至7 min。藉由添加1M磷酸使反應終止。使用微定量盤讀取器(450 nm, 650 nm參考)讀取光學密度且由標準曲線之四參數擬合計算樣品濃度。人類玻璃體液及布魯赫氏膜溶解產物樣品中因子D之最小可定量濃度分別為780 pg/mL(1/50最小稀釋)及156 pg/mL(1/10最小稀釋)。

為測定在與來自AMD患者眼睛之玻璃體液及布魯赫氏膜組織中觀測到之因子D濃度類似的因子D濃度存在下使用經修飾之抗因子D Fab 238抑制替代補體途徑之 IC_{50} 及 IC_{90} 值, 使用10%去除C1q之血清(9.7 nM因子D)或使用補充有額外因子D(CompTech)以獲得代表在來自AMD患者眼睛之玻璃體液及布魯赫氏膜組織中觀測到之平均值(16.2 nM)或平均值 ± 1 SD(26.5 nM)濃度的因子D濃度之10%去除C1q之血清如實例2中所述執行溶血檢定。資料表示為佔缺乏抑制劑之情況下引發之溶血的%(圖12)。藉由抑制曲線之非線性回歸使用四參數擬合模型(KaleidaGraph, Synergy Software, Reading, PA), 針對三個重複實驗測定引起對溶血反應之50%及90%抑制之抗因子D Fab 238的濃度(分別為 IC_{50} 及 IC_{90} 值)。亦計算 IC_{50} 及 IC_{90} 值與因子D之相對濃度的莫耳比。平均 IC_{50} 及 IC_{90} 值及莫耳比展示於表3中。

表3：抗因子D Fab之IC₅₀及IC₉₀

因子D濃度(nM)	抗因子D Fab(238)			
	IC ₅₀		IC ₉₀	
	nM	莫耳比(IC ₅₀ /fD)	nM	莫耳比(IC ₉₀ /fD)
9.7(nM)	4.4±1.5	0.454	14.0±1.0	1.443
16.2(nM)	10.2±0.8	0.630	38.0±11.0	2.346
26.5(nM)	23.9±5.0	0.902	72.6±4.8	2.740

實例5：對替代途徑補體活化之抑制之持續時間

量測使用單次玻璃體內(IVT)注射2.5 mg劑量之抗因子D Fab 238抑制人眼中替代途徑(AP)補體活化之模擬持續時間(假定抗因子D Fab 238之半衰期($t_{1/2}$)為11.5天，基於自兔之種間類推)(實例13)。模擬資料係基於自新西蘭白兔(New Zealand white rabbit)中Fab 238之單次玻璃體內劑量之PK研究的類推。

為評估人類中抗因子D Fab 238之半衰期，計算兔中抗因子D 238之半衰期。向十二(12)隻新西蘭白兔每一眼睛中投與1 mg Fab 238之單一玻璃體內劑量。在以下時間點自指定數目之動物的兩個眼睛收集玻璃體液及視網膜組織樣品：在第4、24及96小時3隻動物(在此等時間點中之每一者n=6個樣品)及在第216小時1隻動物(在此時間點n=2個樣品)及在第240小時2隻動物(在此時間點n=4個樣品)。在因子D結合ELISA中量測眼睛基質中Fab 238之濃度。

使用單純彙集法用IV團式輸入模型(模型201, WinNonlin Pro 5.2.1版；Pharsight Corporation, Mountain View, CA)分析來自所有動物之玻璃體液濃度-時間資料以評估藥物動力學參數估算值，以提供一個3.83天之終末半衰期($T_{1/2}$)的估算值。視網膜分配係數係按照在所有時間點針對所有眼

睛取平均值之視網膜組織中濃度與玻璃體液中濃度之比率計算且等於0.24。使用針對蘭尼單抗(ranibizumab)所觀測到之相同類推因子，將玻璃體液之PK參數類推為人類。假定人眼具有4 mL之 V_1 ，人類中半衰期與兔中半衰期之比率假定為3，產生人類中11.5天之 $t_{1/2}$ 之估算值。此產生對與時間呈如下函數關係之玻璃體濃度及視網膜組織濃度的估算值：

$$\text{玻璃體濃度} = (\text{劑量} / V_1) * \exp([- \ln(2) / t_{1/2}] * \text{時間})$$

$$\text{視網膜組織濃度} = (\text{劑量} / V_1) * \exp([- \ln(2) / t_{1/2}] * \text{時間}) * (\text{視網膜分配係數})$$

在圖13中，該圖係針對2.5毫克/眼睛之單一ITV劑量產生，且代表自 $t=0$ 至 $t=112$ 天之時間。IC₉₀代表在如實例2及4中所示執行之溶血檢定中產生90%抑制作用的Fab 238之濃度，其中10%彙集之人類血清經補充至16.2 nM之因子D濃度。檢定結果為IC₉₀=38 nM Fab 238。為比較視網膜與玻璃體濃度，使用以下方程式進行莫耳至質量的轉換：

$$\text{IC}_{90} = 38 \times 10^{-9} \text{ 莫耳 / 公升}$$

$$\text{Fab 238之MW} = 50,000 \text{ 公克 / 莫耳}$$

$$\text{IC}_{90}(\mu\text{g/mL}) = (38 \times 10^{-9} \text{ 莫耳 / 公升}) \times (50 \times 10^3 \text{ 公克 / 莫耳}) = 1.9 \times 10^{-9} \text{ 公克 / 公升 或 } 1.9 \mu\text{g/mL}$$

如圖13中所示，「超過IC₉₀之天」評估為在2.5毫克/眼睛之單一ITV劑量後預測超過1.9 $\mu\text{g/mL}$ 之玻璃體或視網膜濃度的時間之量，且觀測為玻璃體或視網膜濃度之圖超過1.9 $\mu\text{g/mL}$ 之線的點。抗因子D Fab 238之單次IVT注射經評

估抑制視網膜組織中之AP補體活化至少約74天且抑制玻璃體液中之AP補體活化至少約97天。圖13中之虛線展示玻璃體內投藥後玻璃體液中之模擬抗因子D Fab 238濃度。圖13中之實線展示玻璃體內投藥後視網膜組織中之模擬抗因子D Fab 238濃度。玻璃體液中之濃度與視網膜組織中之濃度的差異係基於20%之視網膜組織分配係數之估算值；換言之，向玻璃體液投與之總藥物中有20%將進入視網膜組織。

僅僅使用常規實驗，熟習此項技術者將想到或能夠確定本文所述之本發明之特定實施例的多個等效物。該等等效物意欲為以下申請專利範圍所涵蓋。

雖然上文已出於清楚理解之目的藉助於說明及實例略為詳細地描述本發明，但不應將該等描述及實例解釋為限制本發明之範疇。本文中引用之所有專利及科學文獻之揭示內容以全文引用的方式明確地併入。

認為以上書面說明書足以使熟習此項技術者能夠實施本發明。本發明之範疇不受所寄存之構築體限制，此係因為所寄存之實施例意欲作為本發明之某些態樣之單一說明且功能等效之任何構築體均在本發明之範疇內。實際上，自上文描述，除本文中彼等所示及所述外的本發明之各種修改將為熟習此項技術者所顯而易見且在隨附申請專利範圍之範疇內。

【圖式簡單說明】

圖1A-1C展示以下各者之輕鏈可變域之序列及VL κ I一致

序列 (SEQ ID NO: 65) 的比對：人類化抗因子 D Fab 純系 #111 (SEQ ID NO: 1)、人類化抗因子 D Fab 238、238-1、238-2、238-3、238-4、238-5、238-6、238-7、238-8、238-9、238-10 及 238-11 (分別為 SEQ ID NO: 6-17)。位置係根據 Kabat 編號且將高變區 (根據 Kabat+Chothia HVR 定義) 用方框框出 (HVR：(1) 鑑別為 A1-A11 之 HVR-L1 (ITSTDIDDDMN (SEQ ID NO: 30)、ITSTDIDDDLN (SEQ ID NO: 31)、ITSTDIDDDIN (SEQ ID NO: 32)、ITSTDIDDDMA (SEQ ID NO: 33) 或 ITSTDIDDDMQ (SEQ ID NO: 34))；(2) 鑑別為 B1-B7 之 HVR-L2 (GGNTLRP (SEQ ID NO: 35)、GGSTLRP (SEQ ID NO: 36) 或 GGATLRP (SEQ ID NO: 37))；(3) 鑑別為 C1-C9 之 HVR-L3 (LQSDSLPYT (SEQ ID NO: 38)))。各人類化抗因子 D Fab 之胺基酸變化以粗體及斜體顯示；

圖 2A-2C 展示以下各者之重鏈可變域之序列及 VH 亞群 7 一致序列 (SEQ ID NO: 66) 的比對：人類化抗因子 D Fab 純系 #111 (SEQ ID NO: 2) 及人類化抗因子 D Fab 238、238-1、238-2、238-3、238-4、238-5、238-6、238-7、238-8、238-9、238-10 及 238-11 (分別為 SEQ ID NO: 18-29)。位置係根據 Kabat 編號且將高變區 (根據 Kabat+Chothia HVR 定義) 用方框框出 (HVR：(1) 鑑別為 D1-D10 之 HVR-H1 (GYTFTNYGMN (SEQ ID NO: 39))；(2) 鑑別為 E1-E19 之 HVR-H2 (WINTYTGETTYADDFKG (SEQ ID NO: 40))；(3) 鑑別為 F1-F6 之 HVR-H3 (EGGVNN (SEQ ID NO: 41)、

