202400627

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202400627 A

(43)公開日： 中華民國 113 (2024) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：112116648 (22)申請日： 中華民國 112 (2023) 年 05 月 04 日

(51)Int. Cl.： *C07K14/47 (2006.01)* *C12N15/12 (2006.01)*
A61K38/16 (2006.01) *C12N15/63 (2006.01)*
C12N15/64 (2006.01) *A61P27/00 (2006.01)*

(30)優先權：2022/05/04 美國 63/338,392

(71)申請人：美商維泰克斯製藥公司 (美國) VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED (US)
美國

(72)發明人：布勞斯 古蘭特 E BLOUSE, GRANT E. (US)；拉 孟 娜塔莎 LE MOAN, NATACHA (FR)；柯努德森 湯姆 KNUDSEN, TOM (DK)

(74)代理人：陳長文；金若芸

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：32 項 圖式數：4 共 81 頁

(54)名稱

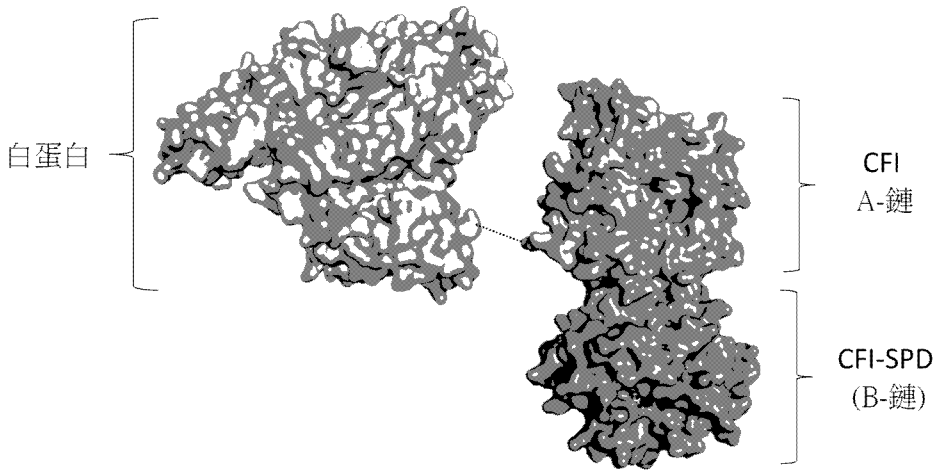
用於治療眼部疾病之補體因子 I 之給藥方案

(57)摘要

本文提供用於治療眼部病狀(諸如年齡相關黃斑變性(AMD))之給藥方案。該等方案包括以指定劑量及頻率對有需要個體投與包含補體因子 I (CFI)及結合搭配物之融合構築體。

Provided herein are dosing regimens for the treatment of ocular conditions such as age-related macular degeneration (AMD). The regimens comprise administering to a subject in need thereof fusion constructs comprising a Complement Factor I (CFI) and a binding partner at specified doses and frequencies.

指定代表圖：



【圖1】

【發明摘要】

【中文發明名稱】

用於治療眼部疾病之補體因子I之給藥方案

【英文發明名稱】

COMPLEMENT FACTOR I DOSING REGIMENS FOR TREATING OCULAR DISEASES

【中文】

本文提供用於治療眼部病狀(諸如年齡相關黃斑變性(AMD))之給藥方案。該等方案包括以指定劑量及頻率對有需要個體投與包含補體因子I(CFI)及結合搭配物之融合構築體。

【英文】

Provided herein are dosing regimens for the treatment of ocular conditions such as age-related macular degeneration (AMD). The regimens comprise administering to a subject in need thereof fusion constructs comprising a Complement Factor I (CFI) and a binding partner at specified doses and frequencies.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

用於治療眼部疾病之補體因子I之給藥方案

【英文發明名稱】

COMPLEMENT FACTOR I DOSING REGIMENS FOR TREATING OCULAR DISEASES

【技術領域】

【先前技術】

【0001】 補體系統包括經典途徑、凝集素途徑及替代途徑，且由許多調節劑嚴格控制。補體因子I (CFI)係一種此類調節劑，且用於藉由裂解C4b及C3b蛋白質調節補體系統，由此使此等蛋白質失活。此種裂解導致分別抑制經典、凝集素及替代途徑，因此最終阻止C3及C5轉化酶之組裝。CFI經編碼為酶原且接著藉由蛋白水解裂解活化為具有經二硫鍵連接之重鏈(A鏈)及輕鏈(B鏈)之雜二聚醣蛋白。CFI藉由弗林蛋白酶(furin)轉譯後加工成其活性形式以產生雙鏈成熟蛋白質。

【0002】 失調之CFI、突變且功能失調之CFI (亦即遺傳變異體)、或CFI缺乏與涉及補體系統之疾病有牽連。補體系統之失調或過度活化與眼部疾病(諸如年齡相關黃斑變性(AMD))相關。AMD之進展導致黃斑之損傷、視網膜色素上皮(RPE)之萎縮、及光感受器損失，從而導致視力模糊及最終視力損失。攜帶CFI之罕見遺傳變異體及/或低CFI含量與AMD及該疾病之進展相關。根據國家衛生研究院(National Institutes of Health) (NIH)的國家眼科研究所(National Eye Institute)，AMD係成人視力損失之首要原因，且在2020年全球受影響人數超過1.9億。存在兩種類型之

AMD：濕性AMD及乾性AMD。濕性AMD較不常見，且其特徵係眼睛後部之血管異常生長，從而損傷黃斑。乾性AMD之特徵係黃斑變薄，且可進展為地圖狀萎縮(GA)，其特徵係視網膜組織之進行性且不可逆之損失。GA係失明之首要原因，且影響全球超過500萬人。需要調節或抑制補體系統來維持調節之平衡以治療眼部疾病(諸如AMD及GA)之方法。本文提供解決補體系統中之功能失調及/或失調之組合物及方法。

【發明內容】

【0003】 在一個態樣中，本文提供一種治療或預防有需要的人類個體之眼部病狀之方法，其包括對該個體投與包含含有SEQ ID NO:5的胺基酸序列之補體因子I之融合構築體、或其變異體、及結合搭配物，其中該投與途徑係眼內，且其中該融合構築體係以每隻眼睛約0.1至約10 mg之劑量投與及/或以約每1至4個月之頻率投與。在一些實施例中，該結合搭配物為包含SEQ ID NO:7的胺基酸序列之血清白蛋白或其變異體。在一些實施例中，CFI之變異體具有與SEQ ID NO:5的胺基酸序列至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的一致性。在一些實施例中，CFI之變異體包含SEQ ID NO: 5的CFI，其包含T377G、N422K、E457G及N531G之取代中之一者或多者，包含SEQ ID NO: 5的CFI，其包含N422K、E457G及N531G之取代，或包含SEQ ID NO: 5的CFI，其包含T377G、E457G及N531G之取代。在一些實施例中，該結合搭配物為CFI之輔因子(例如因子H (FH))或補體受體1 (CR1)。在一些實施例中，該因子H結合搭配物包含SEQ ID NO: 22或SEQ ID NO: 23的胺基酸序列、其域或其域之一部分。在一些實施例中，該結合搭配物包含CR1、其域或其域之一部分。CFI-FH融合蛋白可進一步包含血清白蛋白(例如包含SEQ ID NO: 7的胺基酸序

列之血清白蛋白)或其變異體。CFI-CR1融合蛋白可進一步包含血清白蛋白(例如包含SEQ ID NO: 7的胺基酸序列之血清白蛋白)或其變異體。在一些實施例中，該投與途徑係玻璃體內。在一些實施例中，該眼部病狀為乾性年齡相關黃斑變性(AMD)。在一些實施例中，該眼部病狀為濕性年齡相關黃斑變性(AMD)。在一些實施例中，該眼部病狀為地圖狀萎縮(GA)。在一些實施例中，該個體展現GA。在一些實施例中，該人類個體攜帶CFI基因中之一或多個突變，其係選自由以下組成之群：G119R、L131R、V152M、G162D、R187Y、R187T、T203I、A240G、A258T、G287R、A300T、R317W、R339Q、V412M、P553S、K441R、R339Ter、R317Q、G261D、R187Q及R187Ter。在一些實施例中，該眼部病狀係由個體中之CFI基因之一或多個突變引起，該等突變選自由以下組成之群：Phe13Val、Val20Ile、His40Arg、Cys43Phe、Asp44Asn、Pro50Ala、Cys54Arg、Cys54*、Ile55Phe、Pro64Leu、Asn70Thr、Thr72Ser、Phe82Ser、Pro83Gln、Ser90Asn、Cys106Arg、Thr107Ala、Glu109Ala、His118Arg、Gly119Arg、Gly125Arg、Val127Ala、Val129Gly、Leu131Arg、Met138Val、Met138Ile、Trp145*、Asn151Ser、Val152Met、Gly162Asp、Asp164Val、Asn177Ile、His183Arg、Val184Met、Arg187*、Arg187Gln、Gly188Ala、Phe198Leu、Arg202Ile、Thr203Ile、Tyr206Asn、Gln217His、Ser221Tyr、Asp224Asn、Cys229Arg、Val230Met、Val230Glu、Ala240Gly、Cys247Gly、Gly248Glu、Asp249Glu、Ala258Thr、Gly261Ser、Gly261Asp、Gly263Val、Lys267Asn、Gly280Asp、Gly287Arg、Glu290Asp、Ala300Thr、Glu303Lys、

Glu305* 、 Ile306Val 、 Ile306Ser 、 Asp310Glu 、 Arg317Trp 、 Arg317Gln 、 Cys327Arg 、 Gly328Arg 、 Arg339* 、 Arg339Gln 、 Ile340Thr 、 Gly342Glu 、 Arg345Gln 、 Gly349Arg 、 Val355Met 、 Ala356Pro 、 Ile357Met 、 Gly362Ala 、 Tyr369Ser 、 Trp374Cys 、 Arg389His 、 Trp399Arg 、 Pro402Ser 、 Asp403Asn 、 Arg406Cys 、 Arg406His 、 Tyr411* 、 Val412Met 、 Ile416Leu 、 His418Leu 、 Gly424Asp 、 Asp429Glu 、 Ala431Thr 、 Ile433Val 、 Ile433Thr 、 Lys441Arg 、 Arg448Cys 、 Ala452Ser 、 Trp456Leu 、 Tyr459Ser 、 Gln462His 、 Cys467Arg 、 Arg474* 、 Arg474Gln 、 Asp477His 、 Gly487Cys 、 Ile492Leu 、 Gly500Arg 、 Arg502Cys 、 Gly512Ser 、 Asp519Asn 、 Lys522Thr 、 Asp524Val 、 Met532Val 、 Asn536Lys 、 Trp541*、Gly542Ser、Val543Ala、Trp546*、Glu548Gln、Pro553Ser、Glu554Val、Ser570Thr、Ile578Thr及Gln580*。在一些實施例中，該劑量為每隻眼睛約0.1 mg至約10 mg。在一些實施例中，該劑量為每隻眼睛約0.1、0.5、1、5或10 mg。在一些實施例中，該頻率為約每1個月。在一些實施例中，該頻率為約每2、3或4個月。在一些實施例中，該融合構築體係投與至一隻眼睛。在一些實施例中，該融合構築體係依序投與至雙眼。在一些實施例中，該融合構築體係同時投與至雙眼。在一些實施例中，該個體的眼內壓在治療後為穩定。在一些實施例中，該個體的視網膜厚度在治療後為穩定。在一些實施例中，該融合構築體展現在個體中至少等效於血漿衍生或天然存在之CFI蛋白質所展現的活性之活性。

【圖式簡單說明】

【0004】 **圖1**為描繪包含與CFI融合之血清白蛋白之示例性CFI-白蛋

白(例如血清白蛋白，例如人類血清白蛋白(HSA))融合構築體之模型之圖示，其中該CFI包含野生型CFI。

【0005】 **圖2A**為顯示在非洲綠猴(AGM)靈長類動物模型中以250 μg或500 μg之劑量玻璃體內注射(IVT)包含野生型CFI及人類血清白蛋白之融合構築體(CFI-HSA)後在來自玻璃體液之樣品中偵測到的C3a之量之圖。

【0006】 **圖2B**為顯示在AGM靈長類動物模型中以1.0 mg之劑量玻璃體內注射(IVT)包含野生型CFI及人類血清白蛋白之融合構築體(CFI-HSA)後在來自玻璃體液之樣品中偵測到的C3b/iC3b之比之圖。

【0007】 **圖3A**為描繪AGM中之玻璃體藥物動力學(PK)之圖。該包含CFI-HSA之構築體以每隻眼睛0.25 mg或每隻眼睛1 mg玻璃體內注射。隨著時間的推移測量所注射構築體之量。**圖3B**為描繪人類中之基於針對AGM測定之PK之玻璃體PK建模之圖。

【0008】 **圖4A**為描繪在非人類的靈長類動物中玻璃體內注射CFI-HSA之經由狹縫燈的臨床評分之圖。**圖4B**為描繪玻璃體內注射CFI-HSA後在非人類的靈長類動物中隨著時間的推移測定的眼內壓之圖。**圖4C**為描繪玻璃體內注射CFI-HSA後在非人類的靈長類動物中隨著時間的推移測定的視網膜厚度之圖。

【實施方式】

相關申請案之交叉參考

【0009】 本申請案主張2022年5月4日申請之美國臨時申請案第63/338,392號之優先權，該案之內容以其全文引用之方式併入本文中。

電子序列表之參考

【0010】 電子序列表(VTEX_708_01TW_SeqList_ST26.xml；大

小：18,753字組；及創建日期：2023年5月3日)之內容以其全文引用之方式併入本文中。

【0011】 本發明提供包含CFI及結合搭配物(包括(例如) HSA、因子H或CR1)之融合構築體之給藥方案，其可用於調節眼部系統中之補體系統之信號傳導及擴增。本發明亦提供製造及使用此等融合構築體之方法，例如在治療與補體失調相關之眼部疾病或病狀，諸如乾性年齡相關黃斑變性(AMD)、濕性AMD及地圖狀萎縮(GA)中。

I. 補體因子I融合構築體

【0012】 本文提供補體因子I (CFI)融合構築體，此類融合構築體包含：

(a)野生型CFI或其變異體，及

(b)結合搭配物。

在一些實施例中，該結合搭配物包含血清白蛋白或其變異體。在一些實施例中，該結合搭配物包含CFI之輔因子(例如因子H)或CR1。

【0013】 在一些實施例中，該等融合構築體包含：

(a)包含SEQ ID NO: 5的胺基酸序列之補體因子I或其變異體，及

(b)包含SEQ ID NO: 7的胺基酸序列之血清白蛋白或其變異體。

【0014】 在一些實施例中，該等融合構築體包含：

(a)包含SEQ ID NO: 5的胺基酸序列之補體因子I或其變異體，

(b)包含SEQ ID NO: 22或23的胺基酸序列之因子H輔因子或其域，及

(c)視情況之包含SEQ ID NO: 7的胺基酸序列之血清白蛋白或其變異體。

【0015】 在一些實施例中，該等融合構築體包含：

(a)包含SEQ ID NO: 5的胺基酸序列之補體因子I或其變異體，

(b) CR1輔因子或其域，及

(c)視情況之包含SEQ ID NO: 7的胺基酸序列之血清白蛋白或其變異體。

【0016】 如本文所用，野生型CFI係指任何天然存在之全長或接近全長CFI，其並非係致病CFI，具有或不具有信號序列，且其可為任何物種。

【0017】 在一些實施例中，野生型CFI係血漿衍生的。在一些實施例中，野生型CFI為人類野生型CFI。在一些實施例中，具有信號序列之野生型人類CFI包含SEQ ID NO: 1的胺基酸序列(如下表1中所顯示)。在一些實施例中，野生型CFI為人類CFI。在一些實施例中，野生型人類CFI不包括信號序列。在一些實施例中，不具有信號序列之野生型CFI包含SEQ ID NO: 5的胺基酸序列(如下圖1中所顯示)。

【0018】 野生型CFI包含重鏈及輕鏈，其亦分別稱為A鏈及B鏈。圖1描繪顯示兩條鏈之CFI之示意圖。

【0019】 在表1中提供用作CFI融合構築體之組分之示例性基礎分子。表1之基礎分子用於產生本文所揭示的CFI融合構築體。表1之基礎分子可為下文進一步描述的融合構築體之另一部分。

