



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102202655 B

(45) 授权公告日 2013. 06. 19

(21) 申请号 200980142802. 3

A61K 47/26(2006. 01)

(22) 申请日 2009. 08. 25

C07K 16/24(2006. 01)

(30) 优先权数据

61/092, 326 2008. 08. 27 US

(56) 对比文件

US 2007/0218064

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 04. 27

A1, 2007. 09. 20, [0042]-[0044]

段, [0162]-[0165]、[0168] 段.

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/054842 2009. 08. 25

WO 2008/088823 A2, 2008. 07. 24, 说明书第

85 页第 23 行 - 第 86 页第 6 行.

(87) PCT申请的公布数据

W02010/027766 EN 2010. 03. 11

审查员 于莉

(83) 生物保藏信息

ATCC PTA-7803 2006. 08. 17

(73) 专利权人 默沙东公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 李旭红 R·S·卡施 A·巴卡

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 李波 刘健

(51) Int. Cl.

A61K 9/19(2006. 01)

A61K 47/12(2006. 01)

权利要求书1页 说明书17页

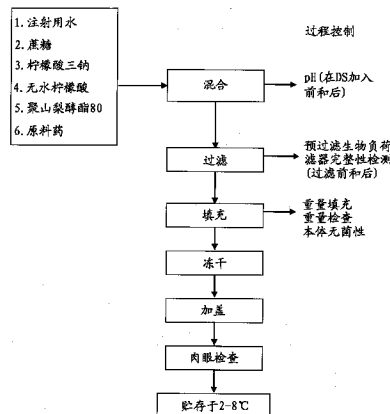
序列表38页 附图7页

(54) 发明名称

基因工程抗 IL-23p19 抗体的冻干制剂

(57) 摘要

本发明提供了抗体的冻干制剂, 所述抗体例如特异性结合人白细胞介素-23p19(IL-23p19)的抗体或其抗原结合片段。



1. 一种抗人 IL-23p19 抗体或其抗原结合片段的冻干药物制剂,其通过冻干水性溶液制备,所述水性溶液包含:

- a) 5-25 mg/mL 抗人 IL-23p19 抗体或其抗原结合片段;
- b) 50 mM 蔗糖;
- c) 0.05 mg/mL 聚山梨醇酯 80 ;和
- d) 2.5 mM 的 pH4.4-5.2 的柠檬酸缓冲液。

2. 权利要求 1 的冻干药物制剂,其中所述抗人 IL-23p19 抗体或其抗原结合片段以 25 mg/mL 在水性溶液中存在。

3. 权利要求 1 的冻干药物制剂,其中所述水性溶液具有 4.8 的 pH。

4. 一种抗人 IL-23p19 抗体或其抗原结合片段的冻干药物制剂,当重构后其包含:

- a) 25-100 mg/mL 抗人 IL-23p19 抗体或其抗原结合片段;
- b) 200mM 蔗糖;
- c) 0.2mg/mL 聚山梨醇酯 80 ;和
- d) 10 mM 的 pH4.4-5.2 的柠檬酸缓冲液。

5. 权利要求 4 的冻干药物制剂,其中抗人 IL-23p19 抗体或其抗原结合片段以 100 mg/mL 在重构溶液中存在。

6. 权利要求 4 的冻干药物制剂,其中所述重构溶液具有 4.8 的 pH。

7. 权利要求 1 或 4 的冻干制剂,其中抗体或其抗原结合片段包含轻链,所述轻链包含选自 SEQ ID NO: 32-46 的 3 个 CDR 序列。

8. 权利要求 1 或 4 的冻干制剂,其中抗体或其抗原结合片段包含重链,所述重链包含选自 SEQ ID NO: 15-31 的 3 个 CDR 序列。

9. 权利要求 1 或 4 的冻干制剂,其中抗体或其抗原结合片段包含:

- i) 包含选自 SEQ ID NO: 32-46 的 3 个 CDR 序列的轻链 ;和
- ii) 包含选自 SEQ ID NO: 15-31 的 3 个 CDR 序列的重链。

10. 权利要求 1 或 4 的冻干制剂,其中抗体或其抗原结合片段包含含有 SEQ ID NO: 14 的 1-108 位残基的轻链可变结构域。

11. 权利要求 1 或 4 的冻干制剂,其中抗体或其抗原结合片段包含含有 SEQ ID NO: 6-8 的 1-116 位残基的重链可变结构域。

12. 权利要求 1 或 4 的冻干制剂,其中抗体或其抗原结合片段包含:

- i) 含有 SEQ ID NO: 14 的轻链 ;和
- ii) 含有选自 SEQ ID NO: 6-8 的序列的重链。

基因工程抗 IL-23p19 抗体的冻干制剂

技术领域

[0001] 本发明一般地涉及治疗用抗体的冻干制剂。

背景技术

[0002] 白细胞介素-23 (IL-23) 是由 2 个亚基 (IL-23 独有的 p19 和与 IL-12 共享的 p40) 组成的异源二聚体细胞因子。p19 亚基在结构上与 IL-6、粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) 和 IL-12 的 p35 亚基相关。IL-23 通过与异源二聚体受体的结合介导信号转导, 所述受体由 IL-23R 和与 IL-12 受体共享的 IL-12 β 1 组成。大量的早期研究证明, 在 p40 (p40 敲除小鼠; p40KO 小鼠) 中遗传缺陷的后果比在 p35KO 小鼠中发现的后果更严重。通过 IL-23 的发现和 p40KO 不仅阻碍 IL-12 的表达而且阻碍 IL-23 的表达的发现最终解释了这些结果中的一部分。见, 例如 Oppmann 等人 (2000) *Immunity* 13:715-725; Wiekowski 等人 (2001) *J. Immunol.* 166:7563-7570; Parham 等人 (2002) *J. Immunol.* 168:5699-708; Frucht (2002) *Sci STKE* 2002, E1-E3; Elkins 等人 (2002) *Infection Immunity* 70:1936-1948)。

[0003] 通过使用 p40 KO 小鼠的最近研究显示 IL-23 和 IL-12 的双阻断可有效治疗多种炎症和自身免疫疾病。然而, 通过 p40 的 IL-12 阻断似乎具有多种系统性后果, 例如对机会微生物感染的易感性提高。Bowman 等人 (2006) *Curr. Opin. Infect. Dis.* 19:245。因此, 在治疗人疾病中优选的是特异性阻断 IL-23 的 p19 亚基, 因为其干预 IL-23 的活性而不干预 IL-12 的活性。

[0004] 治疗用抗体可用于阻断细胞因子活性。使用抗体作为体内治疗剂的显著局限是抗体的免疫原性。因为大多数单克隆抗体源自非人物种, 在人中的多次使用导致针对治疗用抗体的免疫反应的产生。这类免疫反应在最低程度上导致治疗效果的降低, 并可能导致致命的过敏反应。因此, 在人中具有降低的免疫原性的抗体, 例如人源化或完全的人抗体对于以人为对象的治疗是优选的。针对 IL-23p19 的示例性治疗用抗体在美国专利申请公开号 2007/0009526 和国际专利公开号 WO 2007/076524, WO 2007/024846, WO 2007/147019 和 WO 2009/043933 中公开, 这些公开在此处以其整体作为参考引入。另外的人源化抗-IL-23p19 抗体在共同受让 (commonly assigned) 的以国际专利公开号 WO 2008/103432 和 WO 2008/103473 公布的申请和共同受让的美国专利申请公开号 2007/0048315 中公开, 这些公开在此处以其整体作为参考引入。

[0005] 用于人对象的抗体必须在使用前贮存并运输至施用点。在对象中可再生的维持预期水平的抗体药物需要将药物贮存在保持药物生物活性的制剂中。存在对用于例如治疗炎症、自身免疫和增生性疾病的抗人 IL-23p19 抗体制剂需要。优选地, 这些制剂将显示长半衰期, 在贮存和运输时稳定, 并且将经得起以高浓度例如用于皮下施用和低浓度例如用于静脉内施用。

发明内容

[0006] 本发明提供了与人 IL-23p19 结合的结合化合物的冻干制剂,其中结合化合物被定义为人或人源化的抗人 IL-23p19 抗体,或其抗原结合片段。

[0007] 在一个实施方案中,冻干制剂包含人或人源化抗 IL-23p19 抗体(或其抗原结合片段),柠檬酸钠,聚山梨醇酯 80 和蔗糖。在多个实施方案中,用水重构后的制剂 pH 为 4.8 (± 0.4),或 4.8 (± 0.2),例如在 4.6 和 5.0 之间,例如约 4.4, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5.0 或 5.2。在其他实施方案中,pH 为约 5.5。

[0008] 在一些实施方案中,冻干制剂能够以约 25 mg/mL 或更高,约 50 mg/mL 或更高,约 75 mg/mL 或更高或约 100 mg/mL 或更高的浓度重构抗体(或其抗原结合片段)。

[0009] 在一个实施方案中,源自植物(非动物)来源的聚山梨醇酯 80 以与抗体(或其抗原结合片段)相比约 0.2% 的重量比率存在于冻干制剂中。在另一个实施方案中,蔗糖以与抗体(或其抗原结合片段)相比约 70% 的重量比率存在于冻干制剂中。在还另一个实施方案中,柠檬酸钠缓冲液以与抗体(或其抗原结合片段)相比约 2.4% 的重量比率存在于冻干制剂中。

[0010] 在其他实施方案中,本发明的抗人 IL-23p19 抗体或其抗原结合片段的冻干制剂通过下述制备:冻干预冻干溶液,所述预冻干溶液包含 5-25 mg/mL 抗人 IL-23p19 抗体,或其抗原结合片段;约 50 mM 蔗糖;约 0.05 mg/mL 聚山梨醇酯 80;和约 2.5 mM pH4.4-5.2 的柠檬酸缓冲液。在一个实施方案中,预冻干溶液包含约 25 mg/mL 的抗体,或其抗原结合片段。在一个实施方案中,预冻干溶液为约 pH4.8。

[0011] 在还其他实施方案中,本发明的抗人 IL-23p19 抗体或其抗原结合片段的冻干制剂在重构后包含 25-100 mg/mL 抗人 IL-23p19 抗体,或其抗原结合片段;约 200 mM 蔗糖;约 0.2 mg/mL 聚山梨醇酯 80;和约 10 mM pH4.4-5.2 的柠檬酸缓冲液。在一个实施方案中,重构的溶液包含约 100 mg/mL 的抗体,或其抗原结合片段。在一个实施方案中,重构的溶液为约 pH4.8。

[0012] 在还其他实施方案中,在玻璃小瓶中提供冻干制剂。在多个实施方案中,玻璃小瓶包含约 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 67.5, 75, 100, 150, 200, 300, 400, 500 mg/瓶或更多。

[0013] 用于本发明冻干制剂的示例性结合化合物包含抗体轻链可变结构域或其抗原结合片段,其具有选自 SEQ ID NO: 32-46 的 1 个、2 个或 3 个 CDR。在一个实施方案中,本发明的结合化合物包含轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含选自 SEQ ID NO: 32-36 的 CDRL1;选自 SEQ ID NO: 37-41 的 CDRL2;和选自 SEQ ID NO: 42-46 的 CDRL3。

[0014] 在一个实施方案中,用于本发明冻干制剂的结合化合物包含抗体重链可变结构域或其抗原结合片段,其具有选自 SEQ ID NO: 15-31 的 1 个、2 个或 3 个 CDR。在一个实施方案中,本发明的结合化合物包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含选自 SEQ ID NO: 15-19 的 CDRH1;选自 SEQ ID NO: 20-26 的 CDRH2;和选自 SEQ ID NO: 27-31 的 CDRH3。