EGGVAN(SEQ ID NO: 42)、EGGVQN(SEQ ID NO: 43)、EGGVNA(SEQ ID NO: 44)或EGGVNQ(SEQ ID NO: 45)))。各人類化抗因子D Fab之胺基酸變化以粗體及斜體顯示；

圖3展示人類化抗因子D Fab 238之輕鏈之核苷酸序列(SEQ ID NO: 46)。該核苷酸序列編碼人類化抗因子D Fab 238之輕鏈，其中起始密碼子及終止密碼子以粗體展示且加下劃線。對應於圖4中之第一胺基酸(SEQ ID NO: 47)的密碼子以粗體及斜體顯示；

圖4展示人類化抗因子D Fab 238之輕鏈之胺基酸序列(SEQ ID NO: 47)。該胺基酸序列缺乏由圖3中所示之SEQ ID NO: 46編碼之多肽的N末端信號序列。HVR序列以粗體及斜體顯示。可變區為無下劃線之區域，而第一恆定域CL1加下劃線。展示構架(FR)區及HVR區：FR1-LC(SEQ ID NO: 48)、FR2-LC(SEQ ID NO: 49)、FR3-LC(SEQ ID NO: 50)、FR4-LC(SEQ ID NO: 51)、HVR1-LC(SEQ ID NO: 30(ITSTDIDDDMN))、HVR2-LC(SEQ ID NO: 35(GGNTLRP))、HVR3-LC(SEQ ID NO: 38(LQSDSLPYT))及CL1(SEQ ID NO: 52)；

圖5展示人類化抗因子D Fab 238之重鏈之核苷酸序列(SEQ ID NO: 53)。該核苷酸序列編碼人類化抗因子D Fab 238之重鏈，其中起始密碼子及終止密碼子以粗體展示且加下劃線。對應於圖6中之第一胺基酸(SEQ ID NO: 54)的密碼子以粗體及斜體顯示；

圖6展示人類化抗因子D Fab 238之重鏈之胺基酸序列

(SEQ ID NO: 54)。該胺基酸序列缺乏由圖5中所示之SEQ ID NO: 53編碼之多肽的N末端信號序列。HVR序列以粗體及斜體顯示。可變區為無下劃線之區域，而第一恆定域CH1加下劃線。展示構架(FR)區及HVR區：FR1-HC(SEQ ID NO: 55)、FR2-HC(SEQ ID NO: 56)、FR3-HC(SEQ ID NO: 57)、FR4-HC(SEQ ID NO: 58)、HVR1-HC(SEQ ID NO: 39(GYTFTNYGMN))、HVR2-HC(SEQ ID NO: 40(WINTYTGETTYADDFKG))、HVR3-HC(SEQ ID NO: 41(EGGVNN))及CH1(SEQ ID NO: 59)；

圖7展示人類化抗因子D Fab 238-1之輕鏈之核苷酸序列(SEQ ID NO: 60)。該核苷酸序列編碼人類化抗因子D Fab 238-1之輕鏈，其中起始密碼子及終止密碼子以粗體展示且加下劃線。對應於圖8中之第一胺基酸(SEQ ID NO: 61)的密碼子以粗體及斜體顯示；

圖8展示人類化抗因子D Fab 238-1之輕鏈之胺基酸序列(SEQ ID NO: 61)。該胺基酸序列缺乏由圖7中所示之SEQ ID NO: 60編碼之多肽的N末端信號序列。HVR序列以粗體及斜體顯示。可變區為無下劃線之區域，而第一恆定域CL1加下劃線。展示構架(FR)區及HVR區：FR1-LC(SEQ ID NO: 48)、FR2-LC(SEQ ID NO: 49)、FR3-LC(SEQ ID NO: 50)、FR4-LC(SEQ ID NO: 51)、HVR1-LC(SEQ ID NO: 30(ITSTDIDDDMN))、HVR2-LC(SEQ ID NO: 35(GGNTLRP))、HVR3-LC(SEQ ID NO: 38(LQSDSLPYT))及CL1(SEQ ID NO: 52)；

圖9展示人類化抗因子D Fab 238-1之重鏈之核苷酸序列 (SEQ ID NO: 62)。該核苷酸序列編碼人類化抗因子D Fab 238-1之重鏈，其中起始密碼子及終止密碼子以粗體展示且加下劃線。對應於圖10中之第一胺基酸 (SEQ ID NO: 63) 的密碼子以粗體及斜體顯示；

圖10展示人類化抗因子D Fab 238-1之重鏈之胺基酸序列 (SEQ ID NO: 63)。該胺基酸序列缺乏由圖9中所示之SEQ ID NO: 62編碼之多肽的N末端信號序列。HVR序列以粗體及斜體顯示。可變區為無下劃線之區域，而第一恆定域CH1加下劃線。展示構架 (FR) 區及HVR區：FR1-HC (SEQ ID NO: 64)、FR2-HC (SEQ ID NO: 56)、FR3-HC (SEQ ID NO: 57)、FR4-HC (SEQ ID NO: 58)、HVR1-HC (SEQ ID NO: 39 (GYTFTNYGMN))、HVR2-HC (SEQ ID NO: 40 (WINTYTGETTYADDFKG))、HVR3-HC (SEQ ID NO: 41 (EGGVNN))及CH1 (SEQ ID NO: 59)；

圖11展示人類化抗因子D Fab純系#111及人類化抗因子D Fab 238及238-1之溶血檢定結果，展示對替代補體活性之抑制。展示IC₅₀值；

圖12展示在因子D之三種血清濃度 (9.7 nM、16.2 nM及26.5 nM) 下人類化抗因子D Fab 238之溶血檢定結果，展示對替代途徑 (AP) 補體活性之抑制。表3展示對應於因子D之三種血清濃度的IC₅₀ (nM) 及IC₉₀ (nM) 值 (值表示三個重複實驗之平均值)。抗體與標靶因子D之莫耳比亦展示於表3中；及

圖13展示使用單次玻璃體內(IVT)注射2.5 mg劑量之抗因子D Fab 238抑制人眼中替代途徑(AP)補體活化之模擬持續時間(假定抗因子D Fab 238之半衰期($t_{1/2}$)=11.5天，基於自兔之種間類推)。抗因子D Fab 238之單次IVT注射經評估抑制視網膜組織中之AP補體活化至少約74天且抑制玻璃體液中之AP補體活化至少約97天。在圖13中，虛線展示玻璃體內投藥後玻璃體液中之模擬抗因子D Fab 238濃度。在圖13中，實線展示玻璃體內投藥後視網膜組織中之模擬抗因子D Fab 238濃度。玻璃體液中之濃度與視網膜組織中之濃度的差異係基於20%之視網膜組織分配係數之估算值；換言之，向玻璃體液投與之總藥物中有20%將進入視網膜組織。

序列表

<110> 美商建南德克公司

<120> 人類化之抗因子 D 抗體及其用途

<130> P4188R1

<140> 098113922

<141> 2009-04-27

<150> US 61/048,431

<151> 2008-04-28

<150> US 61/048,689

<151> 2008-04-29

<160> 74

<210> 1

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人類化純系#111之輕鏈可變域

<400> 1

Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp
20 25 30

Asp Asp Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys
35 40 45

Leu Leu Ile Ser Gly Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
80 85 90

Ser Asp Ser Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu
95 100 105

Ile Lys

<210> 2

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人類化純系#111之重鏈可變域

<400> 2

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly
1 5 10 15

Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
20 25 30

Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
35 40 45

Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr
50 55 60

Ala Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser
65 70 75

Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp

	80		85		90
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				95	
				Glu	Arg
				Glu	Gly
				100	
				Gly	Val
				Asn	Asn
				Trp	
				105	
Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
				110	
				Thr	Val
				Ser	Ser
				115	

<210> 3
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 序列經合成 (FR3來自VH受體人類構架)

<400> 3
 Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu
 1 5 10 15
 Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30
 Ser

<210> 4
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 序列經合成 (FR3來自VH受體人類構架)

<400> 4
 Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu
 1 5 10 15
 Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30
 Ser Arg

<210> 5
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 序列經合成 (FR4來自VL受體人類構架)

<400> 5
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 5 10

<210> 6
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238之輕鏈可變域

<400> 6
 Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
 1 5 10 15
 Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp
 20 25 30
 Asp Asp Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys
 35 40 45
 Leu Leu Ile Ser Gly Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser

50	55	60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile		
65	70	75
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln		
80	85	90
Ser Asp Ser Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu		
95	100	105
Ile Lys		

<210> 7
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-1之輕鏈可變域

<400> 7
Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15
Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp
20 25 30
Asp Asp Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys
35 40 45
Leu Leu Ile Ser Gly Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
80 85 90
Ser Asp Ser Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
95 100 105
Ile Lys

<210> 8
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-2之輕鏈可變域

<400> 8
Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15
Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp
20 25 30
Asp Asp Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys
35 40 45
Leu Leu Ile Ser Gly Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
80 85 90
Ser Asp Ser Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu

	95	100	105
Ile Lys			
<210> 9			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-3之輕鏈可變域			
<400> 9			
Asp	Ile	Gln	Val
1	5	10	15
Gly	Asp	Arg	Val
	20	25	30
Asp	Asp	Ile	Asn
	35	40	45
Leu	Leu	Ile	Ser
	50	55	60
Arg	Phe	Ser	Gly
	65	70	75
Ser	Ser	Leu	Gln
	80	85	90
Ser	Asp	Ser	Leu
	95	100	105
Ile Lys			

