I835772

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I835772 B**

(45)公告日： 中華民國 113 (2024) 年 03 月 21 日

(21)申請案號：108102961 (22)申請日： 中華民國 108 (2019) 年 01 月 25 日

(51)Int. Cl.： *A61K38/20 (2006.01)* *A61K47/38 (2006.01)*
C07K14/54 (2006.01) *C07K16/28 (2006.01)*

(30)優先權：2018/01/26 美國 62/622,767

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

(72)發明人：卡勒 麥修 KALO, MATTHEW (US)；平 阿比蓋爾 佛萊德瑞克 喬伊斯 PYNN, ABIGAIL FRIEDERIKE JOYCE (US)；希爾法 琳賽 瑪莉 SILVA, LINDSEY MARIE (US)；斯瑞法斯塔法 安佳里 SRIVASTAVA, ANJALI (US)；蘇博拉瑪尼安 賈雅絲里 SUBRAMANIAN, JAYASHREE (IN)；蘇庫瑪蘭 西德哈斯 SUKUMARAN, SIDDHARTH (IN)；楊 艾咪 YOUNG, AMY (US)；巴根斯基 湯瑪仕 BAGINSKI, TOMASZ (US)；班特立 崔西 珍 BENTLEY, TRACY JANE (US)；貝斯麥 傑若米 BESMER, JEREMY (US)；寇提斯 雪莉 派翠絲 CURTIS, SHERRIE PATRICE (US)；德伊 彼得 威廉 DAY, PETER WILLIAM (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

TW 201524995A

期刊 Lewis A.M., et al., Understanding and Controlling Sialylation in a CHO Fc-Fusion Process", PLoS ONE 11(6) 2016, e0157111. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157111

審查人員：吳思嫻

申請專利範圍項數：48 項 圖式數：20 共 360 頁

(54)名稱

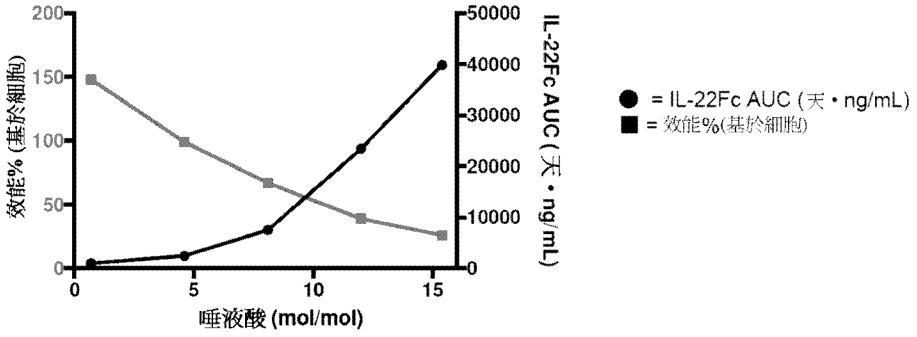
IL-22FC 融合蛋白及使用方法

(57)摘要

本發明係關於 IL-22 Fc 融合蛋白、包含其之組合物、製造及/或純化其之方法、選擇 IL-22 Fc 融合蛋白批料或其組合物之方法，以及使用該組合物治療疾病(例如 IBD)之方法。

The invention relates to IL-22 Fc fusion proteins, composition comprising the same, methods of making and/or purifying the same, methods of selecting batches of IL-22 Fc fusion proteins or compositions thereof, and methods of using the composition for the treatment of diseases (e.g., IBD).

指定代表圖：


200
150
100
50
0
效能% (基於細胞)
50000
40000
30000
20000
10000
0
IL-22Fc AUC (天・ng/mL)
0
5
10
15
唾液酸 (mol/mol)
● = IL-22Fc AUC (天・ng/mL)
■ = 效能%(基於細胞)

【圖 15】

公告本

I835772

【發明摘要】

【中文發明名稱】IL-22 FC 融合蛋白及使用方法

【英文發明名稱】IL-22 FC FUSION PROTEINS AND METHODS OF USE

【中文】

本發明係關於 IL-22 Fc 融合蛋白、包含其之組合物、製造及/或純化其之方法、選擇 IL-22 Fc 融合蛋白批料或其組合物之方法，以及使用該組合物治療疾病(例如 IBD)之方法。

【英文】

The invention relates to IL-22 Fc fusion proteins, composition comprising the same, methods of making and/or purifying the same, methods of selecting batches of IL-22 Fc fusion proteins or compositions thereof, and methods of using the composition for the treatment of diseases (e.g., IBD).

【指定代表圖】圖 15

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】IL-22 FC 融合蛋白及使用方法

【英文發明名稱】IL-22 FC FUSION PROTEINS AND METHODS OF USE

【技術領域】

【0001】 本發明係關於 IL-22 Fc 融合蛋白、包含其之組合物(例如醫藥組合物)以及製造、純化及使用其之方法。

【先前技術】

【0002】 介白素(IL)-22 為例如由 Th22 細胞、NK 細胞、淋巴組織誘導(LTi)細胞、樹突狀細胞及 Th17 細胞產生之 IL-10 細胞介素家族成員。IL-22 結合固有細胞(例如上皮細胞、肝細胞及角質細胞)中及若干器官(例如真皮、胰臟、腸及呼吸系統)之屏障上皮組織中所表現之 IL-22R1/IL-10R2 受體複合物。

【0003】 IL-22 在介導針對附著脫落型細菌性病原體之早期宿主防禦的黏膜免疫中起重要作用。IL-22 促進上皮細胞產生抗微生物肽及促炎性細胞介素且刺激腸中結腸上皮細胞增殖及遷移。在細菌感染後，IL-22 敲除小鼠顯示腸上皮再生受損、高細菌載量及死亡率增加。類似地，IL-22 敲除小鼠感染流感病毒引起嚴重體重損失且損害氣管及支氣管上皮細胞再生。因而，IL-22 在抑制微生物感染中起促炎性作用以及在炎症反應中之上皮再生中起抗炎保護作用。

【0004】 仍需要供治療炎症性腸病(IBD) (包括潰瘍性結腸炎及克羅恩氏病)以及其他病症(包括微生物感染、急性腎損傷、急性胰臟炎、創傷、心血管病狀、代謝症候群、急性內毒血症、移植物對抗宿主疾病(GVHD)及敗血症)用之改良治療劑及方法。亦仍需要用於製造及純化該等治療劑之改良方法。

【發明內容】

【0005】 本發明尤其提供介白素(IL)-22 Fc 融合蛋白、包含其之組合物(例如醫藥組合物)以及製造、純化及使用其之方法，例如，用於治療諸多病症，包括 IBD、微生物感染、急性腎損傷、急性胰臟炎、創傷、心血管病狀、代謝症候群、急性內毒血症、GVHD 及敗血症，以及選擇包含 IL-22 Fc 融合蛋白之批料用於發佈的方法。本文中亦提供控制 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量的方法及藉由調節 IL-22 Fc 融合蛋白或其組合物之唾液酸含量來降低活體內清除率/增加半衰期的方法。

【0006】 在一個態樣中，本發明提供一種包含介白素 22 (IL-22) Fc 融合蛋白之組合物，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含藉由連接子連接至 Fc 區之糖基化 IL-22 多肽，且其中該組合物之平均唾液酸含量在 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。在一些實施例中，該 IL-22 多肽經 N-糖基化。在一些實施例中，該 IL-22 多肽在對應於 SEQ ID NO: 4 之胺基酸殘基 Asn21、Asn35、Asn64 及/或 Asn143 之一或多個位置經糖基化。

【0007】 在另一態樣中，本發明提供一種包含 IL-22 Fc 融合蛋白之組合物，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含藉由連接子連接至 Fc 區之糖基化 IL-22 多肽，其中該 IL-22 多肽在對應於 SEQ ID NO: 4 之胺基酸殘基 Asn21、Asn35、Asn64 及/或 Asn143 之一或多個位置經糖基化，且其中：(a)殘基 Asn21 處之 N-糖基化位點佔有率百分比在 70%至 90%之範圍內；(b)殘基 Asn35 處之 N-糖基化位點佔有率百分比在 90%至 100%之範圍內；(c)殘基 Asn64 處之 N-糖基化位點佔有率百分比在 90%至 100%之範圍內；及/或(d)殘基 Asn143 處之 N-糖基化位點佔有率百分比在 25%至 35%之範圍內。

【0008】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該組合物之平均唾液酸含量

在 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。在一些實施例中，該組合物之平均唾液酸含量為 8 或 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該組合物之平均唾液酸含量為 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在其他實施例中，該組合物之平均唾液酸含量為 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0009】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該唾液酸糖基化包含 N-乙醯神經胺糖酸(NANA)。

【0010】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該組合物之平均 N-羥乙醯基神經胺糖酸(NGNA)含量低於 1 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0011】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該組合物為液體組合物。

【0012】 在前述態樣中任一者之一些實施例中：(i)該 IL-22 Fc 融合蛋白之最大觀測濃度($C_{最大}$)為約 8,000 ng/mL 至約 19,000 ng；(ii)該 IL-22 Fc 融合蛋白自時間 0 至最後一個可量測時間點之血清濃度-時間曲線下面積($AUC_{最後}$)為約 7,000 天·ng/mL 至約 25,000 天·ng/mL；及/或(iii)該 IL-22 Fc 融合蛋白之清除率(CL)為約 40 mL/kg/天至約 140 mL/kg/天。在一些實施例中，在向 CD1 小鼠經靜脈內投與約 1,000 μg/kg IL-22 Fc 融合蛋白後評定 $C_{最大}$、$AUC_{最後}$及/或 CL。

【0013】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 多肽包含具有單觸角、雙觸角、三觸角及/或四觸角結構之 N-聚醣。在一些實施例中：(i)約 0.1%至約 2%之該等 N-聚醣具有單觸角結構；(ii)約 10%至約 25%之該等 N-聚醣具有雙觸角結構；(iii)約 25%至約 40%之該等 N-聚醣具有三觸角結構；及/或(iv)約 30%至約 51%之該等 N-聚醣具有四觸角結構。在一些實施例中：(i) 0.1%至 2%之該等 N-聚醣具有單觸角結構；(ii) 10%至 25%之該等 N-聚醣具有雙觸角結構；

(iii) 25%至 40%之該等 N-聚醣具有三觸角結構；及/或(iv) 30%至 51%之該等 N-聚醣具有四觸角結構。

【0014】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含含有零、一、二、三或四個半乳糖部分之 N-聚醣。在一些實施例中：(i)約 9%至約 32%之該等 N-聚醣包含零個半乳糖部分；(ii)約 10%至約 20%之該等 N-聚醣包含一個半乳糖部分；(iii)約 8%至約 25%之該等 N-聚醣包含兩個半乳糖部分；(iv)約 12%至約 25%之該等 N-聚醣包含三個半乳糖部分；及/或(v)約 12%至約 30%之該等 N-聚醣包含四個半乳糖部分。在一些實施例中：(i) 9%至 32%之該等 N-聚醣包含零個半乳糖部分；(ii) 10%至 20%之該等 N-聚醣包含一個半乳糖部分；(iii) 8%至 25%之該等 N-聚醣包含兩個半乳糖部分；(iv) 12%至 25%之該等 N-聚醣包含三個半乳糖部分；及/或(v) 12%至 30%之該等 N-聚醣包含四個半乳糖部分。

【0015】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含含有零、一、二、三或四個唾液酸部分之 N-聚醣。在一些實施例中：(i)約 12%至約 35%之該等 N-聚醣包含零個唾液酸部分；(ii)約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包含一個唾液酸部分；(iii)約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包含兩個唾液酸部分；(iv)約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包含三個唾液酸部分；及/或(v)約 1%至約 20%之該等 N-聚醣包含四個唾液酸部分。在一些實施例中：(i) 12%至 35%之該等 N-聚醣包含零個唾液酸部分；(ii) 10%至 30%之該等 N-聚醣包含一個唾液酸部分；(iii) 10%至 30%之該等 N-聚醣包含兩個唾液酸部分；(iv) 10%至 30%之該等 N-聚醣包含三個唾液酸部分；及/或(v) 1%至 20%之該等 N-聚醣包含四個唾液酸部分。

【0016】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，(i)該 IL-22 多肽包含約 0%至約 10%含有末端甘露糖部分之 N-聚醣；及/或(ii)該 IL-22 多肽包含約 30%至約 55%含有末端 N-乙醯葡萄糖胺(GlcNAc)部分之 N-聚醣。在一些實施例中，(i)該 IL-22 多肽包含 0%至 10%含有末端甘露糖部分之 N-聚醣；及/或(ii)該 IL-22 多肽包含 30%至 55%含有末端 GlcNAc 部分之 N-聚醣。在一些實施例中，該 IL-22 多肽包含 0%至 10%含有末端甘露糖部分之 N-聚醣。在一些實施例中，該 IL-22 多肽包含 30%至 55%含有末端 GlcNAc 部分之 N-聚醣。

【0017】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該等 N-聚醣包含一、二、三或四個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中：(i)約 1%至約 20%之該等 N-聚醣包含一個末端 GlcNAc 部分；(ii)約 1%至約 20%之該等 N-聚醣包含兩個末端 GlcNAc 部分；(iii)約 5%至約 25%之該等 N-聚醣包含三個末端 GlcNAc 部分；及/或(iv)約 0%至約 15%之該等 N-聚醣包含四個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中：(i) 1%至 20%之該等 N-聚醣包含一個末端 GlcNAc 部分；(ii) 1%至 20%之該等 N-聚醣包含兩個末端 GlcNAc 部分；(iii) 5%至 25%之該等 N-聚醣包含三個末端 GlcNAc 部分；及/或(iv) 0%至 15%之該等 N-聚醣包含四個末端 GlcNAc 部分。

【0018】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，(i)該 IL-22 多肽包含約 20%至約 45%含有末端半乳糖(Gal)部分之 N-聚醣；及/或(ii)該等 N-聚醣包含一、二或三個末端 Gal 部分。在一些實施例中，(i)該 IL-22 多肽包含 20%至 45%含有末端 Gal 部分之 N-聚醣；及/或(ii)該等 N-聚醣包含一、二或三個末端 Gal 部分。

【0019】 在前述態樣中任一者之一些實施例中：(i)約 15%至約 30%之該等 N-聚醣包含一個末端 Gal 部分；(ii)約 1%至約 15%之該等 N-聚醣包含兩個末端 Gal 部分；及/或(iii)約 0.1%至約 6%之該等 N-聚醣包含三個末端 Gal 部分。在一些實

施例中：(i) 15%至 30%之該等 N-聚醣包含一個末端 Gal 部分；(ii) 1%至 15%之該等 N-聚醣包含兩個末端 Gal 部分；及/或(iii) 0.1%至 6%之該等 N-聚醣包含三個末端 Gal 部分。

【0020】 在前述態樣中任一者之一些實施例中：(i)該 IL-22 多肽包含含有半乳糖 N-乙醯葡萄糖胺(LacNAc)重複之 N-聚醣；(ii)該 IL-22 多肽包含含有海藻糖基化 N-聚醣之 N-聚醣；及/或(iii)該 IL-22 多肽包含含有去海藻糖基化 N-聚醣之 N-聚醣。

【0021】 在另一態樣中，本發明提供一種包含具有表 12 或表 13 中所示之 N-聚醣分佈的 IL-22 Fc 融合蛋白的組合物。

【0022】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 Fc 區未經糖基化。在一些實施例中：(i)該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 297 位之胺基酸殘基為 Gly 或 Ala；及/或(ii)該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 299 位之胺基酸殘基為 Ala、Gly 或 Val。在一些實施例中，該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 297 位之胺基酸殘基為 Gly 或 Ala。在一些實施例中，該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 297 位之胺基酸殘基為 Gly。在其他實施例中，該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 297 位之胺基酸殘基為 Ala。

【0023】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 Fc 區包含 IgG1 或 IgG4 之 CH2 及 CH3 結構域。在一些實施例中，該 Fc 區包含 IgG4 之 CH2 及 CH3 結構域。

【0024】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含與 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列具有至少 95% (例如至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%或至少 99%)序列一致性之胺基酸序列。

【0025】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10 或 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列或由其組成。

【0026】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 多肽為人類 IL-22 多肽。在一些實施例中，該 IL-22 多肽包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列。

【0027】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該連接子包含胺基酸序列 RVESKYGPP (SEQ ID NO: 44)或由其組成。

【0028】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白結合至 IL-22 受體。在一些實施例中，該 IL-22 受體為人類 IL-22 受體。在一些實施例中，該人類 IL-22 受體包含由 IL-22R1 多肽及 IL-10R2 多肽組成之異二聚體。在一些實施例中，該 IL-22R1 多肽包含 SEQ ID NO:82 之胺基酸序列且該 IL-10R2 多肽包含 SEQ ID NO:84 之胺基酸序列。

【0029】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白由藉由兩個鏈間二硫橋連接之兩個單鏈單元組成，其中各單鏈單元由包含與人類免疫球蛋白 IgG4 之 Fc 區融合之 IL-22 的人類 IL-22 融合蛋白組成。

【0030】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該組合物為醫藥組合物。在一些實施例中，該組合物為水性的及/或無菌的。在一些實施例中，該組合物進一步包含額外治療劑。在一些實施例中，該組合物進一步包含膠凝劑。

【0031】 在另一態樣中，本發明提供一種治療有需要之個體之炎症性腸病(IBD)的方法，該方法包括向該個體投與本文中所描述之組合物中之任一種。在一些實施例中，該 IBD 為潰瘍性結腸炎或克羅恩氏病。在一些實施例中，該 IBD 為潰瘍性結腸炎。在一些實施例中，該潰瘍性結腸炎為中度至重度潰瘍性結腸炎。在一些實施例中，該 IBD 為克羅恩氏病。

【0032】 在另一態樣中，本發明提供本文中所描述之組合物中之任一者以用作藥劑。

【0033】 在另一態樣中，本發明提供本文中所描述之組合物中之任一種，其係用於(i)治療炎症性腸病(IBD)；(ii)抑制腸中微生物感染、在微生物感染期間保護腸中之杯狀細胞、增強腸中之上皮細胞完整性、上皮細胞增殖、上皮細胞分化、上皮細胞遷移或上皮創傷癒合；(iii)治療急性腎損傷或急性胰臟炎；(iv)加速或改良有需要之個體之創傷癒合；(v)預防或治療心血管疾病，諸如冠狀動脈疾病、冠狀動脈微血管疾病、中風、頸動脈疾病、外周動脈疾病或慢性腎病；(vi)治療代謝症候群；(vii)治療急性內毒血症或敗血症；或(viii)治療 GVHD。

【0034】 在另一態樣中，本發明提供本文中所描述之組合物中之任一種，其係用於製備用於以下方面之藥劑：(i)治療炎症性腸病(IBD)；(ii)抑制腸中微生物感染、在微生物感染期間保護腸中之杯狀細胞、增強腸中之上皮細胞完整性、上皮細胞增殖、上皮細胞分化、上皮細胞遷移或上皮創傷癒合；(iii)治療急性腎損傷或急性胰臟炎；(iv)加速或改良有需要之個體之創傷癒合；(v)預防或治療心血管疾病，諸如冠狀動脈疾病、冠狀動脈微血管疾病、中風、頸動脈疾病、外周動脈疾病或慢性腎病；(vi)治療代謝症候群；(vii)治療急性內毒血症或敗血症；或(viii)治療 GVHD。

【0035】 在另一態樣中，本發明提供一種抑制有需要之個體之腸中微生物感染、在微生物感染期間保護腸中之杯狀細胞、增強腸中之上皮細胞完整性、上皮細胞增殖、上皮細胞分化、上皮細胞遷移或上皮創傷癒合的方法，該方法包括向該個體投與本文中所描述之組合物中之任一種。

【0036】 在另一態樣中，本發明提供一種治療有需要之個體之急性腎損傷或

急性胰臟炎的方法，該方法包括向該個體投與本文中所描述之組合物中之任一種。

【0037】 在另一態樣中，本發明提供一種加速或改良有需要之個體之創傷癒合的方法，該方法包括向該個體投與本文中所描述之組合物中之任一種。

【0038】 在另一態樣中，本發明提供一種預防或治療有需要之個體之心血管病狀的方法，該病狀包括動脈粥樣硬化斑形成病變，該方法包括向該個體投與本文中所描述之組合物中之任一種。

【0039】 在另一態樣中，本發明提供一種治療有需要之個體之代謝症候群的方法，該方法包括向該個體投與本文中所描述之組合物中之任一種。

【0040】 在另一態樣中，本發明提供一種治療有需要之個體之急性內毒血症、敗血症或兩者的方法，該方法包括向該個體投與本文中所描述之組合物中之任一種。

【0041】 在另一態樣中，本發明提供一種治療有需要之個體之 GVHD 的方法，該方法包括向該個體投與本文中所描述之組合物中之任一種。

【0042】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該組合物係經靜脈內、皮下、腹膜內或局部投與。

【0043】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，向該個體共同投與至少一種額外治療劑。

【0044】 在另一態樣中，本發明提供一種製造包含 IL-22 Fc 融合蛋白之組合物的方法，該方法包括以下步驟：(a)提供包含編碼 IL-22 Fc 融合蛋白之核酸的宿主細胞，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含藉由連接子連接至 Fc 區之 IL-22 多肽；(b)在種子培養基中在適合形成種子培養物之條件下培養該宿主細胞；(c)在適合形

成接種物培養物之條件下將該種子培養物接種在接種物培養基中；及(d)在生產培養基中在適合形成生產培養物之條件下培養該接種物培養物，其中該生產培養物之該等宿主細胞表現該 IL-22 Fc 融合蛋白，且其中步驟(d)之持續時間為至少 10 天，從而產生該包含 IL-22 Fc 融合蛋白之組合物，其中該 IL-22 多肽經糖基化，且其中該組合物之平均唾液酸含量在 6 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。在一些實施例中，步驟(d)之持續時間為至少 11 天、至少 12 天或至少 13 天。在一些實施例中，步驟(d)之持續時間為 12 天。

【0045】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該方法進一步包括以下步驟：(e)自該生產培養物中收集包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之細胞培養液。在一些實施例中，步驟(e)包括：(i)冷卻該生產培養物；(ii)藉由離心自該生產培養基中移除該等宿主細胞以形成該細胞培養液；及/或(iii)過濾該細胞培養液。

【0046】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該方法進一步包括以下步驟：(f)純化該細胞培養液中之該 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，步驟(f)包括以下子步驟：(i)使該細胞培養液與親和層析載體接觸，視情況用洗滌緩衝液洗滌該親和層析載體，用第一溶析緩衝液自該親和層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成親和庫，且視情況使該親和庫中之病毒不活化；(ii)使該親和庫與陰離子交換層析載體接觸，視情況用第一平衡緩衝液洗滌該陰離子交換層析載體，用第二溶析緩衝液自該陰離子交換層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成陰離子交換庫，且視情況過濾該陰離子交換庫以移除病毒；以及(iii)使該陰離子交換庫與疏水性相互作用層析載體接觸並收集流通液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經純化產物庫，且視情況用第二平衡緩衝液洗滌該疏水性相互作用層析載體，收集流通液，並將其添加至該經純化產物庫。在一些實施例中，

步驟(f)進一步包括以下子步驟中之一或多個：(iv)濃縮該經純化產物庫以形成濃縮產物庫；(v)對該經純化產物庫進行超濾；(vi)交換該濃縮產物庫之緩衝液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之超濾滲濾(UFDF)庫；及/或(vii)用調配緩衝液調節該 UFDF 庫以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經調節 UFDF 庫。在一些實施例中，子步驟(i)進一步包括在使該細胞培養液與該親和管柱接觸之前藉由向該細胞培養液中添加清潔劑使病毒不活化。

【0047】 在另一態樣中，本發明提供一種製造包含 IL-22 Fc 融合蛋白之組合物的方法，該方法包括：在生產培養基中在適合形成生產培養物之條件下將包含複數個宿主細胞之接種物培養物培養至少約 10 天，其中該等宿主細胞包含編碼 IL-22 Fc 融合蛋白之核酸，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含藉由連接子連接至 Fc 區之 IL-22 多肽，其中該等宿主細胞表現該 IL-22 Fc 融合蛋白，從而產生該包含 IL-22 Fc 融合蛋白之組合物，從而產生該包含 IL-22 Fc 融合蛋白之組合物，其中該 IL-22 多肽經糖基化，且其中該組合物之平均唾液酸含量在 6 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。在一些實施例中，該培養之持續時間為至少 11 天、至少 12 天或至少 13 天。在一些實施例中，該培養之持續時間為 12 天。

【0048】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該方法進一步包括藉由在種子培養基中在適合形成種子培養物之條件下培養包含編碼該 IL-22 Fc 融合蛋白之核酸的宿主細胞來產生該種子培養物，隨後在該生產培養基中培養該接種物培養物。在一些實施例中，該方法進一步包括在適合形成接種物培養物之條件下將該種子培養物接種在接種物培養基中，隨後在該生產培養基中培養該接種物培養物。

【0049】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該等宿主細胞為真核生物宿主細胞。在一些實施例中，該等真核生物宿主細胞為哺乳動物宿主細胞。在一些實施例中，該等哺乳動物宿主細胞為中國倉鼠卵巢(CHO)細胞。在一些實施例中，收集該細胞培養液包括：(i)冷卻該生產培養物；(ii)藉由離心自該生產培養基中移除該等宿主細胞以形成該細胞培養液；及/或(iii)過濾該細胞培養液。

【0050】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該方法進一步包括純化該細胞培養液中之該 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，純化該 IL-22 Fc 融合蛋白包括以下子步驟：(i)使該細胞培養液與親和層析載體接觸，視情況用洗滌緩衝液洗滌該親和層析載體，用第一溶析緩衝液自該親和層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成親和庫，且視情況使該親和庫中之病毒不活化；(ii)使該親和庫與陰離子交換層析載體接觸，視情況用第一平衡緩衝液洗滌該陰離子交換層析載體，用第二溶析緩衝液自該陰離子交換層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成陰離子交換庫，且視情況過濾該陰離子交換庫以移除病毒；以及(iii)使該陰離子交換庫與疏水性相互作用層析載體接觸並收集流通液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經純化產物庫，且視情況用第二平衡緩衝液洗滌該疏水性相互作用層析載體，收集流通液，並將其添加至該經純化產物庫。在一些實施例中，純化該 IL-22 Fc 融合蛋白進一步包括以下子步驟中之一或多個：(iv)濃縮該經純化產物庫以形成濃縮產物庫；(v)對該經純化產物庫進行超濾；(vi)交換該濃縮產物庫之緩衝液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之超濾滲濾(UFDF)庫；及/或(vii)用調配緩衝液調節該 UFDF 庫以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經調節 UFDF 庫。在一些實施例中，子步驟(i)進一步包括在使該細胞培養液與該親和管柱接觸之前藉由向該細胞培養液中添加清潔劑使病毒不活化。

【0051】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該方法進一步包括增濃該組合物之唾液酸含量。在一些實施例中，該組合物之初始平均唾液酸含量在 6 至 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。在一些實施例中，該組合物之初始平均唾液酸含量為 6、7 或 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該方法進一步包括將該平均唾液酸含量增濃至 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。在一些實施例中，該方法進一步包括將該平均唾液酸含量增濃至 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

【0052】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該親和層析載體包括蛋白 A 樹脂、蛋白 G 樹脂或 IL-22 受體樹脂。在一些實施例中，該蛋白 A 樹脂為 MABSELECT SURE®樹脂。

【0053】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該陰離子交換層析載體包含具有多模式功能性樹脂之強陰離子交換劑。在一些實施例中，該陰離子交換層析載體包含 CAPTO™黏附樹脂。

【0054】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該組合物之平均唾液酸含量為 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0055】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該組合物之平均唾液酸含量為 8 或 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0056】 在另一態樣中，本發明提供一種藉由本文中所描述之方法中之任一種產生之組合物。在一些實施例中，該組合物為醫藥組合物。

【0057】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白由藉由兩個鏈間二硫橋連接之兩個單鏈單元組成，其中各單鏈單元由包含與人類免疫球蛋白 IgG4 之 Fc 區融合之 IL-22 的人類 IL-22 融合蛋白組成。

【0058】 在另一態樣中，本發明提供一種選擇包含 IL-22 Fc 融合蛋白之批料用於發佈的方法，該方法包括以下步驟：(a)提供包含 IL-22 Fc 融合蛋白之批料；(b)評定該批料中之唾液酸水準；及(c)若該批料之平均唾液酸含量在 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內，則選擇該批料用於發佈。在一些實施例中，步驟(c)包括若該批料之平均唾液酸含量為 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白，則選擇該批料用於發佈。在一些實施例中，步驟(c)包括若該批料之平均唾液酸含量為 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白，則選擇該批料用於發佈。在一些實施例中，步驟(c)包括若該批料之平均唾液酸含量為 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白，則選擇該批料用於發佈。在一些實施例中，步驟(b)包括使用高效液相層析(HPLC)、超高效液相層析(UHPLC)、毛細管電泳或比色分析來評定該批料之唾液酸水準。在一些實施例中，步驟(b)包括使用 HPLC 評定唾液酸水準。

【0059】 在另一態樣中，本發明提供一種控制包含 IL-22 Fc 融合蛋白之組合物之唾液酸含量的方法，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含藉由連接子連接至抗體 Fc 區之糖基化 IL-22 多肽，該方法包括：在生產培養基中在適合形成生產培養物之條件下將包含複數個宿主細胞之接種物培養物培養至少約 10 天，其中該等宿主細胞包含編碼該 IL-22 Fc 融合蛋白之核酸且表現該 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該組合物之平均唾液酸含量在 6 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內；及將該組合物之該平均唾液酸含量增濃至 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內，從而控制該組合物之唾液酸含量。在一些實施例中，該方法包括將該組合物之平均唾液酸含量增濃至 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

【0060】 在另一態樣中，本發明提供一種控制包含 IL-22 Fc 融合蛋白之組合物之唾液酸含量的方法，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含藉由連接子連接至抗體 Fc 區之糖基化 IL-22 多肽，該方法包括：在生產培養基中在適合形成生產培養物之條件下將包含複數個宿主細胞之接種物培養物培養至少約 10 天，其中該等宿主細胞包含編碼該 IL-22 Fc 融合蛋白之核酸且表現該 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該組合物之平均唾液酸含量在 6 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內；及將該組合物之該平均唾液酸含量增濃至 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內，從而控制該組合物之唾液酸含量。

【0061】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該方法包括將該組合物之該平均唾液酸含量增濃至 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

【0062】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，增濃該平均唾液酸含量包括自該生產培養物收集包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之細胞培養液。在一些實施例中，收集該細胞培養液包括：(i)冷卻該生產培養物；(ii)藉由離心自該生產培養基中移除該等宿主細胞以形成該細胞培養液；及/或(iii)過濾該細胞培養液。

【0063】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，增濃該組合物之該平均唾液酸含量進一步包括純化該細胞培養液中之該 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，純化該 IL-22 Fc 融合蛋白包括以下子步驟：(i)使該細胞培養液與親和層析載體接觸，視情況用洗滌緩衝液洗滌該親和層析載體，用第一溶析緩衝液自該親和層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成親和庫，且視情況使該親和庫中之病毒不活化；(ii)使該親和庫與陰離子交換層析載體接觸，視情況用第一平衡緩衝液洗滌該陰離子交換層析載體，用第二溶析緩衝液自該陰離子交換層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成陰離子交換庫，且視情況過濾該陰離子交換庫

以移除病毒；以及(iii)使該陰離子交換庫與疏水性相互作用層析載體接觸並收集流通液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經純化產物庫，且視情況用第二平衡緩衝液洗滌該疏水性相互作用層析載體，收集流通液，並將其添加至該經純化產物庫。在一些實施例中，純化該 IL-22 Fc 融合蛋白進一步包括以下子步驟中之一或多個：(iv)濃縮該經純化產物庫以形成濃縮產物庫；(v)對該經純化產物庫進行超濾；(vi)交換該濃縮產物庫之緩衝液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之超濾滲濾(UFDF)庫；及/或(vii)用調配緩衝液調節該 UFDF 庫以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經調節 UFDF 庫。在一些實施例中，子步驟(i)進一步包括在使該細胞培養液與該親和管柱接觸之前藉由向該細胞培養液中添加清潔劑使病毒不活化。在一些實施例中，該親和層析載體包括蛋白 A 樹脂、蛋白 G 樹脂或 IL-22 受體樹脂。在一些實施例中，該蛋白 A 樹脂為 MABSELECT SURE®樹脂。在一些實施例中，該陰離子交換層析載體包含具有多模式功能性樹脂之強陰離子交換劑。在一些實施例中，該陰離子交換層析載體包含 CAPTO™黏附樹脂。

【0064】 在一個態樣中，本發明提供一種 IL-22 Fc 融合蛋白，其包含藉由連接子連接至 Fc 區之 IL-22 多肽，其中該 IL-22 多肽經糖基化，且其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量在 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。在某些態樣中，8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白意謂一莫耳該 IL-22 融合蛋白中包含 8 至 12 個唾液酸部分。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量在 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

【0065】 在另一態樣中，本發明提供一種 IL-22 Fc 融合蛋白，其包含藉由連接子連接至 Fc 區之 IL-22 多肽，其中該 IL-22 多肽經糖基化，且其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之效能相對於唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之

參考 IL-22 Fc 融合蛋白為約 40%至約 130%。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之效能相對於唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之參考 IL-22 Fc 融合蛋白為約 80%至約 120%。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之效能相對於唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之參考 IL-22 Fc 融合蛋白為約 60%至約 110%。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之效能相對於唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之參考 IL-22 Fc 融合蛋白為約 80%至約 100%。在一些實施例中，在受體結合分析或基於細胞之結合分析中評定效能。在一些實施例中，該參考 IL-22 Fc 融合蛋白具有表 12 及/或表 13 中所示之 N-聚醣分佈。

【0066】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 8 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 8 至約 11 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 8 至約 10 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 8 至約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0067】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸為 N-乙醯神經胺糖酸(NANA)。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合

蛋白之最大觀測濃度($C_{最大}$)為約 9,000 ng/mL 至約 18,000 ng/ml。在一些實施例中，在向 CD1 小鼠經靜脈內投與約 1,000 μg/kg 之該 IL-22 Fc 融合蛋白後評定該 $C_{最大}$。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白自時間 0 至最後一個可量測時間點之血清濃度-時間曲線下面積($AUC_{最後}$)為約 7,000 天·ng/mL 至約 25,000 天·ng/mL。在一些實施例中，在向 CD1 小鼠經靜脈內投與約 1,000 μg/kg 之該 IL-22 Fc 融合蛋白後評定該 $AUC_{最後}$。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之清除率(CL)為約 40 mL/kg/天至約 140 mL/kg/天。在一些實施例中，在向 CD1 小鼠經靜脈內投與約 1,000 μg/kg 之該 IL-22 Fc 融合蛋白後評定該 CL。

【0068】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 多肽經 N-糖基化。

【0069】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 多肽包含具有單觸角、雙觸角、三觸角及/或四觸角結構之 N-聚醣。在一些實施例中，約 0.1%至約 2%之該等 N-聚醣具有單觸角結構。在一些實施例中，約 0.5%至約 1.5%之該等 N-聚醣具有單觸角結構。在一些實施例中，約 1%之該等 N-聚醣具有單觸角結構。在一些實施例中，約 10%至約 25%之該等 N-聚醣具有雙觸角結構。在一些實施例中，約 12%至約 21%之該等 N-聚醣具有雙觸角結構。在一些實施例中，約 17%之該等 N-聚醣具有雙觸角結構。在一些實施例中，約 25%至約 40%之該等 N-聚醣具有三觸角結構。在一些實施例中，約 28%至約 35%之該等 N-聚醣具有三觸角結構。在一些實施例中，約 31%之該等 N-聚醣具有三觸角結構。在一些實施例中，約 30%至約 51%之該等 N-聚醣具有四觸角結構。在一些實施例中，約 35%至約 48%之該等 N-聚醣具有四觸角結構。在一些實施例中，約 42%之該等 N-聚醣具有四觸角結構。

【0070】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含含

有零、一、二、三或四個半乳糖部分之 N-聚醣。在一些實施例中，約 9%至約 32%之該等 N-聚醣包含零個半乳糖部分。在一些實施例中，約 15%至約 25%之該等 N-聚醣包含零個半乳糖部分。在一些實施例中，約 21%之該等 N-聚醣包含零個半乳糖部分。在一些實施例中，約 10%至約 20%之該等 N-聚醣包含一個半乳糖部分。在一些實施例中，約 12%至約 16%之該等 N-聚醣包含一個半乳糖部分。在一些實施例中，約 14%之該等 N-聚醣包含一個半乳糖部分。在一些實施例中，約 8%至約 25%之該等 N-聚醣包含兩個半乳糖部分。在一些實施例中，約 10%至約 16%之該等 N-聚醣包含兩個半乳糖部分。在一些實施例中，約 13%之該等 N-聚醣包含兩個半乳糖部分。在一些實施例中，約 12%至約 25%之該等 N-聚醣包含三個半乳糖部分。在一些實施例中，約 15%至約 22%之該等 N-聚醣包含三個半乳糖部分。在一些實施例中，約 19%之該等 N-聚醣包含三個半乳糖部分。在一些實施例中，約 12%至約 30%之該等 N-聚醣包含四個半乳糖部分。在一些實施例中，約 15%至約 25%之該等 N-聚醣包含四個半乳糖部分。在一些實施例中，約 24%之該等 N-聚醣包含四個半乳糖部分。

【0071】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含含有零、一、二、三或四個唾液酸部分之 N-聚醣。在一些實施例中，約 12%至約 35%之該等 N-聚醣包含零個唾液酸部分。在一些實施例中，約 20%至約 30%之該等 N-聚醣包含零個唾液酸部分。在一些實施例中，約 24%之該等 N-聚醣包含零個唾液酸部分。在一些實施例中，約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包含一個唾液酸部分。在一些實施例中，約 15%至約 25%之該等 N-聚醣包含一個唾液酸部分。在一些實施例中，約 20%之該等 N-聚醣包含一個唾液酸部分。在一些實施例中，約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包含兩個唾液酸部分。在一些實施例中，

約 15%至約 25%之該等 N-聚醣包含兩個唾液酸部分。在一些實施例中，約 21%之該等 N-聚醣包含兩個唾液酸部分。在一些實施例中，約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包含三個唾液酸部分。在一些實施例中，約 12%至約 24%之該等 N-聚醣包含三個唾液酸部分。在一些實施例中，約 17%之該等 N-聚醣包含三個唾液酸部分。在一些實施例中，約 1%至約 20%之該等 N-聚醣包含四個唾液酸部分。在一些實施例中，約 5%至約 15%之該等 N-聚醣包含四個唾液酸部分。在一些實施例中，約 9%之該等 N-聚醣包含四個唾液酸部分。

【0072】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 多肽包含約 0%至約 10%含有末端甘露糖部分之 N-聚醣。在一些實施例中，約 1%至約 4%之該等 N-聚醣包含末端甘露糖部分。在一些實施例中，約 2%之該等 N-聚醣包含末端甘露糖部分。

【0073】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 多肽包含約 30%至約 55%含有末端 N-乙醯葡萄糖胺(GlcNAc)部分之 N-聚醣。在一些實施例中，約 35%至約 50%之該等 N-聚醣包含末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 42%之該等 N-聚醣包含末端 GlcNAc 部分。

【0074】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該等 N-聚醣包含一、二、三或四個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 1%至約 20%之該等 N-聚醣包含一個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 5%至約 15%之該等 N-聚醣包含一個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 10%之該等 N-聚醣包含一個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 1%至約 20%之該等 N-聚醣包含兩個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 5%至約 15%之該等 N-聚醣包含兩個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 10%之該等 N-聚醣包含兩個末端 GlcNAc 部

分。在一些實施例中，約 5%至約 25%之該等 N-聚醣包含三個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 10%至約 20%之該等 N-聚醣包含三個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 14%之該等 N-聚醣包含三個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 0%至約 15%之該等 N-聚醣包含四個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 4%至約 12%之該等 N-聚醣包含四個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 7%之該等 N-聚醣包含四個末端 GlcNAc 部分。

【0075】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 多肽包含約 20%至約 45%含有末端半乳糖(Gal)部分之 N-聚醣。在一些實施例中，約 25%至約 35%之該等 N-聚醣包含末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 32%之該等 N-聚醣包含末端 Gal 部分。

【0076】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該等 N-聚醣包含一、二或三個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 15%至約 30%之該等 N-聚醣包含一個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 20%至約 25%之該等 N-聚醣包含一個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 23%之該等 N-聚醣包含一個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 1%至約 15%之該等 N-聚醣包含兩個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 2%至約 12%之該等 N-聚醣包含兩個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 7%之該等 N-聚醣包含兩個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 0.1%至約 6%之該等 N-聚醣包含三個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 1%至約 3%之該等 N-聚醣包含三個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 2%之該等 N-聚醣包含三個末端 Gal 部分。

【0077】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 多肽包含含有半乳糖 N-乙醯葡萄糖胺(LacNAc)重複之 N-聚醣。在一些實施例中，約 1%至約 10%之

該等 N-聚醣包含 LacNAc 重複。在一些實施例中，約 3%至約 6%之該等 N-聚醣包含 LacNAc 重複。在一些實施例中，約 5%之該等 N-聚醣包含 LacNAc 重複。

【0078】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 多肽包含含有海藻糖基化 N-聚醣之 N-聚醣。在一些實施例中，約 60%至約 80%之該等 N-聚醣經海藻糖基化。在一些實施例中，約 65%至約 75%之該等 N-聚醣經海藻糖基化。在一些實施例中，約 70%之該等 N-聚醣經海藻糖基化。

【0079】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 多肽包含含有去海藻糖基化 N-聚醣之 N-聚醣。在一些實施例中，約 10%至約 30%之該等 N-聚醣經去海藻糖基化。在一些實施例中，約 15%至約 25%之該等 N-聚醣經去海藻糖基化。在一些實施例中，約 20%之該等 N-聚醣經去海藻糖基化。

【0080】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 多肽在 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21、Asn35、Asn64 及/或 Asn143 上經糖基化。在一些實施例中，該 IL-22 多肽在 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21、Asn35、Asn64 及 Asn143 上經糖基化。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21 上之糖基化佔有率為約 70%至約 90%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21 上之糖基化佔有率為約 75%至約 85%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21 上之糖基化佔有率為約 81%至約 84%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21 上之糖基化佔有率為約 82%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn35 上之糖基化佔有率為約 90%至約 100%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn35 上之糖基化佔有率為約 95%至約 100%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn35 上之糖基化佔有率為約 100%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn64 上之糖基化佔

有率為約 90%至約 100%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn64 上之糖基化佔有率為約 95%至約 100%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn64 上之糖基化佔有率為約 100%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn143 上之糖基化佔有率為約 15%至約 45%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn143 上之糖基化佔有率為約 25%至約 35%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn143 上之糖基化佔有率為約 32%至約 35%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn143 上之糖基化佔有率為約 33%。

【0081】 在一些實施例中，該 IL-22 多肽在 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21、Asn35、Asn64 及 Asn143 上經糖基化，其中 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21 上之糖基化佔有率為約 81%至約 84%，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn35 上之糖基化佔有率為約 100%，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn64 上之糖基化佔有率為約 100%，且 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn143 上之糖基化佔有率為約 32%至約 35%。在一些實施例中，該 IL-22 多肽在 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21、Asn35、Asn64 及 Asn143 上經糖基化，其中 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21 上之糖基化佔有率為 81%至 84%，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn35 上之糖基化佔有率為 100%，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn64 上之糖基化佔有率為 100%，且 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn143 上之糖基化佔有率為 32%至 35%。

【0082】 在另一態樣中，本發明提供一種具有表 12 或表 13 中所示之 N-聚醣分佈的 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0083】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 Fc 區未經糖基化。在一些實施例中，該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 297 位之胺基酸殘基為甘胺酸(Gly)。

在一些實施例中，該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 297 位之胺基酸殘基為丙胺酸(Ala)。在一些實施例中，該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 299 位之胺基酸殘基為 Ala、Gly 或纈胺酸(Val)。在一些實施例中，該 Fc 區包含 IgG1 或 IgG4 之 CH2 及 CH3 結構域。在一些實施例中，該 Fc 區包含 IgG4 之 CH2 及 CH3 結構域。

【0084】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含與 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含與 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列具有至少 96%序列一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含與 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列具有至少 97%序列一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含與 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列具有至少 98%序列一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含與 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列具有至少 99%序列一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10 或 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白由 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列組成。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白由 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列組成。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白由 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列組成。在一些實施例中，該 Fc 區未經 N-糖基化。

【0085】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白為二聚 IL-22 Fc 融合蛋白。在前述態樣中任一者之其他實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白

為單體 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 多肽為人類 IL-22 多肽。在一些實施例中，該 IL-22 多肽包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列。

【0086】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該連接子包含胺基酸序列 RVESKYGPP (SEQ ID NO: 44)。在一些實施例中，該連接子由胺基酸序列 RVESKYGPP (SEQ ID NO: 44)組成。

【0087】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白結合至 IL-22 受體。在一些實施例中，該 IL-22 受體為人類 IL-22 受體。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白結合至 IL-22RA1 及/或 IL-10R2。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白結合至 IL-22RA1。

【0088】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白係藉由包括在適合表現該 IL-22 Fc 融合蛋白之條件下培養能夠表現該 IL-22 Fc 融合蛋白之宿主細胞之步驟的方法來產生。在一些實施例中，該方法進一步包括自細胞培養物或培養基獲得該 IL-22 Fc 融合蛋白之步驟。在一些實施例中，該宿主細胞為 CHO 細胞。

【0089】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之 N-羥乙醯基神經胺糖酸(亦稱為 Neu5Gc 或 NGNA)含量低於約 5 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之 NGNA 含量低於 1 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0090】 在另一態樣中，本發明提供一種醫藥組合物，其包含如本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一種及至少一種醫藥學上可接受之載劑。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量在 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量在 8

至 10 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量在 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸為 N-乙醯神經胺糖酸(NANA)。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10 或 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列。

【0091】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該醫藥組合物進一步包含額外治療劑。在一些實施例中，該醫藥組合物進一步包含膠凝劑。在一些實施例中，該膠凝劑為多醣。在一些實施例中，該膠凝劑為纖維素劑。在一些實施例中，該膠凝劑為甲基纖維素、羥乙基纖維素、羧甲基纖維素、羥丙基纖維素、POE-POP 嵌段聚合物、海藻酸鹽、透明質酸、聚丙烯酸、羥乙基甲基纖維素或羥丙基甲基纖維素。在一些實施例中，該膠凝劑為羥丙基甲基纖維素。在一些實施例中，該醫藥組合物係用於局部投與。

【0092】 在另一態樣中，本發明提供一種治療有需要之個體之炎症性腸病(IBD)的方法，該方法包括向該個體投與本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一種或本文中所描述之醫藥組合物中之任一種。在一些實施例中，該 IBD 為潰瘍性結腸炎或克羅恩氏病。在一些實施例中，該 IBD 為潰瘍性結腸炎。在一

些實施例中，該潰瘍性結腸炎為中度至重度潰瘍性結腸炎。在一些實施例中，該 IBD 為克羅恩氏病。

【0093】 在另一態樣中，本發明提供一種抑制有需要之個體之腸中微生物感染、在微生物感染期間保護腸中之杯狀細胞、增強腸中之上皮細胞完整性、上皮細胞增殖、上皮細胞分化、上皮細胞遷移或上皮創傷癒合的方法，該方法包括向該個體投與本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一種或本文中所描述之醫藥組合物中之任一種。在一些實施例中，該上皮細胞為腸上皮細胞。

【0094】 在另一態樣中，本發明提供一種治療有需要之個體之急性腎損傷或急性胰臟炎的方法，該方法包括向該個體投與本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一種或本文中所描述之醫藥組合物中之任一種。

【0095】 在另一態樣中，本發明提供一種加速或改良有需要之個體之創傷癒合的方法，該方法包括向該個體投與本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一種或本文中所描述之醫藥組合物中之任一種。在一些實施例中，該創傷為慢性創傷或感染性創傷。在一些實施例中，該個體為糖尿病個體。在一些實施例中，該糖尿病個體患有 II 型糖尿病。在一些實施例中，該創傷為糖尿病性足部潰瘍。在一些實施例中，投與該 IL-22 Fc 融合蛋白或該醫藥組合物直至創傷完全癒合。

【0096】 在另一態樣中，本發明提供一種預防或治療有需要之個體之心血管病狀的方法，該病狀包括動脈粥樣硬化斑形成病變，該方法包括向該個體投與本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一種或本文中所描述之醫藥組合物中之任一種。在一些實施例中，該心血管疾病為冠狀動脈疾病、冠狀微血管疾病、中風、頸動脈疾病、外周動脈疾病或慢性腎病。在一些實施例中，該方法進一

步包括減緩動脈粥樣硬化斑形成進展或預防動脈粥樣硬化症候。在一些實施例中，該動脈粥樣硬化症候包括斑積聚及/或血管炎症。

【0097】 在另一態樣中，本發明提供一種治療有需要之個體之代謝症候群的方法，該方法包括向該個體投與本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一種或本文中所描述之醫藥組合物中之任一種。在一些實施例中，該方法進一步包括減少與代謝症候群，包括腹部肥胖、高血糖症、血脂異常及高血壓中之一或多者相關的一或多個危險因素。在一些實施例中，該方法進一步包含降低該個體之細菌脂多醣水準。

【0098】 在另一態樣中，本發明提供一種治療有需要之個體之急性內毒血症、敗血症或兩者的方法，該方法包含向該個體投與本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一種或本文中所描述之醫藥組合物中之任一種。在一些實施例中，該個體需要改變 HDL/LDL 脂質概況。

【0099】 在另一態樣中，本發明提供一種治療有需要之個體之 GVHD 的方法，該方法包括向該個體投與本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一種或本文中所描述之醫藥組合物中之任一種。

【0100】 在另一態樣中，本發明提供一種包含本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白或本文中所描述之醫藥組合物中之任一種的組合物，其係用作藥劑。

【0101】 在另一態樣中，本發明提供一種包含本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白或本文中所描述之醫藥組合物中之任一種的組合物，其係用於以下方面：(i)治療炎症性腸病(IBD)；(ii)抑制腸中微生物感染、在微生物感染期間保護腸中之杯狀細胞、增強腸中之上皮細胞完整性、上皮細胞增殖、上皮細胞分化、上皮細胞遷移或上皮創傷癒合；(iii)治療急性腎損傷或急性胰臟炎；(iv)加速或改良

有需要之個體之創傷癒合；(v)預防或治療心血管疾病，諸如冠狀動脈疾病、冠狀動脈微血管疾病、中風、頸動脈疾病、外周動脈疾病或慢性腎病；(vi)治療代謝症候群；(vii)治療急性內毒血症或敗血症；或(viii)治療 GVHD。

【0102】 在另一態樣中，本發明提供包含本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白或本文中所描述之醫藥組合物中之任一種的組合物的用途，其係用於製備用於以下方面之藥劑：(i)治療炎症性腸病(IBD)；(ii)抑制腸中微生物感染、在微生物感染期間保護腸中之杯狀細胞、增強腸中之上皮細胞完整性、上皮細胞增殖、上皮細胞分化、上皮細胞遷移或上皮創傷癒合；(iii)治療急性腎損傷或急性胰臟炎；(iv)加速或改良有需要之個體之創傷癒合；(v)預防或治療心血管疾病，諸如冠狀動脈疾病、冠狀動脈微血管疾病、中風、頸動脈疾病、外周動脈疾病或慢性腎病；(vi)治療代謝症候群；(vii)治療急性內毒血症或敗血症；或(viii)治療 GVHD。

【0103】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 8 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 8 至約 10 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 8 至約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸為 N-乙醯神經胺糖酸(NANA)。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10 或 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列。在一些實施

例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列。

【0104】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白或該醫藥組合物係經靜脈內、皮下、腹膜內或局部投與。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白或該醫藥組合物係經靜脈內投與。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白或該醫藥組合物係經皮下投與。

【0105】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，向該個體共同投與至少一種額外治療劑。

【0106】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該個體為人類。

【0107】 在另一態樣中，本發明提供一種製造本文中描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一種的方法，該方法包括以下步驟：(a)提供包含編碼本文中描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一種之核酸的宿主細胞；(b)在種子培養基中在適合形成種子培養物之條件下培養該宿主細胞；(c)將該種子培養物接種至接種物培養基中並且在適合形成接種物培養物之條件下培養；及(d)在生產培養基中在適合形成生產培養物之條件下培養該接種物培養物，其中該生產培養物之該等宿主細胞表現該 IL-22 Fc 融合蛋白，從而產生該 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0108】 在另一態樣中，本發明提供一種製造 IL-22 Fc 融合蛋白之方法，該方法包括以下步驟：(a)提供包含編碼 IL-22 Fc 融合蛋白之核酸的宿主細胞，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含藉由連接子連接至 Fc 區之 IL-22 多肽；(b)在種子培養基中在適合形成種子培養物之條件下培養該宿主細胞；(c)在適合形成接種物培養物之條件下將該種子培養物接種於接種物培養基中；及(d)在生產培養基中在適合形成生產培養物之條件下培養該接種物培養物，其中該生產培養物之該等宿主細胞表現該 IL-22 Fc 融合蛋白，從而產生該 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22

多肽經糖基化，且其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 8 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量在 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

【0109】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該宿主細胞為冷凍宿主細胞，且步驟(a)進一步包括在種子培養基中將該冷凍宿主細胞解凍。

【0110】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該方法進一步包括在步驟(d)之前將該接種物培養物繼代約 1 至約 10 次。在一些實施例中，在步驟(d)之前將該接種物培養物繼代約 2 至約 6 次。在一些實施例中，在步驟(d)之前將該接種物培養物繼代約 5 次。

【0111】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該種子培養基包含能夠選擇宿主細胞之選擇劑。在一些實施例中，該選擇劑為甲硫胺酸磺醯亞胺、胺甲喋呤或抗生素。在一些實施例中，該選擇劑為甲硫胺酸磺醯亞胺。在一些實施例中，該選擇劑為抗生素。在一些實施例中，該抗生素係選自殺稻瘟菌素(blasticidin)、遺傳黴素(geneticin)、潮黴素(hygromycin) B、嘌呤黴素(puromycin)、黴酚酸(mycophenolic acid)或吉歐黴素(zeocin)。

【0112】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該種子培養基、該接種物培養基及/或該生產培養基包含消泡劑。在一些實施例中，該消泡劑為聚甲矽康乳液、消泡劑 204、消泡劑 A、消泡劑 B、消泡劑 C、消泡劑 Y-30 或消泡劑 SE-15。在一些實施例中，該消泡劑為聚甲矽康乳液。

【0113】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該種子培養基、該接種物培養基及/或該生產培養基包括緩衝劑、細胞保護劑、多醣及/或滲透壓調節劑。

【0114】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，在約 25℃至約 40℃之溫度下

進行步驟(b)。在一些實施例中，在約 35℃至約 39℃之溫度下進行步驟(b)。在一些實施例中，在約 37℃之溫度下進行步驟(b)。

【0115】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，在旋轉器、自旋管、搖瓶、單次使用生物反應器(例如 WAVE BIOREACTOR™或 AMBR®生物反應器(例如 AMBR® 15 生物反應器))或種子培養生物反應器中進行步驟(b)。在一些實施例中，在種子培養旋轉器或搖瓶中進行步驟(b)。在其他實施例中，在單次使用生物反應器(例如 WAVE BIOREACTOR™或 AMBR®生物反應器(例如 AMBR® 15 生物反應器或 AMBR® 250 生物反應器))中進行步驟(b)。在一些實施例中，步驟(b)之持續時間為每次繼代約 1 天至約 12 天。在一些實施例中，步驟(b)之持續時間為每次繼代約 2 天至約 7 天。在一些實施例中，在種子培養生物反應器中進行步驟(b)。

【0116】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該種子培養物之 pH 值為約 6 至約 8。在一些實施例中，該種子培養物之 pH 值為約 6.5 至約 7.5。在一些實施例中，該種子培養物之 pH 值為約 7.15。

【0117】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該種子培養物之溶解氧為約 15%至約 50%。在一些實施例中，該種子培養物之溶解氧為約 20%至約 40%。在一些實施例中，該種子培養物之溶解氧為約 30%。

【0118】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，步驟(b)之持續時間為約 1 天至約 10 天。在一些實施例中，步驟(b)之持續時間為約 2 天至約 5 天。

【0119】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，在約 25℃至約 40℃之溫度下進行步驟(c)。在一些實施例中，在約 35℃至約 39℃之溫度下進行步驟(c)。在一些實施例中，在約 37℃之溫度下進行步驟(c)。

【0120】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，在一或多個生物反應器中進行步驟(c)。在一些實施例中，在三或四個生物反應器中進行步驟(c)。

【0121】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該接種物培養物之 pH 值為約 6 至約 8。在一些實施例中，該接種物培養物之 pH 值為約 6.5 至約 7.5。在一些實施例中，該接種物培養物之 pH 值為約 7.1。

【0122】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該接種物培養基之溶解氧為約 15%至約 50%。在一些實施例中，該接種物培養基之溶解氧為約 20%至約 40%。在一些實施例中，該接種物培養基之溶解氧為約 30%。

【0123】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，步驟(c)之持續時間為約 1 天至約 5 天。在一些實施例中，步驟(c)之持續時間為約 2 天至約 3 天。

【0124】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，步驟(d)包括自初始溫度至變化後溫度之溫度變化。在一些實施例中，該初始溫度為約 25℃至約 40℃。在一些實施例中，該初始溫度為約 35℃至約 39℃。在一些實施例中，該初始溫度為約 37℃。在一些實施例中，該變化後溫度為約 25℃至約 40℃。在一些實施例中，該變化後溫度為約 30℃至約 35℃。在一些實施例中，該變化後溫度為約 33℃。在一些實施例中，該溫度變化發生在約 12 小時至約 120 小時之時段內。在一些實施例中，該溫度變化發生在約 48 小時至約 96 小時之時段內。在一些實施例中，該溫度變化發生在約 72 小時之時段內。

【0125】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該生產培養基之 pH 值為約 6 至約 8。在一些實施例中，該生產培養基之 pH 值為約 6.5 至約 7.5。在一些實施例中，該生產培養基之 pH 值為約 7.0。在一些實施例中，在生產生物反應器中進行步驟(d)。在一些實施例中，該生產培養基之溶解氧為約 15%至約 50%。在

一些實施例中，該生產培養基之溶解氧為約 20%至約 40%。在一些實施例中，該生產培養基之溶解氧為約 30%。

【0126】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，步驟(d)之持續時間為約 5 天至約 25 天。在一些實施例中，步驟(d)之持續時間為約 7 天至約 16 天。在一些實施例中，步驟(d)之持續時間為約 8 天至約 16 天。在一些實施例中，步驟(d)之持續時間為約 12 天。在一些實施例中，步驟(d)進一步包括藉由營養物饋料向該生產培養基中添加營養物。

【0127】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該宿主細胞為原核生物細胞或真核生物細胞。在一些實施例中，該宿主細胞為真核生物細胞。在一些實施例中，該真核生物細胞為哺乳動物細胞。在一些實施例中，該哺乳動物細胞為中國倉鼠卵巢(CHO)細胞。在一些實施例中，該 CHO 細胞為懸浮液適應性 CHO 細胞。

【0128】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該方法包括以下步驟：(e)自該生產培養物中收集包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之細胞培養液。在一些實施例中，步驟(e)包括冷卻該生產培養物。在一些實施例中，步驟(e)包括將該生產培養物冷卻至約 2℃至約 8℃。在一些實施例中，步驟(e)包括藉由離心自該生產培養基中移除該等宿主細胞以形成該細胞培養液。在一些實施例中，步驟(e)進一步包括過濾該細胞培養液。

【0129】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該方法包括以下步驟：(f)純化該細胞培養液中之該 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，步驟(f)包括以下子步驟：(i)使該細胞培養液與親和層析載體接觸，視情況用洗滌緩衝液洗滌該親和層析載體，用第一溶析緩衝液自該親和層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白

以形成親和庫，且視情況使該親和庫中之病毒不活化；(ii)使該親和庫與陰離子交換層析載體接觸，視情況用第一平衡緩衝液洗滌該陰離子交換層析載體，用第二溶析緩衝液自該陰離子交換層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成陰離子交換庫，且視情況過濾該陰離子交換庫以移除病毒；以及(iii)使該陰離子交換庫與疏水性相互作用層析載體接觸並收集流通液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經純化產物庫，且視情況用第二平衡緩衝液洗滌該疏水性相互作用層析載體，收集流通液，並將其添加至該經純化產物庫。在一些實施例中，步驟(f)進一步包括以下子步驟：(iv)濃縮該經純化產物庫以形成濃縮產物庫。在一些實施例中，步驟(f)進一步包括以下子步驟：(v)對該經純化產物庫進行超濾。在一些實施例中，超濾包括用 10 kDa 複合再生纖維素超濾膜過濾該經純化產物庫。在一些實施例中，步驟(f)進一步包括以下子步驟：(vi)交換該濃縮產物庫之緩衝液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之超濾滲濾(UFDF)庫。在一些實施例中，將該濃縮產物庫之緩衝液交換為包含以最終濃度計 0.01 M 磷酸鈉 pH 7.2 之滲濾緩衝液。在一些實施例中，步驟(f)進一步包括以下子步驟：(vii)用調配緩衝液調節該 UFDF 庫以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經調節 UFDF 庫。在一些實施例中，子步驟(i)進一步包括在使該細胞培養液與該親和管柱接觸之前藉由向該細胞培養液中添加清潔劑使病毒不活化。在一些實施例中，子步驟(i)包括藉由向該親和庫中添加清潔劑使病毒不活化。在一些實施例中，該清潔劑為 TRITON® X-100 或 TRITON® CG110。在一些實施例中，該清潔劑之最終濃度為約 0.01%至約 2% (v/v)。在一些實施例中，該清潔劑之最終濃度為約 0.1%至約 1% (v/v)。在一些實施例中，該清潔劑之最終濃度為約 0.3%至約 0.5% (v/v)。在一些實施例中，該清潔劑之最終濃度為約 0.5%。在一些實施例中，在約 12℃至約 25℃下進行該病

毒不活化。在一些實施例中，使病毒不活化之持續時間超過約 0.5 小时。

【0130】 在另一態樣中，本發明提供一種純化 IL-22 Fc 融合蛋白之方法，該方法包括：(a)提供包含 IL-22 Fc 融合蛋白之細胞培養液且視情況使該細胞培養液中之病毒不活化；(b)使該細胞培養液與親和層析載體接觸，視情況用洗滌緩衝液洗滌該親和層析載體，且用第一溶析緩衝液自該親和層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成親和庫，並且視情況使該親和庫中之病毒不活化；(c)使該親和庫與陰離子交換層析載體接觸，視情況用第一平衡緩衝液洗滌該陰離子交換層析載體，用第二溶析緩衝液自該陰離子交換層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成陰離子交換庫，且視情況過濾該陰離子交換庫以移除病毒；以及(d)使該陰離子交換庫與疏水性相互作用層析載體接觸並收集流通液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經純化產物庫，且視情況用第二平衡緩衝液洗滌該疏水性相互作用層析載體，收集流通液，並將其添加至該經純化產物庫。在一些實施例中，該 IL-22 多肽經糖基化，且其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 8 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0131】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該親和層析載體包括蛋白 A 樹脂、蛋白 G 樹脂或 IL-22 受體樹脂。在一些實施例中，該蛋白 A 樹脂為 MABSELECT SURE®樹脂。在一些實施例中，該洗滌緩衝液包含以最終濃度計 0.4 M 磷酸鉀，pH 7.0。

【0132】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該第一溶析緩衝液包含以最終濃度計 0.3 M L-精胺酸鹽酸鹽、0.013 M 磷酸鈉，pH 3.8。

【0133】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該陰離子交換層析載體包含具有多模式功能性樹脂之強陰離子交換劑。在一些實施例中，該陰離子交換層

析載體包含 CAPTO™黏附樹脂。在一些實施例中，該第一平衡緩衝液包含以最終濃度計 0.04 M 乙酸鈉，pH 5.8。在一些實施例中，該第二溶析緩衝液為梯度溶析緩衝液。在一些實施例中，該梯度溶析緩衝液包含作為該梯度溶析緩衝液之緩衝液 A 的 0.04 M 乙酸鈉 pH 5.8 及作為該梯度之緩衝液 B 的 0.04 M 乙酸鈉、0.3M 硫酸鈉 pH 5.8，其中該梯度起始於 10%緩衝液 B。在一些實施例中，該第二平衡緩衝液包含以最終濃度計 0.025 M MOPS、0.3 M 硫酸鈉，pH 7.0。

【0134】 在另一態樣中，本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一種或本文中所描述之醫藥組合物中之任一種均可用於治療有需要之個體之 IBD 的方法中。在一些實施例中，該 IBD 為潰瘍性結腸炎(UC)或克羅恩氏病。在一些實施例中，該 IBD 為潰瘍性結腸炎(UC)。在一些實施例中，該潰瘍性結腸炎為中度至重度潰瘍性結腸炎。在一些實施例中，該 IBD 為克羅恩氏病。

【0135】 在另一態樣中，本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一種或本文中所描述之醫藥組合物中之任一種均可用於抑制有需要之個體之腸中微生物感染、在微生物感染期間保護腸中之杯狀細胞、增強腸中之上皮細胞完整性、上皮細胞增殖、上皮細胞分化、上皮細胞遷移或上皮創傷癒合的方法中。在一些實施例中，該上皮細胞為腸上皮細胞。

【0136】 在另一態樣中，本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一種或本文中所描述之醫藥組合物中之任一種均可用於治療有需要之個體之急性腎損傷或急性胰臟炎的方法中。

【0137】 在另一態樣中，本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一種或本文中所描述之醫藥組合物中之任一種均可用於加速或改良有需要之個體之創傷癒合的方法中。在一些實施例中，該創傷為慢性創傷或感染性創傷。在一些實

施例中，該個體為糖尿病個體。在一些實施例中，該糖尿病個體患有 II 型糖尿病。在一些實施例中，該創傷為糖尿病性足部潰瘍。在一些實施例中，投與該 IL-22 Fc 融合蛋白或該醫藥組合物直至創傷完全癒合。

【0138】 在另一態樣中，本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一種或本文中所描述之醫藥組合物中之任一種均可用於預防或治療有需要之個體之心血管病狀的方法中，該病狀包括動脈粥樣硬化斑形成病變。在一些實施例中，該心血管疾病為冠狀動脈疾病、冠狀微血管疾病、中風、頸動脈疾病、外周動脈疾病或慢性腎病。在一些實施例中，該方法包括減緩動脈粥樣硬化斑形成進展或預防動脈粥樣硬化症候。在一些實施例中，該動脈粥樣硬化症候包括斑積聚及/或血管炎症。

【0139】 在另一態樣中，本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一種或本文中所描述之醫藥組合物中之任一種均可用於治療有需要之個體之代謝症候群的方法中。在一些實施例中，該方法進一步包括減少與代謝症候群，包括腹部肥胖、高血糖症、血脂異常及高血壓中之一或多者相關的一或多個危險因素。在一些實施例中，該方法進一步包含降低該個體之細菌脂多醣水準。

【0140】 在另一態樣中，本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一種或本文中所描述之醫藥組合物中之任一種均可用於治療有需要之個體之急性內毒血症、敗血症或二者的方法中。

【0141】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該個體需要改變 HDL/LDL 脂質概況。

【0142】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白或該醫藥組合物欲經靜脈內、皮下、腹膜內或局部投與。在一些實施例中，該 IL-22 Fc

融合蛋白或該醫藥組合物欲經靜脈內投與。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白或該醫藥組合物欲經皮下投與。

【0143】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，欲向該個體共同投與至少一種額外治療劑。在前述態樣中任一者之一些實施例中，該個體為人類。

【0144】 除非上下文另外明確提出，否則各個及每個實施例均可組合。除非上下文另外明確提出，否則各個及每個實施例均可應用於本發明之各個及每個態樣。

【0145】 本發明之特定實施例將根據以下某些較佳實施例之更詳細描述及申請專利範圍顯而易知。

【圖式簡單說明】

【0146】 **圖 1A** 為顯示具有兩個各自與人類免疫球蛋白 G4 (IgG4) Fc 區融合之人類介白素-22 (IL-22)多肽之例示性二聚體 IL-22 Fc 融合蛋白之示意性設計構型的示意圖。該兩個 Fc 區藉由兩個鏈間二硫鍵聯連接。亦描繪各 IL-22 多肽上存在四個 N-聚醣。

【0147】 **圖 1B** 為 IL-22 Fc 融合蛋白之人類介白素-22 (IL-22)細胞介素區之註記胺基酸序列。IL-22 受體結合區以粗體顯示。Asn^{21}、Asn^{35}、Asn^{64}及 Asn^{143}之糖基化位點顯示為 N。

【0148】 **圖 1C** 為 IL-22 Fc 融合蛋白之人類免疫球蛋白 G4 (IgG4) Fc 區之註記胺基酸序列。移除 N-聚醣從而將 Fc 效應功能之可能性減至最小之 Fc 突變 N81G 由 G 表示。

【0149】 **圖 2A** 為顯示完整去糖基化 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料之質譜概況的層析譜，其證實完整分子之預測分子量。85,265 Da 及 85,393 Da 處之物

質分別為具有一個 C-末端離胺酸殘基及兩個 C-末端離胺酸殘基之 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0150】 **圖 2B** 為顯示還原去糖基化 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料之質譜概況的層析譜，其證實還原分子之預測分子量。42,706 Da 處之物質為具有一個 C-末端離胺酸殘基之 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0151】 **圖 3A 至圖 3B** 為顯示經胰蛋白酶消化之 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料在 0 與 50 分鐘(3A)及 50-110 分鐘(3B)之間的層析概況展開圖的一系列層析譜。

【0152】 **圖 3C 至圖 3D** 為顯示經胰蛋白酶消化之 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料以及臨床批料 1、2 及 3 在 0 與 50 分鐘(3C)及 50-110 分鐘(3D)之間的層析概況比較展開圖的一系列層析譜，其驗證一級結構並證明肽模式之批料間一致性。

【0153】 **圖 4A 至圖 4B** 為顯示 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料以及臨床批料 1、2 及 3 之粒徑排阻高效液相層析法(SE-HPLC)概況之全尺寸視圖(4A)及展開圖(4B)之一系列層析譜，其提供關於 IL-22 Fc 融合蛋白之分子大小異質性的定量資訊。所觀測之主峰頂點差異可歸因於糖基化。

【0154】 **圖 5A 至圖 5B** 為顯示非還原螢光標記 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料以及臨床批料 1、2 及 3 之毛細管電泳十二烷基硫酸鈉非凝膠篩分(CE-SDS-NGS)分析之全尺寸視圖(5A)及展開圖(5B)的一系列層析譜，其證明存在具有一致峰圖案及修正峰面積百分比(CPA)之一個主峰。主峰形狀差異可歸因於糖基化。

【0155】 **圖 5C 至圖 5D** 為顯示還原螢光標記 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批

料以及臨床批料 1、2 及 3 之 CE-SDS-NGS 分析之全尺寸視圖(5C)及展開圖(5D)的一系列層析譜，其證明存在具有一致峰圖案及修正峰面積百分比(CPA)之一個主峰。主峰形狀差異可歸因於糖基化。IRS=未完全還原之物質。

【0156】 **圖 6A 至圖 6B** 顯示 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料以及臨床批料 1、2 及 3 之還原(6A)及非還原(6B)樣品之 SYPRO®寶石紅染色十二烷基硫酸鈉-聚丙烯醯胺凝膠電泳(SDS-PAGE)，其證明所有批料之譜帶圖案均一致。泳道 1：精確度加未染色蛋白質標準物(Biorad)；泳道 2：8 ng 牛血清白蛋白(BSA)；泳道 3：2 ng BSA；泳道 4：IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料；泳道 5：IL-22 Fc 融合蛋白臨床批料 1；泳道 6：IL-22 Fc 融合蛋白臨床批料 2；及泳道 7：IL-22 Fc 融合蛋白臨床批料 3。

【0157】 **圖 7A 至圖 7B** 為顯示天然 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料以及臨床批料 1、2 及 3 之成像毛細管等電聚焦(ICIEF)之全尺寸視圖(7A)及展開圖(7B)的一系列層析譜。

【0158】 **圖 7C 至圖 7D** 為顯示經羧肽酶 B (CpB)處理之 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料以及臨床批料 1、2 及 3 在移除 C-末端離胺酸後之異質性之 ICIEF 之全尺寸視圖(7C)及展開圖(7D)的一系列層析譜。該等概況之微小 pI 差異與儀器有關且對峰面積百分比無影響。

【0159】 **圖 7E** 為顯示天然及經 CpB 處理之 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料之 ICIEF 概況的層析譜。

【0160】 **圖 8A 至圖 8B** 為顯示藉由 2-胺基苯甲酸親水性相互作用液相層析-超高效液相層析(2-AA HILIC-UHPLC)得到之 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料以及臨床批料 1、2 及 3 自 0-40 分鐘(8A)及 40-75 分鐘(8B)之相對 N-聚醣分佈的

一系列層析譜。

【0161】 **圖 8C 至圖 8D** 為顯示藉由 2-AA HILIC-UHPLCIL-22 得到之 Fc 融合蛋白參考標準物批料及臨床批料 1、2 及 3 (8C)以及參考標準物批料及臨床批料 2、3、4、5 及 6 (8D)之相對 N-聚醣分佈(表示為峰面積百分比(%))的一系列圖。

【0162】 **圖 9** 為藉由 Lys-C 肽作圖及 LC-MS 獲得之 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料及臨床批料 1、2 及 3 在位點 Asn21 處之相對 N-聚醣分佈(表示為峰面積%)的圖。

【0163】 **圖 10** 為 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料及臨床批料 1、2 及 3 之圓偏光二色性(CD)光譜，顯示批料之間在高級結構特徵方面不存在可辨別之差異。

【0164】 **圖 11** 為使用內源表現 IL-22 受體並穩定表現 STAT3 螢光素酶報告基因之人類結腸癌細胞株 Colo 205 之基於細胞之 IL-22 Fc 融合蛋白結合效能分析之示意性全覽圖。

【0165】 **圖 12A** 為顯示活體外分析相較於基於細胞之 IL-22 Fc 融合蛋白結合效能分析中唾液酸含量與效能之間的關係的圖。

【0166】 **圖 12B** 為比較 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料以及臨床批料 2、4、5 及 6 在用唾液酸酶去唾液酸化前後之效能的圖。對於所有去唾液酸化樣品及參考標準物批料，誤差線表示 n=2 之差異%。對於發佈值處之效能，誤差線為 n=3 之標準偏差。星號(*)指示效能估計值，結果在驗證分析範圍之外。

【0167】 **圖 13** 為研究 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料以及臨床批料 2、4、5 及 6 在用 PNGase F 酶去糖基化後之效能的一系列圖。將方法對照物暴露於與樣品相同的培育，但不添加 PNGase F。

【0168】 **圖 14** 為比較 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸變異體在單次靜脈內(IV)投與後在小鼠中之血清 IL-22 Fc 融合蛋白濃度隨時間變化之圖。

【0169】 **圖 15** 為顯示唾液酸水準對 IL-22 Fc 融合蛋白之活體外效能以及對單次 IV 投與所指示之 IL-22 Fc 融合蛋白唾液酸變異體後其在小鼠體內之暴露之影響的相反作用的圖。

【0170】 **圖 16A** 為顯示單次 IV 投與小鼠中後對 IL-22 Fc 融合蛋白唾液酸變異體之 REG3β 反應之影響(表示為血清 REG3β 濃度(ng/mL)隨時間變化)的圖。

【0171】 **圖 16B** 為顯示單次 IV 投與小鼠後 IL-22 Fc 融合蛋白暴露與對 IL-22 Fc 融合蛋白唾液酸變異體之血清 REG3β 反應之間的關係(表示為 REG3β AUC (天×ng/mL)相對於 IL-22 Fc 融合蛋白 AUC (天×ng/mL))的圖。

【0172】 **圖 17** 為顯示用於產生 IL-22 Fc 融合蛋白之過程中控制、過程階段及培養基的細胞培養過程流程圖。

【0173】 **圖 18** 為顯示用於純化 IL-22 Fc 融合蛋白之過程階段及過程中控制的純化過程流程圖。

【0174】 **圖 19** 顯示來自不同哺乳動物物種之成熟 IL-22 之胺基酸序列比對：人類(GenBank 登錄號 Q9GZX6，SEQ ID NO:4)、黑猩猩(GenBank 登錄號 XP_003313906，SEQ ID NO:48)、紅毛猩猩(GenBank 登錄號 XP_002823544，SEQ ID NO:49)、小鼠(GenBank 登錄號 Q9JJY9，SEQ ID NO:50)及犬隻(GenBank 登錄號 XP_538274，SEQ ID NO:51)。

【0175】 **圖 20** 為顯示細胞培養過程中之唾液酸水準變化的圖。各線圖顯示不同的生產運作。使用逆相高效液相層析(RP-HPLC)分析來測定唾液酸水準。每莫耳 IL-22 Fc 蛋白之唾液酸水準(示於 y 軸上)隨細胞培養持續時間(示於 x 軸上)增

加而降低。

【實施方式】

序列表

【0176】 本申請案含有已以 ASCII 格式電子提交且以引用之方式整體併入本文中之序列表。該 ASCII 複本創建於 2019 年 1 月 24 日，命名為 50474-180WO2_Sequence_Listing_1.24.19_ST25，且大小為 121,827 位元組。

