



(21) 申请号 202180016623.6

(22) 申请日 2021.02.23

(30) 优先权数据

62/980,658 2020.02.24 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.08.24

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/019213 2021.02.23

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/173537 EN 2021.09.02

(71) 申请人 麦迪穆医学免疫有限责任公司

地址 美国马里兰州

(72) 发明人 S.M.帕特尔 S.K.潘萨雷

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

专利代理师 易方方

(51) Int.Cl.

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 9/19 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 47/12 (2006.01)

权利要求书5页 说明书27页

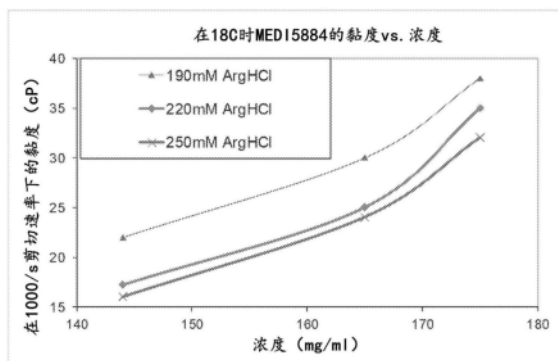
序列表9页 附图6页

(54) 发明名称

抗内皮脂肪酶抗体的制剂

(57) 摘要

本发明提供特异性结合内皮脂肪酶的抗体的制剂。所提供的制剂可以是液体形式或从冻干形式重组的。这些制剂具有适用于注射的黏度，并能防止抗体的可逆性自结合、沉淀和浑浊。



1. 药物制剂,其包含:
 - (i) 约40mg/mL至约160mg/mL的特异性结合人内皮脂肪酶的抗体,以及
 - (ii) 约50mM至约260mM的精氨酸盐。
2. 如权利要求1所述的药物制剂,其包含约100mg/mL至约150mg/mL的所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体。
3. 如权利要求1所述的药物制剂,其包含约110mg/mL至约140mg/mL的所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体。
4. 如权利要求1所述的药物制剂,其包含约120mg/mL至约130mg/mL的所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体。
5. 如权利要求1所述的药物制剂,其包含约125mg/mL的所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体。
6. 如权利要求1所述的药物制剂,其包含约40mg/mL至约60mg/mL的所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体。
7. 如权利要求1所述的药物制剂,其包含约50mg/mL的所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体。
8. 如权利要求1所述的药物制剂,其包含约90mg/mL至约110mg/mL的所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体。
9. 如权利要求1所述的药物制剂,其包含约100mg/mL的所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体。
10. 如权利要求1至9中任一项所述的药物制剂,其中所述精氨酸盐包含盐酸精氨酸、醋酸精氨酸、谷氨酸精氨酸或硫酸精氨酸。
11. 如权利要求1至9中任一项所述的药物制剂,其中所述精氨酸盐是盐酸精氨酸。
12. 如权利要求1至11中任一项所述的药物制剂,其包含约160mM至约240mM的盐酸精氨酸。
13. 如权利要求1至11中任一项所述的药物制剂,其包含约180mM至约230mM的盐酸精氨酸。
14. 如权利要求1至11中任一项所述的药物制剂,其包含约200mM至约225mM的盐酸精氨酸。
15. 如权利要求1至11中任一项所述的药物制剂,其包含约220mM的盐酸精氨酸。
16. 如权利要求1至11中任一项所述的药物制剂,其包含约110mM至约140mM的盐酸精氨酸。
17. 如权利要求1至11中任一项所述的药物制剂,其包含约50mM至约110mM的盐酸精氨酸。
18. 如权利要求1至11中任一项所述的药物制剂,其包含约60mM至约100mM的盐酸精氨酸。
19. 如权利要求1至11中任一项所述的药物制剂,其包含约70mM至约90mM的盐酸精氨酸。
20. 如权利要求1至11中任一项所述的药物制剂,其包含约80mM的盐酸精氨酸。
21. 如权利要求1至20中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗

体具有第一重链互补决定区(CDR1),其氨基酸序列与SEQ ID NO:1至少80%相同。

22.如权利要求1至21中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有重链CDR1,其氨基酸序列包含SEQ ID NO:1。

23.如权利要求1至22中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有第二重链互补决定区(CDR2),其氨基酸序列与SEQ ID NO:2至少90%相同。

24.如权利要求1至23中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有重链CDR2,其氨基酸序列包含SEQ ID NO:2。

25.如权利要求1至24中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有第三重链互补决定区(CDR3),其氨基酸序列与SEQ ID NO:3至少90%相同。

26.如权利要求1至25中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有重链CDR3,其氨基酸序列包含SEQ ID NO:3。

27.如权利要求1至26中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有第一轻链互补决定区(CDR1),其氨基酸序列与SEQ ID NO:5至少90%相同。

28.如权利要求1至27中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR1,其氨基酸序列包含SEQ ID NO:5。

29.如权利要求1至28中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有第二轻链互补决定区(CDR2),其氨基酸序列与SEQ ID NO:6至少80%相同。

30.如权利要求1至29中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR2,其氨基酸序列包含SEQ ID NO:6。

31.如权利要求1至30中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有第三轻链互补决定区(CDR3),其氨基酸序列与SEQ ID NO:7至少80%相同。

32.如权利要求1至31中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR3,其氨基酸序列包含SEQ ID NO:7。

33.如权利要求1至20中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体的重链包含与SEQ ID NO:4至少90%相同的氨基酸序列。

34.如权利要求1至20中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体的重链包含与SEQ ID NO:4至少95%相同的氨基酸序列。

35.如权利要求1至20中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体的重链包含与SEQ ID NO:4至少98%相同的氨基酸序列。

36.如权利要求1至20中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体的重链包含与SEQ ID NO:4至少99%相同的氨基酸序列。

37.如权利要求1至20中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体的重链包含SEQ ID NO:4。

38.如权利要求1至37中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体的轻链包含与SEQ ID NO:8至少90%相同的氨基酸序列。

39.如权利要求1至37中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体的轻链包含与SEQ ID NO:8至少95%相同的氨基酸序列。

40.如权利要求1至37中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体的轻链包含与SEQ ID NO:8至少98%相同的氨基酸序列。

41. 如权利要求1至37中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体的轻链包含与SEQ ID NO:8至少99%相同的氨基酸序列。

42. 如权利要求1至37中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体的轻链包含SEQ ID NO:8。

43. 如权利要求1至20中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体包含重链以及轻链,所述重链包含与SEQ ID NO:9至少90%相同的氨基酸序列,所述轻链包含与SEQ ID NO:10至少90%相同的氨基酸序列。

44. 如权利要求1至20中任一项所述的药物制剂,其中所述特异性结合内皮脂肪酶的抗体包含重链以及轻链,所述重链包含SEQ ID NO:9,所述轻链包含SEQ ID NO:10。

45. 如权利要求1至44中任一项所述的药物制剂,其进一步包含组氨酸。

46. 如权利要求45所述的药物制剂,其中所述药物制剂包含约5mM至约40mM的组氨酸。

47. 如权利要求45所述的药物制剂,其中所述药物制剂包含约20mM的组氨酸。

48. 如权利要求45所述的药物制剂,其中所述药物制剂包含约10mM的组氨酸。

49. 如权利要求45至48中任一项所述的药物制剂,其中所述组氨酸是盐酸盐。

50. 如权利要求1至49中任一项所述的药物制剂,其进一步包含表面活性剂。

51. 如权利要求50所述的药物制剂,其中所述表面活性剂是聚山梨酯20、聚山梨酯60、聚山梨酯80。

52. 如权利要求50所述的药物制剂,其中所述表面活性剂是聚山梨酯80。

53. 如权利要求52所述的药物制剂,其中所述药物制剂包含约0.005%至约0.05%的聚山梨酯80。

54. 如权利要求52所述的药物制剂,其中所述药物制剂包含约0.02%至约0.04%的聚山梨酯80。

55. 如权利要求52所述的药物制剂,其中所述药物制剂包含约0.02%的聚山梨酯80。

56. 如权利要求52所述的药物制剂,其中所述药物制剂包含约0.04%的聚山梨酯80。

57. 如权利要求1至56中任一项所述的药物制剂,其中所述药物制剂具有小于7.0的pH。

58. 如权利要求1至56中任一项所述的药物制剂,其中所述药物制剂具有约5.0至约7.0的pH。

59. 如权利要求1至58中任一项所述的药物制剂,其中所述药物制剂具有约6.0的pH。

60. 如权利要求1至59中任一项所述的药物制剂,其中所述制剂在18℃的黏度为 ≤ 30 cP。

61. 如权利要求1至59中任一项所述的药物制剂,其中所述制剂在18℃的黏度为 ≤ 20 cP。

62. 如权利要求1至59中任一项所述的药物制剂,其中所述制剂在18℃的黏度为 ≤ 15 cP。

63. 如权利要求1至62中任一项所述的药物制剂,其中所述制剂的摩尔渗透压浓度为约260至约500mOsm/kg。

64. 如权利要求1至62中任一项所述的药物制剂,其中所述制剂的摩尔渗透压浓度为约440至约460mOsm/kg。

65. 如权利要求1至64中任一项所述的药物制剂,其中所述药物制剂适用于注射。

66. 如权利要求65所述的药物制剂,其中所述药物制剂适用于静脉内注射。
67. 如权利要求65所述的药物制剂,其中所述药物制剂适用于皮下注射。
68. 如权利要求65所述的药物制剂,其中所述药物制剂适用于肌肉内注射。
69. 如权利要求1至68中任一项所述的药物制剂,其中所述药物制剂是从冻干制剂中重组的。
70. 如权利要求1至69中任一项所述的药物制剂,其中所述药物制剂是液体制剂。
71. 如权利要求1至70中任一项所述的药物制剂,其中所述药物制剂适用于用注射装置施用。
72. 如权利要求71所述的药物制剂,其中所述注射装置是自动注射器装置。
73. 如权利要求71或72所述的药物制剂,其中所述注射装置是大容量推注注射器。
74. 如权利要求71或72所述的药物制剂,其中所述注射装置是预填充的注射器。
75. 治疗有需要的哺乳动物受试者的心血管疾病的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至74中任一项所述的药物制剂。
76. 预防有需要的哺乳动物受试者中心血管疾病的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至74中任一项所述的药物制剂。
77. 减少有需要的哺乳动物受试者中动脉粥样硬化的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至74中任一项所述的药物制剂。
78. 减少先前患有急性冠状动脉综合征的哺乳动物受试者中心血管死亡、心肌梗死、中风和/或冠状动脉血运重建风险的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至74中任一项所述的药物制剂。
79. 预防在需要的哺乳动物受试者中继发性心血管事件的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至74中任一项所述的药物制剂。
80. 减少有需要的哺乳动物受试者中主要不良心血管事件的风险的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至74中任一项所述的药物制剂。
81. 增加有需要的哺乳动物受试者血液中高密度脂蛋白的浓度的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至74中任一项所述的药物制剂。
82. 增加有需要的哺乳动物受试者中与高密度脂蛋白有关的一个或多个临床终点的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至74中任一项所述的药物制剂;其中所述临床终点是HDL-c血浓度、HDL颗粒数、HDL颗粒大小、HDL磷脂血浓度、ApoA1血浓度和胆固醇外流能力。
83. 降低有需要的哺乳动物受试者的炎症的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至74中任一项所述的药物组合物。
84. 预防有需要的哺乳动物受试者的炎症的方法,其包括向所述受试者施用如权利要求1至74中任一项所述的药物组合物。
85. 如权利要求75至84中任一项所述的方法,其中所述药物制剂是用注射装置施用的。
86. 如权利要求85所述的方法,其中所述注射装置是自动注射器装置。
87. 如权利要求85或86所述的方法,其中所述注射装置是大容量推注注射器。
88. 如权利要求85或86所述的方法,其中所述注射装置是预填充的注射器。
89. 如权利要求75至88中任一项所述的方法,其中所述哺乳动物受试者是人。

90. 冻干药物制剂, 其包含 i) 特异性结合内皮脂肪酶的抗体和 ii) 盐酸精氨酸; 其中所述冻干药物制剂可以重组为浓度为约 100mg/mL 至约 160mg/mL 的特异性结合内皮脂肪酶的抗体, 以及约 120mM 至约 260mM 的精氨酸盐; 并且其中所述冻干药物制剂是药学上可接受的。

91. 冻干药物制剂, 其包含 i) 特异性结合内皮脂肪酶的抗体, ii) 盐酸精氨酸, iii) 组氨酸或其盐, 以及 iv) 聚山梨酯 80; 其中所述冻干药物制剂可以重组为浓度为约 125mg/mL 的特异性结合内皮脂肪酶的抗体, 约 160mM 的盐酸精氨酸, 约 20mM 的组氨酸或其盐以及约 0.04% 的聚山梨酯 80; 并且其中所述冻干药物制剂是药学上可接受的。

92. 冻干药物制剂, 其包含 i) 特异性结合内皮脂肪酶的抗体, ii) 盐酸精氨酸, iii) 组氨酸或其盐, 以及 iv) 聚山梨酯 80; 其中所述冻干药物制剂可以重组为浓度为约 125mg/mL 的特异性结合内皮脂肪酶的抗体, 约 220mM 的盐酸精氨酸, 约 20mM 的组氨酸或其盐以及约 0.04% 的聚山梨酯 80; 并且其中所述冻干药物制剂是药学上可接受的。

93. 冻干药物制剂, 其包含 i) 特异性结合内皮脂肪酶的抗体, ii) 盐酸精氨酸, iii) 组氨酸或其盐, 以及 iv) 聚山梨酯 80; 其中所述冻干药物制剂可以重组为浓度为约 100mg/mL 的特异性结合内皮脂肪酶的抗体, 约 160mM 的盐酸精氨酸, 约 20mM 的组氨酸或其盐以及约 0.04% 的聚山梨酯 80; 并且其中所述冻干药物制剂是药学上可接受的。

94. 如权利要求 90-93 中任一项所述的冻干药物制剂, 其中所述药物制剂可重组为约 6.0 的 pH。

95. 液体药物制剂, 其包含约 125mg/mL 的特异性结合内皮脂肪酶的抗体、约 220mM 的盐酸精氨酸、约 10mM 的组氨酸或其盐和约 0.02% 的聚山梨酯 80, 并且是药学上可接受的。

96. 液体药物制剂, 其包含约 100mg/mL 的特异性结合内皮脂肪酶的抗体、约 220mM 的盐酸精氨酸、约 10mM 的组氨酸或其盐和约 0.02% 的聚山梨酯 80, 并且是药学上可接受的。