【0020】 本文提供包含CFI之變異體之融合構築體，其包含相對於野生型CFI之一或多個修飾(本文中稱為「CFI變異體」)。如本文所用，野生型CFI之「修飾」包括：一或多個胺基酸殘基之缺失、一或多個域之缺失、一或多個胺基酸殘基之取代、一或多個胺基酸殘基之插入(亦即新增)、一或多個域之插入(亦即新增)、一或多個域之倒置、及一或多個域

之取代。

【0021】 CFI之變異體可包括彼等於經典、凝集素及替代途徑之一者或多者上賦予CFI之另外活性之變異體。在一些實施例中，相對於野生型CFI之該修飾包括以下中之任何一者或多者：一或多個胺基酸殘基之缺失、一或多個CFI域之缺失、一或多個胺基酸殘基之取代、一或多個胺基酸殘基之插入、一或多個CFI域之插入、及一或多個CFI域之交換。PCT/US2021/037278及PCT/US2022/082179提供CFI之變異體，且以其全文引用之方式併入本文中。

【0022】 在一些實施例中，該CFI變異體包含選自以下之CFI之任何一個或多個域：絲胺酸蛋白酶域(SPD)、因子I攻膜複合體(FIMAC)域、SRCR域、低密度脂蛋白受體1 (LDLr1)域及低密度脂蛋白受體2 (LDLr2)域。

【0023】 在一些實施例中，該CFI變異體包含對應於野生型人類CFI之至少一種修飾。在一些實施例中，該CFI變異體包含對應於野生型非人類CFI之至少一種修飾。在一些實施例中，該CFI變異體包含對應於具有SEQ ID NO: 1或SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之野生型CFI之至少一種修飾。

【0024】 在一些實施例中，該CFI變異體為包含來自人類CFI之一或多個域之嵌合體，且其中該人類CFI進一步包含將一或多個胺基酸殘基取代為來自非人類的物種CFI之對應域之胺基酸殘基。在一些實施例中，該非人類的物種為小鼠。在一些實施例中，該CFI變異體為嵌合體，且其中該修飾包括以來自非-CFI絲胺酸蛋白酶之對應區之胺基酸殘基取代CFI之一或多個胺基酸殘基。在一些實施例中，該非-CFI絲胺酸蛋白酶為胰蛋白

酶。

【0025】 在一些實施例中，該CFI變異體包含A鏈及B鏈，其中該CFI變異體包含在A鏈及B鏈之界面處之一或多個修飾。

【0026】 在一些實施例中，該CFI變異體包含在具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之對應於位置K14、Y20、D26、F29、R35、E38、M220、K221、S250、L304、P305、K306、L307及S308之任何一個或多個位置處之修飾。在一些實施例中，該CFI變異體包含選自K14A、Y20A、Y20F、D26A、F29A、R35A、E38A、M220A、K221Q、S250A、S250L、L304G、P305G、K306G、L307G及S308G之取代中之一者或多者，其中該等位置對應於具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之位置。在一些實施例中，該CFI變異體包含取代M220A；K221Q、及L304G；P305G；K306G；L307G；S308G之組合中之一者或多者，其中該等位置對應於具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之位置。

【0027】 在一些實施例中，該CFI變異體包含在CFI變異體之C端區處之一或多個修飾。在一些實施例中，該CFI變異體包含在具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之對應於位置T377、W381、P384、Y403、A405、G406、Y408、Q409、D425、G556、R557、P558、P559、I560及Y563之任何一個或多個位置處之修飾。在一些實施例中，該CFI變異體包含選自T377G、W381A、P384A、P384G、Y403F、A405S、G406R、G406A、Y408L、Q409D、Q409H、D425A、D425K、D425R、G556A、G556S、R557A、R557K、P558G、P558L、P558S、F559L、I560V及Y563H之取代中之一者或多者、及/或P384之缺

失，其中該等位置對應於具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之位置。

【0028】 在一些實施例中，該CFI變異體包含在CFI之一或多個N連接的糖基化位點處之一或多個修飾。在一些實施例中，該CFI變異體包含在具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之對應於位置N52、N85、N159、N446、N476及N518之任何一或多個位置處之修飾。在一些實施例中，該CFI變異體包含選自N52Q、N85Q、N159Q、N446Q、N476Q及N518Q之取代中之一者或多者，其中該等位置對應於具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之位置。在一些實施例中，該CFI變異體包含選自N52Q；N85Q；N159Q、N446Q；N476Q；N518Q之取代之組合中之一者或多者，其中該等位置對應於具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之位置。

【0029】 在一些實施例中，該CFI變異體包含CFI之SPD域中之一或多個修飾。在一些實施例中，該CFI變異體包含在具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之對應於位置K14、K312、R314、I322、V323、K326、R327、A328、K340、D341、G344、I345、T346、A361、L364、Y372、W381、P384、V390、N402、N404、G406、Y408、Q409、E416、K418、N422、D425、E457、K458、R456、E461、R462、F464、S465、Q467、W468、G469、T495、Y496、D497、S499、I500、A502、K504、D506、S507、E530、N531、E530、N531、G533、K534、P535、E536及F537之任何一或多個位置處之修飾。

【0030】 在一些實施例中，該CFI變異體包含將CFI之自溶迴路替換

為胰蛋白酶之自溶迴路，其中該自溶迴路發生在具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之對應於位置456及位置465之位置之間。

【0031】在一些實施例中，該CFI變異體包含選自以下之取代中之一者或多者：K14A、K312A、R314A、I322T、I322Y、I322V、V323I、V323G、V323A、K326A、R327A、R327P、R327N、A328C、K340G、D341A、G344R、G344K、G344Y、I345G、T346R、T346K、T346H、A361G、L364G、Y372G、W381K、W381G、P384A、P384G、V390G、N402E、N404G、G406D、G406E、G406F、G406H、G406I、G406K、G406L、G406M、G406N、G406P、G406Q、G406S、G406T、G406V、G406W、G406Y、Y408L、Y408F、Y408G、Y408P、Y408D、Y408A、Y408N、Y408T、Y408K、Y408R、Y408H、Y408I、Y408E、Y408M、Y408Q、Y408S、Y408W、~~Y408Y、~~Y408V、Q409G、E416A、K418G、N422K、D425A、D425K、D425R、D425G、R456A、R456N、E457G、E457A、E457D、E457F、E457H、E457I、E457K、E457L、E457M、E457N、E457P、E457Q、E457R、E457S、E457T、E457W、E457Y、E457V、K458A、E461Q、E461K、E461R、E461H、E461G、E461A、E461D、E461F、E461I、E461L、E461M、E461N、E461P、E461S、E461T、E461W、E461Y、E461V、R462K、R462A、R462D、F464Y、S465G、Q467K、Q467R、W468C、G469L、T495F、Y496L、D497E、S499G、I500K、A502S、K504Q、K504E、K504R、K504A、K504G、K504L、K504P、K504H、K504D、K504F、K504I、K504M、K504N、K504S、K504T、K504V、K504W、K504Y、D506A、

D506V、D506E、D506G、S507A、E530D、E530G、E530F、E530Y、N531G、N531A、E530D、E530G、E530F、E530Y、E530R、E530K、N531D、N531E、N531F、N531H、N531I、N531K、N531L、N531M、N531P、N531Q、N531R、N531S、N531T、N531V、N531W、N531Y、G533A、K534Q、P535A、P535K、E536N、E536A、F537K及F537R，其中該等位置對應於具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之位置。

【0032】在一些實施例中，該CFI變異體包含選自以下之組合取代中之一者或多者：K326A；R327A、N531G；P535A、E457G；E461Q；R462K；F464Y、Y408L；N531G；E457G、Y408L；N531G；E457G；E461Q、Y408L；N531G；E457G；E461Q-R462K；F464Y、Y408L；N531G；P535A、K14A；D425R、E530D；N531G；G533A；K534Q；P535K；E536N、A502S；K504Q；F537K、T495F；Y496L；D497E；S499G；I500K、G533A；K534Q；P535K；E536N；F537K、T495F；Y496L；D497E；S499G；I500K；G533A；K534Q；P535K；E536N；F537K、Q467K；F537K、E530G；N531G、E530D；F537K、E457G；E461Q、E457G；E461G、Y408L；N531G；E457G；E461Q、N531G；E457G；E461Q、I322V；V323I、I322V；V323I；R327P、A328C；W468C、A328C；W468C；K326Y；R327N、Y408L；N531G；E461Q、Y408L；N531G；E457G；E461Q；R462K、Y408L；N531G；E457G；E461Q；F464Y、Y408L；N531G；E457G；R462K；F464Y、Y408L；N531G；E461Q；R462K；F464Y、Y408L；E457G；E461Q；R462K；F464Y、E457G；N531G；E461Q；R462K；F464Y、Y408L；

E457G；E461Q；R462K、N531G；E457G；E461Q；F464Y、E416A；D425R、Y408L；N531G；E457G；E461Q；R462K；F464Y；S507A、E457G；E461G、K312A；R314A、G469L；R456N；E457T；K458A、G469L；R456N；K458A、G469L；R456N；K458A；E461G、G469L；R456N；K458A；E461G；F537K、G406D；Y408L、G406D；N531G、G406D；P535A、G406D；Y408L；N531G、G406D；Y408L；P535A、G406D；N531G；P535A、G406D；Y408L；N531G；P535A、K340G；I345G、L364G；Y372G、W381G；V390G、W381G；P384A；V390G、W381G；P384G；V390G、N404G；Q409G、K418G；D425G、T346R；K504E；E530R、T346K；K504D；E530K、G344R；Y408L；N531G、G344K；Y408L；N531G、T346R；Y408L；N531G、T346K；Y408L；N531G、K504D；Y408L；N531G、K504E；Y408L；N531G、Y408L；E530R；N531G、Y408L；E530K；N531G、T346R；Y408L；K504E；E530R；N531G、T346K；Y408L；K504D；E530K；N531G、Y408L；S507A；N531G、Y408L；N531G；E457G；E461Q；R462K；F464Y；S507A、E457G；S507A、及N531G；P535A；S507A，其中該等位置對應於具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI之位置。

【0033】 在一些實施例中，該CFI變異體包含在CFI之活性位點處之一或多個修飾。在一些實施例中，該CFI變異體包含在對應於具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之位置S507之位置處之修飾。在一些實施例中，該CFI變異體包含取代S507A，其中該位置對應於具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之位置S507。

【0034】 在一些實施例中，該CFI變異體包含A鏈及B鏈，其中該CFI變異體包含自N端至C端之結構排列作為(A鏈)-(可選連接子)-(B鏈)。在一些實施例中，該CFI變異體包含A鏈及B鏈，其中該CFI變異體包含自N端至C端為(B鏈)-(可選連接子)-(A鏈)之結構排列。在一些實施例中，該CFI變異體包含在C309及C435中之一者或多者處之修飾，其中該等位置對應於具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之位置。

【0035】 在一些實施例中，該CFI變異體包含取代C309S；C435S，其中該等位置對應於具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之位置。在一些實施例中，該B鏈及該A鏈經二硫鍵進一步連接。

【0036】 在一些實施例中，與野生型CFI相比，該CFI變異體更容易被活化。在一些實施例中，該CFI變異體包含在具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之對應於位置I317、R318、R319、K320及R321之任何一或多個位置處之修飾。在一些實施例中，該CFI變異體包含選自I317D、R318D、R319D、K320D及R321K之取代中之一者或多者，其中該等位置對應於具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之位置。

【0037】 在一些實施例中，該CFI變異體包含取代I317D、R318D、R319D、K320D及R321K，其中該等位置對應於具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之位置。

【0038】 在一些實施例中，該CFI變異體包含選自以下之取代組合中之一者或多者：Y408；N531G、E38A；D425R、Y20F；D425R、S250A；D425R、Y408F；N531G、Y408L；N531G；E457G；E461Q；R462K；F464Y、K14A；Y20F、K14A；E38A、K14A；S250A、K14A；D425A、Y20F；E38A、Y20F；S250A、Y20F；D425A、

E38A；S250A、E38A；D425A、S250A；D425A、K14A；N531G；P535A、Y20F；N531G；P535A、E38A；N531G；P535A、S250A；N531G；P535A、D425A；N531G；P535A、Y20F；Y408L；N531G；E457G；E461Q；R462K；F464Y、E38A；Y408L；N531G；E457G；E461Q；R462K；F464Y、S250A；Y408L；N531G；E457G；E461Q；R462K；F464Y、D425R；Y408L；N531G；E457G；E461Q；R462K；F464Y、Y20F；E38A；S250A；D425A、Y20F；E38A；S250A；D425A；Y408L；N531G；E457G；E461Q；R462K；F464Y、Y20F；E38A；S250A；D425A；Y408L；N531G；E457G；E461Q、I317D；R318D；R319D；K320D；R321K；E457G；E461Q-R462K；F464Y、I317D；R318D；R319D；K320D；R321K；E457G；E461Q-R462K；F464Y、I317D；R318D；R319D；K320D；R321K；Y408L；N531G；E457G；E461Q；R462K；F464Y、K504D；Y408L；N531G、K504E；Y408L；N531G、E457G；N531G；D425K、Y408F；N531G、Y408L；E457G；N531G；D425K、Y408L；E457G；P535G；D425K、Y408L；E457G；N531G；K534Q、Y408L；N531G、R462K；F464Y、及Y408L；P535G；D425K，其中該等位置對應於具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之位置。

【0039】在一些實施例中，該等CFI變異體包含在具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之對應於位置K14、K312、R314、I322、V323、K326、R327、A328、T377、K340、D341、G344、I345、T346、A361、L364、Y372、W381、P384、V390、N402、N404、G406、Y408、Q409、E416、K418、N422、D425、E457、K458、

R456、E461、R462、F464、S465、Q467、W468、G469、T495、Y496、D497、S499、I500、A502、K504、D506、S507、E530、N531、E530、N531、G533、K534、P535、E536及F537之任何一或多個位置處之修飾或由其組成。

【0040】在一些實施例中，該等CFI變異體包含選自以下之取代中之任何一者或多者或由其組成：K14A、K312A、R314A、I322T、I322Y、I322V、V323I、V323G、V323A、K326A、R327A、R327P、R327N、A328C、T377G、K340G、D341A、G344R、G344K、G344Y、I345G、T346R、T346K、T346H、A361G、L364G、Y372G、W381K、W381G、P384A、P384G、V390G、N402E、N404G、G406D、G406E、G406F、G406H、G406I、G406K、G406L、G406M、G406N、G406P、G406Q、G406S、G406T、G406V、G406W、G406Y、Y408L、Y408F、Y408G、Y408P、Y408D、Y408A、Y408N、Y408T、Y408K、Y408R、Y408H、Y408I、Y408E、Y408M、Y408Q、Y408S、Y408W、Y408Y、Y408V、Q409G、E416A、K418G、N422K、D425A、D425K、D425R、D425G、R456A、R456N、E457G、E457A、E457D、E457F、E457H、E457I、E457K、E457L、E457M、E457N、E457P、E457Q、E457R、E457S、E457T、E457W、E457Y、E457V、K458A、E461Q、E461K、E461R、E461H、E461G、E461A、E461D、E461F、E461I、E461L、E461M、E461N、E461P、E461S、E461T、E461W、E461Y、E461V、R462K、R462A、R462D、F464Y、S465G、Q467K、Q467R、W468C、G469L、T495F、Y496L、D497E、S499G、I500K、A502S、K504Q、

K504E、K504R、K504A、K504G、K504L、K504P、K504H、K504D、K504F、K504I、K504M、K504N、K504S、K504T、K504V、K504W、K504Y、D506A、D506V、D506E、D506G、S507A、E530D、E530G、E530F、E530Y、N531G、N531A、E530D、E530G、E530F、E530Y、E530R、E530K、N531D、N531E、N531F、N531H、N531I、N531K、N531L、N531M、N531P、N531Q、N531R、N531S、N531T、N531V、N531W、N531Y、G533A、K534Q、P535A、P535K、E536N、E536A、F537K及F537R，其中該等位置對應於具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之位置。

