



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110585430 B

(45) 授权公告日 2023. 09. 08

(21) 申请号 201910935046.5
 (22) 申请日 2019.09.29
 (65) 同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 110585430 A
 (43) 申请公布日 2019.12.20
 (73) 专利权人 华博生物医药技术(上海)有限公司
 地址 201203 上海市浦东新区中国(上海)
 自由贸易试验区蔡伦路538号1幢1楼
 (72) 发明人 贾慧峰 蔡明清 潘现飞 王少杰
 朱向阳
 (74) 专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司 31266
 专利代理师 华珊 徐迅
 (51) Int. Cl.
 A61K 39/395 (2006.01)
 A61K 9/19 (2006.01)
 A61K 47/12 (2006.01)
 A61K 47/26 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)
 A61P 17/06 (2006.01)
 A61P 19/02 (2006.01)
 A61P 29/00 (2006.01)
 A61P 25/00 (2006.01)
 A61P 19/08 (2006.01)
 A61P 1/00 (2006.01)
 A61P 3/10 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 107257692 A, 2017.10.17
 CN 108671229 A, 2018.10.19
 CN 108359011 A, 2018.08.03
 CN 109745559 A, 2019.05.14
 CN 106474470 A, 2017.03.08
 CN 107325179 A, 2017.11.07
 CA 3082832 A1, 2019.05.31
 US 2019161544 A1, 2019.05.30
 CN 107522783 A, 2017.12.29

审查员 李玉婷

权利要求书2页 说明书14页
 序列表3页

(54) 发明名称

一种人源化抗人IL-17A单克隆抗体的药物组合物

(57) 摘要

本发明提供一种人源化抗人IL-17A单克隆抗体的药物组合物。具体地,本发明提供一种药物组合物,所述的药物组合物包括:(a) 抗人IL-17A单克隆抗体;和(b) 药学上可接受的载体,所述的药学上可接受的载体包括缓冲液、稳定剂和表面活性剂。本发明所述的药物组合物能有效提高抗人IL-17A单克隆抗体在加压(高温、冻融和震荡等)、加速和长期冷藏条件下的稳定性,可提高临床使用的安全性。

1. 一种药物组合物,其特征在于,所述的药物组合物由以下成分组成:

人源化抗人IL-17A单克隆抗体	80-160 mg/mL,
醋酸盐-醋酸缓冲液	10-30 mM,
蔗糖	60-100 g/L, 以所述药物组合物总重量计, 和
聚山梨醇酯80	0.005-0.05 wt%, 以所述药物组合物总重量计,

其中,所述人源化抗人IL-17A单克隆抗体具有SEQ ID NO:7所示的重链可变区氨基酸序列和SEQ ID NO:8所示的轻链可变区氨基酸序列;

并且,所述药物组合物的pH范围为5.3-6.0。

2. 如权利要求1所述的药物组合物,其特征在于,所述的药物组合物由以下成分组成:

人源化抗人IL-17A单克隆抗体	80-120 mg/mL,
醋酸盐-醋酸缓冲液	15-25 mM,
蔗糖	70-90 g/L, 和
聚山梨醇酯80	0.008-0.05wt%, 以所述药物组合物总重量计。

3. 如权利要求1所述的药物组合物,其特征在于,所述的人源化抗人IL-17A单克隆抗体的浓度为100mg/mL。

4. 如权利要求1所述的药物组合物,其特征在于,所述缓冲液的pH范围为5.3-6.0。

5. 如权利要求1所述的药物组合物,其特征在于,所述药物组合物包括选自下组的一个或多个特征:

- (a) 所述蔗糖的含量为80g/L,以所述药物组合物总重量计;
- (b) 所述聚山梨醇酯80的含量为0.01wt%,以所述药物组合物的总重量计;
- (c) 所述醋酸盐-醋酸缓冲液的浓度为20mM。

6. 如权利要求1所述的药物组合物,其特征在于,所述药物组合物的pH为5.7。

7. 如权利要求1所述的药物组合物,其特征在于,所述的药物组合物的剂型为液体制剂。

8. 如权利要求1所述的药物组合物,其特征在于,所述的药物组合物的剂型为注射制剂或输液制剂。

9. 如权利要求1所述的药物组合物,其特征在于,所述的药物组合物由以下成分组成:

人源化抗人 IL-17A 单克隆抗体	100 mg/mL
醋酸钠-醋酸缓冲液	20mM
蔗糖	80g/L; 和
PS- 80	0.01 wt%,

并且,所述药物组合物的pH为5.7。

10. 一种试剂盒,其特征在于,所述的试剂盒含有如权利要求1所述的药物组合物,以及盛装所述药物组合物的容器。

11. 一种冻干制剂,其特征在于,所述的冻干制剂通过以下方法制备:

将如权利要求1所述的药物组合物进行冷冻干燥,得到冻干制剂。

12. 如权利要求1所述的抗体药物组合物和/或权利要求10所述的试剂盒的用途,其特征在于,用于制备 (i) 预防和/或治疗IL-17A介导的疾病的药物;和/或(ii)预防和/或治疗自身免疫性疾病的药物。

一种人源化抗人IL-17A单克隆抗体的药物组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及药物制剂领域,具体地涉及一种人源化抗人IL-17A单克隆抗体的药物组合物。

背景技术

[0002] IL-17A((Interleukin 17A)是由155个氨基酸的两条链通过二硫键连接的同源二聚体,分子量为35kDa,最初被发现是由激活的CD4+T细胞分泌。这一类特征性分泌IL-17A的T细胞亚群被称为Th17细胞。除了Th17细胞以外,细胞毒性CD8+T细胞(Tc17)、 γ δ T细胞、自然杀伤T细胞(NKT-17)和B细胞也能在特定条件下表达IL-17A。先天免疫细胞,包括单核细胞、中性粒细胞、自然杀伤细胞和淋巴组织诱导样(Lti-like)细胞也可以产生IL-17A。

[0003] IL-17结合I型细胞表面的受体称为IL-17R,其中有至少三种:IL-17RA、IL-17RB和IL-17RC。IL-17A与IL-17F以同源二聚体或异源二聚体的形式结合IL-17RA和IL-17RC受体复合物来转导信号,并参与机体自身免疫疾病、多种炎症反应以及宿主抗感染免疫反应。