97. 液体药物制剂, 其包含约 125mg/mL 的特异性结合内皮脂肪酶的抗体、约 220mM 的盐酸精氨酸、约 20mM 的组氨酸或其盐和约 0.02% 的聚山梨酯 80, 并且是药学上可接受的。

98. 液体药物制剂, 其包含约 100mg/mL 的特异性结合内皮脂肪酶的抗体、约 220mM 的盐酸精氨酸、约 20mM 的组氨酸或其盐和约 0.02% 的聚山梨酯 80, 并且是药学上可接受的。

99. 液体药物制剂, 其包含约 50mg/mL 的特异性结合内皮脂肪酶的抗体、约 80mM 的盐酸精氨酸、约 10mM 的组氨酸或其盐和约 0.02% 的聚山梨酯 80, 并且是药学上可接受的。

100. 如权利要求 95-99 中任一项所述的液体药物制剂, 其中所述药物制剂具有约 6.0 的 pH。

抗内皮脂肪酶抗体的制剂

技术领域

[0001] 本技术一般涉及抗内皮脂肪酶的抗体的制剂。该制剂是稳定的,并减少了不想要出现的药物产品特征,如可逆性自结合、沉淀和浑浊。该制剂还具有适用于人工或自动注射系统注射的黏度。

背景技术

[0002] 内皮脂肪酶是甘油三酯脂肪酶家族的磷脂酶,其催化HDL (HDL) 向低密度脂蛋白 (LDL) 的转化。Jaye et al, Nature Genetics 21:424-428 (1999)。非正式地称HDL为“好胆固醇”,已证明其可以将脂肪分子运出动脉壁,减少巨噬细胞的积聚,因此有助于防止或甚至抑制动脉粥样硬化(动脉的狭窄)。已经开发了抑制内皮脂肪酶活性的人源化单克隆抗体,其中的实例在美国申请公开第2017/0260290号中描述。

[0003] 血浆内皮脂肪酶浓度的增加与脂蛋白脂质属性恶化和血浆甘油三酯和载脂蛋白B浓度的升高以及较小的LDL颗粒大小有关。(Paradis et al., Can J Cardiol 22:31B-34B (2006))。在血浆内皮脂肪酶浓度升高的个体中也观察到促炎症细胞因子浓度升高和代谢综合征患病率增加。(同上) 鉴于这些和其他因素,认为内皮脂肪酶在心血管疾病中起着重要作用。(同上)。

[0004] 尽管目前心血管疾病的疗法(如高效他汀类药物)很有效,但在急性冠状动脉综合征患者中仍然存在重大的不良心血管事件的残留风险。大多数心肌梗死发生在LDL水平正常的患者中,尽管在心肌梗死后使用高剂量和高效的他汀类药物、PCSK9抑制剂和/或依折麦布(ezetimibe)治疗,第二次心血管事件的剩余风险仍然很高。例如,IMPROVE-IT研究(依折麦布+他汀)在7年的随访中有33%发生心血管事件的风险。此外,ODYSSEY (PCSK9抑制剂+他汀)在2.8年内有9.5%的残留风险。

[0005] 发现使用不同的作用机制进行药理学使HDL水平升高的若干尝试不能显著改善心血管疾病的结果。特别是,胆固醇转移蛋白 (CETP) 抑制剂的四个试验已经完成。虽然CETP抑制剂使HDL胆固醇升高,但四项试验中的三项没有改善心血管疾病的结果,而在一项确实减少了心血管事件的试验中,其效果不大,只减少了9%的相对风险。因为对CETP的抑制会导致LDL受体介导的胆固醇逆向运输受阻,这种方法受到了批判。

[0006] 在编码内皮脂肪酶的基因中有部分和完全丧失功能突变的人表现出HDL胆固醇升高,胆固醇外流能力增加,并有减少心血管疾病风险的趋势。因此,中和EL代表了有希望的疗法机制。

[0007] 生物药物产品,通常被称为生物制剂,经常经由注射施用。大分子量生物制剂,如单克隆抗体,的溶液通常具有高浓度和高黏度,这可能导致产品的适用性和注射递送方面的问题。抗体的特殊适用性担忧包括可逆转的自结合(由于非共价分子间的相互作用而形成的寡聚物物种)、蛋白质的沉淀以及溶液的渗透压和混浊。黏度和适用性会影响生物制剂的制造、稳定性、递送和安全性。因此,本领域需要生物制剂,如抗内皮脂肪酶抗体的合适制剂,该制剂具有合适的活性剂浓度和适用于注射的黏度。

[0008] 发明概述

[0009] 本公开内容涉及药物制剂,其包括:(i)约40mg/mL至约160mg/mL的特异性结合人内皮脂肪酶的抗体,以及(ii)约50mM至约260mM的精氨酸盐。在一些实施方案中,药物制剂包含约125mg/mL的特异性结合内皮脂肪酶的抗体。在一些实施方案中,药物制剂包含约100mg/mL的特异性结合内皮脂肪酶的抗体。

[0010] 在药物制剂的一些实施方案中,精氨酸盐包含盐酸精氨酸、醋酸精氨酸、谷氨酸精氨酸或硫酸精氨酸。在一些实施方案中,药物制剂包含盐酸精氨酸。在一些实施方案中,药物制剂包含约220mM的盐酸精氨酸。在一些实施方案中,药物制剂包含约160mM的盐酸精氨酸。在一些实施方案中,药物制剂包含约80mM盐酸精氨酸。

[0011] 在药物制剂的一些实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有第一重链互补决定区(CDR1),其氨基酸序列与SEQ ID NO:1至少80%相同。在药物制剂的一些实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有包含SEQ ID NO:1的重链CDR1。在药物制剂的一些实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有第二重链互补决定区(CDR2),其氨基酸序列与SEQ ID NO:2至少90%相同。在药物制剂的一些实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有包含SEQ ID NO:2的重链CDR2。在药物制剂的一些实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有第三重链互补决定区(CDR3),其氨基酸序列与SEQ ID NO:3至少90%相同。在药物制剂的一些实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有包含SEQ ID NO:3的重链CDR3。

[0012] 在药物制剂的一些实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有第一轻链互补决定区(CDR1),其氨基酸序列与SEQ ID NO:5至少90%相同。在药物制剂的一些实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有包含SEQ ID NO:5的轻链CDR1。在药物制剂的一些实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有第二轻链互补决定区(CDR2),其氨基酸序列与SEQ ID NO:6至少80%相同。在药物制剂的一些实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有包含SEQ ID NO:6的轻链CDR2。在药物制剂的一些实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有第三轻链互补决定区(CDR3),其氨基酸序列与SEQ ID NO:7至少80%相同。在药物制剂的一些实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有包含SEQ ID NO:7的轻链CDR3。

[0013] 在药物制剂的一些实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体的重链包含与SEQ ID NO:4至少90%、至少95%、至少98%或至少99%相同的氨基酸序列。在药物制剂的一些实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体的轻链包含与SEQ ID NO:8至少90%、至少95%、至少98%或至少99%相同的氨基酸序列。在药物制剂的一些实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体包含重链和轻链,该重链具有包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列,该轻链包含包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。

[0014] 在药物制剂的一些实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体包含重链和轻链,该重链包含与SEQ ID NO:9至少90%相同的氨基酸序列,该轻链包含与SEQ ID NO:10至少90%相同的氨基酸序列。在药物制剂的一些实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体包含轻链和重链,该重链包含SEQ ID NO:9,该轻链包含SEQ ID NO:10。

[0015] 在一些实施方案中,药物制剂进一步包含组氨酸。在一些实施方案中,药物制剂进一步包含约5mM至约40mM的组氨酸。在一些实施方案中,药物制剂进一步包含约20mM的组氨

酸。在一些实施方案中,药物制剂进一步包含约10mM的组氨酸。在药物制剂的一些实施方案中,进一步包含组氨酸,该组氨酸是盐酸盐。

[0016] 在一些实施方案中,药物制剂进一步包含表面活性剂。在一些实施方案中,药物制剂进一步包含表面活性剂聚山梨酯20、聚山梨酯60或聚山梨酯80。在一些实施方案中,药物制剂进一步包含表面活性剂聚山梨酯80。在一些实施方案中,药物制剂进一步包含约0.005%至约0.05%的聚山梨酯80。在一些实施方案中,药物制剂进一步包含约0.01%的聚山梨酯80。在一些实施方案中,药物制剂进一步包含约0.02%的聚山梨酯80。在一些实施方案中,药物制剂进一步包含约0.04%的聚山梨酯80。

[0017] 在一些实施方案中,药物制剂的pH值小于7.0。在一些实施方案中,药物制剂的pH值为约5.0至约7.0。在一些实施方案中,药物制剂的pH值为约6.0。在一些实施方案中,药物制剂在18℃时的黏度小于30cP。在一些实施方案中,药物制剂的渗透压为约260至约500mOsm/kg。

[0018] 在一些实施方案中,药物制剂适用于注射。在一些实施方案中,药物制剂适用于静脉注射。在一些实施方案中,药物制剂适用于皮下注射。在一些实施方案中,药物制剂适用于肌肉注射。

[0019] 在一些实施方案中,药物制剂是由冻干制剂重组的。在一些实施方案中,药物制剂是液体制剂。在一些实施方案中,药物制剂适用于用注射装置,如自动注射器装置或大容量推注注射器施用。在一些实施方案中,药物制剂适用于用注射装置,如预填充的注射器施用。

[0020] 本公开还涉及包含施用本文公开的任何药物制剂的方法。在一些实施方案中,本公开涉及治疗有需要的哺乳动物受试者的心血管疾病的方法,其包括向受试者施用本文公开的任何药物制剂。在一些实施方案中,本发明涉及在有需要的哺乳动物受试者中预防心血管疾病的方法,其包括向受试者施用本文公开的任何药物制剂。在一些实施方案中,本发明涉及在有需要的哺乳动物受试者中减少动脉粥样硬化的方法,其包括向受试者施用本文公开的任何药物制剂。在一些实施方案中,本发明涉及减少先前患有急性冠状动脉综合征的哺乳动物受试者的心血管死亡、心肌梗死、中风和/或冠状动脉血运重建的风险的方法,其包括向受试者施用本文公开的任何药物制剂。

[0021] 在一些实施方案中,本公开涉及在有需要的哺乳动物受试者中预防继发性心血管事件的方法,其包括向受试者施用本文公开的任何药物制剂。在一些实施方案中,本公开涉及在有需要的哺乳动物受试者中减少主要不良心血管事件风险的方法,其包括向受试者施用本文公开的任何药物制剂。在一些实施方案中,本公开涉及增加有需要的哺乳动物受试者血液中HDL浓度的方法,其包括向受试者施用本文公开的任何药物制剂。

[0022] 在一些实施方案中,本公开涉及增加有需要的哺乳动物受试者中与HDL有关的一个或多个临床终点的方法,其包括向受试者施用本文公开的任何药物制剂,其中临床终点是HDL-c血浓度、HDL颗粒数、HDL颗粒大小、HDL磷脂血浓度、载脂蛋白A1血浓度和胆固醇流出能力。在一些实施方案中,本公开涉及减少有需要的哺乳动物受试者的炎症的方法,其包括向受试者施用本公开的任何药物制剂。在一些实施方案中,本公开涉及在有需要的哺乳动物受试者中预防炎症的方法,其包括向受试者施用本文公开的任何药物制剂。

[0023] 在本文公开的方法的实施方案中,药物制剂用注射装置施用。在本文公开的方法

的实施方案中,药物制剂用自动注射装置施用。在本文公开的方法的实施方案中,药物制剂用大容量推注注射器施用。在本文公开的方法的实施方案中,药物制剂用预填充注射器施用。

[0024] 在本文公开的方法的实施方案中,哺乳动物受试者是人。

[0025] 本公开进一步涉及冻干药物制剂,其包含i) 特异性结合内皮脂肪酶的抗体和ii) 盐酸精氨酸;其中冻干药物制剂可重组为浓度为约100mg/mL至约160mg/mL的特异性结合内皮脂肪酶的抗体,以及约120mM至约260mM的精氨酸盐;并且其中冻干药物制剂是药学上可接受的。

[0026] 冻干药物制剂,其包含i) 特异性结合内皮脂肪酶的抗体,ii) 盐酸精氨酸,iii) 组氨酸或其盐,以及iv) 聚山梨酯80;其中冻干药物制剂可重组为浓度为约125mg/mL的特异性结合内皮脂肪酶的抗体,约160mM的盐酸精氨酸,约20mM的组氨酸或其盐以及约0.04%的聚山梨酯80;并且其中所述冻干药物制剂是药学上可接受的。

[0027] 本公开进一步涉及冻干药物制剂,其包含i) 特异性结合内皮脂肪酶的抗体,ii) 盐酸精氨酸,iii) 组氨酸或其盐,以及iv) 聚山梨酯80;其中冻干药物制剂可重组为浓度为约125mg/mL的特异性结合内皮脂肪酶的抗体,约220mM的盐酸精氨酸,约20mM的组氨酸或其盐以及约0.04%的聚山梨酯80;并且其中冻干药物制剂是药学上可接受的。

[0028] 本公开进一步涉及冻干药物制剂,其包含i) 特异性结合内皮脂肪酶的抗体,ii) 盐酸精氨酸,iii) 组氨酸或其盐,以及iv) 聚山梨酯80;其中冻干药物制剂可重组为浓度为约100mg/mL的特异性结合内皮脂肪酶的抗体,约160mM的盐酸精氨酸,约20mM的组氨酸或其盐以及约0.04%的聚山梨酯80;并且其中冻干药物制剂是药学上可接受的。在本文公开的冻干药物制剂的实施方案中,冻干药物制剂可重组为pH值约为6.0。

[0029] 本公开进一步涉及液体药物制剂,其包含约125mg/mL的特异性结合内皮脂肪酶的抗体、约220mM的盐酸精氨酸、约10mM的组氨酸或其盐和约0.02%的聚山梨酯80,并且是药学上可接受的。

[0030] 本公开进一步涉及液体药物制剂,其包含约100mg/mL的特异性结合内皮脂肪酶的抗体、约220mM的盐酸精氨酸、约10mM组氨酸或其盐和约0.02%的聚山梨酯80,并且是药学上可接受的。

[0031] 本公开进一步涉及液体药物制剂,其包含约125mg/mL的特异性结合内皮脂肪酶的抗体、约220mM的盐酸精氨酸、约20mM的组氨酸或其盐和约0.02%的聚山梨酯80,并且是药学上可接受的。

[0032] 本公开进一步涉及液体药物制剂,其包含约100mg/mL的特异性结合内皮脂肪酶的抗体、约220mM的盐酸精氨酸、约20mM的组氨酸或其盐和约0.02%的聚山梨酯80,并且是药学上可接受的。

