(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 112020365 A
(43)申请公布日 2020.12.01

(21)申请号 201980022499.7

(22)申请日 2019.01.25

(30)优先权数据
62/622,704 2018.01.26 US
62/697,372 2018.07.12 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.09.25

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/015268 2019.01.25

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/148020 EN 2019.08.01

(71)申请人 豪夫迈·罗氏有限公司
地址 瑞士巴塞尔

(72)发明人 B·卡巴科夫 C·王曼赛

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
代理人 宋卫霞 黄革生

(51)Int.Cl.
A61K 38/00(2006.01)
A61K 9/00(2006.01)
A61K 47/10(2006.01)
A61K 47/18(2006.01)
A61K 47/26(2006.01)

权利要求书3页 说明书101页
序列表54页 附图13页

(54)发明名称

组合物和使用方法

(57)摘要

本发明涉及组合物(例如,药物组合物),其包含,例如,IL-22 Fc融合蛋白,制备所述组合物的方法,使用所述组合物的方法,例如用于治疗疾病(例如,IBD)的方法。

CN 112020365 A

1.包含白介素(IL)-22Fc融合蛋白和载体的药物组合物,其中所述药物组合物当在5℃±3℃储存并避光时具有至少36个月的储存期,且其中所述IL-22Fc融合蛋白包含通过接头与Fc区连接的IL-22多肽。

2.权利要求1的药物组合物,其中IL-22Fc融合蛋白的浓度为约0.5mg/mL至约20mg/mL。

3.权利要求1或2的药物组合物,其还包含:

(i)稳定剂;

(ii)表面活性剂;

(iii)缓冲剂;和/或

(iv)张度剂。

4.权利要求3的药物组合物,其中:

(i)稳定剂是氨基酸、硫代山梨糖醇、抗坏血酸、一硫代甘油、环糊精、Trolox(6-羟基-2,5,7,8-四甲基苯并二氢吡喃-2-甲酸)、吡哆素、甘露醇、金属螯合剂或其组合;和/或

(ii)稳定剂的浓度为约1mM至约10mM,特别是约5mM。

5.权利要求4的药物组合物,其中所述氨基酸是甲硫氨酸、半胱氨酸、色氨酸或其组合。

6.权利要求1-5中任一项的药物组合物,其中SEQ ID NO:4的M25或M139位的甲硫氨酸的氧化小于10%,其通过AAPH应力所测定。

7.权利要求3-6中任一项的药物组合物,其中所述表面活性剂是非离子表面活性剂。

8.权利要求7的药物组合物,其中:

(i)非离子表面活性剂是聚山梨酯、泊洛沙姆、聚氧乙烯烷基醚、烷基苯基聚氧乙烯醚或其组合;和/或

(ii)表面活性剂的浓度为约0.001%(w/v)至约0.1%(w/v),特别是约0.02%(w/v)。

9.权利要求8的药物组合物,其中:(i)聚山梨酯是聚山梨酯20或聚山梨酯80或(ii)泊洛沙姆是泊洛沙姆188。

10.权利要求3-9中任一项的药物组合物,其中所述缓冲剂是磷酸盐、琥珀酸盐、乙酸盐、组氨酸或其组合。

11.权利要求10的药物组合物,其中:

(i)所述磷酸盐是磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、磷酸三钠、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、磷酸三钾或其混合物;和/或

(ii)缓冲剂的浓度为约5mM至约20mM,特别是约10mM。

12.权利要求3-11中任一项的药物组合物,其中所述张度剂是糖、氨基酸或盐。

13.权利要求12的药物组合物,其中:

(i)所述糖是蔗糖、葡萄糖、甘油或海藻糖;

(ii)所述盐是氯化钠或氯化钾;和/或

(iii)所述张度剂的浓度为约100mM至约500mM,特别是约240mM。

14.权利要求1-13中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物具有约6.6至约8的pH。

15.权利要求14的药物组合物,其中所述药物组合物具有约7.1的pH。

16.包含IL-22Fc融合蛋白和载体的药物组合物,所述IL-22Fc融合蛋白包含通过接头与Fc区连接的IL-22多肽,其中所述药物组合物包含约1mg/mL至约10mg/mL IL-22Fc融合蛋白、约5mM甲硫氨酸和约0.02%(w/v)聚山梨酯20,pH 7.1,最终浓度。

17.权利要求16的药物组合物,其中:

(i)所述药物组合物还包含约10mM磷酸钠和约240mM蔗糖;

(ii)所述药物组合物包含约1mg/mL或约10mg/mL IL-22Fc融合蛋白;和/或

(iii)所述磷酸钠是磷酸二氢钠和磷酸氢二钠的混合物。

18.权利要求1-17中任一项的药物组合物,其中:

(i)所述药物组合物是单位剂型;

(ii)所述载体是水;

(iii)所述药物组合物在一个或多个冻融循环中是稳定的;

(iv)所述药物组合物在约25℃稳定约2周或更长;

(v)所述药物组合物在-20℃稳定约48个月或更长时间;

(vi)所述药物组合物具有约85%或更高的纯度,其通过尺寸排阻高效液相色谱(SE-HPLC)所评估;

(vii)所述药物组合物具有约75%或更高的纯度,其通过非还原(NR)毛细管电泳十二烷基硫酸钠非凝胶筛分(CE-SDS-NGS)所评估;

(viii)所述药物组合物被配制成用于静脉内、皮下、腹膜内或局部施用;

(ix)所述药物组合物不含防腐剂;和/或

(x)所述药物组合物被配制用于在用等渗氯化钠溶液和/或稀释剂稀释后输注施用。

19.权利要求1-18中任一项的药物组合物,其中:

(i)IL-22多肽是糖基化的;

(ii)Fc区是未糖基化的;

(iii)按照Fc区的EU索引中的位置297的氨基酸残基是Gly或Ala和/或按照Fc区的EU索引中的位置299的氨基酸残基是Ala、Gly或Val;

(iv)Fc区包含IgG1或IgG4的CH2和CH3结构域;和/或

(v)IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。

20.权利要求1-19中任一项的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:16的氨基酸序列或由其组成。

21.包含IL-22Fc融合蛋白和载体的药物组合物,所述IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列,其中所述药物组合物包含约5mM甲硫氨酸、约10mM磷酸钠、约240mM蔗糖和约0.02%(w/v)聚山梨酯20,pH 7.1,最终浓度。

22.权利要求1-21中任一项的药物组合物,其还包含另外的治疗剂和/或胶凝剂。

23.权利要求1-22中任一项的药物组合物,其用作药物。

24.权利要求1-22中任一项的药物组合物,其用于

(i)治疗炎性肠病(IBD),

(ii)抑制肠道中微生物感染、在微生物感染期间保留肠道中杯状细胞、增强肠道中的上皮细胞完整性、上皮细胞增殖、上皮细胞分化、上皮细胞迁移或上皮创伤愈合,

(iii)治疗急性肾损伤或急性胰腺炎,

(iv)加速或改善创伤愈合,或

(v)在有需要的对象中预防或治疗心血管病症。

25.在有需要的对象中治疗炎性肠病(IBD)的方法,所述方法包括向对象施用权利要求1-22中任一项的药物组合物。

26.权利要求25的方法,其中IBD是溃疡性结肠炎或克罗恩病。

27.权利要求26的方法,其中所述溃疡性结肠炎是中度至重度溃疡性结肠炎。

28.抑制有需要的对象的肠道中微生物感染、在微生物感染期间保留肠道中杯状细胞、增强肠道中的上皮细胞完整性、上皮细胞增殖、上皮细胞分化、上皮细胞迁移或上皮创伤愈合的方法,所述方法包括向对象施用权利要求1-22中任一项的药物组合物。

29.在有需要的对象中治疗

(i)急性肾损伤或急性胰腺炎;

(ii)心血管病症,其中所述心血管病症包含动脉粥样硬化斑块形成病状;

(iii)代谢综合征;和/或

(iv)急性内毒素血症、脓毒症或二者,的方法,所述方法包括向对象施用权利要求1-22中任一项的药物组合物。

30.在有需要的对象中加速或改善创伤愈合的方法,所述方法包括向对象施用权利要求1-22中任一项的药物组合物。

31.权利要求25-30中任一项的方法,其中:

(i)所述组合物包含约1mg/mL至约10mg/mLIL-22Fc融合蛋白、约10mM磷酸钠、约240mM蔗糖、约5mM甲硫氨酸和约0.02%(w/v)聚山梨酯20,pH 7.1,最终浓度;

(ii)所述药物组合物静脉内、皮下、腹膜内或局部施用;

(iii)所述对象与至少一种另外的治疗剂共同施用;和/或

(iv)所述对象是人。

组合物和使用方法

[0001] 序列表

[0002] 本申请含有序列表,其已经以ASCII格式电子提交并且通过引用其整体内容并入本文中。所述ASCII拷贝,生成于2019年1月24日,命名为50474-177WO3_Sequence_Listing_1.24.19ST25,大小为121,858字节。

发明领域

[0003] 本发明涉及包含蛋白质(例如,IL-22Fc融合蛋白)的组合物(例如,药物组合物),及其制备、纯化和使用方法。

[0004] 发明背景

[0005] 白介素(IL)-22是例如由Th22细胞、NK细胞、淋巴组织诱导(LTi)细胞、树突细胞和Th17细胞产生的细胞因子IL-10家族的成员。IL-22结合到IL-22R1/IL-10R2受体复合物,其在先天细胞(诸如上皮细胞、肝细胞和角化细胞)中并在若干种组织(例如真皮、胰腺、肠和呼吸系统)的屏障上皮组织中表达。

[0006] IL-22在黏膜免疫中起着重要作用,介导针对黏附和脱落细菌病原体的早期宿主防御。IL-22促进抗微生物肽和促炎细胞因子从上皮细胞产生并且刺激肠道中结肠上皮细胞的增殖和迁移。在细菌感染后,IL-22敲除小鼠表现出受损的肠道上皮再生、高细菌负荷和增加的死亡率。同样地,用流感病毒感染IL-22敲除小鼠导致严重的体重减轻和受损的气管和支气管上皮细胞再生。因此,IL-22在抑制微生物感染中起着促炎性作用并在炎症反应中在上皮再生中起着抗炎性保护作用。

[0007] 仍然需要用于治疗炎性肠病(IBD)的改进的组合物和方法,所述炎性肠病包括溃疡性结肠炎和克罗恩病,以及与IL-22相关的其它病症,包括微生物感染、急性肾损伤、急性胰腺炎、创伤、心血管病症、代谢综合征、急性内毒素血症、移植物抗宿主病(GVHD)和脓毒症。

[0008] 发明概述

[0009] 本发明尤其提供了包含IL-22Fc融合蛋白的组合物(例如,药物组合物)和制备和使用它们的方法。

[0010] 在一个方面中,本发明的特征在于包含白介素(IL)-22Fc融合蛋白和载体的药物组合物,其中所述药物组合物当在5℃±3℃储存并避光时具有至少36个月的储存期(shelf life),且其中所述IL-22Fc融合蛋白包含通过接头与Fc区连接的IL-22多肽。在一些实施方案中,所述药物组合物当在5℃±3℃储存并避光时具有至少42个月的储存期。

[0011] 在前述方面的一些实施方案中,IL-22Fc融合蛋白的浓度为约0.5mg/mL至约20mg/mL。在一些实施方案中,IL-22Fc融合蛋白的浓度为约0.5mg/mL至约5mg/mL。在一些实施方案中,IL-22Fc融合蛋白的浓度为约1mg/mL。在一些实施方案中,IL-22Fc融合蛋白的浓度为约8mg/mL至约12mg/mL。在一些实施方案中,IL-22Fc融合蛋白的浓度为约10mg/mL。

[0012] 在前述方面的一些实施方案中,所述药物组合物还包含稳定剂。在一些实施方案中,所述稳定剂是氨基酸,硫代山梨糖醇,抗坏血酸,一硫代甘油,环糊精,Trolox(6-羟基-

2,5,7,8-四甲基苯并二氢吡喃-2-甲酸),吡哆素,甘露醇,金属螯合剂或其组合。在一些实施方案中,所述稳定剂是氨基酸。在一些实施方案中,氨基酸是甲硫氨酸,半胱氨酸,色氨酸或其组合。在一些实施方案中,所述氨基酸是甲硫氨酸。在一些实施方案中,稳定剂的浓度为约1mM至约10mM。在一些实施方案中,稳定剂的浓度为约2mM至约8mM。在一些实施方案中,稳定剂的浓度为约5mM。

[0013] 在前述方面的一些实施方案中,如通过AAPH应力测定SEQ ID NO:4的M25或M139位的甲硫氨酸的氧化小于10%。在一些实施方案中,SEQ ID NO:4的M25位的甲硫氨酸氧化小于5%、小于3%或小于2%。在一些实施方案中,SEQ ID NO:4的M139位的甲硫氨酸氧化小于7%、小于6%或小于5%。

[0014] 在前述方面的一些实施方案中,所述药物组合物还包含表面活性剂。在一些实施方案中,所述表面活性剂是非离子表面活性剂。在一些实施方案中,所述非离子表面活性剂是聚山梨酯、泊洛沙姆、聚氧乙烯烷基醚,烷基苯基聚氧乙烯醚或其组合。在一些实施方案中,所述非离子表面活性剂是聚山梨酯。在一些实施方案中,所述聚山梨酯是聚山梨酯20或聚山梨酯80。在一些实施方案中,所述聚山梨酯是聚山梨酯20。在一些实施方案中,所述非离子表面活性剂是泊洛沙姆。在一些实施方案中,所述非离子表面活性剂是泊洛沙姆188。在一些实施方案中,表面活性剂的浓度为约0.001%(w/v)至约0.1%(w/v)。在一些实施方案中,表面活性剂的浓度为约0.01%(w/v)至约0.05%(w/v)。在一些实施方案中,表面活性剂的浓度为约0.01%(w/v)至约0.07%(w/v)。在一些实施方案中,表面活性剂的浓度为约0.02%(w/v)。在一些实施方案中,聚山梨酯20的浓度为约0.02%(w/v)。

[0015] 在前述方面的一些实施方案中,所述药物组合物还包含缓冲剂。在一些实施方案中,所述缓冲剂是磷酸盐、琥珀酸盐、乙酸盐、组氨酸或其组合。在一些实施方案中,所述缓冲剂是磷酸盐。在一些实施方案中,所述磷酸盐是磷酸二氢钠,磷酸氢二钠,磷酸三钠,磷酸二氢钾,磷酸氢二钾,磷酸三钾或其混合物。在一些实施方案中,所述磷酸盐是磷酸二氢钠。在一些实施方案中,所述磷酸盐是磷酸氢二钠。在一些实施方案中,所述磷酸盐是磷酸二氢钠和磷酸氢二钠的混合物。在一些实施方案中,缓冲剂的浓度为约5mM至约20mM。在一些实施方案中,缓冲剂的浓度为约8mM至约12mM。在一些实施方案中,缓冲剂的浓度为约10mM。

[0016] 在前述方面的一些实施方案中,所述药物组合物还包含张度剂。在一些实施方案中,所述张度剂是糖,氨基酸或盐。在一些实施方案中,所述张度剂是糖。在一些实施方案中,所述糖是蔗糖,葡萄糖,甘油或海藻糖。在一些实施方案中,所述糖是蔗糖。在一些实施方案中,所述张度剂是盐。在一些实施方案中,所述盐是氯化钠或氯化钾。在一些实施方案中,张度剂的浓度为约100mM至约500mM。在一些实施方案中,张度剂的浓度为约200mM至约300mM。在一些实施方案中,张度剂的浓度为约240mM。

[0017] 在前述方面的一些实施方案中,所述药物组合物具有约6.6至约8的pH。在一些实施方案中,所述药物组合物具有约6.8至约7.4的pH。在一些实施方案中,所述药物组合物具有约7.1的pH。

[0018] 在另一个方面,本发明的特征在于包含IL-22Fc融合蛋白和载体的药物组合物,所述IL-22Fc融合蛋白包含通过接头与Fc区连接的IL-22多肽,其中所述药物组合物包含约1mg/mL至约10mg/mL IL-22Fc融合蛋白、约5mM甲硫氨酸和约0.02%(w/v)聚山梨酯20,pH 7.1,终浓度。在一些实施方案中,所述药物组合物还包含约10mM磷酸钠和约240mM蔗糖。在

一些实施方案中,所述药物组合物包含约1mg/mL或约10mg/mL IL-22Fc融合蛋白。在一些实施方案中,所述磷酸钠是磷酸二氢钠和磷酸氢二钠的混合物。

[0019] 在任何前述方面的一些实施方案中,所述药物组合物是单位剂型。在一些实施方案中,所述单位剂型是用于输注的液体制剂。在一些实施方案中,所述用于输注的液体制剂在标称体积小于100mL的容器中提供。在一些实施方案中,用于输注的液体制剂的体积为约1mL至约2mL。在一些实施方案中,用于输注的液体制剂的体积为约1mL。

[0020] 在任何前述方面的一些实施方案中,所述容器中存在的≥10μm的颗粒的数量不超过6000个颗粒。

[0021] 在任何前述方面的一些实施方案中,所述容器中存在的≥25μm的颗粒的数量不超过600个颗粒。

[0022] 在任何前述方面的一些实施方案中,所述载体是水。

[0023] 在任何前述方面的一些实施方案中,所述药物组合物在一个或多个冻融循环中是稳定的。

[0024] 在一些实施方案中,所述药物组合物在三个冻融循环中是稳定的。

[0025] 在任何前述方面的一些实施方案中,所述药物组合物在约25℃稳定约2周或更长。在一些实施方案中,所述药物组合物在约25℃稳定约4周或更长时间。

[0026] 在任何前述方面的一些实施方案中,所述药物组合物在-20℃稳定约48个月或更长时间。在一些实施方案中,所述药物组合物在-20℃稳定约60个月或更长时间。

[0027] 在任何前述方面的一些实施方案中,所述药物组合物具有约85%或更高的纯度,如通过尺寸排阻高效液相色谱(SE-HPLC)所评估。在一些实施方案中,所述药物组合物具有约90%或更高的纯度,如通过SE-HPLC所评估。在一些实施方案中,所述药物组合物具有约95%或更高的纯度,如通过SE-HPLC所评估。在一些实施方案中,所述药物组合物具有约95%或更高的纯度,如在约5℃约36个月或更长时间通过SE-HPLC所评估。在一些实施方案中,所述药物组合物具有约95%或更高的纯度,如在约5℃约42个月或更长时间通过SE-HPLC所评估。在一些实施方案中,所述药物组合物具有约95%或更高的纯度,如在约5℃约42个月通过SE-HPLC所评估。

[0028] 在任何前述方面的一些实施方案中,所述药物组合物具有约75%或更高的纯度,如通过毛细管电泳十二烷基硫酸钠非凝胶筛分(CE-SDS-NGS)(例如,非还原(NR)CE-SDS-NGS)所评估。在一些实施方案中,所述药物组合物具有约80%或更高的纯度,如通过CE-SDS-NGS(例如,NR CE-SDS-NGS)所评估。在一些实施方案中,所述药物组合物具有约85%或更高的纯度,如通过CE-SDS-NGS(例如,NR CE-SDS-NGS)所评估。在一些实施方案中,所述药物组合物具有约85%或更高的纯度,如在约5℃约36个月或更长时间通过CE-SDS-NGS(例如,NR CE-SDS-NGS)所评估。在一些实施方案中,所述药物组合物具有约85%或更高的纯度,如在约5℃约42个月或更长时间通过CE-SDS-NGS(例如,NR CE-SDS-NGS)所评估。在一些实施方案中,所述药物组合物具有约85%或更高的纯度,如在约5℃约42个月通过CE-SDS-NGS所评估。在任何前述实施方案中,CE-SDS-NGS可以是NR CE-SDS-NGS。

[0029] 在任何前述方面的一些实施方案中,药物组合物被配制用于静脉内,皮下,腹膜内或局部施用。在一些实施方案中,药物组合物被配制用于静脉内施用。在一些实施方案中,药物组合物被配制用于皮下施用。

[0030] 在任何前述方面的一些实施方案中，所述药物组合物不含防腐剂。在一些实施方案中，药物组合物被配制用于在用等渗氯化钠溶液和/或稀释剂稀释后输注施用。在一些实施方案中，药物组合物被配制用于在用等渗氯化钠溶液稀释后输注施用。在一些实施方案中，药物组合物被配制用于在用稀释剂稀释后输注施用。在一些实施方案中，药物组合物被配制用于在用等渗氯化钠溶液和稀释剂稀释后输注施用。在一些实施方案中，所述等渗氯化钠溶液包含约0.1％至约2％NaCl。在一些实施方案中，所述等渗氯化钠溶液包含约0.5％至约1.5％NaCl。在一些实施方案中，所述等渗氯化钠溶液包含约0.9％(w/v)NaCl。在一些实施方案中，所述稀释剂包含缓冲剂、张度剂和表面活性剂。在一些实施方案中，所述稀释剂包含约10mM磷酸钠、约240mM蔗糖、约0.02％(w/v)聚山梨酯20，pH7.1，终浓度。

[0031] 在任何前述方面的一些实施方案中，IL-22多肽是糖基化的。在一些实施方案中，IL-22多肽是N-糖基化的。在一些实施方案中，所述Fc区是未糖基化的。在一些实施方案中，按照Fc区的EU索引中的位置297的氨基酸残基是甘氨酸(Gly)。在一些实施方案中，按照Fc区的EU索引中的位置297的氨基酸残基是丙氨酸(Ala)。在一些实施方案中，按照Fc区的EU索引中的位置299的氨基酸残基是Ala、Gly或缬氨酸(Val)。

[0032] 在任何前述方面的一些实施方案中，Fc区包含IgG1或IgG4的CH2和CH3结构域。在一些实施方案中，Fc区包含IgG4的CH2和CH3结构域。

[0033] 在任何前述方面的一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少95％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少96％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少97％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少98％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少99％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:16的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白由SEQ ID NO:8的氨基酸序列组成。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白由SEQ ID NO:10的氨基酸序列组成。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白由SEQ ID NO:16的氨基酸序列组成。在一些实施方案中，所述Fc区不是N-糖基化的。

[0034] 在任何前述方面的一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白是二聚IL-22Fc融合蛋白。在任何前述方面的其他实施方案中，所述IL-22Fc融合蛋白是单体IL-22Fc融合蛋白。

[0035] 在任何前述方面的一些实施方案中，IL-22多肽是人IL-22多肽。在一些实施方案中，IL-22多肽包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列。

[0036] 在任何前述方面的一些实施方案中，接头包含氨基酸序列RVESKYGPP(SEQ ID NO:44)。在一些实施方案中，接头由氨基酸序列RVESKYGPP(SEQ ID NO:44)组成。

[0037] 在另一个方面，本发明的特征在于包含IL-22Fc融合蛋白和载体的药物组合物，所述IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列，其中所述药物组合物包含约5mM甲硫氨酸、约10mM磷酸钠、约240mM蔗糖和约0.02％(w/v)聚山梨酯20，pH 7.1，终浓度。

[0038] 在任何前述方面的一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白结合IL-22受体。在一些实施方案中，IL-22受体是人IL-22受体。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白结合IL-22R1和/或IL-10R2。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白结合IL-22R1。在一些实施方案中，所述人IL-22受体包含由IL-22R1多肽和IL-10R2多肽组成的异二聚体。在一些实施方案中，所述IL-22R1多肽包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列，且IL-10R2多肽包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列。

[0039] 在任何前述方面的一些实施方案中，所述药物组合物还包含另外的治疗剂。

[0040] 在任何前述方面的一些实施方案中，所述药物组合物还包含胶凝剂。在一些实施方案中，所述胶凝剂是多糖。在一些实施方案中，所述胶凝剂是纤维素物质。在一些实施方案中，所述胶凝剂是甲基纤维素，羟乙基纤维素，羧甲基纤维素，羟丙基纤维素，POE-POP嵌段聚合物，藻酸盐，透明质酸，聚丙烯酸，羟乙基甲基纤维素或羟丙基甲基纤维素。在一些实施方案中，所述胶凝剂是羟丙基甲基纤维素。在一些实施方案中，所述药物制剂用于局部施用。

[0041] 在任何前述方面的一些实施方案中，所述药物组合物用作药物。

[0042] 在另一个方面，本发明的特征在于在有需要的对象中治疗炎性肠病(IBD)的方法，所述方法包括向对象施用本文所述的任何药物组合物。在一些实施方案中，IBD是溃疡性结肠炎或克罗恩病。在一些实施方案中，IBD是溃疡性结肠炎。在一些实施方案中，所述溃疡性结肠炎是中度至重度溃疡性结肠炎。在一些实施方案中，IBD是克罗恩病。

[0043] 在另一个方面，本发明的特征在于抑制有需要的对象的肠道中微生物感染、在微生物感染期间保留肠道中杯状细胞、增强肠道中的上皮细胞完整性、上皮细胞增殖、上皮细胞分化、上皮细胞迁移或上皮创伤愈合的方法，所述方法包括向对象施用本文所述的任何药物组合物。在一些实施方案中，所述上皮细胞是肠上皮细胞。

[0044] 在另一个方面，本发明的特征在于在有需要的对象中治疗急性肾损伤或急性胰腺炎的方法，所述方法包括向对象施用本文所述的任何药物组合物。

[0045] 在另一个方面，本发明的特征在于在有需要的对象中加速或改善创伤愈合的方法，所述方法包括向对象施用本文所述的任何药物组合物。在一些实施方案中，所述创伤是慢性创伤或受感染的创伤。在一些实施方案中，对象是糖尿病患者。在一些实施方案中，所述糖尿病对象患有II型糖尿病。在一些实施方案中，所述创伤是糖尿病性足溃疡。在一些实施方案中，施用IL-22Fc融合蛋白或药物组合物直至创伤完全闭合。

[0046] 在另一个方面，本发明的特征在于在有需要的对象中预防或治疗心血管病症的方法，所述病症包括动脉粥样硬化斑块形成病状(a pathology of atherosclerotic plaque formation)，所述方法包括向对象施用本文所述的任何药物组合物。在一些实施方案中，所述心血管疾病是冠状动脉疾病，冠状微血管疾病，卒中，颈动脉疾病，外周动脉疾病或慢性肾病。在一些实施方案中，所述方法还包括减慢动脉粥样硬化斑块形成的进展或预防脉粥样硬化的标志。在一些实施方案中，所述脉粥样硬化的标志包括斑块积聚或血管炎症。

[0047] 在另一个方面，本发明的特征在于在有需要的对象中治疗代谢综合征的方法，所述方法包括向对象施用本文所述的任何药物组合物。在一些实施方案中，所述方法还包括降低与代谢综合征相关的一种或多种风险因素，包括腹部肥胖、高血糖、血脂异常和高血压中的一种或多种。在一些实施方案中，所述方法还包括降低对象中的细菌脂多糖的水平。

[0048] 在另一个方面，本发明的特征在于在有需要的对象中治疗急性内毒素血症、脓毒症或二者的方法，所述方法包括向对象施用本文所述的任何药物组合物。在一些实施方案中，对象需要改变HDL/LDL脂质谱。

[0049] 在另一个方面，本发明的特征在于在有需要的对象中治疗GVHD的方法，所述方法包括向对象施用本文所述的任何药物组合物。

[0050] 在任何前述方面的一些实施方案中，组合物包含约1mg/mL至约10mg/mL IL-22Fc融合蛋白、约10mM磷酸钠、约240mM蔗糖、约5mM甲硫氨酸和约0.02％(w/v)聚山梨酯20，pH 7.1，终浓度。

[0051] 在任何前述方面的一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:16的氨基酸序列或由其组成。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0052] 在任何前述方面的一些实施方案中，所述药物组合物静脉内、皮下、腹膜内或局部施用。在一些实施方案中，所述药物组合物静脉内施用。在一些实施方案中，所述药物组合物皮下施用。

[0053] 在任何前述方面的一些实施方案中，对象与至少一种另外的治疗剂共同施用。在一些实施方案中，对象是人。

[0054] 在另一个方面，本文所述的任何药物组合物可以用于在有需要的对象中治疗IBD的方法中。在一些实施方案中，IBD是溃疡性结肠炎或克罗恩病。在一些实施方案中，IBD是溃疡性结肠炎。在一些实施方案中，所述溃疡性结肠炎是中度至重度溃疡性结肠炎。在一些实施方案中，IBD是克罗恩病。

[0055] 在另一个方面，本文所述的任何药物组合物可以用于抑制有需要的对象的肠道中微生物感染、在微生物感染期间保留肠道中杯状细胞、增强肠道中的上皮细胞完整性、上皮细胞增殖、上皮细胞分化、上皮细胞迁移或上皮创伤愈合的方法中。在一些实施方案中，所述上皮细胞是肠上皮细胞。

[0056] 在另一个方面，本文所述的任何药物组合物可以用于在有需要的对象中治疗急性肾损伤或急性胰腺炎的方法中。

[0057] 在另一个方面，本文所述的任何药物组合物可以用于在有需要的对象中加速或改善创伤愈合的方法中。在一些实施方案中，所述创伤是慢性创伤或受感染的创伤。在一些实施方案中，对象是糖尿病患者。在一些实施方案中，所述糖尿病对象患有II型糖尿病。在一些实施方案中，所述创伤是糖尿病性足溃疡。在一些实施方案中，施用IL-22Fc融合蛋白或药物组合物直至创伤完全闭合。

[0058] 在另一个方面，本文所述的任何药物组合物可以用于在有需要的对象中预防或治疗心血管病症的方法中，所述病症包括动脉粥样硬化斑块形成病状。在一些实施方案中，所述心血管疾病是冠状动脉疾病，冠状微血管疾病，卒中，颈动脉疾病，外周动脉疾病或慢性肾病。在一些实施方案中，所述方法包括减慢动脉粥样硬化斑块形成的进展或预防脉粥样硬化的标志。在一些实施方案中，所述脉粥样硬化的标志包括斑块积聚和/或血管炎症。

[0059] 在另一个方面，本文所述的任何药物组合物可以用于在有需要的对象中治疗代谢综合征的方法中。在一些实施方案中，所述方法还包括降低与代谢综合征相关的一种或多

种风险因素，包括腹部肥胖、高血糖、血脂异常和高血压中的一种或多种。在一些实施方案中，所述方法还包括降低对象中的细菌脂多糖的水平。

[0060] 在另一个方面，本文所述的任何药物组合物可以用于在有需要的对象中治疗急性内毒素血症、脓毒症或二者的方法中。

[0061] 在另一个方面，本文所述的任何药物组合物可以用于在有需要的对象中治疗GVHD的方法中。

[0062] 在任何前述方面的一些实施方案中，对象需要改变HDL/LDL脂质谱。

[0063] 在任何前述方面的一些实施方案中，所述药物组合物包含约IL-22Fc融合蛋白(例如，以约1mg/mL至约10mg/mL的浓度)、约10mM磷酸钠、约240mM蔗糖、约5mM甲硫氨酸和约0.02％(w/v)聚山梨酯20，pH 7.1，终浓度。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:16的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0064] 在任何前述方面的一些实施方案中，所述药物组合物静脉内、皮下、腹膜内或局部施用。在一些实施方案中，静脉内施用IL-22Fc融合蛋白或药物组合物。在一些实施方案中，皮下施用IL-22Fc融合蛋白或药物组合物。

[0065] 在任何前述方面的一些实施方案中，对象将共同施用至少一种另外的治疗剂。在任何前述方面的一些实施方案中，对象是人。

[0066] 除非上下文另外明确指出，否则可以将每个实施方案进行组合。除非上下文清楚地另外指出，否则每个实施方案可以应用于本发明的每个方面。

[0067] 通过以下对某些优选实施方案的更详细描述和权利要求，本发明的特定实施方案将变得显而易见。

[0068] 附图简述

[0069] 图1是显示在40℃和5℃、pH5.5下4周后IL-22Fc融合蛋白药物组合物的尺寸排阻高效液相色谱(SE-HPLC)的交盖的色谱图，所述药物组合物包含10mg/mL，在20mM组氨酸乙酸盐，240mM蔗糖，0.02％聚山梨酯20(PS20)(w/v)中。

[0070] 图2A是显示IL-22Fc融合蛋白药物组合物以10mg/mL在20mM组氨酸乙酸盐、240mM蔗糖、0.02％PS20(w/v)中在pH5.5通过差示扫描量热法(DSC)测定的热稳定性的图。

[0071] 图2B是显示通过DSC测定的在PBS中pH 7.4以10mg/mL的IL-22Fc融合蛋白药物组合物的热稳定性的图。IgG4的起始解链温度(T_m)约为34℃，相比的是PBS pH 7.4，T_m约为45℃。

[0072] 图3A是比较IL-22Fc融合蛋白在10mM组氨酸乙酸盐中，在pH5.5、6.0、6.5和7.0时的DSC曲线的图。

[0073] 图3B是显示在pH 6.0，在10mM组氨酸乙酸盐中的IL-22Fc融合蛋白的DSC和固有色氨酸(Trp)荧光分布的图。

[0074] 图3C显示在pH 6.5，在10mM组氨酸乙酸盐中的IL-22Fc融合蛋白的DSC和Trp荧光分布的图。

[0075] 图3D是显示在pH 7.0，在10mM组氨酸乙酸盐中IL-22Fc融合蛋白的DSC和Trp荧光分布的图。

[0076] 图3E是显示SE-HPLC分析的系列图，表示为30℃4周后，热应力的IL-22Fc融合蛋白在10mM组氨酸乙酸盐中在pH5.5、6.0、6.5和7.0时的高分子量百分比(％HMW)对时间(左图)、％主峰对时间(中图)和％二聚体对时间(右图)。

[0077] 图4显示IL-22Fc融合蛋白药物组合物在pH 6.5、7.0、7.3和7.6的10mM磷酸钠中和pH 7.3的20mM Tris中的DSC曲线。

[0078] 图5A-5B是显示，在T＝0和在30℃储存6周后，通过SE-HPLC测定的，在10mM磷酸钠、240mM蔗糖、0.02％聚山梨醇酯20(pH 7.1)中的IL-22Fc融合蛋白的主峰降解速率(5A)和随时间推移的聚集百分比(5B)的系列图。

[0079] 图5C-5D是显示，在T＝0和在40℃储存6周后，通过SE-HPLC测定的，在10mM磷酸钠、240mM蔗糖、0.02％聚山梨醇酯20(pH 7.1)中的IL-22Fc融合蛋白的主峰降解速率(5C)和随时间推移的聚集百分比(5D)的系列图。

[0080] 图6是显示，在T＝0和在30℃储存4周后，通过成像毛细管等电聚焦(ICIEF)测定的，在10mM磷酸钠、240mM蔗糖、0.02％聚山梨醇酯20(pH 7.1)中IL-22Fc融合蛋白的形成酸性的峰的速率的图。

[0081] 图7是显示在搅动研究后IL-22Fc融合蛋白的SE-HPLC曲线的色谱图的交盖图。

[0082] 图8是一种图，其显示：用2,2′-偶氮二-2-甲基-丙脒二盐酸盐(AAPH)处理后的IL-22Fc融合蛋白的八种含甲硫氨酸的胰蛋白酶消化的肽段的甲硫氨酸氧化和通过液相色谱串联质谱(LC-MS-MS)作图的胰蛋白酶消化的肽段。每种胰蛋白酶消化的肽段的甲硫氨酸氧化报告为氧化胰蛋白酶消化的肽段与总胰蛋白酶消化的肽段(天然+氧化)的比率的百分比。

[0083] 图9显示了来自不同哺乳动物物种的成熟IL-22的氨基酸序列比对：人(GenBank Accession No.Q9GZX6,SEQ ID NO:4)，黑猩猩(chimpanzee)(GenBank Accession No.XP_003313906,SEQ ID NO:48)，猩猩(orangutan)(GenBank Accession No.XP_002823544,SEQ ID NO:49)，小鼠(GenBank Accession No.Q9JJY9,SEQ ID NO:50)和狗(GenBank Accession No.XP_538274,SEQ ID NO:51)。

[0084] 本发明实施方案详述

[0085] I.定义

[0086] 除非另外限定，否则本文所用的全部本领域术语、符号和其他科学术语意在具有本发明所属的领域技术人员通常理解的含义。在一些情况下，为了清晰和/或为了便利参考，本文中定义具有通常理解含义的术语，并且本文中纳入这类定义不应当必然地解释为代表相对于本领域通常所理解而言巨大的差异。

[0087] 如本文所用，术语“约”或“左右”是指本技术领域的技术人员容易知道的各个值的惯常误差范围。本文中对“约”或“左右”值或参数的提及包括(并描述)针对该值或参数本身的实施方案。

[0088] 如本文中所用，除非上下文另外清楚地说明，否则单数形式和“所述”“该”包括复数称谓。例如，对“分离的肽”的提及意指一种或多种分离的肽。

[0089] 本说明书通篇中，词汇“包含”或其变异形式如“包括”或“含有”应理解为表示纳入所陈述的整数或整数群，但不排除任何其它整数或整数群。

[0090] 如本文所用，术语“IL-22Fc融合蛋白”或“IL-22融合蛋白”或“IL-22Ig融合蛋白”

指其中IL-22蛋白或多肽直接或间接与IgG Fc区连接的融合蛋白。在一些实施方案中，IL-22蛋白或多肽是糖基化的。在某些优选的实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含与人IgG Fc区连接的人IL-22蛋白或多肽。在某些实施方案中，人IL-22蛋白包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列。然而，可以理解，本发明还涉及不影响IL-22或IL-22Fc融合蛋白的功能和/或活性的IL-22或Fc的微小序列变异如插入、缺失、置换、尤其保守性氨基酸置换。本发明的IL-22Fc融合蛋白可以与IL-22受体结合，这可以导致IL-22受体下游信号传导。在某些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白能够与IL-22受体结合，和/或能够导致IL-22受体下游信号传导。可以通过本领域已知的方法测定IL-22Fc融合蛋白功能和/或活性，所述方法包括而不限于ELISA、配体-受体结合测定法和Stat3萤光素酶测定法。在某些实施方案中，本发明提供与IL-22受体结合的IL-22Fc融合蛋白，其中所述结合作用可以导致IL-22受体下游信号传导，所述IL-22Fc融合蛋白包含与选自SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:16的氨基酸序列具有至少95％序列同一性的氨基酸序列，并且其中Fc区没有糖基化。在某些具体实施方案中，IL-22融合蛋白的Fc区没有效应子活性(例如，不与Fcγ IIIR结合)或显示比完整(例如，野生型)IgG抗体实质更低的效应子活性。在某些其他实施方案中，IL-22Fc融合蛋白的Fc区不触发细胞毒性，如抗体依赖的细胞毒性(ADCC)或补体依赖细胞毒性(CDC)。除非另外说明，“IL-22融合蛋白”、“IL-22Fc融合物”、“IL-22Ig融合蛋白”、“IL-22Fc融合蛋白”或“IL-22Fc”在本申请期间自始至终可互换使用。

[0091] 除非另外说明，否则如本文所用，术语“IL-22”或“IL-22多肽”或“IL-22蛋白”广义地指来自任何哺乳动物来源的任何天然IL-22，所述哺乳动物来源包括灵长类(例如人)和啮齿类(例如，小鼠和大鼠)。本术语涵盖“全长”、未加工的IL-22以及因细胞中加工而产生的任何形式的IL-22。例如，本发明涵盖含有N端前导序列的全长IL-22和成熟形式的IL-22。前导序列(或信号肽)可以是内源IL-22前导序列或另一种哺乳动物分泌型蛋白的外源前导序列。在某些实施方案中，前导序列可以来自真核或原核分泌型蛋白。本术语还涵盖天然存在的IL-22变体，例如，剪接变体或等位变体。示例性人IL-22的氨基酸序列在SEQ ID NO:4(成熟形式，无信号肽)中显示。在某些实施方案中，带内源前导序列的全长IL-22蛋白的氨基酸序列在SEQ ID NO:71中提供；而在其他实施方案中，带外源前导序列的成熟IL-22蛋白的氨基酸序列在SEQ ID NO:2中提供。本发明还涉及不影响IL-22的功能和/或活性(例如，与IL-22受体结合)的IL-22微小序列变异、尤其保守性氨基酸置换。图9显示来自几种示例性哺乳动物物种的成熟IL-22的氨基酸序列比对结果。星号表示各物种间高度保守的氨基酸残基，这些残基对IL-22的功能和/或活性可能重要。因此，在某些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含IL-22多肽，所述IL-22多肽包含与SEQ ID NO:4具有至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％序列同一性的氨基酸序列。在某些其他实施方案中，IL-22蛋白与SEQ ID NO:71具有95％或更大的序列同一性、具有96％或更大的序列同一性，具有97％或更大的序列同一性；与SEQ ID NO:71具有98％或更大的序列同一性；或与SEQ ID NO:71具有99％或更大的序列同一性。本文所述的IL-22多肽可以从多种来源分离，如从人组织或从另一个来源分离，或通过重组或合成方法制备。

[0092] 术语“IL-22受体”或“IL-22R”指由IL-22R1和IL-10R2或其天然存在的等位变体组成的异二聚体。参见例如Ouyang等人，2011，Annu.Rev.Immunol.29:159-63。IL-10R2由许多细胞类型普遍表达，并且IL-22R1仅在固有细胞如上皮细胞、肝细胞和角质形成细胞中表

达。IL-22R1也称作IL-22Ra1或IL-22Rα1。IL-22R1可以与其他多肽配对以形成其他IL-10家族成员(例如IL-20或IL-24)的异二聚受体。参见例如,Ouyang等人,2011,上文。示例性IL-22R1多肽的全长氨基酸序列示于SEQ ID NO:81。IL-22R1的这一全长序列包括在最终功能分子中被切割的N-末端信号序列(氨基酸1-15)(其示例性氨基酸序列显示于SEQ ID NO:82中)。示例性IL10R2多肽的全长氨基酸序列显示于SEQ ID NO:83中。IL10R2的这一全长序列包括在最终功能分子中被切割的N-末端信号序列(氨基酸1-19)(其示例性氨基酸序列显示于SEQ ID NO:84中)。

[0093] “天然序列IL-22多肽”或“天然序列IL-22R多肽”指包含与衍生于自然界的相应IL-22或IL-22R多肽相同的氨基酸序列的多肽。这种天然序列IL-22或IL-22R多肽可以从自然界分离或可以通过重组或合成手段产生。这些术语特别涵盖天然存在的截短或分泌形式的特定IL-22或IL-22R多肽(例如,缺少其相关信号肽的IL-22)、该多肽的天然存在的变体形式(例如,可变剪接形式)和天然存在的等位变体。在本发明的多种实施方案中,本文中公开的天然序列IL-22或IL-22R多肽是成熟或全长的天然序列多肽。示例性全长天然人IL-22在SEQ ID NO:70(DNA)和SEQ ID NO:71(蛋白质)中显示。尽管IL-22多肽和IL-22R多肽序列显示始于本文中命名为氨基酸位置1的甲硫氨酸残基,但是可构思并可能的是,可以使用位于氨基酸位置1上游或下游的其他甲硫氨酸残基作为IL-22多肽或IL-22R多肽的起始氨基酸残基。

[0094] “IL-22变体”、“IL-22R变体”、“IL-22变体多肽”、或“IL-22R变体多肽”意指如上文定义的与全长天然序列IL-22或IL-22R多肽序列具有至少约80%氨基酸序列同一性的有活性的IL-22或IL-22R多肽。通常,IL-22或IL-22R多肽变体将与全长或成熟的天然序列IL-22或IL-22R多肽序列具有至少约80%氨基酸序列同一性、备选地至少约81%氨基酸序列同一性、备选地至少约82%氨基酸序列同一性、备选地至少约83%氨基酸序列同一性、备选地至少约84%氨基酸序列同一性、备选地至少约85%氨基酸序列同一性、备选地至少约86%氨基酸序列同一性、备选地至少约87%氨基酸序列同一性、备选地至少约88%氨基酸序列同一性、备选地至少约89%氨基酸序列同一性、备选地至少约90%氨基酸序列同一性、备选地至少约91%氨基酸序列同一性、备选地至少约92%氨基酸序列同一性、备选地至少约93%氨基酸序列同一性、备选地至少约94%氨基酸序列同一性、备选地至少约95%氨基酸序列同一性、备选地至少约96%氨基酸序列同一性、备选地至少约97%氨基酸序列同一性、备选地至少约98%氨基酸序列同一性和备选地至少约99%氨基酸序列同一性。

[0095] 术语“Fc区”、“Fc结构域”或“Fc”指免疫球蛋白重链的C端非抗原结合区,其含有至少一部分恒定区。该术语包括天然Fc区和变体Fc区。在某些实施方案中,人IgG重链Fc区从Cys226延伸至重链的羧基端。然而,Fc区的C端赖氨酸(Lys447)可以存在或可以不存在,而不影响Fc区的结构或稳定性。除非本文中另外说明,否则IgG或Fc区中的氨基酸残基的编号根据如Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interes,第5版,Public Health Service,National Institutes ofHealth,Bethesda,MD,1991中所述的用于抗体的EU编号体系,也称作EU索引。

[0096] 在某些实施方案中,Fc区指包含铰链区(始于Cys226)、IgG CH2结构域和CH3结构域的免疫球蛋白IgG重链恒定区。如本文所用,术语“铰链区”或“铰链序列”指位于接头和CH2结构域之间的氨基酸序列。在某些实施方案中,铰链区包含氨基酸序列CPPCP(SEQ ID

NO:31)。在某些实施方案中,IL-22IgG4 Fc融合蛋白的铰链区包含CPPCP序列(SEQ ID NO:31),天然IgG1铰链区中存在的序列,以促进二聚化。在某些其他实施方案中,Fc区始于铰链区并且延伸到IgG重链的C末端。在某些具体实施方案中,Fc区包含人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的Fc区。在某些具体实施方案中,Fc区包含IgG4的CH2和CH3结构域。在某些其他的具体实施方案中,Fc区包含IgG1的CH2和CH3结构域。

[0097] 在某些实施方案中,IgG CH2结构域始于Ala231。在某些其他实施方案中,CH3结构域始于Gly341。可以理解,人IgG的C端Lys残基可以任选地不存在。还应当理解,本发明的范围内涉及Fc区的保守性氨基酸置换而不影响Fc的所需结构和/或稳定性。

[0098] 在某些实施方案中,IL-22经接头与Fc区连接。在某些具体实施方案中,接头是将IL-22的C末端与如本文所述的Fc区连接的肽。在某些实施方案中,天然IgG序列存在于接头和/或铰链区中以使免疫原性风险最小化和/或避免免疫原性风险。在其他实施方案中,可以将微小序列变异引入天然序列以协助制造。包含显示高活性(如例如,通过萤光素酶测定法测定)的外源接头或铰链序列的IL-22Fc融合构建体也处于本发明的范围内。在某些实施方案中,接头包含长8-20个氨基酸、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个氨基酸的氨基酸序列。在某些其他实施方案中,接头包含氨基酸序列DKTHT(SEQ ID NO:32)。在某些具体实施方案中,接头不包含序列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)。

[0099] 在某些实施方案中,IL-22Fc融合蛋白包含通过接头与Fc区连接的IL-22多肽。术语“与连接”或“与融合”指在两个部分之间形成的共价键,例如,肽键。

[0100] 如本文所用的术语“糖基化”和“糖基化的”是指存在与生物分子(例如蛋白质或脂质)连接的碳水化合物(例如寡糖或多糖,也称为“聚糖”)。在特定实施方案中,糖基化是指存在与蛋白质(例如,IL-22Fc融合蛋白)或目的蛋白的一部分(例如,IL-22Fc融合蛋白的多肽部分)连接的聚糖(例如,N-聚糖)。N-连接的糖基化是指碳水化合物部分连接天冬酰胺残基的侧链。三肽序列,天冬酰胺-X-丝氨酸和天冬酰胺-X-苏氨酸,其中X是除脯氨酸以外的任何氨基酸,是用于碳水化合物部分酶促连接天冬酰胺侧链的识别序列。O-连接的糖基化是指糖N-乙酰基半乳糖胺,半乳糖或木糖中的一种与羟基氨基酸(最常见的是丝氨酸或苏氨酸)的连接,尽管5-羟基脯氨酸或5-羟基赖氨酸也可以参与O-连接的糖基化。对于糖基化的综述,参见,例如,Varki等,Essentials of Glycobiology,第3厩,Cold Springharbor Laboratory Press,2015-2017。

[0101] 本文可互换使用的术语“无糖基化的”和“未糖基化的”是指未糖基化(例如,未N-糖基化的)蛋白质或目的蛋白的一部分(例如,IL-22Fc融合蛋白的Fc区)。可以理解,在一些实施方案中,目的蛋白(例如,IL-22Fc融合蛋白)的一部分是糖基化的(例如,IL-22Fc融合蛋白的IL-22多肽部分),而目的蛋白的另一部分是未糖基化的(例如,IL-22Fc融合蛋白的Fc区)。