【0041】在一些實施例中，該等CFI變異體包含選自以下之組合取代中之任一者或多者或由其組成：N422K + E457G + N531G、T377G + E457G + N531G、K326A + 327A R327A、E457G + N531G、N531G + P535A、E457G + E461Q + R462K + F464Y、Y408L + N531G + E457G、Y408L + N531G + E457G + E461Q、Y408L + N531G + E457G + E461Q-R462K + F464Y、Y408L + N531G + P535A、K14A + D425R、E530D + N531G + G533A + K534Q + P535K + E536N、A502S + K504Q + F537K、T495F + Y496L + D497E + S499G + I500K、G533A + K534Q + P535K + E536N + F537K、T495F + Y496L + D497E + S499G + I500K + G533A + K534Q + P535K + E536N + F537K、Q467K + F537K、E530G + N531G、E530D + F537K、E457G + E461Q、E457G + E461G、Y408L + N531G + E457G + E461Q、N531G + E457G + E461Q、I322V + V323I、I322V + V323I + R327P、A328C + W468C、A328C + W468C + K326Y + R327N、Y408L + N531G + E461Q、Y408L + N531G + E457G

+ E461Q + R462K、Y408L + N531G + E457G + E461Q + F464Y、Y408L + N531G + E457G + R462K + F464Y、Y408L + N531G + E461Q + R462K + F464Y、Y408L + E457G + E461Q + R462K + F464Y、E457G + N531G + E461Q + R462K + F464Y、Y408L + E457G + E461Q + R462K、N531G + E457G + E461Q + F464Y、E416A + D425R、Y408L + N531G + E457G + E461Q + R462K + F464Y + S507A、E457G + E461G、K312A + R314A、G469L + R456N + E457T + K458A、G469L + R456N + K458A、G469L + R456N + K458A + E461G、G469L + R456N + K458A + E461G + F537K、G406D + Y408L、G406D + N531G、G406D + P535A、G406D + Y408L + N531G、G406D + Y408L + P535A、G406D + N531G + P535A、G406D + Y408L + N531G + P535A、K340G + I345G、L364G + Y372G、W381G + V390G、W381G + P384A + V390G、W381G + P384G + V390G、N404G + Q409G、K418G + D425G、T346R + K504E + E530R、T346K + K504D + E530K、G344R + Y408L + N531G、G344K + Y408L + N531G、T346R + Y408L + N531G、T346K + Y408L + N531G、K504D + Y408L + N531G、K504E + Y408L + N531G、Y408L + E530R + N531G、Y408L + E530K + N531G、T346R + Y408L + K504E + E530R + N531G、T346K + Y408L + K504D + E530K + N531G、Y408L + S507A + N531G、Y408L + N531G + E457G + E461Q + R462K + F464Y + S507A、E457G + S507A及N531G + P535A + S507A，其中該等位置對應於具有SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列之CFI中之位置。例如，在一些實施例中，該CFI變異體包含選自N422K + E457G + N531G之取代或由其組成。例如，在一些實

施例中，該CFI變異體包含選自T377G + E457G + N531G之取代或由其組成。

【0042】 在一些實施例中，該融合構築體包含CFI及白蛋白，且該白蛋白為人類血清白蛋白(HSA)，且該CFI為野生型CFI，且此類融合構築體在本文中稱為「CFI-HSA」。本發明之一種示例性CFI-HSA具有SEQ ID NO: 21的胺基酸序列、或包含與SEQ ID NO:21的胺基酸序列至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列一致性之序列。

【0043】 一些實施例中，該融合構築體之CFI包含SEQ ID NO:5的胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，該變異體包含與SEQ ID NO:5的胺基酸序列至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列一致性。

【0044】 在一些實施例中，該融合構築體之血清白蛋白包含SEQ ID NO:7的胺基酸序列或其變異體。在一些實施例中，該變異體包含與SEQ ID NO:7的胺基酸序列至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少

74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%的序列一致性。

【0045】在一些實施例中，融合構築體中之CFI之結合搭配物包含補體受體1 (CR1)之至少一個域、或域之一部分。在一些實施例中，該至少一個CR1域包含CR1之CCP域15至17。在一些實施例中，該至少一個CR1域包含CR1之CCP域1至3。在一些實施例中，本發明之包含至少一個CR1域之融合構築體亦包括與白蛋白之融合。在一些實施例中，本發明之包含至少一個CR1域之融合構築體亦包括與白蛋白之融合、及/或因子H之至少一個域。在一些實施例中，該至少一個CR1域包含CR1 CCP域15。在一些實施例中，該至少一個CR1域包含CR1 CCP域16。在一些實施例中，該至少一個CR1域包含CR1 CCP域17。在一些實施例中，該至少一個CR1域包含CR1 CCP域15至16。在一些實施例中，該至少一個CR1域包含CR1 CCP域16至17。在一些實施例中，一種示例性融合構築體包含具有與CR1之CCP域15至17融合之修飾N531G之CFI。在一些實施例中，該示例性融合構築體包含與CR1之CCP域融合之CFI，且進一步與白蛋白融合。

【0046】在一些實施例中，該融合構築體中之CFI之結合搭配物包含至少一個域、或因子H之域之一部分。在一些實施例中，該至少一個因子H域包含因子H之補體控制蛋白(CCP)域1至20中之任何一者或多者。在一些實施例中，該至少一個因子H域之胺基酸序列為SEQ ID NO: 22所述的序列或衍生自其(表1)。在一些實施例中，該至少一個因子H域包含因子

H之CCP域1至20中之各者。在一些實施例中，該至少一個因子H域包含CCP1、CCP 2、CCP3及CCP4。在一些實施例中，該至少一個因子H域包含CCP2、CCP3及CCP4。在一些實施例中，該至少一個因子H域包含CCP2及CCP3。在一些實施例中，因子H之該至少一個域之胺基酸序列為SEQ ID NO: 23所述的序列或衍生自其(表1)。在一些實施例中，該至少一個因子H域包含因子H之CCP域1至4及19至20。在一些實施例中，該示例性融合構築體包含與FH之CCP域融合之CFI，且進一步與白蛋白融合。

【0047】 本發明之示例性CFI-HSA融合構築體包含(如N端至C端所表示)：

(a) N端HSA – GGSSGG連接子(SEQ ID NO: 6) – CFI SEQ ID NO: 5，其包含取代N422K、E457G及N531G。

(b) N端HSA – GGSSGG連接子(SEQ ID NO: 6) – CFI SEQ ID NO: 5，其包含取代T377G、E457G及N531G。

【0048】 本發明之示例性含CR1融合構築體包含HSA、CFI及人類CR1域。此種融合構築體之一個實例為：

(a) N端HSA – GGSSGG連接子(SEQ ID NO: 6) – CFI SEQ ID NO: 5，其包含取代N422K、E457G及N531G – GGSSGGSSGGSSGGSSGGSSGG連接子(SEQ ID NO: 24) – 人類CR1域CCP15、CCP16及CCP17。

【0049】 本發明之融合構築體之組分(該CFI及該結合搭配物)可藉由可選連接子保持在一起。連接子可為至少一個胺基酸之任何適宜長度。連接子可為撓性連接子，且可為長度為約1至約20個胺基酸殘基之肽，其中該等胺基酸殘基可包含甘胺酸殘基。該連接子亦可視情況包含絲胺酸殘

基。示例性撓性連接子可包括(但不限於)甘胺酸聚合物、甘胺酸-絲胺酸聚合物、甘胺酸-丙胺酸聚合物、丙胺酸-絲胺酸聚合物、或此項技術中已知的任何其他適宜的撓性連接子。一種示例性連接子為$(GGSS)^nGG$ (SEQ ID NO: 25)，其中n為約1至約25之任何數值。在一些實施例中，該連接子為蛋白酶敏感性可裂解連接子。連接該等融合構築體之示例性連接子之長度可為1至50個、5至50個、10至50個、15至50個、20至22個、22至24個、20至50個、25至50個、1至20個、2至20個、3至20個、4至20個、5至20個、6至20個、7至20個、8至20個、9至20個、10至20個、3至15個、3至10個、3至9個、3至8個、3至7個、3至6個、3至5個、4至15個、4至10個、4至9個、4至8個、4至7個、4至6個、4至5個、5至15個、5至10個、5至9個、5至8個、5至7個、5至6個、6至15個、6至10個、6至9個、6至8個或6至7個胺基酸。

【0050】 在一些實施例中，相對於不為融合構築體之一部分之CFI，CFI-HSA可能具有延長之半衰期。一種示例性CFI-HSA構築體可藉由將白蛋白與野生型CFI經撓性連接子連接而產生。在一些實施例中，該CFI-HSA包含SEQ ID NO: 21所述的胺基酸序列，或包含與其具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的胺基酸序列一致性之序列。

【0051】 在一些實施例中，該融合構築體包含自N端至C端為(白蛋白)-(可選連接子)-(WT CFI)之結構排列。

【0052】 在一些實施例中，該融合構築體包含自N端至C端為(WT CFI)-(可選連接子)-(白蛋白)之結構排列。

【0053】 在一些實施例中，該融合構築體包含SEQ ID NO: 7及SEQ

ID NO: 5的胺基酸序列、或其與SEQ ID NO:5具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%的一致性之變異體，其中該融合構築體包含自N端至C端之結構排列(SEQ ID NO: 7)-(可選連接子)-(SEQ ID NO: 5)。在一些實施例中，該融合構築體包含SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 7的胺基酸序列，其中該融合構築體包含自N端至C端之結構排列(SEQ ID NO: 7)-(連接子)-(SEQ ID NO: 5)。在一些實施例中，該融合構築體包含SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6及SEQ ID NO: 7的胺基酸序列，其中該融合構築體包含自N端至C端之結構排列(SEQ ID NO: 7)-(SEQ ID NO: 6)-(SEQ ID NO: 5)。在一些實施例中，該融合構築體包含SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 7的胺基酸序列，其中該融合構築體包含自N端至C端之結構排列(SEQ ID NO: 5)-(可選連接子)-(SEQ ID NO: 7)。在一些實施例中，該融合構築體包含SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 7的胺基酸序列，其中該融合構築體包含自N端至C端之結構排列(SEQ ID NO: 5)-(連接子)-(SEQ ID NO: 7)。在一些實施例中，該融合構築體包含SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6及SEQ ID NO: 7的胺基酸序列，其中該融合構築體包含自N端至C端之結構排列(SEQ ID NO: 5)-(SEQ ID NO: 6)-(SEQ ID NO: 7)。

【0054】 在一些實施例中，該融合構築體包含SEQ ID NO: 21所述的胺基酸序列、或包含與其至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或至少99%的一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，該融合構築體由SEQ ID NO: 21所述的胺基酸序列組成。在一些實施例中，該融合構築體包含SEQ ID NO: 5及SEQ ID NO: 7的胺基酸序列。在一些實施例中，應注意，至野生型CFI之白蛋白融合(例如N端白蛋白融合)提供溶解度且促進

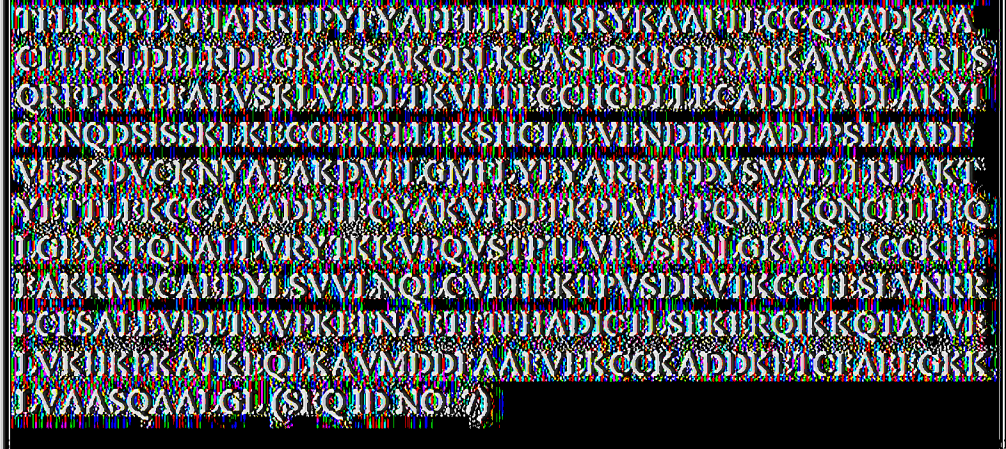
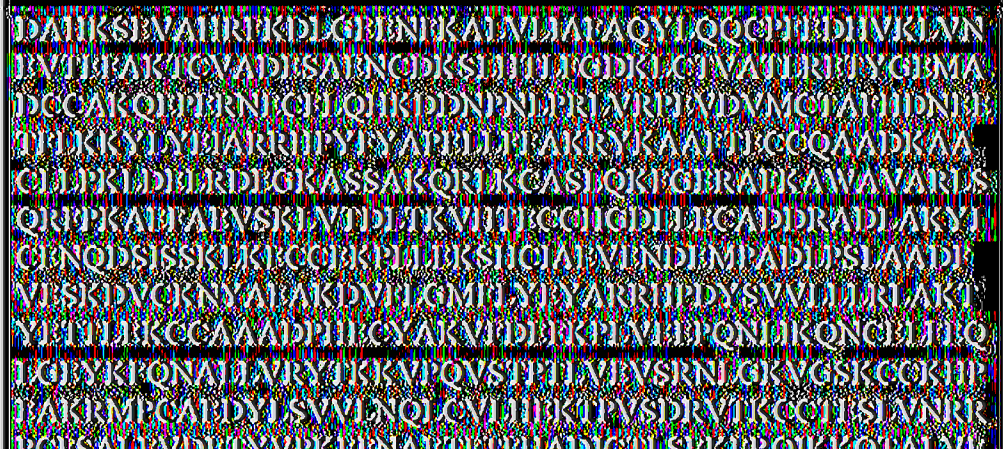
CFI-HSA之活化。當轉譯後進行將CFI用弗林蛋白酶活化為成熟雙鏈蛋白質且在CFI-HSA與不具有白蛋白之野生型CFI (WT-CFI)之間比較活化時，觀察到弗林蛋白酶顯著更好地且幾乎完全地活化CFI-HSA。已觀察到CFI-HSA蛋白質仍為單體，不存在證明聚集體的證據。胺基端HSA融合對於維持CFI-HSA構築體之溶解度、單分散性及有效弗林蛋白酶活化而言存在顯著且意外之益處。透過例如改良之半衰期，生物利用度顯著改良。

【0055】 因此，本文提供增加CFI之活化之方法，其包括將HSA融合至野生型CFI，其中該融合為在用弗林蛋白酶活化之前之N端融合；及用弗林蛋白酶活化。在一些實施例中，用弗林蛋白酶活化係在細胞中在重組產生本發明之CFI融合構築體期間進行。在一些實施例中，用弗林蛋白酶活化在活體外進行。

【0056】 轉至表1，SEQ ID NO: 1為野生型血漿衍生之人類CFI之胺基酸序列，稱為「CFI-PD」，且具有前導序列。用於與第二組分融合之野生型CFI可包含SEQ ID NO: 5的胺基酸序列，其不包含於SEQ ID NO: 1中呈現之前導序列。小鼠Ig κ鏈V-III區MOPC 63前導序列(SEQ ID NO: 2)可替代用於重組產生本文所提供的CFI融合構築體中之任何者。在一些實施例中，本文提供包含至少一個CFI域之CFI融合構築體，其中該至少一個CFI域包含SEQ ID NO: 5所述的胺基酸序列。

