202330017

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202330017 A

(43)公開日： 中華民國 112 (2023) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：111136212 (22)申請日： 中華民國 111 (2022) 年 09 月 23 日

(51)Int. Cl.： *A61K38/46 (2006.01)* *A61K9/19 (2006.01)*
A61K47/12 (2006.01) *A61K47/26 (2006.01)*
A61K47/02 (2006.01) *A61P19/00 (2006.01)*
A61P9/10 (2006.01) *A61P13/12 (2006.01)*

(30)優先權：2021/09/24 美國 63/248,303

(71)申請人：美商伊諾臻醫藥公司 (美國) INOZYME PHARMA, INC. (US)
美國

(72)發明人：詹格斯 史蒂芬 JUNGLES, STEVEN (US)

(74)代理人：何愛文；王仁君

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：254 項 圖式數：24 共 281 頁

(54)名稱

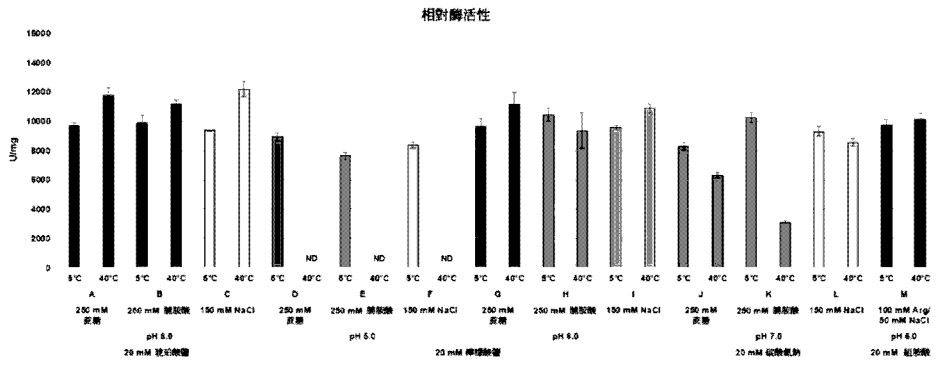
凍乾的 ENPP1 多肽調配物及其用途

(57)摘要

在某些方面，本發明提供了新穎的凍乾 ENPP1 多肽調配物，以及使用這種凍乾調配物和經復水的 ENPP1 調配物來治療與 ENPP1 缺乏症相關之適應症的方法。本文所提供的調配物和方法可用於治療與 ENPP1 缺乏症相關的疾病，例如病理性鈣化或病理性骨化(pathological ossification)。

In certain aspects, the present invention provides novel lyophilized formulations of ENPP1 polypeptides, as well as methods for using such lyophilized formulations and reconstituted formulations of ENPP1 to treat an indication associated an ENPP1 deficiency. The formulations and methods provided herein are useful in treating diseases associated with an ENPP1 deficiency such as pathological calcification or pathological ossification.

指定代表圖：



【圖 7】

【發明摘要】

【中文發明名稱】凍乾的ENPP1多肽調配物及其用途

【英文發明名稱】LYOPHILIZED ENPP1 POLYPEPTIDE FORMULATIONS AND USES THEREOF

【中文】

在某些方面，本發明提供了新穎的凍乾ENPP1多肽調配物，以及使用這種凍乾調配物和經復水的ENPP1調配物來治療與ENPP1缺乏症相關之適應症的方法。本文所提供的調配物和方法可用於治療與ENPP1缺乏症相關的疾病，例如病理性鈣化或病理性骨化(pathological ossification)。

【英文】

In certain aspects, the present invention provides novel lyophilized formulations of ENPP1 polypeptides, as well as methods for using such lyophilized formulations and reconstituted formulations of ENPP1 to treat an indication associated an ENPP1 deficiency. The formulations and methods provided herein are useful in treating diseases associated with an ENPP1 deficiency such as pathological calcification or pathological ossification.

【指定代表圖】圖7

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】凍乾的ENPP1多肽調配物及其用途

【英文發明名稱】LYOPHILIZED ENPP1 POLYPEPTIDE FORMULATIONS AND USES THEREOF

【技術領域】

序列表

【0001】 本件申請案含有序列表，其按 xml 格式以電子方式遞交，並以全文引用的方式併入。該份 xml 複本，於 2022 年 9 月 21 日建立，命名為 4427-11900_sequence.txt 且大小為 137 KB。

復水

【先前技術】

【0002】 人類外核苷酸焦磷酸酶 (ENPP) 蛋白質家族包含七個水解磷酸二酯鍵之細胞外醣基化蛋白質 (亦即 ENPP1-ENPP7)。ENPP 為細胞表面酶，除了 ENPP2，其被輸出至細胞膜但由弗林蛋白酶 (furin) 切分且釋放至細胞外液中。ENPP 酶具有高度的序列及結構同源性，但表現出多樣化的受質特異性，涵蓋核苷酸至脂質。

【0003】 ENPP1 (亦稱為 PC-1) 及 ENPP3 為第 2 型細胞外膜結合醣蛋白，其位於骨母細胞及軟骨細胞之礦物質沈積基質囊泡上，且將細胞外核苷酸 (主要為 ATP) 水解成單磷酸腺苷 (AMP) 及無機焦磷酸根 (PPi)。PPi 藉由結合至初生羥基磷灰石 (nascent hydroxyapatite，HA) 晶體並由此阻止此等結晶之未來生長來起異位組織礦化之強力抑制劑之作用。ENPP1 經由核苷酸三磷酸 (NTP) 水解產生 PPi。

【0004】 異位組織礦化與許多人類疾病相關，包括慢性關節疾病及急性致命新生兒症候群。為了預防不必要的組織鈣化，促進及抑制組織礦化之因子必須保持嚴格平衡。細胞外無機焦磷酸根 (PPi) 及磷酸根 (Pi) 之平衡為異位組織礦化之重要調節因素。

【發明內容】

【0005】 除其他事項外，本公開還描述了含有 ENPP1 多肽的凍乾調配物。除其他事項外，這種調配物的特點是在很廣的溫度範圍內具有明顯的穩定性。因此，在一方面而言，本公開描述了一凍乾多肽調配物，其中該調配物包含 ENPP1 多肽。

【0006】 在一些實施例中，本文所述的調配物包含緩衝劑。在一些實施例中，當緩衝劑復水在溶液中時，其可將 pH 範圍維持在 pH 6-7。在一些實施例中，當緩衝劑復水在溶液中時，其可將 pH 範圍維持在 pH 7-8。在一些實施例中，當緩衝劑復水在溶液中時，其可將 pH 範圍維持在 pH 6-8。在一些實施例中，緩衝劑是選自於由琥珀酸鹽、檸檬酸鹽、碳酸氫鹽、磷酸鹽、三羥甲基胺基甲烷(tris)或甘胺醯甘胺酸(glycylglycine)所組成的群組。在一些實施例中，緩衝劑是琥珀酸鹽、檸檬酸鹽或磷酸鹽。在一些實施例中，緩衝劑是檸檬酸鹽。在一些實施例中，緩衝劑是琥珀酸鹽。在一些實施例中，緩衝劑是磷酸鹽。在一些實施例中，當緩衝劑復水在溶液中時，其濃度範圍為 5 mM 至 100 mM。在一些實施例中，緩衝劑可提高聚集體形成的起始溫度。在一些實施例中，緩衝劑可使聚集體形成的起始溫度提高至少 2℃。在一些實施例中，緩衝劑可減少高分子量物質的形成。在一些實施例中，緩衝劑可使高分子量物質的形成減少至少 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或 50%。

【0007】 在一些實施例中，本文所述的調配物包含一種或多種醫藥上可接受的添加劑。在一些實施例中，此種醫藥上可接受的添加劑是或包含穩定劑、胺基酸、鹽類、金屬離子和界面活性劑。在一些實施例中，穩定劑是或包含糖、碳水化合物或多醣。在一些實施例中，此種糖是選自於由蔗糖、海藻糖、甘露糖、麥芽糖、乳糖、葡萄糖、棉子糖、纖維雙糖、龍膽二糖、異麥芽糖、阿拉伯糖、葡萄糖胺、果糖、甘露醇或山梨糖醇所組成的群組。在一些實施例中，一種或多種醫藥上可接受的添加劑是或包含甘露醇。在一些實施例中，醫藥上可接受的添加劑是或包含蔗糖。在一些實施例中，醫藥上可接受的添加劑是或包含胺基酸。在一些實施例中，此種胺基酸是選自於由甘胺酸、精胺酸、組胺酸、丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸和麩胺酸所組成的群組。在一些實施例中，胺基酸是精胺酸。在一些實施例中，醫藥上可接受的添加劑是鹽類，例如但不限於氯化鈉 (NaCl)、氯化鈣 ($CaCl_2$)、氯化鋅 ($ZnCl_2$) 及/或氯化鎂 ($MgCl_2$)。在一些實施例中，鹽類是氯化鈣 ($CaCl_2$)。在一些實施例中，該醫藥上可接受的添加劑是界面活性劑，例如但不限於聚山梨醇酯、泊洛沙姆 (poloxamer)、聚乙二醇辛基苯基醚 (triton)、十二烷基硫酸鈉、月桂基硫酸鈉、辛基糖苷鈉、月桂基磺基甜菜鹼、肉豆蔻基磺基甜菜鹼、亞油醯基磺基甜菜鹼、硬脂基磺基甜菜鹼、月桂基肌胺酸、肉豆蔻基肌胺酸、亞油醯肌胺酸、硬脂基肌胺酸、亞油醯甜菜鹼、肉豆蔻基甜菜鹼、鯨蠟基甜菜鹼、月桂醯桔基甜菜鹼、椰油醯胺對碘丙基甜菜鹼、亞油醯胺丙基甜菜鹼、肉豆蔻醯基甜菜鹼、棕櫚醯丙基甜菜鹼、異硬脂酸酯醯丙基甜菜鹼、肉豆蔻醯胺丙基二甲胺、棕櫚醯胺丙基二甲胺、硬脂醯胺丙基二甲胺、甲基椰油醯基牛磺酸鈉、甲基油醯基牛磺酸二鈉、二羥丙基 PEG 5 亞油基氯化銨、聚乙二醇、聚丙二醇、聚山梨醇酯 20、聚山梨醇酯 21、聚山梨醇酯 40、聚山梨醇酯 60、聚山梨醇酯 61、聚山梨醇酯 65、聚山梨醇酯 80、聚山梨醇酯 81、聚山梨醇酯 85、聚山梨醇酯 188、PEG 3350、以及其混合物。在

一些實施例中，界面活性劑是選自於由聚山梨醇酯 20 (PS20)、聚山梨醇酯 80 (PS80) 或聚山梨醇酯 188 (PS188) 所組成的群組。在一些實施例中，界面活性劑是聚山梨醇酯 20 (PS20)。

【0008】 在一些實施例中，本文所述的調配物包含緩衝劑、穩定劑、鹽類、胺基酸和界面活性劑。在一些實施例中，緩衝劑為檸檬酸鹽或琥珀酸鹽，穩定劑為蔗糖或甘露醇，鹽類為氯化鈣 ($CaCl_2$)，界面活性劑為聚山梨醇酯 20 (PS20)。

【0009】 在一些實施例中，本文所述的調配物的 pH 值 (例如在凍乾調配物的情況下，當復水在復水溶液或無菌水中時) 為 pH 6.2 至 pH 6.5。在一些實施例中，本文所述的調配物的 pH 值 (例如在凍乾調配物的情況下，當復水在復水溶液或無菌水中時) 是介於約 pH 6.0 至約 pH 7.0 之間，包括 pH 6.0 和 pH 7.0。

【0010】 在一些實施例中，本文所述的調配物包含約 15 mM 至約 25 mM 的檸檬酸鹽。

【0011】 在一些實施例中，本文所述的調配物包含約 75 mM 至約 95 mM 的蔗糖、甘露醇或其組合。

【0012】 在一些實施例中，本文所述的調配物包含約 100 mM 至約 300 mM 的蔗糖。

【0013】 在一些實施例中，本文所述的調配物包含約 1 mM 至約 3 mM 的氯化鈣。

【0014】 在一些實施例中，調配物包含界面活性劑。所述界面活性劑可以是或包含，例如聚山梨醇酯 20 (PS20)、聚山梨醇酯 80 (PS80) 或泊洛沙姆 Px188。在一些實施例中，界面活性劑是或包含 PS20。在一些實施例中，當界面活性劑復水在溶液中時，其是以約 0.02%至約 0.10% (w/v) 的濃度存在。在一些實施例中，本文所述的調配物包含約 0.005%至約 0.1% (w/v) 的界面活性劑。在一些實

施例中，本文所述的調配物包含約 0.005%至約 0.1% (w/v) 的 PS20。在一些實施例中，界面活性劑可增加對物理應力的抗性。

【0015】 在一些實施例中，當一種或多種醫藥上可接受的添加劑復水在溶液中時 (例如利用復水緩衝液或無菌水)，其濃度範圍是介於約 5 mM 至約 300 mM 之間。

【0016】 在一些實施例中，一種或多種醫藥上可接受的添加劑可減少高分子量物質的形成。

【0017】 在一些實施例中，一種或多種醫藥上可接受的添加劑可使高分子量物質的形成減少至少 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%。

【0018】 在一些實施例中，調配物包含 ENPP1 多肽輔因子，例如但不限於鈣、鋅及/或單磷酸腺苷。在一些實施例中，ENPP1 多肽輔因子是 $CaCl_2$、$CaSO_4$、$ZnCl_2$、$ZnSO_4$ 及/或單磷酸腺苷。在一些實施例中，ENPP1 多肽輔因子是 $CaCl_2$ 及/或單磷酸腺苷。在一些實施例中，當 ENPP1 多肽輔因子復水在溶液中時，其是以約 1 mM 至約 10 mM 的濃度存在。在一些實施例中，ENPP1 多肽輔因子可使高分子量物質的形成減少至少 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%。

【0019】 在一些實施例中，本文所述的調配物包含或特徵為均質的顆粒大小。在一些實施例中，本文所述的調配物包含在較大尺寸顆粒中的二倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍經由微流成像分析確定其所。

【0020】 在本文所述的任何調配物的一些實施例中，ENPP1 多肽包括與含有 SEQ ID NO：13、SEQ ID NO：14 或 SEQ ID NO：15 之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同的胺基酸序列。

【0021】 在一些實施例中，ENPP1 多肽包括與含有 SEQ ID NO：2 之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同的胺基酸序列。

【0022】 在一些實施例中，ENPP1 多肽是融合蛋白，其包含可溶性 ENPP1 多肽結構域以及一個或多個異源蛋白質部分。在一些實施例中，異源蛋白質部分提高可溶性 ENPP1 多肽在哺乳動物中的循環半衰期。在一些實施例中，異源蛋白質部分包含 Fc 結構域。在一些實施例中，Fc 結構域包括與 SEQ ID NO：12 之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更加相同的胺基酸序列。在一些實施例中，ENPP1 多肽是 ENPP1-Fc 融合蛋白。在一些實施例中，ENPP1 多肽還包含異源部分。在一些實施例中，異源部分是選自於由醣基化胺基酸、聚乙二醇化胺基酸、法尼基化胺基酸（farnesylated amino acid）、乙醯化胺基酸、生物素化胺基酸和脂質部分所組成的群組。

【0023】 在一些實施例中，ENPP1 多肽包括與含有 SEQ ID NO：13 之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同的胺基酸序列。在一些實施例中，ENPP1 多肽與 SEQ ID NO：13 是至少 90%相同。在一些實施例中，ENPP1 多肽與 SEQ ID NO：13 是至少 95%相同。在一些實施例中，ENPP1 多肽與 SEQ ID NO：13 是至少 99%相同。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：13。在一些實施例中，ENPP1 多肽是由 SEQ ID NO：13 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 Fc 結構域。Fc 結構域可以包含 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列或由 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含連接 ENPP1 多肽部分與 Fc 結構域的連接子胺基酸序列。在一些實施例中，連接子胺基酸序列包括胺基酸序列 LIN 或由胺基酸序列 LIN 所組成。在一些實

施例中，ENPP1 多肽由 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11 所組成或包含 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：9 或由 SEQ ID NO：9 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：10 或由 SEQ ID NO：10 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：11 或由 SEQ ID NO：11 所組成。

【0024】 在一些實施例中，ENPP1 多肽包括與含有 SEQ ID NO：14 之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同的胺基酸序列。在一些實施例中，ENPP1 多肽與 SEQ ID NO：14 是至少 90%相同。在一些實施例中，ENPP1 多肽與 SEQ ID NO：14 是至少 95%相同。在一些實施例中，ENPP1 多肽與 SEQ ID NO：14 是至少 99%相同。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：14。在一些實施例中，ENPP1 多肽由 SEQ ID NO：14 組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 Fc 結構域。Fc 結構域可以包含 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列或由 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含連接 ENPP1 多肽部分與 Fc 結構域的連接子胺基酸序列。在一些實施例中，連接子胺基酸序列包括胺基酸序列 LIN 或由胺基酸序列 LIN 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽由 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11 所組成或包含 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：9 或由 SEQ ID NO：9 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：10 或由 SEQ ID NO：10 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：11 或由 SEQ ID NO：11 所組成。

【0025】 在一些實施例中，ENPP1 多肽包括與含有 SEQ ID NO：15 之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同的胺基酸序列。在一些實施例中，ENPP1 多肽與

SEQ ID NO：15 是至少 90%相同。在一些實施例中，ENPP1 多肽與 SEQ ID NO：15 是至少 95%相同。在一些實施例中，ENPP1 多肽與 SEQ ID NO：15 是至少 99%相同。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：15。在一些實施例中，ENPP1 多肽是由 SEQ ID NO：15 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 Fc 結構域。Fc 結構域可以包含 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列或由 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含連接 ENPP1 多肽部分與 Fc 結構域的連接子胺基酸序列。在一些實施例中，連接子胺基酸序列包括胺基酸序列 LIN 或由胺基酸序列 LIN 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽由 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11 所組成或包含 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：9 或由 SEQ ID NO：9 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：10 或由 SEQ ID NO：10 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：11 或由 SEQ ID NO：11 所組成。

【0026】 在一些實施例中，調配物包括：ENPP1 多肽、緩衝劑、醫藥上可接受的鹽、穩定劑、界面活性劑以及一種或多種醫藥上可接受的添加劑。在一些實施例中，緩衝劑是檸檬酸鹽緩衝劑。所述檸檬酸鹽緩衝劑可以是例如檸檬酸三鈉鹽二水合物。在一些實施例中，醫藥上可接受的鹽是氯化鈣。在一些實施例中，穩定劑是糖，例如蔗糖。在一些實施例中，一種或多種醫藥上可接受的添加劑是或包含甘露醇。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：13 或由 SEQ ID NO：13 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：14 或由 SEQ ID NO：14 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：15 或由 SEQ ID NO：15 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 Fc 結構域。Fc 結構域可以包含 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列或由 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含連接 ENPP1

多肽部分與 Fc 結構域的連接子胺基酸序列。在一些實施例中，連接子胺基酸序列包括胺基酸序列 LIN 或由胺基酸序列 LIN 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽由 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11 所組成或包含 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：9 或由 SEQ ID NO：9 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：10 或由 SEQ ID NO：10 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：11 或由 SEQ ID NO：11 所組成。