I. 定義

【0177】 除非另外定義，否則本文中所使用之所有技術術語、記法及其他科學術語均意欲具有熟習本發明所屬領域之技術者通常所理解之含義。在一些情況下，本文中出於清楚性及/或供及時參考之目的而定義具有通常理解之含義的術語，且本文中包括該等定義未必應理解為表示相對於此項技術中通常所理解存在實質性差異。

【0178】 如本文中所使用之術語「約」係指此技術領域中之技術人員容易獲知之個別值之通常誤差範圍。本文中對「約」某一值或參數之引用包括(且描述)針對該值或參數本身之實施例。

【0179】 除非上下文另外清楚地指出，否則如本文所使用，單數形式「一」及「該」包括複數指示物。舉例而言，對「一種經分離之肽」之引用意謂一或多種經分離之肽。

【0180】 貫穿本說明書及申請專利範圍，字組「包含」應理解為意味包括所陳述之整數或整數群組，但不排除任何其他整數或整數群組。

【0181】 如本文中所使用之術語「IL-22 Fc 融合蛋白」或「IL-22 融合蛋白」或「IL-22 Ig 融合蛋白」係指其中 IL-22 蛋白或多肽直接或間接連接至 IgG Fc 區

之融合蛋白。在一些實施例中，IL-22 蛋白或多肽經糖基化。在特定實施例中，IL-22 蛋白或多肽經唾液酸化。在某些較佳實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白包含與人類 IgG Fc 區連接之人類 IL-22 蛋白或多肽。在某些較佳實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含兩個各自與人類免疫球蛋白 G4 (IgG4) Fc 區融合之人類介白素 22 (IL-22)多肽，其中該兩個 Fc 區係藉由兩個鏈間二硫鍵聯連接。在某些實施例中，人類 IL-22 蛋白包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列。然而，應理解，本發明亦涵蓋不影響 IL-22 或 IL-22 Fc 融合蛋白之功能及/或活性之微量序列變異，諸如插入、缺失、取代(尤其 IL-22 或 Fc 之保守胺基酸取代)。本發明之 IL-22 Fc 融合蛋白可與 IL-22 受體結合，由此可引起 IL-22 受體下游信號傳導。在某些實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白能夠結合 IL-22 受體，及/或能夠引起 IL-22 受體下游信號傳導。IL-22 Fc 融合蛋白之功能及/或活性可藉由此項技術中已知的方法進行分析，包括但不限於 ELISA、配位體-受體結合分析及 Stat3 螢光素酶分析。在某些實施例中，本發明提供結合 IL-22 受體之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該結合可引起 IL-22 受體下游信號傳導，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含與選自由 SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14 及 SEQ ID NO:16 組成之群的胺基酸序列具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列，且其中 Fc 區未糖基化。在某些特定實施例中，IL-22 融合蛋白之 Fc 區不具有效應活性(例如，不結合 FcγIIIR)或展現實質上低於整個(例如野生型)IgG 抗體之效應活性。在某些其他實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白之 Fc 區不觸發細胞毒性，諸如抗體依賴性細胞毒性(ADCC)或補體依賴性細胞毒性(CDC)。除非另外規定，否則「IL-22 融合蛋白」、「IL-22 Fc 融合體」、「IL-22 Ig 融合蛋白」、「IL-22 Fc 融合蛋白」或「IL-22 Fc」在此申請案中可互換使用。

【0182】 除非另外指示，否則如本文中所使用之術語「IL-22」或「IL-22 多肽」或「IL-22 蛋白」廣泛地指來自任何哺乳動物來源之任何天然 IL-22，包括靈長類動物(例如人類)及嚙齒動物(例如小鼠及大鼠)。該術語涵蓋「全長」未處理 IL-22 以及由在細胞中處理而產生之 IL-22 之任何形式。舉例而言，本發明包括含有 N-末端前導序列及成熟形式 IL-22 之全長 IL-22。前導序列(或信號肽)可為內源 IL-22 前導序列或另一哺乳動物分泌蛋白之外源前導序列。在某些實施例中，前導序列可來自真核生物或原核生物分泌蛋白。該術語亦涵蓋天然存在之 IL-22 變異體，例如剪接變異體或等位基因變異體。例示性人類 IL-22 之胺基酸序列示於 SEQ ID NO:4 中(成熟形式，無信號肽)。在某些實施例中，具有內源前導序列之全長 IL-22 蛋白之胺基酸序列提供於 SEQ ID NO:71 中；而在其他實施例中，具有外源前導序列之成熟 IL-22 蛋白之胺基酸序列提供於 SEQ ID NO:2 中。本發明亦涵蓋不影響 IL-22 之功能及/或活性(例如，與 IL-22 受體結合)之 IL-22 微量序列變異，尤其保守胺基酸取代。圖 19 顯示來自若干例示性哺乳動物物種之成熟 IL-22 之胺基酸序列比對。星號表示可能對 IL-22 之功能及/或活性非常重要的在物種間高度保守的胺基酸殘基。因此，在某些實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白包含含有與 SEQ ID NO:4 具有至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%或至少 99%序列一致性之胺基酸序列的 IL-22 多肽。在某些其他實施例中，IL-22 蛋白與 SEQ ID NO:71 具有 95%或更高序列一致性、與 SEQ ID NO:71 具有 96%或更高序列一致性、與 SEQ ID NO:71 具有 97%或更高序列一致性、與 SEQ ID NO:71 具有 98%或更高序列一致性、或與 SEQ ID NO:71 具有 99%或更高序列一致性。本文中所描述之 IL-22 多肽可自多種來源，諸如自人類組織或自另一來源分離，或者藉由重組或合成方法製備。

【0183】 術語「IL-22 受體」或「IL-22R」係指由 IL-22R1 及 IL-10R2 或其天然存在之等位基因變異體組成的異二聚體。參見例如 Ouyang 等人, 2011, Annu. Rev. Immunol. 29:159-63。IL-10R2 由許多細胞類型普遍表現，而 IL-22R1 僅表現於先天細胞，諸如上皮細胞、肝細胞及角質形成細胞中。IL-22R1 亦稱為 IL-22Ra1 或 IL-22Rα1。IL-22R1 可與其他多肽配對以形成其他 IL-10 家族成員，例如 IL-20 或 IL-24 之異二聚體受體。參見例如 Ouyang 等人, 2011, *同上*。例示性 IL-22R1 多肽之全長胺基酸序列示於 SEQ ID NO:81 中。此 IL-22R1 全長序列包括在最終功能分子中裂解之 N-末端信號序列(胺基酸 1-15) (其例示性胺基酸序列示於 SEQ ID NO:82 中)。例示性 IL10R2 多肽之全長胺基酸序列示於 SEQ ID NO:83 中。IL10R2 全長序列包括在最終功能分子中裂解之 N-末端信號序列(胺基酸 1-19) (其例示性胺基酸序列示於 SEQ ID NO:84 中)。

【0184】 「天然序列 IL-22 多肽」或「天然序列 IL-22R 多肽」係指包含與來源於自然界之相應 IL-22 或 IL-22R 多肽相同的胺基酸序列的多肽。該等天然序列 IL-22 或 IL-22R 多肽可自自然界分離，或者可藉由重組或合成手段產生。該等術語特定地包括特定 IL-22 或 IL-22R 多肽之天然存在之截短或分泌形式(例如，缺乏其相關信號肽之 IL-22)、天然存在之變異體形式(例如，交替剪接形式)及多肽之天然存在之等位基因變異體。在本發明之各個實施例中，本文中所揭示之天然序列 IL-22 或 IL-22R 多肽為成熟或全長天然序列多肽。例示性全長天然人類 IL-22 示於 SEQ ID NO:70 (DNA)及 SEQ ID NO:71 (蛋白質)中。儘管 IL-22 及 IL-22R 多肽序列顯示以本文中稱為胺基酸位置 1 之甲硫胺酸殘基開始，但可設想且有可能採用位於胺基酸位置 1 上游或下游之其他甲硫胺酸殘基作為 IL-22 或 IL-22R 多肽之起始胺基酸殘基。

【0185】 「IL-22 變異體」、「IL-22R 變異體」、「IL-22 變異體多肽」或「IL-22R 變異體多肽」意謂如以上所定義之與全長天然序列 IL-22 或 IL-22R 多肽序列具有至少約 80%胺基酸序列一致性之活性 IL-22 或 IL-22R 多肽。一般而言，IL-22 或 IL-22R 多肽變異體將與全長或成熟天然序列 IL-22 或 IL-22R 多肽序列具有至少約 80%胺基酸序列一致性、或者至少約 81%胺基酸序列一致性、或者至少約 82%胺基酸序列一致性、或者至少約 83%胺基酸序列一致性、或者至少約 84%胺基酸序列一致性、或者至少約 85%胺基酸序列一致性、或者至少約 86%胺基酸序列一致性、或者至少約 87%胺基酸序列一致性、或者至少約 88%胺基酸序列一致性、或者至少約 89%胺基酸序列一致性、或者至少約 90%胺基酸序列一致性、或者至少約 91%胺基酸序列一致性、或者至少約 92%胺基酸序列一致性、或者至少約 93%胺基酸序列一致性、或者至少約 94%胺基酸序列一致性、或者至少約 95%胺基酸序列一致性、或者至少約 96%胺基酸序列一致性、或者至少約 97%胺基酸序列一致性、或者至少約 98%胺基酸序列一致性、或者至少約 99%胺基酸序列一致性。

【0186】 術語「Fc 區」、「Fc 結構域」或「Fc」係指含有恆定區之至少一部分之免疫球蛋白重鏈 C-末端非抗原結合區。該術語包括天然 Fc 區及變異體 Fc 區。在某些實施例中，人類 IgG 重鏈 Fc 區自 Cys226 延伸至重鏈羧基末端。然而，Fc 區之 C-末端離胺酸(Lys447)可能存在或不存在，而不影響 Fc 區之結構或穩定性。除非本文中另外規定，否則 IgG 或 Fc 區中胺基酸殘基之編號係根據抗體之 EU 編號系統，亦稱為 EU 指數，如 Kabat 等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第 5 版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991 中所描述。

【0187】 在某些實施例中，Fc 區係指免疫球蛋白 IgG 重鏈恆定區，其包含鉸鏈區(起始於 Cys226)、IgG CH2 結構域及 CH3 結構域。如本文中所使用之術語「鉸鏈區」或「鉸鏈序列」係指位於連接子與 CH2 結構域之間的胺基酸序列。在某些實施例中，鉸鏈區包含胺基酸序列 CPPCP (SEQ ID NO:31)。在某些實施例中，IL-22 IgG4 Fc 融合蛋白之鉸鏈區包含在天然 IgG1 鉸鏈區中發現之序列 CPPCP 序列(SEQ ID NO:31)以促進二聚。在某些其他實施例中，Fc 區起始於鉸鏈區並且延伸至 IgG 重鏈 C-末端。在某些特定實施例中，Fc 區包含人類 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 之 Fc 區。在某些特定實施例中，Fc 區包含 IgG4 之 CH2 及 CH3 結構域。在某些其他特定實施例中，Fc 區包含 IgG1 之 CH2 及 CH3 結構域。

【0188】 在某些實施例中，IgG CH2 結構域起始於 Ala 231。在某些其他實施例中，CH3 結構域起始於 Gly 341。應理解，人類 IgG 之 C-末端 Lys 殘基可視情況不存在。亦應理解，本發明之範疇內涵蓋 Fc 區之保守胺基酸取代而不影響 Fc 之所要結構及/或穩定性。

【0189】 在某些實施例中，IL-22 經由連接子連接至 Fc 區。在某些特定實施例中，連接子為如本文中所描述之將 IL-22 之 C-末端連接至 Fc 區的肽。在某些實施例中，天然 IgG 序列存在於連接子及/或鉸鏈區中以最小化及/或避免免疫原性風險。在其他實施例中，可將微小序列變異引入天然序列以有助於製造。包含展現高活性之外源連接子或鉸鏈序列之 IL-22 Fc 融合構築體(例如，如藉由螢光素酶分析法所量測)亦在本發明之範疇內。在某些實施例中，連接子包含 8-20 個胺基酸、8-16、8-15、8-14、8-13、8-12、8-11、8-10、8-9、10-11、10-12、10-13、10-14、10-15、10-16、11-16、8、9、10、11、12、13、14、15 或 16 個胺基酸長之胺基酸序列。在某些其他實施例中，連接子包含胺基酸序列 DKTHT (SEQ ID

NO:32)。在某些特定實施例中，連接子不包含序列 Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:45)、Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:46)或 Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:47)。

【0190】 在某些實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白包含由連接子連接至 Fc 區之 IL-22 多肽。術語「連接至」或「融合至」係指在兩個部分之間形成共價鍵，例如肽鍵。

【0191】 如本文中所使用之術語「糖基化」及「糖基化」係指存在附接至生物分子(例如，蛋白質或脂質)之碳水化合物(例如，寡醣或多醣，亦稱為「聚醣」)。在特定實施例中，糖基化係指存在附接至蛋白質(例如，IL-22 Fc 融合蛋白)或相關蛋白質之一部分(例如，IL-22 Fc 融合蛋白之 IL-22 多肽部分)的聚醣(例如，N-聚醣)。N-連接糖基化係指碳水化合物部分附接至天冬醯胺殘基側鏈。三肽序列天冬醯胺-X-絲胺酸及天冬醯胺-X-蘇胺酸(其中 X 為除脯胺酸以外之任何胺基酸)為碳水化合物部分酶促附接至天冬醯胺側鏈之識別序列。O-連接糖基化係指糖 N-乙醯半乳糖胺、半乳糖或木糖之一附接至羥基胺基酸，最常見為絲胺酸或蘇胺酸，但 5-羥基脯胺酸或 5-羥基離胺酸亦可參與 O-連接糖基化。關於糖基化之綜述，參見例如 Varki 等人, *Essentials of Glycobiology, 第 3 版*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2015-2017。

【0192】 如本文中可互換使用之術語「非糖基化」及「未糖基化」係指未糖基化(例如，未 N-糖基化)之蛋白質或相關蛋白質之一部分(例如，IL-22 Fc 融合蛋白之 Fc 區)。應理解，在一些實施例中，相關蛋白質之一部分(例如，IL-22 Fc 融合蛋白)經糖基化(例如，IL-22 Fc 融合蛋白之 IL-22 多肽部分)，而相關蛋白質之另一部分未糖基化(例如，IL-22 Fc 融合蛋白之 Fc 區)。

【0193】 在一些實施例中，本文中提供 IL-22 Fc 融合蛋白，其中 Fc 區或 CH2

結構域未糖基化。在某些實施例中，使 CH2 結構域中之 N-糖基化位點突變以防止糖基化。舉例而言，具有非糖基化 Fc 區之 IL-22 Fc 融合蛋白可藉由對 Fc 區 CH2 結構域中根據 EU 指數處於 297 位之胺基酸殘基(例如，N297) (亦稱為殘基 N81，參見例如圖 1C)進行突變誘發來製造。在某些實施例中，Fc 區 CH2 結構域中之糖基化可藉由改變糖基化共同位點，即 297 位之 Asn 及其之後的任何胺基酸殘基(在人類 IgG 中之情況下為 Ser)及 Thr 來消除。可以通過胺基酸插入，缺失及/或取代來改變糖基化位點。舉例來說，可在 Asn 與 Ser 之間或 Ser 與 Thr 之間插入一或多個胺基酸殘基以改變原始糖基化位點，其中插入未使 N-糖基化位點再生。在某些特定實施例中，使人類 IgG Fc 之 CH2 結構域內根據 EU 指數處於 297 位之胺基酸殘基(例如 Fc 中之 N-糖基化位點)突變以消除糖基化位點。在某些特定實施例中，使根據 EU 指數處於 297 位之胺基酸殘基(例如，N297)中變成 Gly、Ala、Gln、Asp 或 Glu。在一些特定實施例中，使根據 EU 指數處於 297 位之胺基酸殘基(例如，N297)變成 Gly 或 Ala。在其他特定實施例中，使根據 EU 指數處於 297 位之胺基酸殘基(例如，N297)變成 Gly。在某些其他實施例中，使根據 EU 指數處於 299 位之胺基酸殘基可經另一胺基酸，例如 Ala、Val 或 Gly 取代。在某些特定實施例中，產生非糖基化 Fc 之突變不影響 IL-22 Fc 融合蛋白之結構及/或穩定性。

【0194】 在某些實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白包含 Fc 區，其中使 CH2 結構域中根據 EU 指數處於 297 位之胺基酸殘基突變。在某些實施例中，使根據 EU 指數處於 297 位之胺基酸殘基變成 Gly 或 Ala，較佳變成 Gly。在某些其他實施例中，使根據 EU 指數處於 297 位之胺基酸殘基缺失。在某些實施例中，包含在根據 EU 指數處於 297 位之胺基酸殘基具有胺基酸取代之 Fc 的 IL-22 Fc 融合蛋白

為非糖基化或未糖基化的。

【0195】 在其他實施例中，可用酶促方式(例如藉由去糖基化)移除附接至根據EU指數處於297位之野生型胺基酸殘基(例如，N297)之N-聚醣。適合之糖解酶包括但不限於肽-N-糖苷酶(PNGase)。

【0196】 如本文中所使用之術語「糖基化佔有率」係指蛋白質在特定糖基化位點(例如，一致糖基化位點之Asn殘基)處糖基化之概率或蛋白質群體中在特定糖基化位點處糖基化之蛋白質的百分比。舉例而言，IL-22多肽可能在SEQ ID NO:4之胺基酸殘基Asn21、Asn35、Asn64及/或Asn143上經糖基化。在另一特定實例中，(a)殘基Asn21處之N-糖基化位點佔有率百分比可能在70%至90%之範圍內；(b)殘基Asn35處之N-糖基化位點佔有率百分比可能在90%至100%之範圍內；(c)殘基Asn64處之N-糖基化位點佔有率百分比可能在90%至100%之範圍內；及/或(d)殘基Asn143處之N-糖基化位點佔有率百分比可能在25%至35%之範圍內。

【0197】 術語「唾液酸化」及「經唾液酸化」係指在相關蛋白質或蛋白質部分上存在唾液酸，尤其作為附接至蛋白質之聚醣(例如 N-聚醣)鏈之組分。唾液酸(本文中亦稱為「唾液酸部分」)一般係指神經胺糖酸之*N*-或*O*-取代衍生物。N-乙醯神經胺糖酸(5-乙醯胺基-2-酮基-3,5-二去氧-D-甘油基-D-半乳糖醛酸；亦稱為NANA或Neu5Ac)為哺乳動物中最常見之唾液酸。其他例示性唾液酸包括但不限於2-酮基-3-去氧-D-甘油基-D-半乳糖醛酸(亦稱為Kdn)、N-羥乙醯基神經胺糖酸(亦稱為Neu5Gc或NGNA)、神經胺糖酸(亦稱為Neu)及2-去氧-2,3-二去氫-Neu5Ac(亦稱為Neu2en5Ac)。在核苷酸供體CMP-Sia上活化之後，游離唾液酸(Sia)可用於聚醣合成。Sia自CMP-Sia轉移至真核生物高基氏系統中新合成之

醣結合物(例如醣蛋白)上係由鍵聯特異性唾液酸基轉移酶(ST)家族催化。唾液酸典型地為聚醣(例如 N-聚醣)分支鏈之封端殘基。在一些實施例中，唾液酸可佔據聚醣內之內部位置，最通常當一個唾液酸殘基附接至另一唾液酸殘基時。關於唾液酸化及唾液酸之綜述，參見例如 Varki 等人, *Essentials of Glycobiology, 第 3 版*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2015-2017 之第 15 章。

【0198】 術語「唾液酸含量」係指相關糖基化蛋白質(例如，IL-22 Fc 融合蛋白)或蛋白質部分之唾液酸化水準或量。在一些實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 4 至約 16 莫耳(例如約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、約 10、約 11、約 12、約 13、約 14、約 15 或約 16 莫耳)唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 8、9、10、11 或 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0199】 術語「平均唾液酸含量」就根據本發明之含有 IL-22 Fc 融合蛋白之組合物(例如，醫藥組合物或批料)而言係指該組合物中每莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之該組合物中唾液酸之總莫耳數。因而，舉例而言，此種組合物可含有 IL-22 Fc 融合蛋白之異質庫，其中該組合物內之個別 IL-22 Fc 融合蛋白具有不同的唾液酸化水準(例如，在 0-25 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內)。除非另外指示，否則本文中所描述之唾液酸含量(包括平均唾液酸含量)之所有值均係指二聚體 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0200】 如本文中所使用之術語「批料」係指運作生產製程之產物，包括例如 IL-22 Fc 融合蛋白或其組合物。舉例而言，本文中描述之方法可用於產生 IL-22 Fc 融合蛋白或其組合物批料。可根據本文中所描述之方法，例如藉由評定批料之平均唾液酸含量來選擇批料用於發佈(亦即，用於分佈或銷售)。

【0201】 術語「非海藻糖基化」或「去海藻糖基化」係指 N-聚醣，例如，附接至蛋白質(例如，IL-22 多肽)或蛋白質之一部分(例如，Fc 之 CH2 結構域)的聚醣不存在或自其中移除核心海藻糖。

【0202】 術語「二聚體 IL-22 Fc 融合蛋白」係指其中各單體包含 IL-22 Fc 融合蛋白之二聚體。術語「單體 IL-22 Fc 融合蛋白」係指其中一個單體包含 IL-22 Fc 融合蛋白(IL-22 Fc 臂)，而另一單體包含無 IL-22 多肽之 Fc 區(Fc 臂)的二聚體。因此，二聚體 IL-22 Fc 融合蛋白就 IL-22R 結合而言為二價的，而單體 IL-22 Fc 融合蛋白就 IL-22R 結合而言為單價的。單體 IL-22 Fc 融合蛋白之異二聚化可藉由此項技術中已知的方法，包括但不限於藉由鈕入孔技術進行異二聚化來促進。鈕入孔技術之結構及組裝方法可見於例如 US5,821,333、US7,642,228、US2011/0287009 及 PCT/US2012/059810 中，諸案係以引用之方式整體併入本文中。此技術係藉由在一個 Fc 之 CH3 結構域中以大胺基酸殘基置換小胺基酸殘基來引入「鈕」(或突起)並且在另一 Fc 之 CH3 結構域中以較小胺基酸殘基置換一或多個大胺基酸殘基來引入「孔」(或凹穴)而開發。實現另一個 Fc。在某些實施例中，IL-22 Fc 融合臂包含鈕，而僅有 Fc 之臂包含孔。

【0203】 用於形成鈕之較佳殘基一般為天然存在之胺基酸殘基，且較佳選自精胺酸(R)、苯丙胺酸(F)、酪胺酸(Y)及色胺酸(W)。最佳為色胺酸及酪胺酸。在一個實施例中，用於形成鈕之原始殘基具有小側鏈體積，諸如丙胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、甘胺酸、絲胺酸、蘇胺酸或纈胺酸。CH3 結構域中用於形成鈕之例示性胺基酸取代包括但不限於 T366W、T366Y 或 F405W 取代。

【0204】 用於形成孔之較佳殘基通常為天然存在之胺基酸殘基，且較佳選自丙胺酸(A)、絲胺酸(S)、蘇胺酸(T)及纈胺酸(V)。在一個實施例中，用於形成孔

之原始殘基具有大側鏈體積，諸如酪胺酸、精胺酸、苯丙胺酸或色胺酸。CH3結構域中用於產生孔之例示性胺基酸取代包括但不限於 T366S、L368A、F405A、Y407A、Y407T 及 Y407V 取代。在某些實施例中，鈕包含 T366W 取代，且孔包含 T366S/L368A/Y407V 取代。在某些特定實施例中，單體 IL-22 Fc 融合蛋白之 Fc 區包含 IgG1 Fc 區。在某些特定實施例中，單體 IL-22 IgG1 Fc 融合體包含 IL-22 Fc 鈕臂及 Fc 孔臂。在某些實施例中，IL-22 Fc 鈕臂包含 T366W 取代(SEQ ID NO:61)，且 Fc 孔臂包含 T366S、L368A 及 Y407V (SEQ ID NO:62)。在某些其他實施例中，兩個臂之 Fc 區皆進一步包含 N297G 或 N297A 突變。在某些實施例中，單體 IL-22 Fc 融合蛋白表現於大腸桿菌細胞中。應理解，本申請亦設想並涵蓋此項技術中已知的有助於異二聚化之其他 Fc 區修飾。

【0205】 術語「創傷」係指損傷，尤其皮膚或另一外表面被撕裂、刺穿、切割或以其他方式破壞之損傷。

【0206】 術語「潰瘍」為通常以膿液形成、組織死亡為特徵且往往伴隨炎症性反應之皮膚或黏膜損傷部位。

【0207】 本文中可互換使用之術語「腸」或「腸道」廣泛涵蓋小腸及大腸。

【0208】 術語「加速創傷癒合」或「創傷癒合之加速」係指癒合速率增加，例如，直至完全創傷癒合發生之時間減少或直至創傷面積減少一定百分比(%)發生之時間減少。

【0209】 「糖尿病性創傷」為與糖尿病相關之創傷。

【0210】 「糖尿病性潰瘍」為與糖尿病相關之潰瘍。

【0211】 「慢性創傷」係指不癒合之創傷。參見例如 Lazarus 等人, Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing, *Arch. Dermatol.*

130:489-93 (1994)。慢性創傷包括但不限於例如動脈潰瘍、糖尿病性潰瘍、壓迫性潰瘍或褥瘡、靜脈曲張性潰瘍及其類似創傷。急性創傷可發展成慢性創傷。急性創傷包括但不限於由例如熱損傷(例如燒傷)、外傷、手術、廣泛皮膚癌切除、深部真菌及細菌感染、血管炎、硬皮病、天疱瘡、中毒性表皮壞死鬆解症及其類似物引起的創傷。因而，在某些實施例中，慢性創傷為感染性創傷。「正常創傷」係指經歷正常創傷癒合修復之創傷。「親和力」係指分子(例如配位體或抗體)與其結合搭配物(例如受體或抗原)之單一結合位點之間的非共價相互作用之總和的強度。除非另外指示，否則如本文中所使用，「結合親和力」係指固有結合親和力，其體現結合配對之成員(例如，IL-22 Fc 融合蛋白與 IL-22 受體)之間的 1:1 相互作用。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。親和力可藉由此項技術中已知的普通方法，包括本文所描述之彼等方法進行量測。用於量測結合親和力之特定說明性及例示性實施例描述如下。

【0212】 如本文中關於 IL-22 Fc 融合蛋白所使用之術語「效能」係指 IL-22 Fc 融合蛋白結合 IL-22R (例如，IL-22-R1a 或其部分，例如細胞外域)及/或活化下游 IL-22R 信號傳導(例如，STAT3 信號傳導)之能力。在一些實施例中，例如，如實例 2 中所描述，在受體結合分析法或基於細胞之結合分析法中評定效能。在一些實施例中，使用活體內分析法評定效能，例如，如實例 2 中所描述。在一些實施例中，將效能與參考 IL-22 Fc 融合蛋白，例如，具有表 12 及/或表 13 中所示之 N-聚醣分佈的 IL-22 Fc 融合蛋白相比較。

【0213】 術語「抗體」在本文中以最廣泛意義使用，並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，只要其展現所要抗原結合活性即可。

【0214】 「抗體片段」係指除完整抗體以外之分子，其包含結合完整抗體所

結合之抗原之完整抗體的一部分。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。

【0215】 抗體之「類別」係指其重鏈所具有之恆定域或恆定區之類型。存在五個主要抗體類別：IgA、IgD、IgE、IgG 及 IgM，且此等類別中之若干種可進一步分為亞類(同型)，例如 IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1 及 IgA_2。對應於不同免疫球蛋白類別之重鏈恆定域分別稱為 α、δ、ε、γ 及 μ。

【0216】 「效應子功能」或「效應子活性」係指可歸因於抗體 Fc 區之彼等生物活性，其隨抗體同型而變化。抗體效應子功能之實例包括：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)下調；及 B 細胞活化。在某些實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白未展現任何效應子功能或任何可偵測效應子功能。在某些其他實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白展現實質上降低之效應子功能，例如，降低約 50%、60%、70%、80%或 90%之效應子功能。

【0217】 藥劑(例如醫藥調配物)之「有效量」或「治療有效量」係指對在必需劑量及時間段內達成所要治療或預防結果有效之量。

【0218】 舉例而言，在心血管疾病或病狀之情況下，治療有效量之 IL-22 Fc 融合蛋白可降低動脈粥樣硬化斑形成程度；減小動脈粥樣硬化斑之大小；抑制(亦即，在某種程度上減緩且較佳終止)動脈粥樣硬化斑；抑制(亦即，在某種程度上減緩且較佳終止)動脈粥樣硬化斑之血栓形成或破裂；及/或在一定程度上緩解與該疾病或病狀相關之一或多種症狀。

【0219】 「減少或抑制」意謂引起較佳 20%以上、更佳 50%以上且最佳 75%、

85%、90%、95%以上之總體降低的能力。減少或抑制可指所治療之病症之症狀、動脈粥樣硬化斑之存在或大小、或動脈粥樣硬化斑之數目。

【0220】 「次最佳量」係指少於通常用於某種治療之治療劑之最佳量的量。當兩種治療劑並行或順序給與個體時，與單獨給與各治療劑時之治療相比，各治療劑可以次最佳量給與。舉例而言，在某些實施例中，需要 IBD 治療之個體與包含本發明之 IL-22 Fc 融合蛋白及地塞米松之醫藥組合物一起以次最佳量投與。

【0221】 術語「全長抗體」、「完整抗體」及「整個抗體」在本文中可互換使用，係指具有實質上與天然抗體結構相似之結構或具有含有如本文中所定義之 Fc 區之重鏈的抗體。

【0222】 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，包括該等細胞之子代。宿主細胞包括「轉型株」及「轉型細胞」，其包括原代轉型細胞及由其衍生之子代，不考慮繼代次數。轉型細胞包括瞬時或穩定轉型細胞。子代在核酸內容方面未必與親本細胞完全一致，而是可能含有突變。本文中包括具有與針對原始轉型細胞篩檢或選擇之功能或生物活性相同的功能或生物活性的突變子代。在某些實施例中，用外源核酸瞬時轉染宿主細胞。在某些其他實施例中，用外源核酸穩定轉染宿主細胞。

【0223】 「免疫結合物」為與一或多個異源分子，包括但不限於細胞毒性劑結合之抗體或抗體片段。

【0224】 「個人」、「個體」或「患者」為哺乳動物。哺乳動物包括但不限於馴化動物(例如，牛、綿羊、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)、兔及嚙齒動物(例如，小鼠及大鼠)。在某些實施例中，個人、個體或患者為人類。

【0225】 「分離之」IL-22 Fc 融合蛋白為自重組產生該融合蛋白之宿主細胞環境中分離之蛋白質。在一些實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白純化至高於 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%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)方法所測定。

【0226】 「分離之」核酸係指已與其天然環境之組分分離的核酸分子。分離之核酸包括通常含有該核酸分子但該核酸分子存在於染色體外或與其天然染色體位置不同的染色體位置的細胞中所含有的核酸分子。

【0227】 術語「編碼 IL-22 Fc 融合蛋白之分離之核酸」係指編碼 IL-22 Fc 融合蛋白之一或多個核酸分子，包括處於單一載體或單獨載體中之該(等)核酸分子，該(等)核酸分子瞬時或穩定轉染至宿主細胞中，且該(等)核酸分子存在於宿主細胞中之一或多個位置。

【0228】 術語「控制序列」係指在特定宿主生物體中表現可操作地連接之編碼序列所必需的 DNA 序列。舉例而言，適合原核生物之控制序列包括啟動子、視情況存在之操縱子序列及核糖體結合位點。已知真核生物細胞利用啟動子、聚腺苷酸化信號及增強子。

【0229】 當核酸與另一核酸序列處於功能關係中時，其「可操作地連接」。舉例而言，若前驅序列或分泌前導序列之 DNA 表現為參與多肽分泌之前驅蛋白質，則其可操作地連接至該多肽之 DNA；若啟動子或增強子影響編碼序列之轉錄，則其可操作地連接至該序列；或者若核糖體結合位點經安置以促進轉譯，則其可操作地連接至編碼序列。一般而言，「可操作地連接」意謂所連接之 DNA

序列為連續的且在分泌前導序列之情況下為連續的且處於讀取階段。然而，增強子不必為連續的。連接係藉由在適宜限制位點處連接來實現。若不存在該等位點，則根據習知實務使用合成寡核苷酸銜接子或連接子。

【0230】 如本文中所使用之術語「單株抗體」係指獲自實質上同源抗體之群體的抗體，亦即，構成該群體之個別抗體相同及/或結合相同抗原決定基，但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可能變異抗體除外，該等變異體一般以微量存在。與典型地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相反，單株抗體製劑之各單株抗體針對抗原上之單一決定子。因而，修飾語「單株」指示該抗體之特徵為獲自實質上同源抗體群體，而不應被視為需要藉由任何特定方法來產生該抗體。舉例而言，根據本發明使用之單株抗體可藉由多種技術來製造，包括但不限於雜交瘤法、重組 DNA 法、噬菌體呈現法及利用含有全部或一部分人類免疫球蛋白基因座之轉殖基因動物的方法，該等方法及其他例示性單株抗體製造方法描述於本文中。

【0231】 「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 抗體為由經二硫鍵鍵結之兩個一致輕鏈及兩個一致重鏈構成的約 150,000 道爾頓之異源四聚體糖蛋白。各重鏈自 N-末端至 C-末端具有可變區(VH)，亦稱為可變重鏈結構域或重鏈可變域，繼之以三個恆定域(CH1、CH2 及 CH3)。類似地，各輕鏈自 N-末端至 C-末端具有可變區(VL)，亦稱為可變輕鏈結構域或輕鏈可變域，繼之以恆定輕鏈(CL)結構域。可基於抗體輕鏈恆定域之胺基酸序列而將其指定至兩種類型之一，稱為 κ (kappa)及 λ (lambda)。

【0232】 「天然序列 Fc 區」包含與自然界中所發現之 Fc 區之胺基酸序列一致的胺基酸序列。天然序列人類 Fc 區包括但不限於天然序列人類 IgG1 Fc 區(非

A 異型及 A 異型)；天然序列人類 IgG2 Fc 區；天然序列人類 IgG3 Fc 區；及天然序列人類 IgG4 Fc 區，以及其天然存在之變異體。

【0233】 「變異 Fc 區」包含因存在至少一個胺基酸修飾、較佳一或多個胺基酸取代而與天然序列 Fc 區之胺基酸序列不同的胺基酸序列。較佳地，與天然序列 Fc 區或與親本多肽之 Fc 區相比，變異 Fc 區在天然序列 Fc 區或在母體多肽 Fc 區中具有至少一個胺基酸取代，例如約一至約十個胺基酸取代，且較佳約一至約五個胺基酸取代。本文中之變異 Fc 區較佳將與天然序列 Fc 區及/或與母體多肽 Fc 區具有至少約 80%同源性，且最佳與其具有至少約 90%同源性，更佳與其具有至少約 95%同源性。在某些實施例中，變異 Fc 區未經糖基化。

【0234】 本文中可互換使用之「病症」、「疾病」或「病狀」為將受益於用本文中所描述之組合物(例如，醫藥組合物)，例如包括 IL-22 Fc 融合蛋白之組合物(例如，醫藥組合物)進行治療的任何病狀。此包括慢性及急性病症或疾病，包括使哺乳動物傾向於所論述之病症的病理學病狀。在一些實施例中，該病症為 IL-22 相關病症。例示性病症包括但不限於 IBD (例如 UC 或克羅恩氏病)、微生物感染、急性腎損傷、急性胰臟炎、創傷、心血管病狀、代謝症候群、急性內毒血症及敗血症。

【0235】 如本文中可互換使用之術語「炎症性腸病症」、「炎症性腸疾病」及「IBD」在本文中以最廣泛意義使用，並且包括發病機制涉及腸(包括小腸及結腸)中之復發性炎症的所有疾病及病理學病狀。IBD 包括例如潰瘍性結腸炎及克羅恩氏病)。IBD 不限於 UC 及 CD。該疾病之體現包括但不限於炎症及腸中上皮完整性降低。

【0236】 術語「心血管疾病」或「心血管病症」在本文中以最廣泛意義使用，

並且包括發病機制涉及血管異常，舉例而言，諸如動脈粥樣硬化斑形成(包括穩定斑或不穩定/脆弱斑)、動脈粥樣硬化、動脈硬化、小動脈硬化及全身脂多醣(LPS)暴露升高之所有疾病及病理學病狀。該術語另外包括受益於抑制動脈粥樣硬化斑形成之疾病及病理學病狀。心血管疾病包括但不限於冠狀動脈粥樣硬化、冠狀動脈微血管疾病、中風、頸動脈疾病、外周動脈疾病、局部缺血、冠狀動脈疾病(CAD)、急性冠狀動脈症候群(ACS)、冠心病(CHD)、與 CAD 及 CHD 相關之病狀、腦血管疾病、外周血管疾病、動脈瘤、血管炎、靜脈血栓形成、糖尿病、代謝症候群慢性腎病、局部缺血及再灌注後遠端組織損傷，以及心肺分流。明確包括在此群組中者為可藉由抑制動脈粥樣硬化斑形成來控制其發生、發展或進展之相關之所有心血管疾病。

【0237】　術語「心血管病狀」在本文中以最廣泛意義使用，並且包括發病涉及動脈粥樣硬化斑形成(包括穩定斑或不穩定/脆弱斑)、動脈粥樣硬化、動脈硬化、小動脈硬化及全身脂多醣(LPS)暴露升高之所有心血管病狀及疾病。明確包括在此群組中者為可藉由抑制動脈粥樣硬化斑形成來控制其發生、發展或進展之與動脈粥樣硬化斑形成相關之所有心血管病狀及疾病。該術語明確包括受益於抑制動脈粥樣硬化斑形成之疾病及病理學病狀。心血管病狀包括但不限於冠狀動脈粥樣硬化、冠狀動脈微血管疾病、中風、頸動脈疾病、外周動脈疾病、局部缺血、冠狀動脈疾病(CAD)、冠心病(CHD)、與 CAD 及 CHD 相關之病狀、腦血管疾病及與腦血管疾病相關之病狀、外周血管疾病及與外周血管疾病相關之病狀、動脈瘤、血管炎、靜脈血栓形成、糖尿病、代謝症候群慢性腎病、局部缺血及再灌注後遠端組織損傷，以及心肺分流。如本文中所使用之「與腦血管疾病相關之病狀」包括例如短暫性局部缺血性發作(TIA)及中風。如本文中所

使用之「與外周血管疾病相關之病狀」包括例如跛行。明確包括在此群組中者為可藉由抑制動脈粥樣硬化斑形成來控制其發生、發展或進展之相關之所有心血管疾病及病狀。

【0238】 動脈粥樣硬化斑形成可由於對代謝性內毒血症之先天免疫反應而發生，其特徵在於來源於腸道微生物群之全身性脂多醣(LPS)水準升高及腸道黏膜屏障之功能完整性喪失。對內毒血症之先天免疫反應引起低級慢性炎症，從而導致斑形成。

【0239】 術語「代謝症候群」在本文中以最廣泛意義使用。代謝症候群包括成年個體中共同出現若干代謝風險因素，包括以下五種特質中之至少三種：腹部肥胖(可能為例如男性腰圍大於或等於 90 cm 及女性腰圍大於或等於 80 cm)；血清甘油三酯升高(可能為例如大於或等於 150 mg/dL)，或針對甘油三酯升高之藥物治療；血清 HDL 膽固醇水準降低(可能為例如男性低於 40 mg/dL 及女性低於 50 mg/dL)，或針對低 HDL 膽固醇之藥物治療；高血壓(可能為例如收縮壓大於 130 mmHg 及舒張壓大於 85 mmHg)，或針對高血壓之藥物治療；及空腹血漿葡萄糖升高(可能為例如大於或等於 100 mg/dL)、針對葡萄糖升高之藥物治療，或先前診斷之 2 型糖尿病。

【0240】 對於超過 16 歲之兒童，可使用以上成人準則。對於 10-16 歲之間的兒童，代謝症候群包括個體中共同存在若干代謝風險因素，包括以下五種特質中之至少三種：腹部肥胖(可能為例如腰圍大於第 90 百分位數)；血清甘油三酯升高(可能為例如大於或等於 110 mg/dL，大於第 95 百分位數)，或針對甘油三酯升高之藥物治療；血清 HDL 膽固醇水準降低(可能為例如低於 40 mg/dL，低於第 5 百分位數)，或針對低 HDL 膽固醇之藥物治療；高血壓(可能為例如收縮壓

大於 130 mmHg 及舒張壓大於 85 mmHg，大於第 90 百分位數)，或針對高血壓之藥物治療；及空腹血漿葡萄糖升高(可能為例如大於或等於 100 mg/dL)、葡萄糖耐受性受損、針對葡萄糖升高之藥物治療或先前診斷之 2 型糖尿病。

【0241】 一般而言，代謝症候群中共同存在之風險因素包括肥胖(諸如腹部肥胖)、高糖血症、異常血脂症、胰島素抗性及/或高血壓。所有此等風險因素均促進動脈粥樣硬化性心血管疾病、糖尿病或二者之發展。代謝症候群亦可以慢性脂肪組織炎症為特徵。

【0242】 代謝症候群可認為促炎症性促凝血酶狀態，並且可能與 C 反應蛋白、IL-6、LPS 及纖維蛋白溶酶原活化因子抑制劑 1 中之一或多者的水準升高有關；該等標記物可能與動脈粥樣硬化性心血管疾病、糖尿病或二者之後續發展風險增加有關。

【0243】 代謝症候群可能與若干肥胖相關病症，包括伴隨脂肪變性、纖維化及肝硬化之脂肪肝疾病、肝細胞及肝內膽管型肝癌、慢性腎病、多囊卵巢症候群、睡眠呼吸障礙(包括阻塞性睡眠呼吸暫停)，以及高尿酸血症及痛風中的一或多種有關。

【0244】 術語「胰島素相關病症」涵蓋以葡萄糖耐受性受損為特徵之疾病或病狀。在一個實施例中，胰島素相關病症為糖尿病，包括但不限於 I 型糖尿病(胰島素依賴性糖尿病或 IDDM)、II 型糖尿病(非胰島素依賴性糖尿病或 NIDDM)、妊娠期糖尿病及將受益於刺激胰島素分泌之藥劑的任何其他病症。在另一實施例中，胰島素相關病症之特徵在於胰島素抗性。

【0245】 術語「敗血症」以其最廣泛意義使用，並且可涵蓋由嚴重感染引起之全身性炎症性狀態。敗血症可由免疫系統對嚴重感染，最普遍為細菌以及血

液、泌尿道、肺、皮膚或其他組織中之真菌、病毒及寄生物之反應引起。

【0246】 術語「急性內毒血症」以其最廣泛意義使用，並且可涵蓋血漿細菌脂多醣(LPS)增加之病狀。急性內毒素血症又可能引起敗血症。全身循環中 LPS 增加將誘導低級慢性炎症，從而活化內源性保護性宿主反應以升高血漿脂質，在慢性病狀中，促成飲食誘導性肥胖、胰島素抗性及動脈粥樣硬化，以及最終 CVD 事件。

【0247】 術語「移植物對抗宿主疾病(GVHD)」係指同種異體幹細胞移植之併發症。在 GVHD 中，供體造血幹細胞將移植受體識別為外來物並且攻擊患者之組織及器官，由此可能損傷組織或器官之功能或導致其衰竭。如本文中所使用，GVHD 包括例如急性 GVHD 或慢性 GVHD。此外，非限制性實例包括腸 GVHD。

【0248】 如本文中所使用，「治療」(及其語法變化形式)係指試圖改變所治療個體之天然過程的臨床干預，且可出於預防目的或在臨床病理學過程中進行。治療之理想效應包括但不限於預防疾病發生或復發、減輕症狀、減輕疾病之任何直接或間接病理學後果、預防轉移、降低疾病進展速率、改善或減輕疾病狀態及緩解或改良預後。

【0249】 舉例而言，就 IBD 而言，「治療」可能係指降低發展 IBD 之可能性、降低發展 IBD 之速率及降低疾病之嚴重程度。作為另一實例，就動脈粥樣硬化斑形成而言，「治療」可能係指降低發展動脈粥樣硬化斑沈積之可能性、降低沈積物發展速率、減少現有沈積物之數目或大小，或者改良斑穩定性。需要治療者包括已患有病症之患者以及欲預防病症者。理想治療效果包括但不限於預防疾病發生或復發、減輕症狀、減輕疾病之任何直接或間接病理學後果、預防疾病、降低疾病進展速率、改善或減輕疾病狀態及緩解或改良預後。在一些實

施例中，使用本發明之 IL-22 Fc 融合蛋白來延遲疾病發展或減緩疾病進展。

【0250】 在某些實施例中，在預防或治療心血管病症之情況下，「有需要之個體」係指經診斷患有心血管疾病或心血管病狀(CVD)或代謝症候群或者展現一或多種與 CVD 或代謝症候群相關之病狀的個體、過去已診斷患有或展現一或多種與 CVD 或代謝症候群相關之病狀的個體，或者由於遺傳或環境因素而被認為有未來發展 CVD 或代謝症候群或者一或多種與 CVD 或代謝症候群相關之病狀的風險的個體。因此，在某些實施例中，有需要之個體可為展現 CVD 或代謝症候群或與 CVD 或代謝症候群相關之病狀的個體，或者過去已展現 CVD 或代謝症候群或與 CVD 或代謝症候群相關之病狀的個體，或已認為有未來發展 CVD 或代謝症候群或與 CVD 或代謝症候群相關之病狀的風險。

【0251】 在治療心血管疾病或病狀時，治療劑可直接改變免疫反應組分之反應幅度，或使該疾病更易藉由其他治療劑(例如抗生素、抗真菌劑、消炎劑、化學治療劑等)治療。在治療動脈疾病中，治療可能例如預防或減緩疾病進展。因而，動脈疾病之治療尤其包括預防、抑制或減緩病狀發展、或自該病狀之一個階段進展至另一更晚期階段或進展至更嚴重相關病狀。

【0252】 疾病或病狀之「病理學」包括損害個體健康之所有現象。在心血管疾病或病狀之情況下，此包括但不限於動脈粥樣硬化斑形成(包括穩定斑或不穩定/脆弱斑)、動脈粥樣硬化、動脈硬化、小動脈硬化及全身性脂多醣(LPS)暴露升高。

【0253】 「減輕」或其等效語係指治療性治療及預防性措施，其中目標為改善、預防、減緩(減輕)、減少或抑制疾病或病狀，例如動脈粥樣硬化斑形成。需要治療者包括已患有疾病或病狀者以及傾向於患有疾病或病狀者或欲預防疾病

或病狀者。

【0254】 「慢性」投與係指以與急性模式相反之連續模式投與藥劑，以便在延長時間段內保持初始治療效果。

【0255】 「間歇性」投與為並非在無中斷之情況下連續進行，而是循環進行之治療。

【0256】 術語「包裝插頁」用於指照例包括在治療產品之商業包裝中之說明書，其含有關於使用該等治療產品之適應症、用法、劑量、投與、組合療法、禁忌及/或警告之資訊。

【0257】 相對於參考多肽序列之「胺基酸序列一致性百分比(%)」定義為在將序列對準且在必要時引入間隙以達成最大序列一致性百分比，並且不將任何保守取代視為序列一致性之一部分之後，候選序列中與參考多肽序列中之胺基酸殘基一致之胺基酸殘基的百分比。出於確定胺基酸序列一致性百分比之目的而進行之比對可用熟習此項技術者能力範圍內之多種方式，例如使用公開可利用之電腦軟體，諸如 BLAST、BLAST-2、ALIGN 或 Megalign (DNASTAR)軟體來達成。熟習此項技術者可確定適用於比對序列之參數，包括在所比較之序列之全長上達成最大對準所需之任何算法。然而，出於本文中之目的，使用序列比較電腦程式 ALIGN-2 來產生胺基酸序列一致性%值。該 ALIGN-2 序列比較電腦程式由 Genentech, Inc.編著，且原始碼已與用戶文件一起提交至美國著作權局(Washington D.C.，20559)，登記在美國著作權登記號 TXU510087 下。ALIGN-2 程式公開可得自 Genentech, Inc. (South San Francisco，California)，或可由原始碼編譯。應對 ALIGN-2 程式進行編譯以用於 UNIX 操作系統，包括數位 UNIX V4.0D。所有序列比較參數均由 ALIGN-2 程式設定且不做變化。

【0258】 在採用 ALIGN-2 進行胺基酸序列比較之情形下，如下計算指定胺基酸序列 A 針對、與或相對於指定胺基酸序列 B 之胺基酸序列一致性% (其可替代地表述為指定胺基酸序列 A 針對、與或相對於指定胺基酸序列 B 具有或包含某一胺基酸序列一致性%)：

100×分數 X/Y

其中 X 為由序列比對程式 ALIGN-2 在該程式之 A 與 B 比對中評分為一致匹配之胺基酸殘基數，且其中 Y 為 B 中之胺基酸殘基總數。應瞭解，若胺基酸序列 A 之長度與胺基酸序列 B 之長度不相等，則 A 相對於 B 之胺基酸序列一致性%將不等於 B 相對於 A 之胺基酸序列一致性%。除非另外明確陳述，否則本文中所使用之所有胺基酸序列一致性%值均如前一段中所描述，使用 ALIGN-2 電腦程式獲得。

【0259】 以下為如何計算指定為「比較蛋白質」或「參考蛋白質」之胺基酸序列與指定為「IL-22」之胺基酸序列的胺基酸序列一致性%的實例，其中「IL-22」表示相關 IL-22 多肽之胺基酸序列，「比較蛋白質」表示與相關「IL-22」多肽相比較之多肽的胺基酸序列，且「X」、「Y」及「Z」 各自表示不同的胺基酸殘基。

IL-22　　XXXXXXXXXXXXXXX　　(長度 = 15 胺基酸)

參考蛋白質　　XXXXXYYYYYYY　　(長度 = 12 胺基酸)

胺基酸序列一致性% =

(兩個多肽序列之間的一致匹配胺基酸殘基數)

除以(IL-22 多肽之胺基酸殘基總數) =

5 除以 15 = 33.3%

IL-22　　XXXXXXXXXX　　(長度 = 10 胺基酸)

參考蛋白質　　XXXXXYYYYYYZZYZ　　(長度 = 15 胺基酸)

胺基酸序列一致性% =

(兩個多肽序列之間的一致匹配胺基酸殘基數)

除以(IL-22 多肽之胺基酸殘基總數) =

5 除以 10 = 50%

【0260】　術語「促效劑」以最廣泛意義使用，並且包括部分或完全模擬 IL-22 多肽之生物活性的任何分子。「促效劑」亦涵蓋刺激編碼多肽之 mRNA 之轉錄或轉譯的分子。

【0261】　適合之促效劑分子包括例如促效抗體或抗體片段；天然多肽；天然多肽之片段或胺基酸序列變異體；肽；反義寡核苷酸；小有機分子；及編碼多肽促效劑或抗體之核酸。提及「一種」促效劑涵蓋單一促效劑或者兩種或更多種不同促效劑之組合。

【0262】　術語「IL-22 促效劑」以最廣泛意義使用，並且包括模擬天然序列 IL-22 多肽之定性生物活性(如上文定義)的任何分子。IL-22 促效劑尤其包括 IL-22-Fc 或 IL-22 Ig 多肽(免疫黏附素)，但亦包括模擬至少一種 IL-22 生物活性之小分子。較佳地，生物活性為結合 IL-22 受體、與 IL-22BP 相互作用、促進先天免疫反應途徑，或者在心血管疾病或病狀之情況下影響動脈粥樣硬化斑形成，尤其抑制動脈粥樣硬化斑形成之形成。可藉由一般熟習此項技術者已知的任何適合成像方法來評定對斑形成之抑制。

【0263】　IL-22R1 與其他蛋白質配對形成異二聚體作為某些 IL-10 家族成員之

受體。參見 Ouyang 等人, 2011, *同上*。因而，在某些實施例中，IL-22 促效劑可包括 IL-22 受體促效劑，包括結合並觸發 IL-22R1 之下游信號傳導的細胞介素(或其融合蛋白質或促效劑)。在某些實施例中，IL-22 促效劑包括 IL-22R1 促效劑，包括但不限於抗 IL-22R1 促效抗體；IL-20 促效劑，包括但不限於 IL-20 多肽或 IL-20 Fc 融合蛋白；及 IL-24 促效劑，包括但不限於 IL-24 多肽或 IL-24 融合蛋白。在某些其他實施例中，IL-22R1 促效劑包括 IL-19 促效劑，包括但不限於 IL-19 多肽或 IL-19 Fc 融合蛋白；及 IL-26 促效劑，包括但不限於 IL-26 多肽或 IL-26 Fc 融合蛋白。本文中提供 IL-19 (GenBank 登錄號 AAG16755.1，SEQ ID NO:77)、IL-20 (GenBank 登錄號 AAH69311.1，SEQ ID NO:78)、IL-24 (GenBank 登錄號 AAH09681.1，SEQ ID NO:79)及 IL-26 (GenBank 登錄號 NP_060872.1，SEQ ID NO:80)之例示性序列。在某些實施例中，IL-19 多肽包含 SEQ ID NO:77 之胺基酸序列或不含信號肽之成熟蛋白質。在某些其他實施例中，IL-20 多肽包含 SEQ ID NO:78 之胺基酸序列或不含信號肽之成熟蛋白質。在其他實施例中，IL-24 多肽包含 SEQ ID NO:79 之胺基酸序列或不含信號肽之成熟蛋白質。在某些其他實施例中，IL-26 多肽包含 SEQ ID NO:80 之胺基酸序列或不含信號肽之成熟蛋白質。

【0264】 「小分子」在本文中定義為具有低於約 600、較佳低於約 1000 道爾頓之分子量。

【0265】 如本文中所使用，「促效抗體」為部分或完全模擬 IL-22 多肽之生物活性的抗體。

【0266】 術語「醫藥調配物」或「醫藥組合物」係指呈允許其中所含有之活性成分之生物活性有效且不含對將投與該調配物之個體具有不可接受之毒性的

額外組分的形式的製劑。

【0267】 「醫藥學上可接受之載劑」係指醫藥調配物中除活性成分以外對受試者無毒之成分。醫藥學上可接受之載劑包括但不限於緩衝劑、賦形劑、稀釋劑、穩定劑或防腐劑。

【0268】 術語「可變區」或「可變域」係指參與抗體與抗原結合之抗體重鏈或輕鏈結構域。天然抗體之重鏈可變域及輕鏈可變域(分別為 VH 及 VL)一般具有類似結構，各結構域包含四個保守構架區(FR)及三個高變區(HVR)。(參見例如 Kindt 等人, *Kuby Immunology*, 第 6 版, W.H. Freeman and Co., 第 91 頁(2007)。)單一 VH 或 VL 結構域可能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 或 VL 結構域來分離，從而分別篩檢互補 VL 或 VH 結構域庫。參見例如 Portolano 等人, *J. Immunol.* 150:880-887 (1993)；Clarkson 等人, *Nature* 352:624-628 (1991)。

【0269】 如本文中所使用之術語「載體」係指能夠使其所連接之另一核酸增殖的核酸分子。該術語包括呈自複製核酸結構形式之載體以及併入已引入其之宿主細胞之基因組中的載體。某些載體能夠指導與其可操作地連接之核酸的表現。該等載體在本文中稱為「表現載體」。

【0270】 在本申請案內，除非另外陳述，否則所利用之技術可見於若干眾所周知的參考文獻中，諸如：*Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Sambrook 等人, 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press)；*PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (Innis 等人, 1990. Academic Press, San Diego, CA)；以及 Harlow 及 Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* 第 14 章(Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)。

【0271】 適當時，除非另外指出，否則涉及使用市售套組及試劑之程序一般根據製造商定義之方案及/或參數來進行。因此，在描述本發明方法及用途之前，應理解本發明不限於所描述之特定方法、方案、細胞株、動物種或屬、構築體及試劑，因為該等固然可能變化。亦應理解，本文中所使用之術語僅出於描述特定實施例之目的，而不意欲限制本發明之範疇，本發明之範疇將僅受所附申請專利範圍限制。

II. 組合物及方法

【0272】 本發明提供 IL-22 Fc 融合蛋白、其組合物(例如醫藥組合物)及其用途，例如用於治療 IL-22 相關疾病，諸如 IBD (例如潰瘍性結腸炎(UC)及克羅恩氏病)、心血管病狀、代謝症候群、GVHD，及用於加速創傷癒合(例如糖尿病性創傷癒合)。本文中亦提供 IL-22 Fc 融合蛋白之製造方法及純化方法。本發明至少部分基於以下發現：IL-22 Fc 融合蛋白之 IL-22 多肽部分經唾液酸化，且唾液酸化含量與本文中所提供之 IL-22 Fc 融合蛋白之效能及藥物動力學性質相關。此發現部分地與鑑定受製造方法影響且影響分子活性及 PK/PD 性質之某些分子性質有關。舉例而言，目前發現如本文中所描述之具有總體低糖基化之含 IL-22 Fc 之組合物(包括但不限於例如平均唾液酸含量低於約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之 IL-22 Fc 融合蛋白及其組合物)具有不理想之快速活體內清除率，且進一步言之，彼等組合物(包括但不限於例如具有超過約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之 IL-22 Fc 融合蛋白及其組合物)之高糖基化對 IL-22 受體具有不理想之結合性質。因而，在某些態樣中，所鑑定之問題之解決方案為鑑定如本文中所描述之具有適合之清除率以及適合之結合活性的 IL-22 Fc 融合蛋白及其組合物的平均唾液酸含量之範圍。更特定言之，目前發現所要範圍為低於完

全唾液酸化之範圍，否則出於例如製造容易性之目的，熟習此項技術者通常將選擇完全唾液酸化。在一特定實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白及其組合物之尤佳平均唾液酸含量範圍為 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

A. IL-22 Fc 融合蛋白及組合物

【0273】 本發明提供 IL-22 Fc 融合蛋白及其組合物。一般而言，該 IL-22 Fc 融合蛋白包括藉由連接子連接至 Fc 區之 IL-22 多肽。在一些實施例中，該 IL-22 多肽經 N-糖基化(例如 N-糖基化)。在特定實施例中，該 IL-22 多肽經唾液酸化。在一些實施例中，該 Fc 區未糖基化，且因而，亦未唾液酸化。

【0274】 在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量高於約 3 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量高於約 4 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量高於約 5 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量高於約 6 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量高於約 7 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量高於約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量高於約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量高於約 10 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量高於約 11 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量高於約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量高於約 13 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量高於約 14 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量高於約 15 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些

實施例中，該唾液酸含量高於約 16 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量高於約 17 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量高於約 18 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量高於約 19 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量高於約 20 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0275】 在一些實施例中，該唾液酸含量低於約 20 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量低於約 19 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量低於約 18 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量低於約 17 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量低於約 16 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量低於約 15 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量低於約 14 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量低於約 13 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量低於約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量低於約 11 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量低於約 10 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量低於約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量低於約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量低於約 7 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量低於約 6 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該唾液酸含量低於約 5 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0276】 舉例而言，在一個態樣中，本發明提供包括藉由連接子連接至 Fc 區之 IL-22 多肽的 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 多肽經糖基化，且其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 4 至約 20 莫耳(例如約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、約 10、約 11、約 12、約 13、約 14 或約 15 莫耳、約 16 莫耳、約 17 莫耳、約 18 莫耳、約 19 莫耳或約 20 莫耳)唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0277】 在另一態樣中，本發明提供包含藉由連接子連接至 Fc 區之 IL-22 多肽的 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 多肽經糖基化，且其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之效能相對於唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之參考 IL-22 Fc 融合蛋白為例如約 20%至約 180% (例如約 20%、約 30%、約 40%、約 50%、約 60%、約 70%、約 80%、約 90%、約 100%、約 110%、約 120%、約 130%、約 140%、約 150%、約 160%、約 170%或約 180%)。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之效能相對於唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之參考 IL-22 Fc 融合蛋白為例如約 40%至約 130%。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之效能相對於唾液酸含量為約 8 莫耳至約 12 莫耳(例如約 8、約 9、約 10、約 11 或約 12 莫耳)唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之參考 IL-22 Fc 融合蛋白為例如約 80%至約 120%。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之效能相對於唾液酸含量為約 8 莫耳至約 12 莫耳(例如約 8、約 9、約 10、約 11 或約 12 莫耳)唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之參考 IL-22 Fc 融合蛋白為例如約 60%至約 110%。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之效能相對於唾液酸含量為約 8 莫耳至約 12 莫耳(例如約 8、約 9、約 10、約 11 或約 12 莫耳)唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之參考 IL-22 Fc 融合蛋白為例如約 80%至約 10%。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之效能相對於唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳

IL-22 Fc 融合蛋白之參考 IL-22 Fc 融合蛋白為例如約 40%至約 130%。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之效能相對於唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之參考 IL-22 Fc 融合蛋白為例如約 60%至約 110%。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之效能相對於唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之參考 IL-22 Fc 融合蛋白為例如約 80%至約 10%。在一些實施例中，如本文中(例如實例 2 中)所描述，在受體結合分析或基於細胞之結合分析中評定效能。在一些實施例中，該參考 IL-22 Fc 融合蛋白具有表 12 及/或表 13 中所示之 N-聚醣分佈。

【0278】 舉例而言，在前述態樣中任一者之一些實施例中，該唾液酸含量為約 5 至約 16 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 5 至約 15 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 5 至約 14 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 5 至約 13 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 5 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 5 至約 11 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 5 至約 10 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 5 至約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 5 至約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 5 至約 7 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 5 至約 6 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 6 至約 16 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 6 至約 15 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 6 至約 14 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 6 至約 13 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 6 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 6 至約 11 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 6 至約 10 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 6 至約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 6 至約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 6 至約 7 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、

約 7 至約 16 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 7 至約 15 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 7 至約 14 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 7 至約 13 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 7 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 7 至約 11 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 7 至約 10 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 7 至約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 7 至約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 8 至約 16 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 8 至約 15 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 8 至約 14 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 8 至約 13 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 8 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 8 至約 11 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 8 至約 10 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 9 至約 16 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 9 至約 15 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 9 至約 14 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 9 至約 13 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 9 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 9 至約 11 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 9 至約 10 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 10 至約 16 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 10 至約 15 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 10 至約 14 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 10 至約 13 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 10 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 10 至約 11 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 11 至約 16 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 11 至約 15 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 11 至約 14 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 11 至約 13 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 11 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 12 至約 16 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融

合蛋白、約 12 至約 15 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 12 至約 14 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 12 至約 13 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 13 至約 16 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 13 至約 15 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 13 至約 14 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 14 至約 16 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白、約 14 至約 15 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白或約 15 至約 16 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0279】 在一些實施例中，該唾液酸含量為約 8 至約 12 莫耳(例如約 8、約 9、約 10、約 11 或約 12 莫耳)/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。舉例而言，在特定實施例中，該唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在其他特定實施例中，該唾液酸含量為約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0280】 該唾液酸可為此項技術中已知的任何適合之唾液酸或其任何適合之組合。舉例而言，在一些實施例中，該唾液酸為 N-乙醯神經胺糖酸(NANA)、Kdn、NGNA、Neu、Neu2en5Ac 或其組合。在一些實施例中，主要唾液酸為 NANA。在一些實施例中，實質上所有唾液酸均為 NANA。

【0281】 前述 IL-22 Fc 融合蛋白中任一者之最大觀測濃度($C_{最大}$)均可為約 6,000 ng/mL 至約 25,000 ng，例如約 6,000 ng/mL、約 7,000 ng/mL、約 8,000 ng/mL、約 9,000 ng/mL、約 10,000 ng/mL、約 11,000 ng/mL、約 12,000 ng/mL、約 13,000 ng/mL、約 14,000 ng/mL、約 15,000 ng/mL、約 16,000 ng/mL、約 17,000 ng/mL、約 18,000 ng/mL、約 19,000 ng/mL、約 20,000 ng/mL、約 21,000 ng/mL、約 22,000 ng/mL、約 23,000 ng/mL、約 24,000 ng/mL 或約 25,000 ng/mL。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之 $C_{最大}$ 為約 9,000 ng/mL 至約 18,000 ng，例如約 9,000 ng/mL、約 10,000 ng/mL、約 11,000 ng/mL、約 12,000 ng/mL、約 13,000 ng/mL、約 14,000

ng/mL、約 15,000 ng/mL、約 16,000 ng/mL、約 17,000 ng/mL 或約 18,000 ng/mL。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之 $C_{最大}$為約 8,000 ng/mL 至約 19,000 ng。在一些實施例中，$C_{最大}$係在向 CD1 小鼠經靜脈內投與約 1,000 μg/kg IL-22 Fc 融合蛋白後評定，或為等效人類 $C_{最大}$值。

【0282】 前述 IL-22 Fc 融合蛋白中任一者自時間 0 至最後一個可量測時間點之血清濃度-時間曲線下面積($AUC_{最後}$)均可為約 2,000 天·ng/mL 至約 42,000 天·ng/mL，例如約 2,000 天·ng/mL、約 4,000 天·ng/mL、約 6,000 天·ng/mL、約 7,000 天·ng/mL、約 7,500 天·ng/mL、約 8,000 天·ng/mL、約 8,500 天·ng/mL、約 9,000 天·ng/mL、約 9,500 天·ng/mL、約 10,000 天·ng/mL、約 12,000 天·ng/mL、約 16,000 天·ng/mL 約 20,000 天·ng/mL 約 24,000 天·ng/mL 約 30,000 天·ng/mL、約 36,000 天·ng/mL 或約 42,000 天·ng/mL。舉例而言，在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之 $AUC_{最後}$為約 7,000 天·ng/mL 至約 25,000 天·ng/mL。在一些實施例中，該 $AUC_{最後}$係在向 CD1 小鼠經靜脈內投與約 1,000 μg/kg IL-22 Fc 融合蛋白後評定，或為等效人類 $AUC_{最後}$值。

【0283】 前述 IL-22 Fc 融合蛋白中任一者之清除率(CL)均可為約 25 mL/kg/天至約 400 mL/kg/天，例如約 25 mL/kg/天、約 50 mL/kg/天、約 75 mL/kg/天、約 100 mL/kg/天 約 125 mL/kg/天 約 150 mL/kg/天 約 175 mL/kg/天 約 200 mL/kg/天、約 225 mL/kg/天、約 250 mL/kg/天、約 275 mL/kg/天、約 300 mL/kg/天、約 325 mL/kg/天、約 350 mL/kg/天、約 375 mL/kg/天或約 400 mL/kg/天。在一些實施例中，該 CL 為約 40 mL/kg/天至約 140 mL/kg/天。在一些實施例中，該 CL 係在向 CD1 小鼠經靜脈內投與約 1,000 μg/kg IL-22 Fc 融合蛋白後評定，或為等效人類 CL 值。

【0284】 在一些實施例中，該 NGNA 含量低於約 5 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 NGNA 含量低於約 4 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 NGNA 含量低於約 3 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 NGNA 含量低於約 2 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 NGNA 含量低於約 1 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 NGNA 含量低於約 0.5 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 NGNA 含量低於約 0.2 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 NGNA 含量低於約 0.1 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 NGNA 含量低於約 0.08 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 NGNA 含量低於約 0.05 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 NGNA 含量低於約 0.01 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 NGNA 含量低於約 0.001 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 NGNA 含量在約 0.001 莫耳至約 5 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22-Fc 融合蛋白之間、在約 0.001 莫耳至約 1 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22-Fc 融合蛋白之間、在約 0.01 莫耳至約 1 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22-Fc 融合蛋白之間、在約 0.1 莫耳至約 1 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22-Fc 融合蛋白之間、或在約 0.5 莫耳至約 1 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22-Fc 融合蛋白之間。

【0285】 在前述態樣中之任一者中，該 IL-22 多肽可能經 N-糖基化。前述 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者均可包括具有單觸角、雙觸角、三觸角及/或四觸角結構之 N-聚醣。

【0286】 舉例而言，在一些實施例中，約 0.01%至約 5% (例如約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、

約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%或約 40%)之該等 N-聚醣具有單觸角結構。在一些實施例中，約 0.1%至約 2%之該等 N-聚醣具有單觸角結構。在一些實施例中，約 0.5%至約 1.5%之該等 N-聚醣具有單觸角結構。在一些實施例中，約 0.6%至約 1.5%之該等 N-聚醣具有單觸角結構。在一些實施例中，約 0.3%至約 1.7%之該等 N-聚醣具有單觸角結構。在一些實施例中，約 1%之該等 N-聚醣具有單觸角結構。

【0287】 舉例而言，在一些實施例中，約 5%至約 40% (例如約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%或約 40%)之該等 N-聚醣具有雙觸角結構。在一些實施例中，約 10%至約 25%之該等 N-聚醣具有雙觸角結構。在一些實施例中，約 10%至約 20%之該等 N-聚醣具有雙觸角結構。在一些實施例中，約 13.1%至約 20.4%之該等 N-聚醣具有雙觸角結構。在一些實施例中，約 10.6%至約 22.8%之該等 N-聚醣具有雙觸角結構。在一些實施例中，約 17%之該等 N-聚醣具有雙觸角結構。

【0288】 在一些實施例中，約 10%至約 50% (例如約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%、

約 40%、約 41%、約 42%、約 43%、約 44%、約 45%、約 46%、約 47%、約 48%、約 49%或約 50%)之該等 N-聚醣具有三觸角結構。在一些實施例中，約 20%至約 40%之該等 N-聚醣具有三觸角結構。在一些實施例中，約 25%至約 35%之該等 N-聚醣具有三觸角結構。在一些實施例中，約 28.2%至約 33.5%之該等 N-聚醣具有三觸角結構。在一些實施例中，約 26.5%至約 35.3%之該等 N-聚醣具有三觸角結構。在一些實施例中，約 31%之該等 N-聚醣具有三觸角結構。

【0289】 在一些實施例中，約 20%至約 60% (例如約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%、約 40%、約 41%、約 42%、約 43%、約 44%、約 45%、約 46%、約 47%、約 48%、約 49%、約 50%、約 51%、約 52%、約 53%、約 54%或約 55%、約 56%、約 57%、約 58%、約 59%或約 60%)之該等 N-聚醣具有四觸角結構。在一些實施例中，約 30%至約 50%之該等 N-聚醣具有四觸角結構。在一些實施例中，約 35%至約 45%之該等 N-聚醣具有四觸角結構。在一些實施例中，約 35.9%至約 47%之該等 N-聚醣具有四觸角結構。在一些實施例中，約 26.5%至約 35.3%之該等 N-聚醣具有四觸角結構。在一些實施例中，約 42%之該等 N-聚醣具有四觸角結構。

【0290】 前述 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者均可包含含有零、一、二、三或四個半乳糖部分之 N-聚醣。

【0291】 舉例而言，在一些實施例中，約 5%至約 40% (例如約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、

約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%或約 40%)之該等 N-聚醣包含零個半乳糖部分。在一些實施例中，約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包含零個半乳糖部分。在一些實施例中，約 15%至約 25%之該等 N-聚醣包含零個半乳糖部分。在一些實施例中，約 13.7%至約 27.5%之該等 N-聚醣包含零個半乳糖部分。在一些實施例中，約 9.1%至約 32.1%之該等 N-聚醣包含零個半乳糖部分。在一些實施例中，約 21%之該等 N-聚醣包含零個半乳糖部分。

【0292】 在另一實例中，在一些實施例中，約 1%至約 35% (例如約 1%、約 2%、約 3%、約 4%、約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%或約 35%)之該等 N-聚醣包含一個半乳糖部分。在一些實施例中，約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包含一個半乳糖部分。在一些實施例中，約 10%至約 20%之該等 N-聚醣包含一個半乳糖部分。在一些實施例中，約 12%至約 16%之該等 N-聚醣包含一個半乳糖部分。在一些實施例中，約 12.3%至約 15.6%之該等 N-聚醣包含一個半乳糖部分。在一些實施例中，約 11.2%至約 16.7%之該等 N-聚醣包含一個半乳糖部分。在一些實施例中，約 14%之該等 N-聚醣包含一個半乳糖部分。

【0293】 在另一實例中，在一些實施例中，約 1%至約 35% (例如約 1%、約 2%、約 3%、約 4%、約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%或約 35%)之該等 N-聚醣包含兩個

半乳糖部分。在一些實施例中，約 5%至約 25%之該等 N-聚醣包含兩個半乳糖部分。在一些實施例中，約 8%至約 25%之該等 N-聚醣包含兩個半乳糖部分。在一些實施例中，約 10%至約 16%之該等 N-聚醣包含兩個半乳糖部分。在一些實施例中，約 10%至約 20%之該等 N-聚醣包含兩個半乳糖部分。在一些實施例中，約 10.9%至約 15.7%之該等 N-聚醣包含兩個半乳糖部分。在一些實施例中，約 9.3%至約 17.4%之該等 N-聚醣包含兩個半乳糖部分。在一些實施例中，約 13%之該等 N-聚醣包含兩個半乳糖部分。

【0294】 在另一實例中，在一些實施例中，約 5%至約 40% (例如約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%或約 40%)之該等 N-聚醣包含三個半乳糖部分。在一些實施例中，約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包含三個半乳糖部分。在一些實施例中，約 12%至約 25%之該等 N-聚醣包含三個半乳糖部分。在一些實施例中，約 16.4%至約 20.6%之該等 N-聚醣包含三個半乳糖部分。在一些實施例中，約 15%至約 22%之該等 N-聚醣包含三個半乳糖部分。在一些實施例中，約 19%之該等 N-聚醣包含三個半乳糖部分。

【0295】 在另一實例中，在一些實施例中，約 5%至約 45% (例如約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%、約 40%、約 41%、

約 42%、約 43%、約 44%或約 45%)之該等 N-聚醣包含四個半乳糖部分。在一些實施例中，約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包含四個半乳糖部分。在一些實施例中，約 15%至約 25%之該等 N-聚醣包含四個半乳糖部分。在一些實施例中，約 20.8%至約 26.4%之該等 N-聚醣包含四個半乳糖部分。在一些實施例中，約 18.9%至約 28.3%之該等 N-聚醣包含四個半乳糖部分。在一些實施例中，約 24%之該等 N-聚醣包含四個半乳糖部分。

【0296】 前述 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者均可包含含有零、一、二、三或四個唾液酸部分之 N-聚醣。

【0297】 舉例而言，在一些實施例中，約 10%至約 50% (例如約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%、約 40%、約 41%、約 42%、約 43%、約 44%、約 45%、約 46%、約 47%、約 48% 約 49%或約 50%)之該等 N-聚醣包含零個唾液酸部分。在一些實施例中，約 15%至約 35%之該等 N-聚醣包含零個唾液酸部分。在一些實施例中，約 20%至約 30%之該等 N-聚醣包含零個唾液酸部分。在一些實施例中，約 17.3%至約 30%之該等 N-聚醣包含零個唾液酸部分。在一些實施例中，約 13.1%至約 34.3%之該等 N-聚醣包含零個唾液酸部分。在一些實施例中，約 24%之該等 N-聚醣包含零個唾液酸部分。

【0298】 在另一實例中，在一些實施例中，約 5%至約 45% (例如約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、

約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%、約 40%、約 41%、約 42%、約 43%、約 44%或約 45%)之該等 N-聚醣包含一個唾液酸部分。在一些實施例中，約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包含一個唾液酸部分。在一些實施例中，約 15%至約 25%之該等 N-聚醣包含一個唾液酸部分。在一些實施例中，約 17.6%至約 22.3%之該等 N-聚醣包含一個唾液酸部分。在一些實施例中，約 16%至約 23.9%之該等 N-聚醣包含一個唾液酸部分。在一些實施例中，約 20%之該等 N-聚醣包含一個唾液酸部分。

【0299】 在另一實例中，在一些實施例中，約 5%至約 45% (例如約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%、約 40%、約 41%、約 42%、約 43%、約 44%或約 45%)之該等 N-聚醣包含兩個唾液酸部分。在一些實施例中，約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包含兩個唾液酸部分。在一些實施例中，約 15%至約 25%之該等 N-聚醣包含兩個唾液酸部分。在一些實施例中，約 17.5%至約 23.7%之該等 N-聚醣包含兩個唾液酸部分。在一些實施例中，約 15.5%至約 25.8%之該等 N-聚醣包含兩個唾液酸部分。在一些實施例中，約 21%之該等 N-聚醣包含兩個唾液酸部分。

【0300】 在另一實例中，在一些實施例中，約 5%至約 40% (例如約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、

約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%或約 40%)之該等 N-聚醣包含三個唾液酸部分。在一些實施例中，約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包含三個唾液酸部分。在一些實施例中，約 12%至約 24%之該等 N-聚醣包含三個唾液酸部分。在一些實施例中，約 14.2%至約 19.1%之該等 N-聚醣包含三個唾液酸部分。在一些實施例中，約 12.5%至約 20.7%之該等 N-聚醣包含三個唾液酸部分。在一些實施例中，約 17%之該等 N-聚醣包含三個唾液酸部分。