表1：示例性CFI融合構築體之組分

指述	序列
野生型T細胞衍生之人類CD1(CD1PD)	MKLLIVFLDLCFHLRFCKVTYTSQEDLVEKKCLAKKYTHLSCDKVFCQPWQRCIEGTCVCKLPYQCPKNGTAVCATNRRSFPTYCQQKSLECLIPGTDFLNNGTCTAEGKFSVSLKHGNTDSEGIVEVKLVDQDKTMFICKSSWSMREANVACLDLGFQQGADTQRRFKLSDLSINSTECLIVHCRGLEISLAECTFTKRRTMGYQDFADVVCYTQKADSPMDDFFQCVNGKYISQMKACDGINDCGDQSDELCCKACQGKGFHCKSGVCIPSQYQCNGEVDCITGEDEVGCAGFASVTQEETELLTADMDAERRRIKSLIPKLSCGVKNRMHMRRKRIVGGKRAQLGDLPWQVAIKDASGITCGGIYIGGCWILTAAHCLRASKTHRYQIWTTVVDWIHPDLKRIVIEYVDRIFIHENYNAGTYQNDIALIEMKKDGNKKDCELPRSIPACVPWSPYLFQPNDTCIVSGWGREKDNERVFSLQWGEVKLISNCSKFYGNRFYEKEMECAGTYDGSIDACKGDSGGPLVCMDANNVTYVWGVVSWGENCGKPEFPGVYTKVANYFDWISYHVGRPFISQYNV (SEQ ID NO: 1)
前導序列(CD1HSA之小鼠前導子)	MGDTLLLWVLLWVPGSTG (SEQ ID NO: 2)
人類C前導序列	MKLLIVFLDLCFHLRFC (SEQ ID NO: 3)
不具任何識序列之SEQ ID NO 1所示的野生型CD1	KVTYTSQEDLVEKKCLAKKYTHLSCDKVFCQPWQRCIEGTCVCKLPYQCPKNGTAVCATNRRSFPTYCQQKSLECLIPGTDFLNNGTCTAEGKFSVSLKHGNTDSEGIVEVKLVDQDKTMFICKSSWSMREANVACLDLGFQQGADTQRRFKLSDLSINSTECLIVHCRGLEISLAECTFTKRRTMGYQDFADVVCYTQKADSPMDDFFQCVNGKYISQMKACDGINDCGDQSDELCCKACQGKGFHCKSGVCIPSQYQCNGEVDCITGEDEVGCAGFASVTQEETELLTADMDAERRRIKSLIPKLSCGVKNRMHMRRKRIVGGKRAQLGDLPWQVAIKDASGITCGGIYIGGCWILTAAHCLRASKTHRYQIWTTVVDWIHPDLKRIVIEYVDRIFIHENYNAGTYQNDIALIEMKKDGNKKDCELPRSIPACVPWSPYLFQPNDTCIVSGWGREKDNERVFSLQWGEVKLISNCSKFYGNRFYEKEMECAGTYDGSIDACKGDSGGPLVCMDANNVTYVWGVVSWGENCGKPEFPGVYTKVANYFDWISYHVGRPFISQYNV (SEQ ID NO: 5)
連接子	GGSSGG (SEQ ID NO: 6)

第[illegible]圖	第2圖
第[illegible]圖(第1圖之A)	
第[illegible]圖(第1圖之A)	

描述	序列
人類因子H (FH)	MRLLAKIICLMLWAICVAEDCNELPPRRNTEILTGSWSDQTYPEGTQAI YKCRPGYRSLGNVIMVCRKGEWVALNPLRKCQKRPCGHPGDTPFGTFT LTGGNVFEYGVKAVYTCNEGYQLLGEINYRECDTDGWTNDIPICEVVK CLPVTAPENGKIVSSAMEPDREYHFGQAVRFVCNSGYKIEGDEEMHCS DDGFWSKEKPKCVEISCKSPDVINGSPISQKIIYKENERFQYKCNMGYEY SERGDAVCTESGWRPLPSCEEKSCDNPYIPNGDYSPLRIKHRTGDEITYQ CRNGFYPATRGNTAKCTSTGWIPAPRCTLKPCDYPDIKHGGLYHENMR RPYFPVAVGKYYSYYCDEHLETPSGSYWDHIHCTQDGWSPAVPCLRKC YFPYLENGYNQNYGRKFVQGKSIDVACHPGYALPKAQTTVTCMENGW SPTPRCIRVKTCSKSSIDIENGFISESQYTYALKEKAKYQCKLGYVTADG ETSGSITCGKDGWSAQPTCKSCDIEVTHNARTKNDFTWFKLNDRYTP CHDGYTLYNKDSTTGSIVCGYNGWSDLPICYERECELPKIDVHLVPDRKK DQYKVGEVLKFSCKPGFTIVGPNSVQCYHFGLSPDLPICKEQVQSCGPP PELLNGNVKEKTKEYGHSEVVEYYCNPRFLMKGPNKIQCVDGEWTTLP VCIVEESTCGDIPELEHGWAQLSSPPYYYGDSVEFNCSESFTMIGHRSI TCIHGVWTQLPQCVAIDKLKKCKSSNLIILDEHVKNKKFKLSSISYTC KDPLSGIDVFELCPMIVDLEAPIQNTDPSAKSVIVTWDRDLAGKVVLT VKLAGNFTTKGTHLISHEVMLFGSVDEKLFQLYVNEHGCKWHTGKRAG SMKSPDCSCGSFLLRRLHLNHVSSELESGLGLTDYCTKKIKICSMQPKF TIVPSWIKVLRGSEENYTAVDNVVLELNGSMSISAEGFSLRLTAVGQAF SEQGCNTAVESPKFMECRVSLGFIPDNGRRVSLVAKENSTSSKSPTPEG SSGNLVNPRLHQMDNHALQFTPVAGVILTLLVLVVLGVVVFFWLKKRV QDIKEMCQENLVSQFISERESQLVLEQKKEKEREFETTFQEDIHLEDLIK YSFKQKVAMREISDELEDTWKKRQEQLDSGNCGFIEGTKPLIDDHVCDS LENPHHTETFINPQKLIETPETMLQNEIENNEANIEACFIENSPIISNSPL DQNYIHSDNIKTEFPSPSQYSASIQEVNETDNYIVLDAQSRFGNESELQR HLSLSCVTLSSMSTSADETEYLNFGDGEGIGPIMNHSFEDTDDEEEEIY FDDTSRPAISNSSIRYESQEDRRQFISSAKQRYPLYIDKDQVSDPLAPN RFQFLPPPEYPEDSSSPKYEDSTHSTGSEENSPVLLTESTRTVFDFSAV GSPSGSEASSQLQESVFMPHEGLEMYKPLEHSPELPADPVSRSYLKPWT EDPAPREVPTQLNTVGTIETVNAEDQDFDYLFQDSGIGPDPSHNMEYSR LVETIDVADGDFVTLPSQLKEVIQEGCLGPAEEHSFMKSSVPSQEKAPE SLSSKGKQPENGPLPRVLEPEETLEYAVKTTMDPDYLQDAYDLLRCMD LPGQEQSPESLEATMRDVPLLAMEMVEVPLSHPQESGYKSVKTWRQDS QDYRNQSKAQRHRAIDAENKVLKLSIQKYYGLVNKHAIEMSEQLNREK VKLNITSKEDHLTKQMFLMDNKRKEIKPTFRQEKSLSTVKASMVSSTS EGSIDKYANTEFQNHVNQLKEFNALTSDSPSKTKLSSLEASLKKMEIFG DTLPQVEMKSEDQADDGPTVMENSIQIMQADSALNATDFKSKLPPEEET GVEHLISEFLNKEEILSDLELQHVNYSGIKLNKKEELISRGLHEDNFNS QETISNISATIPSDDLELDGHWCPVPPSICTLVNQDTSAEDTSSMETDT VFDDTDIVAYDEEGSPSPMSSNTSESIQAAQSRLDSLQSSRSSCDSQDT SLTHSLEELACQCADHVSRSSSGPSQKFPSLQSVYHQNHSPGQGSVLLS SESEELNELGNQEKDHLLDSNMIESLIQTSFSFQDNPGTDYGSLQTCPE TEDEIGHCIGEEHSDIDNSFSGYSSDYSVSLNADTGELFYGVRLGTAVI YKCRPGYRSLGNI

中，該宿主細胞為中國倉鼠卵巢(CHO)細胞。

【0058】 本文所述的CFI融合構築體可在此項技術中已知的用於產生生物產物之哺乳動物細胞系(例如中國倉鼠卵巢(CHO)細胞)中重組地表現。哺乳動物細胞可使用此項技術中已知的任何方法用編碼本文所述的融合構築體之表現載體轉染或轉導。

【0059】 本文提供用於產生及純化本文所述的CFI融合構築體之方法。本文所述的CFI融合構築體可藉由此項技術中已知的標準方法自條件培養基(conditioned media)純化。在一些實施例中，CFI融合構築體可藉由在親和基質上之層析純化。在一些實施例中，該親和基質為CaptureSelect™人類白蛋白親和基質。在一些實施例中，CFI融合構築體可藉由在陽離子及/或陰離子交換基質上之層析及視情況之尺寸排除層析純化。CFI融合構築體可最佳地經緩衝液交換至此項技術中已知的任何適宜緩衝液中。純度可藉由此項技術中已知的任何方法，包括凝膠電泳、正交HPLC法、染色及分光光度技術來評估。

III. CFI融合構築體——使用方法

A. 用途

【0060】 本發明之CFI融合構築體可用於調節眼睛中之補體系統。

【0061】 如本文所討論，在一些實施例中，本發明之CFI融合構築體能夠調節眼睛中之經典及凝集素補體途徑。

【0062】 如本文所討論，在一些實施例中，本發明之CFI融合構築體能夠調節眼睛中之替代補體途徑。

【0063】 如本文所討論，在一些實施例中，本發明之CFI融合構築體能夠減少眼睛中補體系統之擴增。

【0064】 如本文所討論，在一些實施例中，本發明之CFI融合構築體能夠增加眼睛中之C3b之裂解。

【0065】 如本文所討論，在一些實施例中，本發明之CFI融合構築體能夠增加眼睛中之C4b之裂解。

【0066】 如本文所討論，在一些實施例中，本發明之CFI融合構築體能夠增加眼睛中之C4c之產生。

【0067】 如本文所討論，在一些實施例中，本發明之CFI融合構築體能夠增加眼睛中之iC3b之產生。

【0068】 如本文所討論，在一些實施例中，本發明之CFI融合構築體能夠增加眼睛中之C3dg自iC3b之產生。

【0069】 如本文所討論，在一些實施例中，本發明之CFI融合構築體能夠增加眼睛中之C3c自iC3b之產生。

【0070】 如本文所討論，在一些實施例中，本發明之CFI融合構築體能夠減少眼睛中之C3b α-鏈之含量。

【0071】 如本文水解討論，在一些實施例中，本發明之CFI融合構築體能夠增加眼睛中之肽受質之水解。

【0072】 如本文所討論，在一些實施例中，本發明之CFI融合構築體能夠增加眼睛中之大分子蛋白質受質之蛋白水解。

【0073】 如本文所討論，在一些實施例中，本發明之CFI融合構築體能夠減少眼睛中之攻膜複合體(MAC)之含量或功能。

【0074】 如本文所討論，在一些實施例中，本發明之CFI融合構築體能夠減少眼睛中之所觀察到的溶血。

【0075】 如本文所討論，在一些實施例中，本發明之CFI融合構築

體能夠在眼睛中不存在補因子下例如以輔因子獨立方式增加C3b之裂解。

【0076】 如本文所討論，在一些實施例中，本發明之CFI融合構築體能夠在眼睛中不存在補因子下例如以輔因子獨立方式增加C4b之裂解。

【0077】 本發明之CFI融合構築體可用於個體中之眼部療法。如本文所用，個體包括任何哺乳動物個體且包括靈長類動物、齲齒動物、家畜(domestic animal)、動物園動物及寵物。在一些實施例中，該哺乳動物個體為人類個體。在一些實施例中，該哺乳動物個體為非人類的靈長類動物。

B. 眼部病狀之治療

【0078】 本文所提供的CFI融合構築體可用於治療個體中之眼部病狀。在一些實施例中，本文提供一種治療有需要的個體中之眼部病狀之方法，該方法包括以每隻眼睛約0.1至約10 mg之劑量及/或以約每1個月至約4個月之頻率對該個體眼內投與治療有效量之本文所提供的CFI融合構築體中之任一者或其醫藥組合物。

【0079】 在一些實施例中，該眼部病狀之特徵係CFI之缺乏。在一些實施例中，該眼部病狀之特徵係補體系統之失調。

【0080】 在一些實施例中，該眼部病狀之特徵為功能失調之CFI基因之存在。在一些實施例中，該眼部病狀之特徵係補體系統之失調及低CFI含量。

【0081】 在一些實施例中，該眼部病狀選自由以下組成之群：糖尿病性黃斑水腫(DME)、糖尿病性視網膜病、青光眼、角膜結膜炎、視神經脊髓炎譜系障礙(NMOSD)、開角型青光眼、息肉狀脈絡膜血管病變、斯特格氏病(Stargardt Disease)、葡萄膜炎、及玻璃體視網膜病、及年齡相

關黃斑變性(AMD)。

【0082】 在一些實施例中，該眼部病狀為乾性AMD。在一些實施例中，該眼部病狀為早期乾性AMD。在一些實施例中，該眼部病狀為中期乾性AMD。在一些實施例中，該眼部病狀為晚期乾性AMD。在一些實施例中，該眼部病狀為已進展至濕性AMD之晚期乾性AMD。在一些實施例中，該眼部病狀為已進展至地圖狀萎縮(GA)之晚期乾性AMD。

【0083】 在一些實施例中，該眼部病狀為濕性AMD。在一些實施例中，該眼部病狀為早期濕性AMD。在一些實施例中，該眼部病狀為中期濕性AMD。在一些實施例中，該眼部病狀為晚期濕性AMD。在一些實施例中，該眼部病狀為已進展至新生血管性AMD之晚期濕性AMD。

【0084】 在一些實施例中，該眼部病狀為地圖狀萎縮(GA)。在一些實施例中，該眼部病狀為已自乾性AMD進展之GA。在一些實施例中，該GA與晚期AMD相關。在一些實施例中，該GA與晚期AMD無關。

【0085】 在一些實施例中，該眼部病狀係由個體中之CFI基因之一或多個突變引起，該突變選自由以下組成之群：G119R、L131R、V152M、G162D、R187Y、R187T、T203I、A240G、A258T、G287R、A300T、R317W、R339Q、V412M、P553S、K441R、R339Ter、R317Q、G261D、R187Q及R187Ter。

【0086】 在一些實施例中，該眼部病狀係由個體中之CFI基因之一或多個突變引起，該突變選自由以下組成之群：Phe13Val、Val20Ile、His40Arg、Cys43Phe、Asp44Asn、Pro50Ala、Cys54Arg、Cys54*、Ile55Phe、Pro64Leu、Asn70Thr、Thr72Ser、Phe82Ser、Pro83Gln、Ser90Asn、Cys106Arg、Thr107Ala、Glu109Ala、His118Arg、

Gly119Arg、Gly125Arg、Val127Ala、Val129Gly、Leu131Arg、Met138Val、Met138Ile、Trp145*、Asn151Ser、Val152Met、Gly162Asp、Asp164Val、Asn177Ile、His183Arg、Val184Met、Arg187*、Arg187Gln、Gly188Ala、Phe198Leu、Arg202Ile、Thr203Ile、Tyr206Asn、Gln217His、Ser221Tyr、Asp224Asn、Cys229Arg、Val230Met、Val230Glu、Ala240Gly、Cys247Gly、Gly248Glu、Asp249Glu、Ala258Thr、Gly261Ser、Gly261Asp、Gly263Val、Lys267Asn、Gly280Asp、Gly287Arg、Glu290Asp、Ala300Thr、Glu303Lys、Glu305*、Ile306Val、Ile306Ser、Asp310Glu、Arg317Trp、Arg317Gln、Cys327Arg、Gly328Arg、Arg339*、Arg339Gln、Ile340Thr、Gly342Glu、Arg345Gln、Gly349Arg、Val355Met、Ala356Pro、Ile357Met、Gly362Ala、Tyr369Ser、Trp374Cys、Arg389His、Trp399Arg、Pro402Ser、Asp403Asn、Arg406Cys、Arg406His、Tyr411*、Val412Met、Ile416Leu、His418Leu、Gly424Asp、Asp429Glu、Ala431Thr、Ile433Val、Ile433Thr、Lys441Arg、Arg448Cys、Ala452Ser、Trp456Leu、Tyr459Ser、Gln462His、Cys467Arg、Arg474*、Arg474Gln、Asp477His、Gly487Cys、Ile492Leu、Gly500Arg、Arg502Cys、Gly512Ser、Asp519Asn、Lys522Thr、Asp524Val、Met532Val、Asn536Lys、Trp541*、Gly542Ser、Val543Ala、Trp546*、Glu548Gln、Pro553Ser、Glu554Val、Ser570Thr、Ile578Thr及Gln580*。

