



(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 201630934 A

(43)公開日：中華民國 105 (2016) 年 09 月 01 日

(21)申請案號：104136908

(22)申請日：中華民國 104 (2015) 年 11 月 09 日

(51)Int. Cl. : C07K16/22 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P27/02 (2006.01)

(30)優先權：2014/11/10 歐洲專利局

14192519.8

(71)申請人：赫孚孟拉羅股份公司 (瑞士) F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (CH)

瑞士

(72)發明人：比都洽 馬克 BEDOUCHE, MARC (FR)；布魯爾 塞拜斯俊 BREUER, SEBASTIAN (DE)；丹格爾 史蒂芬 DENGEL, STEFAN (DE)；葛斯納 克里斯俊 GASSNER, CHRISTIAN (DE)；喬治絲 蓋 GEORGES, GUY (BE)；葛魯納 薩賓 GRUENER, SABINE (DE)；哈特曼 古多 HARTMANN, GUIDO (DE)；修斯曼 彼得 麥可 HUELSMANN, PETER MICHAEL (DE)；莫嫩肯 喬治 MOELLEKEN, JOERG (DE)；曼迪格 歐勒夫 MUNDIGL, OLAF (DE)；瑞古拉 喬傑 湯瑪斯 REGULA, JOERG THOMAS (DE)；偉瑟 芭芭拉 WEISER, BARBARA (DE)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：10 項 圖式數：0 共 240 頁

(54)名稱

抗 P D G F - B 抗體及使用方法

ANTI-PDGF-B ANTIBODIES AND METHODS OF USE

(57)摘要

本文報導抗 PDGF-B 抗體及其在眼科學中之用途。

Herein are reported anti-PDGF-B antibodies and their use in ophthalmology.

※ 申請案號：104136908

※ 申請日：104/11/09

※IPC 分類：**C07K 16/22** (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)

【發明名稱】

抗PDGF-B抗體及使用方法

ANTI-PDGF-B ANTIBODIES AND METHODS OF USE

【中文】

本文報導抗PDGF-B抗體及其在眼科學中之用途。

【英文】

Herein are reported anti-PDGF-B antibodies and their use in ophthalmology.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：(無)。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

(無)

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

抗PDGF-B抗體及使用方法

ANTI-PDGF-B ANTIBODIES AND METHODS OF USE

【技術領域】

本發明係關於抗PDGF-B抗體及使用其之方法。

【先前技術】

眼部血管疾病，諸如年齡相關之黃斑退化(AMD)及糖尿病性視網膜病變(DR)分別歸因於異常之脈絡膜或視網膜新血管生成。其為工業化國家中視力喪失之主要原因。因為視網膜由界限分明的神經元、神經膠質及血管元件(vascular element)組成，所以相對較小紊亂(諸如在血管增殖或水腫中見到之彼等紊亂)可能導致視覺功能明顯喪失。遺傳性視網膜變性(諸如色素性視網膜炎(RP))亦與血管異常(諸如小動脈變窄及血管萎縮)相關聯。其影響多達1/3,500的個體，且其特徵在於漸進性夜盲、視野喪失、視神經萎縮、小動脈變細及常常會發展為完全失明之中心視力喪失。

缺血性視網膜病之特徵在於視網膜血管之損失或功能異常，其導致血流減少及缺氧。視網膜藉由產生使新血管生長之信號來響應缺氧，但此等新血管通常脆弱且雜亂。此等異常新血管之生長產生大多數視力威脅，此係因為其可能滲漏、導致出血或導致疤痕，其可能最終引起視網膜剝離。目前對缺血性視網膜病之治療試圖中斷病理性血管之生長但不解決驅動其生長之根本性局部缺血。此外，糖尿病性視網膜病變(影響數百萬之缺血性視網膜病)的標準治療涉及在嘗試停止新血管生長及保持中央視力中用雷射破壞視網膜之一部分。已經採用

策略來阻斷血管內皮生長因子(VEGF) (一種血管生長主要啟動子)之功能。在短期內，抗VEGF療法可改善視力，但其不解決根本性局部缺血，且實際上由於其抑制所有血管生長(包括有益側支)而可能加重此病狀。亦存在此等藥物在老年及/或糖尿病患者患者中之全身性暴露的嚴重問題，其中在缺血性大腦、心臟或肢體中可能需要新血管生長。

對於眼部疾病通常地，經由玻璃體內應用常常使用較小抗體片段(如Fab或Fab₂)，因為其具有較低血清半衰期且全身性毒性風險較低。然而，此較小片段通常亦具有較低玻璃體內半衰期(例如歸因於較快擴散至血清中)且通常必須更經常給藥。

在一個結合臂中具有結構域置換/交換之多特異性抗體(CrossMabVH-VL)詳細地描述於WO 2009/080252及Schaefer, W.等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 108 (2011) 11187-11191 (其作為參考併入本文中)中。其明顯地減少由針對第一抗原之輕鏈與針對第二抗原之錯誤重鏈失配(與沒有此類結構域交換之方法相比較)而造成的副產物。然而，其製備並非完全不含副產物。主要副產物係基於本周型(Bence-Jones-type)相互作用。亦參見Schaefer, W.等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 108 (2011) 11187-11191；在補充材料之圖S1I中)。

在WO 2014/072876中，報導血小板衍生生長因子B特異性抗體及其組合物及用途。用於生長因子VEGF/PDGF家族之多價抗體材料及方法報導於WO 2005/087812中。Vassbotn, F.S., 等人 (Biochim. Biophys. Acta. Mol. Cell Res. 1054 (1990) 246-249)報導，針對PDGF B鏈之單株抗體抑制C3H纖維母細胞中PDGF誘導之DNA合成且預防PDGF結合於其受體。

【發明內容】

本發明提供抗PDGF-B抗體及使用其之方法。在具體實施例中，

該抗體為人類化抗體。

如本文所報導之一個態樣為一種結合於PDGF-B之經分離抗體，其中該抗體為鼠類抗體之人類化變異體，其中該鼠類抗體包含SEQ ID NO:01之重鏈可變域及SEQ ID NO:06之輕鏈可變域。

在如本文所報導之所有態樣的一個實施例中，人類化抗體在重鏈可變域中進一步在位置27處包含酪胺酸胺基酸殘基，在位置40處包含精胺酸胺基酸殘基，在位置43處包含組胺酸胺基酸殘基，且在位置73處包含色胺酸胺基酸殘基(根據Kabat編號)。

在如本文所報導之所有態樣的一個實施例中，人類化抗體在重鏈可變域中進一步在位置78處包含丙胺酸胺基酸殘基(根據Kabat編號)。

在如本文所報導之所有態樣的一個實施例中，人類化抗體在重鏈可變域中進一步在位置43處包含組胺酸胺基酸殘基，在位置71處包含丙胺酸胺基酸殘基，且在位置78處包含丙胺酸胺基酸殘基(根據Kabat編號)。

在如本文所報導之所有態樣的一個實施例中，人類化抗體在輕鏈可變域中進一步在位置43處包含胺基酸殘基脯胺酸，且在位置68處包含胺基酸殘基精胺酸(根據Kabat編號)。

在如本文所報導之所有態樣的一個實施例中，人類化抗體在輕鏈可變域中進一步在位置43處包含胺基酸殘基脯胺酸(根據Kabat編號)。

如本文所報導之一個態樣為一種特異性結合於人類PDGF-B之抗體，其中該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:02之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:03之胺基酸序列的HVR-H2及(c)包含SEQ ID NO:05之胺基酸序列的HVR-H3。

在一個實施例中，該抗體進一步包含(d)包含SEQ ID NO:07之胺

基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:08之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:09之胺基酸序列的HVR-L3。

如本文所報導之一個態樣為與以下抗體特異性結合相同人類PDGF-B抗原決定基的抗體，該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:02之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:04之胺基酸序列的HVR-H2、(c)包含SEQ ID NO:05之胺基酸序列的HVR-H3、(d)包含SEQ ID NO:07之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:08之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:09之胺基酸序列的HVR-L3。

如本文所報導之一個態樣為一種特異性結合於人類PDGF-B之抗體，其中該抗體包含

a) (i)包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列的HVR-H1、(ii)包含SEQ ID NO:12之胺基酸序列的HVR-H2及(iii)包含SEQ ID NO:14之胺基酸序列的HVR-H3，或

b) (i)包含SEQ ID NO:16之胺基酸序列的HVR-H1、(ii)包含SEQ ID NO:17之胺基酸序列的HVR-H2及(iii)包含SEQ ID NO:19之胺基酸序列的HVR-H3，或

c) (i)包含SEQ ID NO:21之胺基酸序列的HVR-H1、(ii)包含SEQ ID NO:22之胺基酸序列的HVR-H2及(iii)包含SEQ ID NO:24之胺基酸序列的HVR-H3，或

d) (i)包含SEQ ID NO:26之胺基酸序列的HVR-H1、(ii)包含SEQ ID NO:27之胺基酸序列的HVR-H2及(iii)包含SEQ ID NO:29之胺基酸序列的HVR-H3，或

e) (i)包含SEQ ID NO:31之胺基酸序列的HVR-H1、(ii)包含SEQ ID NO:32之胺基酸序列的HVR-H2及(iii)包含SEQ ID NO:34之胺基酸序列的HVR-H3，或

f) (i)包含SEQ ID NO:36之胺基酸序列的HVR-H1、(ii)包含SEQ

ID NO:37之胺基酸序列的HVR-H2及(iii)包含SEQ ID NO:39之胺基酸序列的HVR-H3。

在一個實施例中，該抗體進一步包含

a) (vi)包含SEQ ID NO:41之胺基酸序列的HVR-L1、(v)包含SEQ ID NO:42之胺基酸序列的HVR-L2、(vi)包含SEQ ID NO:43之胺基酸序列的HVR-L3，或

b) (vi)包含SEQ ID NO:45之胺基酸序列的HVR-L1、(v)包含SEQ ID NO:46之胺基酸序列的HVR-L2、(vi)包含SEQ ID NO:47之胺基酸序列的HVR-L3，或

c) (vi)包含SEQ ID NO:49之胺基酸序列的HVR-L1、(v)包含SEQ ID NO:50之胺基酸序列的HVR-L2、(vi)包含SEQ ID NO:51之胺基酸序列的HVR-L3，或

d) (vi)包含SEQ ID NO:53之胺基酸序列的HVR-L1、(v)包含SEQ ID NO:54之胺基酸序列的HVR-L2、(vi)包含SEQ ID NO:55之胺基酸序列的HVR-L3。

在一個實施例中，該抗體包含

a) 包含SEQ ID NO:10之胺基酸序列的可變重鏈域，或

b) 包含SEQ ID NO:15之胺基酸序列的可變重鏈域，或

c) 包含SEQ ID NO:20之胺基酸序列的可變重鏈域，或

d) 包含SEQ ID NO:25之胺基酸序列的可變重鏈域，或

e) 包含SEQ ID NO:30之胺基酸序列的可變重鏈域，或

f) 包含SEQ ID NO:35之胺基酸序列的可變重鏈域。

在一個實施例中，該抗體進一步包含

a) 包含SEQ ID NO:40之胺基酸序列的可變輕鏈域，或

b) 包含SEQ ID NO:44之胺基酸序列的可變輕鏈域，或

c) 包含SEQ ID NO:48之胺基酸序列的可變輕鏈域，或

d) 包含SEQ ID NO:52之胺基酸序列的可變輕鏈域。

如本文所報導之一個態樣為一種特異性結合於人類PDGF-B之抗體，其中該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:57之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:58之胺基酸序列的HVR-H2及(c)包含SEQ ID NO:60之胺基酸序列的HVR-H3。

在一個實施例中，該抗體進一步包含(d)包含SEQ ID NO:62之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:63之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:64之胺基酸序列的HVR-L3。

如本文所報導之一個態樣為一種特異性結合於人類PDGF-B之抗體，其中該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:66之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:67之胺基酸序列的HVR-H2及(c)包含SEQ ID NO:69之胺基酸序列的HVR-H3。

在一個實施例中，該抗體進一步包含(d)包含SEQ ID NO:71之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:72之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:73之胺基酸序列的HVR-L3。

如本文所報導之一個態樣為一種特異性結合於人類PDGF-B之抗體，其中該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:75之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:76之胺基酸序列的HVR-H2及(c)包含SEQ ID NO:78之胺基酸序列的HVR-H3。

在一個實施例中，該抗體進一步包含(d)包含SEQ ID NO:80之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:81之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:82之胺基酸序列的HVR-L3。

如本文所報導之一個態樣為一種特異性結合於人類PDGF-B之抗體，其中該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:84之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:85之胺基酸序列的HVR-H2及(c)包含SEQ ID NO:87之胺基酸序列的HVR-H3。

在一個實施例中，該抗體進一步包含(d)包含SEQ ID NO:89之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:90之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:91之胺基酸序列的HVR-L3。

如本文所報導之一個態樣為一種特異性結合於人類PDGF-B之抗體，其中該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:93之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:94之胺基酸序列的HVR-H2及(c)包含SEQ ID NO:96之胺基酸序列的HVR-H3。

在一個實施例中，該抗體進一步包含(d)包含SEQ ID NO:98之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:99之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:100之胺基酸序列的HVR-L3。

如本文所報導之一個態樣為一種特異性結合於人類PDGF-B之抗體，其中該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:102之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:103之胺基酸序列的HVR-H2及(c)包含SEQ ID NO:105之胺基酸序列的HVR-H3。

在一個實施例中，該抗體進一步包含(d)包含SEQ ID NO:107之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:108之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:109之胺基酸序列的HVR-L3。

如本文所報導之一個態樣為包含SEQ ID NO:10之序列的重鏈可變域胺基酸序列及選自SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:48及SEQ ID NO:52之群的輕鏈可變域胺基酸序列的抗體。

如本文所報導之一個態樣為包含SEQ ID NO:15之序列的重鏈可變域胺基酸序列及選自SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:48及SEQ ID NO:52之群的輕鏈可變域胺基酸序列的抗體。

如本文所報導之一個態樣為包含SEQ ID NO:20之序列的重鏈可變域胺基酸序列及選自SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:48及SEQ ID NO:52之群的輕鏈可變域胺基酸序列的抗體。

如本文所報導之一個態樣為包含SEQ ID NO:25之序列的重鏈可變域胺基酸序列及選自SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:48及SEQ ID NO:52之群的輕鏈可變域胺基酸序列的抗體。

如本文所報導之一個態樣為包含SEQ ID NO:30之序列的重鏈可變域胺基酸序列及選自SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:48及SEQ ID NO:52之群的輕鏈可變域胺基酸序列的抗體。

如本文所報導之一個態樣為包含SEQ ID NO:35之序列的重鏈可變域胺基酸序列及選自SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:48及SEQ ID NO:52之群的輕鏈可變域胺基酸序列的抗體。

如本文所報導之一個態樣為一種特異性結合於人類PDGF-BB及人類PDGF-AB但不結合於人類PDGF-AA的抗體。

在一個實施例中，該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:57之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:58之胺基酸序列的HVR-H2、(c)包含SEQ ID NO:60之胺基酸序列的HVR-H3、(d)包含SEQ ID NO:62之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:63之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:64之胺基酸序列的HVR-L3。

在一個實施例中，該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:66之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:67之胺基酸序列的HVR-H2、(c)包含SEQ ID NO:69之胺基酸序列的HVR-H3、(d)包含SEQ ID NO:71之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:72之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:73之胺基酸序列的HVR-L3。

在一個實施例中，該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:75之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:76之胺基酸序列的HVR-H2、(c)包含SEQ ID NO:78之胺基酸序列的HVR-H3、(d)包含SEQ ID NO:80之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:81之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:82之胺基酸序列的HVR-L3。

在一個實施例中，該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:84之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:85之胺基酸序列的HVR-H2、(c)包含SEQ ID NO:87之胺基酸序列的HVR-H3、(d)包含SEQ ID NO:89之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:90之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:91之胺基酸序列的HVR-L3。

在一個實施例中，該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:93之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:94之胺基酸序列的HVR-H2、(c)包含SEQ ID NO:96之胺基酸序列的HVR-H3、(d)包含SEQ ID NO:98之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:99之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:100之胺基酸序列的HVR-L3。

在一個實施例中，該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:102之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:103之胺基酸序列的HVR-H2、(c)包含SEQ ID NO:105之胺基酸序列的HVR-H3、(d)包含SEQ ID NO:107之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:108之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:109之胺基酸序列的HVR-L3。

如本文所報導之一個態樣為一種特異性結合於人類PDGF-BB及PDGF-AB及PDGF-AA之抗體。

在一個實施例中，該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:02之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:03之胺基酸序列的HVR-H2及(c)包含SEQ ID NO:05之胺基酸序列的HVR-H3。

在一個實施例中，該抗體進一步包含(a)包含SEQ ID NO:07之胺基酸序列的HVR-L1、(b)包含SEQ ID NO:08之胺基酸序列的HVR-L2及(c)包含SEQ ID NO:09之胺基酸序列的HVR-L3。

在如本文所報導之所有態樣的一個實施例中，該抗體為人類子類IgG1或人類子類IgG4。

在如本文所報導之所有態樣的一個實施例中，該抗體為具有κ輕

鏈之人類子類IgG1。

在如本文所報導之所有態樣的一個實施例中，該抗體為單株抗體。

在一個實施例中，該抗體為雙特異性抗體。

在所有態樣之一個實施例中，該抗體特異性結合於人類PDGF-B但不結合於人類PDGF-C。

在所有態樣之一個實施例中，該抗體特異性結合於人類、大鼠、小鼠及獼猴PDGF-B。

在所有態樣之一個實施例中，該抗體藉由抑制PDGF-B與其受體之結合來抑制人類PDGF-B之生物活性。

在所有態樣之一個實施例中，該抗體藉由抑制細胞遷移來抑制人類PDGF-B之生物活性。

在所有態樣之一個實施例中，該抗體藉由抑制PDGF-B受體磷酸化來抑制人類PDGF-B之生物活性。

在所有態樣之一個實施例中，該抗體藉由抑制細胞增殖來抑制人類PDGF-B之生物活性。

如本文中報導之一個態樣為編碼如本文中報導之抗體的(經分離)核酸。

如本文所報導之一個態樣為包含如本文所報導之核酸的宿主細胞。

如本文所報導之一個態樣為一種產生如本文所報導之抗體的方法，其包含培養如本文所報導之宿主細胞以產生該抗體及自該宿主細胞或培養基回收該抗體。

如本文所報導之一個態樣為一種醫藥調配物，其包含如本文所報導之抗體及醫藥學上可接受之載劑。

在一個實施例中，該醫藥調配物進一步包含額外治療劑。在一

個實施例中，該額外治療劑為抗ANG2抗體或抗VEGF抗體。

如本文所報導之一個態樣為如本文所報導之抗體，其用作藥劑。

如本文所報導之一個態樣為如本文所報導之抗體，其用於治療眼部血管疾病，較佳地用於治療黃斑退化。

如本文所報導之抗體，其用於抑制PDGF-B與其受體之間的相互作用。

如本文所報導之抗體，其用於抑制細胞遷移。

如本文所報導之抗體，其用於抑制增殖。

如本文所報導之一個態樣為如本文所報導之抗體的用途，其用於製造藥劑。

在一個實施例中，該藥劑用於治療眼部血管疾病，較佳地用於治療黃斑退化。

在一個實施例中，該藥劑用於抑制PDGF-B與其受體之間的相互作用。

如本文所報導之一個態樣為一種治療患有眼部血管疾病、較佳地黃斑退化之個體的方法，其包含向該個體投與有效量的如本文所報導之抗體。

如本文所報導之一個態樣為一種在個體中抑制PDGF-B與其受體之間相互作用的方法，其包含向該個體投與有效量的如本文所報導之抗體以抑制PDGF-B與其受體之間的該相互作用。

【圖式簡單說明】

無

【實施方式】

I. 定義

出於本文之目的，「接受體人類構架」為包含衍生自如以下所定

義之人類免疫球蛋白構架或人類共同構架之輕鏈可變域(VL)構架或重鏈可變域(VH)構架之胺基酸序列的構架。「衍生自」人類免疫球蛋白構架或人類共同構架之接受體人類構架可包含人類免疫球蛋白構架或人類共同構架之相同胺基酸序列，或其可含有胺基酸序列變化。在一些實施例中，胺基酸變化之數目為10個或10個以下、9個或9個以下、8個或8個以下、7個或7個以下、6個或6個以下、5個或5個以下、4個或4個以下、3個或3個以下、或2個或2個以下。在一些實施例中，VL接受體人類構架與VL人類免疫球蛋白構架序列或人類共同構架序列在序列上一致。

「親和力」係指分子(例如抗體)之單一結合位點與其結合搭配物(例如抗原)之間的非共價相互作用之總和的強度。除非另外指示，否則如本文所用，「結合親和力」係指反映結合對(例如抗體與抗原)成員之間的1:1相互作用的固有結合親和力。分子X對其搭配物Y之親和力一般可由解離常數(k_d)表示。可藉由此項技術中已知之常用方法(包括本文所描述之彼等方法)來量測親和力。用於量測結合親和力之特定說明性及例示性實施例描述於下文中。

「親和力成熟」抗體係指相較於在一或多個高變區(HVR)中不具有一或多個改變之親本抗體，在一或多個高變區中具有此類一或多個改變之抗體，此類改變使抗體對抗原之親和力得到提高。

術語「抗PDGF-B抗體」及「結合於PDGF-B之抗體」係指能夠以足夠之親和力結合PDGF-B之抗體，以使得該抗體適用作靶向PDGF-B之診斷劑及/或治療劑。在一個實施例中，如例如藉由ELISA或表面電漿子共振所量測的，抗PDGF-B抗體與不相關之非PDGF-B蛋白質的結合程度小於該抗體與PDGF-B之結合的約10%。在某些實施例中，結合於PDGF-B之抗體的解離常數(KD) $\leq 1 \mu\text{M}$ ， $\leq 100 \text{ nM}$ ， $\leq 10 \text{ nM}$ ， $\leq 1 \text{ nM}$ 或 $\leq 0.1 \text{ nM}$ (例如 10^{-8} M 或 10^{-8} M 以下，例如 10^{-8} M 至 10^{-10} M ，例

如 10^{-9} M至 10^{-10} M)。在某些實施例中，抗PDGF-B抗體結合於來自不同物種之PDGF-B當中之保守性PDGF-B的抗原決定基。

術語「抗體」在本文中以最廣泛意義使用且涵蓋各種抗體結構，包括(但不限於)單株抗體、多株抗體、多特異性抗體(例如雙特異性抗體)及抗體片段，只要其展現所需抗原結合活性即可。

「抗體片段」係指除完整抗體之外的包含完整抗體之一部分的分子，該部分結合該完整抗體所結合之抗原。抗體片段之實例包括(但不限於) Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂；雙功能抗體；線性抗體；單鏈抗體分子(例如scFv)；及由抗體片段形成之多特異性抗體。

與參考抗體「結合於相同抗原決定基之抗體」係指具有與至少與參考抗體相同之胺基酸殘基之相互作用的抗體。此等相互作用為例如帶電胺基酸殘基之間的離子相互作用或疏水性胺基酸殘基之間的疏水相互作用。

術語「嵌合」抗體係指重鏈及/或輕鏈之一部分來源於特定來源或物種，同時該重鏈及/或輕鏈之其餘部分來源於不同來源或物種的抗體。

抗體之「類別」係指其重鏈所具有之恆定域或恆定區的類型。存在五種主要抗體類別：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，且此等類別中之若干者可進一步分成子類(同型)，例如IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁及IgA₂。對應於不同類別之免疫球蛋白的重鏈恆定域分別稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 。

術語「免疫結合物」指示抗體與非抗體部分之間的共價結合物。此類非抗體部分可為可偵測標記、效應分子或細胞毒性劑。

如本文所用，術語「細胞毒性劑」係指抑制或預防細胞功能及/或引起細胞死亡或破壞之物質。細胞毒性劑包括(但不限於)放射性同位素(例如At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³²、

Pb²¹²及Lu之放射性同位素)；化學治療劑或藥物(例如甲胺喋呤(methotrexate)、阿德力黴素(adriamicin)、長春花生物鹼(長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、依託泊苷(etoposide))、小紅莓(doxorubicin)、美法侖(melphalan)、絲裂黴素C (mitomycin C)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、道諾黴素(daunorubicin)或其他插入劑)；生長抑制劑；酶及其片段，諸如溶核酶；抗生素；毒素，諸如小分子毒素或細菌、真菌、植物或動物來源之酶促活性毒素，包括其片段及/或變異體；以及以下所揭示之各種抗腫瘤或抗癌劑。

「效應功能」係指可歸因於抗體之Fc區的彼等生物活性，其隨抗體類別變化。抗體效應功能之實例包括：C1q結合及補體依賴性細胞毒性(CDC)；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體(例如B細胞受體)之下調；及B細胞活化。

藥劑(例如醫藥調配物)之「有效量」係指在必需劑量下且持續必需時間段有效達成所需治療或防治結果之量。

本文中之術語「Fc區」用於定義含有至少一部分恆定區之免疫球蛋白重鏈的C端區。該術語包括天然序列Fc區及變異Fc區。在一個實施例中，人類IgG重鏈Fc區自Cys226或自Pro230延伸至重鏈之羧基端。然而，Fc區之C端離胺酸(Lys447)或C端甘胺醯基-離胺酸二肽(Gly446Lys447)可能存在或可能不存在。除非本文另外說明，否則Fc區或恆定區中之胺基酸殘基的編號係根據EU編號系統，亦稱為EU索引，如Kabat, E.A.等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991), NIH Publication 91-3242中所描述。

「構架」或「FR」係指除高變區(HVR)殘基之外的可變域殘基。可變域之FR一般由四個FR域組成：FR1、FR2、FR3及FR4。因此，

在VH (或VL)中，HVR及FR序列一般依以下序列呈現：FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

術語「全長抗體」、「完整抗體」及「完全抗體」在本文中可互換使用來指結構實質上類似於天然(native)抗體結構或具有含有如本文所定義之Fc區之重鏈的抗體。

術語「宿主細胞」、「宿主細胞株」及「宿主細胞培養物」可互換使用且係指已引入外源核酸之細胞，包括此類細胞之後代。宿主細胞包括「轉型體」及「轉型細胞」，其包括初級轉型細胞及來源於其之後代(不考慮繼代次數)。後代之核酸含量與親代細胞可能不完全相同，而是可能含有突變。本文包括所篩選或選擇之與最初轉型細胞具有相同功能或生物活性的突變型後代。

「人類抗體」為胺基酸序列對應於由人類或人類細胞產生或來源於利用人類抗體譜系或其他人類抗體編碼序列之非人類來源的抗體之胺基酸序列的抗體。人類抗體之此定義特定排除包含非人類抗原結合殘基之人類化抗體。

「人類共同構架」為表示所選人類免疫球蛋白VL或VH構架序列中最常出現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，序列亞群為如Kabat, E.A.等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版, Bethesda MD (1991), NIH Publication 91-3242, 第1-3卷中之亞群。在一個實施例中，對於VL，亞群為如Kabat等人，同前文獻中之亞群κI。在一個實施例中，對於VH，亞群為如Kabat等人，同前文獻中之亞群III。

「人類化」抗體係指包含來自非人類HVR之胺基酸殘基及來自人類FR之胺基酸殘基的嵌合抗體。在某些實施例中，人類化抗體將包含至少一個且通常兩個可變域之實質上全部，其中所有或實質上所

有HVR (例如CDR)均對應於非人類抗體之HVR，且所有或實質上所有FR均對應於人類抗體之FR。人類化抗體視情況可包含源自人類抗體之抗體恆定區的至少一部分。抗體(例如非人類抗體)之「人類化形式」係指已經歷人類化之抗體。

如本文所用之術語「高變區」或「HVR」係指抗體可變域中序列高變(「互補決定區」或「CDR」)及/或形成結構上定義之環(「高變環」)及/或含有抗原接觸殘基(「抗原觸點」)的各區。一般而言，抗體包含六個HVR；三個在VH (H1、H2、H3)中，且三個在VL (L1、L2、L3)中。

本文中之HVR包括

(a) 出現在胺基酸殘基26-32 (L1)、50-52 (L2)、91-96 (L3)、26-32 (H1)、53-55 (H2)及96-101 (H3)處之高變環(Chothia, C.及Lesk, A.M., J. Mol. Biol. 196 (1987) 901-917)；

(b) 出現在胺基酸殘基24-34 (L1)、50-56 (L2)、89-97 (L3)、31-35b (H1)、50-65 (H2)及95-102 (H3)處之CDR (Kabat, E.A.等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991), NIH Publication 91-3242)；

(c) 出現在胺基酸殘基27c-36 (L1)、46-55 (L2)、89-96 (L3)、30-35b (H1)、47-58 (H2)及93-101 (H3)處之抗原觸點(MacCallum 等人 J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996))；及

(d) (a)、(b)及/或(c)之組合，包括HVR胺基酸殘基46-56 (L2)、47-56 (L2)、48-56 (L2)、49-56 (L2)、26-35 (H1)、26-35b (H1)、49-65 (H2)、93-102 (H3)及94-102 (H3)。

除非另外指示，否則在本文中，根據Kabat等人，同前文獻對可變域中之HVR殘基及其他殘基(例如FR殘基)進行編號。

「免疫結合物」為與一或多個異源分子結合之抗體。

「個體(individual)」或「個體(subject)」為哺乳動物。哺乳動物包括(但不限於)馴養動物(例如牛、羊、貓、狗及馬)、靈長類動物(例如人類及非人類靈長類動物，諸如猴)、兔及啮齒動物(例如小鼠及大鼠)。在某些實施例中，該個體(individual)或個體(subject)為人類。

「經分離之」抗體為已與其天然環境之組分分離的抗體。在一些實施例中，抗體純化至大於95%或99%之純度，如藉由例如電泳(例如SDS-PAGE、等電聚焦(IEF)、毛細管電泳)或層析(例如離子交換或逆相HPLC)所測定。評估抗體純度之方法的綜述參見例如Flatman, S. 等人, J. Chromatogr. B 848 (2007) 79-87。

「經分離之」核酸係指已與其天然環境之組分分離的核酸分子。經分離核酸包括通常含有核酸分子之細胞中所含有的核酸分子，但該核酸分子存在於染色體外或在不同於其天然染色體位置之染色體位置處。

「編碼抗PDGF-B抗體之經分離核酸」係指編碼抗體重鏈及輕鏈(或其片段)之一或多種核酸分子，包括單一載體或各別載體中之此類核酸分子及存在於宿主細胞中之一或多個位置處之此類核酸分子。

如本文所用之術語「單株抗體」係指自實質上均質抗體之群體獲得的抗體，亦即除可能變異抗體(例如含有天然存在之突變或在產生單株抗體製劑期間出現之變異抗體，此類變異體一般以較小量存在)之外，構成該群體之個別抗體相同及/或結合相同抗原決定基。相比於通常包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體的多株抗體製劑，單株抗體製劑之各單株抗體係針對抗原上之單一決定子。因此，修飾語「單株」指示抗體之特性為自實質上均質之抗體群體獲得，且不應解釋為需要藉由任何特定方法產生該抗體。舉例而言，根據本發明使用之單株抗體可藉由多種技術製得，包括(但不限於)融合瘤方

法、重組DNA方法、噬菌體呈現方法及利用含有所有或部分人類免疫球蛋白基因座之轉殖基因動物的方法、本文所描述的製得單株抗體之此類方法及其他例示性方法。

「裸抗體」係指未與異源部分(例如細胞毒性部分)或放射性標記結合之抗體。裸抗體可存在於醫藥調配物中。

「天然抗體」係指具有不同結構的天然存在之免疫球蛋白分子。舉例而言，天然IgG抗體為約150,000道爾頓(dalton)之雜四聚體醣蛋白，其由二硫鍵結之兩條相同輕鏈及兩條相同重鏈構成。自N端至C端，各重鏈具有可變區(VH)，亦稱為可變重鏈域或重鏈可變域，繼而為三個恆定域(CH1、CH2及CH3)。類似地，自N端至C端，各輕鏈具有可變區(VL)，亦稱為可變輕鏈域或輕鏈可變域，繼而為恆定輕鏈(CL)域。抗體輕鏈可基於其恆定域之胺基酸序列歸為兩種類型中之一種，稱為(κ)及(λ)。