<210> 10			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-4之輕鏈可變域			
<400> 10			
Asp	Ile	Gln	Val
1	5	10	15
Gly	Asp	Arg	Val
	20	25	30
Asp	Asp	Met	Ala
	35	40	45
Leu	Leu	Ile	Ser
	50	55	60
Arg	Phe	Ser	Gly
	65	70	75
Ser	Ser	Leu	Gln
	80	85	90
Ser	Asp	Ser	Leu
	95	100	105
Ile Lys			
<210> 11			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> 人工序列			

<220>

<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-5之輕鏈可變域

<400> 11

Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp
20 25 30

Asp Asp Met Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys
35 40 45

Leu Leu Ile Ser Gly Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
80 85 90

Ser Asp Ser Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu
95 100 105

Ile Lys

<210> 12

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-6之輕鏈可變域

<400> 12

Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp
20 25 30

Asp Asp Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys
35 40 45

Leu Leu Ile Ser Gly Gly Ser Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
80 85 90

Ser Asp Ser Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu
95 100 105

Ile Lys

<210> 13

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-7之輕鏈可變域

<400> 13

Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp

The Lys

<210> 14

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-8之輕鏈可變域

<400> 14

Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp
20 25 30

Asp Asp Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys
35 40 45

Leu Leu Ile Ser Gly Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
80 85 90

Ser Asp Ser Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu
95 100 105

Ile Lys

<210> 15

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-9之輕鏈可變域

<400> 15

Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp
20 25 30

Asp Asp Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys
35 40 45

Leu Leu Ile Ser Gly Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile

	65		70		75
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln	80		85		90
Ser Asp Ser Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu	95		100		105

Ile Lys

<210> 16
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-10之輕鏈可變域

<400> 16	
Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val	15
1	5
Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp	30
	20
Asp Asp Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys	45
	35
Leu Leu Ile Ser Gly Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser	60
	50
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile	75
	65
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln	90
	80
Ser Asp Ser Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu	105
	95
	100

Ile Lys

<210> 17
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-11之輕鏈可變域

<400> 17	
Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val	15
1	5
Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp	30
	20
Asp Asp Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys	45
	35
Leu Leu Ile Ser Gly Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser	60
	50
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile	75
	65
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln	90
	80
Ser Asp Ser Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu	105
	95
	100

Ile Lys

<210> 18
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238之重鏈可變域

<400> 18
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly 15
1 5 10
Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr 30
20 25
Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu 45
35 40
Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr 60
50 55
Ala Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser 75
65 70
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp 90
80 85
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Glu Arg Glu Gly Gly Val Asn Asn Trp 105
95 100
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser 115
110

<210> 19
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-1之重鏈可變域

<400> 19
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly 15
1 5 10
Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr 30
20 25
Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu 45
35 40
Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr 60
50 55
Ala Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser 75
65 70
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp 90
80 85
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Glu Arg Glu Gly Gly Val Asn Asn Trp 105
95 100
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser 115
110

<210> 20
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-2之重鏈可變域

<400> 20
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly
 1 5 10 15
 Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30
 Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 35 40 45
 Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr
 50 55 60
 Ala Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser
 65 70 75
 Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp
 80 85 90
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Glu Arg Glu Gly Gly Val Asn Asn Trp
 95 100 105
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 110 115

<210> 21
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-3之重鏈可變域

<400> 21
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly
 1 5 10 15
 Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30
 Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 35 40 45
 Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr
 50 55 60
 Ala Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser
 65 70 75
 Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp
 80 85 90
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Glu Arg Glu Gly Gly Val Asn Asn Trp
 95 100 105
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 110 115

<210> 22
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-4之重鏈可變域

<400> 22
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly
 1 5 10 15
 Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30
 Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu

	35		40		45
Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr	50		55		60
Ala Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser	65		70		75
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp	80		85		90
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Glu Arg Glu Gly Gly Val Asn Asn Trp	95		100		105
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	110		115		

<210> 23
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-5之重鏈可變域

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly	1	5	10	15
Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr	20	25	30	
Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu	35	40	45	
Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr	50	55	60	
Ala Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser	65	70	75	
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp	80	85	90	
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Glu Arg Glu Gly Gly Val Asn Asn Trp	95	100	105	
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	110	115		

<210> 24
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-6之重鏈可變域

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly	1	5	10	15
Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr	20	25	30	
Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu	35	40	45	
Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr	50	55	60	
Ala Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser	65	70	75	
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp				

	80		85		90									
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Glu	Arg	Glu	Gly	Gly	Val	Asn	Asn	Trp
			95						100					105
Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser					
			110						115					

<210> 25
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-7之重鏈可變域

<400> 25
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly
 1 5 10 15
 Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30
 Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 35 40 45
 Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr
 50 55 60
 Ala Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser
 65 70 75
 Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp
 80 85 90
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Glu Arg Glu Gly Gly Val Asn Asn Trp
 95 100 105
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 110 115

<210> 26
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-8之重鏈可變域

<400> 26
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly
 1 5 10 15
 Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30
 Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 35 40 45
 Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr
 50 55 60
 Ala Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser
 65 70 75
 Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp
 80 85 90
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Glu Arg Glu Gly Gly Val Ala Asn Trp
 95 100 105
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 110 115

<210> 27

<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-9之重鏈可變域

<400> 27
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly
1 5 10 15
Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
20 25 30
Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
35 40 45
Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr
50 55 60
Ala Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser
65 70 75
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp
80 85 90
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Glu Arg Glu Gly Gly Val Gln Asn Trp
95 100 105
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
110 115

<210> 28
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-10之重鏈可變域

<400> 28
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly
1 5 10 15
Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
20 25 30
Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
35 40 45
Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr
50 55 60
Ala Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser
65 70 75
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp
80 85 90
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Glu Arg Glu Gly Gly Val Asn Ala Trp
95 100 105
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
110 115

<210> 29
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-11之重鏈可變域

<400> 29
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly

1	5	10	15
Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr	20	25	30
Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu	35	40	45
Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr	50	55	60
Ala Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser	65	70	75
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp	80	85	90
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Glu Arg Glu Gly Gly Val Asn Gln Trp	95	100	105
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	110	115	

<210> 30

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> #111及238至238-1、238-6至238-11之HVR-L1

<400> 30

Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp Met Asn

5

10

<210> 31

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-2之HVR-L1

<400> 31

Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp Leu Asn

5

10

<210> 32

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-3之HVR-L1

<400> 32

Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp Ile Asn

5

10

<210> 33

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-4之HVR-L1

<400> 33

Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp Met Ala

5

10

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-5之HVR-L1

<400> 34
Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp Asp Asp Met Gln
5 10

<210> 35
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> #111及238至238-5及238-8至238-11之HVR-L2

<400> 35
Gly Gly Asn Thr Leu Arg Pro
5

<210> 36
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-6之HVR-L2

<400> 36
Gly Gly Ser Thr Leu Arg Pro
5

<210> 37
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-7之HVR-L2

<400> 37
Gly Gly Ala Thr Leu Arg Pro
5

<210> 38
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> #111及238至238-11之HVR-L3

<400> 38
Leu Gln Ser Asp Ser Leu Pro Tyr Thr
5

<210> 39
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> #111及238至238-11之HVR-H1

<400> 39
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn
5 10

<210> 40
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> #111及238至238-11之HVR-H2

<400> 40
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
1 5 10 15

Lys Gly

<210> 41
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> #111及238至238-7之HVR-H3

<400> 41
Glu Gly Gly Val Asn Asn
5

<210> 42
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-8之HVR-H3

<400> 42
Glu Gly Gly Val Ala Asn
5

<210> 43
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-9之HVR-H3

<400> 43
Glu Gly Gly Val Gln Asn
5

<210> 44
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-10之HVR-H3

<400> 44
Glu Gly Gly Val Asn Ala
5

<210> 45
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-11之HVR-H3

<400> 45
Glu Gly Gly Val Asn Gln
5

<210> 46
<211> 714
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238之輕鏈域

<400> 46
 algaagaaga atattgcgtt cctacttgcc tctatgttgg tcttttctat 50
 agctacaaac gcgtatgctg atatccaggt gaccagictt ccatcctccc 100
 tgtctgcatc tglaggagac cgcgtcacca tcacttgcac taccagcact 150
 gataatgatg atgatatgaa ctggtatcag cagaaaccag ggaaagtccc 200
 taagctcctg atctctggag gcaatactct tcgtcctggg gtcccatctc 250
 gggttcagtgg cagtggtatc gggacagatt tcactctcac catcagcagc 300
 ctgcagcctg aagatgttgc aacttattac tgtttgcaa gttattcttt 350
 gccgtacacg ttggccagg glaccaaggt ggagatcaa cgaactgtgg 400
 ctgcaccatc tgccttcac tccccccat ctgatgagca gtgaaatct 450
 ggaactgcct ctgttgtgtg cctgtcgaat aactctatc ccagagaggc 500
 caaagtacag tggagggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg 550
 agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc 600
 accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg 650
 cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaag agcttcaaca 700
 ggggagagtg ttaa 714

<210> 47
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238之輕鏈域

<400> 47
 Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
 1 5 10 15
 Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp
 20 25 30
 Asp Asp Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys
 35 40 45
 Leu Leu Ile Ser Gly Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 65 70 75
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
 80 85 90
 Ser Asp Ser Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
 95 100 105
 Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
 110 115 120
 Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
 125 130 135
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
 140 145 150
 Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu
 155 160 165
 Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr

	170		175		180
Leu Ser Lys Ala	Asp Tyr Glu Lys His	Lys Val Tyr Ala Cys	Glu		
	185	190	195		
Val Thr His Gln Gly	Leu Ser Ser Pro	Val Thr Lys Ser Phe	Asn		
	200	205	210		
Arg Gly Glu Cys					

<210> 48
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238之輕鏈域之FR1-LC

<400> 48
Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15
Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 49
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238之輕鏈域之FR2-LC

<400> 49
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Ile Ser
1 5 10 15

<210> 50
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238之輕鏈域之FR3-LC

<400> 50
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
1 5 10 15
Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr
20 25 30

Tyr Cys

<210> 51
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238之輕鏈域之FR4-LC

<400> 51
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
5 10

<210> 52
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238至238-1之輕鏈域之CL1

<400> 52

```

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 1          5          10          15
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn
 20          25          30
Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
 35          40          45
Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
 50          55          60
Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
 65          70          75
Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr
 80          85          90
His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly
 95          100          105
Glu Cys

```

<210> 53

<211> 741

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238之重鏈域

<400> 53

```

atgaaaaaga atatcgcatl tcttcttgca tctatgttcg ttttttctat 50
tgctacaaac gcgtacgctc aggtccagct ggtgcaatct gggcctgagt 100
tgaagaagcc tggggcctca gtgaagggtt cctgcaaggc ttcctggatac 150
accttacta actatggaal gaactgggtg cgccaagccc ctggacaagg 200
gcttgagttg atgggatgga ttaacacctt cactggagag acaacatatg 250
ctgatgactt caaggacggg ttgtcttctt ccttggacac ctctgtcagc 300
acggcatatc tgcagatcag cagcctcaag gctgaggaca ctgccgtgtt 350
ttactgtgag cgcgaggggg gggtaataa ctggggccaa gggacccctg 400
tcaccgtctc ctacgcttcc accaaggggc catcgggtct ccccttgga 450
ccctcttcca agagcaccct tgggggcaca gcggcccttg gctgccttgt 500
caaggactac tttcccgaac cggtagcggg gtcgtggaac tcaggcgccc 550
tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcttacagtc ctcaggactc 600
tactccctca gcagcgttgt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca 650
gacctacatc tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aagggtggaca 700
agaaagltga gcccaaactt tgtgacaaaa ctacacata a 741

```

<210> 54

<211> 223

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238之重鏈域

<400> 54

```

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly

```

1	5	10	15
Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr	20	25	30
Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu	35	40	45
Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr	50	55	60
Ala Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser	65	70	75
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp	80	85	90
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Glu Arg Glu Gly Gly Val Asn Asn Trp	95	100	105
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly	110	115	120
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly	125	130	135
Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu	140	145	150
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val	155	160	165
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu	170	175	180
Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr	185	190	195
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp	200	205	210
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr	215	220	

<210> 55
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238之重鏈域之FR1-HC

<400> 55
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly
1 5 10 15
Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
20 25

<210> 56
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238之重鏈域之FR2-HC

<400> 56
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
5 10

<210> 57
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238之重鏈域之FR3-HC

<400> 57
Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu
1 5 10 15
Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30
Glu Arg

<210> 58
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238之重鏈域之FR4-HC

<400> 58
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
5 10

<210> 59
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238至238-1之重鏈域之CH1

<400> 59
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
20 25 30
Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
35 40 45
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
50 55 60
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
65 70 75
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
80 85 90
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
95 100 105
Thr His Thr

<210> 60
<211> 714
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-1之輕鏈域

<400> 60
atgaagaaga atattgcgtt cctacttgcc tctatgtttg tctttctat 50
agctacaac gcgtatgctg atatccaggt gacccagtct ccatcctccc 100
tgctgcac tgtaggagac cgcgtcacca tcacttgcac taccagcact 150
gatattgatg atgatatgaa ctggtatcag cagaaaccag ggaaagttcc 200

taagctcctg atctctggag gcaatactct tcgtccctggg gtcccatctc 250
 gggtcagtgg cagtggaict gggacagatt tcactctcac catcagcagc 300
 ctgcagccctg aagaigtgtc aacttattac tgtttgcaaa gtgattcttt 350
 gccgtacacg ttggccagg gtaccaaggt ggagatcaaa cgaactgtgg 400
 ctgcaccatc tgtcttcac tccccccat ctgatgagca gttgaaatct 450
 ggaactgctt ctgttgtgtg cctgtgaat aacttctatc ccagagaggc 500
 caaagtacag tgggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg 550
 agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc 600
 accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgccctg 650
 cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca 700
 ggggagagtg ttaa 714

<210> 61
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-1之輕鏈域

<400> 61
 Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val 15
 1 5 10
 Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp 30
 20 25 30
 Asp Asp Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys 45
 35 40 45
 Leu Leu Ile Ser Gly Gly Asn Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser 60
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile 75
 65 70 75
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln 90
 80 85 90
 Ser Asp Ser Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu 105
 95 100 105
 Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro 120
 110 115 120
 Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu 135
 125 130 135
 Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val 150
 140 145 150
 Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu 165
 155 160 165
 Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr 180
 170 175 180
 Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu 195
 185 190 195
 Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn 210
 200 205 210
 Arg Gly Glu Cys

<210> 62
<211> 741
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-1之重鏈域

<400> 62
atgaaaaaga atatcgcatl tcttcttgca tclatgttcg ttttttctat 50
tgctacaaac gcgtacgctg aagtcagct ggigcaatct gggccctgagt 100
tgaagaagcc tggggcctca gtgaagggtt cctgcaaggc ttctggatag 150
accttacta actatggaat gaactgggtg cgccaagccc ctggacaagg 200
gcttgagtgg atgggatgga ttaacaccta cactggagag acaacataig 250
ctgatgactt caaggagcgg ttgtcttct ccttggacac ctctgtcagc 300
acggcataic tgcagatcag cagccitcaag gctgaggaca ctgccgtgta 350
ttactgtgag cgcgaggggg gggtaataa ctggggccaa gggaccctgg 400
tcaccgtctc ctacgctcc accaagggcc catcggtctt ccccttggca 450
ccctcttcca agagcacctc tgggggcaca gcggccctgg gctgcctggt 500
caaggactac tccccgaac cggtgacggt gtcttggaac tcaggcgccc 550
tgaccagcgg cgtgcacacc tcccggctg tctacagtc ctcaggactc 600
tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcacca 650
gacctacatc tgaacgiga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca 700
agaaagtga gcccaaatct tgtgacaaa ctcacacata a 741

<210> 63
<211> 223
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-1之重鏈域

<400> 63
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly
1 5 10 15
Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
20 25 30
Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
35 40 45
Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr
50 55 60
Ala Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser
65 70 75
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp
80 85 90
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Glu Arg Glu Gly Gly Val Asn Asn Trp
95 100 105
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
110 115 120
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly

	125		130		135
Gly Thr Ala Ala	Leu Gly Cys Leu Val	Lys Asp Tyr Phe Pro	Glu		
	140	145	150		
Pro Val Thr Val	Ser Trp Asn Ser Gly	Ala Leu Thr Ser Gly	Val		
	155	160	165		
His Thr Phe Pro	Ala Val Leu Gln Ser	Ser Gly Leu Tyr Ser	Leu		
	170	175	180		
Ser Ser Val Val	Thr Val Pro Ser Ser	Ser Leu Gly Thr Gln	Thr		
	185	190	195		
Tyr Ile Cys Asn	Val Asn His Lys Pro	Ser Asn Thr Lys Val	Asp		
	200	205	210		
Lys Lys Val Glu	Pro Lys Ser Cys Asp	Lys Thr His Thr			
	215	220			

<210> 64
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 經修飾之人類化抗因子D Fab 238-1之重鏈域之FR1-HC

<400> 64
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly
1 5 10 15
Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
20 25

<210> 65
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> VLκI一致序列

<400> 65
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15
Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser
20 25 30
Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
35 40 45
Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
80 85 90
Tyr Asn Ser Tyr Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
95 100 105
Lys Arg

<210> 66
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> VH7亞群VII一致序列

<400> 66
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly
1 5 10 15
Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
20 25 30
Ser Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
35 40 45
Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr
50 55 60
Ala Gln Gly Phe Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser
65 70 75
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp
80 85 90
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Gly Gln Gly Thr Ser Leu
95 100 105
Thr Val Ser Ser

<210> 67
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> pAEP1-238 VL之合成寡核苷酸引子

<400> 67
tttccctttg atatccaggt gacccagtct ccatcct 37

<210> 68
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> pAEP1-238 VL之合成寡核苷酸引子

<400> 68
tttccctttg gtaccctggc caaacgtgta cggcaaagaa tc 42

<210> 69
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> p238之合成寡核苷酸引子

<400> 69
tttgggtttc gtacgctcag gtccagctgg tgcaatctgg g 41

<210> 70
<211> 47
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> p238之合成寡核苷酸引子

<400> 70
tttgggtttg ggcccttggg ggaggctgag gagacggiga ccagggt 47

<210> 71
<211> 41
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> p238-1之合成寡核苷酸引子

<400> 71
tllgggtlct gtagctgaa giccagctgg tgcaatctgg g 41

<210> 72
<211> 47
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> p238-1之合成寡核苷酸引子

<400> 72
tllgggtlct ggcccttggg gagggctgag gagacgggtg ccagggt 47

<210> 73
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子 D Fab 純系之輕鏈可變複合物

<220>
<221> Xaa
<222> 33-34
<223> 未知胺基酸

<220>
<221> Xaa
<222> 52
<223> 未知胺基酸

<220>
<221> Xaa
<222> 104
<223> 未知胺基酸

<400> 73
Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15
Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ile Thr Ser Thr Asp Ile Asp
20 25 30
Asp Asp Xaa Xaa Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys
35 40 45
Leu Leu Ile Ser Gly Gly Xaa Thr Leu Arg Pro Gly Val Pro Ser
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
80 85 90
Ser Asp Ser Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Xaa Glu
95 100 105