[0015] 在一些实施方案中轻链和/或重链可变结构域包含一个或多个 CDR 变体。在多个实施方案中变体结构域包含最多 1, 2, 3, 4, 5 或更多个的相对各 SEQ ID NO 序列保守修饰的氨基酸残基。表 1 提供了保守的氨基酸取代。

[0016] 在一些实施方案中轻链可变结构域包含 SEQ ID NO: 14 的 1-108 位残基或其变体。在一些实施方案中重链可变结构域包含选自 SEQ ID NO: 6-8 的 1-116 位残基的序列,

即 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 或 SEQ ID NO: 8。在多个实施方案中变体可变结构域包含最多 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40 或 50 或更多个的相对各 SEQ ID NO 序列保守修饰的氨基酸残基。在另一个实施方案中, 结合化合物包含在此段落中描述的轻链可变结构域和重链可变结构域或其抗原结合片段。

[0017] 在一个实施方案中结合化合物包含 SEQ ID NO: 14 的轻链序列和 / 或选自 SEQ ID NO: 6-8 的重链序列。

[0018] 在其他实施方案中本发明的结合化合物包含基本上由 SEQ ID NO: 14 的 1-108 位残基组成的轻链可变结构域或其抗原结合片段, 和 / 或基本上由选自 SEQ ID NO: 6-8 的 1-116 位残基的序列, 例如 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 或 SEQ ID NO: 8 组成的重链可变结构域或其抗原结合片段。

[0019] 在其他实施方案中本发明的结合化合物包含与 SEQ ID NO: 14 的 1-108 位残基具有至少 75%, 90%, 95%, 98% 或 99% 序列同源性的轻链可变结构域或其抗原结合片段, 和 / 或与选自 SEQ ID NO: 6-8 例如 SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7 或 SEQ ID NO: 8 的 1-116 位残基的序列具有至少 75%, 90%, 95%, 98% 或 99% 序列同源性的重链可变结构域或其抗原结合片段。

[0020] 在一些实施方案中, 本发明的结合化合物还包含重链, 所述重链包含 γ 1, γ 2, γ 3 或 γ 4 人重链恒定区或其变体。在多个实施方案中结合化合物包含轻链, 所述轻链包含 λ 或 κ 人轻链恒定区。

[0021] 在多个实施方案中本发明的结合化合物为选自例如 Fab、Fab'、Fab'-SH、Fv、scFv、F(ab')₂ 和双抗体的抗体片段。

[0022] 在其他实施方案中本发明涉及人或人源化抗 IL-23p19 抗体或其抗原结合片段的冻干制剂用于治疗疾病的用途, 所述疾病包括但不限于炎症性疾病、自身免疫性疾病、癌症、传染病(例如细菌、分枝杆菌、病毒或真菌感染、包括慢性感染)、关节炎、牛皮癣、炎症性肠炎、多发性硬化、葡萄膜炎、系统性红斑狼疮和糖尿病。

[0023] 本发明提供了包含此处阐述的任一种冻干制剂的容器(例如, 玻璃小瓶)。本发明还提供了注射装置(例如皮下注射用针头和注射器、自动注射器、冻干筒(lyophilization cartridge)), 所述装置包含稀释剂和人或人源化抗 IL-23p19 抗体或其抗原结合片段的冻干制剂。

附图说明

[0024] 图 1 提供了本发明抗 IL-23p19 抗体冻干制剂的制备过程流程图。所述过程在下文的实施例 1 中更充分地描述。

[0025] 图 2 显示了人源化抗人 IL-23p19 抗体冻干制剂在 pH5.5 和 5°C 下贮存的稳定性数据(18 个月), 在实施例 2 中更详细地讨论。

[0026] 图 3 显示了人源化抗人 IL-23p19 抗体冻干制剂在 pH5.5 和 25H 下贮存的稳定性数据(18 个月), 在实施例 2 中更详细地讨论。

[0027] 图 4 显示了人源化抗人 IL-23p19 抗体冻干制剂在 pH5.5 和 RH4 下贮存的稳定性数据(9 个月), 在实施例 2 中更详细地讨论。

[0028] 图 5 显示了人源化抗人 IL-23p19 抗体冻干制剂在 pH4.8 和 5°C 下贮存的稳定性数

据(12个月),在实施例2中更详细地讨论。

[0029] 图6显示了人源化抗人IL-23p19抗体冻干制剂在pH4.8和25H下贮存的稳定性数据(12个月),在实施例2中更详细地讨论。

[0030] 图7显示了人源化抗人IL-23p19抗体冻干制剂在pH4.8和RH4下贮存的稳定性数据(3个月),在实施例2中更详细地讨论。

具体实施方式

[0031] 如本文使用的,包括随附的权利要求书,除非上下文中明确的另外指出,词语的单数形式例如“一”(“a”,“an”)和“其”(“the”)包括其对应的复数形式。下表6提供了在此申请中使用的序列标识符的列表。除非另外指出,本文提及的蛋白质和对象为人蛋白质和对象,而不是其他物种。

[0032] 本文引用的所有参考都通过参考引入,如同各个单独出版物、数据库条目(例如Genbank序列或GeneID条目)、专利申请或专利被明确和单独地说明通过参考引入一样。此通过参考引入的声明由申请人依照37 C.F.R. § 1.57(b)(1)提出,涉及各个和每个单独的出版物、数据库条目(例如Genbank序列或GeneID条目)、专利申请或专利,其中各个都依照37 C.F.R. § 1.57(b)(2)明确的确定,即使这些引用不紧接于引入参考的专门声明。如果包含,在说明书中的包含的引入参考的专门声明不以任何方式弱化此引入参考的一般声明。本文参考的引用无意承认所述参考为有关的现有技术,其也不构成对这些出版物或文件的内容或日期的承认。

[0033] 本发明提供了基因工程的抗IL-23p19抗体的冻干制剂,及其在治疗炎性、自身免疫和增生性疾病中的用途。在一些实施方案中,本发明的冻干制剂包含人源化抗IL-23p19抗体或其结合片段,如在共同未决、共同受让的国际专利公开号WO 2008/103432中所公开的,所述公开在此作为参考引入。

[0034] I. 定义

[0035] “增生性活性”包括促进例如正常细胞分裂,以及癌症、肿瘤、发育异常、细胞转化、转移和血管生成(即其所必需的或与其特异性联系)的活性。

[0036] 如本文使用的,术语“抗体”指展示预期生物学活性的任意形式的抗体。因此,其在最广义的意义上使用,特别包含单克隆抗体(包括全长单克隆抗体),多克隆抗体,多特异性抗体(例如,双特异性抗体),嵌合抗体,人源化抗体,完全的人抗体等等,只要它们展示了预期的生物学活性。

[0037] 如本文使用的,术语“IL-23p19结合片段”,“其抗原结合片段”,“其结合片段”或“其片段”包含抗体的片段或衍生物,其基本上保留它的结合抗原(人IL-23p19)并抑制抗原的活性的生物学活性。因此,术语“抗体片段”或IL-23p19结合片段指全长抗体的一部分,一般指其抗原结合或可变区。抗体片段的实例包括Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv片段;双抗体;线性抗体;单链抗体分子,例如sc-Fv;和由抗体片段形成的多特异性抗体。通常地,结合片段或衍生物保留至少10%的其IL-23p19抑制活性。优选地,尽管具有足够亲和力以发挥期望的生物学作用的任意结合片段是有用的,但是结合片段或衍生物保留至少25%,50%,60%,70%,80%,90%,95%,99%或100%(或更多)的其IL-23p19抑制活性。还意图是IL-23p19结合片段可包括基本上不改变其生物学活性的具有保守氨基酸取代的变体。

[0038] “结构域抗体”是仅包含重链可变区或轻链可变区的具有免疫学功能的免疫球蛋白片段。在一些情况中,2个或更多 V_H 区通过肽接头共价连接以产生双价结构域抗体。双价结构域抗体的2个 V_H 区可靶向相同或不同的抗原。

[0039] “双价抗体”包含2个抗原结合位点。在一些情况中,2个结合位点具有相同的抗原特异性。然而,双价抗体可为双特异性的。如本文使用的,术语“双特异性抗体”指抗体,一般是单克隆抗体,所述抗体对至少2种不同的抗原表位,例如 IL-23p19 和 IL-17 具有结合特异性。在一个实施方案中,表位来自相同的抗原。在另一个实施方案中,表位来自2种不同的抗原。制备双特异性抗体的方法是本领域已知的。例如,可使用2种免疫球蛋白重链/轻链对的共表达重组制备双特异性抗体。见,例如 Milstein 等人 (1983) Nature 305: 537-39。可选地,可使用化学连接制备双特异性抗体。见,例如 Brennan 等人 (1985) Science 229:81。双特异性抗体包括双特异性抗体片段。见,例如 Holliger 等人 (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 90:6444-48, Gruber 等人 (1994) J. Immunol. 152:5368。

[0040] 如本文使用的,术语“单链 Fv”或“scFv”抗体指包含抗体 V_H 和 V_L 结构域的抗体片段,其中这些结构域以单多肽链存在。通常地,Fv 多肽还包含在 V_H 和 V_L 结构域之间的多肽接头,所述接头使 sFv 能够形成期望的用于抗原结合的结构。sFv 的综述见 Pluckthun (1994) The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315。

[0041] 本文的单克隆抗体还包含 camelized 单结构域抗体。见,例如 Muyldermans 等人 (2001) Trends Biochem. Sci. 26:230; Reichmann 等人 (1999) J. Immunol. Methods 231:25; WO 94/04678; WO 94/25591; 美国专利号 6,005,079。在一个实施方案中,本发明提供了单结构域抗体,其包含2个具有修饰的 V_H 结构域,以使单结构域抗体形成。

[0042] 如本文使用的,术语“双抗体”指具有2个抗原结合位点的小抗体片段,所述片段在同一多肽链上 (V_H - V_L 或 V_L - V_H) 包含与轻链可变结构域 (V_L) 相连的重链可变结构域 (V_H)。通过使用太短而不能使同一链的2个结构域之间配对的接头,迫使结构域与另一条链的互补结构域配对并产生2个抗原结合位点。双抗体在例如 EP 404,097; WO 93/11161 和 Holliger 等人 (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 中更充分地描述。基因工程抗体变体的综述一般参见 Holliger 和 Hudson (2005) Nat. Biotechnol. 23:1126-1136。

[0043] 如本文使用的,术语“人源化抗体”指含有来自非人(例如,鼠)抗体和人抗体序列的抗体形式。这些抗体包含源自非人免疫球蛋白的最少序列。通常地,人源化抗体应基本上包含至少一个,通常2个可变结构域的全部,其中全部或基本上全部的高变环对应非人免疫球蛋白的高变环,以及全部或基本上全部的FR区为人免疫球蛋白序列的FR区。人源化抗体任选地还包含免疫球蛋白恒定区 (Fc) 的至少一部分,通常为人免疫球蛋白的至少一部分。当必须区分人源化抗体(例如 hum13B8)和亲本啮齿类抗体(例如小鼠 13B8, 或 m13B8)时,在抗体克隆名称前添加前缀“hum”,“hu”和“h”。啮齿类抗体的人源化形式通常包含与亲本啮齿类抗体相同的 CDR 序列,尽管可包含某些氨基酸取代以提高亲和力,提高人源化抗体的稳定性或其他原因。