術語「藥品說明書」用於指通常包括於治療性產品之商業包裝中之說明書，其含有關於與使用此類治療性產品有關之適應症、用法、劑量、投藥、組合療法、禁忌症及/或警告的資訊。

相對於參考多肽序列之“胺基酸序列一致性百分比(%)”定義為在比對參考多肽序列與候選序列且必要時引入間隙以達成最大序列一致性百分比之後，且在不將任何保守取代視為序列一致性之一部分的情況下，候選序列中與參考多肽序列中之胺基酸殘基一致的胺基酸殘基的百分比。出於測定胺基酸序列一致性百分比之目的之比對可以此項技術中之技能範圍內的各種方式達成，例如使用公開可獲得之電腦軟體，如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign (DNASTAR)軟體。熟習此項技術者可確定用於比對序列之適當參數，包括在所比較序列之全長內達成最大比對所需的任何算法。然而，出於本文之目的，使用序列比較電腦程式ALIGN-2產生胺基酸序列一致性%值。ALIGN-2

序列比較電腦程式由Genentech, Inc.創作，且原始碼已隨使用者文件一起提交於美國版權局(U.S.Copyright Office), Washington D.C., 20559，其在美國版權局以美國版權登記號TXU510087登記。ALIGN-2程式可公開購自Genentech, Inc., South San Francisco, California或可自原始程式碼編譯。ALIGN-2程式應經編譯以用於UNIX操作系統，包括數位UNIX V4.0D。所有序列比較參數由ALIGN-2程式設定且不變化。

在採用ALIGN-2進行胺基酸序列比較之情形下，既定胺基酸序列A相對於、與或針對既定胺基酸序列B之胺基酸序列一致性% (或者其可表述為，既定胺基酸序列A具有或包含相對於、與或針對既定胺基酸序列B的一定胺基酸序列一致性%)如下計算：

$$100 \text{ 乘以分率 } X/Y$$

其中X為在A與B之程式比對中藉由序列比對程式ALIGN-2評為一致匹配之胺基酸殘基的數目，且其中Y為B中之胺基酸殘基總數目。應瞭解，在胺基酸序列A之長度與胺基酸序列B之長度不相等的情況下，A相對於B之胺基酸序列一致性%與B相對於A之胺基酸序列一致性%不相等。除非另外特定陳述，否則本文所用之所有胺基酸序列一致性%值如緊接前述段落中所描述使用ALIGN-2電腦程式獲得。

術語「醫藥調配物」係指呈准許其中所含活性成分之生物活性有效之形式且不含有對該調配物將投與之個體具有不可接受毒性之額外組分的製劑。

「醫藥學上可接受之載劑」係指醫藥調配物中之除活性成分之外對個體無毒的成分。醫藥學上可接受之載劑包括(但不限於)緩衝劑、賦形劑、穩定劑或防腐劑。

如本文所用之術語「PDGF-B」係指人類PDGF-B。該術語涵蓋「全長」未經處理之PDGF-B以及由在細胞中處理而產生的任何形式

之PDGF-B。該術語亦涵蓋天然存在之PDGF-B變異體，例如剪接變異體或對偶基因變異體。人類PDGF-B之胺基酸序列展示於SEQ ID NO:110中。

如本文所用，「治療(treatment)」(及其語法變化形式，諸如「治療(treat)」或「治療(treating)」)係指試圖改變所治療個體之自然病程的臨床介入且可出於防治目的或在臨床病理學之病程期間進行。所需治療作用包括(但不限於)預防疾病出現或復發、緩解症狀、減輕疾病之任何直接或間接病理性後果、預防轉移、降低疾病進展速率、改善(amelioration)或緩和疾病病況及緩解或改善(improved)預後。在一些實施例中，本發明之抗體用於延遲疾病發生或減慢疾病進展。

術語「可變區」或「可變域」係指涉及抗體結合於抗原的抗體重鏈或輕鏈域。天然抗體之重鏈及輕鏈可變域(分別為VH及VL)一般具有類似的結構，其中各結構域均包含四個保守性構架區(FR)及三個高變區(HVR)。(參見例如Kindt, T.J.等人 Kuby Immunology, 第6版, W.H. Freeman and Co., N.Y. (2007), 第91頁)，單一VH或VL域可足以賦予抗原結合特異性。此外，結合特定抗原之抗體可使用來自結合該抗原之抗體的VH域或VL域分別篩選互補VL域或VH域之庫來分離(參見例如Portolano, S.等人, J. Immunol. 150 (1993) 880-887; Clackson, T.等人, Nature 352 (1991) 624-628)。

如本文所用之術語「載體」係指能夠傳播至其所連接之另一個核酸的核酸分子。該術語包括作為自我複製核酸結構之載體以及併入其已引入之宿主細胞之基因組中的載體。某些載體能夠引導其可操作地連接之核酸的表現。此類載體在本文中稱作「表現載體」。

II. 組合物及方法

本發明之單株抗體特異性結合於PDGF-B分子上涉及PDGF-B之受體結合及增殖活性的決定子位點。單株人類化抗體不結合於PDGF-

C。如本文所報導之特異性抗體結合於人類PDGF-BB及PDGF-AB，但不結合於PDGF-AA。如本文所報導之其他特異性抗體結合於人類PDGF-BB及PDGF-AB以及PDGF-AA。

A. 例示性抗PDGF-B抗體

本文提供不同新穎抗人類PDGF-B抗體。

第一抗PDGF-B抗體為新穎鼠類抗人類PDGF-B抗體，其具有SEQ ID NO:01之VH及SEQ ID NO:06之VL。此抗體在下文中稱為mumAb。此抗體結合於人類、獼猴、大鼠及鼠類PDGF-B，且抑制在PDGF-B與其受體之間的相互作用。

抗體具有如下表中所列之以下特性。

	huPDGF-BB (EC50)	muPDGF-BB (EC50)	ratPDGF-BB (EC50)	huPDGF-AA (EC50)
	[ng/mL]	[ng/mL]	[ng/mL]	[ng/mL]
mumAb	16.3	8.8	5.124	2.04

	PPII huPDGF-BB::huPDGF-Rβ IC ₅₀ [ng/ml]
mumAb	12.16

	產量	規模	產率	單體(分析型SEC)	主峰 (CE-SDS/SDS PAGE)
	[mg]	[l]	[mg/L 上清液]	[%]	[%]
mumAb	6.4	0.2	32	99	98

	IC ₅₀ 磷酸抑制		IC ₅₀ 增殖3T3	
mumAb	1.7	ng/ml	55.1	ng/ml

	外被細胞				Balb-C3T3	
	遷移 EC ₅₀ [nM]		增殖 EC ₅₀ [nM]		增殖 EC ₅₀ [nM]	
人類 PDGF-BB	0.02/0.03/0.03		0.03/0.02/0.019		0.028/0.026/0.031	
	IC ₅₀ [nM] 中和%		IC ₅₀ [nM] 中和%		IC ₅₀ [nM] 中和%	
R&D 多株 參考抗體	1.13/0.78/0.4 100		0.49/0.36/0.41 100		0.79/0.69/0.65 100	
mumAb	0.08	100	0.21	100	0.179	100

	外被細胞		Balb-C3T3
	Fab遷移 [nM]	Fab增殖 [nM]	Fab增殖 [nM]
mumAb	0.24	2.17	2.3

	kd [1/s]	t1/2 [min]
mumAb	4.50E-04	26

Fab	ka [1/Ms]	kd [1/s]	KD [nM]	t1/2 [s]
mumAb Fab	4.39E+05	2.01E-03	5	345

	大致KD [nM]	T1/2 [s]		大致KD** [nM]	T1/2 (s)
mumAb Fab	5	345	mumAb	0.042	2867

抗體之儲存穩定性展示在下表中(與參考表面之活性濃度)。

	2w/40°C pH 6.0下與參考[%]	2w/37°C pH 7.4下與參考[%]
mumAb	103	103

已藉由測定聚集起始溫度(Tagg)及熔化溫度(Tm)來評估抗體之熱穩定性(參見下表)。

	Tagg [°C]	Tm [°C]
mumAb	57	62 - 63.5

基於鼠類 mumAb 之胺基酸序列 (SEQ ID NO:01 及 SEQ ID NO:06)，產生對應人類化抗PDGF-B抗體。VH之人類化變異體係基於人類生殖系 IMGT_hVH_1_69、IMGT_hVH_4_59及IMGT_hVH_3_23與人類J元素生殖系IGHJ5-01組合。



在IMGT_hVH_1_69變異體中，在構架區1中之位置27 (G27Y)處及/或構架區2中之位置40 (A40R)及/或位置43 (Q43H)處及/或構架區3中之位置73 (E73T)處引入回復突變。

在IMGT_hVH_4_59中，在構架區3中之位置78 (F78A)處引入一個回復突變。在IMGT_hVH_3_23中，在構架區2中之位置43 (K43H)中及在構架區3中之位置71 (R71A)及78 (L78A)中引入回復突變。

VL之人類化變異體係基於人類生殖系IMGT_hVK_3_20、IMGT_hVK_4_1及IMGT_hVK_1_27與人類J元素生殖系IGKJ2-01組合。

對於一個變異體，在IMGT_hVK_3_20中，在構架區2中之位置43 (A43P)處及構架區3中之位置68 (G68R)處引入回復突變。在IMGT_hVK_1_27中，在構架區3中之位置43 (V43P)處引入一個回復突變。

呈單特異性抗體形式之此抗體標示為抗體0044，且呈具有額外ANG2結合特異性之雙特異性CrossMab的此抗體標示為抗體0146。

其他抗體為自人類Ig基因座轉殖基因兔獲得之人類抗體。抗體具有如下表中所列之結合特性。

	huPDGF-BB [EC50] [ng/mL]	muPDGF-BB [EC50] [ng/mL]	ratPDGF-BB [EC50] [ng/mL]	cynPDGF-BB [EC50] [ng/mL]	huPDGF-AA [EC50] [ng/mL]	huPDGF-CC [EC50] [ng/mL]
抗體 0058	40.15	33.16	96.58	3.4	n.d.	n.d.
抗體 0059	35.07	57.14	154.3	8.99	n.d.	n.d.
抗體 0064	16.05	2.68	3.69	7.41	n.d.	n.d.
抗體 0060	37.54	42.76	109.82	41.5	n.d.	n.d.
抗體 0085	7.55	24.96	15.96	15.33	n.d.	n.d.
抗體 0086	12.04	14.08	10.57	16.19	n.d.	n.d.

	huPDGF-BB - 藉由SPR之 親合力 [M]	huPDGF-BB - 藉由SPR之 k合 [M-1s-1]	huPDGF-BB - 藉由SPR之 k離 [s-1]	cynPDGF-BB - 藉由SPR之 親合力 [M]	cynPDGF-BB - 藉由SPR之 k合 [M-1s-1]	cynPDGF-BB - 藉由SPR之 k離 [s-1]
抗體 0058	6.2E-11	1.80E6	1.10E-4	2.88E-11	2.27E6	6.53E-05
抗體 0059	6.1E-11	1.70E6	1.04E-4	2.88E-11	2.36E6	6.80E-5
抗體 0064	7.69E-11	0.72E6	0.55E-4	5.96E-11	0.74E6	4.42E-5
抗體 0060	7.82E-11	0.37E6	0.29E-4	1.69E-13	0.33E6	5.646E-08
抗體 0085	4.76E-11	0.93E6	0.44E-4	4.78E-11	0.94E6	4.52E-5
抗體 0086	2.18E-11	1.04E6	0.23E-4	1.78E-11	1.04E6	1.84E-5

	PPII huPDGF-BB::huPDGF-R β IC50 [ng/ml]
抗體0058	42.48
抗體0059	47.61
抗體0064	34.32
抗體0060	55.37
抗體0085	17.76
抗體0086	11.73

在一個實施例中，人類化抗PDGF-B抗體結合於人類、大鼠、小鼠及獼猴PDGF-B。

	產量 [mg]	規模 [l]	產率 [mg/l 上清液]	單體(分 析型SEC) [%]	主峰 (CE-SDS/SDS PAGE) [%]
抗體0058	17.4	0.25	87	99	97
抗體0059	24.6	0.25	98	97.8	97
抗體0060	24.4	0.25	98	98	97
抗體0064	28.8	0.25	115	>95	97
抗體0085	22.5	0.25	90	99	96
抗體0086	20.8	0.25	83	99	96
抗體0144	37.7	1.5	25.1	>98	>95
抗體0117	46.3	1	46.3	>98	>95
抗體0145	21.5	1	21.5	>98	>95
抗體0146	14.6	0.5	29.2	>98	>95

	IC ₅₀ 磷酸抑制		IC ₅₀ 增殖3T3	
抗體0058	2.9	ng/ml	79.3	ng/ml
抗體0059	6.2	ng/ml	129.9	ng/ml
抗體0060	1.6	ng/ml	36.3	ng/ml
抗體0064	n.d.	n.d.	62	ng/ml
抗體0085	n.d.	n.d.	31.8	ng/ml
抗體0086	n.d.	n.d.	56.0	ng/ml

在不同活性分析中，如由下表中所呈現之資料可見的，抗體展示生物活性。

	外被細胞				Balb-C3T3	
	遷移		增殖		增殖	
	EC50[nM]		EC50[nM]		EC50[nM]	
huPDGF-BB	0.03/0.04		0.02/0.03		0.025/0.023	
	IC50[nM]	中和%	IC50[nM]	中和%	IC50[nM]	中和%
R&D多株抗體	0.56/0.32	100	0.36/0.41	100	0.69/0.65	100
抗體0058	0.002	100	0.08	100	0.24	100
抗體0060	0.013	100	0.6	100	0.29	90
抗體0059	0.22	100	0.14	100	0.06	100
抗體0064	0.14	100	0.08	100	0.024	100
抗體0085	0.15	90	0.11	100	0.06	100
抗體0086	0.09	100	0.09	100	0.11	100

	Fab遷移抑制 [nM]	Fab增殖抑制 [nM]	Fab增殖抑制 [nM]
抗體0058	3.05	17.21	>20
抗體0060	0.11/>20	0.7/>20	0.8/>20
抗體0059	4.47	0.97	13.09
抗體0064	0.97	6.9	4.79
抗體0085	0.41	1.02	1.36
抗體0086	0.14	0.62	1.18

已使用表面電漿子共振技術測定不同抗體之動力學結合特性(參見下表)。

	kd [1/s]	t1/2 [min]
抗體-0058	2.91E-04	40
抗體-0060	2.64E-04	44
抗體-0064	1.35E-04	85

抗體-0085	1.02E-04	114
抗體-0086	7.93E-05	146

Fab	ka [1/Ms]	kd [1/s]	KD* [nM]	t1/2 [s]
抗體-0106	2.02E+05	3.74E-04	2	1853
抗體-0107	1.95E+05	3.62E-04	2	1915
抗體-0108	3.96E+05	7.73E-03	20	90
抗體-0109	3.14E+05	1.36E-02	43	51
抗體-0110	1.30E+05	1.01E-03	8	686

Fab	大致KD* [nM]	T1/2 [s]	IgG	大致KD** [nM]	T1/2 [s]
抗體-0104	-	-	抗體-0060	0.021	6829
抗體-0106	2	1853	抗體-0085	0.023	8739
抗體-0107	2	1915	抗體-0086	0.030	2461
抗體-0108	20	90	抗體-0059	0.031	2379
抗體-0109	43	51	抗體-0058	0.046	5127
抗體-0110	8	686	抗體-0064	0.021	6829

不同抗體之儲存穩定性展示在下表中(與參考表面之活性濃度)。

	2w/40°C pH 6.0下與參考[%]	2w/37°C pH 7.4下與參考[%]
抗體-0058	101	102
抗體-0059	99	98
抗體-0060	87	81
抗體-0064	99	97
抗體-0086	99	98

已藉由測定聚集起始溫度(Tagg)及熔化溫度(Tm)來評估抗體之熱穩定性(參見下表)。

	Tagg [°C]	Tm [°C]
抗體-0086	64	64.5-68

抗體0144為雙特異性抗ANG2/PDGF-B抗體，其包含抗體0085之VH及VL域作為PDGF-B結合特異性。

抗體0117為雙特異性抗VEGF/PDGF-B抗體，其包含抗體0085之VH及VL域作為PDGF-B結合特異性。

為測定動力學結合值，使用如實例32中所報導之分析。

ANG2	ka [1/Ms]	kd [1/s]	KD* [nM]	t1/2 [s]
抗體-0144	9.06E+04	1.55E-03	17	446

VEGF	ka [1/Ms]	kd [1/s]	KD* [nM]	t1/2 [s]
抗體-0117	2.46E+04	<1E-06	<0.1	-

PDGF-BB	ka [1/Ms]	kd [1/s]	KD* [nM]	t1/2 [s]
抗體-0106	2.94E+05	2.91E-04	1	40
抗體-0117	7.67E+04	2.45E-04	3	47
抗體-0144	8.31E+04	2.15E-04	3	53

已藉由SPR分析來展示，所有雙特異性抗體均具有同時結合於其兩個抗原之特性。

雙特異性抗體在基於細胞之分析中展示結合及生物活性。

	IC ₅₀ 增殖人類外被細胞		IC ₅₀ 增殖3T3	
抗體0117	0.016	nM	0.019	nM
抗體0144	0.030	nM	0.020	nM
抗體0085 FAB	0.012	nM	未偵測到	

	IC ₅₀ 磷酸抑制人類外被細胞		IC ₅₀ 遷移抑制人類外被細胞	
抗體0117	0.055	nM	0.06	nM
抗體0144	0.055	nM	0.06	nM
抗體0085 FAB	未偵測到		0.27	nM

在 ANG2 特異性 pTie2-ELISA 中，抗體 0144 之活性為 WO 2014/09465中所報導之抗ANG2/VEGF抗體的6倍。

在 VEGF 特異性報告基因分析中，抗體 0117之活性與 WO 2014/09465中所報導之抗ANG2/VEGF抗體類似。

抗體0085由SEQ ID NO:92至100之序列描述(結合位點、HVR、VH、VL)。抗體0085之雙特異性形式描述於序列SEQ ID NO:131至134、147至150及163至166中。所有此等序列單獨及組合構成本發明之態樣。

抗體0086由SEQ ID NO:101至109之序列描述(結合位點、HVR、VH、VL)。抗體0086之雙特異性形式描述於序列SEQ ID NO:135至138、151至154及167至167中。所有此等序列單獨及組合構成本發明

之態樣。

抗體0144由SEQ ID NO:147至150之序列描述(CrossMab形式、2個重鏈、2個輕鏈)。

抗體0117由SEQ ID NO:171至174之序列描述(CrossMab形式、2個重鏈、2個輕鏈)。

將抗體0144及0145在不同pH值下培育2週，且其後分別測定其與PDGF-BB及ANG2之結合。

抗體0144	結合於	相對結合[%]	SD
起始參考值	PDGF-BB	100	
在pH 6下培育		101	4
在pH 7.4下培育		94	6
起始參考值	ANG2	100	
在pH 6下培育		100	1
在pH 7.4下培育		91	4

抗體0145	結合於	相對結合[%]	SD
起始參考值	PDGF-BB	100	
在pH 6下培育		99	1
在pH 7.4下培育		95	2
起始參考值	ANG2	100	
在pH 6下培育		99	2
在pH 7.4下培育		94	0

如本文所報導之一個態樣為人類化抗人類PDGF-B抗體，其包含(a)包含SEQ ID NO:02之胺基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:03之胺基酸序列的HVR-H2；及(c)包含SEQ ID NO:05之胺基酸序列的HVR-H3。在一個實施例中，該抗體進一步包含(d)包含SEQ ID NO:07之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:08之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:09之胺基酸序列的HVR-L3。

如本文所報導之一個態樣為人類化抗人類PDGF-B抗體，其包含(a)包含SEQ ID NO:02之胺基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:04之胺基酸序列的HVR-H2；及(c)包含SEQ ID NO:05之胺基酸序

列的HVR-H3。在一個實施例中，該抗體進一步包含(d)包含SEQ ID NO:07之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:08之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:09之胺基酸序列的HVR-L3。

如本文所報導之一個態樣為抗人類PDGF-B抗體，其包含(a)包含SEQ ID NO:93之胺基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:94之胺基酸序列的HVR-H2；及(c)包含SEQ ID NO:96之胺基酸序列的HVR-H3。在一個實施例中，該抗體進一步包含(d)包含SEQ ID NO:98之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:99之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:100之胺基酸序列的HVR-L3。

在一個態樣中，本發明提供包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下各者之HVR的抗PDGF-B抗體，(a)包含SEQ ID NO:93之胺基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:95之胺基酸序列的HVR-H2；(c)包含SEQ ID NO:96之胺基酸序列的HVR-H3；(d)包含SEQ ID NO:98之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:99之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:100之胺基酸序列的HVR-L3。

在一個較佳實施例中，如本文所報導之抗PDGF-B抗體包含(a)包含SEQ ID NO:93之胺基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:95之胺基酸序列的HVR-H2；(c)包含SEQ ID NO:96之胺基酸序列的HVR-H3；(d)包含SEQ ID NO:98之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:99之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:100之胺基酸序列的HVR-L3。亦在一個較佳實施例中，如本文所報導之抗PDGF-B抗體包含具有SEQ ID NO:92之胺基酸序列的VH及具有SEQ ID NO:97之胺基酸序列的VL。亦在一個較佳實施例中，抗PDGF-B抗體為雙特異性抗體。

在一個態樣中，本發明提供包含至少一個、至少兩個或所有三

個選自以下各者之VH HVR序列的抗體：(a)包含SEQ ID NO:93之胺基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:94之胺基酸序列的HVR-H2；及(c)包含SEQ ID NO:96之胺基酸序列的HVR-H3。在一個實施例中，該抗體包含有包含SEQ ID NO:96之胺基酸序列的HVR-H3。在另一個實施例中，該抗體包含有包含SEQ ID NO:96之胺基酸序列的HVR-H3及包含SEQ ID NO:100之胺基酸序列的HVR-L3。在另一個實施例中，該抗體包含有包含SEQ ID NO:96之胺基酸序列的HVR-H3、包含SEQ ID NO:100之胺基酸序列的HVR-L3及包含SEQ ID NO:94之胺基酸序列的HVR-H2。在另一個實施例中，該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:93之胺基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:95之胺基酸序列的HVR-H2；及(c)包含SEQ ID NO:96之胺基酸序列的HVR-H3。

在另一態樣中，本發明提供包含至少一個、至少兩個或所有三個選自以下各者之VL HVR序列的抗體：(a)包含SEQ ID NO:98之胺基酸序列的HVR-L1；(b)包含SEQ ID NO:99之胺基酸序列的HVR-L2；及(c)包含SEQ ID NO:100之胺基酸序列的HVR-L3。在一個實施例中，該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:98之胺基酸序列的HVR-L1、(b)包含SEQ ID NO:99之胺基酸序列的HVR-L2及(c)包含SEQ ID NO:100之胺基酸序列的HVR-L3。

在另一態樣中，本發明之抗體包含(a)包含至少一個、至少兩個或所有三個選自以下各者之VH HVR序列的VH域：(i)包含SEQ ID NO:93之胺基酸序列的HVR-H1、(ii)包含SEQ ID NO:94之胺基酸序列的HVR-H2及包含選自SEQ ID NO:96之胺基酸序列的HVR-H3；及(b)包含至少一個、至少兩個或所有三個選自以下各者之VL HVR序列的VL域：(i)包含SEQ ID NO:98之胺基酸序列的HVR-L1、(ii)包含SEQ ID NO:99之胺基酸序列的HVR-L2及(c)包含SEQ ID NO:100之胺基酸序列的HVR-L3。

在另一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含(a)包含SEQ ID NO:93之胺基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:95之胺基酸序列的HVR-H2；(c)包含SEQ ID NO:96之胺基酸序列的HVR-H3；(d)包含SEQ ID NO:98之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:99之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含選自SEQ ID NO:100之胺基酸序列的HVR-L3。

在另一態樣中，抗PDGF-B抗體包含與SEQ ID NO:92之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性的重鏈可變域(VH)序列。在某些實施例中，具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性之VH序列含有相對於參考序列之取代(例如保守取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗PDGF-B抗體保留結合於PDGF-B之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:92中總計1至10個胺基酸已經取代、插入及/或缺失。在某些實施例中，取代、插入或缺失發生在HVR外側之區中(亦即在FR中)。視情況，抗PDGF-B抗體包含SEQ ID NO:92中之VH序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一個特定實施例中，VH包含一個、兩個或三個選自以下各者之HVR：(a)包含SEQ ID NO:93之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:94之胺基酸序列的HVR-H2及(c)包含SEQ ID NO:96之胺基酸序列的HVR-H3。

在另一態樣中，提供一種抗PDGF-B抗體，其中該抗體包含與SEQ ID NO:97之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性的輕鏈可變域(VL)。在某些實施例中，具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性之VL序列含有相對於參考序列之取代(例如保守取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗PDGF-B抗體保留結合於PDGF-B之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:97中總

計1至10個胺基酸已經取代、插入及/或缺失。在某些實施例中，取代、插入或缺失發生在HVR外側之區中(亦即在FR中)。視情況，抗PDGF-B抗體包含SEQ ID NO:97中之VL序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一個特定實施例中，VL包含一個、兩個或三個選自以下各者之HVR：(a)包含SEQ ID NO:98之胺基酸序列的HVR-L1、(b)包含SEQ ID NO:99之胺基酸序列的HVR-L2及(c)包含SEQ ID NO:100之胺基酸序列的HVR-L3。

在另一態樣中，提供一種抗PDGF-B抗體，其中該抗體包含如上文所提供之實施例中之任一者中的VH及如上文所提供之實施例中之任一者中的VL。在一個實施例中，該抗體分別包含SEQ ID NO: 92及SEQ ID NO: 97中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。

如本文所報導之一個態樣為抗人類PDGF-B抗體，其包含(a)包含SEQ ID NO:102之胺基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:103之胺基酸序列的HVR-H2；及(c)包含SEQ ID NO:105之胺基酸序列的HVR-H3。在一個實施例中，該抗體進一步包含(d)包含SEQ ID NO:107之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:108之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:109之胺基酸序列的HVR-L3。

在一個態樣中，本發明提供包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下各者之HVR的抗PDGF-B抗體，(a)包含SEQ ID NO:102之胺基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:104之胺基酸序列的HVR-H2；(c)包含SEQ ID NO:105之胺基酸序列的HVR-H3；(d)包含SEQ ID NO:107之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:108之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:109之胺基酸序列的HVR-L3。

在一個較佳實施例中，抗PDGF-B抗體包含(a)包含SEQ ID NO:102之胺基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:104之胺基酸序

列的HVR-H2；(c)包含SEQ ID NO:105之胺基酸序列的HVR-H3；(d)包含SEQ ID NO:107之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:108之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含SEQ ID NO:109之胺基酸序列的HVR-L3。亦在一個較佳實施例中，如本文所報導之抗PDGF-B抗體包含具有SEQ ID NO:101之胺基酸序列的VH及具有SEQ ID NO:106之胺基酸序列的VL。亦在一個較佳實施例中，抗PDGF-B抗體為雙特異性抗體。

在一個態樣中，本發明提供包含至少一個、至少兩個或所有三個選自以下各者之VH HVR序列的抗體：(a)包含SEQ ID NO:102之胺基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:103之胺基酸序列的HVR-H2；及(c)包含SEQ ID NO:105之胺基酸序列的HVR-H3。在一個實施例中，該抗體包含有包含SEQ ID NO:105之胺基酸序列的HVR-H3。在另一個實施例中，該抗體包含有包含SEQ ID NO:105之胺基酸序列的HVR-H3及包含SEQ ID NO:109之胺基酸序列的HVR-L3。在另一個實施例中，該抗體包含有包含SEQ ID NO:105之胺基酸序列的HVR-H3、包含SEQ ID NO:109之胺基酸序列的HVR-L3及包含SEQ ID NO:103之胺基酸序列的HVR-H2。在另一個實施例中，該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:102之胺基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:104之胺基酸序列的HVR-H2；及(c)包含SEQ ID NO:105之胺基酸序列的HVR-H3。

在另一態樣中，本發明提供包含至少一個、至少兩個或所有三個選自以下各者之VL HVR序列的抗體：(a)包含SEQ ID NO:107之胺基酸序列的HVR-L1；(b)包含SEQ ID NO:108之胺基酸序列的HVR-L2；及(c)包含SEQ ID NO:109之胺基酸序列的HVR-L3。在一個實施例中，該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:107之胺基酸序列的HVR-L1、(b)包含SEQ ID NO:108之胺基酸序列的HVR-L2及(c)包含SEQ ID

NO:109之胺基酸序列的HVR-L3。

在另一態樣中，本發明之抗體包含(a)包含至少一個、至少兩個或所有三個選自以下各者之VH HVR序列的VH域：(i)包含SEQ ID NO:102之胺基酸序列的HVR-H1、(ii)包含SEQ ID NO:103之胺基酸序列的HVR-H2及包含選自SEQ ID NO:105之胺基酸序列的HVR-H3；及(b)包含至少一個、至少兩個或所有三個選自以下各者之VL HVR序列的VL域：(i)包含SEQ ID NO:107之胺基酸序列的HVR-L1、(ii)包含SEQ ID NO:108之胺基酸序列的HVR-L2及(c)包含SEQ ID NO:109之胺基酸序列的HVR-L3。

在另一態樣中，本發明提供一種抗體，其包含(a)包含SEQ ID NO:102之胺基酸序列的HVR-H1；(b)包含SEQ ID NO:104之胺基酸序列的HVR-H2；(c)包含SEQ ID NO:105之胺基酸序列的HVR-H3；(d)包含SEQ ID NO:107之胺基酸序列的HVR-L1；(e)包含SEQ ID NO:108之胺基酸序列的HVR-L2；及(f)包含選自SEQ ID NO:109之胺基酸序列的HVR-L3。

在另一態樣中，抗PDGF-B抗體包含與SEQ ID NO:101之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性的重鏈可變域(VH)序列。在某些實施例中，具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性之VH序列含有相對於參考序列之取代(例如保守取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗PDGF-B抗體保留結合於PDGF-B之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:101中總計1至10個胺基酸已經取代、插入及/或缺失。在某些實施例中，取代、插入或缺失發生在HVR外側之區中(亦即在FR中)。視情況，抗PDGF-B抗體包含SEQ ID NO:101中之VH序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一個特定實施例中，VH包含一個、兩個或三個選自以下各者之HVR：(a)包含SEQ

ID NO:102之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:103之胺基酸序列的HVR-H2及(c)包含SEQ ID NO:105之胺基酸序列的HVR-H3。

在另一態樣中，提供一種抗PDGF-B抗體，其中該抗體包含與SEQ ID NO:106之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性的輕鏈可變域(VL)。在某些實施例中，具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性之VL序列含有相對於參考序列之取代(例如保守取代)、插入或缺失，但包含該序列之抗PDGF-B抗體保留結合於PDGF-B之能力。在某些實施例中，SEQ ID NO:106中總計1至10個胺基酸已經取代、插入及/或缺失。在某些實施例中，取代、插入或缺失發生在HVR外側之區中(亦即在FR中)。視情況，抗PDGF-B抗體包含SEQ ID NO:106中之VL序列，包括該序列之轉譯後修飾。在一個特定實施例中，VL包含一個、兩個或三個選自以下各者之HVR：(a)包含SEQ ID NO:107之胺基酸序列的HVR-L1、(b)包含SEQ ID NO:108之胺基酸序列的HVR-L2及(c)包含SEQ ID NO:109之胺基酸序列的HVR-L3。

如本文所報導之一個態樣為包含兩個重鏈及兩個輕鏈之抗體，其中a)第一重鏈具有SEQ ID NO:147之胺基酸序列，第二重鏈具有SEQ ID NO:148之胺基酸序列，第一輕鏈具有SEQ ID NO:149之胺基酸序列且第二輕鏈具有SEQ ID NO:150之胺基酸序列；或b)該抗體包含項目a)之胺基酸序列，其具有Fc區突變之轉譯後修飾。