【0027】 在一些實施例中，調配物包括：ENPP1 多肽、檸檬酸鹽緩衝劑、氯化鈣、蔗糖以及聚山梨醇酯。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：13 或由 SEQ ID NO：13 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：14 或由 SEQ ID NO：14 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：15 或由 SEQ ID NO：15 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 Fc 結構域。Fc 結構域可以包含 SEQ ID NO：12 或由 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含連接 ENPP1 多肽部分與 Fc 結構域的連接子胺基酸序列。在一些實施例中，連接子胺基酸序列包括胺基酸序列 LIN 或由胺基酸序列 LIN 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽由 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11 所組成或包含 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：9 或由 SEQ ID NO：9 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：10 或由 SEQ ID NO：10 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：11 或由 SEQ ID NO：11 所組成。

【0028】 在一些實施例中，調配物包括：ENPP1 多肽、檸檬酸三鈉鹽二水合物、氯化鈣二水合物、蔗糖以及聚山梨醇酯 20。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：13 或由 SEQ ID NO：13 所組成。在一些實施例中，ENPP1

多肽包含 SEQ ID NO：14 或由 SEQ ID NO：14 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：15 或由 SEQ ID NO：15 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 Fc 結構域。Fc 結構域可以包含 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列或由 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含連接 ENPP1 多肽部分與 Fc 結構域的連接子胺基酸序列。在一些實施例中，連接子胺基酸序列包括胺基酸序列 LIN 或由胺基酸序列 LIN 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽由 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11 所組成或包含 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：9 或由 SEQ ID NO：9 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：10 或由 SEQ ID NO：10 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：11 或由 SEQ ID NO：11 所組成。

【0029】 在一些實施例中，調配物包括：ENPP1 多肽、檸檬酸鹽緩衝劑、氯化鈣、蔗糖、甘露醇以及聚山梨醇酯。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：13 或由 SEQ ID NO：13 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：14 或由 SEQ ID NO：14 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：15 或由 SEQ ID NO：15 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 Fc 結構域。Fc 結構域可以包含 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列或由 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含連接 ENPP1 多肽部分與 Fc 結構域的連接子胺基酸序列。在一些實施例中，連接子胺基酸序列包括胺基酸序列 LIN 或由胺基酸序列 LIN 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽由 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11 所組成或包含 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：9 或由 SEQ ID NO：9 所組成。在一些實施例中，ENPP1

多肽包含 SEQ ID NO：10 或由 SEQ ID NO：10 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：11 或由 SEQ ID NO：11 所組成。

【0030】 在一些實施例中，調配物包括：ENPP1 多肽、檸檬酸三鈉鹽二水合物、氯化鈣二水合物、蔗糖、D (-) 甘露醇以及聚山梨醇酯 20。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：13 或由 SEQ ID NO：13 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：14 或由 SEQ ID NO：14 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：15 或由 SEQ ID NO：15 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 Fc 結構域。Fc 結構域可以包含 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列或由 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含連接 ENPP1 多肽部分與 Fc 結構域的連接子胺基酸序列。在一些實施例中，連接子胺基酸序列包括胺基酸序列 LIN 或由胺基酸序列 LIN 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽由 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11 所組成或包含 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：9 或由 SEQ ID NO：9 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：10 或由 SEQ ID NO：10 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：11 或由 SEQ ID NO：11 所組成。

【0031】 在一些實施例中，每 0.5 毫升之最終復水體積的調配物包括：約 25 毫克 ENPP1 多肽、約 2.94 毫克檸檬酸三鈉鹽二水合物、約 0.15 毫克氯化鈣二水合物、約 30 毫克蔗糖、約 7.5 毫克 D (-) 甘露醇以及約 0.25 毫克聚山梨醇酯 (例如 PS20)。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：13 或由 SEQ ID NO：13 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：14 或由 SEQ ID NO：14 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：15 或由 SEQ ID NO：15 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 Fc 結構域。Fc 結構域可以包含

SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列或由 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含連接 ENPP1 多肽部分與 Fc 結構域的連接子胺基酸序列。在一些實施例中，連接子胺基酸序列包括胺基酸序列 LIN 或由胺基酸序列 LIN 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽由 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11 所組成或包含 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：9 或由 SEQ ID NO：9 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：10 或由 SEQ ID NO：10 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：11 或由 SEQ ID NO：11 所組成。

【0032】 在一些實施例中，調配物可以被復水在無菌可注射溶液中。在一些實施例中，調配物可以被復水在復水溶液或無菌水中。在一些實施例中，復水溶液包含醫藥上可接受的載劑及/或添加劑。在一些實施例中，醫藥上可接受的載劑是選自於生理食鹽溶液、純水或注射用無菌水。在一些實施例中，調配物可以在小於 100 秒、80 秒、70 秒、68 秒、65 秒或 60 秒的時間內完全復水。

【0033】 在一些實施例中，經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 2 mM 的氯化鈣、約 175 mM 的蔗糖、約 82 mM 的甘露醇以及約 0.05% w/v 的聚山梨醇酯。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：13 或由 SEQ ID NO：13 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：14 或由 SEQ ID NO：14 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：15 或由 SEQ ID NO：15 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 Fc 結構域。Fc 結構域可以包含 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列或由 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含連接 ENPP1 多肽部分與 Fc 結構域的連接子胺基酸序列。在一些實施例中，連接子胺基酸序列包括胺基酸序列 LIN 或由胺基酸序列 LIN 所組

成。在一些實施例中，ENPP1 多肽由 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11 所組成或包含 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11。

【0034】 在一些實施例中，經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 2 mM 的氯化鈣、約 175 mM 的蔗糖、約 82 mM 的 (D) 甘露醇以及約 0.05% w/v 的聚山梨醇酯 20。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：13 或由 SEQ ID NO：13 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：14 或由 SEQ ID NO：14 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：15 或由 SEQ ID NO：15 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 Fc 結構域。Fc 結構域可以包含 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列或由 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含連接 ENPP1 多肽部分與 Fc 結構域的連接子胺基酸序列。在一些實施例中，連接子胺基酸序列包括胺基酸序列 LIN 或由胺基酸序列 LIN 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽由 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11 所組成或包含 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11。

【0035】 在一些實施例中，經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 88 mM 的蔗糖、約 82 mM 的甘露醇、約 2 mM 的氯化鈣以及約 0.05%的聚山梨醇酯 20。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：13 或由 SEQ ID NO：13 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：14 或由 SEQ ID NO：14 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：15 或由 SEQ ID NO：15 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 Fc 結構域。Fc 結構域可以包含 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列或由 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含連接 ENPP1 多肽部分與 Fc 結構域的連接子胺基酸序列。在一些實施例

中，連接子胺基酸序列包括胺基酸序列 LIN 或由胺基酸序列 LIN 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽由 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11 所組成或包含 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11。

【0036】 在一些實施例中，經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 263 mM 的蔗糖、約 2 mM 的氯化鈣以及約 0.05%的聚山梨醇酯 20。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：13 或由 SEQ ID NO：13 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：14 或由 SEQ ID NO：14 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：15 或由 SEQ ID NO：15 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含 Fc 結構域。Fc 結構域可以包含 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列或由 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽包含連接 ENPP1 多肽部分與 Fc 結構域的連接子胺基酸序列。在一些實施例中，連接子胺基酸序列包括胺基酸序列 LIN 或由胺基酸序列 LIN 所組成。在一些實施例中，ENPP1 多肽由 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11 所組成或包含 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11。

【0037】 在一些實施例中，凍乾調配物在-80°C 至 40°C 下表現出長期穩定性。在一些實施例中，凍乾調配物的保存期限為至少 3、6、12、24、36、48 或 60 個月。在一些實施例中，經復水調配物的保存期限為至少 1、2、3、4、5、6、12、18、24、48 或 60 小時。

【0038】 在一些實施例中，凍乾調配物在 5°C 下儲存時，可貯存至少 36 個月。在一些實施例中，該調配物在 5°C 下儲存時，可貯存 48 個月。該調配物在室溫 (RT 25°C) 下儲存時，可貯存至少 24 個月。該調配物在室溫下儲存時，可貯存至少 36 個月。該調配物在室溫下儲存時，可貯存 48 個月。該調配物在

40°C 下儲存時，可貯存至少 6 個月。該調配物在 40°C 下儲存時，可貯存 12 個月。

【0039】 在一些實施例中，經復水的調配物在 1 mg/ml 至 50 mg/ml 的濃度範圍內，在室溫下可穩定至少 8 小時。在一些實施例中，經復水的調配物在 1 mg/ml 至 50 mg/ml 的濃度範圍內，在 5°C 下可穩定至少 24 小時。

【0040】 在一些實施例中，經復水的調配物在 1 mg/ml 至 10 mg/ml 的濃度範圍內，在 5°C 下可穩定至少 12 小時。在一些實施例中，經復水的調配物在濃度為 1 mg/ml，於 5°C 下可穩定至少 12 小時。在一些實施例中，經復水的調配物在濃度為 2.5 mg/ml，於 5°C 下可穩定至少 12 小時。在一些實施例中，經復水的調配物在濃度為 10 mg/ml，於 5°C 下可穩定至少 12 小時。

【0041】 在一些實施例中，經復水的調配物是儲存在小瓶中。在一些實施例中，經復水的調配物是儲存在注射器中。在一些實施例中，當經復水的調配物於 5°C 下儲存在小瓶中時，可穩定至少 12 小時。在一些實施例中，當經復水的調配物於 5°C 下儲存在注射器中時，可穩定至少 8 小時。

【0042】 因此，本公開還描述了一種包含凍乾調配物的小瓶，該凍乾調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該小瓶包含 1 至 100 毫克，例如 1 毫克、5 毫克、10 毫克、15 毫克、20 毫克、25 毫克或 50 毫克或 100 毫克的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0043】 在一些實施例中，小瓶包含調配物，該調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該小瓶包含 100 毫克的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0044】 在一些實施例中，小瓶包含調配物，該調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該小瓶包含 50 毫克的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0045】 在一些實施例中，小瓶包含調配物，該調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該小瓶包含 25 毫克的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0046】 在一些實施例中，小瓶包含調配物，該調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該小瓶包含 10 毫克的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0047】 在一些實施例中，小瓶包含調配物，該調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該小瓶包含 5 毫克的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0048】 在一些實施例中，小瓶包含調配物，該調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該小瓶包含 2.5 毫克的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0049】 在一些實施例中，小瓶包含調配物，該調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該小瓶包含 1 毫克的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0050】 因此，本公開還描述了一種包含調配物的小瓶，該調配物包含經復水的 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該小瓶包含 1 毫克/毫升至 100 毫克/毫升，例如 1 毫克/毫升、5 毫克/毫升、10 毫克/毫升、15 毫克/毫升、20 毫克/毫升、25 毫克/毫升或 50 毫克/毫升或 100 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0051】 在一些實施例中，小瓶包含調配物，該調配物包含經復水的 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該小瓶包含 100 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0052】 在一些實施例中，小瓶包含調配物，該調配物包含經復水的ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該小瓶包含 50 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0053】 在一些實施例中，小瓶包含調配物，該調配物包含經復水的ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該小瓶包含 25 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0054】 在一些實施例中，小瓶包含調配物，該調配物包含經復水的ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該小瓶包含 10 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0055】 在一些實施例中，小瓶包含調配物，該調配物包含經復水的ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該小瓶包含 5 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0056】 在一些實施例中，小瓶包含調配物，該調配物包含經復水的ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該小瓶包含 2.5 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0057】 在一些實施例中，小瓶包含調配物，該調配物包含經復水的ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該小瓶包含 1 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0058】 在一些實施例中，小瓶包含調配物，該調配物包含經復水的ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該小瓶包含 0.5 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0059】 在一些實施例中，小瓶包含調配物，該調配物包含經復水的ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該小瓶包含 0.1 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0060】 因此，本公開還描述了一種包含凍乾調配物的注射器，該凍乾調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 1 至 100 毫克，例如 1 毫克、5 毫克、10 毫克、15 毫克、20 毫克、25 毫克或 50 毫克或 100 毫克的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0061】 在一些實施例中，注射器包含調配物，該調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 100 毫克的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0062】 在一些實施例中，注射器包含調配物，該調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 50 毫克的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0063】 在一些實施例中，注射器包含調配物，該調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 25 毫克的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0064】 在一些實施例中，注射器包含調配物，該調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 10 毫克的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0065】 在一些實施例中，注射器包含調配物，該調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 5 毫克的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0066】 在一些實施例中，注射器包含調配物，該調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 2.5 毫克的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0067】 在一些實施例中，注射器包含調配物，該調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 1 毫克的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0068】 在一些實施例中，注射器包含調配物，該調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 0.5 毫克的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0069】 在一些實施例中，注射器包含調配物，該調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 0.1 毫克的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0070】 因此，本公開還描述了一種包含調配物的注射器，該調配物包含經復水的 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 1 毫克/毫升至 100 毫克/毫升，例如 1 毫克/毫升、5 毫克/毫升、10 毫克/毫升、15 毫克/毫升、20 毫克/毫升、25 毫克/毫升或 50 毫克/毫升或 100 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0071】 在一些實施例中，注射器包含調配物，該調配物包含經復水的 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 100 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0072】 在一些實施例中，注射器包含調配物，該調配物包含經復水的 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 50 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0073】 在一些實施例中，注射器包含調配物，該調配物包含經復水的 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 25 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0074】 在一些實施例中，注射器包含調配物，該調配物包含經復水的ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 10 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0075】 在一些實施例中，注射器包含調配物，該調配物包含經復水的ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 5 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0076】 在一些實施例中，注射器包含調配物，該調配物包含經復水的ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 2.5 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0077】 在一些實施例中，注射器包含調配物，該調配物包含經復水的ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 1 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0078】 在一些實施例中，注射器包含調配物，該調配物包含經復水的ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 0.5 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0079】 在一些實施例中，注射器包含調配物，該調配物包含經復水的ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 0.1 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0080】 在一些實施例中，該凍乾的 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc 多肽，是儲存在小瓶中。在一些實施例中，該小瓶包含 0.1 毫克的凍乾 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc 多肽。在一些實施例中，該小瓶包含 0.5 毫克的凍乾 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc 多肽。在一些實施例中，該小瓶包含 1 毫克的凍乾 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc 多肽。在一些實施例中，該小瓶包含 5 毫克的凍乾 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc 多肽。在一些實施例中，該小瓶包含 10 毫克的凍乾 ENPP1，較佳為

ENPP1-Fc 多肽。在一些實施例中，該小瓶包含 15 毫克的凍乾 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc 多肽。在一些實施例中，該小瓶包含 25 毫克的凍乾 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc 多肽。在其他實施例中，該小瓶包含 50 毫克的凍乾 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc 多肽。在一些實施例中，該小瓶包含 100 毫克的凍乾 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc 多肽。

【0081】 在一些實施例中，凍乾的 ENPP1-Fc 調配物可被復水用於給藥，並儲存在注射器中。在一些實施例中，注射器包含 100 毫克/毫升的 ENPP1-Fc，可用於給藥或隨後稀釋。在一些實施例中，注射器包含 50 毫克/毫升的 ENPP1-Fc，可用於給藥或隨後稀釋。在一些實施例中，注射器包含 25 毫克/毫升的 ENPP1-Fc，可用於給藥或隨後稀釋。在一些實施例中，注射器包含 20 毫克/毫升的 ENPP1-Fc，可用於給藥或隨後稀釋。在一些實施例中，注射器包含 15 毫克/毫升的 ENPP1-Fc，可用於給藥或隨後稀釋。在一些實施例中，注射器包含 10 毫克/毫升的 ENPP1-Fc，可用於給藥或隨後稀釋。在一些實施例中，注射器包含 5 毫克/毫升的 ENPP1-Fc，可用於給藥或隨後稀釋。在一些實施例中，注射器包含 4 毫克/毫升的 ENPP1-Fc，可用於給藥或隨後稀釋。在一些實施例中，注射器包含 3 毫克/毫升的 ENPP1-Fc，可用於給藥或隨後稀釋。在一些實施例中，注射器包含 2.5 毫克/毫升的 ENPP1-Fc，可用於給藥或隨後稀釋。在一些實施例中，注射器包含 2 毫克/毫升的 ENPP1-Fc，可用於給藥或隨後稀釋。在一些實施例中，注射器包含 1 毫克/毫升的 ENPP1-Fc，可用於給藥或隨後稀釋。

【0082】 因此，本公開還描述了一種包含調配物的注射器，該調配物包含 ENPP1，較佳為 ENPP1-Fc，和一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑，其中該注射器包含 1 毫克/毫升至 50 毫克/毫升，例如 1 毫克/毫升、5 毫克/毫升、10 毫克/毫升、15 毫克/毫升、20 毫克/毫升、25 毫克/毫升或 50 毫克/毫升的 ENPP1 或 ENPP1-Fc。

【0083】 在一些實施例中，ENPP1-Fc 調配物是以 0.2 毫克/公斤至 1.8 毫克/公斤的劑量施用於成人。在一些實施例中，ENPP1-Fc 調配物是以 0.2 毫克/公斤至 0.6 毫克/公斤的劑量施用於兒童和體重超過 1 公斤的嬰兒。在一些實施例中，ENPP1-Fc 調配物是以 0.05 毫克/公斤至 0.2 毫克/公斤的劑量施用於體重在 1 公斤以下的早產兒。在一些實施例中，ENPP1-Fc 調配物是以 0.2 毫克/公斤的劑量施用於體重超過 1 公斤的嬰兒。在一些實施例中，ENPP1-Fc 調配物是以 0.1 毫克/公斤的劑量施用於體重在 1 公斤以下的早產兒。

【0084】 在一些實施例中，本文所述的任何凍乾調配物都包含治療上有效的劑量。

【0085】 在一些實施例中，本文所述的任何經復水的調配物都包含治療上有效的劑量。

【0086】 在另一方面，本公開描述了一種生成或製造本文所述的任何凍乾調配物的方法。該方法包括將 ENPP1 多肽 (例如含有 ENPP1 之催化結構域和免疫球蛋白之 Fc 區的融合多肽) 與一種或多種緩衝劑、穩定劑、鹽類、胺基酸以及界面活性劑加以混合。在一些實施例中，該方法包括將 ENPP1 多肽與檸檬酸鹽緩衝液、蔗糖、甘露醇、氯化鈣以及聚山梨醇酯 20 加以混合。

【0087】 在又一方面，本公開描述了一種生成含有 ENPP1 多肽的藥物溶液的方法。該方法包括將本文所述的任何凍乾多肽調配物與無菌復水溶液或無菌水接觸，從而生成含有 ENPP1 多肽的復水溶液。在一些實施例中，復水溶液包含醫藥上可接受的載劑及/或添加劑。在一些實施例中，醫藥上可接受的載劑是選自於生理食鹽溶液、純水或注射用無菌水。在一些實施例中，調配物可以在小於 100 秒、80 秒、70 秒、68 秒、65 秒或 60 秒的時間內完全復水。在一些實施例中，經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 2 mM 的氯化鈣、約 175 mM 的蔗糖、約 82 mM 的甘露

醇以及約 0.05% w/v 的聚山梨醇酯。在一些實施例中，經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 2 mM 的氯化鈣、約 175 mM 的蔗糖、約 82 mM 的 (D) 甘露醇以及約 0.05% w/v 的聚山梨醇酯 20。在一些實施例中，經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 88 mM 的蔗糖、約 82 mM 的甘露醇、約 2 mM 的氯化鈣以及約 0.05%的聚山梨醇酯 20。在一些實施例中，經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 263 mM 的蔗糖、約 2 mM 的氯化鈣以及約 0.05%的聚山梨醇酯 20。在另一方面，本公開描述了一種透過本文所述的生成藥物溶液之任何方法所製成的復水溶液。