[0044] 本发明的抗体还包括具有修饰的(或阻断的)Fc区的抗体以提供改变的效应物功

能。见例如美国专利号 5,624,821; WO2003/086310; WO2005/120571; WO2006/0057702; Presta (2006) *Adv. Drug Delivery Rev.* 58:640-656。这些修饰可用于增强或抑制多种免疫系统反应,在诊断和治疗中具有可能的有益作用。Fc 区的改变包括氨基酸改变(取代、缺失和插入),糖基化或去糖基化,和添加多个 Fc。对 Fc 的改变也可改变治疗用抗体中的抗体半衰期,更长的半衰期可导致更低频率的给药,同时提高方便性和降低材料的使用。见 Presta (2005) *J. Allergy Clin. Immunol.* 116:731 第 734-35 页。

[0045] 术语“完全的人抗体”指仅包含人免疫球蛋白蛋白质序列的抗体。如果在小鼠,小鼠细胞或源自小鼠细胞的杂交瘤中生产,完全的人抗体可包含鼠糖链。类似地,“小鼠抗体”指仅包含小鼠免疫球蛋白序列的抗体。完全的人抗体可在人中产生,和通过噬菌体展示或其他分子生物学方法在具有人免疫球蛋白种系序列的转基因动物中产生。

[0046] 如本文使用的,术语“高变区”指负责抗原结合的抗体氨基酸残基。高变区包含来自“互补决定区”或“CDR”的氨基酸残基(例如在轻链可变结构域中的 24-34 位 (CDRL1), 50-56 位 (CDRL2) 和 89-97 位 (CDRL3) 残基和在重链可变结构域中的 31-35 位 (CDRH1), 50-65 位 (CDRH2) 和 95-102 位 (CDRH3) 残基 (Kabat 等人 (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.)) 和 / 或来自“高变环”的残基(即在轻链可变结构域中的 26-32 位 (L1), 50-52 位 (L2) 和 91-96 位 (L3) 残基和在重链可变结构域中的 26-32 位 (H1), 53-55 位 (H2) 和 96-101 位 (H3) 残基 (Chothia 和 Lesk (1987) *J. Mol. Biol.* 196: 901-917))。如本文使用的,术语“框架”或“FR”残基指除了本文定义为 CDR 残基的高变区残基以外的那些可变结构域残基。上面的残基编号涉及 Kabat 编号系统,并不必需地详细对应于随附的序列表中的序列编号。

[0047] 如本文使用的,“结合化合物”指与人 IL-23p19 或这种抗体的任意抗原结合片段或衍生物结合的人或人源化抗体。

[0048] “保守修饰的变体”或“保守取代”指本领域技术人员已知的氨基酸取代,通常可进行这些取代而不改变所得分子的生物学活性,即使在多肽的必要区域中进行取代。这些示例性取代优选地根据表 1 所示的下述取代进行:

[0049] 表 1

[0050] 示例性保守氨基酸取代

[0051]

原始残基	保守取代
Ala (A)	Gly; Ser
Arg (R)	Lys; His
Asn (N)	Gln; His
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln
Ile (I)	Leu; Val
Leu (L)	Ile; Val
Lys (K)	Arg; His

Met (M)	Leu; Ile; Tyr
Phe (F)	Tyr; Met; Leu
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe
Val (V)	Ile; Leu

[0052] 此外,本领域技术人员承认,通常在多肽非必要区中的单个氨基酸取代基本上不改变生物学活性。见例如 Watson 等人 (1987) *Molecular Biology of the Gene*, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (第四版)。

[0053] 在说明书和权利要求书中通篇使用的词语“基本上由……组成”(“consists essentially of,” 或例如 “consist essentially of” 或 “consisting essentially of” 的变化)指包含任意列举的成分或成分组,和任选地包含与列举的成分类似或不同性质的其他元件,所述其他元件不实质改变特定剂量方案、方法或组合物的基本或新颖性质。作为非限制性实例,基本上由列举的氨基酸序列组成的结合化合物也可包含不实质影响结合化合物的性质的一个或多个氨基酸,所述氨基酸包含一个或多个氨基酸残基的取代。

[0054] “免疫病症”或“免疫疾病”包含例如病理学炎症,炎性疾病,自身免疫疾病或病。“免疫病症”也指感染,持续感染和增生性病症,例如癌症,肿瘤和血管生成,包括对抗免疫系统清除的感染,肿瘤和癌症。“癌性病症”包括例如癌症,癌症细胞,肿瘤,血管生成和癌前期病症例如发育异常。

[0055] “炎性疾病”指下述疾病或病理学病症,其中病理来自整体或部分的例如免疫系统细胞数目改变,迁移率改变或活化改变。免疫系统细胞包括例如 T 细胞, B 细胞,单核细胞或巨噬细胞,抗原呈递细胞 (APC),树突细胞,小胶质细胞, NK 细胞, NKT 细胞,中性粒细胞,嗜酸性粒细胞,肥大细胞或任意其他特异性与免疫学关联的细胞,例如产生细胞因子的内皮或上皮细胞。

[0056] 所考虑的方法的抗体,或源自抗体的抗原结合位点的结合组合物与抗原结合的亲和力是无关抗原的亲力的至少 2 倍,优选地至少 10 倍,更优选的至少 20 倍,最优选的至少 100 倍。在一个优选的实施方案中抗体具有的亲和力高于约 10^9 升/摩尔,通过例如 Scatchard 分析测定。Munsen 等人 (1980) *Analyt. Biochem.* 107:220-239。

[0057] “重构”制剂为通过在稀释液中溶解冻干的蛋白质制剂制备的制剂,从而使蛋白质在重构制剂中分散。重构的制剂适于施用,例如胃肠外施用,并任选地可适于皮下施用。

[0058] “等渗”制剂具有与人血液基本上相同的渗透压。等渗制剂通常具有约 250 至 350 mOsm 的渗透压。等渗性可使用例如蒸汽压或冰冻型渗压计测量。

[0059] II. 人或人源化抗 IL-23p19 抗体

[0060] 本发明的冻干制剂可使用通常地包括人或人源化抗 IL-23p19 抗体的抗体,如本文公开的这些。提供了抗人 IL-23p19 抗体 13B8 的人源化形式。依照布达佩斯条约在美国典型培养物保藏中心 (ATCC-Manassas, Virginia, USA) 于 2006 年 8 月 17 日贮藏了表达抗体 13B8 的杂交瘤,编号 PTA-7803。本文公开的其他抗体的人源化形式可通过替换在人源化 13B8 抗体中公开的人框架构建。用本文公开的作为人源化抗体 13B8 的一部分人框架替换最适于与 13B8 具有类似 CDR 序列的抗体。

[0061] 提供了抗人 IL-23p19 抗体 m1A11、m11C1、m5F5、m21D1、m13B8、h13B8a、h13B8b 和 h13B8c 的序列。在各自序列标识符之后提供了 CDR,如表 6 中所示。当提及抗体时,前缀“m”表示鼠抗体,“h”表示人抗体。“后缀”“a”,“b”和“c”指人源化 13B8 重链可变结构域的序列变体,在下文中更详细的讨论。

[0062] 通常地,人源化抗 IL-23p19 抗体的氨基酸序列变体与重链或轻链的原始人源化抗体的氨基酸序列具有至少 75% 的氨基酸序列同一性,更优选的至少 80%,更优选的至少 85%,更优选的至少 90%,最优选的至少 95, 98 或 99%。将此序列同一性或同源性在本文定义为在序列比对和如果必要引入缺口以获得最大序列同一性百分比而不考虑任意保守取代作为序列同一性的一部分后,与人源化抗 IL-23 残基相同的候选序列中的氨基酸残基百分比。不应将抗体序列的 N-端,C-端或内部延伸,缺失或插入理解为影响序列同一性或同源性。

[0063] 本文提供本发明抗 IL-23p19 抗体的结构-功能数据如下。本领域技术人员应认识到,CDR 序列的改变预计将对抗原结合亲和力具有最显著的影响。Murphy 等人, Janeway's Immunobiology, 第七版, 2008, 第三章。在序列表中提供了本发明抗 IL-23p19 抗体的 CDR 区。此外,将本文公开的抗体互相比较可用于确定哪些残基对抗原结合是最关键的,因此对生物学活性也是最关键的。此外,本发明提供了 13B8 抗体的几个序列变体,包括重链变体 13B8 HC-a、13B8 HC-b 和 13B8 HC-c,提供了原始的鼠 CDRH2 序列 (13B8 HC-a) 和 2 个其变体。见表 2。

[0064] 人或人源化抗体可选自任意种类的免疫球蛋白,包括 IgM, IgG, IgD, IgA 和 IgE。优选地,抗体为 IgG 抗体。可使用 IgG 的任意同种型,包括 IgG₁, IgG₂, IgG₃ 和 IgG₄。本文提供的人源化 V_L 和 V_H 区可添加不同的恒定结构域。例如,如果本发明抗体(或片段)的特定计划用途是引起改变的效应物功能,可使用 IgG1 以外的重链恒定结构域。尽管 IgG1 抗体提供了长半衰期和效应物功能,例如补体活化和抗体依赖性细胞毒性,这些活性可能不适用于所述抗体的用途。在这种情况下可使用例如 IgG4 恒定结构域。

[0065] 类似地,在组合物和本文的方法中可使用任意种类的轻链。特别地,κ、λ 或其变体可用于本发明的组合物和方法。

[0066] 根据 Kabat 的标准序列定义测定 CDR 和 FR 残基。Kabat 等人 (1987) Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda Md. SEQ ID NO: 1-5 显示了多种小鼠抗人 IL-23p19 抗体的重链可变结构域序列,SEQ ID NO: 9-13 描述了轻链可变结构域序列。图 1 和 2 提供了多种本发明抗体的重链和轻链可变结构域的序列阵(lineup)。在图中指示了 CDR,使用如表 6 中指示的唯一的序列标识符显示了各个 CDR 序列。

[0067] 提供了抗体 13B8 的人源化形式。SEQ ID NO: 14 提供了人源化轻链 13B8 序列(具有 κ 恒定区),轻链可变结构域包含该序列的 1-108 位残基。SEQ ID NO: 6-8 提供了人源化重链 13B8 序列(具有 γ 1 恒定区)的 3 个版本,重链可变结构域包含这些序列的 1-116 位残基。表 2 显示了 13B8 重链变体,用黑体显示了与亲本序列的区别。将 Met (M) 修饰为 Lys (K) 以避免残基氧化和抗体失活的可能。用 AQKLQ 取代 NEMFE 是将鼠 CDR 序列用选择的人框架的人种系序列替换以人源化抗体。

[0068] 表 2

[0069] 抗体 13B8 CDRH2 变体

[0070]

抗体	CDRH2 序列	SEQ ID NO:
m13B8, h13B8-a	QIFPASGSADYNEMFEG	24
h13B8-b	QIFPASGSADYNEKFEG	25
h13B8-c	QIFPASGSADYAQKLQG	26

[0071] 本文公开的其他抗体的人源化形式可通过将亲本啮齿类抗体 CDR 简单替换至 SEQ ID NO: 14 和 6 提供的人源化 13B8 的轻链和重链序列而产生。此方法对具有与抗体 13B8 的 CDR 具有高同源性的 CDR 的抗体链最有可能成功,例如重链的克隆 11C1 和轻链的克隆 11C1 和 21D1。可选地,鼠抗体可使用本文概述的方法独立地人源化,例如见实施例 1。