Ile Lys

<210> 74
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 經修飾之人類化抗因子D Fab純系之重鏈可變複合物

<220>
<221> Xaa

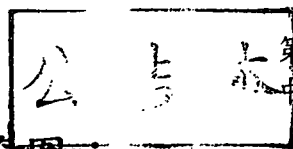
10年3月20日修(更)正替換頁

<222> 1
<223> 未知胺基酸

<220>
<221> Xaa
<222> 103
<223> 未知胺基酸

<220>
<221> Xaa
<222> 104
<223> 未知胺基酸

<400> 74
Xaa Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly
1 5 10 15
Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
20 25 30
Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
35 40 45
Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Thr Thr Tyr
50 55 60
Ala Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser
65 70 75
Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp
80 85 90
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Glu Arg Glu Gly Gly Val Xaa Xaa Trp
95 100 105
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
110 115



67

七、申請專利範圍：

1. 一種抗因子D抗體或其抗原結合片段，其包含：

(1) 包含含有ITSTDIDDDMN (SEQ ID NO: 30)之輕鏈高變區(HVR)-L1、含有GGNTLRP (SEQ ID NO: 35)之輕鏈HVR-L2及含有LQSDSLPYT (SEQ ID NO: 38)之輕鏈HVR-L3的輕鏈可變域，及

(2) 包含含有GYTFTNYGMN (SEQ ID NO: 39)之重鏈HVR-H1、含有WINTYTGETTYADDFKG (SEQ ID NO: 40)之重鏈HVR-H2及含有EGGVNN (SEQ ID NO: 41)之重鏈HVR-H3的重鏈可變域，其中該重鏈可變域之位置1包含E。

2. 如請求項1之抗因子D抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變域包含含有FGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1之胺基酸98-107)或FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 51)之輕鏈構架區(FR)-4。

3. 如請求項1之抗因子D抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變域包含含有FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 51)之輕鏈構架區(FR)-4。

4. 如請求項1之抗因子D抗體或其抗原結合片段，其中：

(i) 該HVR-H1包含SEQ ID NO: 39之胺基酸序列；

(ii) 該HVR-H2包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列；

(iii) 該HVR-H3包含SEQ ID NO: 41、SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO: 44或SEQ ID NO: 45之胺基酸序列；

(iv) 該HVR-L1包含SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 33或SEQ ID NO: 34之胺基酸序列；

(v) 該HVR-L2包含SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 36或SEQ ID NO: 37之胺基酸序列；及

(vi) 該HVR-L3包含SEQ ID NO: 38之胺基酸序列。

5. 如請求項4之抗因子D抗體或其抗原結合片段，其中該HVR-L1包含SEQ ID NO: 30之胺基酸序列，該HVR-L2包含SEQ ID NO: 35之胺基酸序列，及該HVR-L3包含SEQ ID NO: 38之胺基酸序列。
6. 如請求項4之抗因子D抗體或其抗原結合片段，其中該HVR-H1包含SEQ ID NO: 39之胺基酸序列，該HVR-H2包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列，及該HVR-H3包含SEQ ID NO: 41之胺基酸序列。
7. 如請求項4之抗因子D抗體或其抗原結合片段，其中該HVR-H1包含SEQ ID NO: 39之胺基酸序列，該HVR-H2包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列，該HVR-H3包含SEQ ID NO: 41之胺基酸序列，該HVR-L1包含SEQ ID NO: 30之胺基酸序列，該HVR-L2包含SEQ ID NO: 35之胺基酸序列，及該HVR-L3包含SEQ ID NO: 38之胺基酸序列。
8. 如請求項1之抗因子D抗體或其抗原結合片段，其中該重鏈可變域包含SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 28或SEQ ID NO: 29之胺基酸序列。

9. 如請求項1之抗因子D抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 13或SEQ ID NO: 14之胺基酸序列。
10. 如請求項1之抗因子D抗體或其抗原結合片段，其中該重鏈可變域包含以下胺基酸序列：
X₁VQLVQSGPELKKPGASVKVSCASGYTFTNYGMNWW
RQAPGQGLEWMGWINTYTGETTYADDFKGRFVFSLDTS
VSTAYLQISSLKAEDTAVYYCEREGGVX₂X₃WGQGTLLV
VSS(SEQ ID NO: 74)，其中X₁為Q或E；X₂為N、A或Q；
且X₃為N、A或Q。
11. 如請求項1之抗因子D抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變域包含以下胺基酸序列：
DIQVTQSPSSLSASVGDRVTITCITSTDIDDDX₄X₅WYQQ
KPGKVPKLLISGGX₆TLRPGVPSRFSGSGSGTDFTLTSSL
QPEDVATYYCLQSDSLPYTFGQGTKX₇EIK(SEQ ID NO:
73)，其中X₄為M、L或I；X₅為N、A或Q；X₆為N、S或
A；且X₇為L或V。
12. 如請求項1之抗因子D抗體或其抗原結合片段，其中該重鏈可變域包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列。
13. 如請求項1之抗因子D抗體或其抗原結合片段，其中該輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列。
14. 如請求項1之抗因子D抗體或其抗原結合片段，其中該重鏈可變域包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列及該輕鏈可變

域 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列。

15. 如請求項 1 之抗因子 D 抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO: 63 之胺基酸序列的重鏈。
16. 如請求項 1 之抗因子 D 抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列的輕鏈。
17. 如請求項 1 之抗因子 D 抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO: 63 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列的輕鏈。
18. 一種抗因子 D 抗體或其抗原結合片段，其包含輕鏈可變域及重鏈可變域，該輕鏈可變域包含含有 ITSTDIDDDMN (SEQ ID NO: 30) 之輕鏈 HVR-L1、含有 GGNTLRP (SEQ ID NO: 35) 之輕鏈 HVR-L2 及含有 LQSDSLPYT (SEQ ID NO: 38) 之輕鏈 HVR-L3，及該重鏈可變域包含含有 GYTFTNYGMN (SEQ ID NO: 39) 之重鏈 HVR-H1、含有 WINTYTGETTYADDFKG (SEQ ID NO: 40) 之重鏈 HVR-H2 及含有 EGGVNN (SEQ ID NO: 41) 之重鏈 HVR-H3，

其中該輕鏈可變域包含含有 FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 51) 之輕鏈構架區 (FR)-4，且其中該重鏈可變域之位置 1 包含 E。

19. 一種抗因子 D 抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列的重鏈可變域及含有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的輕鏈可變域。
20. 一種抗因子 D 抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ

ID NO: 63之胺基酸序列的重鏈及含有SEQ ID NO: 61之胺基酸序列的輕鏈。

21. 如請求項1-20中任一項之抗因子D抗體或其抗原結合片段，其中該抗體為單株抗體。
22. 如請求項1-20中任一項之抗因子D抗體或其抗原結合片段，其中該抗體經人類化。
23. 如請求項1-20中任一項之抗因子D抗體或其抗原結合片段，其中該抗體片段為Fab、Fab'-SH、Fv、scFv或(Fab')₂片段。
24. 如請求項1-20中任一項之抗因子D抗體或其抗原結合片段，其中該因子D為哺乳動物因子D。
25. 如請求項24之抗因子D抗體或其抗原結合片段，其中該因子D為人類因子D。
26. 一種如請求項1-5、7、9、11及16中任一項之抗因子D抗體之輕鏈可變域。
27. 一種如請求項1、4、6-8、10及15中任一項之抗因子D抗體之重鏈可變域。
28. 一種聚核苷酸，其編碼如請求項1-25中任一項之抗因子D抗體或其抗原結合片段。
29. 一種聚核苷酸，其編碼如請求項26之輕鏈可變域或如請求項27之重鏈可變域。
30. 一種載體，其包含如請求項28之聚核苷酸。
31. 一種載體，其包含如請求項29之聚核苷酸。
32. 一種宿主細胞，其包含如請求項30之載體。

33. 一種宿主細胞，其包含如請求項31之載體。
34. 如請求項32或33之宿主細胞，其中該宿主細胞為原核或真核細胞。
35. 如請求項34之宿主細胞，其中該宿主細胞為CHO細胞。
36. 如請求項34之宿主細胞，其中該宿主細胞為細菌。
37. 一種製造抗因子D抗體或其抗原結合片段之方法，其中該方法包含(a)如請求項32之宿主細胞在適於表現編碼該抗體或其抗原結合片段之聚核苷酸的條件下培養，及(b)分離該抗體或其抗原結合片段。
38. 一種製造抗因子D抗體之可變域之方法，其中該方法包含(a)如請求項33之宿主細胞在適於表現編碼該可變域之聚核苷酸的條件下培養，及(b)分離該可變域。
39. 一種抗因子D抗體或其抗原結合片段，其係由如請求項37之方法製造。
40. 一種抗因子D抗體之可變域，其係由如請求項38之方法製造。
41. 一種醫藥組合物，其包含如請求項1-25中任一項之抗因子D抗體或其抗原結合片段、如請求項26之輕鏈可變域或如請求項27之重鏈可變域，及醫藥學上可接受之稀釋劑、載劑或賦形劑。
42. 一種物件，其包含：
 - (a)如請求項41之醫藥組合物；
 - (b)容器；及
 - (c)指示該醫藥組合物可用於治療與補體相關之病症的