在一個較佳實施例中，如本文所報導之雙特異性抗體具有突變P329G、L234A、L235A、I253A、H310A及H434A(根據Kabat索引編號)。

在另一態樣中，提供一種抗PDGF-B抗體，其中該抗體包含如上文所提供之實施例中之任一者中的VH及如上文所提供之實施例中之

任一者中的VL。在一個實施例中，該抗體分別包含SEQ ID NO: 101及SEQ ID NO: 106中之VH及VL序列，包括彼等序列之轉譯後修飾。

在本發明之另一態樣中，根據以上實施例中之任一者的抗PDGF-B抗體為單株抗體。

在一個實施例中，抗PDGF-B抗體為抗體片段，例如Fv、Fab、Fab'、scFv、雙功能抗體或F(ab')₂片段。

在另一個實施例中，該抗體為全長抗體，例如完整IgG1抗體或如本文所定義之其他抗體類別或同型。

在如本文所報導之所有態樣的一個實施例中，抗PDGF-B抗體為效應沉默抗PDGF-B抗體。在如本文所報導之所有態樣的一個實施例中，抗PDGF-B抗體為效應沉默抗PDGF-B抗體且不結合於人類FcRn。在如本文所報導之所有態樣的一個實施例中為人類子類IgG1之抗PDGF-B抗體且在兩個重鏈中具有突變L234A、L235A、P329G、I253A、H310A及H434A (根據Kabat索引編號)。

在如本文所報導之所有態樣的一個實施例中，抗PDGF-B抗體為雙特異性抗體。

如本文所報導之一個態樣為一種二價雙特異性抗體，其包含

a) 特異性結合於第一抗原之抗體之第一輕鏈及第一重鏈，及

b) 特異性結合於第二抗原之抗體之第二輕鏈及第二重鏈，其中該第二輕鏈及該第二重鏈之可變域VL及VH經彼此置換，

其中該第一抗原或該第二抗原為人類PDGF-B。

a)項之抗體不含如b)項所報導之修飾，且a)項之重鏈及輕鏈為分離鏈。

在b)項之抗體中

在輕鏈內

可變輕鏈域VL經該抗體之可變重鏈域VH置換，

且

在重鏈內

可變重鏈域VH經該抗體之可變輕鏈域VL置換。

在一個實施例中

i) 在a)項之第一輕鏈的恆定域CL中，位置124處之胺基酸(根據Kabat編號)經帶正電之胺基酸取代，且其中在a)項之第一重鏈的恆定域CH1中，位置147處之胺基酸或位置213處之胺基酸(根據Kabat EU索引編號)經帶負電之胺基酸取代，

或

ii) 在b)項之第二輕鏈的恆定域CL中，位置124處之胺基酸(根據Kabat編號)經帶正電之胺基酸取代，且其中在b)項之第二重鏈的恆定域CH1中，位置147處之胺基酸或位置213處之胺基酸(根據Kabat EU索引編號)經帶負電之胺基酸取代。

在一個較佳實施例中

i) 在a)項之第一輕鏈的恆定域CL中，位置124處之胺基酸經離胺酸(K)、精胺酸(R)或組胺酸(H)獨立地取代(根據Kabat編號)(在一個較佳實施例中，經離胺酸(K)或精胺酸(R)獨立地取代)，且其中在a)項之第一重鏈的恆定域CH1中，位置147處之胺基酸或位置213處之胺基酸經麩胺酸(E)或天冬胺酸(D)獨立地取代(根據Kabat EU索引編號)，

或

ii) 在b)項之第二輕鏈的恆定域CL中，位置124處之胺基酸經離胺酸(K)、精胺酸(R)或組胺酸(H)獨立地取代(根據Kabat編號)(在一個較佳實施例中，經離胺酸(K)或精胺酸(R)獨立地取代)，且其中在b)項之第二重鏈的恆定域CH1中，位置147處之胺基酸或位置213處之胺基酸經麩胺酸(E)或天冬胺酸(D)獨立地取代(根據Kabat EU索引編號)。

在一個實施例中，在第二重鏈之恆定域CL中，位置124及123處

之胺基酸經K取代(根據Kabat EU索引編號)。

在一個實施例中，在第二輕鏈之恆定域CH1中，位置147及213處之胺基酸經E取代(根據Kabat EU索引編號)。

在一個較佳實施例中，在第一輕鏈之恆定域CL中，位置124及123處之胺基酸經K取代，且在第一重鏈之恆定域CH1中，位置147及213處之胺基酸經E取代(根據Kabat EU索引編號)。

在一個實施例中，在第二重鏈之恆定域CL中，位置124及123處之胺基酸經K取代，且其中在第二輕鏈之恆定域CH1中，位置147及213處之胺基酸經E取代，且在第一輕鏈之可變域VL中，位置38處之胺基酸經K取代，在第一重鏈之可變域VH中，位置39處之胺基酸經E取代，在第二重鏈之可變域VL中，位置38處之胺基酸經K取代，且在第二輕鏈之可變域VH中，位置39處之胺基酸經E取代(根據Kabat EU索引編號)。

如本文所報導之一個態樣為一種二價雙特異性抗體，其包含

a) 特異性結合於第一抗原之抗體之第一輕鏈及第一重鏈，及

b) 特異性結合於第二抗原之抗體之第二輕鏈及第二重鏈，其中該第二輕鏈及該第二重鏈之可變域VL及VH經彼此置換，且其中該第二輕鏈及該第二重鏈之恆定域CL及CH1經彼此置換，

其中該第一抗原或該第二抗原為人類PDGF-B。

a)項之抗體不含如b)項所報導之修飾，且a)項之重鏈及輕鏈為分離鏈。

在b)項之抗體中

在輕鏈內

可變輕鏈域VL經該抗體之可變重鏈域VH置換，且恆定輕鏈域CL經該抗體之恆定重鏈域CH1置換；

且

在重鏈內

可變重鏈域VH經該抗體之可變輕鏈域VL置換，且恆定重鏈域CH1經該抗體之恆定輕鏈域CL置換。

如本文所報導之一個態樣為一種二價雙特異性抗體，其包含

- a) 特異性結合於第一抗原之抗體之第一輕鏈及第一重鏈，及
- b) 特異性結合於第二抗原之抗體之第二輕鏈及第二重鏈，其中該第二輕鏈及該第二重鏈之恆定域CL及CH1經彼此置換，

其中該第一抗原或該第二抗原為人類PDGF-B。

- a)項之抗體不含如b)項所報導之修飾，且a)項之重鏈及輕鏈為分離鏈。

在b)項之抗體中

在輕鏈內

恆定輕鏈域CL經該抗體之恆定重鏈域CH1置換；

且在重鏈內

恆定重鏈域CH1經該抗體之恆定輕鏈域CL置換。

如本文所報導之一個態樣為一種多特異性抗體，其包含

- a) 全長抗體，其特異性結合於第一抗原且由兩個抗體重鏈及兩個抗體輕鏈組成，及

- b) 一個、兩個、三個或四個單鏈Fab片段，其特異性結合於一個至四個其他抗原(亦即第二及/或第三及/或第四及/或第五抗原，較佳特異性結合於另一個抗原，亦即第二抗原)，

其中b)項之該等單鏈Fab片段與a)項之該全長抗體在該全長抗體之該重鏈或輕鏈的C端或N端經由肽連接子融合，

其中該第一抗原或該等其他抗原中之一者為人類PDGF-B。

在一個實施例中，結合於第二抗原之一個或兩個相同單鏈Fab片段與該全長抗體在該全長抗體之重鏈或輕鏈的C端經由肽連接子融

合。

在一個實施例中，結合於第二抗原之一個或兩個相同單鏈Fab片段與該全長抗體在該全長抗體之重鏈的C端經由肽連接子融合。

在一個實施例中，結合於第二抗原之一個或兩個相同單鏈Fab片段與該全長抗體在該全長抗體之輕鏈的C端經由肽連接子融合。

在一個實施例中，結合於第二抗原之兩個相同單鏈Fab片段與該全長抗體在該全長抗體之各重鏈或輕鏈的C端經由肽連接子融合。

在一個實施例中，結合於第二抗原之兩個相同單鏈Fab片段與該全長抗體在該全長抗體之各重鏈的C端經由肽連接子融合。

在一個實施例中，結合於第二抗原之兩個相同單鏈Fab片段與該全長抗體在該全長抗體之各輕鏈的C端經由肽連接子融合。

如本文所報導之一個態樣為一種三價雙特異性抗體，其包含

a) 全長抗體，其特異性結合於第一抗原且由兩個抗體重鏈及兩個抗體輕鏈組成，

b) 第一多肽，其由以下各者組成：

ba) 抗體重鏈可變域(VH)，

或

bb) 抗體重鏈可變域(VH)及抗體恆定域1 (CH1)，

其中該第一多肽以其VH域之N端經由肽連接子與該全長抗體之該兩個重鏈中之一者的C端融合，

c) 第二多肽，其由以下各者組成：

ca) 抗體輕鏈可變域(VL)，

或

cb) 抗體輕鏈可變域(VL)及抗體輕鏈恆定域(CL)，

其中該第二多肽以VL域之N端經由肽連接子與該全長抗體之該兩個重鏈中之另一者的C端融合，

且

其中該第一多肽之該抗體重鏈可變域(VH)與該第二多肽之該抗體輕鏈可變域(VL)一起形成特異性結合於第二抗原之抗原結合位點，

且

其中該第一抗原或該第二抗原為人類PDGF-B。

在一個實施例中，將b)項之多肽的抗體重鏈可變域(VH)與c)項之多肽的抗體輕鏈可變域(VL)連接且藉由在以下位置之間引入二硫鍵經由鏈間二硫橋鍵來穩定：

- i) 重鏈可變域位置44至輕鏈可變域位置100，或
- ii) 重鏈可變域位置105至輕鏈可變域位置43，或
- iii) 重鏈可變域位置101至輕鏈可變域位置100 (始終根據Kabat EU索引編號)。

引入非天然二硫橋鍵以用於穩定化之技術描述於例如 WO 94/029350；Rajagopal, V.等人, Prot. Eng. (1997) 1453-59；Kobayashi, H.等人, Nuclear Medicine & Biology, 第25卷, (1998) 387-393；或 Schmidt, M.等人, Oncogene (1999) 18 1711-1721中。在一個實施例中，b)及c)項之多肽的可變域之間的視情況選用之二硫鍵係在重鏈可變域位置44與輕鏈可變域位置100之間。在一個實施例中，b)及c)項之多肽的可變域之間的視情況選用之二硫鍵係在重鏈可變域位置105與輕鏈可變域位置43之間(始終根據Kabat EU索引編號)。在一個實施例中，在單鏈Fab片段之可變域VH與VL之間無該視情況選用之二硫鍵穩定化的三價雙特異性抗體為較佳的。

如本文所報導之一個態樣為三特異性或四特異性抗體，其包含

- a) 特異性結合於第一抗原之全長抗體之第一輕鏈及第一重鏈，及
- b) 特異性結合於第二抗原之全長抗體之第二(修飾)輕鏈及第二(修飾)重鏈，其中可變域VL及VH經彼此置換，及/或其中恆定域CL及

CH1經彼此置換，及

c) 其中特異性結合於一個或兩個其他抗原(亦即，第三及/或第四抗原)之一個至四個抗原結合肽經由肽連接子與a)及/或b)之輕鏈或重鏈的C端或N端融合，

其中該第一抗原或該第二抗原或該等其他抗原中之一者為人類PDGF-B。

a)項之抗體不含如b)項所報導之修飾，且a)項之重鏈及輕鏈為分離鏈。

在一個實施例中，三特異性或四特異性抗體包含c)項的一個或兩個特異性結合於一個或兩個其他抗原之抗原結合肽。

在一個實施例中，抗原結合肽係選自scFv片段及scFab片段之群。

在一個實施例中，抗原結合肽為scFv片段。

在一個實施例中，抗原結合肽為scFab片段。

在一個實施例中，抗原結合肽與a)及/或b)之重鏈的C端融合。

在一個實施例中，三特異性或四特異性抗體包含c)項的一個或兩個特異性結合於另一個抗原之抗原結合肽。

在一個實施例中，三特異性或四特異性抗體包含c)項的特異性結合於第三抗原之兩個相同抗原結合肽。在一個較佳實施例中，此類兩個相同抗原結合肽均經由相同肽連接子與a)及b)之重鏈的C端融合。在一個較佳實施例中，兩個相同抗原結合肽為scFv片段或scFab片段。

在一個實施例中，三特異性或四特異性抗體包含c)項的特異性結合於第三及第四抗原之兩個抗原結合肽。在一個實施例中，該兩個抗原結合肽均經由相同肽連接子與a)及b)之重鏈的C端融合。在一個較佳實施例中，該兩個抗原結合肽為scFv片段或scFab片段。

如本文所報導之一個態樣為雙特異性四價抗體，其包含

a) 特異性結合於第一抗原(且包含兩個Fab片段)之抗體之兩個輕鏈及兩個重鏈，

b) 特異性結合於第二抗原之抗體之兩個額外Fab片段，其中該等額外Fab片段均經由肽連接子與a)之重鏈的C端或N端融合，

且

其中在該等Fab片段中進行以下修飾

i) 在a)之兩個Fab片段中或在b)之兩個Fab片段中，可變域VL及VH經彼此置換，及/或恆定域CL及CH1經彼此置換，

或

ii) 在a)之兩個Fab片段中，可變域VL及VH經彼此置換，且恆定域CL及CH1經彼此置換，

且

在b)之兩個Fab片段中，可變域VL及VH經彼此置換，或恆定域CL及CH1經彼此置換，

或

iii) 在a)之兩個Fab片段中，可變域VL及VH經彼此置換，或恆定域CL及CH1經彼此置換，

且

在b)之兩個Fab片段中，可變域VL及VH經彼此置換，且恆定域CL及CH1經彼此置換，

或

iv) 在a)之兩個Fab片段中，可變域VL及VH經彼此置換，且在b)之兩個Fab片段中，恆定域CL及CH1經彼此置換，

或

v) 在a)之兩個Fab片段中，恆定域CL及CH1經彼此置換，且在

b)之兩個Fab片段中，可變域VL及VH經彼此置換，

其中該第一抗原或該第二抗原為人類PDGF-B。

在一個實施例中，該等額外Fab片段均經由肽連接子與a)之重鏈的C端或與a)之重鏈的N端融合。

在一個實施例中，該等額外Fab片段均經由肽連接子與a)之重鏈的C端融合。

在一個實施例中，該等額外Fab片段均經由肽連接子與a)之重鏈的N端融合。

在一個實施例中，在Fab片段中進行以下修飾：

i) 在a)之兩個Fab片段中或在b)之兩個Fab片段中，可變域VL及VH經彼此置換，

及/或

恆定域CL及CH1經彼此置換。

在一個實施例中，在Fab片段中進行以下修飾：

i) 在a)之兩個Fab片段中，可變域VL及VH經彼此置換，

及/或

恆定域CL及CH1經彼此置換。

在一個實施例中，在Fab片段中進行以下修飾：

i) 在a)之兩個Fab片段中，恆定域CL及CH1經彼此置換。

在一個實施例中，在Fab片段中進行以下修飾：

i) 在b)之兩個Fab片段中，可變域VL及VH經彼此置換，

及/或

恆定域CL及CH1經彼此置換。

在一個實施例中，在Fab片段中進行以下修飾：

i) 在b)之兩個Fab片段中，恆定域CL及CH1經彼此置換。

如本文所報導之一個態樣為雙特異性四價抗體，其包含：

a) 特異性結合於第一抗原且包含第一VH-CH1域對之第一抗體之(修飾)重鏈，其中該第一抗體之第二VH-CH1域對的N端經由肽連接子與該重鏈之C端融合，

b) a)之該第一抗體的兩個輕鏈，

c) 特異性結合於第二抗原且包含第一VH-CL域對之第二抗體之(修飾)重鏈，其中該第二抗體之第二VH-CL域對的N端經由肽連接子與該重鏈之C端融合，及

d) c)之該第二抗體的兩個(修飾)輕鏈，其各自包含CL-CH1域對，

其中該第一抗原或該第二抗原為人類PDGF-B。

如本文所報導之一個態樣為一種雙特異性抗體，其包含

a) 特異性結合於第一抗原之第一全長抗體之重鏈及輕鏈，及

b) 特異性結合於第二抗原之第二全長抗體之重鏈及輕鏈，其中該重鏈之N端經由肽連接子與該輕鏈之C端連接，

其中該第一抗原或該第二抗原為人類PDGF-B。

a)項之抗體不含如b)項所報導之修飾，且重鏈及輕鏈為分離鏈。

如本文所報導之一個態樣為一種雙特異性抗體，其包含

a) 全長抗體，其特異性結合於第一抗原且由兩個抗體重鏈及兩個抗體輕鏈組成，及

b) Fv片段，其特異性結合於包含VH²域及VL²域之第二抗原，其中兩個域均經由二硫橋鍵彼此連接，

其中僅該VH²域或該VL²域經由肽連接子與特異性結合於第一抗原之該全長抗體之該重鏈或輕鏈融合，

其中該第一抗原或該第二抗原為人類PDGF-B。

在雙特異性中，a)項之重鏈及輕鏈為分離鏈。

在一個實施例中，VH²域或VL²域中之另一者不經由肽連接子與

特異性結合於第一抗原之全長抗體之重鏈或輕鏈融合。

在如本文所報導之所有態樣中，第一輕鏈包含VL域及CL域，且第一重鏈包含VH域、CH1域、鉸鏈區、CH2域及CH3域。

在所有態樣之一個實施例中，如本文所報導之抗體為多特異性抗體，其需要至少兩個重鏈多肽雜二聚，且其中該抗體特異性結合於人類PDGF-B及第二非人類PDGF-B抗原。

用於CH3修飾以便支持雜二聚之若干方法已描述於例如WO 96/27011、WO 98/050431、EP 1870459、WO 2007/110205、WO 2007/147901、WO 2009/089004、WO 2010/129304、WO 2011/90754、WO 2011/143545、WO 2012/058768、WO 2013/157954、WO 2013/096291中，其均以引用之方式包括於本文中。通常，在此項技術中已知之方法中，第一重鏈之CH3域及第二重鏈之CH3域均以互補方式經工程改造，以使得包含一個經工程改造之CH3域的重鏈可不再與相同結構之另一個重鏈均二聚(例如，CH3工程改造之第一重鏈可不再與另一個CH3工程改造之第一重鏈均二聚；及CH3工程改造之第二重鏈可不再與另一個CH3工程改造之第二重鏈均二聚)。進而迫使包含一個經工程改造之CH3域的重鏈與包含以互補方式經工程改造之CH3域的另一個重鏈雜二聚。對於本發明之此實施例，第一重鏈之CH3域及第二重鏈之CH3域藉由胺基酸取代以互補方式經工程改造，以便迫使第一重鏈與第二重鏈雜二聚，而第一重鏈與第二重鏈不可再均二聚(例如，出於空間原因)。

涵蓋上文所引用及包括的此項技術中已知用於支持重鏈雜二聚之不同方法與以及上文針對本發明所描述之特定胺基酸取代組合作為用於根據本發明之多特異性抗體的不同替代方案，該多特異性抗體包含來源於特異性結合於第一抗原之第一抗體的「非交叉Fab區」及來源於特異性結合於第二抗原之第二抗體的「交叉Fab區」。

如本文所報導之多特異性抗體之CH3域可藉由「鈕入扣」技術來改變，該技術以若干實例詳細描述於例如WO 96/027011；Ridgway, J.B.等人, Protein Eng. 9 (1996) 617-621；及Merchant, A.M.等人, Nat. Biotechnol. 16 (1998) 677-681中。在此方法中，改變兩個CH3域之相互作用表面以提高含有此兩個CH3域之兩個重鏈的雜二聚。(兩個重鏈之)兩個CH3域中之每一者可為「鈕」，而另一者為「扣」。引入二硫橋鍵進一步使雜二聚體穩定(Merchant, A.M.等人, Nature Biotech 16 (1998) 677-681；Atwell, S.等人, J. Mol. Biol. 270 (1997) 26-35)且提高產量。

在一個較佳實施例中，如本文所報導之多特異性抗體在「鈕鏈」之CH3域中包含T366W突變且在「扣鏈」之CH3域中包含T366S、L368A、Y407V突變(根據Kabat EU索引編號)。亦可使用CH3域之間的額外鏈間二硫橋鍵(Merchant, A.M.等人, Nature Biotech. 16 (1998) 677-681)，例如藉由將Y349C突變引入「鈕鏈」之CH3域中及將E356C突變或S354C突變引入「扣鏈」之CH3域中。因此，在另一個較佳實施例中，如本文所報導之多特異性抗體在兩個CH3域中之一者中包含Y349C及T366W突變且在兩個CH3域中之另一者中包含E356C、T366S、L368A及Y407V突變，或如本文所報導之多特異性抗體在兩個CH3域中之一者中包含Y349C及T366W突變且在兩個CH3域中之另一者中包含S354C、T366S、L368A及Y407V突變(一個CH3域中之額外Y349C突變與另一個CH3域中之額外E356C或S354C突變形成鏈間二硫橋鍵)(根據Kabat EU索引編號)。

或者或另外，且亦可使用如EP 1 870 459A1描述之其他鈕入扣技術。在一個實施例中，如本文所報導之多特異性抗體在「鈕鏈」之CH3域中包含R409D及K370E突變且在「扣鏈」之CH3域中包含D399K及E357K突變(根據Kabat EU索引編號)。

在一個實施例中，如本文所報導之多特異性抗體在「鈕鏈」之CH3域中包含T366W突變且在「扣鏈」之CH3域中包含T366S、L368A及Y407V突變，且另外，在「鈕鏈」之CH3域中包含R409D及K370E突變且在「扣鏈」之CH3域中包含D399K及E357K突變(根據Kabat EU索引編號)。

在一個實施例中，如本文所報導之多特異性抗體在兩個CH3域中之一者中包含Y349C及T366W突變且在兩個CH3域中之另一者中包含S354C、T366S、L368A及Y407V突變，或如本文所報導之多特異性抗體在兩個CH3域中之一者中包含Y349C及T366W突變且在兩個CH3域中之另一者中包含S354C、T366S、L368A及Y407V突變，且另外，在「鈕鏈」之CH3域中包含R409D及K370E突變且在「扣鏈」之CH3域中包含D399K及E357K突變(根據Kabat EU索引編號)。

除「鈕入扣技術」以外，用於修飾多特異性抗體之重鏈之CH3域以便實施雜二聚的其他技術為此項技術中已知的。本文涵蓋此等技術，尤其WO 96/27011、WO 98/050431、EP 1870459、WO 2007/110205、WO 2007/147901、WO 2009/089004、WO 2010/129304、WO 2011/90754、WO 2011/143545、WO 2012/058768、WO 2013/157954及WO 2013/096291中所描述之技術作為與如本文所報導之多特異性抗體組合的「鈕入扣技術」之替代方案。

在如本文所報導之多特異性抗體的一個實施例中，使用EP 1870459中所描述之方法來支持多特異性抗體之第一重鏈及第二重鏈的雜二聚。此方法係基於在第一與第二重鏈之間的CH3/CH3域界面中之特定胺基酸位置處引入具有相反電荷之帶電胺基酸。

因此，此實施例係關於一種如本文所報導之多特異性抗體，其中在該抗體之三級結構中，第一重鏈之CH3域與第二重鏈之CH3域形

成位於各別抗體CH3域之間的界面，其中第一重鏈之CH3域及第二重鏈之CH3域的各別胺基酸序列各自包含位於抗體之三級結構中的該界面內之一組胺基酸，其中來自位於一個重鏈之CH3域中的界面中之胺基酸組的第一胺基酸經帶正電之胺基酸取代，且來自位於另一個重鏈之CH3域中的界面中之胺基酸組的第二胺基酸經帶負電之胺基酸取代。根據此實施例之多特異性抗體在本文中亦稱為「CH3(+/-)工程改造之多特異性抗體」(其中縮寫「+/-」表示在各別CH3域中引入的帶相反電荷之胺基酸)。

在如本文所報導之該CH3(+/-)工程改造之多特異性抗體的一個實施例中，帶正電之胺基酸係選自K、R及H，且帶負電之胺基酸係選自E或D。

在如本文所報導之該CH3(+/-)工程改造之多特異性抗體的一個實施例中，帶正電之胺基酸係選自K及R，且帶負電之胺基酸係選自E或D。

在如本文所報導之該CH3(+/-)工程改造之多特異性抗體的一個實施例中，帶正電之胺基酸為K，且帶負電之胺基酸為E。

在如本文所報導之該CH3(+/-)工程改造之多特異性抗體的一個實施例中，在一個重鏈之CH3域中，位置409處之胺基酸R經D取代且位置392處之胺基酸K經E取代，且在另一個重鏈之CH3域中，位置399處之胺基酸D經K取代且位置357處之胺基酸E經K取代(根據Kabat EU索引編號)。

在如本文所報導之多特異性抗體的一個實施例中，使用WO2013/157953中所描述之方法來支持多特異性抗體之第一重鏈及第二重鏈之雜二聚。在如本文所報導之該多特異性抗體的一個實施例中，在一個重鏈之CH3域中，位置366處之胺基酸T經K取代，且在另一個重鏈之CH3域中，位置351處之胺基酸L經D取代(根據Kabat EU索

引編號)。在如本文所報導之該多特異性抗體的另一個實施例中，在一個重鏈之CH3域中，位置366處之胺基酸T經K取代且位置351處之胺基酸L經K取代，且在另一個重鏈之CH3域中，位置351處之胺基酸L經D取代(根據Kabat EU索引編號)。

在如本文所報導之該多特異性抗體的另一個實施例中，在一個重鏈之CH3域中，位置366處之胺基酸T經K取代且位置351處之胺基酸L經K取代，且在另一個重鏈之CH3域中，位置351處之胺基酸L經D取代(根據Kabat EU索引編號)。另外，在另一個重鏈之CH3域中包含以下取代中之至少一者：位置349處之胺基酸Y經E取代、位置349處之胺基酸Y經D取代及位置368處之胺基酸L經E取代(根據Kabat EU索引編號)。在一個實施例中，位置368處之胺基酸L經E取代(根據Kabat EU索引編號)。

在如本文所報導之多特異性抗體的一個實施例中，使用WO2012/058768中所描述之方法來支持多特異性抗體之第一重鏈及第二重鏈之雜二聚。在如本文所報導之該多特異性抗體的一個實施例中，在一個重鏈之CH3域中，位置351處之胺基酸L經Y取代且位置407處之胺基酸Y經A取代，且在另一個重鏈之CH3域中，位置366處之胺基酸T經A取代且位置409處之胺基酸K經F取代(根據Kabat EU索引編號)。在另一個實施例中，除前述取代之外，在另一個重鏈之CH3域中，位置411 (最初T)、399 (最初D)、400 (最初S)、405 (最初F)、390 (最初N)及392 (最初K)處之胺基酸中之至少一者經取代(根據Kabat EU索引編號)。較佳取代為：

- 位置411處之胺基酸T經選自N、R、Q、K、D、E及W之胺基酸取代(根據Kabat EU索引編號)，
- 位置399處之胺基酸D經選自R、W、Y及K之胺基酸取代(根據Kabat EU索引編號)，

- 位置400處之胺基酸S經選自E、D、R及K之胺基酸取代(根據Kabat EU索引編號)；
- 位置405處之胺基酸F經選自I、M、T、S、V及W之胺基酸取代(根據Kabat EU索引編號)；
- 位置390處之胺基酸N經選自R、K及D之胺基酸取代(根據Kabat EU索引編號)；及
- 位置392處之胺基酸K經選自V、M、R、L、F及E之胺基酸取代(根據Kabat EU索引編號)。

在如本文所報導之該多特異性抗體(根據WO2012/058768經工程改造)的另一個實施例中，在一個重鏈之CH3域中，位置351處之胺基酸L經Y取代且位置407處之胺基酸Y經A取代，且在另一個重鏈之CH3域中，位置366處之胺基酸T經V取代且位置409處之胺基酸K經F取代(根據Kabat EU索引編號)。在如本文所報導之該多特異性抗體的另一個實施例中，在一個重鏈之CH3域中，位置407處之胺基酸Y經A取代，且在另一個重鏈之CH3域中，位置366處之胺基酸T經A取代且位置409處之胺基酸K經F取代(根據Kabat EU索引編號)。在該上一前述實施例中，在該另一個重鏈之CH3域中，位置392處之胺基酸K經E取代、位置411處之胺基酸T經E取代、位置399處之胺基酸D經R取代且位置400處之胺基酸S經R取代(根據Kabat EU索引編號)。

在如本文所報導之多特異性抗體的一個實施例中，使用WO 2011/143545中所描述之方法來支持多特異性抗體之第一重鏈及第二重鏈之雜二聚。在如本文所報導之該多特異性抗體的一個實施例中，在兩個重鏈之CH3域中，在位置368及/或409處引入胺基酸修飾(根據Kabat EU索引編號)。

在如本文所報導之多特異性抗體的一個實施例中，使用WO 2011/090762中所描述之方法來支持多特異性抗體之第一重鏈及第二

重鏈之雜二聚。WO 2011/090762係關於根據「鈕入扣」技術之胺基酸修飾。在如本文所報導之該CH3(KiH)工程改造之多特異性抗體的一個實施例中，在一個重鏈之CH3域中，位置366處之胺基酸T經W取代，且在另一個重鏈之CH3域中，位置407處之胺基酸Y經A取代(根據Kabat EU索引編號)。在如本文所報導之該CH3(KiH)工程改造之多特異性抗體的另一個實施例中，在一個重鏈之CH3域中，位置366處之胺基酸T經Y取代，且在另一個重鏈之CH3域中，位置407處之胺基酸Y經T取代(根據Kabat EU索引編號)。

在如本文所報導之多特異性抗體(其為IgG2同型)的一個實施例中，使用WO 2011/090762中所描述之方法來支持多特異性抗體之第一重鏈及第二重鏈之雜二聚。

在如本文所報導之多特異性抗體的一個實施例中，使用WO 2009/089004中所描述之方法來支持多特異性抗體之第一重鏈及第二重鏈之雜二聚。在如本文所報導之該多特異性抗體的一個實施例中，在一個重鏈之CH3域中，位置392處之胺基酸K或N經帶負電之胺基酸(在一個較佳實施例中，經E或D，在一個較佳實施例中，經D)取代，且在另一個重鏈之CH3域中，位置399處之胺基酸D、位置356處之胺基酸E或D或位置357處之胺基酸E經帶正電之胺基酸取代(在一個較佳實施例中，K或R，在一個較佳實施例中，經K，在一個較佳實施例中，位置399或356處之胺基酸經K取代)(根據Kabat EU索引編號)。在另一個實施例中，除前述取代之外，在一個重鏈之CH3域中，位置409處之胺基酸K或R經帶負電之胺基酸(在一個較佳實施例中，經E或D，在一個較佳實施例中，經D)取代(根據Kabat EU索引編號)。在甚至另一個實施例中，除前述取代之外或作為前述取代之替代，在一個重鏈之CH3域中，位置439處之胺基酸K及/或位置370處之胺基酸K彼此獨立地經帶負電之胺基酸(在一個較佳實施例中，經E或D，在一個

較佳實施例中，經D)取代(根據Kabat EU索引編號)。

在如本文所報導之多特異性抗體的一個實施例中，使用WO 2007/147901中所描述之方法來支持多特異性抗體之第一重鏈及第二重鏈之雜二聚。在如本文所報導之該多特異性抗體的一個實施例中，在一個重鏈之CH3域中，位置253處之胺基酸K經E取代，位置282處之胺基酸D經K取代且位置322處之胺基酸K經D取代，且在另一個重鏈之CH3域中，位置239處之胺基酸D經K取代，位置240處之胺基酸E經K取代且位置292處之胺基酸K經D取代(根據Kabat EU索引編號)。