[0033] 本公开进一步涉及液体药物制剂,其包含约50mg/mL的特异性结合内皮脂肪酶的抗体、约80mM的盐酸精氨酸、约10mM的组氨酸或其盐和约0.02%的聚山梨酯80,并且是药学上可接受的。

[0034] 在本文公开的液体药物制剂的实施方案中,液体药物制剂的pH值约为6.0。

附图说明

[0035] 图1A是组氨酸和蔗糖(正方形);组氨酸、蔗糖和精氨酸(钻石形);或组氨酸和精氨酸(三角形)中的MEDI5884制剂的动态光散射分析获得的结果的流体力学半径vs.抗体浓度的绘图。图1B是由动态光散射法确定的这三种制剂中每一种的扩散相互作用参数(Kd)值的绘图。

[0036] 图2A-C是图1中提供的三种制剂的分析性超速离心分析的绘图。在0.2-2.4mg/mL的浓度范围内,获得了MEDI5884的沉降曲线,g(s)和重量平均沉降系数,s。结果显示,g(s)曲线明显向更高的s值转移,从4.6s时的0.2mg/mL到4.9s时的2.4mg/mL,这表明MEDI5884在检验的溶液条件下发生了自结合(图2A)。在抗体不自结合的溶液条件下,没有观察到此类转移(图2B和2C),其由重叠的g(s)峰表示(即,峰不会随着蛋白质浓度的增加而向较大的s值转移)。

[0037] 图3A和3B是MEDI5884的缓冲剂制剂在指定不同pH值下的黏度(cP)柱状图。测试的制剂在指定pH中160mM的ArgHCl和20mM的缓冲剂中含有100mg/mL(图3A)或165mg/mL(图3B)的MEDI588。在18°C下测量黏度。

[0038] 图4是具有不同赋形剂的MEDI5884制剂的黏度(cP)柱状图。测试的制剂含有150mg/mL的MEDI5884、20mM的His/His-HCl和指定的赋形剂浓度,pH值为6.0。在18°C下测量黏度。靶黏度由横跨条形的水平线表示。

[0039] 图5是三种不同浓度的精氨酸的黏度(cP) vs. MEDI5884浓度(mg/mL)的绘图,精氨酸的浓度为190mM(三角形)、220mM(钻石形)和250mM(x)。在20mM的His/HisHCl,0.02%的PS80中,这些制剂还含有145mg/mL、165mg/mL或175mg/mL的MEDI5884。在18°C下测量黏度。

[0040] 图6是MEDI5884的制剂在不同pH值下的黏度(cP)柱状图。测试的制剂在指定的pH值下,在20mM的His/HisHCl和220mM的ArgHCl中,以及在组氨酸或醋酸盐缓冲剂中含有165mg/mL的MEDI5884。在18°C下测量黏度。

[0041] 发明详述

[0042] 本公开提供了药物制剂,其包含与人内皮脂肪酶特异性结合的抗体和精氨酸盐。本公开还提供了使用本文公开的药物制剂的方法。

[0043] 应该理解的是,本文显示和描述的特定实施方式是实例,并不旨在以任何方式限制本申请的范围。

[0044] 本文提及的已发表的专利、专利申请、网站、公司名称和科学文献在此通过引用整体并入本文,其程度与具体和单独通过引用并入本文的程度相同。本文引用的任何参考文献与本说明书的具体教导之间的任何冲突都应倾向于后者的方式解决。同样地,本领域对词或短语的定义与本说明书中具体教导的词或短语的定义之间的任何冲突,应以倾向于后者的方式解决。

[0045] 如本文所用,“一”可指一个或多个。如本文所用,当与“包含”一词一起使用时,“一”可指一个或一个以上。如本文所用,“另一”或“再一”可指至少第二个或更多。

[0046] 在本申请中,术语“约”用来表示数值包括用于确定该数值的方法/设备的固有误差变化,或研究受试者之间存在的变化。通常,术语“约”是指涵盖大约或小于1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或20%的可变性,这视情况而定。

[0047] 权利要求中使用的术语“或”是指“和/或”，除非明确指出仅指替代或与替代是相互排斥的，尽管本公开支持的定义仅指替代和“和/或”。

[0048] 如本文所用，术语“包含 (comprising、comprise、comprises)”、“具有 (having、have、has)”、“包括 (including、includes、include)”或“含有 (containing、contains、contain)”是包容性或开放式的，不排除额外未提及的要素或方法步骤。可以设想，本说明书中讨论的任何实施方案都可以针对本公开的任何方法、系统、宿主细胞、表达载体和/或组合物来实施。此外，本公开的组合物、系统、宿主细胞和/或载体可用于实现本公开的方法和蛋白质。

[0049] 使用术语“例如”及其相应的缩写“e.g.” (无论是否斜体) 意味着所述的具体术语是本公开的代表性实例和实施方案，除非另有明确说明，否则不旨在限制于所引用或列举的具体实例。

[0050] 除非另有定义，本文使用的技术和科学术语具有本申请所涉及的本领域技术人员通常理解的含义。本文参考了本领域技术人员已知的各种方法和材料。

[0051] 本文所用的术语“抗体”可以指由至少两条重链和两条轻链通过二硫键连接而成的蛋白质。术语“抗体”可以包括自然发生的抗体以及所有重组形式的抗体，例如人源化抗体、全人抗体和嵌合抗体。每个重链可以包含重链可变区 (VH) 和重链恒定区 (CH)。每个轻链可以包含轻链可变区 (VL) 和轻链恒定区 (CL)。然而，术语“抗体”也可以包括其他类型的抗体，如单域抗体、重链抗体，即仅由一个或多个，特别是两个重链组成的抗体，以及纳米抗体，即仅由单个单体可变域组成的抗体。抗体的片段或衍生物的实例包括：(i) Fab片段，其是由重链和轻链的可变区和第一恒定域组成的单价片段；(ii) F(ab)2片段，其是包含在铰链区通过二硫桥连接的两个Fab片段的二价片段；(iii) Fd片段，其由重链的可变区和第一恒定域CH1组成；(iv) Fv片段，其由抗体的单臂的重链和轻链可变区组成；(v) scFv片段，其是由单个多肽链组成的Fv片段；(vi) (Fv)2片段，其由两个Fv片段共价连接组成；(vii) 重链可变域；以及(viii) 多抗体，其由重链可变区和轻链可变区共价连接组成，这是通过重链和轻链可变区的结合只能发生在分子间而不是分子内的方式发生的。

[0052] 内皮脂肪酶的抗体

[0053] 内皮脂肪酶 (有时缩写为LIPG或EL) 是由血管内皮细胞分泌的脂肪酶。内皮脂肪酶在脂蛋白代谢、细胞因子的表达和细胞内脂质组分的调节中起作用。Yu, et al., Histology and Histopathology 33 (1):1-10 (2018)。内皮脂肪酶是甘油三酯脂肪酶家族的磷脂酶，其催化高密度脂蛋白 (HDL) 向低密度脂蛋白 (LDL) 的转化。Jaye et al., Nature Genetics 21:424-428 (1999)。认为内皮脂肪酶在心血管疾病，如动脉粥样硬化中起作用。Paradis, et al., The Canadian Journal of Cardiology. 22 Suppl B (Suppl B):31B-34B (2006)。

[0054] 人内皮脂肪酶的氨基酸序列在本领域是已知的，本文提供的蛋白质的成熟版本 (缺乏前导序列) 是SEQ ID NO:13的序列。

[0055] 成熟的人内皮脂肪酶 (缺乏前导序列)。

[0056] SPVPFGPEGRLEDKLHKPKATQTEVKPSVRFNLRITSKDPEHEGCVLSVGHSQPLEDCSFNMTAKTFFI
IHGWTMSGIFENWLHKLVSALHTREKDANVVVDWLPLAHQLYTDVNNTRVVGHSIARMLDWLQEKDDFSLGNVH
LIGYSLGAHVAGYAGNFVKGTGVRITGLDPAGPMFEGADIHKRLSPDDADFVDVLHTYTRSFGLSIGIQMPVGHID
IYPNGGDFQPGCGLNDVLGSIAYGTITEVVKCEHERAVHLFVDSL VNQDKPSFAFQCTDSNRFKKGICLSCKNRC

NSIGYNAKKMRNKRNSKMYLKTRAGMPFRVYHYQMKIHVFSYKNMGEIEPTFYVTLYGTNADSQTLPLEIVERIEQ
NATNTFLVYTEEDLGDLLKIQLTWEGASQSWYNLWKEFRSYLSQPRNPGRELNIRRIRVKSGETQRKLTFCEDPE
NTSISPGRELWFRKCRDGWRMKNETSPTVELP (SEQ ID NO:13)

[0057] 所公开的制剂包含特异性结合内皮脂肪酶的抗体。在实施方案中,可用于药物制剂的示例性抗体是Naito et al.的美国公开专利申请第2017/0260290号中公开的抗体,因为这些抗体的公开其通过引用并入本文。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有US2017/0260290中公开的抗体h55A1-S6的重链氨基酸序列。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有US2017/0260290中公开的抗体h55A1-F1的轻链氨基酸序列。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有US2017/0260290中公开的抗体h55A1-S6的重链氨基酸序列和抗体h55A1-F1的轻链氨基酸序列。本文提到的具体抗体序列取自US2017/0260290,如下面的序列表所示。

[0058] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体是MEDI5884,如本文和下面的实例所述。

[0059] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体包含表1和表2中提供的MEDI5884抗体的六个CDR。

[0060] 表1.VH CDR氨基酸序列¹

抗体	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3
MEDI5884	NYALN (SEQ ID NO:1)	WINTYSGVGTYAGEFKG (SEQ ID NO:2)	RGFYGRRFFDV (SEQ ID NO:3)

[0062] ¹表1中的VH CDR是根据Kabat确定的。

[0063] 表2.VL CDR氨基酸序列²

抗体	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
MEDI5884	KASQSVDDYDVDSYMH (SEQ ID NO:5)	AASNLAS (SEQ ID NO:6)	QQTIEDPPT (SEQ ID NO:7)

[0065] ²表2中的VL CDR是根据Kabat确定的。

[0066] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体包含表3中所列的MEDI5884抗体的VH。

[0067] 表3:可变重链(VH)的氨基酸序列

抗体	VH 氨基酸序列
MEDI5884	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNYALNWVRQAPGQGLE WMGWINTYSGVGTYAGEFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAV YYCARRGFYGRRFFDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:4)

[0069] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体包含表4中所列的MEDI5884抗体的VL。

[0070] 表4:可变轻链(VL)的氨基酸序列

	抗体	VL 氨基酸序列
[0071]	MEDI5884	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDDYDVDSYMHWYQQKPGK APKLLIYAASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQT EDPPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:8)

[0072] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体包含表3和表4中所列的MEDI5884抗体的VH和VL。

[0073] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体包含表5中所列的MEDI5884抗体的重链序列。

[0074] 表5:全长重链的氨基酸序列

	抗体	全长重链氨基酸序列 (SEQ ID NO:9)
[0075]	MEDI5884	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFTNYALNWVRQAPGQGL EWMGWINTYSGVGTYSAGEFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDT AVYYCARRGFYGRRFDDVWGKGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS
[0076]		TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPA PEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO:9)

[0077] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体包含表6中所列的MEDI5884抗体的轻链序列。

[0078] 表6:全长轻链的氨基酸序列

	抗体	全长轻链氨基酸序列 (SEQ ID NO:10)
[0079]	MEDI5884	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDDYDVDSYMHWYQQKPGK APKLLIYAASNLASGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQT IEDPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:10)

[0080] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体包含表5和表6中所列的MEDI5884抗体的重链序列和轻链序列。

[0081] 关于结合内皮脂肪酶的抗体的重链,在实施方案中,重链是 γ 重链。人IgG4P重链的恒定区可以包含以下氨基酸序列:

[0082] ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR
WQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO:11)。

[0083] 关于结合内皮脂肪酶的抗体的轻链,在本公开的一些方面,轻链是 κ 轻链。人C κ 轻链的恒定区可以包含以下氨基酸序列:

[0084] RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:12)。

[0085] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有第一重链互补决定区(CDR1),其氨基酸序列与SEQ ID NO:1至少80%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有第二重链互补决定区(CDR2),其氨基酸序列与SEQ ID NO:2至少80%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有第三重链互补决定区(CDR3),其氨基酸序列与SEQ ID NO:3至少80%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有两个重链互补决定区,其与SEQ ID NO:1-3中的两个至少80%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:1-3中的每一个至少80%相同的重链互补决定区。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:4至少80%相同的重链可变域氨基酸序列。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:9至少80%相同的重链氨基酸序列。

[0086] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有第一重链互补决定区(CDR1),其氨基酸序列与SEQ ID NO:1至少90%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有第二重链互补决定区(CDR2),其氨基酸序列与SEQ ID NO:2至少90%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有第三重链互补决定区(CDR3),其氨基酸序列与SEQ ID NO:3至少90%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:1-3中的两个至少90%相同的两个重链互补决定区。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:1-3中的每一个至少90%相同的重链互补决定区。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:4至少90%相同的重链可变域氨基酸序列。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:9至少90%相同的重链氨基酸序列。

[0087] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有重链CDR1,其氨基酸序列与SEQ ID NO:1至少95%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有重链CDR2,其氨基酸序列与SEQ ID NO:2至少95%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有重链CDR3,其氨基酸序列与SEQ ID NO:3至少95%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:1-3中的两个至少95%相同的两个重链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:1-3中的每一个至少95%相同的重链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:4至少95%相同的重链可变域氨基酸序列。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:9至少95%相同的重链氨基酸序列。

[0088] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有重链CDR1,其氨基酸序列与SEQ ID NO:1至少98%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有重链CDR2,其氨基酸序列与SEQ ID NO:2至少98%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有重链CDR3,其氨基酸序列与SEQ ID NO:3至少98%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:1-3中的两个至少98%相同的两个重链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:1-3中的每一个至少98%相同的重链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:4至少98%相同的重链可变域氨基酸序列。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:9至少98%相同的重链氨基酸序列。

[0089] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有重链CDR1,其氨基酸序列与SEQ

ID NO:1至少99%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有重链CDR2,其氨基酸序列与SEQ ID NO:2至少99%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有重链CDR3,其氨基酸序列与SEQ ID NO:3至少99%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:1-3中的两个至少99%相同的两个重链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:1-3中的每一个至少99%相同的重链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:4至少99%相同的重链可变域氨基酸序列。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:9至少99%相同的重链氨基酸序列。