包裝插頁或標籤。

43. 一種套組，其包含如請求項1-25中任一項之抗因子D抗體或其抗原結合片段、如請求項26之輕鏈可變域或如請求項27之重鏈可變域，及關於投與該抗體或抗體片段以治療與補體相關之病症的說明書。
44. 如請求項43之套組，其中該與補體相關之病症係選自包含眼睛疾病之群。
45. 如請求項44之套組，其中該眼睛疾病係選自包含以下之群：年齡相關之黃斑變性、糖尿病性視網膜病、脈絡膜新生血管(CNV)、葡萄膜炎、糖尿病性黃斑水腫、病理性近視、逢希伯-林道疾病(von Hippel-Lindau disease)、眼睛之組織漿菌病、視網膜中央靜脈阻塞(CRVO)、角膜新生血管及視網膜新生血管。
46. 如請求項45之套組，其中該年齡相關之黃斑變性係選自包含中期乾性AMD及地圖狀萎縮(geographic atrophy)之群。
47. 一種如請求項1-25中任一項之抗因子D抗體或其抗原結合片段、如請求項26之輕鏈可變域或如請求項27之重鏈可變域的用途，其係用於製造治療與補體相關病症之藥劑。
48. 如請求項47之用途，其中該與補體相關病症為發炎病症。
49. 如請求項48之用途，其中該發炎病症為自體免疫疾病。
50. 如請求項49之用途，其中該自體免疫疾病係選自包含全

身性紅斑狼瘡、重症肌無力、類風濕性關節炎、阿茲海默氏症(Alzheimer's disease)及多發性硬化症之群。

51. 如請求項47之用途，其中該該與補體相關病症為眼睛疾病。

52. 如請求項51之用途，其中該眼睛疾病係選自包含以下之群：年齡相關之黃斑變性、糖尿病性視網膜病、脈絡膜新生血管(CNV)、葡萄膜炎、糖尿病性黃斑水腫、病理性近視、逢希伯-林道疾病、眼睛之組織漿菌病、視網膜中央靜脈阻塞(CRVO)、角膜新生血管及視網膜新生血管。

53. 如請求項52之用途，其中該年齡相關之黃斑變性係中期乾性AMD或地圖狀萎縮。

IB
圖

Kabat#	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	A	B	C	D	E	F	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108
	Kabat - CDR L3																																	
	Chothia - CDR L3																																	
	接觸 - CDR L3																																	
KI	C1 C2 C3 C4 C5 C6 C7 C8 C9																																	
一致	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	N	S	Y	P	-	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K	R						
#111-LC	E	D	V	A	T	Y	Y	C	L	Q	S	D	S	L	P	Y	T	F	G	Q	G	T	K	L	E	I	K							
238-LC	E	D	V	A	T	Y	Y	C	L	Q	S	D	S	L	P	Y	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K							
238-1-LC	E	D	V	A	T	Y	Y	C	L	Q	S	D	S	L	P	Y	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	I	K							
238-2-LC	E	D	V	A	T	Y	Y	C	L	Q	S	D	S	L	P	Y	T	F	G	Q	G	T	K	L	E	I	K							
238-3-LC	E	D	V	A	T	Y	Y	C	L	Q	S	D	S	L	P	Y	T	F	G	Q	G	T	K	L	E	I	K							
238-4-LC	E	D	V	A	T	Y	Y	C	L	Q	S	D	S	L	P	Y	T	F	G	Q	G	T	K	L	E	I	K							
238-5-LC	E	D	V	A	T	Y	Y	C	L	Q	S	D	S	L	P	Y	T	F	G	Q	G	T	K	L	E	I	K							
238-6-LC	E	D	V	A	T	Y	Y	C	L	Q	S	D	S	L	P	Y	T	F	G	Q	G	T	K	L	E	I	K							
238-7-LC	E	D	V	A	T	Y	Y	C	L	Q	S	D	S	L	P	Y	T	F	G	Q	G	T	K	L	E	I	K							
238-8-LC	E	D	V	A	T	Y	Y	C	L	Q	S	D	S	L	P	Y	T	F	G	Q	G	T	K	L	E	I	K							
238-9-LC	E	D	V	A	T	Y	Y	C	L	Q	S	D	S	L	P	Y	T	F	G	Q	G	T	K	L	E	I	K							
238-10-LC	E	D	V	A	T	Y	Y	C	L	Q	S	D	S	L	P	Y	T	F	G	Q	G	T	K	L	E	I	K							
238-11-LC	E	D	V	A	T	Y	Y	C	L	Q	S	D	S	L	P	Y	T	F	G	Q	G	T	K	L	E	I	K							

圖1C

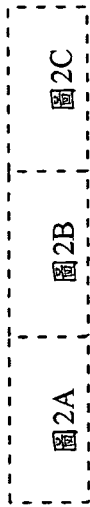


圖2

Kabat# 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 A B 36 37 38 39 40 41

VH7	Chothia - CDR H1										Kabat - CDR H1										接觸 - CDR H1																				
	D1 D2 D3 D4 D5 D6										D7 D8 D9 D10																														
	G Y T P T S										Y A N N										W V R Q A P																				
一致	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	S	E	L	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	P	T	S	W	V	R	Q	A	P				
#111-HC	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	P	E	L	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	Y	G	N	N	W	V	R	Q	A	P
238-HC	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	P	E	L	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	Y	G	N	N	W	V	R	Q	A	P
238-1-HC	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	P	E	L	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	Y	G	N	N	W	V	R	Q	A	P
238-2-HC	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	P	E	L	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	Y	G	N	N	W	V	R	Q	A	P
238-3-HC	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	P	E	L	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	Y	G	N	N	W	V	R	Q	A	P
238-4-HC	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	P	E	L	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	Y	G	N	N	W	V	R	Q	A	P
238-5-HC	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	P	E	L	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	Y	G	N	N	W	V	R	Q	A	P
238-6-HC	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	P	E	L	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	Y	G	N	N	W	V	R	Q	A	P
238-7-HC	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	P	E	L	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	Y	G	N	N	W	V	R	Q	A	P
238-8-HC	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	P	E	L	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	Y	G	N	N	W	V	R	Q	A	P
238-9-HC	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	P	E	L	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	Y	G	N	N	W	V	R	Q	A	P
238-10-HC	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	P	E	L	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	Y	G	N	N	W	V	R	Q	A	P
238-11-HC	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	P	E	L	K	K	P	G	A	S	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	N	Y	G	N	N	W	V	R	Q	A	P

圖2A

Kabat#	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	a	b	c	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
	Kabat - CDR H2																																									
	Chothia - CDR H2																接觸 - CDR H2																									
VH7	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E10	E11	E12	E13	E14	E15	E16	E17	E18	E19																									
一致	G	Q	G	L	E	W	M	G	W	I	N	T	N	T	G	N	P	T	Y	A	Q	G	F	T	G	R	P	V	F	S	L	D	T	S	V	S	T	A	Y	L		
#111-HC	G	Q	G	L	E	W	M	G	W	I	N	T	Y	T	G	E	T	T	Y	A	D	D	F	K	G	R	P	V	F	S	L	D	T	S	V	S	T	A	Y	L		
238-HC	G	Q	G	L	E	W	M	G	W	I	N	T	Y	T	G	E	T	T	Y	A	D	D	F	K	G	R	P	V	F	S	L	D	T	S	V	S	T	A	Y	L		
238-1-HC	G	Q	G	L	E	W	M	G	W	I	N	T	Y	T	G	E	T	T	Y	A	D	D	F	K	G	R	P	V	F	S	L	D	T	S	V	S	T	A	Y	L		
238-2-HC	G	Q	G	L	E	W	M	G	W	I	N	T	Y	T	G	E	T	T	Y	A	D	D	F	K	G	R	P	V	F	S	L	D	T	S	V	S	T	A	Y	L		
238-3-HC	G	Q	G	L	E	W	M	G	W	I	N	T	Y	T	G	E	T	T	Y	A	D	D	F	K	G	R	P	V	F	S	L	D	T	S	V	S	T	A	Y	L		
238-4-HC	G	Q	G	L	E	W	M	G	W	I	N	T	Y	T	G	E	T	T	Y	A	D	D	F	K	G	R	P	V	F	S	L	D	T	S	V	S	T	A	Y	L		
238-5-HC	G	Q	G	L	E	W	M	G	W	I	N	T	Y	T	G	E	T	T	Y	A	D	D	F	K	G	R	P	V	F	S	L	D	T	S	V	S	T	A	Y	L		
238-6-HC	G	Q	G	L	E	W	M	G	W	I	N	T	Y	T	G	E	T	T	Y	A	D	D	F	K	G	R	P	V	F	S	L	D	T	S	V	S	T	A	Y	L		
238-7-HC	G	Q	G	L	E	W	M	G	W	I	N	T	Y	T	G	E	T	T	Y	A	D	D	F	K	G	R	P	V	F	S	L	D	T	S	V	S	T	A	Y	L		
238-8-HC	G	Q	G	L	E	W	M	G	W	I	N	T	Y	T	G	E	T	T	Y	A	D	D	F	K	G	R	P	V	F	S	L	D	T	S	V	S	T	A	Y	L		
238-9-HC	G	Q	G	L	E	W	M	G	W	I	N	T	Y	T	G	E	T	T	Y	A	D	D	F	K	G	R	P	V	F	S	L	D	T	S	V	S	T	A	Y	L		
238-10-HC	G	Q	G	L	E	W	M	G	W	I	N	T	Y	T	G	E	T	T	Y	A	D	D	F	K	G	R	P	V	F	S	L	D	T	S	V	S	T	A	Y	L		
238-11-HC	G	Q	G	L	E	W	M	G	W	I	N	T	Y	T	G	E	T	T	Y	A	D	D	F	K	G	R	P	V	F	S	L	D	T	S	V	S	T	A	Y	L		