[0102] 在一些实施方案中,本文提供了其中Fc区或CH2结构域是未糖基化的IL-22Fc融合蛋白。在某些实施方案中,CH2结构域中的N-糖基化位点被突变,以防止糖基化。例如,可以通过突变Fc区的CH2结构域中按照EU索引的位置297的氨基酸残基(例如,N297)来制得具有无糖基化Fc区的IL-22Fc融合蛋白。在某些实施方案中,可以通过改变糖基化共有位点,即,

位置297的Asn，接着任何氨基酸残基(在人IgG情况中，是Ser)和Thr，来消除Fc区的CH2结构域中的糖基化。可以通过氨基酸插入、缺失和/或取代来改变糖基化位点。例如，可以在Asn和Ser之间或在Ser和Thr之间插入一个或多个氨基酸残基，以改变初始糖基化位点，其中插入没有使得N-糖基化位点再生。在某些特定实施方案中，人IgGFc的CH2结构域内按照EU索引的位置297的氨基酸残基(例如，Fc中的N-糖基化的位点)被突变，以消除糖基化位点。在某些特定实施方案中，按照EU索引的位置297的氨基酸残基(例如，N297)变成Gly、Ala、Gln、Asp或Glu。在一些特定实施方案中，按照EU索引的位置297的氨基酸残基(例如，N297)变成Gly或Ala。在其他特定实施方案中，按照EU索引的位置297的氨基酸残基(例如，N297)变成Gly。在某些其他实施方案中，按照EU索引的位置299的氨基酸残基可以被另一个氨基酸例如，Ala、Val或Gly取代。在某些特定实施方案中，导致无糖基化Fc的突变没有影响IL-22Fc融合蛋白的结构和/或稳定性。

[0103] 在某些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含其中CH2结构域中按照EU索引的位置297的氨基酸残基被突变的Fc区。在某些实施方案中，按照EU索引的位置297的氨基酸残基变成Gly或Ala，优选变成Gly。在某些其他实施方案中，按照EU索引的位置297的氨基酸残基被缺失。在某些实施方案中，包含按照EU索引的位置297的氨基酸残基具有氨基酸取代的Fc的IL-22Fc融合蛋白是无糖基化的或未糖基化的。

[0104] 在其他实施方案中，可以通过酶促，例如，通过去糖基化，除去连接按照EU索引的位置297(例如，N297)的野生型氨基酸残基的N-聚糖。合适的糖分解酶包括但不限于，肽-N-糖苷酶(PNGase)。

[0105] 术语“无岩藻糖基化”、“无岩藻糖基化的”、“去岩藻糖基化”或“去岩藻糖基化的”是指N-聚糖(例如，连接蛋白质或蛋白质的一部分(例如，Fc的CH2结构域)的N-聚糖)不存在或去除了核心岩藻糖。

[0106] 术语“二聚体IL-22Fc融合蛋白”指其中每个单体包含IL-22Fc融合蛋白的二聚体。术语“单体IL-22Fc融合蛋白”指这样的二聚体，其中一个单体包含IL-22Fc融合蛋白(IL-22Fc臂)，而另一个单体包含无IL-22多肽的Fc区(Fc臂)。因此，二聚体IL-22Fc融合蛋白在IL-22R结合方面是双价的，而单体IL-22Fc融合蛋白在IL-22R结合方面是单价的。可以通过本领域已知的方法协助单体IL-22Fc融合蛋白的异二聚化，所述方法包括而不限于借助结入孔(knob-into-hole)技术的异二聚化。结入孔技术的结构和装配方法可以在，例如US 5,821,333、US 7,642,228、US 2011/0287009和PCT/US 2012/059810中找到，所述文献因而通过引用的方式以其整体并入。通过以下方式形成这项技术：在一个Fc的CH3结构域中通过将小氨基酸残基替换为一个大氨基酸残基而引入“结”(或突出部分)，并且在另一个Fc的CH3结构域中通过将一个或多个大氨基酸残基替换为更小的氨基酸残基而引入“孔”(或空孔)。在某些实施方案中，IL-22Fc融合物臂包含结，并且仅有Fc臂包含孔。

[0107] 用于形成结的优选残基通常是天然存在的氨基酸残基并且优选地选自精氨酸(R)、苯丙氨酸(F)、酪氨酸(Y)和色氨酸(W)。最优选的是色氨酸和酪氨酸。在一个实施方案中，用于形成结的原始残基具有小的侧链体积，如丙氨酸、天冬酰胺，天冬氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸或缬氨酸。CH3结构域中用于形成结的示例性氨基酸置换包括而不限于T366W、T366Y或F405W置换。

[0108] 用于形成孔的优选残基通常是天然存在的氨基酸残基并且优选地选自丙氨酸

(A)、丝氨酸(S)、苏氨酸(T)和缬氨酸(V)。在一个实施方案中,用于形成孔的原始残基具有大的侧链体积,如酪氨酸、精氨酸、苯丙氨酸或色氨酸。CH3结构域中用于产生孔的示例性氨基酸置换包括而不限于T366S、L368A、F405A、Y407A、Y407T和Y407V置换。在某些实施方案中,结包含T366W置换,并且孔包含T366S/L368A/Y407V置换。在某些具体实施方案中,单体IL-22Fc融合蛋白的Fc区包含IgG1 Fc区。在某些具体实施方案中,单体IL-22IgG1 Fc融合物包含IL-22Fc结臂和Fc孔臂。在某些实施方案中,IL-22Fc结臂包含T366W置换(SEQ ID NO:61),并且Fc孔臂包含T366S、L368A和Y407V(SEQ ID NO:62)。在某些其他实施方案中,两个臂的Fc区还包含N297G或N297A突变。在某些实施方案中,单体IL-22Fc融合蛋白在大肠杆菌细胞中表达。可以理解,本申请还构思并涵盖了本领域已知的促进异二聚化的Fc区的其他修饰。

[0109] 术语“创伤”是指损伤,尤其是其中皮肤或另一外表面被撕裂、刺穿、切割或以其它方式破坏的损伤。

[0110] 术语“溃疡”是皮肤或粘膜的损伤位点,经常以形成脓、组织死亡为特征并是经常伴发炎症反应。

[0111] 如本文互换所用的术语“肠”或“消化道”广义地涵盖小肠和大肠。

[0112] 术语″加速创伤愈合″或″创伤愈合的加速″是指愈合速度的增加,例如,直到发生完全创伤闭合的时间减少或直到发生创伤面积的百分比(%)减少的时间减少。

[0113] “糖尿病创伤”是与糖尿病相关的创伤。

[0114] “糖尿病溃疡”是与糖尿病有关的溃疡。

[0115] “慢性创伤”指不愈合的创伤。参见,例如,Lazarus等人Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing,Arch.Dermatol.130:489-93(1994)。慢性创伤包括但不限于例如动脉溃疡、糖尿病性溃疡、压力性溃疡或褥疮、静脉溃疡等。急性创伤可发展为慢性创伤。急性创伤包括但不限于由例如热损伤(例如烧伤)、外伤、手术、切除广泛的皮肤癌、深部真菌性感染和细菌性感染、血管炎、硬皮病、天疱疮、中毒性表皮坏死松解症等引起的创伤。参见,例如,Buford,Wound Healing and Pressure Sores,HealingWell.com,公布于:2001年10月24日。因此,在某些实施方案中,慢性创伤是感染创伤。“正常创伤”是指经历正常创伤愈合修复的创伤。

[0116] “亲和力”指分子(例如,配体或抗体)的单一结合位点与其结合伙伴(例如,受体或抗原)之间非共价相互作用的强度总和。除非另外指出,否则如本文所用,“结合亲和力”指反映结合对的成员(例如,IL-22Fc融合蛋白和IL-22受体)之间1:1相互作用的固有结合亲和力。分子X对其伙伴Y的亲和力可以通常由解离常数(Kd)代表。亲和力可以由本领域已知的常见方法测定,包括本文所述的那些方法。在下文中描述用于测定结合亲和力的具体示意性和示例性实施方案。

[0117] 术语“抗体”在本文中以最广意义使用并且涵盖多种抗体结构物,包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体)和抗体片段,只要它们显示出所需的抗原结合活性即可。

[0118] “抗体片段”指不是完整抗体的分子,所述分子包括完整抗体的一部分,该部分结合完整抗体所结合的抗原。抗体片段的例子包括但不限于Fv、Fab、Fab′、Fab’-SH、$F(ab')_2$;双体抗体;线性抗体;单链抗体分子(例如scFv);和从抗体片段形成的多特异性抗体。

[0119] 抗体的“类”指由其重链拥有的恒定结构域或恒定区的类型。存在五个大类的抗体：IgA、IgD、IgE、IgG和IgM，并且这些类别中的几种可以进一步划分成亚类(同种型)，例如，IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1和IgA_2。对应于不同类别免疫球蛋白的重链恒定结构域分别称作α、δ、ε、γ 和μ。

[0120] “效应子功能”或“效应子活性”指随抗体同种型变动的归因于抗体Fc区的那些生物学活性。抗体效应子功能的例子包括：C1q结合和补体依赖的细胞毒性(CDC)；Fc受体结合作用；抗体依赖的细胞介导的细胞毒性(ADCC)；吞噬；下调细胞表面受体(例如，B细胞受体)；和B细胞活化。在某些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白不显示出任何效应子功能或任何可检测的效应子功能。在某些其他实施方案中，IL-22Fc融合蛋白显示出实质降低的效应子功能，例如，降低约50％、60％、70％、80％或90％的效应子功能。

[0121] 活性剂(例如，药物制剂)的“有效量”或“治疗有效量”，指以必要的剂量和时间段有效实现所需治疗性或预防性结果的剂量。

[0122] 例如，在心血管疾病或病症的情况下，治疗有效量的IL-22Fc融合蛋白可以降低动脉粥样硬化斑块形成的程度；减少动脉粥样硬化斑块的尺寸；抑制(即，在一定程度上减缓并优选停止)动脉粥样硬化斑块；抑制(即，在一定程度上减缓并优选停止)血栓形成或动脉粥样硬化斑块破裂；和/或在一定程度上缓解与所述疾病或病症相关的一种或多种症状。

[0123] “减少或抑制”是指引起总体降低优选20％或更大，更优选50％或更大，最优选75％、85％、90％、95％或更大的能力。减少或抑制可以指所治疗的病症的症状、动脉粥样硬化斑块的存在或大小、或动脉粥样硬化斑块的数量。

[0124] “次优量”指比通常用于某种治疗的治疗剂最佳量更少的量。当两种治疗剂同时或依次给予对象时，与单独给予每种治疗剂时的治疗相比，每种治疗剂可以按次优量给予。例如，在某些实施方案中，对有需要IBD治疗的对象施用次优量的包含本发明的IL-22Fc融合蛋白和地塞米松的药物组合物。

[0125] 术语“全长抗体”、“完整抗体”和“整个抗体”在本文中可互换地用来指具有基本上与天然抗体结构相似的结构或具有含有如本文定义的Fc区的重链。

[0126] 术语“宿主细胞”、“宿主细胞系”和“宿主细胞培养物”互换使用并且指已经向其中引入外源核酸的细胞，包括这类细胞的后代。宿主细胞包括“转化体”和“转化的细胞”，其包括原代转化细胞和从其衍生的后代，而无论传代次数是多少。转化的细胞包括瞬时或稳定转化的细胞。后代可以在核酸含量方面不与亲本细胞完全相同，反而可以含有突变。本文包括具有与最初转化细胞中所筛选或选择的相同功能或生物活性的突变后代。在某些实施方案中，宿主细胞用外源核酸瞬时转染。在某些实施方案中，宿主细胞用外源核酸稳定转染。

[0127] “免疫缀合物”是与一个或多个异源分子(包括但不限于细胞毒性剂)缀合的抗体或抗体的片段。

[0128] “个体”、“对象”或“患者”是哺乳动物。哺乳动物包括但不限于驯化动物(例如，奶牛、绵羊、猫、犬和马)、灵长类(例如，人和非人灵长类如猴)、兔和啮齿类(例如，小鼠和大鼠)。在某些实施方案中，个体、对象或患者是人。

[0129] “分离的”IL-22Fc融合蛋白是这样的融合蛋白，所述融合蛋白已经从重组产生该融合蛋白的宿主细胞的环境分离。在一些实施方案中，将IL-22Fc融合蛋白纯化至大于80％、85％、90％、95％、96％、97％、98％，或99％纯度，如通过例如电泳(例如，SDS-PAGE、等

电聚焦(IEF)、毛细管电泳法)或色谱(例如,离子交换或反相HPLC)法所确定。

[0130] “分离的”核酸指已经与其自然环境的组分分离的核酸分子。分离的核酸包括含于细胞内的核酸分子,所述细胞通常含有该核酸分子,但是该核酸分子存在于染色体外或与其天然染色体位置不同的染色体位置处。

[0131] 术语“编码IL-22Fc融合蛋白的分离的核酸”指编码IL-22Fc融合蛋白的一种或多种核酸分子,包括在单个载体或独立载体中的这类核酸分子、瞬时或稳定转染到宿主细胞中的这类核酸分子和在宿主细胞中一个或多个位置处存在的这类核酸分子。

[0132] 术语“控制序列”指在特定宿主生物中表达有效连接的编码序列必需的DNA序列。适于原核生物的控制序列例如包括启动子、任选地操纵基因序列和核糖体结合位点。已知真核细胞利用启动子、多聚腺苷化信号和增强子。

[0133] 当一种核酸与另一个核酸序列处于功能性关系时,该核酸是“有效连接的”。例如,前序列或分泌性前导序列的DNA与编码多肽的DNA有效连接若前者表达为参与所述多肽分泌的前蛋白;启动子或增强子与编码序列有效连接若它影响该序列的转录;或核糖体结合位点与编码序列有效连接若该结合位点如此安置从而促进翻译。通常,“有效连接的”意指连接的DNA序列是连续的,并且,在分泌性前导序列情况下,是连续的并处于阅读相。然而,增强子不必是连续的。连接通过在便利的限制性位点处连接而完成。如此类位点不存在,则根据常规实践使用合成性寡核苷酸衔接头或接头。

[0134] 如本文所用,术语“单克隆抗体”指从基本上同质的抗体群体中获得的抗体,即,构成该群体的各个抗体是相同的和/或结合相同的表位,例外在于例如含有天然存在突变或在产生单克隆抗体制备物期间出现的可能的变体抗体,这类变体通常以微量存在。另外,与一般包括针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制备物相反,单克隆抗体制备物的每种单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。因此,修饰语“单克隆的”指示该抗体的特征为从基本上均一的抗体群体获得,并且不得解释为要求通过任何特定方法产生该抗体。例如,可以通过多种技术产生待根据本发明使用的单克隆抗体,所述技术包括但不限于杂交瘤方法、重组DNA方法、噬菌体展示方法,和利用含有全部或部分的人免疫球蛋白基因座的转基因动物的方法,本文中描述了用于产生单克隆抗体的这类方法和其他示例性方法。

[0135] “天然抗体”指具有变化的结构的天然存在的免疫球蛋白分子。例如,天然IgG抗体是由二硫键结合的两条相同轻链和两条相同重链组成的约150,000道尔顿的异四聚体糖蛋白。从N端至C端,每条重链具有可变区(VH),也称作可变重结构域或重链可变结构域,随后是三个恒定结构域(CH1,CH2和CH3)。类似地,从N端至C端,每条轻链具有可变区(VL),也称作可变轻结构域或轻链可变结构域,随后是恒定轻(CL)结构域。抗体的轻链可以基于其恒定结构域的氨基酸序列而划分成两种类型之一,称作kappa(κ)和lambda(λ)。

[0136] 术语“可变区”或“可变结构域”指抗体重链或轻链的参与抗体结合至抗原的结构域。天然抗体重链和轻链的可变结构域(分别是VH和VL)通常具有相似的结构,每种结构域包含四个保守的框架区(FR)和三个高变区(HVR)。(参见,例如,Kindt等人,Kuby Immunology,第6版,W.H.Freeman and Co.,第91页(2007))。单个VH结构域或VL结构域可能足以赋予抗原结合特异性。另外,结合特定抗原的抗体可以利用来自结合该抗原的抗体的VH或VL结构域进行分离以分别筛选互补性VL结构域或VH结构域的文库。见,例如,Portolano等人,J.Immunol.150:880-887(1993);Clarkson等人,Nature 352:624-628

(1991)。

[0137] 如本文所用,术语“载体”指能够增殖与其连接的另一种核酸的核酸分子。该术语包括作为自我复制型核酸结构的载体以及并入已经将该载体引入其中的宿主细胞的基因组内的载体。某些载体能够指导与它们有效连接的核酸表达。此类载体在本文中称作“表达载体”。

[0138] “天然序列Fc区”包含与自然界中存在的Fc区的氨基酸序列相同的氨基酸序列。天然序列人Fc区包括而不限于,天然序列人IgG1 Fc区(非A同种型和A同种异型);天然序列人IgG2Fc区;天然序列人IgG3 Fc区;和天然序列人IgG4 Fc区,以及其天然存在的变体。

[0139] “变体Fc区”包含因至少一个氨基酸修饰、优选地一个或多个氨基酸置换而不同于天然序列Fc区的氨基酸序列。优选地,与天然序列Fc区或与亲本多肽的Fc区相比,变体Fc区在天然序列Fc区中或在亲本多肽的Fc区中具有至少一个氨基酸置换,例如约1个至约10个氨基酸置换,和优选地约1个至约5个氨基酸置换。本文中的变体Fc区将优选地与天然序列Fc区和/或与亲本多肽的Fc区具有至少约80%同源性,并最优选地与之具有至少约90%同源性,更优选地与之具有至少约95%同源性。在某些实施方案中,变体Fc区未糖基化。

[0140] 如本文可互换使用的,"障碍"、"疾病"或"病症"是将受益于用本文所述的组合物(例如,药物组合物)治疗的任何病症,例如包括IL-22Fc融合蛋白的组合物(例如,药物组合物)。这包括慢性和急性障碍或疾病,包括使哺乳动物易患所述障碍的那些病理病况。在一些实施方案中,所述障碍是IL-22相关障碍。示例性障碍包括但不限于IBD(例如,UC或克罗恩病)、微生物感染、急性肾损伤、急性胰腺炎、创伤、心血管病症、代谢综合征、急性内毒素血症和脓毒症。

[0141] 本文互换使用的术语“炎性肠障碍”、“炎性肠病”或“IBD”在本文中以最广含义使用并且包括其发病机制涉及肠(包括小肠和结肠)中复发性炎症的全部疾病和病理状况。IBD包括例如溃疡性结肠炎(UC)和克罗恩病。IBD不限于UC和CD。疾病的表现包括但不限于肠道中炎症和上皮完整性下降。

[0142] 术语"心血管疾病"或"心血管病症"在本文中以最广泛的含义使用,并且包括其发病机理涉及血管异常的所有疾病和病理状况,例如动脉粥样硬化斑块形成(包括稳定或不稳定/易损斑块)、动脉粥样硬化、动脉硬化、小动脉硬化和升高的全身性脂多糖(LPS)暴露。该术语还包括受益于抑制动脉粥样硬化斑块形成的疾病和病理状况。所述心血管疾病包括但不限于冠状动脉粥样硬化、冠状微脉管疾病、卒中、颈动脉疾病、外周动脉疾病、局部缺血、冠状动脉疾病(CAD)、急性冠状动脉综合征(ACS)、冠心病(CHD)、与CAD和CHD相关的病症、脑血管疾病、外周血管疾病、动脉瘤、脉管炎、静脉血栓形成、糖尿病、代谢综合征慢性肾病、局部缺血和再灌注后的远端组织损伤以及心肺转流术。特别包括在该组中的是与其发生、发展或进展相关的所有心血管疾病,其可以通过抑制动脉粥样硬化斑块形成来控制。

[0143] 术语"心血管病症"在本文中以最广泛的含义使用,并且包括其病理学涉及动脉粥样硬化斑块形成(包括稳定或不稳定/易损斑块)、动脉粥样硬化、动脉硬化、小动脉硬化和升高的全身性脂多糖(LPS)暴露的所有心血管病症和疾病。具体而言,包括在该组中的是与动脉粥样硬化斑块形成有关的所有心血管病症和疾病,其发生、发展或进展可以通过抑制动脉粥样硬化斑块形成来控制。该术语具体包括受益于抑制动脉粥样硬化斑块形成的疾病和病理状况。心血管病症包括但不限于冠状动脉粥样硬化、冠状微血管疾病、卒中、颈动脉

疾病、外周动脉疾病、局部缺血、冠状动脉疾病(CAD)、冠心病(CHD)、与CAD和CHD相关的病症、脑血管疾病和与脑血管疾病相关的病症、外周血管疾病和与外周血管疾病相关的病症、动脉瘤、血管炎、静脉血栓形成、糖尿病、代谢综合征肾病、局部缺血和再灌注后的远端组织损伤和心肺转流术。本文所用的"与脑血管疾病相关的病症"包括例如短暂性脑缺血发作(TIA)和卒中。本文所用的"与外周血管疾病相关的病症"包括例如跛行。具体而言,包括在该组中的是所有与其发生、发展或进展相关的心血管疾病和病症,其可以通过抑制动脉粥样硬化斑块形成来控制。

[0144] 动脉粥样硬化斑块的形成可以作为对代谢性内毒素血症的先天免疫应答的结果而发生,其特征在于源自肠微生物群和肠粘膜屏障中功能完整性的丧失的全身性脂多糖(LPS)的水平升高。对内毒素血症的先天免疫应答导致低度慢性炎症,其负责斑块形成。

[0145] 术语"代谢综合征"在本文中以最广泛的意义使用。代谢综合征包括成年对象中几种代谢风险因素的同时发生,包括以下五种特征中的至少三种:腹部肥胖,其可以是例如男性腰围大于或等于90cm,女性腰围大于或等于80cm;升高的血清甘油三酯,其可以是例如大于或等于150mg/dL,或用于升高的甘油三酯的药物治疗;降低的血清HDL胆固醇水平,其可以是例如在男性中低于40mg/dL以及在女性中低于50mg/dL,或者用于低HDL胆固醇的药物治疗;高血压,其可以是例如收缩压大于130mmHg和舒张压大于85mmHg,或高血压的药物治疗;和升高的空腹血浆葡萄糖,其可以是例如大于或等于100mg/dL,用于升高葡萄糖的药物治疗,或先前诊断的2型糖尿病。

[0146] 对于16岁以上的儿童,可以使用上述成人标准。对于10-16岁的儿童,代谢综合征包括对象中几种代谢风险因素的同时发生,包括以下五种性状中的至少三种:腹部肥胖,其可以是例如腰围大于第90百分位;升高的血清甘油三酯,其可以是例如大于或等于110mg/dL、大于第95百分位,或用于升高的甘油三酯的药物治疗;降低的血清HDL胆固醇水平,其可以是例如低于40mg/dL,小于第5百分位,或低HDL胆固醇的药物治疗;高血压,其可以是例如收缩压大于130mmHg和舒张压大于85mmHg、大于第90百分位,或高血压的药物治疗;和升高的空腹血浆葡萄糖,其可以是例如大于或等于100mg/dL,葡萄糖耐量受损,葡萄糖升高的药物治疗,或先前诊断的2型糖尿病。

[0147] 一般而言,代谢综合征中共同发生的风险因素包括肥胖症(例如腹部肥胖)、高血糖症、血脂异常、胰岛素抵抗和/或高血压。所有这些危险因素都促进动脉粥样硬化性心血管疾病、糖尿病或两者的发展。代谢综合征也可以慢性脂肪组织炎症为特征。

[0148] 代谢综合征可以被识别为促炎、前血栓形成的状态,并且可以与C-反应蛋白、IL-6、LPS和纤溶酶原激活物抑制剂1中的一种或多种的升高的水平相关;这样的标志物可以与动脉粥样硬化性心血管疾病、糖尿病或两者的后续发展的增加的风险相关。

[0149] 代谢综合征可与若干肥胖相关病症相关,包括脂肪肝疾病伴脂肪变性、纤维化和肝硬化,肝细胞和肝内胆管癌、慢性肾病、多囊卵巢综合征、睡眠呼吸障碍(包括阻塞性睡眠呼吸暂停)、以及高尿酸血症和痛风中的一种或多种。

[0150] 术语"胰岛素相关障碍"包括特征在于葡萄糖耐量受损的疾病或病症。在一个实施方案中,胰岛素相关疾病是糖尿病,包括但不限于I型(胰岛素依赖型糖尿病或IDDM)、II型(非胰岛素依赖型糖尿病或NIDDM)、妊娠糖尿病和任何其它能从刺激胰岛素分泌的活性剂受益的疾病。在另一个实施方案中,所述胰岛素相关疾病的特征在于胰岛素抵抗。

[0151] 术语"脓毒症"以其最广泛的含义使用，并且可以包括由严重感染引起的全身性炎症状态。脓毒症可由免疫系统对严重感染的反应引起，所述严重感染最常见的是细菌，但也包括血液、尿道、肺、皮肤或其它组织中的真菌、病毒和寄生虫。

[0152] 术语"急性内毒素血症"以其最广泛的含义使用，并且可以包括血浆细菌脂多糖(LPS)增加的情况。急性内毒素血症转而可导致脓毒症。体循环中的LPS增加将诱导低度慢性炎症，激活内源性保护性宿主应答以提高血浆脂质，其在慢性病症中促成饮食诱导的肥胖、胰岛素抵抗和动脉粥样硬化，和最终的CVD事件。

[0153] 术语"移植物抗宿主病(GVHD)"是指同种异体干细胞移植的并发症。在GVHD中，供体造血干细胞将移植受者识别为异物，并攻击患者的组织和器官，这可能损害组织或器官的功能或导致其衰竭。如本文所用，GVHD包括例如急性GVHD或慢性GVHD。此外，非限制性实例包括肠GVHD。

[0154] 如本文所用，"治疗"(和其语法变型如"治疗"或"治疗")指意欲改变正在接受治疗的个体的天然过程的临床介入，并且可以旨在预防或在临床病理学过程期间实施。理想的治疗效果包括，但不限于防止疾病出现或复发、减轻症状、减小疾病的任何直接或间接病理学后果、防止转移、降低疾病进展速率、改善或缓和疾病况态，以及缓解或预后改善。

[0155] 例如，就IBD而言，"治疗"可以指形成IBD的可能性降低、形成IBD的速率降低和疾病严重程度降低。作为另一个例子，关于动脉粥样硬化斑块形成，"治疗"可以指减少形成动脉粥样硬化斑块沉积物的可能性，减少沉积物的形成速率，减少现有沉积物的数量或大小，或提高斑块稳定性。需要治疗的那些对象包括已经患有病症的那些以及其中待预防该病症的那些。理想的治疗效果包括，但不限于防止疾病的出现或复发、缓和症状、减小疾病的任何直接或间接病理学后果、预防疾病、降低病情进展速率、缓解或缓和疾病状态，以及造成缓解或预后改善。在一些实施方案中，本发明的IL-22Fc融合蛋白用来延缓疾病出现或用来减慢疾病的进展。

[0156] 在某些实施方案中，在预防或治疗心血管病症的语境下，"有需要的对象"是指诊断患有心血管疾病或心血管病症(CVD)或代谢综合征或表现出一种或多种与CVD或代谢综合征相关的病症的对象、过去已经诊断患有或表现出一种或多种与CVD或代谢综合征相关的病症的对象、或由于遗传或环境因素而被认为处于未来形成CVD或代谢综合征或一种或多种与CVD或代谢综合征相关的病症的风险中的对象。因此，在某些实施方案中，有需要的对象可以是表现出CVD或代谢综合征或与CVD或代谢综合征相关的病症的对象，或者过去已经表现出CVD或代谢综合征或与CVD或代谢综合征相关的病症的对象，或者已经被认为处于未来形成CVD或代谢综合征或与CVD或代谢综合征相关的状况的风险中的对象。

[0157] 在心血管疾病或病症的治疗中，治疗剂可直接改变免疫应答组分的应答强度，或使疾病对其它治疗剂例如抗生素、抗真菌剂、抗炎剂、化学治疗剂等的治疗更敏感。在动脉疾病的治疗中，治疗可以例如防止或减缓疾病的进展。因此，动脉疾病的治疗具体包括预防、抑制或减缓病症的发展，或从预防、抑制或减缓从病症的一个阶段进展到另一个更晚期的阶段，或进展到更严重的相关病症。

[0158] 疾病或病症的"病状"包括损害对象健康的所有现象。在心血管疾病或病症的情况下，这包括但不限于动脉粥样硬化斑块形成(包括稳定或不稳定/易损斑块)、动脉粥样硬化、动脉硬化、小动脉硬化和升高的全身性脂多糖(LPS)暴露。

[0159] “减轻”、“缓和”或其等价物指治疗性疗法以及预防性或防止性措施，其中目的在于改善、防止、减缓(减轻)、减少或抑制疾病或病况，例如动脉粥样硬化斑块形成。需要治疗的那些对象括已经患有该疾病或病况的那些以及倾向于患有该疾病或病况的那些或其中待预防该疾病或病况的那些

[0160] “长期”施用指以与急性模式相反，以连续模式施用所述药物，从而将初始治疗作用维持延长的时间段。

[0161] “间歇”施用是在不中断的情况下不以连续方式进行、而在本质上为循环性的治疗。

[0162] 术语“包装说明书”用来指治疗产品的商业包装中习惯性包括的说明书，所述说明书含有关于适应证、用法、剂量、施用、组合疗法、禁忌症和/或涉及此类治疗产品用途之警告的信息。

[0163] 将相对于参考多肽序列的“氨基酸序列同一性百分数(%)”定义为比对序列并根据需要引入空位以实现最大序列同源性百分数并且不考虑任何保守性置换作为序列同一性的部分之后，候选序列中与参考多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分数。为了确定氨基酸序列同一性百分数的比对可以按本领域能力范围内的多种方式实现，例如，使用可公开获得的计算机软件如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员可以确定用于比对序列的适宜参数，包括为实现正在比较的全长序列范围内最大比对所需要的任何算法。然而，出于本文目的，使用序列比较计算机程序ALIGN-2产生氨基酸序列同一性％值。ALIGN-2序列比较计算机程序由Genentech，Inc.授权，并且源代码已经随用户文档提交至华盛顿特区20559的美国版权局，在那里它以美国版权登记号TXU510087登记。ALIGN-2程序从Genentech，Inc.，South San Francisco，加利福尼亚州可公开获得或可以从源代码汇编。应当将ALIGN-2程序汇编在UNIX操作系统(包括数字式UNIX V4.0D)上使用。全部序列比较参数由ALIGN-2程序设定并且不变动。

[0164] 在使用ALIGN-2比较氨基酸序列的情况下，如下计算给定氨基酸序列A与给定氨基酸序列B、同给定氨基酸序列B或针对给定氨基酸序列B(这可以备选地描述为与给定氨基酸序列B、同给定氨基酸序列B或针对给定氨基酸序列B具有或包含某个氨基酸序列同一性％的给定氨基酸序列A)的氨基酸序列同一性％：

[0165] 100乘以分数X/Y

[0166] 其中X是由序列比对程序ALIGN-2在该程序的A和B比对结果中评定为相同匹配的氨基酸残基的数目，并且其中Y是B中氨基酸残基的总数。将可以理解在氨基酸序列A的长度不等于氨基酸序列B的长度时，A相对于B的氨基酸序列同一性％将不等于B相对于A的氨基酸序列同一性％。除非另外特别声明，否则本文所用的全部氨基酸序列同一性值％如紧接前段中所述那样使用ALIGN-2计算机程序获得。

[0167] 下文是如何相对于命名为“IL-22”的氨基酸序列计算命名为“对比蛋白”或“参照蛋白”的氨基酸序列的氨基酸序列同一性％的实例，其中“IL-22”表示IL-22目的多肽的氨基酸序列，“对比蛋白”表示正在与“IL-22”目的多肽比较的多肽的氨基酸序列，并且“X”、“Y”和“Z”各自表示不同氨基酸残基。

[0168] IL-22 XXXXXXXXXXXXXXX (长度＝15个氨基酸)

[0169] 参照蛋白 XXXXXYYYYYY (长度＝12个氨基酸)

[0170] %氨基酸序列同一性＝

[0171] (两个多肽序列之间相同匹配的氨基酸残基的数目)除以(IL-22多肽的氨基酸残基的总数)＝5除以15＝33.3%

[0172] IL-22 XXXXXXXXXX (长度＝10个氨基酸)

[0173] 参照蛋白 XXXXXYYYYYYZZYZ (长度＝15个氨基酸)

[0174] %氨基酸序列同一性＝

[0175] (两个多肽序列之间相同匹配的氨基酸残基的数目)除以(IL-22多肽的氨基酸残基的总数)＝5除以10＝50%

[0176] 术语“激动剂”以最广意义使用并且包括部分或完全模拟IL-22多肽的生物活性的任何分子。还由“激动剂”涵盖的是刺激编码该多肽的mRNA转录或翻译的分子。

[0177] 合适的激动剂分子例如包括激动剂抗体或抗体片段;天然多肽;天然多肽的片段或氨基酸序列变体;肽;反义寡核苷酸;有机小分子;和编码多肽激动剂或抗体的核酸。对“激动剂”的提及涵盖单一激动剂或两种或更多种不同激动剂的组合。

[0178] 术语“IL-22激动剂”以最广意义使用并且包括模拟天然序列IL-22多肽的定性生物活性(如上文限定)的任何分子。IL-22激动剂特别地包括IL-22-Fc或IL-22Ig多肽(免疫黏附素),还包括模拟至少一种IL-22生物活性的小分子。优选地,生物活性是对IL-22受体的结合、与IL-22BP相互作用或促进先天免疫反应途径,或在心血管疾病或病症的情况下,影响动脉粥样硬化斑块的形成,特别是抑制动脉粥样硬化斑块形成。斑块形成的抑制可以通过本领域普通技术人员已知的任何合适的成像方法来评估。

[0179] L-22R1与其他蛋白质配对以形成异二聚体作为针对某些IL-10家族成员的受体。参见Quyang等人,2011,上文。因此,在某些实施方案中,IL-22激动剂可以包括IL-22受体激动剂,包括与IL-22R1结合并触发其下游信号传导的细胞因子(或其融合蛋白或激动剂)。在某些实施方案中,IL-22激动剂包括IL-22R1激动剂,包括而不限于抗-IL-22R1激动剂抗体;IL-20激动剂,包括而不限于IL-20多肽或IL-20Fc融合蛋白;和IL-24激动剂,包括而不限于IL-24多肽或IL-24融合蛋白。在某些其他实施方案中,IL-22R1激动剂包括IL-19激动剂,包括而不限于IL-19多肽或IL-19Fc融合蛋白;和IL-26激动剂,包括而不限于IL-26多肽或IL-26Fc融合蛋白。本文提供了IL-19的示例性序列(GenBank登录号AAG16755.1,SEQ ID NO:77)、IL-20的示例性序列(GenBank登录号AAH69311.1,SEQ ID NO:78)、IL-24的示例性序列(GenBank登录号AAH09681.1,SEQ ID NO:79)和IL-26的示例性序列(GenBank登录号NP_060872.1,SEQ ID NO:80)。在某些实施方案中,IL-19多肽包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列或无信号肽的成熟蛋白。在某些其他实施方案中,IL-20多肽包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列或无信号肽的成熟蛋白。在另外的其他实施方案中,IL-24多肽包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列或无信号肽的成熟蛋白。在某些其他实施方案中,IL-26多肽包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列或无信号肽的成熟蛋白。

[0180] “小分子”在本文中定义为具有低于约600道尔顿、优选地低于约1000道尔顿的分子量。

[0181] 如本文所用“激动剂抗体”是部分或完全模拟IL-22多肽的生物活性的抗体。

[0182] 术语“药物制剂”或“药物组合物”在本文可互换使用,指这样的制备物,所述制备物处于这类形式从而允许其中所含的有效成分的生物活性有效,并且不含有对于将会施用

该制剂的对象不可接受地有毒的另外组分。

[0183] “可药用载体”指药物制剂中除有效成分之外的对对象无毒的成分。可药用载体包括但不限于缓冲剂、赋形剂、稀释剂、稳定剂或防腐剂。

[0184] 术语“储存期”是指产品(例如,蛋白质(例如,IL-22Fc融合蛋白)可以被储存而不变得不适合使用(例如,施用于对象)或销售的时间长度,在一些实施方案中,储存期是其中组合物(例如,药物组合物)稳定的时间长度,例如,在一些实施方案中,当在5℃±3℃储存并避光时本文的组合物具有至少36个月的储存期。在一些实施方案中,当在-20℃储存时本文的组合物具有至少48个月的储存期。在一些实施方案中,当在-20℃储存时本文的组合物具有至少60个月的储存期。

[0185] ″稳定的″药物制剂是其中的蛋白质(例如,IL-22Fc融合蛋白)在储存后基本上保持其物理稳定性和/或化学稳定性和/或生物活性的制剂。优选地,制剂在储存时基本上保持其物理和化学稳定性,以及其生物活性。通常基于制剂的预期储存期来选择储存期。用于测定蛋白质稳定性的各种分析技术在本领域中是可获得的,并且在例如Peptide and Protein Drug Delivery,247-301,Vincent Lee Ed.,Marcel Dekker,Inc.,纽约,N.Y.,Pubs.(1991)和Jones,A.Adv.Drug Delivery Rev.10:29-90(1993)中综述。稳定性可以在选定的曝光量和/或温度下持续选定的时间段来测定。稳定性可以以多种不同的方式定性地和/或定量地进行评估,包括评估聚集体形成(例如,使用尺寸排阻色谱法、通过测定浊度和/或通过视觉检查);ROS形成的评价(例如,通过使用光应力测定或2,2’-偶氮二(2-脒基丙烷)二盐酸盐(AAPH)应力测定);蛋白质的特定氨基酸残基(例如,IL-22Fc融合蛋白的Met残基)的氧化;通过使用阳离子交换色谱、图像毛细管等电聚焦(icIEF)或毛细管区带电泳评估电荷异质性;氨基末端或羧基末端序列分析;质谱分析;比较还原的和完整的多肽(例如,IL-22Fc融合蛋白)的SDS-PAGE分析;肽图谱(例如,胰蛋白酶或LYS-C)分析;评估所述蛋白质的生物活性或靶结合功能(例如,IL-22Fc融合蛋白与IL-22受体的结合);等等。不稳定性可以涉及以下中的任何一个或多个:聚集、脱酰胺(例如Asn脱酰胺)、氧化(例如Met氧化和/或Trp氧化)、异构化(例如Asp异构化)、剪切/水解/片段化(例如铰链区片段化)、琥珀酰亚胺形成、未配对的半胱氨酸、N-末端延伸、C-末端加工、糖基化差异等。

[0186] 如果在目测颜色和/或透明度后,或通过UV光散射或通过尺寸排阻色谱法测定,蛋白质(例如IL-22Fc融合蛋白)没有显示聚集、沉淀、断裂和/或变性的迹象或显示非常少的聚集、沉淀、断裂和/或变性,则其在药物制剂中″保持其物理稳定性″。

[0187] 如果在给定时间的化学稳定性使得蛋白质(例如,IL-22Fc融合蛋白)被认为仍然保持其如下定义的生物活性,则蛋白质(例如,IL-22Fc融合蛋白)在药物制剂中″保持其化学稳定性″。化学稳定性可通过检测和定量蛋白质(例如IL-22Fc融合蛋白)的化学改变形式来评估。化学改变可涉及蛋白质氧化,其可使用例如胰蛋白酶消化的肽段作图、反相高效液相色谱(HPLC)和液相色谱-质谱(LC/MS)来评估。其它类型的化学改变包括蛋白质(例如IL-22Fc融合蛋白)的电荷改变,其可通过例如离子交换色谱或icIEF评估。

[0188] 如果在给定时间蛋白质(例如,IL-22Fc融合蛋白)的生物活性是在制备药物制剂时(在测定误差范围内)所显示的生物活性的约20%以内(例如,在约10%以内),如例如在受体结合测定中所测定的,则该蛋白质(例如,IL-22Fc融合蛋白)″保留其生物活性″。

[0189] 如本文所用,蛋白质(例如,IL-22Fc融合蛋白)的″生物活性″是指蛋白质(例如,

IL-22Fc融合蛋白)结合其靶标的能力,例如,IL-22Fc融合蛋白结合IL-22受体的能力。它还可以包括可以在体外或体内测定的生物学反应。这种活性可以是拮抗的或激动的。在一些具体的实施方案中,所述活性是激动的(例如,受体活化)。

[0190] "易受氧化影响"的蛋白质(例如IL-22Fc融合蛋白)是包含一个或多个已发现易于氧化的残基的蛋白质,所述残基例如但不限于甲硫氨酸(Met)、半胱氨酸(Cys)、组氨酸(His)、色氨酸(Trp)和酪氨酸(Tyr)。例如,IL-22多肽中的一个或多个甲硫氨酸残基可能对氧化敏感。

[0191] 术语"氧化百分比"是指制剂(例如药物组合物)中在特定氨基酸残基例如Met残基处被氧化的蛋白质(例如IL-22Fc融合蛋白)的百分比。氧化百分比可通过例如质谱(MS)分析其中存在一个或多个特定的易于氧化的氨基酸残基的一个或多个胰蛋白酶消化的肽段来测定。在从蛋白质(例如,IL-22Fc融合蛋白)或其药物组合物的初始生产起的9个月、12个月、18个月或两年内,可以测定氧化百分比,例如,经AAPH应力测定。

[0192] 本文所用的术语"通过AAPH应力测定评估"是指在将蛋白(例如IL-22Fc融合蛋白)与AAPH(例如约0mM AAPH、约1mM AAPH、约3mM AAPH、约3.5mM AAPH或约5mM AAPH)配制后,通过胰蛋白酶消化的肽段的质谱分析测定特定氨基酸残基(例如Met残基)处的氧化百分比,例如在约10mg/mL IL-22Fc融合蛋白、约10mM磷酸钠、约240mM蔗糖、约0.02(w/v)聚山梨醇酯20、pH约7.1的制剂中在约40℃约24小时。胰蛋白酶消化经应力的蛋白(例如IL-22Fc融合蛋白),并将消化的肽进行LC-MS-MS以测定氧化百分比。

[0193] 如本文所用,"缓冲液"是指通过其酸-碱共轭组分的作用抵抗pH变化的缓冲溶液(本文也称为"缓冲剂")。在一些实施方案中,本发明的缓冲液具有约6至约8范围内的pH,在一些实施方案中,缓冲液具有基本上中性的pH。缓冲液优选具有约6.8至约7.4(例如,约6.8、约6.9、约7.0、约7.1、约7.2、约7.3或约7.4)范围内的pH,例如,约pH 7.1。用于本发明的示例性缓冲剂包括但不限于磷酸盐、琥珀酸盐、乙酸盐、组氨酸或其组合。在一些实施方案中,所述磷酸盐是磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、磷酸三钠、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、磷酸三钾或其混合物。在一些实施方案中,磷酸盐是磷酸二氢钠。在一些实施方案中,磷酸盐是磷酸氢二钠。在一些实施方案中,磷酸盐是磷酸二氢钠和磷酸氢二钠的混合物。

[0194] 如本文所用,术语"基本上中性"是指在约20℃至约30℃(例如,约20℃、约21℃、约22℃、约23℃、约24℃、约25℃、约26℃、约27℃、约28℃、约29℃、约30℃)的温度下测定的约6.6至约8(例如,约6.6、约6.7、约6.8、约6.9、约7.0、约7.1、约7.2、约7.3、约7.4、约7.5、约7.6、约7.7、约7.8、约7.9或约8.0)的pH范围。

[0195] 如本文所用,"表面活性剂"是指表面活性试剂,优选非离子表面活性剂。本文的表面活性剂的实例包括聚山梨酯(例如,聚山梨酯20和聚山梨酯80);泊洛沙姆(例如,泊洛沙姆188);TRITON®;辛基苷钠;月桂基-、肉豆蔻基-、亚油醇基-(linoleyl-)或硬脂酰基-磺基甜菜碱;月桂基-、肉豆蔻基-、亚油醇基-或硬脂酰基-肌氨酸;亚油醇基-、肉豆蔻基-或鲸蜡基-甜菜碱;月桂酰氨基丙基-、椰油酰氨基丙基-、亚油酰氨基丙基-、肉豆蔻酰氨基丙基-、棕榈酰氨基丙基-或异硬脂酰氨基丙基-甜菜碱(例如,月桂酰氨基丙基);肉豆蔻酰氨基丙基-、棕榈酰氨基丙基-或异硬脂酰氨基丙基-二甲胺;甲基椰油酰基钠-或甲基油基-牛磺酸钠;和MONAQUAT™系列(Mona Industries,Inc.,Paterson,N.J.);聚乙二醇,聚丙二醇以及乙二醇和丙二醇的共聚物(例如,PLURONIC®型嵌段共聚物,例如,PLURONIC®F-

68);等。在另一个实施方案中,本文的表面活性剂是泊洛沙姆188。

[0196] "防腐剂"是可以任选地包含在制剂中以基本上减少其中的细菌作用,从而促进例如多用途制剂的生产的化合物,举例而言。潜在防腐剂的实例包括十八烷基二甲基苄基氯化铵、氯化六甲双铵、苯扎氯铵(烷基苄基二甲基氯化铵的混合物,其中烷基是长链化合物)和苄索氯铵。其它类型的防腐剂包括芳香醇,例如苯酚、丁醇和苄醇;对羟基苯甲酸烷基酯,例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;邻苯二酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇和间甲酚。在一个实施方案中,本文的防腐剂是苯甲醇。在一些实施方案中,制剂不包括防腐剂。

[0197] 在本申请范围内,除非另外声明,否则所用的技术可以在几种熟知参考文献的任一者中找到,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)及Harlow和Lane(1988)Antibodies:A Laboratory Manual第14辛(Cold Spring Harbor Laboratory,Cold Spring Harbor,NY)。

[0198] 如果适宜,除非另外指出,否则通常根据制造商限定的方案和/或参数,实施涉及使用市售试剂盒和试剂的方法。在因此本发明的方法和用途之前,应当理解本发明不限于如描述那样的具体方法、方案、细胞系、动物物种或属、构建体和试剂,它们当然可以变动。还应当理解本文所用的术语目的仅在于描述具体实施方案,并且不意图限制本发明,本发明将仅受所附权利要求书限制。

[0199] II.组合物和方法

[0200] 本发明提供了包含蛋白质(例如,Fc融合蛋白,诸如IL-22Fc融合蛋白)的组合物(例如,药物组合物)及其用途,例如,用于治疗IL-22相关疾病、诸如IBD(例如,溃疡性结肠炎(UC)和克罗恩病)、心血管病症、代谢综合征、GVHD,以及用于加速创伤愈合(例如,糖尿病创伤愈合)。本文还提供了制备所述组合物的方法。

[0201] 本发明至少部分基于本发明的发现,即本文所述的IL-22Fc融合蛋白的特定制剂提供了有利的性质,例如,如本发明实施例中所述。在某些方面,此类有利性质包括本文所述IL-22Fc融合蛋白和包含IL-22Fc融合蛋白的组合物的稳定性增加和/或储存期增加。此外,目前发现IL-22Fc蛋白在较高pH值下出乎意料地具有较高的热稳定性,如实施例1所述,下文更详细地描述了目前发现的组合物的这些和其它有利性质。

[0202] A.药物组合物

[0203] 本发明提供了包含具有改善的储存期和稳定性的蛋白质(例如Fc融合蛋白,如IL-22Fc融合蛋白)的组合物(例如药物组合物)。本文所述的任何IL-22Fc融合蛋白都可用于组合物中,但应理解,也可使用其它Fc融合蛋白(例如,包括其它白介素的Fc融合蛋白)。

[0204] 例如,在一个方面中,本发明提供了包含IL-22Fc融合蛋白和载体的组合物(例如,药物组合物),其中当在5℃±3℃储存并避光时,所述组合物具有至少约12个月的储存期(例如,至少约12个月、约18个月、约24个月、约30个月、约36个月、约42个月、约48个月、约54个月、约60个月、约66个月或约72个月),且其中所述IL-22Fc融合蛋白包括通过接头与Fc区连接的IL-22多肽。在一些实施方案中,当在5℃±3℃储存并避光时所述药物组合物具有至少36个月的储存期。在一些实施方案中,当在5℃±3℃储存并避光时所述组合物具有至少42个月的储存期。在一些实施方案中,当在5℃±3℃储存并避光时所述组合物具有至少48