[0072] 在一个实施方案中,CDR 包括本文公开的任意单个序列 CDR (SEQ ID NO: 15-46) 的变体,其中变体与公开的序列相比包含 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多个保守氨基酸取代,如使用表 1 的数据所测定的。

[0073] 提供的重链和轻链序列 (SEQ ID NO: 6-8 和 16) 不含信号序列。SEQ ID NO: 51 和 52 分别提供了示例性重链和轻链信号序列。可将信号序列,或编码信号序列的核酸序列添加至各抗体链的 N-端以产生用于从宿主细胞分泌的前体蛋白质。也可使用替代的信号序列,在“SPdb: a Signal Peptide Database.” Choo 等人 (2005) BMC Bioinformatics 6:249 中可找到一些。

[0074] III. 人源化抗 IL-23 的生物学活性

[0075] 皮肤、关节、CNS 的炎性疾病和增生性疾病引发类似的免疫反应,因此 IL-23 阻断应当提供这些免疫介导的炎症疾病的抑制,但不包含宿主对抗系统性感染的能力。拮抗 IL-23 应当缓解与炎性肠病、Crohn's 病、溃疡性结肠炎、风湿性关节炎、银屑病关节炎、牛皮癣、强直性脊柱炎和特应性皮炎相关的炎症。使用 IL-23 抑制剂也提供了增生性疾病的抑制,例如癌症和自身免疫疾病,例如多发性硬化, I 型糖尿病和 SLE。在这些多种疾病中对 IL-23 的描述可见以下公开的 PCT 申请: WO 04/081190; WO 04/071517; WO 00/53631 和 WO 01/18051。IL-23 抑制剂还可用于治疗感染,包括慢性感染,例如细菌、分枝杆菌、病毒和真菌感染。

[0076] 本发明的冻干制剂包括当重构时具有生物学活性的抗体及其片段。如本文使用的,术语“生物学活性”指抗体或抗体片段能够结合预期的抗原表位并直接或间接地发挥生物学作用。通常地,这些作用由 IL-23 与其受体的结合失败而引起。如本文使用的,术语“特异性的”指抗体与靶抗原表位的选择性结合。通过在给定的条件设置下比较抗体与 IL-23 的结合和与无关抗原或抗原混合物的结合,可检测抗体的结合特异性。如果抗体结合 IL-23 是结合无关抗原或抗原混合物的至少 10 倍,优选地 50 倍,则认为抗体是特异性的。与 IL-12 结合的抗体不是 IL-23 特异性抗体。与 IL-23p19 “特异性结合”的抗体不与不含有 IL-23p19 衍生序列的蛋白质结合,即如本文使用的“特异性”指 IL-23p19 特异性,而不是所述蛋白质中可能存在的任意其他序列。例如,如本文使用的,与 IL-23p19 “特异性结合”的抗体通常与 FLAG[®]-hIL-23p19 结合,FLAG[®]-hIL-23p19 为包含 IL-23p19 和 FLAG[®] 肽标

签的融合蛋白,但所述抗体不与单独的或与 IL-23p19 以外的蛋白质融合的 FLAG[®] 肽标签结合。

[0077] 本发明的 IL-23 特异性结合化合物,例如抑制性 IL-23p19 特异性抗体,可以任何方式抑制其生物学活性,包括但不限于通过腹膜巨噬细胞产生 IL-1 β 和 TNF 和通过 T_H17 细胞产生 IL-17。见 Langrish 等人 (2004) Immunol. Rev. 202:96-105。抗 IL-23p19 抗体也能够抑制 IL-17A、IL-17F、CCL7、CCL17、CCL20、CCL22、CCR1 和 GM-CSF 的基因表达。见 Langrish 等人 (2005) J. Exp. Med. 201:233-240。本发明的 IL-23 特异性结合化合物,例如抗 IL-23p19 抗体也阻断 IL-23 的能力以提高 T_H17 细胞的增殖或存活。Cua 和 Kastelein (2006) Nat. Immunol. 7:557-559。基因工程的抗 IL-23p19 的抑制性活性可用于治疗炎性、自身免疫和增生性疾病。这些疾病的实例在 PCT 专利申请公开 WO 04/081190; WO 04/071517; WO 00/53631; 和 WO 01/18051 中描述。

[0078] 本发明的制剂可用于例如人或人源化抗 IL-23p19 抗体(或其抗原结合片段)的贮存和运输,所述抗体用于治疗或预防与升高的 IL-23 或 IL-23p19 活性相关的疾病,例如 Th17 介导的疾病,自身免疫或慢性炎性疾病,或癌症。

[0079] IV. 冻干的药物组合物

[0080] 治疗用蛋白质的冻干制剂提供了一些优势。冻干制剂通常比溶液制剂具有更高的化学稳定性,因此增加了半衰期。冻干制剂可根据临床因素例如施用途径或剂量以不同浓度重构。例如,如果必需皮下施用,冻干制剂可以高浓度(即在小体积中)重构;或如果静脉内施用,则以低浓度重构。如果特定对象需要高剂量,特别是如果皮下施用,其中注射体积必须最小化,则高浓度也可为必需的。在美国专利号 6,267,958 中公开了一种这样的冻干抗体制剂,在此以其整体作为参考引入。在美国专利号 7,247,707 中公开了另一种治疗用蛋白质的冻干制剂,在此以其整体作为参考引入。

[0081] 通常地,在以药物产品(DP,在这种情况下为人或人源化抗 IL-23p19 抗体或其抗原结合片段)高浓度重构的预期下,即在小体积水中重构的预期下,制备冻干制剂。之后可容易地使用水或等渗缓冲液的后续稀释将 DP 稀释至更低的浓度。通常地,在本发明的冻干制剂中包括下述水平的赋形剂,即当以高 DP 浓度重构时,例如用于皮下施用时,可导致大体等渗的制剂。在大体积水中的重构以得到较低 DP 浓度肯定会降低重构溶液的张力,但是在非皮下施用的情况下,例如静脉施用中,这样的降低影响不大。如果在较低 DP 浓度下期望等渗性,可在标准小体积水中重构冻干粉末,之后再用水或等渗稀释液例如 0.9% 氯化钠稀释。

[0082] 在本发明的一个实施方案中,人或人源化抗 IL-23p19 抗体(或其抗原结合片段)被配制为冻干粉末用于皮下或静脉内施用。一种这类制剂在表 3 中提供和在实施例 1 中描述。在一个实施方案中,以约 50mg/小瓶提供抗体(或其抗原结合片段),并在使用前用无菌注射用水重构。如果需要,可使用水或 0.9% 氯化钠注射 USP 在无菌 IV 容器中无菌稀释重构的抗体。重构制剂的靶 pH 为 4.8 \pm 0.4,或任选地 4.8 \pm 0.2。在多个实施方案中,本发明的冻干制剂能够将人或人源化抗 IL-23p19 抗体重构至高浓度,例如约 20, 25, 30, 40, 50, 60, 75, 100mg/mL 或更高。

[0083] 本发明特别提供了冻干制剂,其包含人或人源化抗 IL-23p19 抗体,约 pH4.8 或约 pH5.5,例如约 3.5, 3.8, 4.2, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5.0, 5.2, 5.5 或 5.8, 更优选约

4.6, 4.7, 4.8, 4.9 或 5.0 的柠檬酸缓冲液。当列举 pH 值范围时,例如“在 pH4.4 和 5.2 之间的 pH”,所述范围旨在包括列举的数值。除非另外说明,pH 指在本发明冻干制剂重构后的 pH。pH 在 25°C 下使用标准玻璃泡 pH 计测量。如本文使用的,包含“pH X 的柠檬酸缓冲液”的溶液指溶液的 pH 为 X 并包含柠檬酸缓冲液,即 pH 旨在指溶液的 pH。

[0084] 表 3 和 4 (实施例 1) 中的制剂反映了在小瓶中冻干的和重构后的批次制剂中的成分重量。根据定义冻干制剂基本上是干燥的,因此浓度的概念不可用于描述它们。以单位剂量小瓶中的成分重量来描述冻干制剂更实用,但这是有问题的,因为其会根据不同剂量或小瓶大小而变化。在描述本发明的冻干制剂时,以在相同样品中(例如小瓶)相对原料药(drug substance, DS)重量的成分重量比率来表达成分的量是有用的。这种比率可以百分比表达。这类比率反映了本发明冻干制剂的固有性质,而不依赖于小瓶大小、剂量和重构方案。

[0085] 在其他实施方案中,以用于制造冻干制剂的预冻干溶液,例如表 3 公开的预冻干溶液,来定义抗人 IL-23p19 抗体或抗原结合片段的冻干制剂。预冻干溶液可包含抗体或其抗原结合片段,以约 1, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 mg/mL 或更高的浓度。这些预冻干溶液可为 pH4.4-5.2, 例如约 pH4.8, 或可为约 pH5.5。

[0086] 在还其他实施方案中,以从冻干制剂产生的重构溶液,例如表 4 公开的重构溶液,来定义抗人 IL-23p19 抗体或抗原结合片段的冻干制剂。重构溶液可包含抗体或其抗原结合片段,以约 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 75, 80, 90 或 100 mg/mL 或更高的浓度。这些重构溶液可为 pH4.4-5.2, 例如约 pH4.8, 或可为约 pH5.5。

[0087] 本发明的冻干制剂由预冻干溶液经冻干(冷冻干燥)形成。通过冷冻制剂和之后在适于一次干燥(primary drying)的温度下升华水进行冷冻干燥。在此条件下,产物温度低于制剂的共晶点或塌陷温度。通常地,一次干燥的存放温度范围在约 -30 至 25°C (假设产物在初级干燥中保持冷冻),并在范围通常从约 50 至 250mTorr 的合适压力下。制剂,放置样品的容器(例如,玻璃小瓶)大小和类型和液体的体积决定干燥所需的时间,其范围可从几小时至几天(例如 40-60 小时)。二次干燥阶段可在约 0-40°C 中进行,主要取决于容器的类型和大小和应用的蛋白质的种类。二次干燥时间由期望的产物中的残余湿度水平决定,通常需要至少约 5 小时(例如 10-15 小时)。通常地,冻干制剂的含湿量低于约 5%,优选低于约 3%。压力可与在一次干燥步骤中应用的相同。取决于制剂和小瓶大小,冷冻干燥条件可以变化。

[0088] 在一些情况下,可期望在进行蛋白质重构的容器中冻干蛋白质制剂以避免转移步骤。此种情况下的容器可为例如 3, 5, 10, 20, 50 或 100 cc 小瓶。

[0089] 在施用前重构本发明的冻干制剂。可以约 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 75, 80, 90 或 100 mg/mL 或更高的浓度重构蛋白质。当计划皮下递送重构的制剂时,高蛋白质浓度特别有用。然而,对于其他施用途径例如静脉内施用,可能需要较低浓度的蛋白质(例如从约 5-50mg/mL)。

[0090] 重构通常在约 25°C 的温度下进行以保证完全水合,尽管如果需要可以应用其他温度。重构所需的时间将取决于例如稀释剂的种类,赋形剂和蛋白质的量。示例性稀释剂包括无菌水,注射用抑菌水(BWFI),pH 缓冲溶液(例如,磷酸盐缓冲液),无菌盐溶液,林格氏溶液(Ringer's solution)或葡萄糖溶液。稀释剂任选地包含防腐剂。示例性防腐剂在上面

已有描述,优选防腐剂为芳香醇例如苯甲醇或酚醇。通过评估与蛋白质相容的不同防腐剂浓度和防腐剂效力检测决定应用的防腐剂量。例如,如果防腐剂为芳香醇(例如苯甲醇),其可以约 0.1-2.0% 和优选约 0.5-1.5%,但最优选约 1.0-1.2% 的量存在。