圖2B

圖 20

三回

DDIQVTQSPSSLSASVGDRVTITC***ITST******DI******DD******MM******W******Y******Q******K******P******K******L******L******I******S******GG******NT******LR******PG******V******P******S******R******F******S******G******S******G******S******G******T******D******F******T***
LLTISLQPEDVATY***CL******Q******S******D******S******LP******Y******T******F******G******Q******T******K******E******I******K******R******T******V******A******A******P******S******V******I******F******P******P******S******D******E******Q******L******K******S******G******T******A******S******V******C******L******L******N******N******F******Y******P******R******E******A***
KKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS***T******Y******S******L******S******S******T******L******T******L******S******K******A******D******Y******E******K******H******K******V******A******C******E******V******T******H******Q******G******L******S******S******P******V******T******K******S******F******N******R******G******E******C***
(SEQ ID NO: 47)

FR1-LC: DIQVTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 48)
 FR2-LC: WYQKPKGKVPKLLIS (SEQ ID NO: 49)
 FR3-LC: GVPSTRFSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYC (SEQ ID NO: 50)
 FR4-LC: FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 51)
 HVR1-LC: **ITSTDI****DDDMN** (SEQ ID NO: 30)
 HVR2-LC: **GGNTLRP** (SEQ ID NO: 35)
 HVR3-LC: **LQSDSLPYT** (SEQ ID NO: 38)

CL1:
RTVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTL
TLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 52)

4
圖

ATGAAAAAGAAATATCGCATTTCTTCTTGCACTATGTTCTGTTTCTTCTATGCTACAAACGGTACGCTCAG
GTCCAGCTGGTGCAATCTGGGCCCTGAGTTGAAGAAGCCCTGGGGCCCTCAGTGAAGGTTTCTGCAAGGCTTCT
GGATACACCTTCACTAACTATGGAATGAACCTGGGTGCCCAAGCCCCCTGGACAAGGCTTGAGTGGATGGGA
TGGATTAAACACCTACACTGGAGAGACAACATATGCTGATGACTTCAAGGACGGTTTGTCTTCTCCTTGGAC
ACCTCTGTGACACGGCATACTGCAGATCAGCAGCCTCAAGGCTGAGGACACTGCCGTGTATTACTGTGAG
CGGAGGGGGGGTTAATAACTGGGGCCAAGGACCCCTGGTCACCCCTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCA
TCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCGTCAAG
GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGGCTGCACACCTTCCCCG
GCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTCCCTCCAGCAGCTTGGGCACC
CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAGCCAGCCAGCAACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCCAAATCT
TGTGACAAAACTCACACATAA

圖5

QVQLVQSGPELKKPGASVKVCKASGYFTTNYGMNVRQAPGQGLEWMGMWINTYGETTYADDFKGRFVFSL
DTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCERE**EGGVN**WGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKKVDKKVEPK
SCDKTHT (SEQ ID NO: 54)

- FR1-HC: QVQLVQSGPELKKPGASVKVCKAS (SEQ ID NO: 55)
- FR2-HC: WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO: 56)
- FR3-HC: RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCER (SEQ ID NO: 57)
- FR4-HC: WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 58)
- HVR1-HC: **GYFTTNYGMN** (SEQ ID NO: 39)
- HVR2-HC: **WINTYGETTYADDFKG** (SEQ ID NO: 40)
- HVR3-HC: **EGGVN** (SEQ ID NO: 41)

CH1:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP
SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 59)

圖6

ATGAAGAAGAATAATTGCGTTCCCTACTTGCCCTCTATGTTTGTCTTTCTATAGCTACAAACGGGTATGCTGAT
ATCCAGGTGACCCAGTCTCCATCCCTCCCTGCTGTCATCTGTAGGAGACCGGTCACCATCACTTGCAATTACC
AGCACTGATATTGATGATGATGAACCTGGTATCAGCAGAAACCAAGGAAAGTTCCCTAAGCTCCTGATCTCT
GGAGGCAATACTCTTCTGCTCCCTGGGTCCCATCTCGGTTCAAGTGGCATCTGGGACAGATTCACTCTC
ACCATCAGCAGCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTATTACTGTTTGCAAAGTGATTCTTTGCCGTACACG
TTTGGCCAGGGTACCAAGGTGGAGATCAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTTCATCTTCCCGCCATCT
GATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCTTCTGTTGTGCTGCTGTAATACTTCTATCCAGAGAGGCCAAA
GTACAGTGGAAGTGATGAACGCCCTCCAATCGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG
GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCC
TGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAA

圖 7

DIQVTQSPSSLSASVGDRVTITC ITSTDIDDDMNWYQQKPGKVPKLLIS GGNTLRPGVPSRFSGSGGTDF
LTISSLPEDVATYYC LQSDSLPYTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREA
KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO: 61)

- FR1-LC: DIQVTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 48)
- FR2-LC: WYQQKPGKVPKLLIS (SEQ ID NO: 49)
- FR3-LC: GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLPEDVATYYC (SEQ ID NO: 50)
- FR4-LC: FGQGTKEIK (SEQ ID NO: 51)
- HVR1-LC: ITSTDIDDDMN (SEQ ID NO: 30)
- HVR2-LC: GGNTLRP (SEQ ID NO: 35)
- HVR3-LC: LQSDSLPYT (SEQ ID NO: 38)

CL1:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTL
TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 52)

圖 8

ATGAAAAAGAAATATCGCATTTCTTCTTGCACTATGTTCTGTTTTTTCTATTGCTACAAACGCGTACGCTGAA
GTCCAGCTGGTGCAATCTGGGCCCTGAGTTGAAGAACCTGGGGCCCTCAGTGAAGTTTCTGCAAGGCTTCT
GGATACACCTTCACTAACTATGGAATGAACCTGGTGCGCAAGCCCTGGACAAGGCTTGAGTGGATGGGA
TGGATTAAACACCTACACTGGAGAGACAACATATGCTGATGACTTCAAGGGACGGTTTGTCTTCTCCTTGGAC
ACCTCTGTCAGCACGGCATATCTGCAGATCAGCAGCCTCAAGGCTGAGGACACTGCCGTGATTACTGTGAG
CGCAGGGGGGGTTAATAACTGGGGCCCAAGGACCTCTGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGCCCA
TCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGACCTCTGGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCGTGTC AAG
GACTACTTCCCCGAAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAAGCGGCTGCACACCTTCCCG
GCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTCCCTCCAGCAGCTTGGGCACC
CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAATCT
TGTGACAAAACCTCACACATAA

圖9

EVQLVQSGPELKKPGASVKVSKASGYFTNYGMNVRQAPGQGLEWMGWINTYTGETTYADDFKGRFVFSL
DTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCEREGGVNNGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSNWNGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHT (SEQ ID NO: 63)

- FR1-HC: EVQLVQSGPELKKPGASVKVSKAS (SEQ ID NO: 64)
- FR2-HC: WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO: 56)
- FR3-HC: RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCER (SEQ ID NO: 57)
- FR4-HC: WQGTGLTVSVS (SEQ ID NO: 58)
- HVR1-HC: **GYFTNYGMN** (SEQ ID NO: 39)
- HVR2-HC: **WINTYTGETTYADDFKG** (SEQ ID NO: 40)
- HVR3-HC: **EGGVN** (SEQ ID NO: 41)

CH1:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSNWNGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP
SSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO: 59)