[0004] IL-17A主要诱导包括上皮细胞和基质细胞在内的非造血来源细胞的信号激活。IL-17A诱导表达的多种炎症因子和趋化因子可以促进多种免疫细胞的募集,从而对自身免疫疾病起到促进作用。研究发现,IL-17A与IL-17F主要通过诱导靶细胞表达多种炎症因子和趋化因子来发挥其促进炎症反应的功能。IL-17A与细胞表面受体IL-17RA结合,招募IL-17RC形成异源二聚体,介导下游信号通路,在多种自身免疫疾病中也发挥着重要作用,这其中包括自身免疫疾病,如类风湿性关节炎(Rheumatoid Arthritis,RA)和多发性硬化(Multiple Sclerosis,MS),以及炎症性大肠病(Inflammatory Bowel disease,IBD)、银屑病(Psoriasis)、系统性红斑狼疮(Systemic lupus Erythematosus,SLE)和I型糖尿病(Type1 Diabetes,T1D)。

[0005] 抗人IL-17A单克隆抗体(如人源化抗人IL-17A单克隆抗体)能够预防和治疗IL-17A介导的疾病,其中,人源化抗人IL-17A单克隆抗体属于大分子药物,其结构复杂,在药物的生产、储存和运输等环节,受各种物理及化学因素的影响,会发生聚集、水解和氧化等反应。产生的副产物会对药物的安全性和有效性带来不利影响,开发稳定性优异的制剂处方对临床用药非常重要。

[0006] 因此,本领域需要开发一种具有优异稳定性的人源化抗人IL-17A单克隆抗体药物制剂,提高人源化抗人IL-17A单克隆抗体的稳定性。

发明内容

[0007] 本发明目的在于提供了一种含有抗人IL-17A单克隆抗体药物组合物,所述药物组合物能够使抗人IL-17A单克隆抗体保持优异的稳定性。

[0008] 本发明的第一方面,提供一种药物组合物,所述的药物组合物包括:

[0009] (a) 抗人IL-17A单克隆抗体;和

[0010] (b) 药学上可接受的载体,所述的药学上可接受的载体包括缓冲液、稳定剂和表面

活性剂。

[0011] 在另一优选例中,所述的抗人IL-17A单克隆抗体为人源化抗人IL-17A单克隆抗体。

[0012] 在另一优选例中,所述人源化抗人IL-17A单克隆抗体重链可变区的三个互补决定区CDR:SEQ ID NO.:1所示的HCDR1、SEQ ID NO.:2所示的HCDR2和SEQ ID NO.:3所示的HCDR3,以及轻链可变区的三个互补决定区CDR:SEQ ID NO.:4所示的LCDR1、SEQ ID NO.:5所示的LCDR2和SEQ ID NO.:6所示的LCDR3。

[0013] 在另一优选例中,所述人源化抗人IL-17A单克隆抗体优选具有SEQ ID NO:7所示的重链可变区氨基酸序列和SEQ ID NO:8所示的轻链可变区氨基酸序列。

[0014] 在另一优选例中,所述的药物组合物的剂型为液体制剂。

[0015] 在另一优选例中,所述的药物组合物的剂型为注射制剂或输液制剂。

[0016] 在另一优选例中,所述的抗人IL-17A单克隆抗体的浓度为10-300mg/mL,较佳地10-200mg/mL,更佳地30-180mg/mL,更佳地50-180mg/mL,更佳地50-160mg/mL,更佳地80-160mg/mL,最佳地80-120mg/mL。

[0017] 在另一优选例中,所述的缓冲液选自下组:醋酸盐-醋酸缓冲液、枸橼酸盐-枸橼酸缓冲液、磷酸盐缓冲液、组氨酸-醋酸盐缓冲液、三羟甲基氨基甲烷(Tris)-盐酸盐缓冲液、磷酸-枸橼酸盐,或其组合。

[0018] 在另一优选例中,所述的缓冲液选自下组:醋酸盐-醋酸缓冲液、磷酸盐缓冲液、组氨酸-醋酸盐缓冲液、三羟甲基氨基甲烷(Tris)-盐酸盐缓冲液、或其组合。

[0019] 在另一优选例中,所述的磷酸盐缓冲液为磷酸二氢钠-磷酸氢二钠盐缓冲液。

[0020] 在另一优选例中,所述的缓冲液选自下组:醋酸盐-醋酸缓冲液、枸橼酸盐-枸橼酸缓冲液。

[0021] 在另一优选例中,所述的缓冲液选为醋酸盐-醋酸缓冲液。

[0022] 在另一优选例中,所述的缓冲液选为醋酸钠-醋酸缓冲液。

[0023] 在另一优选例中,所述的缓冲液的浓度为5-100mM,较佳地5-80mM,更佳地5-60mM,更佳地5-40mM,更佳地5-30mM,更佳地10-30mM,最佳地15-25mM。

[0024] 在另一优选例中,所述缓冲液的溶剂为水。

[0025] 在另一优选例中,所述缓冲液的pH范围为5.0-7.2,较佳地5.0-6.5,更佳地5.3-6.0。

[0026] 在另一优选例中,所述的稳定剂选自下组:氯化钠、氨基酸、糖醇,或其组合。

[0027] 在另一优选例中,所述的氨基酸选自下组:脯氨酸、精氨酸(Arginine)、甘氨酸(Glycine)、组氨酸(Histidine)、甲硫氨酸(Methionine),或其组合;和/或

[0028] 在另一优选例中,所述的糖醇选自下组:蔗糖(Sucrose)、甘露醇(Mannitol)、海藻糖(Trehalose)、麦芽糖(Maltose)、山梨醇(Sorbitol),或其组合。

[0029] 在另一优选例中,所述的糖醇选自下组:蔗糖、甘露醇、海藻糖、山梨醇,或其组合。

[0030] 在另一优选例中,所述的稳定剂为蔗糖。

[0031] 在另一优选例中,所述的糖醇为蔗糖。

[0032] 在另一优选例中,所述的氯化钠浓度为50-400mM,较佳地100-300mM,更佳地150-300mM。

[0033] 在另一优选例中,所述的氨基酸浓度为10-300mM,较佳地20-250mM,更佳地20-200mM,更佳地30-180mM,更佳地50-150mM,更佳地80-120mM。