[0091] 许多参考文献可用于易化药学可接受的载体或赋形剂的选择。见,例如 Remington's Pharmaceutical Sciences 和 U.S. Pharmacopeia: National Formulary, Mack Publishing Company, Easton, PA (1984); Hardman 等人 (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, NY; Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, NY; Avis 等人 (编) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY; Lieberman, 等人 (编) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY; Lieberman 等人 (编) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY; Weiner and Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, NY。

[0092] 毒性是选择治疗剂合适剂量的主要考虑因素,所述治疗剂例如人或人源化抗 IL-23p19 抗体(或其抗原结合片段)。单独或与免疫抑制剂组合施用的抗体组合物的毒性和治疗效力可通过标准药理学程序在细胞培养物或实验动物中测定,例如测定 LD₅₀ (对 50% 群体致死的剂量)和 ED₅₀ (对 50% 群体治疗有效的剂量)。毒性和治疗效果的剂量比率是治疗指数,其可表示为 LD₅₀ 相对 ED₅₀ 的比率。优选展示高治疗指数的抗体。从这些细胞培养实验和动物研究中获得的数据可用于制定在人中使用的剂量范围。这些化合物的剂量优选在包括 ED₅₀ 和具有少量或无毒性的循环(circulating)浓度范围内。剂量可在此范围内变化,取决于应用的剂量形式和使用的施用途径。

[0093] 合适的施用途径可包括例如口服、直肠、经粘膜或肠内施用;胃肠外递送,包括肌肉内、皮内、皮下、髓内注射,以及鞘内、直接心室内、静脉内、腹膜内、鼻内或眼内注射。可用许多传统方式施用药物,例如口服摄入、吸入肺部、局部施用或皮肤、皮下、腹膜内、胃肠外、动脉内或静脉内注射。必须限制溶液体积的施用模式(例如,皮下施用)需要冻干制剂能够以高浓度重构。

[0094] 可选地,可以局部而非全身方式施用抗体,例如,通过将抗体直接注射至由免疫病理学表征的发炎关节或病原体引起的损伤处,所述抗体通常包含在储存或持续释放的制剂中。此外,可在靶向的药物递送系统中施用抗体,例如在靶向例如由免疫病理学表征的发炎关节或病原体引起的损伤处的包被组织特异性抗体的脂质体中。脂质体将靶向受损的组织并由其选择性摄取。

[0095] 选择治疗的施用方案取决于一些因素,包括实体的血清或组织转换率(turnover rate)、症状水平、实体的免疫原性和在生物基质中靶细胞的可及性。优选地,施用方案最大化递送至患者的治疗量并具有可接受的副作用水平。因此,递送的生物量部分取决于特定的实体和治疗的病症严重性。选择抗体、细胞因子和小分子的合适剂量的指导是可利用的。见例如 Wawrzynczak (1996) Antibody Therapy, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK; Kresina (编) (1991) Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis, Marcel Dekker, New York, NY; Bach (编) (1993) Monoclonal Antibodies

and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases, Marcel Dekker, New York, NY; Baert 等人 (2003) *New Engl. J. Med.* 348:601-608; Milgrom 等人 (1999) *New Engl. J. Med.* 341:1966-1973; Slamon 等人 (2001) *New Engl. J. Med.* 344:783-792; Beniaminovitz 等人 (2000) *New Engl. J. Med.* 342:613-619; Ghosh 等人 (2003) *New Engl. J. Med.* 348:24-32; Lipsky 等人 (2000) *New Engl. J. Med.* 343:1594-1602; Physicians' Desk Reference 2003 (Physicians' Desk Reference, 第 57 版); Medical Economics Company; ISBN: 1563634457; 第 57 版 (2002 年 11 月)。

[0096] 临床医师决定合适的剂量,例如使用本领域已知或疑为的影响治疗或预计影响治疗的参数或因素。蛋白质的合适剂量(“治疗有效量”)将取决于例如待治疗的病症,病症的严重性和进程(course),是否为了预防或治疗目的施用蛋白质,以前的治疗,患者的临床史和对蛋白质的反应,使用的蛋白质类型和主治医师的判断。通常地,使用比最佳剂量略少的量开始剂量,之后以小量递增来提高剂量直至得到相对于任意不良副作用的预期或最佳效果。重要的诊断测量包括这些症状,例如炎症或产生的炎性细胞因子的水平。单次或重复对患者合适地施用蛋白质。可单独或与其他药物或治疗组合施用蛋白质。

[0097] 可通过连续输注或通过在不同时间间隔的剂量提供抗体、抗体片段或细胞因子,所述时间间隔为例如 1 天,每周 1-7 次,1 周,2 周,每个月,每 2 个月等等。优选剂量方案涉及避免显著不期望的副作用的最大剂量或剂量频率。每周总剂量通常为至少 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 0.2 mg/kg , 1.0 mg/kg , 2.0 mg/kg , 10 mg/kg , 25 mg/kg , 50 mg/kg 体重或更多。见例如 Yang 等人 (2003) *New Engl. J. Med.* 349:427-434; Herold 等人 (2002) *New Engl. J. Med.* 346:1692-1698; Liu 等人 (1999) *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 67:451-456; Portielji 等人 (2003) *Cancer Immunol. Immunother.* 52:133-144。小分子治疗剂例如肽模拟物、天然产物或有机化学药品的预期剂量与抗体或多肽的基本相同,以摩尔 /kg 为基准。

[0098] 皮下施用可通过使用注射器或是使用其他注射装置(例如 Inject-ease[®] 装置);笔式注射器;或无针装置(例如 MediJector 和 BioJector[®])进行。

[0099] VII. 用途

[0100] 本发明提供了抗 IL-23 抗体(和其片段)的冻干制剂在治疗炎性疾病和病症中的用途,所述疾病和病症为例如中枢神经系统、外周神经系统和胃肠道以及自身免疫和增生性疾病。

[0101] 本发明的冻干制剂可用于治疗例如多发性硬化(MS),包括复发性 MS 和原发进行性 MS,阿尔茨海默氏病、肌萎缩性侧索硬化症(又名 ALS;葛雷克氏症)、缺血性脑损伤、朊病毒疾病、HIV 相关的痴呆,以及神经性疼痛、外伤后神经病变、格林-巴利综合征(GBS)、外周多发性神经病变和神经再生。

[0102] 本发明的冻干制剂还可用于治疗炎性肠病,例如克劳氏病,溃疡性结肠炎、乳糜泻病和肠易激综合征。它们还可用于治疗炎性疾病例如牛皮癣,特应性皮炎,关节炎,包括风湿性关节炎、骨关节炎和牛皮癣关节炎,自身免疫性疾病,例如系统性红斑狼疮和 I 型糖尿病,和增生性疾病例如癌症。见例如 PCT 专利申请公开 WO 04/081190; WO 04/071517; WO 00/53631; 和 WO 01/18051。

[0103] 参考以下实施例可最好地理解此发明的广泛范围,实施例无意将本发明限制在特

定实施方案中。仅以示例的方式给出本文描述的特定实施方案，本发明仅受限于所附权利要求要求的用语以及与这些权利要求的等同的全部范围。

实施例

[0104] 实施例 1

[0105] 人源化抗 IL-23p19 抗体的冻干制剂。

[0106] 人源化抗 IL-23p19 抗体的冻干制剂按如下制备。表 3 提供了人源化抗 IL-23p19 抗体的批次配方(batch formula)。人源化抗 IL-23p19 抗体的终浓度为 25 mg/mL。此批次配方可用于制备冻干的 50 mg/小瓶单位,如下文表 4 中所述。使用来自植物来源的聚山梨醇酯-80。可加入额外的柠檬酸或氢氧化钠以调节 pH 至期望的约 4.8(± 0.2) 的值。当抗体从 pH5.5-5.6 的柠檬酸缓冲液中重构时,使用 pH4.8 以降低乳光(opalescence)。使用无菌注射用水(WFI)使成分终体积为 40L。当然,相应的更小批次可通过成比例降低表 3 所列的量制备。

[0107] 表 3

[0108] 抗 IL-23p19 抗体的批次配方

[0109]

成分	等级	每批次的量 (g)
人源化抗 IL-23p19 抗体	-	1000
二水合柠檬酸三钠	USP	14.83
柠檬酸(无水)	USP	9.512
聚山梨醇酯 80	NF	2.0
蔗糖	NF	700
氢氧化钠	NF	pH 调节
注射用水	USP	加量至 40.00L

[0110] 表 4 提供了人源化抗 IL-23p19 的最终冻干制剂的单位组成。

[0111] 表 4

[0112] 注射用冻干粉末制剂的单位组成

[0113]

成分	等级	量 (mg/小瓶)	重构后的浓度 (mg/mL)	功能
人源化抗 IL-23p19 抗体	-	50	100	原料药
二水合柠檬酸三钠	USP	0.7414	1.483	缓冲盐
柠檬酸(无水)	USP	0.476	0.951	缓冲酸
聚山梨醇酯 80	NF	0.10	0.20	表面活性剂
蔗糖	NF	35	70	稳定剂/ 张力修饰剂
氢氧化钠	NF	-	-	pH 调节
注射用无菌水	USP	-	加量至 0.5 mL	溶剂

[0114] 表 4 的单位制剂包含冻干除水后的表 3 的批次制剂的 1/20,000。加入 50mg DS, 其为 2mL 表 3 的 25 mg/mL 批次制剂,并通过使用无菌 WFI 重构至 0.5mL 终体积浓缩 4 倍。相应地,初始 2.5 mM 柠檬酸缓冲液在重构溶液中浓缩至约 10mM,蔗糖从约 50mM 浓缩至约

200mM。较低的终浓度可通过在大体积的液体中重构得到,例如 0.5mL WFI 和另外量的 0.9% 氯化钠或 WFI。

[0115] 为了保证符合标签填充量的相应递送,产品小瓶可包含合适体积的过度填充以补偿在取出重构溶液时小瓶和注射器中可能保留的剩余产品溶液。例如,2.0mL (50mg) 标称的填充量可增加至 2.7mL (67.5 mg) 的过度填充。在这种过度填充的情况下,最终单位组合物当然将包含与表 4 所列的各成分成比例的更高的量。在 2.7mL 填充量的标称 2.0mL 小瓶的情况下,各成分的量将比表 4 所列的高 35%,如表 5 所示。在 2.7mL 过度填充中,使用 0.56mL 水用于重构至终体积 0.675mL 以得到终浓度 100mg/mL。重构后的终体积当然和表 4 的相同。

[0116] 表 5

[0117] 2.7mL 过度填充单位组合物

[0118]

成分	等级	量 (mg/小瓶)	重构后浓度 (mg/mL)	功能
人源化抗 IL-23p19 抗体	-	67.5	100.0	活性药成分 (API)
二水合柠檬酸三钠	USP	1.001	1.483	缓冲盐
柠檬酸 (无水)	USP	0.643	0.951	缓冲酸
聚山梨醇酯 80	NF	0.135	0.200	表面活性剂
蔗糖	NF	47.25	70.00	稳定剂/ 张力修饰剂
氢氧化钠	NF	-	-	pH 调节
注射用无菌水	USP	-	0.56 mL	溶剂

[0119] 在无菌 13mm 瓶颈、5mL、1 型玻璃管状小瓶中包装药物,用 13-mm 灰色丁基橡胶塞封闭并用带有聚丙烯帽的铝压密封盖密封。小瓶贮存于 2-8°C,运输时需冷藏。