【0301】 舉例而言，在一些實施例中，約 1%至約 30% (例如約 1%、約 2%、約 3%、約 4%、約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%或約 30%)之該等 N-聚醣包含四個唾液酸部分。在一些實施例中，約 1%至約 20%之該等 N-聚醣包含四個唾液酸部分。在一些實施例中，約 5%至約 15%之該等 N-聚醣包含四個唾液酸部分。在一些實施例中，約 6.4%至約 12%之該等 N-聚醣包含四個唾液酸部分。在一些實施例中，約 4.5%至約 13.9%之該等 N-聚醣包含四個唾液酸部分。在一些實施例中，約 9%之該等 N-聚醣包含四個唾液酸部分。

【0302】 在前述 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者中，該 IL-22 多肽可包括約 0%至約 20% (例如約 0%、約 0.1%、約 1%、約 2%、約 3%、約 4%、約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%或約 20%)包括末端甘露糖部分之 N-聚醣。在一些實施例中，約 0.1%至約 5%之該等 N-聚醣包含末端甘露糖部分。在一些實施例中，約 1%至約 4%之該等 N-聚醣包含末端甘露糖部分。在一些實施例中，

約 1.6%至約 2.9%之該等 N-聚醣包含末端甘露糖部分。在一些實施例中，約 1.2%至約 3.3%之該等 N-聚醣包含末端甘露糖部分。舉例而言，在一些實施例中，約 2%之該等 N-聚醣包含末端甘露糖部分。

【0303】 在前述 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者中，該 IL-22 多肽可包括約 10%至約 70% (例如約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%、約 40%、約 41%、約 42%、約 43%、約 44%、約 45%、約 46%、約 47%、約 48%、約 49%、約 50%、約 55%、約 56%、約 57%、約 58%、約 59%、約 60%、約 61%、約 62%、約 63%、約 64%、約 65%、約 66%、約 67%、約 68%、約 69%或約 70%)包括末端 N-乙醯葡萄糖胺(GlcNAc)部分之 N-聚醣。舉例而言，在一些實施例中，約 30%至約 50%之該等 N-聚醣包含末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 35%至約 45%之該等 N-聚醣包含末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 35.1%至約 49.2%之該等 N-聚醣包含末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 30.4%至約 53.8%之該等 N-聚醣包含末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 42%之該等 N-聚醣包含末端 GlcNAc 部分。

【0304】 在前述 IL-22 Fc 融合蛋白中任一者之一些實施例中，約 1%至約 35% (例如約 1%、約 2%、約 3%、約 4%、約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%或約 35%)之該等 N-聚醣包含一個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 1%至約 20%之該等

N-聚醣包含一個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 5%至約 15%之該等 N-聚醣包含一個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 8.4%至約 12.5%之該等 N-聚醣包含一個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 7%至約 13.8%之該等 N-聚醣包含一個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 10%之該等 N-聚醣包含一個末端 GlcNAc 部分。

【0305】 在前述 IL-22 Fc 融合蛋白中任一者之一些實施例中，約 1%至約 35%(例如約 1%、約 2%、約 3%、約 4%、約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%或約 35%)之該等 N-聚醣包含兩個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 1%至約 20%之該等 N-聚醣包含兩個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 5%至約 15%之該等 N-聚醣包含兩個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 8.1%至約 12.5%之該等 N-聚醣包含兩個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 6.7%至約 14%之該等 N-聚醣包含兩個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 10%之該等 N-聚醣包含兩個末端 GlcNAc 部分。

【0306】 在前述 IL-22 Fc 融合蛋白中任一者之一些實施例中，約 1%至約 40%(例如約 1%、約 2%、約 3%、約 4%、約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%或約 40%)之該等 N-聚醣包含三個末端 GlcNAc 部分。

在一些實施例中，約 5%至約 25%之該等 N-聚醣包含三個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 10%至約 20%之該等 N-聚醣包含三個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 10.1%至約 18.6%之該等 N-聚醣包含三個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 7.2%至約 21.5%之該等 N-聚醣包含三個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 14%之該等 N-聚醣包含三個末端 GlcNAc 部分。

【0307】 在前述 IL-22 Fc 融合蛋白中任一者之一些實施例中，約 0.1%至約 25% (例如約 0.1%、約 1%、約 2%、約 3%、約 4%、約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%或約 25%)之該等 N-聚醣包含四個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 1%至約 15%之該等 N-聚醣包含四個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 4%至約 24%之該等 N-聚醣包含四個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 2.3%至約 11.8%之該等 N-聚醣包含四個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 0.1%至約 15%之該等 N-聚醣包含四個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中，約 7%之該等 N-聚醣包含四個末端 GlcNAc 部分。

【0308】 前述 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者均可包括約 10%至約 70% (例如約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%、約 40%、約 41%、約 42%、約 43%、約 44%、約 45%、約 46%、約 47%、約 48%、約 49%、約 50%、約 55%、約 56%、約 57%、約 58%、約 59%、約 60%、約 61%、約 62%、約 63%、約 64%、約 65%、約 66%、約 67%、

約 68%、約 69%或約 70%)包括末端半乳糖部分之 N-聚醣。舉例而言，在一些實施例中，約 20%至約 50%之該等 N-聚醣包括末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 25%至約 35%之該等 N-聚醣包括末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 26.1%至約 38.3%之該等 N-聚醣包括末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 22.1%至約 42.3%之該等 N-聚醣包括末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 32%之該等 N-聚醣包括末端 Gal 部分。

【0309】 前述 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者均可包括一、二或三個末端 Gal 部分。

【0310】 舉例而言，在前述 IL-22 Fc 融合蛋白中任一者之一些實施例中，約 5%至約 50% (例如約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%、約 40%、約 41%、約 42%、約 43%、約 44%、約 45%、約 46%、約 47%、約 48%、約 49%或約 50%)之該等 N-聚醣包含一個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包含一個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 15%至約 25%之該等 N-聚醣包含一個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 19.8%至約 27.1%之該等 N-聚醣包含一個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 17.4%至約 29.5%之該等 N-聚醣包含一個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 23%之該等 N-聚醣包含一個末端 Gal 部分。

【0311】 在前述 IL-22 Fc 融合蛋白中任一者之一些實施例中，約 0%至約 25% (例如約 0%、約 0.1%、約 1%、約 2%、約 3%、約 4%、約 5%、約 6%、約 7%、

約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%或約 25%)之該等 N-聚醣包含兩個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 1%至約 15%之該等 N-聚醣包含兩個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 2%至約 12%之該等 N-聚醣包含兩個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 4.6%至約 9.2%之該等 N-聚醣包含兩個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 3%至約 10.8%之該等 N-聚醣包含兩個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 7%之該等 N-聚醣包含兩個末端 Gal 部分。

【0312】 在前述 IL-22 Fc 融合蛋白中任一者之一些實施例中，約 0%至約 15%(例如約 0%、約 0.1%、約 1%、約 2%、約 3%、約 4%、約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%或約 15%)之該等 N-聚醣包含三個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 0.1%至約 10%之該等 N-聚醣包含三個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 1%至約 5%之該等 N-聚醣包含三個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 1.1%至約 2.6%之該等 N-聚醣包含三個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 0.7%至約 3%之該等 N-聚醣包含三個末端 Gal 部分。在一些實施例中，約 2%之該等 N-聚醣包含三個末端 Gal 部分。

【0313】 在前述 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者中，該 IL-22 多肽可包括含有半乳糖 N-乙醯葡萄糖胺(LacNAc)重複之 N-聚醣。在一些實施例中，約 0%至約 20%(例如約 0%、約 0.1%、約 1%、約 2%、約 3%、約 4%、約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%或約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%或約 20%)之該等 N-聚醣包括末端 LacNAc 重複。舉例而言，在一些實施例中，約 1%至約 10%之該等 N-聚醣包含 LacNAc 重複。在一些實施例中，約 2%至約 8%之該等 N-聚醣包含 LacNAc 重複。在一些實施例中，

約 3.7%至約 5.2%之該等 N-聚醣包含 LacNAc 重複。在一些實施例中，約 3.2%至約 5.7%之該等 N-聚醣包含 LacNAc 重複。在一些實施例中，約 5%之該等 N-聚醣包含 LacNAc 重複。

【0314】 在前述 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者中，該 IL-22 多肽可包含包括海藻糖基化 N-聚醣之 N-聚醣。在一些實施例中，約 50%至約 100% (例如約 50%、約 55%、約 56%、約 57%、約 58%、約 59%、約 60%、約 61%、約 62%、約 63%、約 64%、約 65%、約 66%、約 67%、約 68%、約 69%、約 70%、約 70%、約 71%、約 72%、約 73%、約 74%、約 75%、約 76%、約 77%、約 78%、約 79%、約 80%、約 81%、約 82%、約 83%、約 84%、約 85%、約 86%、約 87%、約 88%、約 89%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%或約 100%)之該等 N-聚醣經海藻糖基化。舉例而言，在一些實施例中，約 60%至約 80%之該等 N-聚醣經海藻糖基化。在一些實施例中，約 65%至約 75%之該等 N-聚醣經海藻糖基化。在一些實施例中，約 65.1%至約 75%之該等 N-聚醣經海藻糖基化。在一些實施例中，約 61.7%至約 78.3%之該等 N-聚醣經海藻糖基化。在一些實施例中，約 70%之該等 N-聚醣經海藻糖基化。

【0315】 在前述 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者中，該 IL-22 多肽可包含包括去海藻糖基化 N-聚醣之 N-聚醣。在一些實施例中，約 5%至約 50% (例如約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%、約 40%、約 41%、約 42%、約 43%、約 44%、約 45%、約 46%、約 47%、約 48%、約 49%或約 50%)

之該等 N-聚醣經去海藻糖基化。舉例而言，在一些實施例中，約 10%至約 30%之該等 N-聚醣經去海藻糖基化。在一些實施例中，約 15%至約 25%之該等 N-聚醣經去海藻糖基化。在一些實施例中，約 16.4%至約 23.7%之該等 N-聚醣經去海藻糖基化。在一些實施例中，約 14%至約 16.1%之該等 N-聚醣經去海藻糖基化。在一些實施例中，約 20%之該等 N-聚醣經去海藻糖基化。

【0316】 前述 IL-22 多肽中之任一者均可在 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21、Asn35、Asn64 及/或 Asn143 上經糖基化。舉例而言，在一些實施例中，該 IL-22 多肽在 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21、Asn35、Asn64 及 Asn143 上經糖基化。

【0317】 舉例而言，在前述 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21 上之糖基化佔有率可為約 50%至約 100% (例如約 50%、約 55%、約 56%、約 57%、約 58%、約 59%、約 60%、約 61%、約 62%、約 63%、約 64%、約 65%、約 66%、約 67%、約 68%、約 69%、約 70%、約 70%、約 71%、約 72%、約 73%、約 74%、約 75%、約 76%、約 77%、約 78%、約 79%、約 80%、約 81%、約 82%、約 83%、約 84%、約 85%、約 86%、約 87%、約 88%、約 89%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%或約 100%)。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21 上之糖基化佔有率為約 70%至約 90%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21 上之糖基化佔有率為約 75%至約 85%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21 上之糖基化佔有率為約 82%。

【0318】 在前述 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者中，在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn35 上之糖基化佔有率可為約 60%至約 100% (例如約

60%、約 61%、約 62%、約 63%、約 64%、約 65%、約 66%、約 67%、約 68%、約 69%、約 70%、約 70%、約 71%、約 72%、約 73%、約 74%、約 75%、約 76%、約 77%、約 78%、約 79%、約 80%、約 81%、約 82%、約 83%、約 84%、約 85%、約 86%、約 87%、約 88%、約 89%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%或約 100%)。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn35 上之糖基化佔有率為約 90%至約 100%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn35 上之糖基化佔有率為約 95%至約 100%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn35 上之糖基化佔有率為約 100%。

【0319】 在前述 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者中，在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn64 上之糖基化佔有率可為約 60%至約 100% (例如約 60%、約 61%、約 62%、約 63%、約 64%、約 65%、約 66%、約 67%、約 68%、約 69%、約 70%、約 70%、約 71%、約 72%、約 73%、約 74%、約 75%、約 76%、約 77%、約 78%、約 79%、約 80%、約 81%、約 82%、約 83%、約 84%、約 85%、約 86%、約 87%、約 88%、約 89%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%或約 100%)。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn64 上之糖基化佔有率為約 90%至約 100%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn64 上之糖基化佔有率為約 95%至約 100%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn64 上之糖基化佔有率為約 100%。

【0320】 在前述 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者中，在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn143 上之糖基化佔有率可為約 1%至約 60% (例如約 1%、

約 2%、約 3%、約 4%、約 5%、約 6%、約 7%、約 8%、約 9%、約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%、約 40%、約 41%、約 42%、約 43%、約 44%、約 45%、約 46%、約 47%、約 48%、約 49%、約 50%、約 51%、約 52%、約 53%、約 54%、約 55%、約 56%、約 57%、約 58%、約 59%或約 60%)。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn143 上之糖基化佔有率為約 15%至約 45%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn143 上之糖基化佔有率為約 25%至約 35%。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn143 上之糖基化佔有率為約 33%。

【0321】 在前述 IL-22 Fc 融合蛋白中任一者之一些實施例中，該 Fc 區未經糖基化。在一些實施例中，該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 297 位之胺基酸殘基為 Gly。在一些實施例中，該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 297 位之胺基酸殘基為 Ala。在一些實施例中，該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 299 位之胺基酸殘基為 Ala、Gly 或 Val。在一些實施例中，該 Fc 區包含 IgG1 或 IgG4 之 CH2 及 CH3 結構域。在一些實施例中，該 Fc 區包含 IgG4 之 CH2 及 CH3 結構域。

【0322】 在前述 IL-22 Fc 融合蛋白中任一者之一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含與選自由 SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14 及 SEQ ID NO:16 組成之群的胺基酸序列具有至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%序列一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含與 SEQ ID NO:8 之胺

基酸序列具有至少 96%序列一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含與 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列具有至少 97%序列一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含與 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列具有至少 98%序列一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含與 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列具有至少 99%序列一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10 或 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白由 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列組成。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白由 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列組成。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白由 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列組成。在一些實施例中，該 Fc 區未經 N-糖基化。

【0323】　前述 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者均可為二聚 IL-22 Fc 融合蛋白。在其他實施例中，前述 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者均可為單體 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0324】　前述 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者均可包括人類 IL-22 Fc 多肽。在一些實施例中，SEQ ID NO:4 之胺基酸序列。

【0325】　任何適合之連接子均可用於本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中。在一些實施例中，該連接子包含胺基酸序列 RVESKYGPP (SEQ ID NO: 44)。在一些實施例中，該連接子由胺基酸序列 RVESKYGPP (SEQ ID NO: 44)組成。

【0326】　在一些實施例中，本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者均

結合至 IL-22 受體。在一些實施例中，該 IL-22 受體為人類 IL-22 受體。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白結合至 IL-22RA1 及/或 IL-10R2。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白結合至 IL-22RA1。

【0327】 在一些實施例中，前述 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者均係藉由包括在適合表現 IL-22 Fc 融合蛋白之條件下培養能夠表現 IL-22 Fc 融合蛋白之宿主細胞之步驟的方法而產生。在一些實施例中，該方法進一步包括自細胞培養物或培養基獲得該 IL-22 Fc 融合蛋白之步驟。在一些實施例中，該宿主細胞為 CHO 細胞。

【0328】 本文中所描述(例如，以上所描述)之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者均可包括在組合物(例如醫藥組合物)中。舉例而言，以上關於 IL-22 Fc 融合蛋白所描述之值中之任一者均可為 IL-22 Fc 蛋白組合物之平均值。

【0329】 舉例而言，本文中提供一種包括介白素(IL)-22 Fc 融合蛋白之組合物，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包括藉由連接子連接至 Fc 區之 IL-22 多肽，其中該 IL-22 多肽經糖基化，且其中該組合物之平均唾液酸含量在 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。在一些實施例中，該 IL-22 多肽經 N-糖基化。

【0330】 在另一實例中，本文中提供一種包括 IL-22 Fc 融合蛋白之組合物，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包括藉由連接子連接至 Fc 區之 IL-22 多肽，其中該 IL-22 多肽在 SEQ ID NO: 4 之胺基酸殘基 Asn21、Asn35、Asn64 及/或 Asn143 上經糖基化，且其中：(a)殘基 Asn21 處之 N-糖基化位點佔有率百分比在 70%至 90%之範圍內；(b)殘基 Asn35 處之 N-糖基化位點佔有率百分比在 90%至 100%之範圍內；(c)殘基 Asn64 處之 N-糖基化位點佔有率百分比在 90%至 100%之範圍內；及/或(d)殘基 Asn143 處之 N-糖基化位點佔有率百分比在 25%至 35%之範圍內。

【0331】 該等組合物中任一者之平均唾液酸含量可能在 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。在一些實施例中，該組合物之平均唾液酸含量為 8 或 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該組合物之平均唾液酸含量為 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在其他實施例中，該組合物之平均唾液酸含量為 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0332】 在本文中所描述之組合物中任一者中，該唾液酸可能為 N-乙醯神經胺糖酸(NANA)。

【0333】 該等組合物中任一者之平均 NGNA 含量可能低於 1 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0334】 在一些實施例中：(i)該 IL-22 Fc 融合蛋白之最大觀測濃度($C_{最大}$)可能為約 8,000 ng/mL 至約 19,000 ng；(ii)該 IL-22 Fc 融合蛋白自時間 0 至最後一個可量測時間點之血清濃度-時間曲線下面積($AUC_{最後}$)可能為約 7,000 天·ng/mL 至約 25,000 天·ng/mL；及/或(iii)該 IL-22 Fc 融合蛋白之清除率(CL)可能為約 40 mL/kg/天至約 140 mL/kg/天。在一些實施例中，在向 CD1 小鼠經靜脈內投與約 1,000 μg/kg IL-22 Fc 融合蛋白後評定 $C_{最大}$、$AUC_{最後}$及/或 CL。

【0335】 在該等組合物中之任一者中，該 IL-22 多肽可能包括具有單觸角、雙觸角、三觸角及/或四觸角結構之 N-聚醣。在一些實施例中：(i)約 0.1%至約 2%之該等 N-聚醣具有單觸角結構；(ii)約 10%至約 25%之該等 N-聚醣具有雙觸角結構；(iii)約 25%至約 40%之該等 N-聚醣具有三觸角結構；及/或(iv)約 30%至約 51%之該等 N-聚醣具有四觸角結構。在一些實施例中：(i) 0.1%至 2%之該等 N-聚醣具有單觸角結構；(ii) 10%至 25%之該等 N-聚醣具有雙觸角結構；(iii) 25%至 40%之該等 N-聚醣具有三觸角結構；及/或(iv) 30%至 51%之該等 N-聚醣具有

四觸角結構。

【0336】 在該等組合物中之任一者中，該 IL-22 Fc 融合蛋白可能包括含有零、一、二、三或四個半乳糖部分之 N-聚醣。在一些實施例中：(i)約 9%至約 32%之該等 N-聚醣包括零個半乳糖部分；(ii)約 10%至約 20%之該等 N-聚醣包括一個半乳糖部分；(iii)約 8%至約 25%之該等 N-聚醣包括兩個半乳糖部分；(iv)約 12%至約 25%之該等 N-聚醣包括三個半乳糖部分；及/或(v)約 12%至約 30%之該等 N-聚醣包括四個半乳糖部分。在一些實施例中：(i) 9%至 32%之該等 N-聚醣包括零個半乳糖部分；(ii) 10%至 20%之該等 N-聚醣包括一個半乳糖部分；(iii) 8%至 25%之該等 N-聚醣包括兩個半乳糖部分；(iv) 12%至 25%之該等 N-聚醣包括三個半乳糖部分；及/或(v) 12%至 30%之該等 N-聚醣包括四個半乳糖部分。

【0337】 在該等組合物中之任一者中，該 IL-22 Fc 融合蛋白可能包括含有零、一、二、三或四個唾液酸部分之 N-聚醣。在一些實施例中：(i)約 12%至約 35%之該等 N-聚醣包括零個唾液酸部分；(ii)約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包括一個唾液酸部分；(iii)約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包括兩個唾液酸部分；(iv)約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包括三個唾液酸部分；及/或(v)約 1%至約 20%之該等 N-聚醣包括四個唾液酸部分。在一些實施例中：(i) 12%至 35%之該等 N-聚醣包括零個唾液酸部分；(ii) 10%至 30%之該等 N-聚醣包括一個唾液酸部分；(iii) 10%至 30%之該等 N-聚醣包括兩個唾液酸部分；(iv) 10%至 30%之該等 N-聚醣包括三個唾液酸部分；及/或(v) 1%至 20%之該等 N-聚醣包括四個唾液酸部分。

【0338】 在該等組合物中之任一者中，(i)該 IL-22 多肽可能包括約 0%至約 10%含有末端甘露糖部分之 N-聚醣；及/或(ii)該 IL-22 多肽包括約 30%至約 55%含有末端 N-乙醯葡萄糖胺(GlcNAc)部分之 N-聚醣。在一些實施例中，(i)該 IL-22

多肽包括 0%至 10%含有末端甘露糖部分之 N-聚醣；及/或(ii)該 IL-22 多肽包括 30%至 55%含有末端 GlcNAc 部分之 N-聚醣。在一些實施例中，該 IL-22 多肽包括 0%至 10%含有末端甘露糖部分之 N-聚醣。在一些實施例中，該 IL-22 多肽包括 30%至 55%含有末端 GlcNAc 部分之 N-聚醣。

【0339】 在該等組合物中之任一者中，該等 N-聚醣可能包括一、二、三或四個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中：(i)約 1%至約 20%之該等 N-聚醣包括一個末端 GlcNAc 部分；(ii)約 1%至約 20%之該等 N-聚醣包括兩個末端 GlcNAc 部分；(iii)約 5%至約 25%之該等 N-聚醣包括三個末端 GlcNAc 部分；及/或(iv)約 0%至約 15%之該等 N-聚醣包括四個末端 GlcNAc 部分。在一些實施例中：(i) 1%至 20%之該等 N-聚醣包括一個末端 GlcNAc 部分；(ii) 1%至 20%之該等 N-聚醣包括兩個末端 GlcNAc 部分；(iii) 5%至 25%之該等 N-聚醣包括三個末端 GlcNAc 部分；及/或(iv) 0%至 15%之該等 N-聚醣包括四個末端 GlcNAc 部分。

【0340】 在該等組合物中之任一者中，(i)該 IL-22 多肽可能包括約 20%至約 45%含有末端半乳糖(Gal)部分之 N-聚醣；及/或(ii)該等 N-聚醣包括一、二或三個末端 Gal 部分。在一些實施例中，(i)該 IL-22 多肽包括 20%至 45%含有末端 Gal 部分之 N-聚醣；及/或(ii)該等 N-聚醣包括一、二或三個末端 Gal 部分。

【0341】 在該等組合物中之任一者中：(i)約 15%至約 30%之該等 N-聚醣可能包括一個末端 Gal 部分；(ii)約 1%至約 15%之該等 N-聚醣可能包括兩個末端 Gal 部分；及/或(iii)約 0.1%至約 6%之該等 N-聚醣可能包括三個末端 Gal 部分。在一些實施例中：(i) 15%至 30%之該等 N-聚醣包括一個末端 Gal 部分；(ii) 1%至 15%之該等 N-聚醣包括兩個末端 Gal 部分；及/或(iii) 0.1%至 6%之該等 N-聚醣包括三個末端 Gal 部分。

【0342】 在該等組合物中之任一者中：(i)該 IL-22 多肽可能包括含有半乳糖 N-乙醯葡萄糖胺(LacNAc)重複之 N-聚醣；(ii)該 IL-22 多肽可能包含包括海藻糖基化 N-聚醣之 N-聚醣；及/或(iii)該 IL-22 多肽可能包含包括去海藻糖基化 N-聚醣之 N-聚醣。

【0343】 在該等組合物中之任一者中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之 Fc 區可能未經糖基化。在一些實施例中：(i)該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 297 位之胺基酸殘基為 Gly 或 Ala；及/或(ii)該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 299 位之胺基酸殘基為 Ala、Gly 或 Val。在一些實施例中，該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 297 位之胺基酸殘基為 Gly 或 Ala。在一些實施例中，該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 297 位之胺基酸殘基為 Gly。在其他實施例中，該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 297 位之胺基酸殘基為 Ala。

【0344】 在該等組合物中之任一者中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之 Fc 區可能包括 IgG1 或 IgG4 之 CH2 及 CH3 結構域。在一些實施例中，該 Fc 區包括 IgG4 之 CH2 及 CH3 結構域。

【0345】 在該等組合物中之任一者中，該 IL-22 Fc 融合蛋白可能包括與 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列具有至少 95% (例如至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%或至少 99%)序列一致性的胺基酸序列。

【0346】 在該等組合物中之任一者中，該 IL-22 Fc 融合蛋白可能包括 SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10 或 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列或由其組成。

【0347】 在該等組合物中之任一者中，該 IL-22 多肽可能為人類 IL-22 多肽。在一些實施例中，該 IL-22 多肽包括 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列。

【0348】 在該等組合物中之任一者中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之連接子可能包

括胺基酸序列 RVESKYGPP (SEQ ID NO: 44)或由其組成。

【0349】 在該等組合物中之任一者中，該 IL-22 Fc 融合蛋白可能結合至 IL-22 受體。在一些實施例中，該 IL-22 受體為人類 IL-22 受體。

【0350】 該等組合物中之任一者均可為醫藥組合物。在一些實施例中，該組合物進一步包括額外治療劑。在一些實施例中，該組合物進一步包括膠凝劑。

1. 例示性 IL-22 多肽

【0351】 任何適合之 IL-22 多肽均可包括在本文中所提供之 IL-22 Fc 融合蛋白中。舉例而言，在本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者中，IL-22 多肽可包括包含含有 SEQ ID NO:71 之胺基酸序列的多肽(具有內源 IL-22 前導序列之人類 IL-22)或包含與 SEQ ID NO:71 具有至少 80% (例如至少 80%、至少 81%、至少 82%、至少 83%、至少 84%、至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%或至少 99%)序列一致性之胺基酸序列的多肽。在某些實施例中，該 IL-22 多肽包含含有 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列(無前導序列之人類 IL-22)或包含與 SEQ ID NO:4 具有至少 80%序列一致性(例如至少 80%、至少 81%、至少 82%、至少 83%、至少 84%、至少 85%、至少 86%、至少 87%、至少 88%、至少 89%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%或至少 99%序列一致性)之胺基酸序列的多肽。在某些實施例中，該 IL-22 多肽包含含有 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列。

【0352】 天然 IL-22 分子以及其核酸及多肽序列之製備可藉由熟習此項技術者已知的方法來達成。舉例而言，IL-22 多肽可藉由培養經含 IL-22 核酸之載體轉型或轉染之細胞來產生。固然，設想可採用此項技術中眾所周知的替代方法

來製備 IL-22。舉例而言，IL-22 序列或其部分可藉由使用固相技術進行直接肽合成來產生(參見例如 Stewart 等人, 1969, Solid-Phase Peptide Synthesis, W.H. Freeman Co., San Francisco, Calif. (1969)；Merrifield, J. Am. Chem. Soc., 1963, 85:2149-2154)。活體外蛋白質合成可使用手工技術或藉由自動化來進行。自動合成可例如使用 Applied Biosystems 肽合成儀(Foster City，Calif.)，使用製造商說明來實現。可單獨化學合成 IL-22 之各個部分且使用化學或酶促方法組合以產生全長 IL-22。

【0353】 IL-22 變異體可藉由向編碼天然序列 IL-22 多肽之 DNA 中引入適當核苷酸變化或藉由合成所要 IL-22 多肽來製備。熟習此項技術者應瞭解，胺基酸變化可改變 IL-22 之轉譯後過程，諸如改變糖基化位點之編號或位置或者改變膜錨定特徵。

【0354】 本文中所描述之天然序列 IL-22 多肽中之變化可例如使用例如美國專利第 5,364,934 號中所闡述之關於保守及非保守突變之任何技術及指導來進行。變化可為編碼天然序列或變異體 IL-22 之一或多個密碼子中引起其胺基酸序列與相應天然序列或變異體 IL-22 相比存在變化之取代、缺失或插入。視情況，該變化係藉由在天然序列 IL-22 多肽之一或多個結構域中用任何其他胺基酸取代至少一個胺基酸。可藉由比較 IL-22 序列與同源已知蛋白質分子之序列並且將高同源性區域中之胺基酸序列變化數目減至最少來獲得關於確定可在不會對所要活性造成不利影響之情況下插入、取代或缺失之胺基酸殘基的指導。胺基酸取代可為將一個胺基酸置換為具有類似結構及/或化學性質之另一胺基酸，諸如用絲胺酸置換白胺酸，亦即，保守胺基酸置換的結果。插入或缺失可視情況處於 1 至 5 個胺基酸之範圍內。允許之變化可藉由系統地進行序列中胺基酸之插

入、缺失或取代並測試所得變異體之活性來確定，例如，在以下實例中所描述之活體外分析中。

【0355】 在特定實施例中，相關保守取代示於表 A 中之「較佳取代」表頭下。若該等取代引起生物活性變化，則可引入表 A 中指定為例示性取代或如以下參考胺基酸類別進一步描述之更多實質性變化且對產物進行篩檢。

【0356】 本發明之範疇內所包括之 IL-22 多肽之另一種類型共價修飾包括改變多肽之天然糖基化模式。「改變天然糖基化模式」出於本文中之目的欲意謂缺失天然序列 IL-22 中所發現之一或多個碳水化合物部分，及/或添加天然序列 IL-22 中不存在之一或多個糖基化位點，及/或改變與糖基化位點附接之糖殘基之比率及/或組成。

【0357】 多肽之糖基化典型地為 N 連接或 O 連接。添加糖基化位點至 IL-22 多肽可藉由改變胺基酸序列來實現。該變化可例如藉由一或多個絲胺酸或蘇胺酸殘基對天然序列 IL-22 (對於 N 連接之糖基化位點)之添加或取代或者識別序列之添加(對於 O 連接之糖基化位點)來進行。可視情況藉由 DNA 層級上之變化，特定言之藉由使編碼 IL-22 多肽之 DNA 在預選鹼基處突變以便產生將轉譯成所要胺基酸之密碼子來改變 IL-22 胺基酸序列。

【0358】 增加 IL-22 多肽上之碳水化合物部分之數目的另一手段為藉由使糖苷化學或酶促偶聯至多肽。該等方法描述於此項技術中，例如，WO 87/05330 中及 Aplin 等人, *CRC Crit. Rev. Biochem.*, 第 259-306 頁(1981)中。

【0359】 移除 IL-22 多肽上存在之碳水化合物部分可用化學或酶促方式或藉由編碼充當糖基化標靶之胺基酸殘基之密碼子之突變取代來實現。化學去糖基化技術為此項技術中已知的，並且例如由 Hakimuddin 等人, *Arch. Biochem.*

Biophys. 259:52 (1987)及由 Edge 等人, *Anal. Biochem*. 118:131 (1981)描述。可藉由如 Thotakura 等人, *Meth. Enzymol*. 138:350 (1987)所描述使用各種內切糖苷酶及外切糖苷酶來達成多肽上碳水化合物部分之酶促裂解。

【0360】 可使用此項技術中已知的方法進行變化，諸如寡核苷酸介導之(定點)突變誘發、丙胺酸掃描及 PCR 突變誘發。可對所選殖之 DNA 進行定點突變誘發(Carter 等人, 1986, *Nucl. Acids Res*. 13:4331；Zoller 等人, 1987, *Nucl. Acids Res*. 10:6487)、卡匣突變誘發(Wells 等人, 1985, Gene 34:315)、限制選擇突變誘發(Wells 等人, 1986, Philos. Trans. R. Soc. London A 317:415)或其他已知技術以產生 IL-22 變異 DNA。

【0361】 本文中亦提供 IL-22 多肽之片段。該等片段可在 N-末端或 C-末端截短，或可缺乏內部殘基，例如當與全長天然蛋白質相比時。某些片段缺乏對本發明之 IL-22 多肽之所要生物活性非必需之胺基酸殘基。因此，在某些實施例中，IL-22 多肽之片段為生物學活性的。在某些實施例中，全長 IL-22 片段缺乏 N-末端信號肽序列。

【0362】 天然序列及變異 IL-22 多肽之共價修飾包括在本發明之範疇內。一種類型之共價修飾包括使 IL-22 之靶向性胺基酸殘基與能夠跟該 IL-22 多肽之所選側鏈或者 N-或 C-末端殘基反應的有機衍生化劑反應。利用雙官能試劑之衍生化可用於例如使 IL-22 與非水溶性載體基質或表面交聯，例如，以用於純化抗 IL-22 抗體之方法中。常用交聯劑包括例如 1,1-雙(重氮基-乙醯基)-2-苯乙烷；戊二醛；N-羥基琥珀醯亞胺酯，例如與 4-疊氮基水楊酸之酯；同雙官能醯亞胺基酯，包括二琥珀醯亞胺基酯，諸如 3,3'-二硫雙(琥珀醯亞胺基丙酸酯)；雙官能馬來醯亞胺，諸如雙-N-馬來醯亞胺基-1,8-辛烷；及諸如甲基-3-[(對疊氮基苯基)-二硫]丙

醯亞胺酯之試劑。

【0363】 其他修飾包括麩醯胺醯基及天冬醯胺醯殘基分別脫醯胺化至相應麩胺醯基及天冬胺醯基殘基、脯胺酸及離胺酸之羥基化、絲胺醯基或酥胺醯基殘基之羥基磷酸化、離胺酸、精胺酸及組胺酸側鏈之 α-胺基甲基化(T. E. Creighton, 1983, Proteins: Structure and Molecular Properties, W. H. Freeman & Co., San Francisco, 第 79-86 頁)、N-末端胺乙醯化及任何 C-末端羧基醯胺化。

【0364】 另一種類型之 IL-22 共價修飾包括將 IL-22 多肽連接至多種非蛋白質聚合物之一，例如聚乙二醇、聚丙二醇或聚氧化烯，例如以美國專利第 4,640,835 號、第 4,496,689 號、第 4,301,144 號、第 4,670,417 號、第 4,791,192 號或第 4,179,337 號中所闡述之方式。天然序列及變異體 IL-22 亦可以形成包含與另一異源多肽或胺基酸序列融合之 IL-22 (包括 IL-22 之片段)之嵌合分子的方式經修飾。

【0365】 在一個實施例中，此種嵌合分子包含 IL-22 與標籤多肽之融合體，該標籤多肽提供抗標籤抗體可選擇性地結合之抗原決定基。抗原決定基標籤一般位於 IL-22 多肽之胺基或羧基末端。可使用針對標籤多肽之抗體來偵測 IL-22 多肽之該等抗原決定基標籤化形式之存在。此外，提供抗原決定基標籤使得 IL-22 多肽能夠藉由使用抗標籤抗體或結合抗原決定基標籤之另一類型之親和力基質進行親和力純化而容易地純化。各種標籤多肽及其相應抗體在此項技術中為眾所周知的。實例包括聚組胺酸(poly-his)或聚組胺酸-甘胺酸(poly-his-gly)標籤；流感 HA 標籤多肽及其抗體 12CA5 (Field 等人, 1988, Mol. Cell. Biol., 8:2159-2165)；c-myc 標籤及其 8F9、3C7、6E10、G4 及 9E10 抗體(Evan 等人, 1985, *Mol. Cell. Biol.* 5:3610-3616)及單純疱疹病毒糖蛋白 D (gD)標籤及其抗體(Paborsky 等人, 1990, *Protein Engineering* 3(6):547-553)。其他標籤多肽包括 Flag 肽(Hopp 等人, 1988,

BioTechnology 6:1204-1210)；KT3 抗原決定基肽(Martin 等人, 1992, *Science* 255:192-194)；微管蛋白抗原決定基肽(Skinner 等人, 1991, *J. Biol. Chem.* 266:15163-15166)；及 T7 基因 10 蛋白肽標籤(Lutz-Freyermuth 等人, 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87:6393-6397)。

【0366】 在另一實施例中，該嵌合分子可包含 IL-22 多肽或其片段與免疫球蛋白或免疫球蛋白之特定區域之融合體。對於嵌合分子之二價形式，此種融合體可為 IgG 分子之 Fc 區。此等融合多肽為組合異源蛋白質(「黏附蛋白」)之結合特異性與免疫球蛋白恆定域之效應子功能的抗體樣分子，且通常稱為免疫黏附蛋白。在結構上，免疫黏附蛋白包含 IL-22 或其變異體之胺基酸序列與免疫球蛋白恆定域序列之融合體。免疫黏附蛋白分子之黏附蛋白部分典型地為至少包含受體或配位體之結合位點的連續胺基酸序列。免疫黏附蛋白中之免疫球蛋白恆定域序列可獲自任何免疫球蛋白，諸如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 亞型、IgA (包括 IgA1 及 IgA2)、IgE、IgD 或 IgM。在某些實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白展現經修飾之效應因子活性。

【0367】 可使 IL-22 多肽或其片段例如與免疫球蛋白重鏈恆定區序列融合，以產生 IL-22-Ig 融合蛋白(例如，IL-22 Fc 融合蛋白)。IL-22 多肽可為人類或鼠類 IL-22。免疫球蛋白重鏈恆定區序列可為人類或鼠類免疫球蛋白重鏈恆定區序列。

2. 例示性 IL-22 Fc 融合蛋白

【0368】 在某些實施例中，本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者均結合 IL-22 受體並誘導其活性或信號傳導及/或為 IL-22 受體活性促效劑。

【0369】 在另一態樣中，本文中所提供之 IL-22 Fc 融合蛋白包含與 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、

98%、99%或 100%序列一致性之多肽。在其他實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含相對於參考序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列一致性且含有取代(例如保守取代)、插入或缺失之多肽，但包含該序列之 IL-22 Fc 融合蛋白保留結合 IL-22 受體之能力。在某些實施例中，已在 SEQ ID NO:8、10、12、14、16、24 或 26 中取代、插入及/或缺失總計 1 至 10 個胺基酸。在某些實施例中，該等取代、插入或缺失發生在 IL-22 以外之區域中(亦即，Fc 中)。在一些實施例中，該等取代、插入或缺失可處於 IL-22 Fc 融合蛋白之連接子、鉸鏈、CH2 結構域、CH3 結構域中。在某些特定實施例中，Fc 之 C-末端 Lys 殘基缺失。在某些其他實施例中，Fc 之 C-末端 Gly 及 Lys 殘基皆缺失。

【0370】 在一些實施例中，該連接子與 DKTHT (SEQ ID NO:32)、EPKSCDKTHT (SEQ ID NO:33)、VEPKSCDKTHT (SEQ ID NO:34)、KVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO:35)、KKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO:36)、DKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO:37)、VDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO:38)、KVDKKVEPKSCDKTHT (SEQ ID NO:39)、EPKSSDKTHT (SEQ ID NO:40)、GGGDKTHT (SEQ ID NO:41)、ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO:42)、SKYGPP (SEQ ID NO:43)、RVESKYGPP (SEQ ID NO:44)、GGGSTHT (SEQ ID NO:63)、DKKVEPKSSDKTHT (SEQ ID NO:64)、KVDKKVEPKSSDKTHT (SEQ ID NO:65)或 KKVEPKSSDKTHT (SEQ ID NO:66)具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列一致性。參見例如美國專利第 9,815,880 號之表 2，該專利係以引用之方式整體併入本文中。

【0371】 在某些實施例中，提供具有一或多個胺基酸取代之 IL-22 Fc 融合蛋

白變異體。保守取代顯示於表 A 中之「較佳取代」表頭下。更實質性變化提供於表 A 中之「例示性取代」表頭下，且如以下參考胺基酸側鏈類別進一步描述。可將胺基酸取代引入該 IL-22 Fc 融合蛋白中且針對所要活性，例如保留/改良之 IL-22 受體結合、降低之免疫原性或改良之 IL-22 受體信號傳導對產物進行篩檢。

表 A

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
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

【0372】　可根據共同側鏈性質對胺基酸進行分組：

(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。

【0373】 非保守取代需要將此等類別之一的成員交換為另一類別。

【0374】 鑑定可靶向以進行突變誘發之蛋白質殘基或區域之可用方法稱為「丙胺酸掃描突變誘發」，如 Cunningham 及 Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085 中所描述。在此方法中，鑑定殘基或靶殘基群組(例如帶電殘基，諸如 Arg、Asp、His、Lys 及 Glu)且用中性或帶負電胺基酸(例如丙胺酸或聚丙胺酸)置換，以確定蛋白質與其結合搭配物之相互作用是否受影響。可在對初始取代顯示功能敏感性之胺基酸位置上引入其他取代。替代地，或另外地，蛋白質複合物(例如細胞介素-受體複合物)之晶體結構可用於鑑定蛋白質與其結合搭配物之間的接觸點。可靶向或消除作為取代候選物之該等接觸殘基及相鄰殘基。可對變異體進行篩檢以確定其是否含有所要性質。

【0375】 胺基酸序列插入包括長度為一個殘基至含有一百個或更多個殘基之多肽的胺基及/或羧基末端融合體，以及單個或多個胺基酸殘基之序列內插入。

【0376】 本文中提供編碼 IL-22 Fc 融合蛋白之核酸。在一些實施例中，該核酸編碼包含 SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:24 或 SEQ ID NO:26，較佳 SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10 或 SEQ ID NO:16，更佳 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列的 IL-22 Fc 融合蛋白。在某些其他實施例中，該核酸包含 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:23 或 SEQ ID NO:25 之聚核苷酸序列。在某些特定實施例中，該核酸包含 SEQ ID NO:7 或 SEQ ID NO:11、較佳 SEQ ID NO:7 之聚核苷酸序列。在某些實施例中，該經分離之核酸包含與 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、

SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:23 或 SEQ ID NO:25 之聚核苷酸序列具有至少 80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列一致性之聚核苷酸序列。在某些實施例中，該經分離之核酸包含與 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:23 或 SEQ ID NO:25 之聚核苷酸序列具有至少 80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列一致性之聚核苷酸序列，其中該經分離之核酸能夠編碼能夠結合至 IL-22R 及/或觸發 IL-22R 活性之 IL-22 Fc 融合蛋白，且其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之 Fc 區未經糖基化。在某些實施例中，該經分離之核酸包含與 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:23 或 SEQ ID NO:25 之聚核苷酸序列具有至少 80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%序列一致性之聚核苷酸序列，其中該經分離之核酸能夠編碼包含 SEQ ID NO:8、10、12 或 14 之胺基酸序列之 IL-22 Fc 融合蛋白。在相關態樣中，本發明提供包含以上所描述之核酸的載體及包含該載體之宿主細胞。在某些實施例中，該宿主細胞為原核生物細胞或真核生物細胞。在某些特定實施例中，該宿主細胞為原核生物細胞，包括但不限於大腸桿菌細胞。在某些其他實施例中，該宿主細胞為真核生物細胞，包括但不限於 CHO 細胞。在某些實施例中，該宿主細胞包含含有編碼包含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列之 IL-22 Fc 融合蛋白之核酸的載體。

a) 糖基化變異體

【0377】 在某些實施例中，改變本文中所提供之 IL-22 Fc 融合蛋白以增加或降低融合蛋白質或其部分(例如融合蛋白質之 Fc 部分)糖基化所達至之程度。可

藉由改變胺基酸序列以產生或移除一或多個糖基化位點而便利地實現向蛋白質添加或缺失糖基化位點。

【0378】 在融合蛋白質包含 Fc 區時，可改變與其附接之碳水化合物。由哺乳動物細胞產生之天然抗體典型地包含分支雙觸角寡糖，其一般藉由 N 鍵聯附接至 Fc 區 CH2 結構域之 Asn297 參見例如 Wright 等人, *TIBTECH* 15:26-32 (1997)。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，以及附接至雙觸角寡醣結構之「莖」中之 GlcNAc 的海藻糖。在一些實施例中，可對抗體或抗體 Fc 區中之寡醣進行修飾，以便產生具有某些改良性質之 Fc 變異體。

【0379】 附接至 Fc 區 CH2 結構域之海藻糖之量可藉由計算糖鏈內 Asn297 處之海藻糖之平均量相對於附接至 Asn 297 或 N297 之所有糖結構(例如複合物、雜合體及高甘露糖結構)之總和來確定，如例如藉由如 WO 2008/077546 中所描述之 MALDI-TOF 質譜法所量測。Asn297 係指位於 Fc 區中約 297 位(Fc 區殘基之 EU 編號)之天冬醯胺殘基，然而，由於抗體中之微小序列變異，Asn297 亦可位於 297 位上游或下游約±3 個胺基酸處，亦即，294 位與 300 位之間。該等海藻糖基化變異體可具有改良之 ADCC 功能。參見例如美國專利公開案第 US 2003/0157108 號、第 US 2004/0093621 號。與「去海藻糖基化」或「海藻糖缺乏」抗體變異體相關之出版物之實例包括：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；WO2005/053742；WO2002/031140；Okazaki 等人, *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249

(2004)；Yamane-Ohnuki 等人, *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)。能夠產生去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 等人, *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986)；美國專利申請案第 US 2003/0157108 A1 號；及 WO 2004/056312 A1，尤其實例 11)及敲除細胞株，諸如 α-1,6-海藻糖基轉移酶基因 *FUT8* 敲除 CHO 細胞(參見例如 Yamane-Ohnuki 等人, *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)；Kanda, Y. 等人, *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006)；及 WO2003/085107)。

【0380】 進一步提供具有二等分寡糖之抗體變異體，例如，其中附接至抗體 Fc 區之雙觸角寡糖由 GlcNAc 二等分。該等抗體變異體可具有減少之海藻糖基化及/或改良之 ADCC 功能。該等抗體變異體之實例描述於例如 WO 2003/011878、美國專利第 6,602,684 號及 US 2005/0123546 中。亦提供附接至 Fc 區之寡醣中具有至少一個半乳糖殘基之抗體變異體。該等抗體變異體可具有改良之 CDC 功能。該等抗體變異體描述於例如 WO 1997/30087、WO 1998/58964 及 WO 1999/22764 中。

b) Fc 區變異體

【0381】 在某些實施例中，可將一或多個胺基酸修飾引入本文中所提供之 Fc 融合蛋白質之 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上包含胺基酸修飾(例如取代)之人類 Fc 區序列(例如，人類 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 Fc 區)。

【0382】 在某些實施例中，本發明設想具有一些而非所有效應子功能，由此使其成為抗體或包含 Fc 區之融合蛋白質之活體內半衰期重要但某些效應子功能(諸如補體及 ADCC)不必要或不利之應用的理想候選物的 Fc 變異體。可進行活

體外及/或活體內細胞毒性分析以證實 CDC 及/或 ADCC 活性之降低/耗竭。舉例而言，可進行 Fc 受體(FcR)結合分析以確保抗體或 Fc 缺乏 FcγR 結合(因此可能缺乏 ADCC 活性)，但保留 FcRn 結合能力。介導 ADCC 之初細胞 NK 細胞僅表現 FcγRIII，而單核細胞表現 FcγRI、FcγRII 及 FcγRIII。造血細胞上之 FcR 表現彙總於 Ravetch 等人, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)第 464 頁之表 3 中。用於評定相關分子之 ADCC 活性之活體外分析之非限制性實例描述於以下文獻中：美國專利第 5,500,362 號(參見例如 Hellstrom 等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)及 Hellstrom 等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985)；美國專利第 5,821,337 號(參見 Bruggemann 等人, *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987))。替代地，可採用非放射性分析法(參見例如用於流式細胞術之 ACTI™非放射性細胞毒性分析法(CellTechnology, Inc.，Mountain View，CA；及 CYTOTOX 96®非放射性細胞毒性分析法(Promega，Madison，WI)。可用於該等分析之效應細胞包括外周血單核細胞(PBMC)及自然殺手(NK)細胞。替代地，或另外，可在活體內，例如在諸如 Clynes 等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)中所揭示之動物模型的動物模型中評定相關分子之 ADCC 活性。亦可進行 C1q 結合分析以證實抗體或 Fc 不能夠結合 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。為了評定補體活化，可進行 CDC 分析(參見例如 Gazzano-Santoro 等人, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)；Cragg 等人, *Blood* 101:1045-1052 (2003)；及 Cragg 等人, *Blood* 103:2738-2743 (2004))。亦可使用此項技術中已知的方法來進行 FcRn 結合及活體內清除率/半衰期測定(參見例如 Petkova 等人, *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006))。

【0383】 具有減弱之效應功能的抗體包括在 Fc 區殘基 238、265、269、270、297、327 及 329 中之一或多個處具有取代之抗體(美國專利第 6,737,056 號)。該等 Fc 突變異體包括在胺基酸位置 265、269、270、297 及 327 中之兩個或更多個處具有取代之 Fc 突變異體，包括殘基 265 及 297 取代為丙胺酸之所謂「DANA」Fc 突變異體(美國專利第 7,332,581 號)。

【0384】 描述對 FcR 具有改良或減弱之結合的某些抗體或 Fc 變異體。(參見例如美國專利第 6,737,056 號；WO 2004/056312；及 Shields 等人, *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001)。)

【0385】 在某些實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白包含具有一或多個減弱 ADCC 之胺基酸取代(例如 Fc 區第 297 位之取代)以移除 N-糖基化位點但保留 FcRn 結合活性之 Fc 變異體(EU 殘基編號)。

【0386】 在一些實施例中，在 Fc 區中進行導致 C1q 結合及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)減弱之變化，例如，如美國專利第 6,194,551 號、WO 99/51642 及 Idusogie 等人, *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000)中所描述。

【0387】 具有增加之半衰期且對負責將母體 IgG 轉移至胎兒(Guyer 等人, *J. Immunol.* 117:587 (1976)；及 Kim 等人, *J. Immunol.* 24:249 (1994))之新生兒 Fc 受體(FcRn)具有增加之半衰期及改良之結合的抗體描述於 US2005/0014934A1 (Hinton 等人)中。彼等抗體包含其中具有改良 Fc 區與 FcRn 之結合的一或多個取代的 Fc 區。該等 Fc 變異體包括在以下 Fc 區殘基 238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424 或 434 中之一或多個處具有取代，例如對 Fc 區殘基 434 之取代的彼等 Fc 變異體(美國專利第 7,371,826 號)。

【0388】 關於 Fc 區變異體之其他實例，亦參見 Duncan 及 Winter, *Nature* 322:738-40 (1988)；美國專利第 5,648,260 號；美國專利第 5,624,821 號；及 WO 94/29351。

c) 經半胱胺酸工程改造之變異體

【0389】 在某些實施例中，可能需要產生經半胱胺酸工程改造之 Fc 融合蛋白，其中抗體 Fc 區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 Fc 之可及位點上。藉由用半胱胺酸取代彼等殘基，從而使反應性硫醇基位於該 Fc 之可及位點上且可用於使該 Fc 與其他部分(諸如藥物部分或連接子-藥物部分)結合，以產生免疫結合物，如本文中進一步描述。舉例而言，重鏈 Fc 區之 S400 (EU 編號)可經 Cys 取代。參見例如美國專利第 7,521,541 號。

B. 製造及/或純化 IL-22 Fc 融合蛋白之方法

【0390】 本文中所提供之 IL-22 Fc 融合蛋白可藉由任何適合之方法製備，例如，培養經含有編碼 IL-22 Fc 融合蛋白、其片段或變異體之核酸的載體轉型或轉染之細胞。亦提供包含任何此種載體之宿主細胞。可使用任何適合之宿主細胞，例如哺乳動物細胞(例如 CHO 細胞)、大腸桿菌或酵母。進一步提供產生本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者的方法，且一般而言，包括在適合表現所要 IL-22 Fc 融合蛋白之條件下培養宿主細胞且回收並視情況自細胞培養物中純化出所要 IL-22 Fc 融合蛋白。本文中亦提供選擇包括 IL-22 Fc 融合蛋白之批料的方法。

【0391】 舉例而言，本文中提供一種製造本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者的方法，該方法包括以下步驟中之一、二、三或所有四個：(a)提供包含編碼本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白中之任一者(例如包括藉由連接子連

接至 Fc 區之 IL-22 多肽的 IL-22 Fc 融合蛋白)的核酸的宿主細胞；(b)在種子培養基中在適合形成種子培養物之條件下培養該宿主細胞；(c)將該種子培養物接種至接種物培養基中並且在適合形成接種物培養物之條件下培養；及/或(d)在生產培養基中在適合形成生產培養物之條件下培養該接種物培養物，其中該生產培養物之該等宿主細胞表現該 IL-22 Fc 融合蛋白，從而產生該 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該 IL-22 多肽經糖基化。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 6 至約 16 莫耳唾液酸(例如約 6、約 7、約 8、約 9、約 10、約 11、約 12、約 13、約 14、約 15 或約 16 莫耳唾液酸)/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0392】 在前述方法中之任一者中，該宿主細胞可為冷凍宿主細胞，且步驟(a)進一步包括在種子培養基中將該冷凍宿主細胞解凍。該宿主細胞可在任何適合之溫度(例如約 0℃、約-10℃、約-20℃、約-30℃、約-40℃、約-50℃、約-60℃、約-70℃、約-80℃、約-90℃、約-100℃或更低)下冷凍。該冷凍宿主細胞可在任何適合之溫度下解凍任何適合量之時間。在其他實例中，可使用滾動種子培養來產生 IL-22 Fc 融合蛋白。在此實例中，該種子培養物連續生長(直至某一細胞齡)以接種該接種物培養物，而不使用冷凍宿主細胞。

【0393】 在前述方法中任一者之一些實施例中，該種子培養基或該種子培養物之體積為約 1 L 至約 100 L，例如約 1 L、約 2 L、約 3 L、約 4L、約 5 L、約 10 L、約 15 L、約 20 L、約 25 L、約 30 L、約 35 L、約 40 L、約 45 L、約 50 L、約 55 L、約 60 L、約 70 L、約 75 L、約 80 L、約 85 L、約 90 L、約 95 L 或約 100 L。在一些實施例中，該種子培養基或該種子培養物之體積為約 5 L 至約 50 L。在一些實施例中，該種子培養基或該種子培養物之體積為約 10 L 至約 40 L。在一些實施例中，該種子培養基或該種子培養物之體積為約 15 L 至約 25 L。在

一些實施例中，該種子培養基或該種子培養物之體積為約 20 L。

【0394】 該接種物培養基或該接種物培養物可具有任何適合之體積。在前述方法中任一者之一些實施例中，該接種物培養基或該接種物培養物之體積為約 10 L 至約 4,000 L，例如約 10 L、約 15 L、約 20 L、約 25 L、約 30 L、約 35 L、約 40 L、約 45 L、約 50 L、約 55 L、約 60 L、約 70 L、約 75 L、約 80 L、約 85 L、約 90 L、約 95 L、約 100 L、約 105 L、約 110 L、約 115 L、約 120 L、約 125 L、約 130 L、約 135 L、約 140 L、約 145 L、約 150 L、約 155 L、約 160 L、約 165 L、約 170 L、約 175 L、約 180 L、約 185 L、約 190 L、約 195 L、約 200 L、約 300 L、約 400 L、約 500 L、約 600 L、約 700 L、約 800 L、約 900 L、約 1000 L、約 1,500 L、約 2,000 L、約 2,500 L、約 3,000 L、約 3,500 L 或約 4,000 L。在一些實施例中，該接種物培養基或該接種物培養物之體積為約 50 L 至約 100 L。在一些實施例中，該接種物培養基或該接種物培養物之體積為約 75 L 至約 90 L。在一些實施例中，該接種物培養基或該接種物培養物之體積為約 80 L。在其他實施例中，該接種物培養基或該接種物培養物之體積為約 300 L 至約 500 L (例如約 300 L、約 320 L、約 340 L、約 360 L、約 380 L、約 400 L、約 420 L、約 440 L、約 460 L、約 480 L 或約 500 L)。在一些實施例中，該接種物培養基或該接種物培養物之體積為約 350 L 至約 450 L。在一些實施例中，該接種物培養基或該接種物培養物之體積為約 400 L。

【0395】 該生產培養基或該生產培養物可具有任何適合之體積。在前述方法中任一者之一些實施例中，該生產培養基或該生產培養物之體積為約 100 L 至約 30,000 L，例如約 100 L、約 200 L、約 300 L、約 400 L、約 500 L、約 600 L、約 700 L、約 800 L、約 900 L、約 1000 L、約 1,500 L、約 2,000 L、約 2,500 L、

約 3,000 L、約 3,500 L、約 4,000 L、約 4,500 L、約 5,000 L、約 5,500 L、約 6,000 L、約 6,500 L、約 7,000 L、約 7,500 L、約 8,000 L、約 8,500 L、約 9,000 L、約 9,500 L、約 10,000L、約 12,000 L、約 15,000 L、約 20,000 L、約 25,000 L 或約 30,000 L。在一些實施例中，該生產培養基或該生產培養物之體積為約 500 L 至約 5,000 L。在一些實施例中，該生產培養基或該生產培養物之體積為約 1,000 L 至約 3,000 L。在一些實施例中，該生產培養基或該生產培養物之體積為約 1,500 L 至約 2,500 L。在一些實施例中，該生產培養基或該生產培養物之體積為約 2000 L。

【0396】 在前述方法中任一者之一些實施例中，該方法進一步包括在步驟(d)之前將該接種物培養物繼代約 1 至約 20 次，例如約 1、約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、約 10、約 11、約 12、約 13、約 14、約 15、約 16、約 17、約 18、約 19 或約 20 次。在一些實施例中，在步驟(d)之前將該接種物培養物繼代約 1 至約 10 次。在一些實施例中，在步驟(d)之前將該接種物培養物繼代約 2 至約 6 次。在一些實施例中，在步驟(d)之前將該接種物培養物繼代約 2 至約 3 次。在一些實施例中，在步驟(d)之前將該接種物培養物繼代約 5 次。在一些實施例中，在步驟(d)之前將該接種物培養物繼代約 2 次。在一些實施例中，在步驟(d)之前將該接種物培養物繼代約 3 次。在一些實施例中，在步驟(d)之前將該接種物培養物繼代約 4 次。

【0397】 在前述方法中任一者之一些實施例中，該種子培養基、該接種物培養基及/或該生產培養基包括能夠選擇宿主細胞之選擇劑。在一些實施例中，該種子培養基包括選擇劑。可使用任何適合之選擇劑。在一些實施例中，該選擇劑為甲硫胺酸磺醯亞胺、胺甲喋呤或抗生素(例如殺稻瘟菌素、遺傳黴素、潮黴

素 B、嘌呤黴素、黴酚酸或吉歐黴素)。在特定實施例中，該選擇劑為甲硫胺酸碸醯亞胺。

【0398】 在前述方法中之任一者中，該種子培養基、該接種物培養基及/或該生產培養基可包括消泡劑。可使用任何適合之消泡劑。在一些實施例中，該消泡劑為聚甲矽康乳液、消泡劑 204、消泡劑 A、消泡劑 B、消泡劑 C、消泡劑 Y-30 或消泡劑 SE-15。在特定實施例中，該消泡劑為聚甲矽康乳液。在一些實施例中，該消泡劑之濃度為約 10%至約 50%，例如約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%、約 40%、約 41%、約 42%、約 43%、約 44%、約 45%、約 46%、約 47%、約 48%、約 49%或約 50% (例如 w/v)。在一些實施例中，該消泡劑之濃度為約 30% (w/v)。在一些實施例中，使用 30%聚甲矽康來製造 1%或 10%消泡溶液，視需要添加至培養物(例如種子培養物、接種物培養物及/或生產培養物)中以減少泡沫。

【0399】 在前述方法中之任一者中，該種子培養基、該接種物培養基及/或該生產培養基可包括緩衝劑、細胞保護劑、多醣及/或滲透壓調節劑。

【0400】 在前述方法中之任一者中，步驟(b)可在任何適合之溫度，例如約 20℃至約 45℃，例如約 20℃、約 21℃、約 22℃、約 23℃、約 24℃、約 25℃、約 26℃、約 27℃、約 28℃、約 29℃、約 30℃、約 31℃、約 32℃、約 33℃、約 34℃、約 35℃、約 36℃、約 37℃、約 38℃、約 39℃、約 40℃、約 41℃、約 42℃、約 43℃、約 44℃或約 45℃之溫度下進行。在一些實施例中，在約 25℃至約 40℃之溫度下進行步驟(b)。在一些實施例中，在約 35℃至約 39℃之溫度下

進行步驟(b)。在一些實施例中，在約 36℃至約 38℃之溫度下進行步驟(b)。在一些實施例中，在約 37℃之溫度下進行步驟(b)。

【0401】 在前述方法中之任一者中，步驟(b)可在任何適合之培養容器，例如旋轉器、搖瓶或種子培養生物反應器(例如不鏽鋼生物反應器或單次使用生物反應器(例如 WAVE BIOREACTOR™或 AMBR®生物反應器(例如 AMBR® 15 或 AMBR® 250 生物反應器)))中進行。在一些實施例中，在種子培養旋轉器或搖瓶中進行步驟(b)。在其他實施例中，在單次使用生物反應器(例如 WAVE BIOREACTOR™或 AMBR®生物反應器(例如 AMBR® 15 生物反應器或 AMBR® 250 生物反應器))中進行步驟(b)。在其他實施例中，在種子培養生物反應器中進行步驟(b)。

【0402】 在前述方法中之任一者中，步驟(b)之持續時間可為每次繼代約 1 天至約 20 天，例如每次繼代約 1 天、約 2 天、約 3 天、約 4 天、約 5 天、約 6 天、約 7 天、約 8 天、約 9 天、約 10 天、約 11 天、約 12 天、約 13 天、約 14 天、約 15 天、約 16 天、約 17 天、約 18 天、約 19 天或約 20 天。在一些實施例中，步驟(b)之持續時間為每次繼代約 1 天至約 12 天。在一些實施例中，步驟(b)之持續時間為每次繼代約 2 天至約 7 天。在一些實施例中，步驟(b)之持續時間為每次繼代約 2 天至約 6 天。在一些實施例中，步驟(b)之持續時間為每次繼代約 2 天至約 5 天。在一些實施例中，步驟(b)之持續時間為每次繼代約 2 天至約 4 天。在一些實施例中，步驟(b)之持續時間為每次繼代約 2 天至約 3 天。

【0403】 在前述方法中之任一者中，該種子培養基或該種子培養物可具有任何適合之 pH 值。舉例而言，在一些實施例中，該種子培養基或該種子培養物之 pH 值為約 5 至約 9，例如約 5、約 5.5、約 6、約 6.5、約 6.6、約 6.7、約 6.8、

約 6.9、約 7.0、約 7.1、約 7.15、約 7.2、約 7.3、約 7.4、約 7.5、約 8.0、約 8.5 或約 9。在一些實施例中，該種子培養基或該種子培養物之 pH 值為約 6.5 至約 7.5。在一些實施例中，該種子培養基或該種子培養物之 pH 值為約 7.0 至約 7.5，例如約 7.0、約 7.05、約 7.1、約 7.15、約 7.2、約 7.25、約 7.3、約 7.35、約 7.4、約 7.45 或約 7.5。在一些實施例中，該種子培養基或該種子培養物之 pH 值為約 7.15。在一些實施例培養物，該種子培養物之 pH 值為約 7.15。

【0404】　在前述方法中之任一者中，該種子培養基或該種子培養物可具有任何適合之溶解氧(例如溶解氧百分比，其中 100%指示該培養基為飽和的)，例如約 10%至約 60% (例如約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%、約 40%、約 41%、約 42%、約 43%、約 44%、約 45%、約 46%、約 47%、約 48%、約 49%、約 50%、約 51%、約 52%、約 53%、約 54%、約 55%、約 56%、約 57%、約 58%、約 59%或約 60%)。在一些實施例中，該種子培養基或該種子培養物之溶解氧為約 15%至約 50%。在一些實施例中，該種子培養基或該種子培養物之溶解氧為約 20%至約 40%。在一些實施例中，該種子培養基或該種子培養物之溶解氧為約 25%至約 35%。在一些實施例中，該種子培養基或該種子培養物之溶解氧為約 30%。在一些實施例培養物，該種子培養物之溶解氧為約 30%。

【0405】　在前述方法中之任一者中，步驟(b)可具有任何適合之持續時間，例如約 6 小時至約 20 天，例如約 6 小時、約 7 小時、約 8 小時、約 9 小時、約 10 小時、約 11 小時、約 12 小時、約 13 小時、約 14 小時、約 15 小時、約 16 小時、

約 18 小時、約 19 小時、約 20 小時、約 21 小時、約 22 小時、約 23 小時、約 1 天、約 1.5 天、約 2 天、約 2.5 天、約 3 天、約 3.5 天、約 4 天、約 4.5 天、約 5 天、約 5.5 天、約 6 天、約 6.5 天、約 7 天、約 7.5 天、約 8 天、約 8.5 天、約 9 天、約 9.5 天、約 10 天、約 10.5 天、約 11 天、約 11.5 天、約 12 天、約 12.5 天、約 13 天、約 13.5 天、約 14 天、約 14.5 天、約 15 天、約 15.5 天、約 16 天、約 16.5 天、約 17 天、約 17.5 天、約 18 天、約 18.5 天、約 19 天、約 19.5 天或約 20 天。在一些實施例中，步驟(b)之持續時間為約 1 天至約 10 天。在一些實施例中，步驟(b)之持續時間為約 2 天至約 8 天。在一些實施例中，步驟(b)之持續時間為約 2 天至約 7 天。在一些實施例中，步驟(b)之持續時間為約 2 天至約 6 天。在一些實施例中，步驟(b)之持續時間為約 2 天至約 5 天。在一些實施例中，步驟(b)之持續時間為約 2 天至約 4 天。在一些實施例中，步驟(b)之持續時間為約 2 天至約 3 天。

【0406】　在前述方法中之任一者中，步驟(c)可在任何適合之溫度，例如約 20℃至約 45℃，例如約 20℃、約 21℃、約 22℃、約 23℃、約 24℃、約 25℃、約 26℃、約 27℃、約 28℃、約 29℃、約 30℃、約 31℃、約 32℃、約 33℃、約 34℃、約 35℃、約 36℃、約 37℃、約 38℃、約 39℃、約 40℃、約 41℃、約 42℃、約 43℃、約 44℃或約 45℃之溫度下進行。在一些實施例中，在約 25℃至約 40℃之溫度下進行步驟(c)。在一些實施例中，在約 35℃至約 39℃之溫度下進行步驟(c)。在一些實施例中，在約 36℃至約 38℃之溫度下進行步驟(c)。在一些實施例中，在約 37℃之溫度下進行步驟(c)。

【0407】　在前述方法中之任一者中，可在一或多個生物反應器，例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20 或更多個生物反應器(例如不鏽鋼生物反應器或單次

使用生物反應器(例如 WAVE BIOREACTOR™))中進行步驟(c)。在一些實施例中，在 3 個生物反應器或 4 個生物反應器中進行步驟(c)。在一些實施例中，在 3 個生物反應器中進行步驟(c)。

【0408】 在前述方法中之任一者中，該接種物培養基或該接種物培養物可具有任何適合之 pH 值。舉例而言，在一些實施例中，該接種物培養基或該接種物培養物之 pH 值為約 5 至約 9，例如約 5、約 5.5、約 6、約 6.5、約 6.6、約 6.7、約 6.8、約 6.9、約 7.0、約 7.1、約 7.15、約 7.2、約 7.3、約 7.4、約 7.5、約 8.0、約 8.5 或約 9。在一些實施例中，該接種物培養基或該接種物培養物之 pH 值為約 6.5 至約 7.5。在一些實施例中，該接種物培養基或該接種物培養物之 pH 值為約 7.0 至約 7.5，例如約 7.0、約 7.05、約 7.1、約 7.15、約 7.2、約 7.25、約 7.3、約 7.35、約 7.4、約 7.45 或約 7.5。在一些實施例中，該接種物培養基或該接種物培養物之 pH 值為約 7.1。在一些實施例培養物，該接種物培養物之 pH 值為約 7.1。

【0409】 在前述方法中之任一者中，該接種物培養基或該接種物培養物可具有任何適合之溶解氧，例如約 10%至約 60% (例如約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%、約 40%、約 41%、約 42%、約 43%、約 44%、約 45%、約 46%、約 47%、約 48%、約 49%、約 50%、約 51%、約 52%、約 53%、約 54%、約 55%、約 56%、約 57%、約 58%、約 59%或約 60%)。在一些實施例中，該接種物培養基或該接種物培養物之溶解氧為約 15%至約 50%。在一些實施例中，該接種物培養基或該接種物

培養物之溶解氧為約 20%至約 40%。在一些實施例中，該接種物培養基或該接種物培養物之溶解氧為約 25%至約 35%。在一些實施例中，該接種物培養基或該接種物培養物之溶解氧為約 30%。在一些實施例培養物，該接種物培養物之溶解氧為約 30%。

【0410】 在前述方法中之任一者中，步驟(c)可具有任何適合之持續時間，例如約 6 小時至約 20 天，例如約 6 小時、約 7 小時、約 8 小時、約 9 小時、約 10 小時、約 11 小時、約 12 小時、約 13 小時、約 14 小時、約 15 小時、約 16 小時、約 18 小時、約 19 小時、約 20 小時、約 21 小時、約 22 小時、約 23 小時、約 1 天、約 1.5 天、約 2 天、約 2.5 天、約 3 天、約 3.5 天、約 4 天、約 4.5 天、約 5 天、約 5.5 天、約 6 天、約 6.5 天、約 7 天、約 7.5 天、約 8 天、約 8.5 天、約 9 天、約 9.5 天、約 10 天、約 10.5 天、約 11 天、約 11.5 天、約 12 天、約 12.5 天、約 13 天、約 13.5 天、約 14 天、約 14.5 天、約 15 天、約 15.5 天、約 16 天、約 16.5 天、約 17 天、約 17.5 天、約 18 天、約 18.5 天、約 19 天、約 19.5 天或約 20 天。在一些實施例中，步驟(c)之持續時間為約 1 天至約 10 天。在一些實施例中，步驟(c)之持續時間為約 2 天至約 8 天。在一些實施例中，步驟(c)之持續時間為約 2 天至約 7 天。在一些實施例中，步驟(c)之持續時間為約 2 天至約 6 天。在一些實施例中，步驟(c)之持續時間為約 2 天至約 5 天。在一些實施例中，步驟(c)之持續時間為約 2 天至約 4 天。在一些實施例中，步驟(c)之持續時間為約 2 天至約 3 天。

【0411】 在前述方法中之任一者中，步驟(d)可包括自初始溫度至變化後溫度之溫度變化。在一些實施例中，該初始溫度為約 20℃至約 45℃，例如約 20℃、約 21℃、約 22℃、約 23℃、約 24℃、約 25℃、約 26℃、約 27℃、約 28℃、

約 29℃、約 30℃、約 31℃、約 32℃、約 33℃、約 34℃、約 35℃、約 36℃、約 37℃、約 38℃、約 39℃、約 40℃、約 41℃、約 42℃、約 43℃、約 44℃或約 45℃。在一些實施例中，該初始溫度為約 25℃至約 40℃。在一些實施例中，該初始溫度為約 35℃至約 39℃。在一些實施例中，該初始溫度為約 36℃至約 38℃。在一些實施例中，該初始溫度為約 37℃。

【0412】 在前述方法中之任一者中，該變化後溫度可低於或高於該初始溫度。在一些實施例中，該變化後為約 20℃至約 45℃，例如約 20℃、約 21℃、約 22℃、約 23℃、約 24℃、約 25℃、約 26℃、約 27℃、約 28℃、約 29℃、約 30℃、約 31℃、約 32℃、約 33℃、約 34℃、約 35℃、約 36℃、約 37℃、約 38℃、約 39℃、約 40℃、約 41℃、約 42℃、約 43℃、約 44℃或約 45℃。在一些實施例中，該變化後溫度為約 25℃至約 35℃。在一些實施例中，該初始溫度為約 30℃至約 35℃。在一些實施例中，該初始溫度為約 32℃至約 34℃。在一些實施例中，該初始溫度為約 33℃。

【0413】 在前述方法中之任一者中，該溫度變化可發生在約 1 小時至約 140 小時之時段內，例如約 1 小時、約 2 小時、約 3 小時、約 4 小時、約 5 小時、約 6 小時、約 7 小時、約 8 小時、約 9 小時、約 10 小時、約 11 小時、約 12 小時、約 13 小時、約 14 小時、約 15 小時、約 16 小時、約 18 小時、約 19 小時、約 20 小時、約 21 小時、約 22 小時、約 23 小時、約 24 小時、約 25 小時、約 30 小時、約 35 小時、約 40 小時、約 45 小時、約 50 小時、約 55 小時、約 56 小時、約 57 小時、約 58 小時、約 59 小時、約 60 小時、約 61 小時、約 62 小時、約 63 小時、約 64 小時、約 65 小時、約 66 小時、約 67 小時、約 68 小時、約 69 小時、約 70 小時、約 71 小時、約 72 小時、約 73 小時、約 74 小時、約 75 小時、

約 76 小時、約 77 小時、約 78 小時、約 79 小時、約 80 小時、約 85 小時、約 90 小時、約 95 小時、約 100 小時、約 105 小時、約 110 小時、約 115 小時、約 120 小時、約 125 小時、約 130 小時、約 135 小時或約 140 小時。舉例而言，在一些實施例中，該溫度變化發生在約 12 小時至約 120 小時之時段內。在一些實施例中，該溫度變化發生在約 24 小時至約 96 小時之時段內。在一些實施例中，該溫度變化發生在約 48 小時至約 96 小時之時段內。在一些實施例中，該溫度變化發生在約 60 小時至約 80 小時之時段內。在一些實施例中，該溫度變化發生在約 72 小時之時段內。

【0414】 在前述方法中之任一者中，該生產培養基或該生產培養物可具有任何適合之 pH 值。舉例而言，在一些實施例中，該生產培養基或該生產培養物之 pH 值為約 5 至約 9，例如約 5、約 5.5、約 6、約 6.5、約 6.6、約 6.7、約 6.8、約 6.9、約 7.0、約 7.1、約 7.15、約 7.2、約 7.3、約 7.4、約 7.5、約 8.0、約 8.5 或約 9。在一些實施例中，該生產培養基或該生產培養物之 pH 值為約 6.5 至約 7.5。在一些實施例中，該生產培養基或該生產培養物之 pH 值為約 7.0 至約 7.5，例如約 7.0、約 7.05、約 7.1、約 7.15、約 7.2、約 7.25、約 7.3、約 7.35、約 7.4、約 7.45 或約 7.5。在一些實施例中，該生產培養基或該生產培養物之 pH 值為約 7.0。在一些實施例中，該生產培養物之 pH 值為約 7.0。

【0415】 在前述方法中之任一者中，可在任何適合之培養容器，例如生產生物反應器(例如不鏽鋼生物反應器或單次使用生物反應器(例如 WAVE BIOREACTOR™))中進行步驟(d)。

【0416】 在前述方法中之任一者中，該生產培養基或該生產培養物可具有任何適合之溶解氧，例如約 10%至約 60% (例如約 10%、約 11%、約 12%、約 13%、

約 14%、約 15%、約 16%、約 17%、約 18%、約 19%、約 20%、約 21%、約 22%、約 23%、約 24%、約 25%、約 26%、約 27%、約 28%、約 29%、約 30%、約 31%、約 32%、約 33%、約 34%、約 35%、約 36%、約 37%、約 38%、約 39%、約 40%、約 41%、約 42%、約 43%、約 44%、約 45%、約 46%、約 47%、約 48%、約 49%、約 50%、約 51%、約 52%、約 53%、約 54%、約 55%、約 56%、約 57%、約 58%、約 59%或約 60%)。在一些實施例中，該生產培養基或該生產培養物之溶解氧為約 15%至約 50%。在一些實施例中，該生產培養基或該生產培養物之溶解氧為約 20%至約 40%。在一些實施例中，該生產培養基或該生產培養物之溶解氧為約 25%至約 35%。在一些實施例中，該生產培養基或該生產培養物之溶解氧為約 30%。在一些實施例培養物，該生產培養物之溶解氧為約 30%。

【0417】 在前述方法中之任一者中，步驟(d)可具有任何適合之持續時間，例如約 6 小時至約 30 天，例如約 6 小時、約 7 小時、約 8 小時、約 9 小時、約 10 小時、約 11 小時、約 12 小時、約 13 小時、約 14 小時、約 15 小時、約 16 小時、約 18 小時、約 19 小時、約 20 小時、約 21 小時、約 22 小時、約 23 小時、約 1 天、約 1.5 天、約 2 天、約 2.5 天、約 3 天、約 3.5 天、約 4 天、約 4.5 天、約 5 天、約 5.5 天、約 6 天、約 6.5 天、約 7 天、約 7.5 天、約 8 天、約 8.5 天、約 9 天、約 9.5 天、約 10 天、約 10.5 天、約 11 天、約 11.5 天、約 12 天、約 12.5 天、約 13 天、約 13.5 天、約 14 天、約 14.5 天、約 15 天、約 15.5 天、約 16 天、約 16.5 天、約 17 天、約 17.5 天、約 18 天、約 18.5 天、約 19 天、約 19.5 天、約 20 天、約 20.5 天、約 21 天、約 21.5 天、約 22 天、約 22.5 天、約 23 天、約 23.5 天、約 24 天、約 24.5 天、約 25 天、約 25.5 天、約 26 天、約 26.5 天、約 27 天、約 27.5 天、約 28 天、約 28.5 天、約 29 天、約 29.5 天或約 30 天。在一些實施