【0087】在一些實施例中，該眼部病狀係由具有GA的個體中之突

變之群中之一者或多者引起，該等突變係由以下組成：C2、CFB、CFH及C3突變。

C. 組合療法

【0088】 本文所提供的治療性CFI融合構築體中之任何一者之投與可為單藥療法，或可與任何其他已知藥物或治療組合。其他已知藥物或治療可用於與補體系統之失調相關之病狀，或可與CFI缺乏相關。

D. 投與

【0089】 本文所述的CFI融合構築體作為基於多肽之療法遞送至眼睛。

【0090】 如本文所設想的此種治療包括將本發明之CFI融合構築體投與至眼睛。因此，本文提供包含本發明之CFI融合構築體之醫藥組合物。

【0091】 本文所述的治療性CFI融合構築體之眼部投與可為眶內、眼周、眼內、玻璃體內或視網膜下。可利用任何適宜賦形劑、載劑或其他提供適宜或改良之耐受性、轉移、遞送及類似者之試劑來進行融合構築體之投與。在示例性實施例中，本文所述的CFI融合構築體之投與係玻璃體內投與。

【0092】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體可表現為非活性單鏈前驅蛋白，且藉由弗林蛋白酶(一種絲胺酸蛋白酶)活化。弗林蛋白酶係在其保留性RRKR序列(亦稱為弗林蛋白酶識別序列)處裂解CFI，得到經二硫鍵連接之重鏈及輕鏈之內切蛋白酶。經弗林蛋白酶處理之成熟雙鏈蛋白質係CFI蛋白質之活化形式。如本文中一般所設想，本文所述的CFI融合構築體係以經活化之雙鏈形式遞送。然而，在一些情況下，非活性CFI

融合構築體可以非活性單鏈形式遞送。在一些實施例中，所遞送包括單鏈非活性形式及雙鏈活性形式。

E. 給藥

【0093】 在本文所提供的實施例中，本文所述的CFI融合構築體以每隻眼睛約0.1 mg至約10 mg之劑量及/或以約每4至16週之頻率投與至有需要的個體之一隻或兩隻眼睛。

【0094】 預計本發明之最佳劑量範圍及頻率在眼部注射CFI融合構築體後10天、15天、20天、25天、30天、35天、40天、45天、50天、55天、60天、65天、70天、75天、80天、85天、90天、95天、100天、105天、110天、115天、120天、125天、130天、135天、140天、145天或150天內維持基線CFI含量高於罹患眼部疾病(例如AMD)的個體中之含量。

【0095】 在一些實施例中，在眼內投與融合CFI構築體後，罹患眼部疾病的個體之基線CFI含量維持高於罹患相同眼部疾病的參考個體(其並未接受注射)之基線CFI含量。在一些實施例中，在注射CFI-HSA後，此種CFI含量維持至少10天、15天、20天、25天、30天、35天、40天、45天、50天、55天、60天、65天、70天、75天、80天、85天、90天、95天、100天、105天、110天、115天、120天、125天、130天、135天、140天、145天或150天。

【0096】 在一些實施例中，本文所述的CFI融合構築體以每隻眼睛約0.1 mg至約10 mg之劑量及以約每4至16週之頻率投與至有需要的個體之眼睛。

【0097】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體係投與至一隻眼

睛。在一些實施例中，該等CFI融合構築體係投與至雙眼。在一些實施例中，該等CFI融合構築體係同時投與至雙眼。在一些實施例中，該等CFI融合構築體係依序投與至雙眼。

【0098】 本文所述的CFI融合構築體之示例性劑量為每隻眼睛約0.1 mg至約10 mg。在一些實施例中，本文所述的CFI融合構築體之劑量為每隻眼睛約0.5 mg至約10 mg、每隻眼睛約1 mg至約10 mg、每隻眼睛約1.5 mg至約10 mg、每隻眼睛約2 mg至約10 mg、每隻眼睛約2.5 mg至約10 mg、每隻眼睛約3 mg至約10 mg、每隻眼睛約3.5 mg至約10 mg、每隻眼睛約4 mg至約10 mg、每隻眼睛約4.5 mg至約10 mg、每隻眼睛約5 mg至約10 mg、每隻眼睛約5.5 mg至約10 mg、每隻眼睛約6 mg至約10 mg、每隻眼睛約6.5 mg至約10 mg、每隻眼睛約7 mg至約10 mg、每隻眼睛約7.5 mg至約10 mg、每隻眼睛約8 mg至約10 mg、每隻眼睛約8.5 mg至約10 mg、每隻眼睛約9 mg至約10 mg、或每隻眼睛約9.5 mg至約10 mg。

【0099】 在一些實施例中，本文所述的CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約0.1 mg、每隻眼睛約0.5 mg、每隻眼睛約1 mg、每隻眼睛約1.5 mg、每隻眼睛約2 mg、每隻眼睛約2.5 mg、每隻眼睛約3 mg、每隻眼睛約3.5 mg、每隻眼睛約4 mg、每隻眼睛約4.5 mg、每隻眼睛約5 mg、每隻眼睛約5.5 mg、每隻眼睛約6 mg、每隻眼睛約6.5 mg、每隻眼睛約7 mg、每隻眼睛約7.5 mg、每隻眼睛約8 mg、每隻眼睛約8.5 mg、每隻眼睛約9 mg、每隻眼睛約9.5 mg、或每隻眼睛約10 mg。

【0100】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與之頻率為約每4週至約每16週。在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係玻璃

體內投與，且為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0101】 在一些實施例中，本文所述的治療性CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約0.1 mg、每隻眼睛約0.5 mg、每隻眼睛約1 mg、每隻眼睛約1.5 mg、每隻眼睛約2 mg、每隻眼睛約2.5 mg、每隻眼睛約3 mg、每隻眼睛約3.5 mg、每隻眼睛約4 mg、每隻眼睛約4.5 mg、每隻眼睛約5 mg、每隻眼睛約5.5 mg、每隻眼睛約6 mg、每隻眼睛約6.5 mg、每隻眼睛約7 mg、每隻眼睛約7.5 mg、每隻眼睛約8 mg、每隻眼睛約8.5 mg、每隻眼睛約9 mg、每隻眼睛約9.5 mg、或每隻眼睛約10 mg，頻率為約每4週。

【0102】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約0.1 mg、每隻眼睛約0.5 mg、每隻眼睛約1 mg、每隻眼睛約1.5 mg、每隻眼睛約2 mg、每隻眼睛約2.5 mg、每隻眼睛約3 mg、每隻眼睛約3.5 mg、每隻眼睛約4 mg、每隻眼睛約4.5 mg、每隻眼睛約5 mg、每隻眼睛約5.5 mg、每隻眼睛約6 mg、每隻眼睛約6.5 mg、每隻眼睛約7 mg、每隻眼睛約7.5 mg、每隻眼睛約8 mg、每隻眼睛約8.5 mg、每隻眼睛約9 mg、每隻眼睛約9.5 mg、或每隻眼睛約10 mg，頻率為約每5週。

【0103】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約0.1 mg、每隻眼睛約0.5 mg、每隻眼睛約1 mg、每隻眼睛約1.5 mg、每隻眼睛約2 mg、每隻眼睛約2.5 mg、每隻眼睛約3 mg、每隻眼睛約3.5 mg、每隻眼睛約4 mg、每隻眼睛約4.5

mg、每隻眼睛約5 mg、每隻眼睛約5.5 mg、每隻眼睛約6 mg、每隻眼睛約6.5 mg、每隻眼睛約7 mg、每隻眼睛約7.5 mg、每隻眼睛約8 mg、每隻眼睛約8.5 mg、每隻眼睛約9 mg、每隻眼睛約9.5 mg、或每隻眼睛約10 mg，頻率為約每6週。

【0104】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約0.1 mg、每隻眼睛約0.5 mg、每隻眼睛約1 mg、每隻眼睛約1.5 mg、每隻眼睛約2 mg、每隻眼睛約2.5 mg、每隻眼睛約3 mg、每隻眼睛約3.5 mg、每隻眼睛約4 mg、每隻眼睛約4.5 mg、每隻眼睛約5 mg、每隻眼睛約5.5 mg、每隻眼睛約6 mg、每隻眼睛約6.5 mg、每隻眼睛約7 mg、每隻眼睛約7.5 mg、每隻眼睛約8 mg、每隻眼睛約8.5 mg、每隻眼睛約9 mg、每隻眼睛約9.5 mg、或每隻眼睛約10 mg，頻率為約每7週。

【0105】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約0.1 mg、每隻眼睛約0.5 mg、每隻眼睛約1 mg、每隻眼睛約1.5 mg、每隻眼睛約2 mg、每隻眼睛約2.5 mg、每隻眼睛約3 mg、每隻眼睛約3.5 mg、每隻眼睛約4 mg、每隻眼睛約4.5 mg、每隻眼睛約5 mg、每隻眼睛約5.5 mg、每隻眼睛約6 mg、每隻眼睛約6.5 mg、每隻眼睛約7 mg、每隻眼睛約7.5 mg、每隻眼睛約8 mg、每隻眼睛約8.5 mg、每隻眼睛約9 mg、每隻眼睛約9.5 mg、或每隻眼睛約10 mg，頻率為約每8週。

【0106】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約0.1 mg、每隻眼睛約0.5 mg、每隻眼睛約1 mg、每隻眼睛約1.5 mg、每隻眼睛約2 mg、每隻眼睛約2.5 mg、每

隻眼睛約3 mg、每隻眼睛約3.5 mg、每隻眼睛約4 mg、每隻眼睛約4.5 mg、每隻眼睛約5 mg、每隻眼睛約5.5 mg、每隻眼睛約6 mg、每隻眼睛約6.5 mg、每隻眼睛約7 mg、每隻眼睛約7.5 mg、每隻眼睛約8 mg、每隻眼睛約8.5 mg、每隻眼睛約9 mg、每隻眼睛約9.5 mg、或每隻眼睛約10 mg，頻率為約每9週。

【0107】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約0.1 mg、每隻眼睛約0.5 mg、每隻眼睛約1 mg、每隻眼睛約1.5 mg、每隻眼睛約2 mg、每隻眼睛約2.5 mg、每隻眼睛約3 mg、每隻眼睛約3.5 mg、每隻眼睛約4 mg、每隻眼睛約4.5 mg、每隻眼睛約5 mg、每隻眼睛約5.5 mg、每隻眼睛約6 mg、每隻眼睛約6.5 mg、每隻眼睛約7 mg、每隻眼睛約7.5 mg、每隻眼睛約8 mg、每隻眼睛約8.5 mg、每隻眼睛約9 mg、每隻眼睛約9.5 mg、或每隻眼睛約10 mg，頻率為約每10週。

【0108】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約0.1 mg、每隻眼睛約0.5 mg、每隻眼睛約1 mg、每隻眼睛約1.5 mg、每隻眼睛約2 mg、每隻眼睛約2.5 mg、每隻眼睛約3 mg、每隻眼睛約3.5 mg、每隻眼睛約4 mg、每隻眼睛約4.5 mg、每隻眼睛約5 mg、每隻眼睛約5.5 mg、每隻眼睛約6 mg、每隻眼睛約6.5 mg、每隻眼睛約7 mg、每隻眼睛約7.5 mg、每隻眼睛約8 mg、每隻眼睛約8.5 mg、每隻眼睛約9 mg、每隻眼睛約9.5 mg、或每隻眼睛約10 mg，頻率為約每11週。

【0109】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約0.1 mg、每隻眼睛約0.5 mg、每隻眼

睛約1 mg、每隻眼睛約1.5 mg、每隻眼睛約2 mg、每隻眼睛約2.5 mg、每隻眼睛約3 mg、每隻眼睛約3.5 mg、每隻眼睛約4 mg、每隻眼睛約4.5 mg、每隻眼睛約5 mg、每隻眼睛約5.5 mg、每隻眼睛約6 mg、每隻眼睛約6.5 mg、每隻眼睛約7 mg、每隻眼睛約7.5 mg、每隻眼睛約8 mg、每隻眼睛約8.5 mg、每隻眼睛約9 mg、每隻眼睛約9.5 mg、或每隻眼睛約10 mg，頻率為約每12週。

【0110】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約0.1 mg、每隻眼睛約0.5 mg、每隻眼睛約1 mg、每隻眼睛約1.5 mg、每隻眼睛約2 mg、每隻眼睛約2.5 mg、每隻眼睛約3 mg、每隻眼睛約3.5 mg、每隻眼睛約4 mg、每隻眼睛約4.5 mg、每隻眼睛約5 mg、每隻眼睛約5.5 mg、每隻眼睛約6 mg、每隻眼睛約6.5 mg、每隻眼睛約7 mg、每隻眼睛約7.5 mg、每隻眼睛約8 mg、每隻眼睛約8.5 mg、每隻眼睛約9 mg、每隻眼睛約9.5 mg、或每隻眼睛約10 mg，頻率為約每13週。

【0111】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約0.1 mg、每隻眼睛約0.5 mg、每隻眼睛約1 mg、每隻眼睛約1.5 mg、每隻眼睛約2 mg、每隻眼睛約2.5 mg、每隻眼睛約3 mg、每隻眼睛約3.5 mg、每隻眼睛約4 mg、每隻眼睛約4.5 mg、每隻眼睛約5 mg、每隻眼睛約5.5 mg、每隻眼睛約6 mg、每隻眼睛約6.5 mg、每隻眼睛約7 mg、每隻眼睛約7.5 mg、每隻眼睛約8 mg、每隻眼睛約8.5 mg、每隻眼睛約9 mg、每隻眼睛約9.5 mg、或每隻眼睛約10 mg，頻率為約每14週。

【0112】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如

玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約0.1 mg、每隻眼睛約0.5 mg、每隻眼睛約1 mg、每隻眼睛約1.5 mg、每隻眼睛約2 mg、每隻眼睛約2.5 mg、每隻眼睛約3 mg、每隻眼睛約3.5 mg、每隻眼睛約4 mg、每隻眼睛約4.5 mg、每隻眼睛約5 mg、每隻眼睛約5.5 mg、每隻眼睛約6 mg、每隻眼睛約6.5 mg、每隻眼睛約7 mg、每隻眼睛約7.5 mg、每隻眼睛約8 mg、每隻眼睛約8.5 mg、每隻眼睛約9 mg、每隻眼睛約9.5 mg、或每隻眼睛約10 mg，頻率為約每15週。

【0113】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約0.1 mg、每隻眼睛約0.5 mg、每隻眼睛約1 mg、每隻眼睛約1.5 mg、每隻眼睛約2 mg、每隻眼睛約2.5 mg、每隻眼睛約3 mg、每隻眼睛約3.5 mg、每隻眼睛約4 mg、每隻眼睛約4.5 mg、每隻眼睛約5 mg、每隻眼睛約5.5 mg、每隻眼睛約6 mg、每隻眼睛約6.5 mg、每隻眼睛約7 mg、每隻眼睛約7.5 mg、每隻眼睛約8 mg、每隻眼睛約8.5 mg、每隻眼睛約9 mg、每隻眼睛約9.5 mg、或每隻眼睛約10 mg，頻率為約每16週。

【0114】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約0.1 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0115】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約0.5 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0116】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約1.0 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0117】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約1.5 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0118】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約2 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0119】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約2.5 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0120】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約3 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0121】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約3.5 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12

週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0122】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約4 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0123】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約4.5 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0124】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約5 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0125】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約5.5 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0126】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約6 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0127】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約6.5 mg，頻率為約每4週、約每5週、

約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0128】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約7 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0129】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約7.5 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0130】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約8 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0131】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約8.5 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0132】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約9 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0133】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如

玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約9.5 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

【0134】 在一些實施例中，該等CFI融合構築體之投與係眼內(例如玻璃體內)投與，劑量為每隻眼睛約10 mg，頻率為約每4週、約每5週、約每6週、約每7週、約每8週、約每9週、約每10週、約每11週、約每12週、約每13週、約每14週、約每15週、或約每16週。

F. 調配物

【0135】 本發明之含有CFI融合構築體之醫藥組合物可藉由將所選量之多肽與一或多種生理上可接受之載劑或賦形劑混合以適合於眼部投與之任何習知方式調配，以用於本文所提供的治療。載劑或賦形劑之選擇係在投與專業之技藝範圍內且可取決於許多參數。此等包括(例如)投與模式及所治療的病症。本文所提供的藥物組合物可經調配用於單一劑量(直接)投與或用於稀釋或其他修飾。在投與後，該等調配物中該等化合物之濃度有效遞送對於所欲治療而言有效之量。通常，該等組合物經調配用於單次劑量投與，但不一定。