个月的储存期。

[0205] 例如，在一些实施方案中，当在5℃±3℃储存并避光时，所述储存期为约1个月至约72个月(例如，约1个月、约5个月、约10个月、约15个月、约20个月、约24个月、约25个月、约30个月、约35个月、约40个月、约45个月、约48个月、约50个月、约55个月、约60个月、约65个月、约70个月或约72个月)。在一些实施方案中，当在5℃±3℃储存并避光时，所述储存期为约1个月至约72个月、约1个月至约70个月、约1个月至约65个月、约1个月至约60个月、约1个月至约55个月、约1个月至约50个月、约1个月至约48个月、约1个月至约45个月、约1个月至约40个月、约1个月至约35个月、约1个月至约30个月、约1个月至约25个月、约1个月至约24个月、约1个月至约20个月、约1个月至约18个月、约1个月至约15个月、约1个月至约12个月、约1个月至约9个月、约1个月至约6个月、约1个月至约3个月、约5个月至约72个月、约5个月至约70个月、约5个月至约65个月、约5个月至约60个月、约5个月至约55个月、约5个月至约50个月、约5个月至约48个月、约5个月至约45个月、约5个月至约40个月、约5个月至约35个月、约5个月至约30个月、约5个月至约25个月、约5个月至约24个月、约5个月至约20个月、约5个月至约18个月、约5个月至约15个月、约5个月至约12个月、约5个月至约9个月、约5个月至约6个月、约10个月至约72个月、约10个月至约70个月、约10个月至约65个月、约10个月至约60个月、约10个月至约55个月、约10个月至约50个月、约10个月至约48个月、约10个月至约45个月、约10个月至约40个月、约10个月至约35个月、约10个月至约30个月、约10个月至约25个月、约10个月至约24个月、约10个月至约20个月、约10个月至约18个月、约10个月至约15个月、约10个月至约12个月、约12个月至约72个月、约12个月至约70个月、约12个月至约65个月、约12个月至约60个月、约12个月至约55个月、约12个月至约50个月、约12个月至约48个月、约12个月至约45个月、约12个月至约40个月、约12个月至约35个月、约12个月至约30个月、约12个月至约25个月、约12个月至约24个月、约12个月至约20个月、约12个月至约18个月、约12个月至约15个月、约18个月至约72个月、约18个月至约70个月、约18个月至约65个月、约18个月至约60个月、约18个月至约55个月、约18个月至约50个月、约18个月至约48个月、约18个月至约45个月、约18个月至约40个月、约18个月至约35个月、约18个月至约30个月、约18个月至约25个月、约18个月至约24个月、约18个月至约20个月、约24个月至约72个月、约24个月至约70个月、约24个月至约65个月、约24个月至约60个月、约24个月至约55个月、约24个月至约50个月、约24个月至约48个月、约24个月至约45个月、约24个月至约40个月、约24个月至约35个月、约24个月至约30个月、约24个月至约25个月、约30个月至约72个月、约30个月至约70个月、约30个月至约65个月、约30个月至约60个月、约30个月至约55个月、约30个月至约50个月、约30个月至约48个月、约30个月至约45个月、约30个月至约40个月、约30个月至约35个月、约30个月至约36个月、约36个月至约72个月、约36个月至约70个月、约36个月至约65个月、约36个月至约60个月、约36个月至约55个月、约36个月至约50个月、约36个月至约48个月、约36个月至约45个月、约36个月至约40个月、约40个月至约72个月、约40个月至约70个月、约40个月至约65个月、约40个月至约60个月、约40个月至约55个月、约40个月至约50个月、约40个月至约48个月、约40个月至约45个月、约42个月至约72个月、约42个月至约70个月、约42个月至约65个月、约42个月至约60个月、约42个月至约55个月、约42个月至约50个月、约42个月至约48个月、约42个月至约45个月、约46个月至约72个月、约46个月至约70个月、约46个月至约65个月、约46个月至约60个月、约46个月至

约55个月、约46个月至约50个月、约46个月至约48个月、约48个月至约72个月、约48个月至约70个月、约48个月至约65个月、约48个月至约60个月、约48个月至约55个月、约48个月至约50个月、约50个月至约72个月、约50个月至约70个月、约50个月至约65个月、约50个月至约60个月、约50个月至约55个月、约55个月至约72个月、约55个月至约70个月、约55个月至约65个月、约55个月至约60个月、约60个月至约72个月、约60个月至约70个月或约60个月至约65个月。

[0206] 组合物(例如,药物组合物)可具有任何合适浓度的IL-22Fc融合蛋白。例如,在任何前述组合物(例如,药物组合物)中,IL-22Fc融合蛋白的浓度可以为约0.01mg/mL至约30mg/mL,例如,约0.01mg/mL、约0.05mg/mL、约0.1mg/mL、约0.2mg/mL、约0.3mg/mL、约0.4mg/mL、约0.5mg/mL、约0.6mg/mL、约0.7mg/mL、约0.8mg/mL、约0.9mg/mL、约1mg/mL、约2mg/mL、约3mg/mL、约4mg/mL、约5mg/mL、约6mg/mL、约7mg/mL、约8mg/mL、约9mg/mL、约10mg/mL、约11mg/mL、约12mg/mL、约13mg/mL、约14mg/mL、约15mg/mL、约16mg/mL、约17mg/mL、约18mg/mL、约19mg/mL、约20mg/mL、约21mg/mL、约22mg/mL、约23mg/mL、约24mg/mL、约25mg/mL、约26mg/mL、约27mg/mL、约28mg/mL、约29mg/mL或约30mg/mL。

[0207] 例如,在一些实施方案中,IL-22Fc融合蛋白的浓度为约1mg/mL至约30mg/mL、约2mg/mL至约30mg/mL、约3mg/mL至约30mg/mL、约4mg/mL至约30mg/mL、约5mg/mL至约30mg/mL、约6mg/mL至约30mg/mL、约7mg/mL至约30mg/mL、约8mg/mL至约30mg/mL、约9mg/mL至约30mg/mL、约10mg/mL至约30mg/mL、约11mg/mL至约30mg/mL、约12mg/mL至约30mg/mL、约13mg/mL至约30mg/mL、约14mg/mL至约30mg/mL、约15mg/mL至约30mg/mL、约20mg/mL至约30mg/mL、约25mg/mL至约30mg/mL、约1mg/mL至约20mg/mL、约2mg/mL至约20mg/mL、约3mg/mL至约20mg/mL、约4mg/mL至约20mg/mL、约5mg/mL至约20mg/mL、约6mg/mL至约20mg/mL、约7mg/mL至约20mg/mL、约8mg/mL至约20mg/mL、约9mg/mL至约20mg/mL、约10mg/mL至约20mg/mL、约11mg/mL至约20mg/mL、约12mg/mL至约20mg/mL、约13mg/mL至约20mg/mL、约14mg/mL至约20mg/mL、约15mg/mL至约20mg/mL、约1mg/mL至约15mg/mL、约2mg/mL至约15mg/mL、约3mg/mL至约15mg/mL、约4mg/mL至约15mg/mL、约5mg/mL至约15mg/mL、约6mg/mL至约15mg/mL、约7mg/mL至约15mg/mL、约8mg/mL至约15mg/mL、约9mg/mL至约15mg/mL、约10mg/mL至约15mg/mL、约11mg/mL至约15mg/mL、约12mg/mL至约15mg/mL、约13mg/mL至约15mg/mL、约14mg/mL至约15mg/mL、约1mg/mL至约10mg/mL、约2mg/mL至约10mg/mL、约3mg/mL至约10mg/mL、约4mg/mL至约10mg/mL、约5mg/mL至约10mg/mL、约6mg/mL至约10mg/mL、约7mg/mL至约10mg/mL、约8mg/mL至约10mg/mL、约9mg/mL至约10mg/mL、约1mg/mL至约5mg/mL、约2mg/mL至约5mg/mL、约3mg/mL至约5mg/mL或约4mg/mL至约5mg/mL。

[0208] 在一些实施方案中,IL-22Fc融合蛋白的浓度为约0.5mg/mL至约20mg/mL。在一些实施方案中,IL-22Fc融合蛋白的浓度为约0.5mg/mL至约5mg/mL。在一些实施方案中,IL-22Fc融合蛋白的浓度为约1mg/mL。在其它实施方案中,IL-22Fc融合蛋白的浓度为约8mg/mL至约12mg/mL。在一些实施方案中,IL-22Fc融合蛋白的浓度为约10mg/mL。

[0209] 任何前述组合物(例如,药物组合物)可以包括稳定剂。可以使用任何合适的稳定剂。例如,在一些实施方案中,所述稳定剂是氨基酸、硫代山梨糖醇、抗坏血酸、一硫代甘油、环糊精、Trolox(6-羟基-2,5,7,8-四甲基苯并二氢吡喃-2-甲酸)、吡哆素、甘露醇、金属螯合剂或其组合。在一些实施方案中,所述稳定剂是氨基酸。在一些实施方案中,所述氨基酸

是甲硫氨酸、半胱氨酸、色氨酸或其组合。在一些实施方案中，所述氨基酸是甲硫氨酸。

[0210] 可以使用任何合适浓度的稳定剂。例如，在任何前述组合物(例如，药物组合物)的一些实施方案中，稳定剂的浓度(例如，甲硫氨酸)为约0.01mM至约30mM，例如，约0.01mM、约0.05mM、约0.1mM、约0.2mM、约0.3mM、约0.4mM、约0.5mM、约0.6mM、约0.7mM、约0.8mM、约0.9mM、约1mM、约2mM、约3mM、约4mM、约5mM、约6mM、约7mM、约8mM、约9mM、约10mM、约11mM、约12mM、约13mM、约14mM、约15mM、约16mM、约17mM、约18mM、约19mM、约20mM、约21mM、约22mM、约23mM、约24mM、约25mM、约26mM、约27mM、约28mM、约29mM或约30mM。在一些实施方案中，稳定剂的浓度(例如，甲硫氨酸)为约1mM至约30mM、约2mM至约30mM、约3mM至约30mM、约4mM至约30mM、约5mM至约30mM、约6mM至约30mM、约7mM至约30mM、约8mM至约30mM、约9mM至约30mM、约10mM至约30mM、约11mM至约30mM、约12mM至约30mM、约13mM至约30mM、约14mM至约30mM、约15mM至约30mM、约20mM至约30mM、约25mM至约30mM、约1mM至约20mM、约2mM至约20mM、约3mM至约20mM、约4mM至约20mM、约5mM至约20mM、约6mM至约20mM、约7mM至约20mM、约8mM至约20mM、约9mM至约20mM、约10mM至约20mM、约11mM至约20mM、约12mM至约20mM、约13mM至约20mM、约14mM至约20mM、约15mM至约20mM、约1mM至约15mM、约2mM至约15mM、约3mM至约15mM、约4mM至约15mM、约5mM至约15mM、约6mM至约15mM、约7mM至约15mM、约8mM至约15mM、约9mM至约15mM、约10mM至约15mM、约11mM至约15mM、约12mM至约15mM、约13mM至约15mM、约14mM至约15mM、约1mM至约10mM、约2mM至约10mM、约3mM至约10mM、约4mM至约10mM、约5mM至约10mM、约6mM至约10mM、约7mM至约10mM、约8mM至约10mM、约9mM至约10mM、约1mM至约5mM、约2mM至约5mM、约3mM至约5mM或约4mM至约5mM。在一些实施方案中，稳定剂的浓度(例如，甲硫氨酸)为约2mM至约8mM。在一些具体的实施方案中，稳定剂的浓度(例如，甲硫氨酸)为约5mM。

[0211] 在任何前述组合物(例如药物组合物)中，如通过AAPH应力测定，M25或M139位(例如相对于SEQ ID NO:4的氨基酸序列)的甲硫氨酸的氧化小于约10％，例如，小于约10％、约9％、约8％、约7％、约6％、约5％、约4％、约3％、约2％、约1％或更小。在一些实施方案中，SEQ ID NO:4的M25位的甲硫氨酸氧化小于5％、小于3％或小于2％。在一些实施方案中，SEQ ID NO:4的M139位的甲硫氨酸氧化小于7％、小于6％或小于5％。

[0212] 任何前述组合物(例如，药物组合物)可进一步包括表面活性剂。可以使用任何合适的表面活性剂。在一些实施方案中，所述表面活性剂是非离子表面活性剂(例如，聚山梨酯、泊洛沙姆、聚氧乙烯烷基醚、烷基苯基聚氧乙烯醚或其组合)。在一些实施方案中，所述非离子表面活性剂是聚山梨酯(例如，聚山梨酯20或聚山梨酯80)。在一些具体的实施方案中，所述聚山梨酯是聚山梨酯20。在其它实施方案中，所述非离子表面活性剂是泊洛沙姆(例如，泊洛沙姆188)。

[0213] 可以使用任何合适浓度的表面活性剂。例如，在任何前述组合物(例如，药物组合物)的一些实施方案中，表面活性剂的浓度(例如，聚山梨酯20或泊洛沙姆188)为约0.001％(w/v)至约2％(w/v)，例如，约0.001％、约0.01％、约0.1％、约0.2％、约0.3％、约0.4％、约0.5％、约0.6％、约0.7％、约0.8％、约0.9％、约1％、约1.1％、约1.2％、约1.3％、约1.4％、约1.5％、约1.6％、约1.7％、约1.8％、约1.9％或约2％(w/v)。在一些实施方案中，表面活性剂的浓度(例如，聚山梨酯20或泊洛沙姆188)为约0.01％(w/v)至约0.05％(w/v)。在一些实施方案中，表面活性剂的浓度(例如，聚山梨酯20或泊洛沙姆188)为约0.01％(w/v)至约0.07％(w/v)。在一些具体的实施方案中，表面活性剂的浓度(例如，聚山梨酯20或泊洛沙姆

188)为约0.02%(w/v)。

[0214] 任何前述组合物(例如,药物组合物)可进一步包括缓冲剂。可以使用任何合适的缓冲剂。在一些实施方案中,所述缓冲剂是磷酸盐、琥珀酸盐、乙酸盐、组氨酸或其组合。在一些实施方案中,所述磷酸盐是磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、磷酸三钠、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、磷酸三钾或其混合物。在一些实施方案中,所述磷酸盐是磷酸二氢钠。在一些实施方案中,所述磷酸盐是磷酸氢二钠。在一些实施方案中,所述磷酸盐是磷酸二氢钠和磷酸氢二钠的混合物。

[0215] 可以使用任何合适浓度的缓冲剂。例如,在任何前述组合物(例如,药物组合物)的一些实施方案中,缓冲剂(例如,磷酸钠)的浓度为约0.01mM至约50mM,例如,约0.01mM、约0.05mM、约0.1mM、约0.2mM、约0.3mM、约0.4mM、约0.5mM、约0.6mM、约0.7mM、约0.8mM、约0.9mM、约1mM、约2mM、约3mM、约4mM、约5mM、约6mM、约7mM、约8mM、约9mM、约10mM、约11mM、约12mM、约13mM、约14mM、约15mM、约16mM、约17mM、约18mM、约19mM、约20mM、约21mM、约22mM、约23mM、约24mM、约25mM、约26mM、约27mM、约28mM、约29mM、约30mM、约31mM、约32mM、约33mM、约34mM、约35mM、约36mM、约37mM、约38mM、约39mM、约40mM、约41mM、约42mM、约43mM、约44mM、约45mM、约46mM、约47mM、约48mM、约49mM或约50mM。在一些实施方案中,缓冲剂(例如,磷酸钠)的浓度为约5mM至约20mM。在一些实施方案中,缓冲剂(例如,磷酸钠)的浓度为约8mM至约12mM。在一些具体的实施方案中,缓冲剂(例如,磷酸钠)的浓度为约10mM。

[0216] 任何前述组合物(例如,药物组合物)可进一步包括张度剂。可以使用任何合适的张度剂。在一些实施方案中,所述张度剂是糖(例如,蔗糖、葡萄糖、甘油或海藻糖)、氨基酸或盐(例如,氯化钠或氯化钾)。在一些具体的实施方案中,所述张度剂是蔗糖。

[0217] 可以使用任何合适浓度的张度剂。例如,在任何前述组合物(例如,药物组合物)的一些实施方案中,张度剂(例如,蔗糖)的浓度为约1mM至约1M,例如,约1mM、约2mM、约3mM、约4mM、约5mM、约6mM、约7mM、约8mM、约9mM、约10mM、约11mM、约12mM、约13mM、约14mM、约15mM、约16mM、约17mM、约18mM、约19mM、约20mM、约21mM、约22mM、约23mM、约24mM、约25mM、约26mM、约27mM、约28mM、约29mM、约30mM、约31mM、约32mM、约33mM、约34mM、约35mM、约36mM、约37mM、约38mM、约39mM、约40mM、约41mM、约42mM、约43mM、约44mM、约45mM、约46mM、约47mM、约48mM、约49mM、约50mM、约60mM、约70mM、约80mM、约90mM、约100mM、约110mM、约120mM、约130mM、约140mM、约150mM、约160mM、约170mM、约180mM、约190mM、约200mM、约210mM、约220mM、约230mM、约240mM、约250mM、约260mM、约270mM、约280mM、约290mM、约300mM、约310mM、约320mM、约330mM、约340mM、约350mM、约360mM、约370mM、约380mM、约390mM、约400mM、约410mM、约420mM、约430mM、约440mM、约450mM、约460mM、约470mM、约480mM、约490mM、约500mM、约510mM、约520mM、约530mM、约540mM、约550mM、约560mM、约570mM、约580mM、约590mM、约600mM、约700mM、约800mM、约900mM或约1M。在一些实施方案中,张度剂的浓度为约100mM至约500mM。在一些实施方案中,张度剂的浓度为约200mM至约300mM。在一些实施方案中,张度剂的浓度为约240mM。

[0218] 本文所述的组合物(例如,药物组合物)可具有任何合适的pH。例如,在一些实施方案中,组合物的pH为约5至约9,例如,约5、约5.5、约6、约6.5、约6.6、约6.7、约6.8、约6.9、约7.0、约7.1、约7.15、约7.2、约7.3、约7.4、约7.5、约8.0、约8.5或约9。例如,在一些实施方案中,所述pH为约6.0至约8.0、约6.0至约7.9、约6.0至约7.8、约6.0至约7.7、约6.0至约7.6、

约6.0至约7.5、约6.0至约7.4、约6.0至约7.3、约6.0至约7.2、约6.0至约7.1、约6.0至约7.0、约6.0至约6.9、约6.0至约6.8、约6.0至约6.7、约6.0至约6.6、约6.0至约6.5、约6.0至约6.4、约6.0至约6.3、约6.0至约6.2、约6.0至约6.1、约6.5至约8.0、约6.5至约7.9、约6.5至约7.8、约6.5至约7.7、约6.5至约7.6、约6.5至约7.5、约6.5至约7.4、约6.5至约7.3、约6.5至约7.2、约6.5至约7.1、约6.5至约7.0、约6.5至约6.9、约6.5至约6.8、约6.5至约6.7、约6.5至约6.6、约6.6至约8.0、约6.6至约7.9、约6.6至约7.8、约6.6至约7.7、约6.6至约7.6、约6.6至约7.5、约6.6至约7.4、约6.6至约7.3、约6.6至约7.2、约6.6至约7.1、约6.6至约7.0、约6.6至约6.9、约6.6至约6.8、约6.6至约6.7、约6.7至约8.0、约6.7至约7.9、约6.7至约7.8、约6.7至约7.7、约6.7至约7.6、约6.7至约7.5、约6.7至约7.4、约6.7至约7.3、约6.7至约7.2、约6.7至约7.1、约6.7至约7.0、约6.7至约6.9、约6.7至约6.8、约6.8至约8.0、约6.8至约7.9、约6.8至约7.8、约6.8至约7.7、约6.8至约7.6、约6.8至约7.5、约6.8至约7.4、约6.8至约7.3、约6.8至约7.2、约6.8至约7.1、约6.8至约7.0、约6.8至约6.9、约6.9至约8.0、约6.9至约7.9、约6.9至约7.8、约6.9至约7.7、约6.9至约7.6、约6.9至约7.5、约6.9至约7.4、约6.9至约7.3、约6.9至约7.2、约6.9至约7.1、约6.9至约7.0、约7.0至约8.0、约7.0至约7.9、约7.0至约7.8、约7.0至约7.7、约7.0至约7.6、约7.0至约7.5、约7.0至约7.4、约7.0至约7.3、约7.0至约7.2、约7.0至约7.1、约7.01至约7.2、约7.02至约7.2、约7.03至约7.2、约7.04至约7.2、约7.05至约7.2、约7.06至约7.2、约7.07至约7.2、约7.08至约7.2、约7.09至约7.2、约7.1至约7.2、约7.01至约7.15、约7.02至约7.15、约7.03至约7.15、约7.04至约7.15、约7.05至约7.15、约7.06至约7.15、约7.07至约7.15、约7.08至约7.15、约7.09至约7.15或约7.1至约7.15

[0219] 例如，在一些实施方案中，pH基本上是中性的。例如，在一些实施方案中，所述pH为约6.6至约8(例如，约6.6、约6.7、约6.8、约6.9、约7.0、约7.1、约7.15、约7.2、约7.3、约7.4、约7.5、约8.0)。在一些实施方案中，所述pH为约6.8至约7.4(例如，约6.8、约6.85、约6.9、约6.95、约7.0、约7.05、约7.1、约7.15、约7.2、约7.25、约7.3、约7.35或约7.4)。在一些具体的实施方案中，所述pH为约7.1。

[0220] 例如，本文提供了包含IL-22Fc融合蛋白和载体的组合物(例如，药物组合物)，所述IL-22Fc融合蛋白包含通过接头与Fc区连接的IL-22多肽，其中所述药物组合物包括约0.01 mg/mL至约30mg/mL IL-22Fc融合蛋白(例如，约0.01mg/mL、约0.05mg/mL、约0.1mg/mL、约0.2mg/mL、约0.3mg/mL、约0.4mg/mL、约0.5mg/mL、约0.6mg/mL、约0.7mg/mL、约0.8mg/mL、约0.9mg/mL、约1mg/mL、约2mg/mL、约3mg/mL、约4mg/mL、约5mg/mL、约6mg/mL、约7mg/mL、约8mg/mL、约9mg/mL、约10mg/mL、约11mg/mL、约12mg/mL、约13mg/mL、约14mg/mL、约15mg/mL、约16mg/mL、约17mg/mL、约18mg/mL、约19mg/mL、约20mg/mL、约21mg/mL、约22mg/mL、约23mg/mL、约24mg/mL、约25mg/mL、约26mg/mL、约27mg/mL、约28mg/mL、约29mg/mL或约30mg/mLIL-22Fc融合蛋白)、约5mM甲硫氨酸和约0.02％(w/v)聚山梨酯20，pH 7.1，终浓度。在一些实施方案中，组合物(例如，药物组合物)包括约10mM磷酸钠和约240mM蔗糖。在一些实施方案中，组合物(例如，药物组合物)包括约1mg/mL的IL-22Fc融合蛋白。在一些实施方案中，组合物(例如，药物组合物)包括约10mg/mL的IL-22Fc融合蛋白。在一些实施方案中，所述磷酸钠是磷酸二氢钠和磷酸氢二钠的混合物。

[0221] 本文提供的任何组合物(例如，药物组合物)可以是单位剂型。在一些实施方案中，

所述单位剂型是用于输注的液体制剂。在一些实施方案中，所述单位剂型是用于注射的液体制剂。在一些实施方案中，所述液体制剂(例如，用于输注或注射)在容器中提供，所述容器的标称体积小于约100mL，例如，小于约100mL，小于约90mL，小于约80mL，小于约70mL，小于约60mL，小于约50mL，小于约40mL，小于约30mL，小于约20mL，小于约10mL或小于约5mL。在一些实施方案中，液体制剂(例如，用于输注或注射)的体积为约1mL至约2mL，例如，约1mL，约1.1mL，约1.2mL，约1.3mL，约1.4mL，约1.5mL，约1.6mL，约1.7mL，约1.8mL，约1.9mL或约2mL。在一些实施方案中，液体制剂(例如，用于输注或注射)的体积为约1mL。

[0222] 在本文提供的任何组合物(例如药物组合物)的实施方案中，容器中存在的≥10μμm的颗粒的数量不超过约10,000个颗粒。例如，在一些实施方案中，所述容器中存在的≥10μμm的颗粒的数量不超过约10,000个颗粒、约9,000个颗粒、约7,000个颗粒、约6,000个颗粒、约5,000个颗粒、约4,000个颗粒、约3,000个颗粒、约2,000个颗粒、约1,000个颗粒、约900个颗粒、约800个颗粒、约700个颗粒、约600个颗粒、约500个颗粒、约400个颗粒、约300个颗粒、约200个颗粒或约100个颗粒。在一些实施方案中，容器中存在的≥10μm的颗粒的数量不超过6000个颗粒。

[0223] 在本文提供的任何组合物(例如药物组合物)的实施方案中，容器中存在的≥25μm的颗粒的数量不超过约2,000个颗粒，例如，约2,000个颗粒、约1,500个颗粒、约1,200个颗粒、约1,000个颗粒、约900个颗粒、约800个颗粒、约700个颗粒、约600个颗粒、约500个颗粒、约400个颗粒、约300个颗粒、约200个颗粒或约100个颗粒。在一些实施方案中，容器中存在的≥25μm的颗粒的数量不超过600个颗粒。

[0224] 任何适合的载体可以用于本文提供的任何组合物(例如，药物组合物)中。例如，在一些实施方案中，所述载体是水。

[0225] 任何前述组合物(例如，药物组合物)在一个或多个冻融循环中能够是稳定的，例如，一个或多个、两个或更多个、三个或更多个、四个或更多个、五个或更多个、六个或更多个、七个或更多个、八个或更多个、九个或更多个、或者十个或更多个冻融循环。在一些实施方案中，药物组合物在三个冻融循环中是稳定的。

[0226] 在一些实施方案中，任何前述组合物(例如，药物组合物)在约5℃稳定约1个月或更长时间，例如，约1个月或更长时间、约2个月或更长时间、约3个月或更长时间、约4个月或更长时间、约5个月或更长时间、约6个月或更长时间、约7个月或更长时间、约8个月或更长时间、约9个月或更长时间、约10个月或更长时间、约11个月或更长时间、约12个月或更长时间、约14个月或更长时间、约16个月或更长时间、约18个月或更长时间、约20个月或更长时间、约22个月或更长时间、约24个月或更长时间、约26个月或更长时间、约28个月或更长时间、约30个月或更长时间、约32个月或更长时间、约34个月或更长时间、约36个月或更长时间、约38个月或更长时间、约40个月或更长时间、约42个月或更长时间、约44个月或更长时间、约46个月或更长时间、约48个月或更长时间、约50个月或更长时间、约52个月或更长时间、约54个月或更长时间、约56个月或更长时间、约58个月或更长时间、约60个月或更长时间、约62个月或更长时间、约64个月或更长时间、约66个月或更长时间、约68个月或更长时间、约70个月或更长时间、约72个月或更长时间、约74个月或更长时间、约76个月或更长时间、约78个月或更长时间、约80个月或更长时间、约82个月或更长时间、约84个月或更长时间、约86个月或更长时间、约88个月或更长时间、约90个月或更长时间、约92个月或更长时

间、约94个月或更长时间、约96个月或更长时间、约98个月或更长时间或约100个月或更长时间。在一些实施方案中，所述药物组合物在5℃稳定约24个月或更长时间。在一些实施方案中，所述药物组合物在5℃稳定约36个月或更长时间。在一些实施方案中，所述药物组合物在5℃稳定约42个月或更长时间。在一些实施方案中，所述药物组合物在5℃稳定约48个月或更长时间。

[0227] 在一些实施方案中，任何前述组合物(例如，药物组合物)在约25℃稳定约1周或更长时间，例如，约1周或更长时间、约2周或更长时间、约3周或更长时间、约4周或更长时间、约5周或更长时间、约6周或更长时间、约7周或更长时间、约8周或更长时间、约9周或更长时间、约10周或更长时间、约12周或更长时间、约14周或更长时间、约16周或更长时间、约18周或更长时间、约20周或更长时间、约22周或更长时间、约24周或更长时间、约26周或更长时间、约28周或更长时间、约30周或更长时间、约32周或更长时间、约34周或更长时间、约36周或更长时间、约38周或更长时间、约40周或更长时间、约42周或更长时间、约44周或更长时间、约46周或更长时间、约48周或更长时间、约50周或更长时间或约52周或更长时间。在一些实施方案中，所述药物组合物在约25℃稳定约2周或更长。在一些实施方案中，所述药物组合物在约25℃稳定约4周或更长时间。在一些实施方案中，所述药物组合物在约25℃稳定约8周或更长时间。

[0228] 在一些实施方案中，任何前述组合物(例如，药物组合物)在约-20℃稳定约12个月或更长时间，例如，约12个月或更长时间、约14个月或更长时间、约16个月或更长时间、约18个月或更长时间、约20个月或更长时间、约22个月或更长时间、约24个月或更长时间、约26个月或更长时间、约28个月或更长时间、约30个月或更长时间、约32个月或更长时间、约34个月或更长时间、约36个月或更长时间、约38个月或更长时间、约40个月或更长时间、约42个月或更长时间、约44个月或更长时间、约46个月或更长时间、约48个月或更长时间、约50个月或更长时间、约52个月或更长时间、约54个月或更长时间、约56个月或更长时间、约58个月或更长时间、约60个月或更长时间、约62个月或更长时间、约64个月或更长时间、约66个月或更长时间、约68个月或更长时间、约70个月或更长时间、约72个月或更长时间、约74个月或更长时间、约76个月或更长时间、约78个月或更长时间、约80个月或更长时间、约82个月或更长时间、约84个月或更长时间、约86个月或更长时间、约88个月或更长时间、约90个月或更长时间、约92个月或更长时间、约94个月或更长时间、约96个月或更长时间、约98个月或更长时间或约100个月或更长时间。在一些实施方案中，所述药物组合物在-20℃稳定约48个月或更长时间。在一些实施方案中，所述药物组合物在-20℃稳定约60个月或更长时间。在一些实施方案中，所述药物组合物在-20℃稳定约72个月或更长时间。在一些实施方案中，所述药物组合物在-20℃稳定约84个月或更长时间。在一些实施方案中，所述药物组合物在-20℃稳定约96个月或更长时间。

[0229] 任何前述组合物(例如，药物组合物)能够具有约70％或更高的纯度，例如，如通过尺寸排阻高效液相色谱(SE-HPLC)所评估。例如，所述组合物(例如药物组合物)能够具有约70％或更高、约72％或更高、约74％或更高、约76％或更高、约78％或更高、约80％或更高、约82％或更高、约84％或更高、约86％或更高、约88％或更高、约90％或更高、约91％或更高、约92％或更高、约94％或更高、约95％或更高、约96％或更高、约97％或更高、约98％或更高、约99％或更高或约100％的纯度，如通过SE-HPLC所评估。在一些实施方案中，所述药

物组合物具有约85％或更高的纯度，如通过SE-HPLC所评估。在一些实施方案中，所述药物组合物具有约90％或更高的纯度，如通过SE-HPLC所评估。在一些实施方案中，所述药物组合物具有约95％或更高的纯度，如通过SE-HPLC所评估。

[0230] 任何前述组合物(例如，药物组合物)能够具有约70％或更高的纯度(例如，约70％或更高、约72％或更高、约74％或更高、约76％或更高、约78％或更高、约80％或更高、约82％或更高、约84％或更高、约86％或更高、约88％或更高、约90％或更高、约91％或更高、约92％或更高、约94％或更高、约95％或更高、约96％或更高、约97％或更高、约98％或更高、约99％或更高或约100％)，如在约5℃约6个月或更长时间通过SE-HPLC所评估，例如，约6个月或更长时间、约7个月或更长时间、约8个月或更长时间、约9个月或更长时间、约10个月或更长时间、约11个月或更长时间、约12个月或更长时间、约14个月或更长时间、约16个月或更长时间、约18个月或更长时间、约20个月或更长时间、约22个月或更长时间、约24个月或更长时间、约26个月或更长时间、约28个月或更长时间、约30个月或更长时间、约32个月或更长时间、约34个月或更长时间、约36个月或更长时间、约38个月或更长时间、约40个月或更长时间、约42个月或更长时间、约44个月或更长时间、约46个月或更长时间、约48个月或更长时间、约50个月或更长时间、约52个月或更长时间、约54个月或更长时间、约56个月或更长时间、约58个月或更长时间、约60个月或更长时间、约62个月或更长时间、约64个月或更长时间、约66个月或更长时间、约68个月或更长时间、约70个月或更长时间、约72个月或更长时间、约74个月或更长时间、约76个月或更长时间、约78个月或更长时间、约80个月或更长时间、约82个月或更长时间、约84个月或更长时间、约86个月或更长时间、约88个月或更长时间、约90个月或更长时间、约92个月或更长时间、约94个月或更长时间、约96个月或更长时间、约98个月或更长时间或约100个月或更长时间。例如，在一些实施方案中，所述组合物具有约95％或更高的纯度，如在约5℃约36个月或更长时间通过SE-HPLC所评估。在一些实施方案中，组合物具有约95％或更高的纯度，如在约5℃约42个月或更长时间通过SE-HPLC所评估。在一些实施方案中，组合物具有约95％或更高的纯度，如在约5℃约48个月或更长时间通过SE-HPLC所评估。

[0231] 任何前述组合物(例如，药物组合物)能够具有约65％或更高的纯度，例如，通过毛细管电泳十二烷基硫酸钠非凝胶筛分(CE-SDS-NGS)、例如NR CE-SDS-NGS所评估。例如，所述组合物(例如药物组合物)能够具有约65％或更高、约66％或更高、约67％或更高、约68％或更高、约69％或更高、约70％或更高、约72％或更高、约74％或更高、约76％或更高、约78％或更高、约80％或更高、约82％或更高、约84％或更高、约86％或更高、约88％或更高、约90％或更高、约91％或更高、约92％或更高、约94％或更高、约95％或更高、约96％或更高、约97％或更高、约98％或更高、约99％或更高或约100％的纯度，如通过CE-SDS-NGS(例如，NR CE-SDS-NGS)所评估。在一些实施方案中，所述药物组合物具有约75％或更高的纯度，如通过CE-SDS-NGS(例如，NRCE-SDS-NGS)所评估。在一些实施方案中，所述药物组合物具有约80％或更高的纯度，如通过CE-SDS-NGS(例如，NR CE-SDS-NGS)所评估。在一些实施方案中，所述药物组合物具有约85％或更高的纯度，如通过CE-SDS-NGS(例如，NR CE-SDS-NGS)所评估。在一些实施方案中，所还药物组合物具有约90％或更高的纯度，如通过CE-SDS-NGS(例如，NR CE-SDS-NGS)所评估。在一些实施方案中，所述药物组合物具有约55％或更高的纯度，如通过CE-SDS-NGS(例如，NR CE-SDS-NGS)所评估。

[0232] 任何前述组合物(例如,药物组合物)能够具有约65%或更高的纯度(例如,约65%或更高、约66%或更高、约67%或更高、约68%或更高、约69%或更高、约70%或更高、约72%或更高、约74%或更高、约76%或更高、约78%或更高、约80%或更高、约82%或更高、约84%或更高、约86%或更高、约88%或更高、约90%或更高、约91%或更高、约92%或更高、约94%或更高、约95%或更高、约96%或更高、约97%或更高、约98%或更高、约99%或更高或约100%),如在约5℃约6个月或更长时间通过CE-SDS-NGS(例如,NR CE-SDS-NGS)所评估,例如,约6个月或更长时间、约7个月或更长时间、约8个月或更长时间、约9个月或更长时间、约10个月或更长时间、约11个月或更长时间、约12个月或更长时间、约14个月或更长时间、约16个月或更长时间、约18个月或更长时间、约20个月或更长时间、约22个月或更长时间、约24个月或更长时间、约26个月或更长时间、约28个月或更长时间、约30个月或更长时间、约32个月或更长时间、约34个月或更长时间、约36个月或更长时间、约38个月或更长时间、约40个月或更长时间、约42个月或更长时间、约44个月或更长时间、约46个月或更长时间、约48个月或更长时间、约50个月或更长时间、约52个月或更长时间、约54个月或更长时间、约56个月或更长时间、约58个月或更长时间、约60个月或更长时间、约62个月或更长时间、约64个月或更长时间、约66个月或更长时间、约68个月或更长时间、约70个月或更长时间、约72个月或更长时间、约74个月或更长时间、约76个月或更长时间、约78个月或更长时间、约80个月或更长时间、约82个月或更长时间、约84个月或更长时间、约86个月或更长时间、约88个月或更长时间、约90个月或更长时间、约92个月或更长时间、约94个月或更长时间、约96个月或更长时间、约98个月或更长时间或约100个月或更长时间。例如,在一些实施方案中,所述组合物具有约85%或更高的纯度,如在约5℃约36个月或更长时间通过CE-SDS-NGS(例如,NR CE-SDS-NGS)所评估。在一些实施方案中,组合物具有约85%或更高的纯度,如在约5℃约42个月或更长时间通过CE-SDS-NGS(例如,NR CE-SDS-NGS)所评估。在一些实施方案中,组合物具有约85%或更高的纯度,如在约5℃约48个月或更长时间通过CE-SDS-NGS(例如,NR CE-SDS-NGS)所评估。

[0233] 任何组合物(例如药物组合物)可以被配制用于通过任何合适的施用途径施用。例如,在一些实施方案中,药物组合物被配制用于静脉内、皮下、腹膜内或局部施用。在一些实施方案中,药物组合物被配制用于静脉内施用。在一些实施方案中,药物组合物被配制用于皮下施用。

[0234] 任何前述组合物(例如,药物组合物)可以包括防腐剂。在其它实施方案中,任何前述组合物不含防腐剂。

[0235] 任何前述组合物(例如,药物组合物)可以被配制用于在用等渗氯化钠溶液和/或稀释剂稀释后施用(例如,通过输注或注射)。在一些实施方案中,药物组合物被配制用于在用等渗氯化钠溶液稀释后输注施用。在一些实施方案中,药物组合物被配制用于在用稀释剂稀释后输注施用。在一些实施方案中,药物组合物被配制用于在用等渗氯化钠溶液和稀释剂稀释后输注施用。例如,在一些实施方案中,通过输注仅用稀释剂稀释的IL-22Fc融合蛋白(例如,在注射泵中)将IL-22Fc融合蛋白施用于对象。在其它实施方案中,通过输注用稀释剂和盐水稀释的IL-22Fc融合蛋白(例如在IV袋中)将IL-22Fc融合蛋白施用于对象。在一些实施方案中,通过输注直接稀释到盐水(例如等渗盐水)中的IL-22Fc融合蛋白,将IL-22Fc融合蛋白施用于对象。在一些实施方案中,所述等渗氯化钠溶液包含约0.001%至约

5％(w/v)NaCl。在一些实施方案中，所述等渗氯化钠溶液包含约0.1％至约2％(w/v)NaCl。在一些实施方案中，所述等渗氯化钠溶液包含约0.5％至约1.5％(w/v)NaCl。在一些实施方案中，所述等渗氯化钠溶液包含约0.9％(w/v)NaCl。在一些实施方案中，所述稀释剂包含缓冲剂、张度剂和/或表面活性剂。本文所述的任何缓冲剂、张度剂和/或表面活性剂，以及本文所述的任何浓度，均可用于稀释剂中。在一些实施方案中，所述稀释剂包括约10mM磷酸钠、约240mM蔗糖、约0.02％(w/v)聚山梨酯20，pH 7.1，终浓度。

[0236] 在任何前述组合物(例如，药物组合物)的一些实施方案中，所述IL-22Fc融合蛋白的Fc区是未糖基化的。在一些实施方案中，按照Fc区的EU索引中的位置297的氨基酸残基是Gly。在一些实施方案中，按照Fc区的EU索引中的位置297的氨基酸残基是Ala。在一些实施方案中，按照Fc区的EU索引中的位置299的氨基酸残基是Ala、Gly或Val。在一些实施方案中，Fc区包含IgG1或IgG4的CH2和CH3结构域。在一些实施方案中，Fc区包含IgG4的CH2和CH3结构域。

[0237] 在任何前述组合物(例如，药物组合物)的一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含与选自SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14，和SEQ ID NO:16的氨基酸序列具有至少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％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少96％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少97％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少98％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少99％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:16的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白由SEQ ID NO:8的氨基酸序列组成。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白由SEQ ID NO:10的氨基酸序列组成。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白由SEQ ID NO:16的氨基酸序列组成。在一些实施方案中，所述Fc区不是N-糖基化的。

[0238] 在任何前述组合物(例如药物组合物)中，IL-22Fc融合蛋白可以是二聚IL-22Fc融合蛋白。在其它实施方案中，IL-22Fc融合蛋白可以是单体IL-22Fc融合蛋白。

[0239] 在任何前述组合物(例如药物组合物)中，IL-22Fc融合蛋白可以包括人IL-22多肽。在一些实施方案中，SEQ ID NO:4的氨基酸序列。

[0240] 任何适合的接头可以用于本文所述组合物(例如药物组合物)中所含的IL-22Fc融合蛋白。在一些实施方案中，接头包含氨基酸序列RVESKYGPP(SEQ ID NO:44)。在一些实施方案中，接头由氨基酸序列RVESKYGPP(SEQ ID NO:44)组成。

[0241] 在任何前述组合物(例如药物组合物)中，IL-22Fc融合蛋白可结合IL-22受体。在一些实施方案中，IL-22受体是人IL-22受体。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白结合IL-22R1和/或IL-10R2。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白结合IL-22R1。在一些实施方案中，所述人IL-22受体包含由IL-22R1多肽和IL-10R2多肽组成的异二聚体。在一些实施方案

中,所述IL-22R1多肽包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列和IL-10R2多肽包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列。

[0242] 作为一个非限制性实例,本发明提供了包含IL-22Fc融合蛋白和载体(例如,水)的药物组合物,所述IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:16的氨基酸序列,其中所述药物组合物包括约5mM甲硫氨酸、约10mM磷酸钠、约240mM蔗糖和约0.02%(w/v)聚山梨酯20,pH7.1,终浓度。

[0243] 在一些实施方案中,通过包括在适于表达IL-22Fc融合蛋白的条件下培养能够表达IL-22Fc融合蛋白的宿主细胞的步骤的方法,产生包含在任何前述组合物(例如,药物组合物)中的IL-22Fc融合蛋白。在一些实施方案中,所述方法进一步包括从细胞培养物或培养基中获得IL-22Fc融合蛋白的步骤。在一些实施方案中,宿主细胞是CHO细胞。

[0244] 本文的组合物(例如,包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)将以符合良好医疗实践的方式配制、给药和施用。在此背景下考虑的因素包括所治疗的特定病症、所治疗的特定哺乳动物、个体对象的临床状况、病症的原因、药剂的递送部位、施用方法、施用时间安排以及医学从业者已知的其他因素。在一个实施方案中,所述组合物可以用于增加对所述疾病或病症敏感或被诊断为患有所述疾病或病症的人类对象的存活持续时间。存活的持续时间定义为从第一次施用药物到死亡的时间。在一个实施方案中,所述组合物可用于减轻易患或诊断为患有所述疾病或病症(例如本文所述的任何病症(例如IBD,例如UC或克罗恩病))的人类对象的一种或多种症状。

[0245] 药物制剂可以使用本领域已知的标准方法通过将具有所需纯度的活性成分与一种或多种任选的可药用载体(参见,例如,Remington's Pharmaceutical Sciences第16版,Osol,A.编辑(1980)和Remington's Pharmaceutical Sciences第20版,编者A.Gennaro,2000,Lippincott,Williams&Wilkins,Philadelphia,Pa)混合而制备,其为冻干制剂或水溶液的形式。可药用载体总体上在所用的剂量和浓度对接受者无毒,并且包括但不限于:缓冲剂如磷酸盐、柠檬酸和其他有机酸;抗氧化剂包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(如十八烷基二甲基苄基氯化铵;六甲氯铵;苯扎氯铵、苯扎溴铵;苯酚、丁醇或苄醇;烷基尼泊金酯如尼泊金甲酯或丙酯;儿茶酚;雷琐辛;环己醇;3-戊醇和间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水聚合物如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其他糖包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂如EDTA;糖如蔗糖、甘露糖、海藻糖或山梨糖;形成盐的反离子如钠;金属复合物(例如,Zn-蛋白质复合物)和/或非离子表面活性剂如聚乙二醇(PEG)。本文中的示例性可药用载体还包括间质药物分散剂如可溶性中性活性透明质酸酶糖蛋白(sHASEGP),例如,人可溶性PH-20透明质酸酶糖蛋白,如rhuPH20(HYLENEX®,Baxter International,Inc.)。在US专利公开号2005/0260186和2006/0104968中描述了某些示例性sHASEGP和使用方法,包括rhuPH20。在一个方面中,sHASEGP与一种或多种另外的糖胺聚糖如软骨素酶组合。

[0246] 任选地,制剂含有可药用的盐,优选地氯化钠,并且更优选地为约生理浓度。

[0247] 任选地,本发明的制剂可以含有可药用的防腐剂。在一些实施方案中防腐剂浓度范围从0.1至2.0%,通常为v/v。适当的防腐剂包括药物领域内已知的那些。苯甲醇、苯酚、m-甲酚、对羟基苯甲酸甲酯、苯扎氯铵和对羟基苯甲酸丙酯是优选的防腐剂。任选地,本发

明的制剂可以包括浓度为0.005至0.02%的可药用的表面活性剂。

[0248] 本文的制剂还可以含有正在治疗的具体适应证所需要的多于一种活性化合物，优选具有并非不利地彼此影响的互补活性的那些。此类分子以有效用于预期的目的的量适当地组合存在。

[0249] 在美国专利号6,267,958中描述了示例性冻干制剂。水性制剂包括在美国专利号6,171,586和WO 2006/044908中描述的那些制剂，后一类制剂包含组氨酸-乙酸盐缓冲剂。

[0250] 本文中的制剂还可以含有正在治疗的具体适应证所需要的多于一种活性成分，优选地是具有并未不利地彼此影响的互补活性的那些活性成分。例如，理想的是还提供类固醇、TNF拮抗剂或其他抗炎性治疗剂。这种活性成分以有效用于预期目的的量适当地存在。

[0251] 活性成分可以包埋于例如分别通过凝聚技术或界面聚合制备的微胶囊(例如，羟甲基纤维素微胶囊或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊、胶体药物递送系统(例如，脂质体、白蛋白微球体、微乳液、纳米粒子和纳米胶囊)或粗乳液中。此类技术在Remington′s Pharmaceutical Sciences第16版，Osol，A.(编著)(1980)中公开。

[0252] 可以制备持续释放制剂。持续释放制剂的合适例子包括含有IL-22Fc融合蛋白的固态疏水性聚合物的半通透性基质，所述基质处于成型制品(例如，薄膜或微胶囊)形式。持续释放基质的实例包括聚酯、水凝胶(例如，聚(2-甲基丙烯酸羟乙酯))、或聚(乙烯醇))、聚交酯(美国专利号3,773,919)、L-谷氨酸和L谷氨酸γ乙基酯的共聚物、非可降解的乙烯-醋酸乙烯酯、可降解的乳酸-乙醇酸共聚物诸如LUPRON DEPOT™(由乳酸-乙醇酸共聚物和醋酸亮丙瑞林构成的可注射微球)，和聚-D-(-)-3-羟基丁酸。尽管聚合物诸如乙烯-醋酸乙烯酯和乳酸-乙醇酸使得能够在多于100天中释放分子，某些水凝胶以较短的时间释放蛋白质。当囊封的抗体在体中长时间保持时，其可能由于在37℃暴露于湿度而变性或聚集，导致损失生物活性和免疫原性的可能改变。取决于涉及的机制，可以设计合理的策略用于稳定化。例如，如果发现聚集机制是通过硫代二硫化物交换的分子间S-S键形成，可以通过修饰巯基残基、从酸性溶液冻干、控制湿度含量、使用适当的添加剂，和开发特异性聚合物基质组合物来实现稳定化。

[0253] 可以配制用于局部施用的药物组合物，例如，以局部凝胶的形式。参见例如，US 4,717,717、US 5,130,298、US 5,427,778、US 5,457,093、US 5,705,485、US 6,331,309和WO2006/138,468。在某些实施方案中，可以在存在纤维素衍生物的条件下配制组合物。在某些其他实施方案中，可以在施用前用充足的缓冲剂或稀释剂从冻干的制剂重构局部制剂。在某些实施方案中，配制IL-22多肽或IL-22Fc融合蛋白用于对具有上皮创伤愈合缺陷的对象局部施用。在某些具体的实施方案中，上皮创伤愈合发生在皮肤中。在某些其他具体的实施方案中，对象是具有创伤愈合缺陷的人。在某些其他实施方案中，包含本发明的IL-22Fc融合蛋白的局部制剂可用于改善内部或外部手术切口后的创伤愈合。