[0090] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有重链CDR1,其氨基酸序列包含SEQ ID NO:1。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有重链CDR2,其氨基酸序列包含SEQ ID NO:2。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有重链CDR3,其氨基酸序列包含SEQ ID NO:3。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有两个包含SEQ ID NO:1-3的重链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有包含SEQ ID NO:1-3中每一个的重链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有包含SEQ ID NO:4的重链可变域氨基酸序列。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有包含SEQ ID NO:9的重链氨基酸序列。

[0091] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR1,其氨基酸序列与SEQ ID NO:5至少80%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR2,其氨基酸序列与SEQ ID NO:6至少80%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR3,其氨基酸序列与SEQ ID NO:7至少80%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:5-7中的两个至少80%相同的两个轻链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:5-7中的每一个至少80%相同的轻链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:8至少80%相同的轻链可变域氨基酸序列。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:10至少80%相同的轻链氨基酸序列。

[0092] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR1,其氨基酸序列与SEQ ID NO:5至少90%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR2,其氨基酸序列与SEQ ID NO:6至少90%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR3,其氨基酸序列与SEQ ID NO:7至少90%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:5-7中的两个至少90%相同的两个轻链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:5-7中的每一个至少90%相同的轻链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:8至少90%相同的轻链可变域氨基酸序列。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:10至少90%相同的轻链氨基酸序列。

[0093] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR1,其氨基酸序列与SEQ ID NO:5至少95%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR2,其氨基酸序列与SEQ ID NO:6至少95%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR3,其氨基酸序列与SEQ ID NO:7至少95%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:5-7中的两个至少95%相同的两个轻链CDR。在实施方案中,

特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:5-7中的每一个至少95%相同的轻链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:8至少95%相同的轻链可变域氨基酸序列。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:10至少95%相同的轻链氨基酸序列。

[0094] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR1,其氨基酸序列与SEQ ID NO:5至少98%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR2,其氨基酸序列与SEQ ID NO:6至少98%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR3,其氨基酸序列与SEQ ID NO:7至少98%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有两个与SEQ ID NO:5-7中的两个至少98%相同的轻链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:5-7中的每一个至少98%相同的轻链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:8至少98%相同的轻链可变域氨基酸序列。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:10至少98%相同的轻链氨基酸序列。

[0095] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR1,其氨基酸序列与SEQ ID NO:5至少99%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR2,其氨基酸序列与SEQ ID NO:6至少99%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR3,其氨基酸序列与SEQ ID NO:7至少99%相同。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:5-7中的两个至少99%相同两个轻链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:5-7中的每一个至少99%相同的轻链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:8至少99%相同的轻链可变域氨基酸序列。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有与SEQ ID NO:10至少99%相同的轻链氨基酸序列。

[0096] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR1,其氨基酸序列包含SEQ ID NO:5。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR2,其氨基酸序列包含SEQ ID NO:6。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有轻链CDR3,其氨基酸序列包含SEQ ID NO:7。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有包含SEQ ID NO:5-7中的两个的轻链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有包含SEQ ID NO:5-7中的每一个的轻链CDR。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有包含SEQ ID NO:8的轻链可变域氨基酸序列。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有包含SEQ ID NO:10的轻链氨基酸序列。

[0097] 在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体包含一个或多个选自SEQ ID NO:1-3和5-7的互补决定区。在实施方案中,特异性结合内皮脂肪酶的抗体具有包含SEQ ID NO:4的重链可变域氨基酸序列和包含SEQ ID NO:8的轻链可变域氨基酸序列。

[0098] 在实施方案中,药物制剂中特异性结合内皮脂肪酶的抗体的浓度为约40mg/mL至约160mg/mL。在实施方案中,药物制剂中的抗体浓度为约100mg/mL至约150mg/mL。在实施方案中,药物制剂中的抗体浓度为约110mg/mL至约140mg/mL。在实施方案中,药物制剂中的抗体浓度为约120mg/mL至约130mg/mL。在实施方案中,药物制剂中的抗体浓度为约40mg/mL至约60mg/mL。在实施方案中,药物制剂中的抗体浓度为约90mg/mL至约110mg/mL。在实施方案中,药物制剂中的抗体浓度约为125mg/mL。在实施方案中,药物制剂中的抗体浓度约为

50mg/mL。在实施方案中,药物制剂中的抗体浓度约为100mg/mL。

[0099] 药物制剂

[0100] 公开的药物制剂在适用于注射的低容量中提供了有效的足够高浓度的内皮脂肪酶特异性抗体。在实施方案中,药物制剂在适用于注射的黏度下提供了有效的足够高浓度的内皮脂肪酶特异性抗体。在实施方案中,药物制剂在避免不想要的可逆性自结合(RSA)的同时提供了有效的足够高浓度的内皮脂肪酶特异性抗体。在实施方案中,药物制剂在适用于注射的渗透压下提供了有效的足够高浓度的内皮脂肪酶特异性抗体。在实施方案中,药物制剂在储存稳定的同时提供了有效的足够高浓度的内皮脂肪酶特异性抗体。

[0101] 在配制可注射的抗体时,能够将抗体配制成足够高的浓度,以便在适用于注射的容量中允许有效的给药,这通常是个挑战。增加制剂中的抗体浓度会导致黏度、RSA、沉淀和混浊的不想要的增加,使配方不适用于注射到受试者中。

[0102] 本文公开的药物制剂包含作为黏度调节剂的精氨酸(Arg)盐。在实施方案中,精氨酸盐是盐酸精氨酸、醋酸精氨酸、谷氨酸精氨酸或硫酸精氨酸。在实施方案中,精氨酸盐是盐酸精氨酸。在实施方案中,药物制剂可包含一种以上的精氨酸盐,例如,盐酸精氨酸、醋酸精氨酸、谷氨酸精氨酸和硫酸精氨酸中两种或更多种的混合物。

[0103] 在实施方案中,药物制剂中的精氨酸盐的浓度为约50mM至约260mM。在实施方案中,药物制剂中的精氨酸盐的浓度为约80mM至约260mM。在实施方案中,药物制剂中的精氨酸盐的浓度为约160mM至约240mM。在实施方案中,药物制剂中的精氨酸盐的浓度为约180mM至约230mM。在实施方案中,药物制剂中的精氨酸盐的浓度为约200mM至约225mM。在实施方案中,药物制剂中的精氨酸盐的浓度为约110mM至约140mM。在实施方案中,药物制剂中的精氨酸盐的浓度为约50mM至约110mM。在实施方案中,药物制剂中的精氨酸盐的浓度为约60mM至约100mM。在实施方案中,药物制剂中的精氨酸盐的浓度为约70mM至约90mM。在实施方案中,药物制剂中的精氨酸盐的浓度为约220mM。在实施方案中,药物制剂中的精氨酸盐的浓度约为160mM。在实施方案中,药物制剂中的精氨酸盐的浓度约为80mM。

[0104] 在实施方案中,药物制剂具有约50mM至约260mM的浓度的盐酸精氨酸(ArgHCl)。在实施方案中,药物制剂具有约80mM至约260mM的浓度的盐酸精氨酸。在实施方案中,药物制剂具有约160mM至约240mM的浓度的盐酸精氨酸。在实施方案中,药物制剂具有约180mM至约230mM的浓度的盐酸精氨酸。在实施方案中,药物制剂具有约200mM至约225mM的浓度的盐酸精氨酸。在实施方案中,药物制剂具有约110mM至约140mM的浓度的盐酸精氨酸(ArgHCl)。在实施方案中,药物制剂具有约50mM至约110mM的浓度的盐酸精氨酸。在实施方案中,药物制剂具有约60mM至约100mM的浓度的盐酸精氨酸。在实施方案中,药物制剂具有约70mM至约90mM的浓度的盐酸精氨酸。在实施方案中,药物制剂具有约220mM的浓度的盐酸精氨酸。在实施方案中,药物制剂具有约160mM的浓度的盐酸精氨酸浓度。在实施方案中,药物制剂具有约80mM的浓度的盐酸精氨酸。

[0105] 在实施方案中,药物制剂进一步包含作为缓冲剂的组氨酸(His)。在实施方案中,药物制剂中的组氨酸可以是基础形式或盐形式,或其组合。在组氨酸为盐形式的实施方案中,盐形式可以是盐酸组氨酸、醋酸组氨酸、组氨酸或硫酸组氨酸,或其组合。在实施方案中,药物制剂包含盐酸组氨酸(HisHCl)。在实施方案中,药物制剂具有约5mM至约40mM的浓度的组氨酸和/或组氨酸盐。在实施方案中,药物制剂具有约10mM的浓度的组氨酸和/或组

氨基酸。在实施方案中,药物制剂具有约20mM的浓度的组氨酸和/或组氨酸盐。

[0106] 在实施方案中,药物制剂包含其他缓冲剂,如醋酸盐和磷酸盐缓冲剂。在实施方案中,药物制剂具有约5mM至约40mM的浓度的缓冲剂。在实施方案中,药物制剂具有约10mM的缓冲剂。在实施方案中,药物制剂具有约20mM缓冲剂的浓度。

[0107] 在实施中,药物制剂进一步包含表面活性剂。在实施方案中,表面活性剂是聚山梨酯20、聚山梨酯60、聚山梨酯80或其组合。在实施方案中,表面活性剂是聚山梨酯80(PS80)。在实施方案中,药物制剂具有约0.005%至约0.05%的浓度的表面活性剂。在实施方案中,药物制剂具有约0.02%至约0.04%的浓度的表面活性剂。在实施方案中,药物制剂具有约0.02%的浓度的表面活性剂。在实施方案中,药物制剂具有约0.04%的浓度的表面活性剂。在实施方案中,药物制剂具有具有约0.01%的浓度的表面活性剂。在实施方案中,药物制剂具有约0.01%至约0.05%的浓度的PS80。在实施方案中,药物制剂具有约0.02%至约0.04%的浓度的PS80。在实施方案中,药物制剂具有约0.02%的浓度的PS80。在实施方案中,药物制剂具有约0.04%的浓度的PS80。在实施方案中,药物制剂具有约0.01%的浓度的PS80。

[0108] 在实施方案中,药物制剂可以进一步包含额外的赋形剂。在实施方案中,药物制剂进一步包含适用于注射制剂中的赋形剂,如缓冲剂、黏度调节剂、盐和稳定剂。在实施方案中,药物制剂进一步包含赖氨酸、盐酸赖氨酸、脯氨酸、谷氨酸、硫酸钠、氯化钠或二甲基亚砜(DMSO)中的一种或多种。

[0109] 在实施方案中,药物制剂的pH值小于7.0。在实施方案中,药物制剂的pH值为约5.0至约7.0。在实施方案中,药物制剂的pH值为约6.0。

[0110] 将药物制剂设计成具有适用于注射的黏度,例如,使用自动注射或手动注射装置。黏度太高的制剂需要更大的注射力,可能根本无法正常流经注射装置,或者只能使用不必要的大口径针头。此类制剂的黏度是用本领域已知的方法测量的,如在实施例中进行进一步描述的。由于黏度随温度的变化而变化,通常在常见的温度,例如18℃,下测量黏度。在实施方案中,药物制剂在18℃时的黏度小于或等于30厘泊(cP),即在18℃时约1至约30cP、约2至约28cP、约3至约26cP、约5至约25cP、约6至约22cP、约7至约20cP、约8至约20cP、约9至约20cP、约10至约20cP或约12至约18cP。在实施方案中,药物制剂在18℃时的黏度小于或等于20厘泊(cP)。在实施方案中,药物制剂在18℃时的黏度小于或等于15厘泊(cP)。

[0111] 将药物制剂设计成具有适用于用自动注射器或手动注射器注射的容量。在实施方案中,药物制剂可以具有约0.1至约4.0mL、约0.5至约3.5mL、约1.0至约3.0mL、或约1.5至约2.0mL的容量。在实施方案中,药物制剂可以具有约0.1mL、约0.25mL、约0.5mL、约0.75mL、约1.0mL、约1.25mL、约1.5mL、约1.75mL、约2.0mL、约2.25mL、约2.5mL、约2.75mL、约3.0mL、约3.25mL、约3.5mL、约3.75mL或约4.0mL的注射容量。

[0112] 也可以将药物制剂设计成防止制剂中的抗体分子之间的可逆性自结合(RSA)。RSA包括抗体或其他蛋白质的单体物种的幼稚、非共价和可逆性的寡聚化。RSA在具有高浓度抗体的制剂中更有可能,因为个体分子之间的分子间距离减少,分子碰撞的概率增加。RSA会给制造和递送带来挑战,并会在施用引起疼痛。RSA可以用本领域已知的技术,如动态光散射法、分析性超速离心法、差示扫描量热法、差示扫描荧光法和高效尺寸排除色谱法进行测量。

[0113] 也可以将药物制剂设计成具有适用于注射的渗透压。可注射制剂的渗透压可与注射时的疼痛和耐受性有关。测量渗透压的具体仪器和技术在本领域中可以获得,并在下面的实施例中描述。在实施方案中,药物制剂具有约260mOsm/kg至约500mOsm/kg,即约280mOsm/kg至约490mOsm/kg、约320mOsm/kg至约480mOsm/kg、约340mOsm/kg至约470mOsm/kg、约360mOsm/kg至约460mOsm/kg、约380mOsm/kg至约460mOsm/kg、约400mOsm/kg至约460mOsm/kg以及约440mOsm/kg至约460mOsm/kg的渗透压。在实施方案中,药物制剂具有约440mOsm/kg至约460mOsm/kg的渗透压。

[0114] 可以将药物制剂设计成适用于注射给受试者,并适用于本领域已知的注射系统。在实施方案中,药物制剂适用于静脉注射。在实施方案中,药物制剂适用于皮下注射。在实施方案中,药物制剂适用于用注射装置注射。在实施方案中,药物制剂适用于用自动注射装置注射。在实施方案中,药物制剂适用于用大容量推注注射器注射。在实施方案中,药物制剂适用于用预填充注射器注射。

[0115] 在实施方案中,药物制剂是从冻干制剂重组的。含有将要冻干的制剂的液体可以根据本领域的标准方法进行冻干。冻干版本的制剂可称为药物产品 (DP) 制剂。在实施方案中,使用冻干前存在的相同容量的液体重组冻干的DP。在实施方案中,使用冻干前存在的液体容量的一半重组冻干DP (半重组结构)。在半重组结构中,重组后每种组分的浓度是冻干前液体中这些组分浓度的两倍。在实施方案中,可以用比原液更少的容量重组冻干DP。在实施方案中,可以用比原液更多的容量重组冻干DP。