[0034] 在另一优选例中,所述的糖醇浓度为0.1-20wt.%,2-20wt.%,较佳地2-16wt.%,更佳地2-14wt.%,更佳地4-14wt.%,更佳地5-13wt.%,最佳地6-10wt.%,以所述药物组合物的总重量计。

[0035] 在另一优选例中,所述的稳定剂的含量为0.1-20wt.%,2-20wt.%,较佳地2-16wt.%,更佳地2-14wt.%,更佳地4-14wt.%,更佳地5-13wt.%,最佳地6-10wt.%,以所述药物组合物总重量计。

[0036] 在另一优选例中,所述的稳定剂的浓度为10-200g/L,较佳地20-160g/L,更佳地40-120g/L,更佳地60-100g/L,最佳地70-90g/L。

[0037] 在另一优选例中,所述的表面活性剂选自下组:聚氧乙烯山梨醇酐脂肪酸酯、聚氧乙烯氢化蓖麻油、甘油脂肪酸酯、聚山梨醇酯、泊洛沙姆,或其组合。

[0038] 在另一优选例中,所述的聚山梨醇酯选自下组:聚山梨醇酯20(PS-20,吐温-20)、聚山梨醇酯40(PS-40)、聚山梨醇酯60(PS-60)、聚山梨醇酯80(PS-80)。

[0039] 在另一优选例中,所述的泊洛沙姆选自下组:泊洛沙姆188、泊洛沙姆108、泊洛沙姆124,或其组合。

[0040] 在另一优选例中,所述的表面活性剂为聚山梨醇酯。

[0041] 在另一优选例中,所述的表面活性剂为聚山梨醇酯80(PS-80)。

[0042] 在另一优选例中,所述的表面活性剂含量为0.001-0.2wt.%,较佳地0.001-0.1wt.%,更佳地0.005-0.1wt.%,更佳地0.005-0.08wt.%,最佳地0.008-0.05wt.%,以所述药物组合物的总重量计。

[0043] 在另一优选例中,所述的药学上可接受的载体还包括螯合剂。

[0044] 在另一优选例中,所述的螯合剂选自下组:乙二胺四乙酸二钠(EDTA)、二乙烯三胺五乙酸(DTPA),或其组合。

[0045] 在另一优选例中,所述的螯合剂含量为0.001-0.01wt.%,以所述药物组合物的总重量计。

[0046] 在另一优选例中,所述的药物组合物的pH范围为5.0-7.2,较佳地5.0-6.5,更佳地5.3-6.0。

[0047] 在另一优选例中,所述药物组合物包括:

[0048]	抗人IL-17A单克隆抗体	10-200mg/mL
	醋酸盐-醋酸缓冲液	5-80mM
	蔗糖	20-160g/L
	PS-80	0.001-0.2wt.%
	所述药物组合物的pH为5.0-7.2	。

[0049] 在另一优选例中,所述的药物组合物包括:

[0050]	人源化抗人IL-17A单克隆抗体	80-160mg/mL
	醋酸盐-醋酸缓冲液	5-40mM
	蔗糖	40-120g/L
	PS-80	0.001-0.1wt.%

	所述药物组合物的pH为5.0-6.5	。
[0051]	在另一优选例中,所述的药物组合物包括:	
[0052]	人源化抗人IL-17A单克隆抗体	80-120mg/mL
	醋酸盐-醋酸缓冲液	10-30mM
	蔗糖	60-100g/L
	PS-80	0.005-0.08wt. %
	所述药物组合物的pH为5.3-6.0	。

[0053] 在另一优选例中,在所述的药物组合物中,各个组分的重量含量(wt. %)之和为100%。

[0054] 本发明第二方面,提供一种试剂盒,所述的试剂盒含有如本发明第一方面所述的药物组合物,以及盛装所述药物组合物的容器。

[0055] 本发明第三方面,提供一种如本发明第一方面所述的药物组合物和/或如本发明第二方面所述的试剂盒的用途,用于制备(i)预防和/或治疗IL-17A介导的疾病的药物;和/或(ii)预防和/或治疗自身免疫性疾病的药物。

[0056] 在另一优选例中,所述IL-17A介导的疾病为自身免疫性疾病。

[0057] 在另一优选例中,所述的IL-17A为人IL-17A。

[0058] 在另一优选例中,所述的自身免疫性疾病选自下组:银屑病、关节炎(优选为类风湿性关节炎)、多发性硬化症、强制性脊柱炎、炎症性大肠病、系统性红斑狼疮、I型糖尿病,或其组合。

[0059] 本发明第四方面,提供一种冻干制剂,所述的冻干制剂通过以下方法制备:

[0060] 将如本发明第一方面所述的药物组合物进行冷冻干燥,得到冻干制剂。

[0061] 在另一优选例中,所述的冻干制剂还包括冻干保护剂。

[0062] 在另一优选例中,所述的冻干保护剂选自下组:葡萄糖、甘露醇、果糖、半乳糖,或其组合。

[0063] 本发明第五方面,提供一种预防和/或治疗IL-17A介导的疾病的方法,所述的方法包括:给予所需对象如本发明第一方面所述的药物组合物。

[0064] 在另一优选例中,所述的IL-17A为人IL-17A。

[0065] 在另一优选例中,所述的对象为人或非人哺乳动物。

[0066] 应理解,在本发明范围内中,本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合,从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅,在此不再一一累述。

具体实施方式

[0067] 本发明人通过广泛而深入的研究,意外地研发出一种药物组合物,所述的药物组合物能够有效提高人源化抗人IL-17A单克隆抗体在加压(高温、冻融和震荡等)、加速和长期冷藏条件下的稳定性,可提高临床使用的安全性。在此基础上,完成了本发明。

[0068] 术语

[0069] 除非另有定义,否则本文中所有技术和科学术语的含义与本发明所属领域普通技术人员普遍理解的含义相同。

[0070] 如本文所用,术语“包含”、“包括”、“含有”可互换使用,不仅包括封闭式定义,还包括半封闭、和开放式的定义。换言之,所述术语包括了“由……构成”、“基本上由……构成”。