【0088】 在又一方面，本公開描述了一種預防有需要的個體中血管鈣化惡化或減少血管鈣化的方法。該方法包括：向個體施用有效量的本文所述之任何經復水的調配物，以預防個體血管鈣化的惡化或減少血管鈣化。

【0089】 在另一方面，本公開描述了一種預防患有 ENPP1 缺乏症的個體中病理性鈣化惡化或減少病理性鈣化的方法。在另一方面，本公開描述了一種治療患有 ENPP1 缺乏症的個體的方法。這些方法包括：向個體施用有效量的本文所述之任何經復水的調配物，以預防個體病理性鈣化的惡化或減少病理性鈣化。

【0090】 在另一方面，本公開描述了一種預防患有 ABCC6 缺乏症的個體中病理性鈣化惡化或減少病理性鈣化的方法。在另一方面，本公開描述了一種治療患有 ABCC6 缺乏症的個體的方法，例如 PXE。這些方法包括：向個體施用有效量的本文所述之任何經復水的調配物，以預防個體病理性鈣化的惡化或減少病理性鈣化。

【0091】 在一些實施例中，經復水的調配物可以以約每公斤 0.1 毫克、約每公斤 0.2 毫克、約每公斤 0.6 毫克或約每公斤 1.8 毫克的劑量施用於個體。

【0092】 在一些實施例中，經復水的調配物可以以約每公斤 0.1 毫克、約每公斤 0.2 毫克、約每公斤 0.3 毫克、約每公斤 0.4 毫克、約每公斤 0.5 毫克、約每公斤 0.6 毫克、約每公斤 0.7 毫克、約每公斤 0.8 毫克、約每公斤 0.9 毫克、約每公斤 1 毫克、約每公斤 1.1 毫克、約每公斤 1.2 毫克、約每公斤 1.3 毫克、約每公斤 1.4 毫克、約每公斤 1.5 毫克、約每公斤 1.6 毫克、約每公斤 1.7 毫克或約每公斤 1.8 毫克的劑量施用於個體。

【0093】 在又一方面，本公開描述了一種預防有需要的個體中組織鈣化惡化或減少組織鈣化的方法，該方法包括向個體施用有效量的本文所述之任何經復水的調配物，以預防個體組織鈣化的惡化或減少組織鈣化。在一些實施例中，個體患有或懷疑患有 ENPP1 缺乏症。在一些實施例中，個體患有或懷疑患有 ABCC6 缺乏症 (例如彈性纖維假黃瘤 (pseudoxanthoma elasticum，PXE))。

【0094】 在又一方面，本公開描述了一種預防有需要的個體中病理性骨化 (pathological ossification)惡化或減少病理性骨化的方法。該方法包括向個體施用有效量的本文所述之任何經復水的調配物，以預防個體病理性骨化的惡化或減少病理性骨化。在一些實施例中，個體患有或懷疑患有 ENPP1 缺乏症。在一些實施例中，個體患有或懷疑患有 ABCC6 缺乏症 (例如彈性纖維假黃瘤 (PXE))。

【0095】 在又一方面，本公開描述了一種增加有需要的個體中循環焦磷酸 (pyrophosphate，PPi) 的方法。該方法包括向個體施用有效量的本文所述之任何經復水的調配物，以增加個體體內的循環 PPi。在一些實施例中，個體患有或懷疑患有 ENPP1 缺乏症。在一些實施例中，個體患有或懷疑患有 ABCC6 缺乏症 (例如彈性纖維假黃瘤 (PXE))。片語「NPP1 缺乏」或「ENPP1 缺乏症」是指相對於 NPP1 蛋白的正常血清水平或 NPP1 的正常活性，NPP1 蛋白量或 NPP1 活性的減

少，其中此種減少會導致病理性鈣化及/或病理性骨化及/或 PPi 水平降低的疾病或異常。這些病理疾病包括但不限於 GACI 和 ARHR2。本文所使用的 ENPP1 缺乏症並不是指 NPP1 蛋白量及/或 NPP1 活性的小幅減少，而不會導致病理性鈣化及/或病理性骨化的疾病或異常。本文所使用的片語「ABCC6 缺乏病患」或「ABCC6 缺乏個體」是指在 ABCC6 基因中具有至少一個可影響 ABC66 蛋白活性及/或表現的致病性突變的病患。

【0096】 在另一方面，本公開描述了一種增加有需要的個體中焦磷酸酶活性的方法。該方法包括向個體施用有效量的本文所述之任何經復水的調配物，以增加個體體內的循環 PPi。在一些實施例中，個體患有或懷疑患有 ENPP1 缺乏症。在一些實施例中，個體患有或懷疑患有 ABCC6 缺乏症 (例如彈性纖維假黃瘤 (PXE))。術語「焦磷酸酶活性」是指 ENPP1 酶水解分子 (如 ATP) 中二個磷酸基團間的焦磷酸鍵的能力。

【0097】 在本文所述的任何方法的一些實施例中，個體患有涉及病理性鈣化的病症。在本文所述的任何方法的一些實施例中，個體患有涉及病理性骨化的病症。在本文所述的任何方法的一些實施例中，個體患有或有風險罹患病理性軟組織鈣化、動脈鈣化、血管鈣化、慢性腎臟病 (chronic kidney disease，CKD)、末期腎病 (end stage renal disease，ESRD)、鈣化尿毒症性小動脈病變 (calcific uremic arteriolopathy，CUA)、鈣過敏、後縱韌帶骨化症 (ossification of the posterior longitudinal ligament，OPLL) 或低磷酸鹽佝僂症。

【0098】 在又一方面，本公開描述了一種治療或緩解個體中ENPP1缺乏症的一種或多種症狀的方法，該方法包括向個體施用本文所述的任何經復水的調配物，以緩解個體中ENPP1缺乏症的一種或多種症狀。

【0099】 在另一方面，本公開描述了一種治療患有ENPP1缺乏症的個體的方法。該方法包括向個體施用本文所述的任何經復水調配物，藉此治療個體。

【0100】 在又一方面，本公開描述了一種治療或緩解個體中ABCC6缺乏症的一種或多種症狀的方法，該方法包括向個體施用有效量的本文所述之任何經復水的調配物，以緩解個體中ABCC6缺乏症的一種或多種症狀。

【0101】 在另一方面，本公開描述了一種治療患有ABCC6缺乏症的個體的方法，該方法包括向個體施用有效量的經復水的調配物，以治療該個體。

【0102】 在本文所述的任何方法的一些實施例中，經復水的調配物是以非經腸道方式給藥。在本文所述的任何方法的一些實施例中，經復水的調配物是透過皮下注射給藥。在本文所述的任何方法的一些實施例中，經復水的調配物是透過靜脈注射給藥。在本文所述的任何方法的一些實施例中，經復水的調配物是透過皮內注射給藥。在本文所述的任何方法的一些實施例中，重組的調配物是透過肌肉注射給藥。

【0103】 在本文所述的任何方法的一些實施例中，經復水的調配物是自我給藥的。在本文所述的任何方法的一些實施例中，調配物是每天、每兩天、三天、一周或一個月給藥數次。

【0104】 在本文所述的任何方法的一些實施例中，第二劑量 (或額外劑量) 的調配物是在適當的時間間隔後 (即從第一劑量或先前劑量起至少兩天後、四天後、一周後或一個月後) 進行給藥。

【圖式簡單說明】

【0105】 **圖1**顯示野生型ENPP1前驅蛋白質之完整、未加工的胺基酸序列(SEQ ID NO：1)。胞質區及跨膜區加底線。潛在N-醣基化位點以粗體顯示。PSCAKE (殘基99-104；加框) 為可溶性ENPP1蛋白質部分之起點，其包括SMB1 (殘基104-144) 及SMB2 (殘基145-189)。

【0106】 **圖2**顯示了胞質結構域 (殘基1-77)、跨膜結構域 (TM) (殘基77-100)、類生長調節素-B (somatomedin-B-like) 結構域-1 (SMB1) (殘基100-142)、類生長調節素-B結構域-2 (SMB2) (殘基142-187)、催化結構域以及人類ENPP1的核酸酶結構域。

【0107】 **圖3**顯示了可溶性ENPP1多肽的胺基酸序列 (SEQ ID NO：2)。

【0108】 **圖4A**及**圖4B**顯示了各種脊椎動物可溶性ENPP1多肽與人類可溶性ENPP1多肽之多序列比對 (SEQ ID NO：4-8)。各種可溶性ENPP1多肽對應於以下物種且代表特定NCBI登錄號之區域：小鼠 (NCBI登錄號NP_001295256.1；SEQ ID NO：4)、牛 (NCBI登錄號NP_001193141；SEQ ID NO：5)、兔 (NCBI登錄號NP_001162404.1；SEQ ID NO：6)、人類 (NCBI登錄號NP_006199.2；SEQ ID NO：7)、及狒狒 (NCBI登錄號NP_001076211.2；SEQ ID NO：8)。

【0109】 **圖5**是長條圖，其顯示了含有各種緩衝劑組成分的ENPP1-Fc調配物的尺寸排阻層析 (SEC) 結果概要。數據是以%高分子量物質 (HMW) 或%主峰顯示。

【0110】 **圖6**是長條圖，其顯示了含有緩衝劑和賦形劑組成分之各種組合的凍乾ENPP1-Fc多肽調配物的經復水調配物的回收百分比。

【0111】 **圖7**是長條圖，其顯示了在5°C和40°C下，含有緩衝劑和賦形劑組成分之各種組合的凍乾ENPP1-Fc多肽調配物的酶活性數據概要。活性數據是以U/mg表示。

【0112】 **圖8**是長條圖，其顯示了在5°C和40°C下，含有緩衝劑和賦形劑組成分之各種組合的凍乾ENPP1-Fc多肽調配物的SEC數據概要。數據是以高分子量物質 (HMW)、主峰物質或低分子量物質 (LMW) 的豐度百分比顯示。

【0113】 **圖9A**和**圖9B**是長條圖，其顯示了含有各種緩衝劑、賦形劑和界面活性劑組成分的凍乾ENPP1-Fc多肽調配物的SEC數據概要。所描述的調配物在應力條件下進行測試，包括在600 rpm下進行攪動 (描述為「攪拌(agit)」) 或5回合的冷凍解凍循環 (即在-80°C下儲存大於等於60分鐘，然後在室溫下解凍，描述為「冷凍/解凍(F/T)」)。數據是以%HMW (圖 9A) 或主峰百分比 (圖 9B) 顯示。

【0114】 **圖10**是長條圖，其顯示了含有在琥珀酸鹽和蔗糖緩衝劑/添加劑背景下之各種輔因子的凍乾ENPP1-Fc多肽調配物的SEC數據概要。該數據代表了在5°C下HMW和主峰物質的豐度百分比。

【0115】 **圖11**是長條圖，其顯示了含有在琥珀酸鹽、蔗糖和PS20緩衝劑/添加劑/界面活性劑背景下之各種輔因子的凍乾ENPP1-Fc多肽調配物的SEC數據概要。該數據代表了在40°C下保溫約6天的HMW和主峰物質的豐度百分比。

【0116】 **圖12A**和**圖12B**是長條圖，其顯示了含有在琥珀酸鹽、蔗糖和PS20緩衝劑/添加劑/界面活性劑背景下之各種輔因子的凍乾ENPP1-Fc多肽調配物的SEC數據概要。該數據代表了在5°C下 (圖12B) 或在40°C下保溫約6天 (圖12A) 的HMW、LMW和主峰物質的豐度百分比。

【0117】 **圖13**是長條圖，其顯示了凍乾ENPP1-Fc多肽調配物樣品的滲透壓數據概要。

【0118】 **圖14**是長條圖，其顯示了在-75°C、5°C或40°C下儲存長達13周，含有數種較佳緩衝劑/賦形劑/添加劑/界面活性劑組合之凍乾ENPP1-Fc多肽調配物樣品的SEC數據概要。該數據代表了在不同調配物/條件下之HMW和主峰物質的豐度百分比。

【0119】 **圖15**是一圖表，其顯示了在5°C、25°C或40°C下儲存三個月，兩個較佳凍乾ENPP1多肽調配物 (穩定性調配物A和穩定性調配物B) 的SEC數據概要。

【0120】 **圖16**是一圖表，其顯示了在5°C、25°C或40°C下儲存三個月，兩個較佳凍乾ENPP1多肽調配物 (穩定性調配物A和穩定性調配物B) 的酶活性數據概要。

【0121】 **圖17**是一圖表，其顯示了凍乾ENPP1-Fc多肽調配物在5°C下儲存不同時間段的SEC數據概要。

【0122】 **圖18**是一圖表，其顯示了凍乾ENPP1-Fc多肽調配物在25°C下儲存不同時間段的SEC數據概要。

【0123】 **圖19**是一圖表，其顯示了凍乾ENPP1-Fc多肽調配物在40°C下儲存不同時間段的SEC數據概要。

【0124】 **圖20**是一圖表，其顯示了凍乾ENPP1-Fc多肽調配物在如5°C、25°C和40°C下儲存不同時間段的酶活性數據概要。

【0125】 **圖21**是長條圖，其顯示了儲存在注射器或小瓶中之凍乾ENPP1-Fc多肽，其於不同時間間隔下經復水調配物的回收百分比。

【0126】 **圖22**是長條圖，其顯示了儲存在注射器或小瓶中之凍乾ENPP1-Fc多肽於不同時間間隔的酶活性數據概要。

【0127】 **圖23**是一圖表，其顯示了儲存在注射器或小瓶中之凍乾ENPP1-Fc多肽，其於不同時間間隔下經復水調配物的回收百分比。

【0128】 **圖24**是一圖表，其顯示了儲存在注射器或小瓶中之凍乾ENPP1-Fc多肽於不同時間間隔的酶活性數據概要。

【實施方式】

【0129】 1.概述

【0130】 本申請提供了含有ENPP1多肽的穩定凍乾調配物以及其在治療與ENPP1相關疾病的用途。在某些方面，本公開涉及ENPP1多肽的凍乾調配物及其用途 (例如治療、預防或降低病理性鈣化及/或骨化或一種或多種病理性鈣化及/或骨化併發症的惡化速度及/或嚴重程度)。本申請所提供的凍乾調配物具有增強的穩定性、增長的保存期限和較低水平的高分子量物質 (HMW) 和聚集體。HMW物質可能是二聚體、四聚體和高階聚集體 (HMW1/HMW2)。

【0131】 已證明ENPP1多肽有效治療某些異位組織鈣化疾病。已證明ENPP1-Fc減少GACI (嬰兒全身性動脈鈣化，generalized arterial calcification of infants) 小鼠模型之全身性動脈鈣化，GACI為一種發生在嬰兒中之嚴重疾病，涉及廣泛的動脈鈣化 (Albright等人，2015，Nature Comm. 10006)。ENPP1之融合蛋白質亦描述為治療嚴重組織鈣化之疾病 (參見例如PCT申請公開案第WO 2014/126965號及第WO 2016/187408號)，且包含帶負電荷之靶向骨域的ENPP1

之融合蛋白質描述為治療GACI (PCT申請公開案第WO 2011/113027號及第WO 2012/125182號)。

【0132】 哺乳動物ENPP1多肽、突變體或其突變片段先前已公開在PCT申請公開案WO/2014/126965-Braddock等人、WO/2016/187408-Braddock等人、WO/2017/087936-Braddock等人以及WO2018/027024-Braddock等人，其全部透過引用併入本文。

【0133】 2.凍乾調配物

【0134】 在某些方面，本公開考慮使用凍乾的ENPP1調配物來治療或預防與ENPP1多肽異常活性相關的疾病或病症。

【0135】 在一方面，本公開的ENPP1調配物是凍乾的。在凍乾過程中，ENPP1多肽是從水相轉化為無定形固相，這被認為可以保護蛋白質免受化學及/或構象不穩定的影響。凍乾是使用本領域常用的技術來進行，且針對穩定性、保存期限以及降低高分子量 (HMW) 物質和聚集體的水平，對凍乾調配物進行了優化。Tang等人，Pharm Res. 21：191-200 (2004) 以及Chang等人，Pharm Res. 13：243-9 (1996)。本公開的凍乾ENPP1調配物有助於穩定蛋白質免受製造、運輸和儲存的應力。在凍乾調配物中所使用的賦形劑和添加劑是調配物的組成部分，因此必須是安全的且對患者具有良好的耐受性。對於蛋白質藥物，賦形劑和添加劑的選擇尤為重要，因為它們會影響藥物的療效和免疫原性。賦形劑和添加劑也可用於降低高濃度ENPP1多肽調配物的黏度，以便使其能夠遞送並增強患者便利性。本文公開的調配物賦形劑和添加劑提供了對抗這些應力的穩定性。常見的賦形劑是本領域已知的，可見於Powell等人，Compendium of Excipients fir Parenteral Formulations (1998)，PDA J. Pharm. Sci. Technology，52：238-311。

【0136】 在某些實施例中，ENPP1調配物包含穩定劑。這些穩定劑可以根據它們穩定蛋白質免受各種化學和物理應力的機制進行分類。一些穩定劑可用於減輕特定應力的影響或調節特定蛋白質的特定易感性。其他穩定劑對蛋白質的物理穩定性和共價穩定性有更普遍的影響。鑒於本文所提供的教示和指導，本領域具有通常知識者將知道在任何特定調配物中可以包含多少量或範圍的穩定劑來實現本公開的ENPP1調配物，其有可能促進ENPP1多肽的保留和穩定性。

【0137】 在某些實施例中，本文公開的ENPP1調配物包含填充劑。這種填充劑被包含在內是為了長期穩定、增加含有少量強效活性成分之固體調配物的體積 (因此通常稱為「填充劑」、「充填劑」或「稀釋劑」)，或賦予最終劑型中活性成分的治療增強，例如促進藥物吸收、降低黏度，或增加溶解度。

【0138】 本文公開的ENPP1調配物包括緩衝劑、穩定劑、界面活性劑、糖類、鹽類以及胺基酸，它們在下方有更詳細地描述。

【0139】 本領域具有通常知識者會認識到，本文所述之賦形劑的濃度在特定調配物內具有相互依賴性。作為例示，在一方面，填充劑的濃度被降低，例如存在有高蛋白質濃度或例如存在有高穩定劑濃度。此外，本領域具有通常知識者會認識到，為了維持沒有填充劑的特定調配物的等張力性，可以相應地增加穩定劑的濃度 (亦即使用「張力調節 (tonicifying)」量之穩定劑)。可添加賦形劑和其他添加劑以賦予或提高可製造性及/或最終產品品質，例如藥物產品 (例如蛋白質) 的穩定性和遞送。本文公開的ENPP1調配物包含合適的賦形劑，其可增強合適的穩定性、安全性和可流通性。

【0140】 在某些實施例中，凍乾的ENPP1調配物包含至少一種或多種緩衝劑、填充劑、穩定劑及/或界面活性劑。在一些實施例中，在凍乾步驟或復水期

間，聚集將會成為問題的情況下，界面活性劑的選擇是為了幫助減少HMW物質的形成。可包含適當的緩衝劑，以為了在製造期間 (例如稀釋、無菌過濾、填充等) 和復水凍乾產物之後，將調配物維持在pH的穩定區內。下表提供了某些可用於凍乾蛋白質調配物的賦形劑組分：