在如本文所報導之多特異性抗體的一個實施例中，使用WO 2007/110205中所描述之方法來支持多特異性抗體之第一重鏈及第二重鏈之雜二聚。

在如本文所報導之所有態樣及實施例的一個實施例中，多特異性抗體為雙特異性抗體或三特異性抗體。在本發明之一個較佳實施例中，多特異性抗體為雙特異性抗體。

在如本文所報導之所有態樣的一個實施例中，抗體為二價或三價抗體。在一個實施例中，該抗體為二價抗體。

在如本文所報導之所有態樣的一個實施例中，多特異性抗體具有IgG型抗體之恆定域結構。在如本文所報導之所有態樣的另一個實施例中，多特異性抗體之特徵在於該多特異性抗體為人類子類IgG1或為具有突變L234A及L235A之人類子類IgG1。在如本文所報導之所有態樣的另一個實施例中，多特異性抗體之特徵在於該多特異性抗體為人類子類IgG2。在如本文所報導之所有態樣的另一個實施例中，多特異性抗體之特徵在於該多特異性抗體為人類子類IgG3。在如本文所報導之所有態樣的另一個實施例中，多特異性抗體之特徵在於該多特異性抗體為人類子類IgG4或為具有額外突變S228P之人類子類IgG4。在如本文所報導之所有態樣的另一個實施例中，多特異性抗體之特徵在

於該多特異性抗體為人類子類IgG1或人類子類IgG4。在如本文所報導之所有態樣的另一個實施例中，多特異性抗體之特徵在於該多特異性抗體為具有突變L234A及L235A之人類子類IgG1 (根據Kabat EU索引編號)。在如本文所報導之所有態樣的另一個實施例中，多特異性抗體之特徵在於該多特異性抗體為具有突變L234A、L235A及P329G之人類子類IgG1 (根據Kabat EU索引編號)。在如本文所報導之所有態樣的另一個實施例中，多特異性抗體之特徵在於該多特異性抗體為具有突變S228P及L235E之人類子類IgG4 (根據Kabat EU索引編號)。在如本文所報導之所有態樣的另一個實施例中，多特異性抗體之特徵在於該多特異性抗體為具有突變S228P、L235E及P329G之人類子類IgG4 (根據Kabat EU索引編號)。

在如本文所報導之所有態樣的一個實施例中，包含包括如本文所指定之CH3域的重鏈之抗體包含額外C端甘胺酸-離胺酸二肽(G446及K447，根據Kabat EU索引編號)。在如本文所報導之所有態樣的一個實施例中，包含包括如本文所指定之CH3域的重鏈之抗體包含額外C端甘胺酸殘基(G446，根據Kabat EU索引編號)。

在另一態樣中，根據以上實施例中之任一者的抗PDGF-B抗體可併有如以下部分1至5中所描述之單一或組合之特徵中的任一者。

1. 抗體親和力

在某些實施例中，本文所提供之抗體的解離常數(KD) $\leq 1 \mu\text{M}$ ， $\leq 100 \text{ nM}$ ， $\leq 10 \text{ nM}$ ， $\leq 1 \text{ nM}$ 或 $\leq 0.1 \text{ nM}$ (例如 10^{-8} M 或 10^{-8} M 以下，例如 10^{-8} M 至 10^{-10} M ，例如 10^{-9} M 至 10^{-10} M)。

用於測定KD值之方法概述於以下實例中。

當使用BIAcore®表面電漿子共振分析時，KD值可替代性地如下量測：使用BIAcore®-2000或BIAcore®-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)，在25°C下用固定抗原CM5晶片以約10個反應單位

(RU)進行分析。在一個實施例中，根據供應商之說明書，用*N*-乙基-*N'*-(3-二甲胺基丙基)-碳化二亞胺鹽酸鹽(EDC)及*N*-羥基丁二醯亞胺(NHS)來活化羧基甲基化葡聚糖生物感測器晶片(CM5, BIAcore, Inc.)。用10 mM乙酸鈉(pH 4.8)將抗原稀釋至5 µg/ml (約0.2 µM)，隨後以5 µl/min之流動速率注射以獲得大約10個反應單位(RU)之偶合蛋白質。在抗原注射後，注射1 M乙醇胺以阻斷未反應之基團。對於動力學量測，在25°C下，以大約25 µl/min之流動速率注射Fab於含0.05%聚山梨醇酯20 (TWEEN-20™)界面活性劑之PBS (PBST)中的兩倍連續稀釋液(0.78 nM至500 nM)。使用簡單的一比一朗格繆爾結合模型(one-to-one Langmuir binding model) (BIAcore®評估軟體3.2版)，藉由同時擬合締合及解離感測圖譜來計算締合速率(k_a)及解離速率(k_d)。平衡解離常數(KD)以比率 k_d/k_a 計算(參見例如Chen, Y.等人, J. Mol. Biol. 293 (1999) 865-881)。若藉由上文之表面電漿子共振分析來測定的締合速率超過 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ，則締合速率可藉由使用螢光淬滅技術來測定，該技術在如光譜儀(諸如具有攪拌式光析槽的止流裝備型光譜光度計(Aviv Instruments)或8000-系列SLM-AMINCO™光譜光度計(ThermoSpectronic))中所量測的濃度增加之抗原存在下、在25°C下量測PBS (pH 7.2)中之20 nM抗-抗原抗體(Fab形式)之螢光發射強度(激發= 295 nm；發射= 340 nm，16 nm帶通)的增加或減少。

2. 抗體片段

在某些實施例中，本文所提供之抗體為抗體片段。抗體片段包括(但不限於) Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv及scFv片段、及下文所描述之其他片段。某些抗體片段之綜述參見Hudson, P.J.等人, Nat. Med. 9 (2003) 129-134。scFv片段之綜述參見例如Plueckthun, A., 於：The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 第113卷, Rosenberg及Moore (編), Springer-Verlag, New York (1994), 第269-315頁；亦參

見WO 93/16185；US 5,571,894及US 5,587,458。包含救助受體結合抗原決定基殘基且活體內半衰期延長之Fab及F(ab')₂片段的論述參見US 5,869,046。

雙功能抗體為具有兩個抗原結合位點之抗體片段，其可為二價或雙特異性抗體片段。參見例如EP 0 404 097；WO 1993/01161；Hudson, P.J.等人, Nat. Med. 9 (2003) 129-134；及Holliger, P.等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90 (1993) 6444-6448。三功能抗體及四功能抗體亦描述於Hudson, P.J.等人, Nat. Med. 9 (2003) 129-134)中。

單域抗體為包含抗體之重鏈可變域之全部或一部分或輕鏈可變域之全部或一部分的抗體片段。在某些實施例中，單域抗體為人類單域抗體(Domantis, Inc., Waltham, MA；參見例如US 6,248,516)。

抗體片段可藉由各種技術製得，包括(但不限於)蛋白分解消化完整抗體以及藉由重組宿主細胞(例如大腸桿菌或噬菌體)產生，如本文所描述。

3. 嵌合及人類化抗體

在某些實施例中，本文所提供之抗體為嵌合抗體。某些嵌合抗體描述於例如US 4,816,567；及Morrison, S.L.等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81 (1984) 6851-6855中。在一個實例中，嵌合抗體包含非人類可變區(例如來源於小鼠、大鼠、倉鼠、兔或非人類靈長類動物(諸如猴)之可變區)及人類恆定區。在另一個實例中，嵌合抗體為「類別轉換」抗體，其中類別或子類已自親本抗體之類別或子類變化。嵌合抗體包括其抗原結合片段。

在某些實施例中，嵌合抗體為人類化抗體。通常，對非人類抗體進行人類化以降低對人類之免疫原性，同時保留親本非人類抗體之特異性及親和力。一般而言，人類化抗體包含一或多個可變域，其中HVR (例如CDR) (或其部分)來源於非人類抗體，且FR (或其部分)來

源於人類抗體序列。人類化抗體視情況將亦包含人類恆定區之至少一部分。在一些實施例中，人類化抗體中之一些FR殘基經來自非人類抗體(例如HVR殘基所來源之抗體)之相應殘基取代以例如恢復或提高抗體特異性或親和力。

人類化抗體及製造其之方法綜述於例如Almagro, J.C.及Fransson, J., *Front. Biosci.* 13 (2008) 1619-1633中，且進一步描述於例如Riechmann, I.等人, *Nature* 332 (1988) 323-329；Queen, C.等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86 (1989) 10029-10033；US 5,821,337、US 7,527,791、US 6,982,321及US 7,087,409；Kashmiri, S.V.等人, *Methods* 36 (2005) 25-34 (描述特異性決定區(SDR)移植)；Padlan, E.A., *Mol. Immunol.* 28 (1991) 489-498 (描述「表面再塑」)；Dall'Acqua, W.F.等人, *Methods* 36 (2005) 43-60 (描述「FR改組」)；及Osbourn, J. 等人, *Methods* 36 (2005) 61-68及Klimka, A.等人, *Br. J. Cancer* 83 (2000) 252-260 (描述FR改組之「導引選擇」方法)中。

可用於人類化之人類構架區包括(但不限於)：使用「最佳擬合」方法選擇之構架區(參見例如Sims, M.J. 等人, *J. Immunol.* 151 (1993) 2296-2308)；來源於具有輕鏈或重鏈可變區之特定亞群之人類抗體共同序列的構架區(參見例如Carter, P.等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89 (1992) 4285-4289；及Presta, L.G.等人, *J. Immunol.* 151 (1993) 2623-2632)；人類成熟(體細胞突變)構架區或人類生殖系構架區(參見例如Almagro, J.C.及Fransson, J., *Front. Biosci.* 13 (2008) 1619-1633)；及來源於篩選FR庫之構架區(參見例如Baca, M.等人, *J. Biol. Chem.* 272 (1997) 10678-10684及Rosok, M.J.等人, *J. Biol. Chem.* 271 (1996) 22611-22618))。

4. 多特異性抗體

在某些實施例中，本文所提供之抗體為多特異性抗體，例如雙

特異性抗體。多特異性抗體為對至少兩個不同位點具有結合特異性之單株抗體。在某些實施例中，結合特異性中之一者係針對PDGF-B且另一者係針對任何其他抗原。在某些實施例中，雙特異性抗體可結合於PDGF-B之兩個不同抗原決定基。雙特異性抗體亦可用於使細胞毒性劑定位於表現PDGF-B之細胞上。雙特異性抗體可製備為全長抗體或抗體片段。

用於製造多特異性抗體之技術包括(但不限於)重組共表現具有不同特異性之兩個免疫球蛋白重鏈-輕鏈對(參見Milstein, C.及Cuello, A.C., *Nature* 305 (1983) 537-540; WO 93/08829; 及Traunecker, A.等人, *EMBO J.* 10 (1991) 3655-3659)及「鈕入扣」工程改造(參見例如US 5,731,168)。多特異性抗體亦可藉由以下來製造：製造抗體Fc-雜二聚分子之工程改造靜電轉向效應(WO 2009/089004)；交聯兩個或兩個以上抗體或片段(參見例如US 4,676,980及Brennan, M.等人, *Science* 229 (1985) 81-83)；使用白胺酸拉鏈產生雙特異性抗體(參見例如Kostelny, S.A.等人, *J. Immunol.* 148 (1992) 1547-1553)；使用製造雙特異性抗體片段之「雙功能抗體」技術(參見例如Holliger, P.等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90 (1993) 6444-6448)；及使用單鏈Fv (sFv) 二聚體(參見例如Gruber, M等人, *J. Immunol.* 152 (1994) 5368-5374)；及如例如Tutt, A.等人 *J. Immunol.* 147 (1991) 60-69中所描述製備三特異性抗體。

本文中亦包括具有三個或三個以上功能性抗原結合位點之工程改造抗體，包括「章魚抗體」(參見例如US 2006/0025576)。

本文之抗體或片段亦包括包含結合於PDGF-B以及另一個不同抗原之抗原結合位點的「雙作用Fab」或「DAF」(參見例如US 2008/0069820)。

本文之抗體或片段亦包括以下各者中所描述之多特異性抗體：

WO 2009/080251 、 WO 2009/080252 、 WO 2009/080253 、 WO 2009/080254 、 WO 2010/112193 、 WO 2010/115589 、 WO 2010/136172 、 WO 2010/145792及WO 2010/145793 。

5. 抗體變異體

在某些實施例中，涵蓋本文所提供之抗體之胺基酸序列變異體。舉例而言，可能需要提高抗體之結合親和力及/或其他生物特性。抗體之胺基酸序列變異體可藉由將適當修飾引入編碼該抗體之核苷酸序列中或藉由肽合成來製備。此類修飾包括例如在抗體之胺基酸序列內的殘基之缺失及/或插入及/或取代。可進行缺失、插入及取代之任何組合以獲得最終構築體，其限制條件為最終構築體具有所需特徵，例如抗原結合。

a) 取代、插入及缺失變異體

在某些實施例中，提供具有一或多個胺基酸取代之抗體變異體。用於取代型突變誘發之相關位點包括HVR及FR。保守取代展示於下表中標題「較佳取代」下。更實質性變化提供於表1中標題「例示性取代」下，且如下文參考胺基酸側鏈類別進一步描述。胺基酸取代可引入相關抗體中，且針對所需活性篩選產物，例如保留/提高之抗原結合、降低之免疫原性或改良之ADCC或CDC。

表

原始殘基	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 ; Asp ; Lys ; Arg	Gln
Asp (D)	Glu ; Asn	Glu
Cys (C)	Ser ; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn ; Glu	Asn
Glu (E)	Asp ; Gln	Asp
Gly (G)	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

原始殘基	例示性取代	較佳取代
Lys (K)	Arg ; Gln ; Asn	Arg
Met (M)	Leu ; Phe ; Ile	Leu
Phe (F)	Trp ; Leu ; Val ; Ile ; Ala ; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val ; 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

胺基酸可根據共有側鏈特性進行分組：

- (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；
- (6) 芳族：Trp、Tyr、Phe。

非保守取代將必然伴有將此等類別中之一者之成員換成另一個類別。

一種類型之取代型變異體涉及取代親本抗體(例如人類化或人類抗體)之一或多個高變區殘基。一般而言，選用於進一步研究之所得變異體相對於親本抗體將在某些生物特性方面具有修飾(例如改良)(例如親和力提高、免疫原性降低)及/或將實質上保留親本抗體之某些生物特性。例示性取代型變異體為親和力成熟抗體，其可例如使用基於噬菌體呈現之親和力成熟技術(諸如本文所描述之彼等技術)來便利地產生。簡言之，使一或多個HVR殘基突變，且在噬菌體上呈現變異抗體且針對特定生物活性(例如結合親和力)進行篩選。

改變(例如取代)可在HVR中進行以例如提高抗體親和力。可在HVR「熱點」(亦即由在體細胞成熟過程期間經歷高頻率突變之密碼子編碼的殘基(參見例如 Chowdhury, P.S., Methods Mol. Biol. 207

(2008) 179-196)及/或接觸抗原之殘基)中用測試結合親和力之所得變異VH或VL進行此類改變。藉由構築及自二級庫再選擇之親和力成熟已描述於例如Hoogenboom, H.R.等人 *Methods in Molecular Biology* 178 (2002) 1-37中。在親和力成熟之一些實施例中，藉由多種方法(例如易錯PCR、鏈改組或寡核苷酸引導之突變誘發)中之任一者將多樣性引入選用於成熟之可變基因中。隨後產生二級庫。隨後篩選該庫以鑑別具有所需親和力之任何抗體變異體。另一種引入多樣性之方法涉及HVR引導方法，其中將若干HVR殘基(例如，一次4-6個殘基)隨機分組。涉及抗原結合之HVR殘基可特定鑑別，例如使用丙胺酸掃描突變誘發或模型化來鑑別。特定言之，常常靶向CDR-H3及CDR-L3。

在某些實施例中，取代、插入或缺失可發生在一或多個HVR內，只要此類改變不實質上降低抗體結合抗原之能力即可。舉例而言，可在HVR中進行不實質上降低結合親和力之保守改變(例如，如本文所提供之保守取代)。此類改變可例如在HVR中的接觸抗原之殘基外側。在上文所提供之變異VH及VL序列的某些實施例中，各HVR未改變或含有不超過一個、兩個或三個胺基酸取代。

一種適用於鑑別可經靶向以用於突變誘發之抗體之殘基或區的方法稱為「丙胺酸掃描突變誘發」，如由Cunningham, B.C.及Wells, J.A., *Science* 244 (1989) 1081-1085所描述。在此方法中，鑑別一個殘基或一組標靶殘基(例如帶電殘基，諸如arg、asp、his、lys及glu)且將其置換為中性或帶負電之胺基酸(例如丙胺酸或聚丙胺酸)以確定抗體與抗原之相互作用是否受到影響。可在對初始取代展現功能敏感性之胺基酸位置處引入其他取代。或者或另外，抗原-抗體複合物之晶體結構用於鑑別抗體與抗原之間的接觸點。此類接觸殘基及鄰近殘基可作為取代候選物之標靶或排除在取代候選物之外。可篩選變異體以確定其是否含有所需特性。

胺基酸序列插入包括長度在一個殘基至含有一百個或一百個以上殘基之多肽範圍內的胺基端及/或羧基端融合，以及單個或多個胺基酸殘基之序列內插入。末端插入之實例包括具有N端甲硫胺醯基殘基之抗體。抗體分子之其他插入型變異體包括抗體之N端或C端與酶(例如對於ADEPT而言)或延長抗體之血清半衰期之多肽的融合物。

b) 糖基化變異體

在某些實施例中，對本文所提供之抗體進行改變以增加或降低抗體糖基化之程度。向抗體中添加糖基化位點或使抗體缺失糖基化位點可藉由改變胺基酸序列以便產生或移除一或多個糖基化位點來便利地實現。

在抗體包含Fc區之情況下，可改變附接於其上之碳水化合物。由哺乳動物細胞產生之天然抗體通常包含分支鏈雙觸角寡醣，其一般藉由N鍵附接於Fc區之CH₂域的Asn297上(參見例如Wright, A.及Morrison, S.L., TIBTECH 15 (1997) 26-32)。寡醣可包括各種碳水化合物，例如甘露糖、N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)、半乳糖及唾液酸，以及附接於雙觸角寡醣結構之「主幹」中之GlcNAc上的海藻糖。在一些實施例中，可對本發明抗體中之寡醣進行修飾以便產生具有某些改良特性之抗體變異體。

在一個實施例中，提供具有缺乏附接(直接或間接)於Fc區上之海藻糖之碳水化合物結構的抗體變異體。舉例而言，此類抗體中海藻糖之量可為1%至80%、1%至65%、5%至65%或20%至40%。海藻糖之量藉由計算糖鏈內Asn297處之海藻糖相對於如藉由MALDI-TOF質譜分析所量測的附接於Asn 297上之所有醣結構(例如複合、雜交及高甘露糖結構)之總和的平均量來確定，如例如WO 2008/077546中所描述。Asn297係指位於Fc區中位置297處之天冬醯胺殘基(Fc區殘基之EU編號)；然而，歸因於抗體中之小序列變化，Asn297亦可位於位置297之

上游或下游約±3個胺基酸處，亦即在位置294與300之間。此類海藻糖基化變異體可具有改良之ADCC功能。參見例如US 2003/0157108；US 2004/0093621。與「脫海藻糖基化」或「缺乏海藻糖」之抗體變異體相關的公開案之實例包括：US 2003/0157108；WO 2000/61739；WO 2001/29246；US 2003/0115614；US 2002/0164328；US 2004/0093621；US 2004/0132140；US 2004/0110704；US 2004/0110282；US 2004/0109865；WO 2003/085119；WO 2003/084570；WO 2005/035586；WO 2005/035778；WO 2005/053742；WO 2002/031140；Okazaki, A.等人, J. Mol. Biol. 336 (2004) 1239-1249；Yamane-Ohnuki, N.等人, Biotech. Bioeng. 87 (2004) 614-622。能夠產生脫海藻糖基化抗體之細胞株之實例包括缺乏蛋白質海藻糖基化之Lec13 CHO細胞(Ripka, J.等人, Arch. Biochem. Biophys. 249 (1986) 533-545；US 2003/0157108；及WO 2004/056312，尤其在實例11處)，及基因剔除細胞株，諸如 α -1,6-海藻糖基轉移酶基因、FUT8、基因剔除CHO細胞(參見例如Yamane-Ohnuki, N.等人, Biotech. Bioeng. 87 (2004) 614-622；Kanda, Y.等人, Biotechnol. Bioeng. 94 (2006) 680-688；及WO 2003/085107)。

抗體變異體進一步具有平分寡醣，例如其中附接於抗體之Fc區上的雙觸角寡醣藉由GlcNAc平分。此類抗體變異體可具有減少之海藻糖基化及/或改良之ADCC功能。此類抗體變異體之實例描述於例如WO 2003/011878；US 6,602,684；及US 2005/0123546中。亦提供寡醣中之至少一個半乳糖殘基附接於Fc區上的抗體變異體。此類抗體變異體可具有改良之CDC功能。此類抗體變異體描述於例如WO 1997/30087；WO 1998/58964；及WO 1999/22764中。

c) Fc區變異體

在某些實施例中，可將一或多個胺基酸修飾引入本文所提供之

抗體之Fc區中，從而產生Fc區變異體。Fc區變異體可包含在一或多個胺基酸位置處包含胺基酸修飾(例如取代)之人類Fc區序列(例如，人類IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc區)。

在某些實施例中，本發明涵蓋具有一些而非所有效應功能之抗體變異體，此使得該抗體成為合乎應用需要之候選物，在該等應用中，活體內抗體半衰期至關重要，而某些效應功能(諸如補體及ADCC)為不必要或有害的。可進行活體外及/或活體內細胞毒性分析以確認CDC及/或ADCC活性之降低/消耗。舉例而言，可進行Fc受體(FcR)結合分析以確保抗體缺乏FcγR結合(因此可能缺乏ADCC活性)，但保留FcRn結合能力。用於介導ADCC之初級細胞NK細胞僅表現Fc(RIII，而單核細胞表現FcγRI、FcγRII及FcγRIII。FcR在造血細胞上之表現概括於Ravetch, J.V.及Kinet, J.P., *Annu. Rev. Immunol.* 9 (1991) 457-492之第464頁之表3中。評估相關分子之ADCC活性的活體外分析之非限制性實例描述於US 5,500,362 (參見例如Hellstrom, I.等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83 (1986) 7059-7063；及Hellstrom, I.等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82 (1985) 1499-1502)；US 5,821,337 (參見Bruggemann, M.等人, *J. Exp. Med.* 166 (1987) 1351-1361)中。或者，可採用非放射性分析方法(參見例如流動式細胞量測術之ACTITM非放射性細胞毒性分析(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA)；及CytoTox 96®非放射性細胞毒性分析(Promega, Madison, WI))。適用於此類分析之效應細胞包括周邊血液單核細胞(PBMC)及自然殺手(NK)細胞。或者或另外，可在活體內，例如在諸如Clynes, R.等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95 (1998) 652-656中所揭示之動物模型中評估相關分子之ADCC活性。亦可進行C1q結合分析以確認抗體不能結合C1q且因此缺乏CDC活性(參見例如WO 2006/029879及WO 2005/100402中之C1q及C3c結合ELISA)。為評估補體活化，可進行CDC分析(參見例

如 Gazzano-Santoro, H. 等人, J. Immunol. Methods 202 (1996) 163-171 ; Cragg, M.S. 等人, Blood 101 (2003) 1045-1052 ; 及 Cragg, M.S. 及 M.J. Glennie, Blood 103 (2004) 2738-2743)。亦可使用此項技術中已知之方法(參見例如 Petkova, S.B. 等人, Int. Immunol. 18 (2006): 1759-1769)進行 FcRn 結合及活體內清除/半衰期測定。

效應功能降低之抗體包括 Fc 區殘基 238、265、269、270、297、327 及 329 中之一或多者經取代的彼等抗體(US 6,737,056)。此類 Fc 突變體包括在胺基酸位置 265、269、270、297 及 327 中之兩者或兩者以上處具有取代的 Fc 突變體，包括殘基 265 及 297 取代為丙胺酸之所謂「DANA」Fc 突變體(US 7,332,581)。

描述與 FcR 之結合提高或減弱的某些抗體變異體。(參見例如 US 6,737,056 ; WO 2004/056312 ; 及 Shields, R.L. 等人, J. Biol. Chem. 276 (2001) 6591-6604)。

在某些實施例中，抗體變異體包含具有一或多個改良 ADCC 之胺基酸取代(例如，Fc 區之位置 298、333 及/或 334 處之取代(EU 編號殘基))的 Fc 區。

在一些實施例中，在 Fc 區中進行改變，該等改變導致 C1q 結合及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)改變(亦即，提高或減弱)，例如如 US 6,194,551、WO 99/51642 及 Idusogie, E.E. 等人, J. Immunol. 164 (2000) 4178-4184 中所描述。

半衰期延長且與負責將母體 IgG 轉移至胎兒之新生兒 Fc 受體(FcRn) (Guyer, R.L. 等人, J. Immunol. 117 (1976) 587-593 ; 及 Kim, J.K. 等人, J. Immunol. 24 (1994) 2429-2434)之結合提高的抗體描述於 US 2005/0014934 中。彼等抗體包含其中具有一或多個取代之 Fc 區，該等取代提高 Fc 區與 FcRn 之結合。此類 Fc 變異體包括在以下 Fc 區殘基中之一或多者處具有取代的彼等 Fc 變異體：238、256、265、272、

286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434，例如Fc區殘基434之取代(US 7,371,826)。

關於Fc區變異體之其他實例，亦參見Duncan, A.R.及Winter, G., Nature 322 (1988) 738-740；US 5,648,260；US 5,624,821；及WO 94/29351。

d) 經半胱胺酸工程改造之抗體變異體

在某些實施例中，可能需要產生經半胱胺酸工程改造之抗體，例如「thioMAb」，其中抗體之一或多個殘基經半胱胺酸殘基取代。在特定實施例中，經取代之殘基存在於抗體之可達位點處。藉由用半胱胺酸取代彼等殘基，反應性硫醇基從而定位於抗體之可達位點處且可用於使抗體與其他部分(諸如藥物部分或連接子-藥物部分)結合以產生如本文中進一步描述之免疫結合物。在某些實施例中，以下殘基中之任何一或多者可經半胱胺酸取代：輕鏈之V205 (Kabat編號)；重鏈之A118 (EU編號)；及重鏈Fc區之S400 (EU編號)。可如例如US 7,521,541中所描述產生經半胱胺酸工程改造之抗體。

e) 抗體衍生物

在某些實施例中，可對本文中所提供之抗體進行進一步修飾以含有此項技術中已知且可易於獲得之額外非蛋白質部分。適合於抗體衍生化之部分包括(但不限於)水溶性聚合物。水可溶聚合物之非限制性實例包括(但不限於)聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纖維素、聚葡萄糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啉酮、聚-1,3-二氧雜環戊烷、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/順丁烯二酸酐共聚物、聚胺基酸(均聚物或無規共聚物)及聚葡萄糖或聚(n-乙烯吡咯啉酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚氧化丙烯/氧化乙烯共聚物、聚氧乙烯多元醇(例如，甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛因其於水中之穩定性而可

具有製造優勢。聚合物可具有任何分子量，且可為分支或未分支的。附接於抗體上之聚合物的數目可變化，且若附接一個以上聚合物，則聚合物可為相同或不同分子。一般而言，用於衍生化之聚合物的數目及/或類型可基於包括(但不限於)所改良抗體之特定特性或功能、抗體衍生物是否將用於限定條件下之療法等的考慮因素來確定。

在另一個實施例中，提供抗體與可藉由暴露於輻射中而選擇性地加熱之非蛋白質部分的結合物。在一個實施例中，非蛋白質部分為碳奈米管(Kam, N.W.等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102 (2005) 11600-11605)。輻射可具有任何波長，且包括(但不限於)不損害普通細胞但將非蛋白質部分加熱至殺死抗體-非蛋白質部分近側之細胞之溫度的波長。

B. 重組方法及組合物

可使用例如如US 4,816,567中所描述之重組方法及組合物產生抗體。在一個實施例中，提供編碼本文所描述之抗PDGF-B抗體的經分離核酸。此類核酸可編碼包含抗體之VL之胺基酸序列及/或包含抗體之VH之胺基酸序列(例如抗體之輕鏈及/或重鏈)。在另一個實施例中，提供包含此類核酸之一或多種載體(例如表現載體)。在另一個實施例中，提供包含此類核酸之宿主細胞。在一個此類實施例中，宿主細胞包含(例如已經以下轉型)：(1)包含編碼包含抗體VL之胺基酸序列及包含抗體VH之胺基酸序列之核酸的載體；或(2)包含編碼包含抗體VL之胺基酸序列之核酸的第一載體及包含編碼包含抗體VH之胺基酸序列之核酸的第二載體。在一個實施例中，宿主細胞為真核細胞，例如中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或淋巴細胞(例如Y0、NS0、Sp20細胞)。在一個實施例中，提供一種製造抗PDGF-B抗體之方法，其中該方法包含在適合於表現抗體之條件下培養如上文所提供的包含編碼抗體之核酸的宿主細胞，及視情況自該宿主細胞(或宿主細胞培養基)回

收該抗體。

對於重組產生抗PDGF-B抗體，分離例如如上文所描述的編碼抗體之核酸且將其插入一或多個載體中以用於進一步選殖及/或在宿主細胞中表現。此類核酸可易於使用習知程序(例如，藉由使用能夠特異性地結合於編碼抗體重鏈及輕鏈之基因的寡核苷酸探針)分離及定序。

適合於選殖或表現編碼抗體之載體的宿主細胞包括本文所描述之原核或真核細胞。舉例而言，抗體可於細菌中產生，尤其在不需要糖基化及Fc效應功能時。抗體片段及多肽在細菌中之表現參見例如US 5,648,237、US 5,789,199及US 5,840,523。(亦參見Charlton, K.A., 於: *Methods in Molecular Biology*, 第248卷, Lo, B.K.C. (編), Humana Press, Totowa, NJ (2003), 第245-254頁，其描述抗體片段在大腸桿菌中之表現)在表現之後，抗體可以可溶性溶離份形式自細菌細胞糊狀物分離且可進一步進行純化。

除原核生物之外，諸如絲狀真菌或酵母之真核微生物為適合於編碼抗體之載體的選殖或表現宿主，包括糖基化路徑已經「人類化」從而產生具有部分或完全人類糖基化型態之抗體的真菌及酵母菌株。參見Gerngross, T.U., *Nat. Biotech.* 22 (2004) 1409-1414；及Li, H.等人, *Nat. Biotech.* 24 (2006) 210-215。

適合於表現糖基化抗體之宿主細胞亦來源於多細胞生物體(無脊椎動物及脊椎動物)。無脊椎動物細胞之實例包括植物及昆蟲細胞。已鑑別出多種桿狀病毒株，其可與昆蟲細胞結合使用，尤其用於轉染草地黏蟲(*Spodoptera frugiperda*)細胞。

植物細胞培養物亦可用作宿主(參見例如US 5,959,177、US 6,040,498、US 6,420,548、US 7,125,978及US 6,417,429 (描述在轉殖基因植物中產生抗體之PLANTIBODIES™技術))。

脊椎動物細胞亦可用作宿主。舉例而言，適於在懸浮液中生長之哺乳動物細胞株可為適用的。適用之哺乳動物宿主細胞株之其他實例為經SV40 (COS-7)轉型之猴腎CV1株；人類胚腎株(如例如Graham, F.L.等人, J. Gen Virol. 36 (1977) 59-74中所描述之293或293細胞)；幼倉鼠腎細胞(BHK)；小鼠塞特利氏細胞(mouse sertoli cell) (如例如Mather, J.P., Biol. Reprod. 23 (1980) 243-252中所描述之TM4細胞)；猴腎細胞(CV1)；非洲綠猴腎細胞(VERO-76)；人類子宮頸癌細胞(HELA)；犬腎細胞(MDCK；布法羅大鼠肝細胞(buffalo rat liver cell) (BRL 3A)；人類肺細胞(W138)；人類肝細胞(Hep G2)；小鼠乳房瘤(MMT 060562)；如例如Mather, J.P.等人, Annals N.Y. Acad. Sci. 383 (1982) 44-68中所描述之TRI細胞；MRC 5細胞；及FS4細胞。其他適用之哺乳動物宿主細胞株包括中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，包括DHFR⁻CHO細胞(Urlaub, G.等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77 (1980) 4216-4220)；及骨髓瘤細胞株，諸如Y0、NS0及Sp2/0。適合於抗體產生之某些哺乳動物宿主細胞株的綜述參見例如Yazaki, P.及Wu, A.M., Methods in Molecular Biology, 第248卷, Lo, B.K.C. (編), Humana Press, Totowa, NJ (2004), 第255-268頁。