例中，步驟(c)之持續時間為約 1 天至約 10 天。在一些實施例中，步驟(d)之持續時間為約 2 天至約 25 天。在一些實施例中，步驟(d)之持續時間為約 5 天至約 25 天。在一些實施例中，步驟(d)之持續時間為約 7 天至約 14 天。在一些實施例中，步驟(d)之持續時間為約 8 天至約 16 天。在一些實施例中，步驟(c)之持續時間為約 10 天至約 14 天。在一些實施例中，步驟(d)之持續時間為約 11 天至約 13 天。在一些實施例中，步驟(d)之持續時間為約 12 天。

【0418】　在另一態樣中，本文中提供一種製造包含 IL-22 Fc 融合蛋白之組合物的方法，該方法包括以下步驟：(a)提供包含編碼 IL-22 Fc 融合蛋白之核酸的宿主細胞，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含藉由連接子連接至 Fc 區之 IL-22 多肽；(b)在種子培養基中在適合形成種子培養物之條件下培養該宿主細胞；(c)在適合形成接種物培養物之條件下將該種子培養物接種於接種物培養基中；及(d)在生產培養基中在適合形成生產培養物之條件下培養該接種物培養物，其中該生產培養物之該等宿主細胞表現該 IL-22 Fc 融合蛋白，且其中步驟(d)之持續時間為至少 10 天，從而製造該包含 IL-22 Fc 融合蛋白之組合物，其中該 IL-22 多肽經糖基化，且其中該組合物之平均唾液酸含量在 6 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。在一些實施例中，步驟(d)之持續時間為至少 11 天、至少 12 天或至少 13 天。在一些實施例中，步驟(d)之持續時間為 12 天。

【0419】　在前述方法中之任一者中，步驟(d)可進一步包括藉由營養物饋料向該生產培養基或該生產培養物中添加營養物。

【0420】　在前述方法中之任一者中，可使用任何適合之宿主細胞。在一些實施例中，該宿主細胞為原核生物細胞。在其他實施例中，該宿主細胞為真核生物細胞。在一些實施例中，該真核生物細胞為哺乳動物細胞(例如 CHO 細胞，諸

如懸浮液適應性 CHO 細胞)。其他適合之宿主細胞在此項技術中為已知的且描述如下，例如昆蟲細胞或植物細胞。

【0421】 前述方法中之任一者均可進一步包括以下步驟：(e)自該生產培養物中收集包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之細胞培養液。在一些實施例中，步驟(e)包括冷卻該生產培養物(例如達至約 1℃至約 10℃(例如約 1℃、約 2℃、約 3℃、約 4℃、約 5℃、約 6℃、約 8℃、約 9℃或約 10℃)，例如 2℃至約 8℃)。在一些實施例中，步驟(e)包括藉由離心自該生產培養基中移除該等宿主細胞以形成該細胞培養液。在一些實施例中，步驟(e)進一步包括過濾該細胞培養液。

【0422】 前述方法中之任一者均可進一步包括以下步驟：(f)純化該細胞培養液中之該 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，步驟(f)包括以下子步驟中之一、二、三或所有四個：(i)使該細胞培養液與親和層析載體接觸，視情況用洗滌緩衝液洗滌該親和層析載體，用第一溶析緩衝液自該親和層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成親和庫，且視情況使該親和庫中之病毒不活化；(ii)使該親和庫與陰離子交換層析載體接觸，視情況用第一平衡緩衝液洗滌該陰離子交換層析載體，用第二溶析緩衝液自該陰離子交換層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成陰離子交換庫，且視情況過濾該陰離子交換庫以移除病毒；以及(iii)使該陰離子交換庫與疏水性相互作用層析載體接觸並收集流通液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經純化產物庫，且視情況用第二平衡緩衝液洗滌該疏水性相互作用層析載體，收集流通液，並將其添加至該經純化產物庫。

【0423】 在另一態樣中，本發明提供一種純化 IL-22 Fc 融合蛋白之方法，該方法包括以下步驟中之一、二、三或所有四個：(a)提供包含 IL-22 Fc 融合蛋白之細胞培養液且視情況使該細胞培養液中之病毒不活化；(b)使該細胞培養液與

親和層析載體接觸，視情況用洗滌緩衝液洗滌該親和層析載體，用第一溶析緩衝液自該親和層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成親和庫，且視情況使該親和庫中之病毒不活化；(c)使該親和庫與陰離子交換層析載體接觸，視情況用第一平衡緩衝液洗滌該陰離子交換層析載體，用第二溶析緩衝液自該陰離子交換層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成陰離子交換庫，且視情況過濾該陰離子交換庫以移除病毒；以及(d)使該陰離子交換庫與疏水性相互作用層析載體接觸並收集流通液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經純化產物庫，且視情況用第二平衡緩衝液洗滌該疏水性相互作用層析載體，收集流通液，並將其添加至該經純化產物庫。在一些實施例中，該 IL-22 多肽經糖基化。在一些實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 6 至約 16 莫耳唾液酸(例如約 6、約 7、約 8、約 9、約 10、約 11、約 12、約 13、約 14、約 15 或約 16 莫耳唾液酸)/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0424】 前述方法中之任一者均可包括濃縮該經純化產物庫以形成濃縮產物庫。前述方法中之任一者均可包括對該經純化產物庫進行超濾。在前述方法中任一者之一些實施例中，超濾包括用再生纖維素超濾膜，例如 10 kDa 複合再生纖維素超濾膜過濾該經純化產物庫。前述方法中之任一者均可包括交換該濃縮產物庫之緩衝液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之超濾滲濾(UFDF)庫。在一些實施例中，將該濃縮產物庫之緩衝液交換為包含以最終濃度計 0.01 M 磷酸鈉 pH 7.2 之滲濾緩衝液。前述方法中之任一者均可包括用調配緩衝液調節該 UFDF 庫以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經調節 UFDF 庫。

【0425】 前述方法中之任一者均可包括一或多個病毒不活化步驟。舉例而言，在前述方法中任一者之一些實施例中，使病毒不活化包括向該細胞培養液、

該親和庫、該陰離子交換庫及/或該經純化產物庫中添加清潔劑。在一些實施例中，使病毒不活化包括向該細胞培養液中添加清潔劑。舉例而言，在一些實施例中，子步驟(i)進一步包括在使該細胞培養液與該親和管柱接觸之前向該細胞培養液中添加清潔劑而使病毒不活化。在一些實施例中，使病毒不活化包括向該親和庫中添加清潔劑。在一些實施例中，子步驟(i)包括藉由向該親和庫中添加清潔劑使病毒不活化。

【0426】 任何適合之清潔劑均可用於使病毒不活化，例如 TRITON® X-100 或 TRITON® CG110。在一些實施例中，該細胞培養液中之清潔劑之最終濃度為約 0.001%至約 5% (例如 v/v)，例如約 0.001%、約 0.01%、約 0.1%、約 0.2%、約 0.3%、約 0.4%、約 0.5%、約 0.6%、約 0.7%、約 0.8%、約 0.9%、約 1%、約 1.1%、約 1.2%、約 1.3%、約 1.4%、約 1.5%、約 2%、約 3%、約 4%或約 5%。在一些實施例中，該細胞培養液中之清潔劑之最終濃度為約 0.01%至約 2%。在一些實施例中，該清潔劑之最終濃度為約 0.1%至約 1%。在一些實施例中，該清潔劑之最終濃度為約 0.3%至約 0.5%。在一些實施例中，該清潔劑之最終濃度為約 0.5%。使病毒不活化可在任何適合之溫度下進行，例如約 4℃至約 40℃，例如約 4℃、約 5℃、約 6℃、約 7℃、約 8℃、約 9℃、約 10℃、約 11℃、約 12℃、約 13℃、約 14℃、約 15℃、約 16℃、約 17℃、約 18℃、約 19℃、約 20℃、約 21℃、約 22℃、約 23℃、約 24℃、約 25℃、約 26℃、約 27℃、約 28℃、約 29℃、約 30℃、約 31℃、約 32℃、約 33℃、約 34℃、約 35℃、約 36℃、約 37℃、約 38℃、約 39℃或約 40℃。在一些實施例中，使病毒不活化在約 20℃至約 25℃下進行。在一些實施例中，使病毒不活化之持續時間超過約 0.25 小時，例如超過約 0.25 小時、約 0.5 小時、約 1 小時、約 1.5 小時、約 2 小時、

約 2.5 小時、約 3 小時、約 3.5 小時、約 4 小時、約 4.5 小時、約 5 小時、約 5.5 小時、約 6 小時或更久。在一些實施例中，使病毒不活化之持續時間超過約 0.5 小時，例如約 5 小時至 48 小時、約 5 小時至約 24 小時，或任何其他適合之持續時間。

【0427】 在另一實例中，本發明提供一種製造包含 IL-22 Fc 融合蛋白之組合物的方法，該方法包括在生產培養基中在適合形成生產培養物之條件下培養包含複數個宿主細胞之接種物培養物，其中該等宿主細胞包含編碼 IL-22 Fc 融合蛋白之核酸，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含藉由連接子連接至 Fc 區之 IL-22 多肽，其中該等宿主細胞表現該 IL-22 Fc 融合蛋白，且其中該培養之持續時間為至少 10 天，從而製造該包含 IL-22 Fc 融合蛋白之組合物，其中該 IL-22 多肽經糖基化，且其中該組合物之平均唾液酸含量在 6 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。在一些實施例中，該培養之持續時間為至少 11 天、至少 12 天或至少 13 天。在一些實施例中，該培養之持續時間為 12 天。

【0428】 在前述態樣中任一者之一些實施例中，該方法進一步包括藉由在種子培養基中在適合形成種子培養物之條件下培養包含編碼該 IL-22 Fc 融合蛋白之核酸的宿主細胞來產生種子培養物，隨後在該生產培養基中培養該接種物培養物。在一些實施例中，該方法進一步包括在適合形成接種物培養物之條件下將該種子培養物接種在接種物培養基中，隨後在該生產培養基中培養該接種物培養物。

【0429】 可使用任何適合之宿主細胞。在該等方法中之任一者中，該等宿主細胞可為真核生物宿主細胞或原核生物宿主細胞。在一些實施例中，該等真核生物宿主細胞為哺乳動物宿主細胞。在一些實施例中，該等哺乳動物宿主細胞

為中國倉鼠卵巢(CHO)細胞。在一些實施例中，收集該細胞培養液包括：(i)冷卻該生產培養物；(ii)藉由離心自該生產培養基中移除該等宿主細胞以形成該細胞培養液；及/或(iii)過濾該細胞培養液。

【0430】 該等方法中之任一者均可進一步包括純化該細胞培養液中之該 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，純化該 IL-22 Fc 融合蛋白包括以下子步驟：(i)使該細胞培養液與親和層析載體接觸，視情況用洗滌緩衝液洗滌該親和層析載體，用第一溶析緩衝液自該親和層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成親和庫，且視情況使該親和庫中之病毒不活化；(ii)使該親和庫與陰離子交換層析載體接觸，視情況用第一平衡緩衝液洗滌該陰離子交換層析載體，用第二溶析緩衝液自該陰離子交換層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成陰離子交換庫，且視情況過濾該陰離子交換庫以移除病毒；以及(iii)使該陰離子交換庫與疏水性相互作用層析載體接觸並收集流通液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經純化產物庫，且視情況用第二平衡緩衝液洗滌該疏水性相互作用層析載體，收集流通液，並將其添加至該經純化產物庫。在一些實施例中，純化該 IL-22 Fc 融合蛋白進一步包括以下子步驟中之一或多個：(iv)濃縮該經純化產物庫以形成濃縮產物庫；(v)對該經純化產物庫進行超濾；(vi)交換該濃縮產物庫之緩衝液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之超濾滲濾(UFDF)庫；及/或(vii)用調配緩衝液調節該 UFDF 庫以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經調節 UFDF 庫。在一些實施例中，子步驟(i)進一步包括在使該細胞培養液與該親和管柱接觸之前藉由向該細胞培養液中添加清潔劑使病毒不活化。在另一實例中，本發明提供一種控制包含 IL-22 Fc 融合蛋白之組合物之唾液酸含量的方法，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含藉由連接子連接至抗體 Fc 區之糖基化 IL-22 多肽，該方法包括：在生產培養

基中在適合形成生產培養物之條件下將包含複數個宿主細胞之接種物培養物培養至少約 10 天，其中該等宿主細胞包含編碼該 IL-22 Fc 融合蛋白之核酸且表現該 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該組合物之平均唾液酸含量在 6 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內；及將該組合物之平均唾液酸含量增濃至 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內，從而控制該組合物之唾液酸含量。在一些實施例中，該方法包括將該組合物之平均唾液酸含量增濃至 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

【0431】 本文中所描述之方法中之任一者均可包括增濃該組合物之唾液酸含量。增濃可使用任何適合之方法來進行，例如藉由如本文中所描述來純化 IL-22 Fc 融合蛋白。舉例而言，在一些實施例中，增濃平均唾液酸含量包括自該生產培養物收集包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之細胞培養液。在一些實施例中，收集該細胞培養液包括：(i)冷卻該生產培養物；(ii)藉由離心自該生產培養基中移除該等宿主細胞以形成該細胞培養液；及/或(iii)過濾該細胞培養液。增濃該組合物之平均唾液酸含量可包括純化細胞培養液中之 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，純化該 IL-22 Fc 融合蛋白包括以下子步驟：(i)使該細胞培養液與親和層析載體接觸，視情況用洗滌緩衝液洗滌該親和層析載體，用第一溶析緩衝液自該親和層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成親和庫，且視情況使該親和庫中之病毒不活化；(ii)使該親和庫與陰離子交換層析載體接觸，視情況用第一平衡緩衝液洗滌該陰離子交換層析載體，用第二溶析緩衝液自該陰離子交換層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成陰離子交換庫，且視情況過濾該陰離子交換庫以移除病毒；以及(iii)使該陰離子交換庫與疏水性相互作用層析載體接觸並收集流通液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經純化產物庫，且視情況用第二平衡

緩衝液洗滌該疏水性相互作用層析載體，收集流通液，並將其添加至該經純化產物庫。在一些實施例中，純化該 IL-22 Fc 融合蛋白進一步包括以下子步驟中之一或多個：(iv)濃縮該經純化產物庫以形成濃縮產物庫；(v)對該經純化產物庫進行超濾；(vi)交換該濃縮產物庫之緩衝液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之超濾滲濾(UFDF)庫;及/或(vii)用調配緩衝液調節該 UFDF 庫以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經調節 UFDF 庫。在一些實施例中，子步驟(i)進一步包括在使該細胞培養液與該親和管柱接觸之前藉由向該細胞培養液中添加清潔劑使病毒不活化。在一些實施例中，該親和層析載體包括蛋白 A 樹脂、蛋白 G 樹脂或 IL-22 受體樹脂。在一些實施例中，該蛋白 A 樹脂為 MABSELECT SURE®樹脂。在一些實施例中，該陰離子交換層析載體包含具有多模式功能性樹脂之強陰離子交換劑。在一些實施例中，該陰離子交換層析載體包含 CAPTO™黏附樹脂。

【0432】 在一些實施例中，該組合物之初始平均唾液酸含量在約 1 至約 8 莫耳(例如約 1、約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7 或約 8 莫耳)唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。在一些實施例中，該組合物之初始平均唾液酸含量為約 6、約 7 或約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該組合物之初始平均唾液酸含量為 6 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在其他實施例中，該組合物之初始平均唾液酸含量為 7 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在其他實施例中,該組合物之初始平均唾液酸含量為 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。在一些實施例中，該方法進一步包括將該平均唾液酸含量增濃至 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。在一些實施例中，該方法進一步包括將該平均唾液酸含量增濃至 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

【0433】 舉例而言，在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自約 1 至約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白範圍內(例如約 1、約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7 莫耳或約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白)之初始平均唾液酸含量增濃至約 8 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自約 3 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至約 8 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自約 4 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至約 8 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自約 5 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至約 8 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自約 6 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至約 8 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自約 7 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至約 8 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至約 8 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。

【0434】 在其他實例中，在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自 1 至 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白範圍內(例如 1、2、3、4、5、6、7 或 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白)之初始平均唾液酸含量增濃至 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包

括將平均唾液酸含量自 3 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自 4 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自 5 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自 6 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自 7 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。

【0435】　在其他實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自約 1 至約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白範圍內(例如約 1、約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7 莫耳或約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白)之初始平均唾液酸含量增濃至約 8 至約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。舉例而言，在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自約 3 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至約 8 至約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自約 3 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至約 8 至約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進

一步包括將平均唾液酸含量自約 4 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至約 8 至約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自約 5 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至約 8 至約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自約 6 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至約 8 至約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自約 7 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至約 8 至約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至約 8 至約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。

【0436】 在其他實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自 1 至 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白範圍內(例如 1、2、3、4、5、6、7 或 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白)之初始平均唾液酸含量增濃至 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。舉例而言，在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自 3 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自 3 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自 4 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc

融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自 5 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自 6 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自 7 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。在一些實施例中，該方法進一步包括將平均唾液酸含量自 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之初始平均唾液酸含量增濃至 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍。

【0437】 在前述方法中任一者之一些實施例中，該親和層析載體包括蛋白 A 樹脂、蛋白 G 樹脂或 IL-22 受體樹脂。在前述方法中任一者之一些實施例中，該親和層析載體包含蛋白 A 樹脂。在一些實施例中，該蛋白 A 樹脂為 MABSELECT SURE®樹脂。在一些實施例中，該洗滌緩衝液包含以最終濃度計 0.4 M 磷酸鉀，pH 7.0。在一些實施例中，該第一溶析緩衝液包含以最終濃度計 0.3 M L-精胺酸鹽酸鹽、0.013 M 磷酸鈉，pH 3.8。

【0438】 在前述方法中任一者之一些實施例中，該陰離子交換層析載體包含具有多模式功能性樹脂之強陰離子交換劑。在一些實施例中，該陰離子交換層析載體包含 CAPTO™黏附樹脂。在一些實施例中，該第一平衡緩衝液包含以最終濃度計 0.04 M 乙酸鈉，pH 5.8。

【0439】 在前述方法中任一者之一些實施例中，該第二溶析緩衝液為梯度溶析緩衝液。在一些實施例中，該梯度溶析緩衝液包含 0.04 M 乙酸鈉 pH 5.8 至 0.04

M 乙酸鈉、0.3 M 硫酸鈉 pH 5.8。

【0440】 在前述方法中任一者之一些實施例中，該第二平衡緩衝液包含以最終濃度計 0.025 M MOPS、0.3 M 硫酸鈉，pH 7.0。

【0441】 本發明亦提供一種選擇包括 IL-22 Fc 融合蛋白之批料用於發佈的方法，該方法包括以下步驟中之一、二或所有三個：(a)提供包含 IL-22 Fc 融合蛋白之批料；(b)評定該批料之唾液酸水準；及(c)若該批料之平均唾液酸含量在 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內，則選擇該批料用於發佈。在一些實施例中，步驟(c)包括若該批料之平均唾液酸含量為 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白，則選擇該批料用於發佈。在一些實施例中，步驟(c)包括若該批料之平均唾液酸含量為 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白，則選擇該批料用於發佈。在一些實施例中，步驟(c)包括若該批料之平均唾液酸含量為 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白，則選擇該批料用於發佈。在一些實施例中，步驟(b)包括使用高效液相層析(HPLC，包括逆相 HPLC (RP-HPLC))、超高效液相層析(UHPLC)、毛細管電泳或比色分析來評定該批料之唾液酸水準。在一些實施例中，步驟(b)包括使用 HPLC (例如 RP-HPLC)。

【0442】 本文中所描述之方法中之任一者均可用於控制 IL-22 Fc 融合蛋白或其組合物之唾液酸含量的方法中。本文中所描述之方法中之任一者均可用於藉由調節 IL-22 Fc 融合蛋白或其組合物之唾液酸含量來降低 IL-22 Fc 融合蛋白或其組合物之活體內清除率/增加其半衰期的方法中。

【0443】 用本文中所描述之表現或選殖載體對宿主細胞進行轉染或轉型以用於 IL-22 多肽產生，且在視情況經修飾之習知營養培養基中培養，以誘導啟動子、選擇轉型子或擴增編碼所要序列之基因。熟習此項技術者可在不過度實驗

之情況下選擇培養條件，諸如培養基、溫度、pH 值及其類似條件。一般而言，用於使細胞培養物之生產率最大化之原理、方案及實用技術可見於以下文獻中：Mammalian Cell Biotechnology: A Practical Approach, M. Butler 編, (IRL Press, 1991)；及 Sambrook 等人, *同上*。

【0444】 轉染方法為一般熟練技術人員已知的，藉由 $CaPO_4$ 及電穿孔或脂質轉染(例如，使用 LIPOFECTAMINE®。視所使用之宿主細胞而定，使用對該等細胞適當之標準技術進行轉型。如 Sambrook 等人, 同上中所描述之採用氯化鈣之鈣處理或電穿孔一般用於原核生物或含有實質性細胞壁屏障之其他細胞。如 Shaw 等人, Gene, 23:315 (1983)及 1989 年 6 月 29 日公開之 WO 89/05859 所描述，用根癌土壤桿菌感染用於對某些植物細胞進行轉型。對於無該等細胞壁之哺乳動物細胞，可採用 Graham 及 van der Eb, Virology, 52:456-457 (1978)之磷酸鈣沈澱法。哺乳動物細胞宿主系統轉型之一般態樣已描述於美國專利第 4,399,216 號中。轉型至酵母中典型地根據 Van Solingen 等人, J. Bact, 130:946 (1977)及 Hsiao 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 76:3829 (1979)之方法來進行。然而，亦可使用引入 DNA 至細胞中之其他方法，諸如藉由核顯微注射、電穿孔、與完整細胞之細菌原生質體融合或聚陽離子，例如聚凝胺、聚鳥胺酸。關於對哺乳動物細胞進行轉型之各種技術，參見 Keown 等人, Methods in Enzymology, 185:527-537 (1990)及 Mansour 等人, Nature, 336:348-352 (1988)。

【0445】 可自培養基或自宿主細胞溶解物中回收本發明之重組表現多肽。以下程序為例示性適合純化程序：藉由在離子交換管柱上進行分級；乙醇沈澱；逆相 HPLC；在二氧化矽上或陽離子交換樹脂(諸如 DEAE)上層析；層析聚焦；SDS-PAGE；硫酸銨沈澱；使用例如 Sephadex G-75 進行凝膠過濾；用於移除諸

如 IgG 之污染物之蛋白 A 瓊脂糖管柱；及用於結合本發明之多肽之抗原決定基標籤化形式之金屬螯合管柱。可採用各種蛋白質純化方法且該等方法為此項技術中已知的並且描述於例如 Deutscher, Methods in Enzymology, 182 (1990)；Scopes, Protein Purification: Principles and Practice, Springer-Verlag, New York (1982)中。所選擇之純化步驟將視例如所使用之產生方法之性質及所產生之特定多肽而定。

【0446】 可採用此項技術中眾所周知的替代方法來製備本發明之多肽。舉例而言，編碼多肽或其部分之序列可藉由使用固相技術進行直接肽合成來產生(參見例如 Stewart 等人, 1969, *Solid-Phase Peptide Synthesis*, W.H. Freeman Co., San Francisco, CA；Merrifield, *J.* 1963,*Am. Chem. Soc.*, 85:2149-2154)。活體外蛋白質合成可使用手工技術或藉由自動化來進行。自動合成可例如使用 Applied Biosystems 肽合成儀(Foster City，CA)，使用製造商說明來實現。可單獨化學合成本發明多肽或其部分之各個部分並使用化學或酶促方法組合以產生全長多肽或其部分。

【0447】 在其他實施例中，本發明提供包含與異源多肽或胺基酸序列融合之本文中所描述之多肽中之任一者的嵌合分子。該等嵌合分子之實例包括但不限於與抗原決定基標籤序列或免疫球蛋白 Fc 區融合之本文中所描述之多肽中之任一者。

【0448】 適用於在本文中之載體中選殖或表現 DNA 之宿主細胞包括原核生物、酵母或高級真核生物細胞。適合之原核生物包括但不限於真細菌，諸如革蘭氏陰性或革蘭氏陽性生物體，例如腸桿菌科，諸如大腸桿菌。各種大腸桿菌菌株可公開獲得，諸如大腸桿菌 K12 菌株 MM294 (ATCC 31,446)、大腸桿菌

X1776 (ATCC 31,537)；大腸桿菌菌株 W3110 (ATCC 27,325)及 K5 772 (ATCC 53,635)。

【0449】 除原核生物以外，諸如絲狀真菌或酵母之真核微生物亦為適用於 IL-22 編碼之載體的選殖或表現宿主。釀酒酵母為常用低級真核生物宿主微生物。

【0450】 適用於表現糖基化 IL-22 之宿主細胞來源於多細胞生物體。無脊椎動物細胞之實例包括昆蟲細胞，諸如果蠅 S2 及夜蛾 Sf9，以及植物細胞。可用哺乳動物宿主細胞株之實例包括中國倉鼠卵巢(CHO)及 COS 細胞。更特定實例包括藉由 SV40 轉型之猴腎 CV1 細胞(COS-7，ATCC CRL 1651)；人類胚胎腎細胞(經次選殖以供在懸浮液培養基中生長之 293 或 293 細胞，Graham 等人, J. Gen Virol., 36:59 (1977))；中國倉鼠卵巢細胞/-DHFR (CHO，Urlaub 及 Chasin, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4216 (1980))；小鼠足細胞(TM4，Mather, Biol. Reprod., 23:243-251 (1980))；人類肺細胞(W138，ATCC CCL 75)；人類肝臟細胞(Hep G2、HB 8065)；及小鼠乳房腫瘤細胞(MMT 060562，ATCC CCL51)。認為適當宿主細胞之選擇在熟習此項技術者之能力範圍內。

【0451】 可將編碼 IL-22 之核酸(例如 cDNA 或基因組 DNA)插入可複製載體中以用於克隆(擴增 DNA)或用於表現。各種載體可公開獲得。載體可例如呈質體、黏質體、病毒粒子或噬菌體形式。可藉由多種程序將適當核酸序列插入載體中。一般而言，使用此項技術中已知的技術將 DNA 插入適當限制內切核酸酶位點中。載體組分一般包括但不限於信號序列、複製起點、一或多個標記基因、增強子元件、啟動子及轉錄終止序列中之一或多個。含有此等組分中之一或多種之適合載體之構築採用熟練技術人員已知的標準連接技術。

【0452】 IL-22 多肽不僅可直接重組產生，而且可作為與異源多肽之融合多

肽，該異源多肽可為信號序列或在成熟蛋白質或多肽之 N-末端具有特異性裂解位點之其他多肽，以及 IL-22 Fc 融合蛋白。一般而言，該信號序列可為載體之組分，或其可為插入該載體中之 IL-22 DNA 之一部分。信號序列可為例如選自鹼性磷酸酶、青黴素酶、1pp 或熱穩定腸毒素 II 前導序列之原核生物信號序列。對於酵母分泌而言，該信號序列可為例如酵母轉化酶前導序列、α 因子前導序列(包括酵母屬及克盧費氏酵母屬"--因子前導序列，後者描述於美國專利第 5,010,182 號中)，或酸性磷酸酶前導序列、白色念珠菌葡萄糖澱粉酶前導序列(1990 年 4 月 4 日公開之 EP362,179)或 1990 年 11 月 15 日公開之 WO 90/13646 中所描述之信號。在哺乳動物細胞表現中，哺乳動物信號序列可用於指導蛋白質分泌，例如來自相同或相關物種之分泌多肽之信號序列，以及病毒分泌前導序列。

【0453】　表現載體及選殖載體兩者均含有使載體能夠在一或多種個所選宿主細胞中複製之核酸序列。對於各種細菌、酵母及病毒而言，該等序列為眾所周知的。質體 pBR322 之複製起點適用於大部分革蘭氏陰性細菌，2:質體起點適用於酵母，且各種病毒起點(SV40、多瘤、腺病毒、VSV 或 BPV)可用於在哺乳動物細胞中選殖載體。

【0454】　表現及選殖載體典型地將含有選擇基因，亦稱為選擇標記物。典型選擇基因編碼如下蛋白質：(a)賦予針對抗生素或其他毒素(例如安比西林、新黴素、胺甲喋呤或四環素)之抗性；(b)補充營養缺陷；或(c)提供不可得自複合物培養基之重要營養物質，例如桿菌之編碼 D-丙胺酸消旋酶之基因。

【0455】　哺乳動物細胞之適合選擇標記物之實例為能夠鑑定勝任攝取 IL-22 核酸之細胞的標記物，諸如 DHFR 或胸苷激酶。當採用野生型 DHFR 時，適當

宿主細胞為如 Urlaub 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:4216 (1980)所描述而製備並增殖之缺乏 DHFR 活性之 CHO 細胞株。用於酵母之適合選擇基因為酵母質體 YRp7 中所存在之 trp1 基因[參見例如 Stinchcomb 等人, Nature, 282:39(1979)；Kingsman 等人, Gene, 7:141 (1979)；Tschemper 等人, Gene, 10:157 (1980)]。trp1 基因為缺乏在色胺酸中生長之能力的酵母突變株，例如 ATCC 第 44076 號或 PEP4-1 提供選擇標記物[Jones, Genetics, 85:12 (1977)]。

【0456】 表現及選殖載體通常含有與 IL-22 核酸序列可操作地連接以指導 mRNA 合成之啟動子。各種潛在宿主細胞識別之啟動子為眾所周知的。適用於原核生物宿主之啟動子包括正交-內醯胺酶及乳糖啟動子系統(參見例如 Chang 等人, Nature, 275:615 (1978)；Goeddel 等人, Nature, 281:544 (1979))、鹼性磷酸酶、色胺酸(trp)啟動子系統(參見例如 Goeddel, Nucleic Acids Res., 8:4057 (1980)；EP 36,776)及雜合啟動子，諸如 tac 啟動子(參見例如 deBoer 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80:21-25 (1983))。用於細菌系統之啟動子亦將含有可操作地連接至編碼 IL-22 之 DNA 的夏因-達爾加諾(Shine-Dalgarno；S.D.)序列。

【0457】 用於酵母宿主之適合啟動子序列之實例包括 3-磷酸甘油酸激酶啟動子(參見例如 Hitzeman 等人, J. Biol. Chem, 255:2073 (1980))或其他糖解酶(參見例如 Hess 等人, J. Adv. Enzyme Reg., 7:149 (1968)；Holland, Biochemistry, 17:4900 (1978))，諸如烯醇酶、甘油醛-3-磷酸脫氫酶、己糖激酶、丙酮酸脫羧酶、磷酸果糖激酶、葡萄糖-6-磷酸異構酶、3-磷酸甘油酸變位酶、丙酮酸激酶、磷酸丙糖異構酶、磷酸葡萄糖異構酶及葡萄糖激酶。

【0458】 其他酵母啟動子為具有轉錄受生長條件控制之額外優勢之誘導型啟動子，為醇脫氫酶 2、異細胞色素 C、酸性磷酸酶、與氮代謝相關之降解酶、金

屬硫蛋白、甘油醛-3-磷酸脫氫酶以及負責麥芽糖及半乳糖利用之酶的啟動子區。適合用於酵母表現之載體及啟動子進一步描述於 EP 73,657 中。

【0459】 舉例而言，藉由自諸如多形瘤病毒、禽痘病毒(1989 年 7 月 5 日公開之 UK 2,211,504)、腺病毒(諸如腺病毒 2)、牛乳頭狀瘤病毒、禽肉瘤病毒、巨細胞病毒、逆轉錄病毒、B 型肝炎病毒及猿猴病毒 40 (SV40)之病毒之基因組、自異源哺乳動物啟動子(例如肌動蛋白啟動子或免疫球蛋白啟動子)及自熱休克啟動子獲得之啟動子來控制哺乳動物宿主細胞中自載體進行之 IL-22 轉錄，其限制條件為該等啟動子與宿主細胞系統相容。

【0460】 可藉由將增強子序列插入載體中來增加高級真核生物對編碼 IL-22 多肽之 DNA 之轉錄。增強子為 DNA 之順式作用元件，通常為約 10 至 300 bp，作用於啟動子以增加其轉錄。現已知許多增強子序列來自哺乳動物基因(球蛋白、彈性蛋白酶、白蛋白、α-胎蛋白及胰島素)。然而，典型地，將使用來自真核生物細胞病毒之增強子。實例包括複製起點後側之 SV40 增強子(bp 100-270)、巨細胞病毒早期啟動子增強子、複製起點後側之多瘤增強子及腺病毒增強子。增強子可在 IL-22 編碼序列之 5'或 3'位置剪接至載體中，但較佳位於啟動子之 5'位點處。

【0461】 用於真核生物宿主細胞(酵母、真菌、昆蟲、植物、動物、人類或來自其他多細胞生物體之有核細胞)之表現載體亦將含有終止轉錄及穩定 mRNA 所必需之序列。該等序列通常可得自真核生物或病毒 DNA 或 cDNA 之 5'及偶爾地 3'非轉譯區。此等區域含有在編碼 IL-22 之 mRNA 之非轉譯部分中轉錄為聚腺苷酸化片段之核苷酸區段。

【0462】 適合改適以便在重組脊椎動物細胞培養物中合成 IL-22 之其他方

法、載體及宿主細胞描述於 Gething 等人, Nature, 293:620-625 (1981)；Mantei 等人, Nature, 281:4046 (1979)；EP 117,060；及 EP 117,058 中。

【0463】 可例如基於本文中所提供之序列，藉由習知南方印漬術、用於 mRNA 轉錄進行定量之北方印漬術(參見例如 Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:5201-5205 (1980))、墨點印漬術(DNA 分析)或原位雜交，使用經適當標記之探針直接量測樣品中之基因擴增及/或表現。替代地，可採用能識別特定雙鏈體，包括 DNA 雙鏈體、RNA 雙鏈體及 DNA-RNA 雜合雙鏈體或 DNA-蛋白質雙鏈體之抗體。又可標記該等抗體，並且可在雙鏈體結合至表面之情況下進行分析，以便在表面上形成雙鏈體後，可偵測結合至雙鏈體之抗體之存在。

【0464】 替代地，可藉由免疫學方法量測基因表現，諸如細胞或組織切片之免疫組織化學染色及細胞培養物或體液之分析，以直接定量基因產物之表現。可用於免疫組織化學染色及/或樣品流體分析之抗體可為單株抗體或多株抗體，並且可在任何哺乳動物中製備。便利地，可製備針對天然序列 IL-22 多肽或針對基於本文中所提供之 DNA 序列之合成肽或針對與 IL-22 DNA 融合並編碼特定抗體抗原決定基之外源序列的抗體。

【0465】 可自培養基或宿主細胞溶解物中回收 IL-22 之諸多形式。若與膜結合，則其可使用適合之清潔劑溶液(例如 TRITON® X-100)或藉由酶促裂解使其自膜釋放。可藉由各種物理或化學手段，諸如冷凍解凍循環、音波處理、機械破壞或細胞溶解劑來破壞用於表現 IL-22 之細胞。

【0466】 可能需要自重組細胞蛋白質或多肽中純化 IL-22。以下程序為例示性適合純化程序：藉由在離子交換管柱上進行分級；乙醇沈澱；逆相 HPLC；在二氧化矽上或陽離子交換樹脂(諸如 DEAE)上層析；層析聚焦；SDS-PAGE；硫酸

銨沈澱；使用例如 Sephadex G-75 進行凝膠過濾；用於移除諸如 IgG 之污染物之蛋白 A 瓊脂糖管柱；及用於結合 IL-22 多肽之抗原決定基標籤化形式之金屬螯合管柱。可採用各種蛋白質純化方法且該等方法為此項技術中已知的並且描述於例如 Deutscher, Methods in Enzymology, 182 (1990); Scopes, Protein Purification: Principles and Practice, Springer-Verlag, New York (1982)中。所選擇之純化步驟將視例如所使用之產生方法之性質及所產生之特定 IL-22 而定。以上所描述之一般方法亦可應用於製備 IL-2 Fc 融合蛋白。

【0467】 類似地，IL-22 Fc 融合蛋白可使用重組方法及組合物產生，如例如以下文獻中所描述：*Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Sambrook 等人, 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press)；及 *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (Innis 等人, 1990. Academic Press, San Diego, CA)。在一個實施例中，提供編碼本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白的經分離之核酸。在另一實施例中，提供包含此種核酸之一或多種載體(例如表現載體)。在另一實施例中，提供包含此種核酸之宿主細胞。在一個此種實施例中，宿主細胞包含(例如經轉型而具有)含有編碼包含 IL-22 Fc 融合蛋白之胺基酸序列之核酸的載體。在某些實施例中，該載體為表現載體。在一個實施例中，該宿主細胞為真核細胞，例如中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或淋巴樣細胞(例如，Y0、NS0、Sp20 細胞)。在一個實施例中，提供製造 IL-22 Fc 融合蛋白之方法，其中該方法包括在適於表現該 Fc 融合蛋白之條件下培養包含如以上所提供之編碼該 IL-22 Fc 融合蛋白之核酸的宿主細胞，及視情況自該宿主細胞(或宿主細胞培養物)中回收該 Fc 融合蛋白。

【0468】 關於 IL-22 Fc 融合蛋白之重組產生，分離出編碼 Fc 融合蛋白之核酸(例如，如本文中所描述)且插入一或多種載體中以便在宿主細胞中進行進一步選

殖及/或表現。可容易地分離此種核酸且使用習知程序(例如，藉由使用能夠特異性結合至編碼該融合蛋白之基因的寡核苷酸探針)來定序。在某些實施例中，當製備 IL-22 Fc 融合蛋白時，可使編碼 IL-22 多肽或其片段之核酸在恆定域上之規定位置處連接至編碼免疫球蛋白恆定域序列之核酸，以便在 IL-22 之 C-末端產生 Fc 融合；然而，N-末端融合亦為可能的。

【0469】 作為構築 IL-22 Fc 融合蛋白之一個實例，在編碼 IL-22 之 DNA 之 3' 端處或近端及在編碼成熟多肽 N-末端之 DNA 處或附近之點(在設想使用不同的前導序列時)或在 IL-22 全長蛋白之 N-末端編碼區處或近端(在採用天然信號時)藉由限制酶裂解編碼 IL-22 之 DNA。隨後容易地將此 DNA 片段插入編碼免疫球蛋白輕鏈或重鏈恆定區之 DNA 中且在必要時藉由缺失突變誘發進行定製。較佳地，當融合蛋白意欲用於針對人類之活體內療法時，此為人類免疫球蛋白。

【0470】 在一些實施例中，該 IL-22 免疫球蛋白嵌合體組裝為單體、異源多聚體或同源多聚體、或二聚體或四聚體。一般而言，此等組裝免疫球蛋白將具有已知單元結構，如以下諸圖所表示。基礎四鏈結構單元為存在 IgG、IgD 及 IgE 之形式。四鏈單元在較高分子量免疫球蛋白中重複；IgM 一般作為由二硫鍵維持在一起之基礎四鏈單元之五聚體存在。IgA 球蛋白及偶爾地 IgG 球蛋白亦可呈多聚體形式存在於血清中。在多聚體之情況下，各四鏈單元可能相同或不同。亦參見 Capon 等人之美國專利第 5,116,964 號，該專利係以引用之方式整體併入本文中。

【0471】 編碼免疫球蛋白輕鏈或重鏈恆定區之 DNA 為已知的，或可容易地得自 cDNA 文庫，或進行合成。參見例如 Adams 等人, Biochemistry 19:2711-2719 (1980)；Gough 等人, Biochemistry 19:2702-2710 (1980)；Dolby 等人, P.N.A.S. USA,

77:6027-6031 (1980)；Rice 等人, P.N.A.S USA 79:7862-7865 (1982)；Falkner 等人, Nature 298:286-288 (1982)；及 Morrison 等人, Ann. Rev. Immunol. 2:239-256 (1984)。本文中提供編碼具有內源前導序列之人類 IL-22 的 DNA 序列(SEQ ID NO:70)。編碼已知或可容易地得自 cDNA 文庫之其他所要結合搭配物的 DNA 序列適用於實踐本發明。

【0472】 將編碼本發明之 IL-22 Fc 融合蛋白之 DNA 轉染至宿主細胞中以供表現。若需要多聚體，則用編碼組成該多聚體之各鏈之 DNA 對宿主細胞進行轉型，其中宿主細胞最佳選擇為能夠以所要方式組裝多聚體之諸鏈。若宿主細胞在轉染前產生免疫球蛋白，則僅需要用與輕鏈或與重鏈融合之結合搭配物進行轉染以產生異源抗體。前述具有一或多個攜帶結合搭配物結構域之臂及一或多個攜帶伴隨可變區之臂的免疫球蛋白引起對結合搭配物配位體及對抗原或治療部分之雙重特異性。多個共轉型細胞用於以上所描述之重組方法以產生具有多種特異性之多肽，諸如以上所論述之異源四聚免疫球蛋白。

【0473】 儘管本發明之免疫黏附素中不需要存在免疫球蛋白輕鏈，但可能存在與 IL-22 免疫球蛋白重鏈融合多肽共價締合之免疫球蛋白輕鏈。在此種情況下，編碼免疫球蛋白輕鏈之 DNA 典型地與編碼 IL-22 免疫球蛋白重鏈融合蛋白之 DNA 共同表現。在分泌後，雜合重鏈及輕鏈將共價締合，從而提供包含兩個二硫鍵連接之免疫球蛋白重鏈-輕鏈對之免疫球蛋白樣結構。適用於製備該等結構之方法揭示於例如 1989 年 3 月 28 日頒予之美國專利第 4,816,567 號中。適用於選殖或表現靶蛋白編碼載體之宿主細胞包括本文所述之原核生物或真核生物細胞。舉例而言，可在細菌中產生 IL-22 Fc 融合蛋白，尤其當糖基化及 Fc 效應子功能不被需要或不利時。關於在細菌中表現多肽，參見例如美國專利第

5,648,237 號、第 5,789,199 號及第 5,840,523 號。亦參見 Charlton, *Methods in Molecular Biology, 第248卷*(B.K.C. Lo 編, Humana Press, Totowa, NJ, 2003), 第 245-254 頁，其描述在大腸桿菌中表現抗體片段。在表現之後，可自細菌細胞漿中分離該 Fc 融合蛋白(處於可溶性部分中)且可進行進一步純化。如實例部分中所例示，其他純化方法包括但不限於使用蛋白 A 管柱進行純化。

【0474】 除原核生物以外，諸如絲狀真菌或酵母之真核微生物亦為適合之選殖或表現宿主，包括糖基化途徑已「人類化」從而產生具有部分或完全人類糖基化模式之抗體的真菌及酵母菌株。參見 Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004)；及 Li 等人, *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)。

【0475】 適合表現糖基化蛋白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細胞及昆蟲細胞。已鑑定眾多可與昆蟲細胞聯合使用，尤其用於轉染草地貪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)細胞之桿狀病毒株。

【0476】 植物細胞培養物亦可用作宿主。參見例如美國專利第 5,959,177 號、第 6,040,498 號、第 6,420,548 號、第 7,125,978 號及第 6,417,429 號(描述用於在轉殖基因植物中產生抗體之 PLANTIBODIES™技術)。

【0477】 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能有用。可用哺乳動物宿主細胞株之其他實例為藉由 SV40 轉型之猴腎 CV1 細胞株(COS-7)；人類胚胎腎細胞株(如例如 Graham 等人, *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)中所描述之 293 或 293 細胞)；幼倉鼠腎細胞(BHK)；小鼠足細胞(如例如 Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)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(BRL 3A)；人類肺細胞(W138)；人類肝臟細胞(Hep G2)；小鼠乳房腫瘤(MMT 060562)；如例如 Mather 等人, *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)中所描述之 TRI 細胞；MRC 5 細胞；及 FS4 細胞。其他可用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 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980))；及骨髓瘤細胞株，諸如 Y0、NS0 及 Sp2/0。關於適用於抗體產生之某些哺乳動物宿主細胞株之綜述，參見例如 Yazaki 及 Wu, *Methods in Molecular Biology, 第248 卷*(B.K.C. Lo 編, Humana Press, Totowa, NJ), 第 255-268 頁(2003)。

C. 分析法

【0478】 本文中所提供之 IL-22 Fc 融合蛋白可藉由此項技術中已知的各種分析法來鑑定、篩檢或表徵其物理/化學性質及/或生物活性。

1. 結合分析法及其他分析法

【0479】 在一個態樣中，測試本發明之 IL-22 Fc 融合蛋白之受體結合活性，例如藉由已知方法，諸如 ELISA、西方印漬分析、Scatchard 之細胞表面結合、表面電漿子共振。在另一態樣中，可使用競爭分析法來鑑定與 IL-22 Fc 融合蛋白競爭結合 IL-22 受體之抗體。在另一態樣中，本發明之 IL-22 Fc 融合蛋白可用於偵測生物樣品中所存在之 IL-22 受體或 IL22 結合蛋白(可溶性受體)之存在或量。在另一態樣中，本發明之 IL-22 Fc 融合蛋白可用於偵測生物樣品中所存在之 IL-22 受體之存在或量。在某些實施例中，首先用非特異性同型對照抗體阻斷生物樣品以使樣品中之任何 Fc 受體飽和。

2. 活性分析

【0480】 在一個態樣中，提供用於鑑定 IL-22 Fc 融合蛋白之生物活性的分析

法。IL-22 多肽或 IL-22 Fc 融合蛋白之生物活性可包括例如與 IL-22 受體結合、刺激 IL-22 信號傳導，以及誘導 STAT3、RegIII 及/或 PancrePAP 表現。在一些實施例中，該分析為如實例 2 中所描述之效能分析(例如受體結合分析、基於細胞之效能分析或活體內分析)。在一些實施例中，將效能與參考 IL-22 Fc 融合蛋白，例如，具有表 12 及/或表 13 中所示之 N-聚醣分佈的 IL-22 Fc 融合蛋白相比較。此外，在心血管疾病或病狀之情況下，生物活性可包括影響動脈粥樣硬化斑之形成，尤其抑制動脈粥樣硬化斑形成之形成。可藉由一般熟習此項技術者已知的任何適合成像方法來評定對斑形成之抑制。

D. 結合物

【0481】 本發明亦提供包含本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白與供偵測、調配、半衰期延長、緩解免疫原性或組織滲透用之一或多種試劑結合的結合物。例示性結合包括但不限於 PEG 化及附接至放射性同位素。

【0482】 在另一實施例中，結合物包含如本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白與放射性原子結合而形成之放射性結合物。多種放射性同位素可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 放射性同位素。當放射性結合物用於偵測時，其可包含用於閃爍研究之放射性原子，例如 tc99m 或 I123，或用於核磁共振(NMR)成像(亦稱為磁共振成象，mri)之自旋標記物，諸如碘-123、碘-131、銦-111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、釓、錳或鐵。

E. 醫藥調配物

【0483】 本文中之組合物(例如包含 IL-22 Fc 融合蛋白之醫藥組合物)將以符合良好醫學實務之方式進行調配、定劑量及投與。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、個別個體之臨床病狀、病症之原因、藥劑之遞送部位、投與方法、投與時程及醫學從業者已知的其他因素。在一個實施例中，該組合物可用於增加易感染或診斷為患有該疾病或疾病病狀之人類個體之存活持續時間。存活持續時間定義為第一次投與藥物至死亡之時間。

【0484】 醫藥調配物係使用此項技術中已知的標準方法藉由混合具有所要純度之活性成分與一或多種視情況選用之醫藥學上可接受之載劑來製備(*Remington's Pharmaceutical Sciences* 第 16 版, Osol, A.編(1980)及 *Remington's Pharmaceutical Sciences* 第 20 版, A. Gennaro 編, 2000, Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa)，呈凍乾調配物或水溶液形式。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；六羥氯銨；苯紮氯銨、苄索氯銨；苯酚、丁醇或苯甲醇；對羥基苯甲酸烷基酯，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(少於約 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，諸如聚乙烯吡咯啶酮；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、二醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如 EDTA；糖，諸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇；成鹽相對離子，諸如鈉；金屬錯合物(例如，鋅-蛋白質錯合物)；及/或非離子表面活性劑，諸如聚乙二醇(PEG)。本文中之例示性醫藥學上可接受之載劑進一步包括間質藥物分散劑，諸如可溶性中性-活性透明質酸酶糖蛋白(sHASEGP)，例如人類可溶性 PH-20 透明質酸酶糖蛋白，諸如 rHuPH20 (HYLENEX® ，Baxter International, Inc.)。

某些例示性 sHASEGP 及使用方法，包括 rHuPH20，描述於美國專利公開案第 2005/0260186 中及第 2006/0104968 號中。在一個態樣中，sHASEGP 與一或多種額外糖胺聚糖酶(諸如軟骨素酶)組合。

【0485】 視情況，該調配物含有醫藥學上可接受之鹽，較佳為氯化鈉且較佳處於約生理學濃度下。

【0486】 視情況，本發明之調配物可含有醫藥學上可接受之防腐劑。在一些實施例中，該防腐劑濃度介於 0.1%至 2.0% (典型地 v/v)之範圍內。適合之防腐劑包括醫藥領域中已知的防腐劑。苯甲醇、苯酚、間甲酚、對羥基苯甲酸甲酯、苯紮氯銨及對羥基苯甲酸丙酯為較佳防腐劑。視情況，本發明之調配物可包括 0.005%至 0.02%濃度之醫藥學上可接受之表面活性劑。

【0487】 本文中之調配物亦可在對所治療之特定適應症必需時含有多於一種活性化合物，較佳為具有不會對彼此造成不利影響之互補活性的活性化合物。該等分子以對預定目的有效之量呈組合形式適當地存在。

【0488】 例示性凍乾調配物描述於美國專利第 6,267,958 號中。水性調配物包括美國專利第 6,171,586 號及 WO2006/044908 中所描述之調配物，後一種調配物包括組胺酸乙酸鹽緩衝劑。

【0489】 本文中之調配物亦可在對所治療之特定適應症必需時含有多於一種活性成分，較佳為具有不會對彼此造成不利影響之互補活性的活性成分。舉例而言，可能需要進一步提供類固醇、TNF 拮抗劑或其他抗炎症治療劑。該等活性成分以對預定目的有效之量呈組合形式適當地存在。

【0490】 活性成分可俘獲在例如藉由團聚技術或藉由界面聚合而製備之微膠囊中，例如羥甲基纖維素或明膠微膠囊及聚(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊，分別呈膠

體藥物遞送系統形式(例如脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米粒子及奈米膠囊)或呈巨乳液形式。該等技術揭示於 *Remington's Pharmaceutical Sciences* 第 16 版, Osol, A.編(1980)中。

【0491】 可製備持續釋放製劑。持續釋放製劑之適合實例包括含有 IL-22 Fc 融合蛋白之固體疏水性聚合物之半滲透基質，該等基質呈成形製品形式，例如膜或微膠囊。持續釋放基質之實例包括聚酯、水凝膠(例如聚(甲基丙烯酸 2-羥基乙酯)或聚(乙烯醇))、聚乳酸(美國專利第 3,773,919 號)、L-麩胺酸與 γ-乙基-L-麩胺酸共聚物、不可降解乙烯-乙酸乙烯酯、可降解乳酸-乙醇酸共聚物諸如 LUPRON DEPOT™ (包含乳酸-乙醇酸共聚物及醋酸亮丙瑞林之可注射微球體)及聚-D-(-)-3-羥基丁酸。儘管諸如乙烯乙酸乙烯酯及乳酸-乙醇酸之聚合物使得能夠釋放分子超過 100 天，但某些水凝膠在較短時段內釋放蛋白質。當囊封抗體長時間殘保留在體內時，其可能由於在 37℃下暴露於水分而變性或聚集，從而導致生物活性損失及免疫原性可能變化。可設計合理策略以進行穩定，視所涉及之機制而定。舉例而言，若發現聚集機制為經由硫-二硫鍵互換之分子間 S-S 鍵形成，則可藉由修飾巰基殘基、自酸性溶液中凍乾、控制水分含量、使用適當添加劑及開發特定聚合物基質組合物來達成穩定。

【0492】 用於局部投與之醫藥組合物可經調配而例如呈局部凝膠形式。參見例如 US 4,717,717、US 5,130,298、US 5,427,778、US 5,457,093、US 5,705,485、US 6,331,309 及 WO2006/138,468。在某些實施例中，該組合物可在纖維素衍生物存在下進行調配。在某些其他實施例中，該局部調配物可在投與之前用充足緩衝劑或稀釋劑由凍乾調配物復原。在某些實施例中，IL-22 多肽或 IL-22 Fc 融合蛋白經調配以供局部投與在上皮創傷癒合方面有缺陷之個體。在某些特定實

施例中，該上皮創傷癒合發生在皮膚中。在某些其他特定實施例中，該個體為在創傷癒合方面有缺陷之人類。在某些其他實施例中，包含本發明之 IL-22 Fc 融合蛋白之局部調配物可用於在內部或外部手術切開之後改良創傷癒合。

【0493】 在本發明之一個實施例中，用於加速、促進或改良創傷癒合之 IL-22 多肽或 IL-22 Fc 融合蛋白呈局部凝膠調配物形式，例如，處於預填充注射器或容器中，或替代地，本發明之化合物可在緊接局部投與患者之前與凝膠基質混合。在某些實施例中，額外治療劑亦並行或相繼經局部投與。亦可視情況使用其他投與途徑，例如藉由任何適合之方法投與，包括但不限於非經腸、經皮下、經腹膜內、經肺內、經腦脊髓、經皮下、經關節內、經滑膜內、經鞘內、經口及經鼻內投與。非經腸輸注包括經肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內或皮下投與。

【0494】 典型地，對於創傷癒合，IL-22 Fc 融合蛋白經調配以供位點特異性遞送。當局部施用時，將該 IL-22 Fc 融合蛋白適當地與其他成分，諸如載劑及/或佐劑組合。對該等其他成分之特性並無限制，但其必須在醫藥學上可接受且對其預定投與有效，並且不能降低該組合物之活性成分之活性。適合之媒劑之實例包括含或不含經純化之膠原蛋白之軟膏、乳膏、凝膠、噴霧或懸浮液。該組合物亦可視情況呈液體或半液體形式滲入無菌敷料、經皮貼片、石膏及繃帶中。亦可使用氧化再生纖維素/膠原蛋白基質，例如 PROMOGRAN 基質創傷用繃帶或 PROMOGRAN PRISMA 基質。

【0495】 為了獲得凝膠調配物，可將調配於液體組合物中之 IL-22 多肽或 IL-22 Fc 融合蛋白與有效量之水溶性多醣或合成聚合物混合以形成凝膠(例如，膠凝劑)，諸如與聚乙二醇混合以形成適當黏度之調配物，以便局部施用。可使

用之多醣或膠凝劑包括例如纖維素衍生物，諸如醚化纖維素衍生物，包括烷基纖維素、羥烷基纖維素及烷基羥烷基纖維素，例如甲基纖維素、羥乙基纖維素、羧甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素及羥丙基纖維素；羧甲基纖維素鈉鹽；POE-POP 嵌段聚合物；各種等級之泊洛沙姆 USP；透明質酸；聚丙烯酸，諸如卡波姆(carbopol) 940；澱粉及分級澱粉；瓊脂；海藻酸及海藻酸鹽；阿拉伯樹膠；普魯蘭(pullullan)；瓊脂糖；角叉菜膠；聚葡萄糖；糊精；果聚糖；菊粉；甘露聚糖；木聚糖；阿拉伯聚糖；殼聚糖；糖原；葡萄聚糖；及合成生物聚合物；以及樹膠，諸如三仙膠；瓜爾膠；刺槐豆膠；阿拉伯樹膠；黃蓍膠；及刺梧桐樹膠；以及其衍生物、組合及混合物。在本發明之一個實施例中，本文中之膠凝劑為例如對生物系統呈惰性、無毒、易於製備及/或不過軟或黏，並且不會使其內部所容納之 IL-22 多肽或 IL-22 Fc 融合蛋白不穩定之膠凝劑。

【0496】　在本發明之某些實施例中，該多醣為醚化纖維素衍生物，在另一實施例中為明確定義、經純化且在 USP 中列出之纖維素衍生物，例如甲基纖維素及羥烷基纖維素衍生物，諸如羥丙基纖維素、羥乙基纖維素及羥丙基甲基纖維素(均稱為纖維素劑)。在一些實施例中，該多醣為羥乙基甲基纖維素或羥丙基甲基纖維素。

【0497】　可用於凝膠之聚乙二醇典型地為低分子量聚乙二醇與高分子量聚乙二醇之混合物，以獲得適當黏度。舉例而言，當以適當比率混合以獲得糊狀物時，分子量 400-600 之聚乙二醇與分子量 1500 之聚乙二醇之混合物將對此目的有效。

【0498】　術語「水溶性」在應用於多醣及聚乙二醇時意欲包括膠體溶液及分散液。一般而言，纖維素衍生物之溶解度係由醚基之取代度決定，且可用於本

文中之穩定衍生物在纖維素鏈中之每個脫水葡萄糖單元中應具有足量該等醚基以致使該等衍生物具水溶性。至少 0.35 個醚基/脫水葡萄糖單元之醚取代度一般足夠。另外，纖維素衍生物可呈鹼金屬鹽形式，例如 Li 鹽、Na 鹽、K 鹽或 Cs 鹽。

【0499】 在某些實施例中，甲基纖維素用於凝膠中，例如其佔凝膠之約 1-5%、或約 1%、約 2%、約 3%、約 4%或約 5%，且該 IL-22 Fc 融合蛋白係以每 ml 凝膠約 50-2000 μg、100-2000 μg 或 100-1000 μg 之量存在。在某些實施例中，藉由局部投與時用於創傷癒合之 IL-22 Fc 融合蛋白之有效量可為每 cm^2 創傷面積約 25 μg 至約 500 μg、約 50 μg 至約 300 μg、約 100 μg 至約 250 μg、約 50 μg 至約 250 μg、約 50 μg 至約 150 μg、約 75 μg、約 100 μg、約 125 μg、約 150 μg、約 175 μg、約 200 μg、約 225 μg、約 250 μg、約 300 μg 或約 350 μg。

【0500】 用於活體內投與之調配物一般為無菌的。無菌可例如藉由經無菌過濾膜進行過濾而容易地實現。

【0501】 本發明提供基於 IL-22 Fc 融合蛋白之治療劑之劑量。舉例而言，視疾病之類型及嚴重程度而定，約 1 μg/kg 至 15 mg/kg (例如 0.1-20 mg/kg)之多肽為投與個體之初始候選劑量，無論是例如藉由一或多次分開投與或是藉由連續輸注。典型日劑量可介於約 1 μg/kg 至 100 mg/kg 以上之範圍內，視以上所提及之因素而定。對於在若干天或更久時間內重複投與而言，視病狀而定，該治療持續直至對疾病症狀發生所要抑制。然而，其他劑量方案可能適用。可藉由習知技術及分析法容易地監測此療法之進展。

【0502】 對於預防或治療疾病而言，本發明之多肽之適當劑量(當單獨使用或與一或多種其他額外治療劑組合使用時)將視欲治療之疾病之類型、多肽之類型、

疾病之嚴重程度及病程、多肽是用於預防目的或是治療目的、先前療法、個體之臨床病史及對多肽之反應，以及主治醫師之判斷而定。該多肽係一次性或在一系列治療中適當地投與個體。視疾病類型及嚴重程度而定，約 1 μg/kg 至 20 mg/kg (例如 0.1 mg/kg 至 15 mg/kg)之多肽可為投與個體之初始候選劑量，無論是例如藉由一或多次單獨投與或是藉由連續輸注。視以上所提及之因素而定，一個典型日劑量可介於約 1 μg/kg 至 100 mg/kg 以上之範圍內。對於在若干天或更久時間內重複投與，視病狀而定，該治療一般將持續直至出現對疾病症狀之所要抑制。多肽之一個例示性劑量將處於約 0.05 mg/kg 至約 20 mg/kg 之範圍內。因而，可向個體投與約 0.5 mg/kg、2.0 mg/kg、4.0 mg/kg、10 mg/kg、12 mg/kg、15 mg/kg 或 20 mg/kg (或其任何組合)之一或多個劑量。在某些實施例中，可向個體投與約 0.5 mg/kg、1.0 mg.kg、2.0 mg/kg、3.0 mg/kg、4.0 mg/kg、5.0 mg/kg、6.0 mg/kg、7.0 mg/kg、8.0 mg/kg、9.0 mg/kg、10 mg/kg、12 mg/kg、15 mg/kg 或 20 mg/kg (或其任何組合)。該等劑量可間歇性地投與，例如，每週、每兩週或每三週(例如，使得該個體接受約二至約二十或例如約六次劑量之多肽)。可投與初始較高負載劑量，繼之以一或多個較低劑量。例示性劑量方案包含投與約 4 mg/kg 之初吸負載劑量，繼之以約 2 mg/kg 之每週維持劑量之抗體。然而，其他劑量方案可能適用。可藉由習知技術及分析法容易地監測此療法之進展。

【0503】　本發明之用於預防或治療心血管疾病或病狀、代謝症候群、急性內毒血症或敗血症、GVHD 或糖尿病之化合物典型地藉由靜脈內注射投與。

【0504】　亦可使用其他投與方法，包括但不限於局部、非經腸、經靜脈內、經皮下、經腹膜內、經肺內、經鼻內、經眼、經眼內、經玻璃體內、經病變內、經腦脊髓內、經關節內、經滑膜內、經鞘內、經口或吸入投與。非經腸輸注包

括經肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內或皮下投與。另外，根據已知方法將本文中所描述之化合物投與人類個體，例如呈藥團形式經靜脈內投與或在一段時間內連續輸注。

F. 治療方法及組合物

【0505】 本文中所提供之 IL-22 Fc 融合蛋白及其組合物(例如醫藥組合物)中之任一者均可用於治療方法中。

a) 炎症性腸病

【0506】 在一個態樣中，提供用作藥物之 IL-22 Fc 融合蛋白。在其他態樣中，提供用於治療 IBD (包括 UC 及 CD)之 IL-22 Fc 融合蛋白。在某些實施例中，提供用於治療方法中之 IL-22 Fc 融合蛋白。在某些實施例中，本發明提供用於治療患有 UC 或 CD 之個體之方法中的 IL-22 Fc 融合蛋白，該方法包括向該個體投與有效量之 IL-22 Fc 融合蛋白。在一個此種實施例中，該方法進一步包括向該個體投與有效量之至少一種額外治療劑，例如，如以下所描述。在其他實施例中，本發明提供用於增強上皮增殖、分化及/或遷移之 IL-22 Fc 融合蛋白。在某些特定實施例中，該上皮組織為腸上皮組織。在某些實施例中，本發明提供用於增強個體之上皮增殖、分化及/或遷移之方法中的 IL-22 Fc 融合蛋白，該方法包括向該個體投與有效量之 IL-22 Fc 融合蛋白以增強上皮增殖、分化及/或遷移。在其他實施例中，本發明提供用於治療糖尿病，尤其 II 型糖尿病、糖尿病性創傷癒合、代謝症候群及動脈粥樣硬化之 IL-22 Fc 融合蛋白。在某些實施例中，本發明提供用於治療個體之糖尿病，尤其 II 型糖尿病、糖尿病性創傷癒合、代謝症候群及動脈粥樣硬化之方法中的 IL-22 Fc 融合蛋白，該方法包括向該個體投與有效量之 IL-22 Fc 融合蛋白。參見國際專利申請公開案第 WO 2014/145016

號，該案係以引用之方式整體併入本文中。根據以上實施例中任一者之「個人」或「個體」或「患者」較佳為人類。

【0507】 在另一態樣中，本發明提供 IL-22 多肽或 IL-22 Fc 融合蛋白用於製造或製備藥劑之用途。在一個實施例中，該藥劑用於治療 IBD 及創傷癒合。在另一實施例中，該藥劑用於治療 IBD 及創傷癒合之方法中，該方法包括向患有 IBD 之個體投與有效量之該藥劑。在一個此種實施例中，該方法進一步包括向該個體投與有效量之至少一種額外治療劑，例如，如以下所描述。在另一實施例中，該藥劑用於抑制腸上皮細胞中之炎症性反應。在另一實施例中，該藥劑用於增強個體之上皮增殖、分化及/或遷移之方法中，該方法包括向該個體投與有效量之藥劑以增強上皮細胞增殖、分化及/或遷移。根據以上實施例中任一者之「個體」可為人類。

【0508】 在另一態樣中，本發明提供治療 IBD (包括 UC 及 CD)之方法。在一個實施例中，該方法包括向患有 IBD 之個體投與有效量之 IL-22 多肽或 IL-22 Fc 融合蛋白。在一個此種實施例中，該方法進一步包括向該個體投與有效量之至少一種額外治療劑，如以下所描述。根據以上實施例中任一者之「個體」可為人類。

【0509】 在另一態樣中，本發明提供增強個體之上皮增殖、分化及/或遷移之方法 在一個實施例中 該方法包括向該個體投與有效量之 IL-22 多肽或 IL-22 Fc 融合蛋白以增強上皮增殖、分化及/或遷移。在一個實施例中，「個體」為人類。

b) 其他治療適應症

【0510】 本發明提供用於心血管疾病及病狀、代謝症候群、急性內毒血症及敗血症、移植物對抗宿主病(GVHD)及糖尿病之基於 IL-22 Fc 融合蛋白之治療

劑。對於預防、治療指定疾病或病狀或降低其嚴重程度，本發明化合物之適當劑量將視如以上所定義之欲治療之疾病或病狀之類型、疾病或病狀之嚴重程度及病程、藥劑是出於預防目的或是治療目的而投與、先前療法、個體之臨床病史及對化合物之反應，以及主治醫師之判斷而定。該化合物一次性或在一系列治療中適當地投與個體。較佳地，需要測定劑量反應曲線，且本發明之醫藥組合物首先用於活體外，隨後用於可用動物模型中，隨後在人類中進行測試。

【0511】　在一個態樣中，本發明提供治療心血管疾病或病症、代謝症候群、急性內毒血症及敗血症、GVHD 及胰島素相關病症之方法。在一個實施例中，該方法包括向有需要之個體投與治療有效量之 IL-22 Fc 融合蛋白。在另一態樣中，本發明提供延遲或減緩心血管疾病或病症、代謝症候群、GVHD 及胰島素相關病症之進展的方法。在一個實施例中，該方法包括向經診斷患有該疾病、病狀或病症之個體投與有效量之 IL-22 Fc 融合蛋白。在另一態樣中，本發明提供預防心血管疾病或病症、GVHD 及胰島素相關病症之症候的方法。在一個實施例中，該方法包括向處在該疾病、病狀或病症之風險下的個體投與有效量之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白有效對抗該疾病、病狀或病症之症候之發展。在一個態樣中，本發明提供治療 GVHD 之方法。在另一態樣中，本發明提供延遲或減緩 GVHD 進展之方法。在一個實施例中，該方法包括向經診斷患有該疾病、病狀或病症之個體投與有效量之 IL-22 Fc 融合蛋白。

心血管疾病及病狀

【0512】　在一個態樣中，該 IL-22 Fc 融合蛋白提供對抗個體之心血管疾病或病狀之臨床及/或組織學及/或生物化學及/或病理學症候(包括症狀及徵象)之發展或進展的治療、防治或預防作用。在一個實施例中，該疾病或病狀為動脈粥

樣硬化。在一個實施例中，該症候包括動脈粥樣硬化斑形成及/或血管炎症。在另一實施例中，該個體處在心血管疾病之風險下。一般而言，處在風險下之個體應先前已患有如本文中所描述之心血管疾病或病狀，或應具有心血管疾病或病狀之遺傳傾向性。

【0513】 治療心血管疾病及病狀之效力可藉由評估心血管疾病時常用之各種評定來量測。舉例而言，可評定心血管健康。心血管健康可藉由但不限於例如血液測試(例如，總膽固醇、LDL-C、HDL-C、甘油三酯、C 反應蛋白、纖維蛋白原、升半胱胺酸、空腹胰島素、鐵蛋白、脂蛋白及 LPS)、血壓、聽診、心電圖、心臟壓力測試、心臟成像(例如，冠狀動脈導管插入術、超音波心動圖、血管內超音、正電子發射斷層攝影術、電腦斷層攝影術血管攝影術及磁共振成像)來評估。

代謝症候群

【0514】 在一個態樣中，該等 IL-22 Fc 融合蛋白提供對抗個體之代謝症候群(或代謝病症或疾病)之臨床及/或組織學及/或生物化學及/或病理學症候(包括症狀及徵象)之發展或進展的治療、防治或預防作用。在一或多個實施例中，該個體處在代謝症候群之風險下。

【0515】 治療代謝症候群之效力可藉由評估代謝症候群時常用之各種評定來量測。舉例而言，可量測肥胖。作為另一實例，可量測高糖血症、異常血脂症、胰島素抗性、慢性脂肪組織炎症及/或高血壓。可量測 C 反應蛋白、IL-6、LPS 及纖維蛋白溶酶原活化因子抑制劑 1 中一或多者之水準之降低。此等量測可藉由此項技術中眾所周知的任何方法來進行。

胰島素相關病症

【0516】 對於胰島素相關病症，術語「治療」係指對該病症之治療性治療及預防性或防治性措施，其中目標為預防或減緩(減輕)所靶向之病理學病狀或病症。需要治療者包括已患有胰島素相關病症者以及傾向於患此種病症者或欲預防該病症者。

【0517】 在一個態樣中，該等 IL-22 Fc 融合蛋白提供對抗個體之胰島素相關病症之臨床及/或組織學及/或生物化學及/或病理學症候(包括症狀及徵象)之發展或進展的治療、防治或預防作用。在一個實施例中，該病症為 I 型糖尿病、II 型糖尿病或妊娠期糖尿病。在一個實施例中，該病變或病理學症候包括以下一或多種：胰臟(例如胰島細胞)產生極少或不產生胰島素、胰島素抗性及高糖血症。在另一實施例中，該個體處在胰島素相關病症之風險下。一般而言，處在風險下之個體對胰島素相關病症具有遺傳傾向性、已暴露於觸發胰島細胞之自體免疫破壞之病毒(例如埃-巴二氏病毒(Epstein-Barr virus)、柯薩奇病毒、腮腺炎病毒或巨細胞病毒)、肥胖、糖尿病前期(高於正常血糖水準)，或患有妊娠期糖尿病。

【0518】 可藉由評估該等病症時常用之各種評定來量測治療胰島素相關病症之效力。舉例而言，I 型糖尿病及 II 型糖尿病皆可用以下一或多項加以評估：糖化血紅蛋白測試(A1C)、常規血糖測試及空腹血糖測試。I 型亦可藉由測試血液中之自體抗體及/或尿液中之酮加以評估。II 型亦可藉由測試口服葡萄糖耐量加以評估。

急性內毒血症及敗血症

【0519】 在一個態樣中，該等 IL-22 Fc 融合蛋白提供對抗個體之急性內毒血症、敗血症或兩者之臨床及/或組織學及/或生物化學及/或病理學症候(包括症狀

及徵象)之發展或進展的治療、防治或預防作用。在一或多個實施例中，該個體處在急性內毒血症、敗血症或兩者之風險下。

【0520】 治療急性內毒血症、敗血症或兩者之效力可藉由評估急性內毒血症、敗血症或兩者時常用之各種評定來量測。舉例而言，可量測 LPS 或炎症標記物之水準之降低。此等量測可藉由此項技術中眾所周知的任何方法來進行。

創傷癒合

【0521】 有多種方法量測創傷癒合。通常獲取影像來計算線性尺寸、周長及面積。NIH 有免費程式 Image J，其允許根據影像量測創傷面積。最終癒合預後可基於外周向中心遷移自初始癒合率外推。此使用中所數學方程進行，其中最常見者為改良吉爾曼方程(modified Gilman's equation)。除目視檢查以外,創傷癒合量測亦可輔以光譜法或 MRI。參見例如 Dargaville 等人, Biosensors Bioelectronics, 2013, 41:30-42；Tan 等人, 2007, British J. Radiol. 80:939-48。若癒合緩慢/不充分，則可獲取創傷邊緣之活組織切片來排除或確定感染及惡性病。在某些實施例中，可藉由比較經 IL-22 處理之創傷及對照創傷之創傷癒合來評定創傷癒合之加速或改良。在某些實施例中，創傷癒合之加速或改良比對照組更快或更佳至少 20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或 90%。

【0522】 在某些態樣中，本發明提供在有或無創傷中活性感染、微生物污染或拓殖之情況下促進/加速/改良創傷癒合之方法。IL-22 Fc 融合蛋白可用於治療感染之創傷或促進/加速/改良感染之創傷癒合。在某些實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白可用於在存在感染之情況下治療創傷或促進/加速/改良創傷癒合。在一些實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白可用於在存在微生物污染或有感染風險之拓殖之情況下治療創傷或促進/加速/改良創傷癒合。在其他實施例中，需要創傷癒合治療之

患者可為糖尿病患者。因此，在一些實施例中，該創傷為糖尿病性創傷，例如糖尿病性足部潰瘍。在一些其他實施例中，該創傷為感染性糖尿病性創傷，例如感染性糖尿病性足部潰瘍。

【0523】 本發明之 IL-22 Fc 融合蛋白可單獨使用或與療法中之其他藥劑組合使用。舉例而言，本發明之 IL-22 Fc 融合蛋白可與至少一種額外治療劑共同投與。在某些實施例中，額外治療劑為減少炎症反應之免疫抑制劑，包括但不限於胺甲喋呤、TNF 抑制劑、TNF 拮抗劑、美沙拉嗪(mesalazine)、類固醇、地塞米松(dexamethasone)、硫唑嘌呤及其組合。減輕炎症性反應之適合額外治療劑包括但不限於 5-胺基柳酸(5-ASA)、巰基嘌呤(亦稱為 6-巰基嘌呤或 6-MP)或其組合。在某些實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白可與一或多種減輕炎症性反應之額外治療劑(例如，5-ASA、6-MP 或 TNF 拮抗劑)共同投與以治療 IBD。在某些其他實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白可與諸如依曲利珠單抗(etrolizumab)之整合素拮抗劑共同投與以治療 IBD。在一個實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白與 IL-22 促效劑組合使用。

【0524】 為了加速慢性創傷癒合，諸如為了治療糖尿病性足部潰瘍，投與 IL-22 Fc 融合蛋白可與一或多種額外創傷癒合劑組合。適合之額外創傷癒合劑包括但不限於生長因子(例如，EGF、FGF、IGF、PDGF、TGF 及 VEGF)、神經生長因子(NGF)、血管生成因子(例如，HGF、TNF-α、血管生成素、IL-8、血管生成素 1 及血管生成素 2、Tie-2、整合素 α5、基質金屬蛋白酶、氮氧化物及 COX-2)、血小板衍生生長因子(PDGF)家族成員(例如 PDGF-A、PDGF-B、PDGF-C 及 PDGF-D)、胰島素生長因子(IGF)家族成員(例如，IGF-I 及 IGF-II)、轉型生長因子(TGF)家族成員(例如，TGF-α 及 TGF-β)及合成代謝氧(真空療法)。在某些實施

例中，IL-22 Fc 融合蛋白可與本文中所描述之一或多種額外創傷癒合劑及/或一或多種適用於局部投與之抗細菌劑或抗生素共同投與。參見 WO 2006/138468，該案係以引用之方式整體併入本文中。在該等實施例中，該抗生素可為硫抗生素，包括但不限於磺胺嘧啶銀，亦即，使立復(silvadeen)。共同投與之一或多種額外藥劑可與 IL-22 Fc 融合蛋白並行、交替或依序投與。

【0525】　在其他例示性實施例中，若目標為預防或治療心血管疾病或病狀或代謝症候群，則 IL-22 Fc 融合蛋白之投與可組合或補充投與降膽固醇劑，諸如他汀類藥物(例如洛伐他汀(lovastatin)、瑞舒伐他汀(rosuvastatin)、氟伐他汀(fluvastatin)、阿托伐他汀(atorvastatin)、帕伐他汀(pravastatin)及辛伐他汀(simvastatin))、膽汁酸結合樹脂(考來替泊(colestipol)、消膽胺蔗糖(cholestyramine sucrose)及考來維侖(colesevelam))、依澤替米貝(ezetimibe)或依澤替米貝-辛伐他汀組合；抗血小板劑，諸如環加氧酶抑制劑(如阿司匹靈(aspirin))、二磷酸腺苷(ADP)受體抑制劑(例如氯吡格雷(clopidogrel)、普拉格雷(prasugrel)、替格瑞洛(ticagrelor)及替氯匹定(ticlopidine))、磷酸二酯酶抑制劑(例如西洛他唑(cilostazol))、糖蛋白 IIB/IIIA 抑制劑(例如阿昔單抗(abciximab)、埃替非巴肽(eptifibatide)及替羅非班(tirofiban))、腺苷再攝取抑制劑(例如雙嘧達莫(dipyridamole))、血小板凝集素抑制劑(例如血小板凝集素合成酶抑制劑、血小板凝集素受體拮抗劑及特魯曲班(terutroban))；β 阻斷劑，諸如阿普洛爾(alprenolol)、布比索洛(bucindolol)、卡替洛爾(carteolol)、卡維地洛(carvedilol)、拉多洛爾(labetalol)、納多洛爾(nadolol)、氧氟沙侖(oxprenolol)、噴布洛爾(penbutolol)、吲哚洛爾(pindolol)、普萘洛爾(propranolol)、索他洛爾(sotalol)、噻嗎洛爾(timolol)、杜仲皮(eucommia bark)、醋丁洛爾(acebutolol)、阿替洛爾