表 1 凍乾蛋白質調配物的賦形劑組分

賦形劑組分	在凍乾調配物中的功能
緩衝劑	在加工過程和復水時維持調配物的 pH 值
穩定劑	穩定劑包括冷凍和凍乾保護劑，如多元醇、糖和多醣 冷凍保護劑可保護蛋白質免受冷凍應力 凍乾保護劑可將蛋白質穩定在凍乾狀態
填充劑	用於增強產品精緻性並防噴 為凍乾塊提供結構強度 實例包括甘露醇和蔗糖
界面活性劑	如果凍乾過程中存在聚集問題，則使用 可能有助於減少復水時間 實例包括聚山梨醇酯 20 和 80
抗氧化劑	可大幅延緩凍乾塊中的氧化反應
金屬離子/螯合劑	如果特定金屬離子僅作為輔助因子而被包含在內，或蛋白酶活性需要該金屬，則可包含在內
防腐劑	僅適用於多劑量調配物 防止微生物在調配物中生長 通常被包含在復水稀釋劑中 (例如 bWFI)

【0141】 (a) 緩衝劑和緩衝試劑

【0142】 通常，在較窄的pH值範圍內，可觀察到藥理活性多肽調配物的穩定性是最大的。這種最佳穩定性的pH範圍需要在預調配試驗的早期加以確定。數種方法可用於此項任務中，諸如加速穩定性試驗和量熱篩選試驗 (Remmele R. L. Jr.等人，Biochemistry，38(16)：5241-7 (1999))。調配物一旦最終確定後，蛋白質必須在其整個保存期限內進行製造和保存。因此，幾乎總會使用緩衝劑來控制調配物中的pH值。

【0143】 選擇緩衝劑時必須考慮幾個因素。首先，緩衝劑種類及其濃度必須根據其pKa和所需的調配物pH值來定義。同樣重要的是確保緩衝劑與蛋白質和其他調配物賦形劑相容，並且不會催化任何降解反應。需考慮的第三個重要方面是緩衝劑在給藥時可能引起的刺痛感和刺激感。對於透過皮下 (SC) 或肌內 (IM) 途徑所施用的藥物，刺痛和刺激的可能性更大，因藥物溶液會在該部位停留相對較長的時間，而當透過IV途徑施用時，則調配物在給藥時便會迅速地稀釋到血液中。對於透過直接IV輸注給藥的調配物，需要監測緩衝劑 (和任何其他調配物成分) 的總量。必須特別注意以磷酸鉀緩衝劑形式所施用的鉀離子，其可以誘發患者的心血管效應 (Hollander-Rodriguez J C等人，Am. Fam. Physician，73(2)：283-90 (2006))。

【0144】 用於凍乾調配物的緩衝劑需要進一步考慮。一些緩衝劑 (諸如磷酸鈉) 可以在冷凍過程中從蛋白質無定形相中結晶出來，導致pH值發生變化。其他常見的緩衝劑如醋酸鹽和咪唑可能在凍乾過程中昇華或蒸發，從而在凍乾過程中或復水之後改變調配物的pH值。

【0145】 在某些實施例中，用於緩衝本文所述的ENPP1調配物的例示性緩衝劑包括但不限於有機酸、琥珀酸鹽、磷酸鹽、醋酸鹽、檸檬酸鹽、Tris、HEPES以及胺基酸或胺基酸混合物，其包括但不限於天門冬胺酸、組胺酸、精胺酸和甘胺酸。在某些實施例中，緩衝劑是琥珀酸鹽、檸檬酸鹽和磷酸鹽。在一實施例中，存在於ENPP1調配物中的緩衝劑系統是選用在生理上相容並可維持藥物調配物所需的pH值。在另一實施例中，溶液的pH值是在pH 2.0和pH 12.0之間。舉例而言，在各種實施例中，溶液的pH值可以是5.5、5.7、6.0、6.3、6.5、6.7、7.0、7.3、7.5、7.7、8.0、8.3、8.5、8.7、9.0、9.3、9.5、9.7或10.0。

【0146】 pH緩衝化合物能夠以任何適合將ENPP1調配物的pH值維持在預定水平的含量存在。當使用適當低量的緩衝劑時，可以避免結晶和pH值變化。在一實施例中，pH緩衝濃度是介於0.1 mM和500 mM (1M) 之間。舉例而言，可以設想pH緩衝劑至少為0.1、0.5、0.7、0.8、0.9、1.0、1.2、1.5、1.7、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、200或500 mM。在一些實施例中，當緩衝劑復水在溶液中時，其可將pH值範圍維持在pH 6-7。在一些實施例中，當緩衝劑復水在溶液中時，其可將pH值範圍維持在pH 7-8。

【0147】 用於緩衝本文所述的ENPP1調配物的例示性pH緩衝劑包括但不限於有機酸、琥珀酸鹽、磷酸鹽、醋酸鹽、檸檬酸鹽、Tris、HEPES以及胺基酸或胺基酸混合物。在一些實施例中，緩衝劑可使高分子量物質的形成減少至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%。

【0148】 (b) 穩定劑和填充劑

【0149】 在本藥物調配物的一實施例中，可加入穩定劑(或穩定劑的組合)來防止或減少因儲存所誘發的聚集和化學降解。當復水時，模糊不清或混濁的溶液通常表明了蛋白質已經沉澱或至少聚集。術語「穩定劑」是指能夠防止聚集或化學降解 (例如自溶、脫醯胺作用、氧化等) 的賦形劑。在某些實施例中，本文所提供的ENPP1調配物包括穩定劑，例如但不限於蔗糖、海藻糖、甘露糖、麥芽糖、乳糖、葡萄糖、棉子糖、纖維素二糖、龍膽二糖、異麥芽糖、阿拉伯糖、葡萄糖胺、果糖、甘露醇、山梨糖醇、多羥基化合物，包括多糖，如葡聚糖、澱粉、羥乙基澱粉、環糊精、N-甲基吡咯烷酮、纖維素和透明質酸 (Carpenter等人，Develop. Biol. Standard 74：225，(1991))。在本公開之一實施例中，蔗糖和甘露醇是用作為本公開之ENPP1調配物中的穩定劑。在本公開之另一實施例中，蔗糖是用作為穩定劑。

【0150】 在某些實施例中，ENPP1調配物包含濃度為約0.1、0.5、0.7、0.8、0.9、1.0、1.2、1.5、1.7、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、30、40、50、60、70、80、90、100、200、500、700、900或1000 mM的穩定劑。類似地，在本公開之某些實施例中，所摻入的穩定劑的濃度約為0.005、0.01、0.02、0.03、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.5、0.7、0.8、0.9、1.0、1.2、1.5、1.7、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20% w/v。

【0151】 在其他實施例中，ENPP1調配物還包括適量的填充劑和滲透壓調節劑。在本公開之各個實施例中，填充劑包括例如葡聚糖、聚乙烯吡咯烷酮、羧甲基纖維素、乳糖、山梨糖醇、海藻糖或木糖醇等聚合物。在本公開之各個實施例中，所摻入的填充劑的濃度約為0.1、0.5、0.7、0.8、0.9、1.0、1.2、1.5、

1.7、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、30、40、50、60、70、80、90、100、200、500、700、900或1000 mM。

【0152】 (c) 界面活性劑

【0153】 在某些實施例中，本文公開的ENPP1調配物可另外包括界面活性劑。界面活性劑通常用於蛋白質調配物中，以防止界面誘導的降解作用。界面活性劑是兩性分子，其能夠在與蛋白質競爭界面位置時勝出 (及/或促進結構改變的蛋白質分子的適當摺疊)。界面活性劑分子的疏水部分可佔據界面位置 (例如空氣/液體)，而分子的親水部分可保持朝向本體溶劑。在足夠濃度下 (通常約為洗滌劑的臨界微胞濃度)，界面活性劑分子的表層可用於防止蛋白質分子在界面處吸附。因此，將界面誘導的降解作用降至最低。本文所設想的界面活性劑包括但不限於山梨醇酐聚乙氧基化物的脂肪酸酯，即聚山梨醇酯20和聚山梨醇酯80。兩者的區別僅在於脂肪族鏈的長度，該脂肪族鏈可分別賦予C-12分子和C-18分子疏水性。因此，聚山梨醇酯-80的界面活性更高，並且具有比聚山梨醇酯-20更低的臨界微胞濃度。

【0154】 洗滌劑也會影響蛋白質的熱力學構象穩定性。非離子界面活性劑通常可用於蛋白質穩定。離子界面活性劑 (洗滌劑) 通常會破壞蛋白質的穩定性。再次說明，特定的洗滌賦形劑的作用將是蛋白質特異性的。舉例而言，聚山梨醇酯已被證明會降低某些蛋白質的穩定性，而增加其他蛋白質的穩定性。蛋白質的洗滌劑去穩定作用可以根據洗滌劑分子的疏水性尾端予以合理解釋，這些尾端可以與部分或完全未摺疊的蛋白質狀態進行特異性結合。這些類型的交互作用可能導致構象平衡偏向更展開的蛋白質狀態 (即增加蛋白質分子之疏

水部分的暴露，以更充分地與聚山梨醇酯結合)。或者，如果蛋白質的天然狀態呈現出一些疏水性表面，則洗滌劑與天然狀態的結合可穩定該構象。聚山梨醇酯的另一方面是它們本身就容易受到氧化降解。通常，以作為原料而言，它們含有足夠量的過氧化物，而導致蛋白質殘基側鏈氧化，特別是甲硫胺酸。添加穩定劑可能引起氧化損傷，此強調了在調配物中應使用最低有效濃度的賦形劑。對於界面活性劑，特定蛋白質的有效濃度將取決於穩定作用機制。

【0155】 界面活性劑仍需要適當添加，以防止在結凍和乾燥過程中的界面相關聚集現象 (Chang, B，J. Pharm. Sci. 85：1325，(1996))。因此，例示性界面活性劑包括但不限於陰離子、陽離子、非離子、兩性離子和兩性界面活性劑，包括衍生自天然存在的胺基酸的界面活性劑。陰離子界面活性劑包括但不限於十二烷基硫酸鈉、磺基琥珀酸二辛酯鈉和二辛基磺酸鈉、鵝去氧膽酸（chenodeoxycholic acid）、N-月桂醯肌胺酸鈉鹽、十二烷基硫酸鋰、1-辛烷磺酸鈉鹽、膽酸鈉水合物、去氧膽酸鈉和甘胺鵝去氧膽酸鈉鹽（glycodeoxycholic acid sodium salt）。陽離子界面活性劑包括但不限於苯甲烷氯化銨或苯乙烷氯化銨、單水合十六烷基氯化吡啶鎓以及十六烷基三甲基溴化銨。兩性離子界面活性劑包括但不限於CHAPS、CHAPSO、SB3-10和SB3-12。非離子界面活性劑包括但不限於毛地黃皂苷、Triton X-100、Triton X-114、TWEEN-20和TWEEN-80。界面活性劑亦包括但不限於聚桂醇 (lauromacrogol) 400、硬脂酸聚乙二醇酯40、聚氧化乙烯氫化蓖麻油10、40、50及60、單硬脂酸甘油酯、聚山梨酸酯40、60、65及80、大豆卵磷脂以及其他磷脂，諸如二油基磷脂醯膽鹼 (DOPC)、二肉豆蔻醯基磷脂醯甘油 (DMPG) 和二肉豆蔻醯基磷脂醯膽鹼 (DMPC) 以及二油基磷脂醯甘油 (DOPG)、蔗糖脂肪酸酯、甲基纖維素和羧甲基纖維素。因此，進一步提

供了包含這些界面活性劑的組成物，無論是單獨還是以不同比例的混合物。在本公開的一實施例中，界面活性劑為TWEEN-80。在本調配物中，界面活性劑摻入的濃度為約0.01至約0.5克/升。在本文所提供的調配物中，在各種實施例中，界面活性劑的濃度為0.005、0.01、0.02、0.03、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9或1.0克/升。類似地，在本公開之某些實施例中，界面活性劑摻入的濃度為約0.001、0.002、0.003、0.004、0.005、0.01、0.02、0.03、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.5、0.7、0.8、0.9或1.0% w/v。

【0156】 (d) 鹽類

【0157】 在某些實施例中，本文公開的ENPP1調配物包括鹽類。通常添加鹽類來增加調配物的離子濃度，這對於蛋白質溶解度、物理穩定性和等滲透壓性可能很重要。鹽類能夠以多種方式來影響蛋白質的物理穩定性。離子可以透過與蛋白質表面上的帶電殘基結合來穩定蛋白質的天然狀態。或者，鹽類可以透過與沿著蛋白質主鏈 (-CONH-) 的肽基結合來穩定變性狀態。鹽類還可以透過遮罩蛋白質分子內殘基之間的排斥性靜電相互作用來穩定蛋白質天然構象。蛋白質調配物中的鹽類還可以遮罩蛋白質分子之間有吸引力的靜電相互作用，該相互作用會導致蛋白質聚集和不溶解。鹽類 (即電解質) 有時會使冷凍乾燥調配物變得更加困難。因為如此，只有足夠的鹽類才能維持蛋白質結構的穩定性，並且通常該電解質的含量非常的低。

【0158】 在某些實施例中，本文公開的ENPP1調配物可包括鹽類，例如氯化鈉 (NaCl)、氯化鈣 ($CaCl_2$)、氯化 鋅 ($ZnCl_2$) 及/或氯化鎂 ($MgCl_2$)。在某些實

施例中，本文公開之ENPP1調配物中的鹽類濃度是介於0.0 (即無鹽類)、0.001、0.002、0.003、0.004、0.005、0.006、0.007、0.008、0.009、0.010、0.011、0.012、0.013、0.014、0.015、0.020、0.050、0.080、0.1、1、10、20、30、40、50、80、100、120、150、200、300和500 mM之間。在本公開的一實施例中，調配物包含0.0 mM NaCl (即無NaCl)。

【0159】 (e) 胺基酸

【0160】 胺基酸在蛋白質調配物中的用途廣泛，可作為緩衝劑、填充劑、穩定劑和抗氧化劑。因此，在一方面，本文公開的ENPP1調配物包括胺基酸，例如甘胺酸、精胺酸、組胺酸、丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸和麩胺酸。這些胺基酸通常為多肽調配物提供了多種益處。組胺酸常見於市面上的蛋白質調配物中，此種胺基酸提供了檸檬酸鹽的替代品，檸檬酸鹽是一種已知在注射時會有刺痛感的緩衝劑。有趣的是，亦已報導當以高濃度液體及凍乾形式使用時，組胺酸對聚集作用具有穩定效果 (Chen B等人，Pharm Res.，20(12)：1952-60 (2003))。其他人也觀察到組胺酸可降低高蛋白濃度調配物的黏度。在其他方面，所提供的調配物包括甘胺酸、精胺酸和丙胺酸中的一種或多種胺基酸，並且已被證實可藉由優先排除機制來穩定蛋白質。甘胺酸也是凍乾調配物中常用的填充劑。精胺酸已被證明是抑制聚集作用的有效劑，並已用於液體和凍乾調配物中。在此提供的ENPP1調配物中，胺基酸濃度是介於0.1、1、10、20、30、40、50、80、100、120、150、200、300和500 mM之間。在本公開的一實施例中，胺基酸是甘胺酸。

【0161】 (f) 抗氧化劑

【0162】 蛋白質殘基的氧化來自許多不同的來源。除了添加特定的抗氧化劑外，預防蛋白質氧化性破壞還涉及在整個產品製造過程和儲存過程中仔細地控制諸多因素，例如大氣中的氧氣、溫度、光照和化學污染。因此，本公開考慮使用藥物抗氧化劑，包括但不限於還原劑、氧/自由基清除劑或螯合劑。在一方面，治療性蛋白質調配物中的抗氧化劑是水溶性的，並在整個產品保存期限內可保持活性。還原劑和氧/自由基清除劑的工作原理是除去溶液中的活性氧物質。在本文提供之調配物的各種實施例中，抗氧化劑的濃度為0.005、0.01、0.02、0.03、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9或1.0毫克/毫升。

【0163】 (g) 金屬離子

【0164】 一般而言，過渡金屬離子在蛋白質調配物中是不需要的，因為它們可以催化蛋白質中的物理和化學降解反應。然而，當特定金屬離子為蛋白質的輔因子時，其可被包含在調配物中；且若其可形成配位錯合物，則可被包含在蛋白質之懸浮液調配物中 (例如胰島素之鋅懸浮液)。最近，已建議使用鎂離子 (10-120mM) 來抑制天門冬胺酸異構化形成異天門冬胺酸 (WO 2004039337)。

【0165】 (h) 防腐劑

【0166】 在開發涉及從同一容器中多次取出之多次用量的非經腸道調配物時，防腐劑是必要的。它們的主要功能是抑制微生物生長，並確保產品於製劑的整個保存期限或使用期限內保持在無菌狀態。常用的防腐劑包括但不限於

苯甲醇、苯酚和間甲酚。雖然防腐劑的使用歷史悠久，但開發含有防腐劑的蛋白質調配物仍具有挑戰性。防腐劑幾乎一向具有使蛋白質不穩定之效應 (聚集作用)，且此已變成限制其在多劑量蛋白質調配物中使用的主要因素 (Roy S等人，J Pharm Sci.，94(2)：382-96(2005))。在可行的情況下，防腐劑應被包含在稀釋的調配物中，而不被包含在待冷凍乾燥的調配物中。

【0167】 在某些實施例中，可溶性ENPP1多肽是被配製成含有治療量之本文所公開的可溶性ENPP1多肽的凍乾多肽調配物，由此該凍乾多肽調配物可被復水成液體形式的溶液。在一些實施例中，凍乾多肽調配物是被復水在無菌可注射溶液中。在一些實施例中，凍乾多肽調配物是被復水在復水溶液中。在一些實施例中，復水溶液包含醫藥上可接受的載劑及/或添加劑。在一些實施例中，醫藥上可接受的載劑是選自於生理食鹽溶液、純水或注射用無菌水。在一些實施例中，調配物可以在小於100秒、80秒、70秒、69秒、68秒、67秒、66秒、65秒、64秒、63秒、62秒、61秒或60秒的時間內完全復水。

【0168】 在某些實施例中，凍乾多肽調配物包含ENPP1多肽。在一些實施例中，凍乾多肽包括一多肽，該多肽包含、基本上由或由與SEQ ID NO：1之胺基酸序列至少70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同的胺基酸序列所組成。在一些實施例中，凍乾多肽包括一多肽，該多肽包含、基本上由或由與具有SEQ ID NO：2之胺基酸序列的多肽的一部分至少70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同的胺基酸序列所組成。在一些實施例中，ENPP1多肽是融合蛋白。在一些實施例中，ENPP1多肽是融合蛋白，其還包括免疫球蛋白的

Fc結構域。在一些實施例中，免疫球蛋白的Fc結構域是IgG1免疫球蛋白的Fc結構域。在一些實施例中，ENPP1多肽是融合蛋白，其包含可溶性ENPP1多肽結構域以及一個或多個異源蛋白質部分。在一些實施例中，異源蛋白質部分提高可溶性ENPP1多肽在哺乳動物中的循環半衰期。在一些實施例中，異源蛋白質部分包含Fc結構域。在一些實施例中，Fc結構域包括一多肽，該多肽包含、基本上由或由與SEQ ID NO：12之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更相同的胺基酸序列所組成。在一些實施例中，ENPP1多肽還包含異源部分。在一些實施例中，異源部分是選自於由醣基化胺基酸、聚乙二醇化胺基酸、法尼基化胺基酸、乙醯化胺基酸、生物素化胺基酸和脂質部分所組成的群組。