[0071] 如本文所用,“mM”为mmol/L单位,例如,1mM=1mmol/L。

[0072] 在本发明中在所述的药物组合物中,各个组分的重量含量(wt.%)或浓度(如mM、mg/mL)均以药物组合物的重量或体积计。

[0073] 如本文所用,三羟甲基氨基甲烷简称为Tris,即“三羟甲基氨基甲烷”与“Tris”可互换使用。

[0074] 药物组合物

[0075] 本发明提供一种药物组合物,其特征在于,所述的药物组合物包括:

[0076] (a) 抗人IL-17A单克隆抗体;和

[0077] (b) 药学上可接受的载体,所述的药学上可接受的载体包括缓冲液、稳定剂和表面活性剂。

[0078] 术语“药学上可接受的载体”指的是:一种或多种相容性固体、半固体、液体或凝胶填料,它们适合于人体或动物使用,而且必须有足够的纯度和足够低的毒性。“相容性”是指药物组合物中的各组分和药物的活性成分以及它们之间相互掺和,而不明显降低药效。

[0079] 在本发明的一个优选例中,所述的药物组合物pH范围为5.0-7.2,较佳地5.0-6.5,更佳地5.3-6.0。

[0080] 优选地,所述的药物组合物的剂型为液体制剂。更优选地,所述的药物组合物的剂型为注射制剂或输液制剂。

[0081] 抗人IL-17A单克隆抗体

[0082] 本发明优选地的抗人IL-17A单克隆抗体为人源化抗人IL-17A单克隆抗体。优选地,所述的人源化抗人IL-17A单克隆抗体(参见CN108359011A);专利名称:靶向于白介素17A的抗体、其制备方法和应用,氨基酸序列中具有分别为SEQ ID NO.:1、SEQ ID NO.:2和SEQ ID NO.:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3氨基酸序列,以及分别为SEQ ID NO.:4、SEQ ID NO.:5和SEQ ID NO.:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3氨基酸序列,所述的氨基酸序列如下表所示:

结构域		抗 IL-17A 抗体	
		序列	SEQ ID NO
[0083] VH	HCDR1	<u>EYIFTNY</u>	1
	HCDR2	<u>DTNTGE</u>	2
	HCDR3	<u>ANYGWGYFDY</u>	3
[0084] VL	LCDR1	<u>QSLVHSNGYTY</u>	4
	LCDR2	<u>KVS</u>	5
	LCDR3	<u>SQSTHVPYT</u>	6

[0085] 进一步优选的人源化抗人IL-17A单克隆抗体具有重链SEQ ID NO.:7和轻链SEQ ID NO.:8,两条氨基酸序列

[0086] SEQ ID NO.:7

[0087] QIQLVQSGPELKKPGETVKISKASEYIFTNYGMNWWKEAPGKAFKWMGWIDTNTGPTYAEDFKGRFA

FSLDSSATSFAFLQISNLKDDDTGTYFCANYGWGYFDYWGQGTTLTVSS

[0088] 其中,下划线为HCDR1、HCDR2、HCDR3(SEQ ID NO.:1、2和3)。

[0089] SEQ ID NO.:8

[0090] DVVMTQTPLSLPVSLRDQASISCISSQSLVHSNGYTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVS^NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADLGVYFCSQSTHVPYTFGGGTKLEIK

[0091] 其中,下划线为LCDR1、LCDR2、LCDR3(SEQ ID NO.:4、5和6)。

[0092] 在一个优选例中,所述的抗人IL-17A单克隆抗体的浓度为10-300mg/mL,较佳地10-200mg/mL,更佳地30-180mg/mL,更佳地50-180mg/mL,更佳地50-160mg/mL,更佳地80-160mg/mL,更佳地80-120mg/mL。

[0093] 缓冲液

[0094] 在本发明所述的药物组合物中,优选地,所述的缓冲液包括(但不限于):醋酸盐-醋酸缓冲液、枸橼酸盐-枸橼酸缓冲液、磷酸盐缓冲液、组氨酸-醋酸盐缓冲液、三羟甲基氨基甲烷(Tris)-盐酸盐缓冲液、磷酸-枸橼酸盐,或其组合。

[0095] 优选地,所述的缓冲液包括(但不限于):醋酸盐-醋酸缓冲液、磷酸盐缓冲液、组氨酸-醋酸盐缓冲液、三羟甲基氨基甲烷(Tris)-盐酸盐缓冲液、或其组合。

[0096] 代表性的,所述的磷酸盐缓冲液为磷酸二氢钠-磷酸氢二钠盐缓冲液。

[0097] 代表性的,所述的缓冲液选自下组:醋酸盐-醋酸缓冲液、枸橼酸盐-枸橼酸缓冲液。

[0098] 代表性的,所述的缓冲液选为醋酸盐-醋酸缓冲液。

[0099] 典型地,所述的缓冲液选为醋酸钠-醋酸缓冲液。

[0100] 在一个优选例中,所述的缓冲液的浓度为5-100mM,较佳地5-80mM,更佳地5-60mM,更佳地5-40mM,更佳地5-30mM,更佳地10-30mM,最佳地15-25mM。

[0101] 在另一优选例中,所述缓冲液的溶剂为常规使用的水,

[0102] 稳定剂

[0103] 在本发明所述的药物组合物中,优选地,所述的稳定剂包括(但不限于):氯化钠、氨基酸、糖醇,或其组合。

[0104] 优选地,所述的氨基酸包括(但不限于):脯氨酸、精氨酸(Arginine)、甘氨酸(Glycine)、组氨酸(Histidine)、甲硫氨酸(Methionine),或其组合;和/或

[0105] 优选地,所述的糖醇包括(但不限于):蔗糖(Sucrose)、甘露醇(Mannitol)、海藻糖(Trehalose)、麦芽糖(Maltose)、山梨醇(Sorbitol),或其组合。

[0106] 优选地,,所述的糖醇包括(但不限于):蔗糖、甘露醇、海藻糖、山梨醇,或其组合。

[0107] 代表性地,所述的糖醇为蔗糖。

[0108] 在一个优选例中,所述的稳定剂为蔗糖。

[0109] 在一个优选例中,所述的氯化钠浓度为50-400mM,较佳地100-300mM,更佳地150-300mM。

[0110] 在一个优选例中,所述的氨基酸浓度为10-300mM,较佳地20-250mM,更佳地20-200mM,更佳地30-180mM,更佳地50-150mM,更佳地80-120mM。