[0120] 图 1 是本发明的人源化抗 IL-23p19 抗体冻干制剂的制备过程流程图,例如制备成 50mg 单位计量的小瓶。

[0121] 混合(compounding)包括以下步骤。在配衡的混合容器中加入需要量的注射用水(WFI)。加入并混合溶解蔗糖、二水合柠檬酸三钠、柠檬酸和植物来源的聚山梨醇酯 80。测量 pH。将原料药平衡至环境温度并将原料药缓慢加入混合容器。继续轻柔混合以避免发泡。再次测量 pH,如果需要将 pH 调整至约 4.8。加入 WFI 至本体溶液(bulk solution)的最终重量,同时继续轻柔混和。

[0122] 过滤包括以下步骤。将无菌滤器(0.22 μm)连接至无菌接受容器。在无菌过滤前收集小份本体溶液用于生物负荷检测。使用 0.22μm 滤器进行无菌过滤,过滤至无菌容器中。在产品过滤前和后进行滤器完整性检测。

[0123] 填充包括以下步骤。使用合适的填充设备,将产品溶液无菌填充至无菌 I 型管状玻璃小瓶中以得到 2.7mL 的靶填充体积。在填充时进行填充重量检查。在填充开始时移除合适数量的小瓶并将溶液汇合用于本体无菌性和内毒素检测。将无菌冻干型塞部分地置于填充的小瓶。将填充的小瓶装载至合适的冷冻干燥器中。

[0124] 冻干、加塞和加盖包括以下步骤。使用合适的冻干周期冻干填充的小瓶。在冻干完成后,用 0.22 μ m 过滤的氮气回填小瓶并完全加塞。将加塞的小瓶从冷冻干燥器中取出并密封。

[0125] 检查得到的小瓶是否有肉眼可见的缺陷并贮存于 2-8 $^{\circ}$ C。在冷藏条件下运输制成的单位计量小瓶。

[0126] 实施例 2

[0127] 人源化抗 IL-23p19 抗体冻干制剂的稳定性检测。

[0128] 图 2-7 提供了在不同贮存条件下人源化抗人 IL-23p19 抗体冻干制剂的稳定性检测结果。一些小瓶以直立和倒置的布局(configuration)贮存,如图中所示。如以下更详细所述,图 2-4 显示了在 pH5.5 (柠檬酸缓冲液)冻干的抗体具有至少 18 个月的稳定性,图 5-7 显示了在 pH4.8 (柠檬酸缓冲液)冻干的抗体具有至少 12 个月的稳定性,其中 18 个月和 12 个月是展示的最长时间点而不是试验测定的稳定性终点。

[0129] 如下评估稳定性。样品在 5mL I 型玻璃小瓶中冻干,用 13mm 溴化丁基冻干塞(Helvoet Rubber & Plastic Technologies BV, Hellevoetsluis, The Netherlands)和易拉铝密封盖密封。也可使用 B2 包被的 13-mm 灰色丁基橡胶冻干塞(West Pharmaceutical Services Inc., Lionville, Pennsylvania, USA)。小瓶在以下贮存条件下置于稳定台上: 5C (5 \pm 3 $^{\circ}$ C), 25H (25, 60% 相对湿度),或 RH4 (40 $^{\circ}$ C, 70% 相对湿度)。在初始时间点和 0.5, 1, 2, 3, 6, 9, 12 或 18 个月获取样品,如图中所示。

[0130] 样品稳定性通过图 2-7 所示的多种特征说明。冻干样品经肉眼检查,重构,重构的制剂经肉眼检查。测量了重构后的样品 pH,通过紫外吸收测定了蛋白质浓度。之后通过变性十二烷基硫酸钠(SDS)聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)分析样品,杂质水平(即主要产物带以外的物质)以每个泳道中总强度的百分比表示。通过高效大小排阻层析(HPSEC)进一步评估了样品的纯度,其中测定了单体的百分比和高分子量种类(可能为聚集物)和晚期洗脱峰(可能为降解产物)的百分比。

[0131] 其他样品表征数据包括高效离子交换层析(HP-IEX),其通过显示酸性或碱性变体的存在用于评估纯度。结果表示为所有观察物质的百分比。使用酶联免疫吸附测定(ELISA)进一步表征了样品与人 IL-23p19 结合的生物学功能。结果表示为样品的 EC₅₀,即得到最大结合的一半所必需的浓度。结果也以相对于对照的百分比效力提供,以 100 乘以样品的 EC₅₀ 相对于同样抗体的对照制品的 EC₅₀ 的比率计算。也测定了冻干粉末的湿度。

[0132] 图 2、3 和 4 的数据由 pH5.5 的样品分别在 5C, 25H 和 RH4 贮存时得到,图 5、6 和 7 的数据由 pH4.8 的样品分别在 5C, 25H 和 RH4 贮存时得到。

[0133] 结果一般地证明了本发明冻干制剂在 pH 5.5 和 4.8 下,经历 1, 3, 6, 9, 12 和 18 个月时期的高稳定性。数据显示在冷冻贮存条件下的样品随时间没有反映不稳定性的趋势。基于这些数据,预计样品具有至少 24 个月的保质期。

[0134] 表 6 提供了对序列列表中序列的简短描述。

[0135] 表 6

[0136] 序列标识符

[0137]

SEQIDNO:	描述
----------	----

1	m1A11V _H
2	m11C1V _H
3	m5F5V _H
4	m21D1V _H
5	m13B8V _H
6	hum13B8HC-a
7	hum13B8HC-b
8	hum13B8HC-c
9	m1A11V _L
10	m11C1V _L
11	m5F5V _L
12	m21D1V _L
13	m13B8V _L
14	hum13B8LC
15	m1A11CDRH1
16	m11C1CDRH1
17	m5F5CDRH1
18	m21D1CDRH1
19	m13B8CDRH1
20	m1A11CDRH2
21	m11C1CDRH2
22	m5F5CDRH2
23	m21D1CDRH2
24	m13B8CDRH2-a
25	h13B8CDRH2-b
26	h13B8CDRH2-c
27	m1A11CDRH3
28	m11C1CDRH3
29	m5F5CDRH3
30	m21D1CDRH3
31	m13B8CDRH3
32	m1A11CDRL1
33	m11C1CDRL1
34	m5F5CDRL1
35	m21D1CDRL1
36	m13B8CDRL1
37	m1A11CDRL2
38	m11C1CDRL2
39	m5F5CDRL2
40	m21D1CDRL2
41	m13B8CDRL2
42	m1A11CDRL3
43	m11C1CDRL3
44	m5F5CDRL3
45	m21D1CDRL3
46	m13B8CDRL3
47	人 IL-23p19
48	小鼠 IL-23p19
49	hum13B8-bHCDNA
50	hum13B8LCDNA
51	重链信号序列
52	轻链信号序列

序列表

<110> Schering Corporation
 Li, Xuhong
 Kashi, Ramesh
 Badkar, Aniket

<120> 基因工程抗 IL-23p19 抗体的冻干制剂

<130> UB06868

<150> US 61,092326

<151> 2008-08-27

<160> 52

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 117

<212> PRT

<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 1

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

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

Tyr Ile Gln Trp Val Lys Gln Ser Arg Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Ser Cys Tyr Asn Gly Ala Thr Arg Tyr Asn Gln Lys Phe

50

55

60

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

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

Ala Arg Gln Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 2

<211> 116

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 2

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

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Ser Ala Tyr
 20 25 30

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

Gly Gln Ile Phe Pro Val Arg Gly Ser Ala Asp Tyr Asn Glu Ile Phe

50

55

60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Asn Tyr Tyr Gly Arg Asn Tyr Gly Asp Tyr Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 4

<211> 116

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 4

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Phe
20 25 30

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

Gly Trp Ile Phe Pro Gly Asn His Asp Val Glu Tyr Asn Glu Lys Phe

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

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

Gly Gln Ile Phe Pro Ala Ser Gly Ser Ala Asp Tyr Asn Glu Met Phe
 50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Gly Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 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 Lys 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 Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
 210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile 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 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu 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 Tyr 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 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 7

<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人框架, 啮齿类 CDR

<220>

<221> 结构域

<222> (1)..(116)

<223> 可变结构域

<400> 7

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 Ile Phe Ile Thr Tyr
 20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Gly Gly Gly Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 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 Lys 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 Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
 210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile 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 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu 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 Tyr 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 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 8
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人框架, 啮齿类 CDR

<220>
<221> 结构域
<222> (1)..(116)
<223> 可变结构域

<400> 8

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 Ile Phe Ile Thr Tyr
 20 25 30

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

Gly Gln Ile Phe Pro Ala Ser Gly Ser Ala Asp Tyr Ala Gln Lys Leu
 50 55 60

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

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

85	90	95
Ala Arg Gly Gly Gly Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val		
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 Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly		
145	150	155
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 Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr		
210	215	220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe		
225	230	235
		240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile 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 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu 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 Tyr 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 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 9

<211> 113

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 9

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Leu Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95

Thr His Phe Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg

<210> 10

<211> 108

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 10

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

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Trp Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
 35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Phe
 85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 11

<211> 111

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 11

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

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

Ser Asn Asp Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Ser Phe Thr
 35 40 45

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

Phe Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly
 65 70 75 80

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

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 12

<211> 108

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 12

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

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
 35 40 45

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

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

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

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Asp Leu Lys Arg
 100 105

<213> 人工序列

<220>

<223> 人框架, 啮齿类 CDR

<220>

<221> 结构域

<222> (1)..(108)

<223> 可变结构域

<400> 14

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 Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
 20 25 30

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

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu 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 His His Tyr Gly Ile Pro Phe
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln 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 Glu Gln 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> 15

<211> 10

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 15

Gly Tyr Ser Phe Thr Ala Tyr Tyr Ile Gln
 1 5 10

<210> 16
<211> 10
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 16

Gly Tyr Ile Phe Ser Ala Tyr Trp Met Thr
1 5 10

<210> 17
<211> 10
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 17

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

<210> 18
<211> 10
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 18

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Phe Phe Ile His
1 5 10

<210> 19
<211> 10
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 19

Gly Tyr Ile Phe Ile Thr Tyr Trp Met Thr
1 5 10

<210> 20

<211> 17

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 20

Tyr Ile Ser Cys Tyr Asn Gly Ala Thr Arg Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 21

<211> 17

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 21

Gln Ile Phe Pro Val Arg Gly Ser Ala Asp Tyr Asn Glu Ile Phe Glu
1 5 10 15

Gly

<210> 22

<211> 17

<212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 22

Glu Ile Tyr Pro Arg Ser Val Asn Ser Tyr Tyr Asn Glu Arg Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 23
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 23

Trp Ile Phe Pro Gly Asn His Asp Val Glu Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 24
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 24

Gln Ile Phe Pro Ala Ser Gly Ser Ala Asp Tyr Asn Glu Met Phe Glu
 1 5 10 15

<210> 27
<211> 8
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 27

Gln Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 28
<211> 7
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 28

Gly Gly Gly Gly Phe Ala Tyr
1 5

<210> 29
<211> 15
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 29

Gly Gly Asn Tyr Tyr Gly Arg Asn Tyr Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 30
<211> 7
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 30

Gly Gly Gly Asn Leu Pro Tyr

1 5

<210> 31

<211> 7

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 31

Gly Gly Gly Gly Phe Ala Tyr

1 5

<210> 32

<211> 16

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 32

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn

1 5 10 15

<210> 33

<211> 11

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 33

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 34
<211> 14
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 34