【0169】 在某些實施例中，凍乾多肽調配物包含緩衝劑。在某些實施例中，緩衝劑可使pH值維持在pH 5.0至pH 8.0的範圍內、在約pH 5.5至pH 7.5的範圍內、在約pH 6.0至pH 7.0的範圍內、在約pH 6.0至pH 6.5的範圍內。在一些實施例中，緩衝劑使pH值維持在pH 6.5 +/- 0.5。在較佳的實施例中，pH值為pH 6.3。在某些實施例中，緩衝劑是選自於由琥珀酸鹽、檸檬酸鹽、碳酸氫鹽、磷酸鹽、三羥甲基胺基甲烷或甘胺醯甘胺酸所組成的群組。在某些較佳的實施例中，緩衝劑是琥珀酸鹽、檸檬酸鹽或磷酸鹽。在較佳的實施例中，緩衝劑是檸檬酸鹽。當凍乾多肽調配物復水在溶液中時，緩衝劑可包含的濃度範圍為5 mM至100 mM。在某些實施例中，緩衝劑是以10 mM至50 mM的濃度範圍存在，或以15 mM至25 mM的濃度範圍存在。在某些較佳的實施例中，緩衝劑是以20 mM的濃度存在。緩衝劑能夠賦予ENPP1多肽在凍乾和復水的形式下穩定性增加。在某些實施例中，緩衝劑可被選用來促使聚集體形成的起始溫度提高。在一些實施例中，

緩衝劑可使聚集體形成的起始溫度提高至少1°C、2°C、3°C、4°C、5°C、6°C、7°C、8°C、9°C或10°C。在某些實施例中，緩衝劑可以減少高分子量物質的形成。在一些實施例中，緩衝劑可使高分子量物質的形成減少至少2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在一些實施例中，緩衝劑可使高分子量物質的形成減少至少10%至100%、20%至80%、30%至70%或40%至60%。在一些實施例中，緩衝劑可使高分子量物質的形成減少至少50%。

【0170】 本公開的凍乾多肽調配物可包含一種或多種醫藥上可接受的添加劑及/或穩定劑。在某些實施例中，醫藥上可接受的添加劑包括胺基酸、鹽類、糖類及/或多元醇。在一些實施例中，醫藥上可接受的添加劑是精胺酸、脯胺酸及/或甘胺酸。在較佳的實施例中，醫藥上可接受的添加劑是穩定劑，諸如蔗糖及/或甘露醇。在某些實施例中，當復水在溶液中時，一種或多種醫藥上可接受的添加劑所包含的濃度範圍為50 mM至300 mM。在一些實施例中，當復水在溶液中時，一種或多種醫藥上可接受的添加劑所包含的濃度範圍為50 mM至100 mM、60 mM至90 mM或75 mM至85 mM。在一些實施例中，當復水在溶液中時，一種或多種醫藥上可接受的添加劑所包含的濃度為50 mM、60 mM、70 mM、80 mM、82 mM、84 mM、86 mM、88 mM、90 mM、100 mM、110 mM、120 mM、130 mM、140 mM、150 mM、160 mM、170 mM、171 mM、172 mM、173 mM、174 mM、175 mM、176 mM、177 mM、178 mM、179 mM、180 mM、190 mM、200 mM、210 mM、220 mM、230 mM、240 mM、250 mM、260 mM、261 mM、262 mM、263 mM、264 mM、265 mM、266 mM、267 mM、268 mM、269 mM、270 mM、280 mM、290 mM、300 mM的+/-5 mM之內。醫藥上可接受的添加劑

及/或穩定劑能夠賦予ENPP1多肽在凍乾和復水的形式下穩定性增加。在某些實施例中，醫藥上可接受的添加劑及/或穩定劑可使高分子量物質的形成減少至少2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在一些實施例中，醫藥上可接受的添加劑及/或穩定劑可使高分子量物質的形成減少至少10%至100%、20%至80%、30%至70%或40%至60%。在一些實施例中，醫藥上可接受的添加劑及/或穩定劑可使高分子量物質的形成減少至少50%。

【0171】 本公開的ENPP1多肽包括座落在ENPP1類核酸酶結構域和類SMB結構域內的輔因子 (參見例如Kato K.等人，Proc Natl Acad Sci USA. 2012；109(42)：16876-81)。在某些實施例中，本公開的凍乾多肽調配物可包含一種或多種ENPP1多肽輔因子。在一些實施例中，ENPP1多肽輔因子包括鈣、鋅及/或單磷酸腺苷。在一些實施例中，ENPP1多肽輔因子是$CaCl_2$、$CaSO_4$, 、$ZnCl_2$、$ZnSO_4$及/或單磷酸腺苷。在一些實施例中，ENPP1多肽輔因子是$CaCl_2$及/或單磷酸腺苷。在一較佳的實施例中，ENPP1多肽輔因子為$CaCl_2$。在一些實施例中，當復水在溶液中時，ENPP1多肽輔因子所包含的濃度範圍為1 mM至10 mM、1 mM至5 mM或1 mM至3 mM。在一較佳的實施例中，ENPP1多肽輔因子所包含的濃度為在2 mM +/- 1 mM以內。在另一較佳的實施例中，ENPP1多肽輔因子所包含的濃度為2 mM。

【0172】 在一些實施例中，所述組成物和調配物包含界面活性劑。在一些實施例中，界面活性劑包括聚山梨醇酯、泊洛沙姆 (poloxamer)、聚乙二醇辛基苯基醚 (triton)、十二烷基硫酸鈉、月桂基硫酸鈉、辛基糖苷鈉、月桂基磺基甜菜鹼、肉豆蔻基磺基甜菜鹼、亞油醯基磺基甜菜鹼、硬脂基磺基甜菜鹼、月桂

基肌胺酸、肉豆蔻基肌胺酸、亞油醯肌胺酸、硬脂基肌胺酸、亞油醯甜菜鹼、肉豆蔻基甜菜鹼、鯨蠟基甜菜鹼、月桂醯桔基甜菜鹼、椰油醯胺對碘丙基甜菜鹼、亞油醯胺丙基甜菜鹼、肉豆蔻醯基甜菜鹼、棕櫚醯丙基甜菜鹼、異硬脂酸酯醯丙基甜菜鹼、肉豆蔻醯胺丙基二甲胺、棕櫚醯胺丙基二甲胺、硬脂醯胺丙基二甲胺、甲基椰油醯基牛磺酸鈉、甲基油醯基牛磺酸二鈉、二羥丙基PEG 5亞油基氯化銨、聚乙二醇、聚丙二醇以及其混合物。界面活性劑例如但不受限制可以是聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯21、聚山梨醇酯40、聚山梨醇酯60、聚山梨醇酯61、聚山梨醇酯65、聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯81、聚山梨醇酯85、聚山梨醇酯188、PEG3350以及其混合物。在較佳的實施例中，界面活性劑是聚山梨醇酯20 (PS20)、聚山梨醇酯80 (PS80) 或聚山梨醇酯188 (PS188)。在一較佳的實施例中，界面活性劑是聚山梨醇酯20 (PS20)。

【0173】 界面活性劑的濃度能夠以百分比 (w/v) 來表示。對於凍乾調配物，濃度 % (w/v) 是代表當復水在溶液中時的界面活性劑濃度。界面活性劑的濃度通常在約0.001% (w/v) 至1% (w/v) 之間。在一些實施例中，界面活性劑的濃度範圍為0.01%至0.5% (w/v)、0.015%至0.25% (w/v)、0.02%至0.1% (w/v) 之間。在一較佳的實施例中，界面活性劑的濃度範圍為0.02%至0.1% (w/v)。

【0174】 本公開的凍乾多肽調配物可隨時間推移而表現出增加的穩定性。在某些實施例中，本公開的凍乾多肽調配物在-80°C至40°C之間可表現出長期穩定性。在一些實施例中，調配物的保存期限為至少3、6、12、24、36、48或60個月。在一些實施例中，經復水調配物的保存期限為至少1、2、3、4、5、6、12、18、24、48或60小時。

【0175】 在一些實施例中，經復水的調配物在1毫克/毫升至50毫克/毫升、2毫克/毫升至45毫克/毫升、5毫克/毫升至40毫克/毫升、10毫克/毫升至30毫克/毫升、15毫克/毫升至20毫克/毫升的濃度範圍內，在室溫下可穩定至少8小時。在一些實施例中，經復水的調配物在1毫克/毫升至50毫克/毫升、2毫克/毫升至45毫克/毫升、5毫克/毫升至40毫克/毫升、10毫克/毫升至30毫克/毫升、15毫克/毫升至20毫克/毫升的濃度範圍內，在5°C下可穩定至少24小時。

【0176】 本文公開的凍乾多肽調配物能夠以復水的形式施用。本文公開之經復水的凍乾多肽調配物的給藥途徑包括吸入、口服、鼻腔、直腸、非經腸道、舌下、經皮、經黏膜 (例如舌下、舌側、(經) 頰、(經) 尿道、陰道 (例如經陰道和陰道周)、鼻內和 (經) 直腸、膀胱內、肺內、十二指腸內、胃內、鞘內、皮下、肌肉內、皮內、動脈內、靜脈內、支氣管內、吸入 (例如噴霧器)、眼睛、肺部和局部給藥。在一較佳的實施例中，經復水的調配物是以非經腸道方式給藥。在一些實施例中，經復水的調配物是經皮下注射、靜脈內注射、皮內注射、肌肉內注射給藥。在一些實施例中，經復水的調配物是透過自我給藥。在一些實施例中，凍乾調配物包含治療有效劑量。在一些實施例中，調配物是每天、每兩天、三天、一周或一個月給藥數次。在一些實施例中，調配物的第二劑量是在至少兩天後、四天後、一周後或一個月後的合適時間間隔後進行給藥。

【0177】 在某些實施例中，本公開提供了包含凍乾多肽調配物的套組。在一些實施例中，套組包括凍乾多肽，其可以在使用前在無菌可注射溶液 (或無菌水) 中進行復水。在一些實施例中，套組包括一個或多個小瓶。在一些實施例中，套組包括一個或多個含有凍乾多肽調配物的小瓶。在一些實施例中，套組包括可注射裝置，其包含小瓶、復水溶液、注射器及/或預填充注射器。在一些實施

例中，將復水溶液轉移到小瓶中，使凍乾多肽在無菌可注射溶液中復水。在一些實施例中，凍乾多肽是被復水在無菌可注射溶液中。在一些實施例中，凍乾多肽是在使用前被復水在無菌可注射溶液 (或無菌水) 中。在一些實施例中，可注射裝置是用於以非經腸道方式來施予無菌可注射溶液。在一些實施例中，無菌可注射溶液是透過皮下注射給藥。在一些實施例中，無菌可注射溶液是透過皮內注射給藥。在一些實施例中，無菌可注射溶液是透過肌肉內注射給藥。在一些實施例中，無菌可注射溶液是透過靜脈內注射給藥。在一些實施例中，無菌可注射溶液是透過自我給藥。在一些實施例中，無菌可注射溶液包含治療有效劑量。

【0178】 本文公開的凍乾多肽調配物可用於治療、逆轉或預防與本文公開之ENPP1缺乏症相關疾病惡化的方法。在一些實施例中，該調配物是用於治療、逆轉或預防在有需要的個體中之後縱韌帶骨化症 (OPLL) 惡化的方法。在一些實施例中，該調配物是用於治療、逆轉或預防在有需要的個體中之低磷酸鹽佝僂症惡化的方法。在一些實施例中，該調配物是用於治療、逆轉或預防在有需要的個體中之ABCC6缺乏症 (例如彈性纖維假黃瘤 (PXE)) 惡化的方法。在一些實施例中，該調配物是用於減少或預防在有需要的個體中之與年齡相關的動脈硬化惡化的方法。在一些實施例中，該調配物是用於治療、逆轉或預防在有需要的個體中血管動脈中之動脈粥狀硬化塊鈣化惡化的方法。在一些實施例中，該調配物是用於治療、逆轉或預防在有需要的個體中之骨關節炎惡化的方法。在一些實施例中，該調配物是用於治療、逆轉或預防在有需要的個體中之因早衰症所致的動脈硬化惡化的方法。在一些實施例中，該調配物是用於治療、逆轉或預防在有需要的個體中之X-性聯遺傳型低磷酸鹽佝僂症 (XLH)、遺傳性低磷

酸鹽佝僂症 (HHRH)、低血磷骨骼疾病 (HBD)、體染色體顯性低磷酸鹽佝僂症 (ADHR) 及/或體染色體隱性低磷酸鹽佝僂症惡化的方法。在一些實施例中，該調配物是用於治療、逆轉或預防在有需要的個體中之與年齡相關的骨質缺乏症惡化的方法。在一些實施例中，該調配物是用於治療、逆轉或預防在有需要的個體中之僵直性脊椎炎惡化的方法。在一些實施例中，該調配物是用於治療、逆轉或預防在有需要的個體中之小兒鐮狀紅血球貧血中風惡化的方法。

【0179】 本文公開的調配物是使用本領域公知的技術來進行凍乾。有關凍乾的進一步資訊請參見Carpenter, J. F.和Chang, B. S., Lyophilization of Protein Pharmaceuticals, Biotechnology and Biopharmaceutical Manufacturing, Processing and Preservation、K. E. Avis和V. L. Wu, eds. (Buffalo Grove, Interpharm Press, Inc.), pp.199-264 (1996)；美國專利號7,247,707、7,087,723和6,586,573。

【0180】 3. ENPP1多肽

【0181】 在某些方面，本公開涉及ENPP1多肽的凍乾調配物及其用途。本文所揭示的ENPP1多肽包括天然存在的ENPP1家族之多肽，以及其保有生物活性的任何變異體 (包括突變體、片段、融合物和肽模擬物形式)。術語「ENPP1」或「ENPP1多肽」是指源自任何物種的胞外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶1蛋白 (NPP1/ENPP1/PC-1) 和ENPP1相關蛋白。ENPP1蛋白包含可形成同源二聚體的第II型跨膜醣蛋白。ENPP1蛋白的各個單體都包含一個短的胞內N端結構域，其涉及靶向至細胞質膜、跨膜結構域和包含數個結構域的大型胞外區。大型胞外區包含SMB1和SMB2結構域，據報導它們參與ENPP1二聚化 (R. Gijsbers, H.等人, Biochem. J. 371； 2003：321-330)。具體而言，SMB結構域含有八個半胱胺酸殘

基，各自以四個雙硫鍵排列，並且已被證明可透過共價胱胺酸分子間和分子內鍵結來介導ENPP1同源二聚化。此蛋白質可切割多種受質，包括核苷酸和核苷酸糖的磷酸二酯鍵以及核苷酸和核苷酸糖的焦磷酸酯鍵。ENPP1蛋白的功能是將核苷5'三磷酸酶水解為對應的單磷酸，也可水解二腺苷多磷酸。ENPP1蛋白在嘌呤能性訊息傳遞中發揮作用，嘌呤能性訊息傳遞參與心血管、神經、免疫、肌肉骨骼、激素和血液功能的調節。人類ENPP1前驅蛋白 (NCBI登錄號NP_006199)的例示性胺基酸序列顯示於圖1中 (SEQ ID NO：1)。人類ENPP1前驅蛋白在ENPP1的N端處包括一個內源性ENPP1訊號肽序列。除非另外特別指明，否則本文所述的所有ENPP1相關多肽的胺基酸編號均是基於圖1中所提供的人類ENPP1前驅蛋白序列的編號。在某些實施例中，ENPP1前驅蛋白進一步包含內源或異源訊號肽序列。一旦蛋白水解後，訊號肽序列會從ENPP1前驅蛋白中被切除，以提供成熟的ENPP1蛋白。參見，例如Jansen S等人. J Cell Sci. 2005；118(Pt 14)：3081-9。可與本文所揭示的多肽一起使用的例示性訊號肽序列包括但不限於ENPP1訊號肽序列、ENPP2訊號肽序列、Azurocidin訊號序列、ENPP7訊號肽序列，及/或ENPP5訊號肽序列。經加工的 (成熟的) 胞外ENPP1多肽序列顯示於圖3 (SEQ ID NO：2) 中。

【0182】 本技術領域中廣泛已知ENPP1於脊椎動物中是高度保守的，其中胞外結構域的大鏈段 (stretches) 基本上是保守的。舉例而言，圖4A和圖4B描繪了人類ENPP1胞外結構域與各種ENPP1異種同源物相互比較的多序列比對。結合至各種核苷酸三磷酸 (例如ATP、UTP、GTP、TTP和CTP)、pNP-TMP、3',5'-cAMP和2'-3'-cGAMP的ENPP1也是高度保守的 (參見例如Kato K.等人，Proc Natl Acad Sci USA，2012；109(42)：16876-81以及Mackenzie NC等人，Bone，2012；51(5)：

961-8)。因此，根據這些比對，可以預測對正常ENPP1活性很重要的胞外結構域的關鍵胺基酸位置，並且預測可能對取代 (substitution) 具有耐受性而不會明顯改變正常ENPP1活性的胺基酸位置。因此，可用於本發明所揭示之組成物的活性人類ENPP1多肽可以包括來自於另一脊椎動物ENPP1序列之對應位置處的一個或多個胺基酸，或者可以包括與人類或其他脊椎動物序列中之殘基相似的殘基。在對應位置處取代一個或多個胺基酸可以包括不太可能改變多肽鏈形狀或改變正常ENPP1活性的保守變異或取代。保守變異或取代的實例包括將一個疏水性殘基諸如異白胺酸、纈胺酸、白胺酸或甲硫胺酸替換成另一者，或將一個極性殘基替換成另一者，例如將精胺酸替換成離胺酸、將麩胺酸替換成天門冬胺酸，或麩醯胺酸替換成天冬醯胺酸。舉例而言，ENPP1多肽包括源自於任何已知ENPP1多肽序列的多肽，其序列與ENPP1多肽的序列至少約80%相同，且較佳地至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的同一性。

【0183】 ENPP1蛋白在本領域中已經就結構和生物學特徵方面進行了特徵鑑定。在某些實施例中，本文所揭示的可溶性ENPP1蛋白包含焦磷酸酶及/或磷酸二酯酶活性。舉例而言，在一些實施例中，ENPP1蛋白可結合核苷酸三磷酸 (例如ATP、UTP、GTP、TTP和CTP)、pNP-TMP、3',5'-cAMP以及2'-3'-cGAMP；並將核苷酸三磷酸轉化為無機焦磷酸 (參見例如Kato K.等人，Proc Natl Acad Sci USA. 2012；109(42)：16876-81；Li L等人，Nat Chem Biol. 2014；10(12)：1043-8；Jansen S等人，Structure. 2012；20(11)：1948-59；以及Onyedibe KI等人，Molecules. 2019；24(22))。