[0111] 在一个优选例中,所述的糖醇浓度为0.1-20wt.%,2-20wt.%,较佳地2-16wt.%,更佳地2-14wt.%,更佳地4-14wt.%,更佳地5-13wt.%,最佳地6-10wt.%,以所述药物组

合物的总重量计。

[0112] 在另一优选例中,所述的稳定剂的含量为0.1-20wt.%,2-20wt.%,较佳地2-16wt.%,更佳地2-14wt.%,更佳地4-14wt.%,更佳地5-13wt.%,最佳地6-10wt.%,以所述药物组合物总重量计。

[0113] 在另一优选例中,所述的稳定剂的浓度为10-200g/L,较佳地20-160g/L,更佳地40-120g/L,更佳地60-100g/L,最佳地70-90g/L。

[0114] 表面活性剂

[0115] 在本发明所述的药物组合物中,优选地,所述的表面活性剂包括(但不限于):聚氧乙烯山梨醇酐脂肪酸酯、聚氧乙烯氢化蓖麻油、甘油脂肪酸酯、聚山梨醇酯、泊洛沙姆,或其组合。

[0116] 优选地,所述的聚山梨醇酯包括(但不限于):聚山梨醇酯20(PS-20,吐温-20)、聚山梨醇酯40(PS-40)、聚山梨醇酯60(PS-60)、聚山梨醇酯80(PS-80)。

[0117] 优选地,所述的泊洛沙姆包括(但不限于):泊洛沙姆188、泊洛沙姆108、泊洛沙姆124,或其组合。

[0118] 优选地,所述的表面活性剂为聚山梨醇酯。

[0119] 代表性地,所述的表面活性剂为聚山梨醇酯80(PS-80)。

[0120] 在一个优选例中,所述的表面活性剂含量为0.001-0.2wt.%,较佳地0.001-0.1wt.%,更佳地0.005-0.1wt.%,更佳地0.005-0.08wt.%,最佳地0.008-0.05wt.%,以所述药物组合物的总重量计。

[0121] 其它药学上可接受的载体

[0122] 在本发明另一优选例中,所述的药学上可接受的载体还包括螯合剂。

[0123] 在另一优选例中,所述的螯合剂包括(但不限于):乙二胺四乙酸二钠(EDTA)、二乙烯三胺五乙酸(DTPA),或其组合。

[0124] 在另一优选例中,所述的螯合剂含量为0.001-0.01wt.%,以所述药物组合物的总重量计。

[0125] 本发明一种优选地的药物组合物包括:

[0126]	抗人IL-17A单克隆抗体	10-200mg/mL
	醋酸盐-醋酸缓冲液	5-80mM
	蔗糖	20-160g/L
	PS-80	0.001-0.2wt.%
	所述药物组合物的pH为5.0-7.2	。

[0127] 优选地,所述的药物组合物包括:

[0128]	人源化抗人IL-17A单克隆抗体	80-160mg/mL
	醋酸盐-醋酸缓冲液	5-40mM
	蔗糖	40-120g/L
	PS-80	0.001-0.1wt.%
	所述药物组合物的pH为5.0-6.5	。

[0129] 优选地,所述的药物组合物包括:

[0130]	人源化抗人IL-17A单克隆抗体	80-120mg/mL
	醋酸盐-醋酸缓冲液	10-30mM
	蔗糖	60-100g/L
	PS-80	0.005-0.08wt.%。
	所述药物组合物的pH为5.3-6.0	。

[0131] 在本发明的另一优选例中,在所述的药物组合物中,各个组分的重量含量(wt.%)之和为100%。

[0132] 试剂盒

[0133] 本发明还提供一种试剂盒,所述的试剂盒含有本发明所述的药物组合物,以及盛装所述药物组合物的容器。

[0134] 用途

[0135] 本发明还提供一种本发明所述的药物组合物和/或试剂盒的用途,用于制备(i)预防和/或治疗IL-17A介导的疾病的药物;和/或(ii)预防和/或治疗自身免疫性疾病的药物。

[0136] 在另一优选例中,所述IL-17A介导的疾病为自身免疫性疾病。

[0137] 在另一优选例中,所述的自身免疫性疾病选自下组:银屑病、关节炎(优选为类风湿性关节炎)、多发性硬化症、强制性脊柱炎、炎症性大肠病、系统性红斑狼疮、I型糖尿病,或其组合。

[0138] 本发明还提供一种预防和/或治疗IL-17A介导的疾病的方法,所述的方法包括:给予所需对象如本发明所述的药物组合物。

[0139] 在另一优选例中,所述的对象为人或非人哺乳动物。

[0140] 在本发明中,术语“预防”表示预防疾病和/或它的附随症状的发作或者保护对象免于获得疾病的方法。本文中使用的“预防”还包括延迟疾病和/或它的附随症状的发作和降低对象的得病的风险。

[0141] 在本发明中,术语“治疗”是指哺乳动物中的疾病的任何治疗,包括(但不限于):(a)抑制所述疾病,即,减慢或阻止临床症状的发展;和/或(b)缓解所述疾病,即,造成临床症状的消退,和/或(c)减轻或消除疾病和/或它的附随症状。

[0142] 冻干制剂

[0143] 本发明还提供一种冻干制剂,所述的冻干制剂通过以下方法制备:将本发明所述的药物组合物冷冻干燥,得到冻干制剂。

[0144] 在另一优选例中,所述的冻干制剂还包括冻干保护剂。

[0145] 在另一优选例中,所述的冻干保护剂选自下组:葡萄糖、甘露醇、果糖、半乳糖,或其组合。

[0146] 本发明的主要优点包括:

[0147] 1、本发明提供一种含有抗人IL-17A单克隆抗体(例如人源化抗人IL-17A单克隆抗体)的药物组合物,所述的药物组合物能够显著增强抗人IL-17A单克隆抗体的稳定性,能够在加压(高温、冻融及震荡等)、加速和长期冷藏等条件下均能保持其稳定性。

[0148] 2、本发明的含有抗人IL-17A单克隆抗体(例如人源化抗人IL-17A单克隆抗体)的药物组合物能够增强高浓度(大于100mg/ml)抗人IL-17A单克隆抗体的稳定性。