[0254] 在本发明的一个实施方案中，用于加速、促进或改善创伤愈合的IL-22多肽或IL-22Fc融合蛋白在局部凝胶的制剂中，例如，在预填充的注射器或容器中，或备选地，本发明的化合物可以在马上对患者局部施用前与凝胶基质混合。在某些实施方案中，也同时或顺序地局部施用另外的治疗剂。也可以任选地使用施用的其他途径，例如通过任何适当的方式施用，包括但不限于，胃肠外、皮下、腹膜内、肺内、脑脊髓内、皮下、关节内、滑膜内、鞘内、口腔，和鼻内施用。胃肠外输注包括肌肉内、静脉内、动脉内、腹膜内，或皮下施用。

[0255] 通常对于创伤愈合，配制IL-22Fc融合蛋白用于位点特异性递送。当局部应用时，IL-22Fc融合蛋白适当地与其他成分组合，例如载体和/或佐剂。此类其他成分的性质没有限制，除了它们必须是可药用的并且对于其预期的施用是有效的，并且不能降低组合物的活性成分的活性之外。适当的载体的实例包括软膏、乳膏、凝胶、喷雾或混悬液，具有或没有纯化的胶原。组合物还可以灌输到无菌敷料、皮肤药贴、石膏和绷带中，任选地为液体或半液体形式。也可以使用经氧化的再生的纤维素/胶原基质，例如，Promogran Matrix Wound Dressing或Promogran Prisma Matrix。

[0256] 为了获得凝胶制剂，在液体组合物中配制的IL-22多肽或IL-22Fc融合蛋白可以与有效量的水溶性多糖或合成的聚合物混合以形成凝胶(例如，胶凝剂)诸如聚乙二醇以形成待局部应用的适当粘度的制剂。可使用的多糖或胶凝剂包括，例如，纤维素衍生物诸如醚化的纤维素衍生物，包括烷基纤维素、羟烷基纤维素，和烷基羟烷基纤维素，例如，甲基纤维素、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素，和羟丙基纤维素；羧甲基纤维素钠；POE-POP嵌段聚合物：多种级别的泊咯沙姆(poloxamer)USP；透明质酸；聚丙烯酸诸如卡波姆(carbopol)940；淀粉和分级的淀粉；琼脂；海藻酸和海藻酸盐；阿拉伯树胶；普鲁兰糖(pullullan)；琼脂糖；卡拉胶；葡聚糖；糊精；果聚糖；菊粉；甘露聚糖；木聚糖；阿拉伯聚糖；壳聚糖；糖原；葡聚糖；和合成的生物聚合物；以及胶诸如黄原胶；瓜尔胶；刺槐豆胶；阿拉伯树胶；黄芪胶；和刺梧桐胶；和其衍生物、组合物和混合物。在本发明的一个实施方案中，本文的胶凝剂是这样的胶凝剂，其例如对于生物系统是惰性的、非毒性的、易于制备、和/或并非太稀或太粘，并且将不使得其中保有的IL-22多肽或IL-22Fc融合物不稳定。

[0257] 在本发明的某些实施方案中，多糖是醚化的纤维素衍生物，在另一实施方案中是良好定义的、纯化的，和在USP中列出的，例如甲基纤维素和羟烷基纤维素衍生物，诸如羟丙基纤维素，羟乙基纤维素，和羟丙基甲基纤维素(全部称为纤维素剂)。在一些实施方案中，多糖是羟乙基甲基纤维素或羟丙基甲基纤维素。

[0258] 可用于胶凝的聚乙二醇通常是低和高分子量聚乙二醇的混合物以获得适当的粘度。例如，当以适当比例混合以获得糊剂时，分子量400-600的聚乙二醇与分子量1500的聚乙二醇的混合物将有效用于此目的。

[0259] 应用于多糖和聚乙二醇的术语“水可溶”意为包括胶体溶液和分散剂。一般而言，纤维素衍生物的溶解性由醚基团的取代程度确定，并且本文可用的稳定性衍生物应当在纤维素链中具有充分量的此类醚基团每脱水葡萄糖单元以使得衍生物水可溶。至少0.35个醚基团每脱水葡萄糖单元的醚取代的程度一般是足够的。另外地，纤维素衍生物可以为碱金属盐的形式，例如，Li、Na、K、或Cs盐。

[0260] 在某些实施方案中，在凝胶中使用甲基纤维素，例如，其包含约1-5％，或约1％、约2％、约3％、约4％或约5％的凝胶并且IL-22Fc融合蛋白以约50-2000μg、100-2000μg，或100-1000μg每ml凝胶的量存在。在某些实施方案中，局部施用的创伤愈合的IL-22Fc融合蛋白的有效量可以为25μg至约500μg、约50μg至约300μg、约100μg至约250μg、约50μg至约250μg、约50μg至约150μg、约75μg、约100μg、约125μg、约150μg、约175μg、约200μg、约225μg、约250μg、约300μg，或约350μg，每cm^2创伤面积。

[0261] 待用于体内施用的制剂通常是无菌的。可以例如用通过无菌滤膜过滤轻易地实现无菌。

[0262] 本发明提供了基于IL-22Fc融合蛋白的治疗剂的剂量。例如，根据疾病的类型和严重程度，约1μg/kg至15mg/kg(例如，0.1-20mg/kg)的多肽是用于施用至对象的初始候选剂量，无论是例如通过一次或多次单独施用还是通过连续输注。典型的日剂量可以是约1μg/kg-100mg/kg或更多，这取决于上述因素。对于在几天或更长时间内的重复施用，根据病症，治疗持续直到发生所需的疾病症状的抑制。然而，其它给药方案也是可用的。这种治疗的进展易于通过常规技术和测定来监测。

[0263] 为了预防或治疗疾病，本发明的多肽(例如，IL-22Fc融合蛋白)(当单独使用或与一种或多种其它另外的治疗剂组合使用时)的适当剂量将取决于待治疗的疾病的类型、多肽的类型、疾病的严重性和进程、施用多肽是用于预防还是治疗目的、先前的治疗、对象的临床史和对多肽的反应、以及主治医师的判断。多肽适合一次或在一系列治疗中施用于对象。根据疾病的类型和严重程度，约1μg/kg至20mg/kg(例如0.1mg/kg-15mg/kg)的多肽可以是用于施用至对象的初始候选剂量，无论是例如通过一次或多次单独施用还是通过连续输注。一种典型的日剂量可以是约1μg/kg至100mg/kg或更多，这取决于上述因素。对于在几天或更长时间内的重复给药，根据病症，治疗通常将持续到发生所需的疾病症状的抑制。多肽的一个示例性剂量将在约0.05mg/kg至约20mg/kg的范围内。因此，可以向对象施用约0.5mg/kg、2.0mg/kg、4.0mg/kg、10mg/kg、12mg/kg、15mg/kg或20mg/kg(或其任何组合)的一个或多个剂量。在某些实施方案中，约0.5mg/kg、1.0mg.kg、2.0mg/kg、3.0mg/kg、4.0mg/kg、5.0mg/kg、6.0mg/kg、7.0mg/kg、8.0mg/kg、9.0mg/kg、10mg/kg、12mg/kg、15mg/kg，或20mg/kg(或其任意组合)施用于对象。这样的剂量可以间歇地施用，例如每周、每两周或每三周(例如使得对象接受约两至约二十或例如约六个剂量的多肽)。可以施用初始较高负荷剂量，随后施用一个或多个较低剂量。示例性给药方案包括施用约4mg/kg的初始负荷剂量，随后施用约2mg/kg抗体的每周维持剂量。然而，其它剂量方案也是有用的。这种治疗的进展易于通过常规技术和测定来监测。

[0264] 用于预防或治疗心血管疾病或病症、代谢综合征、急性内毒素血症或脓毒症、GVHD或糖尿病的本发明化合物通常通过静脉内注射施用。

[0265] 也可以使用其他施用方法，其包括但不限于，局部、胃肠外、静脉内、皮下、腹膜内、肺内、鼻内、眼睛、眼内、玻璃体内、病灶内、脑脊髓内、关节内、滑膜内、鞘内、口腔，或吸入施用。胃肠外输注包括肌肉内、静脉内、动脉内、腹膜内，或皮下施用。此外，根据已知的方法，本文描述的化合物施用于人类对象，诸如作为推注或通过在一段时间中连续输注静脉施用。

[0266] 1.用于组合物的示例性IL-22Fc融合蛋白

[0267] 任何合适的IL-22Fc融合蛋白可用于该组合物中。通常，IL-22Fc融合蛋白包括通过接头与Fc区连接的IL-22多肽。美国专利号9,815,880中描述的任何IL-22Fc融合蛋白可以用于本文描述的组合物中，所述专利通过引用整体并入本文。在任何前述IL-22Fc融合蛋白的一些实施方案中，Fc区是未糖基化的。在一些实施方案中，按照Fc区的EU索引中的位置297的氨基酸残基是Gly。在一些实施方案中，按照Fc区的EU索引中的位置297的氨基酸残基是Ala。在一些实施方案中，按照Fc区的EU索引中的位置299的氨基酸残基是Ala、Gly或Val。在一些实施方案中，Fc区包含IgG1或IgG4的CH2和CH3结构域。在一些实施方案中，Fc区包含IgG4的CH2和CH3结构域。

[0268] 在任何前述IL-22Fc融合蛋白的一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含与选自SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14，和SEQ ID NO:16的氨基酸序列具有至少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％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少96％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少97％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少98％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少99％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:16的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白由SEQ ID NO:8的氨基酸序列组成。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白由SEQ ID NO:10的氨基酸序列组成。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白由SEQ ID NO:16的氨基酸序列组成。在一些实施方案中，Fc区不是N-糖基化的。

[0269] 任何前述的IL-22Fc融合蛋白可以是二聚IL-22Fc融合蛋白。在其它实施方案中，任何前述的IL-22Fc融合蛋白可以是单体IL-22Fc融合蛋白。

[0270] 任何前述的IL-22Fc融合蛋白可以包括人IL-22多肽。在一些实施方案中，SEQ ID NO:4的氨基酸序列。

[0271] 任何适合的接头可以用于本文所述的IL-22Fc融合蛋白中。在一些实施方案中，接头包含氨基酸序列RVESKYGPP(SEQ ID NO:44)。在一些实施方案中，接头由氨基酸序列RVESKYGPP(SEQ ID NO:44)组成。

[0272] 在一些实施方案中，本文所述的任何IL-22Fc融合蛋白结合IL-22受体。在一些实施方案中，IL-22受体是人IL-22受体。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白结合IL-22RA1和/或IL-10R2。在一些实施方案中，IL-22Fc融合蛋白结合IL-22RA1。

[0273] 在一些实施方案中，之前任何IL-22Fc融合蛋白通过包括以下步骤的方法来产生：在适于IL-22Fc融合蛋白表达的条件下培养能够表达IL-22Fc融合蛋白的宿主细胞。在一些实施方案中，所述方法还包括从细胞培养物或细胞培养基获得IL-22Fc融合蛋白的步骤。在一些实施方案中，宿主细胞是CHO细胞。

[0274] 在某些实施方案中，本文所述的任何IL-22Fc融合蛋白结合并诱导IL-22受体活性或信号传导和/或是IL-22受体活性的激动剂。

[0275] 在另一个方面，本文提供的IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:4的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、或100％序列同一性的多肽。在其他实施方案中，IL-22Fc融合蛋白包含了对于参考序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性的多肽，并相对于参考序列含有置换(例如，保守性置换)、插入或缺失，但是包含该序列的IL-22Fc融合蛋白保留与IL-22受体结合的能力。在某些实施方案中，已经在SEQ ID NO:8、10、12、14、16、24或26中置换、插入和/或缺失总计1至10个氨基酸。在某些实施方案中，置换、插入或缺失出现在IL-22外部的区域

内(即,在Fc中)。在一些实施方案中,置换、插入或缺失可以在IL-22Fc融合蛋白的接头、铰链、CH2结构域、CH3结构中。在某些具体实施方案中,Fc的C末端Lys残基缺失。在某些具体的实施方案中,Fc的C末端Lys残基缺失。在某些其他实施方案中,Fc的C末端Gly残基和Lys残基都缺失。

[0276] 在某些实施方案中,提供具有一个或多个氨基酸置换的IL-22Fc融合蛋白变体。表2中在"优选置换"的标题下显示保守性置换。表2中在"示例性置换"标题下显示并且参考氨基酸侧链类别如下文进一步描述更实质的变化。可以将氨基酸置换引入IL-22Fc融合蛋白中并且对产物筛选所需的活性,例如,保留/改善的IL-22受体结合作用、免疫原性降低或改善的IL-22受体信号传导。

[0277] 表A

[0278]

原始残基	示例性置换	优选的置换
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

[0279]

原始残基	示例性置换	优选的置换
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正亮氨酸	Leu
Leu (L)	正亮氨酸; 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; 正亮氨酸	Leu

[0280] 氨基酸可以根据共同的侧链特性分组:

[0281] (1)疏水性:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu;Ile;

[0282] (2)中性亲水:Cys、Ser、Thr、Asn;Gln;

[0283] (3)酸性:Asp、Glu;

[0284] (4)碱性:His、Lys、Arg;

[0285] (5)影响链方向的残基:Gly、Pro;

[0286] (6)芳族:Trp、Tyr、Phe。

[0287] 非保守性置换将使这些分类之一的成员交换为另一个分类的成员。

[0288] 一种用于鉴定可以被靶向以便诱变的蛋白质残基或区域的有用方法称作“丙氨酸扫描法诱变法”,如Cunningham和Wells(1989)Science,244:1081-1085所述。在这种方法中,鉴定一个残基或靶残基组(例如,带电荷残基如Arg、Asp、His、Lys和Glu)并且用中性或带负电荷的氨基酸(例如,丙氨酸或聚丙氨酸)替换以确定该蛋白质与其结合伙伴的相互作用是否受影响。可以在对于初始置换显示功能敏感的氨基酸位置处引入其他置换。备选地或另外地,蛋白质复合物(例如,细胞因子-受体复合物)的晶体结构可以用来确定蛋白质和其结合伙伴之间的接触点。可以将这类接触残基和邻近残基作为置换候选物打靶或消除。可以筛选变体以确定它们是否含有所需的特性。

[0289] 氨基酸序列插入包括长度从1个残基至含有成百个或更多个残基的多肽间范围的氨基端和/或羧基端融合物,以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。

[0290] 本文提供了编码IL-22Fc融合蛋白的核酸。在一些实施方案中,核酸编码包含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的氨基酸序列的IL-22Fc融合蛋白,优选SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:16,更优选SEQ ID NO:8。在某些其他实施方案中,核酸包括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的多核苷酸序列。在某些特定实施方案中,核酸包括SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:11的多核苷酸序列,优选SEQ ID NO:7。在某些实施方案中,分离的核酸包括与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的多核苷酸序列为至少80%,85%,86%,87%,88%,89%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%或100%序列同一性的多核苷酸序列。在某些实施方案中,分离的核酸包括与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的多核苷酸序列为至少80%,85%,86%,87%,88%,89%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%或100%序列同一性的多核苷酸序列,其中分离的核酸能够编码能够结合IL-22R和/或引发IL-22R活性的IL-22Fc融合蛋白,并且其中IL-22Fc融合蛋白的Fc区是未糖基化的。在某些实施方案中,,分离的核酸包括与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的多核苷酸序列为至少80%,85%,86%,87%,88%,89%,90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%或100%序列同一性的多核苷酸序列,其中分离的核酸能够编码包括SEQ ID NO:8、10、12或14的氨基酸序列的IL-22Fc融合蛋白。在相关方面中,本发明提供了包含上述核酸的载体,和包含所述载体的宿主细胞。在某些实施方案中,宿主细胞是原核细胞或真核细胞。在某些特定实施方案中,宿主细胞是原核细胞,包括但不限于,大肠杆菌细胞。在某些其他实施方案中,宿主细胞是真核细胞,包括但不限于,CHO细胞。在某些实施方案中,宿主细胞包括包含编码包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列的IL-22Fc融合蛋白的核酸的载体。

[0291] a)糖基化变体

[0292] 在某些实施方案中,改变本文所述的IL-22Fc融合蛋白以升高或降低融合蛋白或其部分(例如,融合蛋白的Fc部分)糖基化的程度。可以通过改变氨基酸序列从而创造或移除一个或多个糖基化位点,便利地实现对蛋白质添加或删除糖基化位点。

[0293] 在融合蛋白包含Fc区的情况下,可以改变附着于其的糖。哺乳动物细胞产生的天然抗体一般包含分枝的双天线状寡糖,所述寡糖通常借助N联接附着于Fc区的CH2结构域的Asn297。例如见,Wright等人,TIBTECH 15:26-32(1997)。寡糖可以包括多种糖,例如,甘露糖、N-乙酰氨基葡萄糖(GlcNAc)、半乳糖和唾液酸,以及附着于双天线状寡糖结构的"茎部"中GlcNAc的岩藻糖。在一些实施方案中,可以修饰的抗体或抗体Fc区中的寡糖以产生具有某些改善特性的Fc变体。

[0294] 通过以下方式确定附着于Fc区的CH2结构域的岩藻糖的量:相对于如通过MALDI-TOF质谱法所测定的附着于Asn297或N297的全部糖结构(例如复杂结构、杂合结构和高甘露糖结构)的总和,计算Asn297处糖链内部岩藻糖的平均量,例如,如WO 2008/077546中所述。Asn297指位于Fc区内约位置297处的天冬酰胺残基(Fc区残基的EU编号);然而,Asn297也可以位于位置297的约上游或下游±3个氨基酸,即,位置294和位置300之间,原因在于抗体中的微小序列变异。这类岩藻糖化变体可以具有改善的ADCC功能。参见,例如,美国专利公开号US2003/0157108;US 2004/0093621。与"去岩藻糖化"或"岩藻糖缺陷的"抗体变体相关的出版物的例子包括: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)。能够产生去岩藻糖化抗体的细胞系的例子包括蛋白质岩藻糖化缺陷的Lec13CHO细胞(Ripka等人,Arch.Biochem.Biophys.249:533-545(1986);美国专利申请号US2003/0157108A1;和WO 2004/056312 A1,特别地在实施例11)中,和敲除细胞系,如α-1,6-岩藻糖基转移酶基因FUT8敲除的CHO细胞(见,例如,Yamane-Ohnuki等人,Biotech.Bioeng.87:614(2004);Kanda,Y.等人,Biotechnol.Bioeng.,94(4):680-688(2006);和WO 2003/085107)。

[0295] 还可以为抗体变体提供双分寡糖,例如,其中附着于抗体Fc区的双天线状寡糖由GlcNAc平分。这类抗体变体可以具有减少的岩藻糖化和/或改善的ADCC功能。这类抗体变体的例子例如在WO 2003/011878;美国专利号6,602,684;和US2005/0123546中描述。也提供附着于Fc区的寡糖中具有至少一个半乳糖残基的抗体变体。这类抗体变体可以具有改善的CDC功能。这类抗体变体例如在WO 1997/30087;WO 1998/58964;和WO 1999/22764中描述。

[0296] b)Fc区变体

[0297] 在某些实施方案中,可以将一个或多个氨基酸修饰引入本文提供的Fc融合蛋白的Fc区中,因而产生Fc区变体。Fc区变体可以包含人Fc区序列(例如,人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4Fc区),所述的人Fc区序列在一个或多个氨基酸位置处包含氨基酸修饰(例如,置换)。例如,铰链可包括Ser至Pro的取代,例如,如CPPCP(SEQ ID NO:31)的氨基酸序列中粗体和下划线的Pro残基所示。这种Ser至Pro取代可以增加分子的稳定性。

[0298] 在某些实施方案中,本发明涉及拥有一些但非全部效应子功能的Fc变体,这使所述Fc变体成为下述应用的理想候选物,其中包含Fc区的抗体或融合蛋白的体内半寿期重要,而某些效应子功能(如补体和ADCC)是不必要或有害的。可以实施体外和/或体内细胞毒性测定法以证实CDC和/或ADCC活性降低/耗尽。例如,可以实施Fc受体(FcR)结合测定法以确保抗体或Fc缺少FcγR结合作用(因此可能缺少ADCC活性),但是保留FcRn结合能力。介导

ADCC的原代细胞-NK细胞仅表达FcγRIII,而单核细胞表达FcγRI、FcγRII和FcγRIII。Ravetch等人,Annu.Rev.Immunol.9:457-492(1991)的第464页上的表3中总结了造血细胞上的FcR表达。评估目的分子的ADCC活性的体外测定法的非限制性例子在美国专利号5,500,362(见,例如,Hellstrom等人,Proc.Nat'l Acad..Sci.USA 83:7059-7063(1986))和Hellstrom等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 82:1499-1502(1985);美国专利号5,821,337(参见Bruggemann等人,J.Exp.Med.166:1351-1361(1987))中描述。备选地,可以使用非放射性测定法(见,例如,用于流式细胞术的ACTI™非放射性细胞毒性测定法(CellTechnology,Inc.Mountain View,CA;和CYTOTOX96®非放射性细胞毒性测定法(Promega,Madison,WI)。用于此类测定法的效应细胞括外周血单核细胞(PBMC)和天然杀伤(NK)细胞。备选或另外地,可以在体内,例如,在动物模型中,如在Clynes等人,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 95:652-656(1998)公开中的那种动物模型中评估目的分子的ADCC活性。也可以实施C1q结合测定法以证实抗体或Fc不能结合C1q并因此缺少CDC活性。参见,例如,WO 2006/029879和WO 2005/100402中的C1q和C3c结合ELISA。为了评估补体激活,可以进行CDC测定法(见,例如,Gazzano-Santoro等人,J.Immunol.Methods 202:163(1996);Cragg等人,Blood 101:1045-1052(2003);和Cragg等人,Blood 103:2738-2743(2004))。也可以使用本领域已知的方法确定FcRn结合作用和体内清除率/半寿期(见,例如,Petkova等人,Int'l.Immunol.18(12):1759-1769(2006))。

[0299] 具有减少的效应子功能的抗体包括置换了Fc区残基238、265、269、270、297、327和329中一个或多个的那些(美国专利号6,737,056)。这类Fc突变体包括在氨基酸位置265、269、270、297和327的两个或更多个位置处具有置换的Fc突变体,包括残基265和297置换成丙氨酸的所谓"DANA"Fc突变体(美国专利号7,332,581)。

[0300] 描述了具有改善或削弱的与FcR结合的某些抗体或Fc变体。(参见,例如,美国专利号6,737,056;WO2004/056312,和Shields等人,J.Biol.Chem.9(2):6591-6604(2001))。

[0301] 在某些实施方案中,IL-22Fc融合蛋白包含这样的Fc变体,所述Fc变体具有一个或多个减少ADCC的氨基酸置换,例如,在Fc区的位置297处移除N-糖基化位点并仍保留FcRn结合活性的置换(EU残基编号)。

[0302] 在一些实施方案中,在Fc区内做出改变,所述改变导致削弱的C1q结合作用和/或补体依赖细胞毒性(CDC),例如,如美国专利号6,194,551、WO 99/51642和Idusogie等人,J.Immunol.164:4178-4184(2000)中所述。

[0303] 在US 2005/0014934A1(Hinton等人)中描述了具有增加的半寿期和改善的与新生Fc受体(FcRn)结合的抗体,所述新生Fc受体负责转移母源IgG至胎儿(Guyer等人,J.Immunol.117:587(1976)和Kim等人,J.Immunol.24:249(1994)。这些抗体包含其中具有一个或多个置换的Fc区,所述置换改善Fc区与FcRn的结合。这类Fc变体包括在Fc区残基:238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424或434中的一个或多个处具有置换(例如,Fc区残基434置换)的那些(美国专利号7,371,826)。

[0304] 关于Fc区变体的其他实例也参见Duncan和Winter,Nature 322:738-40(1988);美国专利号5,648,260;美国专利号5,624,821;和WO 94/29351。

[0305] c)半胱氨酸改造的变体

[0306] 在某些实施方案中，可能想要产生半胱氨酸改造的Fc融合蛋白，其中将抗体Fc区的一个或多个残基置换为半胱氨酸残基。在具体的实施方案中，置换的残基出现在Fc的可及位点处。通过用半胱氨酸置换这些残基，因而将反应性巯基安置在Fc的可及位点处并且可以用来使Fc缀合至其他部分，如药物部分或接头-药物部分，以产生免疫缀合物，如本文中进一步所述。例如，可以将重链Fc区的S400(EU编号)置换为Cys。参见例如，美国专利号7,521,541。

[0307] 2.示例性IL-22多肽

[0308] 任何合适的IL-22多肽可以包括在本文所述的方法、用途、制品和药盒中使用的IL-22Fc融合蛋白中。例如，在本文所述的任何IL-22Fc融合蛋白中，IL-22多肽可以包括包含含有SEQ ID NO:71的氨基酸序列(人IL-22，具有内源IL-22前导序列)的多肽，或包括与SEQ ID NO:71具有至少80％序列同一性(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％序列同一性)的氨基酸序列的多肽。在某些实施方案中，IL-22多肽包含含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列(人IL-22，无前导序列)，或包含与SEQ ID NO:4具有至少80％序列同一性的氨基酸序列的多肽(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％序列同一性)。在某些实施方案中，IL-22多肽包含含有SEQ ID NO:4的氨基酸序列。

[0309] 可以通过本领域普通技术人员已知的方法实现天然IL-22分子连同其核酸和多肽序列的制备。例如，可以通过培养用含有IL-22核酸的载体转化或转染的细胞，产生IL-22多肽。当然，涉及本领域熟知的替代性方法可以用来制备IL-22。例如，可以通过使用固相技术直接进行肽合成，产生IL-22序列或其部分(参见，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)。可以使用手工技术或通过自动化法，进行体外蛋白质合成。可以例如使用Applied Biosystems肽合成仪(Foster City，Calif.)，使用制造商的说明，完成自动合成。可以单独化学合成IL-22的多个部分并利用化学或酶促方法将其合并，以产生全长IL-22。

[0310] 可以通过将适宜核苷酸变化引入编码天然序列IL-22多肽的DNA或通过合成所需的IL-22多肽，制备IL-22变体。本领域技术人员将理解，氨基酸变化可以改变IL-22的翻译后处理，如改变糖基化位点的数目或位置或改变膜锚定特征。

[0311] 例如，使用例如在美国专利号5,364,934中所述的用于保守突变和非保守突变的任何技术和指南，可以在本文所述的天然序列IL-22多肽中产生变异。变异可以是置换、缺失或插入一个或多个编码天然序列或变体IL-22的密码子，所述置换、缺失或插入导致与相应的天然序列或变体IL-22相比其氨基酸序列的变化。任选地，变异是通过在天然序列IL-22多肽的一个或多个结构域中将至少一种氨基酸置换为任何其他氨基酸。可以通过比较IL-22的序列与已知同源蛋白质分子的序列并最小化在高度同源性区域内所做的氨基酸序列变化的数目，找到确定可以插入、置换或缺失哪个氨基酸残基而并未不利影响所需活性中的指导原则。氨基酸置换可以是将一个氨基酸替换为具有相似结构的和/或化学特性的

另一种氨基酸结果，如将亮氨酸替换为丝氨酸，即，保守性氨基酸替换。插入或缺失可以任选地处于1至5个氨基酸的范围内。可以通过在序列中系统地产生氨基酸插入、缺失或置换并例如在以下实施例中描述的体外测定法中检验所得变体的活性，确定允许的变异。

[0312] 在一些具体的实施方案中，表2中优选置换的标题下显示感兴趣的保守性置换。如果此类置换导致生物活性改变，则引入表2中名为“示例性置换”或如下文参考氨基酸类别进一步描述的更明显改变，并且筛选产物。

[0313] 本发明范围内包括的IL-22多肽的另一类型的共价修饰包括改变多肽的天然糖基化模式。出于本发明的目的，“改变天然糖基化模式”意指删除一个或多个存在于天然序列IL-22中的糖部分，和/或添加一种或多种在天然序列IL-22中不存在的糖基化位点，和/或改变附着于糖基化位点的糖残基的比率和/或组成。

[0314] 多肽的糖基化一般是N联接的或O联接的。可以通过改变氨基酸序列，完成向IL-22多肽添加糖基化位点。可以例如通过向天然序列IL-22添加一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基或由前述残基置换(对N-联接的糖基化位点而言)，或添加用于O联接的糖基化的识别序列，作出改变。可以任选通过以下方式改变IL-22氨基酸序列：在DNA水平的变化，特别地通过在预选择的碱基处突变编码IL-22多肽的DNA，从而生成将翻译成所需氨基酸的密码子。

[0315] 在IL-22多肽上增加糖部分数目的另一种手段是通过糖苷与多肽的化学偶联或酶促偶联。本领域中描述了这类方法，例如，在WO 87/05330中和在Aplin等人，CRC Crit.Rev.Biochem.，第259-306页(1981)中描述。

[0316] 可以按化学或酶促方式或通过突变性置换密码子，实现IL-22多肽上存在的糖部分的移除，其中所述密码子编码充当糖基化的靶的氨基酸残基。化学去糖基化技术是本领域已知的并且例如由Hakimuddin等人，Arch.Biochem.Biophys.，259:52(1987)并由Edge等人，Anal.Biochem.，118:131(1981)描述。可以通过使用多种内切和外切糖苷酶实现多肽上糖部分的酶促切除，如Thotakura等人，Meth.Enzymol.，138:350(1987)。

[0317] 可以使用本领域已知的方法如寡核苷酸介导的(位点定向)诱变、丙氨酸扫描法和PCR诱变产生变异。可以在克隆的DNA上实施位点定向诱变(Carter等人，1986，Nucl.Acids Res，13:4331；Zoller等人，1987，Nucl.Acids Res.，10:6487)，盒诱变(Wells等人，1985，Gene，34:315)、限制性选择诱变(Wells等人，1986，Philos.Trans.R.Soc.London A，317:415)或其他已知技术以产生IL-22变体DNA。

[0318] 本文还提供IL-22多肽的片段。这类片段可以在N末端或C末端截短，或可以缺少内部的残基，例如，与全长天然蛋白比较时。某些片段缺少对本发明IL-22多肽的所需生物活性而言并非必需的氨基酸残基。因此，在某些实施方案中，IL-22多肽的片段是有生物活性的。在某些实施方案中，全长IL-22的片段缺少N端信号肽序列。

[0319] 本发明的范围内包括对天然序列和变体IL-22多肽的共价修饰。一种类型的共价修饰包括所靶向的IL-22的氨基酸残基与能够与选择的IL-22多肽侧链或N端残基或C端残基反应的有机衍生剂反应。用双官能试剂衍生化可用于例如将IL-22交联至水不溶性支持物基质或表面，例如，用于纯化抗IL-22抗体的方法。常使用的交联剂例如包括1,1-双(二唑乙酰基)-2-苯基乙烷、戊二醛、N-羟琥珀酰亚胺酯，例如，与4-叠氮基水杨酸的酯、同双官能酰亚胺酯，包括二琥珀酰亚胺基酯如3,3′-二硫代双(珀酰亚胺丙酸酯)、双官能马来酰亚胺如双-N-马来酰亚胺-1,8-辛烷和活性剂如甲基-3-[(对-叠氮苯基)二硫代]丙酰亚氨酸酯。

[0320] 其他修饰包括谷氨酰胺酰残基和天冬酰胺酰残基分别脱酰胺化成为相应的谷氨酰残基和天冬氨酰残基、脯氨酸和赖氨酸的羟化、丝氨酰残基或苏氨酰残基的羟基的磷酸化、赖氨酸、精氨酸和组氨酸侧链的α-氨基的甲基化(T.E.Creighton,1983,Proteins:Structure and Molecular Properties,W.H.Freeman&Co.,San Francisco,第79-86i页)、N末端胺的乙酰化和任何C端羧基的酰胺化。

[0321] 另一类型的IL-22共价修饰包括将IL-22多肽连接至多种非蛋白质聚合物的之一,例如,聚乙二醇、聚丙二醇或聚氧化烯,例如按美国专利号4,640,835;4,496,689;4,301,144;4,670,417;4,791,192或4,179,337中所述的方式连接。天然序列和变体IL-22也可以按形成包含与另一个异源多肽或氨基酸序列融合的IL-22(包括IL-22片段)的嵌合分子的方式修饰。

[0322] 在一个实施方案中,这种嵌合分子包含IL-22与标签多肽的融合物,所述标签多肽提供抗标签抗体可以选择性与之结合的表位。表位标签通常置于IL-22多肽的氨基端或羧基端。可以使用针对标签多肽的抗体,检测到IL-22多肽的这类加表位标签形式的存在。也提供表位标签使得能够利用抗标签抗体或另一个类型的与该表位标签结合的亲和基质,通过亲和纯化法轻易纯化IL-22多肽。多种标签多肽及其相应的抗体是本领域熟知的。例子包括多组氨酸(poly-his)或多组氨酸-甘氨酸(poly-his-gly)标签;fluHA标签多肽和其抗体12CA5(Field等人,1988,Mol.Cell.Biol.,8:2159-2165);c-myc标签及其8F9、3C7、6E10、G4、和9E10抗体(Evan等人,1985,Mol.Cell.Biol.,5:3610-3616);和单纯疱疹病毒糖蛋白D(gD)标签及其抗体(Paborsky等人,1990,Protein Engineering,3(6):547-553)。其他标签多肽包括Flag-肽(Hopp等人,1988,BioTechnology,6:1204-1210);KT3表位肽(Martin等人.,1992,Science,255:192-194);微管蛋白表位肽(Skinner等人,1991,J.Biol.Chem.,266:15163-15166);和T7基因10蛋白肽标签(Lutz-Freyermuth等人,1990,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,87:6393-6397)。

[0323] 在另一个实施方案中,嵌合分子可以包含IL-22多肽或其片段与免疫球蛋白或免疫球蛋白特定区域的融合物。对于双价形式的嵌合分子,这种融合物可以是IgG分子的Fc区。这些融合多肽是抗体样分子,这些抗体样分子将异源蛋白(“黏附蛋白”)的结合特异性与免疫球蛋白恒定结构域的效应子功能组合,并经常叫做免疫黏附素。在结构上,免疫黏附素包含IL-22或其变体的氨基酸序列和免疫球蛋白恒定结构域序列的融合物。免疫黏附素分子的黏附蛋白部分一般是至少包含受体或配体结合位点的连续氨基酸序列。免疫黏附素中的免疫球蛋白恒定结构域序列可以从任何免疫球蛋白获得,如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4亚型、IgA(包括IgA1和IgA2)、IgE、IgD或IgM。在某些实施方案中,IL-22Fc融合蛋白显示改性的效应子活性。

[0324] IL-22多肽或其片段可以例如与免疫球蛋白重链恒定区序列融合以产生IL-22-Ig融合蛋白(例如,IL-22Fc融合蛋白)。IL-22多肽可以是人或鼠IL-22。免疫球蛋白重链恒定区序列可以是人或鼠免疫球蛋白重链恒定区序列。

[0325] B.制备用于所述组合物的IL-22Fc融合蛋白的方法

[0326] 本文所述的IL-22Fc融合蛋白可通过任何合适的方法制备,例如培养用含有编码IL-22Fc融合蛋白、其片段或变体的核酸的载体转化或转染的细胞。还提供了包含任何此类载体的宿主细胞。可以使用任何合适的宿主细胞,例如,哺乳动物细胞(例如,CHO细胞)、大

肠杆菌或酵母。进一步提供了用于生产本文所述的任何IL-22Fc融合蛋白的方法，并且通常涉及在适于所需IL-22Fc融合蛋白表达的条件下培养宿主细胞，并从细胞培养物收集和任选纯化所需的IL-22Fc融合蛋白。例如，可以使用美国临时专利申请62/622,762中描述的任何方法，该专利申请通过引用整体引入到本文中。

[0327] 将宿主细胞用产生IL-22多肽的本文所述表达载体或克隆载体转染或转化并且在常规营养培养基中培养，如果适宜，调整所述常规营养培养基以诱导启动子、选择转化体或扩增编码所需序列的基因。培养条件，如培养基、温度、pH等，可以由技术人员在无需过多实验的情况下选择。通常，可以在Mammalian Cell Biotechnology:A Practical Approach，M.Butler，编著(IRL Press，1991)和上文Sambrook等人中找到用于最大化动物细胞培养物生产率的原理、操作方案和实用技术。

[0328] 转染方法是普通技术人员已知的，例如，借助$CaPO_4$和电穿孔转染转染。取决于所用的宿主细胞，使用适于这类细胞的标准技术进行转化。使用氯化钙的钙处理法，如Sambrook等人，上文中所述，或电穿孔法通常用于含有牢固细胞壁屏障的原核生物或其他细胞。根癌农杆菌(Agrobacterium tumefaciens)感染法用于转化某些植物细胞，如Shaw等人，Gene，23:315(1983)和1989年6月29日公开的WO 89/05859所描述。对于没有这类细胞壁的哺乳动物细胞，可以使用Graham和van der Eb，Virology，52:456-457(1978)的磷酸钙沉淀法。已经在美国专利号4,399,216中描述了哺乳动物细胞宿主系统转化的一般方面。向酵母中转化一般根据Van Solingen等人，J.Bact，130:946(1977)和Hsiao等人，Proc.Natl.Acad.Sci.(USA)，76:3829(1979)的方法实施。但是，也可以使用向细胞引入DNA的其他方法，如通过核微量注射、电穿孔、细菌原生质体与完好细胞融合、或聚阳离子(例如，聚凝胺、聚鸟氨酸)引入。关于转化哺乳动物细胞的多种技术，参见Keown等人，Methods in Enzymology，185:527-537(1990)和Mansour等人，Nature，336:348-352(1988)。

[0329] 重组表达的本发明多肽可以从培养基或从宿主细胞裂解物回收。以下程序是合适纯化程序的示例：在离子交换柱上分级；乙醇沉淀；反相HPLC；在硅胶或在阳离子交换树脂如DEAE上色谱；聚焦色谱；SDS-PAGE；硫酸铵沉淀；使用例如Sephadex G-75的凝胶过滤；移除污染物如IgG的蛋白A琼脂糖凝胶柱；和结合加表位标签形式的本发明多肽的金属螯合柱。可以使用多种蛋白质纯化方法并且这类方法是本领域已知的并例如在Deutscher，Methods in Enzymology，182(1990)；Scopes，Protein Purification:Principles and Practice，Springer-Verlag，New York(1982)中描述。选择的纯化步骤将例如取决于所用生产方法和产生的具体多肽的性质。

[0330] 本领域熟知的替代性方法可以用来制备本发明的多肽。例如，可以使用固相技术(参见，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)，通过直接肽合成法产生编码多肽或其部分的序列。可以使用手工技术或通过自动化法，进行体外蛋白质合成。可以例如使用Applied Biosystems肽合成仪(Foster City，CA)，使用制造商的说明，完成自动合成。本发明多肽或其部分的多个部分可以分别化学合成并使用化学或酶促方法合并以产生全长多肽或其部分。

[0331] 在其他实施方案中，本发明提供嵌合分子，其包含与异源多肽或氨基酸序列融合的本文所述的任何多肽。这类嵌合分子的例子包括但不限于与表位标签序列或免疫球蛋白

Fc区融合的本文所述的任何多肽。

[0332] 用于克隆或表达本文载体中的DNA的合适宿主细胞包括原核生物细胞、酵母细胞或高等真核生物细胞。合适的原核生物包括但不限于真细菌如革兰氏阴性或革兰氏阳性生物，例如，肠杆菌属(Enterobacter)如大肠杆菌。多种大肠杆菌菌株是可公开获得的，如大肠杆菌K12菌株MM294(ATCC 31,446)；大肠杆菌X1776(ATC C31,537)；大肠杆菌菌株W3110(ATCC 27,325)和K5772(ATCC 53,635)。

[0333] 除原核生物之外，真核微生物如丝状真菌或酵母是编码IL-22的载体的合适克隆宿主或表达宿主。酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae)是常用的低等真核宿主微生物。

[0334] 用于表达糖基化-IL-22的合适宿主细胞衍生自多细胞生物。无脊椎动物细胞的例子包括昆虫细胞，如果蝇S2和夜蛾属(Spodoptera)Sf9，以及植物细胞。有用哺乳动物宿主细胞系的例子包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞和COS细胞。更具体的例子包括SV40转化的猴肾CV1细胞(COS-7,ATCC CRL1651)；人胚肾细胞(经亚克隆用于悬浮培养生长的293或293细胞，Graham等人，J.Gen Virol.,36:59(1977))；中国仓鼠卵巢细胞/-DHFR(CHO,Urlaub和Chasin,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,77:4216(1980))；小鼠支持细胞(TM4,Mather,Biol.Reprod.,23:243-251(1980)))；人肺细胞(W138,ATCC CCL75)；人肝细胞(HepG2,HB8065)；和小鼠乳腺瘤细胞(MMT 060562,ATCC CCL51)。认为对适宜宿主细胞的选择处于本领域能力范围内。

[0335] 可以将编码IL-22的核酸(例如，cDNA或基因组DNA)插入复制型载体中用于克隆(扩增DNA)或用于表达。多种载体是可公开获得的。载体可以例如处于质粒、粘粒、病毒颗粒或噬菌体形式。可以通过多种方法，将适宜的核酸序列插入载体。通常，使用本领域已知的技术，将DNA插入适宜限制性核酸内切酶位点中。载体组件通常包括但不限于，一个或多个信号序列、复制起点、一个或多个标记基因、增强子元件、启动子和转录终止序列。含有这些组件中一个或多个组件的合适载体的构建利用了技术人员已知的标准连接技术。

[0336] IL-22多肽可以不仅直接重组地产生，还作为与异源多肽的融合多肽重组地产生，所述异源多肽可以是信号序列或在成熟蛋白或多肽N末端具有特定切割位点的其他多肽，以及作为IL-22Fc融合蛋白重组地产生。通常，信号序列可以是载体的组件，或它可以是插入载体的IL-22DNA的部分。信号序列可以是例如选择自碱性磷酸酶前导序列、青霉素酶前导序列、1pp、或热稳定肠毒素II前导序列的原核信号序列。对于酵母分泌，信号序列可以例如是酵母转化酶前导序列、α-因子前导序列(包括酵母属(Saccharomyces)和克鲁维酵母属(Kluyveromyces)"-因子前导序列，后者在美国专利号5,010,182中描述)、或酸性磷酸酶前导序列、白假丝酵母(C.albicans)葡糖淀粉酶前导序列(1990年4月4日公开的EP 362,179)，或在1990年11月15日公开的WO 90/13646中描述的信号。在哺乳动物细胞表达时，哺乳动物信号序列可以用来指导蛋白质分泌，如来自相同或相关物种的分泌型多肽的信号序列，以及病毒分泌性前导序列。

[0337] 表达载体和克隆载体均含有能够使载体在一种或多种选择的宿主细胞中复制的核酸序列。这类序列对多种细菌、酵母和病毒而言是熟知的。来自质粒pBR322的复制起点适用于大部分革兰氏阴性细菌、2:质粒复制起点适用于酵母，并且多个病毒复制起点(SV40、多瘤病毒、腺病毒、VSV或BPV)可用于哺乳动物细胞中的克隆载体。

[0338] 表达和克隆载体将一般含有选择基因，又称作选择标记物。常见的选择基因编码

这样的蛋白质，这些蛋白质(a)赋予针对抗生素或其他毒素的抗性，例如，氨苄青霉素、新霉素、甲氨蝶呤或四环素，(b)补充营养缺陷，或(c)供应从复合培养基不可获得的关键养分，例如，编码杆菌D-丙氨酸消旋酶的基因。

[0339] 用于哺乳动物细胞的合适选择标记的例子是能够确定有能力摄取IL-22核酸的细胞的一种选择标记，如DHFR或胸苷激酶。当使用野生型DHFR时，适宜宿主细胞是DHFR活性缺陷的CHO细胞系，如Urlaub等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA,77:4216(1980)所描述那样制备和增殖。用于酵母中的合适选择基因是酵母质粒YRp7中存在的trp1基因(参见，例如，Stinchcomb等人，Nature,282:39(1979);Kingsman等人，Gene,7:141(1979);Tschemper等人，Gene,10:157(1980))。trp1基因为缺少在色氨酸中生长的能力的酵母突变株(例如，ATCC No.10231或PEP4-1)提供选择标记(Jones,Genetics,85:12(1977))。

[0340] 表达载体和克隆载体通常含有与IL-22核酸序列有效连接的启动子以指导mRNA合成。由多种潜在宿主细胞识别的启动子是熟知的。随原核宿主一起使用的适合启动子包括正交-内酰胺酶和乳糖启动子系统[参见，例如，Chang等人，Nature,275:615(1978);Goeddel等人，Nature,281:544(1979)]、碱性磷酸酶、色氨酸(trp)启动子系统[参见，例如，Goeddel,Nucleic Acids Res.,8:4057(1980);EP 36,776]，和杂合启动子如tac启动子[参见，例如，deBoer等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA,80:21-25(1983)]。用于细菌系统中的启动子还将含有与编码IL-22的DNA有效连接的Shine-Dalgarno(S.D.)序列。

[0341] 随酵母宿主一起使用的合适启动子序列的例子包括以下酶的启动子:3-磷酸甘油酸激酶[参见，例如，Hitzeman等人，J.Biol.Chem,255:2073(1980)]或其他糖酵解酶[参见，例如，Hess等人，J.Adv.Enzyme Reg.,7:149(1968);Holland,Biochemistry,17:4900(1978)]，如烯醇化酶、3-磷酸甘油醛脱氢酶、己糖激酶、丙酮酸脱羧酶、磷酸果糖激酶、葡萄糖-6-磷酸异构酶、3-磷酸甘油酸变位酶、丙酮酸激酶、磷酸丙糖异构酶、磷酸葡萄糖异构酶和葡萄糖激酶。

[0342] 作为具有额外优点即转录受生长条件控制的诱导型启动子的其他酵母启动子是下述的启动子区:醇脱氢酶2、异细胞色素C、酸性磷酸酶、与氮代谢相关的降解酶、金属硫蛋白、3-磷酸甘油醛脱氢酶和负责麦芽糖和半乳糖利用的酶。用于酵母表达的合适载体和启动子进一步在EP 73,657中描述。

[0343] 哺乳动物宿主细胞中来自载体的IL-22转录受例如下述启动子控制，所述启动子从病毒如多瘤病毒、禽痘病毒病毒(1989年7月5公开的UK 2,211,504)、腺病毒(如腺病毒2)、牛乳头瘤病毒、禽肉瘤病毒、巨细胞病毒、逆转录病毒、乙型肝炎病毒和猴病毒40(SV40)的基因组获得、从异源哺乳动物启动子例如肌动蛋白启动子或免疫球蛋白启动子获得，并从热休克启动子获得，条件是这类启动子与宿主细胞系统相容。

[0344] 可以通过将增强子序列插入载体，增加高等真核生物转录编码IL-22多肽的DNA。增强子是作用于启动子以增加其转录的顺式作用DNA元件，通常约10至约300bp。现在已知许多增强子序列来自哺乳动物基因(珠蛋白、弹性蛋白酶、白蛋白、α-胎蛋白和胰岛素)。一般，然而，将采用来自真核细胞病毒的增强子。例子包括在复制起点晚期侧(bp 100-270)的SV40增强子、细胞巨化病毒早期启动子增强子、在复制起点晚期侧上的多瘤增强子和腺病毒增强子。增强子可以在IL-22编码序列的位置5′或3′被剪接进入载体，但优选地位于启动子5′的位点。

[0345] 在真核宿主细胞(酵母、真菌、昆虫、植物、动物、人、或来自其他多细胞生物的有核细胞)中使用的表达载体也将含有为终止转录和为稳定mRNA必需的序列。这类序列常从真核DNA或者病毒DNA或cDNA的5′非翻译区和偶尔从其3′非翻译区可获得。这些区域含有转录为编码IL-22的mRNA的非翻译部分中聚腺苷酸化片段的核苷酸区段。

[0346] 另外,适于在重组脊椎动物细胞培养物中合成IL-22的其他方法、载体和宿主细胞在Gething等人,Nature,293:620-625(1981);Mantei等人,Nature,281:40-46(1979);EP 117,060;和EP 117,058中描述。

[0347] 可以在样品中直接测定基因扩增和/或表达,例如,基于本文提供的序列,使用适当标记的探针,通过常规DNA印迹法、定量mRNA转录的RNA印迹法[参见例如,Thomas,Proc Natl Acad Sci USA,77:5201-5205(1980)]、斑点印迹法(DNA分析)或原位杂交测定。可选地,可以使用这样的抗体,所述抗体可以识别特定双链体,包括DNA双链体、RNA双链体和DNA-RNA杂交双链体或DNA-蛋白质双链体。抗体转而可以被标记并且可以实施这样的测定法,其中双链体与表面结合,从而当双链体在表面上形成时,可以检测到结合于双链体的抗体的存在。