[0116] 在实施方案中,药物制剂是液体制剂。制剂的液体版本可称为药物物质 (DS) 制剂或液体药物产品 (DP) 制剂。

[0117] 可以将药物制剂设计成储存稳定的。在实施方案中,药物制剂在冻干形式下是储存稳定的。在实施方案中,药物制剂在液体形式下是储存稳定的。在实施方案中,药物制剂在约-80℃至约-10℃的温度下,在1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、48或60个月的时间段里是储存稳定的。在实施方案中,药物制剂在约16℃至约22℃的温度下,在1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18个月的时间段里是储存稳定的。

[0118] 在实施方案中,药物制剂是冻干药物制剂,其包含特异性结合内皮脂肪酶的抗体和盐酸精氨酸,其中冻干药物制剂可重组为约100mg/mL至约160mg/mL的浓度的特异性结合内皮脂肪酶的抗体,以及约120mM至约260mM的浓度的精氨酸盐。

[0119] 在实施方案中,药物制剂是冻干药物制剂,其包含特异性结合内皮脂肪酶的抗体、盐酸精氨酸、组氨酸或其盐和聚山梨酯80,其中冻干药物制剂可重组为约125mg/mL的浓度的特异性结合内皮脂肪酶的抗体、约160mM的浓度的盐酸精氨酸、约20mM的浓度的组氨酸或其盐和约0.04%的浓度的聚山梨酯80。

[0120] 在实施方案中,药物制剂是冻干药物制剂,其包含特异性结合内皮脂肪酶的抗体、盐酸精氨酸、组氨酸或其盐和聚山梨酯80,其中冻干药物制剂可重组为约125mg/mL的浓度的特异性结合内皮脂肪酶的抗体、约220mM的浓度的盐酸精氨酸、约20mM的浓度的组氨酸或其盐和约0.04%的浓度的聚山梨酯80。

[0121] 在实施方案中,药物制剂是冻干药物制剂,其包含特异性结合内皮脂肪酶的抗体、盐酸精氨酸、组氨酸或其盐和聚山梨酯80,其中冻干药物制剂可重组为约100mg/mL的浓度

的特异性结合内皮脂肪酶的抗体、约160mM的浓度的盐酸精氨酸、约20mM的浓度的组氨酸或其盐和约0.04%的浓度的聚山梨酯80。

[0122] 在实施方案中,药物制剂是液体药物制剂,其包含约125mg/mL的特异性结合内皮脂肪酶的抗体、约220mM的盐酸精氨酸、约10mM的组氨酸或其盐和约0.02%的聚山梨酯80。

[0123] 在实施方案中,药物制剂是液体药物制剂,其包含约100mg/mL的特异性结合内皮脂肪酶的抗体、约220mM的盐酸精氨酸、约10mM的组氨酸或其盐和约0.02%的聚山梨酯80。

[0124] 在实施方案中,药物制剂是液体药物制剂,其包含约125mg/mL的特异性结合内皮脂肪酶的抗体、约220mM的盐酸精氨酸、约20mM的组氨酸或其盐和约0.02%的聚山梨酯80。

[0125] 在实施方案中,药物制剂是液体药物制剂,其包含约100mg/mL的特异性结合内皮脂肪酶的抗体、约220mM的盐酸精氨酸、约20mM的组氨酸或其盐和约0.02%的聚山梨酯80。

[0126] 在实施方案中,药物制剂是液体药物制剂,其包含约50mg/mL的特异性结合内皮脂肪酶的抗体、约80mM的盐酸精氨酸、约10mM的组氨酸或其盐和约0.02%的聚山梨酯80。

[0127] 方法

[0128] 本公开还涉及到包含施用本文公开的任何药物制剂的方法。该方法涉及通过施用包含特异性结合到内皮脂肪酶的抗体的药物制剂来抑制内皮脂肪酶的功能。在实施方案中,这些方法包括施用药物制剂,其包含特异性结合内皮脂肪酶的抗体和精氨酸盐。

[0129] 在实施方案中,药物制剂在治疗有需要的哺乳动物受试者的心血管疾病的方法中使用。在实施方案中,药物制剂在有需要的哺乳动物受试者中减少心血管疾病的方法中使用。在实施方案中,药物制剂在有先前减少有需要的哺乳动物主体的动脉粥样硬化的方法中。在实施方案中,药物制剂在先前患有急性冠状动脉综合征的哺乳动物受试者中减少心血管死亡、心肌梗塞、中风和/或冠状动脉血运重建的风险的方法中使用。

[0130] 在实施方案中,药物制剂在有需要的哺乳动物受试者中预防继发性心血管事件的方法中使用。在实施方案中,药物制剂在有需要的哺乳动物受试者中减少主要不良心血管事件的风险的方法中使用。在实施方案中,药物制剂在降低有需要的哺乳动物受试者的血液高密度脂蛋白浓度的方法中使用。

[0131] 在实施方案中,药物制剂在有需要的哺乳动物受试者中增加与高密度脂蛋白有关的一个或多个临床终点的方法中使用。在本实施方案中,临床终点可以是HDL-c血浓度、HDL颗粒数、HDL颗粒大小、HDL磷脂血浓度、载脂蛋白A1血浓度和胆固醇外流能力中的一个或多个。在实施方案中,药物制剂在有需要的哺乳动物受试者中降低炎症的方法中使用。在实施方案中,药物制剂在有需要的哺乳动物受试者中预防炎症的方法中使用。

[0132] 本文所体现的方法可使用注射装置,包括上述的自动注射装置实施。在实施方案中,可使用大容量推注注射器或预填充注射器来实施本文所体现的方法。在实施方案中,预填充注射器是具有一个或多个安全特点(例如,注射后回缩针头)和/或一个或多个人体工程学特点(例如,手指凸缘或其他协助握住注射器的附件)的附属预填充注射器。

[0133] 在实施方案中,用于本文所体现的方法的特异性结合内皮脂肪酶的抗体的剂量范围在每月50mg至400mg。在实施方案中,用于本文所体现的方法的特异性结合内皮脂肪酶的抗体的剂量范围在每月30mg至500mg。在实施方案中,抗体的剂量为每月100mg至350mg。在实施方案中,抗体的剂量为每月250mg至350mg。在实施方案中,抗体的剂量为每月约250mg。在实施方案中,抗体的剂量为每月250mg。在实施方案中,抗体的剂量为每月约125mg。在实

施方案中,抗体的剂量为每月125mg。本领域的技术人员会理解,药物制剂可能需要多次施用或增加容量施用以达到所需的剂量。例如,对于抗体浓度为125mg/mL的药物制剂,可以用2mL单次注射或经由两次1mL的注射施用,以达到250mg的剂量。本领域的技术人员还可以理解,增加给药频率,如从每月一次增加到每两周一次,就可以允许多次注射以达到更高的总剂量。

[0134] 在本文所体现的方法的实施方案中,哺乳动物受试者是人。在本文所体现的方法的实施方案中,哺乳动物受试者是动物,如农业动物(如牛、羊、猪)、研究动物(如小鼠、大鼠、猴子、黑猩猩)或伴侣动物(如狗、猫和兔)。

实施例

[0135] 实施例1:抗内皮脂肪酶抗体MEDI5884的特征

[0136] MEDI5884是针对涉及高密度脂蛋白(HDL)向低密度脂蛋白(LDL)转化的内皮脂肪酶(SEQ ID NO:13)的IgG₄P单克隆抗体。术语“MEDI5884”是指包含SEQ ID NO:9的重链和SEQ ID NO:10的轻链抗EL抗体。MEDI5884也被称为“S6F1-4P”,它包含h55A1-S6抗体的重链可变区和h55A1-F1抗体的轻链可变区,其在美国公开申请第2017/0260290号中公开,其通过引用整体并入本文。MEDI5884具有的总分子量大约为150kDa。根据DNA序列,观察到的完整质量和肽图与预期的主要结构一致。MEDI5884的重链可变区在下文中以SEQ ID NO:4提供。MEDI5884的轻链可变区域在下文中以SEQ ID NO:8提供。MEDI5884的全长重链在下文中以SEQ ID NO:9提供。MEDI5884的全长轻链在下文中以SEQ ID NO:10提供。实验确定的消光系数为1.44 (mg/mL)⁻¹cm⁻¹,等电点(pI)的范围是8.4-8.9。通过差示扫描量热法确定的第一热转化是56.4℃。

[0137] MEDI5884与人胚胎肾(HEK)293细胞表面表达的内皮细胞酶(EL)结合(已将HEK293细胞系设计为在细胞表面表达EL)。然后用固定浓度的Eu-N1抗人IgG₄P测量细胞结合的MEDI5884,它与MEDI5884的Fc区结合。与MEDI5884结合的Eu-N1抗人IgG₄P通过时间分辨荧光进行测量,该信号与MEDI5884浓度成正比。

[0138] 实施例2:临床前剂量制剂开发

[0139] MEDI5884通过临床前可开发性研究进行评估以了解制剂开发风险。可开发性研究是在20mM的His/His-HCl、240mM的蔗糖、0.02% (w/v)的PS80、pH6.0中以100mg/ml进行的。根据可开发性研究,发现MEDI5884是可开发的,但是有相对较高(23℃时12.6cP)的黏度和K_d值(-19.6mL/g)。基于这些信息和预期的临床剂量要求(皮下施用),在冻干药物产品(DP)重组后,选择浓度为100mg/ml的MEDI5884用于1期临床试验。

[0140] 设定药物物质(DS)中的PS80水平为0.02% (w/v),因为已知这在大多数情况下可以提供足够的稳定性和对界面应力的保护。然而,由于采用了半重组的方法,重组后的药物产品(DP)中的PS80浓度为0.04% (w/v)。

[0141] 制剂开发方法

[0142] 如下文表7所总结的那样,进行了初步的制剂开发。然而,在正切流动过滤(TFF)过程中,药物物质(DS)制剂#1显示出沉淀和浑浊。此外,通过动态光散射(DLS;图1)和分析性超速离心(AUC;图2),药物产品(DP)制剂#1显示存在可逆性自结合(RSA)。因此,在第1阶段评估了50mg/mL的DS制剂#2。经测试,制剂#2在离心时也显示浑浊。为了减轻沉淀、混浊和

RSA的挑战,随后对精氨酸制剂(#3)进行了评估。

[0143] 表7. 对于MEDI5884第1阶段供应来评估的制剂

[0144]

制剂	DS/ DP 和蛋白质浓度	制剂组分	评论
#1	50mg/mL 的 DS	10mM 组氨酸/组氨酸-HCl, 120mM 蔗糖, 0.02% (w/v) 聚山梨酯 80, pH6.0	TFF 时的混浊和沉淀
	100mg/mL 的 DP	20mM 组氨酸/组氨酸- HCl, 240mM 蔗糖, 0.04% (w/v) 聚山梨酯 80, pH 6.0	存在 RSA
#2	50mg/mL 的 DS	10mM 组氨酸/组氨酸- HCl, 60mM 蔗糖, 40mM 精氨酸- HCl, 0.02% (w/v) 聚山梨酯, pH6.0	离心时的混浊
	100mg/mL 的 DP	20mM 组氨酸/组氨酸- HCl, 120mM 蔗糖, 80mM 精氨酸- HCl, 0.02% (w/v) 聚山梨酯, pH6.0	对 RSA 无挑战
#3 (精氨酸制剂)	50mg/mL 的 DS	10mM 组氨酸/组氨酸- HCl, 80mM 氩-HCl, 0.02% (w/v) 聚山梨酯 80, pH 6.0	对 TFF 和离心过程 无挑战
	100mg/mL 的 DP	20mM 组氨酸/组氨酸- HCl, 160mM 精氨酸- HCl, 0.04% (w/v) 聚山梨酯 80, pH 6.0	对 RSA 无挑战

[0145] 根据DLS&AUC的结果,精氨酸DP制剂(#3)显示没有RSA(图1A,图2C)。此外,只有精氨酸的DSH制剂没有显示出对TFF和离心过程的挑战。因此,选择DI5884的精氨酸制剂#3(DS和DP形式)用于进一步的1期制剂开发活动。

[0146] 总结

[0147] MEDI5884的冻干制剂,在20mM的氨酸/组氨酸-HCl、160mM的精氨酸-HCl、0.04% (w/v) 的聚山梨酯、pH6.0中的组分(重组后)为100mg/mL,提供了适当的稳定性和可溶性,适合作为1期临床试验材料供应的制剂。

[0148] MEDI5884可作为药物物质(DS;与聚山梨酯80一起配制)和未配制的药物物质(UDS;不含聚山梨酯80的配制)分别在2-8℃和-40℃的Celsius pak中长期保存。

[0149] 实施例3:临床剂量制剂的研究

[0150] 材料

[0151] 本实施例中所有用于研究的材料都是USP或多药典级别的。所有溶液和缓冲剂均使用USP或HPLC水制备,并在进一步使用前通过0.2μm PVDF过滤器(Millipore,Millex GV, SLG033RB)过滤。用于稳定性研究的MEDI5884样品在生物安全柜(BSC)中按照无菌处理进行制备。散装材料储存在2-8℃。

[0152] 方法

[0153] i) 蛋白质浓度的确定

[0154] 用Trinean HT-A280分光光度计(Gentbrugge,Belgium)在280nm处测量吸光度,以

确定MEDI5884蛋白质浓度。测量的消光系数为 $1.44 \text{ (mg/mL)}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ，用于计算蛋白质的浓度。由于在Trinean HT-A280上测量MEDI5884不需要稀释，所以没有使用密度校正因子。

[0155] ii) 通过尺寸排阻色谱法确定纯度

[0156] 使用尺寸排除色谱法 (SEC) 通过高压尺寸排阻色谱法 (HPSEC) 进行纯度测定。使用有TSK-Gel G3000柱的Agilent HPLC系统 (Santa Clara, CA) 进行分析。通过注射25 μ l的在PBS中稀释至10mg/ml的抗体，将250 μ g的抗体加载到柱上。使用标准的积分参数来自动积分聚合物、单体和片段的峰。

[0157] iii) 视觉外观

[0158] 通过使用适当的标准检查各自容器中的样品的颗粒、颜色和透明度，对样品进行视觉检查。

[0159] iv) 亚可见颗粒分析

[0160] 使用光遮蔽对亚可见颗粒进行分析。对于高精度 (HIAC) 分析，样品用制剂缓冲剂稀释到5mg/mL，并在测试前至少脱气1小时。

[0161] v) 渗透压

[0162] 渗透压是使用Advanced Instrument Inc. 2020冰点压降渗透压仪 (Norwood, MA) 测量的。通过运行参考标准来评估系统的适用性。

[0163] vi) 黏度评估

[0164] MEDI5884药物产品在100mg/mL时的黏度是用有40mm的锥和板附件的Anton Paar MCR301流变仪 (Graz, Austria) 测量的。黏度是在每秒1000剪切速率的高剪切极限下报告的。