[0149] 3、本发明的含有抗人IL-17A单克隆抗体(例如人源化抗人IL-17A单克隆抗体)的

药物组合物能够增强抗体制剂的热力学及化学稳定性,使得该抗体在新型制剂中稳定保存,在提升产品质量的同时,延长产品的货架期,提高临床实用的安全性。

[0150] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,例如Sambrook等人,分子克隆:实验室手册(New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989)中所述的条件,或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明,否则百分比和份数是重量百分比和重量份数。

[0151] 除非另行定义,文中所使用的专业与科学术语与本领域熟练人员所熟悉的意义相同。此外,任何与所记载内容相似或均等的方法或材料皆可应用于发明文献中。文中所述的较佳实施方法与材料仅作示范之用。

[0152] 实施例

[0153] 通用测定方法

[0154] SEC-UPLC:用ACQUITY UPLC® Protein BEH SEC分析柱(4.6mm×150mm),通过Waters超高效液相色谱仪器(Acquity H Class),参照《中华人民共和国药典》(2015版,三部)0514通则高效液相色谱法进行测定,以面积归一法计算纯度。

[0155] CEX-HPLC:用ProPac™ WCX-10分析柱(4mm×250mm),通过Water高效液相色谱仪器(E2695),参照《中华人民共和国药典》(2015版,三部)通则高效液相色谱法进行测定,以面积归一法计算纯度。

[0156] T_m值测定(IF,全光谱荧光):使用Uncle(Unchained Labs),在25℃至95℃范围内,以0.3℃/分钟加热,利用全光谱荧光模块计算出不同处方的溶解温度T_m。

[0157] 平均粒径分布测定(DLS,动态光散射):利用Uncle仪器的动态光散射模块,测定不同处方25℃温度下的平均粒径(Z-average)。

[0158] Tagg值测定(SLS,静态光散射):使用Uncle仪器在25℃至95℃下,以0.3℃/分钟加热,利用静态光散射模块计算出不同处方的抗体分子的起始聚集温度Tagg。

[0159] 结合比活性:以不同浓度的待测物(单克隆抗体)与包被在ELISA板孔表面的重组人白介素17A(rh IL-17A)结合,用辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗人IgG-Fc抗体来测定结合的单克隆抗体的量,经四参数拟合得到S形曲线,并计算半最大效应浓度(EC₅₀)。最后,通过比较待测物及参比品的EC₅₀值,得出相对比活性(%)。

[0160] 生物学比活性:以不同浓度的待测物(单克隆抗体)与一定量的重组人白介素17A(rh IL-17A)和重组人肿瘤坏死因子阿尔法(rh TNF-α)混合后,加入人HT-1080细胞(ATCC)孵育1天,通过(酶联免疫吸附)ELISA方法(Biolegend)测定IL-6表达水平,经四参数拟合得到S形曲线,并计算半抑制浓度(IC₅₀)。最后,通过比较待测物及参比品的IC₅₀值,得出相对比活性(%)。

[0161] 实施例1不同缓冲体系稳定性比较

[0162] 用WaterSep中空纤维(Discover 12)将人源化抗人IL-17A单克隆抗体(SEQ ID NO.:7和SEQ ID NO.:8)置换至含15mM各筛选缓冲液(如下表1所示),并用各自缓冲液调整抗体浓度至约5mg/mL,除菌过滤后备用。

[0163] 新制备样品,通过T_m、Tagg及DLS评估各缓冲液的稳定性,结果如表1所示。同时,将新制备样品置于各加压条件下,包括:高温试验(40℃±2℃,放置三周),反复冻融(5个循

环, $\leq -70^{\circ}\text{C}/5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$)。分别通过外观、纯度等检测项目, 评估其稳定性, 结果如表2所示。

[0164] 表1不同缓冲液 T_m 、 T_{agg} 及DLS结果汇总

缓冲液		T_m ($^{\circ}\text{C}$)	T_{agg} ($^{\circ}\text{C}$)	平均粒径 (nm)
种类	pH			
醋酸钠-醋酸	5.5	72.7	60.1	9.8
枸橼酸钠-枸橼酸	5.5	69.6	57.0	11.6
[0165] 磷酸二氢钠-磷酸氢二钠	6.5	69.1	57.9	11.5
Tris-盐酸盐	7	69.3	59.9	11.0
组氨酸-醋酸钠	5.5	69.2	55.7	11.2
磷酸-枸橼酸钠	6	70.7	58.8	12.3

[0166] 表2各压力条件下, 不同缓冲体系外观及纯度结果汇总

缓冲液		冻融		高温	
种类	pH	外观	SEC 纯度	外观	SEC 纯度
醋酸钠-醋酸	5.5	澄清	97.4%	澄清	97.2%
枸橼酸钠-枸橼酸	5.5	浑浊	/	澄清	96.9%
[0167] 磷酸二氢钠-磷酸氢二钠	6.5	澄清	97.3%	澄清	96.6%
Tris-盐酸盐	7	澄清	97.3%	澄清	96.6%
组氨酸-醋酸钠	5.5	澄清	97.6%	澄清	97.0%
磷酸-枸橼酸钠	6	浑浊	/	澄清	96.2%

[0168] 从表1中可以看出, 各缓冲体系在 T_m 、 T_{agg} 和平均水力学半径差异不大。

[0169] 从表2中可以看出, 在冻融压力条件下, 枸橼酸盐-枸橼酸和磷酸-枸橼酸盐缓冲体系外观明显浑浊, 甚至出现沉淀, 在纯度方面各组无明显差异; 在高温压力条件下, 各缓冲体系组在外观和纯度方面, 均无明显差异。

[0170] 此外, 从表1和表2中可以看出, 醋酸盐-醋酸缓冲液 (pH5.5), 在各稳定性参数和加压条件上, 表现均比较优异, 后续其它辅料筛选, 均以该缓冲体系为基础开展。

[0171] 实施例2不同稳定剂稳定性比较

[0172] 用WaterSep中空纤维 (Discover 12) 将人源化抗人IL-17A单克隆抗体 (SEQ ID NO.:7和SEQ ID NO.:8) 置换至20mM醋酸盐-醋酸 (pH5.5) 缓冲体系中, 分别加入各稳定剂的高浓母液, 配制各稳定剂筛选组 (如表3所示), 调节抗体浓度至约2mg/mL, 除菌过滤后备用。