[0348] 可选地,可以通过免疫学方法如细胞切片或组织切片的免疫组织化学染色法和细胞培养物或体液测定法测定基因表达以直接定量基因产物的表达。用于免疫组织化学染色和/或样品流体测定法的抗体可以是单克隆或多克隆的,并且可以在任何哺乳动物中制备。便利地,可以针对天然序列IL-22多肽或针对基于本文所提供DNA序列的合成肽或针对与IL-22DNA融合并编码特异性抗体表位的外源序列,制备抗体。

[0349] IL-22融合蛋白的形式可以从培养基或从宿主细胞裂解物回收。如果是膜结合型,可以使用合适的去垢剂溶液(例如TRITON®X-100)或通过酶促切割,从膜释放它。可以通过多种物理或化学手段、如冻融循环、超声处理、机械破裂或细胞溶解剂,破坏在表达IL-22时使用的细胞。

[0350] 可能需要从重组细胞蛋白或多肽中纯化IL-22融合蛋白。以下程序是合适的纯化程序的示例:通过在离子交换柱上分级;乙醇沉淀;反相HPLC;在硅胶或在阳离子交换树脂如DEAE上色谱;聚焦色谱;SDS-PAGE;硫酸铵沉淀;使用例如Sephadex G-75的凝胶过滤;移除污染物如IgG的蛋白A琼脂糖凝胶柱;和结合加表位标签形式的IL-22多肽的金属螯合柱。可以使用多种蛋白质纯化方法并且这类方法是本领域已知的并例如在Deutscher,Methods in Enzymology,182(1990);Scopes,Protein Purification:Principles and Practice,Springer-Verlag,New York(1982)中描述。选择的纯化步骤将例如取决于所用生产方法和产生的具体IL-22的性质。上述的一般方法也可以适用于IL-2Fc融合蛋白的制备。

[0351] 类似地,可以使用重组方法和组合物产生IL-22Fc融合蛋白,例如,如Molecular Cloning:A Laboratory Manual(Sambrook等人,1989,Cold Spring Harbor Laboratory Press)和PCR Protocols:A Guide to Methods and Applications(Innis等人1990.Academic Press,San Diego,CA)中所述。在一个实施方案中,提供编码本文所述的IL-22Fc融合蛋白的分离核酸。在又一个实施方案中,提供一种或多种包含这种核酸的载体(例如,表达载体)。在又一个实施方案中,提供包含这种核酸的宿主细胞。在这样一个实施方案中,宿主细胞包含包含核酸的载体(例如,已经用该载体转化),所述核酸编码包含IL-22Fc融合蛋白的氨基酸序列。在某些实施方案中,该载体是表达载体。在一个实施方案中,

宿主细胞是真核的,例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞或淋巴样细胞(例如,Y0、NS0、Sp20细胞)。在一个实施方案中,提供产生IL-22Fc融合蛋白的方法,其中所述方法包括在适于表达Fc融合蛋白的条件下培养如上文提供的包含编码IL-22Fc融合蛋的核酸的宿主细胞,并且任选地从宿主细胞(或宿主细胞培养基)回收所述Fc融合蛋白。

[0352] 为了重组产生IL-22Fc融合蛋白,将编码(例如,如本文所述的)Fc融合蛋白的核酸分离并插入用于宿主细胞中进一步克隆和/或表达的一种或多种载体中。可以使用常规方法(例如,通过使用能够与编码融合蛋白的基因特异性结合的寡核苷酸探针),轻易地分离这种核酸并将其测序。在某些实施方案中,当制备IL-22Fc融合蛋白时,编码IL-22的多肽或其片段的核酸可以与编码免疫球蛋白恒定结构域序列的核酸在恒定结构域上的指定位置处连接,以在IL-22的C端处产生Fc融合物;然而N端融合物也是可能的。

[0353] 作为构建IL-22Fc融合蛋白的例子,通过限制性酶在编码IL-22的DNA的3'末端或靠近其3'末端并且在编码成熟多肽N末端处或其附近(其中构思使用不同前导序列)或在IL-22全长蛋白的N末端编码区处或临近于该区域(其中使用天然信号)切割编码IL-22的DNA。随后将这个DNA片段轻易地插入中编码免疫球蛋白轻链或重链恒定区的DNA并且,如果需要,通过缺失诱变调整。优选地,当融合蛋白意在用于人类的体内治疗时,这是人免疫球蛋白。

[0354] 在一些实施方案中,将IL-22-免疫球蛋白嵌合体作为单体、异多聚体或同源多聚体,或作为二聚体或四聚体装配。通常,这些装配的免疫球蛋白将具有如以下简图所代表的已知单元结构。基本的四链结构单元是其中IgG、IgD和IgE存在的形式。四链单元在更高分子量的免疫球蛋白中重复;IgM通常作为由二硫键聚拢在一起的基本四链单元的五聚物存在。IgA球蛋白,和偶尔IgG球蛋白也可以在血清中以多聚体形式存在。在多聚体的情况下,每个四链单元可以是相同或不同的。还参见Capon等人,美国专利号5,116,964,所述专利通过引用方式完整并入本文。

[0355] 编码免疫球蛋白轻链恒定区或重链恒定区的DNA是已知的或从cDNA文库轻易可获得或被合成。参见例如,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);和Morrison等人;Ann.Rev.Immunol.2:239-256(1984)。本文提供编码具有内源前导序列的人IL-22的DNA序列(SEQ ID NO:70)。已知或从cDNA文库轻易可获得的编码其他所需结合伙伴的DNA序列适于实施本发明。

[0356] 将编码本发明IL-22Fc融合蛋白的DNA转染至宿主细胞中用于表达。如果需要多聚体,则将宿主细胞用编码将构成多聚体的每条链的DNA转化,最佳地选择宿主细胞以能够按所需方式装配多聚体的链。如果宿主细胞在转染之前就产生免疫球蛋白,则仅需要用与轻链或与重链融合的结合伙伴转染以产生异种抗体。具有一个或多个携带结合配偶体结构域的臂和一个或多个携带陪伴可变区的臂的前述免疫球蛋白产生针对结合伙伴配体和针对抗原或治疗性部分的双特异性。随上述的重组方法使用多重共转化的细胞以产生具有多种特异性的多肽如上文讨论的异四聚体免疫球蛋白。

[0357] 尽管在本发明的免疫黏附素中不要求免疫球蛋白轻链的存在,但是免疫球蛋白轻链可能存在,或与IL-22-免疫球蛋白重链融合多肽共价缔合。在这种情况下,编码免疫球蛋

白轻链的DNA一般与编码IL-22-免疫球蛋白重链融合蛋白的DNA共表达。分泌时，杂合重链和轻链将共价地缔合以提供包含二硫键连接的两个免疫球蛋白重链-轻链对的免疫球蛋白样结构。适于制备这类结构物的方法物例如在1989年3月28日授权的美国专利号4,816,567中公开。用于克隆或表达编码靶蛋白的载体的合适宿主细胞包括本文所述的原核细胞或真核细胞。例如，可以在细菌中产生IL-22Fc融合蛋白，尤其当糖基化和Fc效应子功能是不需要的或有害时。对于在细菌中表达多肽，参见，例如，美国专利号5,648,237、5,789,199和5,840,523。还参见Charlton，Methods in Molecular Biology，第248卷(B.K.C.Lo编著，Humana Press，Totowa，NJ，2003)，第245-254页，其描述在大肠杆菌中表达抗体片段。在表达后，可以将Fc融合蛋白从细菌细胞糊状物分离于可溶性级分中并且可以进一步纯化抗体。如实施例部分中所例举，其他纯化方法包括而不限于使用蛋白A柱纯化。

[0358] 除原核生物之外，真核微生物如丝状真菌或酵母是合适的克隆宿主或表达宿主，包括其糖基化途径已经“人源化”，导致产生具有部分或完全人类糖基化模式的抗体的真菌和酵母菌株。见Gerngross，Nat.Biotech.22:1409-1414(2004)，和Li等人，Nat.Biotech.24:210-215(2006)。

[0359] 表达糖基化蛋白质的合适宿主细胞还源自多细胞生物(无脊椎动物和脊椎动物)。无脊椎动物细胞的例子包括植物细胞和昆虫细胞。已经鉴定了可以与昆虫细胞一起使用、尤其用于转染草地贪夜蛾(Spodoptera frugiperda)细胞的许多杆状病毒株。

[0360] 也可以利用植物细胞培养物作为宿主。参见，例如，美国专利号5,959,177、6,040,498、6,420,548、7,125,978和6,417,429(描述在转基因植物中产生抗体的PLANTIBODIES™技术)。

[0361] 也可以使用脊椎动物细胞作为宿主。例如，适应于悬浮培育的哺乳动物细胞系可以是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其他例子是由SV40转化的猴肾CV1系(COS-7)；人胚肾系(如Graham等人，J.Gen Virol.36:59(1977)中所述的293或293T细胞)；幼仓鼠肾细胞(BHK)；小鼠支持细胞(如在例如Mather，Biol.Reprod.23:243-251(1980)中所述的TM4细胞)；猴肾细胞(CV1)；非洲绿猴肾细胞(VERO-76)；人宫颈癌细胞(HELA)；犬肾细胞(MDCK；布法罗大鼠肝脏细胞(BRL 3A)；人肺细胞(W138)；人肝脏细胞(Hep G2)；小鼠乳腺瘤细胞(MMT060562)；TRI细胞，如在例如Mather等人，Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68(1982)中所述；MRC5细胞和FS4细胞。其他有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞，包括DHFR⁻CHO细胞(Urlaub等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216(1980))；和骨髓瘤细胞系如Y0、NS0和Sp2/0。关于适于产生抗体的某些哺乳动物宿主细胞系的综述，见，例如，Yazaki和Wu，Methods in Molecular Biology，第248卷(B.K.C.Lo编著，Humana Press，Totowa，NJ)，第255-268页(2003)。

[0362] C.测定法

[0363] 本文提供的组合物(例如，药物组合物)或其组分可通过本领域已知的各种测定来鉴定、筛选或表征其物理/化学性质和/或生物活性。

[0364] 1.结合测定法和其他测定法

[0365] 在一个方面，测试本发明的IL-22Fc融合蛋白的受体结合活性，例如通过已知的方法诸如ELISA、western印迹分析、通过Scatchard的细胞表面结合、表面等离子体共振。在另一方面，可以使用竞争测定法以鉴定与IL-22Fc融合蛋白竞争结合IL-22受体的抗体。在其

他方面，本发明的IL-22Fc融合蛋白可以用于检测生物样品中存在的IL-22受体或IL-22结合蛋白(可溶受体)的存在或量。在其他方面，本发明的IL-22Fc融合蛋白可以用于检测生物样品中存在的IL-22受体的存在或量。在某些实施方案中，生物样品首先用非特异性同种型对照抗体封闭以饱和样品中的任何Fc受体。示例性测定法描述于以下实施例中(例如，实施例1中描述的效力测定法)。

[0366] 2.活性测定法

[0367] 在一个方面，提供了用于鉴定组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)的生物活性的测定法。组合物(例如药物组合物)中IL-22多肽或IL-22Fc融合蛋白的生物学活性可以包括例如结合IL-22受体、刺激IL-22信号传导和诱导STAT3、RegIII和/或PancrePAP表达。此外，在心血管疾病或病症的情况下，生物活性可包括影响动脉粥样硬化斑的形成，特别是抑制动脉粥样硬化斑的形成。可以通过本领域普通技术人员已知的任何适当的成像方法评价斑块形成的抑制。

[0368] 3.稳定性测定法

[0369] 在一个方面，提供了用于确定组合物的稳定性的测定法。例如，组合物(例如，药物组合物)可以以多种不同的方式定性地和/或定量地进行评估，包括评估聚集体形成(例如，使用尺寸排阻色谱法，通过测定浊度，和/或通过视觉检查)；评估ROS形成(例如，通过使用光应力测定或2,2′-偶氮二(2-脒基丙烷)二盐酸盐(AAPH)应力测定)；蛋白质的特定氨基酸残基(例如，IL-22Fc融合蛋白的Met残基)的氧化；通过使用阳离子交换色谱、图像毛细管等电聚焦(icIEF)或毛细管区带电泳评估电荷异质性；氨基末端或羧基末端序列分析；质谱分析；比较还原的和完整的多肽(例如，IL-22Fc融合蛋白)的SDS-PAGE分析；肽图谱(例如，胰蛋白酶或LYS-C)分析；评估所述蛋白质的生物活性或靶结合功能(例如，IL-22Fc融合蛋白与IL-22受体的结合)；等等。不稳定性可以涉及以下中的任何一个或多个：聚集、脱酰胺(例如Asn脱酰胺)、氧化(例如Met氧化和/或Trp氧化)、异构化(例如Asp异构化)、剪切/水解/片段化(例如铰链区片段化)、琥珀酰亚胺形成、未配对的半胱氨酸、N-末端延伸、C-末端加工、糖基化差异等。示例性测定描述于以下实施例中，例如实施例1和实施例3。

[0370] D.用于组合物中的缀合物

[0371] 本发明还提供了包含缀合物的组合物(例如药物组合物)，所述缀合物包含与一种或多种用于检测、配制、半衰期延长、免疫原性减轻或组织穿透的试剂缀合的本文所述IL-22Fc融合蛋白。示例性的缀合包括但不限于聚乙二醇化和与放射性同位素连接。

[0372] 在另一个实施方案中，缀合物包含缀合至放射性原子的如本文描述的IL-22Fc融合蛋白以形成放射缀合物。多种放射性同位素可用于生产放射缀合物。实例包括At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、p^{32}，pb^{212}和Lu的放射性同位素。当放射缀合物用于检测时，其可以包含用于闪烁照相研究的放射性原子，例如tc99m或I123，或用于核磁共振(NMR)成像(也称为磁共振成像，NMR)的自旋标记物，诸如再次的碘-123，碘-131，铟-111，氟-19，碳-13，氮-15，氧-17，钆，锰或铁。

[0373] E.治疗方法和组合物的用途

[0374] 本文提供的任何组合物(例如，药物组合物)可以用于治疗方法和用途，例如，下文描述的任何治疗方法和用途。

[0375] a)炎性肠病

[0376] 在一个方面，提供了用作药物的组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)。在进一步的方面，提供了用于治疗IBD(包括UC和CD)的组合物(例如，包括IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)。在某些实施方案中，提供了用于治疗方法的组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)。在某些实施方案中，本发明提供了用于治疗患有UC或CD的个体的方法中的组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)，所述方法包括向所述个体施用有效量的IL-22Fc融合蛋白。在一个这样的实施方案中，所述方法还包括向个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂，例如，如下所述。在进一步的实施方案中，本发明提供了用于增强上皮增殖、分化和/或迁移的组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)。在某些特定实施方案中，上皮组织是肠上皮组织。在某些实施方案中，本发明提供了用于增强个体中的上皮增殖、分化和/或迁移的方法的组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)，所述方法包括向所述个体施用有效量的所述组合物以增强上皮增殖、分化和/或迁移。在其它实施方案中，本发明提供了用于治疗糖尿病、尤其是II型糖尿病、糖尿病性创伤愈合、代谢综合征和动脉粥样硬化的组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)。在某些实施方案中，本发明提供了用于治疗个体中糖尿病、尤其是II型糖尿病、糖尿病性创伤愈合、代谢综合征和动脉粥样硬化的方法的组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)，所述方法包括向所述个体施用有效量的所述组合物。参见国际专利申请公开号WO2014/145016，其通过引用整体并入本文。根据任何上述实施方案的"个体"或"对象"或"患者"优选是人。

[0377] 在进一步的方面，本发明提供了组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)在制造或制备药物中的用途。在一个实施方案中，所述药物用于治疗IBD和创伤愈合。在一个进一步的实施方案中，所述药物用于治疗IBD和创伤愈合的方法中，所述方法包括向患有IBD的个体施用有效量的所述药物。在一个这样的实施方案中，所述方法还包括向个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂，例如，如下所述。在一个进一步的实施方案中，所述药物用于抑制肠上皮细胞中的炎性应答。在一个进一步的实施方案中，所述药物用于增强个体中的上皮增殖、分化和/或迁移的方法中，所述方法包括向所述个体施用有效量的所述药物以增强上皮增殖、分化和/或迁移。根据任何上述实施方案的"个体"可以是人。

[0378] 在进一步的方面，本发明提供了治疗IBD(包括UC和CD)的方法。在一个实施方案中，所述方法包括向患有IBD的个体施用有效量的组合物(例如，包括IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)。在一个这样的实施方案中，所述方法还包括向个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂，例如，如下文所述。根据任何上述实施方案的"个体"可以是人。

[0379] 在进一步的方面，本发明提供了增强个体中上皮增殖、分化和/或迁移的方法。在一个实施方案中，所述方法包括向个体施用有效量的组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)以增强上皮增殖、分化和/或迁移。在一个实施方案中，"个体"是人。

[0380] b)其他治疗适应证

[0381] 本发明提供了用于心血管疾病和病症、代谢综合征、急性内毒素血症和脓毒症、移植物抗宿主病(GVHD)和糖尿病的组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)。对于预防、治疗或降低给定疾病或病症的严重性，本发明的组合物的适当剂量将取决于如上所定义的待治疗的疾病或病症的类型，疾病或病症的严重性和进程，活性剂是否出于预防性或治疗性目的施用，先前的疗法，对象的临床史和对化合物的反应，和主治医师的裁量。在

一个时间或在一系列的治疗中将化合物适当地施用于对象。优选地，理想的是先于在人中测试前，首先在体外，并然后在有用的动物模型中，测定本发明的剂量响应曲线和药物组合物。

[0382] 在一个方面中，本发明提供了治疗心血管疾病或病症、代谢综合征、急性内毒素血症和脓毒症、GVHD和胰岛素相关障碍的方法。在一个实施方案中，该方法包括向有需要的对象施用治疗有效量的组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)。在另一个方面，本发明提供了一种用于延迟或减缓心血管疾病或病症、代谢综合征、GVHD和胰岛素相关障碍的进展的方法。在一个实施方案中，所述方法包括向诊断患有疾病、病症或障碍的对象施用有效量的组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)。在另一个方面，本发明提供了预防心血管疾病或病症、GVHD和胰岛素相关障碍的标志的方法。在一个实施方案中，所述方法包括向处于所述疾病、病症或障碍的风险中的对象施用有效量的组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)，其中所述组合物有效对抗所述疾病、病症或障碍的标志的发展。在一个方面中，本发明提供了治疗GVHD的方法。在另一个方面，本发明提供了一种延迟或减缓GVHD发展的方法。在一个实施方案中，该方法包括向诊断患有所述疾病、病症或障碍的对象施用有效量的IL-22Fc融合蛋白。

[0383] 心血管疾病和病症

[0384] 在一个方面中，IL-22Fc融合蛋白提供了针对对象的心血管疾病或病症的临床和/或组织学和/或生物化学和/或病理学标志(包括症状和体征)的出现或进展的治疗、预防或防止作用。在一个实施方案中，疾病或病症是动脉粥样硬化。在一个实施方案中，标志包括动脉粥样硬化斑块形成和/或血管炎症。在另一个实施方案中，对象处于心血管疾病的风险。一般地，处于风险的对象先前已经患有如本文所述的心血管疾病或病症，或将具有心血管疾病或病症的遗传素质。

[0385] 可以通过评价心血管疾病中通常使用的多种评估来测定心血管疾病和病症的治疗的功效。例如，可以评估心血管健康。心血管健康可以通过，但不限于，例如血液测试(例如，总胆固醇、LDL-C、HDL-C、甘油三酯、C-反应性蛋白、纤维蛋白原、高半胱氨酸、空腹胰岛素、铁蛋白、脂蛋白、和LPS)、血压、听诊、心电图、心脏压力测试、心脏成像(例如，冠脉插管术、超声心动图、血管内超声、正电子发射断层扫描、计算机断层扫描血管造影术，和磁共振成象)评价。

[0386] 代谢综合征

[0387] 在一个方面中，组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)提供了针对对象中的代谢综合征(或代谢病症或疾病)的临床和/或组织学和/或生物化学和/或病理学标志(包括症状和体征)的出现，或进展的治疗、预防或防止作用。在一个或多个实施方案中，对象处于代谢综合征的风险。

[0388] 可以通过评价代谢综合征中通常使用的多种评估来测定代谢综合征的治疗的功效。例如，可以测定肥胖。作为另外的实例，可以测定高血糖、血脂异常、胰岛素抵抗、慢性脂肪组织炎症，和/或高血压。可以测定C-反应性蛋白、IL-6、LPS、和纤溶酶原激活物抑制剂1中的一种或多种的水平的降低。这些测定可以通过本领域公知的任何方法进行。

[0389] 胰岛素相关障碍

[0390] 对于胰岛素相关障碍，术语“治疗”指病症的治疗性治疗和预防或防止的措施，其

中目的是预防或减慢(减轻)靶向的病理病况或病症。需要治疗的那些包括已经具有胰岛素相关障碍的那些以及倾向于具有此类病症的那些或待在其中预防病症的那些。

[0391] 在一个方面中,组合物(例如,包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)提供了针对对象中的胰岛素相关障碍的临床和/或组织学和/或生物化学和/或病理学标志(包括症状和体征)的出现,或进展的预防或防止作用。在一个实施方案中,所述障碍是I型糖尿病、II型糖尿病、或妊娠糖尿病。在一个实施方案中,病状或病理性标志包括以下中的一种或多种:胰腺(例如胰岛细胞)生产极少或不生产胰岛素、胰岛素抗性、和高血糖。在另一个实施方案中,对象处于胰岛素相关障碍的风险。一般地,处于风险的对象具有胰岛素相关障碍的遗传素质的风险,已经暴露于引发胰岛细胞的自身免疫破坏的病毒(例如,Epstein-Barr病毒、柯萨基病毒、腮腺炎病毒或巨细胞病毒),是肥胖、糖尿病前期的(pre-diabetic)(高于正常血糖水平),或具有妊娠糖尿病。

[0392] 可以通过评价此类病症中通常使用的多种评估来测定胰岛素相关障碍的治疗的功效。例如,可以使用以下中的一种或多种评价I型和II型糖尿病:糖化血红蛋白测试(A1C),常规血糖测试,和空腹血糖测试。也可以通过测试血液中的自身抗体和/或尿中的酮类评价I型糖尿病。也可以通过测试口腔葡萄糖耐受评价II型糖尿病。

[0393] 急性内毒素血症和脓毒症

[0394] 在一个方面中,所述组合物(例如,包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)提供针对对象中急性内毒素血症、脓毒症或两者的临床和/或组织学和/或生物化学和/或病理学标志(包括症状和体征)的出现或进展的治疗、预防或防止作用。在一个或多个实施方案中,所述对象处于急性内毒素血症、脓毒症或两者的风险中。

[0395] 急性内毒素血症、脓毒症或两者的治疗效果可通过评估急性内毒素血症、脓毒症或两者中常用的各种评估方法来测定。例如,可以测定LPS或炎症标志物水平的降低。这些测定可以通过本领域公知的任何方法进行。

[0396] 创伤愈合

[0397] 有多种方法来测定创伤愈合。通常取得图像以计算线性尺寸、周长和面积。NIH具有免费的程序,Image J,其允许从图像测定创伤面积。可以基于外周朝向中心的迁移从初始愈合速率外推最终愈合预后。这是使用多种数学等式完成的,其中最通常的是修改的Gilman等式。除了目视检查以外,创伤愈合测定也可以通过光谱方法或MRI辅助。参见,例如Dargaville等人,Biosensors Bioelectronics,2013,41:30-42,Tan等人,2007,British J.Radiol.80:939-48。如果愈合缓慢/不足,可以取得创伤边缘的生物活检样品以排除或决定感染和恶性。在某些实施方案中,创伤愈合的加速或改善可以通过比较IL-22处理的和对照创伤中的创伤闭合来评价。在某些实施方案中,创伤愈合的加速或改善是快于或优于对照至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。

[0398] 在某些方面,本发明提供了促进/加速/改善在创伤中具有或不具有活动性感染、微生物污染或建群的创伤的愈合的方法。组合物(例如,包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)可以用于治疗受感染的创伤或促进/加速/改善受感染的创伤愈合。在某些实施方案中,所述组合物(例如,包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)可以用于在感染存在的条件下治疗创伤、或促进/加速/改善创伤愈合。在一些实施方案中,在存在具有感染风险的微生物污染或建群的条件下,所述组合物(例如,包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)可用于治疗创

伤或促进/加速/改善受感染的创伤愈合。在进一步的实施方案中，需要创伤愈合治疗的患者可以是糖尿病患者。因此，在一些实施方案中，创伤是糖尿病创伤，例如糖尿病足部溃疡。在一些其他实施方案中，创伤是感染的糖尿病创伤，例如感染的糖尿病足部溃疡。

[0399] GVHD

[0400] 在一个方面中，IL-22Fc融合蛋白可提供针对GVHD的临床和/或组织学和/或生物化学和/或病理学标志(包括症状和体征)的出现的预防作用或针对它们的进展的治疗作用。例如，所述方法提供治疗GVHD的方法，其包括向有需要的对象施用有效量的如本文所述的IL-22Fc融合蛋白或其组合物(包括药物组合物)。如本文所述的IL-22Fc融合蛋白或其组合物的施用可以减少GVHD的一种或多种症状，包括疼痛、疹、皮肤厚度、皮肤或眼部发黄、口干或溃疡、味觉异常、干眼症、感染或体重减轻。IL-22Fc融合蛋白或其组合物可与另外的GVHD疗法组合施用，所述疗法包括例如，免疫抑制剂(例如，环胞菌素、麦考酚酸酯(MMF)或他克莫司)、mTOR抑制剂(例如，西罗莫司或依维莫司))、化疗剂(例如，伊马替尼、喷司他丁、甲氨蝶呤或沙利度胺)、TNF拮抗剂(例如，依那西普)、类固醇(例如，泼尼松龙、甲基泼尼松龙、局部类固醇或类固醇滴眼剂)、光治疗(例如，体外光化学疗法)、羟氯喹、抗纤维化剂(例如，卤夫酮)、单克隆抗体(例如，阿仑单抗、英夫利昔单抗或利妥昔单抗)或其组合。

[0401] 本发明的组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)可单独使用或与其它活性剂组合用于治疗。例如，本发明的组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)可以与至少一种另外的治疗剂共同施用。在某些实施方案中，另外的治疗剂是降低炎性反应的免疫抑制剂，包括但不限于氨甲喋呤、TNF抑制剂、TNF拮抗剂、美沙拉嗪、类固醇、地塞米松，咪唑硫嘌呤，及其组合。降低炎性反应的适当的另外的治疗剂包括但不限于5-氨基水杨酸(5-ASA)，巯嘌呤(也称为6-巯嘌呤或6-MP)或其组合。在某些实施方案中，所述组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)可以与降低炎性反应的一种或多种另外的治疗剂(例如，5-ASA、6-MP、或TNF拮抗剂)共同施用用于治疗IBD。在某些其他实施方案中，组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)可以与整联蛋白拮抗剂诸如etrolizumab共同施用用于治疗IBD。在一个实施方案中，组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)与IL-22激动剂组合使用。

[0402] 为了加速慢性创伤愈合，诸如为了治疗糖尿病足溃疡，可以组合施用组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)与一种或多种另外的创伤愈合剂。适当的另外的创伤愈合剂包括但不限于生长因子(例如，EGF、FGF、IGF、PDGF、TGF和VEGF)、神经生长因子(NGF)、血管生成因子(例如，HGF、TNF-α、血管生成素、IL-8、促血管生成素1和2、Tie-2、整联蛋白α5、基质金属蛋白酶类、一氧化氮、和COX-2)、血小板衍化生长因子(PDGF)家族的成员(例如，PDGF-A、PDGF-B、PDGF-C，和PDGF-D)、胰岛素生长因子(IGF)家族的成员(例如，IGF-I和IGF-II)、转化生长因子(TGF)家族的成员(例如，TGF-α和TGF-β)和合成代谢氧(真空疗法)。在某些实施方案中，所述组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)可以与如本文所述的一种或多种另外的创伤愈合剂和/或适于局部施用的一种或多种抗菌剂或抗生素共同施用。参见WO2006/138468，其通过引用以其整体并入。在此类实施方案中，抗生素可以是硫抗生素包括但不限于磺胺嘧啶银盐，例如，silvadeen。共同施用的一种或多种另外活性剂可以与组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)共同施用，备选地或与之顺序施用

[0403] 在其他示例性实施方案中，如果目标是预防或治疗心血管疾病或病症或代谢综合征，组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)的施用可以与以下的施用组合或用其补充：降胆固醇剂诸如他汀类(例如，洛伐他丁、瑞舒伐他汀、氟伐他汀、阿托伐他汀、普伐他汀，和辛伐他汀)、胆汁酸结合树脂(考来替泊、考来烯胺蔗糖、和考来维纶)、依泽替米贝、或依泽替米贝-辛伐他汀组合；抗血小板剂诸如环氧合酶抑制剂(例如阿司匹林)、腺苷二磷酸(ADP)受体抑制剂(例如氯吡格雷、普拉格雷、替格瑞洛、和噻氯匹定)、磷酸二酯酶抑制剂(例如西洛他唑)、糖蛋白IIB/IIIA抑制剂(例如阿昔单抗、埃替非巴肽、和替罗非班)、腺苷再摄取抑制剂(例如双嘧达莫)、凝血恶烷抑制剂(例如凝血恶烷合酶抑制剂、凝血恶烷受体拮抗剂、和terutroban)；β阻断剂诸如阿普洛尔、布新洛尔、卡替洛尔、卡维地洛、拉贝洛尔、纳多洛尔、氧烯洛尔、喷布洛尔、吲哚洛尔、普萘洛尔、索他洛尔、噻吗洛尔、杜仲(eucommia bark)、醋丁洛尔、阿替洛尔、倍他洛尔、比索洛尔、塞利洛尔、艾司洛尔、美托洛尔、奈比洛尔、布他沙明、ICI-118,551、和SR 59230A；血管生成素转化酶(ACE)抑制剂诸如卡托普利、佐芬普利、含有二羧酸盐的活性剂(例如依那普利、雷米普利、喹那普利、哌林多普利、赖诺普利、贝那普利、咪达普利、和佐芬普利)，含有磷酸盐的活性剂(例如福辛普利)、casokinins、lactokinins、乳三肽(例如由益生素瑞士乳杆菌生产的或源自酪蛋白的Val-Pro-Pro，和Ile-Pro-Pro)；钙通道抑制剂诸如二氢吡啶(例如，氨氯地平、阿雷地平、阿折地平、巴尼地平、贝尼地平、西尼地平、氯维地平、依拉地平、依福地平、非洛地平、拉西地平、乐卡地平、马尼地平、尼卡地平、硝苯地平、尼伐地平、尼莫地平、尼索地平、尼群地平、和普拉地平)、苯基烷胺(例如，维拉帕米)、苯并噻氮卓类(例如，地尔硫卓)、米贝拉地尔、苄普地尔、氟司必林、和芬地林；利尿剂诸如高效能髓袢利尿剂(例如，呋塞米、依他尼酸、托拉塞米和布美他尼)、噻嗪化物(例如，氢氯噻嗪酸)，碳酸酐酶抑制剂(例如，乙酰唑胺和醋甲唑胺)、保钾利尿剂(例如，醛固酮拮抗剂：螺内酯，和上皮细胞钠通道阻断剂：阿米洛利和氨苯蝶啶)、和保钙利尿剂，和任意上述的可药用的盐、酸或衍生物。

[0404] 对于胰岛素相关障碍或代谢综合征，组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)的施用可以与多种治疗剂的施用组合或用其补充。在I型糖尿病(胰岛素依赖性糖尿病或IDDM)的情况中，本文所述的IL-22Fc融合蛋白可以与常规胰岛素替代疗法(包括快速作用和长时作用胰岛素)、免疫抑制治疗、胰岛移植和干细胞疗法中的一种或多种组合。在一个实施方案中，常规胰岛素替换疗法包括，但不限于，常规胰岛素(例如，HUMULIN R®、NOVOLINR®)、低精蛋白锌胰岛素(例如，HUMULINN®、NOVOLINN®)、赖脯胰岛素(例如，HUMALOG®)、门冬胰岛素(例如，NOVOLOG®)、甘精胰岛素(例如，LANTUS®)和地特胰岛素(例如，LEVEMIR®)。在其他实施方案中，胰岛素替换疗法还包括普兰林(SYMLIN®)。

[0405] 在II型糖尿病(非胰岛素依赖性糖尿病或NIDDM)或代谢综合征的情况中，本文的组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)可以与一种或多种胰岛素替换疗法(如以上所讨论的)、降低肝脏的葡萄糖生产的活性剂、刺激胰腺生产和释放胰岛素的活性剂、阻断碳水化合物的酶促分解或增加胰岛素敏感性的活性剂组合。在一个实施方案中，降低葡萄糖生产的活性剂是二甲双胍(例如，GLUCOPHAGE®和GLUMETZA®)。在另一个实施方案中，刺激胰腺生产和释放胰岛素的活性剂是格列吡嗪(例如，GLUCOTROL®和GLUCOTROL XL®)、格列本脲(例如，DIABETA®和GLYNASE®)或格列美脲(例如，

AMARYL®)。在一个其他实施方案中,阻断碳水化合物的酶促分解或增加胰岛素敏感性的活性剂是吡格列酮(例如,Actos)。在另一个实施方案中,IL-22Fc融合蛋白可以与二甲双胍的以下替代之一组合:西他列汀(例如,JANUVIA®)、沙格列汀(例如,ONGLYZA®)、瑞格列奈(例如,PRANDIN®)和那格列奈(例如,STARLIX®)、艾塞那肽(例如,BYETTA®)和利拉鲁肽(例如,VICTOZA®)。在另一个实施方案中,组合物(例如,包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)可以与口服低血糖剂,例如,磺酰脲类组合。

[0406] 在妊娠糖尿病或代谢综合征的情况下,本文所述的组合物(例如,包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)可以与口服血糖控制药物组合。在一个实施方案中,药物是格列本脲。

[0407] 组合疗法可以提供"协同作用"和证明是"协同的",即当活性成分一起使用时所达到的效果比单独使用化合物获得的效果的总和大。当活性成分:(1)以组合的、单位剂量制剂同时共同配制和施用或递送时;(2)作为单独的制剂交替或平行递送时;或(3)通过一些其他方案时,可以实现协同作用。当以交替疗法递送时,当顺序施用或递送化合物时,例如通过单独的注射器中的不同的注射,可以实现协同作用。一般地,在交替疗法过程中,顺序地,即连续地施用每种活性成分的有效剂量,然而在组合疗法中,共同施用两种或多种活性成分的有效剂量。

[0408] 上文所示的这类组合疗法涵盖组合的施用(其中在相同或单独的制剂中包含两种或更多种治疗剂),和单独施用,在这种情况下,组合物(例如,包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)的施用可以在另外的一种或多种治疗剂的施用之前、同时和/或之后进行。在一个实施方案中,组合物(例如,包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)的施用和另外的治疗剂的施用在彼此的约一个月内,或在约1、2或3周内、或在约1、2、3、4、5、6天内发生。

[0409] 本文所述的组合物(例如,包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)(和任何另外的治疗剂)可以通过任何合适的方式施用,包括胃肠外、肺内、局部和鼻内,并且如果需要局部治疗,病灶内施用。胃肠外输注包括肌内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下施用。给药可以通过任何合适的途径,例如通过注射,如静脉内或皮下注射,这部分取决于施用是短暂的还是长期的。本文涉及各种给药方案,包括但不限于在不同时间点的单次或多次施用、推注施用和脉冲输注。

[0410] 本发明的组合物(例如,包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)将以符合良好医学规范的方式配制、给药和施用。在这种情况下考虑的因素包括正在治疗的特别的病症、正在治疗的特别的哺乳动物、个体患者的临床状况、病症原因、递送活性剂的部位、施用方法、施用时间安排和医疗执业者已知的其他因素。组合物(例如,包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)不需要,但任选地与目前用来预防或治疗所讨论病症的一种或多种活性剂一起配制。这类其他活性剂的有效量取决于制剂中存在的融合蛋白的量、疾病或疗法类型,和上文讨论的其他因素。这些通常以与本文所述相同的剂量并且采用与本文所述相同的施用途径使用,或以约1%至99%的本文所述剂量使用,或以经验地/临床上确定适宜的任何剂量和任何途径使用。

[0411] 为了预防或治疗疾病,本发明的组合物(例如,包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)的适宜剂量(当单独或与一种或多种其他另外治疗剂组合使用时)将取决于待治疗疾病的类型、Fc区的类型、疾病的严重性和过程,融合蛋白是否出于预防或治疗目的施用、先前

疗法、患者的临床史和对IL-22Fc融合蛋白的反应，以及主治医师的决定。将组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)适当地按一次或经过一系列治疗施用至患者。取决于疾病的类型和严重性，约1μg/kg至15mg/kg(例如0.1mg/kg-10mg/kg)或约0.1μg/kg至1.5mg/kg(例如，0.01mg/kg-1mg/kg)的IL-22Fc融合蛋白可以是向患者施用的起始候选剂量，无论是否例如通过一次或多次单独施用或通过连续输注来施用。取决于上文提到的因素，一个常见的每日剂量范围可能是从约1μg/kg至100mg/kg或更多。对于在几日或更长时间范围内重复施用，取决于病况，治疗通常将持续直至所需的疾病症状抑制出现。IL-22Fc融合蛋白的一个示例性剂量将处于从约0.05mg/kg至约10mg/kg范围。某些其他剂量包括从约0.01mg/kg至约10mg/kg、约0.02mg/kg至约10mg/kg，和约0.05mg/kg至约10mg/kg的范围。因此，可以向患者施用约0.01mg/kg、0.02mg/kg、0.03mg/kg、0.04mg/kg、0.05mg/kg、0.06mg/kg、0.07mg/kg、0.08mg/kg、0.09mg/kg、0.1mg/kg、0.2mg/kg、0.3mg/kg、0.4mg/kg、0.5mg/kg、0.6mg/kg、0.7mg/kg、0.8mg/kg、0.9mg/kg、1.0mg/kg、2.0mg/kg、3.0mg/kg、4.0mg/kg、5mg/kg、6mg/kg、7mg/kg、8mg/kg、9mg/kg或10mg/kg中的一种或多种剂量(或其任意组合)。对于局部创伤愈合，可以对患者施用约0.001mg/cm^2-约10mg/cm^2创伤面积、约0.05mg/cm^2-约5mg/cm^2创伤面积、约0.01mg/cm^2-约1mg/cm^2创伤面积、约0.05mg/cm^2-约0.5mg/cm^2创伤面积、约0.01mg/cm^2-约0.5mg/cm^2创伤面积、约0.05mg/cm^2-约0.2mg/cm^2创伤面积、或约0.1mg/cm^2-约0.5mg/cm^2创伤面积(或其任意组合)中的一种或多种剂量。在某些实施方案中，可以对患者施用约0.01mg/cm^2、0.02mg/cm^2、0.03mg/cm^2、0.04mg/cm^2、0.05mg/cm^2、0.06mg/cm^2、0.07mg/cm^2、0.08mg/cm^2、0.09mg/cm^2、0.1mg/cm^2、0.15mg/cm^2、0.2mg/cm^2、0.25mg/cm^2、0.3mg/cm^2、0.4mg/cm^2、或0.5mg/cm^2创伤面积中的一种或多种剂量。这类剂量可以间断地施用，例如，每周或每3周(例如，从而，患者接受从约2个至约20个，或例如约6个剂量的IL-22Fc融合蛋白)。可以施用较高的初始负荷剂量，随后是一个或多个较低剂量。然而，可以使用其他剂量方案。通过常规技术和测定法容易地监测这种疗法的进程。

[0412] 可以理解，前述任一种制剂或治疗方法可以使用本发明的缀合物替代IL-22Fc融合蛋白或除IL-22Fc融合蛋白之外还使用本发明的缀合物来实施。

[0413] F.制品

[0414] 在本发明的另一个方面，提供了一种含有用于治疗、预防和/或诊断上述病症的物质的制品。制品可包括本文提供的任何组合物(例如，包含IL-22Fc融合蛋白的药物组合物)。制品包含容器和在该容器上或与之结合的标签或包装说明书。合适的容器例如包括瓶、小药瓶、注射器、静脉内输液袋等。容器可以从多种材料如玻璃或塑料中形成。该容器容纳了本身或与另一种组合物组合时有效治疗、预防和/或诊断病症的组合物并且可以具有无菌接入口(例如该容器可以是具有皮下注射针头可穿透的塞子的静脉内输液袋或小药瓶)。在一些实施方案中，组合物中的至少一种活性剂是IL-22Fc融合蛋白。标签或包装插页指示组合物用于治疗选择的病症。在一些实施方案中，保护制品或容器以避光。制品可包括本文所述的任何组合物(例如，药物组合物)。

[0415] 在一些实施方案中，所述制品包括体积为约1mL或更多，例如约1mL、约2mL、约3mL、约4mL、约5mL、约6mL、约7mL、约8mL、约9mL、约10mL或更多的小瓶。在一些实施方案中，所述容器是体积为约2mL的小瓶。在一些实施方案中，所述小瓶用于单次使用。在一些实施方案中，所述小瓶包含约1mg、约2mg、约3mg、约4mg、约5mg、约6mg、约7mg、约8mg、约9mg、约10mg、

约11mg、约12mg、约13mg、约14mg、约15mg、约16mg、约17mg、约18mg、约19mg、约20mg或更多的IL-22Fc融合蛋白。在一些实施方案中，所述小瓶包含约10mg的IL-22Fc融合蛋白。在一些实施方案中，所述小瓶包含配制在10mM磷酸钠、5mM甲硫氨酸、240mM蔗糖、0.02％(w/v)聚山梨酯20、pH 7.1中的IL-22Fc融合蛋白。在一些实施方案中，所述容器封闭系统包括玻璃瓶、塞子和帽中的一个或多个或全部。

[0416] 此外，制品可以包含(a)其中含有本发明组合物的第一容器，其中所述组合物包含IL-22Fc融合蛋白；和(b)其中含有组合物的第二容器，其中所述组合物包含另外的治疗剂。本发明的该实施方案中的制品可进一步包含包装插页，其指示组合物可用于治疗特定病症(例如IBD，例如UC或克罗恩病)或本文所述的任何其它病症。备选地或另外地，制品可进一步包括第二(或第三)容器，其包含药学上可接受的缓冲液，例如抑菌注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液和葡萄糖溶液。它还可以包括从商业和用户观点来看所希望的其它材料，包括其它缓冲剂、稀释剂、过滤器、针和注射器。

[0417] 可以理解，前述任一制品可以包含本发明的缀合物，以替代IL-22Fc融合蛋白，或除IL-22Fc融合蛋白之外，还包含本发明的缀合物。

实施例

[0418] 以下是本发明的方法和组合物的实施例。应理解，考虑到以上提供的一般描述，可以实践多种其他实施方案，并且实施例并非意在限制权利要求的范围。

[0419] 实施例1:IL-22Fc融合蛋白稳定性研究

[0420] 这些研究的目的是研究IL-22Fc融合蛋白稳定性和10mM磷酸钠、240mM蔗糖、5mM甲硫氨酸、0.02％(w/v)聚山梨酯20(PS20)、pH 7.1的液体制剂的可制造性。在预期的储存温度-70、-20和5℃，以及应力温度25、30和40℃下，对pH 5.5-7.6的10mg/mL IL-22Fc融合蛋白进行全pH筛选。结果表明，pH 7.1的制剂在颜色、外观和透明度(CAC)、浓度、pH、尺寸排阻-高效液相色谱(SE-HPLC)、DSC、成像毛细管等电聚焦(ICIEF)和效力方面是合适的。

[0421] 完成了对含有0.0％、0.01％、0.02％和0.04％(w/v)聚山梨酯20的10mg/mL IL-22Fc融合蛋白的搅拌研究，以确定适当的聚山梨酯20浓度规格，以保护IL-22Fc融合蛋白药物组合物免受搅拌应力影响。尽管确定0.01％聚山梨酯20适用于IL-22Fc融合蛋白，但目标推荐为0.02％以解释说明书范围。除了筛选10mg/mL的IL-22Fc融合蛋白药物组合物的制剂外，还完成了在相同的上述制剂中10mg/mL的IL-22Fc融合蛋白的冻融稳定性研究。通过SE-HPLC测定，在-20℃和5℃下保存1周以及冻融三个循环的IL-22Fc融合蛋白没有显著变化。在不存在甲硫氨酸或存在甲硫氨酸(3、3.5和5mM)的情况下进行AAPH应力稳定性研究，以评估关键受体结合的甲硫氨酸的氧化可能性和加入甲硫氨酸的保护价值。这些研究证明，以10mg/mL配制为药物组合物(含有10mM磷酸钠、240mM蔗糖、5mM甲硫氨酸、0.02％聚山梨酯20、pH 7.1)的IL-22Fc融合蛋白的物理和化学稳定性对于用作药物组合物是可接受的，并且在该制剂中可支持IL-22Fc融合蛋白的制造。

[0422] 材料和方法

[0423] 材料

[0424] 在研究开始之前，将10mg/mL在10mM磷酸钠和pH5.5中的IL-22Fc融合蛋白药物组合物的起始材料在5℃储存。将该材料用于“制剂筛选1-3”以及搅拌和冻/融研究。用分析标

准品(无甲硫氨酸)进行初步AAPH研究,用与0、3、3.5和5mM甲硫氨酸配制的IL-22Fc融合蛋白进行随后的研究。

[0425] IL-22 Fc融合蛋白制剂筛选1

[0426] 评价了IL-22Fc融合蛋白10mg/mL在20mM组氨酸乙酸盐、240mM蔗糖、pH5.5、0.02%(w/v)聚山梨酯20(PS20)中的早期药物组合物制剂中的稳定性,用于初步制剂筛选。将该物质无菌过滤,并在层流净化罩(laminar flow hood)中将1.0mL无菌填充到高压灭菌的2-cc Forma Vitrum小瓶中。用Daikyo 13-mm直径塞子塞住小瓶,用铝翻盖(flip-top)密封,并在-20℃、5℃、25℃和40℃直立储存。通过SE-HPLC和DSC分析样品。

[0427] IL-22 Fc融合蛋白制剂筛选2

[0428] 用Thermo Scientific透析盒,分别用10mM组氨酸乙酸盐和240mM蔗糖、pH5.5、pH 6.0、pH 6.5和pH 7.0透析10mg/mL的起始材料。透析后,加入PS20至终浓度为0.02%(w/v)。用体积法测定透析和稀释步骤后的蛋白质浓度。为了建立制剂筛选,将pH 5.5、6.0、pH 6.5和pH 7.0的材料无菌过滤,并将1.0mL无菌填充到层流净化罩中的高压灭菌的2-cc Forma Vitrum小瓶中。用Daikyo 13-mm直径塞子塞住小瓶,用铝翻盖密封,并在-20℃、5℃、25℃和30℃直立储存,该筛选的概述示于表1中。

[0429] 表1

[0430]

缓冲液	浓度(mg/mL)	表面活性剂	张度剂	温度(°C)	pH 5.5	pH 6.0	pH 6.5	pH 7.0
10 mM 组氨酸乙酸盐磷酸盐(pKa= 6.1)	10	0.02% P20	240 mM 蔗糖	-20			x	
				5	x	x	x	x
				25	x	x	x	x
				30			x	

[0431] IL-22 Fc融合蛋白制剂筛选3

[0432] 用Thermo Scientific透析盒,分别用10mM磷酸钠、240mM蔗糖、0.02%(w/v)PS20、pH 6.5、pH 7.0、pH 7.3、7.6和20mM Tris pH 7.3透析10mg/mL的起始材料。用体积法测定透析和稀释步骤后的蛋白质浓度。为了建立制剂筛选,将材料在pH 6.5、pH 7.0、pH 7.3、pH 7.6和Tris pH 7.3无菌过滤,并将1.0mL无菌填充到层流净化罩中的高压灭菌的2-cc Forma Vitrum小瓶中。用Daikyo 13-mm直径塞子塞住小瓶,用铝翻盖密封,并在-20℃、5℃、25℃和30℃直立储存,该筛选的概述示于表2中。

[0433] 表2

[0434]

缓冲液	浓度(mg/mL)	表面活性剂	张度剂	温 度(°C)	pH 6.5	pH 7.0	pH 7.3	pH 7.6
20 mM Tris (pKa = 8.0)	10	0.02% P20	240mM 蔗糖	-20			x	
				5			x	
				25			x	
				30			x	
10 mM 磷酸钠 (pKa= 7.2)	10	0.02% P20	240mM 蔗糖	-20			x	
				5	x	x	x	x
				25	x	x	x	x
				30			x	

[0435] IL-22 Fc融合蛋白搅拌研究

[0436] 搅拌研究在室温下用不同水平的PS20进行。在含有0.0％、0.01％、0.02％和0.04％(w/v)PS20的10mM磷酸钠、240mM蔗糖pH 7.1中以10mg/mL配制起始原料。无菌过滤蛋白质制剂，并如上所述将1.0mL装入2-cc瓶中。将小瓶以水平取向放置，并在室温下使用台式振荡器以50转/分钟的速度(70的马达速度)连续振荡24小时。在室温将对照样品(0.0％PS20)置干搅拌的样品旁边，不振荡。