[0165] vii) 产品小瓶的冻干

[0166] 冻干是使用Lyostar III冻干机 (SP Scientific, Warminster, PA) 进行的。

[0167] viii) 确定冻干的玻璃转化温度 (T_g')

[0168] T_g' 是用TA仪器差示扫描量热仪Q2000型 (New Castle, DE) 测定的。将约20 μ L的样品装入平盘中。以5 $^{\circ}\text{C}$ /分钟将样品冷却到-80 $^{\circ}\text{C}$ 。然后以5 $^{\circ}\text{C}$ /min加热到20 $^{\circ}\text{C}$ ，使其通过玻璃转化温度。确定 T_g' 为热流曲线中的正弦曲线/拐点。使用通用分析软件对 T_g' 进行积分，以确定玻璃转化的开始、中间和结束，中点 T_g' 值报告为(T_g')。

[0169] ix) 使用Karl Fischer滴定法测定冻干产品的湿度

[0170] 使用Mettler Toledo DL39型仪器 (Columbus, OH)，用Karl Fischer滴定法测量冻干制剂中存在的残留水分。用无水甲醇来重组冷冻干燥的材料。残留的水是通过质量平衡确定的。

[0171] x) 用冷冻干燥显微镜确定冻干的塌陷温度

[0172] 冷冻干燥显微镜使用液氮蒸气冷却的Olympus显微镜 (Tokyo, Japan)，其样品支架能够对样品保持真空。将约5-10 μ L的样品冷冻到-40 $^{\circ}\text{C}$ ，然后开始抽真空，用饼的干燥面来聚焦显微镜。迭代的温度上升 (最快的=2 $^{\circ}\text{C}$ /min；最慢的=0.5 $^{\circ}\text{C}$ /min) 用来观察干燥饼的显微镜图像中的塌陷。将塌陷的开始 (T_c) 报告为塌陷温度，观察其为在升华前沿的干燥基质中明亮的可见孔。

[0173] xi) 制剂稳定性研究

[0174] 评估在20mM的His/His-HCl、160mM的Arg-HCl、0.04% (w/v) 的PS80, pH6.0中配制

为100mg/ml的MEDI5884冻干药物产品的稳定性。将样品放置在40℃/75%相对湿度(RH)、25℃/60%RH和5℃的稳定腔室中。

[0175] 数据和讨论

[0176] a) 药物物质和未配制药物质物质的稳定性

[0177] i) DS和UDS的存储和策略

[0178] 为了评估MEDI5884的长期储存稳定性,选择将DS和UDS分别储存在2-8和-40℃的Celsius pak中。在Celsius-pak容器中对DS和UDS进行了控制性冻/融评估。

[0179] i) 在Celsius Pak中评估受控的DS和UDS冻融(F/T)和冷冻储存。

[0180] 冻融和冷冻储存的稳定性是在有代表性的储存容器(即Celsius pak)、温度和过程中评估的。在Celsius pak中填充UDS和DS,以控制的方式冷冻和解冻三次。第三次解冻完成后,再次冷冻Celsius pak,并储存在-40和25℃下,用于DS和UDS的长期稳定性评估。对于UDS,在2-8℃下也进行了长期稳定性评估,一个月的冷冻储存数据如下表8所示。

[0181] 表8.DS稳定性评估

DS	时间点	视觉检查 (颗粒)*	纯度 (SEC)			亚可见颗粒 (HIAC)		
			聚合%	单体%	片段%	≥ 2μm	≥ 10μm	≥ 25μm
[0182]	T0	<STD 1	0.9	99.1	0.0	4046	127	0
	3x F/T	<STD 1	0.9	99.1	0.0	24	1	0
	3X FT 后, -40C, 1个月	<STD 1	0.9	99.1	0.0	2227	87	0
	3X FT 后, 25C, 1个月	<STD 1	0.9	99.1	0.0	31	1	0

[0183] *在小瓶中进行;<STD 1:几乎没有可见颗粒;<STD 5、6、7:存在可见颗粒

[0184] 通过尺寸排阻色谱法(SEC),DS的纯度没有明显变化。基于这一评估,MEDI5884作为冷冻DS在-40℃的Celsius pak中是稳定的。另外,在25℃储存1个月后,对3X FT后的DS的稳定性也没有影响。

[0185] 在小瓶中评估液体药物物质的稳定性,以支持储存、运输和制造过程中的液体保持时间。液体制剂的稳定性是在2-8、25和40℃下,在填充量为1.0mL的3cc玻璃小瓶中进行的结果显示在表9中。

[0186] 表9.通过HPSEC和生物测定的液体制剂稳定性

属性	5°C (基于 3 个月)	40°C (基于 3 个月)
单体损失 (%/月)	0	1.2
聚合 (%/月)	0	0.8
片段化 (%/月)	0	0.4
生物测定 (25°C下)	108	

属性	5°C (基于 3 个月)	40°C (基于 3 个月)
6 个月后)		

[0189] 在研究期间,pH值、渗透压或蛋白质浓度没有明显变化,可见和亚可见颗粒保持很

低。

[0190] b) 黏度评估

[0191] 在20mM的组氨酸/组氨酸-HCl、160mM的精氨酸-HCl、0.04% (w/v) 的聚山梨酯80，在pH6.0中100mg/mL的MEDI5884在23℃时测量的黏度为5.4cP。根据这些黏度测量结果，预计在制造或皮下剂量施用方面不会有任何挑战。

[0192] c) 药物产品稳定性数据

[0193] 药物产品的稳定性通过SEC、视觉检查和熔体流动指数 (MFI) 进行评估。主要结果见下表10和11中报告的。这些结果支持将这种冻干药物产品用于1期临床试验。

[0194] 表10. 冻干制剂的稳定性--SEC和视觉检查

[0195]	属性	5°C (基于 5 个月)	40°C (基于 3 个月)
	单体损失 (%/月)	0.06	1.7
	聚合 (%/月)	0.06	1.7
	片段化 (%/月)	0	0
	通过 VI 观察到的最大颗粒	<STD 1	<STD 1

[0196] 表11. 由MFI评估的冻干制剂的稳定性-亚可见颗粒

[0197]		每个容器中的颗粒		
		≥ 2μm	≥ 10μm	≥ 25μm
	T0	118311	615	46
	1 个月 25°C	122090	306	50
	1 个月 5°C	114156	88	4
	3 个月 5°C	137862	615	8

[0198] 在DP稳定性研究中，pH值、渗透压和蛋白质浓度保持不变。在整个稳定性研究中，重组时间在4到10min的范围内，并没有随着时间的推移而发生明显的稳定性变化。研究中所有样品的冻干饼的湿度含量都小于1%。

[0199] d) 重组后的稳定

[0200] 重组后的稳定性通过SEC、视觉检查和MFI进行评估，以支持临床使用中的稳定性以及分析测试的保持时间。在t0时对小瓶进行重组和测试，随后材料在5°C和25°C的小瓶中保持长达1周。在这两种情况下都保持了稳定性，单体纯度没有明显变化，可见和亚可见颗粒水平低，与t0相当。数据显示在下面的表12中。在研究过程中，蛋白质浓度、pH值和渗透压都没有变化(数据未显示)。因此，该材料可以在5°C下保存7天，而不必担心重组药物产品的稳定性。

[0201] 表12. 重组后的稳定性

[0202]	时间 点/温 度	视 觉 检 查 (颗 粒)	SEC 评估的纯度			MFI 评估的亚可 见颗粒每 ml		
			聚合%	单体%	片段%	≥	≥	≥
						2 μm	10 μm	25 μm
	T0	<STD 1	1.1	98.9	0	275	8	0
	5°C 7 天	<STD 1	1.1	98.9	0	1895	8	4
	25°C 7 天	<STD 1	1.1	98.9	0	1694	0	0

[0203] 实施例4--开发适用于自动注射器设备的MEDI5884的制剂

[0204] 本实施例描述了MEDI5884制剂的开发,该制剂在自动注射器装置中具有适用于皮下施用的合适的黏度。对制剂的某些参数进行了测试,以了解其对制剂黏度的影响。除非另有说明,本实施例中的所有方法均按实施例3所述进行。

[0205] a) pH缓冲剂筛选

[0206] 进行这项研究是为了确定产品制剂的合适pH值。制剂测试了三种不同的缓冲剂在三种不同的pH值下对黏度的影响。测试的制剂在160mM的ArgHCl和在指定的pH值下20mM的指定的缓冲剂中含有100mg/mL或165mg/mL的MEDI5884。测试是在18°C下进行的。结果显示在图3中,图3A显示了100mg/mL的MEDI5884制剂的结果,图3B显示了165mg/mL的MEDI5884制剂的结果。

[0207] b) 赋形剂筛选

[0208] 针对各种赋形剂的黏度影响对制剂进行了测试。所测试的制剂在20mM的His/His-HCl中pH值为6.0下具有MEDI5884浓度为150mg/mL。测试是在18°C下进行的。除了浓度为5%的DMSO,所有存在的赋形剂的浓度均为190mM。测试了仅有组氨酸的制剂,没有添加额外的赋形剂。测试的赋形剂有:带正电荷的氨基酸赖氨酸HCl (Lys HCl) 和精氨酸HCl (Arg HCl); 疏水氨基酸脯氨酸;带负电荷的氨基酸谷氨酸(作为谷氨酸钠);硫酸钠(Na₂SO₄) 和氯化钠(NaCl) 盐;以及助溶剂二甲基亚砷(DMSO)。赋形剂筛选的结果显示在图4中。从图4中可以看出,与其他赋形剂相比,ArgHCl在蛋白质浓度为150mg/mL时,黏度明显下降。

[0209] c) 测定不同ArgHCl浓度的黏度

[0210] 对制剂进行了不同浓度的ArgHCl赋形剂的黏度影响测试,以确定ArgHCl的合适浓度。所测试的制剂在20mM的His/HisHCl 0.02%的PS80中的MEDI5884浓度为145、165或175mg/mL,并指明了ArgHCl的浓度。制剂的pH值为6.0,在18°C下进行测试。该黏度筛选的结果显示在图5中。从图5可以看出,将Arg HCl浓度从220mM增加到250mM,MEDI5884的黏度没有明显下降。

[0211] d) pH值稳健性筛选

[0212] 针对pH值变化的影响对制剂进行了测试。所测试的制剂在20mM的His/HisHCl和220mM的ArgHCl,在His或醋酸缓冲剂中,在所指pH值中的MEDI5884浓度为165mg/mL。测试是在18°C下进行的。图6显示了pH值稳健性筛选的结果。从图6可以看出,在MEDI5884浓度为165mg/mL时,pH值6.0±0.5对黏度没有重大影响。

[0213] e) 测定不同MEDI5884浓度下的黏度

[0214] 在自动注射器递送系统中可能需要使用浓度大于100mg/mL的MEDI5884的制剂。进行这项黏度研究是为了确定制剂中MEDI5884的合适浓度。在20mM的His/His-HCl、220mM的Arg-HCl、0.02% (w/v) 的PS80、pH 6.0中,测试了具有不同浓度的MEDI5884的制剂的黏度和滑力(GF),MEDI5884的浓度分别为135、150和165mg/mL。18°C时的黏度用实施例3中描述的方法测量。使用Instron的含有该制剂的预填充注射器(PFS)在18°C时也测量了滑力。结果显示在表13中。

[0215] 表13.黏度和滑力结果

蛋 白 质 浓 度 (mg/mL)	18°C 时的黏度(cP)(在 1000 秒 ⁻¹)	18°C 时的平均值 GF (N)	
		1mL PFS	2mL PFS
135	12.8	9.3	18.8
150	21.8	11.9	28.1
165	36.8	16.4	42.8

[0217] 目前1mL预填充注射器(PFS)的平均值GF极限=20N;GF=滑力;n=10,用于平均GF的测量。

[0218] f) 药物产品的稳定性研究

[0219] 使用实施例3中描述的稳定性研究方法测试药物产品(DP)制剂的稳定性。由于靶制剂具有MEDI5884浓度为125mg/mL,因此使用了110mg/mL和140mg/mL的包围浓度。每个制剂都有20mM的组氨酸/组氨酸-HCl、220mM的Arg-HCl和0.02% (w/v) 的PS80,pH值为6.0。研究是在5°C下进行16个月,25°C下进行6个月,40°C下进行3个月。测量了每个月的单体损失率、每个月的聚合百分比和每个月的片段化率。结果显示在下面的表14中。

[0220] 表14-稳定性研究总结

制 剂 (靶 125mg/mL)	稳定性研究	单体损失率 (%) /月	%聚合/月	%片段/月
140mg/mL 的 MEDI5884	5°C, 16M	0.0	0.0	0.0
	25°C, 6M	0.06	0.04	0.02
	40°C, 3M	1.8	1.6	0.2
110mg/mL 的 MEDI5884	5°C, 16M	0.01	0.01	0.0
	25°C, 6M	0.05	0.03	0.02
	40°C, 3M	1.6	1.4	0.2

[0222] 从表14中可以看出,在2-8℃,16个月后单体纯度没有明显变化,在25℃和40℃下的聚集率和片段化率都很低。

[0223] 对于相关领域的普通技术人员来说,很容易看出,在不脱离任何实施方案的范围的情况下,可以对本文所述的方法和应用进行其他适当的修改和调整。上述实施例只是为了说明阐明的目的,并不意味着是限制性的。

[0224] 应该理解的是,虽然本文已经阐明和描述了某些实施方案,但权利要求书并不限于所描述和显示的具体形式或部分的排列。在说明书中,已经公开了阐明性的实施方案,虽然采用了特定的术语,但它们只是在通用和描述性的意义上使用,而不是为了限制的目的。根据上述教导,实施方案的修改和变化是可能的。因此,应当理解,本发明的实施方案可以按照具体描述的方式以外的方式实施。

[0225] 虽然上面已经描述了各种实施方案,但应该理解,它们只是作为本技术的阐释和实施例,而不是以限制的方式提出。对相关领域的技术人员来说,显然可以在不背离本技术的精神和范围的情况下对其进行形式和细节的各种改变。因此,本技术的广度和范围不应受到上述任何实施方案的限制,而应仅根据所附的权利要求书及其类似物来限定。还应理解的是,本文讨论的每个实施方案的每个特点,以及本文引用的每个参考文献的每个特点,都可以与任何其他实施方案的特点结合使用。本文讨论的所有专利和出版物都通过引用而整体并入本文。