[0173] 将新制备样品置于各加压条件下, 包括: 高温试验高温试验 ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, 放置三周), 反复冻融 (5个循环, $\leq -70^{\circ}\text{C}/5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$)。分别通过外观和纯度等检测项目, 评估其稳定性, 部分检测结果见下表3。

[0174] 表3各压力条件下, 不同稳定剂体系下外观及纯度结果汇总

样品		冻融			高温			
种类	含量	外观	SEC 纯度	CEX 主峰	外观	SEC 纯度	CEX 主峰	
[0175]	氯化钠	200mM	澄清	96.9%	78.9%	浑浊	/	/
	脯氨酸	100mM	澄清	98.8%	79.2%	澄清	94.5%	68.6%
	蔗糖	8%	澄清	98.7%	79.1%	澄清	95.5%	68.9%
	海藻糖	8%	澄清	99.0%	79.3%	澄清	95.9%	69.1%
	甘露醇	4%	澄清	98.9%	79.3%	澄清	95.8%	69.2%
	山梨醇	4%	澄清	99.4%	79.3%	澄清	95.8%	68.0%

[0176] 从表3中可以看出,在冻融压力下,除了氯化钠组SEC纯度略低于其它组外,其它各组均无明显差异;高温压力下,氯化钠组出现了浑浊,可能与蛋白聚集有关,各组的CEX主峰比例均有10%左右的降低,但各组间无明显差异,仅山梨醇组纯度略低。

[0177] 综上,后续将选用蔗糖作为稳定剂,开展表面活性剂筛选实验。

[0178] 实施例3表面活性剂筛选

[0179] 用WaterSep中空纤维(Discover 12)将人源化抗人IL-17A单克隆抗体SEQ ID NO.:7和SEQ ID 8)置换至20mM醋酸盐-醋酸(pH5.7)8wt.%蔗糖缓冲体系中,分别加入各表面活性剂的高浓母液,配制各表面活性剂筛选组(如表4所示),调节抗体浓度至约100mg/mL,除菌过滤后备用。

[0180] 将新制备样品置于各震荡加压条件下,室温翻转震荡3天(60rpm),通过不溶性微粒数量评价表面活性剂吐温-20(PS-20)和吐温-80(PS-80)的保护效果,部分检测结果见下表。

[0181] 表4震荡压力条件下,不同表面活性剂的微粒数目汇总

处方信息			震荡	
基础处方	表面活性剂		≥10μm (个/mL)	≥25μm (个/mL)
	种类	浓度		
[0182] 20mM 醋酸盐 (pH5.7), 含 8 wt. % 蔗糖, 抗体 100mg/ml	无	/	4238	558
	PS-20	0.01%	2572	90
		0.05%	2386	214
		0.2%	460	4
	PS-80	0.001%	2120	120
		0.01%	800	60
		0.1%	1968	10
		0.2%	316	2

[0183] 从表4中可以看出,在震荡压力下,与未添加表面活性剂组相比,PS-20和PS-80的加入,均能显著抑制震荡引起的不溶性微粒数增加。进一步分析发现,不溶性微粒数量随PS-80添加量的增加而减少,存在一定的浓度依赖性,尤其体现在大于25μm粒子数上。

[0184] 实施例4人源化抗人IL-17A单克隆抗体药物制剂

[0185] 按以下处方配制人源化抗人IL-17A单克隆抗体药物制剂(如表5所示),人源化抗

人IL-17A单克隆抗体如SEQ ID NO.:7和SEQ ID 8所示:

[0186] 表5液体制剂处方

[0187]	人源化抗人IL-17A单克隆抗体	100mg/mL
	醋酸钠+醋酸缓冲液	20mM
	蔗糖	80g/L
	PS-80	0.01wt. %
	pH	5.7
	装量	1mL

[0188] 备注:醋酸钠+醋酸缓冲液的溶剂为无菌注射用水。

[0189] 制备方法:

[0190] 先用Merk公司30KD超滤膜包(PLCTK)将人源化抗人IL-17A单克隆抗体(SEQID NO.:7和SEQ ID NO.:8)置换至含蔗糖的醋酸钠-醋酸缓冲液中,加入吐温80(PS

[0191] -80),并用醋酸钠-醋酸缓冲液调节抗体浓度至约100mg/mL,无菌分装至于预灌封注射器中(1.0mL/支),获得最终液体制剂,测定所得液体制剂的pH为5.7。

[0192] 实施例5

[0193] 实施例5考察实施例4制备的人源化抗人IL-17A单克隆抗体药物制剂的稳定性,稳定性考察为加压、加速和长期稳定性考察,具体如下:

[0194] 5.1加压条件稳定性试验

[0195] 加压条件包括:高温1个月(40°C±2°C)、室温震荡3天(60rpm)、反复冻融(5个循环,≤-70°C/5°C±3°C冻融)等。

[0196] 按照实施例4制备人源化抗人IL-17A单克隆抗体药物制剂样品,置于各压力条件下储存(如表6所示),在设定时间点或处理次数后取样送检,通过外观、不溶性微粒数和纯度等评价其稳定性,部分检测结果见下表6。

[0197] 表6人源化抗人IL-17A单克隆抗体药物制剂在各加压条件下的稳定性数据汇总

加压条件	外观	不溶性微粒		纯度	
		≥10μm (个/mL)	≥25μm (个/mL)	SEC 纯度	CEX 主峰
[0198] T0 对照	澄清	36	0	99.4%	83.3%
冻融-5次循环	澄清	13	7	98.0%	83.7%
室温震荡-3天	澄清	38	13	98.8%	83.7%
高温-1个月	澄清	25	0	94.8%	66.6%

[0199] 备注:T0对照为制剂制备完成时的对照。

[0200] 从表6中可以看出,各压力条件对产品质量的影响项目和程度表现各异。冻融及震荡压力主要引起不溶性微粒中大颗粒(≥25μm)数量的增加,而高温压力会导致产品纯度的下降,SEC纯度下降约5%,CEX主峰比例显著下降约15%。总之,本发明的药物组合物稳定性很高,能有效保护主药成分单克隆抗体,从而有效抵抗各加压条件的破坏作用。