[0437] IL-22Fc融合蛋白冻融稳定性研究

[0438] 就含有10mM磷酸钠、240mM蔗糖、0.02％(w/v)PS20、pH 6.5、7.0、7.3和7.6的制剂以及一种除用20mM Tris pH 7.3的缓冲液之外含有相同赋形剂的制剂，来评价小瓶中冻融的IL-22Fc融合蛋白药物组合物的稳定性。无菌过滤蛋白质制剂，并如上所述将1.0mL装入2-cc小瓶中。将小瓶置于-20℃T＝0和1周。将小瓶冷冻并解冻总共三次至室温。仅分析T＝0和第三次冻融循环。

[0439] 确定制剂中的甲硫氨酸水平的AAPH应力稳定性研究

[0440] 本研究的目的是使用2,2′-偶氮二-2-甲基-丙脒二盐酸盐(AAPH)产生降解的样品，以支持测定开发并研究IL-22Fc融合蛋白的氧化。IL-22Fc融合蛋白药物组合物制剂以10mg/ml在10mM磷酸钠、240mM蔗糖、0.02％(w/v)PS20、pH 7.1(含有0、3和3.5mM甲硫氨酸)中进行AAPH应力。将样品与1mM AAPH一起在40℃温育24小时。在AAPH应力完成后，将样品缓冲液换成制剂缓冲液，等分，并在-70℃冷冻用于随后的分析。将上述样品与之前以相同方式经受应力的IL-22Fc融合蛋白、10mM磷酸钠、240mM蔗糖、0.02％PS20、pH 7.1、5mM甲硫氨酸进行比较。

[0441] 测定

[0442] 颜色、外观和透明度

[0443] 使用具有黑白背景的光检查台在白色荧光下视觉评估样品的颜色、外观和透明度。

[0444] pH

[0445] 使用带有Beckman Coulter微电极的SevenMulti Mettler Toledo pH计测定溶液pH。在测试之前，进行pH计标准化。使用pH 7.0和pH4.0的标准溶液进行校准。

[0446] 体积蛋白质浓度(强度)

[0447] 使用Agilent8453通过吸收测定蛋白质浓度或强度。在测定之前，用各自的配制缓冲液将样品体积稀释至～0.5mg/mL。在光程长度为1.0cm的石英比色杯中测定吸收。用相应

的制剂缓冲液空白校对该仪器。使用280nm(A_{max})和320nm(A_{320})的吸光度,以及0.98(mg/mL)$^{-1}$cm^{-1}的消光系数(ε),计算蛋白质浓度。

[0448] $$浓度(mg/mL)=\frac{(A_{max}-A_{320})\ x\ 稀释因子(mL/mL)}{\varepsilon\ x\ 光程长度(cm)}$$

[0449] 尺寸排阻高效液相色谱法(SE-HPLC)

[0450] 用Agilent1100 HPLC进行尺寸排阻色谱。在环境温度下在TOSOH Bioscience TSKgel G3000SWXL 30-cm柱上进行分离。流动相维持在0.5mL/min的流速。注射未稀释的用于制剂筛选1的样品,但对于随后的筛选,在注射前在0.20M磷酸钾、0.25M氯化钾、pH 6.2±0.1的流动相中稀释至2mg/mL。每个样品进样50μg蛋白质在280nm检测。每个样品运行时间为30分钟。试剂空白对照用各自的配制缓冲液进行。峰面积是相对于基线积分。

[0451] 成像毛细管等电聚焦(ICIEF)

[0452] 通过iCE280分析仪(ProteinSimple)用PrincCE微量注射器和100μm×5cm的碳氟化合物涂覆的毛细管盒(ProteinSimple)评价电荷变体分布。为了除去重链C-末端赖氨酸残基,在稀释步骤后以1:1000(w/w)的酶-底物比将羧肽酶B(CpB)加入到每个样品中。另外,加入唾液酸酶A以除去唾液酸。在添加CpB和唾液酸酶A之后,将样品在37℃下温育10分钟。将温育的样品与两性电解质溶液混合,该溶液由700μL的1%甲基纤维素、1218μL纯化水、8μL的Pharmalyte 8-10.5、55μL Pharmalyte 5-8、15μL的pI标记5.12、4μL pI标记7.05的混合物组成。通过引入1500V的电势1分钟,接着3000V的电势5分钟来聚焦样品,阳极电解液是80mM磷酸,阴极电解液是100mM氢氧化钠,二者都在0.1%甲基纤维素中。通过使280nm紫外(UV)光穿过毛细管并进入电荷耦合器件数码相机的透镜中,获得聚焦的电荷变体的图像。

[0453] 通过差示扫描量热法(DSC)和固有色氨酸荧光测定的热稳定性

[0454] DSC是一种热分析技术,其中将升高样品温度所需的热量之差作为温度的线性函数进行测定。解链温度T_m和解链起始温度可以决定蛋白质对热解折叠的敏感性。融合分子在比全长单克隆抗体低得多的温度下解链。因此,DSC用于快速评估pH对热稳定性的影响,以进一步指导制剂开发。将IL-22Fc融合蛋白在不同的pH配制缓冲液(pH5.5-7.6)中稀释至1mg/mL。将样品上样到96孔板中,与含有500μL相应pH的制剂缓冲液的孔交替。仪器以1℃/分钟的速率在15-95℃的温度范围内扫描每个样品-缓冲液对。使用Originlab(Originlab,Northampton,MA)软件进行数据分析。

[0455] 使用具有Thermo Scientific NESLIAB RTE7循环水浴的Horiba Jobin Yvon Fluoromax-4光谱仪,进行使用固有色氨酸荧光发射光谱的热变性研究。在295nm激发时从300-450nm收集色氨酸发射光谱。以2℃间隔从约5至65℃重复测定。监测350nm处的荧光强度(λ_{max})以评估整个热斜坡中的峰值荧光变化。使用所获得的所有光谱的主成分分析,产生解折叠曲线,并且将T_{onset}定义为解折叠曲线中斜率的第一个变化。

[0456] 胰蛋白酶消化的肽段图谱(甲硫氨酸氧化)

[0457] 用高分辨率液相色谱串联质谱(LC-MS-MS)的肽图谱分析来评价甲硫氨酸的氧化。IL-22Fc融合肽样品用盐酸胍变性,然后用二硫苏糖醇(DTT)还原,用碘乙酸(IAA)羧甲基化半胱氨酸。然后将还原的和羧甲基化的样品用胰蛋白酶在37℃消化4小时以产生胰蛋白酶消化的肽段。通过与Thermo OrbiTrap Elite III MS-capable质谱仪偶联的Agilent1200 RP HPLC分离所得胰蛋白酶消化的肽段。使用Thermo Xcalibur软件进行分离的胰蛋白酶消

化的肽段混合物的数据分析。IL-22Fc融合蛋白中有八种含甲硫氨酸的胰蛋白酶消化的肽段。将含甲硫氨酸的天然胰蛋白酶消化的肽段的提取离子色谱(EIC)质量与氧化的含甲硫氨酸的肽的EIC质量(如果观察到)进行比较。每种胰蛋白酶消化的肽段的甲硫氨酸氧化报告为氧化的胰蛋白酶消化的肽段与总胰蛋白酶消化的肽段(天然+氧化)的比率的百分比。

[0458] 效力测定法

[0459] IL-22Fc融合蛋白效力测定法测定IL-22Fc融合蛋白结合IL22-R1a胞外结构域(ECD)的能力。在该测定中,将不同浓度的IL-22Fc融合蛋白参考标准、对照和样品加入到用IL22-R1a ECD包被的96孔板中。用山羊抗人IgG HRP抗体和四甲基联苯胺底物溶液检测结合的IL-22Fc融合蛋白。以光密度(OD)单位表示的结果对IL-22Fc融合蛋白浓度作图,并使用平行曲线程序计算IL-22Fc融合蛋白样品相对于参考标准的测定的效力。

[0460] 为了确定校正的相对效力值:首先,通过输入样品的SA值(x)并求解相关线的方程(y=178.25-10.604x)来确定样品的预测相对效力(y)。然后从100中减去预测的相对效力值(Y)。然后将该值加到测定的相对效力上,以得到样品的校正的相对效力值:校正的相对效力=测定的相对效力+(100-y)。

[0461] 使用控制系统上SA特异性的分析方法监测和控制样品中的SA水平。控制系统的SA含量接受标准为8-12mol/mol。参考标准物具有8mol/mol的SA含量,其处于SA的接受标准的低端。因此,仅由于SA和效力之间的负相关,SA含量高于8mol/mol的样品可能人为地表现为次效力。使用该相关性线产生校正的相对效力值,这提供了校正,该校正对每个样品的SA含量是特异性的。对每个样品校正的特异性维持了效力测定法检测分子变化的能力,所述分子变化可能由于固定的校正值而不明显,该固定的校正值可能过度补偿SA对效力的影响。

[0462] 结果

[0463] IL-22Fc融合蛋白制剂筛选1

[0464] 将具有在20mM组氨酸乙酸盐、240mM蔗糖、pH5.5、0.02%(w/v)PS20中的10mg/mL IL-22Fc融合蛋白的药物组合物用作初始测试。在40℃一周后,SE-HPLC分析的结果表明,非常高分子量的物质(vHMWS)的增加,表明热变性(表3和图1)。这通过IL-22Fc融合蛋白的起始解链温度(Tm)(为约34℃)的DSC测定证实(图2A)。这导致了对施用后IL-22Fc融合蛋白的物理稳定性的关注。因此,在pH 7.4的磷酸盐缓冲盐水(PBS)中测定IL-22Fc融合蛋白的T_m,以模拟生理条件(图2B)。

[0465] 表3:在20mM组氨酸乙酸盐、240mM蔗糖、0.02%PS20(w/v)pH 5.5中的10mg/mL IL-22Fc融合蛋白的SE-HPLC(筛选1)

[0466]

	SE-HPLC		
样品	% HMWS	%单体	% LMWS
1.5 mg/ml 纯; 在 5°C 存储	0.62	99.06	0.33
T=0 在-70°C; 纯	0.61	99.06	0.34
T= 1 周在 40°C; 纯	55.64	43.81	0.55
T= 2 周在 40°C; 纯	62.60	36.92	0.48
T= 4 周在 40°C; 纯	68.54	30.41	1.05

[0467] IL-22Fc融合蛋白制剂筛选2

[0468] 用pH 7.4的PBS的DSC结果出乎意料地表明IL-22Fc融合蛋白在较高pH下可能具有更好的热稳定性。这导致在10mM组氨酸乙酸盐中在pH5.5、pH 6.0、pH 6.5和pH 7.0配制的材料的第二轮DSC。DSC结果以及利用荧光监测(Trp荧光)的热变性研究表明,随着制剂pH的增加,T_m在pH 7.0时也增加至～12℃以上(表4和图3A-3D)。通过SE-HPLC对经热应力的这些制剂中的IL-22Fc融合蛋白的分析证实,IL-22Fc融合蛋白在pH约6.5和7.0时达到物理稳定性,而在pH 5.5和6.0时观察到HMWS增加(图3E)。因此,用目标为pH 7.0的在具有更合适pKa的缓冲液中开始最终筛选,以建立IL-22Fc融合蛋白的可接受pH范围。

[0469] 表4:在10mM组氨酸乙酸盐在pH5.5、6.0、6.5和7.0的IL-22Fc融合蛋白的通过DSC和Trp荧光测定的T_m(筛选2)

[0470]

样品	通过Trp荧光的T_m	通过DSC的T_m
pH 5.5	40-45℃(～42℃)	30-35℃(～32℃)
pH 6.0	45-50℃(～46℃)	35-40℃(～36℃)
pH 6.5	50-55℃(～52℃)	40-45℃(～42℃)
pH 7.0	50-55℃(～54℃)	40-45℃(～44℃)

[0471] IL-22Fc融合蛋白制剂筛选3

[0472] 最终的制剂筛选在pH 6.5、7.0、7.3和7.6在10mM磷酸钠中和在pH 7.3在20mM Tris中建立。这些制剂首先通过DSC进行评价以确定起始T_m(图4)。通过DSC,在pH值超过7.3时,显示热稳定性的增加较小。在推荐的5℃的IL-22Fc融合蛋白药物组合物储存温度下,在储存6周后通过SE-HPLC和ICIEF测定,在pH 6.5、7.0、7.3和7.6的所有制剂中没有观察到变化(表5-9)。对于所有的制剂,在-70℃、-20℃、5℃、25℃、30℃和40℃下在所有的时间点,没有观察到视觉外观、pH和强度的变化。在30℃6周(图5A-5B)和40℃2周(图5C-5D)后,对于pH 7.0、7.3和7.6的制剂,通过SE-HPLC测定的降解速率是相当的。从30℃的数据可知,在pH 6.5时降解速率较高,与DSC结果一致。主峰损失主要是由于HMWF(高分子量形式)的增加,而在LMWF(低分子量形式)中观察到较小的增加。在30℃4周后(图6),当pH从7.0增加到7.3再增加到7.6时,ICIEF存在明显的降解更快的趋势和更快的酸性的峰形成速率。在pH 6.5和7.0之间降解速率几乎没有差异。在30℃储存4周和在40℃储存1周(pH 7.0)后,观察到没有效力损失(表10)。该制剂筛选表明,在pH 7.1,在10mM磷酸钠、240mM蔗糖、0.02％聚山梨酯20中含有10mg/mL IL-22Fc融合蛋白的药物组合物将在维持物理和化学稳定性两方面方面提供平衡。因此,选择pH为7.1的药物制剂。

[0473] 表5:在-70、20、5、25、30和40℃储存长达6周的在10mM磷酸钠、240mM蔗糖和0.02％聚山梨酯20、pH 6.5的制剂中的IL-22Fc融合蛋白药物组合物的稳定性

[0474]

温度	时间点	CAC	强度	pH	ICIEF	SE-HPLC

[0475]

(°C)	(天/周)		(mg/mL)		%酸性	% 主峰	% 碱性	% HMWF	% 主峰	% LMWF
-70	0	CO/CL	10.0	6.5	31.4	38.0	30.7	0.4	99.6	0.0
-20		CO/CL	10.0	6.5	NT	NT	NT	0.4	99.4	0.2
		CO/CL	10.0	6.5	NT	NT	NT	0.4	99.6	0.0
		CO/CL	10.0	6.5	NT	NT	NT	0.4	99.5	0.1
5	7 / 1	CO/CL	10.0	6.5	NT	NT	NT	0.5	99.4	0.2
	14 / 2	CO/CL	10.0	6.5	NT	NT	NT	0.4	99.5	0.1
	28 / 4	CO/CL	10.0	6.5	31.1	39.5	29.5	0.4	99.5	0.1
25	7 / 1	CO/CL	10.0	6.5	NT	NT	NT	0.5	99.3	0.2
	14 / 2	CO/CL	10.0	6.5	NT	NT	NT	0.6	99.4	0.0
	28 / 4	CO/CL	10.0	6.5	NT	NT	NT	0.6	99.3	0.1
30	7 / 1	CO/CL	10.0	6.5	31.1	38.2	30.8	0.5	99.3	0.2
	14 / 2	CO/CL	10.0	6.5	29.1	40.7	30.2	0.6	99.4	0.0
	28 / 4	CO/CL	10.0	6.5	30.16	40.93	28.93	1.0	98.9	0.1
	42 / 6	CO/CL	10.0	6.5	NT	NT	NT	1.3	98.6	0.2
40	1 / NA	CO/CL	10.0	6.5	NT	NT	NT	NT	NT	NT
	3 / NA	CO/CL	10.0	6.5	NT	NT	NT	NT	NT	NT
	7 / 1	CO/CL	10.0	6.5	NT	NT	NT	NT	NT	NT
	14 / 2	CO/CL	10.0	6.5	NT	NT	NT	NT	NT	NT

[0476] CAC颜色、外观、透明度;CO/CL:澄清且无色,NT:未测试,HMWF高分子量形式,LMWF:低分子量形式,ICIEF成像毛细管等电聚焦

[0477] 表6:在-70、20、5、25、30和40℃储存长达6周的在10mM磷酸钠、240mM蔗糖和0.02%聚山梨酯20、pH 7.0的制剂中的IL-22Fc融合蛋白药物组合物的稳定性(筛选3)

[0478]

温度 (°C)	时间点 (天/周)	CAC	强度 (mg/mL)	pH	ICIEF			SE-HPLC		
					% 酸性	% 主峰	% 碱性	% HMWF	% 主峰	% LMWF
-70	0	CO/CL	10.0	7.0	29.7	40.2	30.1	0.4	99.6	0.0
-20	7 / 1	CO/CL	10.0	7.0	NT	NT	NT	0.5	99.3	0.2
	14 / 2	CO/CL	10.0	7.0	NT	NT	NT	0.4	99.6	0.0
	28 / 4	CO/CL	10.0	7.0	NT	NT	NT	0.4	99.5	0.1
5	7 / 1	CO/CL	10.0	7.0	NT	NT	NT	0.4	99.4	0.2
	14 / 2	CO/CL	10.0	7.0	NT	NT	NT	0.5	99.5	0.0
	28 / 4	CO/CL	10.0	7.0	NT	NT	NT	0.4	99.5	0.1
25	7 / 1	CO/CL	10.0	7.0	NT	NT	NT	0.4	99.4	0.1
	14 / 2	CO/CL	10.0	7.0	NT	NT	NT	0.5	99.5	0.0
	28 / 4	CO/CL	10.0	7.0	NT	NT	NT	0.6	99.4	0.1

[0479]

30	7 / 1	CO/CL	10.0	7.0	27.9	41.6	30.5	0.4	99.5	0.1
	14 / 2	CO/CL	10.0	7.0	30.2	41.5	28.3	0.5	99.5	0.0
	28 / 4	CO/CL	10.0	7.0	30.8	40.8	28.4	0.8	99.1	0.2
	42 / 6	CO/CL	10.0	7.0	NT	NT	NT	1.0	98.8	0.2
40	1 / NA	CO/CL	10.0	7.0	30.9	39.0	30.1	0.4	99.5	0.1
	3 / NA	CO/CL	10.0	7.0	30.8	38.9	30.4	0.7	99.2	0.1
	7 / 1	CO/CL	10.0	7.0	31.7	40.0	28.4	1.4	98.4	0.2
	14 / 2	CO/CL	10.0	7.0	NT	NT	NT	3.2	96.5	0.3

[0480] CAC颜色、外观、透明度;CO/CL:澄清且无色,NT:未测试,HMWF高分子量形式,LMWF:低分子量形式,ICIEF成像毛细管等电聚焦

[0481] 表7:在-70、20、5、25、30和40℃储存长达6周的在10mM磷酸钠、240mM蔗糖和0.02%聚山梨酯20、pH 7.3的制剂中的IL-22Fc融合蛋白药物组合物的稳定性(筛选3)

[0482]

					ICIEF			SE-HPLC		
温度 (°C)	时间点 (天/周)	CAC	强度 (mg/mL)	pH	%酸性	% 主峰	% 碱性	% HMWF	% 主峰	% LMWF
-70	0	CO/CL	10.0	7.3	27.2	42.1	30.7	0.4	99.6	0.0
-20	7 / 1	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.4	99.4	0.2
	14 / 2	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.4	99.6	0.0
	28 / 4	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.4	99.6	0.1
5	7 / 1	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.4	99.5	0.2
	14 / 2	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.5	99.6	0.0
	28 / 4	CO/CL	10.0	7.3	29.6	40.3	30.1	0.4	99.5	0.1
25	7 / 1	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.4	99.5	0.1
	14 / 2	CO/CL	10.0	7.3	33.5	37.4	30.1	0.4	99.6	0.0
	28 / 4	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.5	99.4	0.1
30	7 / 1	CO/CL	10.0	7.3	30.7	39.7	29.6	0.4	99.6	0.0
	14 / 2	CO/CL	10.0	7.3	34.0	37.8	28.3	0.5	99.5	0.0
	28 / 4	CO/CL	10.0	7.3	37.0	37.9	25.1	0.8	99.1	0.1
	42 / 6	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	1.0	98.8	0.2
40	1 / NA	CO/CL	10.0	7.3	26.3	42.5	31.2	0.4	99.5	0.1
	3 / NA	CO/CL	10.0	7.3	32.6	38.3	29.1	0.7	99.2	0.1
	7 / 1	CO/CL	10.0	7.3	33.9	39.6	26.8	1.3	98.5	0.2
	14 / 2	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	3.2	96.6	0.2

[0483] CAC颜色、外观、透明度;CO/CL:澄清且无色,NT:未测试,HMWF高分子量形式,LMWF:低分子量形式,ICIEF成像毛细管等电聚焦

[0484] 表8:在-70、20、5、25、30和40℃储存长达6周的在10mM磷酸钠、240mM蔗糖和0.02%聚山梨酯20、pH 7.6的制剂中的IL-22Fc融合蛋白药物组合物的稳定性(筛选3)

[0485]

温度(°C)	时间点(天/周)	CAC	强度(mg/mL)	pH	ICIEF			SE-HPLC		
					%酸性	%主峰	%碱性	%HMWF	%主峰	%LMWF
-70	0	CO/CL	10.0	7.6	28.6	41.3	30.2	0.4	99.7	0.0
-20	7/1	CO/CL	10.0	7.6	NT	NT	NT	0.4	99.4	0.2
	14/2	CO/CL	10.0	7.6	NT	NT	NT	0.4	99.6	0.0
	28/4	CO/CL	10.0	7.6	NT	NT	NT	0.4	99.5	0.1
5	7/1	CO/CL	10.0	7.6	NT	NT	NT	0.4	99.4	0.2
	14/2	CO/CL	10.0	7.6	NT	NT	NT	0.4	99.6	0.0
	28/4	CO/CL	10.0	7.6	29.7	40.7	29.6	0.4	99.6	0.1
25	7/1	CO/CL	10.0	7.6	NT	NT	NT	0.4	99.5	0.2
	14/2	CO/CL	10.0	7.6	NT	NT	NT	0.4	99.6	0.0
	28/4	CO/CL	10.0	7.6	NT	NT	NT	0.5	99.4	0.1
30	7/1	CO/CL	10.0	7.6	30.2	40.7	29.1	0.4	99.5	0.2
	14/2	CO/CL	10.0	7.6	35.5	37.9	26.6	0.4	99.6	0.0
	28/4	CO/CL	10.0	7.6	41.0	35.9	23.2	0.7	99.2	0.1
	42/6	CO/CL	10.0	7.6	NT	NT	NT	0.9	98.9	0.2
40	1/NA	CO/CL	10.0	7.6	30.1	39.9	30.0	0.5	99.5	0.1
	3/NA	CO/CL	10.0	7.6	32.1	39.9	28.1	0.6	99.3	0.1
	7/1	CO/CL	10.0	7.6	36.0	39.1	24.9	1.2	98.7	0.2
	14/2	CO/CL	10.0	7.6	NT	NT	NT	2.9	96.9	0.3

[0486] CAC颜色、外观、透明度;CO/CL:澄清且无色,NT:未测试,HMWF高分子量形式,LMWF:低分子量形式,ICIEF成像毛细管等电聚焦

[0487] 表9:在-70、20、5、25和30℃储存长达6周的在20mM Tris、240mM蔗糖和0.02%聚山梨酯20、pH 7.3的制剂中的IL-22Fc融合蛋白药物组合物的稳定性(筛选3)

[0488]

温度(°C)	时间点(天/周)	CAC	强度(mg/mL)	pH	ICIEF			SE-HPLC		
					%酸性	%主峰	%碱性	%HMWF	%主峰	%LMWF
-70	0	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.3	99.7	0.0
-20	7/1	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.4	99.4	0.2
	14/2	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.4	99.6	0.0
	28/4	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.4	99.5	0.1

[0489]

5	7 / 1	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.4	99.6	0.0
	14 / 2	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.4	99.6	0.0
	28 / 4	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.4	99.5	0.1
25	7 / 1	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.4	99.4	0.2
	14 / 2	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.4	99.6	0.0
	28 / 4	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.5	99.4	0.1
30	7 / 1	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.4	99.4	0.2
	14 / 2	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.4	99.6	0.0
	28 / 4	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	0.7	99.2	0.1
	42 / 6	CO/CL	10.0	7.3	NT	NT	NT	1.0	98.8	0.2

[0490] CAC颜色、外观、透明度;CO/CL:澄清且无色,NT:未测试,HMWF高分子量形式,LMWF:低分子量形式,ICIEF成像毛细管等电聚焦

[0491] 表10:在30℃储存长达4周和在40℃储存长达1周的在10mM磷酸钠、240mM蔗糖和0.02%聚山梨酯20、pH 7.0的制剂中的IL-22Fc融合蛋白药物组合物效力的稳定性(筛选3)

[0492]

样品	估计的%相对效力(n=2)
对照	89
T=4周,30℃	79
T=1周,40℃	81

[0493] IL-22Fc融合蛋白搅拌研究

[0494] 为了确定PS20对蛋白稳定性的影响,用IL-22Fc融合蛋白进行蛋白搅拌研究。搅拌研究的结果表明,与没有搅拌的对照相比,搅拌24小时后具有0.01%、0.02%和0.04%的PS20的样品之间没有CAC、SE-HPLC、ICIEF和浊度的差异(表11和图7)。在不含表面活性剂的搅拌样品中观察到聚集体的少量增加,浊度增加很少,并且没有观察到可见的颗粒。该研究表明,在搅拌期间0.01%的PS20足以保护IL-22Fc融合蛋白。在最终配方中选择0.02%(w/v)PS20以确保在0.01%-0.03%(w/v)PS20的规格范围内的可制造性。

[0495] 表11:在10mM磷酸钠、240mM蔗糖、5mM甲硫氨酸和0.02%聚山梨酯20、pH 7.1的制剂中的IL-22Fc融合蛋白药物组合物的搅拌稳定性

[0496]

样品	CAC	浊度 (350nM)	SE-HPLC		
			% HMWF	%主峰	% LMWF
0.02% PS20，无振荡(对照)	CO/CL	NT	0.1	99.4	0.2

[0497]

0.0% PS20，24 小时振荡	CO/CL	0.0445	0.9	99.0	0.2
0.01% PS20，24 小时振荡	CO/CL	0.0399	0.5	99.3	0.2
0.02% PS20，24 小时振荡	CO/CL	0.0448	0.6	99.3	0.2
0.04% PS20，24 小时振荡	CO/CL	0.0450	0.5	99.3	0.2

[0498] CAC颜色、外观、透明度;CO/CL:澄清且无色,NT:未测试,HMWF高分子量形式,LMWF:

低分子量形式

[0499] IL-22Fc融合蛋白冻融

[0500] 在-20℃冷冻和室温解冻三个循环后，CAC、pH、强度和SE-HPLC没有变化(表12)。因此，IL-22Fc融合蛋白药物组合物足以耐受制造过程中的重复冻融循环。

[0501] 表12：在10mM磷酸钠、240mM蔗糖和0.02％聚山梨酯20、5mM甲硫氨酸，pH 7.0的制剂中的IL-22Fc融合蛋白药物组合物在三次冻/融循环后的稳定性

[0502]

样品	CAC	强度 (mg/mL)	pH	SE-HPLC		
				% HMWF	%主峰	% LMWF
T=0, -20°C, pH 6.5	CO/CL	10.0	6.5	0.4	99.4	0.2
T=0, -20°C, pH 7.0	CO/CL	10.0	7.0	0.4	99.4	0.2
T=0, -20°C pH 7.3	CO/CL	10.0	7.3	0.4	99.5	0.2
T=0, -20°C pH 7.6	CO/CL	10.0	7.6	0.4	99.4	0.2
T=0, -20°C Tris 7.3	CO/CL	10.0	7.3	0.4	99.4	0.2
第三次 F/T, pH 6.5	CO/CL	10.0	6.5	0.4	99.4	0.2
第三次 F/T, pH 7.0	CO/CL	10.0	7.0	0.4	99.4	0.2
第三次 F/T, pH 7.3	CO/CL	10.0	7.3	0.4	99.5	0.1
第三次 F/T, pH 7.6	CO/CL	10.0	7.6	0.4	99.5	0.1
第三次 F/T, Tris pH 7.3	CO/CL	10.0	7.3	0.4	99.5	0.1

[0503] CAC颜色、外观、透明度；CO/CL：澄清且无色；NT：未测试；HMWF高分子量形式；LMWF：低分子量形式，ICIEF成像毛细管等电聚焦

[0504] AAPH应力研究

[0505] 用AAPH处理IL-22Fc融合蛋白分析标准物的初步研究显示关键甲硫氨酸(M25和M139)对氧化的敏感性(图8)。因此，向制剂中加入5mM甲硫氨酸以保护这些甲硫氨酸残基。另外，用AAPH对含有3.5mM和3mM甲硫氨酸的样品施加应力，并分析以确定低于5mM甲硫氨酸的目标水平的水平是否将提供免于甲硫氨酸氧化的保护。使用通过高分辨率液相色谱串联质谱法(LC-MS-MS)测定的胰蛋白酶消化的肽段图谱分析来评估甲硫氨酸的氧化。将用3.5mM和3mM AAPH处理的样品配制的参考批次的胰蛋白酶消化的肽段图谱数据与用5mM甲硫氨酸配制的并用AAPH处理或未处理的参考批次的胰蛋白酶消化的肽段图谱数据进行比较。数据表明，与用5mM甲硫氨酸配制的材料相比，在3mM或3.5mM甲硫氨酸样品中，甲硫氨酸氧化没有显著增加(表13)。因此，就设定可接受标准的目的而言，将3mM甲硫氨酸设定为可接受浓度的下限。

[0506] 表13：AAPH应力研究的胰蛋白酶消化的肽段图谱LC-MS-MS结果

[0507]

	(5 mM met; 无 AAPH)	5mM met ; AAPH	3 mM met; AAPH	3.5 mM met; AAPH
TFMLAK	2.23%	1.63%	2.50%	2.38%
LFHGVSMSER	7.00%	5.60%	7.59%	7.18%
CYLMK	0.84%	0.81%	0.86%	0.80%
FQPYMQEVVPFLAR	1.51%	1.28%	1.51%	1.42%
AIGELDLLFMSLR	6.11%	4.38%	5.88%	5.44%
DTLMISR	3.49%	2.31%	2.96%	3.02%
EPQVYTLPPSQEEMTK	1.28%	0.97%	1.11%	1.00%
WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK	3.09%	1.36%	2.42%	2.23%

[0508] 结论

[0509] 本研究显示，当以10mg/mL配制含有10mM磷酸钠、240mM蔗糖、5mM甲硫氨酸和0.02％聚山梨酯20、pH 7.1的药物组合物时，IL-22Fc融合蛋白是适用的。为了保护IL-22Fc融合蛋白免受搅拌应力影响，浓度在0.01至0.04％的聚山梨酯是合适的。该制剂中的10mg/mL IL-22Fc融合蛋白在-20℃和5℃经6周以及在-20℃冷冻和室温解冻3个循环后是稳定的。

[0510] 实施例2：本发明药物组合物的开发

[0511] 本发明的药物组合物(IL-22Fc融合蛋白，无菌液体，10mg/mL)的描述和组成

[0512] IL-22Fc融合蛋白作为无菌微褐黄色溶液形式提供用于静脉内输注，并且不含防腐剂。每个单次使用，2mL小瓶含有10mg(标称)在目标pH 7.1的IL-22Fc融合蛋白。本发明的药物组合物与表14中给出的组成一起配制成10mg/mL IL-22Fc融合蛋白。

[0513] 表14：IL-22Fc融合蛋白药物组合物的组成

[0514]

成分	浓度	功能
IL-22 Fc 融合蛋白	10.0 mg/mL	活性成份
磷酸氢二钠，无水	10 mM	缓冲剂

[0515]

磷酸二氢钠，一水合物		缓冲剂
甲硫氨酸	5 mM	稳定剂
蔗糖	240 mM	张度剂
聚山梨酯 20	0.02% (w/v)	表面活性剂
注射用水	NA	溶剂

[0516] IL-22Fc融合蛋白药物组合物

[0517] IL-22Fc融合蛋白是药物组合物中唯一的活性成分。制剂中的赋形剂与活性药物之间不存在不相容性，如IL-22Fc融合蛋白和药物组合物稳定性数据所证明的。

[0518] 赋形剂

[0519] 表15包含用于本发明药物组合物的具有相应功能和浓度的赋形剂的列表。

[0520] 表15：赋形剂

[0521]

赋形剂	功能	浓度
磷酸钠	维持溶液 pH 在 7.1 的缓冲液	10 mM
蔗糖	张度剂	240 mM
甲硫氨酸	稳定剂	5 mM
聚山梨酯 20	表面活性剂，防止由于表面吸附造成的损失，以及使可溶性聚集物和/或不溶性蛋白质颗粒的潜在形成最小化	0.02% (w/v)

[0522] 药物制剂开发

[0523] 开发了设计为用于静脉内(IV)输注IL-22Fc融合蛋白的溶液的单次使用的药物制剂。本发明的药物组合物由在10mM磷酸钠、5mM甲硫氨酸、240mM蔗糖、0.02％(w/v)聚山梨酯20、pH 7.1中的10mg/mLIL-22Fc融合蛋白组成。

[0524] 为了选择IL-22Fc融合蛋白的药物制剂，进行了制剂研究，该研究证明IL-22Fc融合蛋白在pH 7.1的含有磷酸钠、甲硫氨酸、蔗糖和聚山梨酯20的溶液中具有可接受的稳定性。基于本研究的结果，药物组合物的制剂定义为在10mM磷酸钠、5mM甲硫氨酸、240mM蔗糖、0.02％(w/v)聚山梨酯20，pH 7.1中的10mg/mL IL-22Fc融合蛋白。

[0525] 过量

[0526] IL-22Fc融合蛋白药物制剂不含任何过量。

[0527] 理化和生物学性质

[0528] 对IL-22Fc融合蛋白进行所有的表征测试。当避光时，组合物在2℃-8℃的推荐储存条件下保持稳定。作为防备措施，使用在线过滤器(0.2μm)进行临床材料的IV施用。

[0529] 监测大小为≥2μm和≥5μm的亚可见颗粒，其作为扩展表征(除了≥10μm和≥25μm(它们是控制策略的一部分)之外)，在开发中通过使用不透光度(light obscuration)方法进行。这些评估将作为扩展表征的一部分在释放时用IL-22Fc融合蛋白药物组合物和对稳定性方面进行。

[0530] 冷冻/解冻稳定性研究结果

[0531] 在-20℃冷冻和在室温解冻三个循环后，监测IL-22Fc融合蛋白参考标准批次的冻/融稳定性。在三次冻/融循环后观察到没有产品质量的变化。

[0532] 微生物属性

[0533] IL-22Fc融合蛋白药物组合物液体制剂不含任何防腐剂。

[0534] 相容性

[0535] 静脉内输注

[0536] 对于IV施用，IL-22Fc融合蛋白药物制剂(10mg/mL)将在用等渗氯化钠溶液(0.9％NaCl)和稀释剂稀释后通过输注施用，所述稀释剂是不含甲硫氨酸的制剂缓冲液(10mM磷酸钠，240mM蔗糖，0.02％[w/v]聚山梨酯20，pH 7.1)。在以下模拟的制备/施用条件下测试活性成分的相容性和稳定性。

[0537] a)用稀释剂稀释IL-22Fc融合蛋白药物制剂临床批次1，和在0.025-0.5mg/mL范围内的盐水袋中稀释，以覆盖临床研究中IV施用的剂量范围。

[0538] b)短期暴露于含有等渗氯化钠溶液的输液袋(袋产品接触表面材料由聚氯乙烯[PVC]和聚烯烃[PO]组成)以用于IV相容性)。

[0539] c)使用具有聚氯乙烯(PVC)、聚乙烯(PE)、聚碳酸酯(PC)和聚醚氨酯(PEU)的产品

接触表面的IV输注管线和输注辅助装置。

[0540] d)使用0.2μm的在线过滤器(聚醚砜[PES]滤膜)进行IV相容性。

[0541] 对于IV施用,在2℃-8℃储存24小时,及在30℃暴露于漫射光下24小时,接着通过输注管线和在线过滤器后,测试盐水袋样品。在盐水袋中的最低浓度,在加入盐水袋中之前,必须用稀释剂预稀释IL-22Fc融合蛋白药物组合物,以确保足够的pH来维持产品稳定性。

[0542] 使用适当的方法测试样品以如下评估产品质量:纯度通过尺寸排阻高效液相色谱(SE-HPLC)和成像毛细管电泳等电聚焦(cIEF)(对于样品≥1mg/mL)、蛋白质浓度(通过紫外线)、通过不透光度测定的亚可见的颗粒、颜色、澄清度/乳光、和pH。一个样品以2mg/mL置于盐水袋中,并通过成像cIEF测定以证明盐水对产品化学稳定性没有负面影响。

[0543] 批配方(IL-22Fc融合蛋白,无菌液体,10mg/mL)

[0544] 与IL-22Fc融合蛋白溶液相比,配制的IL-22Fc融合蛋白药物组合物溶液在浓度和组成方面保持不变,即在药物组合物制备过程中没有进一步的混合或稀释。原料药物组合物的大小为五(5)升。实际的批尺寸会发生变化。表16包含IL-22Fc融合蛋白药物组合物的批制剂信息。

[0545] 表16:IL-22Fc融合蛋白药物组合物的批配方

[0546]

成分	标称量/小瓶	标称量/批
IL-22 Fc 融合蛋白	10.0 mg	50.0 g

[0547]

磷酸氢二钠, 无水	0.93 mg	4.65 g
磷酸二氢钠, 一水合物	0.48 mg	2.40 g
甲硫氨酸	0.75 mg	3.75 g
蔗糖	82.08 mg	410.40 g
聚山梨酯 20	0.2 mg	1.0 g
注射用水	适量至 1 mL	适量至 5 L

适量(q.s.)=适合的量(根据需要)

[0548] 实施例3:IL-22Fc融合蛋白的扩展稳定性测试

[0549] IL-22Fc融合蛋白临床批次2和参考标准批次的扩展稳定性测试

[0550] 方法和接受标准

[0551] 使用表17中列出的测试方法分析所有样品,使用表18中提供的方案在指定的时间间隔评估代表性的稳定性。

[0552] 表17:评估IL-22Fc融合蛋白稳定性的测试方法

[0553]

分析方法	在-20°C 进行的 GMP 研究的接受标准
颜色(欧洲药典比色)[a]	色度不超过 BY5
透明度/乳光[b]	≤ Ref III
pH	7.1 ± 0.3
SE-HPLC 纯度	
主峰(面积%)	≥ 95.0
HMW 形式之和(面积%)	≤5.0[c]
LMW 形式之和(面积%)	报告
CE-SDS-NGS 纯度	
主峰(非还原) (% CPA)	≥ 85.0
前峰的和(非还原) (% CPA)	≤15.0[c]
后峰的和(非还原) (% CPA)	报告
成像 cIEF 的纯度	
主峰(面积%)	≥ 42.9
酸性区域(面积%)	≤55.6[c]
碱性区域(面积%)	≤20.8[c]
通过结合测定的效力(%相对效力)[d]	40 – 130
通过 UV Spec Scan 测定的蛋白质含量(mg/mL)	10.0 ± 1.0

[0554] 注意:除非另有说明,在代表性和支持性稳定性研究中均使用相同的测试方法。

[0555] CE-SDS-NGS=毛细管电泳十二烷基硫酸钠无胶筛分;cIEF=毛细管等电聚焦;CPA=校正峰面积;HMW=高分子量;LMW=低分子量;SE-HPLC=尺寸排阻高效液相色谱;UV Spec Scan=紫外可见分光光度扫描。

[0556] [a]使用光谱方法评价如实施例1所述的参考标准批次的稳定性研究中的颜色。

[0557] [b]使用颜色、外观和透明度(CAC)测定法来评价参考标准批次的稳定性研究中的外观和透明度。

[0558] [c]自24个月时间点以来观察到没有。24个月前的时间点用"报告"测试。

[0559] [d]%相对效力报告为相对于参考标准的活性,参考标准被指定100%的相对效力。

[0560] 表18:IL-22Fc融合蛋白稳定性研究的稳定性方案

[0561]

储存温度	温度条件	时间点(天/月)												
-20°C	计划储存条件	0	—	—	91/3	183/6	274/9	365/12	548/18	730/24	913/30	1096/36	1461/48	1826/60[a]
5°C	加速条件	0	30/1	61/2	91/3	183/6	—	—	—	—		—	—	—

[0562] 注意:在每个时间点测试表17中列出的所有分析方法。

[0563] [a]任选时间点;如果在进一步的开发过程中需要60个月的储存期,则将仅分析60个月的时间点.

[0564] 结果

[0565] 如上所述在-20℃和5℃进行的来自临床批次2和参考标准批次的IL-22Fc融合蛋白的扩展稳定性测试的结果示于表19和表20中。

[0566]

表 19: IL-22 Fc 融合蛋白临床批次 2 的稳定性数据

温度 (°C)	时间 (天/月)	COC		pH	强度 (mg/mL)	成像 cIEF			SE-HPLC		
		透明度/乳光	颜色			酸性区域 (面积%)	主峰 (面积%)	碱性区域 (面积%)	HMW 形式之和 (面积%)	主峰 (面积%)	LMW 形式之和 (面积%)
NA	T = 0/0	≤ Ref I	≤ BY6	7.1	10.1	37.9	56.3	5.8	0.2	99.7	0.1
−20°C	91/3	≤ Ref I	≤ BY6	7.1	10.0	37.3	56.4	6.3	0.1	99.7	0.1
−20°C	183/6	≤ Ref I	≤ BY7	7.1	10.2	38.1	55.8	6.1	0.2	99.7	0.1
−20°C	274/9	≤ Ref I	≤ BY6	7.1	10.0	36.2	57.5	6.3	0.2	99.6	0.2
−20°C	365/12	≤ Ref I	≤ BY6	7.1	10.0	39.2	54.1	6.7	0.2	99.7	0.1
−20°C	548/18	≤ Ref I	≤ BY6	7.1	10.2	38.1	55.7	6.2	0.2	99.7	0.1
−20°C	730/24	≤ Ref I	≤ BY6	7.1	10.2	36.7	56.8	6.5	0.2	99.7	0.1
−20°C	913/30	≤ Ref I	≤ BY6	7.1	10.0	38.2	56.0	5.8	0.2	99.7	0.1
−20°C	1096/36	≤ Ref I	≤ BY6	7.0	10.0	38.7	54.7	6.6	0.1	99.8	0.1
−20°C	1461/48	≤ Ref I	≤ BY6	7.0	10.1	39.4	55.4	5.2	0.2	99.7	0.1
5°C	30/1	≤ Ref I	≤ BY6	7.1	10.1	38.3	55.5	6.2	0.2	99.7	0.1
5°C	61/2	≤ Ref I	≤ BY6	7.1	10.0	37.5	56.1	6.4	0.3	99.6	0.1
5°C	91/3	≤ Ref I	≤ BY6	7.1	10.0	38.1	55.6	6.3	0.3	99.6	0.1
5°C	183/6	≤ Ref I	≤ BY7	7.1	10.0	39.3	54.7	6.0	0.4	99.5	0.1

[0567]

表 19: IL-22 Fc 融合蛋白临床批次 2 的稳定性数据(续)

温度		CE-SDS-NGS (未还原)			
(°C)	时间(天/月)	前峰之和 (% CPA)	主峰 (% CPA)	后峰之和 (% CPA)	通过结合测定的效力 (%相对效力)[a]
NA	T = 0/0	2.9	96.9	0.2	71
– 20°C	91/3	2.9	97.0	0.1	72
– 20°C	183/6	2.9	97.0	0.1	73
– 20°C	274/9	2.9	97.0	0.1	68
– 20°C	365/12	3.0	97.0	0.1	69
– 20°C	548/18	2.9	97.0	0.1	70
– 20°C	730/24	3.0	97.0	0.1	70
– 20°C	913/30	2.9	97.0	0.1	70
– 20°C	1096/36	3.0	96.9	0.1	71
– 20°C	1461/48	3.0	96.9	0.1	72
5°C	30/1	2.9	96.9	0.2	73
5°C	61/2	2.9	96.9	0.2	75
5°C	91/3	2.9	96.9	0.2	73
5°C	183/6	3.0	96.8	0.2	71

CE-SDS-NGS = 毛细管电泳十二烷基硫酸钠无胶筛分; cIEF = 毛细管等电聚焦; COC = 颜色, 乳光和透明度; CPA = 校正峰面积; HMW = 高分子量; NA = 不适用; SE-HPLC = 尺寸排阻高效液相色谱; LMW = 低分子量; UV Spec Scan = 紫外可见分光光度扫描。

[a] %相对效力报告为相对于参考标准的活性, 参考标准被指定为 100%的相对效力。

[0568]

表 20: IL-22 Fc 融合蛋白参考标准批次的稳定性数据

温度 (°C)	时间 (天/月)	外观和透明度	颜色	pH	强度 (mg/mL)	成像 cIEF			SE-HPLC		
						碱性区					
						酸性区域 (面积%)	主峰(面积 %)	域(面积 %)	HMW 形式之和(面积%)	主峰(面积 %)	LMW 形式之和(面积%)
NA	T = 0/0	CL, LIQ	≤ B7	7.1	10.3	42.4	52.5	5.1	0.5	99.4	0.1
− 20°C	30/1	CL, LIQ	≤ B6	7.1	10.3	42.0	52.7	5.3	0.4	99.5	0.1
− 20°C	61/2	CL, LIQ	≤ B7	7.1	10.4	41.0	53.2	5.8	0.4	99.5	0.2
− 20°C	91/3	CL, LIQ	≤ B7	7.1	10.3	40.8	53.7	5.6	0.4	99.5	0.2
− 20°C	183/6	CL, LIQ	≤ B6	7.1	10.7	40.8	53.8	5.5	0.4	99.5	0.1
− 20°C	365/12	CL, LIQ	≤ B7	7.1	10.8	39.5	54.4	6.1	0.4	99.5	0.1
− 20°C	548/18	CL, LIQ	≤ B7	7.1	10.6	41.7	53.0	5.3	0.4	99.5	0.2
− 20°C	730/24	CL, LIQ	≤ B7	7.1	10.6	41.7	52.4	5.9	0.4	99.5	0.1
− 20°C	913/30	CL, LIQ	≤ B7	7.1	10.2	45.1	50.2	4.8	0.4	99.3	0.2
− 20°C	1096/36	CL, LIQ	≤ B7	7.1	10.5	44.1	51.2	4.7	0.4	99.4	0.2
− 20°C	1461/48	CL, LIQ	≤ B7	7.1	10.5	42.7	51.9	5.4	0.3	99.5	0.2
− 20°C	1825/60	CL, LIQ	≤ B6	7.1	10.8	41.1	53.4	5.5	0.3	99.5	0.1
5°C	30/1	CL, LIQ	≤ B6	7.1	10.0	42.3	52.5	5.2	0.4	99.4	0.2
5°C	61/2	CL, LIQ	≤ B7	7.1	10.4	42.0	52.3	5.7	0.5	99.4	0.2
5°C	91/3	CL, LIQ	≤ B7	7.1	10.4	42.0	52.4	5.6	0.5	99.3	0.2
5°C	183/6	CL, LIQ	≤ B6	7.1	11.0	42.2	51.8	6.0	0.6	99.3	0.1

[0569]

表 20: IL-22 Fc 融合蛋白参考标准批次的稳定性数据(续)

温度(°C)	时间 (天/月)	CE-SDS-NGS (非还原) 前峰之和 (% CPA)	主峰 (% CPA)	后峰之和 (% CPA)	通过结合测定的效力 (%相对效力)[a]
NA	T = 0/0	3.0	96.6	0.4	108
− 20°C	30/1	2.9	96.8	0.3	NR
− 20°C	61/2	NR	NR	NR	NR
− 20°C	91/3	3.0	96.7	0.3	104
− 20°C	183/6	3.2	96.3	0.4	112
− 20°C	365/12	3.2	96.6	0.3	91
− 20°C	548/18	3.2	96.4	0.4	101
− 20°C	730/24	2.8	96.9	0.3	97
− 20°C	913/30	3.4	96.4	0.3	NR
− 20°C	1096/36	3.3	96.4	0.3	107
− 20°C	1461/48	3.1	96.7	0.2	93
− 20°C	1825/60	3.0	96.5	0.4	99
5°C	30/1	3.0	96.7	0.3	NR
5°C	61/2	NR	NR	NR	NR
5°C	91/3	3.0	96.6	0.4	105
5°C	183/6	3.1	96.7	0. 2	98

CE-SDS-NGS = 毛细管电泳十二烷基硫酸钠无胶筛分; cIEF = 毛细管等电聚焦; CL = 澄清; CPA = 校正峰面积; HMW = 高分子量; LIQ = 液体; LMW = 低分子量; NA=不适用; NR = 不需要; SE-HPLC = 尺寸排阻高效液相色谱。

[a] %相对效力报告为相对于参考标准的活性，参考标准被指定为 100%的相对效力。

[0570] 储存期和推荐储存

[0571] IL-22Fc融合蛋白的推荐储存条件是≤-20℃。在-20℃储存长达48个月,在5℃储

存长达6个月，观察到蛋白质浓度、pH、颜色、透明度、效力、尺寸排阻色谱法(SEC)、成像毛细管等电聚焦(icIEF)和非还原(NR)毛细管电泳-十二烷基硫酸钠(CE-SDS)没有显著变化(表20)。本文提供的稳定性测试结果证明IL-22Fc融合蛋白在-20℃在48个月是稳定的。这些数据支持在-20℃的储存期为60个月或更长。另外，IL-22Fc融合蛋白可以在5℃储存长达一个月。

[0572] 将IL-22Fc融合蛋白储存在50-cc生物处理袋中，在-20℃冷冻和环境温度解冻三个循环后监测冻融稳定性。将生物处理袋在1、2和3个月时间点解冻，使得3个月的数据代表三个冻/融循环。在-20℃冷冻和在环境温度解冻3个循环后观察到没有蛋白质浓度、pH、颜色、透明度、效力、SEC、icIEF和CE-SDS的显著变化。因此，IL-22Fc融合蛋白可以在-20℃冷冻并解冻至少三个循环。

[0573] IL-22Fc融合蛋白临床批次1和参考标准批次的扩展稳定性测试

[0574] IL-22Fc融合蛋白的药物组合物是液体制剂，以单次使用的2mL USP/Ph.Eur.玻璃I型小瓶提供，含有10mg(标称)IL-22Fc融合蛋白。本发明的药物制剂配制为在10mM磷酸钠、5mM甲硫氨酸、240mM蔗糖、0.02％(w/v)聚山梨酯20中、pH 7.1中的10mg IL-22Fc融合蛋白。

[0575] 药物组合物稳定性研究由IL-22Fc融合蛋白临床批次1开始，另外，代表性IL-22Fc融合蛋白药物组合物稳定性研究由参考标准批次(表21)开始。在5℃和25℃监测这两个批次的稳定性。

[0576] 在5℃±3℃测试长期储存，并且在25℃±2℃(60％相对湿度[RH]±5％RH)进行加速稳定性研究。在下文中，温度分别表示为5℃和25℃。

[0577] 方法和接受标准

[0578] 使用表21中列出的测试方法分析所有样品，使用表22和表23中提供的方案在指定的时间间隔评估代表性的稳定性。

[0579] 表21:评估IL-22Fc融合蛋白药物制剂稳定性的测试方法

[0580]

分析方法	在 5°C 进行的 GMP 研究的接受标准
颜色(欧洲药典比色)[a]	色度不超过 BY5
透明度/乳光 [b]	≤ Ref. III
可见颗粒	几乎不含颗粒
亚可见颗粒(不透光度)	
每个容器≥10μm 的颗粒	≤ 6000
每个容器≥25μm 的颗粒	≤ 600
pH	7.1 ± 0.3
SE-HPLC 纯度	
主峰(面积%)	≥ 95.0
HMW 形式之和(面积%)	≤ 5.0[e]
LMW 形式之和(面积%)	报告
CE-SDS-NGS 纯度	
主峰(非还原) (%CPA)	≥ 85.0
LMW 形式之和(前峰) (非还原) (%CPA)	≤ 15.0[e]
HMW 形式之和(后峰) (非还原) (%CPA)	报告
成像 cIEF 的纯度	
主峰(面积%)	≥ 40.8
酸性区域(面积%)	≤ 55.6[e]
碱性区域(面积%)	≤ 20.8[e]
通过 UV Spec Scan 测定的蛋白质含量(mg/mL)	10.0 ± 1.0
通过生物测定得到的效力(%相对效力)[c]	40– 130
通过 Dye Leak Test 测定的容器封闭完整性 [d]	无检测到的漏泄

[0581] 缩写:CE-SDS-NGS=毛细管电泳十二烷基硫酸钠无胶筛分;cIEF=毛细管等电聚焦;CPA=校正峰面积;HMW=高分子量;LMW=低分子量;UV Spec Scan=紫外可见分光光度扫描。

[0582] [a]采用光谱方法评价参考标准批次的稳定性研究中的颜色。

[0583] [b]CAC(颜色、外观和透明度)测定用于评价参考标准批次的稳定性研究中的外观和透明度。

[0584] [c]%相对效力报告为相对于参考标准的活性,参考标准被指定为100%的相对效力。

[0585] [d]测定不用于参考标准批次的稳定性研究。

[0586] [e]自18个月时间点以来,对于稳定性方案,已经应用了定量接受标准。用"报告"测试18个月前的时间点。

[0587] 表22:IL-22Fc融合蛋白药物制剂稳定性的稳定性方案

[0588] 研究-研究条件:5℃

[0589]

分析方法	时间间隔(天/月)[a] 0	30/1	91/3	183/6	274/9	365/12	548/18	730/24	913/30	1096/36	1278/42
颜色	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
透明度/乳光	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
可见颗粒	X	NR	NR	X	NR	X	X	X	X	X	X
亚可见颗粒	X	NR	NR	X	NR	X	NR	X	NR	X	X
pH	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
SE-HPLC 纯度	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
CE-SDS-NGS 纯度	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
成像 cIEF 的纯度	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
蛋白质含量	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
效力	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
容器封闭完整性	NR	NR	NR	NR	NR	X	NR	X	NR	X	X

[0590] 注意:在以倒置取向储存的小瓶上进行研究。

[0591] 缩写:CE-SDS-NGS=毛细管电泳十二烷基硫酸钠无胶筛分;cIEF=毛细管等电聚焦;NR=不需要;SE-HPLC=尺寸排阻高效液相色谱。

[0592] [a]只要样品满足规格就进行测试。

[0593] 表23:IL-22Fc融合蛋白药物制剂稳定性的方案

[0594] 研究-研究条件:25℃

[0595]

分析方法	时间间隔(天/月)[a] 0	30/1	61/2	91/3	183/6
颜色	X	X	X	X	X
透明度/乳光	X	X	X	X	X
pH	X	X	X	X	X
SE-HPLC 纯度	X	X	X	X	X
CE-SDS-NGS 纯度	X	X	X	X	X
成像 cIEF 的纯度	X	X	X	X	X
蛋白质含量	X	X	X	X	X
效力	X	X	X	X	X

[0596] Note:在以倒置取向储存的小瓶上进行研究。

[0597] 缩写:CE-SDS-NGS=毛细管电泳十二烷基硫酸钠无胶筛分;cIEF=毛细管等电聚焦;SE-HPLC=尺寸排阻高效液相色谱。

[0598] [a]只要样品满足规格就进行测试.