(atenolol)、倍他洛爾(betaxolol)、比索洛爾(bisoprolol)、塞利洛爾(celiprolol)、艾司洛爾(esmolol)、美托洛爾(metoprolol)、奈必洛爾(nebivolol)、丁氧胺(butaxamine)、ICI-118,551 及 SR 59230A；血管緊張素轉化酶(ACE)抑制劑，諸如卡托普利(captopril)、佐芬普利(zofenopril)、含二羧酸鹽劑(例如依那普利(enalapril)、雷米普利(ramipril)、喹那普利(quinapril)、培哚普利(perindopril)、賴諾普利(lisinopril)、貝那普利(benazepril)、咪達普利(imidapril)及佐芬普利(zofenopril))、含膦酸鹽劑(例如福辛普利(fosinopril))、肌球蛋白(casokinins)、乳糖激素(lactokinins)、乳三肽(lactotripeptides)（例如，由益生菌瑞士乳桿菌(Lactobacillus helveticus)產生或來源於酪蛋白之 Val-Pro-Pro 及 Ile-Pro-Pro)；鈣通道阻斷劑，諸如二氫吡啶類(例如安氯地平(amlodipine)、阿雷地平(aranidipine)、阿折地平(azelnidipine)、巴尼地平(barnidipine)、貝尼地平(benidipine)、西尼地平(cilnidipine)、氯維地平(clevidipine)、伊拉地平(isradipine)、依福地平(efonidipine)、非洛地平(felodipine)、拉西地平(lacidipine)、樂卡地平(lercanidipine)、馬尼地平(manidipine)、尼卡地平(nicardipine)、硝苯地平(nifedipine)、尼伐地平(nilvadipine)、尼莫地平(nimodipine)、尼索地平(nisoldipine)、尼群地平(nitrendipine)及吡啶地平(pranidipine))、苯基烷基胺(例如維拉帕米(verapamil))、苯并硫氮呯(例如地爾硫卓(diltiazem))、米貝拉地爾(mibefradil)、苄普地爾(bepridil)、氟斯必靈(fluspirilene)及芬地林(fendiline)；利尿劑，諸如高效環利尿劑(例如呋塞米(furosemide)、依他尼酸(ethacrynic acid)、托拉塞米(torsemide)及布美他尼(bumetanide))、噻嗪類(例如(氫氯噻嗪酸))、碳酸酐酶抑制劑(例如乙醯唑胺及甲醋唑胺)、保鉀利尿劑(例如醛固酮拮抗劑：螺內酯；及上皮細胞鈉通道阻斷劑：阿米洛利(amiloride)及三苯乙烯(triamterene))及保鈣利尿劑，以及以上任

一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物。

【0526】 對於胰島素相關病症或代謝症候群，IL-22 Fc 融合蛋白之投與可組合或補充各種治療劑之投與。在 I 型糖尿病(胰島素依賴性糖尿病或 IDDM)之情況下，本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白可與一或多種常規胰島素替代療法(包括速效胰島素及長效胰島素)、免疫抑制治療、胰島移植及幹細胞療法組合。在一個實施例中，常規胰島素替代療法包括但不限於常規胰島素(例如 HUMULIN R®、NOVOLIN R®)、等向胰島素(例如 HUMULIN N®、NOVOLIN N®)、離脯胰島素(例如 HUMALOG®)、天冬胰島素(例如 NOVOLOG®)、甘精胰島素(例如 LANTUS®)及地特胰島素(例如 LEVEMIR®)。在其他實施例中，胰島素替代療法進一步包括普蘭林肽(pramlintide) (SYMLIN®)。

【0527】 在 II 型糖尿病(非胰島素依賴型糖尿病或 NIDDM)或代謝症候群之情況下，本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白可與胰島素替代療法(如以上所論述)、降低肝臟葡萄糖產生之藥劑、刺激胰臟產生及釋放胰島素之藥劑、阻斷碳水化合物之酶促分解的藥劑或增加胰島素敏感性之藥劑中之一或多種組合。在一個實施例中，降低葡萄糖產生之藥劑為二甲雙胍(例如 GLUCOPHAGE®及 GLUMETZA®)。在另一實施例中，刺激胰臟產生及釋放胰島素之藥劑為格列吡嗪(例如 GLUCOTROL®及 GLUCOTROL XL®)、格列本脲(例如 DIABETA®及 GLYNASE®)或格列美脲(例如 AMARYL®)。在另一實施例中，阻斷碳水化合物酶促分解或增加胰島素敏感性之藥劑為吡格列酮(例如 Actos)。在另一實施例中，該 IL-22 Fc 融合蛋白可與以下二甲雙胍替代物之一組合：西他列汀(sitagliptin)(例如 JANUVIA®)、沙格列汀(saxagliptin) (例如 ONGLYZA®)、瑞格列奈(repaglinide) (例如 PRANDIN®)及那格列奈(nateglinide) (例如 STARLIX®)、艾塞

那肽(exenatide) (例如 BYETTA®)及利拉魯肽(liraglutide) (例如 VICTOZA®)。在另一實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白可與口服降血糖劑(例如磺醯脲)組合。

【0528】 在妊娠期糖尿病或代謝症候群之情況下，本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白可與口服血糖控制藥物組合。在一個實施例中，該藥物為格列本脲。

GVHD

【0529】 在一個態樣中，該 IL-22 Fc 融合蛋白可提供對抗 GVHD 之臨床及/或組織學及/或生物化學及/或病理學症候(包括症狀及徵象)之發展或進展之預防作用或治療作用。舉例而言，該方法提供治療 GVHD 之方法，該方法包括向有需要之個體投與有效量之如本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白或其組合物(包括醫藥組合物)。投與如本文中所描述之 IL-22 Fc 融合蛋白或其組合物可減少 GVHD 之一或多種症狀，包括疼痛、皮疹、皮膚增厚、皮膚或眼睛發黃、口腔乾燥或潰瘍、味覺異常、乾眼、感染或體重損失。IL-22 Fc 融合蛋白或其組合物可與額外 GVHD 療法組合投與，包括例如免疫抑制劑(例如環孢黴素、黴酚酸酯(MMF)或他克莫司(tacrolimus))、mTOR 抑制劑(例如，斥消靈(sirolimus)或依維莫司(everolimus))、化學治療劑(例如伊馬替尼(imatinib)、噴司他丁(pentostatin)、胺甲喋呤(methotrexate)或沙利度胺(thalidomide))、TNF 拮抗劑(例如依那西普(etanercept))、類固醇(例如普賴蘇穠(prednisolone)、甲基普賴松(methylprednisolone)、局部類固醇或類固醇滴眼劑)、光處理(例如體外光處理)、羥氯奎、抗纖維化劑(例如，鹵夫酮)、單株抗體(例如阿侖單抗(alemtuzumab)、英利昔單抗(infliximab)或利妥昔單抗(rituximab))或其組合。

【0530】 組合療法可提供「協同作用」且證明為「協同的」，亦即，當一起使用活性成分時所達成之效應超過單獨使用化合物所產生之效應之總和。當活

性成分：(1)共同調配於組合單位劑量調配物中並且同時投與或遞送；(2)作為單獨調配物交替或並行遞送；或(3)藉由一些其他方案時，可獲得協同效應。當在交替療法中遞送時，在相繼投與或遞送化合物，例如藉由於單獨注射器中進行不同的注射時，可獲得協同效應。一般而言，在交替療法期間，相繼，亦即，順序投與各活性成分之有效劑量，而在組合療法中，一起投與兩種或更多種活性成分之有效劑量。

【0531】　以上所指出之該等組合療法涵蓋組合投與(其中兩種或更多種治療劑包括在相同或單獨調配物中)及單獨投與(在此情況下，本發明之 IL-22 Fc 融合蛋白之投與可在額外治療劑之投與之前、同時及/或之後發生)。在一個實施例中，IL-22 Fc 融合蛋白之投與及額外治療劑之投與在彼此相距約一個月內，或約一週、兩週或三週內，或約一天、兩天、三天、四天、五天或六天內發生。

【0532】　本發明之 IL-22 Fc 融合蛋白(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、局部及鼻內，並且在需要時進行局部治療、病變內投與。非經腸輸注包括經肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內或皮下投與。給藥可藉由任何適合之途徑，例如藉由注射，諸如經靜脈內或皮下注射，部分視投與是短期的或是長期的而定。本文中設想多種給藥時程，包括但不限於單次或在不同的時間點多次投與、藥團投與及脈衝式輸注。

【0533】　本發明之 IL-22 Fc 融合蛋白將以符合良好醫學實務之方式調配、定劑量及投與。此情形下之考慮因素包括所治療之特定病症、所治療之特定哺乳動物、個別患者之臨床病狀、病症之原因、藥劑之遞送部位、投與方法、投與時程及醫學從業者已知的其他因素。IL-22 Fc 融合蛋白無需但視情況與一或多種目前用於預防或治療所論述之病症的藥劑一起調配。該等其他藥劑之有效量視

調配物中所存在之融合蛋白質之量、病症或治療之類型及以上所論述之其他因素而定。此等一般以與本文中所描述相同之劑量及投與途徑，或本文中所描述之劑量之約 1%至 99%，或以任何劑量且藉由憑經驗/臨床上確定適當之任何途徑來使用。

【0534】 對於預防或治療疾病而言，本發明之 IL-22 Fc 融合蛋白之適當劑量(當單獨使用或與一或多種其他額外治療劑組合使用時)將視欲治療之疾病之類型、Fc 區之類型、疾病之嚴重程度及病程、融合蛋白質是用於預防目的或是治療目的、先前療法、患者之臨床病史及對 IL-22 Fc 融合蛋白質之反應，以及主治醫師之判斷而定。IL-22 Fc 融合蛋白係一次性或在一系列治療中適當地投與患者。視疾病之類型及嚴重程度而定，約 1 μg/kg 至 15 mg/kg (例如，0.1 mg/kg-10 mg/kg)或約 0.1 μg/kg 至 1.5 mg/kg (例如，0.01 mg/kg-1 mg/kg) IL-22 Fc 融合蛋白可為投與患者之初始候選劑量，無論是例如藉由一或多次單獨投與或是藉由連續輸注。視以上所提及之因素而定，一個典型日劑量可介於約 1 μg/kg 至 100 mg/kg 以上之範圍內。對於在若干天或更久時間內重複投與，視病狀而定，該治療一般將持續直至出現對疾病症狀之所要抑制。IL-22 Fc 融合蛋白之一個例示性劑量將處於約 0.05 mg/kg 至約 10 mg/kg 之範圍內。某些其他劑量包括約 0.01 mg/kg 至約 10 mg/kg 、約 0.02 mg/kg 至約 10 mg/kg 及約 0.05 mg/kg 至約 10 mg/kg 之範圍。因而，可向患者投與約 0.01 mg/kg、0.02 mg/kg、0.03 mg/kg、0.04 mg/kg、0.05 mg/kg、0.06 mg/kg、0.07 mg/kg、0.08 mg/kg、0.09 mg/kg、0.1 mg/kg、0.2 mg/kg、0.3 mg/kg、0.4 mg/kg、0.5 mg/kg 、0.6 mg/kg、0.7 mg/kg、0.8 mg/kg 、0.9 mg/kg 、1.0 mg/kg、2.0 mg/kg、3.0 mg/kg、4.0 mg/kg、5 mg/kg、6 mg/kg、7 mg/kg、8 mg/kg、9 mg/kg 或 10 mg/kg 之一或多個劑量(或其任何組合)。對於局部創傷癒合，可向

患者投與約0.001 mg/cm^{2}至約10 mg/cm^{2}創傷面積 約0.05 mg/cm^{2}至約5 mg/cm^{2}創傷面積 約0.01 mg/cm^{2}至約1 mg/cm^{2}創傷面積 約0.05 mg/cm^{2}至約0.5 mg/cm^{2}創傷面積、約 0.01 mg/cm^{2}至約 0.5 mg/cm^{2}創傷面積、約 0.05 mg/cm^{2}至約 0.2 mg/cm^{2}創傷面積或約 0.1 mg/cm^{2}至約 0.5 mg/cm^{2}創傷面積之一或多個劑量(或其任何組合)。在某些實施例中，可向患者投與約 0.01 mg/cm^2、0.02 mg/cm^2、0.03 mg/cm^2、0.04 mg/cm^2、0.05 mg/cm^2、0.06 mg/cm^2、0.07 mg/cm^2、0.08 mg/cm^2、0.09 mg/cm^2、0.1 mg/cm^2、0.15 mg/cm^2、0.2 mg/cm^2、0.25 mg/cm^2、0.3 mg/cm^2、0.4 mg/cm^{2}或 0.5 mg/cm^{2}創傷面積之一或多個劑量。該等劑量可間歇性投與，例如每週或每三週(例如，使得該患者接受約二至約二十或例如約六個劑量之該 IL-22 Fc 融合蛋白)。可投與初始較高負載劑量，繼之以一或多個較低劑量。然而，其他劑量方案可能適用。可藉由習知技術及分析法容易地監測此療法之進展。

【0535】 應理解，以上調配物或治療方法中之任一者均可使用本發明之結合物替代或連同 IL-22 Fc 融合蛋白來進行。

G. 製品

【0536】 在本發明之另一態樣中，提供一種製品，其含有可用於治療、預防及/或診斷以上所描述之病症的材料。該製品包括容器及處於該容器上或與該容器相關聯之標籤或包裝插頁。適合之容器包括例如瓶、小瓶、注射器、靜脈內溶液袋等。該等容器可由多種材料形成，諸如玻璃或塑膠。該容器容納組合物本身或與對治療、預防及/或診斷病狀有效之另一組合物之組合，且可具有無菌接取口(舉例而言，該容器可為靜脈內溶液袋或具有可藉由皮下注射針刺穿之塞子的小瓶)。該組合物中之至少一種活性劑為本文中所提供之 IL-22 Fc 融合蛋白。

標籤或包裝插頁指示該組合物用於治療所選病狀。此外，該製品可包括(a)第一容器，其中含有組合物，其中該組合物包含本發明之 IL-22 Fc 融合蛋白；及(b)第二容器，其中含有組合物，其中該組合物包含另一細胞毒性劑或者治療劑。本發明之此實施例中之製品可進一步包括指示該組合物可用於治療特定病狀之包裝插頁。替代地或另外地，該製品可進一步包括第二(或第三)容器，其包含醫藥學上可接受之緩衝液，諸如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸鹽緩衝生理鹽水、林格氏溶液(Ringer's solution)及葡萄糖溶液。其可進一步包括自商業及使用者觀點看來理想之其他材料，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

【0537】 應理解，以上製品中之任一者均可包括本發明之結合物替代或連同 IL-22 Fc 融合蛋白。

實例

【0538】 以下為本發明之方法及組合物之實例。應理解，鑒於以上所提供之一般描述，可實踐各種其他實施例，且該等實例不意欲限制申請專利範圍之範疇。

實例 1：IL-22 Fc 融合蛋白之結構及分子表徵

例示性 IL-22 Fc 融合蛋白之一級結構

【0539】 本發明之例示性 IL-22 Fc 融合蛋白由兩個單鏈單元組成，該兩個單鏈單元藉由兩個鏈間二硫橋連接。各單鏈由包含與人類免疫球蛋白 G4 (IgG4)之 Fc 區融合之細胞介素 IL-22 的人類介白素-22 (IL-22)融合蛋白組成。

【0540】 Fc 區改良細胞介素之藥物動力學特徵。融合蛋白之 Fc 區併入 N81G 突變(當自整個細胞介素與 Fc 融合多肽之 N-末端開始編號時，此對應於 N227G 突變，而就根據 EU 指數之 Fc 區編號而言，對應於 N297G 突變)，由此移除糖

基化，從而降低 Fc 效應功能之可能性。另外，經由定點突變藉由將 Ser 取代為 Pro 而產生經修飾之鉸鏈區(例如，如胺基酸序列 CPPCP (SEQ ID NO:31)中加粗且加下劃線之 Pro 殘基所示)，以增加分子之穩定性。IL-22 Fc 融合蛋白係由中國倉鼠卵巢(CHO)細胞產生，且具有約 85,131 Da 之預測分子質量(完整，僅肽鏈，Fc 上不存在 C-末端離胺酸殘基)。不含碳水化合物之 IL-22 細胞介素之計算分子質量為 16,749.4 Da (半胱胺酸殘基呈還原形式)。不含 C-末端離胺酸殘基之 IgG4 Fc 之計算分子質量為 25,844.3 Da (半胱胺酸殘基呈還原形式)。IL-22 Fc 融合蛋白之結構示於圖 1A 中。IL-22 Fc 融合蛋白之 IL-22 細胞介素及 IgG4 Fc 區胺基酸序列分別示於圖 1B 及圖 1C 中。

表徵測試方法

【0541】 研究 IL-22 Fc 融合蛋白之結構及分子性質，重點研究以下生理化學屬性：一級結構、大小及電荷異質性、等電點、消光係數、N-聚醣分佈及唾液酸含量、高級結構及生物活性。用於表徵之測試方法在表 1 中列出且描述於本文中。

【0542】 對 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料以及臨床批料 1、2 及 3 進行表徵研究。所有批料均調配於 10 mM 磷酸鈉、240 mM 蔗糖、5 mM 甲硫胺酸及 0.02% (w/v)聚山梨醇酯 20，pH 7.1 中，最終標稱濃度為 10 mg/mL IL-22 Fc 融合蛋白。

表 1：表徵測試方法

測試方法	目的
電噴霧電離-質譜	為了證實針對完整分子及還原分子所預測之分子質量
胰蛋白酶肽圖分析	為了驗證一級 IL-22 Fc 融合蛋白結構及證明肽圖案之批料間一致性
SE-HPLC 及 CE-SDS-NGS (非還原型及還原型)	為了提供關於 IL-22 Fc 融合蛋白之分子大小異質性之定量資訊
SYPRO 寶石紅染色型十二烷基硫酸鈉-聚丙烯醯胺凝膠電泳分析	為了證實總體產物純度及定性評定蛋白質雜質之相對豐度

ICIEF	為了提供關於存在及不存在 C-末端離胺酸異質性之 IL-22 Fc 融合蛋白之電荷異質性的定量資訊
藉由 ICIEF 獲得等電點	為了確定 IL-22 Fc 融合蛋白不具淨電荷時之 pH 值
消光係數測定	為了測定消光係數以用於測定 IL-22 Fc 融合蛋白濃度
藉由 Lys-C LC-MS 肽作圖獲得 N-糖基化位點佔有率	為了確定 Asn21、Asn35、Asn64 及 Asn143 之 N-糖基化位點佔有率程度
藉由 2-AA HILIC-UHPLC 進行 N-連接聚醣分析	為了測定 N-連接聚醣之相對分佈
藉由 Lys-C LC-MS 肽作圖進行位點特異性 N-糖基化分析	為了測定 N-連接聚醣在 Asn21 處之相對分佈
藉由 RP-HPLC 進行唾液酸(SA)測定	為了提供關於唾液酸之量的定量資訊
效能結合分析	為了提供關於 IL-22 Fc 融合蛋白結合至 IL22-RA1 細胞外域之能力的定量資訊
圓偏光二色性	為了尋覓 IL-22 Fc 融合蛋白中之高級結構元件之存在

縮寫：2-AA HILIC-UHPLC=2-胺基苯甲酸親水性相互作用液相層析-超高效液相層析；CE-SDS-NGS=毛細管電泳十二烷基硫酸鈉非凝膠篩分；CPA=修正峰面積；HMW=高分子量；HPLC=高效液相層析；ICIEF=成像毛細管等電聚焦；RP=逆相；SE=粒徑排阻。

生理化學性質

質譜

【0543】 藉由電噴霧電離-質譜(ESI-MS)分析在用 PNGase F 去糖基化之後呈完整狀態以及在去糖基化且用參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽(TCEP)還原二硫鍵之後的 IL-22 Fc 融合蛋白樣品。在對樣品進行脫鹽之後藉由用於直接線上 MS 分析之逆相高效液相層析(RP-HPLC)進行 ESI-MS 分析。

【0544】 對非還原去糖基化 IL-22 Fc 融合蛋白之分析用於獲得完整 IL-22 Fc 融合蛋白之主要物質之質量(圖 2A)，而對還原去糖基化 IL-22 Fc 融合蛋白之分析用於獲得單鏈分子之質量(圖 2B)。IL-22 Fc 融合蛋白之觀測質量對應於根據胺基酸序列推演之預測質量(表 2)。針對完整分子獲得之主要質量對應於不存在羧基末端離胺酸殘基且不存在 N-連接聚醣的 IL-22 Fc 融合蛋白的預測質量。

【0545】 MS 分析證實分子質量與根據 IL-22 Fc 融合蛋白之胺基酸序列推演之預測質量一致。

表 2：去糖基化完整及還原 IL-22 Fc 融合蛋白之電噴霧電離-質譜

觀測質量(Da)[a]

	完整去糖基化分子	還原去糖基化單鏈分子
預測質量(Da)[b]	85139	42580
參考標準物批料	85137	42578
臨床批料 1	85139	42578
臨床批料 2	85139	42578
臨床批料 3	85139	42578

[a] 觀測質量不包括 C-末端離胺酸。
[b] 平均質量。

胰蛋白酶肽圖

【0546】 藉由高解析度液相層析-串聯質譜(LC-MS-MS)分析進行肽圖分析用於驗證預測一級結構以及證明肽圖案之批料間一致性。另外，偵測由處理或儲存重組蛋白而引起之對胺基酸側鏈之轉譯後修飾以及化學修飾。

【0547】 為了產生 IL-22 Fc 融合蛋白肽圖，在用鹽酸胍使蛋白質經受變性條件、用二硫蘇糖醇還原以及用碘乙酸使半胱胺酸羧甲基化之後，用胰蛋白酶消化蛋白質。藉由 RP-HPLC 與能夠進行 MS-MS 之質譜儀聯用來分離所得肽，且在 214 nm 下監測肽之溶析。藉由對所分離之消化混合物進行 LC-MS 分析來測定胰蛋白酶肽之質量。

【0548】 基於完整肽之觀測質量進行肽指定(圖 3A 及圖 3B)。與 N-連接之碳水化合物相關之胰蛋白酶肽呈現為成組峰。參考標準物批料之肽序列以及其預測及觀測質量提供於表 3 及表 4 中。所有觀測肽均與根據具有 IL-22 Fc 融合蛋白序列(包括一般轉譯後修飾)之蛋白質之胰蛋白酶消化所預期之肽一致。未觀測到序列變異體。

表 3：來自 IL-22 Fc 融合蛋白之人類 IL-22 細胞介素之胰蛋白酶肽

肽[a]	殘基	峰編號[b]	觀測質量 (Da)[c]	預測質量 (Da)[c]	肽序列[d]
T1C	1-8	19	928.43	928.43	APISSHCR
T2C	9-11	9	375.22	375.22	LDK
T3C	12-22	31	1367.67	1367.67	SNFQQPYITNR
T3C	12-22	28	多重	多重	SNFQQPYITNR + N-連接之碳水化合物
T3C[e]	12-18	26	883.40	883.40	SNFQQPY

T3C[e]	19-22	11	503.29	503.29	ITNR
T4C	23-28	33	710.39	710.39	TFMLAK
T5C	29-40	21	多重	多重	EASLADNNTDVR + N-連接之碳水化合物
T6C	41-45	20	559.35	559.35	LIGEK
T7C	46-55	32	1162.57	1162.57	LFHGVSMSER
T8C	56-60	29	715.32	715.32	CYLMK
T9C	61-77	48	多重	多重	QVLNFTLEEVLFPQSDR + N-連接之碳水化合物
T10C	78-91	49	1724.89	1724.88	FQPYMQEVVPFLAR
T10C[e]	78-81	27	554.26	554.26	FQPY
T10C[e]	82-88	39	849.42	849.42	MQEVVPF
T10C[e]	78-88	46	1384.66	1384.66	FQPYMQEVVPF
T10C[e]	82-91	43	1189.64	1189.64	MQEVVPFLAR
T10C[e]	89-91	13	359.24	359.24	LAR
T11C	92-95	10	489.28	489.28	LSNR
T12C	96-110	34	1794.85	1794.84	LSTCHIEGDDLHIQR
T13C	111-114	6	488.28	488.28	NVQK
T14C	115-116	-	ND	260.20	LK

表 3：來自 IL-22 Fc 融合蛋白之人類 IL-22 細胞介素之胰蛋白酶肽(續)

肽[a]	殘基	峰編號[b]	觀測質量 (Da)[c]	預測質量 (Da)[c]	肽序列[d]
T15C	117-120	4	462.26	462.26	DTVK
T14-15C[e]	115-120	18	703.44	703.44	LKDTVK
T16C	121-121	-	ND	147.11	K
T14-16C[e]	115-121	17	831.53	831.53	LKDTVKK
T17C	122-129	22	832.44	832.44	LGESGEIK
T16-17C[e]	121-129	23	960.54	960.54	KLGESGEIK
T18C	130-142	55	1477.81	1477.81	AIGELDLLFMSLR
T19C	143-146	16	634.30	634.30	NACIR[f]
T19C	143-146	15	多重	多重	NACIR[f] + N-連接之碳水化合物

縮寫：ND=未偵測到。

[a] 肽由三部分代碼標識，其中第一個字母表示用於消化樣品之酶(T 表示胰蛋白酶)，中間數字表示自胺基末端開始之片段編號，且最後一個字母表示肽起源(C 表示細胞介素)。

[b] 峰指定參見圖 3A 及圖 3B。

[c] 觀測值及預測值表示單同位素質量。

[d] 半胱胺酸殘基為羧甲基化半胱胺酸。

[e] 非特異性裂解或錯誤裂解。

[f] 肽 T19C 上之精胺酸(R146)為 Fc 之一部分。

表 4：來自 IL-22 Fc 融合蛋白之人類免疫球蛋白 G4 (IgG4) Fc 之胰蛋白酶肽

肽[a]	殘基	峰編號[b]	觀測質量 (Da)[c]	預測質量 (Da)[c]	肽序列[d]
T1F	1-1	-	ND	175.11	R
T2F	2-5	7	462.26	462.26	VESK
T3F	6-32	54	2955.46	2955.45	YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
T4F	33-39	30	835.44	835.43	DTLMISR
T5F	40-72	50	3789.77	3789.76	TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK
T5F[e]	40-69	52	3476.59	3476.58	TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVH
T5F[e]	40-60	44	2392.09	2392.09	TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN
T6F	73-76	5	501.31	501.31	TKPR
T7F	77-85	24	1116.50	1116.50	EEQFGSTYR
T6-7F[e]	73-85	25	1598.80	1598.80	TKPREEQFGSTYR
T8F	86-101	53	1808.01	1808.01	VVSVLTVLHQDWLNGK
T9F	102-104	8	439.22	439.22	EYK
T8-9F[e]	86-104	51	2228.21	2228.21	VVSVLTVLHQDWLNGKEYK
T10F	105-106	2	308.13	308.13	CK

T11F	107-110	3	447.26	447.26	VSNK
T10-11F[e]	105-110	14	736.37	736.37	CKVSNK
T12F	111-118	29	830.46	830.46	GLPSSIEK
T13F	119-122	12	448.28	448.28	TISK
T14F	123-124	1	218.15	218.15	AK
T15F	125-128	7	457.25	457.25	GQPR
T14-15F[e]	123-128	10	656.38	656.38	AKGQPR
T16F	129-144	35	1876.90	1876.90	EPQVYTLPPSQEEMTK

表 4：來自 IL-22 Fc 融合蛋白之人類免疫球蛋白 G4 (IgG4) Fc 之胰蛋白酶肽(續)

肽[a]	殘基	峰編號[b]	觀測質量 (Da)[c]	預測質量 (Da)[c]	肽序列[d]
T17F	145-154	38	1162.61	1162.61	NQVSLTCLVK
T18F	155-176	42	2544.14	2544.13	GFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
T19F	177-193	45	1901.93	1901.93	TTPPVLDSDGSFFLYSR
T19F[e]	177-190	47	1658.80	1658.80	TTPPVLDSDGSFFLY
T20F	194-198	20	575.34	575.34	LTVDK
T21F	199-200	1	262.15	262.15	SR
T22F	201-223	41	2803.25	2803.24	WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
T21-22F[e]	199-223	40	3046.38	3046.37	SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
T23F	224-231	36	804.48	804.48	SLSLSLGK
T23F[e]	224-230	37	676.39	676.39	SLSLSLG

縮寫：ND=未偵測到。

[a] 肽由三部分代碼標識，其中第一個字母表示用於消化樣品之酶(T 表示胰蛋白酶)，中間數字表示自胺基末端開始之片段編號，且最後一個字母表示肽起源(F 表示 Fc)。

[b] 峰指定參見圖 3A 及圖 3B。

[c] 觀測值及預測值表示單同位素質量。

[d] 半胱胺酸殘基為羧甲基化半胱胺酸。

[e] 非特異性裂解或錯誤裂解。

【0549】 比較 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料及所有臨床批料之肽圖(圖 3C 及圖 3D)。參考標準物批料及所有臨床批料之肽圖就肽圖案而言為一致的，從而證明製造方法之批次間一致性。

SE-HPLC

【0550】 作為批料釋放測試之一部分，進行粒徑排阻高效液相層析(SE-HPLC)。臨床批料及參考標準物批料之定量釋放資料並排示於表 5 中。

表 5：依據 SE-HPLC 之 IL-22 Fc 融合蛋白分子大小分佈(峰面積%)

IL-22 Fc 融合蛋白批料	組成百分比		
	HMW 形式總和	主峰	LMW 形式總和
參考標準物批料	0.3	99.6	0.1
臨床批料 1	0.3	99.6	0.1
臨床批料 2	0.3	99.6	0.1
臨床批料 3	0.2	99.7	0.1

注意：層析譜參見圖 4A 及圖 4B。

縮寫：SE-HPLC=粒徑排阻高效液相層析。

【0551】 IL-22 Fc 融合蛋白作為主峰溶析，滯留時間為約 16 分鐘。IL-22 Fc 融合蛋白批料之 SE-HPLC 概況之全尺寸視圖及展開圖證明臨床批料就峰圖案及主峰含量而言為一致的(圖 4A 及圖 4B)。另外，作為延伸表徵之一部分，利用分析型超速離心(AUC)作為正交粒徑異質性方法。當分析具有不同聚集物水準之一系列應力樣品時，來自 AUC 之資料與 SE-HPLC 充分相關聯。

CE-SDS-NGS

【0552】 作為批料釋放測試之一部分，在非還原條件下進行毛細管電泳十二烷基硫酸鈉-非凝膠篩分(CE-SDS-NGS)。定量釋放資料並排示於表 6 中。作為延伸表徵，在還原條件下(在二硫蘇糖醇存在下)進行 CE-SDS-NGS。作為延伸表徵測試之一部分，評定其他物質(表 7)。

表 6：依據 CE-SDS-NGS 之非還原 IL-22 Fc 融合蛋白分子大小分佈(CPA%)

IL-22 Fc 融合蛋白批料	峰組成百分比								
	1	2	3	4	5	6	主峰	前峰總和	後峰總和
參考標準物批料	0.02	0.05	0.02	0.10	0.07	2.9	96.7	3.1	0.1
臨床批料 1	0.01	0.04	0.01	0.07	0.04	2.8	96.9	3.0	0.1
臨床批料 2	0.01	0.04	0.01	0.06	0.03	2.5	97.2	2.7	0.1
臨床批料 3	0.01	0.04	0.01	0.07	0.04	2.8	96.9	2.9	0.2

注意：CE-SDS-NGS 非還原電泳圖及峰鑑定參見圖 5A 及圖 5B。
縮寫：CE-SDS-NGS=毛細管電泳十二烷基硫酸鈉-非凝膠篩分。

表 7：依據 CE-SDS-NGS 之還原 IL-22 Fc 融合蛋白分子大小分佈(CPA%)

IL-22 Fc 融合蛋白批料	峰組成百分比						
	1	2	3	4	5	主峰	IRS
參考標準物批料	0.01	0.04	0.12	1.3	0.05	97.4	1.1
臨床批料 1	0.01	0.03	0.13	1.2	0.06	97.4	1.1
臨床批料 2	0.02	0.04	0.12	1.1	0.05	97.6	1.0
臨床批料 3	0.02	0.04	0.13	1.2	0.05	97.6	1.0

注意：CE-SDS-NGS 還原電泳圖及峰鑑定參見圖 5C 及圖 5D。
縮寫：CE-SDS-NGS=毛細管電泳十二烷基硫酸鈉-非凝膠篩分；IRS=未完全還原之物質。

【0553】 非還原 IL-22 Fc 融合蛋白作為主要峰遷移，其餘次要峰表示具有明顯更低或更高分子量之物質(圖 5A (全尺寸視圖)及圖 5B (展開圖))。表 6 中提供藉由非還原樣品之 CE-SDS-NGS 分離之變異體之相對分佈。IL-22 Fc 融合蛋白

批料之 CE-SDS-NGS 概況顯示一致之峰圖案及修正峰面積(CPA)百分比。另外，此方法能夠偵測蛋白質二硫鍵(當存在時)還原。

【0554】 來自還原 IL-22 Fc 融合蛋白之 CE-SDS-NGS 分析之電泳圖顯示存在一個主鋒，對應於單鏈分子(圖 5C 及圖 5D)。還原形式之相對分佈在表 7 中列出。IL-22 Fc 融合蛋白批料之 CE-SDS-NGS 概況顯示一致之峰圖案及修正 CPA 百分比。

SDS-PAGE 分析

【0555】 使用 SYPRO®寶石紅染色型十二烷基硫酸鈉聚丙烯醯胺凝膠電泳(SDS-PAGE)分析來評估 IL-22 Fc 融合蛋白批次之純度。儘管此方法並非定量方法，但其可用於偵測微量蛋白質雜質。藉由 SDS-PAGE 來分析還原(圖 6A)及非還原(圖 6B) IL-22 Fc 融合蛋白樣品。藉由在 SDS-PAGE 樣品緩衝液存在下加熱使樣品變性。在碘乙醯胺存在下將非還原樣品加熱至 60℃後持續 5 分鐘，而在添加還原劑(DTT)之情況下將還原樣品加熱至 60℃後持續 10 分鐘。所有樣品均以 5 μg 裝載。在 4%-20%聚丙烯醯胺梯度凝膠上分離所製備之樣品、分子量標準物及敏感度標準物(每泳道 2 及 8 ng 牛血清白蛋白)。隨後藉由 SYPRO®寶石紅染色來觀察蛋白質組分。

【0556】 對於 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料及 IL-22 Fc 融合蛋白臨床批料，在還原(圖 6A，泳道 4-7)及非還原(圖 6B，泳道 4-7)樣品中皆觀測到一致譜帶圖案。

【0557】 對於還原樣品(圖 6A，泳道 4-7)，一個主要譜帶遷移，表觀質量為約 50 kDa，與 IL-22 Fc 融合蛋白之單鏈一致。在還原樣品中觀測到之譜帶圖案亦與在還原 IL-22 Fc 融合蛋白之 CE-SDS-NGS 分析中觀測到之遷移圖案一致(圖 5C

及圖 5D)。切下凝膠中之所有譜帶，用胰蛋白酶消化，並且藉由基質輔助雷射解吸/電離飛行時間質譜(MALDI-TOF MS)進行分析。胰蛋白酶圖質量分析之結果指示凝膠中之所有譜帶均與產物相關。

【0558】 對於非還原樣品(圖 6B，泳道 4-7)，完整 IL-22 Fc 融合蛋白為主要譜帶並且以約 125 kDa 之表觀質量遷移。在非還原樣品中觀測到之譜帶圖案亦與在非還原 IL-22 Fc 融合蛋白之 CE-SDS-NGS 分析中觀測到之遷移圖案一致(圖 5A 及圖 5B)。切下凝膠中之所有譜帶，用胰蛋白酶消化，並且藉由 MALDI-TOF MS 進行分析。胰蛋白酶圖質量分析之結果指示凝膠中之所有譜帶均與產物相關。

ICIEF

【0559】 成像毛細管等電聚焦(ICIEF)提供定量評定蛋白質電荷異質性之手段。在存在及不存在 CpB 處理之情況下分析 IL-22 Fc 融合蛋白批料。CpB 為移除 C-末端離胺酸殘基之酶。據信 C-末端離胺酸殘基之異質性為內源 CHO 鹼性羧肽酶在細胞培養操作期間之蛋白水解的結果。藉由移除由 C-末端離胺酸殘基賦予之電荷異質性，有可能更透徹地評定蛋白質中存在之其餘電荷變異體。

【0560】 作為批料釋放測試之一部分，在 CpB 及唾液酸酶處理後進行 ICIEF。定量釋放資料並排示於表 8 中。另外，作為延伸表徵，在不存在 CpB 處理(具有 C-末端離胺酸異質性之天然 IL-22 Fc 融合蛋白)之情況下進行 ICIEF。

【0561】 未經 CpB 處理之天然 IL-22 Fc 融合蛋白之 ICIEF 分析結果彙總於表 8 中並且示於圖 7A (全尺寸視圖)及圖 7B (展開圖)中，顯示該等批料由於 C-末端離胺酸電荷異質性而具有可變電荷變異體分佈。經 CpB 處理之 IL-22 Fc 融合蛋白之分析結果彙總於表 9 中並且示於圖 7C (全尺寸視圖)及圖 7D (展開圖)中，證明電荷變異體分佈之批料間一致性。比較存在及不存在 CpB 處理時獲得之結果

指示鹼性變異體主要由於離胺酸異質性(圖 7E)。

表 8：

依據天然 IL-22 Fc 融合蛋白之 ICIEF 之電荷變異體分佈(峰面積%)

IL-22 Fc 融合蛋白批料	電荷變異體百分比		
	酸性區	主峰	鹼性區
參考標準物批料	31.0	47.7	21.3
臨床批料 1	29.7	40.8	29.5
臨床批料 2	24.8	38.6	36.6
臨床批料 3	28.2	41.2	30.6

縮寫：ICIEF=成像毛細管等電聚焦。

表 9：

依據經 CpB 處理之 IL-22 Fc 融合蛋白之 ICIEF 之電荷變異體分佈(峰面積%)

IL-22 Fc 融合蛋白批料	電荷變異體百分比		
	酸性區	主峰	鹼性區
參考標準物批料	40.6	53.6	5.8
臨床批料 1	37.9	56.3	5.8
臨床批料 2	40.6	53.6	5.8
臨床批料 3	40.7	52.9	6.4

縮寫：ICIEF=成像毛細管等電聚焦。

等電點

【0562】 pI 為蛋白質不具淨電荷時之 pH 值。在用唾液酸酶處理後，藉由 ICIEF 測定天然 IL-22 Fc 融合蛋白之 pI。根據此分析，確定主要組分之 pI 為 6.5。在 ICIEF 電荷異質性方法中針對主峰觀測之 pI 可能與此值略有不同，此係因為電荷異質性方法採用窄範圍兩性電解質，該等電解質產生 pH 梯度，藉由兩個括弧 pI 標記進行校準。

消光係數測定

【0563】 藉由比較經蛋白水解裂解且解摺疊之 IL-22 Fc 融合蛋白之光譜與由胺基酸序列計算之光譜來確定 IL-22 Fc 融合蛋白溶液之蛋白質濃度。此計算係

基於個別胺基酸之已知吸光度值(Bewley 等人, *Analytical Biochemistry* 123:55-65, 1982)。使用此方法，測定 IL-22 Fc 融合蛋白在 280 nm 下之消光係數為 0.98 mL mg^{-1} cm^{-1}。此消光係數用於紫外-可見分光光度掃描分析中，以計算所有測試批料之 IL-22 Fc 融合蛋白濃度。

N-糖基化位點佔有率

【0564】 IL-22 Fc 融合蛋白在該分子之兩個細胞介素結構域中之每一個中含有四個 N-糖基化位點(Asn21、Asn35、Asn64 及 Asn143)。藉由對 IL-22 Fc 融合蛋白進行酶促去糖基化，繼之以 Lys-C 肽作圖及 LC-MS 分析來測定 IL-22 Fc 融合蛋白之 N-糖基化位點佔有率。為了產生 IL-22 Fc 融合蛋白肽圖，在用鹽酸胍使蛋白質經受變性條件、用二硫蘇糖醇還原以及用碘乙酸使半胱胺酸羧甲基化之後，用內切蛋白酶 Lys-C 消化蛋白質。使用 PNGase F 酶使 N-聚醣自蛋白質裂解。藉由 UHPLC 與質譜儀聯用來分離所得肽。

【0565】 基於去糖基化肽之提取離子層析譜之積分峰面積除以去糖基化肽與天然肽之總峰面積來計算位點佔有率百分比。(PNGase F 將天冬醯胺酸轉化為天冬胺酸，引起去糖基化肽之 1 Da 質量變化。)計算提取離子層析譜時考慮肽之最豐富電荷狀態。

【0566】 Asn21、Asn35、Asn64 及 Asn143 之 N-糖基化位點佔有率百分比示於表 10 中。顯示參考標準物批料以及臨床批料 1、2 及 3 之四個 N-糖基化位點之間的位點佔有率一致。

表 10：依據 Lys-C 肽作圖及 LC-MS 之 IL-22 Fc 融合蛋白之 N-糖基化位點佔有率百分比

N-糖基化位點	參考標準物批料	臨床批料 1	臨床批料 2	臨床批料 3

Asn-21	78	84	82	81
Asn-35	100	100	100	100
Asn-64	100	100	100	100
Asn-143	30	34	33	33

【0567】 對臨床批料 4、5 及 6 進行 Asn21、Asn35、Asn64 及 Asn143 之 N-糖基化位點佔有率百分比之額外表徵。所有六個臨床批料均顯示一致位點佔有率(表 11)。

表 11：依據 Lys-C 肽作圖及 LC-MS 之 IL-22 Fc 融合蛋白臨床批料 1-6 之 N-糖基化位點佔有率百分比

N-糖基化位點	臨床批料 1	臨床批料 2	臨床批料 3	臨床批料 4	臨床批料 5	臨床批料 6	平均值
Asn-21	**84**	**82**	**81**	**82**	**82**	**81**	**82**
Asn-35	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**
Asn-64	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**	**100**
Asn-143	**34**	**33**	**33**	**35**	**33**	**32**	**33**

藉由 2-AA HILIC-UHPLC 進行 N-連接聚醣分析

【0568】 IL-22 Fc 融合蛋白每個單鏈分子含有四個 N-糖基化位點，該等 N-糖基化位點均位於該分子之細胞介素結構域中之 Asn21、Asn35、Asn64 及 Asn143 處。顯示參考標準物批料以及臨床批料 1、2、3、4、5 及 6 之四個 N-糖基化位點之間的位點佔有率一致。

【0569】 藉由 HILIC-UHPLC，利用螢光偵測來定量評定 IL-22 Fc 融合蛋白之 N-連接聚醣之相對分佈。對於此方法，在變性條件下使用 PNGase F 酶使 N-聚醣自蛋白質裂解。用螢光標記 2-AA 對釋放之聚醣進行衍生化，並且藉由 HILIC-UHPLC 與螢光偵測組合來進行分離及偵測。

【0570】 在 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料及臨床批料 1、2 及 3 中觀測之聚醣層析譜示於圖 8A 及圖 8B 中。IL-22 Fc 融合蛋白批料之相對 N-連接聚醣分佈提供於表 12 中且示於圖 8C 中。圖 8D 提供 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料

及臨床批料 2、3、4、5 及 6 之相對 N-連接聚醣分佈。將 N-連接聚醣根據屬性進行分組(圖 8A 及圖 8B)。證明 IL-22 Fc 融合蛋白臨床批料之糖基化圖案及糖基化屬性之一致性。在表示為峰面積百分比(%)時，所有六個臨床批料均顯示類似之分佈(表 13)。此等延伸表徵分析之結果證明 IL-22 Fc 融合蛋白批料具有一致聚醣概況。

【0571】　另外，作為延伸表徵之一部分，亦對半乳糖-α-1,3-半乳糖進行分析。藉由高效陰離子交換層析-脈衝電流偵測(HPAEC-PAD)來定量評定半乳糖-α-1,3-半乳糖。使用此方法在參考標準物批料及臨床批料中未偵測到半乳糖-α-1,3-半乳糖。

表 12：依據 2-AA HILIC-UHPLC 之 IL-22 Fc 融合蛋白相對 N-聚醣分佈(峰面積%)

峰	組成 [a]	參考標準物批料	臨床批料 1	臨床批料 2	臨床批料 3
1	$(HexNAc)_1 + (Man)_3(GlcNAc)_2$	0.6	0.2	0.4	0.4
2	$(HexNAc)_1$ (去氧己醣)$_1 + (Man)_3(GlcNAc)_2$	0.9	0.5	0.7	0.7
3	$(HexNAc)_2 + (Man)_3(GlcNAc)_2$	1.9	1.0	1.5	1.5
4	$(HexNAc)_2 + (Man)_3(GlcNAc)_2$	0.8	0.4	0.5	0.5
5	$(Hex)_1$ $(HexNAc)_1 + (Man)_3(GlcNAc)_2$	0.5	0.4	0.0	0.4
6	$(HexNAc)_2$ (去氧己醣)$_1 + (Man)_3(GlcNAc)_2$	3.8	3.4	3.3	3.8
7	$(HexNAc)_3 + (Man)_3(GlcNAc)_2$	0.4	0.3	0.2	0.3
8	$(HexNAc)_2$ (去氧己醣)$_1 + (Man)_3(GlcNAc)_2$	0.9	0.6	0.6	0.7
9	$(HexNAc)_3 + (Man)_3(GlcNAc)_2$	4.4	3.1	2.9	3.4
10	$(HexNAc)_3$ (去氧己醣)$_1 + (Man)_3(GlcNAc)_2$	1.4	1.2	1.0	1.2
11	$(HexNAc)_3$ (去氧己醣)$_1 + (Man)_3(GlcNAc)_2$	5.0	4.9	3.6	4.6
12	$(HexNAc)_4 + (Man)_3(GlcNAc)_2$	1.7	1.9	1.1	1.5
13	$(Hex)_1$ $(HexNAc)_2$ (去氧己醣)$_1 + (Man)_3(GlcNAc)_2$	0.8	0.5	0.7	0.6
14	$(HexNAc)_4$ (去氧己醣)$_1 + (Man)_3(GlcNAc)_2$	5.6	7.1	3.9	5.5
15	$(Hex)_1$ $(HexNAc)_3$ (去氧己醣)$_1 + (Man)_3(GlcNAc)_2$	0.3	0.2	0.2	0.2
16	$(Hex)_1$ $(HexNAc)_2$ $(NeuAc)_1 + (Man)_3(GlcNAc)_2$	0.7	0.4	0.8	0.6
17	$(Hex)_2$ $(HexNAc)_2$ (去氧己醣)$_1 + (Man)_3(GlcNAc)_2$	0.6	0.6	0.7	0.6
18	$(Hex)_1$ $(HexNAc)_2$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_1$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	0.7	0.5	0.6	0.6
19	$(Hex)_1$ $(HexNAc)_4$ (去氧己醣)$_1 + (Man)_3(GlcNAc)_2$	0.4	0.5	0.3	0.4
20	$(Hex)_1$ $(HexNAc)_2$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_1$ +	1.9	1.4	1.7	1.5

	$(Man)_3(GlcNAc)_2$				
21	$(Hex)_1$ $(HexNAc)_4$ (去氧己醣)$_1$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	0.4	0.3	0.4	0.3

表 12：依據 2-AA HILIC-UHPLC 之 IL-22 Fc 融合蛋白相對 N-聚醣分佈(峰面積%) (續)

峰	組成[a]	參考標準物批料	臨床批料 1	臨床批料 2	臨床批料 3
22	$(Hex)_1$ $(HexNAc)_3$ $(NeuAc)_1$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	1.5	1.2	1.5	1.4
23	$(Hex)_1$ $(HexNAc)_3$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_1$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	2.6	2.6	2.8	2.7
24	$(Hex)_1$ $(HexNAc)_4$ $(NeuAc)_1$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	0.9	1.5	1.2	1.4
25	$(Hex)_2$ $(HexNAc)_2$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_1$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	2.0	2.5	3.1	2.7
26	$(Hex)_1$ $(HexNAc)_4$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_1$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	3.1	5.1	3.9	4.6
27	$(Hex)_3$ $(HexNAc)_3$ (去氧己醣)$_1$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	0.8	0.7	0.7	0.7
28	$(Hex)_2$ $(HexNAc)_3$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_1$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	0.7	0.6	0.6	0.6
29	$(Hex)_2$ $(HexNAc)_2$ $(NeuAc)_2$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	0.8	0.8	1.5	1.0
30	$(Hex)_2$ $(HexNAc)_4$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_1$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	0.5	0.4	0.4	0.4
31	$(Hex)_2$ $(HexNAc)_2$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_2$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	2.8	3.1	3.8	3.4
32	$(Hex)_3$ $(HexNAc)_3$ $(NeuAc)_1$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	0.5	0.3	0.4	0.4
33	$(Hex)_2$ $(HexNAc)_3$ $(NeuAc)_2$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	0.9	0.7	1.0	0.8
34	$(Hex)_3$ $(HexNAc)_3$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_1$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	1.7	1.3	1.6	1.4
35	$(Hex)_2$ $(HexNAc)_3$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_2$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	2.2	1.7	2.1	1.9
36	$(Hex)_2$ $(HexNAc)_4$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_2$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	0.5	0.5	0.6	0.5
37	$(Hex)_3$ $(HexNAc)_3$ $(NeuAc)_2$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	2.0	1.9	2.2	2.0
38	$(Hex)_2$ $(HexNAc)_4$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_2$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	0.5	0.6	0.5	0.6
39	$(Hex)_3$ $(HexNAc)_3$ $(NeuAc)_2$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	1.1	0.9	1.2	1.0
40	$(Hex)_3$ $(HexNAc)_3$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_2$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	3.4	3.3	3.8	3.7
41	$(Hex)_4$ $(HexNAc)_4$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_1$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	0.8	0.8	0.8	0.7
42	$(Hex)_3$ $(HexNAc)_4$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_2$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	1.2	1.0	1.1	1.0

表 12：依據 2-AA HILIC-UHPLC 之 IL-22 Fc 融合蛋白相對 N-聚醣分佈(峰面積%) (續)

峰	組成 [a]	參考標準物批料	臨床批料 1	臨床批料 2	臨床批料 3
43	$(Hex)_3$ $(HexNAc)_3$ $(NeuAc)_3$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	2.0	2.1	2.7	2.2
44	$(Hex)_4$ $(HexNAc)_4$ $(NeuAc)_2$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	0.9	1.0	1.2	1.0
45	$(Hex)_3$ $(HexNAc)_3$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_3$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	2.9	3.4	3.8	3.5
46	$(Hex)_4$ $(HexNAc)_4$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_2$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	2.2	2.2	2.2	2.1
47	$(Hex)_3$ $(HexNAc)_4$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_3$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	1.7	1.6	1.7	1.5
48	$(Hex)_4$ $(HexNAc)_4$ $(NeuAc)_3$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	1.4	1.4	1.5	1.4
49	$(Hex)_4$ $(HexNAc)_4$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_3$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	5.0	6.0	6.0	5.1
50	$(Hex)_4$ $(HexNAc)_4$ $(NeuAc)_4$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	0.7	0.9	1.1	0.9
51	$(Hex)_4$ $(HexNAc)_4$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_4$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	5.1	6.8	7.0	6.8
52[b]	$(Hex)_5$ $(HexNAc)_5$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_3$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	1.3	1.7	1.6	1.4
53[c]	$(Hex)_4$ $(HexNAc)_4$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_3$ $(NeuGc)_1$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	0.4	0.6	0.5	0.5
54[b]	$(Hex)_5$ $(HexNAc)_5$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_4$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	1.8	2.5	2.3	2.3
55[b]	$(Hex)_6$ $(HexNAc)_6$ (去氧己醣)$_1$ $(NeuAc)_4$ + $(Man)_3(GlcNAc)_2$	0.4	0.7	0.6	0.6

注意：層析譜參見圖 8A 及圖 8B。

縮寫：2-AA HILIC-UHPLC=2-胺基苯甲酸親水性相互作用液相層析-超高效液相層析；Hex=己糖；HexNAc=N-乙醯已糖胺；NeuAc=N-乙醯神經胺糖酸；NeuGc=N-羥乙醯基神經胺糖酸；Man=甘露糖；GlcNAc=N-乙醯葡萄糖胺。

[a] 聚醣組成指定係基於完整聚醣之實驗質量，使用 GlycoMod 預測工具(http://web.expasy.org/glycomod)，假定存在由$(Man)_3(GlcNAc)_2$組成之標準 N-連接五醣核心。

[b] 含有乳醯胺酸(半乳糖-N-乙醯葡萄糖胺)重複。

[c] 含有三個 NeuAc 殘基及一個 NeuGc 殘基。

表 13：依據 2-AA HILIC-UHPLC 之 IL-22 Fc 融合蛋白臨床批料 1-6 之相對 N-聚醣分佈

	臨床批料 1	臨床批料 2	臨床批料 3	臨床批料 4	臨床批料 5	臨床批料 6						
	峰面積%											
N-聚醣觸角度							**平均值**	**SD**	**-3SD**	**+3SD**	**-5SD**	**+5SD**
1 個觸角	0.9	1.1	1.2	1.1	0.9	1.0	1.0	0.1	0.6	1.5	0.3	1.7
2 個觸角	15.2	18.7	17.3	16.9	16.6	15.8	16.7	1.2	13.1	20.4	10.6	22.8
3 個觸角	30.2	29.8	31.3	30.5	32.0	31.6	30.9	0.9	28.2	33.5	26.5	35.3
4 個觸角	44.3	38.9	41.0	40.6	41.2	42.7	41.5	1.8	35.9	47.0	32.2	50.7
半乳糖基化水準												
0 個半乳糖	22.3	17.0	21.3	18.6	22.2	22.4	20.6	2.3	13.7	27.5	9.1	32.1
1 個半乳糖	13.9	14.3	14.3	12.9	14.3	14.2	14.0	0.6	12.3	15.6	11.2	16.7
2 個半乳糖	12.5	14.7	13.1	13.8	13.1	12.8	13.3	0.8	10.9	15.7	9.3	17.4
3 個半乳糖	17.6	18.2	18.2	19.5	19.1	18.5	18.5	0.7	16.4	20.6	15.0	22.0
4 個半乳糖	24.3	24.2	23.9	24.3	21.9	23.1	23.6	0.9	20.8	26.4	18.9	28.3
唾液酸化水準												
0 個唾液酸	25.0	20.3	24.3	21.8	25.2	25.4	23.7	2.1	17.3	30.0	13.1	34.3
1 個唾液酸	19.0	20.1	19.3	19.6	21.0	20.7	20.0	0.8	17.6	22.3	16.0	23.9
2 個唾液酸	19.5	20.5	20.2	22.6	20.6	20.3	20.6	1.0	17.5	23.7	15.5	25.8
3 個唾液酸	16.8	17.6	16.9	17.2	15.4	16.0	16.6	0.8	14.2	19.1	12.5	20.7
4 個唾液酸	10.1	10.0	10.0	8.0	8.5	8.6	9.2	0.9	6.4	12.0	4.5	13.9

末端 Man/GlcNAc/Gal 殘基												
末端 Man	1.9	2.2	2.5	2.4	2.0	2.2	2.2	0.2	1.6	2.9	1.2	3.3
末端 GlcNAc	43.6	39.0	42.8	39.3	43.9	44.2	42.1	2.3	35.1	49.2	30.4	53.8

末端 Gal	30.3	31.2	30.8	35.9	32.1	32.8	32.2	2.0	26.1	38.3	22.1	42.3
末端 GlcNAc 之水準												
1 個末端 GlcNAc	9.5	11.2	10.4	11.3	10.1	10.2	10.4	0.7	8.4	12.5	7.0	13.8
2 個末端 GlcNAc	10.1	11.0	11.3	9.2	10.3	10.2	10.3	0.7	8.1	12.5	6.7	14.0
3 個末端 GlcNAc	15.4	12.3	14.7	12.8	15.3	15.6	14.3	1.4	10.1	18.6	7.2	21.5
4 個末端 GlcNAc	8.6	4.5	6.5	6.1	8.2	8.3	7.0	1.6	2.3	11.8	-0.9	15.0
末端半乳糖之水準												
1 個末端 Gal	22.7	22.7	23.1	25.9	22.8	23.5	23.4	1.2	19.8	27.1	17.4	29.5
2 個末端 Gal	5.9	6.7	6.1	7.7	7.4	7.5	6.9	0.8	4.6	9.2	3.0	10.8
3 個末端 Gal	1.7	1.8	1.7	2.3	1.9	1.9	1.9	0.2	1.1	2.6	0.7	3.0
4 個末端 Gal	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
LacNAc 重複												
LacNAc 重複	4.6	4.2	4.3	4.9	4.3	4.5	4.5	0.3	3.7	5.2	3.2	5.7
核心海藻糖基化												
海藻糖基化	70.7	66.8	69.7	71.0	70.6	71.4	70.0	1.7	65.1	75.0	61.7	78.3
去海藻糖基化	19.8	21.6	21.0	18.1	20.0	19.7	20.0	1.2	16.4	23.7	14.0	26.1
Man =甘露糖；GlcNAc =N-乙醯葡萄糖胺；Gal =半乳糖； LacNAc =乳醯胺酸(半乳糖-N-乙醯葡萄糖胺)重複； ND =未偵測到。 注意：峰面積%值不等於 100%，因為各值表示佔總聚醣之相對百分比。												

位點特異性 N-糖基化

【0572】 IL-22 Fc 融合蛋白之細胞介素結構域中之 Asn21 N-糖基化位點位於與 IL-22 受體之相互作用界面處或附近(Jones 等人, *Structure* 16:1333-44, 2008；Logsdon 等人, *J Mol. Biol.* 342(2):503-14, 2004)。

【0573】 藉由 Lys-C 肽作圖及 LC-MS 分析來確定 Asn21 位點處之 N-連接聚醣之相對分佈。為了產生 IL-22 Fc 融合蛋白肽圖，在用鹽酸胍使蛋白質經受變性條件、用二硫蘇糖醇還原以及用碘乙酸使半胱胺酸羧甲基化之後，用內切蛋白酶 Lys-C 消化蛋白質。藉由 UHPLC 與質譜儀聯用來分離所得肽。

【0574】 藉由LC-MS方法進行Lys-C肽作圖提供關於指定N-糖基化位點處之N-連接聚醣之鑑定及相對豐度之資訊。由於 IL-22 Fc 融合蛋白中許多糖肽之電離效率可能不同，故使用相對定量來比較批料之間的糖肽豐度。Asn21 之相對 N-連接聚醣分佈示於圖 9 中。根據選擇主要糖基化屬性對 N-連接聚醣進行分組。證明 IL-22 Fc 融合蛋白臨床批料在 Asn21 處之糖基化圖案及糖基化屬性之一致性。

針對 NANA 含量之唾液酸分析

【0575】 使用唾液酸 RP-HPLC 方法來測定 N-乙醯神經胺糖酸(NANA)含量，並且作為批料釋放測試之一部分來進行。臨床批料及參考標準物批料之定量釋放資料並排示於表 14 中。唾液酸分析之結果證明該等批料在 IL-22 Fc 融合蛋白發佈規格(8-12 莫耳 NANA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白)內具有一致 NANA 含量。另外，對 N-羥乙醯基神經胺糖酸(NGNA)進行分析作為延伸表徵之一部分。參考標準物批料及臨床批料之間的 NGNA 量保持一致低水準(表 14)。

表 14：依據 RP HPLC 之 IL-22 Fc 融合蛋白之 N-乙醯神經胺糖酸及 N-羥乙醯基

神經胺糖酸含量

IL-22 Fc 融合蛋白批料	莫耳 NANA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白	莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白
參考標準物批料	7.8	0.06
臨床批料 1	8.7	0.08
臨床批料 2	9.0	0.08
臨床批料 3	9.3	0.07

縮寫：NANA=N-乙醯神經胺糖酸；NGNA=N-羥乙醯基神經胺糖酸；RP-HPLC=逆相高效液相層析。

結構表徵

【0576】 二硫鍵聯有助於蛋白質之高級結構。根據一致序列，推演每個單鏈之總計四個鏈內二硫鍵聯，其中兩個在細胞介素中(Cys7-Cys99 及 Cys56-Cys145)且兩個在 Fc 中(Cys45-Cys105 及 Cys151-Cys209)。在完整分子中，預期每個單鏈之兩個半胱胺酸殘基參與鏈間二硫鍵聯。此等鍵聯處於 Fc 中，且可根據一致序列推演：兩個二硫鍵聯處於兩個單鏈之間(Cys10-Cys10 及 Cys13-Cys13)。

【0577】 蛋白質之高級結構由胺基酸序列及轉譯後修飾決定。因此，證實蛋白質之一級結構為表徵其結構性質之基礎。採用提供分子共價結構及功能性質之直接評定的方法以及對分子表面性質之細微變化敏感且定量之方法。使用圓偏光二色性(CD)光譜作為延伸表徵之一部分，以尋覓 IL-22 Fc 融合蛋白中高級結構元件之存在。二級結構特徵(包括α螺旋及β片)出現在CD光譜之遠紫外(UV)區 (190-250 nm)中。此等譜帶係由肽鍵相較於蛋白質其餘部分沿蛋白質主鏈之相對取向引起。另外，CD 光譜之近紫外區(250-340 nm)提供關於可能涉及疏水性、三級結構接觸之芳族殘基(例如色胺酸、酪胺酸及苯丙胺酸)之對掌性取向變化的資訊。參考標準物批料及臨床批料之光譜彼此相似，表明依據 CD 分析，在 IL-22 Fc 融合蛋白之高級結構方面無可辨別之差異(圖 10)。

實例 2：IL-22 Fc 融合蛋白效能及唾液酸化之效應

活體外研究

【0578】 IL-22 Fc 融合蛋白效能分析量測 IL-22 Fc 融合蛋白結合至 IL-22 RA1 ECD 之能力。在該分析中，將不同濃度之 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料、對照物及樣品添加至塗佈有 IL-22 RA1 ECD 之 96 孔板中。用山羊抗人類 IgG-辣根過氧化物酶(HRP)抗體及四甲基聯苯胺受質溶液偵測已結合之 IL-22 Fc 融合蛋白。將以光學密度(OD)單位表示之結果針對 IL-22 Fc 融合蛋白濃度作圖，並且使用平行曲線程式計算 IL-22 Fc 融合蛋白樣品相對於參考標準物批料之量測效能。

【0579】 效能量測結果顯示，該等批料具有一致之效能，滿足接受準則(40%-130%相對效能)，且適用於預定用途(表 15)。

表 15：IL-22 Fc 融合蛋白效能

IL-22 Fc 融合蛋白批料	依據結合分析之效能 相對效能%[a]
參考標準物批料	100
臨床批料 1	64
臨床批料 2	70
臨床批料 3	71

[a] 相對效能%報告為相對於參考標準物批料(其指定為 100%相對效能)之活性。

【0580】 已知唾液酸化之存在及水準對醣蛋白(諸如 IL-22)相互作用有影響(Marchal 等人, *Biol Chem* 382:151-9, 2001)。為了研究唾液酸對 IL-22 Fc 融合蛋白與 IL-22 受體之間的相互作用的影響，產生來自不同發展批次之具有不同唾液酸水準 0.7、4.6、8.1、12.0 或 15.4 mol 唾液酸/mol IL-22 Fc 融合蛋白之 IL-22 Fc 融合蛋白樣品(分析之定量極限為 3 mol/mol)，並且在結合分析及基於細胞之報告基因分析中進行測試。基於細胞之分析為報告基因分析，其量測 IL-22 Fc 融

合蛋白在內源表現 IL-22 受體之經工程改造之穩定 colo205 細胞中活化螢光素酶表現之能力。在經工程改造之穩定 colo205 細胞報告細胞株中，信號轉導與轉錄活化因子 3 (STAT3)與其在報告基因啟動子中之 DNA 反應元件結合誘導螢火蟲螢光素酶表現。在該分析中，將表現 colo205 報告基因之細胞與所製備之 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物、分析對照物及測試樣品之稀釋液一起在 96 孔分析板中培育。在定時培育之後，將螢光素酶試劑添加至分析板之孔中，並且使用發光板讀數器量測報告基因活性。分析板之各孔中發出之光的量與 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物、分析對照物及測試樣品誘導之螢光素酶之量成正比。將表示為發光單位(LUM)之結果針對 IL-22 Fc 融合蛋白濃度作圖，並且使用平行線分析來估算 IL-22 Fc 融合蛋白樣品相對於參考標準物之活性。此分析之示意圖示於圖 11 中。為了產生具有不同唾液酸水準之材料，對細胞培養及純化方法進行修改。

【0581】 當在基於細胞之分析中量測活性時，唾液酸含量與結合之間的相關性得以維持(圖 12A)。相關線不平行，但顯示相同的趨勢。

【0582】 在使用結合分析及基於細胞之分析進行效能檢查之前用唾液酸酶處理低水準唾液酸變異體及高唾液酸變異體證明效能並非僅由唾液酸決定，而是亦受潛在聚醣影響(表 16)。將 SA 變異體與 0.01 U/mg 唾液酸酶 A 一起培育，進行處理以移除唾液酸酶 A，並且進行調配。對唾液酸(SA)變異體 15 (mol/mol)材料進行去唾液酸化以產生高 SA 變異體 0 材料。對 SA 變異體 4 材料進行去唾液酸化以產生低 SA 變異體 0 材料。高 SA 變異體 0 材料與低 SA 水準 0 材料相比含有較多四觸角聚醣(亦即，更分支化，因此稱為「高」)、較多半乳糖基化聚醣以及較少含末端 GlcNAc 之聚醣。換言之，高 SA 變異體 0 材料與低 SA 變異體 0 材料相比包含更完整聚醣結構。具有更分支化及半乳糖基化之高 SA 變異體 0

材料允許添加更多唾液酸，其可僅添加至半乳糖殘基。認為分支化及半乳糖基化程度(可利用之半乳糖殘基)增加與達成 15 或更高之唾液酸水準有關。

表 16：IL-22 Fc 融合蛋白唾液酸變異體之效能

	結合			基於細胞	
	結果(相對效能%)			結果(相對活性%)	
樣品描述	**R&D SA**	**平均值**	**差異%**	**平均值**	**差異%**
低 SA 變異體 0 mol/mol	0.7	168*	11	148	9
高 SA 變異體 0 mol/mol	0.9	120	0	121	12
SA 變異體 4 mol/mol	4.6	101	0	99	7
SA 變異體 8 mol/mol	8.1	54*	7	67	0
SA 變異體 12 mol/mol	12.0	30*	21	39	3
SA 變異體 15 mol/mol	15.4	18*	20	26	0

差異%：分析之間的差異(n=2)

*效能估計值

【0583】　為了進一步探索唾液酸含量與結合之間的關係，用唾液酸酶處理若干臨床批料以移除唾液酸。在結合分析中分析去唾液酸化樣品。來自臨床批料(2、4、5 及 6)及參考標準物批料之去唾液酸化材料未收斂至統一效能值，表明其他產物品質屬性促成效能差異(圖 12B)。除可能影響 IL-22 Fc 融合蛋白與 IL-22 RA1 結合之總唾液酸含量以外的聚醣屬性包括分支化(觸角度)以及半乳糖基化及唾液酸化水準。參考標準物批料之效能相較於臨床批料有所增加可歸因於較多末端甘露糖及末端 GlcNAc、較少分支化、較少半乳糖基化及較少唾液酸化，從而指示聚醣結構與針對臨床批料所觀測之聚醣結構相比不太完整。證明所有臨床批料之糖基化圖案及糖基化屬性之一致性。

【0584】　為了研究潛在聚醣結構對結合活性之作用，用 PNGase F 酶處理與以上相同的臨床批料以移除所有 N-聚醣並且在效能分析中進行分析。藉由與樣品相同但添加 PNGase F 之處理由參考標準物批料製備之方法對照樣品之效能不同

於參考標準物批料之效能。此外，觀測方法對照物相較於參考標準物批料在分子大小異質性方面之差異。方法對照物與參考標準物批料相比含有較多高分子量(HMW)形式及較少低分子量(LMW)形式，如藉由粒徑排阻超高效液相層析(SE-UHPLC)所量測。方法對照物之 SE-UHPLC 層析譜顯示峰形狀及滯留時間之變化，指示聚醣組成在培育及純化製程後之變化。

【0585】 所有去糖基化樣品(包括參考標準物批料)均具有收斂至超過該分析之驗證範圍之水準的結合水準。所有去糖基化樣品之 EC50 (參見圖 13)均相似，表明除唾液酸以外，潛在聚醣亦有助於結合活性。方法對照物之效能變化可能由於聚醣組成差異，如 SE-UHPLC 峰變化所指示。以上結果顯示效能分析對影響 IL-22 Fc 融合蛋白結合 IL-22 RA1 之能力的產物品質屬性敏感。

活體內研究

【0586】 在小鼠中評估 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量對藥物動力學(PK)及血清 REG3β PD 反應之影響。將品系 CD1 之九十六隻雌性小鼠分配至六組中之一組(n=16 隻小鼠/組)。經由尾靜脈，給與第 1 組中之動物單次藥團劑量之媒劑對照，且給與第 2-6 組中之動物單次 1,000 μg/kg (1 mg/kg)靜脈內藥團劑量之具有 0.7、4.6、8.1、12.0 或 15.4 mol 唾液酸/mol IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸水準的 IL-22 Fc 融合蛋白變異體。在截至劑量後 21 天之不同時間點，收集血清樣品(n=4/時間點)並且分析 IL-22 Fc 融合蛋白濃度及血清 REG3β 濃度。使用非隔室稀疏分析，使用來自個別動物之血清濃度-時間資料來估計 PK 參數。

【0587】 平均值±SD (標準偏差)血清 IL-22 Fc 融合蛋白濃度-時間概況提供於圖 14 中，且組平均 PK 參數估計值提供於表 17 中。

表 17：在 CD1 小鼠中經靜脈內投與 1,000 μg/kg IL-22 Fc 融合蛋白變異體後之

非隔室藥物動力學參數估計值

PK 參數	第 2 組 IL-22 Fc，0.7 mol/mol SA	第 3 組 IL-22 Fc，4.6 mol/mol SA	第 4 組 IL-22 Fc，8.1 mol/mol SA	第 5 組 IL-22 Fc，12.0 mol/mol SA	第 6 組 IL-22 Fc，15.4 mol/mol SA
$C_{最大}$(ng/mL)	3,100±1,490	6,850±339	10,300±1,040	15,800±1,330	23,200±743
$AUC_{最後}$(天•ng/mL)	1,020±59.5	2,480±129	7,500±306	23,500±925	39,800±1230
CL (mL/kg/天)	945	399	132	42.6	25.1
V_{ss} (mL/kg)	2,430	797	301	107	71.2
$T_{1/2,\lambda z}$ (天)	2.01	2.66	2.04	1.93	2.15

縮寫：$AUC_{最後}$=自時間 0 至最後一個可量測時間點之血清濃度-時間曲線下面積；CL=清除率；$C_{最大}$=最大觀測濃度；IL=白介素；mol=莫耳；PK=藥物動力學；SA=唾液酸；$T_{1/2,\lambda z}$=終末消除半衰期；V_{ss}=穩態分佈體積。

【0588】　以 1,000 μg/kg 向 CD1 小鼠投與單次靜脈內藥團劑量之具有 0.7、4.6、8.1、12.0 或 15.4 mol/mol 唾液酸水準之 IL-22 Fc 融合蛋白後，平均清除率(CL)估計值分別為 945、399、132、42.6 及 25.1 mL/kg/天；最大觀測血清濃度($C_{最大}$)分別為 3,100、6,850、10,300、15,800 及 23,200 ng/mL；且穩態分佈體積(V_{ss})估計值分別為 2,430、797、301、107 及 71.2 mL/kg。終末半衰期估計值在具有不同唾液酸水準之材料間為相似的，並且介於 1.93 至 2.66 天之間。總體而言，隨唾液酸水準增加，IL-22 Fc 融合蛋白暴露增加，V_{ss} 增加且 CL 降低(圖 15)，可能由去唾液酸糖蛋白(ASGP)受體識別暴露之半乳糖殘基所引起之肝臟攝取來介導(Stefanich 等人, *J Pharmacol Exp Ther* 327:308-15, 2008)。

【0589】　REG3α 為由腸上皮細胞及胰臟腺泡細胞產生之抗微生物肽，並且為指示 IL-22R 標靶參與之相關 PD 生物標記物。REG3β 為人類及食蟹獼猴 REG3α 之小鼠直系同源物。平均值±SD 血清 REG3β 濃度-時間概況提供於圖 16A 中。在 CD1 小鼠中，在 1,000 μg/kg 之單次靜脈內藥團劑量後觀測到 REG3β 血清水準隨 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸水準增加而單調增加。IL-22 Fc 融合蛋白曲線下面積(AUC)變化與血清 Reg3β AUC 在不同唾液酸水準下之相應變化之間的關係示於圖 16B 中。組合 PK/PD 資料顯示 IL-22 Fc 融合蛋白暴露及血清 REG3β 反應

隨 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸水準增加而增加。此表明在 CD1 小鼠中，在 1,000 μg/kg 之靜脈內劑量下，IL-22 Fc 融合蛋白暴露隨唾液酸含量增加而增加引起活體內血清 REG3β PD 反應增加，但活體外效能隨唾液酸含量增加而降低。

【0590】 此等研究顯示結合效能分析以與基於細胞之初步分析一致的方式對唾液酸含量敏感。

【0591】 鑒於在小鼠 PK/PD 研究中觀測到唾液酸含量與 PD 反應之間存在正相關性，在唾液酸含量與效能之間觀測到之負相關性不會引起活體內藥理學效應降低。雖然效能隨唾液酸增加而降低，但活體內清除率及分佈體積亦降低，從而引起更高暴露(在 $C_{最大}$及 AUC 方面)。組合 PK/PD 資料顯示，由於唾液酸含量差異所致之 IL-22 Fc 融合蛋白暴露變化為在活體內血清 REG3β PD 反應方面觀測到之變化的主要驅動因素，但唾液酸含量對活體外效能存在相反之影響。

實例 3：IL-22 Fc 融合蛋白之化學性質、製造方法及過程控制

批料及規模定義

【0592】 在生物反應器中使用懸浮液適應性 CHO 細胞株製備 IL-22 Fc 融合蛋白。細胞來源為主細胞庫(MCB)，且可使用 MCB 解凍作為若干生產運作之來源。由各細胞培養生產運作產生單批收集細胞培養液(HCCF)。藉由純化及最終調節對一或多批 HCCF 進行處理，以產生單批 IL-22 Fc 融合蛋白。所有製造均根據 cGMP。使用本文中所描述之方法的產生均以表 18 中所列出之規模發生。

表 18：細胞培養製程之製造規模

種子培養規模(L)	接種物培養規模(L)	生產規模(L)
20	80/400	2000

細胞培養及收集

【0593】 用於產生 IL-22 Fc 融合蛋白之細胞培養方法由四個步驟組成：種子

培養、接種物培養、產生及收集。圖 17 中之流程圖說明細胞培養及收集過程之階段、過程中控制(IPC)及相關資訊。使用此部分中所描述之方法的生產均以表 18 中所列出之規模發生。過程參數在表 19 中列出。

細胞培養過程之描述

細胞培養基

【0594】 細胞培養階段使用不同類型之培養基，所有培養基均為化學成分確定之培養基。含有甲硫胺酸磺醯亞胺(MSX)之選擇性培養基用於種子培養階段，而非選擇性培養基用於接種及生產階段。在生產階段亦使用非選擇性營養物饋料培養基。生產細胞培養期間使用之基礎培養基為化學成分確定之培養基，其經選擇以便減少就外源病原而言與使用動物來源之原材料相關之潛在風險。培養基含有胺基酸、維生素、痕量元素及緩衝組分。

【0595】 所有細胞培養基均無血清，化學成分確定，且包括細胞保護劑、多醣及滲透壓調節劑。該方法中使用一種含有動物來源之組分的原料：根據需要添加 30%聚甲矽康乳液以控制起泡。

種子培養

【0596】 為了起始種子培養，自液氮儲存中移出無血清 IL-22 Fc 融合蛋白 MCB 之細胞安瓿，解凍，並且用於對旋轉器、搖瓶或種子培養生物反應器進行接種。

【0597】 解凍後對細胞進行繼代培養，隨後在選擇性種子培養基中繼代。種子培養之培養條件提供於表 19 中。使用來自種子培養之細胞對第一接種物培養生物反應器進行接種。

【0598】 在其他實例中，可使用滾動種子培養來產生 IL-22 Fc 融合蛋白。在

此實例中，該種子培養物連續生長(直至某一細胞齡)以接種接種物培養物。

接種物培養

【0599】　為了提供 IL-22 Fc 融合蛋白生產培養物之接種物，藉由在非選擇性培養基中進行繼代培養而將種子培養細胞群擴增至更大尺寸之生物反應器中。種子培養與生產階段之間的繼代培養稱為接種物培養(N-2 及 N-1 培養物)。接種物培養中之最大繼代次數目前侷限於四次或更少，將由關於非選擇性培養基中之 IL-22 Fc 融合蛋白表現穩定性的未來研究定義。接種物培養之培養條件提供於表 19 中。

生產階段

【0600】　在生物反應器中使用非選擇性培養基進行 IL-22 Fc 融合蛋白之生產階段。為了接種生產培養物，將來自接種物培養之最終階段之細胞(稱為 N-1 培養物)轉移至含有生產培養基之生產生物反應器中。為了維持細胞活力及生產力，在培養過程中向生產生物反應器中添加營養物饋料。生產過程亦採用溫度變化來延長培養物活力並提高生產率。生產培養條件彙總於表 19 中。