C. 分析

可藉由此項技術中已知之各種分析對本文所提供之抗PDGF-B抗體針對其物理/化學特性及/或生物活性進行鑑別、篩選或表徵。例示性分析報導於實例中。

D. 免疫結合物

本發明亦提供包含與一或多種細胞毒性劑結合之如本文所報導之抗PDGF-B抗體的免疫結合物，細胞毒性劑諸如化學治療劑或藥物、生長抑制劑、毒素(例如，蛋白毒素，細菌、真菌、植物或動物來源之酶促活性毒素，或其片段)或放射性同位素。

在一個實施例中，免疫結合物為抗體-藥物結合物(ADC)，其中抗體與一或多種藥物結合，該等藥物包括(但不限於)類美登素(maytansinoid) (參見US 5,208,020、US 5,416,064及EP 0 425 235 B1)；奧瑞他汀(auristatin)，諸如單甲基奧瑞他汀藥物部分DE及DF(MMAE及MMAF) (參見US 5,635,483、US 5,780,588及US 7,498,298)；海兔毒素(dolastatin)；卡奇黴素(calicheamicin)或其衍生物(參見US 5,712,374、US 5,714,586、US 5,739,116、US 5,767,285、US 5,770,701、US 5,770,710、US 5,773,001及US 5,877,296；Hinman, L. M.等人，Cancer Res. 53 (1993) 3336-3342；及Lode,H .N.等人，Cancer Res. 58 (1998) 2925-2928)；蒽環黴素(anthracycline)，諸如道諾黴素(daunomycin)或小紅莓(doxorubicin) (參見Kratz, F.等人，Curr. Med. Chem. 13 (2006) 477-523；Jeffrey, S. C.等人，Bioorg. Med. Chem. Lett. 16 (2006) 358-362；Torgov, M.Y.等人，Bioconjug. Chem. 16 (2005) 717-721；Nagy, A.等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97 (2000) 829-834；Dubowchik, G.M.等人，Bioorg. & Med. Chem. Letters 12 (2002) 1529-1532；King, H.D.等人，J. Med. Chem. 45 (2002) 4336-4343；及US 6,630,579)；甲胺喋呤(methotrexate)；長春地辛(vindesine)；紫杉烷(taxane)，諸如多西他賽(docetaxel)、太平洋紫杉醇、拉洛他賽(larotaxel)、替司他賽(tesetaxel)及奧他賽(ortataxel)；單端孢黴烯族毒素(trichothecene)；及CC1065。

在另一個實施例中，免疫結合物包含與酶促活性毒素或其片段結合的如本文所描述之抗體，該酶促活性毒素或其片段包括(但不限於)白喉A鏈(diphtheria A chain)、白喉毒素(diphtheria toxin)之非結合活性片段、外毒素A鏈(來自綠膿假單胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*))、蓖麻毒素A鏈(ricin A chain)、相思子毒素A鏈(abrin A chain)、莫迪素A鏈(modeccin A chain)、 α -帚麴菌素(alpha-sarcin)、油

桐(*Aleurites fordii*)蛋白、康乃馨(*dianthin*)蛋白、洋商陸(*Phytolaca americana*)蛋白(PAPI、PAPII及PAP-S)、苦瓜(*momordica charantia*)抑制劑、麻瘋樹毒蛋白(*curcin*)、巴豆毒素(*crotin*)、肥皂草(*sapaonaria officinalis*)抑制劑、白樹素(*gelonin*)、有絲分裂素(*mitogellin*)、侷限麴菌素(*restrictocin*)、酚黴素(*phenomycin*)、伊諾黴素(*enomycin*)及單端孢黴烯族毒素。

在另一個實施例中，免疫結合物包含與放射性原子結合以形成放射性結合物的如本文所描述之抗體。多種放射性同位素可供用於產生放射性結合物。實例包括 At^{211} 、 I^{131} 、 I^{125} 、 Y^{90} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Sm^{153} 、 Bi^{212} 、 P^{32} 、 Pb^{212} 及Lu之放射性同位素。當放射性結合物用於偵測時，其可包含用於閃爍攝影研究之放射性原子，例如 $\text{TC}^{99\text{m}}$ 或 I^{123} ；或用於核磁共振(NMR)成像(亦稱為磁共振成像，MRI)之自旋標記，又諸如碘-123、碘-131、銥-111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、釷、錳或鐵。

可使用多種雙功能蛋白質偶合劑製得抗體與細胞毒性劑之結合物，該等雙功能蛋白質偶合劑諸如N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)、丁二醯亞胺基-4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸酯(SMCC)、亞胺基硫雜環戊烷(IT)、醯亞胺酯之雙功能衍生物(諸如二亞胺代己二酸二甲酯HCl)、活性酯(諸如辛二酸二丁二醯亞胺酯)、醛(諸如戊二醛)、雙疊氮基化合物(諸如雙(對疊氮基苯甲醯基)己二胺)、雙重氮衍生物(諸如雙-(對重氮苯甲醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(諸如甲苯2,6-二異氰酸酯)及雙活性氟化合物(諸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。舉例而言，蓖麻毒素免疫毒素可如Vitetta, E.S.等人, *Science* 238 (1987) 1098-1104中所描述製備。碳-14標記之1-異硫氰酸根合苯甲基-3-甲基二伸乙三胺五乙酸(MX-DTPA)為用於使放射性核苷酸與抗體結合之例示性螯合劑。參見WO 94/11026。連接子可為促

進細胞毒性藥物在細胞中釋放之「可裂解連接子」。舉例而言，可使用酸不穩定連接子、肽酶敏感連接子、光不穩定連接子、二甲基連接子或含二硫鍵連接子(Chari, R.V.等人, *Cancer Res.* 52 (1992) 127-131; US 5,208,020)。

本文之免疫結合物或ADC明確涵蓋(但不限於)用包括(但不限於)以下之交聯試劑製備之此類結合物：BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、磺基-EMCS、磺基-GMBS、磺基-KMUS、磺基-MBS、磺基-SIAB、磺基-SMCC及磺基-SMPB及SVSB(丁二醯亞胺基-(4-乙烯基磺)苯甲酸酯)，該等交聯試劑為市售可得(例如，來自Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A)。

E. 用於診斷及偵測之方法及組合物

在某些實施例中，本文所提供之抗PDGF-B抗體中的任一者適用於偵測生物樣品中PDGF-B之存在。如本文所用之術語「偵測」涵蓋定量或定性偵測。

在一個實施例中，提供一種用於診斷或偵測方法之抗PDGF-B抗體。在另一態樣中，提供一種偵測生物樣品中PDGF-B之存在的方法。在某些實施例中，該方法包含使生物樣品與如本文所描述之抗PDGF-B抗體在允許該抗PDGF-B抗體結合於PDGF-B之條件下接觸，及偵測在該抗PDGF-B抗體與PDGF-B之間是否形成複合物。此類方法可為活體外或活體內方法。在一個實施例中，使用抗PDGF-B抗體來選擇適於用抗PDGF-B抗體治療之個體，例如其中PDGF-B為用於患者選擇之生物標記。

在某些實施例中，提供經標記之抗PDGF-B抗體。標記包括(但不限於)直接偵測之標記或部分(諸如螢光、發色、電子緻密、化學發光及放射性標記)，以及例如經由酶促反應或分子相互作用間接偵測之

部分(諸如酶或配位體)。例示性標記包括(但不限於)放射性同位素³²P、¹⁴C、¹²⁵I、³H及¹³¹I；螢光團，諸如稀土螯合物或螢光素及其衍生物、若丹明(rhodamine)及其衍生物、丹醯、傘酮；螢光素酶，例如螢火蟲螢光素酶及細菌螢光素酶(US 4,737,456)；螢光素；2,3-二氫酞嗪二酮；辣根過氧化酶(HRP)；鹼性磷酸酶；β-半乳糖苷酶；葡糖澱粉酶；溶菌酶；醣氧化酶，例如葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶及葡萄糖-6-磷酸酯去氫酶；雜環氧化酶，諸如尿酸酶及黃嘌呤氧化酶，其與採用過氧化氫氧化染料前驅體之酶(諸如HRP、乳過氧化酶或微過氧化酶)偶合；生物素/抗生物素蛋白；自旋標記；噬菌體標記；穩定自由基及其類似標記。

F. 醫藥調配物

如本文所描述之抗PDGF-B抗體的醫藥調配物係藉由將具有所需純度之此類抗體與一或多種視情況選用的醫藥學上可接受之載劑混合(Remington's Pharmaceutical Sciences, 第16版, Osol, A. (編) (1980))，以凍乾調配物或水溶液形式來製備。醫藥學上可接受之載劑在所採用之劑量及濃度下一般對接受者無毒，且包括(但不限於)：緩衝劑，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(諸如十八烷基二甲基苯甲基氯化銨；氯化六羥季銨；氯化苯甲烴銨；苄索氯銨；苯酚、丁醇或苯甲醇；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；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(小於約10個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚(乙烯吡咯啉酮)；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、雙糖及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如EDTA；糖類，諸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇；成鹽相對離子，諸如鈉；金屬錯合物(例如Zn-蛋

白質錯合物)；及/或非離子型界面活性劑，諸如聚乙二醇(PEG)。本文之例示性醫藥學上可接受之載劑進一步包括間質性藥物分散劑，諸如可溶性中性活性玻尿酸酶醣蛋白(sHASEGP)，例如人類可溶性PH-20玻尿酸酶醣蛋白，諸如rhuPH20 (HYLENEX[®]，Baxter International, Inc.)。某些例示性sHASEGP (包括rhuPH20)及使用方法描述於US 2005/0260186及US 2006/0104968中。在一個態樣中，sHASEGP與一種或多種額外葡萄糖胺聚糖酶(諸如軟骨素酶)組合。

例示性凍乾抗體調配物描述於US 6,267,958中。抗體調配物水溶液包括US 6,171,586及WO 2006/044908中所描述之彼等抗體調配物水溶液，WO 2006/044908中所描述之調配物包括組胺酸-乙酸鹽緩衝液。

本文之調配物亦可含有一種以上為所治療之特定適應症所必需之活性成分，較佳為具有不會對彼此產生不利影響之互補活性的彼等活性成分。舉例而言，可能需要進一步提供抗ANG2抗體或抗VEGF抗體。此類活性成分宜以對預期目的有效之量存在於組合中。

可將活性成分包覆於例如藉由凝聚技術或藉由界面聚合所製備之微膠囊中，例如分別在膠狀藥物遞送系統(例如脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米粒子及奈米囊劑)中或於巨乳液中之羥甲基纖維素或明膠微膠囊及聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊。此類技術揭示於Remington's Pharmaceutical Sciences, 第16版, Osol, A. (編) (1980)中。

可製備持續釋放型製劑。持續釋放型製劑之適合實例包括含有抗體之固體疏水性聚合物之半滲透基質，該等基質呈成形物品形式，例如膜或微膠囊。

用於活體內投與之調配物一般為無菌的。無菌性可容易地藉由例如經由無菌過濾膜過濾來實現。

G. 治療方法及組合物

本文所提供之抗PDGF-B抗體中的任一者可用於治療方法中。

在一個態樣中，提供一種用作藥劑之抗PDGF-B抗體。在其他態樣中，提供一種用於治療眼部血管疾病、較佳黃斑退化之抗PDGF-B抗體。在某些實施例中，提供一種用於治療方法中之抗PDGF-B抗體。在某些實施例中，本發明提供一種用於治療患有眼部血管疾病(較佳黃斑退化)之個體的方法中之抗PDGF-B抗體，該方法包含向該個體投與有效量之該抗PDGF-B抗體。在一個此類實施例中，該方法進一步包含向個體投與有效量的至少一種例如如下文所描述之額外治療劑。在其他實施例中，本發明提供一種用於抑制血管生成之抗PDGF-B抗體。在某些實施例中，本發明提供一種用於抑制個體中血管生成之方法中的抗PDGF-B抗體，該方法包含向該個體投與有效之該抗PDGF-B抗體以抑制血管生成。根據以上實施例中之任一者的「個體」較佳為人類。

在另一態樣中，本發明提供抗PDGF-B抗體在製造或製備藥劑中之用途。在一個實施例中，該藥劑用於治療眼部血管疾病，較佳黃斑退化。在另一個實施例中，該藥劑用於治療眼部血管疾病(較佳黃斑退化)之方法中，該方法包含向患有眼部血管疾病(較佳黃斑退化)之個體投與有效量之藥劑。在一個此類實施例中，該方法進一步包含向個體投與有效量的至少一種例如如下文所描述之額外治療劑。在另一個實施例中，該藥劑用於抑制血管生成。在另一個實施例中，該藥劑用於抑制個體中血管生成之方法中，該方法包含向個體投與有效抑制血管生成之量的藥劑。根據以上實施例中之任一者的「個體」可為人類。

在另一態樣中，本發明提供一種治療治療眼部血管疾病(較佳黃斑退化)之方法。在一個實施例中，該方法包含向患有此類眼部血管

疾病(較佳黃斑退化)之個體投與有效量之抗PDGF-B抗體。在一個此類實施例中，該方法進一步包含向個體投與有效量的至少一種如下文所描述之額外治療劑。根據以上實施例中之任一者的「個體」可為人類。

在另一態樣中，本發明提供一種抑制個體中血管生成之方法。在一個實施例中，該方法包含向個體投與有效量之抗PDGF-B抗體以抑制血管生成。在一個實施例中，「個體」為人類。

在另一態樣中，本發明提供包含本文所提供之抗PDGF-B抗體中之任一者的醫藥調配物，其例如用於上述治療方法中之任一者中。在一個實施例中，醫藥調配物包含本文所提供之抗PDGF-B抗體中的任一者及醫藥學上可接受之載劑。在另一個實施例中，醫藥調配物包含本文所提供之抗PDGF-B抗體中的任一者及至少一種例如如下文所描述之額外治療劑。

本發明之抗體可單獨或與其他藥劑組合用於療法中。舉例而言，本發明之抗體可與至少一種額外治療劑共投與。在某些實施例中，額外治療劑為抗VEGF抗體或抗ANG2抗體。

上文所提及之此類組合療法涵蓋組合投與(其中兩種或兩種以上治療劑包括在同一或單獨調配物中)及單獨投與，在此情況下，本發明抗體之投與可在投與額外治療劑之前、同時及/或之後進行。在一個實施例中，抗PDGF-B抗體之投與及額外治療劑之投與彼此在約一個月內；或在約一週、兩週或三週內；或在約一天、兩天、三天、四天、五天或六天內進行。

本發明之抗體(及任何額外治療劑)可藉由任何適合之手段投與，包括非經腸、肺內及鼻內投與，且必要時對於局部治療，包括病灶內投與。非經腸輸注包括肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內或皮下投與。部分地視投藥之短期或長期性而定，可藉由任何適合之途徑(例

如藉由注射，諸如靜脈內或皮下注射)給藥。本文涵蓋各種給藥時程，包括(但不限於)單次投藥或經各個時間點多次投藥、快速投藥及脈衝式輸注。

本發明之抗體將以與良好醫療實踐一致之方式調配、給藥及投與。在此情形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、病症起因、藥劑遞送位點、投藥方法、投藥時程及醫學從業者已知之其他因素。抗體無需但視情況與一或多種當前用於預防或治療所述病症之藥劑一起調配。此類其他藥劑之有效量視存在於調配物中之抗體的量、病症或治療之類型及上文所論述之其他因素而定。此等藥劑一般以與本文所描述相同之劑量且用如本文所描述之投藥途徑使用，或以本文所描述之劑量的約1%至99%使用，或以憑經驗/臨床上確定為適當之任何劑量及任何途徑使用。

為預防或治療疾病，本發明抗體之適當劑量(當單獨或與一或多種其他額外治療劑組合使用時)將視待治療疾病之類型、抗體類型、疾病之嚴重程度及病程、是出於預防還是出於治療目的投與抗體、先前療法、患者之臨床病史及對抗體之反應及主治醫師之判斷而定。一次性或歷經一系列治療適合地向患者投與該抗體。無論例如藉由一或多次單獨投與或藉由連續輸注，視疾病類型及嚴重程度而定，向患者投與之抗體的初始候選劑量可為約1 $\mu\text{g/kg}$ 至15 mg/kg (例如0.5 mg/kg 至10 mg/kg)。視上文所提及之因素而定，一種典型日劑量可在約1 $\mu\text{g/kg}$ 至100 mg/kg 或100 mg/kg 以上之範圍內。對於歷經數日或更長時間之重複投與，視病狀而定，治療一般將持續至疾病症狀之所需抑制發生為止。抗體之一種例示性劑量將在約0.05 mg/kg 至約10 mg/kg 範圍內。因此，可向患者投與約0.5 mg/kg 、2.0 mg/kg 、4.0 mg/kg 或10 mg/kg (或其任何組合)之一或多種劑量。此類劑量可間歇地投與，例如每週或每三週(例如以使得患者接受約二至約二十或例如約六個劑

量的抗體)。初始可投與較高起始劑量，繼而可投與一或多個較低劑量。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分析來監測。

應理解，代替或除抗PDGF-B抗體之外，可使用本發明之免疫結合物進行上述調配或治療方法中之任一者。

III. 製品

在本發明之另一態樣中，提供一種含有適用於治療、預防及/或診斷上文所描述之病症之材料的製品。製品包含容器及容器上或容器隨附之標籤或藥品說明書。適合之容器包括例如瓶子、小瓶、注射器、IV溶液袋等。容器可由多種材料(諸如玻璃或塑膠)形成。容器容納單獨或與有效治療、預防及/或診斷病狀之另一種組合物組合的組合物，且可具有無菌接取口(例如容器可為具有可由皮下注射針刺穿之塞子的靜脈內溶液袋或小瓶)。組合物中之至少一種活性劑為本發明之抗體。標籤或藥品說明書指示組合物用於治療所選病狀。此外，製品可包含(a)其中含有組合物之第一容器，其中該組合物包含本發明之抗體；及(b)其中含有組合物之第二容器，其中該組合物包含另一種細胞毒性劑或其他治療劑。本發明之此實施例中的製品可進一步包含指示組合物可用於治療特定病狀之藥品說明書。或者或另外，該製品可進一步包含第二(或第三)容器，其包含醫藥學上可接受之緩衝液，諸如注射用抑菌水(BWFI)、磷酸鹽緩衝鹽水、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材料，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

應理解，代替或除抗PDGF-B抗體之外，上述製品中之任一者可包括本發明之免疫結合物。

IV. 具體實施例

1. 一種特異性結合於人類PDGF-B之抗體，其中該抗體為鼠類抗體之人類化變異體，該鼠類抗體包含SEQ ID NO:01之重鏈可變域及SEQ ID NO:06之輕鏈可變域。

2. 一種特異性結合於人類PDGF-B之人類化抗體，其中該人類化抗體包含(a)包含SEQ ID NO:02之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:03之胺基酸序列的HVR-H2及(c)包含SEQ ID NO:05之胺基酸序列的HVR-H3。

3. 一種特異性結合於人類PDGF-B之人類化抗體，其中該人類化抗體包含(a)包含SEQ ID NO:02之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:04之胺基酸序列的HVR-H2及(c)包含SEQ ID NO:05之胺基酸序列的HVR-H3。

4. 如實施例2至3中任一項之人類化抗體，其中該人類化抗體包含(a)包含SEQ ID NO:07之胺基酸序列的HVR-L1；(b)包含SEQ ID NO:08之胺基酸序列的HVR-L2；及(c)包含SEQ ID NO:09之胺基酸序列的HVR-L3。

5. 一種特異性結合於人類PDGF-B之抗體，其包含(a)包含SEQ ID NO:93之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:94之胺基酸序列的HVR-H2及(c)包含SEQ ID NO:96之胺基酸序列的HVR-H3。

6. 一種特異性結合於人類PDGF-B之抗體，其包含(a)包含SEQ ID NO:93之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:95之胺基酸序列的HVR-H2及(c)包含SEQ ID NO:96之胺基酸序列的HVR-H3。

7. 如實施例5至6中任一項之抗體，其中該抗體進一步包含(a)包含SEQ ID NO:98之胺基酸序列的HVR-L1、(b)包含SEQ ID NO:99之胺基酸序列的HVR-L2及(c)包含SEQ ID NO:100之胺基酸序列的HVR-L3。

8. 一種特異性結合於人類PDGF-B之抗體，其包含(a)包含SEQ

ID NO:102之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:103之胺基酸序列的HVR-H2及(c)包含SEQ ID NO:105之胺基酸序列的HVR-H3。

9. 一種特異性結合於人類PDGF-B之抗體，其包含(a)包含SEQ ID NO:102之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:104之胺基酸序列的HVR-H2及(c)包含SEQ ID NO:105之胺基酸序列的HVR-H3。

10. 如實施例8至9中任一項之抗體，其中該抗體進一步包含(a)包含SEQ ID NO:107之胺基酸序列的HVR-L1、(b)包含SEQ ID NO:108之胺基酸序列的HVR-L2及(c)包含SEQ ID NO:109之胺基酸序列的HVR-L3。

11. 一種與如實施例1至4中任一項之抗體特異性結合於相同抗原決定基的抗體、或一種與如實施例5至7中任一項之抗體特異性結合於相同抗原決定基的抗體、或一種與如實施例8至10中任一項之抗體特異性結合於相同抗原決定基的抗體。

12. 如實施例1至11中任一項之抗體，其中該抗體為人類子類IgG1或人類子類IgG4。

13. 如實施例1至12中任一項之抗體，其中該抗體為具有 κ 輕鏈之人類子類IgG1。

14. 如實施例1至13中任一項之抗體，其中該抗體為單株抗體。

15. 一種包含SEQ ID NO:92之重鏈可變域胺基酸序列及SEQ ID NO:97之輕鏈可變域胺基酸序列的抗體、或一種包含SEQ ID NO:101之重鏈可變域胺基酸序列及SEQ ID NO:106之輕鏈可變域胺基酸序列的抗體。

16. 如實施例1至15中任一項之抗體，其中該抗體為雙特異性抗體。

17. 如實施例1至16中任一項之抗體，其中該抗體特異性結合於人類PDGF-B但不結合於人類PDGF-C。

18. 如實施例1至4中任一項之抗體，其中該抗體特異性結合於人類PDGF-BB、人類PDGF-AB及人類PDGF-AA。

19. 如實施例1至17中任一項之抗體，其中該抗體藉由抑制人類PDGF-B與其受體之結合來阻斷人類PDGF-B之生物活性。

20. 如實施例1至19中任一項之抗體，其中該抗體為二價雙特異性抗體，其包含

- a) 特異性結合於第一抗原之抗體之第一輕鏈及第一重鏈，及
- b) 特異性結合於第二抗原之抗體之第二輕鏈及第二重鏈，其中該第二輕鏈及該第二重鏈之可變域VL及VH經彼此置換，

其中該第一抗原或該第二抗原為人類PDGF-B。

21. 如實施例20之抗體，其中該抗體包含

- i) 在a)項之第一輕鏈的恆定域CL中，位置124處之胺基酸經離胺酸(K)、精胺酸(R)或組胺酸(H)獨立地取代(根據Kabat編號)(在一個較佳實施例中，經離胺酸(K)或精胺酸(R)獨立地取代)，且其中在a)項之第一重鏈的恆定域CH1中，位置147處之胺基酸或位置213處之胺基酸經麩胺酸(E)或天冬胺酸(D)獨立地取代(根據Kabat EU索引編號)，

或

- ii) 在b)項之第二輕鏈的恆定域CL中，位置124處之胺基酸經離胺酸(K)、精胺酸(R)或組胺酸(H)獨立地取代(根據Kabat編號)(在一個較佳實施例中，經離胺酸(K)或精胺酸(R)獨立地取代)，且其中在b)項之第二重鏈的恆定域CH1中，位置147處之胺基酸或位置213處之胺基酸經麩胺酸(E)或天冬胺酸(D)獨立地取代(根據Kabat EU索引編號)。

22. 如實施例20至21中任一項之抗體，其中該抗體包含在第二重鏈之恆定域CL中位置124及123處經K取代之胺基酸(根據Kabat EU索引編號)。

23. 如實施例20至22中任一項之抗體，其中該抗體包含在第二輕

鏈之恆定域CH1中位置147及213處經E取代之胺基酸(根據Kabat EU索引編號)。

24. 如實施例20至23中任一項之抗體，其中該抗體包含在第一輕鏈之恆定域CL中位置124及123處經K取代之胺基酸，且在第一重鏈之恆定域CH1中，位置147及213處之胺基酸經E取代(根據Kabat EU索引編號)。

25. 如實施例20至24中任一項之抗體，其中該抗體包含在第二重鏈之恆定域CL中位置124及123處經K取代之胺基酸，且其中在第二輕鏈之恆定域CH1中，位置147及213處之胺基酸經E取代，且在第一輕鏈之可變域VL中，位置38處之胺基酸經K取代，在第一重鏈之可變域VH中，位置39處之胺基酸經E取代，在第二重鏈之可變域VL中，位置38處之胺基酸經K取代，且在第二輕鏈之可變域VH中，位置39處之胺基酸經E取代(根據Kabat EU索引編號)。

26. 如實施例1至19中任一項之抗體，其中該抗體為二價雙特異性抗體，其包含

- a) 特異性結合於第一抗原之抗體之第一輕鏈及第一重鏈，及
- b) 特異性結合於第二抗原之抗體之第二輕鏈及第二重鏈，其中該第二輕鏈及該第二重鏈之可變域VL及VH經彼此置換，且其中該第二輕鏈及該第二重鏈之恆定域CL及CH1經彼此置換，

其中該第一抗原或該第二抗原為人類PDGF-B。

27. 如實施例1至19中任一項之抗體，其中該抗體為二價雙特異性抗體，其包含

- a) 特異性結合於第一抗原之抗體之第一輕鏈及第一重鏈，及
- b) 特異性結合於第二抗原之抗體之第二輕鏈及第二重鏈，其中該第二輕鏈及該第二重鏈之恆定域CL及CH1經彼此置換，

其中該第一抗原或該第二抗原為人類PDGF-B。

28. 如實施例1至19中任一項之抗體，其中該抗體為多特異性抗體，其包含

a) 全長抗體，其特異性結合於第一抗原且由兩個抗體重鏈及兩個抗體輕鏈組成，及

b) 一個、兩個、三個或四個單鏈Fab片段，其特異性結合於一個至四個其他抗原(亦即第二及/或第三及/或第四及/或第五抗原，較佳特異性結合於另一個抗原，亦即第二抗原)，

其中b)項之該等單鏈Fab片段與a)項之該全長抗體在該全長抗體之該重鏈或輕鏈的C端或N端經由肽連接子融合，

其中該第一抗原或該等其他抗原中之一者為人類PDGF-B。

29. 如實施例1至19中任一項之抗體，其中該抗體為三價雙特異性抗體，其包含

a) 全長抗體，其特異性結合於第一抗原且由兩個抗體重鏈及兩個抗體輕鏈組成，

b) 第一多肽，其由以下各者組成：

ba) 抗體重鏈可變域(VH)，

或

bb) 抗體重鏈可變域(VH)及抗體恆定域1 (CH1)，

其中該第一多肽以其VH域之N端經由肽連接子與該全長抗體之該兩個重鏈中之一者的C端融合，

c) 第二多肽，其由以下各者組成：

ca) 抗體輕鏈可變域(VL)，

或

cb) 抗體輕鏈可變域(VL)及抗體輕鏈恆定域(CL)，

其中該第二多肽以VL域之N端經由肽連接子與該全長抗體之該兩個重鏈中之另一者的C端融合，

且

其中該第一多肽之該抗體重鏈可變域(VH)與該第二多肽之該抗體輕鏈可變域(VL)一起形成特異性結合於第二抗原之抗原結合位點，

且

其中該第一抗原或該第二抗原為人類PDGF-B。

30. 如實施例29之抗體，其中將b)項之多肽的抗體重鏈可變域(VH)與c)項之多肽的抗體輕鏈可變域(VL)連接且藉由在以下位置之間引入二硫鍵經由鏈間二硫橋鍵來穩定：

- i) 重鏈可變域位置44至輕鏈可變域位置100，或
- ii) 重鏈可變域位置105至輕鏈可變域位置43，或
- iii) 重鏈可變域位置101至輕鏈可變域位置100 (始終根據Kabat EU索引編號)。

31. 如實施例1至19中任一項之抗體，其中該抗體為三特異性或四特異性抗體，其包含

- a) 特異性結合於第一抗原之全長抗體之第一輕鏈及第一重鏈，及
- b) 特異性結合於第二抗原之全長抗體之第二(修飾)輕鏈及第二(修飾)重鏈，其中可變域VL及VH經彼此置換，及/或其中恆定域CL及CH1經彼此置換，及
- c) 其中特異性結合於一個或兩個其他抗原(亦即，第三及/或第四抗原)之一個至四個抗原結合肽經由肽連接子與a)及/或b)之輕鏈或重鏈的C端或N端融合，

其中該第一抗原或該第二抗原或該等其他抗原中之一者為人類PDGF-B。

32. 如實施例1至19中任一項之抗體，其中該抗體為雙特異性四價抗體，其包含

a) 特異性結合於第一抗原(且包含兩個Fab片段)之抗體之兩個輕鏈及兩個重鏈，

b) 特異性結合於第二抗原之抗體之兩個額外Fab片段，其中該等額外Fab片段均經由肽連接子與a)之重鏈的C端或N端融合，

且

其中在該等Fab片段中進行以下修飾

i) 在a)之兩個Fab片段中或在b)之兩個Fab片段中，可變域VL及VH經彼此置換，及/或恆定域CL及CH1經彼此置換，

或

ii) 在a)之兩個Fab片段中，可變域VL及VH經彼此置換，且恆定域CL及CH1經彼此置換，

且

在b)之兩個Fab片段中，可變域VL及VH經彼此置換，或恆定域CL及CH1經彼此置換，

或

iii) 在a)之兩個Fab片段中，可變域VL及VH經彼此置換，或恆定域CL及CH1經彼此置換，

且

在b)之兩個Fab片段中，可變域VL及VH經彼此置換，且恆定域CL及CH1經彼此置換，

或

iv) 在a)之兩個Fab片段中，可變域VL及VH經彼此置換，且在b)之兩個Fab片段中，恆定域CL及CH1經彼此置換，

或

v) 在a)之兩個Fab片段中，恆定域CL及CH1經彼此置換，且在b)之兩個Fab片段中，可變域VL及VH經彼此置換，

其中該第一抗原或該第二抗原為人類PDGF-B。

33. 如實施例1至19中任一項之抗體，其中該抗體為雙特異性四價抗體，其包含：

a) 特異性結合於第一抗原且包含第一VH-CH1域對之第一抗體之(修飾)重鏈，其中該第一抗體之第二VH-CH1域對的N端經由肽連接子與該重鏈之C端融合，

b) a)之該第一抗體的兩個輕鏈，

c) 特異性結合於第二抗原且包含第一VH-CL域對之第二抗體之(修飾)重鏈，其中該第二抗體之第二VH-CL域對的N端經由肽連接子與該重鏈之C端融合，及

d) c)之該第二抗體的兩個(修飾)輕鏈，其各自包含CL-CH1域對，

其中該第一抗原或該第二抗原為人類PDGF-B。

34. 如實施例1至19中任一項之抗體，其中該抗體為雙特異性抗體，其包含

a) 特異性結合於第一抗原之第一全長抗體之重鏈及輕鏈，及

b) 特異性結合於第二抗原之第二全長抗體之重鏈及輕鏈，其中該重鏈之N端經由肽連接子與該輕鏈之C端連接，

其中該第一抗原或該第二抗原為人類PDGF-B。

35. 如實施例1至19中任一項之抗體，其中該抗體為雙特異性抗體，其包含

a) 全長抗體，其特異性結合於第一抗原且由兩個抗體重鏈及兩個抗體輕鏈組成，及

b) Fv片段，其特異性結合於包含VH²域及VL²域之第二抗原，其中兩個域均經由二硫橋鍵彼此連接，

其中僅該VH²域或該VL²域經由肽連接子與特異性結合於第一抗

原之該全長抗體之該重鏈或輕鏈融合，

其中該第一抗原或該第二抗原為人類PDGF-B。

36. 如實施例1至35中任一項之抗體，其中該抗體包含第一Fc區多肽及第二Fc區多肽，且

其中

i) 該第一Fc區多肽選自包含以下各者之群

- 人類IgG1 Fc區多肽，
- 人類IgG2 Fc區多肽，
- 人類IgG3 Fc區多肽，
- 人類IgG4 Fc區多肽，
- 具有突變L234A、L235A之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變Y349C、T366S、L368A、Y407V之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變S354C、T366S、L368A、Y407V之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變L234A、L235A、Y349C、T366S、L368A、Y407V之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變L234A、L235A、S354C、T366S、L368A、Y407V之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變P329G之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變L234A、L235A、P329G之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變P329G、Y349C、T366S、L368A、Y407V之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變P329G、S354C、T366S、L368A、Y407V之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變L234A、L235A、P329G、Y349C、T366S、L368A、