【0184】 如本文所用，術語「酶活性 (enzymatically active)」或「生物活性 (biologically active)」是指ENPP1多肽表現出焦磷酸酶及/或磷酸二酯酶活性(例如能夠結合ATP及/或將其水解成AMP及PPi及/或將AP3a水解成ATP)。舉例而言，ENPP1蛋白質的焦磷酸酶/磷酸二酯酶結構域可水解胞外核苷酸三磷酸以產生無機焦磷酸根 (PPi)，且一般是可溶的。此活性可使用如先前所述的pNP-TMP測定法進行量測 (Saunders等人，2008, Mol. Cancer Ther. 7(10)：3352-62；Albright等人，2015, Nat Comm. 6：10006)。在某些實施例中，可溶性ENPP1多肽對受質ATP的kcat值大於或等於約3.4 (±0.4) s'1酶'1，其中kcat是藉由量測多肽的ATP水解速率來確定。在某些實施例中，可溶性ENPP1多肽對受質ATP的KM值小於或等於約2 pM，其中KM是藉由量測多肽的ATP水解速率來確定。除本文中的教示以外，這些參考文獻還為如何產生保留一種或多種生物活性 (例如將核苷酸轉化為無機焦磷酸根) 的可溶性ENPP1蛋白質提供了充分的指導。

【0185】 在一實施例中，本公開涉及ENPP1多肽。如本文所述，術語可溶性ENPP1多肽包括ENPP1蛋白的任何天然存在的胞外結構域以及其保有生物活性 (例如具有酶促活性) 的任何變異體 (包括突變體、片段和肽模擬物形式)。可溶性ENPP1多肽的實例包括例如如圖3中所示的ENPP1胞外結構域 (SEN ID NO：2)。在某些實施例中，除了ENPP1多肽的胞外結構域以外，可溶性ENPP1多肽還可包含訊號序列。例示性訊號序列包括ENPP1多肽的天然訊號序列，或來自另一種蛋白質的訊號序列，諸如hENPP7訊號序列。變異體可溶性ENPP1多肽的實例提供於國際專利申請公開案第WO 2012/125182號、第WO 2014/126965號、第WO 2016/187408號、第WO 2018/027024號和第WO 2020/047520號中，其以全文引用的方式併入本文。

【0186】 在一些實施例中，ENPP1多肽是含有ENPP1多肽結構域和一個或多個異源蛋白部分 (即相對ENPP1為異源的多肽結構域) 的融合蛋白。如果胺基酸序列不是以SEQ ID NO：1所表示的ENPP1形式唯一發現的，則該胺基酸序列被理解為與ENPP1是異源的。在一些實施例中，異源蛋白部分包含免疫球蛋白的Fc結構域。在一些實施例中，免疫球蛋白的Fc結構域是IgGl免疫球蛋白的Fc結構域。在某些實施例中，可溶性ENPP1多肽在C端融合至人類免疫球蛋白1 (IgG1)、人類免疫球蛋白2 (IgG2)、人類免疫球蛋白3 (IgG3) 及/或人類免疫球蛋白4 (IgG4) 的Fc結構域。在其他實施例中，可溶性ENPP1多肽在N端融合至人類免疫球蛋白1 (IgG1)、人類免疫球蛋白2 (IgG2)、人類免疫球蛋白3 (IgG3) 及/或人類免疫球蛋白4 (IgG4) 的Fc結構域。在一些實施例中，Fc結構域的存在改善了可溶性ENPP1多肽的循環半衰期、溶解度、降低免疫原性並增加活性。在某些實施例中，天然人類IgG蛋白 (IgG1、IgG2、IgG3和IgG4) 的部分可用於Fc部分 (例如ENPP1-Fc)。舉例而言，本公開提供了包含融合至多肽之ENPP1的融合蛋白，該多肽包含免疫球蛋白的穩定結構域，諸如源自人類IgG1、IgG2、IgG3及/或IgG4的CH1、CH2或CH3結構域。Fc片段可包含天然IgG的區域，諸如鉸鏈區 (人類IgG1的殘基216-230，根據Kabat編號系統)、整個第二穩定結構域CH2 (殘基231-340) 和第三穩定結構域CH3 (殘基341-447)。

【0187】 如本文所用，術語「ENPP1-Fc構建體」是指與IgG分子 (較佳地是人類IgG) 的FcR結合結構域重組融合及/或化學接合 (包括共價和非共價接合) 的可溶性形式ENPP1 (例如ENPP1多肽的胞外結構域)。在某些實施例中，ENPP1的C-端是與FcR結合結構域的N-端融合或接合。

【0188】 可用於人類IgG1 Fc部分 (G1Fc) 的胺基酸序列的實例為SEQ ID NO：12 (表2)。本公開的一部分提供了多肽，該多肽包含與SEQ ID NO：12具有70%、75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%同一性的胺基酸序列，或基本上由其組成或由其組成。

【0189】 在一些實施例中，異源蛋白部分包含一個或多個結構域，該結構域是選自於由多組胺酸、FLAG標籤、Glu-Glu、穀胱甘肽S-轉移酶 (GST)、硫氧化還原蛋白、蛋白A、蛋白G、免疫球蛋白重鏈穩定區 (Fc)、麥芽糖結合蛋白 (MBP) 或人類血清白蛋白所組成之群組。可以選擇融合結構域以賦予所需的特性。舉例而言，一些融合結構域對於透過親和力層析來分離融合蛋白特別有用。為了親和力純化之目的，使用了用於親和力層析的相關基質，例如經穀胱甘肽-、澱粉酶-和鎳-或鈷-接合樹脂。許多此類基質以「套組」形式提供，例如Pharmacia GST純化系統和可與 (HIS6) 融合伴侶一起使用的QIAexpressTM系統 (Qiagen)。作為另一實例，可以選擇融合結構域以利於檢測ENPP1多肽。這種檢測結構域的實例包括各種螢光蛋白 (例如GFP) 以及「表位標籤」，它們通常是特定抗體可用的短肽序列。眾所周知的特異性單株抗體的表位標籤很容易可以獲得，包括FLAG、流感病毒血球凝集素 (HA) 和c-myc標籤。在一些情況下，融合結構域具有蛋白酶切割位點，例如因子Xa或凝血酶，其允許相關的蛋白酶部分切割融合蛋白，進而自其中釋放出重組蛋白。然後可以透過隨後的層析分離將經釋放的蛋白質從融合結構域中分離出來。

【0190】 在一些實施例中，ENPP1融合蛋白進一步包含位於ENPP1多肽結構域和一個或多個異源蛋白部分 (例如Fc免疫球蛋白結構域) 之間的連接子。在

某些實施例中，可溶性ENPP1多肽是直接或間接地融合至Fc結構域。在一些實施例中，可溶性ENPP1融合蛋白包含位在Fc結構域與ENPP1多肽之間的連接子。在一些實施例中，連接子可以是包括1-200個胺基酸的胺基酸間隔子。合適的肽間隔子是本領域已知的，並且包括例如含有撓性胺基酸殘基 (諸如甘胺酸、丙胺酸和絲胺酸) 的肽連接子。在一些實施例中，連接子包含聚甘胺酸連接子或Gly-Ser連接子。在一些實施例中，間隔子可能含有以下基序，例如以下多個或重複的基序：GGGA (SEQ ID NO：21)、GGGS (SEQ ID NO：22)、GGGG (SEQ ID NO：23)、GGGGA (SEQ ID NO：24)、GGGGS (SEQ ID NO：25)、GGGGG (SEQ ID NO：26)、GGAG (SEQ ID NO：27)、GGSG (SEQ ID NO：28)、AGGG (SEQ ID NO：29)、SGGGG (SEQ ID NO：30)、SGGG (SEQ ID NO：31)、GA (SEQ ID NO：103)、GS (SEQ ID NO：104)、GG (SEQ ID NO：105)、GGA (SEQ ID NO：106)、GGS (SEQ ID NO：107) 或GGG (SEQ ID NO：108)。在一些實施例中，間隔子可能含有2至12個胺基酸，其包括GA或GS的基序，例如GA、GS、GAGA (SEQ ID NO：32)、GSGS (SEQ ID NO：33)、GAGAGA (SEQ ID NO：34)、GSGSGS (SEQ ID NO：35)、GAGAGAGA (SEQ ID NO：36)、GSGSGSGS (SEQ ID NO：37)、GAGAGAGAGA (SEQ ID NO：38)、GSGSGSGSGS (SEQ ID NO：39)、GAGAGAGAGAGA (SEQ ID NO：40) 以及GSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO：41)。在一些實施例中，間隔子可能含有3至12個胺基酸，其包括GGA或GGS的基序，例如GGA、GGS、GGAGGA (SEQ ID NO：42)、GGSGGS (SEQ ID NO：43)、GGAGGAGGA (SEQ ID NO：44)、GGSGGSGGS (SEQ ID NO：45)、GGAGGAGGAGGA (SEQ ID NO：46) 以及GGSGGSGGSGGS (SEQ ID NO：47)。在另一些實施例中，間隔子可能含有4至12個胺基酸，其包括GGAG (SEQ ID

NO：48)、GGSG (SEQ ID NO：49) 的基序，例如GGAG (SEQ ID NO：50)、GGSG (SEQ ID NO：51)、GGAGGGAG (SEQ ID NO：52)、GGSGGGSG (SEQ ID NO：53)、GGAGGGAGGGAG (SEQ ID NO：54) 以及GGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO：55)。在一些實施例中，間隔子可能含有GGGGA (SEQ ID NO：56) 或GGGGS (SEQ ID NO：57) 的基序，例如GGGGAGGGGAGGGGA (SEQ ID NO：58) 以及GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO：59)。在本發明的一些實施例中，位在異源蛋白部分 (例如，Fc結構域單體、野生型Fc結構域、具有胺基酸取代 (例如，可減少二聚化的一個或多個取代) 的Fc結構域、白蛋白結合肽、纖連蛋白結構域或人類血清白蛋白) 與可溶性ENPP1多肽之間的胺基酸間隔子可以是GGG、GGGA (SEQ ID NO：21)、GGGG (SEQ ID NO：23)、GGGAG (SEQ ID NO：60)、GGGAGG (SEQ ID NO：61) 或GGGAGGG (SEQ ID NO：62)。

【0191】 在一些實施例中，間隔子還可以含有除了甘胺酸、丙胺酸和絲胺酸以外的胺基酸，例如TGGGG (SEQ ID NO：63)、AAAL (SEQ ID NO：64)、AAAK (SEQ ID NO：65)、AAAR (SEQ ID NO：66)、EGKSSGSGSESKST (SEQ ID NO：67)、GSAGSAAGSGEF (SEQ ID NO：68)、AEAAAKEAAAKA (SEQ ID NO：69)、KESGSVSSEQLAQFRSLD (SEQ ID NO：70)、GENLYFQSGG (SEQ ID NO：71)、SACYCELS (SEQ ID NO：72)、RSIAT (SEQ ID NO：73)、RPACKIPNDLKQKVMNH (SEQ ID NO：74)、GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG (SEQ ID NO：75)、AAANSSIDLISVPVDSR (SEQ ID NO：76)、GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGS (SEQ ID NO：77)、(R)m；m=0-15 (SEQ ID NO：78)、DSSSEEKFLRRIGRFG (SEQ ID NO：79)、

EEEEEEEPRGDT (SEQ ID NO：80)、APWHLSSQYSRT (SEQ ID NO：81)、STLPIPHEFSRE (SEQ ID NO：82)、VTKHLNQISQSY (SEQ ID NO：83)、(E)m；m=1-15 (SEQ ID NO：84)、RSGSGGS (SEQ ID NO：85)、(D)m；m=1-15 (SEQ ID NO：86)、LVIMSLGLGLGLGLRK (SEQ ID NO：87)、VIMSLGLGLGLGLRK (SEQ ID NO：88)、IMSLGLGLGLGLRK (SEQ ID NO：89)、MSLGLGLGLGLRK (SEQ ID NO：90)、SLGLGLGLGLRK (SEQ ID NO：91)、LGLGLGLGLRK (SEQ ID NO：92)、GLGLGLGLRK (SEQ ID NO：93)、LGLGLGLRK (SEQ ID NO：94)、GLGLGLRK (SEQ ID NO：95)、LGLGLRK (SEQ ID NO：96)、GLGLRK (SEQ ID NO：97)、LGLRK (SEQ ID NO：98)、GLRK (SEQ ID NO：99)、(K)m；m=1-15 (SEQ ID NO：100)、LIN (SEQ ID NO：109)、NSS (SEQ ID NO：110)、ESS (SEQ ID NO：111)、RQQ (SEQ ID NO：112)、KR (SEQ ID NO：113)、LRK (SEQ ID NO：114) 或RK (SEQ ID NO：115)。在一些實施例中，間隔子可以含有EAAAK (SEQ ID NO：101) 的基序，例如多個或重複的基序。在一些實施例中，間隔子可以含有富含脯胺酸序列諸如 (XP)n的基序，例如多個或重複的基序，其中X可為任何胺基酸 (例如A、K或E)，且n為1至5；以及PAPAP (SEQ ID NO：102)。

【0192】 **SEQ ID NO：3** – ENPP2訊號序列

Leu Phe Thr Phe Ala Val Gly Val Asn Ile Cys Leu Gly Phe Thr Ala

1 5 10 15

【0193】 **SEQ ID NO：7** – Azurocidin訊號序列

Met Thr Arg Leu Thr Val Leu Ala Leu Leu Ala Gly Leu Leu Ala Ser

Ser Arg Ala

【0194】 **SEQ ID NO：16** – ENPP7訊號序列

Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu Leu

1 5 10 15

Ala Pro Gly Ala

20

【0195】 **SEQ ID NO：17** – ENPP7訊號序列

Met Arg Gly Pro Ala Val Leu Leu Thr Val Ala Leu Ala Thr Leu Leu

1 5 10 15

Ala Pro Gly Ala Gly Ala

20

【0196】 **SEQ ID NO：18** – ENPP5訊號序列

Met Thr Ser Lys Phe Leu Leu Val Ser Phe Ile Leu Ala Ala Leu Ser

1 5 10 15

Leu Ser Thr Thr Phe Ser

20

【0197】 **SEQ ID NO：19** – ENPP121GLK訊號序列

Met Glu Arg Asp Gly Cys Ala Gly Gly Gly Ser Arg Gly Gly Glu Gly

1 5 10 15

Gly Arg Ala Pro Arg Glu Gly Pro Ala Gly Asn Gly Arg Asp Arg Gly

20 25 30

Arg Ser His Ala Ala Glu Ala Pro Gly Asp Pro Gln Ala Ala Ala Ser

35 40 45

Leu Leu Ala Pro Met Asp Val Gly Glu Glu Pro Leu Glu Lys Ala Ala

50 55 60

Arg Ala Arg Thr Ala Lys Asp Pro Asn Thr Tyr Lys Ile Ile Ser Leu

65 70 75 80

Phe Thr Phe Ala Val Gly Val Asn Ile Cys Leu Gly Phe Thr Ala Gly

85 90 95

Leu Lys

【0198】 **SEQ ID NO：20** – ENPP121 訊號序列

Met Glu Arg Asp Gly Cys Ala Gly Gly Gly Ser Arg Gly Gly Glu Gly

1 5 10 15

Gly Arg Ala Pro Arg Glu Gly Pro Ala Gly Asn Gly Arg Asp Arg Gly

20 25 30

Arg Ser His Ala Ala Glu Ala Pro Gly Asp Pro Gln Ala Ala Ala Ser

35 40 45

Leu Leu Ala Pro Met Asp Val Gly Glu Glu Pro Leu Glu Lys Ala Ala

50 55 60

Arg Ala Arg Thr Ala Lys Asp Pro Asn Thr Tyr Lys Ile Ile Ser Leu

65 70 75 80

Phe Thr Phe Ala Val Gly Val Asn Ile Cys Leu Gly Phe Thr Ala

85 90 95

【0199】 肽間隔子的長度以及所用胺基酸可根據最終蛋白融合多肽中所涉及的兩種蛋白及所需的可撓性程度來進行調整。間隔子的長度可以加以調整以確保正確的蛋白質摺疊且避免形成聚集體。

【0200】 在一些實施例中，融合蛋白 (例如，免疫球蛋白 Fc 融合蛋白) 的不同元件可以按與所需功能一致的任何方式排列。舉例而言，可溶性 ENPP1 多肽結構域可置於異源蛋白部分的 C 端，或可替代地，異源蛋白部分可置於可溶

性 ENPP1 多肽結構域的 C 端。可溶性 ENPP1 多肽結構域和異源蛋白部分可以直接或間接地在融合蛋白中連接，並且其他的結構域或胺基酸序列可以被包括在任一結構域的 C-端或 N-端或結構域之間。較佳的融合蛋白包含 SEQ ID NO：9-11 中任一序列所示的胺基酸序列。在一些實施例中，ENPP1 融合多肽包含 SEQ ID NO：9 或由 SEQ ID NO：9 所組成。在一些實施例中，ENPP1 融合多肽包含 SEQ ID NO：10 或由 SEQ ID NO：10 所組成。在一些實施例中，ENPP1 融合多肽包含 SEQ ID NO：11 或由 SEQ ID NO：11 所組成。

【0201】 在一些實施例中，本公開的可溶性 ENPP1 多肽含有一個或多個異源部分。任選地，可溶性 ENPP1 多肽包括一個或多個選自於以下的異源部分：醣基化胺基酸、PEG 化胺基酸、法尼基化胺基酸、乙醯化胺基酸、生物素化胺基酸、接合至脂質部分的胺基酸，以及與有機衍生劑接合的胺基酸。在一些實施例中，本文揭示的可溶性 ENPP1 多肽可被進一步修飾。此類修飾包括但不限於乙醯基化、羧基化、醣基化、磷酸化、脂化，和醯化。因此，可溶性 ENPP1 多肽可能含有非胺基酸元件，例如聚乙二醇、脂質、多醣或單醣，以及磷酸根。此類非胺基酸元件對可溶性 ENPP1 多肽功能性的影響可以如本文所述針對其他可溶性 ENPP1 多肽進行測試。當本公開的多肽透過切割該多肽的原生形式而在細胞中產生時，轉譯後加工對於該蛋白質的正確折疊及/或功能也可能是重要的。不同的細胞 (例如，CHO、HeLa、MDCK、293、WI38、NIH-3T3 或 HEK293) 具有針對此類轉譯後活性的特定細胞機制和特徵機制，並且可以選擇用來確保可溶性 ENPP1 多肽的正確修飾和加工。

【0202】 如本文所用，多肽序列和參考序列之間的「同一性」百分比被定義為在比對序列和引入空位 (如有必要的話) 以實現最大序列同一性百分比後，多肽序列中與參考序列中的胺基酸殘基相同的胺基酸殘基百分比。為了確定胺基酸序列同一性百分比，能夠以本領域中習知技術的各種方式來實現比對，例

如，使用可公開獲得的電腦軟體，例如 BLAST、BLAST-2、ALIGN、MEGALIGN (DNASTAR)、CLUSTALW，或 CLUSTAL OMEGA 軟體。在一些實施例中，可使用 CLUSTAL OMEGA 軟體進行比對。本領域具有通常知識者可以決定用於比對序列的適當參數，包括在要被比較的序列的全長上達到最大比對所需的任何演算法。