[0201] 5.2加速稳定性试验

[0202] 按照实施例4制备人源化抗人IL-17A单克隆抗体药物制剂样品,置于加速条件下

储存(25℃±2℃),在设定时间点取样送检,通过不溶性微粒、纯度和活性等评价其稳定性,部分检测结果见下表7。

[0203] 表7人源化抗人IL-17A单克隆抗体药物制剂在加速条件下的稳定性数据汇总

[0204] 样品	不溶性微粒		纯度		活性	
	≥10μm (个/mL)	≥25μm (个/mL)	SEC 纯度	CEX 主峰	结合活性	生物活性
T0 对照	48	0	99.3%	83.8%	97%	97%
一个月	0	0	98.9%	78.9%	/	/
[0205] 二个月	0	0	97.8%	76.0%	/	/
三个月	0	0	97.4%	73.4%	/	/
六个月	50	0	97.4%	66.3%	78%	90%

[0206] 备注:T0对照为制剂制备完成时的对照。

[0207] 从表7中可以看出,加速条件会引起药物制剂质量发生一定程度的下降。整个加速试验周期内,不溶性微粒、结合活性和生物学活性方面均无明显变化。与T0样品相比,加速3个月样品,SEC分子筛纯度下降约2%,CEX主峰含量下降约10%,但仍满足质量标准;加速6个月样品,SEC分子筛纯度下降约2%,CEX主峰含量下降约15%。总之,本药物组合物的稳定性很高,在25℃加速条件下,能至少稳定保存3个月以上。

[0208] 5.3长期稳定性试验

[0209] 按照实施例4制备人源化抗人IL-17A单克隆抗体药物制剂样品,置于长期冷藏条件下储存(5℃±3℃),在设定时间点取样送检,通过不溶性微粒、纯度和活性等评价其稳定性,部分检测结果见下表8所示。

[0210] 表8人源化抗人IL-17A单克隆抗体药物制剂在长期冷藏条件下的稳定性数据汇总

[0211] 样品	不溶性微粒		纯度		活性	
	≥10μm (个/mL)	≥25μm (个/mL)	SEC 纯度	CEX 主峰	结合活性	生物活性
T0 对照	48	0	99.3%	83.8%	97%	97%
一个月	0	0	98.6%	82.5%	--	--
三个月	0	0	98.2%	81.8%	--	--
六个月	13	0	98.2%	81.8%	97%	99%

[0212] 备注:T0对照为制剂制备完成时的对照。

[0213] 从表8中可以看出,长期冷藏条件下(5℃±3℃),药物制剂稳定性很好,半年期样品在不溶性微粒、结合活性和生物学活性方面均无明显变化,仅CEX主峰含量下降约2%,远高于质量标准。总之,本药物组合物的稳定性很高,可以在长期冷藏条件下稳定保存。

[0214] 综上所述可以看出,实施例4制备的人源化抗人IL-17A单克隆抗体药物制具有很好的稳定性,人源化抗人IL-17A单克隆抗体在各压力条件(高温、反复冻融和震荡)下保持较好的稳定性,在加速条件(25℃±2℃)下能至少稳定储存三个月以上,同时在长期冷藏条件下,表现出很高的稳定性,可以稳定储存。

[0215] 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 华博生物医药技术(上海)有限公司
- [0003] <120> 一种人源化抗人IL-17A单克隆抗体的药物组合物
- [0004] <130> P2019-0294
- [0005] <160> 8
- [0006] <170> SIPOSequenceListing 1.0
- [0007] <210> 1
- [0008] <211> 7
- [0009] <212> PRT
- [0010] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0011] <400> 1
- [0012] Glu Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr
- [0013] 1 5
- [0014] <210> 2
- [0015] <211> 6
- [0016] <212> PRT
- [0017] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0018] <400> 2
- [0019] Asp Thr Asn Thr Gly Glu
- [0020] 1 5
- [0021] <210> 3
- [0022] <211> 10
- [0023] <212> PRT
- [0024] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0025] <400> 3
- [0026] Ala Asn Tyr Gly Trp Gly Tyr Phe Asp Tyr
- [0027] 1 5 10
- [0028] <210> 4
- [0029] <211> 11
- [0030] <212> PRT
- [0031] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
- [0032] <400> 4
- [0033] Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Tyr Thr Tyr
- [0034] 1 5 10
- [0035] <210> 5
- [0036] <211> 3
- [0037] <212> PRT
- [0038] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

[0039] <400> 5
 [0040] Lys Val Ser
 [0041] 1
 [0042] <210> 6
 [0043] <211> 9
 [0044] <212> PRT
 [0045] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0046] <400> 6
 [0047] Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr
 [0048] 1 5
 [0049] <210> 7
 [0050] <211> 117
 [0051] <212> PRT
 [0052] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0053] <400> 7
 [0054] Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
 [0055] 1 5 10 15
 [0056] Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Glu Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr
 [0057] 20 25 30
 [0058] Gly Met Asn Trp Val Lys Glu Ala Pro Gly Lys Ala Phe Lys Trp Met
 [0059] 35 40 45
 [0060] Gly Trp Ile Asp Thr Asn Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Glu Asp Phe
 [0061] 50 55 60
 [0062] Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Asp Ser Ser Ala Thr Ser Ala Phe
 [0063] 65 70 75 80
 [0064] Leu Gln Ile Ser Asn Leu Lys Asp Asp Asp Thr Gly Thr Tyr Phe Cys
 [0065] 85 90 95
 [0066] Ala Asn Tyr Gly Trp Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 [0067] 100 105 110
 [0068] Leu Thr Val Ser Ser
 [0069] 115
 [0070] <210> 8
 [0071] <211> 112
 [0072] <212> PRT
 [0073] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0074] <400> 8
 [0075] Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Arg
 [0076] 1 5 10 15
 [0077] Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Ile Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

[0078]		20		25		30											
[0079]	Asn	Gly	Tyr	Thr	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	
[0080]		35						40					45				
[0081]	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro	
[0082]		50						55					60				
[0083]	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	
[0084]	65						70					75				80	
[0085]	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Ala	Asp	Leu	Gly	Val	Tyr	Phe	Cys	Ser	Gln	Ser	
[0086]					85						90				95		
[0087]	Thr	His	Val	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	
[0088]					100						105				110		