【0136】 在一些示例性實施例中，該融合構築體可經濃縮至至少150 mg/mL。在一些實施例中，該融合構築體可以至少7.5 mg含在50 μL中給藥。在一些實施例中，該融合構築體可以至少7.5 mg含在約25 μL至約150 μL、約30 μL至約150 μL、約35 μL至約150 μL、約40 μL至約150 μL、約45 μL至約150 μL、約50 μL至約150 μL、約55 μL至約150 μL、約60 μL至約150 μL、約65 μL至約150 μL、約70 μL至約150 μL、約75 μL至約150 μL、約80 μL至約150 μL、約85 μL至約150 μL、約90 μL至約

150 μL、約95 μL至約150 μL、約100 μL至約150 μL、約105 μL至約150 μL、約110 μL至約150 μL、約115 μL至約150 μL、約120 μL至約150 μL、約125 μL至約150 μL、約130 μL至約150 μL、約135 μL至約150 μL、約140 μL至約150 μL、約145 μL至約150 μL、或約25 μL至約150 μL中給藥。

【0137】 在一些示例性實施例中，該融合構築體可以至少7.5 mg含在25 μL中、至少7.5 mg含在30 μL中、至少7.5 mg含在35 μL中、至少7.5 mg含在40 μL中、至少7.5 mg含在45 μL中、至少7.5 mg含在50 μL中、至少7.5 mg含在55 μL中、至少7.5 mg含在60 μL中、至少7.5 mg含在65 μL中、至少7.5 mg含在70 μL中、至少7.5 mg含在75 μL中、至少7.5 mg含在80 μL中、至少7.5 mg含在85 μL中、至少7.5 mg含在90 μL中、至少7.5 mg含在95 μL中、至少7.5 mg含在100 μL中、至少7.5 mg含在105 μL中、至少7.5 mg含在110 μL中、至少7.5 mg含在115 μL中、至少7.5 mg含在120 μL中、至少7.5 mg含在125 μL中、至少7.5 mg含在130 μL中、至少7.5 mg含在135 μL中、至少7.5 mg含在140 μL中、至少7.5 mg含在145 μL中、或至少7.5 mg含在150 μL中給藥。

【0138】 在一些示例性實施例中，該融合構築體係以約5 mg至10 mg含在25 μL、30 μL、35 μL、40 μL、45 μL、50 μL、55 μL、60 μL、65 μL、70 μL、75 μL、80 μL、85 μL、90 μL、95 μL、100 μL、105 μL、110 μL、115 μL、120 μL、125 μL、130 μL、135 μL、140 μL、145 μL或150 μL中給藥。

G. 醫藥組合物

【0139】 本發明亦提供醫藥組合物，其包含本文所揭示的CFI融合

構築體中之任何一者及視情況之適合於眼部投與之醫藥上可接受之賦形劑或載劑。在一些實施例中，該醫藥組合物係無菌的。該等醫藥組合物可調配成與其所欲投與途徑相容。在一些實施例中，本發明之醫藥組合物適合於投與至人類個體或其他非人類的靈長類動物。在示例性實施例中，該醫藥組合物經調配用於玻璃體內投與。

H. 用於治療性CFI融合構築體之套組及製品

【0140】 本發明亦提供一種套組或製品，其包含本文所揭示的CFI融合構築體中之任何一者、或本文所揭示的任何醫藥組合物。在一些實施例中，該等套組可進一步包括用於進行本文所揭示的給藥及眼內投與方法中之任何者之教學材料。在一些實施例中，該等套組可進一步包括用於容納本文所揭示的融合構築體及/或醫藥組合物之無菌容器或小瓶。在一些實施例中，該等套組可進一步包括用於投與本文所揭示的融合構築體及/或醫藥組合物之無菌遞送裝置。在一些實施例中，製品包含本發明之任何醫藥組合物。

實例

實例1：CFI-HSA表現、純化、活化及活體外唾液酸化

綜述

【0141】 對於實例1，提及CFI-HSA時係指融合至野生型CFI的N末端之人類血清白蛋白(SEQ ID NO: 21)。

【0142】 野生型CFI-HSA蛋白質在中國倉鼠卵巢(CHO)細胞中進行表現，利用抗白蛋白親和純化來純化，用弗林蛋白酶活化，且藉由大小分級管柱(sizing column)純化。經活化之CFI-HSA蛋白質進行活體外唾液酸化以增加CFI-HSA之總唾液酸化。最後，經唾液酸化之蛋白質使用抗白蛋

白親和純化來純化且藉由尺寸排除管柱層析精細純化。

表現

【0143】合成CFI-HSA基因(SEQ ID NO: 21) (ThermoFisher Scientific，Geneart, Regensburg, Germany)，在CFI蛋白質的胺基末端具有人類血清白蛋白。製造具有SEQ ID NO: 2的信號序列之蛋白質，其係在表現期間被移除。該胺基末端白蛋白標籤經連接子(SEQ ID NO: 6)連接至CFI基因。利用標準分子生物技術將CFI-HSA之基因插入至表現載體(Lake Pharma，Hayward, CA)中。將所得質體DNA轉形至大腸桿菌*(E. coli)*中。將經轉染之大腸桿菌生長於200 ml LB培養基中以表現質體DNA且利用標準技術收穫。在進行至轉染之前，質體DNA在瓊脂糖凝膠上運行以進行品質評估且確認序列。

【0144】將1.0公升之懸浮液TunaCHO™細胞接種於搖瓶(shake flask)中且使用無血清化學限定培養基擴增。在轉染當天，將經擴增之細胞接種至新的具有新製培養基之燒瓶中。使用脂質轉染胺2000 (ThermoFisher Scientific)將質體DNA短暫轉染至CHO細胞中。將該等細胞維持為分批餽入培養物直至生產運行結束。該蛋白質在37℃下以125 RMP在8% CO_2濃度下表現14天。將細胞離心且收集上清液用於純化在14天表現結束時分泌的CFI-HSA。

純化

【0145】使具有經表現之CFI-HSA蛋白質之上清液通過CaptureSelect™人類白蛋白親和基質(ThermoFisher Scientific)之10 ml重力引流管柱(gravity flow column)。用10管柱體積之20 mM磷酸鈉緩衝液洗滌管柱結合蛋白。以兩個步驟洗脫結合的CFI-HSA蛋白質：首先，用3

管柱體積之具有2M $MgCl_2$之20 mM Tris-HCl，pH 7.0緩衝液，其次，用3管柱體積之20 mM檸檬酸，pH 3.0。將步驟1及2之洗脫物(Elution)收集於5 ml溶離分中。用10%中和緩衝液(1.5M tris-HCL pH 7.4)中和步驟2洗脫物之每個溶離分。所有溶離分藉由還原及非還原SDS-PAGE電泳分析且譜帶藉由SimplyBlue™ SafeStain (ThermoFisher Scientific)可視化。CFI-HSA在非還原凝膠上運行為130 kDa帶及在還原凝膠上運行為102 kDa及28 kDa帶。將具有最大CFI-HSA濃度及純度之溶離分組併在一起用於進一步加工。

弗林蛋白酶活化

【0146】 藉由在30℃下在Tris-NaCl (tris緩衝鹽水)、2.5 mM $CaCl_2$及0.5% CHAPS中培養4 μg之重組弗林蛋白酶/mg經純化之CFI-HAS 18小時來進行將CFI-HSA裂解用於產生其活化形式之蛋白質。該CFI-HSA蛋白質濃度維持在1.4 mg/ml。此導致蛋白質之活化超過90%。藉由尺寸排除層析分離將經活化之蛋白質與非活性CFI-HSA及其他蛋白質分離。使用HiLoad 16/600 Superdex 200管柱(GE Healthcare Life Sciences)及作為移動相之磷酸鹽緩衝鹽水(PBS，137 mM NaCl，2.7 mM KCl，10 mM Na_2HPO_4，2 mM KH_2PO_4，pH 7.4)來進行尺寸排除層析法(SEC)。藉由CE-SDS (LabChip GXII，Perkin Elmer)分析所收集的溶離分。將含有靶蛋白之溶離分組併在一起且藉由SE-UPLC分析。

活體外唾液酸化

【0147】 使經活化之CFI-HSA蛋白質進行活體內唾液酸化。簡言之，該唾液酸化係在兩步驟酶促反應中進行。首先，在200 μl體積中，利用含在10 mM UDP-半乳糖、5 mM $MnCl_2$及100 mM MES (pH 6.5緩衝液)

中之1:200莫耳比之半乳糖基轉移酶(GalT1)酵素及CFI-HSA，進行CFI-HSA之半乳糖苷化反應。如前所述，藉由CaptureSelect™人類白蛋白親和層析自反應混合物純化半乳糖苷化CFI-HSA。接下來，在37℃下，利用含在80 μM鹼性磷酸酶、6.1 mM CMP-NANA、10 mM $ZnCl_2$及200 mM MES緩衝液(pH 6.5)中之1:50莫耳比之酵素α 2,6-唾液酸基轉移酶及經純化之CFI-HSA，在250 μl體積中進行唾液酸化反應1小時。藉由CaptureSelect™人類白蛋白親和層析自該反應混合物純化經唾液酸化之CFI-HSA蛋白質。CFI-HSA上的唾液酸鏈之程度及特性藉由利用下文進一步詳細描述之Agilent/Prozyme Analytical service、用於全唾液酸定量之GS-SAP法(Agilent GS48)、及質譜分光光度(MS)分析(Lake Pharma analytical service)來測定。

【0148】 簡言之，總唾液酸定量藉由將20 μl的每種樣品與10 μl釋放試劑在96孔板中混合來進行。在80℃下培養該反應混合物2小時。將該等樣品冷卻至室溫且將10 μl標記試劑添加至每個樣品以在50℃下進一步培養3小時。將該等樣品再次冷卻降至室溫且添加160 μl去離子(dI)水以使總體積達到200 μl。將10 μl樣品注入於Agilent UHPLC Poroshell C18管柱中，在30℃下在4%甲醇、8%乙腈含於水中(線A1)及100% ACN (線B1)中以0.4 ml/分鐘之流速運行。在373/448 nm波長下記錄峰。藉由於相同管柱上運行隨套組供應之1至2000 pmol之NANA (N-乙醯基神經胺糖酸，Neu5Ac)而產生唾液酸之總峰面積相對皮莫耳(pmol)之標準曲線。藉由比較樣品之峰面積與標準曲線來定量每個樣品之總唾液酸。所獲得的唾液酸化概述於下表1.1中。

表1.1：唾液酸化分析結果

蛋白質	唾液酸(Neu5Ac) pmol/ug蛋白質
重組CFI-HSA	35 ± 0.7
重組CFI-HSA-活體外唾液酸化	69 ± 2.2
牛胎球蛋白(Bovine Fetuin)對照	222 ± 2.6

【0149】藉由標準胰蛋白酶Q-TOF質譜儀進行質譜分析。簡言之，所有樣品均藉由DTT及碘乙醯胺處理、還原及烷基化，接著進行胰蛋白酶消化。藉由耦合至使用蛋白質BEH C18管柱之Xevo G2-XS-QTOF質譜儀之Waters ACQUITY UPLC分析經消化之樣品。所進行的分析概述於下表1.2中。

表1.2：肽分析結果

	聚醣	重組CFI-HSA (%)	重組CFI-HSA-活體外唾液酸化(%)
肽分析	Man5	7.1	16.24
	G0	2.39	0
	G0F	0.88	0
	G1	6.07	0
	G1F	6.68	0.03
	G2	13.62	2.37
	G2F	24.81	1.78
	G2FSA	13.38	19.44
	G2FSA2	21.48	53.91

精細純化

【0150】使用HiLoad 16/600 Superdex 200管柱(GE Healthcare Life Sciences)及作為移動相之磷酸鹽緩衝鹽水，使經純化之CFI-HSA蛋白質進行尺寸排除層析(SEC)。藉由CE-SDS (LabChip GXII，Perkin Elmer)分析所收集的溶離分。將含有靶蛋白之溶離分組併在一起，且使濃度達到5 mg/ml，且將該等樣品快速冷凍以在-80℃下儲存。

N端白蛋白融合提供CFI-HSA之溶解度且促進其活化

【0151】 在CFI-HSA與不具有白蛋白之野生型CFI或其他融合標籤(WT-CFI)之間比較活化。WT-CFI之基因構築體基本上如上文針對於CFI-HSA所述進行表現。藉由還原SDS-PAGE，該重組WT-CFI蛋白質顯示中等純度，然而，在還原及非還原條件下觀察到顯著高分子量物質(HMWS)及聚集體。對於添加N端HSA標籤之CFI-HSA，使用TunaCHO™細胞之短暫表現接著是如上文中所述的純化，顯示在還原及非還原SDS-PAGE上沒有HMWS或聚集體。用弗林蛋白酶活化經純化之重組CFI導致具有幾乎完全多分散性之聚集體及HMWS之進一步增加。此外，藉由還原SDS-PAGE，基本上沒有觀察到經活化之CFI。相反地，在相同條件下，弗林蛋白酶之添加有效地幾乎完全活化CFI-HSA，且該CFI-HSA蛋白質在非還原條件下仍為單體且沒有聚集體及HMWS的證據。當與缺乏任何融合標籤之CFI相比時，N端HSA標籤對於維持溶解度、單分散性及有效弗林蛋白酶活化而言存在顯著且意外之益處。

實例2：非人類的靈長類動物之玻璃體液中之CFI-HSA半衰期

【0152】 對於實例2，提及CFI-HSA時係指融合至野生型CFI的N末端之人類血清白蛋白(SEQ ID NO: 21)。

玻璃體內注射後CFI-HSA之藥物動力學及藥效動力學

【0153】 在玻璃體內給藥至六隻AGM後檢查野生型CFI-HSA之N端白蛋白融合之眼部藥物動力學。將六隻動物分為以2種劑量水平處理之兩個組：一個組接受單次玻璃體內注射500 μg CFI-HSA (右眼，OD，N=3)及另一個組接受單次玻璃體內注射250 μg CFI-HSA (右眼，OD，N=3)。所有六隻動物的左眼(OS)經注射有等體積之100 μL無菌注射用PBS作為媒劑對照。在給藥後第1天、第7天、第14天、第21天及第28天採集非末端

玻璃體液樣品(100 µL)。使用針對測量AGM之玻璃體液中之CFI-HSA經最佳化之定量電化學發光(ECL)抗原分析來測定玻璃體液CFI-HSA藥物濃度。該分析採用在Meso Scale Discovery (MSD，Rockville, MA)分析板上以2 µg/ml塗覆抗-CFI抗體(純系OX21，LS Bio，Seattle WA)來捕獲CFI-HSA含量。所捕獲的CFI-HSA之偵測係利用在施加電位時發射光[電化學發光(ECL)]之以0.5 µg/ml與SMLFO-TAG共軛之山羊多株抗-HSA抗體(Abcam，Cambridge，MA)進行。在MESO® SECTOR S 600讀取器上測量ECL相對光照單位(RLU)且玻璃體液中之未知CFI-HSA濃度係自0.05 µg/ml至40 µg/ml因子I-HSA之範圍內之標準曲線內插。數據提供於表2.1中。

表2.1 在玻璃體內給藥後第1天、第7天、第14天、第21天及第28天時之CFI-HSA含量

劑量水平	動物數量	時間點	因子I-HSA之含量 +/- SD (µg/ml)
5.01 mg/ml	3	基線	BLQ
		第1天	66.4 +/- 18.9
		第7天	34.7 +/- 5.5
		第14天	9.0 +/- 6.4
		第21天	2.0 +/- 1.3
		第28天	0.9 +/- 0.6
2.50 mg/ml	3	基線	BLQ
		第1天	46.9 +/- 11.1
		第7天	12.5 +/- 5.0
		第14天	2.8 +/- 3.0
		第21天	0.2 +/- 0.1
		第28天	0.6