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Ile Thr Ser Asn Asp Ala Asn
1 5 10

<210> 35
<211> 11
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 35

Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 36
<211> 11
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 36

Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 37
<211> 7
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 37

Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser
1 5

<210> 38

<211> 7

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 38

Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu
1 5

<210> 39

<211> 7

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 39

Gly Thr Asn Asn Arg Ala Pro
1 5

<210> 40

<211> 7

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 40

Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu
1 5

<210> 41

<211> 7
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 41

Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu
1 5

<210> 42
<211> 9
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 42

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 43

Gln His His Tyr Gly Thr Pro Phe Thr
1 5

<210> 44
<211> 9
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 44

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn His Trp Val

1 5

<210> 45

<211> 9

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 45

Gln His His Tyr Gly Ile Pro Phe Thr

1 5

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> 小鼠

<400> 46

Gln His His Tyr Gly Ile Pro Phe Thr

1 5

<210> 47

<211> 170

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 47

Arg Ala Val Pro Gly Gly Ser Ser Pro Ala Trp Thr Gln Cys Gln Gln

1 5 10 15

Leu Ser Gln Lys Leu Cys Thr Leu Ala Trp Ser Ala His Pro Leu Val

20 25 30

Gly His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr Thr Asn Asp
 35 40 45

Val Pro His Ile Gln Cys Gly Asp Gly Cys Asp Pro Gln Gly Leu Arg
 50 55 60

Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile His Gln Gly Leu Ile Phe
 65 70 75 80

Tyr Glu Lys Leu Leu Gly Ser Asp Ile Phe Thr Gly Glu Pro Ser Leu
 85 90 95

Leu Pro Asp Ser Pro Val Gly Gln Leu His Ala Ser Leu Leu Gly Leu
 100 105 110

Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Gly His His Trp Glu Thr Gln Gln Ile
 115 120 125

Pro Ser Leu Ser Pro Ser Gln Pro Trp Gln Arg Leu Leu Leu Arg Phe
 130 135 140

Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val Ala Ala Arg Val
 145 150 155 160

Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Ser Pro
 165 170

<210> 48

130	135	140	
Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Leu Ala Ile Ala Ala Arg Val Phe			
145	150	155	160
Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Thr Glu Pro Leu Val Pro Thr Ala			
	165	170	175
<210>	49		
<211>	1398		
<212>	DNA		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	人恒定和框架区, 啮齿类 CDR		
<400>	49		
atggctgtgc tggggctgct gttctgcctg gtgacattcc caagctgtgt gctgtcccag			60
gtgcagctgg tgcagtctgg cgctgaggtg aagaagcctg gcgctccgt gaaggtctcc			120
tgcaaggctt ctggctacat cttcatcacc tactggatga cctgggtgcg gcaggcccct			180
ggccaggggc tggagtggat gggccagatc ttccctgcca gcggtctgc agactacaac			240
gagaagttcg aaggcagagt caccatgacc acagacacat ccaccagcac agcctacatg			300
gagctgagga gctgagatc tgac gacacc gccgtgtatt actgtgccag aggcggtggc			360
ggattcgctt actggggcca gggcaccctg gtcaccgtct ccagcgctag caccaagggc			420
ccatcggctt tccccctggc accctcctcc aagagcacct ctgggggcac agcggccctg			480
ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc			540
ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgct gtctacagt cctcaggact ctactcctc			600

agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg	660
aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaagttg agcccaaate ttgtgacaaa	720
actcacacat gcccaccgtg cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttctc	780
ttcccccaaa aaccaagga caccctcatg atctcccga cccctgaggt cacatgcgtg	840
gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg	900
gaggtgcata atgcc aagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg	960
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag	1020
gtctccaaca aagccctccc agccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag	1080
ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg atgagctgac caagaaccag	1140
gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag	1200
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcc tc ccgtgctgga ctccgacggc	1260
tcctttcttc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc	1320
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc	1380
ctgtctccgg gtaaatga	1398

<210> 50

<211> 702

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 人恒定和框架区, 啮齿类 CDR

<400> 50

atggctccag tgcagctgct ggggctgctg gtgctgttcc tgccagccat gagatgtgat	60
atccagatga cccagtctcc atcctccctg tctgcctctg tgggagacag agtgaccatc	120
acctgcagga ccagcgagaa catctacagc tacctggcct ggtatcagca gaagccaggg	180
aaggccccta agctgctgat ctataacgcc aagaccctgg ctgaaggggt gccatccagg	240
ttcagcggca gcggtcttg gacagacttc accctgacca tcagcagcct gcagcctgag	300
gacttegcc cctactactg tcagcaccac tacggaattc cattcacctt cggccagggc	360
accaaggtgg agatcaagcg tacggtggct gcaccatctg tgttcatctt ccctccatct	420
gatgagcagc tgaagtctgg aactgcctcc gtggtgtgcc tgctgaataa cttctatccc	480
agagaggcca aggtgcagtg gaaggtggat aacgccctcc agagcggcaa ctcccaggag	540
agcgtgacag agcaggacag caaggacagc acctacagcc tgagcagcac cctgaccctg	600
agcaaagcag actacgagaa acacaaggtg tacgcctgcg aggtgacca tcagggcctg	660
agcagccccg tgacaaagag cttcaacagg ggagagtgtt aa	702

<210> 51
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 小鼠

<400> 51

Met Ala Val Leu Gly Leu Leu Phe Cys Leu Val Thr Phe Pro Ser Cys

1 5 10 15

Val Leu Ser

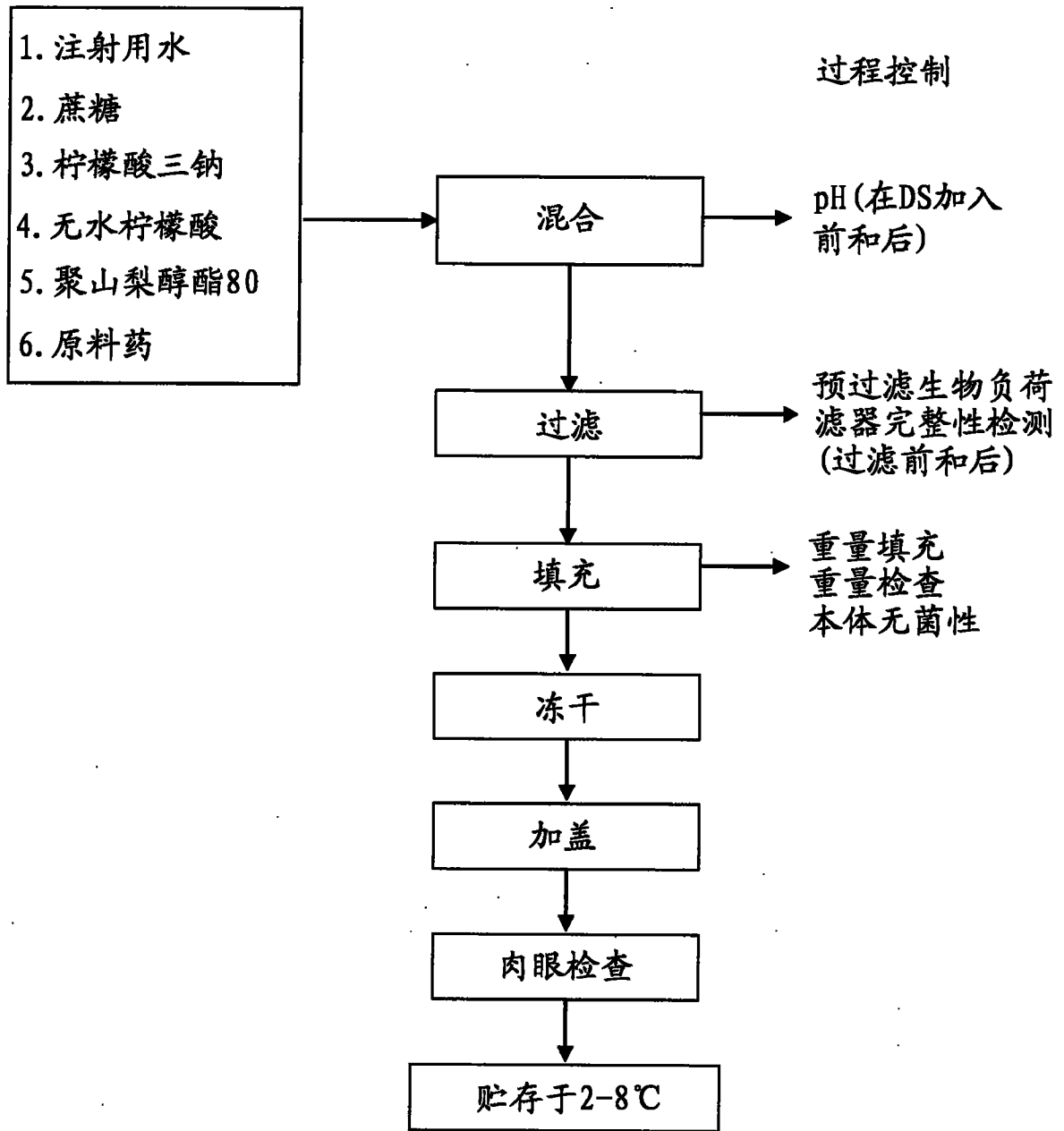


图 1

批号
贮存条件
1 (pH 5.5)
5C

稳定性检测间隔(月)

检测	初始(直立)	1M(直立)	3M(直立)	5M(直立)	9M(直置)	12M(直立)	18M(直立)
描述: 冻干粉末	白色致密饼状物	白色致密饼状物	白色致密饼状物	白色至类白色饼状物	白色饼状物	白色饼状物	白色饼状物
重构时间	10分钟	14分钟	14分钟	14分钟	16分钟	15分钟	15分钟
描述: 重构溶液	含颗粒的乳白色溶液	含颗粒的乳白色溶液	含颗粒的乳白色溶液	含颗粒的乳白色溶液	含颗粒的乳白色溶液	含颗粒的乳白色溶液	含颗粒的乳白色溶液
pH	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6
测定-紫外线浓度(mg/mL)	104.82	100.08	96.65	104.49	100.7	90.1	104.2
SDS-PAGE降低的(杂质%)	1.01	0.61	0.42	0.62	0.63	0.73	1.81
HPSEC纯度(%)							
高分子量类型:	1.35	1.68	1.65	1.79	1.61	1.76	1.20
晚期洗脱峰:	无可见峰	0.04	0.04	无可见峰	无可见峰	无可见峰	无可见峰
单体:	98.6	98.28	98.3	98.2	98.4	98.2	98.8
HP-TEX纯度(%)							
酸性变体:	7.3	11.53	6.8	4	6.7	6.7	5.3
酸性1:	8.8	3.78	9	7.4	9	9	8.1
主体:	67.6	68.79	68.3	70	68.3	68.7	68.7
碱性1:	9	8.89	8.9	10.4	9	9.0	9.9
碱性2:	6.7	6.41	6.4	8.9	6.5	6.6	4.1
碱性变体:	0.7	0.61	0.6	N/A	0.5	0.6	3.8
结合ELISA							
EC ₅₀ (pM)	29	38	49	92	47	83	99
相对对照的效价(%)	140	67	162	104	104	79	97
湿度(%)	0.40	0.22	0.46	0.45	0.52	0.43	0.54

批号-1 (pH5.5) / 贮存条件-25II

稳定性检测间隔(月)