【0601】　在收集生產培養物之前，獲取樣品並分析，以證實產物就微生物及病毒而言之安全性。

過程控制

【0602】　監測細胞培養效能指標(例如，細胞密度、活力及滴定度)及過程參數(培養物 pH 值、溫度及溶解氧)。監測及控制之過程參數示於表 19 中。過程中控制測試之作用及放棄極限提供於表 20 中。利用根據需要添加 CO_2 氣體(酸)及/或 Na_2CO_3、NaOH 或其他適合之鹼來調節生物反應器培養物之 pH 值。向生物反應器培養物補充消泡劑(聚甲矽康乳液)以減少泡沫形成。所有培養基溶液在使用前

均通過滅菌級膜過濾器(孔徑等級 0.1 μm)進行過濾。用於 pH 值及溶解氧控制之所有氣體均在使用前通過滅菌級膜過濾器(孔徑等級 0.22 μm)進行過濾。過程中控制測試之作用及放棄極限提供於表 20 中。設計製造過程以使用饋料分批培養方法進行操作。IL-22 Fc 融合蛋白處理中不存在中間物。

表 19：各細胞培養過程階段之過程參數目標值

過程階段及容器	過程參數	目標值 [a]
種子培養旋轉器或搖瓶	溫度	37℃
	培養持續時間	每一繼代 2-7 天
種子培養生物反應器	溫度	37℃
	pH 值	7.15
	溶解氧 [b]	30%
	培養持續時間	2-5 天
接種物培養生物反應器	溫度	37℃
	pH 值	7.10
	溶解氧 [b]	30%
	培養持續時間	每一生物反應器 2-3 天
生產生物反應器	初始溫度	37℃
	變化後溫度	33℃
	溫度變化時程	72 小時
	pH 值	7.00
	溶解氧 [b]	30%
	培養持續時間	12 天

[a] 將藉由發育確定可接受範圍，以確保 IL-22 Fc 融合蛋白始終滿足產物發佈規範。
[b] 溶解氧藉由用空氣及/或氧氣及/或富氧空氣直接鼓泡而維持在設定點。

表 20：過程中控制與極限

過程步驟 測試名稱	作用極限	接受準則 [a]
收集前細胞培養液(在收集時進行取樣)		
細胞培養液之囓齒動物細小病毒 PCR 分析	NA	陰性
囓齒動物細小病毒 324K 分析	NA	未偵測
一般病毒篩檢分析	NA	未偵測
黴漿菌偵測：培養方法	NA	未偵測
黴漿菌偵測：指示細胞/DNAF 程序	NA	未偵測
鉤端螺旋體即時 PCR	NA	未偵測
生物負荷(CFU/10 mL)	NA	≤10
收集之細胞培養液		
生物負荷(過濾後) (CFU/10 mL)	＞10	NA
最終 UFDF 庫之前的過程中步驟		
生物負荷(過濾前) (CFU/10 mL)	＞100	NA

生物負荷(過濾後) (CFU/10 mL)	＞10	NA
UFDF 庫(未調節整體)		
宿主細胞蛋白含量(ng/mg)	＞ 60.0	≤ 200.0
蛋白 A 含量(ng/mg)	＞10	NA
DNA 含量(pg/mg)	NA	≤ 238.1 pg/mg
生物負荷(過濾前) (CFU/10 mL)	＞50	NA
UFDF 庫(調節)		
生物負荷(過濾後) (CFU/10 mL)	＞10	NA

CFU=菌落形成單位；DNAF=DNA 結合螢光染料；NA=不適用；PCR=聚合酶鏈反應；UFDF=超濾滲濾。

[a] 在指定放棄極限之情況下製造當前臨床批料。對於未來批料，指定接受準則。若超過接受準則，則放棄批料。

過程相關雜質

【0603】 作為過程中控制測試之一部分，通常監測 IL-22 Fc 融合蛋白中之過程相關雜質，包括宿主細胞 DNA、殘餘蛋白 A 及宿主細胞蛋白(HCP)。

【0604】 此部分提供對在 IL-22 Fc 融合蛋白純化過程中依據在該過程中將雜質顯著稀釋至可接受之低水準(MSX)或在純化過程中將雜質濃度顯著降至可接受之低水準(聚甲矽康及泊洛沙姆 188)之文獻記載移除諸如甲硫胺酸磺醯亞胺(亦稱為 MSX)、消泡劑(聚甲矽康乳液)及 Kolliphor P 188 (或者稱為泊洛沙姆 188)之雜質的能力的評定。

【0605】 以 50 μM 之水準向種子培養物中添加 MSX 以達成選擇性壓力。未向接種物培養生物反應器或生產生物反應器中添加 MSX；因此，基於最大體積及最低預期滴定度 1.5 g/L，生產培養基中之最大 MSX 濃度為 81 μg/L 或 54 ng MSX/mg IL-22 Fc 融合蛋白。對於 I 期臨床研究，當假定純化過程中不存在 MSX 清除時，可能殘餘之最大 MSX 量將為 2.3 μg MSX/提議最大劑量(42 mg)。然而，預期層析及超濾滲濾(UFDF)步驟將進一步降低諸如 MSX 之小分子的水準。

【0606】 在親和庫中，在第一個層析步驟之後藉由核磁共振(NMR)量測 IL-22 Fc 融合蛋白純化過程中諸如聚甲矽康及泊洛沙姆 188 之過程相關雜質。聚甲矽

康及泊洛沙姆 188 低於親和庫之分析法定量極限(LOQ) (10 μg/ mL) (參見表 21)。

表 21：親和庫中之過程相關雜質水準

IL-22 Fc 融合蛋白批料	泊洛沙姆 188 (μg/mL)	聚甲矽康 (μg/mL)
臨床批料 1	< 10	< 10
臨床批料 2	< 10	< 10
臨床批料 3	< 10	< 10

殘餘溶劑

【0607】 在 IL-22 Fc 融合蛋白生產中未使用 1 類或 2 類溶劑。在 IL-22 Fc 融合蛋白純化中使用低濃度冰醋酸。根據人類用藥技術要求國際協合會議(ICH)殘餘溶劑指南(Q3C)，冰醋酸對人類健康具有低毒性及低風險。

收集

【0608】 在生產培養結束時，分離細胞培養液與細胞。

【0609】 為了收集，在生產生物反應器中冷卻培養物。隨後使用盤堆疊式分離器藉由離心移除細胞，且隨後使用單次使用深度微生物保留過濾器進行過濾。

【0610】 mAb 或 mAb 相關形式可能發生二硫鍵還原。迄今為止，對 IL-22 Fc 融合蛋白尚未觀測到此現象。然而，在 IL-22 Fc 融合蛋白之開發過程中已實施若干緩解策略作為預防措施。如以下所描述自所收集之細胞培養液中純化 IL-22 Fc 融合蛋白。

純化及修飾反應

【0611】 用於純化及最終調節 IL-22 Fc 融合蛋白之製程步驟及 IPC 示於圖 18 中。

【0612】 純化製程步驟中所使用之緩衝液之組成提供於表 22、表 23、表 24、表 25 及表 26 中。

表 22：IL-22 Fc 融合蛋白純化製程中所使用之病毒不活化清潔劑溶液之組成

製程步驟	組成
病毒不活化清潔劑	
清潔劑儲備溶液	10% Triton X-100

表 23：IL-22 Fc 融合蛋白純化製程中所使用之親和層析緩衝液之組成

製程步驟	組成
平衡緩衝液	0.025 M Tris、0.025 M 氯化鈉，pH 7.7
洗滌緩衝液	0.4 M 磷酸鉀，pH 7.0
溶析緩衝液	0.30 M L-精胺酸鹽酸鹽、0.013 M 磷酸鈉，pH 3.8
庫傳導性調節溶液	水
庫 pH 值調節溶液	1.5 M Tris 鹼，pH 11.0 2.0 M 乙酸，pH 2.2

表 24：IL-22 Fc 融合蛋白純化製程中所使用之多模式陰離子交換層析緩衝液之組成

製程步驟	組成
平衡緩衝液	0.040 M 乙酸鈉，pH 5.8
梯度溶析緩衝液	0.040 M 乙酸鈉，pH 5.8 及 0.04 M 乙酸鈉、0.30 M 硫酸鈉，pH 5.8

表 25：IL-22 Fc 融合蛋白純化製程中所使用之疏水性相互作用層析緩衝液之組成

製程步驟	組成
負載傳導性調節溶液	1.2 M 硫酸鈉
負載 pH 值調節緩衝液	1.5 M Tris 鹼，pH 11.0 2.0 M 乙酸，pH 2.2
平衡緩衝液	0.025 M MOPS、0.30 M 硫酸鈉，pH 7.0

表 26：IL-22 Fc 融合蛋白純化製程中所使用之超濾滲濾緩衝液之組成

製程步驟	組成
滲濾緩衝液	0.010 M 磷酸鈉，pH 7.2
調節緩衝液	0.010 M 磷酸鈉、1.2 M 蔗糖、0.025 M 甲硫胺酸、0.1% 聚山梨醇酯 20，pH 6.8

藉由清潔劑添加進行病毒不活化

【0613】　添加 10%清潔劑 Triton X-100 儲備溶液以產生收集細胞培養液 (HCCF)，以達成 0.5% Triton X-100 之最終濃度。HCCF 在 20℃-24℃下保持≥1 小時，以使潛在病毒顆粒不活化。

親和層析

【0614】 親和層析步驟為使用 MABSELECT SURE®樹脂之結合-逐步溶析過程。在細胞分離及 Triton 添加之後，將 HCCF 施加至平衡管柱上。藉由洗滌管柱來移除蛋白質及非蛋白質雜質。用低 pH 值溶析緩衝液自管柱回收產物。親和彙集由體積起始並基於 280 nm 處之吸光度而終止。此層析步驟移除殘餘雜質，諸如 DNA、宿主細胞蛋白、內毒素、病毒及小分子。

多模式陰離子交換層析

【0615】 多模式陰離子交換步驟為使用 CAPTO™黏附樹脂之結合-梯度溶析過程。在用平衡緩衝液使多模式陰離子交換管柱平衡後，將經傳導率及 pH 值調節之親和庫負載至管柱上。在 IL-22 Fc 融合蛋白結合至樹脂之後，用平衡緩衝液洗滌管柱。使用增加之鹽梯度，用溶析緩衝液自管柱溶析出 IL-22 Fc 融合蛋白。基於 280 nm 處之吸光度起始及終止多模式陰離子交換彙集。此層析步驟移除殘餘雜質，諸如 DNA、宿主細胞蛋白、病毒及高分子量形式(HMWF)。

藉由小病毒截留過濾進行病毒移除

【0616】 使來自先前步驟之產物庫通過單次使用正常流量小病毒截留過濾器(VIRESOLVE® ProMagnus)進行過濾。使用前後對過濾器進行完整性測試。

疏水性相互作用層析

【0617】 使用 Phenyl SEPHAROSE™ FF 樹脂以流通模式操作疏水性相互作用步驟。在用平衡緩衝液使疏水性相互作用管柱平衡之後，將來自先前步驟之經傳導率及 pH 值調節之產物庫負載至管柱上。使 IL-22 Fc 融合蛋白流經管柱，隨後用平衡緩衝液洗滌。基於 280 nm 處之吸光度起始及終止疏水性相互作用彙集。此層析步驟移除殘餘雜質，諸如宿主細胞蛋白、病毒及 HMWF。

超濾滲濾

【0618】 使用 10 kDa 複合再生纖維素超濾膜藉由超濾將產物庫濃縮至約 20 g/L。隨後將濃縮庫滲濾(緩衝液交換)至滲濾緩衝液中。

調節

【0619】 用滲濾緩衝液稀釋超濾滲濾(UFDF)庫，並且在 0.010 M 磷酸鈉、0.24 M 蔗糖、0.005 M 甲硫胺酸、0.02%聚山梨醇酯 20，pH 7.1 中調節至 10.0±1.0 g/L IL-22 Fc 融合蛋白之最終濃度。

IL-22 Fc 融合蛋白之最終過濾、填充及儲存

【0620】 使經調節之 UFDF 庫通過 0.22 μm 膜進行過濾，以產生 IL-22 Fc 融合蛋白，儲存在≤-20℃下。

合併同一步驟過程中庫

【0621】 含產物之過程中庫在製程步驟間可儲存在室溫下或 2℃-8℃下，並且可合併以用於進一步處理。為了使所得 IL-22 Fc 融合蛋白就發佈而言為可接受的，所合併之個別庫必須各自單獨滿足過程中限制。合併諸多庫來解決品質問題為不可接受的。

再過濾

【0622】 再過濾為僅允許防止損害過程中庫之主動性措施。在極少數情況下，當過程中庫由於諸如以下之操作事件而處於風險下時，可能需要在該過程中進行再過濾：

a.) 用於免除過濾步驟之先前過濾步驟之不可接受之使用後過濾器完整性測試。

b.) 可能潛在地損害儲存容器完整性之設備問題(例如，閥門故障或不當通氣過濾器安裝)。

c.) 超過清潔或蒸汽設備之驗證容納時間

再過濾不允許移除微生物污染物或解決任何其他產物品質問題。

再處理

【0623】 可在諸如可清楚鑑定之設備故障之有限情形下進行 IL-22 Fc 融合蛋白批料再處理。實例包括：

a.) 非一體式柱床

b.) 缺陷性梯度泵

c.) 先前過濾步驟之不可接受之使用後過濾器完整性測試， 其導致重複過程描述中所描述之過濾步驟(例如深度過濾、奈米過濾[小病毒截留過濾器]或最終 IL-22 Fc 融合蛋白過濾)。

【0624】 藉由重複此部分中所描述之一或多個製造步驟來進行再處理。必須滿足再處理步驟之所有相關 IPC 限制。

【0625】 必須研究批料之品質並且證明其不受再處理影響。因此，必須滿足所有 IPC 限制及發佈規範。若適用，則評定再處理材料之延伸表徵及穩定性，以排除品質影響。

填充及儲存

【0626】 將經調節之 UFDF 庫過濾至拋棄式生物過程袋中以產生 IL-22 Fc 融合蛋白，將其儲存在 2℃-8℃下以進行進一步處理或冷凍以供在≤-20℃下長期儲存。IL-22 Fc 融合蛋白可儲存在製造現場或根據運輸程序在受控溫度條件下運輸至其他贊助者場所/合同製造組織場所以進行長期儲存或 IL-22 Fc 融合蛋白醫藥組合物製造。

規範

【0627】 用於 IL-22 Fc 融合蛋白之發佈規範及接受準則在表 27 中列出。

表 27：IL-22 Fc 融合蛋白發佈規範

分析程序	接受準則
色彩(歐洲藥典色彩標度)	著色不超過 BY5
澄清度/乳光	≤Ref III
pH 值	7.1±0.3
滲透壓(mOsmol/kg)	290±50
依據 ELSD 之聚山梨醇酯 20 含量(mg/mL)	0.2±0.1
甲硫胺酸含量(mM)	5.0±2.0
藉由 MALDI-TOF 肽質量指紋圖鑑定 IL-22 Fc 融合蛋白	陽性鑑定 [a]
依據 SE-HPLC 之純度	
主峰(面積%)	≥95.0
HMW 形式總和(面積%)	≤5.0[b]
LMW 形式總和(面積%)	報告 [d]
依據 CE-SDS-NGS 之純度	
主峰(非還原) (CPA%)	≥85.0
LMW 形式(前峰)總和(非還原) (CPA%)	≤ 15.0[b]
HMW 形式(後峰)總和(非還原) (CPA%)	報告 [c]
依據 ICIEF 之純度	
主峰(面積%)	≥42.9
酸性區(面積%)	≤55.6[b]
鹼性區(面積%)	≤20.8[b]
唾液酸(mol/mol NANA)	8-12
生物負荷(CFU/10 mL)	≤10
細菌內毒素(EU/mL)	≤15

實例 4：IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物

【0628】 此實例提供關於使用第 1 號參考標準物批料作為 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物之資料。此批料用於需要 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物之所有釋放及穩定性分析。

【0629】 參考標準物用於定性、定量及半定量過程中樣品測試，以及 IL-22 Fc 融合蛋白及 IL-22 Fc 融合蛋白醫藥組合物釋放及穩定性測試，以驗證一致產物

品質。參考標準物在適用時亦用於系統適合性。

【0630】 使用適當釋放測試分析各參考標準物批料以證明適用作 IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物之可接受組成、純度及強度。

【0631】 參考標準物批料測試之結果提供於表 28 中，並且係基於參考批料發佈時之發佈測試程序。參考標準物批料 1 之效能指定值為 100%。將參考標準物批料之後續批料相對於先前參考物進行定量並且指定新活性(亦即，新相對效能值)。

表 28：IL-22 Fc 融合蛋白參考標準物批料發佈測試結果

分析程序	接受準則	結果
外觀及描述		
色彩	著色不超過 BY5	BY6
歐洲藥典色彩標度		
澄清度/乳光	≤Ref III	≤Ref I
一般測試		
pH 值	7.1±0.3	7.1
滲透壓(mOsmol/kg)	290±50	292
依據 ELSD 之 PS20 含量(mg/mL)	0.20±0.10	0.20
甲硫胺酸含量(mM)	5.0±2.0	5.0
鑑定		
藉由 MALDI-TOF-PMF 鑑定 IL-22 Fc 融合蛋白	陽性鑑定	陽性鑑定
純度		
依據 SE-HPLC 之純度		
主峰(面積%)	≥95.0	99.6
HMW 形式總和(面積%)	報告	0.3
LMW 形式總和(面積%)	報告	0.1
依據 CE-SDS-NGS 之純度		
主峰(非還原) (CPA%)	≥85.0	96.7
依據成像 cIEF 之純度		
主峰(面積%)	≥42.9	53.6
酸性區(面積%)	報告	40.6
鹼性區(面積%)	報告	5.8
唾液酸(mol/mol)	8-12	8
量		
依據 UV 光譜掃描之蛋白質含量(mg/mL）	10.0±1.0	10.7

CE-SDS-NGS=毛細管電泳十二烷基硫酸鈉非凝膠篩分；cIEF=毛細管等電聚焦；CPA=修正峰面積；ELSD=蒸發光散射偵測器；HMW=高分子量；MALDI-TOF-PMF=基質輔助雷射脫附/離子化飛行時間肽質量指紋圖；SE-HPLC=粒徑排阻高效液相層析；UV 光譜掃描=紫外-可見分光光度掃描。

實例 5：唾液酸水準隨細胞培養持續時間之變化

【0632】 評估細胞培養持續時間對 IL-22 Fc 融合蛋白唾液酸水準之影響。如本文中所描述來產生 IL-22 Fc 融合蛋白(參見例如實例 3)。在生產生物反應器中培養期間之眾多時間點使用 RP-HPLC 評定唾液酸水準。每莫耳二聚 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸水準隨細胞培養持續時間增加而降低(圖 20)。此等結果顯示，對於 10 天之細胞培養持續時間，唾液酸含量為約 8 mol/mol，而在 12 天細胞培養之後，唾液酸含量為約 6 mol/mol。藉由本文中所描述之純化方法(參見例如實例 3)進一步增濃唾液酸含量，例如，使用親和層析樹脂，諸如 MABSELECT SURE® 樹脂及多模式陰離子交換層析，例如，使用 CAPTO™黏附樹脂。因而，對於生產生物反應器中之生產階段使用 10 天之細胞培養持續時間時產生之 IL-22 Fc 融合蛋白之約 8 mol/mol 唾液酸含量可藉由如本文中所描述之純化而增濃至 8 至 12 mol/mol 唾液酸(例如，8 至 9 mol/mol 唾液酸)。類似地，對於生產生物反應器中之生產階段使用 12 天之細胞培養持續時間時產生之 IL-22 Fc 融合蛋白之約 6 mol/mol 唾液酸含量亦可藉由如本文中所描述之純化而增濃至 8 至 12 mol/mol 唾液酸(例如，8 至 9 mol/mol 唾液酸)。

【0633】 此等資料顯示細胞培養持續時間(例如，在生產生物反應器中培養期間)可為用於調節如本文中所描述而產生之 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量的製程槓桿。細胞培養持續時間可與本文中所描述之純化方法組合用於增濃平均唾液酸含量為 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白(例如 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白)之 IL-22 Fc 融合蛋白組合物。

其他實施例

【0634】 可根據以下編號實施例中之任一者來定義本文中所描述之技術之一些實施例：

1. 一種介白素(IL)-22 Fc 融合蛋白，其包含藉由連接子連接至 Fc 區之 IL-22 多肽，其中該 IL-22 多肽經糖基化，且其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量在約 8 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

2. 一種 IL-22 Fc 融合蛋白，其包含藉由連接子連接至 Fc 區之 IL-22 多肽，其中該 IL-22 多肽經糖基化，且其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之效能相對於唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之參考 IL-22 Fc 融合蛋白為約 40%至約 130%，視情況其中該參考 IL-22 Fc 融合蛋白具有表 12 及/或表 13 中所示之 N-聚醣分佈。

3. 如實施例 2 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之效能相對於唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之參考 IL-22 Fc 融合蛋白為約 80%至約 120%。

4. 如實施例 2 或實施例 3 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之效能相對於唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之參考 IL-22 Fc 融合蛋白為約 60%至約 110%。

5. 如實施例 2 至實施例 4 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之效能相對於唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之參考 IL-22 Fc 融合蛋白為約 80%至約 100%。

6. 如實施例 2 至實施例 5 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中在受體結合分析或基於細胞之結合分析中評定效能。

7. 如實施例 2 至實施例 6 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量在約 8 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

8. 如實施例 1 或實施例 7 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量在約 8 至約 11 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

9. 如實施例 1 或實施例 8 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量在約 8 至約 10 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

10. 如實施例 1、實施例 8 或實施例 9 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量在約 8 至約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

11. 如實施例 1 或實施例 8 至實施例 10 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

12. 如實施例 1 或實施例 8 至實施例 10 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

13. 如實施例 1 或實施例 8 至實施例 11 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該唾液酸為 N-乙醯神經胺糖酸(NANA)。

14. 如實施例 1 至實施例 13 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之最大觀測濃度($C_{最大}$)為約 8,000 ng/mL 至約 19,000 ng/mL。

15. 如實施例 14 之方法，其中在向 CD1 小鼠經靜脈內投與約 1,000 μg/kg 之該 IL-22 Fc 融合蛋白後評定該 $C_{最大}$。

16. 如實施例 1 至實施例 15 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白自時間 0 至最後一個可量測時間點之血清濃度-時間曲線下面積($AUC_{最後}$)為約 7,000 天·ng/mL 至約 25,000 天·ng/mL。

17. 如實施例 16 之方法，其中在向 CD1 小鼠經靜脈內投與約 1,000 μg/kg 之該

IL-22 Fc 融合蛋白後評定該 AUC 最後。

18. 如實施例 1 至實施例 17 中任一項之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之清除率(CL)為約 40 mL/kg/天至約 140 mL/kg/天。

19. 如實施例 18 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中在向 CD1 小鼠經靜脈內投與約 1,000 μg/kg 之該 IL-22 Fc 融合蛋白後評定該 CL。

20. 如實施例 1 至實施例 19 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 多肽經 N-糖基化。

21. 如實施例 20 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 多肽包含具有單觸角、雙觸角、三觸角及/或四觸角結構之 N-聚醣。

22. 如實施例 21 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 0.1%至約 2%之該等 N-聚醣具有單觸角結構。

23. 如實施例 22 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 0.5%至約 1.5%之該等 N-聚醣具有單觸角結構。

24. 如實施例 23 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 1%之該等 N-聚醣具有單觸角結構。

25. 如實施例 21 至實施例 24 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 10%至約 25%之該等 N-聚醣具有雙觸角結構。

26. 如實施例 25 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 12%至約 21%之該等 N-聚醣具有雙觸角結構。

27. 如實施例 26 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 17%之該等 N-聚醣具有雙觸角結構。

28. 如實施例 21 至實施例 27 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 25%至約 40%之該等 N-聚醣具有三觸角結構。

29. 如實施例 28 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 28%至約 35%之該等 N-聚醣具有三觸角結構。

30. 如實施例 29 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 31%之該等 N-聚醣具有三觸角結構。

31. 如實施例 21 至實施例 30 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 30%至約 51%之該等 N-聚醣具有四觸角結構。

32. 如實施例 31 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 35%至約 48%之該等 N-聚醣具有四觸角結構。

33. 如實施例 32 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 42%之該等 N-聚醣具有四觸角結構。

34. 如實施例 20 至實施例 33 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含含有零、一、二、三或四個半乳糖部分之 N-聚醣。

35. 如實施例 34 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 9%至約 32%之該等 N-聚醣包含零個半乳糖部分。

36. 如實施例 35 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 15%至約 25%之該等 N-聚醣包含零個半乳糖部分。

37. 如實施例 36 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 21%之該等 N-聚醣包含零個半乳糖部分。

38. 如實施例 34 至實施例 37 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 10%至約 20%之該等 N-聚醣包含一個半乳糖部分。

39. 如實施例 38 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 12%至約 16%之該等 N-聚醣包含一個半乳糖部分。

40. 如實施例 39 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 14%之該等 N-聚醣包含一個半乳糖部分。

41. 如實施例 34 至實施例 40 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 8%至約 25%之該等 N-聚醣包含兩個半乳糖部分。

42. 如實施例 41 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 10%至約 16%之該等 N-聚醣包含兩個半乳糖部分。

43. 如實施例 42 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 13%之該等 N-聚醣包含兩個半乳糖部分。

44. 如實施例 34 至實施例 43 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 12%至約 25%之該等 N-聚醣包含三個半乳糖部分。

45. 如實施例 44 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 15%至約 22%之該等 N-聚醣包含三個半乳糖部分。

46. 如實施例 45 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 19%之該等 N-聚醣包含三個半乳糖部分。

47. 如實施例 34 至實施例 46 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 12%至約 30%之該等 N-聚醣包含四個半乳糖部分。

48. 如實施例 47 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 15%至約 25%之該等 N-聚醣包含四個半乳糖部分。

49. 如實施例 48 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 24%之該等 N-聚醣包含四個半乳糖部分。

50. 如實施例 20 至實施例 49 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含含有零、一、二、三或四個唾液酸部分之 N-聚醣。

51. 如實施例 50 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 12%至約 35%之該等 N-聚醣包含零個唾液酸部分。

52. 如實施例 51 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 20%至約 30%之該等 N-聚醣包含零個唾液酸部分。

53. 如實施例 52 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 24%之該等 N-聚醣包含零個唾液酸部分。

54. 如實施例 50 至實施例 53 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包含一個唾液酸部分。

55. 如實施例 54 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 15%至約 25%之該等 N-聚醣包含一個唾液酸部分。

56. 如實施例 55 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 20%之該等 N-聚醣包含一個唾液酸部分。

57. 如實施例 50 至實施例 56 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包含兩個唾液酸部分。

58. 如實施例 57 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 15%至約 25%之該等 N-聚醣包含兩個唾液酸部分。

59. 如實施例 58 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 21%之該等 N-聚醣包含兩個唾液酸部分。

60. 如實施例 50 至實施例 59 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 10%至約 30%之該等 N-聚醣包含三個唾液酸部分。

61. 如實施例 60 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 12%至約 24%之該等 N-聚醣包含三個唾液酸部分。

62. 如實施例 61 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 17%之該等 N-聚醣包含三個唾液酸部分。

63. 如實施例 50 至實施例 62 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 1%至約 20%之該等 N-聚醣包含四個唾液酸部分。

64. 如實施例 63 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 5%至約 15%之該等 N-聚醣包含四個唾液酸部分。

65. 如實施例 64 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 9%之該等 N-聚醣包含四個唾液酸部分。

66. 如實施例 20 至實施例 65 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 多肽包含約 0%至約 10%含有末端甘露糖部分之 N-聚醣。

67. 如實施例 66 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 1%至約 4%之該等 N-聚醣包含末端甘露糖部分。

68. 如實施例 67 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 2%之該等 N-聚醣包含末端甘露糖部分。

69. 如實施例 20 至實施例 68 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 多肽包含約 30%至約 55%含有末端 N-乙醯葡萄糖胺(GlcNAc)部分之 N-聚醣。

70. 如實施例 69 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 35%至約 50%之該等 N-聚醣包含末端 GlcNAc 部分。

71. 如實施例 70 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 42%之該等 N-聚醣包含末端 GlcNAc 部分。

72. 如實施例 69 至實施例 71 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該等 N-聚醣包含一、二、三或四個末端 GlcNAc 部分。

73. 如實施例 72 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 1%至約 20%之該等 N-聚醣包含一個末端 GlcNAc 部分。

74. 如實施例 73 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 5%至約 15%之該等 N-聚醣包含一個末端 GlcNAc 部分。

75. 如實施例 74 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 10%之該等 N-聚醣包含一個末端 GlcNAc 部分。

76. 如實施例 72 至實施例 75 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 1%至約 20%之該等 N-聚醣包含兩個末端 GlcNAc 部分。

77. 如實施例 76 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 5%至約 15%之該等 N-聚醣包含兩個末端 GlcNAc 部分。

78. 如實施例 77 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 10%之該等 N-聚醣包含兩個末端 GlcNAc 部分。

79. 如實施例 72 至實施例 78 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 5%至約 25%之該等 N-聚醣包含三個末端 GlcNAc 部分。

80. 如實施例 79 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 10%至約 20%之該等 N-聚醣包含三個末端 GlcNAc 部分。

81. 如實施例 80 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 14%之該等 N-聚醣包含三個末端 GlcNAc 部分。

82. 如實施例 72 至實施例 81 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 0%至約 15%之該等 N-聚醣包含四個末端 GlcNAc 部分。

83. 如實施例 82 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 4%至約 12%之該等 N-聚醣包含四個末端 GlcNAc 部分。

84. 如實施例 83 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 7%之該等 N-聚醣包含四個末端 GlcNAc 部分。

85. 如實施例 20 至實施例 84 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 多肽包含約 20%至約 45%含有末端半乳糖(Gal)部分之 N-聚醣。

86. 如實施例 85 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 25%至約 35%之該等 N-聚醣包含末端 Gal 部分。

87. 如實施例 86 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 32%之該等 N-聚醣包含末端 Gal 部分。

88. 如實施例 85 至實施例 87 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該等 N-聚醣包含一、二或三個末端 Gal 部分。

89. 如實施例 88 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 15%至約 30%之該等 N-聚醣包含一個末端 Gal 部分。

90. 如實施例 89 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 20%至約 25%之該等 N-聚醣包含一個末端 Gal 部分。

91. 如實施例 90 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 23%之該等 N-聚醣包含一個末端 Gal 部分。

92. 如實施例 88 至實施例 91 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 1%至約 15%之該等 N-聚醣包含兩個末端 Gal 部分。

93. 如實施例 92 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 2%至約 12%之該等 N-聚醣包含兩個末端 Gal 部分。

94. 如實施例 93 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 7%之該等 N-聚醣包含兩個末端 Gal 部分。

95. 如實施例 88 至實施例 94 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 0.1%至約 6%之該等 N-聚醣包含三個末端 Gal 部分。

96. 如實施例 95 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 1%至約 3%之該等 N-聚醣包含三個末端 Gal 部分。

97. 如實施例 96 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 2%之該等 N-聚醣包含三個末端 Gal 部分。

98. 如實施例 20 至實施例 97 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 多肽包含含有半乳糖 N-乙醯葡萄糖胺(LacNAc)重複之 N-聚醣。

99. 如實施例 98 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 1%至約 10%之該等 N-聚醣包含 LacNAc 重複。

100. 如實施例 99 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 3%至約 6%之該等 N-聚醣包含 LacNAc 重複。

101. 如實施例 100 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 5%之該等 N-聚醣包含 LacNAc 重複。

102. 如實施例 20 至實施例 101 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 多肽包含含有海藻糖基化 N-聚醣之 N-聚醣。

103. 如實施例 102 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 60%至約 80%之該等 N-聚醣經海藻糖基化。

104. 如實施例 103 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 65%至約 75%之該等 N-聚醣經海藻糖基化。

105. 如實施例 104 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 70%之該等 N-聚醣經海藻糖基化。

106. 如實施例 20 至實施例 105 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 多肽包含含有去海藻糖基化 N-聚醣之 N-聚醣。

107. 如實施例 106 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 10%至約 30%之該等 N-聚醣經去海藻糖基化。

108. 如實施例 107 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 15%至約 25%之該等 N-聚醣經去海藻糖基化。

109. 如實施例 108 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中約 20%之該等 N-聚醣經去海藻糖基化。

110. 如實施例 1 至實施例 109 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 多肽在 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21、Asn35、Asn64 及/或 Asn143 上經糖基化。

111. 如實施例 110 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 多肽在 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21、Asn35、Asn64 及 Asn143 上經糖基化。

112. 如實施例 110 或實施例 111 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21 上之糖基化佔有率為約 70%至約 90%。

113. 如實施例 112 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21 上之糖基化佔有率為約 75%至約 85%。

114. 如實施例 113 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn21 上之糖基化佔有率為約 82%。

115. 如實施例 111 至實施例 114 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn35 上之糖基化佔有率為約 90%至約 100%。

116. 如實施例 115 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn35 上之糖基化佔有率為約 95%至約 100%。

117. 如實施例 116 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn35 上之糖基化佔有率為約 100%。

118. 如實施例 111 至實施例 117 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn64 上之糖基化佔有率為約 90%至約 100%。

119. 如實施例 118 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn64 上之糖基化佔有率為約 95%至約 100%。

120. 如實施例 119 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn64 上之糖基化佔有率為約 100%。

121. 如實施例 111 至實施例 120 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn143 上之糖基化佔有率為約 15%至約 45%。

122. 如實施例 121 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn143 上之糖基化佔有率為約 25%至約 35%。

123. 如實施例 122 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中 SEQ ID NO:4 之胺基酸殘基 Asn143 上之糖基化佔有率為約 33%。

124. 如實施例 1 至實施例 123 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 Fc 區未經糖基化。

125. 如實施例 124 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 297 位之胺基酸殘基為 Gly。

126. 如實施例 124 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 297 位之胺基酸殘基為 Ala。

127. 如實施例 124 至實施例 126 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 Fc 區中根據 EU 指數處於第 299 位之胺基酸殘基為 Ala、Gly 或 Val。

128. 如實施例 1 至實施例 127 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 Fc 區包含 IgG1 或 IgG4 之 CH2 及 CH3 結構域。

129. 如實施例 128 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 Fc 區包含 IgG4 之 CH2 及 CH3 結構域。

130. 如實施例 1 至實施例 129 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含與 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列。

131. 如實施例 130 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含與 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列具有至少 96%序列一致性之胺基酸序列。

132. 如實施例 131 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含與 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列具有至少 97%序列一致性之胺基酸序列。

133. 如實施例 132 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含與 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列具有至少 98%序列一致性之胺基酸序列。

134. 如實施例 133 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含與 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列具有至少 99%序列一致性之胺基酸序列。

135. 如實施例 1 至實施例 134 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10 或 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列。

136. 如實施例 135 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列。

137. 如實施例 136 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白由 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列組成。

138. 如實施例 135 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID

NO:10 之胺基酸序列。

139. 如實施例 138 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白由 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列組成。

140. 如實施例 135 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列。

141. 如實施例 140 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白由 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列組成。

142. 如實施例 124 至實施例 141 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 Fc 區未經 N-糖基化。

143. 如實施例 1 至實施例 142 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白為二聚 IL-22 Fc 融合蛋白。

144. 如實施例 1 至實施例 142 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白為單體 IL-22 Fc 融合蛋白。

145. 如實施例 1 至實施例 144 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 多肽為人類 IL-22 多肽。

146. 如實施例 145 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 多肽包含 SEQ ID NO:4 之胺基酸序列。

147. 如實施例 1 至實施例 146 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該連接子包含胺基酸序列 RVESKYGPP (SEQ ID NO: 44)。

148. 如實施例 147 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該連接子由胺基酸序列 RVESKYGPP (SEQ ID NO: 44)組成。

149. 如實施例 1 至實施例 148 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc

融合蛋白結合至 IL-22 受體。

150. 如實施例 149 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 受體為人類 IL-22 受體。

151. 如實施例 149 或實施例 150 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白結合至 IL-22RA1 及/或 IL-10R2。

152. 如實施例 151 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白結合至 IL-22RA1。

153. 如實施例 1 至實施例 152 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其係藉由包括在適合表現該 IL-22 Fc 融合蛋白之條件下培養能夠表現該 IL-22 Fc 融合蛋白之宿主細胞之步驟的方法來產生。

154. 如實施例 153 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該方法進一步包括自細胞培養物或培養基獲得該 IL-22 Fc 融合蛋白之步驟。

155. 如實施例 153 或實施例 154 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該宿主細胞為 CHO 細胞。

156. 如實施例 1 至實施例 155 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之 NGNA 含量低於約 5 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

157. 如實施例 156 之 IL-22 Fc 融合蛋白，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之 NGNA 含量低於 1 莫耳 NGNA/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

158. 一種醫藥組合物，其包含如實施例 1 至實施例 157 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白及至少一種醫藥學上可接受之載劑。

159. 如實施例 158 之醫藥組合物，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量在約 8 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

160. 如實施例 158 或實施例 159 之醫藥組合物，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液

酸含量在約 8 至約 10 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

161. 如實施例 158 至實施例 160 中任一者之醫藥組合物，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量在約 8 至約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

162. 如實施例 158 至實施例 161 中任一者之醫藥組合物，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

163. 如實施例 158 至實施例 162 中任一者之醫藥組合物，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

164. 如實施例 158 至實施例 163 中任一者之醫藥組合物，其中該唾液酸為 N-乙醯神經胺糖酸(NANA)。

165. 如實施例 158 至實施例 164 中任一者之醫藥組合物，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10 或 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列。

166. 如實施例 165 之醫藥組合物，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列。

167. 如實施例 165 之醫藥組合物，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列。

168. 如實施例 158 至實施例 167 中任一者之醫藥組合物，其進一步包含額外治療劑。

169. 如實施例 158 至實施例 168 中任一者之醫藥組合物，其進一步包含膠凝劑。

170. 如實施例 169 之醫藥組合物，其中該膠凝劑為多醣。

171. 如實施例 169 或實施例 170 之醫藥組合物，其中該膠凝劑為纖維素劑。

172. 如實施例 169 至實施例 171 中任一者之醫藥組合物，其中該膠凝劑為甲基纖維素、羥乙基纖維素、羧甲基纖維素、羥丙基纖維素、POE-POP 嵌段聚合物、

海藻酸鹽、透明質酸、聚丙烯酸、羥乙基甲基纖維素或羥丙基甲基纖維素。

173. 如實施例 172 之醫藥組合物，其中該膠凝劑為羥丙基甲基纖維素。

174. 如實施例 173 之醫藥組合物，其中該醫藥組合物用於局部投與。

175. 一種治療有需要之個體之炎症性腸病(IBD)的方法，該方法包括向該個體投與如實施例 1 至實施例 157 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白或如實施例 158 至實施例 168 中任一者之醫藥組合物。

176. 如實施例 175 之方法，其中該 IBD 為潰瘍性結腸炎或克羅恩氏病。

177. 如實施例 176 之方法，其中該 IBD 為潰瘍性結腸炎。

178. 如實施例 177 之方法，其中該潰瘍性結腸炎為中度至重度潰瘍性結腸炎。

179. 如實施例 176 之方法，其中該 IBD 為克羅恩氏病。

180. 一種抑制有需要之個體之腸中微生物感染、在微生物感染期間保護腸中之杯狀細胞、增強腸中之上皮細胞完整性、上皮細胞增殖、上皮細胞分化、上皮細胞遷移或上皮創傷癒合的方法，該方法包括向該個體投與如實施例 1 至實施例 157 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白或如實施例 158 至實施例 168 中任一者之醫藥組合物。

181. 如實施例 180 之方法，其中該上皮細胞為腸上皮細胞。

182. 一種治療有需要之個體之急性腎損傷或急性胰臟炎的方法，該方法包括向該個體投與如實施例 1 至實施例 157 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白或如實施例 158 至實施例 168 中任一者之醫藥組合物。

183. 一種加速或改良有需要之個體之創傷癒合的方法，該方法包括向該個體投與如實施例 1 至實施例 157 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白或如實施例 158 至實施例 174 中任一者之醫藥組合物。

184. 如實施例 183 之方法，其中該創傷為慢性創傷或感染性創傷。

185. 如實施例 183 或實施例 184 之方法，其中該個體為糖尿病個體。

186. 如實施例 185 之方法，其中該糖尿病個體患有 II 型糖尿病。

187. 如實施例 183 至實施例 186 中任一者之方法，其中該創傷為糖尿病性足部潰瘍。

188. 如實施例 183 至實施例 187 中任一者之方法，其中投與該 IL-22 Fc 融合蛋白或該醫藥組合物直至創傷完全癒合。

189. 一種預防或治療有需要之個體之心血管病狀的方法，該病狀包括動脈粥樣硬化斑形成病變，該方法包括向該個體投與如實施例 1 至實施例 157 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白或如實施例 158 至實施例 168 中任一者之醫藥組合物。

190. 如實施例 189 之方法，其中該心血管疾病為冠狀動脈疾病、冠狀微血管疾病、中風、頸動脈疾病、外周動脈疾病或慢性腎病。

191. 如實施例 189 或實施例 190 之方法，其進一步包括減緩動脈粥樣硬化斑形成進展或預防動脈粥樣硬化症候。

192. 如實施例 191 之方法，其中該動脈粥樣硬化症候包括斑積聚或血管炎症。

193. 一種治療有需要之個體之代謝症候群的方法，該方法包括向該個體投與如實施例 1 至實施例 157 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白或如實施例 158 至實施例 168 中任一者之醫藥組合物。

194. 如實施例 193 之方法，其進一步包括減少與代謝症候群，包括腹部肥胖、高糖血症、異常血脂症及高血壓中之一或多種相關的一或多個危險因素。

195. 如實施例 193 或實施例 194 之方法，其進一步包括降低該個體之細菌脂多醣水準。

196. 一種治療有需要之個體之急性內毒血症、敗血症或兩者的方法，該方法包括向該個體投與如實施例 1 至實施例 157 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白或如實施例 158 至實施例 168 中任一者之醫藥組合物。

197. 如實施例 193 至實施例 196 中任一者之方法，其中該個體需要改變 HDL/LDL 脂質概況。

198. 如實施例 175 至實施例 197 中任一者之方法，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量在約 8 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

199. 如實施例 198 之方法，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量在約 8 至約 10 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

200. 如實施例 198 或實施例 199 中任一者之方法，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量在約 8 至約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

201. 如實施例 198 至實施例 200 中任一者之方法，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 8 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

202. 如實施例 198 至實施例 200 中任一者之方法，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 9 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

203. 如實施例 198 至實施例 202 中任一者之方法，其中該唾液酸為 N-乙醯神經胺糖酸(NANA)。

204. 如實施例 175 至實施例 203 中任一者之方法，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10 或 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列。

205. 如實施例 204 之方法，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列。

206. 如實施例 204 之方法，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:16 之胺基

酸序列。

207. 如實施例 175 至實施例 206 中任一者之方法，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白或該醫藥組合物係經靜脈內、皮下、腹膜內或局部投與。

208. 如實施例 207 之方法，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白或該醫藥組合物係經靜脈內投與。

209. 如實施例 207 之方法，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白或該醫藥組合物係經皮下投與。

210. 如實施例 175 至實施例 209 中任一者之方法，其中對該個體共同投與至少一種額外治療劑。

211. 如實施例 175 至實施例 210 中任一者之方法，其中該個體為人類。

212. 一種製造如實施例 1 至實施例 157 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白的方法，該方法包括以下步驟：

(a) 提供包含編碼如實施例 1 至實施例 157 中任一者之 IL-22 Fc 融合蛋白之核酸的宿主細胞；

(b) 在種子培養基中在適合形成種子培養物之條件下培養該宿主細胞；

(c) 將該種子培養物接種至接種物培養基中並且在適合形成接種物培養物之條件下培養；及

(d) 在生產培養基中在適合形成生產培養物之條件下培養該接種物培養物，其中該生產培養物之該等宿主細胞表現該 IL-22 Fc 融合蛋白，從而產生該 IL-22 Fc 融合蛋白。

213. 一種製造 IL-22 Fc 融合蛋白之方法，該方法包括以下步驟：

(a) 提供包含編碼 IL-22 Fc 融合蛋白之核酸的宿主細胞，該 IL-22 Fc 融合蛋白包

含藉由連接子連接至 Fc 區之 IL-22 多肽；

(b) 在種子培養基中在適合形成種子培養物之條件下培養該宿主細胞；

(c) 在適合形成接種物培養物之條件下將該種子培養物接種於接種物培養基中；及

(d) 在生產培養基中在適合形成生產培養物之條件下培養該接種物培養物，其中該生產培養物之該等宿主細胞表現該 IL-22 Fc 融合蛋白，從而產生該 IL-22 Fc 融合蛋白，

其中該 IL-22 多肽經糖基化，且其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 8 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

214. 如實施例 212 或實施例 213 之方法，其中該宿主細胞為冷凍宿主細胞，且步驟(a)進一步包括在種子培養基中將該冷凍宿主細胞解凍。

215. 如實施例 212 至實施例 214 中任一者之方法，其中該方法進一步包括在步驟(d)之前將該接種物培養物繼代約 1 至約 10 次。

216. 如實施例 215 之方法，其中在步驟(d)之前將該接種物培養物繼代約 2 至約 6 次。

217. 如實施例 216 之方法，其中在步驟(d)之前將該接種物培養物繼代約 2 次。

218. 如實施例 212 至實施例 217 中任一者之方法，其中該種子培養基包含能夠選擇宿主細胞之選擇劑。

219. 如實施例 218 之方法，其中該選擇劑為甲硫胺酸磺醯亞胺、胺甲喋呤或抗生素。

220. 如實施例 219 之方法，其中該選擇劑為甲硫胺酸磺醯亞胺。

221. 如實施例 219 之方法，其中該選擇劑為抗生素。

222. 如實施例 221 之方法，其中該抗生素係選自殺稻瘟菌素、遺傳黴素、潮黴素 B、嘌呤黴素、黴酚酸或吉歐黴素。

223. 如實施例 212 至實施例 222 中任一者之方法，其中該種子培養基、該接種物培養基及/或該生產培養基包含消泡劑。

224. 如實施例 223 之方法，其中該消泡劑為聚甲矽康乳液、消泡劑 204、消泡劑 A、消泡劑 B、消泡劑 C、消泡劑 Y-30 或消泡劑 SE-15。

225. 如實施例 224 之方法，其中該消泡劑為聚甲矽康乳液。

226. 如實施例 212 至實施例 225 中任一者之方法，其中該種子培養基、該接種物培養基及/或該生產培養基包括緩衝劑、細胞保護劑、多醣及/或滲透壓調節劑。

227. 如實施例 212 至實施例 225 中任一者之方法，其中在約 25℃至約 40℃之溫度下進行步驟(b)。

228. 如實施例 227 之方法，其中在約 35℃至約 39℃之溫度下進行步驟(b)。

229. 如實施例 228 之方法，其中在約 37℃之溫度下進行步驟(b)。

230. 如實施例 212 至實施例 229 中任一者之方法，其中在旋轉器、自旋管、搖瓶或種子培養生物反應器中進行步驟(b)。

231. 如實施例 230 之方法，其中在種子培養旋轉器、單次使用生物反應器(例如 WAVE BIOREACTOR™或 AMBR®生物反應器(例如 AMBR® 15 生物反應器))或搖瓶中進行步驟(b)。

232. 如實施例 231 之方法，其中步驟(b)之持續時間為每次繼代約 1 天至約 12 天。

233. 如實施例 232 之方法，其中步驟(b)之持續時間為每次繼代約 2 天至約 7 天。

234. 如實施例 230 之方法，其中在種子培養生物反應器中進行步驟(b)。

235. 如實施例 234 之方法，其中該種子培養物之 pH 值為約 6 至約 8。

236. 如實施例 235 之方法，其中該種子培養物之 pH 值為約 6.5 至約 7.5。

237. 如實施例 236 之方法，其中該種子培養物之 pH 值為約 7.15。

238. 如實施例 234 至實施例 237 中任一者之方法，其中該種子培養物之溶解氧為約 15%至約 50%。

239. 如實施例 238 之方法，其中該種子培養物之溶解氧為約 20%至約 40%。

240. 如實施例 239 之方法，其中該種子培養物之溶解氧為約 30%。

241. 如實施例 234 至實施例 240 中任一者之方法，其中步驟(b)之持續時間為約 1 天至約 10 天。

242. 如實施例 241 之方法，其中步驟(b)之持續時間為約 2 天至約 5 天。

243. 如實施例 212 至實施例 242 中任一者之方法，其中在約 25℃至約 40℃之溫度下進行步驟(c)。

244. 如實施例 243 之方法，其中在約 35℃至約 39℃之溫度下進行步驟(c)。

245. 如實施例 244 之方法，其中在約 37℃之溫度下進行步驟(c)。

246. 如實施例 212 至實施例 245 中任一者之方法，其中在一或多個生物反應器中進行步驟(c)。

247. 如實施例 246 之方法，其中在三或四個生物反應器中進行步驟(c)。

248. 如實施例 246 或實施例 247 之方法，其中該接種物培養物之 pH 值為約 6 至約 8。

249. 如實施例 248 之方法，其中該接種物培養物之 pH 值為約 6.5 至約 7.5。

250. 如實施例 249 之方法，其中該接種物培養物之 pH 值為約 7.1。

251. 如實施例 246 至實施例 250 中任一者之方法，其中該接種物培養物之溶解氧為約 15%至約 50%。

252. 如實施例 251 之方法，其中該接種物培養物之溶解氧為約 20%至約 40%。

253. 如實施例 252 之方法，其中該接種物培養物之溶解氧為約 30%。

254. 如實施例 246 至實施例 253 中任一者之方法，其中步驟(c)之持續時間為約 1 天至約 5 天。

255. 如實施例 254 之方法，其中步驟(c)之持續時間為約 2 天至約 3 天。

256. 如實施例 212 至實施例 255 中任一者之方法，其中步驟(d)包括自初始溫度至變化後溫度之溫度變化。

257. 如實施例 256 之方法，其中該初始溫度為約 25℃至約 40℃。

258. 如實施例 257 之方法，其中該初始溫度為約 35℃至約 39℃。

259. 如實施例 258 之方法，其中該初始溫度為約 37℃。

260. 如實施例 256 至實施例 259 中任一者之方法，其中該變化後溫度為約 25℃至約 40℃。

261. 如實施例 260 之方法，其中該變化後溫度為約 30℃至約 35℃。

262. 如實施例 261 之方法，其中該變化後溫度為約 33℃。

263. 如實施例 256 至實施例 262 中任一者之方法，其中該溫度變化發生在約 12 小時至約 120 小時之時段內。

264. 如實施例 263 之方法，其中該溫度變化發生在約 48 小時至約 96 小時之時段內。

265. 如實施例 264 之方法，其中該溫度變化發生在約 72 小時之時段內。

266. 如實施例 212 至實施例 265 中任一者之方法，其中該生產培養物之 pH 值為約 6 至約 8。

267. 如實施例 266 之方法，其中該生產培養物之 pH 值為約 6.5 至約 7.5。

268. 如實施例 267 之方法，其中該生產培養物之 pH 值為約 7.0。

269. 如實施例 212 至實施例 268 中任一者之方法，其中在生產生物反應器中進行步驟(d)。

270. 如實施例 269 之方法，其中該生產培養物之溶解氧為約 15%至約 50%。

271. 如實施例 270 之方法，其中該生產培養物之溶解氧為約 20%至約 40%。

272. 如實施例 271 之方法，其中該生產培養物之溶解氧為約 30%。

273. 如實施例 269 至實施例 272 中任一者之方法，其中步驟(d)之持續時間為約 5 天至約 25 天。

274. 如實施例 273 之方法，其中步驟(d)之持續時間為約 7 天至約 16 天。

275. 如實施例 274 之方法，其中步驟(d)之持續時間為約 12 天。

276. 如實施例 212 至實施例 275 中任一者之方法，其中步驟(d)進一步包括藉由營養物饋料向該生產培養物中添加營養物。

277. 如實施例 212 至實施例 276 中任一者之方法，其中該宿主細胞為原核生物細胞或真核生物細胞。

278. 如實施例 277 之方法，其中該宿主細胞為真核生物細胞。

279. 如實施例 278 之方法，其中該真核生物細胞為哺乳動物細胞。

280. 如實施例 279 之方法，其中該哺乳動物細胞為中國倉鼠卵巢(CHO)細胞。

281. 如實施例 280 之方法，其中該 CHO 細胞為懸浮液適應性 CHO 細胞。

282. 如實施例 212 至實施例 281 中任一者之方法，其進一步包括以下步驟：

(e)自該生產培養物中收集包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之細胞培養液。

283. 如實施例 282 之方法，其中步驟(e)包括冷卻該生產培養物。

284. 如實施例 283 之方法，其中步驟(e)包括將該生產培養物冷卻至約 2℃至約 8

℃。

285. 如實施例 282 至實施例 284 之方法，其中步驟(e)包括藉由離心自該生產培養基中移除該等宿主細胞以形成該細胞培養液。

286. 如實施例 285 之方法，其中步驟(e)進一步包括過濾該細胞培養液。

287. 如實施例 282 至實施例 286 中任一者之方法，其進一步包括以下步驟：

(f)純化該細胞培養液中之該 IL-22 Fc 融合蛋白。

288. 如實施例 287 之方法，其中步驟(f)包括以下子步驟：

(i) 使該細胞培養液與親和層析載體接觸，視情況用洗滌緩衝液洗滌該親和層析載體，用第一溶析緩衝液自該親和層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成親和庫，且視情況使該親和庫中之病毒不活化；

(ii) 使該親和庫與陰離子交換層析載體接觸，視情況用第一平衡緩衝液洗滌該陰離子交換層析載體，用第二溶析緩衝液自該陰離子交換層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成陰離子交換庫，且視情況過濾該陰離子交換庫以移除病毒；以及

(iii) 使該陰離子交換庫與疏水性相互作用層析載體接觸並收集流通液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經純化產物庫，且視情況用第二平衡緩衝液洗滌該疏水性相互作用層析載體，收集流通液，並將其添加至該經純化產物庫。

289. 如實施例 288 之方法，其中步驟(f)進一步包括以下子步驟：

(iv) 濃縮該經純化產物庫以形成濃縮產物庫。

290. 如實施例 289 之方法，其中步驟(f)進一步包括以下子步驟：

(v) 對該經純化產物庫進行超濾。

291. 如實施例 290 之方法，其中超濾包括用 10 kDa 複合再生纖維素超濾膜過濾

該經純化產物庫。

292. 如實施例 289 至實施例 291 中任一者之方法，其中步驟(f)進一步包括以下子步驟：

(vi) 交換該濃縮產物庫之緩衝液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之超濾滲濾(UFDF)庫。

293. 如實施例 292 之方法，其中將該濃縮產物庫之該緩衝液交換為包含以最終濃度計 0.01 M 磷酸鈉 pH 7.2 之滲濾緩衝液。

294. 如實施例 292 或實施例 293 之方法，其中步驟(f)進一步包括以下子步驟：

(vii) 用調配緩衝液調節該 UFDF 庫以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經調節 UFDF 庫。

295. 如實施例 288 至實施例 294 中任一者之方法，其中子步驟(i)進一步包括在使該細胞培養液與該親和管柱接觸之前藉由向該細胞培養液中添加清潔劑使病毒不活化。

296. 如實施例 288 至實施例 294 中任一者之方法，其中子步驟(i)進一步包括藉由向該親和庫中添加清潔劑使病毒不活化。

297. 如實施例 295 或實施例 296 之方法，其中該清潔劑為 TRITON® X-100 或 TRITON® CG110。

298. 如實施例 295 至實施例 297 之方法，其中該清潔劑之最終濃度為約 0.01%至約 2% (v/v)。

299. 如實施例 298 之方法，其中該清潔劑之最終濃度為約 0.1%至約 1% (v/v)。

300. 如實施例 299 之方法，其中該清潔劑之最終濃度為約 0.3%至約 0.5% (v/v)。

301. 如實施例 300 之方法，其中該清潔劑之最終濃度為約 0.5%。

302. 如實施例 295 至實施例 301 中任一者之方法，其中在約 12℃至約 25℃下進行該病毒不活化。

303. 如實施例 288 至實施例 302 中任一者之方法，其中使病毒不活化之持續時間超過約 0.5 小时。

304. 如實施例 288 至實施例 303 中任一者之方法，其中該親和層析載體包括蛋白 A 樹脂、蛋白 G 樹脂或 IL-22 受體樹脂。

305. 如實施例 304 之方法，其中該蛋白 A 樹脂為 MABSELECT SURE®樹脂。

306. 如實施例 288 至實施例 305 中任一者之方法，其中該洗滌緩衝液包含以最終濃度計 0.4 M 磷酸鉀，pH 7.0。

307. 如實施例 288 至實施例 306 中任一者之方法，其中該第一溶析緩衝液包含以最終濃度計 0.3 M L-精胺酸鹽酸鹽、0.013 M 磷酸鈉，pH 3.8。

308. 如實施例 288 至實施例 307 中任一者之方法，其中該陰離子交換層析載體包含具有多模式功能性樹脂之強陰離子交換劑。

309. 如實施例 308 之方法，其中該陰離子交換層析載體包含 CAPTO™黏附樹脂。

310. 如實施例 288 至實施例 309 中任一者之方法，其中該第一平衡緩衝液包含以最終濃度計 0.04 M 乙酸鈉，pH 5.8。

311. 如實施例 288 至實施例 310 中任一者之方法，其中該第二溶析緩衝液為梯度溶析緩衝液。

312. 如實施例 311 之方法，其中該梯度溶析緩衝液包含作為該梯度溶析緩衝液之緩衝液 A 的 0.04 M 乙酸鈉 pH 5.8 及作為該梯度之緩衝液 B 的 0.04 M 乙酸鈉、0.3M 硫酸鈉 pH 5.8，其中該梯度起始於 10%緩衝液 B。

313. 如實施例 288 至實施例 312 中任一者之方法，其中該第二平衡緩衝液包含以

最終濃度計 0.025 M MOPS、0.3 M 硫酸鈉，pH 7.0。

314. 一種純化 IL-22 Fc 融合蛋白之方法，該方法包括：

(a) 提供包含 IL-22 Fc 融合蛋白之細胞培養液且視情況使該細胞培養液中之病毒不活化；

(b) 使該細胞培養液與親和層析載體接觸，視情況用洗滌緩衝液洗滌該親和層析載體，且用第一溶析緩衝液自該親和層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成親和庫，且視情況使該親和庫中之病毒不活化；

(c) 使該親和庫與陰離子交換層析載體接觸，視情況用第一平衡緩衝液洗滌該陰離子交換層析載體，用第二溶析緩衝液自該陰離子交換層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成陰離子交換庫，且視情況過濾該陰離子交換庫以移除病毒；及

(d) 使該陰離子交換庫與疏水性相互作用層析載體接觸並收集流通液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經純化產物庫，且視情況用第二平衡緩衝液洗滌該疏水性相互作用層析載體，收集流通液，並將其添加至該經純化產物庫。

315. 如實施例 314 之方法，其中該 IL-22 多肽經糖基化，且其中該 IL-22 Fc 融合蛋白之唾液酸含量為約 8 至約 12 莫耳唾液酸/莫耳 IL-22 Fc 融合蛋白。

【0635】　本說明書被視為足以使熟習此項技術者能夠實踐本發明。儘管已出於清楚理解之目的藉由說明及實例在一定程度上詳細描述了上述發明，但該等描述及實例不應被視為限制本發明之範疇。實際上，根據以上描述，除本文中所顯示及描述之彼等修改以外對本發明進行之各種修改對本領域技術人員將顯而易知且屬於所附申請專利範圍之範疇內。

【0636】　本文中提及之所有公開案、專利及專利申請案均以引用之方式整體併入本文中，如同明確地且個別地指示各個別公開案、專利或專利申請案以引用之方式併入。在有衝突之情況下，將以本申請案(包括本文中之任何定義)為準。

【序列表】

<110> 美商建南德克公司 (Genentech, Inc.)

<120> IL-22 FC融合蛋白及使用方法

<130> 50474-180WO2

<140> 108102961
<141> 2019-01-25

<150> US 62/622,767
<151> 2018-01-26

<160> 84

<170> PatentIn第3.5版

<210> 1
<211> 495
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<223> 人類IL-22

<400> 1
atgggatggt catgtatcat ccttttttcta gtagcaactg caactggagt acattcagcg 60

cccatcagct cccactgcag gcttgacaag tccaacttcc agcagcccta tatcaccaac 120

cgcaccttca tgctggctaa ggaggctagc ttggctgata acaacacaga cgttcgtctc 180

attggggaga aactgttcca cggagtcagt atgagtgagc gctgctatct gatgaagcag 240

gtgctgaact tcacccttga agaagtgctg ttccctcaat ctgataggtt ccagccttat 300

atgcaggagg tggtgccctt cctggccagg ctcagcaaca ggctaagcac atgtcatatt 360

gaaggtgatg acctgcatat ccagaggaat gtgcaaaagc tgaaggacac agtgaaaaag 420

cttggagaga gtggagagat caaagcaatt ggagaactgg atttgctgtt tatgtctctg 480

agaaatgcct gcatt 495

<210> 2
<211> 165
<212> PRT

<213> 智人

<220>
<223> 人類IL-22

<400> 2

```
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1               5                  10                  15

Val His Ser Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn
            20                  25                  30

Phe Gln Gln Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu
        35                  40                  45

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

Leu Phe His Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln
65                  70                  75                  80

Val Leu Asn Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg
                85                  90                  95

Phe Gln Pro Tyr Met Gln Glu Val Val Pro Phe Leu Ala Arg Leu Ser
            100                 105                 110

Asn Arg Leu Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln
        115                 120                 125

Arg Asn Val Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser
    130                 135                 140

Gly Glu Ile Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu
145                 150                 155                 160

Arg Asn Ala Cys Ile
                165
```

<210> 3
<211> 438
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<223> IL-22 DNA (成熟)

<400> 3
gcgcccatca gctcccactg caggcttgac aagtccaact tccagcagcc ctatatcacc 60

aaccgcacct tcatgctggc taaggaggct agcttggctg ataacaacac agacgttcgt 120

ctcattgggg agaaactgtt ccacggagtc agtatgagtg agcgctgcta tctgatgaag 180

caggtgctga acttcaccct tgaagaagtg ctgttccctc aatctgatag gttccagcct 240

tatatgcagg aggtggtgcc cttcctggcc aggctcagca acaggctaag cacatgtcat 300

attgaaggtg atgacctgca tatccagagg aatgtgcaaa agctgaagga cacagtgaaa 360

aagcttggag agagtggaga gatcaaagca attggagaac tggatttgct gtttatgtct 420

ctgagaaatg cctgcatt 438

<210> 4
<211> 146
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> IL-22 (成熟)

<400> 4
Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln
1 5 10 15

Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
20 25 30

Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His
35 40 45

Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
50 55 60

Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
65 70 75 80

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

Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val
100 105 110

Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile
115 120 125

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
130 135 140

Cys Ile
145

<210> 5
<211> 57
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<223> IL-22前導序列

<400> 5
atgggatggt catgtatcat ccttttttcta gtagcaactg caactggagt acattca 57

<210> 6
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> IL-22前導序列

<400> 6
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser

<210> 7
<211> 1128
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
聚核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG4 (減去C末端Lys) N297G

<400> 7
gcgcccatca gctcccactg caggcttgac aagtccaact tccagcagcc ctatatcacc 60

aaccgcacct tcatgctggc taaggaggct agcttggctg ataacaacac agacgttcgt 120

ctcattgggg agaaactgtt ccacggagtc agtatgagtg agcgctgcta tctgatgaag 180

caggtgctga acttcaccct tgaagaagtg ctgttccctc aatctgatag gttccagcct 240

tatatgcagg aggtggtgcc cttcctggcc aggctcagca acaggctaag cacatgtcat 300

attgaaggtg atgacctgca tatccagagg aatgtgcaaa agctgaagga cacagtgaaa 360

aagcttggag agagtggaga gatcaaagca attggagaac tggatttgct gtttatgtct 420

ctgagaaatg cctgcattcg cgttgagtcc aaatatggtc ccccatgccc accatgccca 480

gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact 540

ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac 600

cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag 660

ccgcgggagg agcagttcgg aagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac 720

caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc 780

tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc 840

ctgccccccat cccaggagga gatgaccaag aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa 900

ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac 960

tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttcctcta cagcaggcta 1020

accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag 1080

gctctgcaca accactacac acagaagagc ctctccctgt ctctgggt 1128

<210> 8
<211> 376
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG4 (減去C末端Lys) N297G

<400> 8

Ala	Pro	Ile	Ser	Ser	His	Cys	Arg	Leu	Asp	Lys	Ser	Asn	Phe	Gln	Gln
1				5				10					15		

Pro	Tyr	Ile	Thr	Asn	Arg	Thr	Phe	Met	Leu	Ala	Lys	Glu	Ala	Ser	Leu
			20				25				30				

Ala	Asp	Asn	Asn	Thr	Asp	Val	Arg	Leu	Ile	Gly	Glu	Lys	Leu	Phe	His
		35				40				45					

Gly	Val	Ser	Met	Ser	Glu	Arg	Cys	Tyr	Leu	Met	Lys	Gln	Val	Leu	Asn
	50				55				60						

Phe	Thr	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Phe	Pro	Gln	Ser	Asp	Arg	Phe	Gln	Pro
65				70				75					80		

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

Ser	Thr	Cys	His	Ile	Glu	Gly	Asp	Asp	Leu	His	Ile	Gln	Arg	Asn	Val
			100				105				110				

Gln	Lys	Leu	Lys	Asp	Thr	Val	Lys	Lys	Leu	Gly	Glu	Ser	Gly	Glu	Ile
			115				120				125				

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
130 135 140

Cys Ile Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
145 150 155 160

Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
165 170 175

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
180 185 190

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
195 200 205

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
210 215 220

Gln Phe Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
225 230 235 240

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
245 250 255

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
260 265 270

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
275 280 285

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
290 295 300

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
305 310 315 320

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

325 330 335

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
340 345 350

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
355 360 365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
370 375

<210> 9
<211> 1128
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
聚核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG4 (減去C末端Lys) N297A

<400> 9
gcgcccatca gctcccactg caggcttgac aagtccaact tccagcagcc ctatatcacc 60

aaccgcacct tcatgctggc taaggaggct agcttggctg ataacaacac agacgttcgt 120

ctcattgggg agaaactgtt ccacggagtc agtatgagtg agcgctgcta tctgatgaag 180

caggtgctga acttcaccct tgaagaagtg ctgttccctc aatctgatag gttccagcct 240

tatatgcagg aggtggtgcc cttcctggcc aggctcagca acaggctaag cacatgtcat 300

attgaaggtg atgacctgca tatccagagg aatgtgcaaa agctgaagga cacagtgaaa 360

aagcttggag agagtggaga gatcaaagca attggagaac tggatttgct gtttatgtct 420

ctgagaaatg cctgcattcg cgttgagtcc aaatatggtc ccccatgccc accatgccca 480

gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact 540

ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac 600

cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag 660

ccgcgggagg agcagttcgc tagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac 720

caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc 780

tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc 840

ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa 900

ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac 960

tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttcctcta cagcaggcta 1020

accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag 1080

gctctgcaca accactacac acagaagagc ctctccctgt ctctgggt 1128

<210> 10
<211> 376
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG4 (減去C末端Lys) N297A

<400> 10

Ala	Pro	Ile	Ser	Ser	His	Cys	Arg	Leu	Asp	Lys	Ser	Asn	Phe	Gln	Gln
1				5				10					15		

Pro	Tyr	Ile	Thr	Asn	Arg	Thr	Phe	Met	Leu	Ala	Lys	Glu	Ala	Ser	Leu
			20				25				30				

Ala	Asp	Asn	Asn	Thr	Asp	Val	Arg	Leu	Ile	Gly	Glu	Lys	Leu	Phe	His
		35				40				45					

Gly	Val	Ser	Met	Ser	Glu	Arg	Cys	Tyr	Leu	Met	Lys	Gln	Val	Leu	Asn
	50				55				60						

Phe	Thr	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Phe	Pro	Gln	Ser	Asp	Arg	Phe	Gln	Pro
65				70				75					80		

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

Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val
100 105 110

Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile
115 120 125

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
130 135 140

Cys Ile Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
145 150 155 160

Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
165 170 175

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
180 185 190

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
195 200 205

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
210 215 220

Gln Phe Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
225 230 235 240

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
245 250 255

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
260 265 270

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
275 280 285

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
290 295 300

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
305 310 315 320

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
325 330 335

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
340 345 350

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
355 360 365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
370 375

<210> 11
<211> 1131
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
聚核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG1 (減去C末端Lys) N297G

<400> 11
gcgcccatca gctcccactg caggcttgac aagtccaact tccagcagcc ctatatcacc 60

aaccgcacct tcatgctggc taaggaggct agcttggctg ataacaacac agacgttcgt 120

ctcattgggg agaaactgtt ccacggagtc agtatgagtg agcgctgcta tctgatgaag 180

caggtgctga acttcaccct tgaagaagtg ctgttccctc aatctgatag gttccagcct 240

tatatgcagg aggtggtgcc cttcctggcc aggctcagca acaggctaag cacatgtcat 300

attgaaggtg atgacctgca tatccagagg aatgtgcaaa agctgaagga cacagtgaaa 360

aagcttggag agagtggaga gatcaaagca attggagaac tggatttgct gtttatgtct 420

ctgagaaatg cctgcattga gcccaaatct agtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc 480

ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac 540

accctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa 600

gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 660

aagccgcggg aggagcagta cggaagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg 720

caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca 780

gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac 840

accctgcccc catcccggga agagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 900

aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac 960

aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag 1020

ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat 1080

gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtctccggg t 1131

<210> 12
<211> 377
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG1 (減去C末端Lys) N297G

<400> 12
Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln
1 5 10 15

Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
20 25 30

Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His

35 40 45

Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
50 55 60

Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
65 70 75 80

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

Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val
100 105 110

Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile
115 120 125

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
130 135 140

Cys Ile Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
145 150 155 160

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
165 170 175

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
180 185 190

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
195 200 205

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
210 215 220

Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
225 230 235 240

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
245 250 255

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
260 265 270

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
275 280 285

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
290 295 300

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
305 310 315 320

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
325 330 335

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
340 345 350

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
355 360 365

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
370 375

<210> 13
<211> 1131
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
聚核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG1（減去C末端Lys）N297A

<400> 13

gcgcccatca gctcccactg caggcttgac aagtccaact tccagcagcc ctatatcacc 60

aaccgcacct tcatgctggc taaggaggct agcttggctg ataacaacac agacgttcgt 120

ctcattgggg agaaactgtt ccacggagtc agtatgagtg agcgctgcta tctgatgaag 180

caggtgctga acttcaccct tgaagaagtg ctgttccctc aatctgatag gttccagcct 240

tatatgcagg aggtggtgcc cttcctggcc aggctcagca acaggctaag cacatgtcat 300

attgaaggtg atgacctgca tatccagagg aatgtgcaaa agctgaagga cacagtgaaa 360

aagcttggag agagtggaga gatcaaagca attggagaac tggatttgct gtttatgtct 420

ctgagaaatg cctgcattga gcccaaatct agtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc 480

ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac 540

accctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa 600

gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 660

aagccgcggg aggagcagta cgctagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg 720

caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca 780

gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac 840

accctgcccc catcccggga agagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 900

aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac 960

aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag 1020

ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat 1080

gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtctccggg t 1131

<210> 14
<211> 377
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG1（減去C末端Lys）N297A

<400> 14

```
Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln
1               5                  10                  15

Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
            20                  25                  30

Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His
        35                  40                  45

Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
    50                  55                  60

Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val
            100                 105                 110

Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile
        115                 120                 125

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
    130                 135                 140

Cys Ile Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
145                 150                 155                 160

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
                165                 170                 175

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
            180                 185                 190
```

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
195 200 205

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
210 215 220

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
225 230 235 240

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
245 250 255

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
260 265 270

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
275 280 285

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
290 295 300

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
305 310 315 320

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
325 330 335

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
340 345 350

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
355 360 365

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
370 375

<210> 15
<211> 1131

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
聚核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG4 (全長) N297G

<400> 15
gcgcccatca gctcccactg caggcttgac aagtccaact tccagcagcc ctatatcacc 60

aaccgcacct tcatgctggc taaggaggct agcttggctg ataacaacac agacgttcgt 120

ctcattgggg agaaactgtt ccacggagtc agtatgagtg agcgctgcta tctgatgaag 180

caggtgctga acttcaccct tgaagaagtg ctgttccctc aatctgatag gttccagcct 240

tatatgcagg aggtggtgcc cttcctggcc aggctcagca acaggctaag cacatgtcat 300

attgaaggtg atgacctgca tatccagagg aatgtgcaaa agctgaagga cacagtgaaa 360

aagcttggag agagtggaga gatcaaagca attggagaac tggatttgct gtttatgtct 420

ctgagaaatg cctgcattcg cgttgagtcc aaatatggtc ccccatgccc accatgccca 480

gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact 540

ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac 600

cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag 660

ccgcgggagg agcagttcgg aagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac 720

caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc 780

tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc 840

ctgccccccat cccaggagga gatgaccaag aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa 900

ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac 960

tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttcctcta cagcaggcta 1020

accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag 1080

gctctgcaca accactacac acagaagagc ctctccctgt ctctgggtaa a 1131

<210> 16
<211> 377
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG4 (全長) N297G

<400> 16

```
Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln
1               5                  10                  15

Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
            20                  25                  30

Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His
        35                  40                  45

Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
    50                  55                  60

Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val
            100                 105                 110

Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile
        115                 120                 125

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
    130                 135                 140

Cys Ile Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
```

145 150 155 160

Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
165 170 175

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
180 185 190

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
195 200 205

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
210 215 220

Gln Phe Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
225 230 235 240

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
245 250 255

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
260 265 270

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
275 280 285

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
290 295 300

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
305 310 315 320

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
325 330 335

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
340 345 350

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
355 360 365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
370 375

<210> 17
<211> 1131
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
聚核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG4 (全長) N297A

<400> 17
gcgcccatca gctcccactg caggcttgac aagtccaact tccagcagcc ctatatcacc 60

aaccgcacct tcatgctggc taaggaggct agcttggctg ataacaacac agacgttcgt 120

ctcattgggg agaaactgtt ccacggagtc agtatgagtg agcgctgcta tctgatgaag 180

caggtgctga acttcaccct tgaagaagtg ctgttccctc aatctgatag gttccagcct 240

tatatgcagg aggtggtgcc cttcctggcc aggctcagca acaggctaag cacatgtcat 300

attgaaggtg atgacctgca tatccagagg aatgtgcaaa agctgaagga cacagtgaaa 360

aagcttggag agagtggaga gatcaaagca attggagaac tggatttgct gtttatgtct 420

ctgagaaatg cctgcattcg cgttgagtcc aaatatggtc ccccatgccc accatgccca 480

gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact 540

ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac 600

cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag 660

ccgcgggagg agcagttcgc tagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac 720

caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc 780

tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc 840

ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa 900

ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac 960

tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttcctcta cagcaggcta 1020

accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag 1080

gctctgcaca accactacac acagaagagc ctctccctgt ctctgggtaa a 1131

<210> 18
<211> 377
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG4 (全長) N297A

<400> 18
Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln
1 5 10 15

Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
20 25 30

Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His
35 40 45

Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
50 55 60

Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
65 70 75 80

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

Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val
100 105 110

Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile
115 120 125

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
130 135 140

Cys Ile Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
145 150 155 160

Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
165 170 175

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
180 185 190

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
195 200 205

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
210 215 220

Gln Phe Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
225 230 235 240

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
245 250 255

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
260 265 270

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
275 280 285

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
290 295 300

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
305 310 315 320

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
325 330 335

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
340 345 350

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
355 360 365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
370 375

<210> 19
<211> 1134
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
聚核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG1 (全長) N297G

<400> 19
gcgcccatca gctcccactg caggcttgac aagtccaact tccagcagcc ctatatcacc 60

aaccgcacct tcatgctggc taaggaggct agcttggctg ataacaacac agacgttcgt 120

ctcattgggg agaaactgtt ccacggagtc agtatgagtg agcgctgcta tctgatgaag 180

caggtgctga acttcaccct tgaagaagtg ctgttccctc aatctgatag gttccagcct 240

tatatgcagg aggtggtgcc cttcctggcc aggctcagca acaggctaag cacatgtcat 300

attgaaggtg atgacctgca tatccagagg aatgtgcaaa agctgaagga cacagtgaaa 360

aagcttggag agagtggaga gatcaaagca attggagaac tggatttgct gtttatgtct 420

ctgagaaatg cctgcattga gcccaaatct agtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc 480

ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac 540

accctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa 600

gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 660

aagccgcggg aggagcagta cggaagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg 720

caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca 780

gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac 840

accctgcccc catcccggga agagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 900

aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac 960

aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag 1020

ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat 1080

gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtctccggg taaa 1134

<210> 20
<211> 378
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG1 (全長) N297G