【0203】 在一些實施方式中，可溶性 ENPP1 多肽的活性也可以在基於細胞的分析或活體內分析中進行測試。舉例而言，可測量可溶性 ENPP1 多肽對無機焦磷酸 (PPi) 產生的影響。具體來說，ENPP1 蛋白的焦磷酸酶/磷酸二酯酶結構域水解胞外核苷酸三磷酸，以產生無機焦磷酸 (PPi) 且通常是可溶的。這個活性可以使用如前所述的 pNP-TMP 測定法以及基於 HPLC 的 ATP 水解測定法來測量 (Saunders 等人，2008, Mol. Cancer Ther. 7(10)：3352-62；Albright 等人，2015, Nat Comm. 6： 10006)。可以評估可溶性 ENPP1 多肽對參與 ENPP1 相關疾病 (諸如 ARHR2) 的基因表現 (例如，纖維母細胞生長因子 23 在成骨細胞與破骨細胞中的轉錄) 的影響。若需要的話，這可以在一種或多種核苷酸三磷酸或其他 ENPP1 受質存在下進行，並且可以轉染細胞以產生可溶性 ENPP1 多肽。同樣地，可將可溶性 ENPP1 多肽施用於小鼠或其他動物，並且可以使用本領域公認的方法來評估對 ENPP1 相關疾病的影響。

【0204】 在一些實施例中，根據本文所述方法所使用的 ENPP1 多肽是經分離的多肽。如本文所用，經分離的蛋白質或多肽是已經與其自然環境的組分相互分離的蛋白質或多肽。在一些實施例中，本公開的多肽是經純化至大於 95%、96%、97%、98%或 99%的純度，如藉由例如電泳 (例如 SDS-PAGE、等電聚焦 (IEF)、毛細管電泳) 或層析 (例如離子交換或逆相 HPLC) 分析。用於評估純度的方法在本領域中是習知的 (參見，例如 Flatman 等人，(2007) J. Chromatogr. B 848：79-87)。在一些實施例中，根據本文所述方法所使用的可溶性 ENPP1 多肽是重組多肽。

【0205】 本公開的 ENPP1 多肽可以藉由多種本領域習知的技術來生產。舉例而言，本公開的多肽可以使用標準蛋白質化學技術來合成，諸如在 Bodansky, M. Principles of Peptide Synthesis, Springer Verlag, Berlin (1993)及 Grant G. A. (ed.), Synthetic Peptides：A User's Guide, W. H. Freeman and Company, New York (1992) 中所述。此外，自動肽合成儀是市售的 (例如 Advanced ChemTech Model 396；Milligen/Biosearch 9600)。可替代地，本公開的多肽 (包括其片段或變異體) 可以使用眾所周知的各種表現系統 (例如大腸桿菌、中國倉鼠卵巢 (CHO) 細胞、COS 細胞、桿狀病毒、畢赤酵母) 以重組的方式來生產。蛋白質可以在貼壁細胞或懸浮細胞中生產。在一些實施方式中，融合蛋白是在 CHO 細胞中表現。為了建立穩定的細胞株，將編碼 ENPP1 構建體的核酸序列選殖到合適的載體中以進行大規模蛋白質生產。在另一實施例中，可以透過使用例如蛋白酶 (例如胰蛋白酶、嗜熱菌蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胃蛋白酶或成對的鹼性胺基酸轉化酶 (PACE)) 來消化以重組方式所產生的全長 ENPP1 多肽，從而生產出本公開的經修飾或未經修飾多肽。電腦分析 (使用市售軟體，例如 MacVector、Omega、PCGene、Molecular Simulation, Inc.) 可用於鑑別蛋白水解切割位點。可替代地，可以使用化學切割 (例如溴化氰、羥胺等) 從以重組方式所生成的全長 ENPP1 多肽中生產此類多肽。

【0206】 許多表現系統是已知的並且可以用於生產 ENPP1 融合蛋白，包括細菌 (例如大腸桿菌和枯草芽孢桿菌)、酵母 (例如釀酒酵母、乳酸克魯維酵母和巴斯德畢赤酵母)、絲狀真菌 (例如麴菌屬)、植物細胞、動物細胞，和昆蟲細胞。所需的蛋白質可以按常規方式來生產，例如由被插入宿主染色體或游離質體上的編碼序列生產。

【0207】 酵母可以用所需蛋白質的編碼序列以任何常用方式 (例如電穿孔) 進行轉形。藉由電穿孔轉形酵母的方法公開於 Becker & Guarente, 1990, Methods

Enzymol. 194：182。經成功轉形的細胞 (即含有本公開 DNA 構建體的細胞) 可以藉由眾所周知的技術來鑑定。舉例而言，可以培養由引入表現構建體所產生的細胞來生產 ENPP1 多肽。可以收取並裂解細胞，並使用諸如 Southern, 1975, J. Mol. Biol, 98：503 及/或 Berent 等人, 1985, Biotech 3：208 所述的方法，針對 DNA 的存在來檢驗其 DNA 含量。可替代地，可以使用抗體來偵測上清液中蛋白質的存在。

【0208】 可用的酵母質體載體包括 pRS403-406 和 pRS413-416，並且通常可從 Stratagene Cloning Systems, La Jolla, CA, USA 取得。質體 RS403、pRS404、pRS405 以及 pRS406 是酵母整合型質體 (Yip)，且包含酵母可篩選標記 I-11S3、TRP1、LEU2 以及 1JRA3。質體 pRS413-416 是酵母著絲點質體 (Yeast Centromere plasmids，YCps)。

【0209】 已開發出各種方法以透過互補黏性末端來將 DNA 可操作地連接於載體。舉例而言，可將互補均聚物段添加至待插入載體 DNA 的 DNA 區段中。載體及 DNA 區段隨後藉由互補均聚尾部之間的氫鍵接合以形成重組 DNA 分子。

【0210】 含有一個或多個限制位點的合成連接子提供了將 DNA 區段接合至載體的替代方法。將藉由核酸內切酶限制性消化所產生的 DNA 區段用噬菌體 T4 DNA 聚合酶或大腸桿菌 DNA 聚合酶 I 進行處理，該等酶可用其 3'-5'-核酸外切活性來移除突出的 3'-單股末端，且用其聚合活性來填充凹陷的 3'-末端。

【0211】 因此，此等活性的組合可產生鈍端 DNA 片段。隨後，在能夠催化鈍端 DNA 分子連接的酶，諸如噬菌體 T4 DNA 連接酶存在下，將鈍端片段與大量莫耳過量的連接子分子一起培育。因此，反應產物是在其末端攜帶有聚合連接子序列的 DNA 片段。此等 DNA 片段可用適當的限制酶進行切割，並連接至表現載體，該表現載體已用酶切割，並可產生與 DNA 片段之末端相容的末端。

【0212】 然後建立單個穩定經轉染細胞的殖株，並篩選出所需 ENPP1 融合蛋白的高度表現殖株。可以使用如前所述的合成酶受質 pNP-TMP 在 96 孔盤中以高生產量方式篩選出用於 ENPP1 蛋白表現的單細胞殖株 (Albright 等人, 2015, Nat. Commun. 6：10006)。在透過篩選鑑定出高度表現純系後，可以在搖瓶或生物反應器中完成蛋白質生產，如 Albright 等人, 2015, Nat. Commun. 6：10006 中所述。

【0213】 ENPP1 的純化可以使用本領域中習知標準純化技術的組合來完成。純化後，ENPP1-Fc 可以透析到補充有 Zn^{2+}和 Mg^{2+}的 PBS (PBSplus) 中，濃縮至 5 到 7 mg/ml 之間，並以 200-500 pl 的等分試樣冷凍於-80℃下。等分試樣可在使用前立即解凍，溶液的比活性可透過在 PBSplus 中稀釋而調整至 31.25 au/ml (或約 0.7 mg/ml，視製劑而定)。

【0214】 4. 例示性用途

【0215】 在某些方面，本公開是關於使用某些可溶性 ENPP1 多肽 (例如及其融合蛋白質) 來減少及/或預防有需要之個體中病理性鈣化的惡化，該方法包含向個體投予治療有效量之本文所公開之多肽融合物及/或可溶性多肽 (例如 SEQ ID NO：2、9、10 以及 11)。在某些實施例中，病理性鈣化是選自於由特發性嬰兒動脈鈣化 (IIAC) 以及動脈粥狀硬化塊鈣化所組成之群組。在某些實施例中，病理性骨化是選自於由後縱韌帶骨化症 (OPLL)、低磷酸鹽佝僂症以及骨關節炎所組成之群組。

【0216】 在一些實施例中，本公開考慮了減少或預防有需要之個體中病理性骨化惡化的方法，該方法包含向個體投予治療有效量之本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽 (例如 SEQ ID NO：2、9、10 及 11)。

【0217】 在一些實施例中，本公開考慮了減少或預防有需要之個體中軟組織異位性鈣化惡化的方法，包括減少、改善或預防血管鈣化，該方法包含向個體投予治療有效量之本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽。

【0218】 在一些實施例中，本公開考慮了減少或預防由 ENPP1 缺乏症 (例如 GACI 及 ARHR2) 所引起之疾病惡化的方法。ENPP1 缺乏症的特徵在於有需要之個體的 ENPP1 活性水平降低及/或 ENPP1 表現水平缺陷 (分別與正常健康個體之 ENPP1 活性水平或 ENPP1 表現水平相比)，該方法包含向個體投予治療有效量之本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合蛋白質 (例如 SEQ ID NO：2、9、10 及 11)。在一些實施例中，ENPP1 缺乏症為 GACI。在一些實施例中，ENPP1 缺乏症為 ARHR2。

【0219】 在一些實施例中，本公開考慮了減少或預防有需要之個體中由血漿 PPi 水平較低所引起之疾病惡化的方法，該方法包含向個體投予治療有效量之本文公開的多肽，以使個體的血漿 PPi 增加至正常水平或高於正常水平 (比正常水平高 30-50%)，然後使血漿 PPi 此後維持在恆定的正常水平或高於正常水平。血漿 PPi 的正常水平相對應為 2-5 μM，在一些實施例中，正常水平為 2-3 μM (Bernhard 等人，A Reference range for Plasma levels of Inorganic Pyrophosphate in Children using the ATP Sulfurylase method, Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2021)。該方法進一步包含以兩天、三天、一週或一個月之間隔投予額外的治療有效量，以便使個體的血漿 PPi 維持在恆定的正常水平或高於正常水平，以減少或預防病理性鈣化或骨化的惡化。在某些實施例中，本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽可用於提高患有 PPi 水平低於正常水平之個體中的焦磷酸 (PPi) 水平。在其他實施例中，本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽可用於減少或預防在患有 PPi 水平低於正常水平之個體中之病理性鈣化或骨化的惡化。在一些實施例中，本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或

ENPP1 融合多肽可用於治療由個體之胞外 PPi 濃度降低所表現的 ENPP1 缺乏症(例如 GACI 及 ARHR2)。在某些實施例中，在投予第一劑量之本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽後所達到的血漿 PPi 穩態水平可維持至少 2 天、至少 4 天、至少一週或至少一個月的時間段。

【0220】 在一些實施例中，本公開考慮了減少或預防有需要之個體中由血漿 PPi 低於正常水平所引起之疾病惡化的方法，該方法包含向個體投予治療有效量之本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽 (例如 SEQ ID NO：2、9、10 及 11)，以使該個體的血漿 PPi 增加及/或維持至正常 PPi 水平的約 90%、95%、100%、105%、110%、120%、130%、140%或 150%。在某些實施例中，該方法還包含每兩天、三天、一週或一個月進一步投予本文公開的多肽，以使血漿 PPi 水平維持在正常 PPi 水平的約 90%、95%、100%、105%、110%、120%、130%、140%或 150%，從而預防病理性鈣化或骨化的惡化。

【0221】 在某些實施例中，在約兩天後、四天後、一週後或一個月後之適合時間間隔後，向個體投予第二劑量之本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽，以使血漿 PPi 的穩態水平維持在恆定或穩態水平，並且不會返回到個體在投予第一劑量之本文公開的構建體之前的較低 PPi 水平。

【0222】 不希望受理論束縛，咸信將血漿 PPi 的穩態濃度維持在正常水平可減少及/或預防個體的病理性鈣化及病理性骨化的惡化。

【0223】 在一些實施例中，本公開考慮了治療、逆轉或預防有需要之個體中後縱韌帶骨化症 (OPLL) 惡化的方法，該方法包含向個體投予治療有效量之本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽 (例如 SEQ ID NO：2、9、10 及 11)。

【0224】 在一些實施例中，本公開考慮了治療、逆轉或預防有需要之個體中低磷酸鹽佝僂症惡化的方法，該方法包含向個體投予治療有效量之本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽 (例如 SEQ ID NO：2、9、10 及 11)。

【0225】 在一些實施例中，本公開的可溶性 ENPP1 多肽可治療人類或動物病症或病況，諸如異位性鈣化 (例如軟組織鈣化、動脈鈣化及血管鈣化)、慢性腎病 (CKD)、末期腎病 (ESRD)、鈣化尿毒症性小動脈病變 (CUA)、鈣過敏、後縱韌帶骨化症 (OPLL)、低磷酸鹽佝僂症、骨關節炎、衰老相關的動脈硬化、特發性嬰兒動脈鈣化 (IIAC)、動脈粥狀硬化塊鈣化、ENPP1 缺乏症 (例如第 2 型體染色體隱性低磷酸鹽佝僂症 (ARHR2) 及嬰兒期全身性動脈鈣化 (GACI))、與 ABCC6 基因致病性突變相關的病症 ((例如 ABCC6 缺乏症)，諸如彈性纖維假黃瘤 (PXE)) 以及病理性骨化。ENPP1 多肽的實例包括人類 ENPP1 前驅多肽 (例如 SEQ ID NO：1) 及可溶性人類 ENPP1 多肽 (例如 SEQ ID NO：2、9、10 及 11)。

【0226】 在其他實施例中，軟組織包含動脈粥狀硬化塊。在一些實施例中，軟組織包含肌動脈。在一些實施例中，軟組織是選自於由關節及脊柱所組成之群組。在一些實施例中，關節是選自於由手關節及腳關節所組成之群組。在一些實施例中，軟組織是選自於由關節軟骨及椎間盤軟骨所組成之群組。在一些實施例中，軟組織包含血管。在一些實施例中，軟組織包含結締組織。

【0227】 在一些實施例中，本公開考慮了治療、逆轉或預防有需要之個體中彈性纖維假黃瘤 (PXE) 惡化的方法，該方法包含向個體投予治療有效量之本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽 (例如 SEQ ID NO：2、9、10 及 11)。

【0228】 在一些實施例中，本公開考慮了減少或預防有需要之個體中與年齡相關的動脈硬化惡化的方法，該方法包含向個體投予治療有效量之本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽 (例如 SEQ ID NO：2、9、10 及 11)。

【0229】 在一些實施例中，本公開考慮了治療、逆轉或預防有需要之個體中的血管動脈中動脈粥狀硬化塊鈣化惡化的方法，該方法包含向個體投予治療有效量之本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽 (例如 SEQ ID NO：2、9、10 及 11)。

【0230】 在一些實施例中，本公開考慮了治療、逆轉或預防有需要之個體中骨關節炎惡化的方法，該方法包含向個體投予治療有效量之本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽 (例如 SEQ ID NO：2、9、10 及 11)。

【0231】 在一些實施例中，本公開考慮了治療、逆轉或預防有需要之個體中因早衰症所致之動脈硬化惡化的方法，該方法包含向個體投予治療有效量之本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽 (例如 SEQ ID NO：2、9、10 及 11)。

【0232】 在一些實施例中，本公開考慮了治療、逆轉或預防有需要之個體中 X-性聯遺傳型低磷酸鹽佝僂症 (XLH)、遺傳性低磷酸鹽佝僂症 (HHRH)、低血磷骨骼疾病 (HBD)、後縱韌帶骨化症 (OPLL)、體染色體顯性低磷酸鹽佝僂症 (ADHR) 及/或體染色體隱性低磷酸鹽佝僂症 (ARHR2) 惡化的方法，該方法包含向個體投予治療有效量之本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽(例如 SEQ ID NO：2、9、10 及 11)。

【0233】 在一些實施例中，本公開考慮了治療、逆轉或預防有需要之個體中與年齡相關的骨質缺乏症惡化的方法，該方法包含向個體投予治療有效量之本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽 (例如 SEQ ID NO：2、9、10 及 11)。

【0234】 在一些實施例中，本公開考慮了治療、逆轉或預防在有需要之個體中之僵直性脊椎炎惡化的方法，該方法包含向個體投予治療有效量之本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽 (例如 SEQ ID NO：2、9、10 及 11)。

【0235】 在一些實施例中，本公開考慮了治療、逆轉或預防有需要之個體中小兒鐮狀紅血球貧血之中風惡化的方法，該方法包含向個體投予治療有效量之本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽 (例如 SEQ ID NO：2、9、10 及 11)。

【0236】 在某些實施例中，本公開考慮了治療、逆轉或預防經診斷患有早衰症之個體中疾病惡化的方法，該方法包含向個體投予治療有效量之本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽 (例如 SEQ ID NO：2、9、10 及 11)。

【0237】 在某些實施例中，多肽是在哺乳動物細胞中表現的 ENPP1 前驅蛋白的分泌產物。在其他實施例中，ENPP1 前驅蛋白包含訊號肽序列和 ENPP1 多肽，其中 ENPP1 前驅蛋白經由蛋白水解加工而成為本文公開的多肽。在一些實施例中，在 ENPP1 前驅蛋白中，訊號肽序列是接合至 ENPP1 多肽的 N-端。一旦蛋白水解後，訊號序列便會從 ENPP1 前驅蛋白被切下，以提供 ENPP1 多肽。在某些實施例中，訊號肽序列是選自於由 ENPP1 訊號肽序列、ENPP2 訊號肽序列、ENPP7 訊號肽序列以及 ENPP5 訊號肽序列所構成之群組。

【0238】 在某些實施例中，向個體急性或長期地投予多肽。在其他實施例中，向個體局部、區域性、非經腸方式或全身性投予多肽。

【0239】 在某些實施例中，個體是哺乳動物。在其他實施例中，哺乳動物是人類。

【0240】 所屬技術領域具有通常知識者在掌握本文的揭示內容 (包括本文詳述之方法) 時應瞭解到，本公開不限於在疾病或病症確立後對其進行治療。特定言之，疾病或病症之症狀不需要表現至對個體有害之程度；實際上，在投予治療前不需要在個體中偵測到疾病或病症。換句話說，在本發明之 ENPP1 多肽可提供益處之前，不一定必須發生疾病或病症之顯著病變。

【0241】 在某些方面，本公開是關於用於預防個體之疾病及病症的方法，因為可在疾病或病症發作之前向個體投予本文公開的可溶性 ENPP1 多肽或 ENPP1 融合多肽，從而預防罹患疾病或病症。因此，本公開是關於用於預防或延遲個體之疾病或病症發作或減少疾病或病症惡化或生長的方法，其包含在偵測到疾病或病症之前向個體投予 ENPP1 多肽。在某些實施方式中，向具有疾病或病症之明確家族病史之個體投予 ENPP1 多肽，從而預防或延遲疾病或病症之發作或惡化。

【0242】 所屬技術領域中具有通常知識者在掌握本文揭示內容後將因此瞭解，預防個體之疾病或病症涵蓋向個體投予 ENPP1 多肽作為針對疾病或病症之預防性措施。

【0243】 在某些實施例中，可投予本文公開的凍乾調配物以遞送 1 ng/kg/天至 100 mg/kg/天之劑量。在其他實施例中，可投予本文公開的凍乾調配物以遞送 1 ng/kg/天至 500 mg/kg/天之劑量。