Y407V之人類IgG1 Fc區多肽，

- 具有突變L234A、L235A、P329G、S354C、T366S、L368A、

Y407V之人類IgG1 Fc區多肽，

- 具有突變S228P、L235E之人類IgG4 Fc區多肽，
- 具有突變S228P、L235E、P329G之人類IgG4 Fc區多肽，
- 具有突變Y349C、T366S、L368A、Y407V之人類IgG4 Fc區多

肽，

- 具有突變S354C、T366S、L368A、Y407V之人類IgG4 Fc區多

肽，

- 具有突變S228P、L235E、Y349C、T366S、L368A、Y407V之

人類IgG4 Fc區多肽，

- 具有突變S228P、L235E、S354C、T366S、L368A、Y407V之

人類IgG4 Fc區多肽，

- 具有突變P329G之人類IgG4 Fc區多肽，
- 具有突變P329G、Y349C、T366S、L368A、Y407V之人類IgG4

Fc區多肽，

- 具有突變P329G、S354C、T366S、L368A、Y407V之人類IgG4

Fc區多肽，

- 具有突變S228P、L235E、P329G、Y349C、T366S、L368A、

Y407V之人類IgG4 Fc區多肽，

- 具有突變S228P、L235E、P329G、S354C、T366S、L368A、

Y407V之人類IgG4 Fc區多肽，

- 具有突變K392D之人類IgG1、IgG2或IgG4，及
- 具有突變N392D之人類IgG3，

且

ii) 該第二Fc區多肽選自包含以下各者之群

- 人類IgG1 Fc區多肽，
- 人類IgG2 Fc區多肽，
- 人類IgG3 Fc區多肽，
- 人類IgG4 Fc區多肽，
- 具有突變L234A、L235A之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變S354C、T366W之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變Y349C、T366W之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變L234A、L235A、S354C、T366W之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變L234A、L235A、Y349C、T366W之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變P329G之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變L234A、L235A、P329G之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變P329G、S354C、T366W之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變P329G、Y349C、T366W之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變L234A、L235A、P329G、S354C、T366W之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變L234A、L235A、P329G、Y349C、T366W之人類IgG1 Fc區多肽，
- 具有突變S228P、L235E之人類IgG4 Fc區多肽，
- 具有突變S228P、L235E、P329G之人類IgG4 Fc區多肽，
- 具有突變S354C、T366W之人類IgG4 Fc區多肽，
- 具有突變Y349C、T366W之人類IgG4 Fc區多肽，
- 具有突變S228P、L235E、S354C、T366W之人類IgG4 Fc區多肽，
- 具有突變S228P、L235E、Y349C、T366W之人類IgG4 Fc區多肽，

肽，

- 具有突變P329G之人類IgG4 Fc區多肽，
- 具有突變P329G、S354C、T366W之人類IgG4 Fc區多肽，
- 具有突變P329G、Y349C、T366W之人類IgG4 Fc區多肽，
- 具有突變S228P、L235E、P329G、S354C、T366W之人類IgG4 Fc區多肽，
- 具有突變S228P、L235E、P329G、Y349C、T366W之人類IgG4 Fc區多肽，
- 具有突變D399K、D356K及/或E357K之人類IgG1，及
- 具有突變D399K、E356K及/或E357K之人類IgG2、IgG3或IgG4。

37. 如實施例1至35中任一項之抗體，其中該抗體包含第一Fc區多肽及第二Fc區多肽，且

其中

- i) 該第一Fc區多肽為人類IgG1 Fc區多肽且該第二Fc區多肽為人類IgG1 Fc區多肽，或
- ii) 該第一Fc區多肽為具有突變L234A、L235A之人類IgG1 Fc區多肽且該第二Fc區多肽為具有突變L234A、L235A之人類IgG1 Fc區多肽，或
- iii) 該第一Fc區多肽為具有突變L234A、L235A、P329G之人類IgG1 Fc區多肽且該第二Fc區多肽為具有突變L234A、L235A、P329G之人類IgG1 Fc區多肽，或
- iv) 該第一Fc區多肽為具有突變L234A、L235A、S354C、T366W之人類IgG1 Fc區多肽且該第二Fc區多肽為具有突變L234A、L235A、Y349C、T366S、L368A、Y407V之人類IgG1 Fc區多肽，或
- v) 該第一Fc區多肽為具有突變L234A、L235A、P329G、

S354C、T366W之人類IgG1 Fc區多肽且該第二Fc區多肽為具有突變L234A、L235A、P329G、Y349C、T366S、L368A、Y407V之人類IgG1 Fc區多肽，或

vi) 該第一Fc區多肽為人類IgG4 Fc區多肽且該第二Fc區多肽為人類IgG4 Fc區多肽，或

vii) 該第一Fc區多肽為具有突變S228P、L235E之人類IgG4 Fc區多肽且該第二Fc區多肽為具有突變S228P、L235E之人類IgG4 Fc區多肽，或

viii) 該第一Fc區多肽為具有突變S228P、L235E、P329G之人類IgG4 Fc區多肽且該第二Fc區多肽為具有突變S228P、L235E、P329G之人類IgG4 Fc區多肽，或

ix) 該第一Fc區多肽為具有突變S228P、L235E、S354C、T366W之人類IgG4 Fc區多肽且該第二Fc區多肽為具有突變S228P、L235E、Y349C、T366S、L368A、Y407V之人類IgG4 Fc區多肽，或

x) 該第一Fc區多肽為具有突變S228P、L235E、P329G、S354C、T366W之人類IgG4 Fc區多肽且該第二Fc區多肽為具有突變S228P、L235E、P329G、Y349C、T366S、L368A、Y407V之人類IgG4 Fc區多肽。

38. 如實施例1至37中任一項之抗體，其中該抗體包含第一Fc區多肽及第二Fc區多肽，且

其中該抗體包含以下突變之組合

- i) I253A、H310A及H435A，或
- ii) H310A、H433A及Y436A，或
- iii) L251D、L314D及L432D，或
- iv) i)至iii)之組合

在該第一Fc區多肽及該第二Fc區多肽中。

39. 如實施例1至37中任一項之抗體，其中該抗體包含第一Fc區多肽及第二Fc區多肽，且其中

a) 該第一及第二Fc區多肽均為人類IgG1或人類IgG4子類(來源於人源)，且在該第一Fc區多肽中包含選自i)組I253A、H310A及H435A或ii)組H310A、H433A及Y436A或iii)組L251D、L314D及L432D(根據Kabat EU索引編號系統編號)之一個或兩個突變，且在該第二Fc區多肽中包含選自包含突變L251D、I253A、H310A、L314D、L432D、H433A、H435A及Y436A(根據Kabat EU索引編號系統編號)之群的一個或兩個突變，以使得該第一及該第二Fc區多肽中之所有突變在綜合在一起時導致突變i) I253A、H310A及H435A或ii) H310A、H433A及Y436A或iii) L251D、L314D及L432D包含於變異體(人類)IgG類別Fc區中，

或

b) 該第一及第二Fc區多肽均為人類IgG1或人類IgG4子類(亦即來源於人源)，且均在Fc區中包含突變I253A/H310A/H435A或H310A/H433A/Y436A或L251D/L314D/L432D或其組合(根據Kabat EU索引編號系統編號)，其中所有突變在該第一或該第二Fc區多肽中，或一個或兩個突變在該第一Fc區多肽中且一個或兩個突變在該第二Fc區多肽中，以使得該第一及該第二Fc區多肽中之所有突變在綜合在一起時導致突變i) I253A、H310A及H435A或ii) H310A、H433A及Y436A或iii) L251D、L314D及L432D包含於Fc區中，

或

c) 該第一及第二Fc區多肽均為人類IgG1或人類IgG4子類(亦即來源於人源)，且在該第一以及該第二Fc區多肽中包含突變I253A/H310A/H435A 或 H310A/H433A/Y436A 或 L251D/L314D/L432D(根據Kabat EU索引編號系統編號)，或在該第一

Fc區多肽中包含突變I253A/H310A/H435A之組合且在該第二Fc區多肽中包含突變H310A/H433A/Y436A之組合(根據Kabat EU索引編號系統編號)。

40. 如實施例1至37中任一項之抗體，其中該抗體包含第一Fc區多肽及第二Fc區多肽，且其中

a) 第一變異體Fc區多肽來源於第一親本IgG類別Fc區多肽且第二變異體Fc區多肽來源於第二親本IgG類別Fc區多肽，其中該第一親本IgG類別Fc區多肽與該第二親本IgG類別Fc區多肽相同或不同，且

b) 除該第一親本IgG類別Fc區多肽與該第二親本IgG類別Fc區多肽不同之彼等胺基酸殘基之外，該第一變異體Fc區多肽與該第二變異體Fc區多肽在一或多個胺基酸殘基處不同，且

c) 包含該第一變異體Fc區多肽及該第二變異體Fc區多肽之IgG類別Fc區對人類Fc受體的親和力不同於包含a)之第一親本IgG類別Fc區多肽及a)之第二親本IgG類別Fc區多肽的IgG類別Fc區對人類Fc受體的親和力，

其中該第一Fc區多肽或該第二Fc區多肽或兩個Fc區多肽彼此獨立地包含以下突變或突變組合中之一者：

- T307H，或
- Q311H，或
- E430H，或
- N434H，或
- T307H及Q311H，或
- T307H及E430H，或
- T307H及N434A，或
- T307H及N434H，或
- T307Q及Q311H，或

- T307Q及E430H，或
- T307Q及N434H，或
- T307H及Q311H及E430H及N434A，或
- T307H及Q311H及E430H及N434H，或
- T307H及Q311H及E430H及N434Y，或
- T307Q及Q311H及E430H及N434A，或
- T307Q及Q311H及E430H及N434H，或
- T307Q及Q311H及E430H及N434Y，或
- T307Q及V308P及N434Y及Y436H，或
- T307H及M252Y及S254T及T256E，或
- T307Q及M252Y及S254T及T256E，或
- Q311H及M252Y及S254T及T256E，或
- E430H及M252Y及S254T及T256E，或
- N434H及M252Y及S254T及T256E，或
- T307H及Q311H及M252Y及S254T及T256E，或
- T307H及E430H及M252Y及S254T及T256E，或
- T307H及N434A及M252Y及S254T及T256E，或
- T307H及N434H及M252Y及S254T及T256E，或
- T307Q及Q311H及M252Y及S254T及T256E，或
- T307Q及E430H及M252Y及S254T及T256E，或
- T307Q及N434H及M252Y及S254T及T256E，或
- T307H及Q311H及E430H及N434A及M252Y及S254T及T256E，或
- T307H及Q311H及E430H及N434H及M252Y及S254T及T256E，或
- T307H及Q311H及E430H及N434Y及M252Y及S254T及T256E，或
- T307Q及Q311H及E430H及N434A及M252Y及S254T及T256E，或
- T307Q及Q311H及E430H及N434H及M252Y及S254T及T256E，或

- T307Q及Q311H及E430H及N434Y及M252Y及S254T及T256E，或
- T307Q及V308P及N434Y及Y436H及M252Y及S254T及T256E。

41. 如實施例1至37中任一項之抗體，其中該抗體包含第一Fc區多肽及第二Fc區多肽，

且其中該第一Fc區多肽包含突變Y349C、T366S、L368A及Y407V (扣鏈)且該第二Fc區多肽包含突變S354C及T366W (鈕鏈)，

且其中該第一Fc區多肽(扣鏈)包含以下突變

- i) I253A或I253G，及
- ii) L314A或L314G或L314D，

且其中該第一Fc區多肽與該第二Fc區多肽藉由一或多個二硫橋鍵連接，

且其中第一多肽之CH3域及第二多肽之CH3域均結合或均不結合於蛋白A

(根據Kabat EU索引編號)。

42. 如實施例41之抗體，其中該抗體包含以下突變

- i) I253A或I253G，及
- ii) L314A或L314G或L314D，及
- iii) T250Q，及/或
- iv) T256E或T256A。

43. 如實施例41至42中任一項之抗體，其中該抗體包含以下突變

- i) I253A或I253G，及
- ii) L314A或L314G或L314D，及
- iii) 視情況a) T250Q及/或T256E或T256A，及
- iv) a) L251A或L251G或L251D，及/或b) H310A或H310G。

44. 如實施例41至43中任一項之抗體，其中該抗體包含以下突變

- i) I253A或I253G，及

- ii) L314A或L314G或L314D，及
- iii) a) T250Q及/或T256E或T256A，及
- iv) a) L251A或L251G或L251D，及/或b) H310A或H310G，
- v) 視情況 a) T307A 或 T307H 或 T307Q 或 T307P，及 / 或 b)

Q311H，及/或c) M252Y，及/或d) S254T。

45. 如實施例41至44中任一項之抗體，其中該抗體包含以下突變

- i) T250Q，及/或
- ii) M252Y，及/或
- iii) S254T，及/或
- iv) T256E或T256A，及/或
- v) T307A或T307H或T307Q或T307P，及/或
- vi) Q311H。

46. 如實施例1至45中任一項之抗體，其用作藥劑。

47. 如實施例1至45中任一項之抗體，其用於治療眼部血管疾病。

48. 一種如實施例1至45中任一項之抗體的用途，其用於治療眼病，尤其眼部血管疾病。

49. 如實施例1至45中任一項之抗體，其用於治療眼病。

50. 如實施例1至45中任一項之抗體，其用於治療眼病，尤其眼部血管疾病。

51. 一種治療患有眼部血管疾病之個體的方法，其包含向該個體投與有效量的如實施例1至45中任一項之抗體。

52. 一種醫藥調配物，其包含如實施例1至45中任一項之抗體。

53. 一種包含如實施例1至45中任一項之抗體的醫藥調配物，其用於治療眼部血管疾病。

54. 一種如實施例1至45中任一項之抗體的用途，其用於製造用

於治療眼部血管疾病之藥劑。

55. 一種治療罹患眼部血管疾病之患者的方法，其藉由向需要此類治療之患者投與如實施例1至45中任一項之抗體來進行。

56. 如實施例52至53中任一項之醫藥調配物，其中該抗體經由玻璃體內施用來投與。

57. 如實施例55至56中任一項之投與，其中該投與為玻璃體內施用。

58. 一種核酸，其編碼如實施例1至45中任一項之抗體。

59. 一種細胞，其包含編碼如實施例1至45中任一項之抗體的一或多種核酸。

60. 一種產生如實施例1至45中任一項之抗體的方法，其中該方法包含以下步驟：

a) 視情況用編碼如實施例1至45中任一項之抗體的一或多種核酸轉染哺乳動物細胞，

b) 培養該細胞以表現該抗體，及

c) 自該細胞或培養基回收該抗體且從而產生該抗體。

V. 實例

以下為本發明之方法及組合物的實例。應理解，考慮到上文所提供之一般描述，可實踐各種其他實施例。

實例1

免疫接種

對於小鼠(NMRI小鼠)及兔(人類Ig基因座轉殖基因兔)，使用基於RIMMS (「多位點快速免疫接種」)之時程。抗原為人類PDGF-BB (Cell Signaling Tech.)。

實例2

測定抗PDGF-B抗體血清效價

以2.5 $\mu\text{g/ml}$ (小鼠)或1.0 $\mu\text{g/ml}$ (兔)、100微升/孔在PBS中將人類重組PDGF-B固定在96孔NUNC Maxisorb培養盤上，繼而：用含2% CroteinC之PBS，200微升/孔阻斷培養盤；一式兩份地施用抗血清於含0.5% CroteinC之PBS中的連續稀釋液，100微升/孔；用HRP結合之山羊抗小鼠IgG抗體(Jackson ImmunoResearch)於含0.5% CroteinC之PBS中的1:16,000稀釋液偵測小鼠血清，或用生物素化之山羊抗人類 κ 抗體(Southern Biotech)於含0.5% CroteinC之PBS中的1:5,000稀釋液及HRP結合之抗生蛋白鏈菌素的1:8,000稀釋液偵測兔血清，100微升/孔。對於所有步驟，將培養盤在37°C下培育1小時。在所有步驟之間，用含0.05% Tween 20之PBS洗滌培養盤3次。藉由添加可溶BM Blue POD基質(Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)，100微升/孔來產生信號；且藉由添加1 M HCl，100微升/孔來停止。在450 nm下，對照690 nm作為參考，讀出吸光度。將效價定義為產生半最大信號的抗血清之稀釋度。

實例3

自兔之B細胞選殖

分離兔周邊血液單核細胞(PBMC)

由三隻免疫兔取得血液樣品。用1× PBS (PAA, Pasching, Austria)將含EDTA之全血稀釋至兩倍，隨後使用哺乳動物淋巴細胞(Cedarlane Laboratories, Burlington, Ontario, Canada)根據製造商之說明書來進行密度離心。用1× PBS洗滌PBMC兩次。

EL-4B5培養基

使用補充有10% FCS (Hyclone, Logan, UT, USA)、2 mM麩醯胺酸、1%青黴素/鏈黴素溶液(PAA, Pasching, Austria)、2 mM丙酮酸鈉、10 mM HEPES (PAN Biotech, Aidenbach, Germany)及0.05 mM β -巯基乙醇 (Gibco, Paisley, Scotland)之RPMI 1640 (Pan Biotech,

Aidenbach, Germany)。

塗佈培養盤

在4℃下用含PBGF-BB (2 µg/ml)或PDGF-AA及PDGF-CC蛋白質(1 µg/ml PDGF-AA及PDGF-CC)之混合物的碳酸鹽緩衝液(0.1 M碳酸氫鈉、34 mM碳酸氫二鈉(pH 9.55))塗佈無菌細胞培養物6孔培養盤隔夜。在使用之前將培養盤在無菌PBS中洗滌三次。

巨噬細胞/單核細胞之消耗

將一半血液樣品之PBMC接種在無菌6孔培養盤(細胞培養物級別)上以經由非特異性黏附來消耗巨噬細胞及單核細胞。

將其餘50%之PBMC接種在預塗佈有PDGF-AA及PDGF-CC蛋白質之混合物的培養盤中以便移除結合於此等蛋白質之B細胞且在一步中移除巨噬細胞及單核細胞。

至多用4 ml培養基及高達 6×10^6 個來自免疫兔之PBMC填充各孔且使其在37℃下於培育箱中結合1小時。

上清液中之細胞(周邊血液淋巴細胞(PBL))用於抗原淘選(panning)步驟。

在PDGF BB蛋白質上富集B細胞

用每4 ml培養基高達 6×10^6 個PBL接種塗佈有PDGF-BB蛋白質之6孔組織培養盤，且使其在37℃下於培育箱中結合1小時。藉由用1×PBS仔細洗滌該等孔1-2次來移除非黏附細胞。在37℃下於培育箱中藉由胰蛋白酶使殘餘黏性細胞剝離，持續10分鐘。用EL-4B5培養基停止胰蛋白酶化。將細胞保持在冰上直至免疫螢光染色為止。

免疫螢光染色及流動式細胞量測術

抗IgG FITC (AbD Serotec, Düsseldorf, Germany)用於進行單細胞分類。對於表面染色，將來自消耗及富集步驟之細胞與結合至FITC之抗IgG抗體一起在PBS中培育，且在暗處在4℃下培育45分鐘。在染

色之後，用冰冷PBS雙倍洗滌PBMC。最後，使PBMC再懸浮於冰冷PBS中，且立即進行FACS分析。在FACS分析之前，添加濃度為5 $\mu\text{g/ml}$ 之碘化丙錠(BD Pharmingen, San Diego, CA, USA)以辨別死細胞及活細胞。

配備有電腦之Becton Dickinson FACS Aria及FACSDiva軟體(BD Biosciences, USA)用於單細胞分類。

B細胞培養

簡言之，將單分類之兔B細胞在96孔培養盤中用200微升/孔的含有Pansorbin細胞(1:100,000) (Calbiochem (Merck), Darmstadt, Deutschland)、5%兔胸腺細胞上清液(MicroCoat, Bernried, Germany)及 γ 輻射之鼠類EL-4B5胸腺瘤細胞(2.5×10^4 個細胞/孔)之EL-4B5培養基在37°C下於培育箱中培育7天。移出B細胞培養之上清液以用於篩選，且立即收集其餘細胞且在-80°C下於100 μl RLT緩衝液(Qiagen, Hilden, Germany)中冷凍。

實例4

融合瘤產生

細胞培養

使用小鼠骨髓瘤細胞株P3x63-Ag8.653作為用於產生小鼠-小鼠雜交瘤之融合搭配物。在融合之前使細胞解凍約14天，且在8-氮鳥嘌呤存在下培養。每3至4天，細胞分裂，且將濃度調節至 $1-2 \times 10^5$ 個細胞/ m 。

細胞融合

材料：

小鼠融合瘤培養基(RPMI 1640 (PAN)，FBS超低IgG，2 mM L-麩醯胺酸，1 mM丙酮酸鈉，NEAA，具有 muIL-6 之Nutridoma-CS、HAZ (SIGMA, #A9666)，調節至室溫

RPMI 1640培養基(37°C)

RPMI 1640培養基(4°C)

PEG (37°C)

在融合之前，使骨髓瘤細胞離心(250 rpm，7分鐘)。將細胞集結粒再懸浮於培養基中。對於一個脾臟，需要 $1-5 \times 10^7$ 個細胞。

對於細胞融合，應使用約5:1的淋巴細胞與骨髓瘤細胞之比率。將P3x63-Ag8.653細胞再懸浮於50 ml RPMI 1640培養基中，且離心(250 rpm，7分鐘)。移除上清液。其後，將該等細胞添加至脾臟細胞中。

在融合期間，在水浴中將溫度調節至37°C。

向該等細胞中逐滴添加PEG溶液(37°C)。

將融合混合物在37°C下於培育箱中培育介於15與120分鐘之間。其後，使融合混合物離心(250 rpm，7分鐘)，且再懸浮於再懸浮之1200 μ l培養基中。將100 μ l細胞懸浮液添加至50 ml半固體融合瘤培養基中，均勻化，且向6孔培養盤之每孔中添加各4 ml。在9-13天培養之後，選取單純系。

實例5

融合瘤培養

將約 5×10^6 個細胞懸浮於50 ml Hyclone培養基中。將培養混合物培育96小時。其後，添加75 ml Hyclone培養基。繼續培養7天。若存活率下降至低於40%，則經由0.22 μ 過濾器過濾細胞懸浮液，且將濾液用於純化。

實例6

B細胞選殖

V域之PCR擴增

使用NucleoSpin 8/96 RNA套組(Macherey&Nagel；740709.4，

740698)根據製造商之方案由B細胞裂解物(再懸浮於RLT緩衝液Qiagen-Cat. N° 79216中)製備總RNA。用60 µl無RNA酶之水溶離RNA。根據製造商之說明書，使用Superscript III First-Strand Synthesis SuperMix (Invitrogen 18080-400)及寡聚dT-引子，使用6 µl RNA藉由逆轉錄酶反應產生cDNA。所有步驟均在Hamilton ML Star系統上進行。用AccuPrime超混合液(Invitrogen 12344-040)在50 µl之最終體積中，對於重鏈使用引子rbHC.up及rbHC.do，對於野生型兔B細胞之輕鏈使用rbLC.up及rbLC.do，且對於轉殖基因兔B細胞之輕鏈使用BcPCR_FHLC_前導序列.fw及BcPCR_huCκ.rev，使用4 µl cDNA來擴增免疫球蛋白重鏈及輕鏈可變區(VH及VL)。所有正向引子均對信號肽(分別VH及VL之信號肽)具有特異性，而反向引子對恆定區(分別VH及VL之恆定區)具有特異性。RbVH+RbVL之PCR條件如下：在94℃下熱起動5分鐘；進行35個在94℃下20s、在70℃下20s、在68℃下45s之循環，且在68℃下最終延長7分鐘。HuVL之PCR條件如下：在94℃下熱起動5分鐘；進行40個在94℃下20s、在52℃下20s、在68℃下45s之循環，且在68℃下最終延長7分鐘。

rbHC.up	AAGCTTGCCACCATGGAGACTGGGCTGCGC
SEQ ID NO: 111	TGGCTTC
rbHCf.do	CCATTGGTGAGGGTGCCCGAG
SEQ ID NO: 112	
rbLC.up	AAGCTTGCCACCATGGACAYGAGGGCCCCC
SEQ ID NO: 113	ACTC
rbLC.do	CAGAGTRCTGCTGAGGTTGTAGGTAC
SEQ ID NO: 114	
BcPCR_FHLC_前導序列.fw	ATGGACATGAGGGTCCCCGC
SEQ ID NO: 115	
BcPCR_huCκ.rev	GATTTCAACTGCTCATCAGATGGC
SEQ ID NO: 116	

將50 µl PCR溶液中之8 µl負載在48 E-Gel 2% (Invitrogen G8008-02)上。根據製造商之方案使用NucleoSpin Extract II套組(Macherey&Nagel；740609250)清潔陽性PCR反應，且在50 µl溶離緩



衝液中將其溶離。所有清潔步驟均在Hamilton ML Starlet系統上進行。

實例7

兔單株二價抗體之重組表現

對於兔單株抗體之重組表現，藉由懸垂選殖方法(RS Haun等人, BioTechniques 13 (1992) 515-518；MZ Li等人, Nature Methods 4 (2007) 251-256)將編碼VH或VL之PCR產物作為cDNA選殖至表現載體中。表現載體含有由以下各者組成之表現卡匣：包括內含子A之5' CMV啟動子、及3' BGH聚腺苷醯化序列。除表現卡匣之外，質體含有pUC衍生之複製起點及 β -內醯胺酶基因，其為大腸桿菌中之質體擴增賦予安比西林抗性。使用基本質體之三種變異體：一種質體含有兔IgG恆定區且經設計以接受VH區；兩種質體含有兔或人類 κ LC恆定區以接受VL區。

藉由PCR使用重疊引子來擴增編碼 κ 或 γ 恆定區及VL/VH插入物的線性化表現質體。

將經純化之PCR產物與T4 DNA-聚合酶一起培育，其產生單鏈突出物。藉由添加dCTP停止反應。

在下一步驟中，將質體及插入物合併且與RecA一起培育，其誘發位點特異性重組。將重組質體轉型至大腸桿菌中。次日，選取生長菌落，且藉由質體製備、限制分析及DNA-定序來測試恰當的重組質體。

對於抗體表現，將經分離之HC及LC質體短暫共轉染至HEK293細胞中，且在1週之後收集上清液。

實例8

兔單株單價抗體之重組表現

對於選擇為單株單價抗體之候選物的重組表現，將所有VH鏈之

兔恆定區轉化至CH3區段中包圍鈕突變之人類恆定區中。對於來源於兔野生型B細胞之VL鏈，將兔C κ 恆定區轉化至人類中。用AccuPrime超混合液(Invitrogen 12344-040)在50 μ l之最終體積中，用對信號肽具有特異性之正向引子及對CDR3-J區具有特異性之反向引子(其在3'端處)具有與人類恆定區(分別VH及VL之恆定區)同源的重疊序列(20 bp))，使用4 μ l所選擇之候選物的cDNA來擴增免疫球蛋白重鏈及輕鏈可變區。VH及VL鏈擴增之PCR條件如下：在94°C下熱起動5分鐘；進行35個在94°C下20s、在68°C下20s、在68°C下45s之循環，且在68°C下最終延長7分鐘。

藉由懸垂選殖方法(RS Haun等人, BioTechniques 13 (1992) 515-518；MZ Li等人, Nature Methods 4 (2007) 251-256)將編碼VH或VL之PCR產物作為cDNA選殖至表現載體中。表現載體含有由以下各者組成之表現卡匣：包括內含子A之5' CMV啟動子、及3' BGH聚腺苷醯化序列。除表現卡匣之外，質體含有pUC衍生之複製起點及 β -內醯胺酶基因，其為大腸桿菌中之質體擴增賦予安比西林抗性。使用基本質體之兩種變異體：一種質體含有人類IgG恆定區且經設計以接受新的經擴增之VH區；且第二質體含有人類 κ LC恆定區以接受VL鏈。

藉由PCR使用重疊引子來擴增編碼 κ 或 γ 恆定區及VL/VH插入物的線性化表現質體。

將經純化之PCR產物與T4 DNA-聚合酶一起培育，其產生單鏈突出物。藉由添加dCTP停止反應。

在下一步驟中，將質體及插入物合併且與RecA一起培育，其誘發位點特異性重組。將重組質體轉型至大腸桿菌中。次日，選取生長菌落，且藉由質體製備、限制分析及DNA-定序來測試恰當的重組質體。

實例9

人類PDGF-BB結合ELISA

使用基於酶聯免疫吸附分析(ELISA)之技術來進行結合分析。在25 μ L PBS、0.5% BSA及0.05% Tween中，以125 ng/mL之濃度將抗原人類PDGF-BB (Cell Signaling，目錄號8921BF)固定在384孔微量滴定盤(Thermo Scientific，目錄號464718)上。在以下步驟中之每一者之後進行90 μ L PBS施配及抽吸3次之洗滌例程：1)阻斷步驟：使未結合表面飽和(1小時，2% BSA)；2)濃度增加之抗PDGF-BB抗體持續1小時；3)偵測抗體，稀釋度= 1:3000 (ECL抗兔IgG-POD，NA9340V + ECL抗人類IgG-POD，NA933V或者對於鼠類抗體ECL抗小鼠IgG-POD；NA 9310V)。在添加基質3,3',5,5'-四甲基聯苯胺(TMB，Piercenet，目錄號34021)之後20-30分鐘時，在370 nm下測定光學密度。使用GraphPad Prism 6.0軟體用四參數對數模型來計算EC₅₀。

實例10

獼猴PDGF-BB結合ELISA

使用基於酶聯免疫吸附分析(ELISA)之技術來進行結合分析。在25 μ L PBS、0.5% BSA及0.05% Tween中，以125 ng/mL之濃度將抗原人類PDGF-BB固定在384孔微量滴定盤(Thermo Scientific，目錄號464718)上。在以下步驟中之每一者之後進行90 μ L PBS、0.5% BSA、0.05% Tween施配及抽吸3次之洗滌例程：1)阻斷步驟：使未結合表面飽和(1小時，2% BSA)；2)濃度增加之抗PDGF-BB抗體持續1小時；3)偵測抗體，稀釋度= 1:3000 (ECL抗兔IgG-POD，NA9340V + ECL抗人類IgG-POD，NA933V或者對於鼠類抗體，ECL抗小鼠IgG-POD；NA 9310V)。在添加基質3,3',5,5'-四甲基聯苯胺(TMB，Piercenet，目錄號34021)之後20-30分鐘時，在370 nm下測定光學密度。使用GraphPad Prism 6.0軟體用四參數對數模型來計算EC₅₀。