<400> 20

Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln
1 5 10 15

Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
20 25 30

Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His
35 40 45

Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
50 55 60

Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
65 70 75 80

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

Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val
100 105 110

Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile
115 120 125

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
130 135 140

Cys Ile Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
145 150 155 160

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
165 170 175

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
180 185 190

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
195 200 205

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
210 215 220

Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
225 230 235 240

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
245 250 255

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

260 265 270

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
275 280 285

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
290 295 300

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
305 310 315 320

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
325 330 335

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
340 345 350

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
355 360 365

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
370 375

<210> 21
<211> 1134
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
聚核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG1 (全長) N297A

<400> 21
gcgcccatca gctcccactg caggcttgac aagtccaact tccagcagcc ctatatcacc 60

aaccgcacct tcatgctggc taaggaggct agcttggctg ataacaacac agacgttcgt 120

ctcattgggg agaaactgtt ccacggagtc agtatgagtg agcgctgcta tctgatgaag 180

caggtgctga acttcaccct tgaagaagtg ctgttccctc aatctgatag gttccagcct 240

tatatgcagg aggtggtgcc cttcctggcc aggctcagca acaggctaag cacatgtcat 300

attgaaggtg atgacctgca tatccagagg aatgtgcaaa agctgaagga cacagtgaaa 360

aagcttggag agagtggaga gatcaaagca attggagaac tggatttgct gtttatgtct 420

ctgagaaatg cctgcattga gcccaaatct agtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc 480

ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac 540

accctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa 600

gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 660

aagccgcggg aggagcagta cgctagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg 720

caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca 780

gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac 840

accctgcccc catcccggga agagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 900

aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac 960

aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag 1020

ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat 1080

gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtctccggg taaa 1134

<210> 22
<211> 378
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG1 (全長) N297A

<400> 22
Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln
1 5 10 15

Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
20 25 30

Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His
35 40 45

Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
50 55 60

Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
65 70 75 80

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

Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val
100 105 110

Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile
115 120 125

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
130 135 140

Cys Ile Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
145 150 155 160

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
165 170 175

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
180 185 190

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
195 200 205

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
210 215 220

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
225 230 235 240

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
245 250 255

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
260 265 270

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
275 280 285

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
290 295 300

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
305 310 315 320

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
325 330 335

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
340 345 350

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
355 360 365

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
370 375

<210> 23
<211> 1128
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
聚核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG4 (野生型N297, 滅去Lys)

<400> 23
gcgcccatca gctcccactg caggcttgac aagtccaact tccagcagcc ctatatcacc 60

aaccgcacct tcatgctggc taaggaggct agcttggctg ataacaacac agacgttcgt 120

ctcattgggg agaaactgtt ccacggagtc agtatgagtg agcgctgcta tctgatgaag 180

caggtgctga acttcaccct tgaagaagtg ctgttccctc aatctgatag gttccagcct 240

tatatgcagg aggtggtgcc cttcctggcc aggctcagca acaggctaag cacatgtcat 300

attgaaggtg atgacctgca tatccagagg aatgtgcaaa agctgaagga cacagtgaaa 360

aagcttggag agagtggaga gatcaaagca attggagaac tggatttgct gtttatgtct 420

ctgagaaatg cctgcattcg cgttgagtcc aaatatggtc ccccatgccc accatgccca 480

gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact 540

ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac 600

cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag 660

ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac 720

caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc 780

tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc 840

ctgccccccat cccaggagga gatgaccaag aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa 900

ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac 960

tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttcctcta cagcaggcta 1020

accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag 1080

gctctgcaca accactacac acagaagagc ctctccctgt ctctgggt 1128

<210> 24
<211> 376
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG4 (野生型N297, 減去Lys)

<400> 24

```
Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln
1               5                  10                  15

Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
            20                  25                  30

Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His
        35                  40                  45

Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
    50                  55                  60

Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val
            100                 105                 110

Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile
        115                 120                 125

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
    130                 135                 140

Cys Ile Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
145                 150                 155                 160

Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
                165                 170                 175
```

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
180 185 190

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
195 200 205

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
210 215 220

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
225 230 235 240

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
245 250 255

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
260 265 270

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
275 280 285

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
290 295 300

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
305 310 315 320

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
325 330 335

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
340 345 350

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
355 360 365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly

370 375

<210> 25
<211> 1131
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
聚核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG1 (野生型N297, 減去Lys)

<400> 25
gcgcccatca gctcccactg caggcttgac aagtccaact tccagcagcc ctatatcacc 60

aaccgcacct tcatgctggc taaggaggct agcttggctg ataacaacac agacgttcgt 120

ctcattgggg agaaactgtt ccacggagtc agtatgagtg agcgctgcta tctgatgaag 180

caggtgctga acttcaccct tgaagaagtg ctgttccctc aatctgatag gttccagcct 240

tatatgcagg aggtggtgcc cttcctggcc aggctcagca acaggctaag cacatgtcat 300

attgaaggtg atgacctgca tatccagagg aatgtgcaaa agctgaagga cacagtgaaa 360

aagcttggag agagtggaga gatcaaagca attggagaac tggatttgct gtttatgtct 420

ctgagaaatg cctgcattga gcccaaatct agtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc 480

ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac 540

accctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa 600

gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 660

aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg 720

caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca 780

gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac 840

accctgcccc catcccggga agagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 900

aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac 960

aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag 1020

ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat 1080

gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtctccggg t 1131

<210> 26
<211> 377
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG1 (野生型N297, 滅去Lys)

<400> 26
Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln
1 5 10 15

Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
20 25 30

Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His
35 40 45

Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
50 55 60

Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
65 70 75 80

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

Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val
100 105 110

Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile
115 120 125

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
130 135 140

Cys Ile Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
145 150 155 160

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
165 170 175

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
180 185 190

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
195 200 205

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
210 215 220

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
225 230 235 240

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
245 250 255

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
260 265 270

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
275 280 285

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
290 295 300

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
305 310 315 320

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
325 330 335

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
340 345 350

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
355 360 365

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
370 375

<210> 27
<211> 1131
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
聚核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG4 (N297野生型)

<400> 27
gcgcccatca gctcccactg caggcttgac aagtccaact tccagcagcc ctatatcacc 60

aaccgcacct tcatgctggc taaggaggct agcttggctg ataacaacac agacgttcgt 120

ctcattgggg agaaactgtt ccacggagtc agtatgagtg agcgctgcta tctgatgaag 180

caggtgctga acttcaccct tgaagaagtg ctgttccctc aatctgatag gttccagcct 240

tatatgcagg aggtggtgcc cttcctggcc aggctcagca acaggctaag cacatgtcat 300

attgaaggtg atgacctgca tatccagagg aatgtgcaaa agctgaagga cacagtgaaa 360

aagcttggag agagtggaga gatcaaagca attggagaac tggatttgct gtttatgtct 420

ctgagaaatg cctgcattcg cgttgagtcc aaatatggtc ccccatgccc accatgccca 480

gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact 540

ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac 600

cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag 660

ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac 720

caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc 780

tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc 840

ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa 900

ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac 960

tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttcctcta cagcaggcta 1020

accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag 1080

gctctgcaca accactacac acagaagagc ctctccctgt ctctgggtaa a 1131

<210> 28
<211> 377
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG4 (N297野生型)

<400> 28

Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln
1 5 10 15

Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
20 25 30

Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His
35 40 45

Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
50 55 60

Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
65 70 75 80

Tyr Met Gln Glu Val Val Pro Phe Leu Ala Arg Leu Ser Asn Arg Leu

85 90 95

Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val
100 105 110

Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile
115 120 125

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
130 135 140

Cys Ile Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
145 150 155 160

Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
165 170 175

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
180 185 190

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
195 200 205

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
210 215 220

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
225 230 235 240

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
245 250 255

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
260 265 270

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
275 280 285

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
290 295 300

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
305 310 315 320

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
325 330 335

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
340 345 350

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
355 360 365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
370 375

<210> 29
<211> 1134
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
聚核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG1 (N297野生型)

<400> 29
gcgcccatca gctcccactg caggcttgac aagtccaact tccagcagcc ctatatcacc 60

aaccgcacct tcatgctggc taaggaggct agcttggctg ataacaacac agacgttcgt 120

ctcattgggg agaaactgtt ccacggagtc agtatgagtg agcgctgcta tctgatgaag 180

caggtgctga acttcaccct tgaagaagtg ctgttccctc aatctgatag gttccagcct 240

tatatgcagg aggtggtgcc cttcctggcc aggctcagca acaggctaag cacatgtcat 300

attgaaggtg atgacctgca tatccagagg aatgtgcaaa agctgaagga cacagtgaaa 360

aagcttggag agagtggaga gatcaaagca attggagaac tggatttgct gtttatgtct 420

ctgagaaatg cctgcattga gcccaaatct agtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc 480

ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac 540

accctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa 600

gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 660

aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg 720

caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca 780

gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac 840

accctgcccc catcccggga agagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 900

aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac 960

aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag 1020

ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat 1080

gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtctccggg taaa 1134

<210> 30
<211> 378
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG1 (N297野生型)

<400> 30

Ala	Pro	Ile	Ser	Ser	His	Cys	Arg	Leu	Asp	Lys	Ser	Asn	Phe	Gln	Gln
1				5				10					15		

Pro	Tyr	Ile	Thr	Asn	Arg	Thr	Phe	Met	Leu	Ala	Lys	Glu	Ala	Ser	Leu
			20				25				30				

Ala	Asp	Asn	Asn	Thr	Asp	Val	Arg	Leu	Ile	Gly	Glu	Lys	Leu	Phe	His
		35				40				45					

```
Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
    50                  55                  60

Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val
            100                 105                 110

Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile
        115                 120                 125

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
    130                 135                 140

Cys Ile Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
145                 150                 155                 160

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
                165                 170                 175

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
            180                 185                 190

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
        195                 200                 205

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
    210                 215                 220

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
225                 230                 235                 240
```

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
245 250 255

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
260 265 270

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
275 280 285

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
290 295 300

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
305 310 315 320

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
325 330 335

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
340 345 350

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
355 360 365

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
370 375

<210> 31
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
hinge peptide

<400> 31
Cys Pro Pro Cys Pro
1 5

<210> 32
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 32
Asp Lys Thr His Thr
1 5

<210> 33
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 33
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
1 5 10

<210> 34
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 34
Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
1 5 10

<210> 35
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 35
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
1 5 10

<210> 36
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 36
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
1 5 10

<210> 37
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 37
Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
1 5 10

<210> 38
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 38
Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
1 5 10 15

<210> 39
<211> 16

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 39
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
1 5 10 15

<210> 40
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 40
Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
1 5 10

<210> 41
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 41
Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr
1 5

<210> 42
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子(IgG3)肽

<400> 42

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr
1 5 10

<210> 43
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 43
Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
1 5

<210> 44
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 44
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
1 5

<210> 45
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 45
Gly Gly Ser
1

<210> 46
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 46
Gly Gly Gly Ser
1

<210> 47
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 47
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 48
<211> 146
<212> PRT
<213> 黑猩猩

<400> 48
Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Ser Phe Gln Gln
1 5 10 15

Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
20 25 30

Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His
35 40 45

Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
50 55 60

Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
65 70 75 80

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

Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val
100 105 110

Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Asn Gly Glu Ile
115 120 125

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
130 135 140

Cys Ile
145

<210> 49
<211> 146
<212> PRT
<213> 蘇門答臘猩猩

<400> 49
Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln
1 5 10 15

Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
20 25 30

Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe Arg
35 40 45

Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
50 55 60

Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
65 70 75 80

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

Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val
100 105 110

Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile
115 120 125

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
130 135 140

Cys Ile
145

<210> 50
<211> 146
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 50
Leu Pro Val Asn Thr Arg Cys Lys Leu Glu Val Ser Asn Phe Gln Gln
1 5 10 15

Pro Tyr Ile Val Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
20 25 30

Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe Arg
35 40 45

Gly Val Ser Ala Lys Asp Gln Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
50 55 60

Phe Thr Leu Glu Asp Val Leu Leu Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
65 70 75 80

Tyr Met Gln Glu Val Val Pro Phe Leu Thr Lys Leu Ser Asn Gln Leu
85 90 95

Ser Ser Cys His Ile Ser Gly Asp Asp Gln Asn Ile Gln Lys Asn Val
100 105 110

Arg Arg Leu Lys Glu Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile
115 120 125

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
130 135 140

Cys Val
145

<210> 51
<211> 146
<212> PRT
<213> 家犬

<400> 51
Leu Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln
1 5 10 15

Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
20 25 30

Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His
35 40 45

Gly Val Asn Met Gly Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Glu Val Leu Asn
50 55 60

Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Leu Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
65 70 75 80

Tyr Met Gln Glu Val Val Pro Phe Leu Ala Arg Leu Ser Asn Lys Leu
85 90 95

Ser Gln Cys His Ile Glu Asn Asp Asp Gln His Ile Gln Arg Asn Val
100 105 110

Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Gln Lys Leu Gly Glu Asn Gly Glu Ile
115 120 125

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ala Leu Arg Asn Ala
130 135 140

Cys Val
145

<210> 52
<211> 94
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
IL-22 Fc融合蛋白IgG1正向引子

<400> 52
ttgaattcca ccatgggatg gtcatgtatc atccttttttc tagtagcaac tgcaactgga 60

gtacattcag cgcccatcag ctcccactgc aggc 94

<210> 53
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
IL-22 Fc融合蛋白IgG1反向引子

<400> 53
aggtcgactc atttacccgg agacagggag agg 33

<210> 54
<211> 94
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
IL-22 Fc融合蛋白IgG4正向引子

<400> 54
ttgaattcca ccatgggatg gtcatgtatc atccttttttc tagtagcaac tgcaactgga 60

gtacattcag cgcccatcag ctcccactgc aggc 94

<210> 55
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
IL-22 Fc融合蛋白IgG4反向引子

<400> 55
aggtcgactt atttacccag agacagggag agg 33

<210> 56
<211> 35
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
IgG1 N297G正向引子

<400> 56
gcgggaggag cagtacggaa gcacgtaccg tgtgg 35

<210> 57
<211> 35
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
IgG1 N297G反向引子

<400> 57
ccacacggta cgtgcttccg tactgctcct cccgc 35

<210> 58
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
IgG4 N297G正向引子

<400> 58

acaaagccgc gggaggagca gttcggaagc acgtaccgtg tggtcagcgt c 51

<210> 59
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
IgG4 N297G反向引子

<400> 59
gacgctgacc acacggtacg tgcttccgaa ctgctcctcc cgcggctttg t 51

<210> 60
<211> 411
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合蛋白IgG2a

<400> 60
Met Ala Val Leu Gln Lys Ser Met Ser Phe Ser Leu Met Gly Thr Leu
1 5 10 15

Ala Ala Ser Cys Leu Leu Leu Ile Ala Leu Trp Ala Gln Glu Ala Asn
20 25 30

Ala Leu Pro Val Asn Thr Arg Cys Lys Leu Glu Val Ser Asn Phe Gln
35 40 45

Gln Pro Tyr Ile Val Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser
50 55 60

Leu Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe
65 70 75 80

Arg Gly Val Ser Ala Lys Asp Gln Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu

85 90 95

Asn Phe Thr Leu Glu Asp Val Leu Leu Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln
100 105 110

Pro Tyr Met Gln Glu Val Val Pro Phe Leu Thr Lys Leu Ser Asn Gln
115 120 125

Leu Ser Ser Cys His Ile Ser Gly Asp Asp Gln Asn Ile Gln Lys Asn
130 135 140

Val Arg Arg Leu Lys Glu Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu
145 150 155 160

Ile Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn
165 170 175

Ala Cys Val Ala Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys
180 185 190

Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
195 200 205

Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr
210 215 220

Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser
225 230 235 240

Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His
245 250 255

Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile
260 265 270

Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn
275 280 285

Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys
290 295 300

Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu
305 310 315 320

Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe
325 330 335

Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu
340 345 350

Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr
355 360 365

Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg
370 375 380

Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His
385 390 395 400

Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
405 410

<210> 61
<211> 372
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 IgG1融合蛋白鈕狀結構 (T366W) 減去Lys

<400> 61
Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln
1 5 10 15

```
Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
            20                  25                  30

Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His
        35                  40                  45

Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
    50                  55                  60

Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
65                  70                  75                  80

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

Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val
            100                 105                 110

Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile
        115                 120                 125

Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
    130                 135                 140

Cys Ile Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
145                 150                 155                 160

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
                165                 170                 175

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
            180                 185                 190

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
        195                 200                 205

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
    210                 215                 220
```

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
225 230 235 240

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
245 250 255

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
260 265 270

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
275 280 285

Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
290 295 300

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
305 310 315 320

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
325 330 335

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
340 345 350

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
355 360 365

Leu Ser Pro Gly
370

<210> 62
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
多肽

<220>
<223> 單體Fc孔狀結構

<400> 62

```
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1               5                  10                  15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
            20                  25                  30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        35                  40                  45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    50                  55                  60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65                  70                  75                  80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                85                  90                  95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            100                 105                 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        115                 120                 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
    130                 135                 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145                 150                 155                 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                165                 170                 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
```

180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly
225

<210> 63
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 63
Gly Gly Gly Ser Thr His Thr
1 5

<210> 64
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 64
Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
1 5 10

<210> 65
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成

連接子肽

<400> 65
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
1 5 10 15

<210> 66
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 66
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
1 5 10

<210> 67
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 67
Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
1 5 10

<210> 68
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 68
Lys Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
1 5 10

<210> 69

<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成
連接子肽

<400> 69
Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
1 5 10 15

<210> 70
<211> 1152
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> CDS
<222> (58)..(597)

<400> 70
cttcagaaca ggttctcctt ccccagtcac cagttgctcg agttagaatt gtctgca 57

atg gcc gcc ctg cag aaa tct gtg agc tct ttc ctt atg ggg acc ctg 105
Met Ala Ala Leu Gln Lys Ser Val Ser Ser Phe Leu Met Gly Thr Leu
1 5 10 15

gcc acc agc tgc ctc ctt ctc ttg gcc ctc ttg gta cag gga gga gca 153
Ala Thr Ser Cys Leu Leu Leu Leu Ala Leu Leu Val Gln Gly Gly Ala
20 25 30

gct gcg ccc atc agc tcc cac tgc agg ctt gac aag tcc aac ttc cag 201
Ala Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln
35 40 45

cag ccc tat atc acc aac cgc acc ttc atg ctg gct aag gag gct agc 249
Gln Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser
50 55 60

ttg gct gat aac aac aca gac gtt cgt ctc att ggg gag aaa ctg ttc 297
Leu Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe
65 70 75 80

cac gga gtc agt atg agt gag cgc tgc tat ctg atg aag cag gtg ctg 345
His Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu
85 90 95

```
aac ttc acc ctt gaa gaa gtg ctg ttc cct caa tct gat agg ttc cag        393
Asn Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln
            100                 105                 110

cct tat atg cag gag gtg gtg ccc ttc ctg gcc agg ctc agc aac agg        441
Pro Tyr Met Gln Glu Val Val Pro Phe Leu Ala Arg Leu Ser Asn Arg
        115                 120                 125

cta agc aca tgt cat att gaa ggt gat gac ctg cat atc cag agg aat        489
Leu Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn
    130                 135                 140

gtg caa aag ctg aag gac aca gtg aaa aag ctt gga gag agt gga gag        537
Val Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu
145                 150                 155                 160

atc aaa gca att gga gaa ctg gat ttg ctg ttt atg tct ctg aga aat        585
Ile Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn
                165                 170                 175

gcc tgc att tga ccagagcaaa gctgaaaaat gaataactaa ccccctttcc           637
Ala Cys Ile

ctgctagaaa taacaattag atgccccaaa gcgatttttt ttaaccaaaa ggaagatggg     697

aagccaaact ccatcatgat gggtggattc caaatgaacc cctgcgttag ttacaaagga     757

aaccaatgcc acttttgttt ataagaccag aaggtagact ttctaagcat agatatttat     817

tgataacatt tcattgtaac tggtgttcta tacacagaaa acaatttatt ttttaaataa     877

ttgtcttttt ccataaaaaa gattactttc cattccttta ggggaaaaaa cccctaaata     937

gcttcatgtt tccataatca gtactttata tttataaatg tatttattat tattataaga     997

ctgcatttta tttatatcat tttattaata tggatttatt tatagaaaca tcattcgata    1057

ttgctacttg agtgtaaggc taatattgat atttatgaca ataattatag agctataaca    1117

tgtttatttg acctcaataa acacttggat atccc                               1152
```

<210> 71
<211> 179
<212> PRT
<213> 智人

<400> 71
Met Ala Ala Leu Gln Lys Ser Val Ser Ser Phe Leu Met Gly Thr Leu

1 5 10 15

Ala Thr Ser Cys Leu Leu Leu Leu Ala Leu Leu Val Gln Gly Gly Ala
20 25 30

Ala Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln
35 40 45

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

Leu Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe
65 70 75 80

His Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu
85 90 95

Asn Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln
100 105 110

Pro Tyr Met Gln Glu Val Val Pro Phe Leu Ala Arg Leu Ser Asn Arg
115 120 125

Leu Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn
130 135 140

Val Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu
145 150 155 160

Ile Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn
165 170 175

Ala Cys Ile

<210> 72
<211> 1236
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 72
atggctgtcc tgcagaaatc tatgagtttt tcccttatgg ggactttggc cgccagctgc 60

ctgcttctca ttgccctgtg ggcccaggag gcaaatgcgc tgcccgtcaa cacccggtgc 120

aagcttgagg tgtccaactt ccagcagcca tacatcgtca accgcacctt tatgctggcc 180

aaggaggcca gccttgcaga taacaacaca gatgtccggc tcatcgggga gaaactgttc 240

cgaggagtca gtgctaagga tcagtgctac ctgatgaagc aggtgctcaa cttcaccctg 300

gaagacgttc tgctccccca gtcagacagg ttccagccct acatgcagga ggtggtgcct 360

ttcctgacca aactcagcaa tcagctcagc tcctgtcaca tcagcggtga cgaccagaac 420

atccagaaga atgtcagaag gctgaaggag acagtgaaaa agcttggaga gagtggagag 480

atcaaggcga ttggggaact ggacctgctg tttatgtctc tgagaaatgc ttgcgtcgct 540

cgaggaccca caatcaagcc ctgtcctcca tgcaaatgcc cagcacctaa cctcttgggt 600

ggaccatccg tcttcatctt ccctccaaag atcaaggatg tactcatgat ctccctgagc 660

cccatagtca catgtgtggt ggtggatgtg agcgaggatg acccagatgt ccagatcagc 720

tggtttgtga acaacgtgga agtacacaca gctcagacac aaacccatag agaggattac 780

aacagtactc tacgcgtggt cagtgccctc cccatccagc accaggactg gatgagtggc 840

aaggagttca aatgcaaggt caacaacaaa gacctcccag cgcccatcga gagaaccatc 900

tcaaaaccca aagggtcagt aagagctcca caggtatatg tcttgcctcc accagaagaa 960

gagatgacta agaaacaggt cactctgacc tgcatggtca cagacttcat gcctgaagac 1020

atttacgtgg agtggaccaa caacgggaaa acagagctaa actacaagaa cactgaacca 1080

gtcctggact ctgatggttc ttacttcatg tacagcaagc tgagagtgga aaagaagaac 1140

tgggtggaaa gaaatagcta ctcctgttca gtggtccacg agggtctgca caatcaccac 1200

acgactaaga gcttctcccg gactccgggt aaatga 1236

<210> 73

<211> 411
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 73

Met Ala Val Leu Gln Lys Ser Met Ser Phe Ser Leu Met Gly Thr Leu
1 5 10 15

Ala Ala Ser Cys Leu Leu Leu Ile Ala Leu Trp Ala Gln Glu Ala Asn
20 25 30

Ala Leu Pro Val Asn Thr Arg Cys Lys Leu Glu Val Ser Asn Phe Gln
35 40 45

Gln Pro Tyr Ile Val Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser
50 55 60

Leu Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe
65 70 75 80

Arg Gly Val Ser Ala Lys Asp Gln Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu
85 90 95

Asn Phe Thr Leu Glu Asp Val Leu Leu Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln
100 105 110

Pro Tyr Met Gln Glu Val Val Pro Phe Leu Thr Lys Leu Ser Asn Gln
115 120 125

Leu Ser Ser Cys His Ile Ser Gly Asp Asp Gln Asn Ile Gln Lys Asn
130 135 140

Val Arg Arg Leu Lys Glu Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu
145 150 155 160

Ile Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn

165 170 175

Ala Cys Val Ala Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys
180 185 190

Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
195 200 205

Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr
210 215 220

Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser
225 230 235 240

Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His
245 250 255

Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile
260 265 270

Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn
275 280 285

Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys
290 295 300

Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu
305 310 315 320

Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe
325 330 335

Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu
340 345 350

Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr
355 360 365

Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg
370 375 380

Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His
385 390 395 400

Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
405 410

<210> 74
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> Synthetic primer

<400> 74
aggtccattc agatgctggt 20

<210> 75
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成引子

<400> 75
taggtgtggt tgacgtggag 20

<210> 76
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成引子

<400> 76
ccaccccaca ctcacaccgg 20

<210> 77

<211> 177
<212> PRT
<213> 智人

<400> 77

```
Met Lys Leu Gln Cys Val Ser Leu Trp Leu Leu Gly Thr Ile Leu Ile
1               5                  10                  15

Leu Cys Ser Val Asp Asn His Gly Leu Arg Arg Cys Leu Ile Ser Thr
            20                  25                  30

Asp Met His His Ile Glu Glu Ser Phe Gln Glu Ile Lys Arg Ala Ile
        35                  40                  45

Gln Ala Lys Asp Thr Phe Pro Asn Val Thr Ile Leu Ser Thr Leu Glu
    50                  55                  60

Thr Leu Gln Ile Ile Lys Pro Leu Asp Val Cys Cys Val Thr Lys Asn
65                  70                  75                  80

Leu Leu Ala Phe Tyr Val Asp Arg Val Phe Lys Asp His Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Asn Pro Lys Ile Leu Arg Lys Ile Ser Ser Ile Ala Asn Ser Phe Leu
            100                 105                 110

Tyr Met Gln Lys Thr Leu Arg Gln Cys Gln Glu Gln Arg Gln Cys His
        115                 120                 125

Cys Arg Gln Glu Ala Thr Asn Ala Thr Arg Val Ile His Asp Asn Tyr
    130                 135                 140

Asp Gln Leu Glu Val His Ala Ala Ala Ile Lys Ser Leu Gly Glu Leu
145                 150                 155                 160

Asp Val Phe Leu Ala Trp Ile Asn Lys Asn His Glu Val Met Ser Ser
                165                 170                 175
```

Ala

<210> 78
<211> 176
<212> PRT
<213> 智人

<400> 78

Met Lys Ala Ser Ser Leu Ala Phe Ser Leu Leu Ser Ala Ala Phe Tyr
1 5 10 15

Leu Leu Trp Thr Pro Ser Thr Gly Leu Lys Thr Leu Asn Leu Gly Ser
20 25 30

Cys Val Ile Ala Thr Asn Leu Gln Glu Ile Arg Asn Gly Phe Ser Glu
35 40 45

Ile Arg Gly Ser Val Gln Ala Lys Asp Gly Asn Ile Asp Ile Arg Ile
50 55 60

Leu Arg Arg Thr Glu Ser Leu Gln Asp Thr Lys Pro Ala Asn Arg Cys
65 70 75 80

Cys Leu Leu Arg His Leu Leu Arg Leu Tyr Leu Asp Arg Val Phe Lys
85 90 95

Asn Tyr Gln Thr Pro Asp His Tyr Thr Leu Arg Lys Ile Ser Ser Leu
100 105 110

Ala Asn Ser Phe Leu Thr Ile Lys Lys Asp Leu Arg Leu Cys His Ala
115 120 125

His Met Thr Cys His Cys Gly Glu Glu Ala Met Lys Lys Tyr Ser Gln
130 135 140

Ile Leu Ser His Phe Glu Lys Leu Glu Pro Gln Ala Ala Val Val Lys
145 150 155 160

Ala Leu Gly Glu Leu Asp Ile Leu Leu Gln Trp Met Glu Glu Thr Glu
165 170 175

<210> 79
<211> 207
<212> PRT
<213> 智人

<400> 79

Met Asn Phe Gln Gln Arg Leu Gln Ser Leu Trp Thr Leu Ala Ser Arg
1 5 10 15

Pro Phe Cys Pro Pro Leu Leu Ala Thr Ala Ser Gln Met Gln Met Val
20 25 30

Val Leu Pro Cys Leu Gly Phe Thr Leu Leu Leu Trp Ser Gln Val Ser
35 40 45

Gly Ala Gln Gly Gln Glu Phe His Phe Gly Pro Cys Gln Val Lys Gly
50 55 60

Val Val Pro Gln Lys Leu Trp Glu Ala Phe Trp Ala Val Lys Asp Thr
65 70 75 80

Met Gln Ala Gln Asp Asn Ile Thr Ser Ala Arg Leu Leu Gln Gln Glu
85 90 95

Val Leu Gln Asn Val Ser Asp Ala Glu Ser Cys Tyr Leu Val His Thr
100 105 110

Leu Leu Glu Phe Tyr Leu Lys Thr Val Phe Lys Asn Tyr His Asn Arg
115 120 125

Thr Val Glu Val Arg Thr Leu Lys Ser Phe Ser Thr Leu Ala Asn Asn
130 135 140

Phe Val Leu Ile Val Ser Gln Leu Gln Pro Ser Gln Glu Asn Glu Met
145 150 155 160

Phe Ser Ile Arg Asp Ser Ala His Arg Arg Phe Leu Leu Phe Arg Arg
165 170 175

Ala Phe Lys Gln Leu Asp Val Glu Ala Ala Leu Thr Lys Ala Leu Gly
180 185 190

Glu Val Asp Ile Leu Leu Thr Trp Met Gln Lys Phe Tyr Lys Leu
195 200 205

<210> 80
<211> 171
<212> PRT
<213> 智人

<400> 80

Met Leu Val Asn Phe Ile Leu Arg Cys Gly Leu Leu Leu Val Thr Leu
1 5 10 15

Ser Leu Ala Ile Ala Lys His Lys Gln Ser Ser Phe Thr Lys Ser Cys
20 25 30

Tyr Pro Arg Gly Thr Leu Ser Gln Ala Val Asp Ala Leu Tyr Ile Lys
35 40 45

Ala Ala Trp Leu Lys Ala Thr Ile Pro Glu Asp Arg Ile Lys Asn Ile
50 55 60

Arg Leu Leu Lys Lys Lys Thr Lys Lys Gln Phe Met Lys Asn Cys Gln
65 70 75 80

Phe Gln Glu Gln Leu Leu Ser Phe Phe Met Glu Asp Val Phe Gly Gln
85 90 95

Leu Gln Leu Gln Gly Cys Lys Lys Ile Arg Phe Val Glu Asp Phe His
100 105 110

Ser Leu Arg Gln Lys Leu Ser His Cys Ile Ser Cys Ala Ser Ser Ala
115 120 125

Arg Glu Met Lys Ser Ile Thr Arg Met Lys Arg Ile Phe Tyr Arg Ile
130 135 140

Gly Asn Lys Gly Ile Tyr Lys Ala Ile Ser Glu Leu Asp Ile Leu Leu
145 150 155 160

Ser Trp Ile Lys Lys Leu Leu Glu Ser Ser Gln
165 170

<210> 81
<211> 574
<212> PRT
<213> 智人

<400> 81

Met Arg Thr Leu Leu Thr Ile Leu Thr Val Gly Ser Leu Ala Ala His
1 5 10 15

Ala Pro Glu Asp Pro Ser Asp Leu Leu Gln His Val Lys Phe Gln Ser
20 25 30

Ser Asn Phe Glu Asn Ile Leu Thr Trp Asp Ser Gly Pro Glu Gly Thr
35 40 45

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

Trp Val Ala Lys Lys Gly Cys Gln Arg Ile Thr Arg Lys Ser Cys Asn
65 70 75 80

Leu Thr Val Glu Thr Gly Asn Leu Thr Glu Leu Tyr Tyr Ala Arg Val
85 90 95

Thr Ala Val Ser Ala Gly Gly Arg Ser Ala Thr Lys Met Thr Asp Arg
100 105 110

Phe Ser Ser Leu Gln His Thr Thr Leu Lys Pro Pro Asp Val Thr Cys

115 120 125

Ile Ser Lys Val Arg Ser Ile Gln Met Ile Val His Pro Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Ile Arg Ala Gly Asp Gly His Arg Leu Thr Leu Glu Asp Ile Phe
145 150 155 160

His Asp Leu Phe Tyr His Leu Glu Leu Gln Val Asn Arg Thr Tyr Gln
165 170 175

Met His Leu Gly Gly Lys Gln Arg Glu Tyr Glu Phe Phe Gly Leu Thr
180 185 190

Pro Asp Thr Glu Phe Leu Gly Thr Ile Met Ile Cys Val Pro Thr Trp
195 200 205

Ala Lys Glu Ser Ala Pro Tyr Met Cys Arg Val Lys Thr Leu Pro Asp
210 215 220

Arg Thr Trp Thr Tyr Ser Phe Ser Gly Ala Phe Leu Phe Ser Met Gly
225 230 235 240

Phe Leu Val Ala Val Leu Cys Tyr Leu Ser Tyr Arg Tyr Val Thr Lys
245 250 255

Pro Pro Ala Pro Pro Asn Ser Leu Asn Val Gln Arg Val Leu Thr Phe
260 265 270

Gln Pro Leu Arg Phe Ile Gln Glu His Val Leu Ile Pro Val Phe Asp
275 280 285

Leu Ser Gly Pro Ser Ser Leu Ala Gln Pro Val Gln Tyr Ser Gln Ile
290 295 300

Arg Val Ser Gly Pro Arg Glu Pro Ala Gly Ala Pro Gln Arg His Ser
305 310 315 320

Leu Ser Glu Ile Thr Tyr Leu Gly Gln Pro Asp Ile Ser Ile Leu Gln
325 330 335

Pro Ser Asn Val Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ser Pro Leu Ser Tyr Ala
340 345 350

Pro Asn Ala Ala Pro Glu Val Gly Pro Pro Ser Tyr Ala Pro Gln Val
355 360 365

Thr Pro Glu Ala Gln Phe Pro Phe Tyr Ala Pro Gln Ala Ile Ser Lys
370 375 380

Val Gln Pro Ser Ser Tyr Ala Pro Gln Ala Thr Pro Asp Ser Trp Pro
385 390 395 400

Pro Ser Tyr Gly Val Cys Met Glu Gly Ser Gly Lys Asp Ser Pro Thr
405 410 415

Gly Thr Leu Ser Ser Pro Lys His Leu Arg Pro Lys Gly Gln Leu Gln
420 425 430

Lys Glu Pro Pro Ala Gly Ser Cys Met Leu Gly Gly Leu Ser Leu Gln
435 440 445

Glu Val Thr Ser Leu Ala Met Glu Glu Ser Gln Glu Ala Lys Ser Leu
450 455 460

His Gln Pro Leu Gly Ile Cys Thr Asp Arg Thr Ser Asp Pro Asn Val
465 470 475 480

Leu His Ser Gly Glu Glu Gly Thr Pro Gln Tyr Leu Lys Gly Gln Leu
485 490 495

Pro Leu Leu Ser Ser Val Gln Ile Glu Gly His Pro Met Ser Leu Pro
500 505 510

Leu Gln Pro Pro Ser Arg Pro Cys Ser Pro Ser Asp Gln Gly Pro Ser

515 520 525

Pro Trp Gly Leu Leu Glu Ser Leu Val Cys Pro Lys Asp Glu Ala Lys
530 535 540

Ser Pro Ala Pro Glu Thr Ser Asp Leu Glu Gln Pro Thr Glu Leu Asp
545 550 555 560

Ser Leu Phe Arg Gly Leu Ala Leu Thr Val Gln Trp Glu Ser
565 570

<210> 82
<211> 559
<212> PRT
<213> 智人

<400> 82

His Ala Pro Glu Asp Pro Ser Asp Leu Leu Gln His Val Lys Phe Gln
1 5 10 15

Ser Ser Asn Phe Glu Asn Ile Leu Thr Trp Asp Ser Gly Pro Glu Gly
20 25 30

Thr Pro Asp Thr Val Tyr Ser Ile Glu Tyr Lys Thr Tyr Gly Glu Arg
35 40 45

Asp Trp Val Ala Lys Lys Gly Cys Gln Arg Ile Thr Arg Lys Ser Cys
50 55 60

Asn Leu Thr Val Glu Thr Gly Asn Leu Thr Glu Leu Tyr Tyr Ala Arg
65 70 75 80

Val Thr Ala Val Ser Ala Gly Gly Arg Ser Ala Thr Lys Met Thr Asp
85 90 95

Arg Phe Ser Ser Leu Gln His Thr Thr Leu Lys Pro Pro Asp Val Thr
100 105 110

Cys Ile Ser Lys Val Arg Ser Ile Gln Met Ile Val His Pro Thr Pro
115 120 125

Thr Pro Ile Arg Ala Gly Asp Gly His Arg Leu Thr Leu Glu Asp Ile
130 135 140

Phe His Asp Leu Phe Tyr His Leu Glu Leu Gln Val Asn Arg Thr Tyr
145 150 155 160

Gln Met His Leu Gly Gly Lys Gln Arg Glu Tyr Glu Phe Phe Gly Leu
165 170 175

Thr Pro Asp Thr Glu Phe Leu Gly Thr Ile Met Ile Cys Val Pro Thr
180 185 190

Trp Ala Lys Glu Ser Ala Pro Tyr Met Cys Arg Val Lys Thr Leu Pro
195 200 205

Asp Arg Thr Trp Thr Tyr Ser Phe Ser Gly Ala Phe Leu Phe Ser Met
210 215 220

Gly Phe Leu Val Ala Val Leu Cys Tyr Leu Ser Tyr Arg Tyr Val Thr
225 230 235 240

Lys Pro Pro Ala Pro Pro Asn Ser Leu Asn Val Gln Arg Val Leu Thr
245 250 255

Phe Gln Pro Leu Arg Phe Ile Gln Glu His Val Leu Ile Pro Val Phe
260 265 270

Asp Leu Ser Gly Pro Ser Ser Leu Ala Gln Pro Val Gln Tyr Ser Gln
275 280 285

Ile Arg Val Ser Gly Pro Arg Glu Pro Ala Gly Ala Pro Gln Arg His
290 295 300

Ser Leu Ser Glu Ile Thr Tyr Leu Gly Gln Pro Asp Ile Ser Ile Leu
305 310 315 320

Gln Pro Ser Asn Val Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ser Pro Leu Ser Tyr
325 330 335

Ala Pro Asn Ala Ala Pro Glu Val Gly Pro Pro Ser Tyr Ala Pro Gln
340 345 350

Val Thr Pro Glu Ala Gln Phe Pro Phe Tyr Ala Pro Gln Ala Ile Ser
355 360 365

Lys Val Gln Pro Ser Ser Tyr Ala Pro Gln Ala Thr Pro Asp Ser Trp
370 375 380

Pro Pro Ser Tyr Gly Val Cys Met Glu Gly Ser Gly Lys Asp Ser Pro
385 390 395 400

Thr Gly Thr Leu Ser Ser Pro Lys His Leu Arg Pro Lys Gly Gln Leu
405 410 415

Gln Lys Glu Pro Pro Ala Gly Ser Cys Met Leu Gly Gly Leu Ser Leu
420 425 430

Gln Glu Val Thr Ser Leu Ala Met Glu Glu Ser Gln Glu Ala Lys Ser
435 440 445

Leu His Gln Pro Leu Gly Ile Cys Thr Asp Arg Thr Ser Asp Pro Asn
450 455 460

Val Leu His Ser Gly Glu Glu Gly Thr Pro Gln Tyr Leu Lys Gly Gln
465 470 475 480

Leu Pro Leu Leu Ser Ser Val Gln Ile Glu Gly His Pro Met Ser Leu
485 490 495

Pro Leu Gln Pro Pro Ser Arg Pro Cys Ser Pro Ser Asp Gln Gly Pro
500 505 510

Ser Pro Trp Gly Leu Leu Glu Ser Leu Val Cys Pro Lys Asp Glu Ala
515 520 525

Lys Ser Pro Ala Pro Glu Thr Ser Asp Leu Glu Gln Pro Thr Glu Leu
530 535 540

Asp Ser Leu Phe Arg Gly Leu Ala Leu Thr Val Gln Trp Glu Ser
545 550 555

<210> 83
<211> 325
<212> PRT
<213> 智人

<400> 83

Met Ala Trp Ser Leu Gly Ser Trp Leu Gly Gly Cys Leu Leu Val Ser
1 5 10 15

Ala Leu Gly Met Val Pro Pro Pro Glu Asn Val Arg Met Asn Ser Val
20 25 30

Asn Phe Lys Asn Ile Leu Gln Trp Glu Ser Pro Ala Phe Ala Lys Gly
35 40 45

Asn Leu Thr Phe Thr Ala Gln Tyr Leu Ser Tyr Arg Ile Phe Gln Asp
50 55 60

Lys Cys Met Asn Thr Thr Leu Thr Glu Cys Asp Phe Ser Ser Leu Ser
65 70 75 80

Lys Tyr Gly Asp His Thr Leu Arg Val Arg Ala Glu Phe Ala Asp Glu
85 90 95

His Ser Asp Trp Val Asn Ile Thr Phe Cys Pro Val Asp Asp Thr Ile
100 105 110

Ile Gly Pro Pro Gly Met Gln Val Glu Val Leu Ala Asp Ser Leu His
115 120 125

Met Arg Phe Leu Ala Pro Lys Ile Glu Asn Glu Tyr Glu Thr Trp Thr
130 135 140

Met Lys Asn Val Tyr Asn Ser Trp Thr Tyr Asn Val Gln Tyr Trp Lys
145 150 155 160

Asn Gly Thr Asp Glu Lys Phe Gln Ile Thr Pro Gln Tyr Asp Phe Glu
165 170 175

Val Leu Arg Asn Leu Glu Pro Trp Thr Thr Tyr Cys Val Gln Val Arg
180 185 190

Gly Phe Leu Pro Asp Arg Asn Lys Ala Gly Glu Trp Ser Glu Pro Val
195 200 205

Cys Glu Gln Thr Thr His Asp Glu Thr Val Pro Ser Trp Met Val Ala
210 215 220

Val Ile Leu Met Ala Ser Val Phe Met Val Cys Leu Ala Leu Leu Gly
225 230 235 240

Cys Phe Ala Leu Leu Trp Cys Val Tyr Lys Lys Thr Lys Tyr Ala Phe
245 250 255

Ser Pro Arg Asn Ser Leu Pro Gln His Leu Lys Glu Phe Leu Gly His
260 265 270

Pro His His Asn Thr Leu Leu Phe Phe Ser Phe Pro Leu Ser Asp Glu
275 280 285

Asn Asp Val Phe Asp Lys Leu Ser Val Ile Ala Glu Asp Ser Glu Ser
290 295 300

Gly Lys Gln Asn Pro Gly Asp Ser Cys Ser Leu Gly Thr Pro Pro Gly
305 310 315 320

Gln Gly Pro Gln Ser

325

<210> 84
<211> 306
<212> PRT
<213> 智人

<400> 84

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

Asn Ile Leu Gln Trp Glu Ser Pro Ala Phe Ala Lys Gly Asn Leu Thr
20 25 30

Phe Thr Ala Gln Tyr Leu Ser Tyr Arg Ile Phe Gln Asp Lys Cys Met
35 40 45

Asn Thr Thr Leu Thr Glu Cys Asp Phe Ser Ser Leu Ser Lys Tyr Gly
50 55 60

Asp His Thr Leu Arg Val Arg Ala Glu Phe Ala Asp Glu His Ser Asp
65 70 75 80

Trp Val Asn Ile Thr Phe Cys Pro Val Asp Asp Thr Ile Ile Gly Pro
85 90 95

Pro Gly Met Gln Val Glu Val Leu Ala Asp Ser Leu His Met Arg Phe
100 105 110

Leu Ala Pro Lys Ile Glu Asn Glu Tyr Glu Thr Trp Thr Met Lys Asn
115 120 125

Val Tyr Asn Ser Trp Thr Tyr Asn Val Gln Tyr Trp Lys Asn Gly Thr
130 135 140

Asp Glu Lys Phe Gln Ile Thr Pro Gln Tyr Asp Phe Glu Val Leu Arg
145 150 155 160

Asn Leu Glu Pro Trp Thr Thr Tyr Cys Val Gln Val Arg Gly Phe Leu
165 170 175

Pro Asp Arg Asn Lys Ala Gly Glu Trp Ser Glu Pro Val Cys Glu Gln
180 185 190

Thr Thr His Asp Glu Thr Val Pro Ser Trp Met Val Ala Val Ile Leu
195 200 205

Met Ala Ser Val Phe Met Val Cys Leu Ala Leu Leu Gly Cys Phe Ala
210 215 220

Leu Leu Trp Cys Val Tyr Lys Lys Thr Lys Tyr Ala Phe Ser Pro Arg
225 230 235 240

Asn Ser Leu Pro Gln His Leu Lys Glu Phe Leu Gly His Pro His His
245 250 255

Asn Thr Leu Leu Phe Phe Ser Phe Pro Leu Ser Asp Glu Asn Asp Val
260 265 270

Phe Asp Lys Leu Ser Val Ile Ala Glu Asp Ser Glu Ser Gly Lys Gln
275 280 285

Asn Pro Gly Asp Ser Cys Ser Leu Gly Thr Pro Pro Gly Gln Gly Pro
290 295 300

Gln Ser
305

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】 一種包含介白素 22 (IL-22) Fc 融合蛋白之液體組合物，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含 SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10 或 SEQ ID NO:16 之胺基酸序列或由其組成，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含藉由連接子連接至抗體 Fc 區之糖基化 IL-22 多肽，且其中該組合物之平均唾液酸含量在 8 至 12 莫耳唾液酸/莫耳該 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

【請求項 2】 如請求項 1 之液體組合物，其中該組合物之平均唾液酸含量在 8 至 10 莫耳唾液酸/莫耳該 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

【請求項 3】 如請求項 2 之液體組合物，其中該組合物之平均唾液酸含量在 8 至 9 莫耳唾液酸/莫耳該 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

【請求項 4】 如請求項 1 至 3 中任一項之液體組合物，其中該唾液酸糖基化包含 N-乙醯神經胺糖酸(NANA)。

【請求項 5】 如請求項 1 至 3 中任一項之液體組合物，其中該組合物之平均 N 羥乙醯基神經胺糖酸(NGNA)含量低於 1 莫耳 NGNA/莫耳該 IL-22 Fc 融合蛋白。

【請求項 6】 如請求項 1 至 3 中任一項之液體組合物，其中該 IL-22 多肽包含具有單觸角、雙觸角、三觸角及/或四觸角結構之 N-聚醣。

【請求項 7】 如請求項 6 之液體組合物，其中該組合物具有一或多種以下性質：

(i) 0.1%至 2%之該等 N-聚醣具有單觸角結構；

(ii) 10%至 25%之該等 N-聚醣具有雙觸角結構；

(iii) 25%至 40%之該等 N-聚醣具有三觸角結構；及/或

(iv) 30%至 51%之該等 N-聚醣具有四觸角結構。

【請求項 8】 如請求項 1 至 3 中任一項之液體組合物，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含：包含零、一、二、三或四個半乳糖部分之 N-聚醣。

【請求項 9】 如請求項 8 之液體組合物，其中該組合物具有一或多種以下性質：

(i) 9%至 32%之該等 N-聚醣包含零個半乳糖部分；

(ii) 10%至 20%之該等 N-聚醣包含一個半乳糖部分；

(iii) 8%至 25%之該等 N-聚醣包含兩個半乳糖部分；

(iv) 12%至 25%之該等 N-聚醣包含三個半乳糖部分；及/或

(v) 12%至 30%之該等 N-聚醣包含四個半乳糖部分。

【請求項 10】 如請求項 1 至 3 中任一項之液體組合物，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白包含：包含零、一、二、三或四個唾液酸部分之 N-聚醣。

【請求項 11】 如請求項 10 之液體組合物，其中該組合物具有一或多種以下性質：

(i) 12%至 35%之該等 N-聚醣包含零個唾液酸部分；

(ii) 10%至 30%之該等 N-聚醣包含一個唾液酸部分；

(iii) 10%至 30%之該等 N-聚醣包含兩個唾液酸部分；

(iv) 10%至 30%之該等 N-聚醣包含三個唾液酸部分；及/或

(v) 1%至 20%之該等 N-聚醣包含四個唾液酸部分。

【請求項 12】 如請求項 1 至 3 中任一項之液體組合物，其中(i)該 IL-22 多肽包含 0%至 10%含有末端甘露糖部分之 N-聚醣；及/或(ii)該 IL-22 多肽包含 30%至 55%含有末端 N-乙醯葡萄糖胺(GlcNAc)部分之 N-聚醣。

【請求項 13】 如請求項 12 之液體組合物，其中該等 N-聚醣包含一、二、三或四個末端 GlcNAc 部分。

【請求項 14】 如請求項 13 之液體組合物，其中該組合物具有一或多種以下性質：

(i) 1%至 20%之該等 N-聚醣包含一個末端 GlcNAc 部分；

(ii) 1%至 20%之該等 N-聚醣包含兩個末端 GlcNAc 部分；

(iii) 5%至 25%之該等 N-聚醣包含三個末端 GlcNAc 部分；及/或

(iv) 0%至 15%之該等 N-聚醣包含四個末端 GlcNAc 部分。

【請求項 15】 如請求項 1 至 3 中任一項之液體組合物，其中(i)該 IL-22 多肽包含 20%至 45%含有末端半乳糖(Gal)部分之 N-聚醣；及/或(ii)該等 N-聚醣包含一、二或三個末端 Gal 部分。

【請求項 16】 如請求項 15 之液體組合物，其中該組合物具有一或多種以下性質：

(i) 15%至 30%之該等 N-聚醣包含一個末端 Gal 部分；

(ii) 1%至 15%之該等 N-聚醣包含兩個末端 Gal 部分；及/或

(iii) 0.1%至 6%之該等 N-聚醣包含三個末端 Gal 部分。

【請求項 17】 如請求項 1 至 3 中任一項之液體組合物，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白結合至 IL-22 受體。

【請求項 18】 如請求項 17 之液體組合物，其中該 IL-22 受體為人類 IL-22 受體。

【請求項 19】 如請求項 18 之液體組合物，其中該人類 IL-22 受體包含由 IL-22R1 多肽及 IL-10R2 多肽組成之異二聚體。

【請求項 20】 如請求項 19 之液體組合物，其中該 IL-22R1 多肽包含 SEQ ID

NO:82 之胺基酸序列且該 IL-10R2 多肽包含 SEQ ID NO:84 之胺基酸序列。

【請求項 21】 如請求項 1 至 3 中任一項之液體組合物，其中該 IL-22 Fc 融合蛋白由藉由兩個鏈間二硫橋連接之兩個單鏈單元組成，其中各單鏈單元由包含與人類免疫球蛋白 IgG4 之 Fc 區融合之 IL-22 的人類 IL-22 融合蛋白組成。

【請求項 22】 如請求項 1 至 3 中任一項之液體組合物，其中該組合物為醫藥組合物。

【請求項 23】 如請求項 22 之液體組合物，其中該組合物為水性的及/或無菌的。

【請求項 24】 如請求項 22 之液體組合物，其進一步包含額外治療劑。

【請求項 25】 如請求項 22 之液體組合物，其進一步包含膠凝劑。

【請求項 26】 一種如請求項 1 至 25 中任一項之液體組合物之用途，其係用於製備治療炎症性腸病(IBD)之醫藥品。

【請求項 27】 如請求項 26 之用途，其中該 IBD 為潰瘍性結腸炎或克羅恩氏病(Crohn's disease)。

【請求項 28】 如請求項 27 之用途，其中該 IBD 為潰瘍性結腸炎。

【請求項 29】 如請求項 28 之用途，其中該潰瘍性結腸炎為中度至重度潰瘍性結腸炎。

【請求項 30】 如請求項 27 之用途，其中該 IBD 為克羅恩氏病。

【請求項 31】 一種如請求項 1 至 25 中任一項之液體組合物之用途，其係用於製備抑制腸中微生物感染、在微生物感染期間保護腸中之杯狀細胞、增強腸中之上皮細胞完整性、上皮細胞增殖、上皮細胞分化、上皮細胞遷移或上皮創傷癒合之醫藥品。

【請求項 32】 一種如請求項 1 至 25 中任一項之液體組合物之用途，其係用於

製備治療急性腎損傷或急性胰臟炎之醫藥品。

【請求項 33】 一種如請求項 1 至 25 中任一項之液體組合物之用途，其係用於製備加速或改良創傷癒合之醫藥品。

【請求項 34】 一種如請求項 1 至 25 中任一項之液體組合物之用途，其係用於製備預防或治療心血管病狀之醫藥品，該病狀包括動脈粥樣硬化斑形成病變。

【請求項 35】 一種如請求項 1 至 25 中任一項之液體組合物之用途，其係用於製備治療代謝症候群之醫藥品。

【請求項 36】 一種如請求項 1 至 25 中任一項之液體組合物之用途，其係用於製備治療急性內毒血症、敗血症或兩者之醫藥品。

【請求項 37】 如請求項 26 至 36 中任一項之用途，其中該醫藥品係經調配為用於靜脈內、皮下、腹膜內或局部投與。

【請求項 38】 如請求項 26 至 36 中任一項之用途，其中該醫藥品經調配為用於與至少一種額外治療劑共同投與。

【請求項 39】 一種製造包含如請求項 1 至 25 中任一項之 IL-22 Fc 融合蛋白之液體組合物的方法，該方法包括：

(a) 在生產培養基中在適合形成生產培養物之條件下將複數個中國倉鼠卵巢(CHO)細胞培養 7 天至 14 天、8 天至 16 天、10 天至 14 天或 11 天至 13 天，其中該等 CHO 細胞包含編碼 IL-22 Fc 融合蛋白之核酸，該 IL-22 Fc 融合蛋白包含藉由連接子連接至 Fc 區之 IL-22 多肽，其中該等 CHO 細胞表現且分泌該 IL-22 Fc 融合蛋白至該生產培養基中，且其中該 IL-22 多肽經糖基化；及

(b) 收集該生產培養基，從而產生該包含 IL-22 Fc 融合蛋白之組合物，其中該組合物之平均唾液酸含量在 5 至 12 莫耳唾液酸/莫耳該 IL-22 Fc 融合蛋白之範圍內。

【請求項 40】 如請求項 39 之方法，其中：

(i) 該方法進一步包含增濃該組合物之唾液酸含量；及/或

(ii) 該方法進一步包含自步驟(b)收集之該生產培養基中收集包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之細胞培養液，及自該細胞培養液純化該 IL-22 Fc 融合蛋白。

【請求項 41】 如請求項 40 之方法，其中純化該 IL-22 Fc 融合蛋白包括以下步驟：

(i) 使該細胞培養液與親和層析載體接觸，用第一溶析緩衝液自該親和層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成親和庫；

(ii) 使該親和庫與陰離子交換層析載體接觸，用第二溶析緩衝液自該陰離子交換層析載體溶析該 IL-22 Fc 融合蛋白以形成陰離子交換庫；以及

(iii) 使該陰離子交換庫與疏水性相互作用層析載體接觸並收集流通液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經純化產物庫。

【請求項 42】 如請求項 41 之方法，其中純化該 IL-22 Fc 融合蛋白進一步包括以下步驟中之一或多個：

(iv)用洗滌緩衝液洗滌該親和層析載體；

(v)使該親和庫中之病毒不活化；

(vi)用第一平衡緩衝液洗滌該陰離子交換層析載體；

(vii)過濾該陰離子交換庫以移除病毒；

(viii) 用第二平衡緩衝液洗滌該疏水性相互作用層析載體，收集流通液，

並將其添加至該經純化產物庫；

(ix) 濃縮該經純化產物庫以形成濃縮產物庫；

(x) 對該經純化產物庫進行超濾；

(xi) 交換該濃縮產物庫之緩衝液以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之超濾滲濾(UFDF)庫；及

(xii) 用調配緩衝液調節該 UFDF 庫以形成包含該 IL-22 Fc 融合蛋白之經調節 UFDF 庫。

【請求項 43】 如請求項 42 之方法，其中該親和層析載體包括蛋白 A 樹脂。

【請求項 44】 如請求項 43 之方法，其中該蛋白 A 樹脂為 MABSELECT SURE® 樹脂。

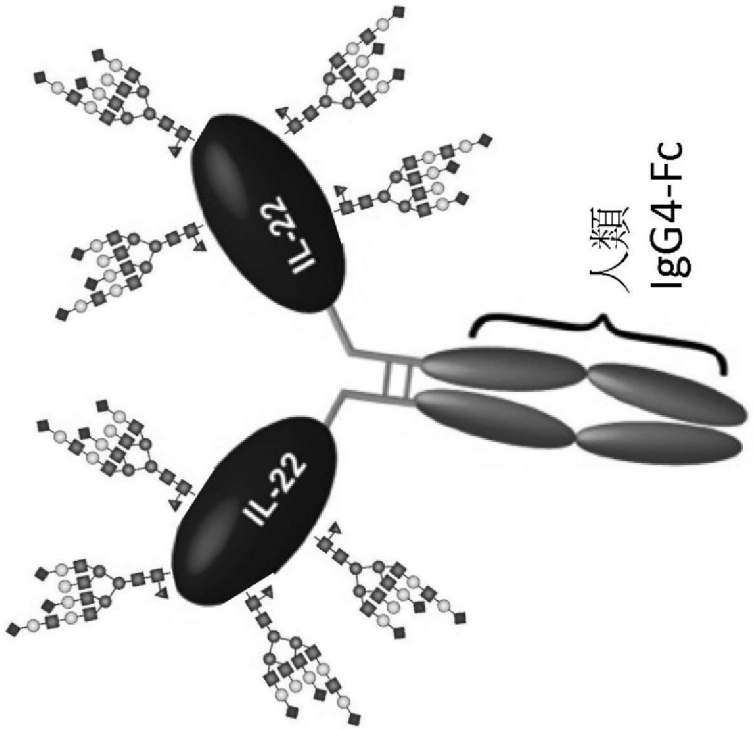
【請求項 45】 如請求項 42 至 44 中任一項之方法，其中該陰離子交換層析載體包含具有多模式功能性樹脂之強陰離子交換劑。

【請求項 46】 如請求項 45 之方法，其中該陰離子交換層析載體包含 CAPTO™ 黏附樹脂。

【請求項 47】 一種液體組合物，其係藉由如請求項 39 至 46 中任一項之方法產生。

【請求項 48】 如請求項 47 之液體組合物，其中該組合物為醫藥組合物。

【發明圖式】



【圖 1A】

```
1    10        20        30        40        50        60
|    |         |         |         |         |         |
APISSHCRLDKSNFQQPYITNRTFMLAKEASLADNNTDVRLIGEKLFHGVSMSERCYLMK

          70        80        90        100       110       120
          |         |         |         |         |         |
QVLNFTLEEVLFPQSDRFQPYMQEVVPFLARLSNRLSTCHIEGDDLHIQRNVQKLKDTVK

     130       140
     |         |
KLGESGEIKAIGELDLLFMSLRNACI
```

【圖 1B】

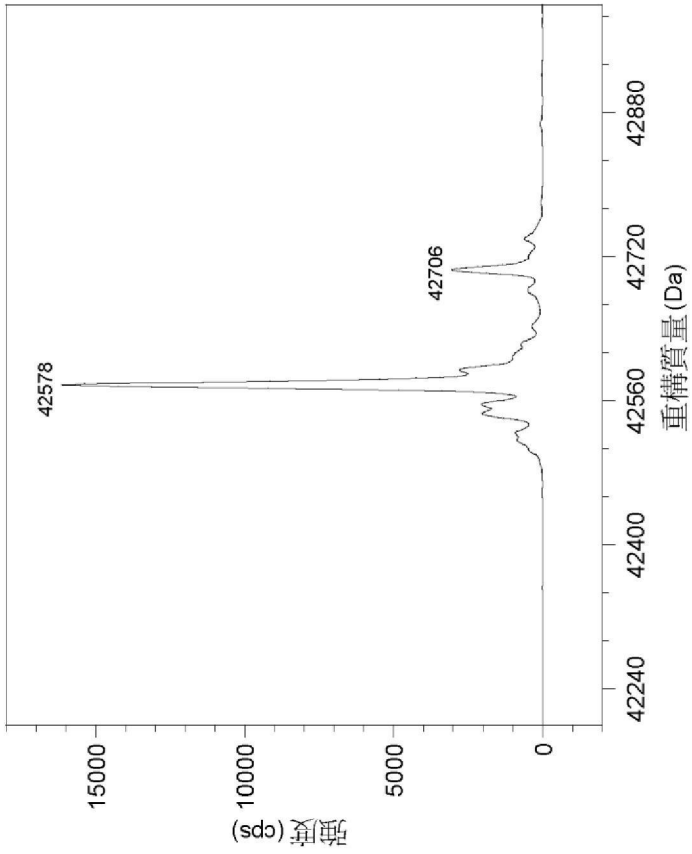
```
1                10                20                30                40                50                60
|                |                |                |                |                |                |
RVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN

                70                80                90                100               110               120
                |                |                |                |                |                |
WYVDGVEVHNAKTKPREEQFGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI

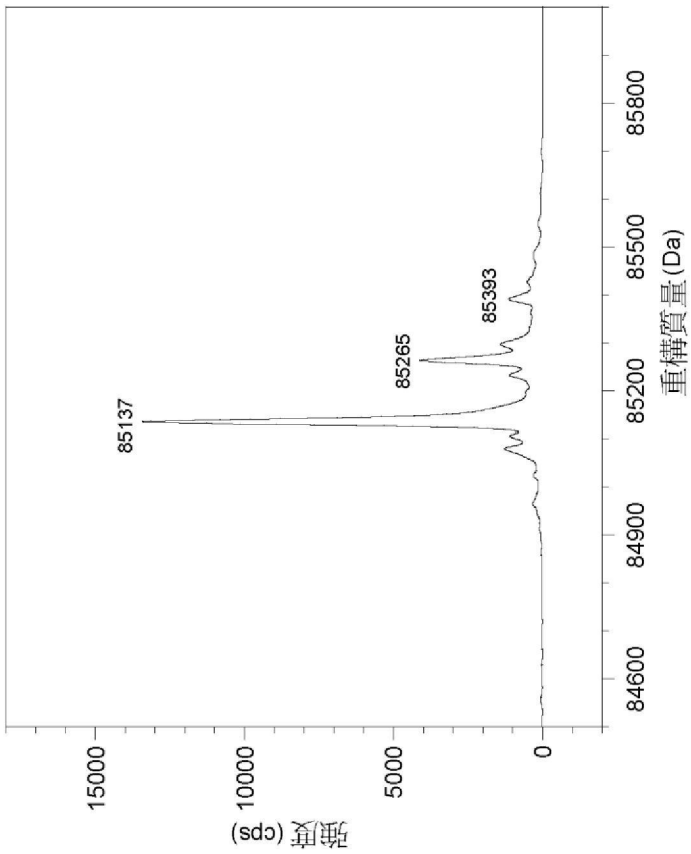
                130               140               150               160               170               180
                |                |                |                |                |                |
SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP

                190               200               210               220               230
                |                |                |                |                |
VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
```

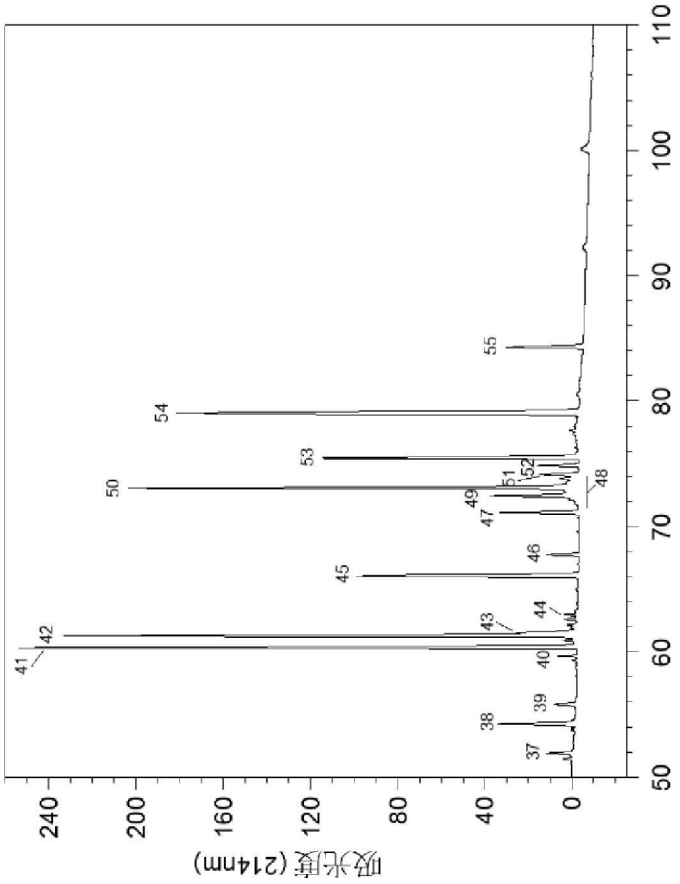
【圖 1C】


強度 (cps)
15000
10000
5000
0
42240
42400
42560
42720
42880
重構質量 (Da)
42578
42706

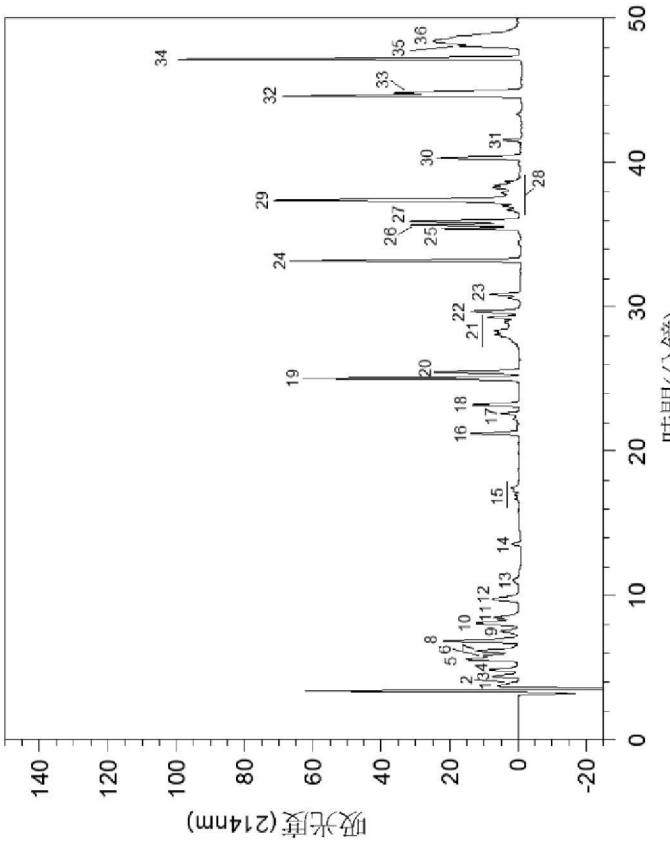
【圖 2B】


強度 (cps)
15000
10000
5000
0
84600
84900
85200
85500
85800
重構質量 (Da)
85137
85265
85393

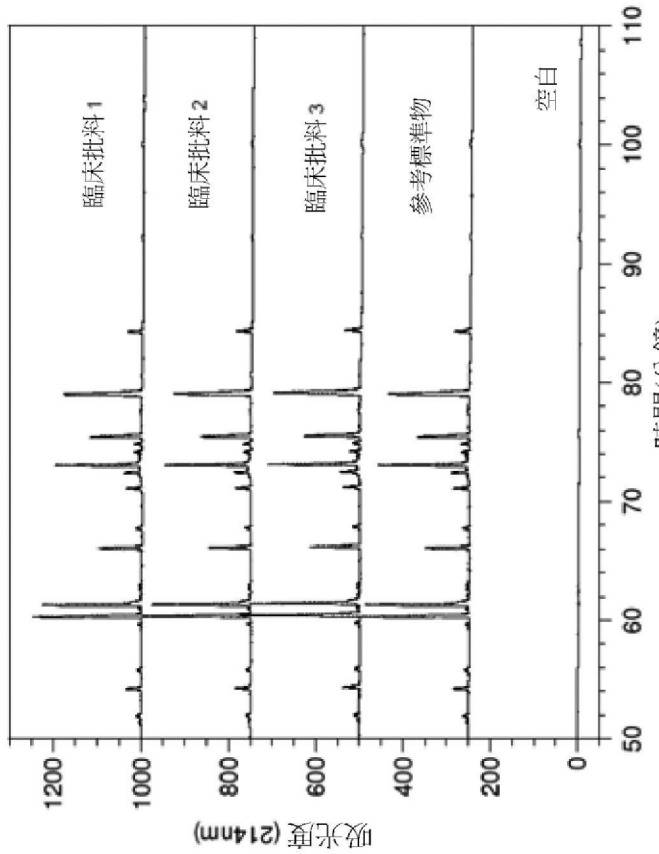
【圖 2A】



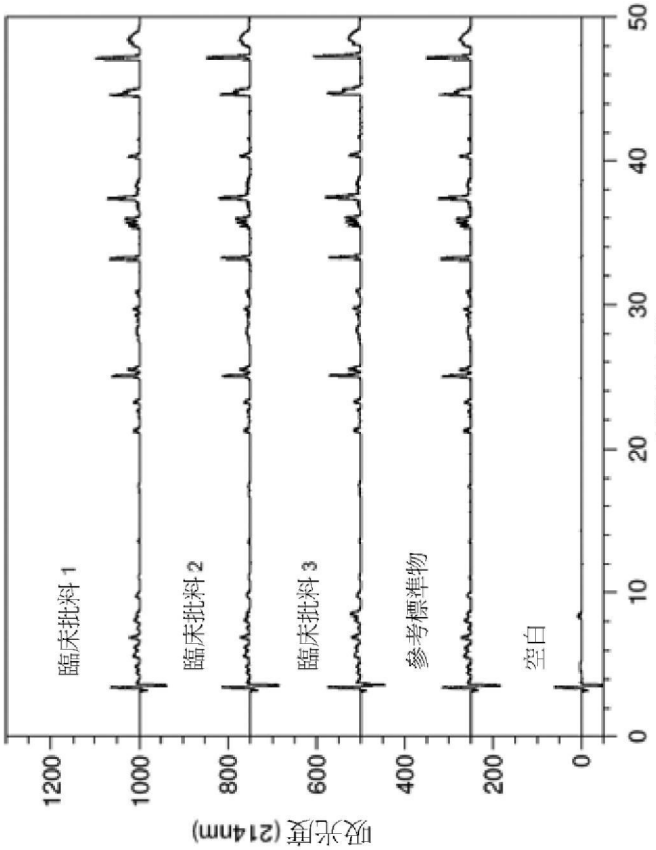
【圖 3B】



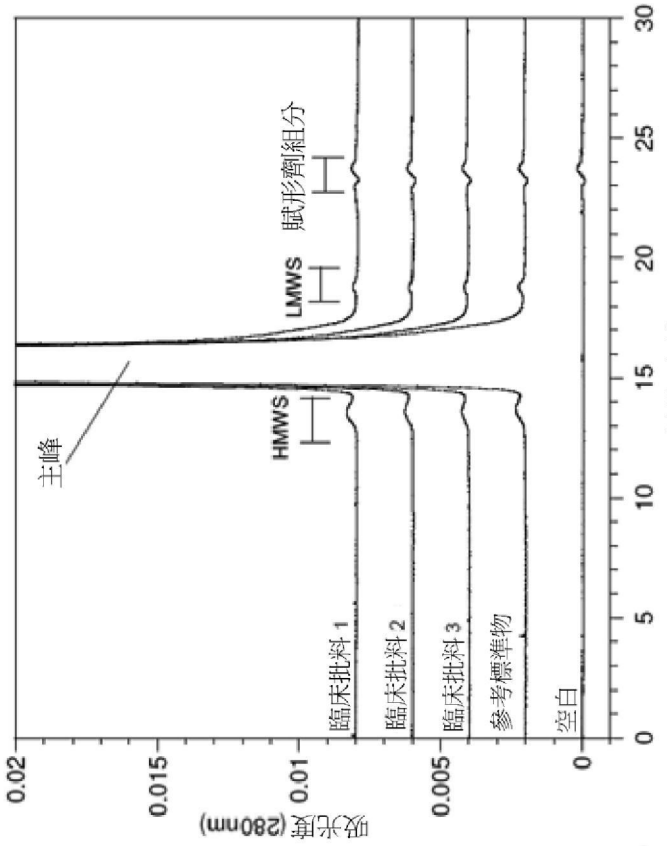
【圖 3A】


臨床批料 1
臨床批料 2
臨床批料 3
參考標準物
空白
吸光度 (214nm)
時間(分鐘)

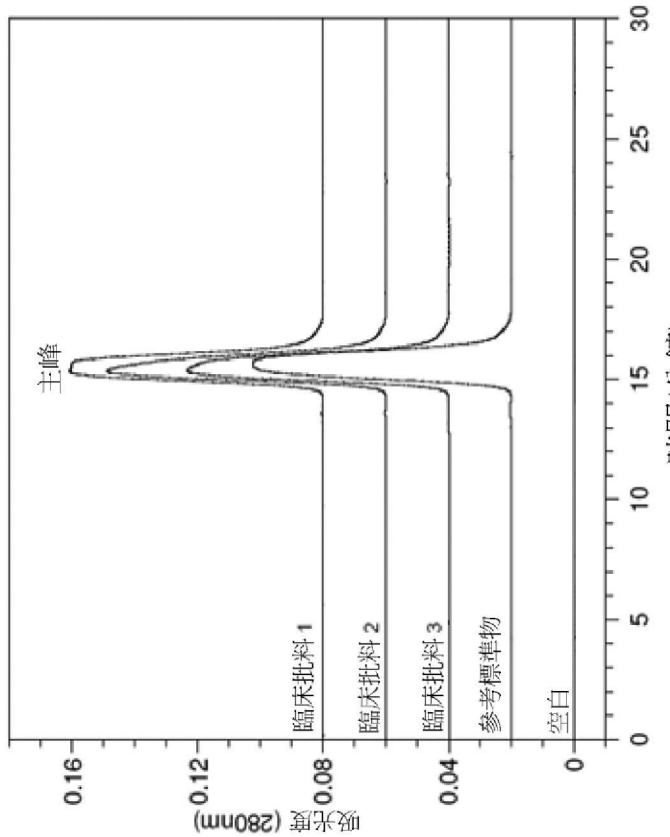
【圖 3D】


臨床批料 1
臨床批料 2
臨床批料 3
參考標準物
空白
吸光度 (214nm)
時間(分鐘)

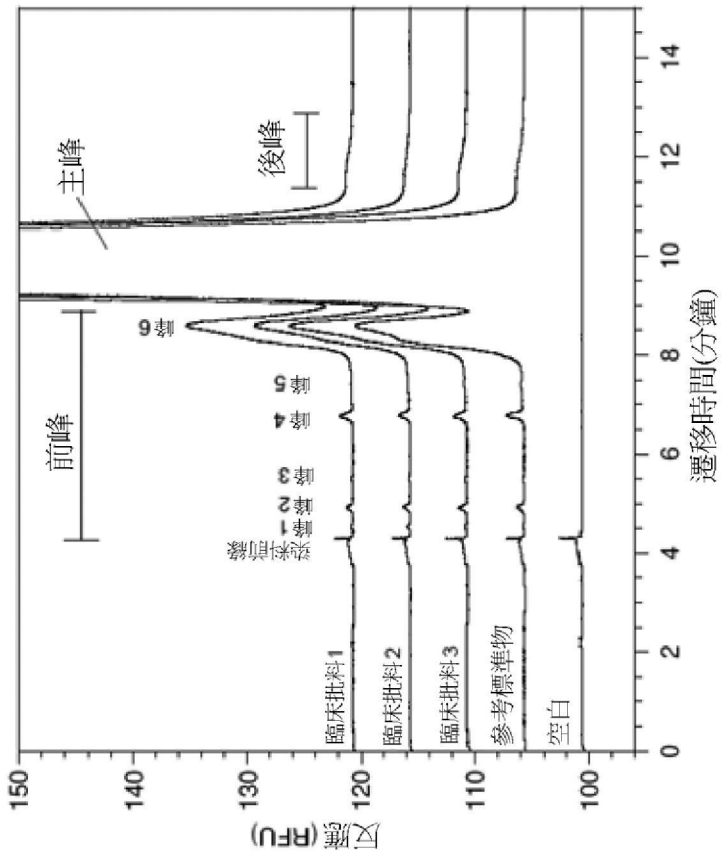
【圖 3C】


吸光度 (280nm)
0.02
0.015
0.01
0.005
0
0
5
10
15
20
25
30
時間(分鐘)
主峰
HMWS
LMWS
賦形劑組分
臨床批料 1
臨床批料 2
臨床批料 3
參考標準物
空白