[0599] 结果

[0600] 表24和表25中呈现了如上所述在-20℃和5℃进行的来自临床批次1和参考标准批次的IL-22Fc融合蛋白的扩展稳定性测试的结果。

[0601] 初步IL-22Fc融合蛋白药物组合物稳定性数据显示与在支持性稳定性研究中观察到的那些相似的趋势。稳定性数据支持了IL-22Fc融合蛋白药物组合物在5℃的有效期为42个月(36个月实时数据加6个月临时日期)。

[0602] 支持性稳定性研究的结果表明，在36个月时通过SE-HPLC观察到主峰百分比降低0.7，主要是二聚体浓度增加。通过iCIEF观察到主峰百分比降低5，主要是酸性的峰增加。通过其它方法没有观察到在5℃储存长达36个月时IL-22Fc融合蛋白药物组合物的变化。在25℃储存长达一个月时，没有观察到IL-22Fc融合蛋白药物组合物的变化。在25℃储存六个月后，观察到IL-22Fc融合蛋白药物组合物的变化。成像的cIEF证实了主峰百分比降低17.6，主要是酸性的峰百分比增加18.3。通过SE HPLC观察到主峰百分比降低1.3，主要是较高分子量物质(HMWS)百分比增加1.2。通过非还原CE-SDS观察到主峰百分比降低2.7，主要是前峰总和的校正峰面积(%CPA)增加2.1％。在25℃储存6个月后观察到29％相对效力的损失，而在25℃储存三个月后观察到没有效力的变化。在25℃6个月的其余测定法中没有观察到变化。

[0603]

表 24: IL-22 Fc 融合蛋白药物组合物临床批次 1 的稳定性数据

温度 (°C)	时间 (天/月)	颜色	透明度/乳光	pH	蛋白质浓度 (mg/mL)	成像 cIEF			SE-HPLC	
						酸性区域 (面积%)	主峰 (面积%)	碱性区域 (面积%)	HMW 形式之和 (面积%)	主峰 (面积%)
NA	T = 0/0	≤BY6	≤Ref I	7.1	9.9	38.5	55.3	6.2	0.4	99.5
5°C	91/3	≤BY6	≤Ref I	NR	9.9	38.7	55.1	6.2	0.5	99.4
5°C	183/6	≤BY6	≤Ref I	7.1	10.0	39.4	54.7	5.9	0.5	99.3
5°C	274/9	≤BY7	≤Ref I	NR	9.9	40.7	53.5	5.8	0.5	99.3
5°C	365/12	≤BY6	≤Ref I	7.1	9.9	40.5	53.5	6.0	0.6	99.3
5°C	548/18	≤BY7	≤Ref I	7.1	10.0	41.1	52.9	6.0	0.6	99.3
5°C	730/24	≤BY7	≤Ref I	7.1	10.0	42.0	52.0	6.0	0.6	99.2
5°C	913/30	≤BY7	≤Ref I	7.0	10.0	44.2	50.3	5.5	0.7	99.2
5°C	1096/36	≤BY7	≤Ref I	7.0	10.0	42.5	51.2	6.3	0.6	99.3
5°C	1278/42	≤BY6	≤Ref I	7.1	9.9	43.7	50.9	5.4	0.7	99.1
5°C	1461/48	≤BY7	≤Ref I	7.0	10.0	47.9	47.3	4.8	0.8	99.1
25°C	30/1	≤BY6	≤Ref I	7.1	9.9	42.1	52.0	5.9	0.5	99.3
25°C	61/2	≤BY7	≤Ref I	7.1	9.9	45.3	49.0	5.7	0.6	99.3
25°C	91/3	≤BY7	≤Ref I	7.1	9.9	50.1	44.8	5.1	0.8	99.0
25°C	183/6	≤BY6	≤Ref I	7.1	9.9	58.2	37.7	4.1	1.3	98.3

[0604]

表 24: IL-22 Fc 融合蛋白药物组合物临床批次 1 的稳定性数据(续)

温度	时间	CE-SDS-NGS (非还原)		效力		亚可见颗粒 (每个容器颗粒)		容器封闭完整性
		LMW 形式之和(前峰) (%CPA)	主峰 (%CPA)	(% 相对效力)	可见颗粒	10 μm	25 μm	
NA	T = 0/0	3.0	96.7	73	PFFP	2	0	NR
5°C	91/3	3.0	96.7	73	NR	NR	NR	NR
5°C	183/6	3.0	96.7	64	PFFP	18	0	NR
5°C	274/9	3.1	96.5	63	NR	NR	NR	NR
5°C	365/12	3.2	96.4	67	PFFP	14	0	NLD
5°C	548/18	3.2	96.4	64	PFFP	NR	NR	NR
5°C	730/24	3.3	96.3	66	PFFP	51	1	NLD
5°C	913/30	3.2	96.3	65	PFFP	NR	NR	NR
5°C	1096/36	3.5	96.1	67	PFFP	63	1	NLD
5°C	1278/42	3.5	96.1	59	PFFP	7	0	NLD
5°C	1461/48	3.6	95.9	65	PFFP	7	0	NLD
25°C	30/1	3.4	96.3	68	NR	NR	NR	NR
25°C	61/2	3.7	96.0	60	NR	NR	NR	NR
25°C	91/3	4.0	95.6	57	NR	NR	NR	NR
25°C	183/6	5.1	94.2	47	NR	NR	NR	NR

缩写: CE-SDS-NGS = 毛细管电泳法 – 十二烷硫酸钠 – 无胶筛分; cIEF = 毛细管等电聚焦; HC = 重链; HMW = 高分子量; LC = 轻链; LMW = 低分子量; NR = 未报告; NLD = 未检测到泄漏; PFFP = 几乎不含颗粒; SE-HPLC = 尺寸排阻高效液相色谱; UV = 紫外可见分光光度法; %CPA = 校正峰面积百分比.

[0605]

表 25: IL-22 Fc 融合蛋白药物组合物参考标准批次的稳定性数据

温度 (°C)	时间 (天/月)	外观和透明度 颜色	外观和透明度	pH	蛋白质含量 (mg/mL)	成像 cIEF 酸性区域 (面积%)	成像 cIEF 主峰 (面积%)	成像 cIEF 碱性区域 (面积%)	SE-HPLC HMW 形式之和 (面积%)	SE-HPLC 主峰 (面积%)	SE-HPLC LMW 形式之和 (面积%)
N/A	T = 0/0	≤ B7	CL,LIQ	7.1	10.3	42.4	52.5	5.1	0.5	99.4	0.1
5	30/1	≤ B6	CL,LIQ	7.1	10.3	42.5	52.1	5.4	0.5	99.3	0.2
5	61/2	≤ B7	CL,LIQ	7.1	10.2	42.6	51.7	5.7	0.6	99.2	0.2
5	91/3	≤ B7	CL,LIQ	7.1	10.5	41.7	52.7	5.6	0.6	99.3	0.2
5	183/6	≤ B7	CL,LIQ	7.1	10.9	41.7	52.8	5.5	0.6	99.3	0.1
5	365/12	≤ B7	CL,LIQ	7.1	10.6	43.0	51.3	5.7	0.7	99.1	0.2
5	548/18	≤ B7	CL,LIQ	7.1	10.4	43.7	51.2	5.1	0.8	99.0	0.2
5	730/24	≤ B7	CL,LIQ	7.1	10.4	44.2	50.1	5.8	0.9	98.9	0.3
5	913/30	≤ B7	CL,LIQ	7.1	10.5	48.0	47.3	4.7	0.9	98.8	0.2
5	1096/36	≤ B7	CL,LIQ	7.1	10.4	48.3	47.1	4.6	1.0	98.7	0.3
5	1278/42	≤ B7	CL,LIQ	7.1	10.6	48.4	46.9	4.7	0.8	99.0	0.2
5	1460/48	≤ B7	CL,LIQ	7.1	10.5	48.9	46.3	4.8	0.9	98.9	0.2
25	30/1	≤ B6	CL,LIQ	7.1	10.0	45.1	49.6	5.3	0.7	99.1	0.2
25	61/2	≤ B7	CL,LIQ	7.1	10.3	48.6	46.1	5.3	0.7	99.1	0.2
25	91/3	≤ B7	CL,LIQ	7.1	10.1	52.0	43.1	4.9	0.9	98.9	0.2
25	183/6	≤ B7	CL,LIQ	7.1	10.7	60.7	34.9	4.4	1.7	98.1	0.3

[0606]

表 25: IL-22 Fc 融合蛋白药物组合物参考标准批次的稳定性数据(续)

温度 (°C)	时间 (天/月)	CE-SDS-NGS (非还原) 前峰之和 (% CPA)	主峰(% CPA)	后峰之和 (% CPA)	效力(%相对效力)	可见颗粒	亚可见颗粒(颗粒/mL) 10 μm	25 μm
NA	T = 0/0	3.0	96.6	0.4	101	PFFP	40	2
5	30/1	3.0	96.6	0.5	NR	PFFP	39	2
5	61/2	NR	NR	NR	NR	PFFP	NR	NR
5	91/3	3.1	96.5	0.4	104	PFFP	39	4
5	183/6	3.2	96.3	0.4	100	PFFP	50	2
5	180/12	3.4	96.2	0.5	86	PFFP	21	1
5	548/18	3.5	95.9	0.6	93	PFFP	6	1
5	730/24	3.0	96.3	0.7	83	PFFP	8	1
5	913/30	3.8	95.6	0.6	NR	PFFP	13	1
5	1096/36	4.6	94.8	0.6	99	PFFP	6	0
5	1278/42	3.7	95.7	0.6	87	PFFP	4	0
5	1460/48	3.8	95.5	0.8	91	PFFP	2	0
25	30/1	3.2	96.3	0.4	NR	PFFP	40	2
25	61/2	NR	NR	NR	NR	PFFP	NR	NR
25	91/3	3.9	95.3	0.8	95	PFFP	29	2
25	183/6	5.1	93.9	1.0	72	PFFP	76	21

缩写: CE-SDS-NGS = 毛细管电泳十二烷基硫酸钠无胶筛分; cIEF = 毛细管等电聚焦; CL = 澄清; CPA = 校正峰面积; HMW = 高分子量; LIQ = 液体; LMW = 低分子量; NR = 不需要; PFFP = 几乎不含颗粒; SE-HPLC = 尺寸排阻高效液相色谱.

[0607] IL-22Fc融合蛋白临床批次3和参考标准批次的对比应力稳定性测试

[0608] 使用IL-22Fc融合蛋白参考标准批次和临床批次3建立IL-22Fc融合蛋白参考标准

批次药物组合物和临床药物组合物之间的可比性(表26)。将这两批材料手工装入2mL玻璃瓶中,填充体积为1mL。然后在40℃的应力条件下评估这些材料。

[0609]

表 26: IL-22 Fc 融合蛋白药物组合物参考标准批次和临床批次 3 的比较应力稳定性数据

温度 (40°C)	时间 (天)	颜色	外观和透明度	pH	蛋白质含量 (mg/mL)	成像 cIEF 酸性区域 (面积%)	成像 cIEF 主峰 (面积%)	成像 cIEF 碱性区域 (面积%)	SE-HPLC HMW 形式之和(面积%)	SE-HPLC 主峰 (面积%)	SE-HPLC LMW 形式之和(面积%)
参考标准批次	0	≤B7	CL,LIQ	7.1	10.3	42.6	52.2	5.2	0.7	99.2	0.1
	5	≤B6	CL,LIQ	7.1	10.9	45.9	48.9	5.2	1.3	98.5	0.2
	10	≤B7	CL,LIQ	7.1	10.9	52.2	42.5	5.3	2.6	97.1	0.3
	14	≤B6	CL,LIQ	7.1	10.9	58.3	37.1	4.5	4.4	95.3	0.3
临床批次 3	0	≤B7	CL,LIQ	7.1	10.6	36.9	56.7	6.5	0.3	99.6	0.1
	5	≤B7	CL,LIQ	7.1	10.2	41.7	52.2	6.1	0.7	99.2	0.1
	10	≤B7	CL,LIQ	7.1	10.3	47.9	46.3	5.7	1.3	98.5	0.2
	14	≤B7	CL,LIQ	7.1	10.3	54.6	40.7	4.7	2.3	97.5	0.3

[0610] 表26:IL-22Fc融合蛋白药物组合物参考标准批次和临床批次3的比较应力稳定性数据(续)

[0611]

		CE-SDS-NGS (非还原)				
温度 (40°C)	时间 (天)	前峰之和(% CPA)	主峰 (% CPA)	后峰之和(% CPA)	效力(% 相对效力)	可见颗粒
参考标准批次	0	3.2	96.3	0.5	104	PFFP
	5	3.8	95.7	0.6	80	PFFP
	10	4.3	94.8	0.9	84	PFFP
	14	4.7	94.3	1.0	71	PFFP
临床批次 3	0	2.9	96.9	0.2	85	PFFP
	5	3.4	96.2	0.3	80	PFFP
	10	3.9	95.6	0.5	65	PFFP
	14	4.3	94.9	0.8	57	PFFP

[0612] 缩写:CE-SDS-NGS=毛细管电泳十二烷基硫酸钠无胶筛分;cIEF=毛细管等电聚焦;CL=澄清;CPA=校正峰面积;HMW=高分子量;LIQ=液体;LMW=低分子量;NR=不需要;PFFP=几乎不含颗粒;SE-HPLC=尺寸排阻高效液相色谱.

[0613] 结果

[0614] 本研究的结果证明了两种材料的降解速率是相当的,其基于:在40℃储存两周后通过尺寸排阻高效液相色谱(SE HPLC)测定的主峰降低2-4%,通过成像毛细管等电聚焦(cIEF)测定的主峰降低15-16%,通过毛细管电泳十二烷基硫酸钠-无胶筛分(CE SDS-NGS)测定的主峰降低2%,且相对效力降低28-33%。此外,各色谱图是相当的,并且当与在40℃储存两周后的开发批次相比时,在临床批次中没有观察到新的峰。基于所提供的数据IL-22Fc融合蛋白参考标准品和临床药物组合物批次具有相当的稳定性。因此,使用来自参考标准批次的稳定性数据来指定临床药物组合物的储存期。

[0615] 储存期和推荐储存

[0616] IL-22Fc融合蛋白药物组合物的推荐储存条件是5℃±3℃,避光。基于可用的稳定性数据,储存期将被延长。IL-22Fc融合蛋白药物组合物在5℃±3℃经36个月是稳定的。基于可获得的数据,如果存储在在5℃±3℃下避光储存,IL-22Fc融合蛋白药物组合物的初始储存期目前设定为42个月。

[0617] 分析方法验证的结果

[0618] 表27显示了分析方法验证的结果。

[0619] 表27:分析方法的验证

[0620]

分析方法	验证参数和结果	
颜色	如 Ph. Eur./USP 中推荐进行分析方法，无验证	
透明度/乳光	如 Ph. Eur.中推荐进行分析方法，无验证	
pH	如 Ph. Eur./USP 中推荐进行分析方法，无验证	
渗克分子浓度	如 Ph. Eur./USP 中推荐进行分析方法，无验证	
HPLC-ELSD 聚山梨酯 20 含量	显示特异性。	
	精确度：回收：	109% – 119%
	线性：	R = 1.00
	可重复性：	RSD = 2%
	范围：	0.1 – 0.3 mg/mL
甲硫氨酸含量	显示特异性	
	精确度：回收	95% – 105%
	线性	R =1.00
	可重复性：	RSD ≤ 1%
	范围：	2.5 – 7.5 mM
RP-HPLC 唾液酸定量	显示特异性	
	精确度：	96.5% – 104.6%
	线性：	R = 1.00
	可重复性	RSD ≤ 3.7%
	中间精密度：	RSD = 4.8%
	范围	5 – 50 μg/mL
MALDI-TOF PMF 鉴定 IL-22 Fc 融合蛋白	显示特异性和稳健性	

[0621]

SE-HPLC 纯度	显示特异性。	
	主峰	
	精确度:	
	蛋白负载:	99.6% – 106.5%
	混合:	100%
	线性:	R = 1.00
	可重复性:	RSD ≤ 0.2%
	HMW 形式之和	
	精确度:	
	蛋白负载:	99.8% – 114.4 %
	混合:	99 – 100%
	线性:	R = 1.00
	可重复性:	RSD ≤ 3.8%
	范围 (蛋白质浓度):	50% – 150%
非还原 CE-SDS-NGS 纯度	显示特异性。	
	主峰	
	精确度: 回收:	100%
	线性:	R = 1.00
	可重复性:	
	迁移时间:	RSD = 0.1%
	%CPA:	RSD ≤ 0.04%
	范围(蛋白质浓度):	50%–150%
ICIEF 纯度	显示特异性。	
	主峰	
	精确度: 回收:	100.0%–101.8%
	线性:	R = 1.00
	可重复性:	RSD ≤ 1.8%
	酸性区域	
	精确度: 回收:	99.2%–100.1%
	线性:	R = 1.00
	可重复性:	RSD ≤ 0.6%
	碱性区域	
	精确度: 回收:	94.2%–114.6%
	线性:	R = 1.00
	可重复性:	RSD ≤ 2.3%
	范围 (蛋白质浓度):	50%–150%

[0622]

生物负载	如 Ph. Eur./USP 中推荐进行分析方法，方法适合性试验标准得到满足。	
细菌内毒素	如 Ph. Eur./USP 中推荐进行分析方法，方法适合性试验标准得到满足。 作为补充试验，对药物物质和药物产品进行内毒素回收研究。没有观察到掩蔽效应。	
通过结合测定的效力	精确度: 可重复性: 线性: 范围:	101% – 107% RSD ≤ 2% R = 1.00 10% – 150%
UV 蛋白质浓度	该方法已经被整体上验证用于多产物用途并且适合于测试 IL-22 Fc 融合蛋白	
宿主细胞蛋白质含量	显示特异性。 精确度: 回收: 可重复性(RSD) QL: DL: 范围:	 102% – 127% 4%–5% (内部测定); 3%–5% (批间测定) 3.82 ng/mL 1.26 ng/mL 5–320 ng/mL
DNA 含量	显示特异性。 精确度: 回收: 线性: 可重复性 (RSD): QL: DL: 范围:	 98%–143% $R^2 > 0.98$ < 25% (内部测定); < 27% (批间测定) 1 pg/mL ND 1–10,000 pg/mL
蛋白 A	显示特异性。 精确度: 回收: 可重复性 (RSD) QL: DL: 范围:	 93%–115% 1%–7% (内部测定) 0.5 ng/mL ND 0.5–16 ng/mL

[0623]

啮齿类细小病毒 PCR	显示特异性。	
	DL:	
	MMV	1 $TCID_{50}$/mL
支原体检测培养方法和指示细胞/DNAF 方法	显示特异性。	
	培养方法 DL:	
	口腔支原体(M. orale)	10 CFU/mL
	猪鼻支原体(M. hyorhinis)	10 CFU/mL
	DNAF/指示细胞方法 DL:	
	口腔支原体	100 MPN/mL
	猪鼻支原体	100 MPN/mL
钩端螺旋体(PHCCF 的测试)	显示特异性。	
	DL:	
	L. licerasiae	7 细胞/mL
通用病毒筛选	显示特异性。	
	DL:	
	EMCV	10 $TCID_{50}$/mL
	PI-2	20 $TCID_{50}$/mL
啮齿类细小病毒的 324K 测定	显示特异性。	
	DL:	
	MMV	1000 $TCID_{50}$/mL

[0624] 缩写:CE-SDS-NGS＝毛细管电泳十二烷硫酸钠-无胶筛分;CFU＝菌落形成单位;CPA＝校正峰面积;DL＝检出限;DNAF＝DNA结合荧光染料;EMCV＝脑心肌炎病毒;HMW＝高分子量;HPLC-ELSD＝高效液相色谱蒸发光散射检测;ICIEF＝成像的毛细管电泳法等电聚焦;MALDI-TOF PMF＝基质辅助激光解吸/电离飞行时间肽质量指纹图谱;MMV＝鼠细小病毒;MPN＝最可能数;ND＝未检测到;PCR＝聚合酶链式反应;PHCCF＝收获前的细胞培养液;PI-2＝副流感病毒2型;QL＝定量限;R＝相关系数;RP-HPLC＝反相高效液相色谱;RSD＝相对标准偏差;SE-HPLC＝尺寸排阻高效液相色谱;$TCID_{50}$＝半数组织培养感染量;UV＝紫外线;Ph.Eur.＝欧洲药典;USP＝美国药典。

[0625] 其他实施方案

[0626] 本文所述的技术的一些实施方案可根据以下编号的实施例中的任一个来定义:

[0627] 1.包含白介素(IL)-22Fc融合蛋白和载体的药物组合物,其中所述药物组合物当在5℃±3℃储存并避光时具有至少36个月的储存期,且其中所述IL-22Fc融合蛋白包含通过接头与Fc区连接的IL-22多肽。

[0628] 2.实施方案1的药物组合物,其中所述药物组合物当在5℃±3℃储存并避光时具有至少42个月的储存期。

[0629] 3.实施方案1或2的药物组合物,其中IL-22Fc融合蛋白的浓度为约0.5mg/mL至约20mg/mL。

[0630] 4.实施方案3的药物组合物,其中IL-22Fc融合蛋白的浓度为约0.5mg/mL至约5mg/mL。

[0631] 5.实施方案4的药物组合物,其中IL-22Fc融合蛋白的浓度为约1mg/mL。

[0632] 6.实施方案3的药物组合物,其中IL-22Fc融合蛋白的浓度为约8mg/mL至约12mg/

mL。

[0633] 7.实施方案6的药物组合物,其中IL-22Fc融合蛋白的浓度为约10mg/mL。

[0634] 8.实施方案1-7中任一项的药物组合物,其还包含稳定剂。

[0635] 9.实施方案8的药物组合物,其中所述稳定剂是氨基酸、硫代山梨糖醇、抗坏血酸、一硫代甘油、环糊精、Trolox(6-羟基-2,5,7,8-四甲基苯并二氢吡喃-2-甲酸)、吡哆素、甘露醇、金属螯合剂或其组合。

[0636] 10.实施方案9的药物组合物,其中所述稳定剂是氨基酸。

[0637] 11.实施方案9或10的药物组合物,其中所述氨基酸是甲硫氨酸、半胱氨酸、色氨酸或其组合。

[0638] 12.实施方案11的药物组合物,其中所述氨基酸是甲硫氨酸。

[0639] 13.实施方案8-12中任一项的药物组合物,其中所述稳定剂的浓度为约1mM至约10mM。

[0640] 14.实施方案13的药物组合物,其中所述稳定剂的浓度为约2mM至约8mM。

[0641] 15.实施方案14的药物组合物,其中所述稳定剂的浓度为约5mM。

[0642] 16.实施方案1-15中任一项的药物组合物,其中所述SEQ ID NO:4的M25或M139位的甲硫氨酸的氧化小于10%,其通过AAPH应力所测定。

[0643] 17.实施方案16的药物组合物,其中SEQ ID NO:4的M25位的甲硫氨酸的氧化小于5%、小于3%或小于2%。

[0644] 18.实施方案16或17的药物组合物,其中SEQ ID NO:4的M139位甲硫氨酸的氧化小于7%、小于6%或小于5%。

[0645] 19.实施方案1-18中任一项的药物组合物,其还包含表面活性剂。

[0646] 20.实施方案19的药物组合物,其中所述表面活性剂是非离子表面活性剂。

[0647] 21.实施方案20的药物组合物,其中所述非离子表面活性剂是聚山梨酯、泊洛沙姆、聚氧乙烯烷基醚、烷基苯基聚氧乙烯醚或其组合。

[0648] 22.实施方案21的药物组合物,其中所述非离子表面活性剂是聚山梨酯。

[0649] 23.实施方案22的药物组合物,其中所述聚山梨酯是聚山梨酯20或聚山梨酯80。

[0650] 24.实施方案23的药物组合物,其中所述聚山梨酯是聚山梨酯20。

[0651] 25.实施方案21的药物组合物,其中所述非离子表面活性剂是泊洛沙姆。

[0652] 26.实施方案25的药物组合物,其中所述非离子表面活性剂是泊洛沙姆188。

[0653] 27.实施方案19-26中任一项的药物组合物,其中所述表面活性剂的浓度为约0.001%(w/v)至约0.1%(w/v)。

[0654] 28.实施方案27的药物组合物,其中所述表面活性剂的浓度为约0.01%(w/v)至约0.05%(w/v)。

[0655] 29.实施方案27的药物组合物,其中所述表面活性剂的浓度为约0.01%(w/v)至约0.07%(w/v)。

[0656] 30.实施方案28或29的药物组合物,其中所述表面活性剂的浓度为约0.02%(w/v)。

[0657] 31.实施方案1-30中任一项的药物组合物,其还包含缓冲剂。

[0658] 32.实施方案31的药物组合物,其中所述缓冲剂是磷酸盐、琥珀酸盐、乙酸盐、组氨

酸或其组合。

[0659] 33.实施方案的药物组合物32,其中所述缓冲剂是磷酸盐。

[0660] 34.实施方案33的药物组合物,其中所述磷酸盐是磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、磷酸三钠、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、磷酸三钾或其混合物。

[0661] 35.实施方案34的药物组合物,其中所述磷酸盐是磷酸二氢钠。

[0662] 36.实施方案34的药物组合物,其中所述磷酸盐是磷酸氢二钠。

[0663] 37.实施方案34的药物组合物,其中所述磷酸盐是磷酸二氢钠和磷酸氢二钠的混合物。

[0664] 38.实施方案31-37中任一项的药物组合物,其中所述缓冲剂的浓度为约5mM至约20mM。

[0665] 39.实施方案38的药物组合物,其中所述缓冲剂的浓度为约8mM至约12mM。

[0666] 40.实施方案39的药物组合物,其中所述缓冲剂的浓度为约10mM。

[0667] 41.实施方案1-40中任一项的药物组合物,其还包含张度剂。

[0668] 42.实施方案41的药物组合物,其中所述张度剂是糖、氨基酸或盐。

[0669] 43.实施方案42的药物组合物,其中所述张度剂是糖。

[0670] 44.实施方案43的药物组合物,其中所述糖为蔗糖、葡萄糖、甘油或海藻糖。

[0671] 45.实施方案44的药物组合物,其中所述糖为蔗糖。

[0672] 46.实施方案42的药物组合物,其中所述张度剂是盐。

[0673] 47.实施方案46的药物组合物,其中所述盐为氯化钠或氯化钾。

[0674] 48.实施方案41-47中任一项的药物组合物,其中所述张度剂的浓度为约100mM至约500mM。

[0675] 49.实施方案48的药物组合物,其中所述张度剂的浓度为约200mM至约300mM。

[0676] 50.实施方案49的药物组合物,其中所述张度剂的浓度为约240mM。

[0677] 51.实施方案1-50中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物具有约6.6至约8的pH。

[0678] 52.实施方案51的药物组合物,其中所述药物组合物具有约6.8至约7.4的pH。

[0679] 53.实施方案52的药物组合物,其中所述药物组合物具有约7.1的pH。

[0680] 54.包含IL-22Fc融合蛋白和载体的药物组合物,所述IL-22Fc融合蛋白包含通过接头与Fc区连接的IL-22多肽,其中所述药物组合物包含约1mg/mL至约10mg/mL IL-22Fc融合蛋白、约5mM甲硫氨酸和约0.02%(w/v)聚山梨酯20,pH7.1,最终浓度。

[0681] 55.实施方案54的药物组合物,其还包含约10mM磷酸钠和约240mM蔗糖。

[0682] 56.实施方案54或55的药物组合物,其中所述药物组合物包含约1mg/mL或约10mg/mL IL-22Fc融合蛋白。

[0683] 57.实施方案55或56的药物组合物,其中所述磷酸钠是磷酸二氢钠和磷酸氢二钠的混合物。

[0684] 58.实施方案1-57中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物是单位剂型。

[0685] 59.实施方案58的药物组合物,其中所述单位剂型是用于输注的液体制剂。

[0686] 60.实施方案59的药物组合物,其中所述用于输注的液体制剂在标称体积小于100mL的容器中提供。

[0687] 61.实施方案60的药物组合物,其中用于输注的液体制剂的体积为约1mL至约2mL。

[0688] 62.实施方案61的药物组合物,其中用于输注的液体制剂的体积为约1mL。

[0689] 63.实施方案60-62中任一项的药物组合物,其中所述容器中存在的≥10μm的颗粒的数量不超过6000个颗粒。

[0690] 64.实施方案60-63中任一项的药物组合物,其中容器中存在的≥25μm的颗粒的数量不超过600个颗粒。

[0691] 65.实施方案1-64中任一项的药物组合物,其中所述载体是水。

[0692] 66.实施方案1-65中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物经一个或多个冻融循环是稳定的。

[0693] 67.实施方案66的药物组合物,其中所述药物组合物经三个冻融循环是稳定的。

[0694] 68.实施方案1-67中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物在约25℃稳定约2周或更长。

[0695] 69.实施方案68的药物组合物,其中所述药物组合物物在约25℃稳定约4周或更长时间。

[0696] 70.实施方案1-69中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物物在-20℃稳定约48个月或更长时间

[0697] 71.实施方案1-70中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物具有约85%或更高的纯度,其通过尺寸排阻高效液相色谱(SE-HPLC)所评估。

[0698] 72.实施方案71的药物组合物,其中所述药物组合物具有约90%或更高的纯度,其通过SE-HPLC所评估。

[0699] 73.实施方案72的药物组合物,其中所述药物组合物具有约95%或更高的纯度,其通过SE-HPLC所评估。

[0700] 74.实施方案71-73中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物具有约95%或更高的纯度,其在约5℃约36个月或更长时间通过SE-HPLC评估。

[0701] 75.实施方案74的药物组合物,其中所述药物组合物具有约95%或更高的纯度,其在约5℃约42个月或更长时间通过SE-HPLC评估。

[0702] 76.实施方案75的药物组合物,其中所述药物组合物具有约95%或更高的纯度,其在约5℃约42个月通过SE-HPLC评估。

[0703] 77.实施方案1-76中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物具有约75%或更高的纯度,其通过非还原(NR)毛细管电泳十二烷基硫酸钠无胶筛分(CE-SDS-NGS)所评估。

[0704] 78.实施方案77的药物组合物,其中所述药物组合物具有约80%或更高的纯度,其通过NR CE-SDS-NGS所评估。

[0705] 79.实施方案78的药物组合物,其中所述药物组合物具有约85%或更高的纯度,其通过NR CE-SDS-NGS所评估。

[0706] 80.实施方案77-79中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物具有约85%或更高的纯度,其在约5℃约36个月或更长时间通过NR CE-SDS-NGS评估。

[0707] 81.实施方案80的药物组合物,其中所述药物组合物具有约85%或更高的纯度,其在约5℃约42个月或更长时间通过NR CE-SDS-NGS评估。

[0708] 82.实施方案81的药物组合物,其中所述药物组合物具有约85%或更高的纯度,其

在约5℃约42个月通过NR CE-SDS-NGS评估。

[0709] 83.实施方案1-82中任一项的药物组合物,其中药物组合物被配制用于静脉内、皮下、腹膜内或局部施用。

[0710] 84.实施方案83的药物组合物,其中药物组合物被配制用于静脉内施用。

[0711] 85.实施方案83的药物组合物,其中药物组合物被配制用于皮下施用。

[0712] 86.实施方案1-85中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物不含防腐剂。

[0713] 87.实施方案1-86中任一项的药物组合物,其中药物组合物被配制用于在用等渗氯化钠溶液和/或稀释剂稀释后输注施用。

[0714] 88.实施方案87的药物组合物,其中所述等渗氯化钠溶液包含约0.1%至约2%NaCl。

[0715] 89.实施方案88的药物组合物,其中所述等渗氯化钠溶液包含约0.5%至约1.5%NaCl。

[0716] 90.实施方案89的药物组合物,其中所述等渗氯化钠溶液包含约0.9%(w/v)NaCl。

[0717] 91.实施方案87-90中任一项的药物组合物,其中所述稀释剂包含缓冲剂、张度剂和表面活性剂。

[0718] 92.实施方案87-91中任一项的药物组合物,其中所述稀释剂包含约10mM磷酸钠、约240mM蔗糖、约0.02%(w/v)聚山梨酯20,pH 7.1,最终浓度。

[0719] 93.实施方案1-92中任一项的药物组合物,其中所述IL-22多肽是糖基化的。

[0720] 94.实施方案1-93中任一项的药物组合物,其中所述IL-22多肽是N-糖基化的。

[0721] 95.实施方案1-94中任一项的药物组合物,其中所述Fc区是未糖基化的。

[0722] 96.实施方案95的药物组合物,其中按照Fc区的EU索引中的位置297的氨基酸残基是Gly。

[0723] 97.实施方案95的药物组合物,其中按照Fc区的EU索引中的位置297的氨基酸残基是Ala。

[0724] 98.实施方案95-97中任一项的药物组合物,其中按照Fc区的EU索引中的位置299的氨基酸残基是Ala、Gly或Val

[0725] 99.实施方案1-98中任一项的药物组合物,其中Fc区包含IgG1或IgG4的CH2和CH3结构域。

[0726] 100.实施方案99的药物组合物,其中Fc区包含IgG4的CH2和CH3结构域。

[0727] 101.实施方案1-100中任一项的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少95%序列同一性的氨基酸序列。

[0728] 102.实施方案101的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少96%序列同一性的氨基酸序列。

[0729] 103.实施方案102的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少97%序列同一性的氨基酸序列。

[0730] 104.实施方案103的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少98%序列同一性的氨基酸序列。

[0731] 105.实施方案104的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白包含与SEQ ID NO:8的氨基酸序列具有至少99%序列同一性的氨基酸序列。

[0732] 106.实施方案1-105中任一项的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0733] 107.实施方案106的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。

[0734] 108.实施方案107的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白由SEQ ID NO:8的氨基酸序列组成。

[0735] 109.实施方案106的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列。

[0736] 110.实施方案109的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白由SEQ ID NO:10的氨基酸序列组成。

[0737] 111.实施方案106的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0738] 112.实施方案111的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白由SEQ ID NO:16的氨基酸序列组成。

[0739] 113.实施方案95-112中任一项的药物组合物,其中所述Fc区不是N-糖基化的。

[0740] 114.实施方案1-113中任一项的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白是二聚IL-22Fc融合蛋白。

[0741] 115.实施方案1-113中任一项的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白是单体IL-22Fc融合蛋白。

[0742] 116.实施方案1-115中任一项的药物组合物,其中所述IL-22多肽是人IL-22多肽。

[0743] 117.实施方案116的药物组合物,其中所述IL-22多肽包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列。

[0744] 118.实施方案1-117中任一项的药物组合物,其中接头包含氨基酸序列RVESKYGPP(SEQ ID NO:44)。

[0745] 119.实施方案118的药物组合物,其中接头由氨基酸序列RVESKYGPP(SEQ ID NO:44)组成。

[0746] 120.包含IL-22Fc融合蛋白和载体的药物组合物,所述IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列,其中所述药物组合物包含约5mM甲硫氨酸、约10mM磷酸钠、约240mM蔗糖和约0.02%(w/v)聚山梨酯20,pH 7.1,最终浓度。

[0747] 121.实施方案1-120中任一项的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白结合IL-22受体。

[0748] 122.实施方案121的药物组合物,其中所述IL-22受体是人IL-22受体。

[0749] 123.实施方案121或122的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白结合IL-22RA1和/或IL-10R2。

[0750] 124.实施方案123的IL-22Fc融合蛋白,其中所述IL-22Fc融合蛋白结合IL-22RA1。

[0751] 125.实施方案1-124中任一项的药物组合物,其还包含另外的治疗剂。

[0752] 126.实施方案1-125中任一项的药物组合物,其还包含胶凝剂。

[0753] 127.实施方案126的药物组合物,其中所述胶凝剂是多糖。

[0754] 128.实施方案126或127的药物组合物,其中所述胶凝剂是纤维素物质。

[0755] 129.实施方案126-128中任一项的药物组合物，其中所述胶凝剂是甲基纤维素、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素、羟丙基纤维素、POE-POP嵌段聚合物、藻酸盐、透明质酸、聚丙烯酸、羟乙基甲基纤维素或羟丙基甲基纤维素。

[0756] 130.实施方案129的药物组合物，其中所述胶凝剂是羟丙基甲基纤维素。

[0757] 131.实施方案126-130中任一项的药物组合物，其中所述药物制剂用于局部施用。

[0758] 132.实施方案1-131中任一项的药物组合物，其用作药物。

[0759] 133.在有需要的对象中治疗炎性肠病(IBD)的方法，所述方法包括向对象施用实施方案1-132中任一项的药物组合物。

[0760] 134.实施方案133的方法，其中IBD是溃疡性结肠炎或克罗恩病。

[0761] 135.实施方案134的方法，其中IBD是溃疡性结肠炎。

[0762] 136.实施方案135的方法，其中所述溃疡性结肠炎是中度至重度溃疡性结肠炎。

[0763] 137.实施方案134的方法，其中IBD是克罗恩病。

[0764] 138.抑制有需要的对象的肠道中微生物感染、在微生物感染期间保留肠道中杯状细胞、增强肠道中的上皮细胞完整性、上皮细胞增殖、上皮细胞分化、上皮细胞迁移或上皮创伤愈合的方法，所述方法包括向对象施用实施方案1-132中任一项的药物组合物。

[0765] 139.实施方案138的方法，其中所述上皮细胞是肠上皮细胞。

[0766] 140.在有需要的对象中治疗急性肾损伤或急性胰腺炎的方法，所述方法包括向对象施用实施方案1-132中任一项的药物组合物。

[0767] 141.在有需要的对象中加速或改善创伤愈合的方法，所述方法包括向对象施用实施方案1-132中任一项的药物组合物。

[0768] 142.实施方案141的方法，其中所述创伤是慢性创伤或受感染的创伤。

[0769] 143.实施方案141或142的方法，其中所述对象是糖尿病患者。

[0770] 144.实施方案143的方法，其中所述糖尿病对象患有II型糖尿病。

[0771] 145.实施方案141-144中任一项的方法，其中所述创伤是糖尿病性足溃疡。

[0772] 146.实施方案141-145中任一项的方法，其中施用IL-22Fc融合蛋白或药物组合物直至创伤完全闭合。

[0773] 147.在有需要的对象中预防或治疗心血管病症的方法，所述病症包括动脉粥样硬化斑块形成病状，所述方法包括向对象施用实施方案1-132中任一项的药物组合物。

[0774] 148.实施方案147的方法，其中所述心血管疾病是冠状动脉疾病、冠状微血管疾病、卒中、颈动脉疾病、外周动脉疾病或慢性肾病。

[0775] 149.实施方案147或148的方法，其还包含减慢动脉粥样硬化斑块形成的进展或预防脉粥样硬化的标志。

[0776] 150.实施方案149的方法，其中所述脉粥样硬化的标志包括斑块积聚或血管炎症。

[0777] 151.在有需要的对象中治疗代谢综合征的方法，所述方法包括向对象施用实施方案1-132中任一项的药物组合物。

[0778] 152.实施方案151的方法，其还包括降低与代谢综合征相关的一种或多种风险因素，包括腹部肥胖、高血糖、血脂异常和高血压中的一种或多种。

[0779] 153.实施方案151或152的方法，其还包括降低对象中的细菌脂多糖的水平。

[0780] 154.在有需要的对象中治疗急性内毒素血症、脓毒症或二者的方法，所述方法包

括向对象施用实施方案1-132中任一项的药物组合物。

[0781] 155.实施方案151-154中任一项的方法,其中所述对象需要改变HDL/LDL脂质谱。

[0782] 156.实施方案133-155中任一项的方法,其中所述组合物包含约1mg/mL至约10mg/mL IL-22Fc融合蛋白、约10mM磷酸钠、约240mM蔗糖、约5mM甲硫氨酸和约0.02%(w/v)聚山梨酯20,pH 7.1,最终浓度。

[0783] 157.实施方案133-156中任一项的方法,其中所述IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0784] 158.实施方案157的方法,其中所述IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。

[0785] 159.实施方案157的方法,其中所述IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0786] 160.实施方案133-159中任一项的方法,其中所述药物组合物静脉内、皮下、腹膜内或局部施用。

[0787] 161.实施方案160的方法,其中所述药物组合物静脉内施用。

[0788] 162.实施方案160的方法,其中所述药物组合物皮下施用。

[0789] 163.实施方案133-162中任一项的方法,其中所述对象与至少一种另外的治疗剂共同施用。

[0790] 164.实施方案133-163中任一项的方法,其中所述对象是人。

[0791] 165.实施方案1-132中任一项的药物组合物,其用于在有需要的对象中治疗炎性肠病(IBD)的方法。

[0792] 166.实施方案165中使用的药物组合物,其中IBD是溃疡性结肠炎或克罗恩病。

[0793] 167.实施方案166中使用的药物组合物,其中IBD是溃疡性结肠炎。

[0794] 168.实施方案167中使用的药物组合物,其中所述溃疡性结肠炎是中度至重度溃疡性结肠炎。

[0795] 169.实施方案166中使用的药物组合物,其中IBD是克罗恩病。

[0796] 170.实施方案1-132中任一项的药物组合物,其用于抑制有需要的对象的肠道中微生物感染、在微生物感染期间保留肠道中杯状细胞、增强肠道中的上皮细胞完整性、上皮细胞增殖、上皮细胞分化、上皮细胞迁移或上皮创伤愈合的方法。