检测	初始 (直立)	1M (直立)	3M (直立)	3M (倒置)	6M (直立)	6M (倒置)	9M (直立)	9M (倒置)	12M (直立)	12M (倒置)	18M (直立)
描述: 冻干粉末	白色致密 饼状物	白色致密 饼状物	白色致密 饼状物	白色致密 饼状物	白色至类 白色饼状物	白色至类 白色饼状物	白色 饼状物	白色 饼状物	白色 饼状物	白色 饼状物	白色 饼状物
重构时间	10分钟	14分钟	14分钟	14分钟	14分钟	14分钟	16分钟	16分钟	15分钟	15分钟	15分钟
描述: 重构溶液	含颗粒 的乳白色 溶液	含颗粒 的乳白色 溶液	含颗粒 的乳白色 溶液	含颗粒 的乳白色 溶液	含颗粒 的乳白色 溶液	含颗粒 的乳白色 溶液	含颗粒 的乳白色 溶液	含颗粒 的乳白色 溶液	含颗粒 的乳白色 溶液	含颗粒 的乳白色 溶液	含颗粒 的乳白色 溶液
pH	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6
测定-紫外线 浓度 (mg/mL)	104.82	102.86	100.4	98.12	97.55	103.06	100.4	106.9	102.5	108.7	103.3
SDS-PAGE 降低的	1.01	0.92	0.59	0.62	0.44	0.59	0.29	0.83	0.55	0.66	3.75
HPSEC纯度											
高分子量:	1.35	2.1	2.59	2.55	3.07	3.09	3.04	3.15	3.76	3.68	2.91
晚期洗脱峰:	无可见峰	无可见峰	0.06	0.06	无可见峰	无可见峰	无可见峰	无可见峰	无可见峰	无可见峰	无可见峰
单体	98.6	97.9	97.3	97.4	96.9	96.9	97	96.9	96.2	96.3	97.1
HP-LEX纯度											
酸性变体:	7.3	11.74	7	7	4.2	4.8	7.5	7.4	7.3	7.2	6.5
酸性1:	8.8	3.81	9.4	9.4	7.9	7.3	9.5	9.4	9.2	9.3	9.6
主体:	67.6	67.92	66.9	66.9	67.2	67.5	64.3	64.6	66.0	66.0	64.9
碱性1:	9	9.35	9.5	9.5	11.6	11.4	10.2	10.2	10.2	10.3	11.3
碱性2:	6.7	6.56	6.6	6.6	9.1	9.1	7	6.9	6.7	6.7	4.5
碱性变体:	0.7	0.62	0.6	0.6	N/A	N/A	1.6	1.4	0.6	0.5	3.2
其他	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	6.5
结合ELISA											
EC ₅₀ (pM)	29	48	100	87	87	91	55	53	84	82	88
相对对照 的效价 (%)	140	53	79	90	111	106	89	93	78	80	110
湿度 (%)	0.40	0.44	0.68	0.63	0.73	1.03	1.06	0.93	1.02	1.10	1.67

图 3

批号-1 (pH5.5) / 贮存条件-R114
稳定性检测间隔(月)

检测	初始 (直立)	2周 (直立)	1M (直立)	2M (直立)	3M(直立)	3M((倒置)	6M (直立)	6M((倒置)	9M (直立)
描述: 冻干粉木	白色致密 饼状物	白色致密 饼状物	白色致密 饼状物	白色至类 白色饼状物	白色致密 饼状物	白色致密 饼状物	白色至类 白色饼状物	白色致密 饼状物	白色 饼状物
重构时间	10分钟	12分钟	14分钟	14分钟	14分钟	14分钟	14分钟	14分钟	16分钟
描述: 重构溶液	含颗粒 的乳白色 溶液	含颗粒 的乳白色 溶液	含颗粒 的乳白色 溶液	含颗粒 的乳白色 溶液	含颗粒 的乳白色 溶液	含颗粒 的乳白色 溶液	含颗粒 的乳白色 溶液	含颗粒 的乳白色 溶液	含颗粒 的乳白色 溶液
pH	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6
测定-紫外线 浓度 (mg/mL)	104.82	93.88	102.37	95.35	103.02	102.86	97.96	100.82	102.4
SDS-PAGE降 低的(杂质%)	1.01	0.32	1	0.75	0.42	0.42	1.63	1.13	3.56
HPSEC纯度 (%)									
高分子量 类型:	1.35	2.47	3.49	4.63	5.19	5.11	7.25	7.32	7.88
晚期洗脱峰:	无可见峰	0.04	0.05	0.06	0.07	0.04	无可见峰	0.02	无可见峰
单体:	98.6	97.5	96.46	95.3	94.7	94.9	92.7	92.7	92.1
HP-LEX纯度 (%)									
酸性变体:	7.3	11.53	12.9	6.4	8.4	9	6.6	7.1	11
酸性1:	8.8	4.26	3.88	10.3	11.2	10.6	9.3	9.4	12.4
主体:	67.6	66.98	65.14	61.6	62	58.2	58.1	57.5	57.9
碱性1:	9	9.98	10.57	12.2	11.2	11.1	14.4	14.2	6.5
碱性2:	6.7	6.57	6.87	9.4	6.6	7.3	11.7	11.8	6
碱性变体:	0.7	0.68	0.64	0	0.5	3.8	N/A	N/A	N/A
其他	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	6.2
结合ELISA									
EC ₅₀ (pM)	29	36	43	269	107	96	117	101	76
相对对照 的效价 (%)	140	63	60	83	74	82	82	92	65
湿度 (%)	0.40	0.92	0.71	0.92	1.01	1.37	1.52	1.70	ND

图 4

批号-2 (pH4.8)
贮存条件-5C

稳定性检测间隔(月)

检测	初始(直立)	1M(直立)	3M(直立)	6M(直立)	9M(直立)	12M(直立)	12M(倒置)
描述: 冻干粉末	白色至类 白色饼状物	白色至类 白色饼状物	白色至类 白色饼状物	白色饼状物	白色饼状物	白色饼状物	白色饼状物
重构时间	14分钟	25分钟	25分钟	25分钟	25分钟	25分钟	25分钟
描述: 重构溶液	含颗粒的 乳白色溶液	含颗粒的 乳白色溶液	含颗粒的 乳白色溶液	含颗粒的 乳白色溶液	含颗粒的 乳白色溶液	含颗粒的 乳白色溶液	含颗粒的 乳白色溶液
pH	4.9	4.8	4.9	4.9	5.0	4.9	4.9
测定-紫外线 浓度 (mg/mL)	108.08	103.84	111.18	104.3	104.7	108.1	103.7
SDS-PAGE降低的 (杂质%)	0.64	1.09	0.89	0.66	1.07	1.11	1.19
HPSEC纯度							
高分子量类型:	0.93	0.63	1.04	1.2	1.2	1.41	1.4
晚期洗脱峰:	0.03	无可见峰	无可见峰	无可见峰	无可见峰	0.02	0.02
单体:	99	99.4	99	98.8	98.8	98.6	98.6
HP-ITC纯度							
酸性变体:	7.4	7.5	7.4	14.1	8.5	N/A	N/A
酸性1:	9.9	9.6	9.8	5	9.29	10.21	10.33
主体:	68.6	68.7	68.4	67.1	68.12	68.19	68.21
碱性1:	9.3	9.2	9.4	8.9	9.23	9.28	9.3
碱性2:	4.9	4.9	5	4.5	4.49	2.67	2.87
碱性变体:	N/A	0.1	N/A	N/A	0.37	N/A	N/A
结合ELISA							
EC ₅₀ (pM)	87	78	75	122	108	76	78
相对对照的效价 (%)	104	128	108	75	61	126	123
湿度 (%)	0.33	0.10	0.25	0.25	0.3	0.73	0.48

图 5

批号-2 (pII4.8)
贮存条件-25II

稳定性检测间隔(月)

检测	初始 (直立)	1M (直立)	3M (直立)	6M (直立)	9M (直立)	12M (直立)	12M (倒置)
描述: 冻干粉末	白色致密饼状物	白色至类白色饼状物	白色致密饼状物	白色饼状物	白色饼状物	白色饼状物	白色饼状物
重构时间	14分钟	25分钟	25分钟	25分钟	25分钟	25分钟	25分钟
描述: 重构溶液	含颗粒的乳白色溶液	含颗粒的乳白色溶液	含颗粒的乳白色溶液	含颗粒的乳白色溶液	含颗粒的乳白色溶液	含颗粒的乳白色溶液	含颗粒的乳白色溶液
pH	4.9	4.8	4.9	4.9	4.9	4.9	4.9
测定-紫外光 浓度 (mg/mL)	108.08	109.55	110.69	103	98.8	106.4	104.3
SDS-PAGE降低的 (杂质%)	0.64	1.43	0.91	1.52	1.07	1.61	1.48
HPSEC纯度							
高分子量类型:	0.93	0.91	1.93	2.64	2.96	3.71	3.68
晚期洗脱峰:	0.03	无可见峰	无可见峰	0.04	无可见峰	0.02	0.02
单体:	99	99.1	98.1	97.3	97	96.3	96.3
HP-ITC纯度							
酸性变体:	7.4	8.1	9.2	17.1	11.21	N/A	N/A
酸性1:	9.9	9.7	10	4.7	9.95	11.72	11.81
主体:	68.6	67.5	65.1	63.5	62.65	61.77	62.3
碱性1:	9.3	9.6	10.3	9.8	10.75	10.61	10.73
碱性2:	4.9	5.1	5.3	4.7	5.06	3.42	3.29
碱性变体:	N/A	N/A	N/A	0.2	0.39	N/A	N/A
其他	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
结合ELISA							
EC ₅₀ (pM)	87	77	74	90	108	69	83
相对对照的效价 (%)	104	131	109	100	61	127	115
湿度 (%)	0.33	0.17	0.82	0.53	0.78	0.86	0.94

图 6

批号-2 (pH4.8)
贮存条件-RH4

稳定性检测间隔(月)

检测	初始(直立)	2周(直立)	1M(直立)	3M(直立)	3M(倒置)
描述: 冻干粉末	白色至类白色干粉末	白色至类白色干粉末	白色至类白色干粉末	白色至类白色干粉末	白色至类白色干粉末
重构时间	14分钟	25分钟	25分钟	25分钟	25分钟
描述: 重构溶液	含颗粒的乳白色溶液	含颗粒的乳白色溶液	含颗粒的乳白色溶液	含颗粒的乳白色溶液	含颗粒的乳白色溶液
pH	4.9	4.9	4.8	4.9	4.9
测定-紫外线浓度 (ng/mL)	108.08	108.41	99.2	104.16	112.65
SDS-PAGE降低的(杂质%)	0.64	1.03	1.14	1.96	1.59
HPSEC纯度(%)					
高分子量类型:	0.93	0.79	1.83	4.92	4.88
晚期洗脱峰:	0.03	0.02	无可见峰	无可见峰	无可见峰
单体:	99	99.2	98.2	95.1	95.1
HP-TEX纯度					
酸性变体:	7.4	9.5	11.8	15	16.5
酸性1:	9.9	10.4	10.4	11.8	11.5
主体:	68.6	64.4	61.6	55	54.2
碱性1:	9.3	10.2	10.6	12	11.8
碱性2:	4.9	5.5	5.5	6.2	6.0
碱性变体:	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
其他	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
结合ELISA (pM)					
EC50 (pM)	87	96	65	106	73
相对对照的效价 (%)	104	100	156	77	111
湿度 (%)	0.33	0.14	0.17	0.65	0.74

图 7