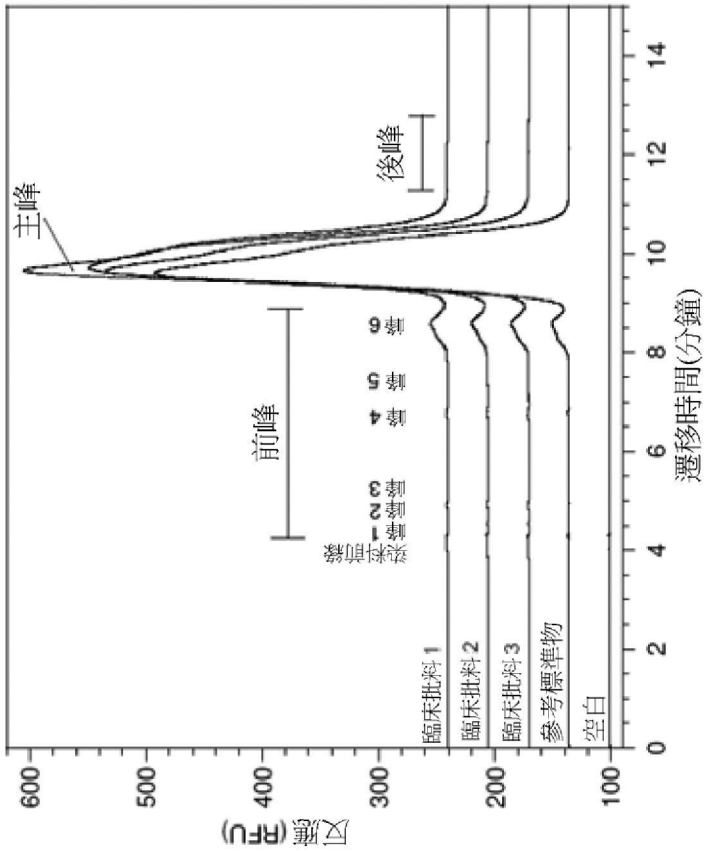
【圖 4B】


吸光度 (280nm)
0.16
0.12
0.08
0.04
0
0
5
10
15
20
25
30
時間(分鐘)
主峰
臨床批料 1
臨床批料 2
臨床批料 3
參考標準物
空白

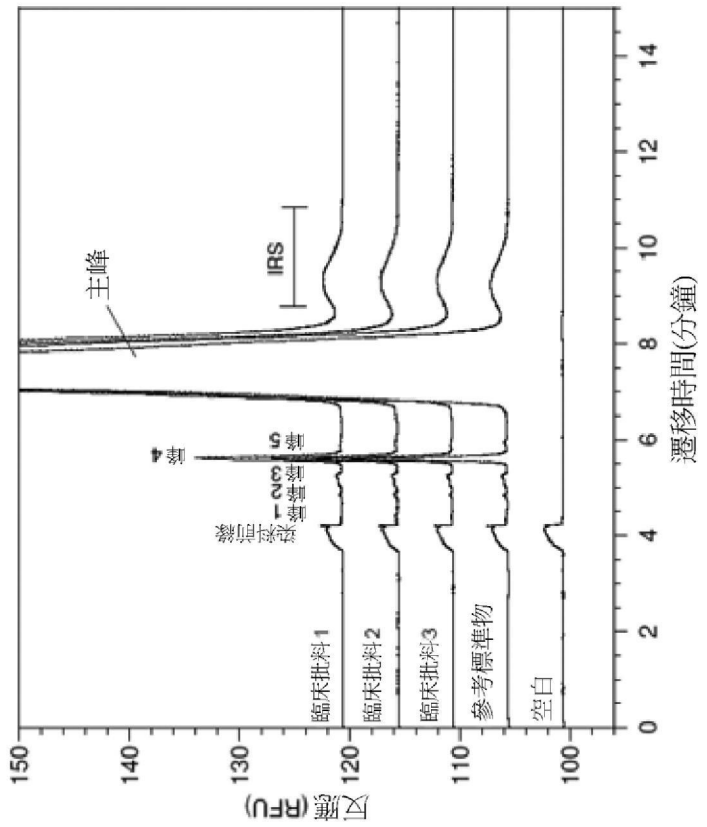
【圖 4A】


螢光
150
140
130
120
110
100
臨床批料 1
臨床批料 2
臨床批料 3
參考標準物
空白
前峰
主峰
後峰
峰 1
峰 2
峰 3
峰 4
峰 5
峰 6
0
2
4
6
8
10
12
14
遷移時間(分鐘)

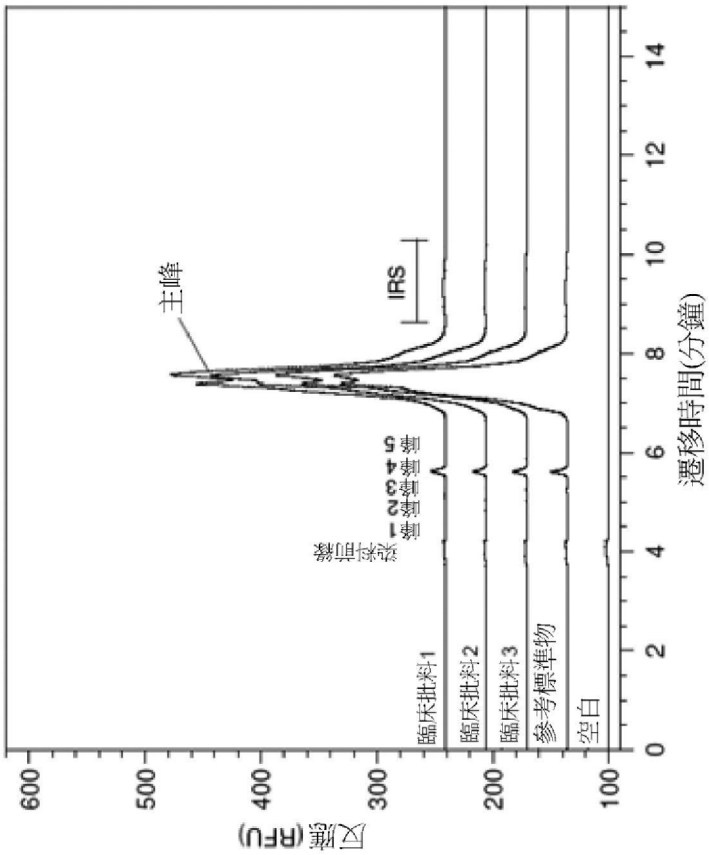
【圖 5B】


螢光
600
500
400
300
200
100
臨床批料 1
臨床批料 2
臨床批料 3
參考標準物
空白
前峰
主峰
後峰
峰 1
峰 2
峰 3
峰 4
峰 5
峰 6
0
2
4
6
8
10
12
14
遷移時間(分鐘)

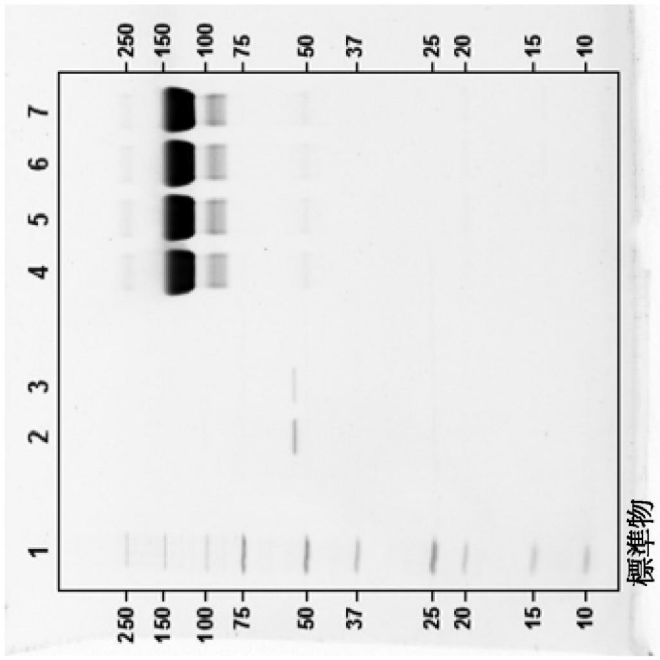
【圖 5A】


反應(RFU)
遷移時間(分鐘)
臨床批料1
臨床批料2
臨床批料3
參考標準物
空白
染料前緣
峰1
峰2
峰3
峰4
峰5
主峰
IRS

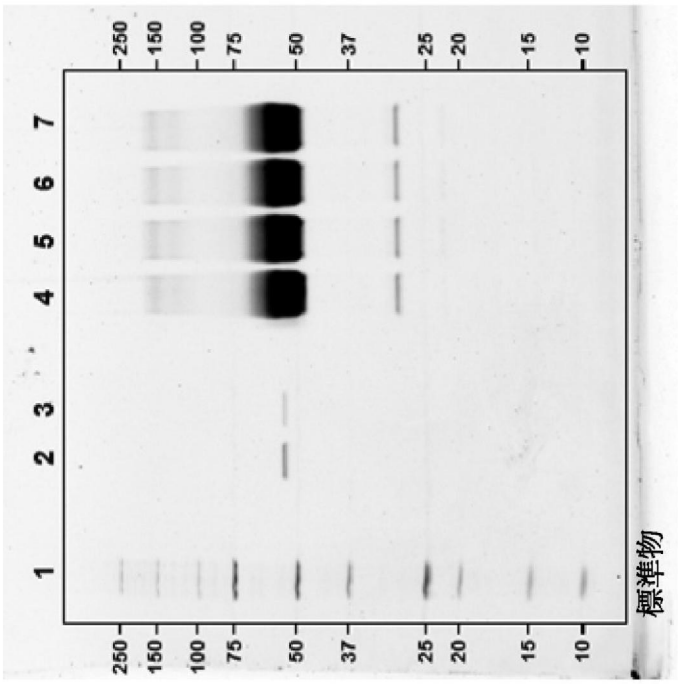
【圖 5D】


反應(RFU)
遷移時間(分鐘)
臨床批料1
臨床批料2
臨床批料3
參考標準物
空白
染料前緣
峰1
峰2
峰3
峰4
峰5
主峰
IRS

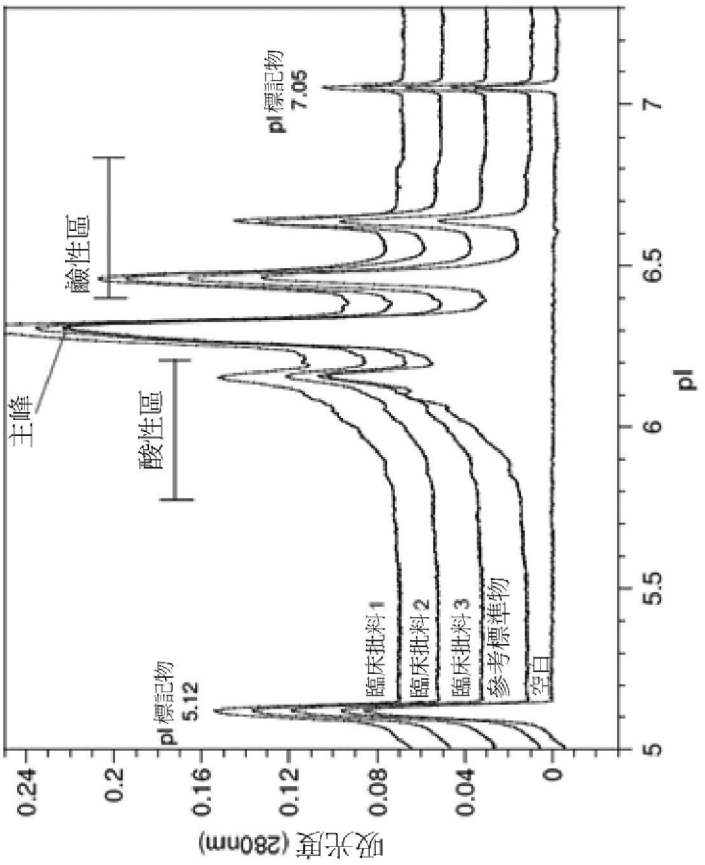
【圖 5C】


1
2
3
4
5
6
7
標準物
250
150
100
75
50
37
25
20
15
10

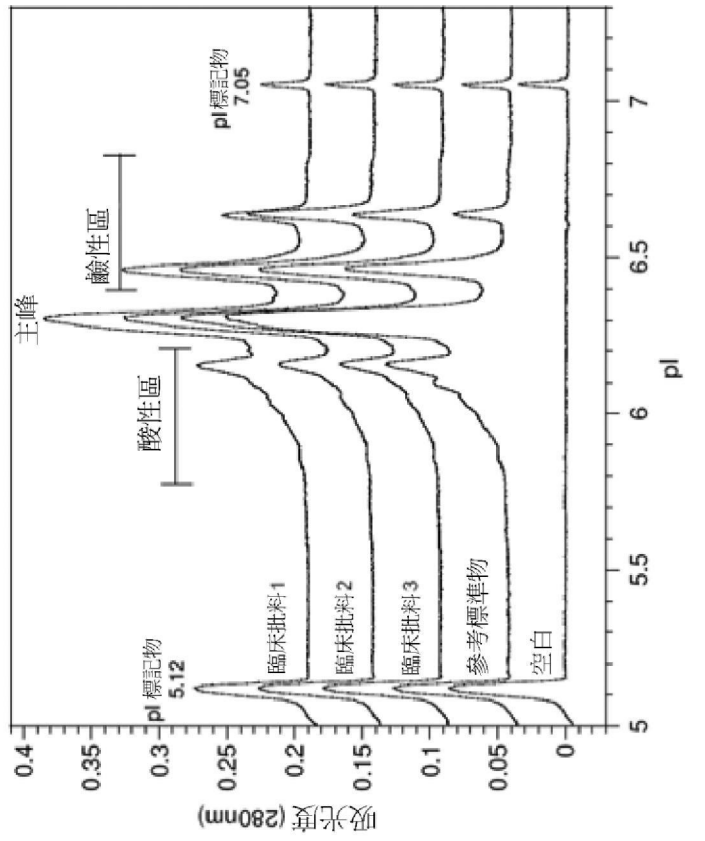
【圖 6B】


1
2
3
4
5
6
7
標準物
250
150
100
75
50
37
25
20
15
10

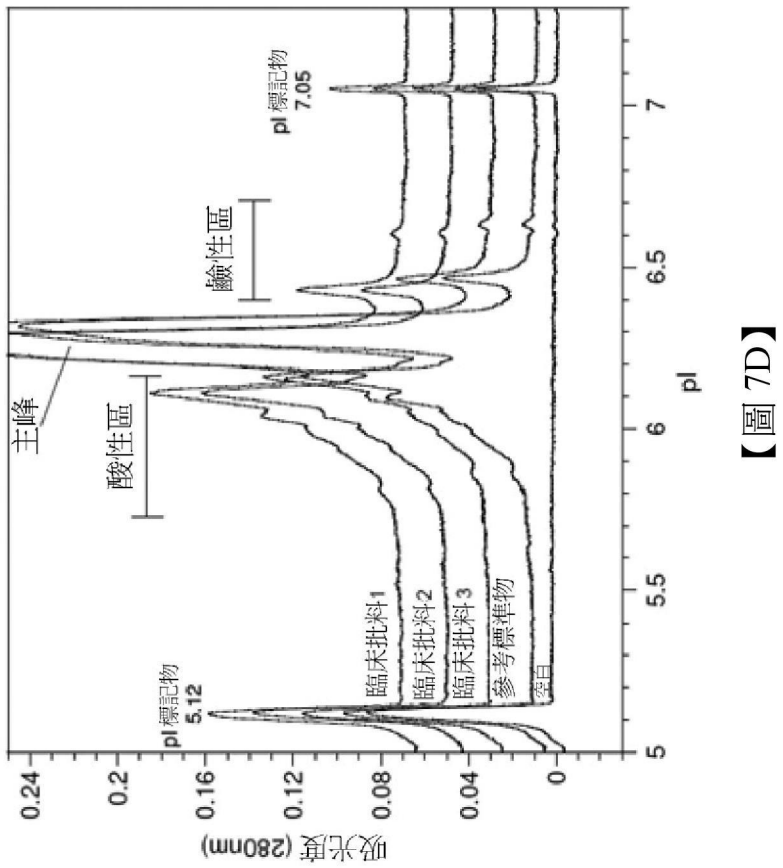
【圖 6A】


吸光度 (280nm)
0.24
0.2
0.16
0.12
0.08
0.04
0
5
5.5
6
6.5
7
pI
主峰
酸性區
鹼性區
pI 標記物
5.12
pI 標記物
7.05
臨床批料 1
臨床批料 2
臨床批料 3
參考標準物
空白

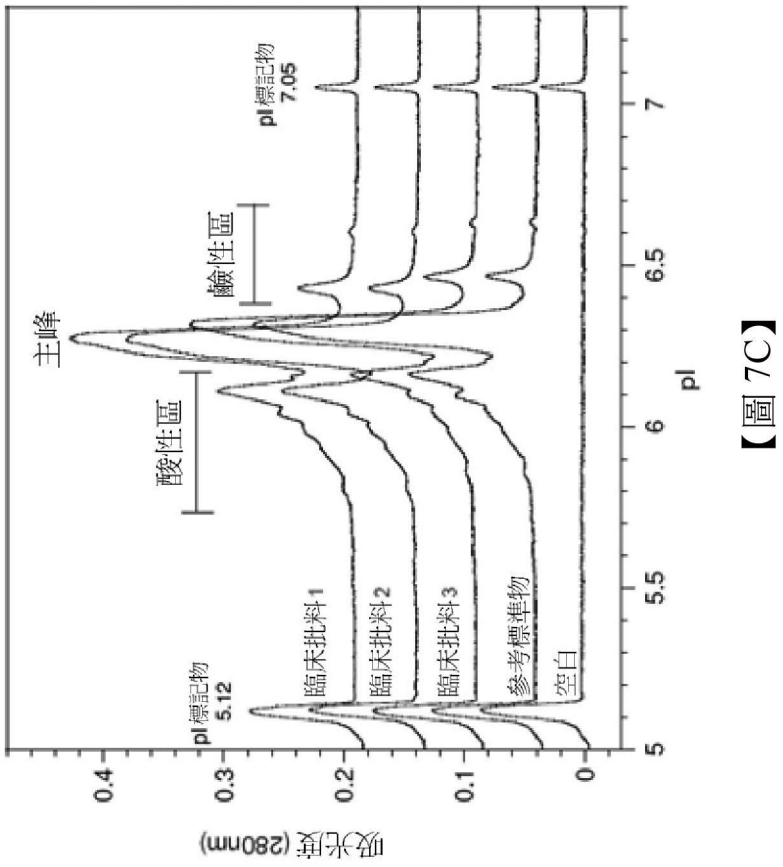
【圖 7B】


吸光度 (280nm)
0.4
0.35
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
5
5.5
6
6.5
7
pI
主峰
酸性區
鹼性區
pI 標記物
5.12
pI 標記物
7.05
臨床批料 1
臨床批料 2
臨床批料 3
參考標準物
空白

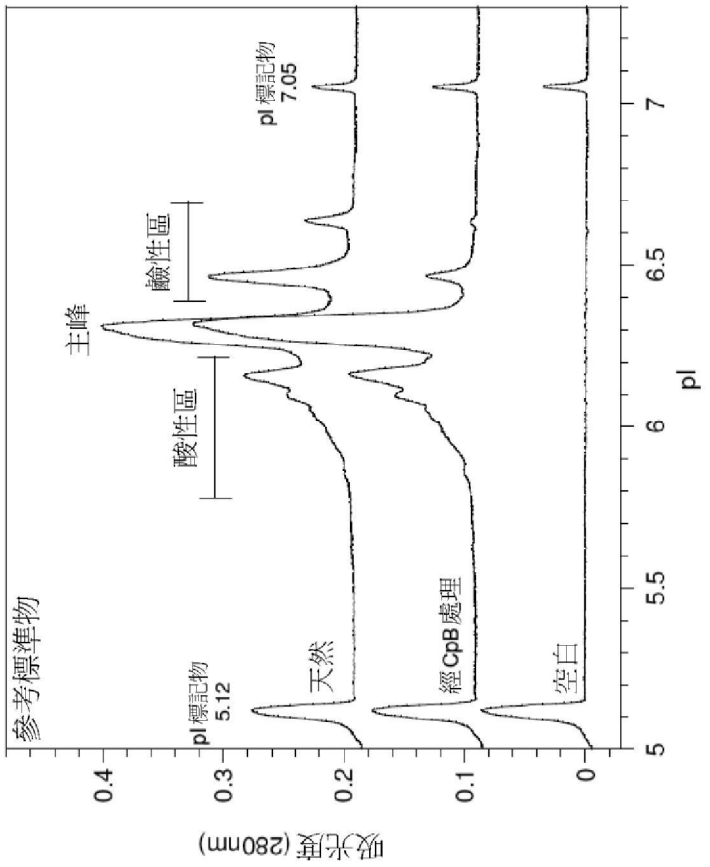
【圖 7A】


吸光度 (280nm)
0.24
0.2
0.16
0.12
0.08
0.04
0
5
5.5
6
6.5
7
pI
主峰
酸性區
鹼性區
pI 標記物 5.12
pI 標記物 7.05
臨床批料1
臨床批料2
臨床批料3
參考標準物
空白

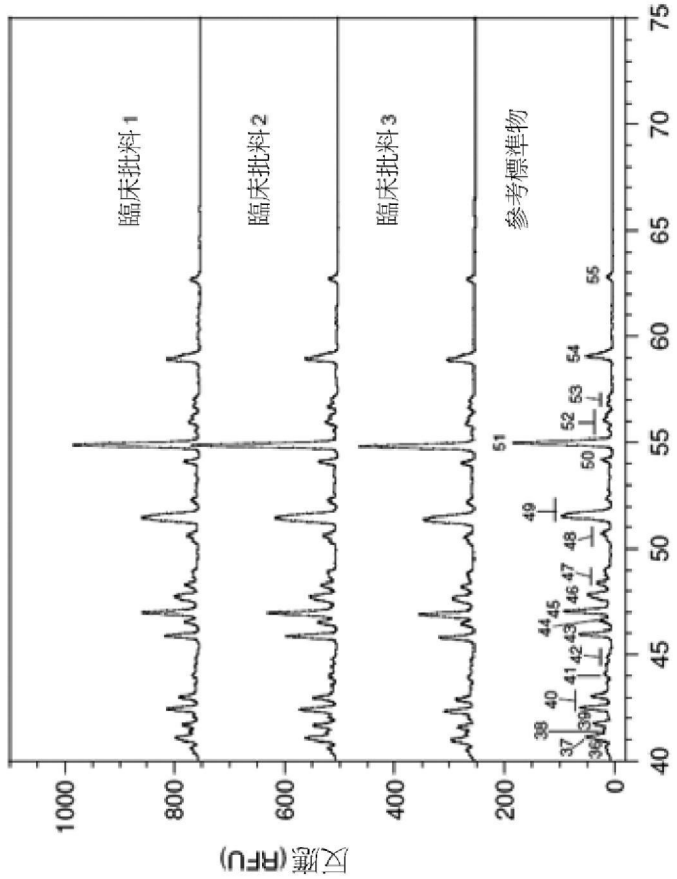
【圖 7D】


吸光度 (280nm)
0.4
0.3
0.2
0.1
0
5
5.5
6
6.5
7
pI
主峰
酸性區
鹼性區
pI 標記物 5.12
pI 標記物 7.05
臨床批料1
臨床批料2
臨床批料3
參考標準物
空白

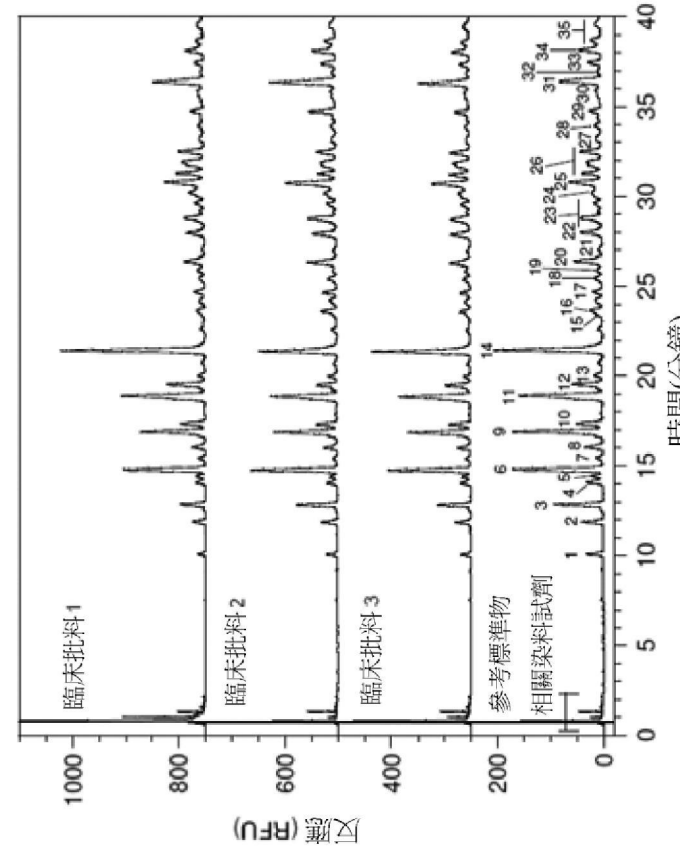
【圖 7C】


參考標準物
pI 標記物
5.12
天然
經 CpB 處理
空白
酸性區
主峰
鹼性區
pI 標記物
7.05
吸光度 (280nm)
0.4
0.3
0.2
0.1
0
5
5.5
6
6.5
7
pI

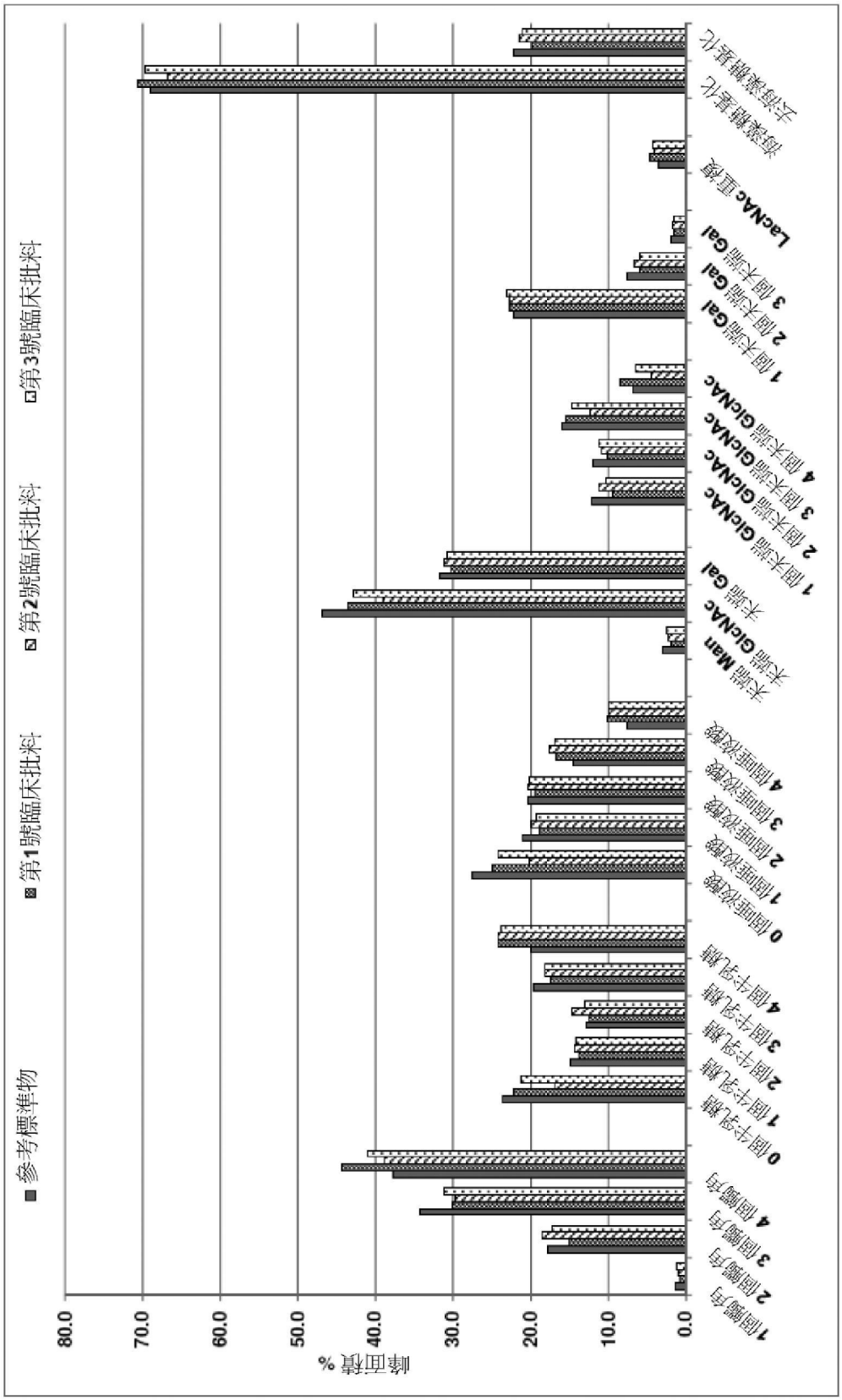
【圖 7E】


臨床批料 1
臨床批料 2
臨床批料 3
參考標準物
反應 (RFU)
時間(分鐘)

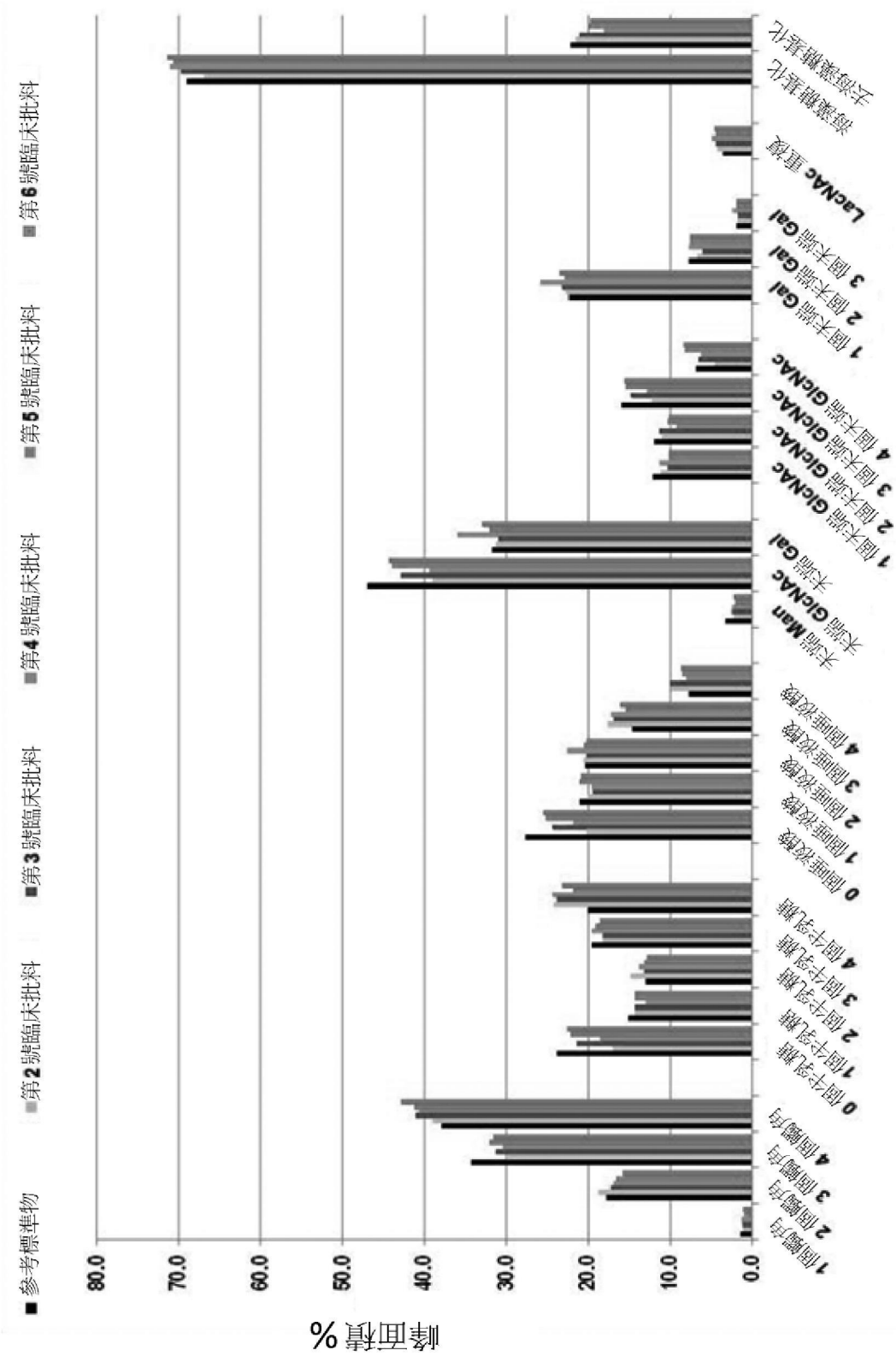
【圖 8B】


臨床批料 1
臨床批料 2
臨床批料 3
參考標準物
相關染料試劑
反應 (RFU)
時間(分鐘)

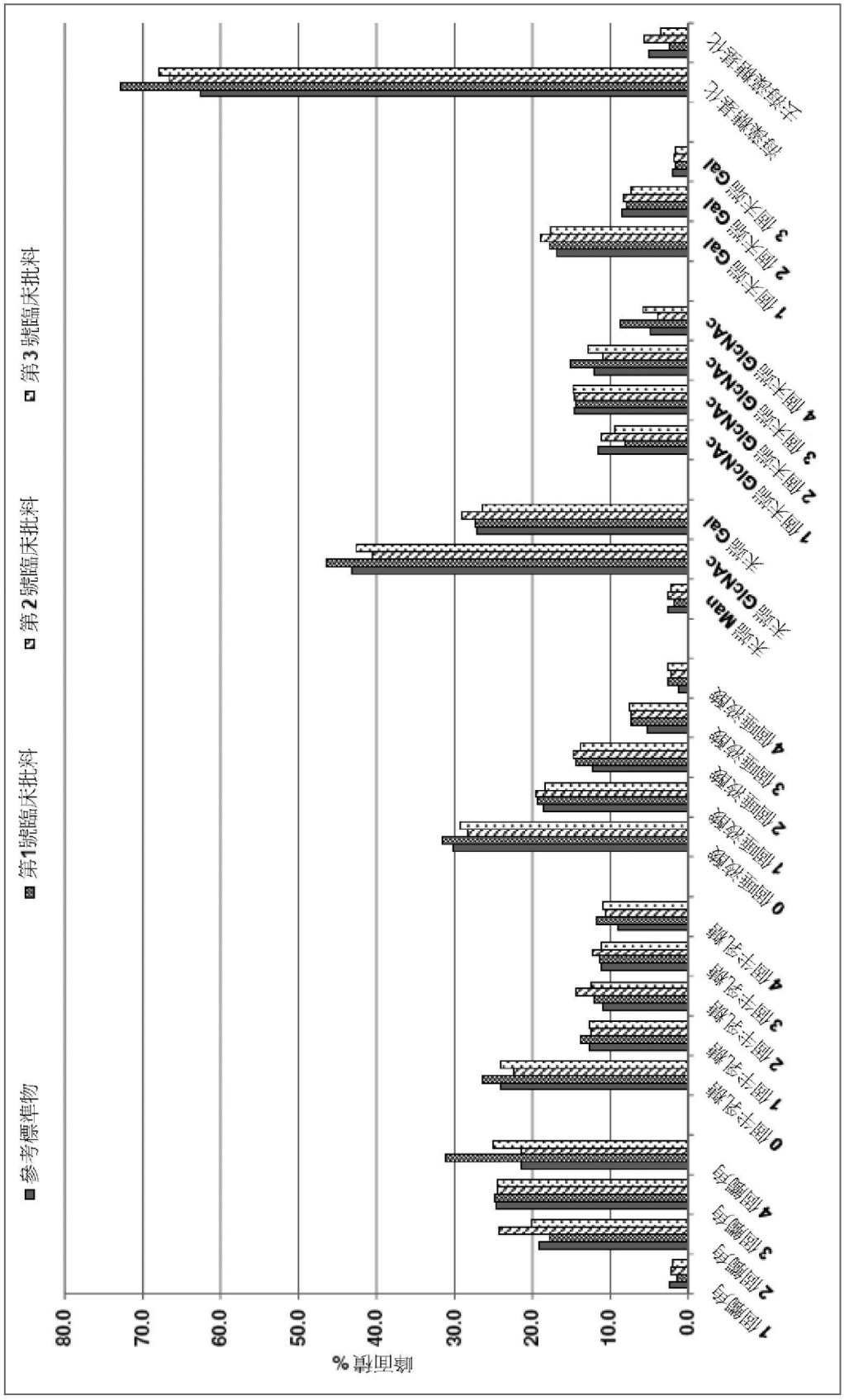
【圖 8A】


參考標準物
第1號臨床批料
第2號臨床批料
第3號臨床批料
峰面積 %
80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
1個鹽巴
2個鹽巴
3個鹽巴
4個鹽巴
0個牛乳糖
1個牛乳糖
2個牛乳糖
3個牛乳糖
4個牛乳糖
0個唾液酸
1個唾液酸
2個唾液酸
3個唾液酸
4個唾液酸
末端 Man
末端 GlcNAc
末端 Gal
1個末端 GlcNAc
2個末端 GlcNAc
3個末端 GlcNAc
4個末端 GlcNAc
1個末端 Gal
2個末端 Gal
3個末端 Gal
LacNAc 重複
唾液酸量化
去唾液酸量化

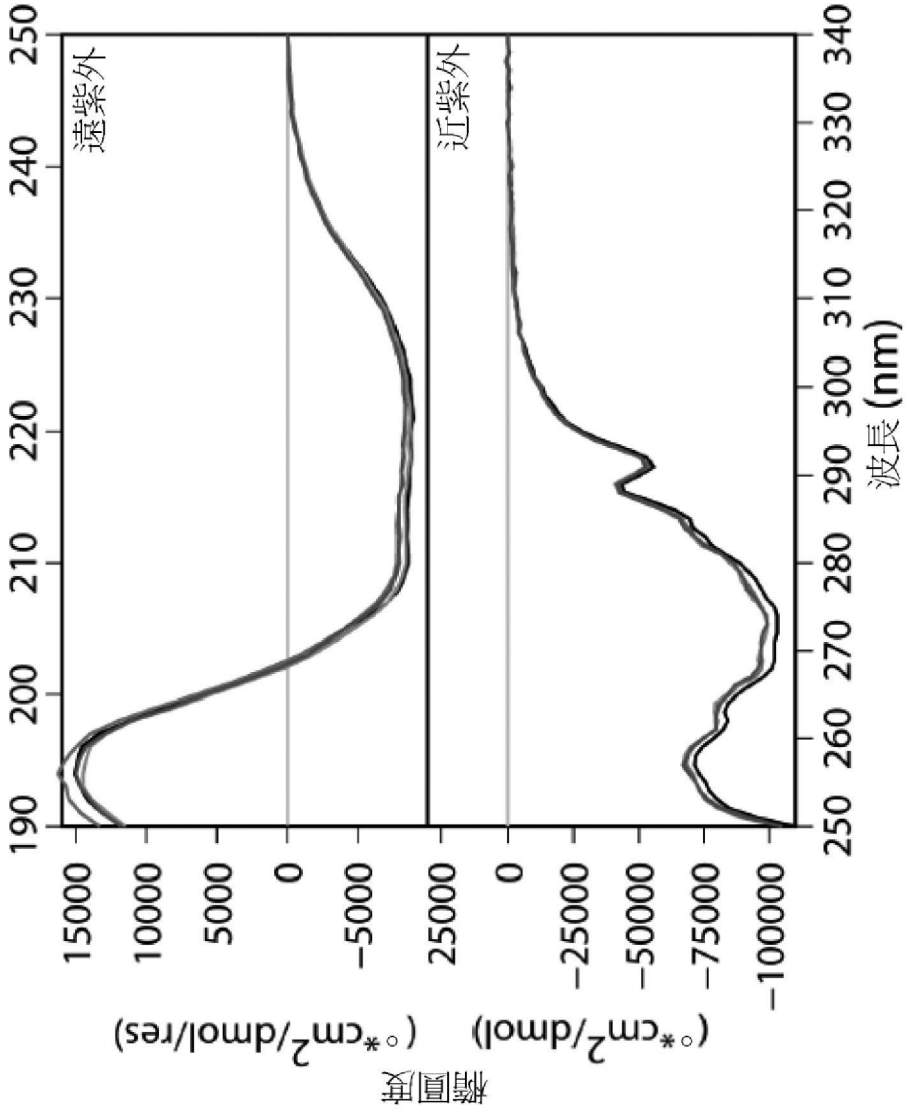
【圖 8C】


■參考標準物
■第2號臨床批料
■第3號臨床批料
■第4號臨床批料
■第5號臨床批料
■第6號臨床批料
峰面積%
80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
1個鹽巴
2個鹽巴
3個鹽巴
4個鹽巴
0個牛乳糖
1個牛乳糖
2個牛乳糖
3個牛乳糖
4個牛乳糖
0個唾液酸
1個唾液酸
2個唾液酸
3個唾液酸
4個唾液酸
末端Man
末端GlcNAc
末端Gal
1個末端GlcNAc
2個末端GlcNAc
3個末端GlcNAc
4個末端GlcNAc
1個末端Gal
2個末端Gal
3個末端Gal
LacNAc重複
核醣醇基化
去核醣醇基化

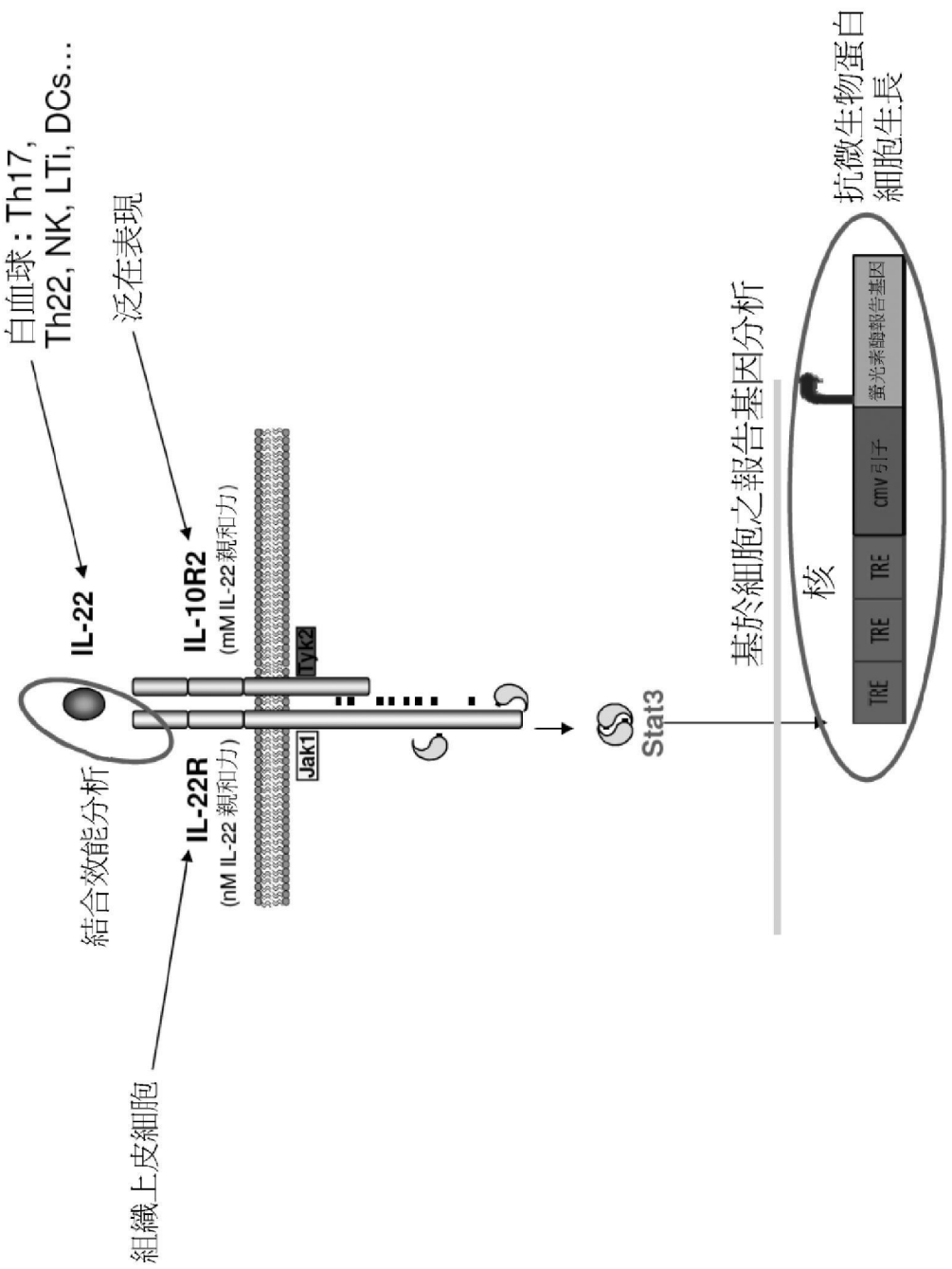
【圖 8D】


參考標準物
第1號臨床批料
第2號臨床批料
第3號臨床批料
峰面積%
80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
1個鹽分
2個鹽分
3個鹽分
4個鹽分
0個卡乳糖
1個卡乳糖
2個卡乳糖
3個卡乳糖
4個卡乳糖
0個唾液酸
1個唾液酸
2個唾液酸
3個唾液酸
4個唾液酸
未端Man
未端GlcNAc
未端Gal
1個末端GlcNAc
2個末端GlcNAc
3個末端GlcNAc
4個末端GlcNAc
1個末端Gal
2個末端Gal
3個末端Gal
高支鏈雜質化
去支鏈雜質化

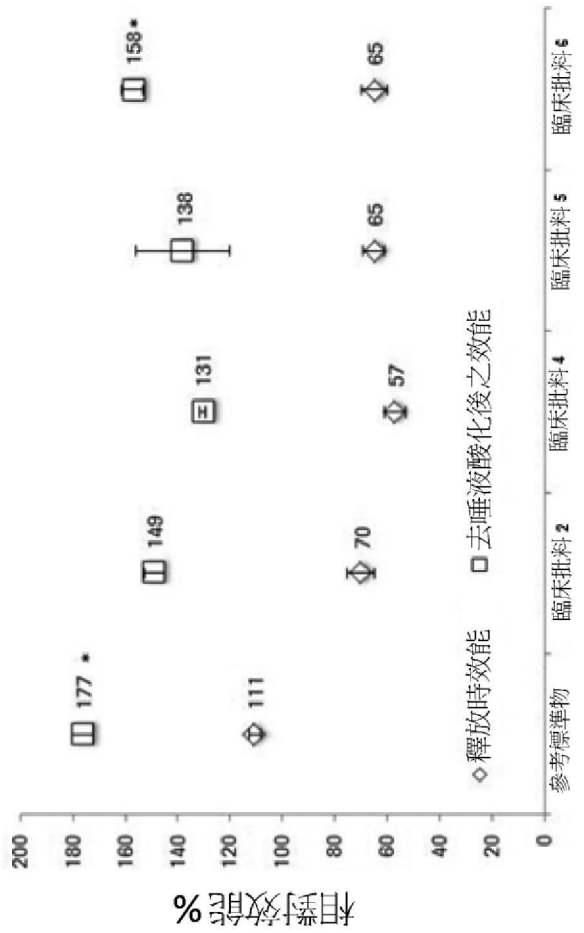
【圖9】


遠紫外
近紫外
橢圓度
(°*cm2/dmol)
(°*cm2/dmol/res)
波長 (nm)
15000
10000
5000
0
−5000
25000
0
−25000
−50000
−75000
−100000
190
200
210
220
230
240
250
250
260
270
280
290
300
310
320
330
340

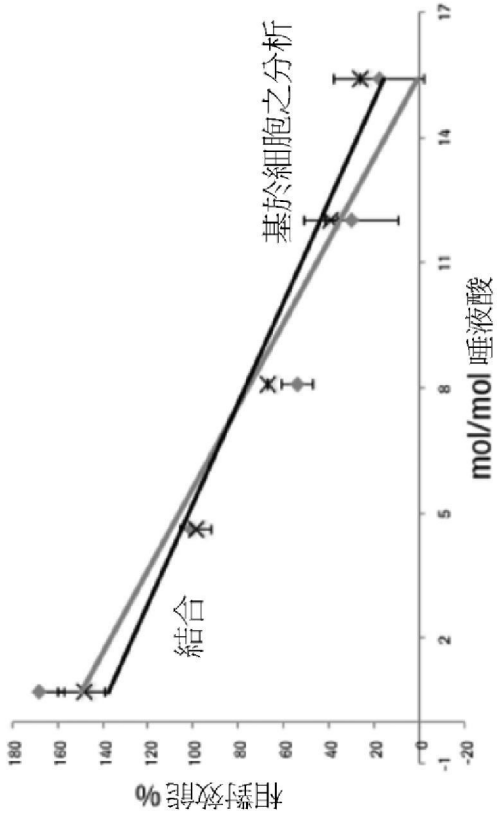
【圖 10】


白血球：Th17,
Th22, NK, LTi, DCs...
泛在表現
IL-22
IL-10R2
(mM IL-22 親和力)
Tyk2
Jak1
IL-22R
(nM IL-22 親和力)
結合效能分析
組織上皮細胞
Stat3
基於細胞之報告基因分析
抗微生物蛋白
細胞生長
核
TRE
TRE
TRE
cmv引子
螢光素酶報告基因

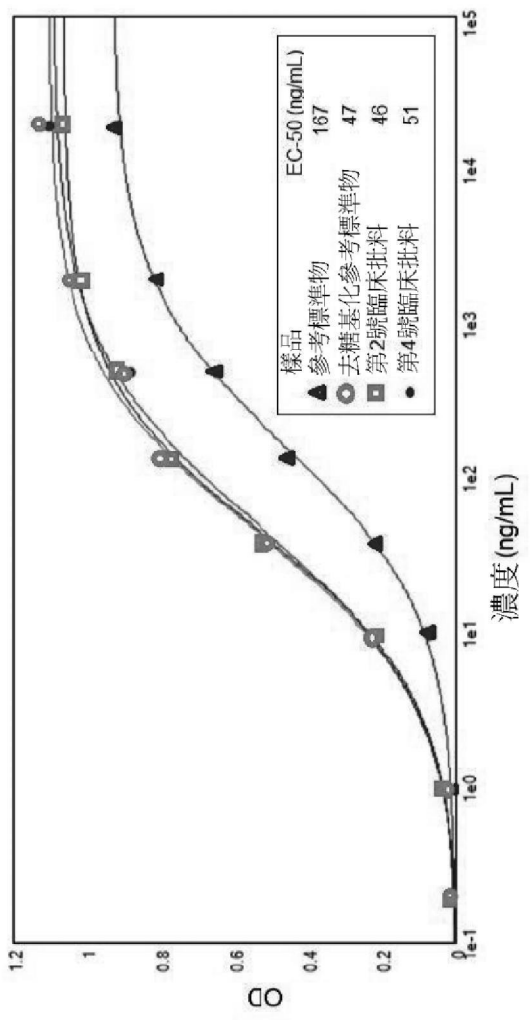
【圖 11】

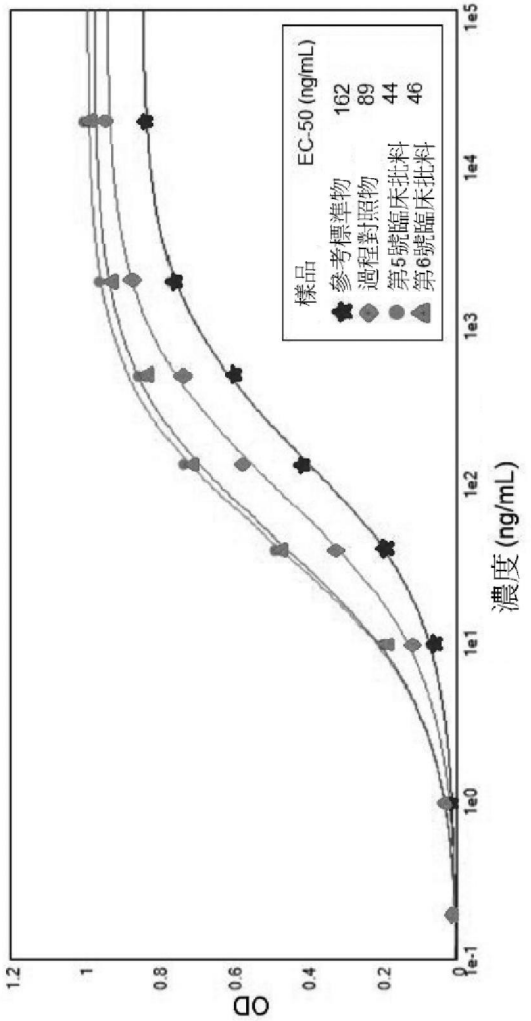

相對效能%
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
177 *
111
149
70
131
57
138
65
158 *
65
◇釋放時效能
□去唾液酸化後之效能
參考標準物
臨床批料 2
臨床批料 4
臨床批料 5
臨床批料 6

【圖 12B】

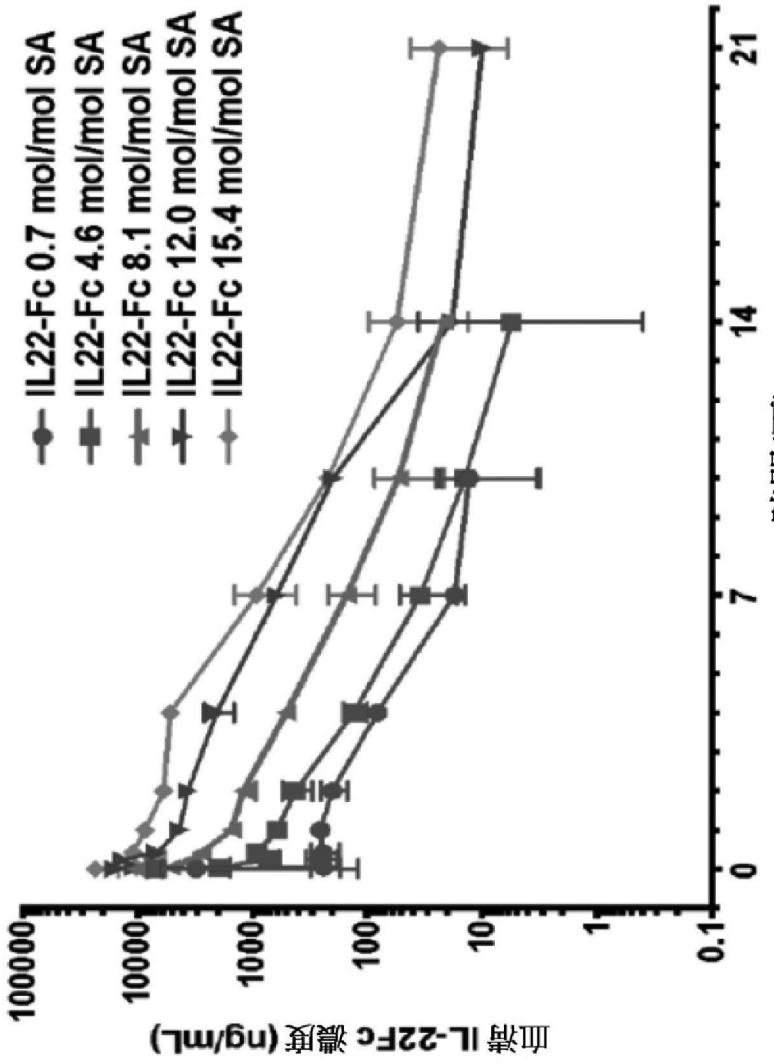

相對效能%
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-1
2
5
8
11
14
17
mol/mol 唾液酸
基於細胞之分析
結合

【圖 12A】

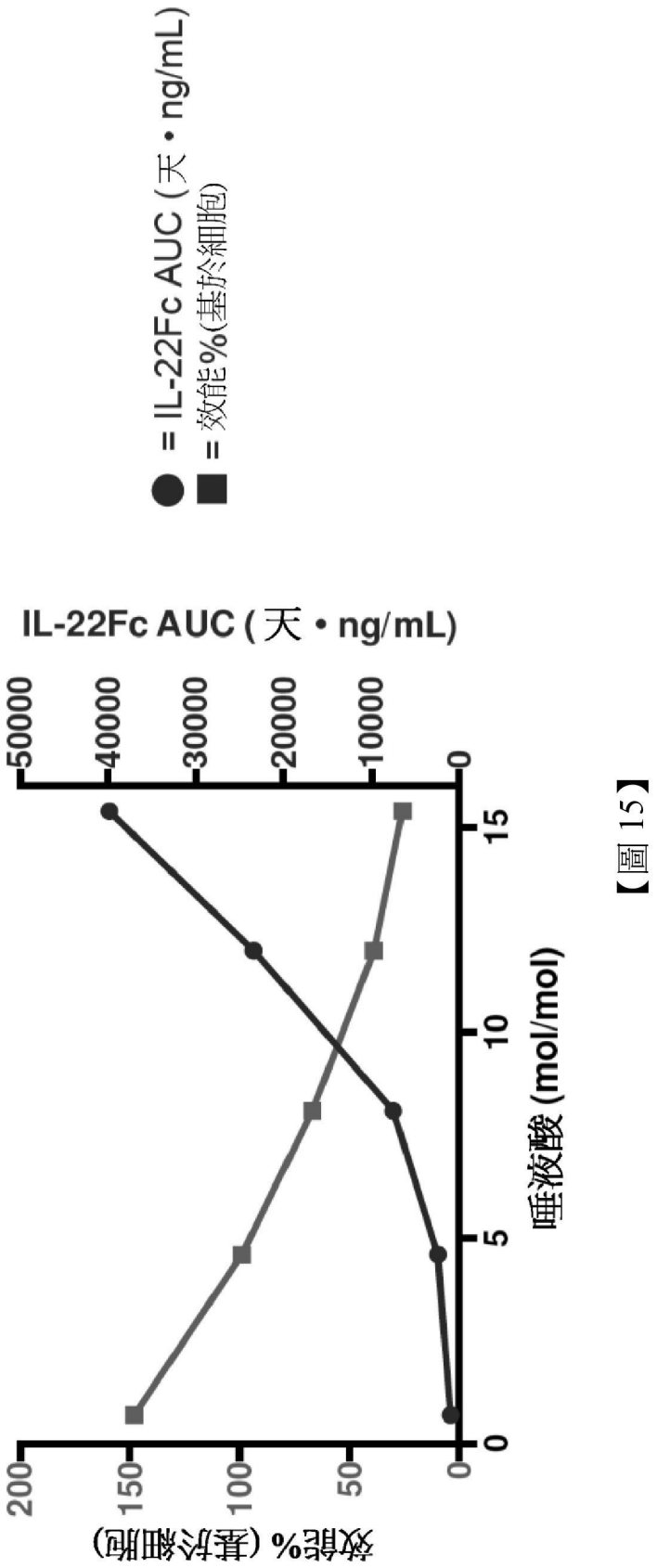

樣品
EC-50 (ng/mL)
參考標準物 167
去糖基化參考標準物 47
第2號臨床批料 46
第4號臨床批料 51
OD
濃度 (ng/mL)


樣品
EC-50 (ng/mL)
參考標準物 162
過程對照物 89
第5號臨床批料 44
第6號臨床批料 46
OD
濃度 (ng/mL)

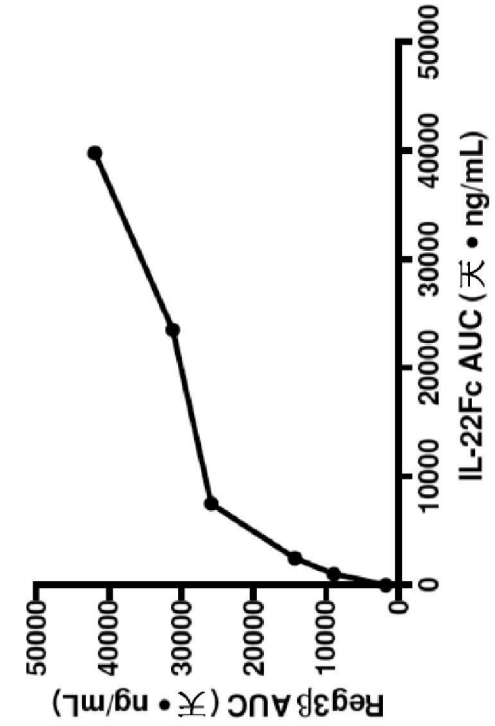
【圖 13】


IL22-Fc 0.7 mol/mol SA
IL22-Fc 4.6 mol/mol SA
IL22-Fc 8.1 mol/mol SA
IL22-Fc 12.0 mol/mol SA
IL22-Fc 15.4 mol/mol SA
血清 IL-22Fc 濃度 (ng/mL)
100000
10000
1000
100
10
1
0.1
0
7
14
21
時間(天)

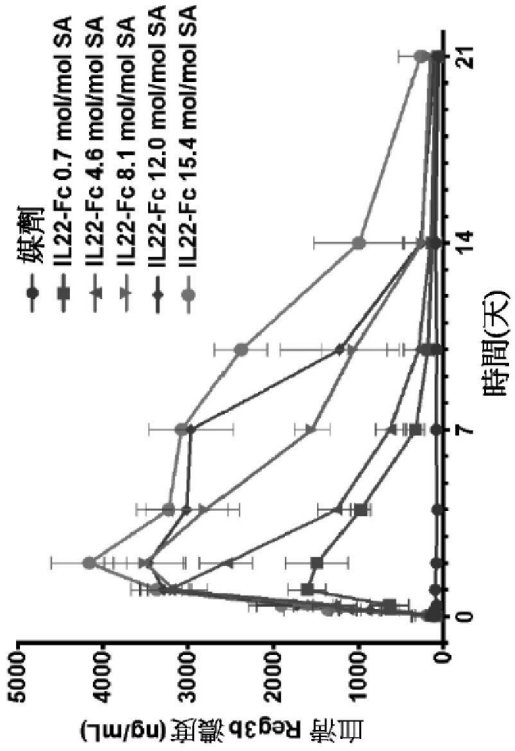
【圖 14】


● = IL-22Fc AUC (天 • ng/mL)
■ = 效能%(基於細胞)
IL-22Fc AUC (天 • ng/mL)
50000
40000
30000
20000
10000
0
效能% (基於細胞)
200
150
100
50
0
0
5
10
15
唾液酸 (mol/mol)

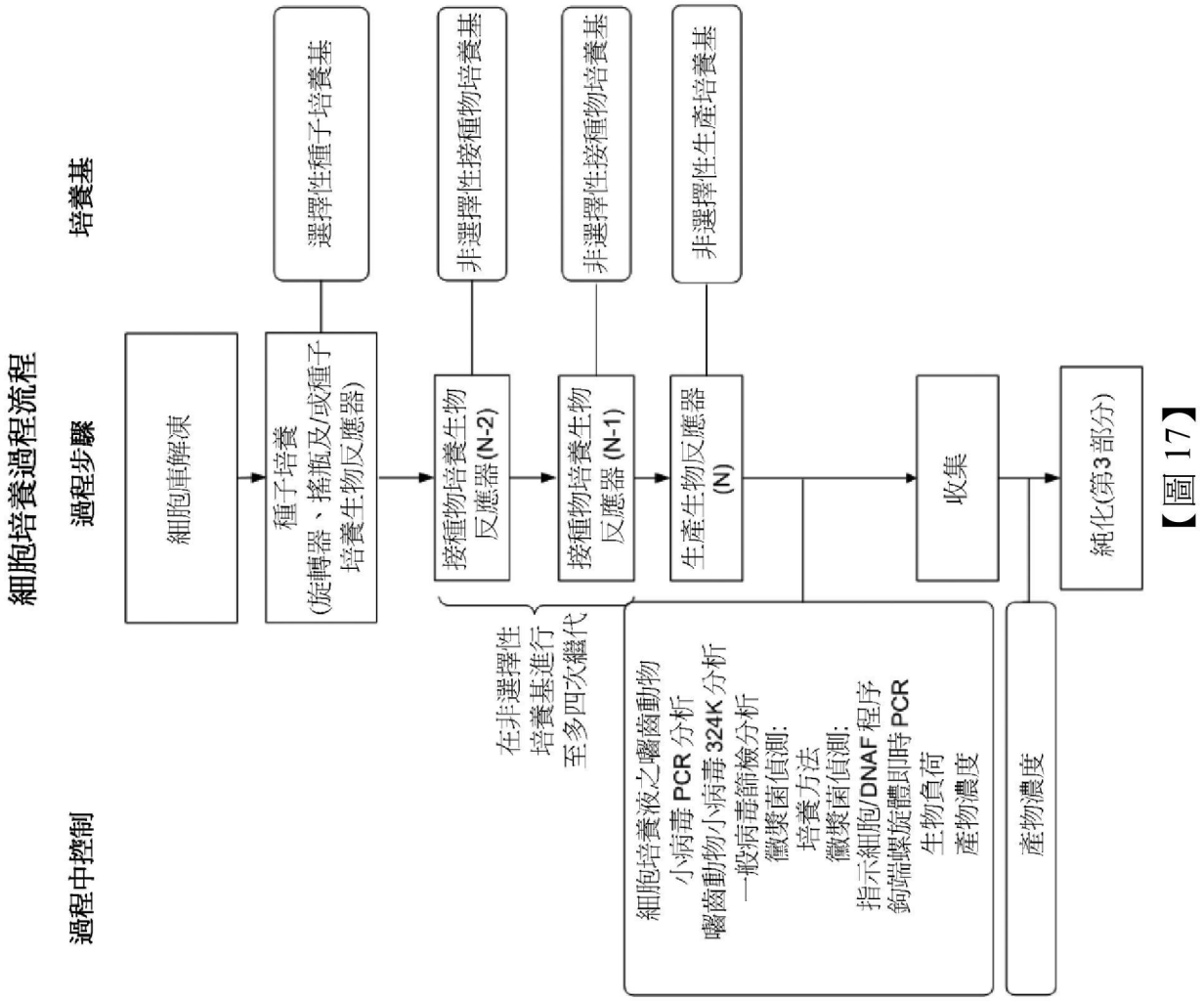
【圖 15】


Reg3β AUC (天 • ng/mL)
50000
40000
30000
20000
10000
0
0
10000
20000
30000
40000
50000
IL-22Fc AUC (天 • ng/mL)

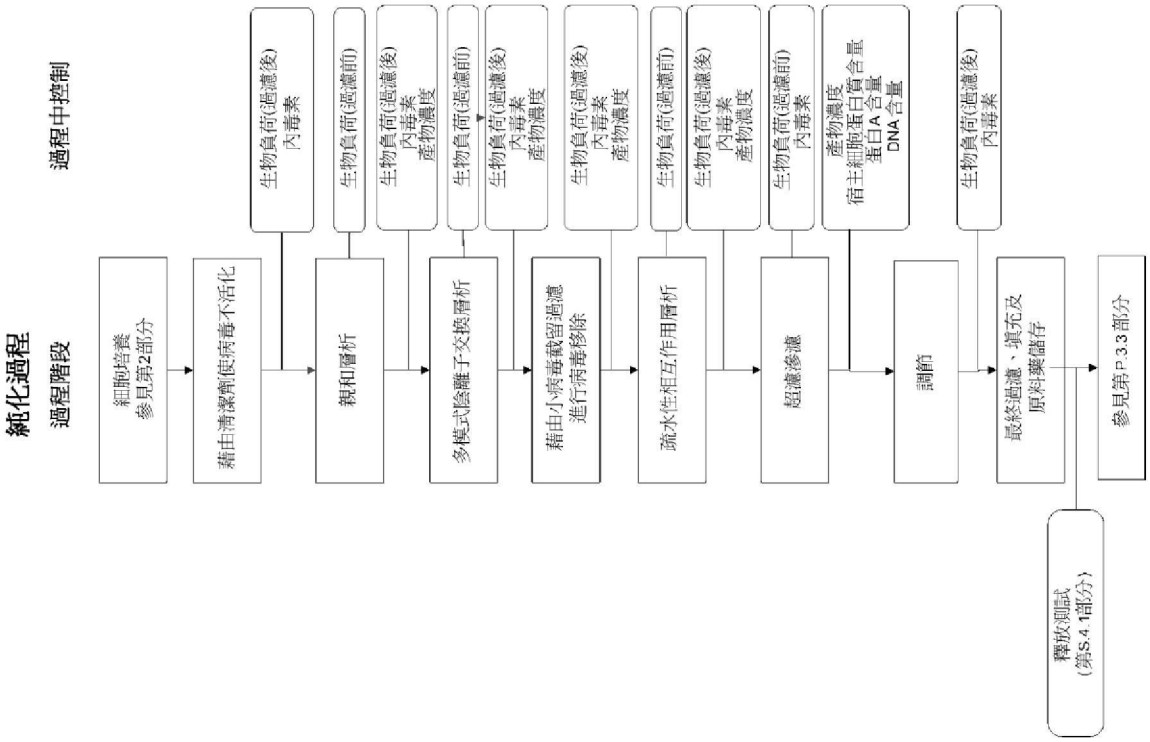
【圖 16B】


媒劑
IL22-Fc 0.7 mol/mol SA
IL22-Fc 4.6 mol/mol SA
IL22-Fc 8.1 mol/mol SA
IL22-Fc 12.0 mol/mol SA
IL22-Fc 15.4 mol/mol SA
血清 Reg3b 濃度 (ng/mL)
5000
4000
3000
2000
1000
0
0
7
14
21
時間(天)

【圖 16A】


細胞培養過程流程
過程步驟
培養基
過程中控制
細胞庫解凍
種子培養
(旋轉器、搖瓶及/或種子培養生物反應器)
選擇性種子培養基
接種物培養生物反應器 (N-2)
非選擇性接種物培養基
接種物培養生物反應器 (N-1)
非選擇性接種物培養基
生產生物反應器 (N)
非選擇性生產培養基
在非選擇性培養基進行至多四次繼代
細胞培養液之囓齒動物小病毒 PCR 分析
囓齒動物小病毒 324K 分析
—般病毒篩檢分析
黴漿菌偵測:
培養方法
黴漿菌偵測:
指示細胞/DNAF 程序
鉤端螺旋體則時 PCR
生物負荷
產物濃度
產物濃度
收集
純化(第3部分)

【圖 17】


純化過程
過程階段
過程中控制
細胞培養
參見第2部分
藉由清潔劑使病毒不活化
親和層析
多模式陰離子交換層析
藉由小病毒截留過濾
進行病毒移除
疏水性相互作用層析
超濾滲濾
調節
最終過濾、填充及
原料藥儲存
參見第P.3.3部分
釋放測試
(第S.4.1部分)
生物負荷(過濾後)
內毒素
生物負荷(過濾前)
生物負荷(過濾後)
內毒素
產物濃度
生物負荷(過濾前)
生物負荷(過濾後)
內毒素
產物濃度
生物負荷(過濾後)
內毒素
產物濃度
生物負荷(過濾前)
生物負荷(過濾後)
內毒素
產物濃度
生物負荷(過濾前)
內毒素
產物濃度
宿主細胞蛋白質含量
蛋白A含量
DNA含量
生物負荷(過濾後)
內毒素

【圖 18】

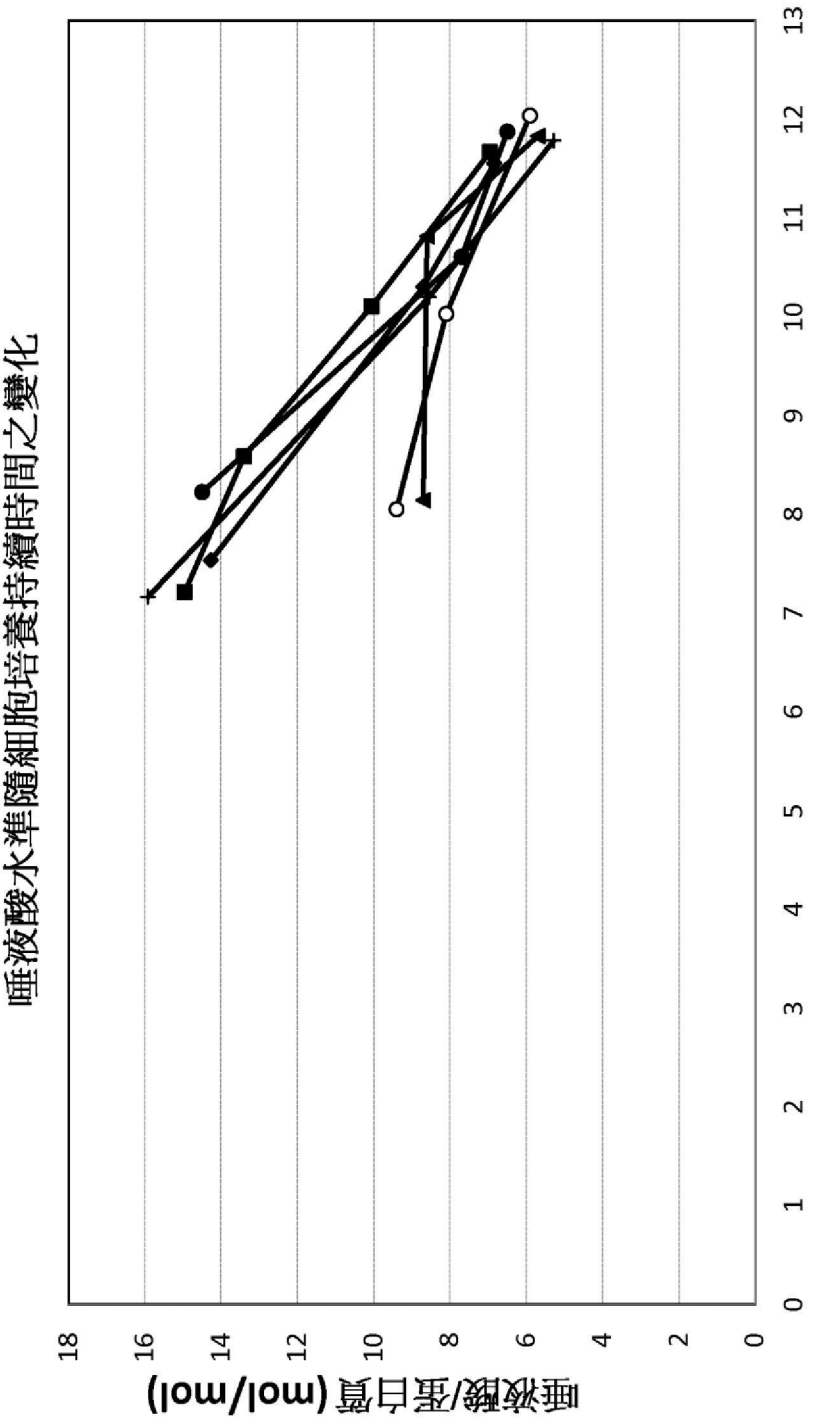
IL-22 胺基酸序列比對

```
人類(Q9GZX6)          apisshcrldksnfqqpyitnrtfmlakeasladnntdvrligeklfhgvsmsercylmk  60
黑猩猩(XP_003313906)  apisshcrldkssfqqpyitnrtfmlakeasladnntdvrligeklfhgvsmsercylmk
紅毛猩猩(XP_002823544) apisshcrldksnfqqpyitnrtfmlakeasladnntdvrligeklfrgvsmsercylmk
小鼠(Q9JJY9)          lpvntrcklevsnfqqpyivnrtfmlakeasladnntdvrligeklfrgvsakdqcylmk
犬隻(XP_538274)       lpisshcrldksnfqqpyitnrtfmlakeasladnntdvrligeklfhgvnmgercylml
                       *    * *  * ******* ********************************** **     ******

人類(Q9GZX6)          qvlnftleevlfpqsdrfqpymqevvpflarlsnrlstchiegddlhiqrnvqklkdtvk  120
黑猩猩(XP_003313906)  qvlnftleevlfpqsdrfqpymqevvpflarlsnrlstchiegddlhiqrnvqklkdtvk
紅毛猩猩(XP_002823544) qvlnftleevlfpqsdrfqpymqevvpflarlsnrlstchiegddlhiqrnvqklkdtvk
小鼠(Q9JJY9)          qvlnftledvllpqsdrfqpymqevvpfltklsnqlsschisgddqmiqknvrrlketvk
犬隻(XP_538274)       evlnftleevllpqsdrfqpymqevvpflarlsnklsqchienddghiqrnvqklkdtvq
                       ******* ** ********************  *** ** *** ** ** ** ** **

人類(Q9GZX6)          klgesgeikaigeldllfmslrnaci  146  (SEQ ID NO:4)
黑猩猩(XP_003313906)  klgengeikaigeldllfmslrnaci       (SEQ ID NO:48)
紅毛猩猩(XP_002823544) klgesgeikaigeldllfmslrnaci       (SEQ ID NO:49)
小鼠(Q9JJY9)          klgesgeikaigeldllfmslrnacv       (SEQ ID NO:50)
犬隻(XP_538274)       klgengeikaigeldllfmalrnacv       (SEQ ID NO:51)
                      **** ******************* *****
```

【圖 19】


唾液酸水準隨細胞培養持續時間之變化
唾液酸/蛋白質 (mol/mol)
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
細胞培養持續時間(天)
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13

【圖 20】