[0797] 171.实施方案170中使用的药物组合物,其中所述上皮细胞是肠上皮细胞。

[0798] 172.实施方案1-132中任一项的药物组合物,其用于在有需要的对象中治疗急性肾损伤或急性胰腺炎的方法。

[0799] 173.实施方案1-132中任一项的药物组合物,其用于在有需要的对象中加速或改善创伤愈合的方法。

[0800] 174.实施方案173中使用的药物组合物,其中所述创伤是慢性创伤或受感染的创伤。

[0801] 175.实施方案173或174中使用的药物组合物,其中所述对象是糖尿病患者。

[0802] 176.实施方案175中使用的药物组合物,其中所述糖尿病对象患有II型糖尿病。

[0803] 177.实施方案173-176中任一项中使用的药物组合物,其中所述创伤是糖尿病性足溃疡。

[0804] 178.实施方案173-177中任一项中使用的药物组合物,其中施用IL-22Fc融合蛋白或药物组合物直至创伤完全闭合。

[0805] 179.实施方案1-132中任一项的药物组合物,其用于在有需要的对象中预防或治疗心血管病症的方法,所述病症包括动脉粥样硬化斑块形成病状。

[0806] 180.实施方案179中使用的药物组合物,其中所述心血管疾病是冠状动脉疾病、冠状微血管疾病、卒中、颈动脉疾病、外周动脉疾病或慢性肾病。

[0807] 181.实施方案179或180中使用的药物组合物,其还包括减慢动脉粥样硬化斑块形成的进展或预防脉粥样硬化的标志。

[0808] 182.实施方案181中使用的药物组合物,其中所述脉粥样硬化的标志包括斑块积聚或血管炎症。

[0809] 183.实施方案1-132中任一项的药物组合物,其用于在有需要的对象中治疗代谢综合征的方法。

[0810] 184.实施方案183中使用的药物组合物,其还包含降低与代谢综合征相关的一种或多种风险因素,包括腹部肥胖、高血糖、血脂异常和高血压中的一种或多种。

[0811] 185.实施方案183或184中使用的药物组合物,其还包含降低对象中的细菌脂多糖的水平。

[0812] 186.实施方案1-132中任一项的药物组合物,其用于在有需要的对象中治疗急性内毒素血症、脓毒症或二者的方法。

[0813] 187.实施方案183-186中任一项中使用的药物组合物,其中所述对象需要改变HDL/LDL脂质谱。

[0814] 188.实施方案165-187中任一项中使用的药物组合物,其中所述组合物包含约1mg/mL至约10mg/mL IL-22Fc融合蛋白、约10mM磷酸钠、约240mM蔗糖、约5mM甲硫氨酸和约0.02%(w/v)聚山梨酯20,pH 7.1,最终浓度。

[0815] 189.实施方案165-188中任一项中使用的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0816] 190.实施方案189中使用的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:8的氨基酸序列。

[0817] 191.实施方案189中使用的药物组合物,其中所述IL-22Fc融合蛋白包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0818] 192.实施方案165-191中任一项中使用的药物组合物,其中所述药物组合物静脉内、皮下、腹膜内或局部施用。

[0819] 193.实施方案192的药物组合物,其中所述静脉内施用IL-22Fc融合蛋白或药物组合物。

[0820] 194.实施方案193的药物组合物,其中所述皮下施用IL-22Fc融合蛋白或药物组合物。

[0821] 195.实施方案165-194中任一项的药物组合物,其中所述对象将共同施用至少一种另外的治疗剂。

[0822] 196.实施方案165-195中任一项的药物组合物,其中所述对象是人。

[0823] 本说明书被认为足以使本领域技术人员能够实施本发明。尽管出于清楚理解的目

的已经通过说明和示例的方式详细地描述了前述发明，但是这些描述和示例不应解释为限制本发明的范围。实际上，除了本文中示出和描述的那些之外，根据前面的描述，本发明的各种修改对于本领域技术人员将变得很明显，并且落入所附权利要求的范围内。

序列表

<110> 基因技术公司

<120> 组合物和使用方法

<130> 50474-177WO3

<150> US 62/697,372
<151> 2018-07-12

<150> US 62/622,704
<151> 2018-01-26

<160> 84

<170> PatentIn版本3.5

<210> 1
<211> 495
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<223> 人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

[0001] 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

[0002]

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 前导序列

<400> 5
atgggatggt catgtatcat ccttttttcta gtagcaactg caactggagt acattca 57

<210> 6
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人

[0003]

<220>
<223> IL-22 前导序列

<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> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG4 (负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

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> 8
<211> 376
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽

[0004] <220>
<223> IL-22 Fc融合IgG4 (负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

[0005]

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> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG4 (负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

[0006]

<210> 10
<211> 376
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG4 (负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

[0007] 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> 人工序列的描述：合成

多核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG1 (负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

[0008] 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> 人工序列的描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG1 (负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

[0009]

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> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG1 (负C-末端 Lys) N297A

<400> 13

[0010]

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 gagatgacc 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> 人工序列的描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG1 (负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

[0011]

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> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG4 (全) 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

[0012] 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

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> 16
<211> 377
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG4 (全) 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
```

[0013]

```
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> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG4 (全) N297A

<400> 17
gcgcccatca gctcccactg caggcttgac aagtccaact tccagcagcc ctatatcacc 60

aaccgcacct tcatgctggc taaggaggct agcttggctg ataacaacac agacgttcgt 120

[0014] 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> 人工序列的描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG4 (全) 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
```

[0015]

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> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

[0016]

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG1（全）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 gagatgacc 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> 人工序列的描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG1（全）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

[0017]

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
```

[0018]

<210> 21
<211> 1134
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG1（全）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> 人工序列的描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG1（全）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

[0019]

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

[0020]

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> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG4 (wt N297, 负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

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> 24
<211> 376
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG4 (wt N297, 负Lys)

<400> 24

[0021]

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

[0022]

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> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG1 (wt N297, 负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

[0023]

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG1 (wt N297, 负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

[0024]
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> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG4 (N297 wt)

<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

[0025] gctctgcaca accactacac acagaagagc ctctccctgt ctctgggtaa a 1131

<210> 28
<211> 377
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG4 (N297 wt)

<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

[0026]

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> 人工序列的描述：合成
多核苷酸

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG1 (N297 wt)

<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

[0027] 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> 人工序列的描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合IgG1 (N297 wt)

<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

[0028]

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> 人工序列的描述：合成
铰链肽

<400> 31
Cys Pro Pro Cys Pro
1 5

<210> 32
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
接头肽

<400> 32
Asp Lys Thr His Thr
1 5

[0029]

<210> 33
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
接头肽

<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> 人工序列的描述：合成
接头肽

<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> 人工序列的描述：合成
接头肽

<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> 人工序列的描述：合成
接头肽

<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> 人工序列的描述：合成
接头肽

<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> 人工序列的描述：合成
接头肽

[0030]

<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> 人工序列的描述：合成
接头肽

<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> 人工序列的描述：合成
接头肽

<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> 人工序列的描述：合成
接头肽

<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> 人工序列的描述：合成
接头(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> 人工序列的描述：合成
接头肽

<400> 43
Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
1 5

[0031]

<210> 44
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
接头肽

<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> 人工序列的描述：合成
接头肽

<400> 45
Gly Gly Ser
1

<210> 46
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
接头肽

<400> 46
Gly Gly Gly Ser

1

<210> 47
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
接头肽

<400> 47
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 48
<211> 146
<212> PRT
<213> 黑猩猩(Pan troglodytes)

<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

[0032]

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> 猩猩(Pongo abelii)

<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> 小鼠(Mus musculus)

[0033] <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(Canis familiaris)

<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

[0034] 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> 人工序列的描述：合成
IL-22 Fc融合融合蛋白IgG1正向引物

<400> 52
ttgaattcca ccatgggatg gtcatgtatc atccttttc tagtagcaac tgcaactgga 60

gtacattcag cgcccatcag ctcccactgc aggc 94

<210> 53
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
IL-22 Fc融合IgG1反向引物

<400> 53
aggtcgactc atttacccgg agacagggag agg 33

<210> 54
<211> 94
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
IL-22 Fc融合IgG4正向引物

<400> 54
ttgaattcca ccatgggatg gtcatgtatc atccttttc tagtagcaac tgcaactgga 60

gtacattcag cgcccatcag ctcccactgc aggc 94

<210> 55
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
IL-22 Fc融合IgG4反向引物

<400> 55
aggtcgactt atttacccag agacagggag agg 33

<210> 56
<211> 35
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
IgG1 N297G正向引物

[0035] <400> 56
gcgggaggag cagtacggaa gcacgtaccg tgtgg 35

<210> 57
<211> 35
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
IgG1 N297G反向引物

<400> 57
ccacacggta cgtgcttccg tactgctcct cccgc 35

<210> 58
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
IgG4 N297G正向引物

<400> 58
acaaagccgc gggaggagca gttcggaagc acgtaccgtg tggtcagcgt c 51

<210> 59
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
IgG4 N297G反向引物

<400> 59
gacgctgacc acacggtacg tgcttccgaa ctgctcctcc cgcggctttg t 51

<210> 60
<211> 411
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 Fc融合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

[0036] 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

[0037] 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> 人工序列的描述：合成
多肽

<220>
<223> IL-22 IgG1 fusion knob (T366W) 负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

[0038]

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> 人工序列的描述：合成
多肽

<220>
<223> 单体 Fc 孔

<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

[0039] 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> 人工序列的描述：合成
接头肽

<400> 63
Gly Gly Gly Ser Thr His Thr
1 5

<210> 64
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述：合成
接头肽

<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> 人工序列的描述：合成
接头肽

[0040] <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> 人工序列的描述：合成
接头肽

<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> 人工序列的描述：合成
接头肽

<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> 人工序列的描述：合成
接头肽

<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> 人工序列的描述：合成
接头肽

<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)

[0041]

<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

[0042] 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

[0043]

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

[0044] 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> 合成引物

<400> 74
aggtccattc agatgctggt 20

<210> 75
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成引物

[0045] <400> 75
taggtgtggt tgacgtggag 20

<210> 76
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成引物

<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

[0046]

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

[0047]

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
```

[0048]

```
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

[0049] 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

[0050]

<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

[0051]

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

[0052]

<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
```

[0053]

```
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

[0054] 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

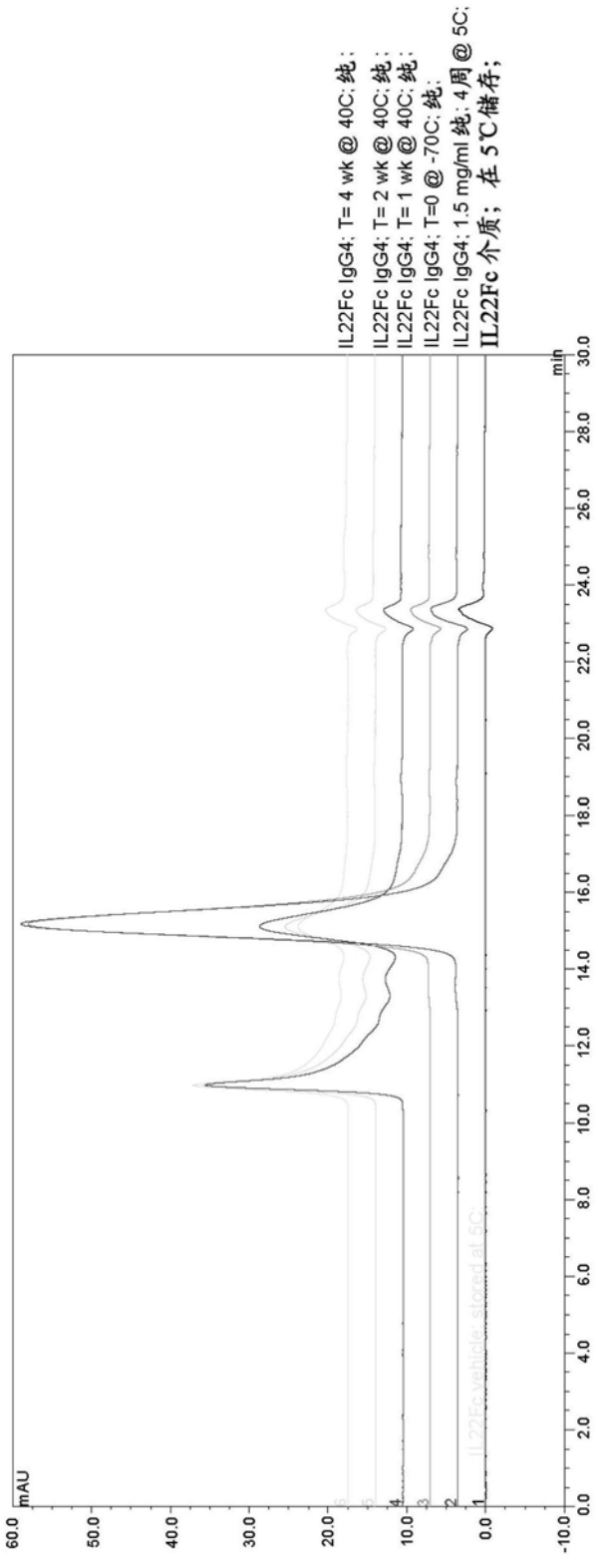

IL22Fc IgG4; T= 4 wk @ 40C; 纯;
IL22Fc IgG4; T= 2 wk @ 40C; 纯;
IL22Fc IgG4; T= 1 wk @ 40C; 纯;
IL22Fc IgG4; T=0 @ -70C; 纯;
IL22Fc IgG4; 1.5 mg/ml 纯; 4周 @ 5C;
IL22Fc 介质； 在 5℃储存；
mAU
min
IL22Fc vehicle stored at 5C

图1

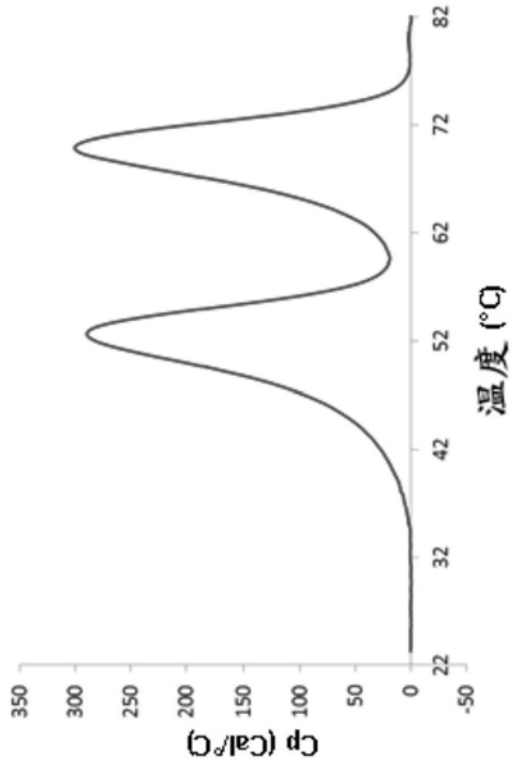

Cp (Cal/°C)
350
300
250
200
150
100
50
0
-50
22
32
42
52
62
72
82
温度 (°C)

图2A

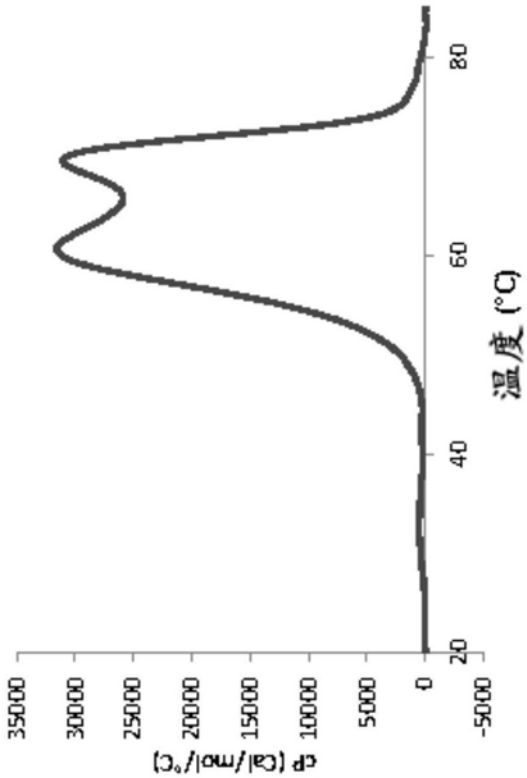

cP (Cal/mol/°C)
35000
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
-5000
20
40
60
80
温度 (°C)

图2B

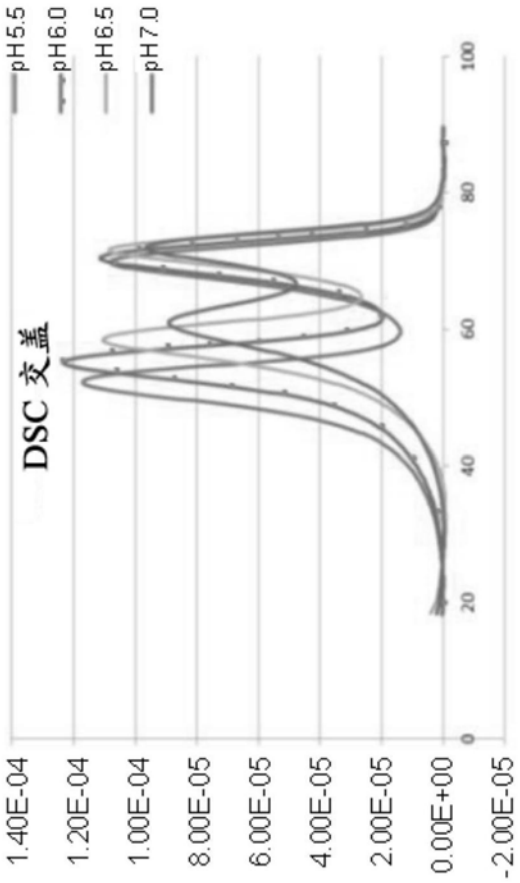

pH5.5
pH6.0
pH6.5
pH7.0
DSC 交盖
1.40E-04
1.20E-04
1.00E-04
8.00E-05
6.00E-05
4.00E-05
2.00E-05
0.00E+00
-2.00E-05
0
20
40
60
80
100

图3A

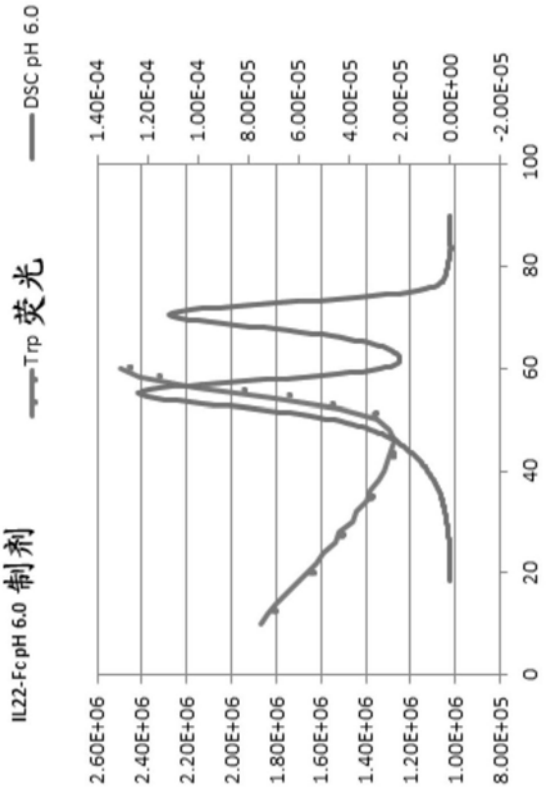

IL22-Fc pH 6.0 制剂
Trp 荧光
DSC pH 6.0
2.60E+06
2.40E+06
2.20E+06
2.00E+06
1.80E+06
1.60E+06
1.40E+06
1.20E+06
1.00E+06
8.00E+05
1.40E-04
1.20E-04
1.00E-04
8.00E-05
6.00E-05
4.00E-05
2.00E-05
0.00E+00
-2.00E-05
0
20
40
60
80
100

图3B

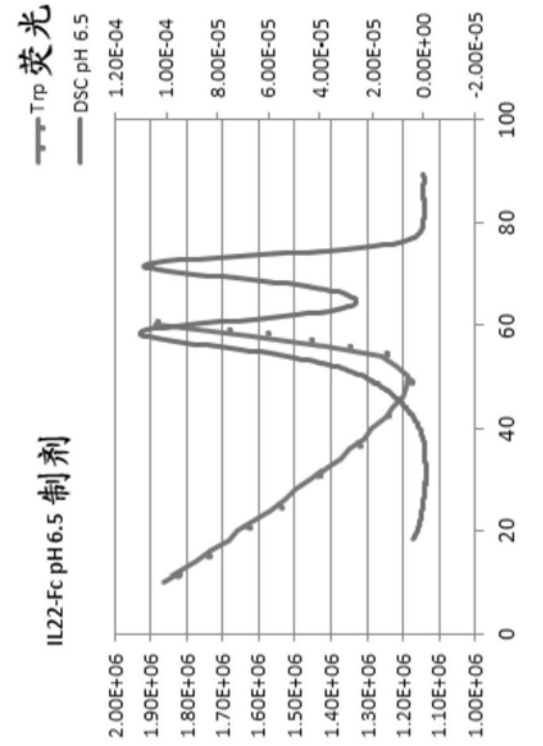

IL22-Fc pH6.5 制剂
Trp 荧光
DSC pH 6.5
2.00E+06
1.90E+06
1.80E+06
1.70E+06
1.60E+06
1.50E+06
1.40E+06
1.30E+06
1.20E+06
1.10E+06
1.00E+06
1.20E-04
1.00E-04
8.00E-05
6.00E-05
4.00E-05
2.00E-05
0.00E+00
-2.00E-05
0
20
40
60
80
100

图3C

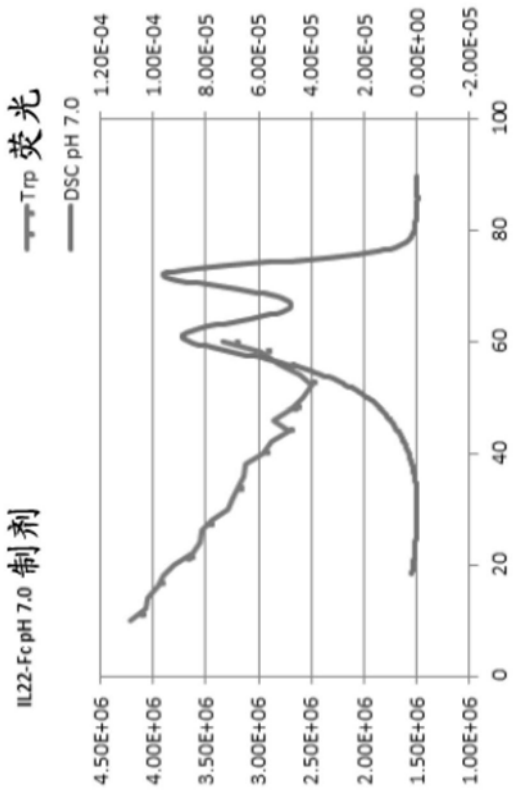

IL22-Fc pH 7.0 制剂
Tm 荧光
DSC pH 7.0
4.50E+06
4.00E+06
3.50E+06
3.00E+06
2.50E+06
2.00E+06
1.50E+06
1.00E+06
1.20E-04
1.00E-04
8.00E-05
6.00E-05
4.00E-05
2.00E-05
0.00E+00
-2.00E-05
0
20
40
60
80
100

图3D

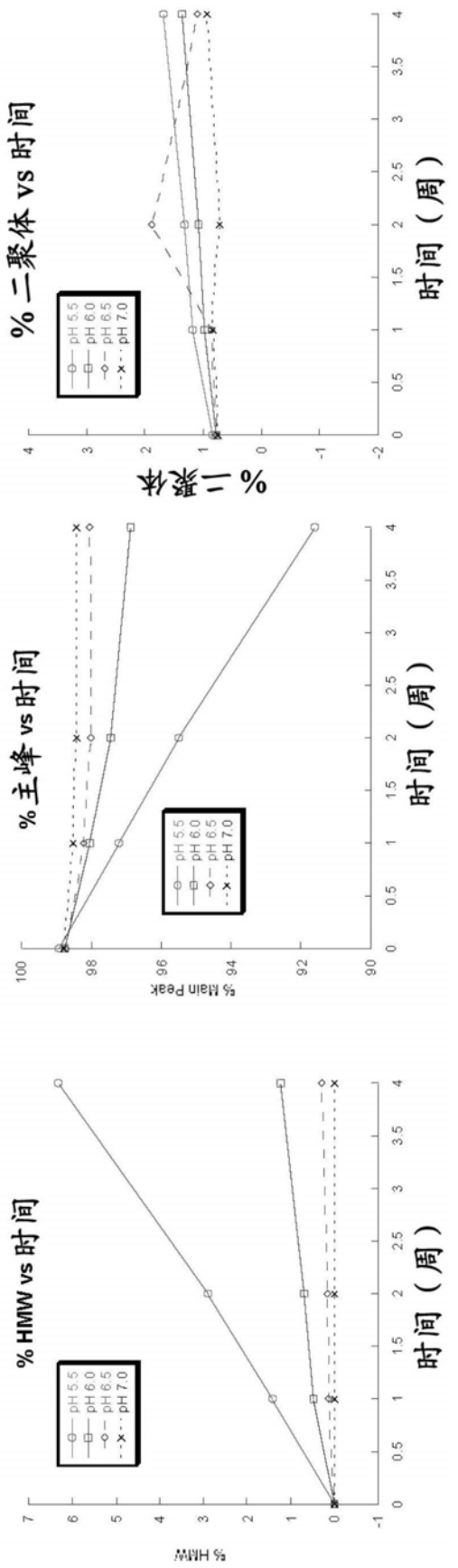

% 二聚体 vs 时间
% 二聚体
时间（周）
pH 5.5
pH 6.0
pH 6.5
pH 7.0
% 主峰 vs 时间
% Main Peak
时间（周）
pH 5.5
pH 6.0
pH 6.5
pH 7.0
% HMW vs 时间
% HMW
时间（周）
pH 5.5
pH 6.0
pH 6.5
pH 7.0

图3E

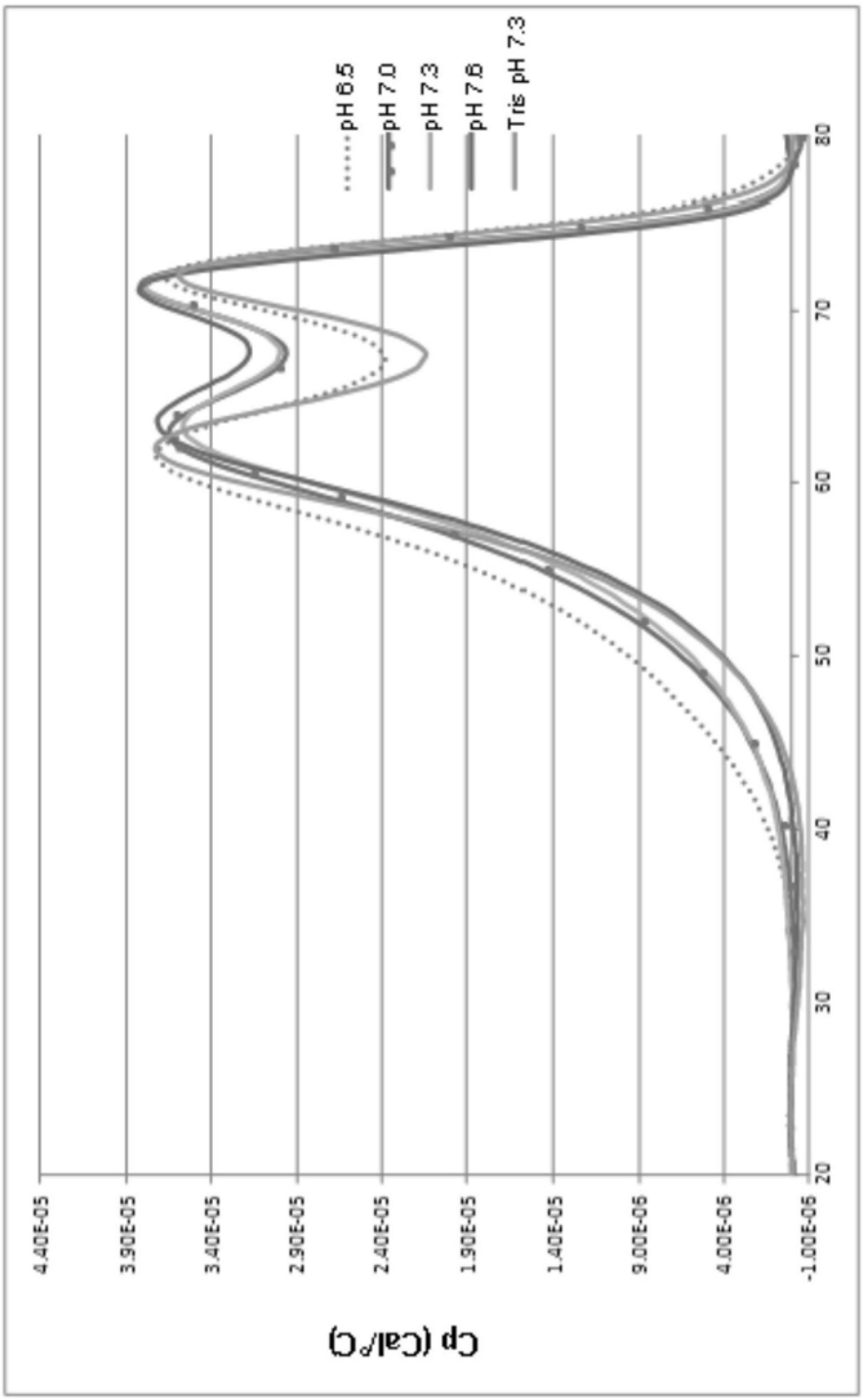

pH 6.5
pH 7.0
pH 7.3
pH 7.6
Tris pH 7.3
Cp (Cal/°C)
4.40E-05
3.90E-05
3.40E-05
2.90E-05
2.40E-05
1.90E-05
1.40E-05
9.00E-06
4.00E-06
-1.00E-06
20
30
40
50
60
70
80

图4

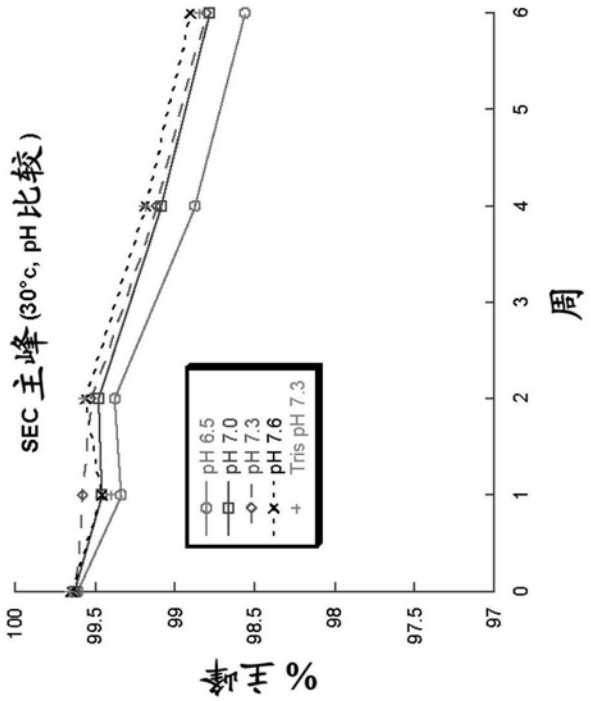

SEC 主峰 (30°c, pH 比较)
% 主峰
周
pH 6.5
pH 7.0
pH 7.3
pH 7.6
Tris pH 7.3
100
99.5
99
98.5
98
97.5
97
0
1
2
3
4
5
6

图5A

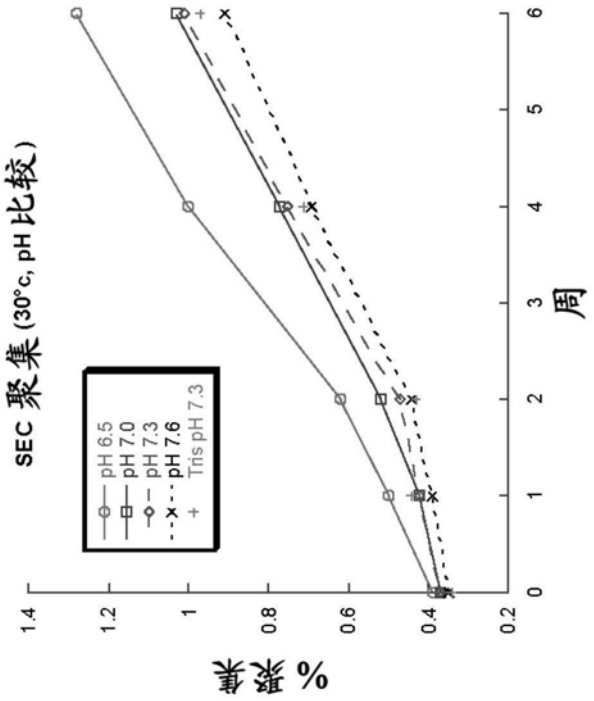

SEC 聚集 (30°c, pH 比较)
% 聚集
周
pH 6.5
pH 7.0
pH 7.3
pH 7.6
Tris pH 7.3
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
1
2
3
4
5
6

图5B

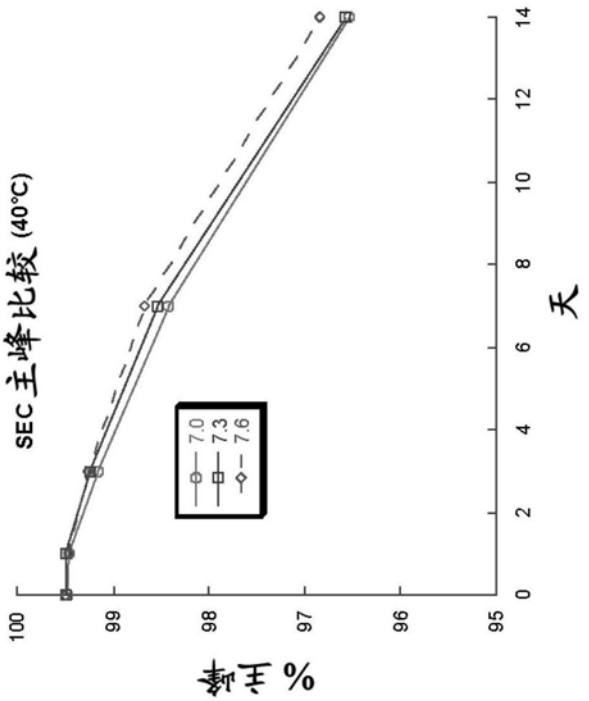

SEC 主峰比较 (40°C)
% 主峰
天
7.0
7.3
7.6
100
99
98
97
96
95
0
2
4
6
8
10
12
14

图5C

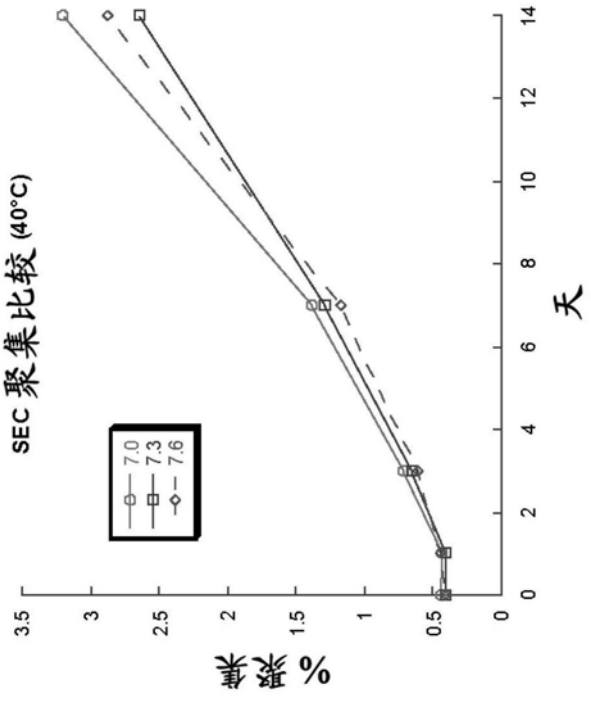

SEC 聚集比较 (40°C)
% 聚集
天
7.0
7.3
7.6
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0
2
4
6
8
10
12
14

图5D

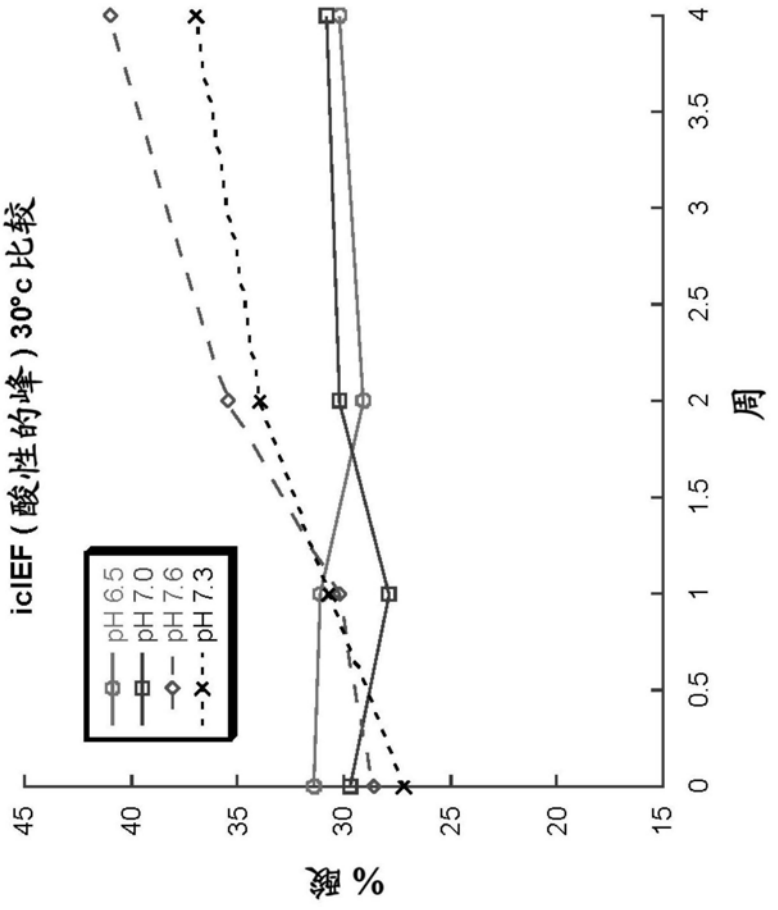

icIEF（酸性的峰）30°c 比较
pH 6.5
pH 7.0
pH 7.6
pH 7.3
% 酸
周
45
40
35
30
25
20
15
0
0.5
1
1.5
2
2.5
3
3.5
4

图6

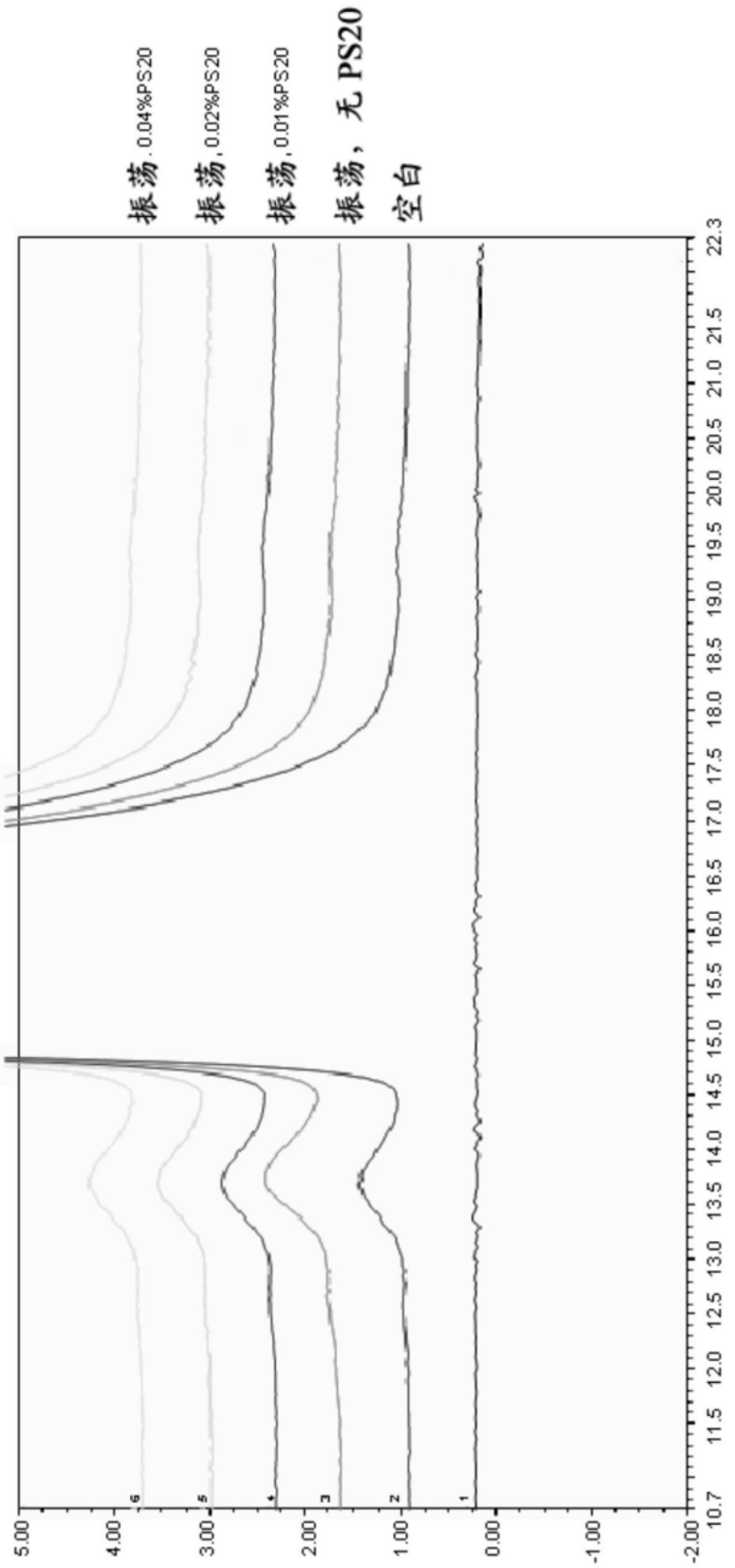

振荡,0.04%PS20
振荡,0.02%PS20
振荡,0.01%PS20
振荡，无 PS20
空白
5.00
4.00
3.00
2.00
1.00
0.00
-1.00
-2.00
10.7
11.5
12.0
12.5
13.0
13.5
14.0
14.5
15.0
15.5
16.0
16.5
17.0
17.5
18.0
18.5
19.0
19.5
20.0
20.5
21.0
21.5
22.3

图7

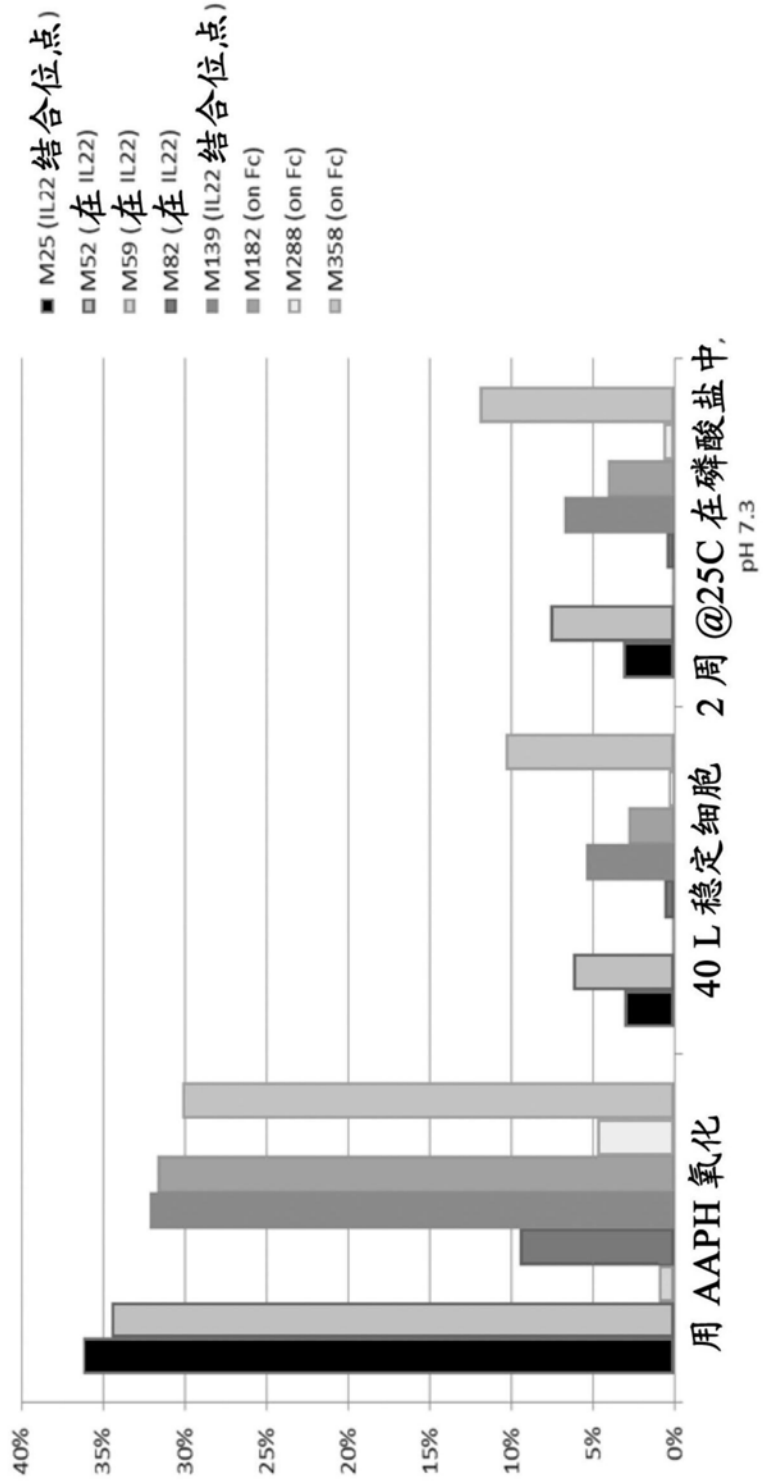

M25 (IL22 结合位点)
M52 (在 IL22)
M59 (在 IL22)
M82 (在 IL22)
M139 (IL22 结合位点)
M182 (on Fc)
M288 (on Fc)
M358 (on Fc)
40%
35%
30%
25%
20%
15%
10%
5%
0%
用 AAPH 氧化
40 L 稳定细胞
2 周 @25C 在磷酸盐中,
pH 7.3

图8

IL-22 氨基酸序列比对

```
人(Q9GZX6)                apisshcrldksnfqqpyitnrtfmlakeasladnntdvrligeklfhgvsmsercylmk  60
黑猩猩(XP_003313906)      apisshcrldkssfqqpyitnrtfmlakeasladnntdvrligeklfhgvsmsercylmk
猩猩(XP_002823544)        apisshcrldksnfqqpyitnrtfmlakeasladnntdvrligeklfrgvsmsercylmk
小鼠(Q9JJY9)              lpvntrcklevsnfqqpyivnrtfmlakeasladnntdvrligeklfrgvsakdqcylmk
豹(XP_538274)             lpisshcrldksnfqqpyitnrtfmlakeasladnntdvrligeklfhgvnmqercylml
                          *   * *  * ****** ********************************** **    *****

人(Q9GZX6)                qvlnfttleevlfpqsdrfqpymqevvpflarlsnrlstchiegddlhiqrnvqklkdtvk  120
黑猩猩(XP_003313906)      qvlnfttleevlfpqsdrfqpymqevvpflarlsnrlstchiegddlhiqrnvqklkdtvk
猩猩(XP_002823544)        qvlnfttleevlfpqsdrfqpymqevvpflarlsnrlstchiegddlhiqrnvqklkdtvk
小鼠(Q9JJY9)              qvlnfttledvllpqsdrfqpymqevvpfltklsnqlsschisgddqmiqknvrrlketvk
豹(XP_538274)             evlnfttleevllpqsdrfqpymqevvpflarlsnklsqchienddghiqrnvqklkdtvq
                           ******* ** ********************  *** ** *** **  ** **  ** **

人(Q9GZX6)                klgesgeikaigeldllfmslrnaci  146  (SEQ ID NO:4)
黑猩猩(XP_003313906)      klgengeikaigeldllfmslrnaci       (SEQ ID NO:48)
猩猩(XP_002823544)        klgesgeikaigeldllfmslrnaci       (SEQ ID NO:49)
小鼠(Q9JJY9)              klgesgeikaigeldllfmslrnacv       (SEQ ID NO:50)
豹(XP_538274)             klgengeikaigeldllfmalrnacv       (SEQ ID NO:51)
                          **** ******************** *****
```

图9