[0226] 序列

SEQ ID NO	抗体区	序列
1	HCDR1	Asn Tyr Ala Leu Asn
2	HCDR2	Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Gly Thr Tyr Ala Gly Glu Phe Lys Gly
3	HCDR3	Arg Gly Phe Tyr Gly Arg Arg Phe Phe Asp Val
4	VH	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Ala Leu Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Gly Thr Tyr Ala Gly Glu Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Phe Tyr Gly Arg Arg Phe Phe Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
5	LCDR1	Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Val Asp Ser Tyr Met His
6	LCDR2	Ala Ala Ser Asn Leu Ala Ser
7	LCDR3	Gln Gln Thr Ile Glu Asp Pro Pro Thr
8	VL	Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Val Asp Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Ile Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
9	全长重链	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Ala Leu Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Gly Thr Tyr

[0227]

		Ala Gly Glu Phe Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Phe Tyr Gly Arg Arg Phe Phe Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
10	全长轻链	Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Val Asp Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Ile Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

[0228]

		Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
11	人 IgG4P 重链恒定 区序列	Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
12	人 C κ 轻 链恒定区 序列 ce	Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
13	成熟人内 皮脂肪酶	Ser Pro Val Pro Phe Gly Pro Glu Gly Arg Leu Glu Asp Lys Leu His Lys Pro Lys Ala Thr Gln Thr Glu Val Lys Pro Ser Val Arg Phe Asn Leu Arg Thr Ser Lys Asp Pro Glu His Glu Gly Cys Tyr Leu Ser Val Gly His

[0229]

(缺乏前导序列):	Ser	Gln	Pro	Leu	Glu	Asp	Cys	Ser	Phe	Asn
	Met	Thr	Ala	Lys	Thr	Phe	Phe	Ile	Ile	His
	Gly	Trp	Thr	Met	Ser	Gly	Ile	Phe	Glu	Asn
	Trp	Leu	His	Lys	Leu	Val	Ser	Ala	Leu	His
	Thr	Arg	Glu	Lys	Asp	Ala	Asn	Val	Val	Val
	Val	Asp	Trp	Leu	Pro	Leu	Ala	His	Gln	Leu
	Tyr	Thr	Asp	Ala	Val	Asn	Asn	Thr	Arg	Val
	Val	Gly	His	Ser	Ile	Ala	Arg	Met	Leu	Asp
	Trp	Leu	Gln	Glu	Lys	Asp	Asp	Phe	Ser	Leu
	Gly	Asn	Val	His	Leu	Ile	Gly	Tyr	Ser	Leu
	Gly	Ala	His	Val	Ala	Gly	Tyr	Ala	Gly	Asn
	Phe	Val	Lys	Gly	Thr	Val	Gly	Arg	Ile	Thr
	Gly	Leu	Asp	Pro	Ala	Gly	Pro	Met	Phe	Glu
	Gly	Ala	Asp	Ile	His	Lys	Arg	Leu	Ser	Pro
	Asp	Asp	Ala	Asp	Phe	Val	Asp	Val	Leu	His
	Thr	Tyr	Thr	Arg	Ser	Phe	Gly	Leu	Ser	Ile
	Gly	Ile	Gln	Met	Pro	Val	Gly	His	Ile	Asp
	Ile	Tyr	Pro	Asn	Gly	Gly	Asp	Phe	Gln	Pro
	Gly	Cys	Gly	Leu	Asn	Asp	Val	Leu	Gly	Ser
	Ile	Ala	Tyr	Gly	Thr	Ile	Thr	Glu	Val	Val
	Lys	Cys	Glu	His	Glu	Arg	Ala	Val	His	Leu
	Phe	Val	Asp	Ser	Leu	Val	Asn	Gln	Asp	Lys
	Pro	Ser	Phe	Ala	Phe	Gln	Cys	Thr	Asp	Ser
	Asn	Arg	Phe	Lys	Lys	Gly	Ile	Cys	Leu	Ser
	Cys	Arg	Lys	Asn	Arg	Cys	Asn	Ser	Ile	Gly
	Tyr	Asn	Ala	Lys	Lys	Met	Arg	Asn	Lys	Arg
	Asn	Ser	Lys	Met	Tyr	Leu	Lys	Thr	Arg	Ala
	Gly	Met	Pro	Phe	Arg	Val	Tyr	His	Tyr	Gln
	Met	Lys	Ile	His	Val	Phe	Ser	Tyr	Lys	Asn
	Met	Gly	Glu	Ile	Glu	Pro	Thr	Phe	Tyr	Val
	Thr	Leu	Tyr	Gly	Thr	Asn	Ala	Asp	Ser	Gln
	Thr	Leu	Pro	Leu	Glu	Ile	Val	Glu	Arg	Ile
	Glu	Gln	Asn	Ala	Thr	Asn	Thr	Phe	Leu	Val
	Tyr	Thr	Glu	Glu	Asp	Leu	Gly	Asp	Leu	Leu
	Lys	Ile	Gln	Leu	Thr	Trp	Glu	Gly	Ala	Ser
	Gln	Ser	Trp	Tyr	Asn	Leu	Trp	Lys	Glu	Phe
	Arg	Ser	Tyr	Leu	Ser	Gln	Pro	Arg	Asn	Pro
	Gly	Arg	Glu	Leu	Asn	Ile	Arg	Arg	Ile	Arg
	Val	Lys	Ser	Gly	Glu	Thr	Gln	Arg	Lys	Leu
	Thr	Phe	Cys	Thr	Glu	Asp	Pro	Glu	Asn	Thr
	Ser	Ile	Ser	Pro	Gly	Arg	Glu	Leu	Trp	Phe
	Arg	Lys	Cys	Arg	Asp	Gly	Trp	Arg	Met	Lys
	Asn	Glu	Thr	Ser	Pro	Thr	Val	Glu	Leu	Pro

[0230] HCDR=重链互补决定区

[0231] VH=重链可变域

[0232] LCDR=轻链互补决定区

[0233] VL=轻链可变域

序列表

<110> 麦迪穆医学免疫有限责任公司

PATEL, Sajal Manubhai et al.

<120> 抗内皮脂肪酶抗体的制剂

<130> 0098-0047W01

<150> US 62/980,658

<151> 2020-02-24

<160> 13

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH CDR1

<400> 1

Asn Tyr Ala Leu Asn

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH CDR2

<400> 2

Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Gly Thr Tyr Ala Gly Glu Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH CDR3

<400> 3

Arg Gly Phe Tyr Gly Arg Arg Phe Phe Asp Val

1 5 10

<210> 4

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 重链序列

<400> 4

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ser	Glu	Leu	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asn	Tyr
			20					25					30		
Ala	Leu	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35					40					45			
Gly	Trp	Ile	Asn	Thr	Tyr	Ser	Gly	Val	Gly	Thr	Tyr	Ala	Gly	Glu	Phe
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Val	Phe	Ser	Leu	Asp	Thr	Ser	Val	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75				80	
Leu	Gln	Ile	Ser	Ser	Leu	Lys	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Arg	Gly	Phe	Tyr	Gly	Arg	Arg	Phe	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Lys
			100					105					110		
Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
			115				120								

<210> 5

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL CDR1

<400> 5

Lys	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Asp	Tyr	Asp	Val	Asp	Ser	Tyr	Met	His
1				5					10				15	

<210> 6

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VL CDR2

<400> 6

Ala Ala Ser Asn Leu Ala Ser

1 5
 <210> 7
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> VL CDR3
 <400> 7
 Gln Gln Thr Ile Glu Asp Pro Pro Thr
 1 5
 <210> 8
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 轻链序列
 <400> 8
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
 20 25 30
 Val Asp Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Ile
 85 90 95
 Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 9
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 全长重链
 <400> 9
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala

1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr			
20	25	30	
Ala Leu Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
35	40	45	
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Gly Thr Tyr Ala Gly Glu Phe			
50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Arg Gly Phe Tyr Gly Arg Arg Phe Phe Asp Val Trp Gly Lys			
100	105	110	
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val			
115	120	125	
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala			
130	135	140	
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser			
145	150	155	160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val			
165	170	175	
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro			
180	185	190	
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys			
195	200	205	
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro			
210	215	220	
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val			
225	230	235	240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			
245	250	255	
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu			
260	265	270	
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
275	280	285	
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser			
290	295	300	
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys			
305	310	315	320

Asp	Ile	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1			5			10			15						
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Asp	Tyr	Asp
20			25			30									
Val	Asp	Ser	Tyr	Met	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro
35			40			45									
Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Ala	Ala	Ser	Asn	Leu	Ala	Ser	Gly	Val	Pro	Ser
50			55			60									
Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Phe	Thr	Ile	Ser
65			70			75			80						
Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Thr	Ile
85			90			95									
Glu	Asp	Pro	Pro	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg
100			105			110									
Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln
115			120			125									

Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr
130						135				140					
Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser
145					150					155					160
Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr
				165					170					175	
Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys
			180					185					190		
His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro
	195						200					205			
Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys						
210						215									
<210>	11														
<211>	327														
<212>	PRT														
<213>	智人														
<400>	11														
Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg
1			5					10					15		
Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
			35				40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
	50					55					60				
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr
65					70					75					80
Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
			85						90					95	
Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
			100					105					110		
Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
			115				120						125		
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
			130			135					140				
Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
145					150					155					160
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe
				165					170					175	

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp		
180	185	190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu		
195	200	205
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg		
210	215	220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys		
225	230	235
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp		
245	250	255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys		
260	265	270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser		
275	280	285
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser		
290	295	300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser		
305	310	315
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys		
325		

<210> 12

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人

<400> 12

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

<210> 13

<211> 480

<212> PRT

<213> 智人

<400> 13

```

Ser Pro Val Pro Phe Gly Pro Glu Gly Arg Leu Glu Asp Lys Leu His
1          5          10          15
Lys Pro Lys Ala Thr Gln Thr Glu Val Lys Pro Ser Val Arg Phe Asn
          20          25          30
Leu Arg Thr Ser Lys Asp Pro Glu His Glu Gly Cys Tyr Leu Ser Val
          35          40          45
Gly His Ser Gln Pro Leu Glu Asp Cys Ser Phe Asn Met Thr Ala Lys
          50          55          60
Thr Phe Phe Ile Ile His Gly Trp Thr Met Ser Gly Ile Phe Glu Asn
65          70          75          80
Trp Leu His Lys Leu Val Ser Ala Leu His Thr Arg Glu Lys Asp Ala
          85          90          95
Asn Val Val Val Val Asp Trp Leu Pro Leu Ala His Gln Leu Tyr Thr
          100          105          110
Asp Ala Val Asn Asn Thr Arg Val Val Gly His Ser Ile Ala Arg Met
          115          120          125
Leu Asp Trp Leu Gln Glu Lys Asp Asp Phe Ser Leu Gly Asn Val His
          130          135          140
Leu Ile Gly Tyr Ser Leu Gly Ala His Val Ala Gly Tyr Ala Gly Asn
145          150          155          160
Phe Val Lys Gly Thr Val Gly Arg Ile Thr Gly Leu Asp Pro Ala Gly
          165          170          175
Pro Met Phe Glu Gly Ala Asp Ile His Lys Arg Leu Ser Pro Asp Asp
          180          185          190
Ala Asp Phe Val Asp Val Leu His Thr Tyr Thr Arg Ser Phe Gly Leu
          195          200          205
Ser Ile Gly Ile Gln Met Pro Val Gly His Ile Asp Ile Tyr Pro Asn
          210          215          220
Gly Gly Asp Phe Gln Pro Gly Cys Gly Leu Asn Asp Val Leu Gly Ser
225          230          235          240
Ile Ala Tyr Gly Thr Ile Thr Glu Val Val Lys Cys Glu His Glu Arg
          245          250          255
Ala Val His Leu Phe Val Asp Ser Leu Val Asn Gln Asp Lys Pro Ser
          260          265          270

```

Phe	Ala	Phe	Gln	Cys	Thr	Asp	Ser	Asn	Arg	Phe	Lys	Lys	Gly	Ile	Cys	275	280	285	
Leu	Ser	Cys	Arg	Lys	Asn	Arg	Cys	Asn	Ser	Ile	Gly	Tyr	Asn	Ala	Lys	290	295	300	
Lys	Met	Arg	Asn	Lys	Arg	Asn	Ser	Lys	Met	Tyr	Leu	Lys	Thr	Arg	Ala	305	310	315	320
Gly	Met	Pro	Phe	Arg	Val	Tyr	His	Tyr	Gln	Met	Lys	Ile	His	Val	Phe	325	330	335	
Ser	Tyr	Lys	Asn	Met	Gly	Glu	Ile	Glu	Pro	Thr	Phe	Tyr	Val	Thr	Leu	340	345	350	
Tyr	Gly	Thr	Asn	Ala	Asp	Ser	Gln	Thr	Leu	Pro	Leu	Glu	Ile	Val	Glu	355	360	365	
Arg	Ile	Glu	Gln	Asn	Ala	Thr	Asn	Thr	Phe	Leu	Val	Tyr	Thr	Glu	Glu	370	375	380	
Asp	Leu	Gly	Asp	Leu	Leu	Lys	Ile	Gln	Leu	Thr	Trp	Glu	Gly	Ala	Ser	385	390	395	400
Gln	Ser	Trp	Tyr	Asn	Leu	Trp	Lys	Glu	Phe	Arg	Ser	Tyr	Leu	Ser	Gln	405	410	415	
Pro	Arg	Asn	Pro	Gly	Arg	Glu	Leu	Asn	Ile	Arg	Arg	Ile	Arg	Val	Lys	420	425	430	
Ser	Gly	Glu	Thr	Gln	Arg	Lys	Leu	Thr	Phe	Cys	Thr	Glu	Asp	Pro	Glu	435	440	445	
Asn	Thr	Ser	Ile	Ser	Pro	Gly	Arg	Glu	Leu	Trp	Phe	Arg	Lys	Cys	Arg	450	455	460	
Asp	Gly	Trp	Arg	Met	Lys	Asn	Glu	Thr	Ser	Pro	Thr	Val	Glu	Leu	Pro	465	470	475	480