* BLQ：低於分析之定量極限之測量值

【0154】 非隔室分析產生250及500 µg劑量水平之分別為3.6天及4.1天之表觀眼部終末半衰期。

表2.2. 非洲綠猴之玻璃體液中之CFI-HSA之估計的PK參數

參數	500 µg	250 µg
終末半衰期(天)	4.1	3.7
T_{max} (天)	1.0	1.0
C_{max} (µg/ml)	66.4	46.9
MRT (天)	6.0	4.4
AUC 0-inf (µg/ml x 天)	543.2	271.5
AUC 0-t (µg/ml x 天)	537.8	268.5

【0155】 對於250 µg及500 µg劑量，玻璃體液中之補體組分3a (C3a)含量藉由ELISA測定，其使用用於C3a ELISA之Quidel套組(圖2)。CFI-HSA融合構築體在眼內注射後長達7天以劑量依賴性方式降低眼部C3a含量。藉由CFI-HSA之C3b降解之增加會減少C3b與Bb之間之複合體形成，此導致經由替代途徑之擴增迴路C3裂解為C3a及C3b之減少。

【0156】 在玻璃體內給藥至六隻AGM後檢查野生型CFI-HSA之N端白蛋白融合之眼部藥物動力學。將該六隻動物分為以2種劑量水平處理之兩個組：一個接受0.25 mg CFI-HSA (OU，N=4)、1.0 mg之CFI-HSA (OU，N=4)之單次玻璃體內注射之組及接受媒劑(OU，N=4)之單次玻璃體內注射之對照組。所有12隻動物之眼睛(OU)經注射有等體積之100 µL之測試物品或媒劑對照。動物在給藥後第0天、第1天、第7天或第8天、第14天或第15天、第21天及第28天接受眼部檢查(參見實例4)。在第1天、第7天、第14天及第28天對動物進行安樂死，用於PK-PD分析及組織病理學。使用針對測量如上所述的AGM之玻璃體液中之CFI-HSA經最佳化之定量電化學發光(ECL)抗原分析來測定玻璃體液CFI-HSA藥物濃度。對於0.25 mg及1.0 mg劑量，估計的終末玻璃體半衰期測量值分別為4天及4.4天(圖3A)。

【0157】 對於1.0 mg劑量，藉由使用抗-C3抗體之化學發光西方墨點法(western blot)且藉由密度測定法定量來測定玻璃體液中之補體組分3b (C3b)及裂解片段iC3b含量(圖2B)。在眼內注射後長至14天，該CFI-

HSA融合構築體降低眼部iC3b含量。藉由CFI-HSA之C3b降解之增加表示為第1天、第7天及第14天之C3b/iC3b之比，顯示與媒劑對照相比，接受CFI-HSA之1.0 mg注射之眼睛中裂解顯著增加(圖2B)。

實例3：人類給藥之CFI-HSA玻璃體內注射之藥物動力學建模

【0158】 在非人類的靈長類動物中隨著時間的推移測量玻璃體內注射CFI-HSA後CFI-HSA之半衰期。發現約4天之半衰期可保持AGM中之3個劑量水平之劑量成比例性，如圖3A中所例證。此外，經由西方墨點法來偵測長達14天之CFI-HSA裂解活性(圖2B)。

【0159】 基於AGM數據，生成人類給藥之玻璃體PK模型，如圖3B中所例證。在不受理論或機制約束下，預計以每隻眼睛1 mg玻璃體內注射CFI-HSA可在注射後60天內維持基線CFI含量高於AMD患者之基線CFI含量。預計以每隻眼睛10 mg玻璃體內注射CFI-HSA在注射後90天內可維持基線CFI含量高於AMD患者之基線CFI含量。

實例4：非人類的靈長類動物中CFI-HSA玻璃體內注射之安全性。

【0160】 在非人類的靈長類動物中測定CFI-HSA之CFI-HSA玻璃體內注射之安全性特性。注射後，在第0天、第1天、第7天或第8天、第14天或第15天、第21天及第28天或直至終止日經由狹縫燈測試評估AGM之臨床評分。在玻璃體內注射CFI-HSA後隨著時間的推移產生使用狹縫燈測試之臨床評分，如圖4A中所例證。亦評估AGM個體之注射CFI-HSA後之眼內壓。隨著時間的推移測量經注射AGM之個體之眼內壓，如圖4B中所例證。發現個別經注射AGM之個體之眼內壓在基線可變性之範圍內且因此穩定。最後，在注射CFI-HSA後，評估AGM個體之視網膜厚度。隨著時間的推移測量經注射AGM之個體之視網膜厚度，如圖4C中所例證。發現個別經注射AGM之個體之視網膜厚度在基線可變性之範圍內且因此穩定。

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"  dtdVersion="V1_3"
fileName="C255976SEQA.xml" softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.3.0"
productionDate="2023-08-23">
 <ApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText></ApplicationNumberText>
  <FilingDate></FilingDate>
 </ApplicationIdentification>
 <ApplicantFileReference>VTEX-708/01TW 301892-2037</ApplicantFileReference>
 <EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>63/338,392</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2022-05-04</FilingDate>
 </EarliestPriorityApplicationIdentification>
 <ApplicantName languageCode="zh">美商維泰克斯製藥公司[VERTEX PHARMACEUTICALS
INCORPORATED]</ApplicantName>
 <ApplicantNameLatin>VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED</ApplicantNameLatin>
 <InventionTitle languageCode="zh">用於治療眼部疾病之補體因子I之給藥方案
</InventionTitle>
 <SequenceTotalQuantity>25</SequenceTotalQuantity>
 <SequenceData sequenceIDNumber="1">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>583</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..583</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q2">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MKLLHVFLLFLCFHLRFCKVTYTSQEDLVEKKCLAKKYTHLSCDKVFCQPWQRCIEGTCVCK
LPYQCPKNGTAVCATNRRSFPTYCQQKSLECLHPGTKFLNNGTCTAEGKFSVSLKHGNTDSEGIVEVKLVDQDKTMFICK
SSWSMREANVACLDLGFQQGADTQRRFKLSDLSINSTECLHVHCRGLETSLAECTFTKRRTMGYQDFADVVCYTQKADSP
MDDFFQCVNGKYISQMKACDGINDCGDQSDELCCKACQGKGFHCKSGVCIPSQYQCNGEVDCITGEDEVGCAGFASVTQE
ETEILTADMDAERRRIKSLLPKLSCGVKNRMHIRRKRIVGGKRAQLGDLPWQVAIKDASGITCGGIYIGGCWILTAAHCL
RASKTHRYQIWTTVVDWIHPDLKRIVIEYVDRIIFHENYNAGTYQNDIALIEMKKDGNKKDCELPRSIPACVPWSPYLFQ
PNDTCIVSGWGREKDNERVFSLQWGEVKLISNCSKFYGNRFYEKEMECAGTYDGSIDACKGDSGGPLVCMDANNVTYVWG
VVSWGENCGKPEFPGVYTKVANYFDWISYHVGRPFISQYNV</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q4">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Mus musculus</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>METDTLLLWVLLLWVPGSTG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q6">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>MKLLHVFLLFLCFHLRFC</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>565</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..565</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q10">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>KVTYTSQEDLVEKKCLAKKYTHLSCDKVFCQPWQRCIEGTCVCKLPYQCPKNGTAVCATNRR
SFPTYCQQKSLECLHPGTKFLNNGTCTAEGKFSVSLKHGNTDSEGIVEVKLVDQDKTMFICKSSWSMREANVACLDLGFQ
QGADTQRRFKLSDLSINSTECLHVHCRGLETSLAECTFTKRRTMGYQDFADVVCYTQKADSPMDDFFQCVNGKYISQMKA
CDGINDCGDQSDELCCKACQGKGFHCKSGVCIPSQYQCNGEVDCITGEDEVGCAGFASVTQEETEILTADMDAERRRIKS
LLPKLSCGVKNRMHIRRKRIVGGKRAQLGDLPWQVAIKDASGITCGGIYIGGCWILTAAHCLRASKTHRYQIWTTVVDWI
HPDLKRIVIEYVDRIIFHENYNAGTYQNDIALIEMKKDGNKKDCELPRSIPACVPWSPYLFQPNDTCIVSGWGREKDNER
VFSLQWGEVKLISNCSKFYGNRFYEKEMECAGTYDGSIDACKGDSGGPLVCMDANNVTYVWGVVSWGENCGKPEFPGVYT
KVANYFDWISYHVGRPFISQYNV</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="6">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q12">
```

```
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GGSSGG</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="7">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>585</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..585</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q14">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENC
  DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEI
  ARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQR
  FPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADL
  PSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVE
  EPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCV
  LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKE
  QLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="16">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
```

```
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="20">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="21">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>1156</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..1156</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q42">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENC
DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEI
ARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQR
FPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADL
PSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVE
EPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCV
LHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKE
QLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGSSGGKVTYTSQEDLVEKKCLAKKYTHLSCDKVFCQ
PWQRCIEGTCVCKLPYQCPKNGTAVCATNRRSFPTYCQQKSLECLHPGTKFLNNGTCTAEGKFSVSLKHGNTDSEGIVEV
KLVDQDKTMFICKSSWSMREANVACLDLGFQQGADTQRRFKLSDLSINSTECLHVHCRGLETSLAECTFTKRRTMGYQDF
ADVVCYTQKADSPMDDFFQCVNGKYISQMKACDGINDCGDQSDELCCKACQGKGFHCKSGVCIPSQYQCNGEVDCITGED
EVGCAGFASVTQEETEILTADMDAERRRIKSLLPKLSCGVKNRMHIRRKRIVGGKRAQLGDLPWQVAIKDASGITCGGIY
IGGCWILTAAHCLRASKTHRYQIWTTVVDWIHPDLKRIVIEYVDRIIFHENYNAGTYQNDIALIEMKKDGNKKDCELPRS
IPACVPWSPYLFQPNDTCIVSGWGREKDNERVFSLQWGEVKLISNCSKFYGNRFYEKEMECAGTYDGSIDACKGDSGGPL
VCMDANNVTYVWGVVSWGENCGKPEFPGVYTKVANYFDWISYHVGRPFISQYNV</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="22">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>1231</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..1231</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q44">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MRLLAKIICLMLWAICVAEDCNELPPRRNTEILTGSWSDQTYPEGTQAIYKCRPGYRSLGNV
IMVCRKGEWVALNPLRKCQKRPCGHPGDTPFGTFTLTGGNVFEYGVKAVYTCNEGYQLLGEINYRECDTDGWTNDIPICE
VVKCLPVTAPENGKIVSSAMEPDREYHFGQAVRFVCNSGYKIEGDEEMHCSDDGFWSKEKPKCVEISCKSPDVINGSPIS
QKIIYKENERFQYKCNMGYEYSERGDAVCTESGWRPLPSCEEKSCDNPYIPNGDYSPLRIKHRTGDEITYQCRNGFYPAT
RGNTAKCTSTGWIPAPRCTLKPCDYPDIKHGGLYHENMRRPYFPVAVGKYYSYYCDEHFETPSGSYWDHIHCTQDGWSPA
VPCLRKCYFPYLENGYNQNYGRKFVQGKSIDVACHPGYALPKAQTTVTCMENGWSPTPRCIRVKTCSKSSIDIENGFISE
SQYTYALKEKAKYQCKLGYVTADGETSGSITCGKDGWSAQPTCIKSCDIPVFMNARTKNDFTWFKLNDTLDYECHDGYES
NTGSTTGSIVCGYNGWSDLPICYERECELPKIDVHLVPDRKKDQYKVGEVLKFSCKPGFTIVGPNSVQCYHFGLSPDLPI
CKEQVQSCGPPPELLNGNVKEKTKEEYGHSEVVEYYCNPRFLMKGPNKIQCVDGEWTTLPVCIVEESTCGDIPELEHGWA
QLSSPPYYYGDSVEFNCSESFTMIGHRSITCIHGVWTQLPQCVAIDKLKKCKSSNLIILEEHLKNKKEFDHNSNIRYRCR
GKEGWIHTVCINGRWDPEVNCSMAQIQLCPPPPQIPNSHNMTTTLNYRDGEKVSVLCQENYLIQEGEEITCKDGRWQSIP
LCVEKIPCSQPPQIEHGTINSSRSSQESYAHGTKLSYTCEGGFRISEENETTCYMGKWSSPPQCEGLPCKSPPEISHGVV
AHMSDSYQYGEEVTYKCFEGFGIDGPAIAKCLGEKWSHPPSCIKTDCLSLPSFENAIPMGEKKDVYKAGEQVTYTCATYY
KMDGASNVTCINSRWTGRPTCRDTSCVNPPTVQNAYIVSRQMSKYPSGERVRYQCRSPYEMFGDEEVMCLNGNWTEPPQC
KDSTGKCGPPPPIDNGDITSFPLSVYAPASSVEYQCQNLYQLEGNKRITCRNGQWSEPPKCLHPCVISREIMENYNIALR
WTAKQKLYSRTGESVEFVCKRGYRLSSRSHTLRTTCWDGKLEYPTCAKR</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="23">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>415</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..415</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q46">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MRLLAKIICLMLWAICVAEDCNELPPRRNTEILTGSWSDQTYPEGTQAIYKCRPGYRSLGNI
IMVCRKGEWVALNPLRKCQKRPCGHPGDTPFGTFTLTGGNVFEYGVKAVYTCNEGYQLLGEINYRECDTDGWTNDIPICE
VVKCLPVTAPENGKIVSSAMEPDREYHFGQAVRFVCNSGYKIEGDEEMHCSDDGFWSKEKPKCVEISCKSPDVINGSPIS
QKIIYKENERFQYKCNMGYEYSERGDAVCTESGWRPLPSCEEAGGGGGGGGGGGGKCGPPPPIDNGDITSFPLSVYAPA
SSVEYQCQNLYQLEGNKRITCRNGQWSEPPKCLHPCVISREIMENYNIALRWTAKQKLYSRTGESVEFVCKRGYRLSSRS
HTLRTTCWDGKLEYPTCAKRENLYFQGHHHHHH</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="24">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>22</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q48">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGSSGGSSGGSSGGSSGGSSGG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
```

```
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="25">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>102</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..102</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q50">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REPEAT</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q51">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>single repeat of (GGSS)n where n=1-
25</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>VARIANT</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..100</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q52">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>up to 24 copies of (GGSS) can be
deleted</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GGSSGGSSGGSSG
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種治療或預防有需要人類個體之眼部病狀之方法，其包括：

對該個體投與融合構築體，該融合構築體包含

(a) 包含SEQ ID NO:5的胺基酸序列之補體因子I (CFI)或其變異體，及

(b) 結合搭配物，

其中該投與途徑係眼內，且其中該融合構築體係如下投與：

(a) 劑量為每隻眼睛約0.1至約10 mg；及/或

(b) 頻率為約每1個月至約4個月。

【請求項2】

如請求項1之方法，其中CFI之該變異體包含與SEQ ID NO:5的胺基酸序列至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的序列一致性。

【請求項3】

如請求項2之方法，其中CFI之該變異體包含SEQ ID NO: 5的CFI，其包含T377G、N422K、E457G及N531G之取代中之一者或多者。

【請求項4】

如請求項2之方法，其中CFI之該變異體包含SEQ ID NO: 5的CFI，其包含N422K、E457G及N531G之取代。

【請求項5】

如請求項2之方法，其中CFI之該變異體包含SEQ ID NO: 5的CFI，其包含T377G、E457G及N531G之取代。

【請求項6】

如請求項1之方法，其中融合蛋白包含補體因子I (CFI)，該補體因子I (CFI)包含SEQ ID NO:5的胺基酸序列。

【請求項7】

如請求項1至6中任一項之方法，其中該結合搭配物為血清白蛋白，該血清白蛋白包含SEQ ID NO:7的胺基酸序列或其變異體。

【請求項8】

如請求項7之方法，其中血清白蛋白之該變異體包含與SEQ ID NO:7的胺基酸序列至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的序列一致性。

【請求項9】

如請求項1至8中任一項之方法，其中該融合構築體包含與SEQ ID NO:21的胺基酸序列至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的序列一致性。

【請求項10】

如請求項1至9中任一項之方法，其中該融合構築體包含SEQ ID NO:21的胺基酸序列。

【請求項11】

如請求項1至6中任一項之方法，其中該結合搭配物為CFI之輔因子。

【請求項12】

如請求項11之方法，其中該結合搭配物包含因子H輔因子，其包含SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:23的胺基酸序列、其域或其域之一部分。