實例11

鼠類PDGF-BB結合ELISA

使用基於酶聯免疫吸附分析(ELISA)之技術來進行結合分析。在 25 μ L PBS、0.5% BSA及0.05% Tween中，以125 ng/mL之濃度將抗原鼠類PDGF-BB (Peprotech 315-18)固定在384孔微量滴定盤(Thermo Scientific，目錄號464718)上。在以下步驟中之每一者之後進行90 μ L PBS、0.5% BSA、0.05% Tween施配及抽吸3次之洗滌例程：1)阻斷步驟：使未結合表面飽和(1小時，2% BSA)；2)濃度增加之抗PDGF-BB抗體持續1小時；3)偵測抗體，稀釋度= 1:3000 (ECL抗兔IgG-POD，NA9340V + ECL抗人類IgG-POD，NA933V或者對於鼠類抗體，ECL抗小鼠IgG-POD；NA 9310V)。在添加基質3,3',5,5'-四甲基聯苯胺(TMB，Piercenet，目錄號34021)之後20-30分鐘時，在370 nm下測定光學密度。使用GraphPad Prism 6.0軟體用四參數對數模型來計算EC₅₀。

實例12

大鼠PDGF-BB結合ELISA

使用基於酶聯免疫吸附分析(ELISA)之技術來進行結合分析。在 25 μ L PBS、0.5% BSA及0.05% Tween中，以125 ng/mL之濃度將抗原大鼠PDGF-BB (R&D，520-BB)固定在384孔微量滴定盤(Thermo Scientific，目錄號464718)上。在以下步驟中之每一者之後進行90 μ L PBS、0.5% BSA、0.05% Tween施配及抽吸3次之洗滌例程：1)阻斷步驟：使未結合表面飽和(1小時，2% BSA)；2)濃度增加之抗PDGF-BB抗體持續1小時；3)偵測抗體，稀釋度= 1:3000 (ECL抗兔IgG-POD，NA9340V + ECL抗人類IgG-POD，NA933V或者對於鼠類抗體，ECL抗小鼠IgG-POD；NA 9310V)。在添加基質3,3',5,5'-四甲基聯苯胺(TMB，Piercenet，目錄號34021)之後20-30分鐘時，在370 nm下測定光學密度。使用GraphPad Prism 6.0軟體用四參數對數模型來計算

EC₅₀。

實例13

人類PDGF-AA結合ELISA

使用基於酶聯免疫吸附分析(ELISA)之技術來進行結合分析。在 25 μ L PBS、0.5% BSA及0.05% Tween中，以125 ng/mL之濃度將抗原人類PDGF-AA(Peprotech，目錄號AF-100-13A)固定在384孔微量滴定盤(Thermo Scientific，目錄號464718)上。在以下步驟中之每一者之後進行90 μ L PBS、0.5% BSA、0.05% Tween施配及抽吸3次之洗滌例程：1)阻斷步驟：使未結合表面飽和(1小時，2% BSA)；2)濃度增加之抗PDGF-BB抗體持續1小時；3)偵測抗體，稀釋度= 1:3000 (ECL抗兔IgG-POD，NA9340V + ECL抗人類IgG-POD，NA933V或者對於鼠類抗體，ECL抗小鼠IgG-POD；NA 9310V)。在添加基質3,3',5,5'-四甲基聯苯胺(TMB，Piercenet，目錄號34021)之後20-30分鐘時，在370 nm下測定光學密度。使用GraphPad Prism 6.0軟體用四參數對數模型來計算EC₅₀。

實例14

人類PDGF-CC結合ELISA

使用基於酶聯免疫吸附分析(ELISA)之技術來進行結合分析。在 25 μ L PBS、0.5% BSA及0.05% Tween中，以125 ng/mL之濃度將抗原人類PDGF-CC (Peprotech AF-100-00C)固定在384孔微量滴定盤(Thermo Scientific，目錄號464718)上。在以下步驟中之每一者之後進行90 μ L PBS、0.5% BSA、0.05% Tween施配及抽吸3次之洗滌例程：1)阻斷步驟：使未結合表面飽和(1小時，2% BSA)；2)濃度增加之抗PDGF-BB抗體持續1小時；3)偵測抗體，稀釋度= 1:3000 (ECL抗兔IgG-POD，NA9340V + ECL抗人類IgG-POD，NA933V或者對於鼠類抗體，ECL抗小鼠IgG-POD；NA 9310V)。在添加基質3,3',5,5'-四甲基

聯苯胺(TMB，Piercenet，目錄號34021)之後20-30分鐘時，在370 nm下測定光學密度。使用GraphPad Prism 6.0軟體用四參數對數模型來計算EC₅₀。

實例15

蛋白質間相互作用抑制分析：人類PDGF-B:人類PDGF-BB受體

使用基於酶聯免疫吸附分析(ELISA)之技術來進行人類PDGF-BB與人類PDGF-BB受體之蛋白質間相互作用抑制分析。在25 μ L PBS、0.5% BSA及0.05% Tween中，以750 μ g/mL之濃度將人類Fc標記之PDGF-BB受體蛋白質 (RnD，目錄號385-PR-100)固定在384孔微量滴定盤(Thermo Scientific目錄號464718)上。在以下步驟中之每一者之後進行90 μ L PBS施配及抽吸3次之洗滌例程：1)阻斷步驟，其使未結合表面飽和(1小時，2% BSA)；2)將濃度增加之15 μ L抗PDGF-BB抗體與15 μ L生物素化人類PDGF-BB (Cell Signaling，目錄號8921BF)以75 nM在30 μ L之體積中一起培育1小時；3)使用過氧化酶標記之抗生蛋白鏈菌素(Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany，目錄號11089153001)來達成偵測。在添加基質3,3',5,5'-四甲基聯苯胺(TMB，Piercenet，目錄號34021)之後20-30分鐘時，在370 nm下測定光學密度。使用GraphPad Prism 6.0軟體用四參數對數模型來計算IC₅₀。

實例16

自鼠類融合瘤之抗體純化

過濾含抗體之融合瘤上清液，且藉由兩個層析步驟來純化。使用經PBS (1 mM KH₂PO₄、10 mM Na₂HPO₄、137 mM NaCl、2.7 mM KCl) (pH 7.4)平衡之HiTrap蛋白質G (GE Healthcare)藉由親和性層析來捕捉抗體。藉由用平衡緩衝液洗滌來移除未結合蛋白質，且用25 mM檸檬酸鹽緩衝液(pH 3.0)回收抗體，且在溶離之後立即用1 M Tris鹼(pH 9.0)中和至pH 6.0。Superdex 200™ (GE Healthcare)上之尺寸排

阻層析用作第二純化步驟。尺寸排阻層析在20 mM組胺酸緩衝液、0.14 M NaCl (pH 6.0)中進行。用配備有Biomax-SK膜之Ultrafree-CL離心過濾器單元(Millipore, Billerica, MA)濃縮含有抗體之溶液，且儲存在-80℃下。

過濾含抗體之融合瘤上清液，且藉由兩個層析步驟來純化。將上清液與50% v/v 2 M甘胺酸(pH 8.6)、600 mM NaCl混合，且使用經1 M甘胺酸(pH 8.6)、300 mM NaCl平衡之HiTrap MabSelectSuRe (GE Healthcare)藉由親和性層析來捕捉。藉由用平衡緩衝液洗滌來移除未結合蛋白質，且用100 mM檸檬酸鹽緩衝液(pH 2.8)回收抗體，且在溶離之後立即用1 M Tris鹼(pH 8.5)中和至pH 6.0。Superdex 200™ (GE Healthcare)上之尺寸排阻層析用作第二純化步驟。尺寸排阻層析在20 mM組胺酸緩衝液、0.14 M NaCl (pH 6.0)中進行。用配備有Biomax-SK膜之Ultrafree-CL離心過濾器單元(Millipore, Billerica, MA)濃縮含有抗體之溶液，且儲存在-80℃下。

實例17

人類PDGF-BB結合表面電漿子共振譜法分析

使用基於表面電漿子共振譜法之技術，應用BIAcore B4000系統 (GE Healthcare)來進行結合分析。在PBS、0.1% BSA、0.05% Tween中，使用胺偶合化學以1 µg/mL之濃度將抗原人類PDGF-BB (Cell Signaling，目錄號8921BF)固定在C1感測器晶片 (GE Healthcare，目錄號BR-1005-35)上。在10 mM HEPES (pH 7.2)、150 mM NaCl中施用濃度增加之抗PDGF-BB抗體。利用180秒締合階段及600秒解離階段之讀出時間，計算表觀 k_a 及表觀 k_d 。使用BIAcore T200 v2.0擬合軟體計算表觀 K_D (親合力)。

實例18

獼猴PDGF-BB結合表面電漿子共振譜法分析

使用基於表面電漿子共振譜法之技術，應用BIAcore B4000系統 (GE Healthcare)來進行結合分析。在PBS、0.1% BSA、0.05% Tween 中，使用胺偶合化學以1 $\mu\text{g/mL}$ 之濃度將抗原獼猴PDGF-BB固定在C1 感測器晶片 (GE Healthcare，目錄號BR-1005-35)上。在10 mM HEPES (pH 7.2)、150 mM NaCl中施用濃度增加之抗PDGF-BB抗體。利用180 秒締合階段及600秒解離階段之讀出時間，計算表觀 k_a 及表觀 k_d 。使用BIAcore T200 v2.0擬合軟體計算表觀 K_D (親合力)。

實例19

人類化抗體在HEK細胞中之轉染及短暫表現

在經懸浮液調適之HEK293F (FreeStyle 293-F細胞；Invitrogen)細胞中用轉染試劑293-free (Novagen)短暫表現抗體。

細胞在解凍之後已在125 ml搖瓶中藉由稀釋至少四次(體積30 ml)來繼代(在37°C、7% CO₂、85%濕度、135 rpm下培育/震盪)。

將細胞擴增至250 ml體積中 3×10^5 個細胞/毫升。三天後，細胞已分裂且以250 ml體積中 7×10^5 個細胞/毫升之密度新接種在1公升搖瓶中。24小時後，將以大約 $1.4\text{--}2.0 \times 10^6$ 個細胞/毫升之細胞密度進行轉染。

在轉染前，用預加熱(水浴；37°C)之Opti-MEM (Gibco)將250 μg 質體DNA (122 μg 輕鏈及128 μg 重鏈)稀釋為10 ml最終體積。將溶液輕輕混合且在室溫下培育不超過5分鐘。隨後向DNA-OptiMEM溶液中添加333.3 μl 293-free轉染試劑。輕輕混合且在室溫下培育15-20分鐘。將混合物之全部體積與250 ml HEK細胞培養物體積一起添加至1 L搖瓶中。

在37°C、7% CO₂、85%濕度、135 rpm下培育/震盪6或7天。

藉由在2,000 rpm、4°C下持續10分鐘之第一離心步驟來收集上清液。隨後將上清液轉移至新離心燒瓶中以便在4,000 rpm、4°C下持續

20分鐘進行第二離心。其後，經由0.22 μm 瓶頂過濾器過濾無細胞上清液，且儲存於冷凍器(-20°C)中。

實例20

自HEK上清液之抗體純化

過濾含抗體之培養物上清液，且藉由兩個層析步驟來純化。使用經PBS (1 mM KH_2PO_4 、10 mM Na_2HPO_4 、137 mM NaCl 、2.7 mM KCl) (pH 7.4)平衡之HiTrap MabSelectSuRe (GE Healthcare)藉由親和性層析來捕捉抗體。藉由用平衡緩衝液洗滌來移除未結合蛋白質，且用100 mM檸檬酸鹽緩衝液(pH 2.8)回收抗體，且在溶離之後立即用1 M Tris鹼(pH 9.0)中和至pH 6.0。Superdex 200TM (GE Healthcare)上之尺寸排阻層析用作第二純化步驟。尺寸排阻層析在20 mM組胺酸緩衝液、0.14 M NaCl (pH 6.0)中進行。用配備有Biomax-SK膜之Ultrafree-CL離心過濾器單元(Millipore, Billerica, MA)濃縮含有抗體之溶液，且儲存在-80°C下。

實例21

抗體製劑之分析

使用基於胺基酸序列計算之莫耳消光係數，藉由量測280 nm下之光學密度(OD)來測定抗體製劑之蛋白質濃度。

使用LabChip GX II (PerkinElmer)用蛋白質表現晶片及HT蛋白質表現試劑套組藉由CE-SDS分析抗體之純度及完整性。

使用TSK-GEL QC-PAK GFC 300使用2× PBS (pH 7.4)作為操作緩衝液藉由高效能SEC，或使用BioSuite高解析度SEC 250 Å、5 μm 分析型尺寸排阻管柱(Waters GmbH)使用200 mM $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、250 mM KCl (pH 7.0)作為操作緩衝液藉由高效能SEC來測定抗體製劑之聚集體含量。

實例22

自抗體製備Fab片段及分析：

將5 mg抗體(約1 mg/ml於20 mM組胺酸、140 mM NaCl (pH 6.0)中)與90 μ l L-半胱胺酸溶液(Merck Millipore；250 mM於20 mM組胺酸、140 mM NaCl (pH 6.0)中)及12 μ l番木瓜蛋白酶(Roche Life Science；3.2 U/mg抗體)一起在37°C下培育120分鐘。在裂解之後，使用經PBS (1 mM KH₂PO₄、10 mM Na₂HPO₄、137 mM NaCl、2.7 mM KCl) (pH 7.4)平衡之HiTrap MabSelectSuRe (GE Healthcare)之親和性層析用於移除完整IgG及Fc片段。隨後，作為第二純化步驟，使用尺寸排阻層析在Superdex 200TM (GE Healthcare)上進一步純化MabSelectSuRe層析之流過物。尺寸排阻層析在20 mM組胺酸緩衝液、0.14 M NaCl (pH 6.0)中進行。用配備有Biomax-SK膜之Ultrafree-CL離心過濾器單元(Millipore, Billerica, MA)濃縮含有Fab片段之溶液，且儲存在-80°C下。

使用基於胺基酸序列計算之莫耳消光係數，藉由量測在280 nm下之光學密度(OD)來測定Fab片段之蛋白質濃度。

在還原劑(5 mM 1,4-二硫蘇糖醇)存在及不存在下及用簡單藍色(Simply Blue)安全染色劑(Invitrogen)染色之情況下藉由SDS-PAGE (NuPAGE 4-12% Bis-Tris凝膠，Invitrogen)分析Fab片段之純度及完整性。

使用Superdex 200 10/300 GL分析型尺寸排阻管柱(GE Healthcare)使用2× PBS (pH 7.4)作為操作緩衝液藉由高效能SEC來測定Fab製劑之聚集體含量。

實例23

3T3細胞增殖ELISA

對於增殖抑制之測定，使用根據製造商手冊之BrdU比色分析(Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany，# 11 647 229 001)。

在分析中，使用5 ng/ml人類PDGF-BB及抗體。

實例24

磷酸-PDGF-R β (Tyr751)夾層結構ELISA

將10,000個3T3細胞/孔在補充有10%新生牛血清之DMEM培養基中培養24小時。其後，將細胞在饑餓培養基(具有0.5%新生牛血清之DMEM培養基)中培育24小時。

在添加之前，將抗體(1 μ g/ml)在含有5 ng/ml PDGF-BB之培養基中預培育2小時。將3T3細胞在具有5 ng/ml人類PDGF-BB及抗體之饑餓培養基中培育10分鐘。

在裂解之前，用PBS洗滌細胞4次。在100 μ l裂解緩衝液中進行細胞裂解。

將裂解溶液在經兔抗PDGF-R β 抗體塗佈之96孔培養盤的孔中於4 $^{\circ}$ C下培育隔夜。其後，用PBS洗滌該等孔4次。在與小鼠抗磷酸-PDGF受體 β 抗體一起培育1小時之後，用洗滌緩衝液洗滌該等孔4次。對於偵測，將該等孔用100 μ l TMB基質溶液培育30分鐘。藉由添加100 μ l停止溶液來停止反應。在450 nm下測定吸收。

實例25

細胞遷移分析

使用CIM-培養盤16 (ACEA Biosciences Inc.，n $^{\circ}$ 05665817001，孔隙大小膜8 μ m)。

方案

在使用之前進行饑餓(在不含生長因子之CellSystems CSC無血清培養基(b $^{\circ}$ SF-4ZR-500-S)中使初級人類視網膜外被細胞(ACBRI 183 CellSystems)饑餓隔夜，用hTERT不朽化)(50%-70%匯合)

培養盤準備

上部腔室：(50 μ l培養基+ 100 μ l細胞懸浮液)

用含 20 µg/ml 纖維黏連蛋白 (Sigma n°F0895-2mg) 之 PBS 塗佈兩側：

在各孔之感測器側(底側)上添加 40 µl 纖維黏連蛋白溶液，在通風櫥中培育上部腔室 30 分鐘。小心地自感測器側抽吸纖維黏連蛋白溶液，避免觸摸電極。翻轉 UC，使得孔側向上，且感測器側向下。在該孔中添加 50 µl 纖維黏連蛋白溶液，且在通風櫥下於室溫下培育 30 分鐘。小心地自該孔內側抽吸溶液。在該孔中添加 50 µl 不含生長因子之 CSC 無血清培養基。

下部腔室：160 微升/孔之你的測試樣品(1×濃度)

所有稀釋液處於不含生長因子之 CellSystems CSC 無血清培養基 (n°SF-4ZR-500-S) 中；將樣品/抗體之混合物在通風櫥中培育 2 小時；添加 160 微升/孔之樣品；使用 CIM-培養盤 16 組裝工具來組裝 UC 及 LC；將 CIM-培養盤 16 在培育箱中於 37°C 下置放 1 小時以平衡；將 CIM-培養盤 16 置放在 RTCA DP 分析器上；藉由起始 RTCA 軟體中之步驟 1 來開始背景量測。

細胞製備

用細胞解離緩衝液使細胞剝離且將該等細胞以 1.5×10^5 個細胞/毫升再懸浮於不含生長因子之 CellSystems CSC 無血清培養基 (b°SF-4ZR-500-S) 中；自 RTCA 分析器移出 CIM-培養盤 16，且在 UC 中添加 15,000 個初級人類視網膜外被細胞 ((ACBRI 183 CellSystems)，用 hTERT 不朽化)/孔/100 微升基礎培養基(不含生長因子之 Cell Systems CSC 無血清培養基 n°SF-4ZR-500-S)；將培養盤置放回 RTCA 分析器中且在 10-20 小時期間立即開始量測。

實例 26

細胞增殖分析

CellTiter 96 Aqueous 單溶液細胞增殖分析 (Promega, G3580)。

初級人類視網膜外被細胞((ACBRI 183 CellSystems)，用hTERT不朽化)，2500個細胞/孔/100微升

培養基

生長培養基= CSC完全培養基，培養增強(ACBRI n°4Z=-500)

分析培養基=不含生長因子之CSC無血清培養基(ACBRI n°SF-4ZR-500-S)

Balbc3T3，5000個細胞/孔/100微升

培養基

生長培養基= DMEM (Gibco n°41966)，10% NBCS (新生牛血清)

分析培養基= DMEM (Gibco n°41966)，0.4% NBCS

增殖分析

在分析之前24-48小時時，將細胞接種在生長培養基中。當細胞80%-90%匯合時，用胰蛋白酶溶液收集該等細胞。將細胞以 0.25×10^5 個細胞/毫升(或 0.5×10^5 個細胞/毫升)再懸浮於生長培養基中。向96孔培養盤之各孔中添加100 μ l細胞懸浮液。在37°C下培育24小時。移除生長培養基，向各孔中添加100 μ l分析培養基。培育24小時。向各孔中添加100 μ l標準品或樣品(2×濃度，在分析培養基中稀釋)。在37°C下與5% CO₂一起培育72小時。在細胞上添加40 μ l染料溶液且在37°C下培育。在490 nm下在不同時間(1小時至8小時)讀取。

實例27

抗PDGF-BB抗體動力學篩選

使用BIAcore T200儀器(GE Healthcare)藉由表面電漿子共振來研究抗PDGF-BB抗體與人類PDGF-BB之結合。藉由使用GE Healthcare供應之胺偶合套組，在pH 4.0下將大約20個共振單位(RU)之重組人類PDGF-BB (5 μ g/ml；訂購代碼220-BB；R&D Systems)偶合在系列S C1晶片(GE Healthcare BR-1005-35)上。用於固定之操作緩

衝液為HBS-N pH 7.4 (10 mM HEPES、150 mM NaCl (pH 7.4)，GE Healthcare)。對於以下動力學表徵，操作及稀釋緩衝液為HBS-P pH 7.4 (10 mM HEPES、150 mM NaCl、0.05%界面活性劑P20 (pH 7.4)，GE Healthcare)。將流動槽設置為25℃，且將樣品區塊設置為12℃，且用操作緩衝液預塗佈兩次。

藉由以100 μ l/min之流動速率在溶液中注射濃度為30 nM及3 nM之抗PDGF-BB抗體持續30秒來量測締合。監測解離階段長達600秒，且藉由自樣品溶液轉換為操作緩衝液來觸發。藉由以5 μ l/min之流動速率用連續兩次0.85% H₃PO₄ (磷酸)溶液注射洗滌60秒來再生表面。藉由減去自空白表面獲得之反應來校正整體折射率差異。亦減去空白注射(=二次參考)。為計算K_D及其他動力學參數，使用朗格繆爾1:1模型。

實例28

抗PDGF-BB Fab動力學表徵

使用BIAcore T200儀器(GE Healthcare)藉由表面電漿子共振來研究抗PDGF-BB Fab樣品與人類PDGF-BB之結合。藉由使用GE Healthcare供應之胺偶合套組，在pH 4.0下將大約50個共振單位(RU)之重組人類PDGF-BB (0.5 μ g/ml；訂購代碼220-BB；R&D Systems)偶合在系列S CM3晶片(GE Healthcare BR-1005-36)上。用於固定之操作緩衝液為HBS-N pH 7.4 (10 mM HEPES、150 mM NaCl (pH 7.4)，GE Healthcare)。對於以下動力學表徵，操作及稀釋緩衝液為HBS-P pH 7.4 (10 mM HEPES、150 mM NaCl、0.05%界面活性劑P20 (pH 7.4)，GE Healthcare)。將流動槽設置為25℃，且將樣品區塊設置為12℃，且用操作緩衝液預塗佈兩次。

在連續1:3稀釋液中以300 nM起始，藉由以30 μ l/min之流動速率在溶液中注射各種濃度之抗PDGF-BB Fab持續180秒來量測締合。監

測解離階段長達900秒，且藉由自樣品溶液轉換為操作緩衝液來觸發。藉由以5 $\mu\text{l}/\text{min}$ 之流動速率用0.85% H_3PO_4 (磷酸)溶液洗滌60秒來再生表面。藉由減去自空白表面獲得之反應來校正整體折射率差異。亦減去空白注射(=二次參考)。為計算KD及其他動力學參數，使用朗格繆爾1:1模型。

實例29

化學降解測試

將樣品分成三個等分試樣，且分別再緩衝至20 mM His/His*HCl、140 mM NaCl (pH 6.0)中或PBS中，且儲存在40°C (His/NaCl)或37°C (PBS)下。對照樣品儲存在-80°C下。

在培育結束之後，分析樣品之相對活性濃度(BIAcore)、聚集(SEC)及片段化(毛細電泳法或SDS-PAGE)，且與未經處理之對照進行比較。

實例30

熱穩定性

在20 mM組胺酸/組胺酸氫、140 mM NaCl (pH 6.0)中製備濃度為1 mg/mL之樣品，經由0.4 μm 過濾器板藉由離心轉移至光學384孔培養盤中且用石蠟油覆蓋。藉由動態光散射在DynaPro培養盤讀取器(Wyatt)上重複量測流體動力學半徑，同時以0.05°C/min之速率將樣品自25°C加熱至80°C。

或者，將樣品轉移至10 μL 微光析槽陣列中，且用Optim1000儀器(Avacta Inc.)記錄靜態光散射資料以及在266 nm雷射下激發後之螢光資料，同時以0.1°C/min之速率將樣品自25°C加熱至90°C。

聚集起始溫度定義為流體動力學半徑(DLS)或散射光強度(Optim1000)開始增加之溫度。

熔化溫度定義為螢光強度對比波長之圖中的拐點。

儘管出於清楚理解之目的，已藉助於說明及實例相當詳細地描述前述本發明，但該等描述及實例不應解釋為限制本發明之範疇。本文所引用的所有專利及科學文獻之揭示內容均以全文引用之方式明確併入。

實例31

雙特異性抗體之產生及純化

在經懸浮液調適之HEK293F (FreeStyle 293-F細胞；Invitrogen)細胞中在用轉染試劑293-free (Novagen)轉染DNA之後短暫表現抗體。

細胞在解凍之後已在125 ml搖瓶中藉由稀釋至少四次(體積30 ml)來每三天或四天繼代一次(在37°C、7% CO₂、85%濕度、135 rpm下培育/震盪)。藉由以 3×10^5 個細胞/毫升之細胞密度將細胞接種在250 ml培養基中來使細胞擴增。三天後，細胞已分裂且以 2×10^5 個細胞/毫升之密度新接種在500 ml培養基中。四天後，細胞已分裂且以 7×10^5 個細胞/毫升之密度新接種在1公升培養基中(在37°C、7% CO₂、85%濕度、110 rpm下培育/震盪)。24小時後，以大約 $1.4-2.0 \times 10^6$ 個細胞/毫升之細胞密度進行轉染。

在轉染前，用預加熱(水浴；37°C)之Opti-MEM (Gibco)將1000 µg質體DNA (2×250 µg編碼輕鏈之質體DNA及2×250 µg編碼重鏈之質體DNA)稀釋為40 ml最終體積。將溶液輕輕混合且在室溫下培育不超過5分鐘。隨後向DNA-Opti-MEM溶液中添加1333 µl 293-free轉染試劑。將混合物輕輕混合且在室溫下培育15-20分鐘。小心地將混合物之全部體積添加至1公升HEK細胞培養物中。將細胞在37°C、7% CO₂、85%濕度下在以110 rpm震盪之情況下進一步培育7天。

在7天之後，藉由在2,000 rpm、4°C下持續10分鐘之第一離心步驟來收集上清液。隨後將上清液轉移至新離心燒瓶中以便在4,000 rpm、4°C下持續20分鐘進行第二離心步驟。經由0.22 µm過濾器

(Millipore)過濾無細胞上清液，且儲存於冷凍器(-20℃)中直至開始純化程序為止。

過濾含抗體之培養物上清液，且藉由至少兩個層析步驟來純化。使用經PBS (1 mM KH_2PO_4 、10 mM Na_2HPO_4 、137 mM NaCl、2.7 mM KCl) (pH 7.4)平衡之CaptureSelect預裝填管柱IgG-CH1 (life technologies, #494320005)藉由親和性層析來捕捉抗體。藉由用平衡緩衝液洗滌來移除未結合蛋白質，且用25 mM檸檬酸鹽緩衝液(pH 3.0)回收抗體，且在溶離之後立即用1 M Tris鹼(pH 9.0)中和至pH 6.0。

Superdex 200™ (GE Healthcare)上之尺寸排阻層析用作第二純化步驟。尺寸排阻層析在20 mM組胺酸緩衝液、0.14 M NaCl (pH 6.0)中進行。用配備有Biomax-SK膜之Ultrafree-CL離心過濾器單元(Millipore, Billerica, MA)濃縮含有抗體之溶液，且儲存在-80℃下。

使用疏水性相互作用層析(HIC)來進一步純化抗PDGF-B/ANG2抗體(純系0144-0004)。向含有抗體之溶液中添加硫酸銨至1 M最終濃度。將溶液施用於在1 M硫酸銨、35 mM乙酸鹽(pH 5.6)中平衡之丁基瓊脂糖4快速流(Butyl Sepharose 4 Fast Flow) (GE Healthcare)上。用35 mM乙酸鹽(pH 5.6)以線性梯度(0%-100%)溶離抗體。彙集含有抗體之溶離份，且將其施用於尺寸排阻層析上。

使用基於胺基酸序列計算之莫耳消光係數，藉由量測280 nm下之光學密度(OD)來測定抗體製劑之蛋白質濃度。

使用LabChip GX II (PerkinElmer)用蛋白質表現晶片及HT蛋白質表現試劑套組藉由CE-SDS分析抗體之純度及完整性。

使用BioSuite高解析度SEC 250 Å、5 μm分析型尺寸排阻管柱(Waters GmbH)使用200 mM $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、250 mM KCl (pH 7.0)作為操作緩衝液藉由高效能SEC來測定抗體製劑之聚集體含量。

	抗體	規模 [l]	產量 [mg]	產率 [mg/l上 清液]	單體 (SE- HPLC) [%]	單體 (CE- SDS) [%]	管柱
抗 PDGFB/ANG 2抗體	0144	1.5	37.7	25.1	>98	>95	CH1 選擇， HIC，SEC
抗 PDGFB/VEG F抗體	0117	1	46.3	46.3	>98	>95	CH1 選擇， SEC
抗 PDGFB/ANG 2抗體	0145	1	21.5	21.5	>98	>95	CH1選擇/SEC
抗 PDGFB/ANG 2抗體	0146	0.5	14.6	29.2	>98	>95	CH1選擇/SEC

抗體0144為包含SEQ ID NO:117 (VH)與SEQ ID NO:118 (VL)之ANG2結合位點及SEQ ID NO:92 (VH)與SEQ ID NO:97 (VL)之PDGF-B結合位點的CrossMab抗體。

抗體0117為包含SEQ ID NO:119 (VH)與SEQ ID NO:120 (VL)之VEGF結合位點及SEQ ID NO:92 (VH)與SEQ ID NO:97 (VL)之PDGF-B結合位點的CrossMab抗體。

抗體0145為包含SEQ ID NO:119 (VH)與SEQ ID NO:120 (VL)之ANG2結合位點及SEQ ID NO:101 (VH)與SEQ ID NO:106 (VL)之PDGF-B結合位點的CrossMab抗體。

抗體0146為包含SEQ ID NO:117 (VH)與SEQ ID NO:118 (VL)之ANG2結合位點及SEQ ID NO:121 (VH)與SEQ ID NO:122 (VL)之PDGF-B結合位點的CrossMab抗體。

實例32

雙特異性抗體動力學表徵

PDGF-BB

使用BIACORE T200儀器(GE Healthcare)藉由表面電漿子共振來研究雙特異性抗PDGF-BB/ANG2抗體與人類PDGF-BB之結合。藉由

使用GE Healthcare供應之胺偶合套組，在pH 4.0下將大約50個共振單位(RU)之重組人類PDGF-BB (0.5 $\mu\text{g/ml}$ ；訂購代碼220-BB；R&D Systems)偶合在系列S CM3晶片(GE Healthcare BR-1005-36)上。用於固定之操作緩衝液為HBS-N pH 7.4 (10 mM HEPES、150 mM NaCl (pH 7.4)，GE Healthcare)。對於以下動力學表徵，操作及稀釋緩衝液為HBS-P pH 7.4 (10 mM HEPES、150 mM NaCl、0.05%界面活性劑P20 (pH 7.4)，GE Healthcare)。將流動槽設置為25°C，且將樣品區塊設置為12°C，且用操作緩衝液預塗佈兩次。

在連續1:3稀釋液中以300 nM起始，藉由以30 $\mu\text{l/min}$ 之流動速率在溶液中注射各種濃度之雙特異性抗體持續180秒來量測締合。監測解離階段長達900秒，且藉由自樣品溶液轉換為操作緩衝液來觸發。藉由以5 $\mu\text{l/min}$ 之流動速率用0.85% H_3PO_4 (磷酸)溶液洗滌60秒來再生表面。藉由減去自空白表面獲得之反應來校正整體折射率差異。亦減去空白注射(=二次參考)。為計算KD及其他動力學參數，使用朗格繆爾1:1模型。