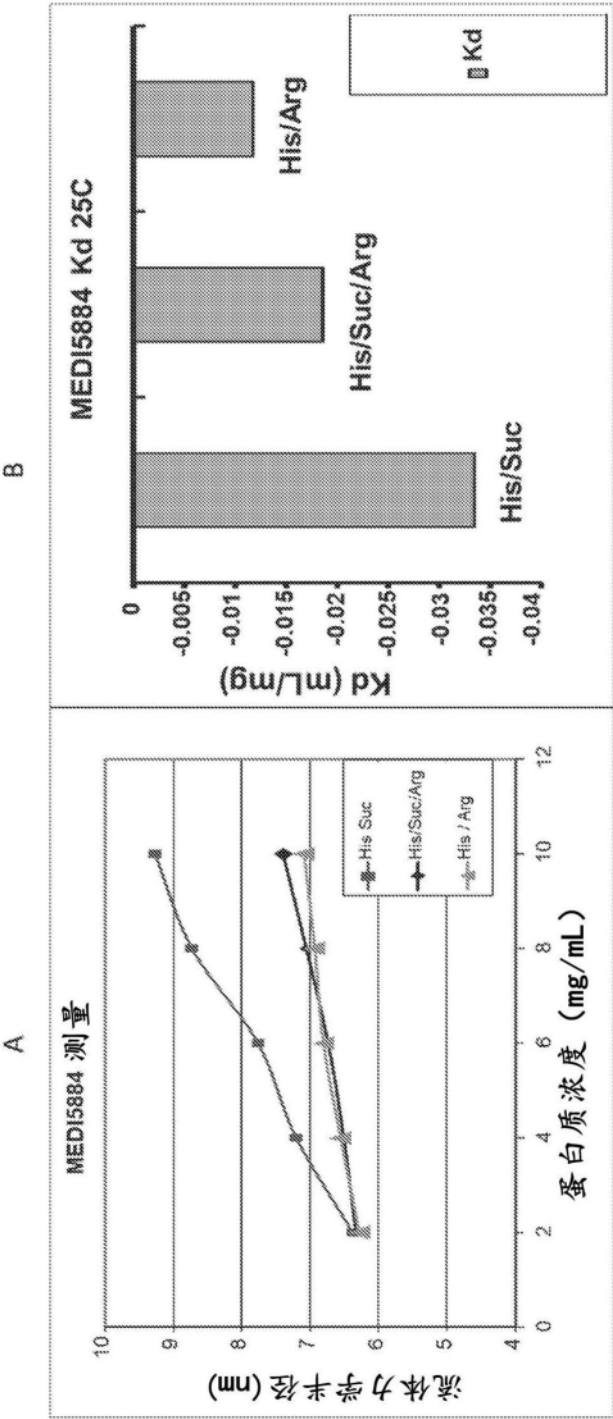


图1

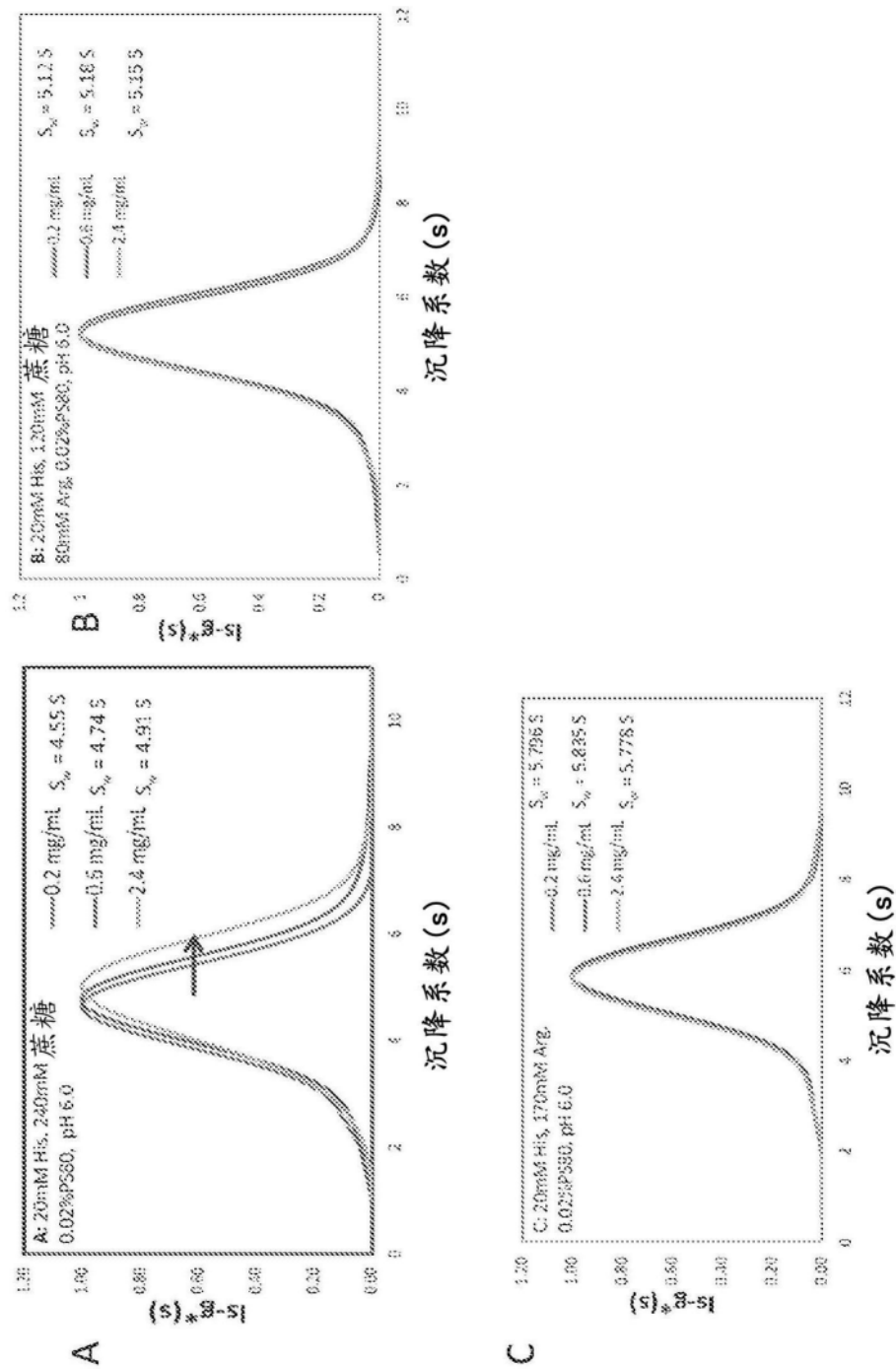
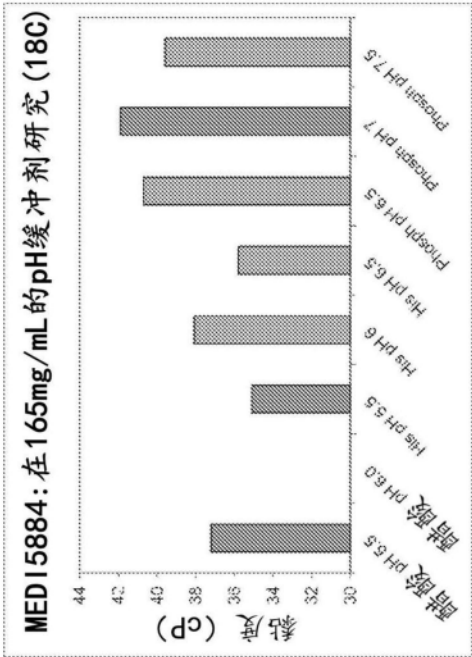


图2

B



A

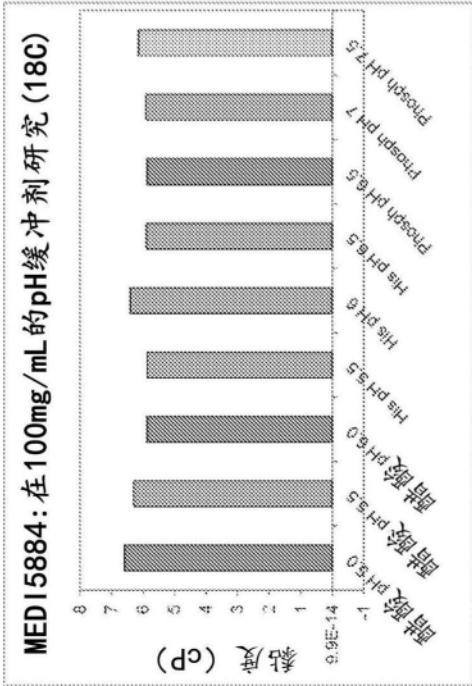


图3

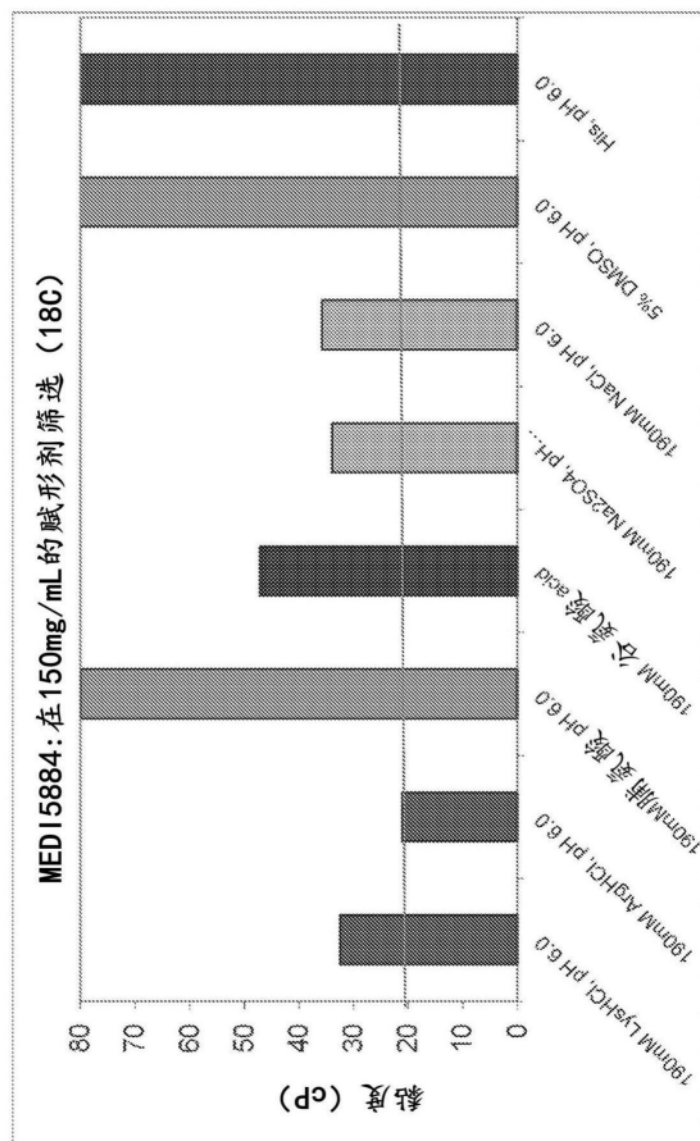


图4

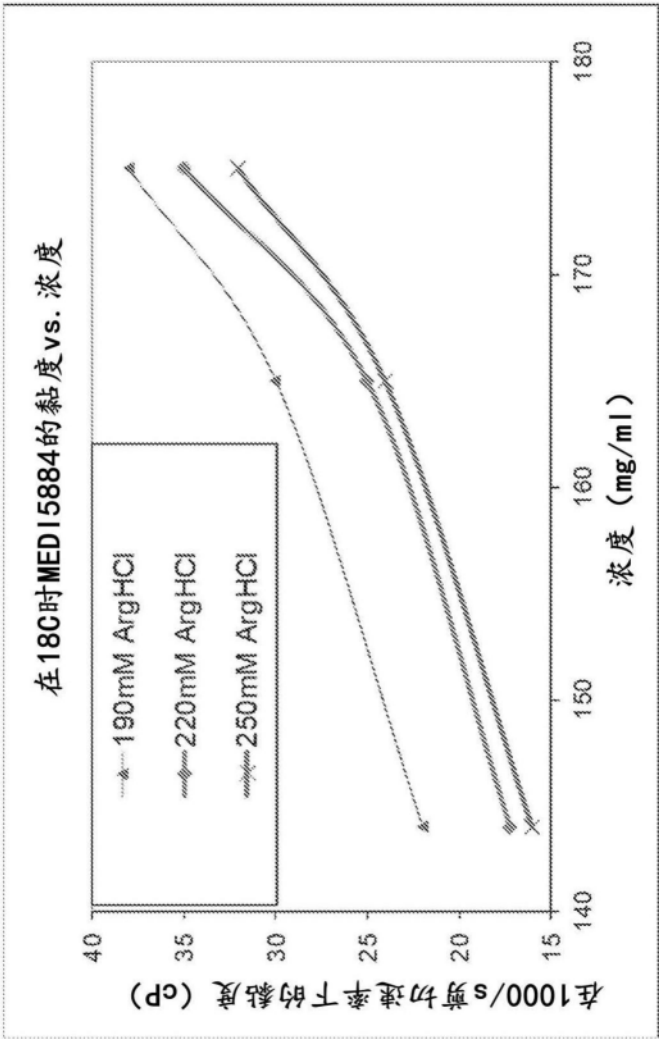


图5

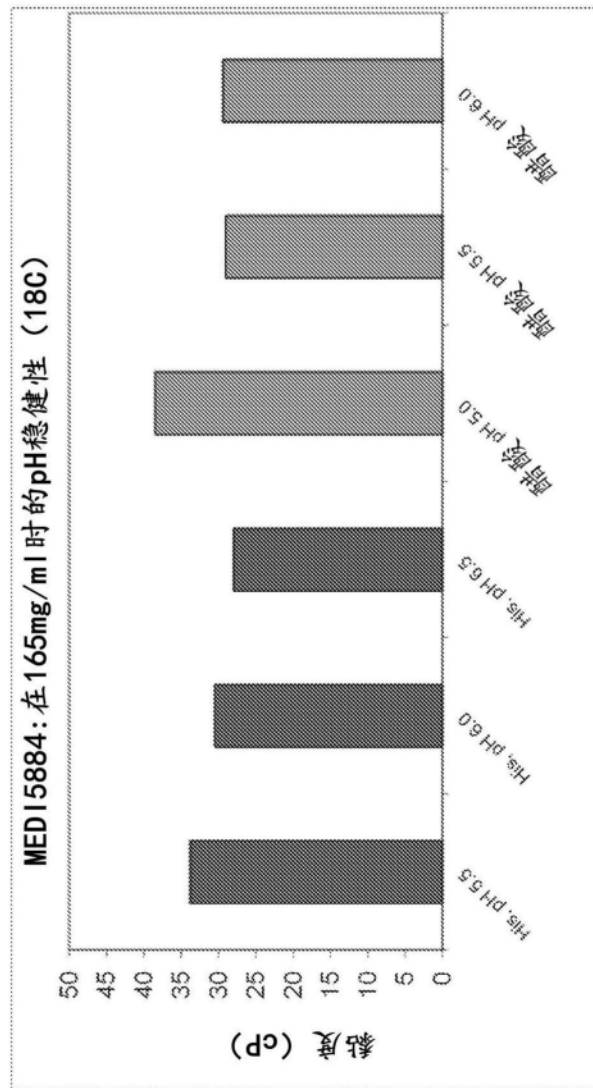


图6