【請求項13】

如請求項11之方法，其中該結合搭配物包含CR1、其域或其域之一部分。

【請求項14】

如請求項11至13中任一項之方法，其包括包含SEQ ID NO:7的胺基酸序列之血清白蛋白或其變異體。

【請求項15】

如請求項14之方法，其中血清白蛋白之該變異體包含與SEQ ID NO:7的胺基酸序列至少70%、至少80%、至少90%或至少95%的序列一致性。

【請求項16】

如請求項1至15中任一項之方法，其中該眼部病狀為乾性年齡相關黃斑變性(AMD)。

【請求項17】

如請求項1至15中任一項之方法，其中該眼部病狀為濕性AMD。

【請求項18】

如請求項1至15中任一項之方法，其中該眼部病狀為地圖狀萎縮(GA)。

【請求項19】

如請求項1至18中任一項之方法，其中該個體表現出地圖狀萎縮(GA)。

【請求項20】

如請求項1至19中任一項之方法，其中該人類個體攜帶CFI之一或多個突變，該等突變選自由以下組成之群：G119R、L131R、V152M、G162D、R187Y、R187T、T203I、A240G、A258T、G287R、A300T、R317W、R339Q、V412M、P553S、K441R、R339Ter、R317Q、

G261D、R187Q及R187Ter。

【請求項21】

如請求項1至20中任一項之方法，其中該劑量為每隻眼睛約0.1 mg至約10 mg、每隻眼睛約0.5 mg至約10 mg、每隻眼睛約1 mg至約10 mg、每隻眼睛約1.5 mg至約10 mg、每隻眼睛約2 mg至約10 mg、每隻眼睛約2.5 mg至約10 mg、每隻眼睛約3 mg至約10 mg、每隻眼睛約3.5 mg至約10 mg、每隻眼睛約4 mg至約10 mg、每隻眼睛約4.5 mg至約10 mg、每隻眼睛約5 mg至約10 mg、每隻眼睛約5.5 mg至約10 mg、每隻眼睛約6 mg至約10 mg、每隻眼睛約6.5 mg至約10 mg、每隻眼睛約7 mg至約10 mg、每隻眼睛約7.5 mg至約10 mg、每隻眼睛約8 mg至約10 mg、每隻眼睛約8.5 mg至約10 mg、每隻眼睛約9 mg至約10 mg、或每隻眼睛約9.5 mg至約10 mg。

【請求項22】

如請求項1至21中任一項之方法，其中該劑量為每隻眼睛約0.1、0.5、1、5或10 mg。

【請求項23】

如請求項1至22中任一項之方法，其中該頻率為約每1個月。

【請求項24】

如請求項1至22中任一項之方法，其中該頻率為約每2個月、每3個月或每4個月。

【請求項25】

如請求項1至24中任一項之方法，其中該融合構築體係投與至一隻眼睛。

【請求項26】

如請求項1至24中任一項之方法，其中該融合構築體係投與至雙眼。

【請求項27】

如請求項1至24中任一項之方法，其中該融合構築體係依序投與至雙眼。

【請求項28】

如請求項1至24中任一項之方法，其中該融合構築體係同時投與至雙眼。

【請求項29】

如請求項1至28中任一項之方法，其中該個體的眼內壓經治療後穩定。

【請求項30】

如請求項1至29中任一項之方法，其中該個體的視網膜厚度經治療後穩定。

【請求項31】

如請求項1至30中任一項之方法，其中在投與時，該融合構築體在該個體展現出的活性至少等效於內源CFI所展現之活性。

【請求項32】

如請求項1至30中任一項之方法，其中在投與時，該基線CFI含量維持高於未接受該注射的參考個體之基線CFI含量。

(發明圖式)

Cea (ng/ml)
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
CE=SA500 mg
CE=SA250 mg
數值
VR法檢出次數
(N=2A)

CHCHSA (ng/ml)

AVD影音主之高統芯之CT合計
第一資料
第二資料
第三資料
第四資料
第五資料
第六資料
第七資料
CH-HSV (nu/8u)

0.25 mg/毫升
1 mg/毫升

第1圖
第2圖
第3圖
第4圖
第5圖
第6圖
第7圖
第8圖
第9圖
第10圖
第11圖
第12圖
第13圖
第14圖
第15圖
第16圖
第17圖
第18圖
第19圖
第20圖
第21圖
第22圖
第23圖
第24圖
第25圖
第26圖
第27圖
第28圖
第29圖
第30圖
第31圖
第32圖
第33圖
第34圖
第35圖
第36圖
第37圖
第38圖
第39圖
第40圖
第41圖
第42圖
第43圖
第44圖
第45圖
第46圖
第47圖
第48圖
第49圖
第50圖
第51圖
第52圖
第53圖
第54圖
第55圖
第56圖
第57圖
第58圖
第59圖
第60圖
第61圖
第62圖
第63圖
第64圖
第65圖
第66圖
第67圖
第68圖
第69圖
第70圖
第71圖
第72圖
第73圖
第74圖
第75圖
第76圖
第77圖
第78圖
第79圖
第80圖
第81圖
第82圖
第83圖
第84圖
第85圖
第86圖
第87圖
第88圖
第89圖
第90圖
第91圖
第92圖
第93圖
第94圖
第95圖
第96圖
第97圖
第98圖
第99圖
第100圖
第101圖
第102圖
第103圖
第104圖
第105圖
第106圖
第107圖
第108圖
第109圖
第110圖
第111圖
第112圖
第113圖
第114圖
第115圖
第116圖
第117圖
第118圖
第119圖
第120圖
第121圖
第122圖
第123圖
第124圖
第125圖
第126圖
第127圖
第128圖
第129圖
第130圖
第131圖
第132圖
第133圖
第134圖
第135圖
第136圖
第137圖
第138圖
第139圖
第140圖
第141圖
第142圖
第143圖
第144圖
第145圖
第146圖
第147圖
第148圖
第149圖
第150圖
第151圖
第152圖
第153圖
第154圖
第155圖
第156圖
第157圖
第158圖
第159圖
第160圖
第161圖
第162圖
第163圖
第164圖
第165圖
第166圖
第167圖
第168圖
第169圖
第170圖
第171圖
第172圖
第173圖
第174圖
第175圖
第176圖
第177圖
第178圖
第179圖
第180圖
第181圖
第182圖
第183圖
第184圖
第185圖
第186圖
第187圖
第188圖
第189圖
第190圖
第191圖
第192圖
第193圖
第194圖
第195圖
第196圖
第197圖
第198圖
第199圖
第200圖
第201圖
第202圖
第203圖
第204圖
第205圖
第206圖
第207圖
第208圖
第209圖
第210圖
第211圖
第212圖
第213圖
第214圖
第215圖
第216圖
第217圖
第218圖
第219圖
第220圖
第221圖
第222圖
第223圖
第224圖
第225圖
第226圖
第227圖
第228圖
第229圖
第230圖
第231圖
第232圖
第233圖
第234圖
第235圖
第236圖
第237圖
第238圖
第239圖
第240圖
第241圖
第242圖
第243圖
第244圖
第245圖
第246圖
第247圖
第248圖
第249圖
第250圖
第251圖
第252圖
第253圖
第254圖
第255圖
第256圖
第257圖
第258圖
第259圖
第260圖
第261圖
第262圖
第263圖
第264圖
第265圖
第266圖
第267圖
第268圖
第269圖
第270圖
第271圖
第272圖
第273圖
第274圖
第275圖
第276圖
第277圖
第278圖
第279圖
第280圖
第281圖
第282圖
第283圖
第284圖
第285圖
第286圖
第287圖
第288圖
第289圖
第290圖
第291圖
第292圖
第293圖
第294圖
第295圖
第296圖
第297圖
第298圖
第299圖
第300圖
第301圖
第302圖
第303圖
第304圖
第305圖
第306圖
第307圖
第308圖
第309圖
第310圖
第311圖
第312圖
第313圖
第314圖
第315圖
第316圖
第317圖
第318圖
第319圖
第320圖
第321圖
第322圖
第323圖
第324圖
第325圖
第326圖
第327圖
第328圖
第329圖
第330圖
第331圖
第332圖
第333圖
第334圖
第335圖
第336圖
第337圖
第338圖
第339圖
第340圖
第341圖
第342圖
第343圖
第344圖
第345圖
第346圖
第347圖
第348圖
第349圖
第350圖
第351圖
第352圖
第353圖
第354圖
第355圖
第356圖
第357圖
第358圖
第359圖
第360圖
第361圖
第362圖
第363圖
第364圖
第365圖
第366圖
第367圖
第368圖
第369圖
第370圖
第371圖
第372圖
第373圖
第374圖
第375圖
第376圖
第377圖
第378圖
第379圖
第380圖
第381圖
第382圖
第383圖
第384圖
第385圖
第386圖
第387圖
第388圖
第389圖
第390圖
第391圖
第392圖
第393圖
第394圖
第395圖
第396圖
第397圖
第398圖
第399圖
第400圖
第401圖
第402圖
第403圖
第404圖
第405圖
第406圖
第407圖
第408圖
第409圖
第410圖
第411圖
第412圖
第413圖
第414圖
第415圖
第416圖
第417圖
第418圖
第419圖
第420圖
第421圖
第422圖
第423圖
第424圖
第425圖
第426圖
第427圖
第428圖
第429圖
第430圖
第431圖
第432圖
第433圖
第434圖
第435圖
第436圖
第437圖
第438圖
第439圖
第440圖
第441圖
第442圖
第443圖
第444圖
第445圖
第446圖
第447圖
第448圖
第449圖
第450圖
第451圖
第452圖
第453圖
第454圖
第455圖
第456圖
第457圖
第458圖
第459圖
第460圖
第461圖
第462圖
第463圖
第464圖
第465圖
第466圖
第467圖
第468圖
第469圖
第470圖
第471圖
第472圖
第473圖
第474圖
第475圖
第476圖
第477圖
第478圖
第479圖
第480圖
第481圖
第482圖
第483圖
第484圖
第485圖
第486圖
第487圖
第488圖
第489圖
第490圖
第491圖
第492圖
第493圖
第494圖
第495圖
第496圖
第497圖
第498圖
第499圖
第500圖
第501圖
第502圖
第503圖
第504圖
第505圖
第506圖
第507圖
第508圖
第509圖
第510圖
第511圖
第512圖
第513圖
第514圖
第515圖
第516圖
第517圖
第518圖
第519圖
第520圖
第521圖
第522圖
第523圖
第524圖
第525圖
第526圖
第527圖
第528圖
第529圖
第530圖
第531圖
第532圖
第533圖
第534圖
第535圖
第536圖
第537圖
第538圖
第539圖
第540圖
第541圖
第542圖
第543圖
第544圖
第545圖
第546圖
第547圖
第548圖
第549圖
第550圖
第551圖
第552圖
第553圖
第554圖
第555圖
第556圖
第557圖
第558圖
第559圖
第560圖
第561圖
第562圖
第563圖
第564圖
第565圖
第566圖
第567圖
第568圖
第569圖
第570圖
第571圖
第572圖
第573圖
第574圖
第575圖
第576圖
第577圖
第578圖
第579圖
第580圖
第581圖
第582圖
第583圖
第584圖
第585圖
第586圖
第587圖
第588圖
第589圖
第590圖
第591圖
第592圖
第593圖
第594圖
第595圖
第596圖
第597圖
第598圖
第599圖
第600圖
第601圖
第602圖
第603圖
第604圖
第605圖
第606圖
第607圖
第608圖
第609圖
第610圖
第611圖
第612圖
第613圖
第614圖
第615圖
第616圖
第617圖
第618圖
第619圖
第620圖
第621圖
第622圖
第623圖
第624圖
第625圖
第626圖
第627圖
第628圖
第629圖
第630圖
第631圖
第632圖
第633圖
第634圖
第635圖
第636圖
第637圖
第638圖
第639圖
第640圖
第641圖
第642圖
第643圖
第644圖
第645圖
第646圖
第647圖
第648圖
第649圖
第650圖
第651圖
第652圖
第653圖
第654圖
第655圖
第656圖
第657圖
第658圖
第659圖
第660圖
第661圖
第662圖
第663圖
第664圖
第665圖
第666圖
第667圖
第668圖
第669圖
第670圖
第671圖
第672圖
第673圖
第674圖
第675圖
第676圖
第677圖
第678圖
第679圖
第680圖
第681圖
第682圖
第683圖
第684圖
第685圖
第686圖
第687圖
第688圖
第689圖
第690圖
第691圖
第692圖
第693圖
第694圖
第695圖
第696圖
第697圖
第698圖
第699圖
第700圖
第701圖
第702圖
第703圖
第704圖
第705圖
第706圖
第707圖
第708圖
第709圖
第710圖
第711圖
第712圖
第713圖
第714圖
第715圖
第716圖
第717圖
第718圖
第719圖
第720圖
第721圖
第722圖
第723圖
第724圖
第725圖
第726圖
第727圖
第728圖
第729圖
第730圖
第731圖
第732圖
第733圖
第734圖
第735圖
第736圖
第737圖
第738圖
第739圖
第740圖
第741圖
第742圖
第743圖
第744圖
第745圖
第746圖
第747圖
第748圖
第749圖
第750圖
第751圖
第752圖
第753圖
第754圖
第755圖
第756圖
第757圖
第758圖
第759圖
第760圖
第761圖
第762圖
第763圖
第764圖
第765圖
第766圖
第767圖
第768圖
第769圖
第770圖
第771圖
第772圖
第773圖
第774圖
第775圖
第776圖
第777圖
第778圖
第779圖
第780圖
第781圖
第782圖
第783圖
第784圖
第785圖
第786圖
第787圖
第788圖
第789圖
第790圖
第791圖
第792圖
第793圖
第794圖
第795圖
第796圖
第797圖
第798圖
第799圖
第800圖
第801圖
第802圖
第803圖
第804圖
第805圖
第806圖
第807圖
第808圖
第809圖
第810圖
第811圖
第812圖
第813圖
第814圖
第815圖
第816圖
第817圖
第818圖
第819圖
第820圖
第821圖
第822圖
第823圖
第824圖
第825圖
第826圖
第827圖
第828圖
第829圖
第830圖
第831圖
第832圖
第833圖
第834圖
第835圖
第836圖
第837圖
第838圖
第839圖
第840圖
第841圖
第842圖
第843圖
第844圖
第845圖
第846圖
第847圖
第848圖
第849圖
第850圖
第851圖
第852圖
第853圖
第854圖
第855圖
第856圖
第857圖
第858圖
第859圖
第860圖
第861圖
第862圖
第863圖
第864圖
第865圖
第866圖
第867圖
第868圖
第869圖
第870圖
第871圖
第872圖
第873圖
第874圖
第875圖
第876圖
第877圖
第878圖
第879圖
第880圖
第881圖
第882圖
第883圖
第884圖
第885圖
第886圖
第887圖
第888圖
第889圖
第890圖
第891圖
第892圖
第893圖
第894圖
第895圖
第896圖
第897圖
第898圖
第899圖
第900圖
第901圖
第902圖
第903圖
第904圖
第905圖
第906圖
第907圖
第908圖
第909圖
第910圖
第911圖
第912圖
第913圖
第914圖
第915圖
第916圖
第917圖
第918圖
第919圖
第920圖
第921圖
第922圖
第923圖
第924圖
第925圖
第926圖
第927圖
第928圖
第929圖
第930圖
第931圖
第932圖
第933圖
第934圖
第935圖
第936圖
第937圖
第938圖
第939圖
第940圖
第941圖
第942圖
第943圖
第944圖
第945圖
第946圖
第947圖
第948圖
第949圖
第950圖
第951圖
第952圖
第953圖
第954圖
第955圖
第956圖
第957圖
第958圖
第959圖
第960圖
第961圖
第962圖
第963圖
第964圖
第965圖
第966圖
第967圖
第968圖
第969圖
第970圖
第971圖
第972圖
第973圖
第974圖
第975圖
第976圖
第977圖
第978圖
第979圖
第980圖
第981圖
第982圖
第983圖
第984圖
第985圖
第986圖
第987圖
第988圖
第989圖
第990圖
第991圖
第992圖
第993圖
第994圖
第995圖
第996圖
第997圖
第998圖
第999圖
第1000圖