圖10

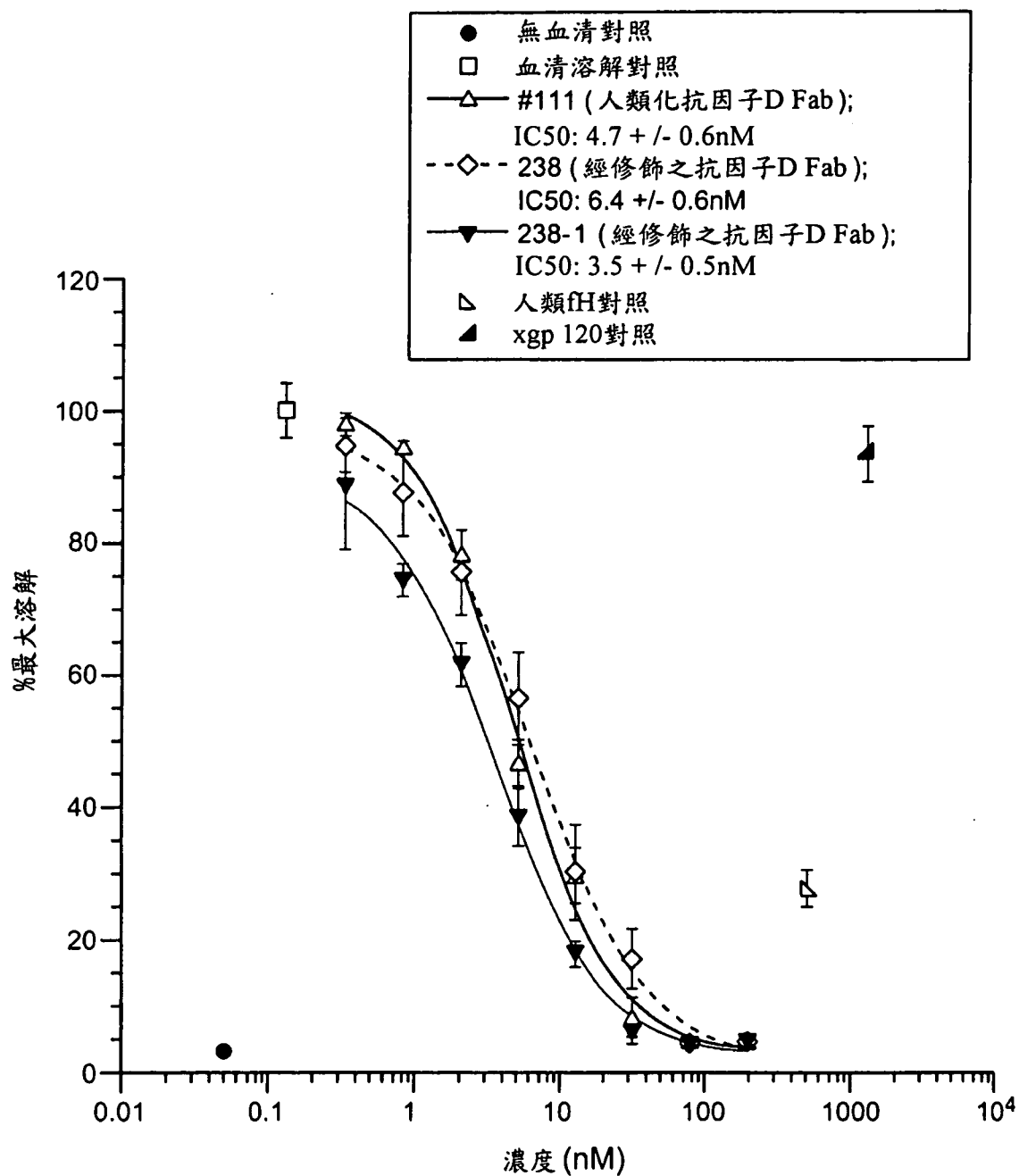
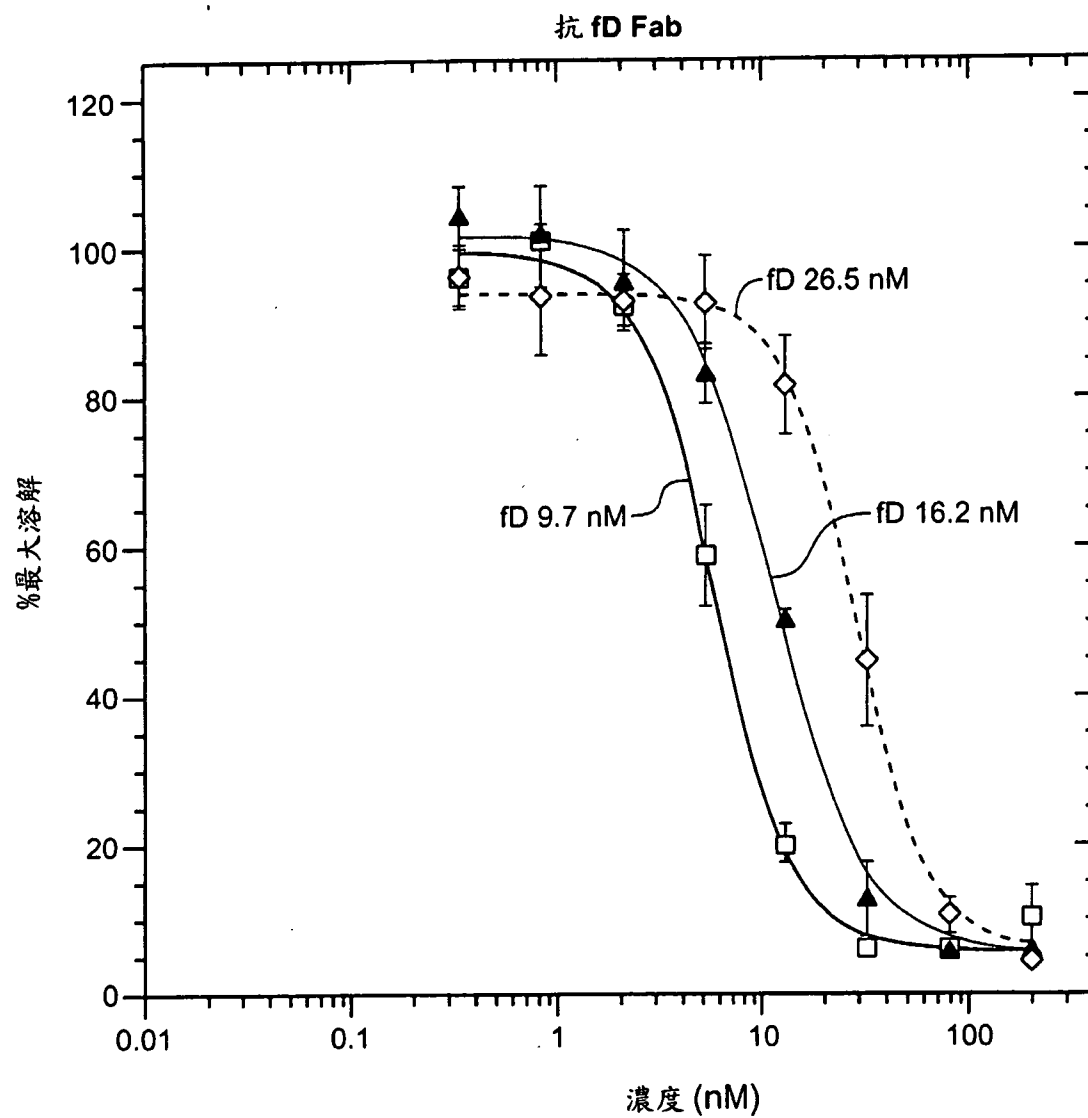


圖 11

102年3月20日修(更)正替換頁



抗 fD Fab	因子D濃度 (nM)		
	9.7	16.2	26.5
IC50 (nM)	4.4	10.2	23.9
IC90 (nM)	14.0	38.0	72.6

圖12

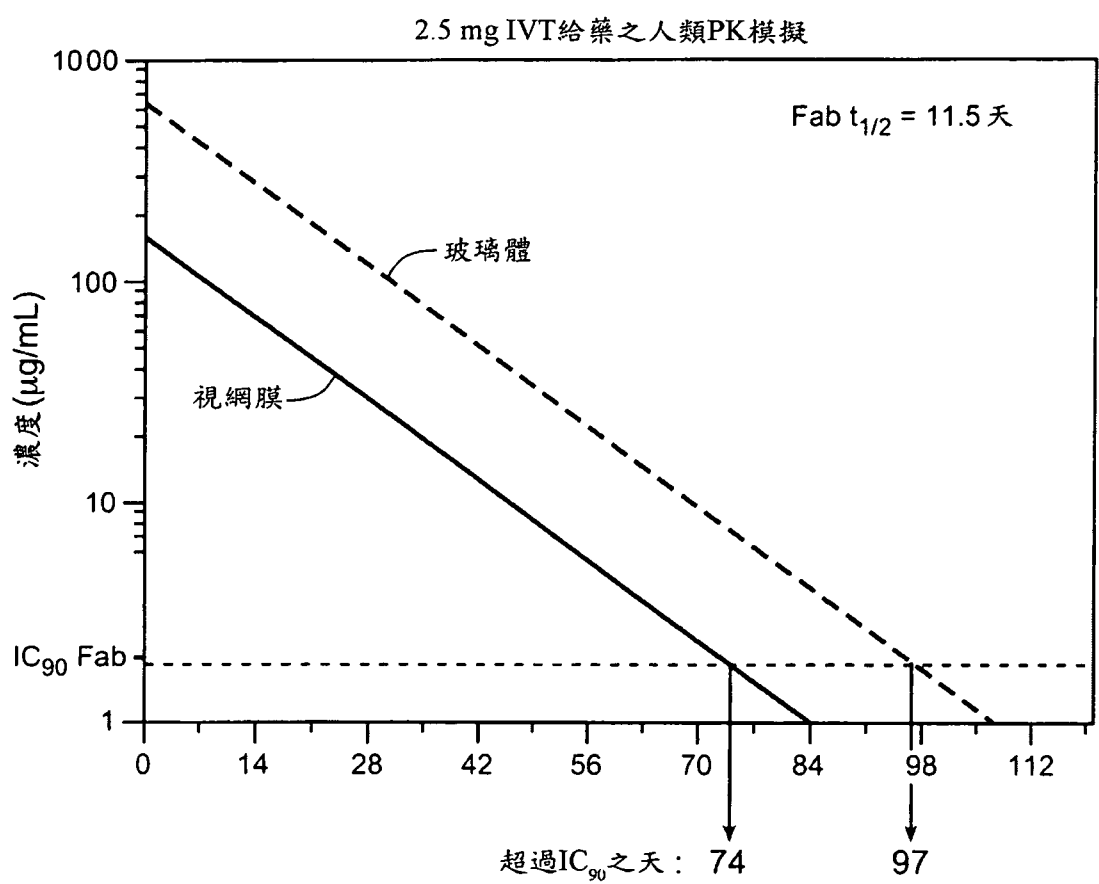


圖13