ANG2

使用BIACORE T200儀器(GE Healthcare)藉由表面電漿子共振來研究雙特異性抗體與人類ANG2-RBD-小鼠Fc區融合物之結合。藉由使用GE Healthcare供應之胺偶合套組，在pH 5.0下將大約4000 RU之抗小鼠Fc區抗體(10 $\mu\text{g/ml}$ 抗小鼠(Fc)抗體)偶合在系列S CM5晶片(GE Healthcare BR-1005-30)上。在固定程序期間使用HBS-N (10 mM HEPES、150 mM NaCl (pH 7.4)，GE Healthcare)作為操作緩衝液。對於以下動力學表徵，樣品及操作緩衝液為HBS-P (10 mM HEPES、150 mM NaCl (pH 7.4)、0.05%界面活性劑P20；GE Healthcare)。將流動槽設置為25°C，且將樣品區塊設置為12°C，且在動力學表徵之前用操作緩衝液預塗佈兩次。

藉由以5 $\mu\text{l}/\text{min}$ 之流動速率注射1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 溶液持續30秒來捕捉人類ANG2-RBD-鼠類Fc區融合物。在連續1:3稀釋液中以300 nM起始，藉由以90 $\mu\text{l}/\text{min}$ 之流動速率在溶液中注射各種濃度之雙特異性抗體持續90秒來量測締合。監測解離階段長達600秒，且藉由自樣品溶液轉換為操作緩衝液來觸發。藉由以5 $\mu\text{l}/\text{min}$ 之流動速率用3 M MgCl_2 溶液洗滌60秒來再生所有表面。藉由減去自抗小鼠IgG抗體(Fc)表面獲得之反應來校正整體折射率差異。亦減去空白注射(=二次參考)。為計算KD及其他動力學參數，使用朗格繆爾1:1模型。

VEGF

使用BIAcore T200儀器(GE Healthcare)藉由表面電漿子共振來研究雙特異性抗體與人類VEGF同功異型物121之結合。根據製造商之說明書，藉由使用GE Healthcare供應之胺偶合套組，將抗六組胺酸抗體偶合在CM5晶片(GE Healthcare BR-1005-30)上。在固定程序期間使用HBS-N (10 mM HEPES、150 mM NaCl (pH 7.4)，GE Healthcare)作為操作緩衝液。對於以下動力學表徵，樣品及操作緩衝液為HBS-P (10 mM HEPES、150 mM NaCl (pH 7.4)、0.05%界面活性劑P20；GE Healthcare)。將流動槽設置為25°C，且將樣品區塊設置為12°C，且在動力學表徵之前用操作緩衝液預塗佈兩次。

藉由以5 $\mu\text{l}/\text{min}$ 之流動速率注射溶液持續30秒來捕捉包含組胺酸標記之人類VEGF同功異型物121。在連續1:3稀釋液中以300 nM起始，藉由以90 $\mu\text{l}/\text{min}$ 之流動速率在溶液中注射各種濃度之雙特異性抗體持續90秒來量測締合。監測解離階段長達600秒，且藉由自樣品溶液轉換為操作緩衝液來觸發。藉由以5 $\mu\text{l}/\text{min}$ 之流動速率用3 M MgCl_2 溶液洗滌60秒來再生所有表面。藉由減去自抗六組胺酸抗體表面獲得之反應來校正整體折射率差異。亦減去空白注射(=二次參考)。為計算KD及其他動力學參數，使用朗格繆爾1:1模型。

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 瑞士商赫孚孟拉羅股份公司
<120> 抗PDGF-B抗體及使用方法
<130> P32415
<150> EP14192519.8
<151> 2014-11-10
<160> 174
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 116
<212> PRT
<213> 小家鼠
<400> 1

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

<210> 2
<211> 7
<212> PRT
<213> 小家鼠
<400> 2

Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5

<210> 3
<211> 3

<212> PRT
<213> 小家鼠
<400> 3

Gly Ser Gly
1

<210> 4
<211> 17
<212> PRT
<213> 小家鼠
<400> 4

Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Val

<210> 5
<211> 5
<212> PRT
<213> 小家鼠
<400> 5

Thr Gln Asp Phe Asp
1 5

<210> 6
<211> 111
<212> PRT
<213> 小家鼠
<400> 6

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ile Tyr
20 25 30

Gly Tyr Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100105110

<210> 7<211> 11<212> PRT<213> 小家鼠<400> 7Ser Glu Ser Val Asp Ile Tyr Gly Tyr Ser Phe1510

<210> 8<211> 3<212> PRT<213> 小家鼠<400> 8Arg Ala Ser1

<210> 9<211> 6<212> PRT<213> 小家鼠<400> 9Ser Asn Glu Asp Pro Arg15

<210> 10<211> 116<212> PRT<213> 人工序列<220><223> PDGFB-0044 VH-001<400> 10Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser15202530

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr

Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Met354045

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe505560

Lys Val Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr65707580

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gln Thr Thr Gln Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 11
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H1-001

<400> 11

Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5

<210> 12
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H2s-001

<400> 12

Gly Ser Gly
1

<210> 13
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H2-001

<400> 13

Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Val

<210> 14
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H3-001

<400> 14

Thr Thr Gln Asp Phe Asp Ser
1 5

<210> 15
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 VH-002

<400> 15

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

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

Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Val Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gln Thr Thr Gln Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 16
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H1-002

<400> 16

Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5

<210> 17
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H2s-002

<400> 17

Gly Ser Gly
1

<210> 18
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H2-002

<400> 18

Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Val

<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H3-002

<400> 19

Thr Thr Gln Asp Phe Asp Ser
1 5

<210> 20
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 VH-003

<400> 20

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

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

Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80



Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gln Thr Thr Gln Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 21
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H1-003

<400> 21

Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5

<210> 22
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H2s-003

<400> 22

Gly Ser Gly
1

<210> 23
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H2-003

<400> 23

Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 24
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H3-003

<400> 24

Thr Thr Gln Asp Phe Asp Ser
1 5

<210> 25
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 VH-004

<400> 25

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

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

Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gln Thr Thr Gln Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 26
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H1-004

<400> 26

Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5

<210> 27
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H2s-004

<400> 27
Gly Ser Gly
1

<210> 28
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H2-004

<400> 28

Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 29
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H3-004

<400> 29

Thr Thr Gln Asp Phe Asp Ser
1 5

<210> 30
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 VH-005

<400> 30

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Trp Ile Glu Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Ala Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gln Thr Thr Gln Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 31
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H1-005

<400> 31

Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5

<210> 32
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H2s-005

<400> 32

Gly Ser Gly
1

<210> 33
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H2-005

<400> 33

Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Ser

<210> 34
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H3-005

<400> 34
Thr Thr Gln Asp Phe Asp Ser
1 5

<210> 35
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 VH-006

<400> 35

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

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

Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gln Thr Thr Gln Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 36
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H1-006

<400> 36

Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5

<210> 37

<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H2s-006

<400> 37

Gly Ser Gly
1

<210> 38
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H2-006

<400> 38

Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 39
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-H3-006

<400> 39

Thr Thr Gln Asp Phe Asp Ser
1 5

<210> 40
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 VL-001

<400> 40

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ile Tyr
20 25 30

Gly Tyr Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Asp
50 55 60

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

Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 41
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-L1-001
<400> 41

Ser Glu Ser Val Asp Ile Tyr Gly Tyr Ser Phe
1 5 10

<210> 42
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-L2-001
<400> 42

Arg Ala Ser
1

<210> 43
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-L3-001
<400> 43

Ser Asn Glu Asp Pro Arg
1 5

<210> 44
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 VL-002
<400> 44

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

<210> 45
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-L1-002

<400> 45

Ser Glu Ser Val Asp Ile Tyr Gly Tyr Ser Phe
1 5 10

<210> 46
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-L2-002

<400> 46

Arg Ala Ser
1

<210> 47
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-L3-002

<400> 47



Ser Asn Glu Asp Pro Arg
1 5

<210> 48
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 VL-003

<400> 48

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ile Tyr
20 25 30

Gly Tyr Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

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

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 49
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-L1-003

<400> 49

Ser Glu Ser Val Asp Ile Tyr Gly Tyr Ser Phe
1 5 10

<210> 50
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-L2-003

<400> 50

Arg Ala Ser

1

<210> 51
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-L3-003

<400> 51

Ser Asn Glu Asp Pro Arg
1 5

<210> 52
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 VL-004

<400> 52

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ile Tyr
20 25 30

Gly Tyr Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 53
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-L1-004

<400> 53

Ser Glu Ser Val Asp Ile Tyr Gly Tyr Ser Phe
1 5 10

<210> 54
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-L2-004

<400> 54

Arg Ala Ser
1

<210> 55
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0044 HVR-L3-004

<400> 55

Ser Asn Glu Asp Pro Arg
1 5

<210> 56
<211> 120
<212> PRT
<213> 智人

<400> 56

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

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

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

Ala Ser Ile Ser Ala Gly Gly Gly Ile Thr His Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

Lys Asp Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Glu Ser Gly Gly Asp Ile Tyr Ser Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 57
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 57

Ser Phe Trp Met Thr
1 5

<210> 58
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 58

Ser Ala Gly Gly Gly Ile
1 5

<210> 59
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 59

Ser Ile Ser Ala Gly Gly Gly Ile Thr His Tyr Pro Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Asp

<210> 60
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 60

Ser Gly Gly Asp Ile Tyr Ser Asp Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 61
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 61

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 62
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人
<400> 62

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 63
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人
<400> 63

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 64
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人
<400> 64

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 65
<211> 120
<212> PRT
<213> 智人
<400> 65

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

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

Trp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Ser Ile Ser Ala Gly Gly Gly Ile Thr His Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

Lys Asp Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Glu Ser Gly Gly Asp Ile Tyr Ser Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 66
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 66

Ser Phe Trp Met Thr
1 5

<210> 67
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 67

Ser Ala Gly Gly Gly Ile
1 5

<210> 68
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 68

Ser Ile Ser Ala Gly Gly Gly Ile Thr His Tyr Pro Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Asp

<210> 69
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 69



Ser Gly Gly Asp Ile Tyr Ser Asp Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 70
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 70

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Thr Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 71
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 71

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 72
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 72

Thr Thr Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 73
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 73

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 74
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0060 VH

<400> 74

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

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

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

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

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

Leu Gln Met Asn Arg Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Phe Tyr Pro Gly Tyr Asn Ser Asp Thr Tyr Tyr Tyr Asp Gly
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 75
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0060 HVR-H1

<400> 75

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 76
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> PDGFB-0060 HVR-H2s

<400> 76

Ser Ala Gly Gly Gly Tyr
1 5

<210> 77

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PDGFB-0060 HVR-H2

<400> 77

Gly Ile Ser Ala Gly Gly Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Thr
1 5 10 15

Gly

<210> 78

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PDGFB-0060 HVR-H3

<400> 78

Phe Tyr Pro Gly Tyr Asn Ser Asp Thr Tyr Tyr Tyr Asp Gly Met Asp
1 5 10 15

Val

<210> 79

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PDGFB-0060 VL κ

<400> 79

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

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

<210> 84
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0064 HVR-H1

<400> 84

Ser Tyr Trp Met Ser
1 5

<210> 85
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0064 HVR-H2s

<400> 85

Ser Asp Gly Gly Gly Thr
1 5

<210> 86
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0064 HVR-H2

<400> 86

Thr Ile Ser Asp Gly Gly Gly Thr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 87

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PDGFB-0064 HVR-H3

<400> 87

Ser Gly Gly Ala Thr Asp Tyr Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 88

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PDGFB-0064 VL κ

<400> 88

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ile Thr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 89

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列



<220>
<223> PDGFB-0064 HVR-L1

<400> 89
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 90
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0064 HVR-L2

<400> 90

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 91
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0064 HVR-L3

<400> 91

Gln Gln Ser Tyr Ile Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 92
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0085 VH

<400> 92

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

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

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

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

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Glu Ser Gly Gly Tyr Thr Asp Trp Leu Phe Gly Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 93
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0085 HVR-H1

<400> 93

Ser Tyr Trp Met Ser
1 5

<210> 94
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0085 HVR-H2s

<400> 94

Ser Asp Gly Gly Gly Leu
1 5

<210> 95
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0085 HVR-H2

<400> 95

Thr Ile Ser Asp Gly Gly Gly Leu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 96
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0085 HVR-H3

<400> 96

Ser Gly Gly Tyr Thr Asp Trp Leu Phe Gly Tyr
1 5 10

<210> 97
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0085 VL κ

<400> 97

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

Asp Arg Val Ala Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 98
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0085 HVR-L1

<400> 98

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 99
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0085 HVR-L2

<400> 99

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 100
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0085 HVR-L3

<400> 100

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 101
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0086 VH

<400> 101

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

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

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

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

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Glu Ser Gly Gly Tyr Thr Asp Trp Leu Phe Gly Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 102
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> PDGFB-0086

<400> 102

Ser Tyr Trp Met Ser
1 5

<210> 103

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PDGFB-0086 HVR-H2s

<400> 103

Ser Asp Gly Gly Gly Leu
1 5

<210> 104

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PDGFB-0086 HVR-H2

<400> 104

Thr Ile Ser Asp Gly Gly Gly Leu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 105

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PDGFB-0086 HVR-H3

<400> 105

Ser Gly Gly Tyr Thr Asp Trp Leu Phe Gly Tyr
1 5 10

<210> 106

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PDGFB-0086 VL κ

<400> 106

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 107
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0086 HVR-L1

<400> 107

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 108
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0086 HVR-L2

<400> 108

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 109
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFB-0086 HVR-L3

<400> 109

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5



<210> 110
 <211> 231
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 110

```

Met Asn Arg Cys Trp Ala Leu Phe Leu Ser Leu Cys Cys Tyr Leu Arg
1      5      10      15
Leu Val Ser Ala Glu Gly Asp Pro Ile Pro Glu Glu Leu Tyr Glu Met
20      25      30
Leu Ser Asp His Ser Ile Arg Ser Asp Pro Gly Glu Glu Asp Gly Ala
35      40      45
Glu Leu Asp Leu Asn Met Thr Arg Ser His Ser Gly Gly Glu Leu Glu
50      55      60
Ser Leu Ala Arg Gly Arg Arg Ser Leu Gly Ser Leu Thr Ile Ala Glu
65      70      75      80
Pro Ala Met Ile Ala Glu Cys Lys Thr Arg Thr Glu Val Phe Glu Ile
85      90      95
Ser Arg Arg Leu Ile Asp Arg Thr Asn Ala Asn Phe Leu Val Trp Pro
100     105     110
Pro Cys Val Glu Val Gln Arg Cys Ser Gly Cys Cys Asn Asn Arg Asn
115     120     125
Val Gln Cys Arg Pro Thr Gln Val Gln Leu Arg Pro Val Gln Val Arg
130     135     140
Lys Ile Glu Ile Val Arg Lys Lys Pro Ile Phe Lys Lys Ala Thr Val
145     150     155     160
Thr Leu Glu Asp His Leu Ala Cys Lys Cys Glu Thr Val Ala Ala Ala
165     170     175
Arg Pro Val Thr Arg Ser Pro Gly Gly Ser Gln Glu Gln Arg Ala Lys
180     185     190
Thr Pro Gln Thr Arg Val Thr Ile Arg Thr Val Arg Val Arg Arg Pro
195     200     205
Pro Lys Gly Lys His Arg Lys Phe Lys His Thr His Asp Lys Thr Ala
210     215     220
Leu Lys Glu Thr Leu Gly Ala
225     230
    
```

<210> 111
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> rbHC.up

<400> 111
aagcttgcca ccatggagac tgggctgcgc tggcttc 37

<210> 112
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> rbHCf.do

<400> 112
ccattgggtga gggtgcccga g 21

<210> 113
<211> 34
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> rbLC.up

<400> 113
aagcttgcca ccatggacay gagggccccc actc 34

<210> 114
<211> 26
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> rbLC.do

<400> 114
cagagtrctg ctgaggttgt aggtac 26

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

<220>
<223> BcPCR_FHLC_前導序列.fw

<400> 115
atggacatga ggggtccccgc 20

<210> 116
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> BcPCR_huCk.rev

<400> 116
gatttcaact gctcatcaga tggc

24

<210> 117
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ang2 LC10 wt + G114A, S360P, T28N, T30A (HC) + D50T (LC) VH

<400> 117

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Pro Asn Pro Tyr Tyr Tyr Asp Ser Pro Gly Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Pro Ala Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 118
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ang2 LC10 wt + G114A, S360P, T28N, T30A (HC) + D50T (LC) VL

<400> 118

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser
100 105 110

<210> 119
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VEGF_LC VHVLC交叉LC κ

<400> 119

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 120
<211> 107
<212> PRT



<213> 人工序列

<220>

<223> VEGF_LC10 VHVL交叉IgG HC LALAPGAAA鈕

<400> 120

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 121

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> PDGFang2-0044 VII

<400> 121

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

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

Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Val Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gln Thr Thr Gln Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 122
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PDGFang2-0044 VL

<400> 122

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ile Tyr
20 25 30

Gly Tyr Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 123
<211> 440
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 wt-PDGF-0044 HC1

<400> 123

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

35	40	45
Asp 50	Asp 55	Gly 60
Asn 65	Ser 70	Val 80
Asp 85	Tyr 90	His 95
Trp 100	Lys 105	Ser 110
Thr 115	Pro 120	Lys 125
Ser 130	Leu 135	Asp 140
Glu 145	Val 150	Gly 155
His 165	Val 170	Ser 175
Ser 180	Val 185	Thr 190
Cys 195	Pro 200	Val 205
Glu 210	Lys 215	Pro 220
Pro 225	Gly 230	Leu 235
Lys 245	Met 250	Val 255
Val 260	Pro 265	Trp 270
Asp 275	Ala 280	Arg 285
Tyr 290	Val 295	Leu 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
305 310 315 320

Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
325 330 335

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr
340 345 350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
370 375 380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
385 390 395 400

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys
420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 124
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 wt-PDGF-0044 HC2

<400> 124

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

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

Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Val Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys



85

90

95

Ala Gln Thr Thr Gln Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110

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

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

Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

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

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

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

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

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ala Ser Arg Thr Pro
245 250 255

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

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

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

Leu Thr Val Leu Ala Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
340 345 350

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

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

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

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

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

<210> 125
<211> 236
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 wt-PDGF-0044 LC1

<400> 125

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Pro Asn Pro Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Pro Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 126
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 wt-PDGF-0044 LC2

<400> 126

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ile Tyr
20 25 30

Gly Tyr Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 127
<211> 440
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 wt-PDGF-0058 HCl

<400> 127

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser
100 105 110

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

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
130 135 140

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
145 150 155 160

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

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

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
195 200 205

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
210 215 220

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
225 230 235 240

Lys Asp Thr Leu Met Ala Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
245 250 255

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
260 265 270

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
275 280 285

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln
290 295 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
305 310 315 320

Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
325 330 335

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr
340 345 350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
370 375 380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
385 390 395 400

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys
420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 128
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 wt-PDGF-0058 HC2

<400> 128

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

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

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

Ala Ser Ile Ser Ala Gly Gly Gly Ile Thr His Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

Lys Asp Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Glu Ser Gly Gly Asp Ile Tyr Ser Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

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

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

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ala
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

Gly Lys
450

<210> 129
<211> 236
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 wt-PDGF-0058 LC1

<400> 129

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Pro Asn Pro Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Pro Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 130
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 wt-PDGF-0058 LC2

<400> 130

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 131
<211> 440
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 wt-PDGF-0085 HC1
<400> 131

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser
100 105 110

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

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
130 135 140

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
145 150 155 160

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

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

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val

195	200	205
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala 210 215 220		
Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro 225 230 235 240		
Lys Asp Thr Leu Met Ala Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val 245 250 255		
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val 260 265 270		
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln 275 280 285		
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln 290 295 300		
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala 305 310 315 320		
Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro 325 330 335		
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr 340 345 350		
Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser 355 360 365		
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr 370 375 380		
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr 385 390 395 400		
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe 405 410 415		
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys 420 425 430		
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys 435 440		

<210> 132
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 wt-PDGF-0085 HC2

<400> 132

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Thr Ile Ser Asp Gly Gly Gly Leu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Glu Ser Gly Gly Tyr Thr Asp Trp Leu Phe Gly Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ala

245 250 255

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys
450

<210> 133
<211> 236
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 wt-PDGF-0085 LC1
<400> 133

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Pro Asn Pro Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Pro Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 134
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 wt-PDGF-0085 LC2

<400> 134

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

- <210> 135
- <211> 440
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> CrossMab Ang2 wt-PDGF-0086 HC1
- <400> 135

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
 35 40 45
 Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
 65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
 85 90 95
 Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser
 100 105 110
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
 115 120 125
 Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 130 135 140
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 145 150 155 160
 His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
 180 185 190
 Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
 195 200 205
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 210 215 220
 Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 225 230 235 240
 Lys Asp Thr Leu Met Ala Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 245 250 255
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 260 265 270

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
275 280 285

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln
290 295 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
305 310 315 320

Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
325 330 335

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr
340 345 350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
370 375 380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
385 390 395 400

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys
420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 136
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 wt-PDGF-0086 HC2

<400> 136

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

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

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

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

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Glu Ser Gly Gly Tyr Thr Asp Trp Leu Phe Gly Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 137
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> CrossMab Ang2 wt-PDGF-0086 LC1
 <400> 137
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Pro Asn Pro Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Pro Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 138
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 wt-PDGF-0086 LC2

<400> 138

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 139
<211> 440
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體0146 HC1

<400> 139

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser
100 105 110

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

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
130 135 140

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
145 150 155 160

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

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

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
195 200 205

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
210 215 220

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
225 230 235 240

Lys Asp Thr Leu Met Ala Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
245 250 255

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
260 265 270

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
275 280 285

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln
290 295 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
305 310 315 320

Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
325 330 335

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr

340

345

350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
370 375 380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
385 390 395 400

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys
420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 140
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體0146 HC2

<400> 140

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

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

Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Val Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gln Thr Thr Gln Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110

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

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

Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

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

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

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

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

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ala Ser Arg Thr Pro
245 250 255

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

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

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

Leu Thr Val Leu Ala Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
340 345 350

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

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

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430

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

<210> 141
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體0146 LC1

<400> 141

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Ser Pro Asn Pro Tyr Tyr Tyr Asp Ser Pro Gly Tyr Tyr Tyr
 100 105 110

Pro Ala Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
 115 120 125

Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 142
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體0146 LC2

<400> 142

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ile Tyr
20 25 30

Gly Tyr Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160



Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 143
<211> 440
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 mut-PDGF-0058 HCl

<400> 143

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser
100 105 110

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

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
130 135 140

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
145 150 155 160

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

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

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
195 200 205

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
210 215 220

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
225 230 235 240

Lys Asp Thr Leu Met Ala Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
245 250 255

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
260 265 270

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
275 280 285

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln
290 295 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
305 310 315 320

Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
325 330 335

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr
340 345 350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
370 375 380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
385 390 395 400

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys
420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 144
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 mut-PDGF-0058 HC2

<400> 144

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

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

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

Ala Ser Ile Ser Ala Gly Gly Gly Ile Thr His Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

Lys Asp Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Glu Ser Gly Gly Asp Ile Tyr Ser Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys
450

<210> 145
<211> 236
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CrossMab Ang2 mut-PDGF-0058 LC1

<400> 145

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Pro Asn Pro Tyr Tyr Tyr Asp Ser Pro Gly Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Pro Ala Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 146
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CrossMab Ang2 mut-PDGF-0058 LC2

<400> 146

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 147

<211> 440
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體0144 HCl

<400> 147

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser
100 105 110

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

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
130 135 140

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
145 150 155 160

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

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

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
195 200 205

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
210 215 220

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
225 230 235 240

Lys Asp Thr Leu Met Ala Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
245 250 255

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
260 265 270

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
275 280 285

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln
290 295 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
305 310 315 320

Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
325 330 335

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr
340 345 350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
370 375 380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
385 390 395 400

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys
420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

- <210> 148
- <211> 450
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 抗體0144 HC2
- <400> 148

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Thr Ile Ser Asp Gly Gly Gly Leu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Glu Ser Gly Gly Tyr Thr Asp Trp Leu Phe Gly Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ala
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys
450

<210> 149
<211> 236
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體0144 LC1

<400> 149

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

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

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



Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Pro Asn Pro Tyr Tyr Tyr Asp Ser Pro Gly Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Pro Ala Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 150
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體0144 LC2

<400> 150

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

Asp Arg Val Ala Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 151
<211> 440
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體0145 HC1

<400> 151

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr



35

40

45

Asp Thr Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser
100 105 110

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

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
130 135 140

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
145 150 155 160

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

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

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
195 200 205

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
210 215 220

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
225 230 235 240

Lys Asp Thr Leu Met Ala Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
245 250 255

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
260 265 270

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
275 280 285

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln
290 295 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
305 310 315 320

Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
325 330 335

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr
340 345 350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
370 375 380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
385 390 395 400

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys
420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 152
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體0145 HC2

<400> 152

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

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

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

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

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Glu Ser Gly Gly Tyr Thr Asp Trp Leu Phe Gly Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys
450

<210> 153
<211> 236
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體0145 LC1

<400> 153

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Pro Asn Pro Tyr Tyr Tyr Asp Ser Pro Gly Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Pro Ala Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser

115 120 125
Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 154
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體0145 LC2

<400> 154

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 155
<211> 440
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 mut-PDGF-0044 HC1

<400> 155

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser
100 105 110

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

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
130 135 140

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
145 150 155 160

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

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

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
195 200 205

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
210 215 220

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
225 230 235 240

Lys Asp Thr Leu Met Ala Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
245 250 255

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
260 265 270

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
275 280 285

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln
290 295 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
305 310 315 320

Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
325 330 335

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr
340 345 350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
370 375 380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
385 390 395 400

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys
420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 156
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 mut-PDGF-0044 HC2

<400> 156

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

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

Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Val Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gln Thr Thr Gln Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110

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

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

Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

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

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

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

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

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ala Ser Arg Thr Pro
245 250 255

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

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

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

Leu Thr Val Leu Ala Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
340 345 350

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

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

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

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

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

<210> 157
<211> 236
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 mut-PDGF-0044 LC1
<400> 157

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Pro Asn Pro Tyr Tyr Tyr Ser Ser Pro Gly Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Pro Ala Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 158
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 mut-PDGF-0044 LC2

<400> 158

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ile Tyr
20 25 30

Gly Tyr Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 159
<211> 440
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 mut5-PDGF-0058 HCl

<400> 159

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser
100 105 110

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

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
130 135 140

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
145 150 155 160

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

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

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val



195	200	205
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala 210 215 220		
Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro 225 230 235 240		
Lys Asp Thr Leu Met Ala Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val 245 250 255		
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val 260 265 270		
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln 275 280 285		
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln 290 295 300		
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala 305 310 315 320		
Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro 325 330 335		
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr 340 345 350		
Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser 355 360 365		
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr 370 375 380		
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr 385 390 395 400		
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe 405 410 415		
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys 420 425 430		
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys 435 440		

<210> 160
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> CrossMab Ang2 mut5-PDGF-0058 HC2

<400> 160

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

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

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

Ala Ser Ile Ser Ala Gly Gly Gly Ile Thr His Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

Lys Asp Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Glu Ser Gly Gly Asp Ile Tyr Ser Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ala

245

250

255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260265270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275280285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290295300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305310315320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu
325330335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys
340345350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355360365

Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370375380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385390395400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
405410415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420425430

Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435440445

Gly Lys
450

<210> 161
<211> 236
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 mut5-PDGF-0058 LC1

<400> 161

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
151015

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Pro Asn Pro Tyr Tyr Tyr Ser Ser Pro Gly Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Pro Ala Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 162
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 mut5-PDGF-0058 LC2

<400> 162

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

<210> 163
<211> 440
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 mut5-PDGF-0085 HC1

<400> 163

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser
100 105 110

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

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
130 135 140

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
145 150 155 160

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

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

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
195 200 205

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
210 215 220

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
225 230 235 240

Lys Asp Thr Leu Met Ala Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
245 250 255

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
260 265 270

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
275 280 285

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln
290 295 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
305 310 315 320

Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
325 330 335

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr
340 345 350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
370 375 380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
385 390 395 400

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys
420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 164
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 mut5-PDGF-0085 HC2

<400> 164

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

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

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

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

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Glu Ser Gly Gly Tyr Thr Asp Trp Leu Phe Gly Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys
450

<210> 165
<211> 236
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 mut5-PDGF-0085 LC1

<400> 165

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Pro Asn Pro Tyr Tyr Tyr Ser Ser Pro Gly Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Pro Ala Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 166
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 mut5-PDGF-0085 LC2
<400> 166

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

Asp Arg Val Ala Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

<210> 167
<211> 440
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 mut5-PDGF-0086 HC1

<400> 167

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser
100 105 110

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

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
130 135 140

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
145 150 155 160

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

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

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
195 200 205

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
210 215 220

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
225 230 235 240

Lys Asp Thr Leu Met Ala Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
245 250 255

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
260 265 270

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
275 280 285

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln
290 295 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
305 310 315 320

Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
325 330 335

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr

340 345 350
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 355 360 365
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 370 375 380
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 385 390 395 400
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 405 410 415
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys
 420 425 430
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440
 <210> 168
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> CrossMab Ang2 mut5-PDGF-0086 HC2
 <400> 168
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Thr Ile Ser Asp Gly Gly Gly Leu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Glu Ser Gly Gly Tyr Thr Asp Trp Leu Phe Gly Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

[illegible]

<210>	169
<211>	236
<212>	PRT
<213>	人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 mut5-PDGF-0086 LC1

<400> 169

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Pro Asn Pro Tyr Tyr Tyr Ser Ser Pro Gly Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Pro Ala Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 170
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CrossMab Ang2 mut5-PDGF-0086 LC2
<400> 170

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 171
<211> 439
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體0117 HCl

<400> 171

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Ser Ala Ser Thr
100 105 110

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

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
130 135 140

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
145 150 155 160

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

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

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
195 200 205

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
210 215 220

Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225 230 235 240

Asp Thr Leu Met Ala Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
245 250 255

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
260 265 270

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
275 280 285

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu Ala Gln Asp
290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305 310 315 320

Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys
340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Ala Tyr Thr Gln Lys Ser
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435

<210> 172
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體0117 HC2

<400> 172

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

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

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

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

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Glu Ser Gly Gly Tyr Thr Asp Trp Leu Phe Gly Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys
450

<210> 173
<211> 230
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體0117LC1

<400> 173

```

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50          55          60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65          70          75          80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
          85          90          95

Ala Lys Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Gly Thr Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
          100          105          110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala
          115          120          125

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
          130          135          140

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
145          150          155          160

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
          165          170          175

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
          180          185          190

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
          195          200          205

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
          210          215          220

```

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 174
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體0117LC2

<400> 174

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

Asp Arg Val Ala Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

•
-
•

-
-

申請專利範圍

1. 一種特異性結合於人類PDGF-B之抗體，其中該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:93之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:94之胺基酸序列的HVR-H2、(c)包含SEQ ID NO:96之胺基酸序列的HVR-H3、(d)包含SEQ ID NO:98之胺基酸序列的HVR-L1、(e)包含SEQ ID NO:99之胺基酸序列的HVR-L2及(f)包含SEQ ID NO:100之胺基酸序列的HVR-L3。
2. 一種特異性結合於人類PDGF-B之抗體，其中該抗體包含(a)包含SEQ ID NO:102之胺基酸序列的HVR-H1、(b)包含SEQ ID NO:103之胺基酸序列的HVR-H2、(c)包含SEQ ID NO:105之胺基酸序列的HVR-H3、(d)包含SEQ ID NO:107之胺基酸序列的HVR-L1、(e)包含SEQ ID NO:108之胺基酸序列的HVR-L2及(f)包含SEQ ID NO:109之胺基酸序列的HVR-L3。
3. 如請求項1或2之抗體，其中該抗體為人類子類IgG1或人類子類IgG4。
4. 如請求項1或2之抗體，其中該抗體藉由抑制人類PDGF-B與人類PDGF受體之結合來阻斷人類PDGF-B之生物活性。
5. 一種醫藥調配物，其包含如請求項1至4中任一項之抗體及視情況醫藥學上可接受之載劑。
6. 如請求項5之醫藥調配物，其進一步包含選自抗ANG2抗體及抗VEGF抗體之額外治療劑。
7. 如請求項1或2之抗體，其用作藥劑。
8. 一種如請求項1至4中任一項之抗體的用途，其用於製造藥劑。
9. 如請求項8之用途，其中該藥劑用於治療眼部血管疾病，較佳用於治療黃斑退化。

10. 如請求項8或9之用途，其中該藥劑用於抑制PDGF-B與PDGF-B受體之間的相互作用。