【0244】 在一些實施例中，可投予本文公開的凍乾調配物以遞送 0.1 mg/kg 之劑量。在一些實施例中，可投予本文公開的凍乾調配物以遞送 0.2 mg/kg 之劑量。在一些實施例中，可投予本文公開的凍乾調配物以遞送 0.3 mg/kg 之劑量。在一些實施例中，可投予本文公開的凍乾調配物以遞送 0.4 mg/kg 之劑量。在一些實施例中，可投予本文公開的凍乾調配物以遞送 0.5 mg/kg 之劑量。在其他實施例中，可投予本文公開的凍乾調配物以遞送 0.6 mg/kg 之劑量。在其他實施例中，可投予本文公開的凍乾調配物以遞送 0.7 mg/kg 之劑量。在其他實施例中，可投予本文公開的凍乾調配物以遞送 0.8 mg/kg 之劑量。在其他實施例中，可投予本文公開的凍乾調配物以遞送 0.9 mg/kg 之劑量。在其他實施例中，可投予本文公開的凍乾調配物以遞送 1 mg/kg 之劑量。在其他實施例中，可投予本文公開的凍乾調配物以遞送 1.2 mg/kg 之劑量。在其他實施例中，可投予本文公開

的凍乾調配物以遞送 1.4 mg/kg 之劑量。在其他實施例中，可投予本文公開的凍乾調配物以遞送 1.6 mg/kg 之劑量。在其他實施例中，可投予本文公開的凍乾調配物以遞送 1.8 mg/kg 之劑量。

【0245】 本文公開的凍乾調配物中的活性成分 (例如可溶性 ENPP1 多肽及其融合蛋白)、醫藥上可接受的載劑和任何額外成分的相對量將根據所治療個體的屬性、身材和病況而有不同，且進一步取決於組成物投藥的途徑。舉例而言，組成物可包含約 0.1%至約 100% (w/w) 的活性成分。

【0246】 如本文所用，「單位劑量」是含有預定量活性成分 (例如可溶性 ENPP1 多肽及其融合蛋白質) 之凍乾調配物的離散量。活性成分的量一般等於向個體所投予之活性成分的劑量或此劑量之適宜分量，諸如此劑量的二分之一或三分之一。單位劑型可以是用於單次日劑量或多次日劑量 (例如每天約 1 至 4 次或更多次) 中之一劑量。當使用多次日劑量時，各劑量的單位劑型可相同或不同。

【0247】 在一些實施例中，ENPP1-Fc 能夠以約 0.1 至約 300 毫克/毫升的濃度存在於調配物中。在一些實施例中，ENPP1-Fc 的濃度為約 0.5 毫克/毫升、約 1 毫克/毫升、約 2 毫克/毫升、約 2.5 毫克/毫升、約 3 毫克/毫升、約 3.5 毫克/毫升、約 4 毫克/毫升、約 4.5 毫克/毫升、約 5 毫克/毫升、約 5.5 毫克/毫升、約 6 毫克/毫升、約 6.5 毫克/毫升、約 7 毫克/毫升、約 7.5 毫克/毫升、約 8 毫克/毫升、約 8.5 毫克/毫升、約 9 毫克/毫升、約 9.5 毫克/毫升、約 10 毫克/毫升、約 11 毫克/毫升、約 12 毫克/毫升、約 13 毫克/毫升、約 14 毫克/毫升、約 15 毫克/毫升、約 16 毫克/毫升、約 17 毫克/毫升、約 18 毫克/毫升、約 19 毫克/毫升、約 20 毫克/毫升、約 21 毫克/毫升、約 22 毫克/毫升、約 23 毫克/毫升、約 24 毫克/毫升、約 25 毫克/毫升、約 26 毫克/毫升、約 27 毫克/毫升、約 28 毫克/毫升、約 29 毫克/毫升、約 30 毫克/毫升、約 31 毫克/毫升、約 32 毫克/毫升、約 33 毫克/

毫升、約 34 毫克/毫升、約 35 毫克/毫升、約 36 毫克/毫升、約 37 毫克/毫升、約 38 毫克/毫升、約 39 毫克/毫升、約 40 毫克/毫升、約 41 毫克/毫升、約 42 毫克/毫升、約 43 毫克/毫升、約 44 毫克/毫升、約 45 毫克/毫升、約 46 毫克/毫升、約 47 毫克/毫升、約 48 毫克/毫升、約 49 毫克/毫升、約 50 毫克/毫升、約 51 毫克/毫升、約 52 毫克/毫升、約 53 毫克/毫升、約 54 毫克/毫升、約 55 毫克/毫升、約 56 毫克/毫升、約 57 毫克/毫升、約 58 毫克/毫升、約 59 毫克/毫升、約 60 毫克/毫升、約 70 毫克/毫升、約 80 毫克/毫升、約 90 毫克/毫升、約 100 毫克/毫升、約 101 毫克/毫升、約 102 毫克/毫升、約 102.5 毫克/毫升、約 103 毫克/毫升、約 103.5 毫克/毫升、約 104 毫克/毫升、約 104.5 毫克/毫升、約 105 毫克/毫升、約 105.5 毫克/毫升、約 106 毫克/毫升、約 106.5 毫克/毫升、約 107 毫克/毫升、約 107.5 毫克/毫升、約 108 毫克/毫升、約 108.5 毫克/毫升、約 109 毫克/毫升、約 109.5 毫克/毫升、約 110 毫克/毫升、約 111 毫克/毫升、約 112 毫克/毫升、約 113 毫克/毫升、約 114 毫克/毫升、約 115 毫克/毫升、約 116 毫克/毫升、約 117 毫克/毫升、約 118 毫克/毫升、約 119 毫克/毫升、約 120 毫克/毫升、約 121 毫克/毫升、約 122 毫克/毫升、約 123 毫克/毫升、約 124 毫克/毫升、約 125 毫克/毫升、約 126 毫克/毫升、約 127 毫克/毫升、約 128 毫克/毫升、約 129 毫克/毫升、約 130 毫克/毫升、約 131 毫克/毫升、約 132 毫克/毫升、約 133 毫克/毫升、約 134 毫克/毫升、約 135 毫克/毫升、約 136 毫克/毫升、約 137 毫克/毫升、約 138 毫克/毫升、約 139 毫克/毫升、約 140 毫克/毫升、約 141 毫克/毫升、約 142 毫克/毫升、約 143 毫克/毫升、約 144 毫克/毫升、約 145 毫克/毫升、約 146 毫克/毫升、約 147 毫克/毫升、約 148 毫克/毫升、約 149 毫克/毫升、約 150 毫克/毫升、約 151 毫克/毫升、約 152 毫克/毫升、約 153 毫克/毫升、約 154 毫克/毫升、約 155 毫克/毫升、約 156 毫克/毫升、約 157 毫克/毫升、約 158 毫克/毫升、約 159 毫克/毫升、約 160 毫克/毫升、約 170 毫克/毫升、約 180 毫克/毫升、約 190 毫克/毫

升、約 200 毫克/毫升、約 201 毫克/毫升、約 202 毫克/毫升、約 203 毫克/毫升、約 204 毫克/毫升、約 205 毫克/毫升、約 206 毫克/毫升、約 207 毫克/毫升、約 208 毫克/毫升、約 209 毫克/毫升、約 210 毫克/毫升、約 211 毫克/毫升、約 212 毫克/毫升、約 213 毫克/毫升、約 214 毫克/毫升、約 215 毫克/毫升、約 216 毫克/毫升、約 217 毫克/毫升、約 218 毫克/毫升、約 219 毫克/毫升、約 220 毫克/毫升、約 221 毫克/毫升、約 222 毫克/毫升、約 223 毫克/毫升、約 224 毫克/毫升、約 225 毫克/毫升、約 226 毫克/毫升、約 227 毫克/毫升、約 228 毫克/毫升、約 229 毫克/毫升、約 230 毫克/毫升、約 231 毫克/毫升、約 232 毫克/毫升、約 233 毫克/毫升、約 234 毫克/毫升、約 235 毫克/毫升、約 236 毫克/毫升、約 237 毫克/毫升、約 238 毫克/毫升、約 239 毫克/毫升、約 240 毫克/毫升、約 241 毫克/毫升、約 242 毫克/毫升、約 243 毫克/毫升、約 244 毫克/毫升、約 245 毫克/毫升、約 246 毫克/毫升、約 247 毫克/毫升、約 248 毫克/毫升、約 249 毫克/毫升、約 250 毫克/毫升、約 251 毫克/毫升、約 252 毫克/毫升、約 253 毫克/毫升、約 254 毫克/毫升、約 255 毫克/毫升、約 256 毫克/毫升、約 257 毫克/毫升、約 258 毫克/毫升、約 259 毫克/毫升、約 260 毫克/毫升、約 270 毫克/毫升、約 280 毫克/毫升、約 290 毫克/毫升 或約 300 毫克/毫升。

【0248】 給藥方案可能會影響有效量的組成。舉例而言，可以每日或依次投予數個分開的劑量以及交錯的劑量，或者可以連續輸注該劑量，或者可以是單次快速注射 (bolus injection)。此外，治療性調配物的劑量可依治療或預防情形之緊急狀況而按比例增加或減少。

【0249】 可以使用已知的程序，以有效於治療患者之疾病或病症的劑量和時段，將本公開的組成物 (例如可溶性 ENPP1 多肽及其融合蛋白) 投予給患者，諸如哺乳動物 (亦即人類)。達成治療效果所必需之治療性化合物的有效量可根據以下因素而變化：諸如所採用之特定化合物的活性；投予時間；化合物的排泄

率；治療持續時間；與化合物合併使用的其他藥物、化合物或材料；所治療之患者的疾病或病症狀態、年齡、性別、體重、狀況、一般健康及先前病史以及醫學領域中眾所周知的類似因素。可調整給藥方案以提供最佳治療反應。劑量是基於治療性化合物的生物活性來確定，而生物活性又視治療性化合物曲線的半衰期及血漿時間下的面積而定。根據本文之揭示內容之多肽是以每 2 天、或每 4 天、或每週或每個月之適當時間間隔投予，以便達到接近 PPi 的正常水平 (1-3 pM) 或高於正常水平 (比正常水平高 30-50%) 之血漿 PPi 的持續水平。ENPP1 多肽之治療劑量亦可基於半衰期或治療性多肽自體內清除的速率來確定。根據本文之揭示內容之多肽是以每 2 天、或每 4 天、或每週或每個月之適當時間間隔投予，以便達到 ENPP1 之酶活性的恆定水平。

【0250】 舉例而言，可每天投予若干分次劑量，或可如治療情況之緊急程度所指示按比例減少劑量。本文所揭示之治療性化合物的有效劑量範圍的非限制性實例為每天每公斤體重約 0.01 至 50 mg。在一些實施例中，本文所揭示之治療性化合物的有效劑量範圍為每公斤體重約 50 ng 至 500 ng，較佳為每公斤體重 100 ng 至 300 ng。所屬技術領域中具有通常知識者將能夠研究相關因素並且作出關於治療性化合物之有效量的決定，而無需過度實驗。

【0251】 可溶性 ENPP1 多肽及其融合蛋白能夠以每日數次的頻率向患者投予，或其能夠以較低的頻率投予，諸如一天一次、一週一次、每兩週一次、每月一次或甚至更低的頻率，諸如每數月一次或甚至一年一次或更少。應理解的是，在非限制性實施例中，每天給予的可溶性 ENPP1 多肽及其融合蛋白的量能夠每天、每隔一天、每 2 天、每 3 天、每 4 天或每 5 天投予。舉例而言，在每隔一天投予的情況下，可在週一開始 5 毫克/天劑量，在週三投予第一個後續的 5 毫克/天劑量，在週五投予第二個後續的 5 毫克/天劑量，以此類推。劑量頻率

對於所屬技術領域中具有通常知識者為顯而易見的，並且視多種因素而定，諸如但不限於所治療疾病的類型及嚴重程度，以及患者的類型及年齡。

【0252】 本文揭示內容之凍乾調配物中活性成分 (例如可溶性 ENPP1 多肽及其融合蛋白質) 的實際劑量水平可加以變化，以便獲得有效的活性成分量，以達成特定患者、組成物及投予模式之所需治療反應，而不會對患者產生毒性。

【0253】 所屬技術領域中具有通常知識之醫生 (例如醫師) 可容易地確定及開具所需凍乾調配物的有效量。舉例而言，醫師或獸醫能以低於為達成所需治療效果而需要的水平來開始凍乾調配物中所用之本文公開的化合物的劑量，並且逐漸增加劑量直至達成所需效果。

【0254】 在某些實施例中，本文所揭示的組成物是以每天一至五次或更多次的劑量向患者投予。在其他實施例中，本文所揭示的組成物是以包括但不限於每天一次、每兩天一次、每三天一次至一週一次及每兩週一次的劑量範圍向患者投予。本文所揭示之各種組合組成物的投予頻率視許多因素而在個體間變化，該等因素包括但不限於年齡、待治療之疾病或病症、性別、總體健康狀況及其他因素。因此，本文之揭示內容不應理解為限於任何特定劑量方案，並且向任何患者投予的精確劑量及組成物將由主治醫生在考慮關於患者之所有其他因素的情況下來決定。

【0255】 在某些實施例中，本文之揭示內容是關於一種包裝的凍乾調配物，其包含容納單獨或與第二藥劑組合之治療有效量的本文所揭示之化合物的容器；及使用化合物來治療、預防或減少患者中疾病或病症之一種或多種症狀的說明書。

【0256】 在某些實施例中，向個體急性或長期地投予多肽或其前驅蛋白。在其他實施例中，向個體局部、區域性或全身性投予多肽或其前驅蛋白。在另

一實施例中，多肽或其前驅蛋白質是在編碼載體上遞送，其中該載體可編碼蛋白質，並且在向個體投予該載體後會自該載體進行轉錄及轉譯。

【0257】 如本文所用，凍乾調配物的「非經腸給藥 (parenteral administration)」包括任何投藥途徑，其特徵在於個體組織的物理破裂並經由組織破裂來投予凍乾調配物。因此，非經腸給藥包括但不限於藉由注射組成物、藉由透過手術切口而施用組成物、藉由透過組織穿透性非手術傷口而施用組成物，以及類似方式來投予凍乾調配物。具體而言，經審慎考慮非經腸給藥包括但不限於皮下、靜脈內、腹膜內、肌肉內、胸骨內注射和腎臟透析輸注技術。

【0258】 適合於非經腸給藥的凍乾調配物可包含一種或多種 ENPP1 多肽與一種或多種醫藥上可接受的無菌等張水性或非水性溶液、分散液、懸浮液或乳化液或無菌粉末的組合，該無菌粉末可在使用前復水成無菌可注射溶液或分散液，其可含有抗氧化劑、緩衝劑、抑菌劑、使調配物與預期接受者之血液等張的溶質或懸浮劑或增稠劑。可用於本公開之凍乾調配物中的合適水性及非水性載劑的實例包括水、乙醇、多元醇 (諸如甘油、丙二醇、聚乙二醇及其類似物) 及其適合的混合物、植物油 (諸如橄欖油)及可注射有機酯 (諸如油酸乙酯)。舉例而言，可藉由使用包衣材料 (諸如卵磷脂)、在分散液的情況下可藉由維持所需粒度及藉由使用界面活性劑來維持適當流動性。

【0259】 必要時，組成物及調配物可存在於包裝或分配器裝置中，該包裝或分配器裝置可含有一個或多個含有活性成分的單位劑型。舉例而言，包裝可包含金屬或塑膠箔，諸如泡殼包裝。包裝或分配器裝置可附帶有給藥說明書。

【0260】 5. 序列

【0261】 表 2：序列

SEQ	序列	描述

ID NO		
1	1 MERDGCAGGG SRGGEGGRAP REGPAGNGRD RGRSHAAEAP GDPQAAASLL 51 APMDVGEEPL EKAARARTAK DPNTYKVLSL1VLSVCVLTTI LGCIFGLKPS 101 CAKEVKSCKG RCFERTFGNC RCDAACVELG NCCLDYQETC IEPEHIWTCN 151 KFRCGEKRLT RSLCACSDDC KDKGDCCINY SSVCQGEKSW VEEPCESINE 201 PQCPAGFETP PTLLFSLDGF RAEYLHTWGG LLPVISKLKK CGTYTKNMRP 251 VYPTKTFPNH YSIVTGLYPE SHGIIDNKMY DPKMNASFSL KSKEKFNPEW 301 YKGEPIWVTA KYQGLKSGTF FWPGSDVEIN GIFPDIYKMY NGSVPFEERI 351 LAVLQWLQLP KDERPHFYTL YLEEPDSSGH SYGPVSSEVI KALQRVDGMV 401 GMLMDGLKEL NLHRCLNLIL ISDHGMEQGS CKKYIYLNKY LGDVKNIKVI 451 YGPAARLRPS DVPDKYYSFN YEGIARNLSC REPNQHFKPY LKHFLPKRLH 501 FAKSDRIEPL TFYLDPQWQL ALNPSERKYC GSGFHGSDNV FSNMQALFVG 551 YGPGFKHGIE ADTFENIEVY NLMCDLLNLT PAPNNGTHGS LNHLLKNPVY 601 TPKHPKEVHP LVQCPFTRNP RDNLGCSCNP SILPIEDFQT QFNLTVAEEK 651 IIKHETLPYG RPRVLQKENT ICLLSQHQFM SGYSQDILMP LWTSYTVDRN 701 DSFSTEDFSN CLYQDFRIPL SPVHKCSFYK NNTKVSYGFL SPPQLNKNSS 751 GIYSEALLTT NIVPMYQSFQ VIWRYFHDTL LRKYAEERNG VNVVSGPVFD 801 FDYDGRCDSL ENLRQKRRVI RNQEILIPTH FFIVLTSCKD TSQTPLHCEN 851 LDTLAFILPH RTDNSESCVH GKHDSSWVEE LLMLHRARIT DVEHITGLSF 901 YQQRKEPVSD ILKLKTHLPT FSQED	野生型ENPP1前驅蛋白之完整、未加工的胺基酸序列
2	1 PSCAKEVKSC KGRCFERTFG NCRCDAACVE LGNCCLDYQE TCIEPEHIWT 51 CNKFRCGEKR LTRSLCACSD DCKDKGDCCI NYSSVCQGEK SWVEEPCESI 101 NEPQCPAGFE TPPTLLFSLD GFRAEYLHTW GGLLPVISKL KKCGTYTKNM 151 RPVYPTKTFP NHYSIVTGLY PESHGIIDNK MYDPKMNASF SLKSKEKFNP 201 EWYKGEPIWV TAKYQGLKSG TFFWPGSDVE INGIFPDIYK MYNGSVPFEE 251 RILAVLQWLQ LPKDERPHFY TLYLEEPDSS GHSYGPVSSE VIKALQRVDG 301 MVGMLMDGLK ELNLHRCLNL ILISDHGMEQ GSCKKYIYLN KYLGDVKNIK 351 VIYGPAARLR PSDVPDKYYS FNYEGIARNL SCREPNQHFK PYLKHFLPKR 401 LHFAKSDRIE PLTFYLDPQW QLALNPSERK YCGSGFHGSD NVFSNMQALF 451 VGYGPGFKHG IEADTFENIE VYNLMCDLLN LTPAPNNGTH GSLNHLLKNP 501 VYTPKHPKEV HPLVQCPFTR NPRDNLGCSC NPSILPIEDF QTQFNLTVAE 551 EKIIKHETLP YGRPRVLQKE NTICLLSQHQ FMSGYSQDIL MPLWTSYTVD 601 RNDSFSTEDF SNCLYQDFRI PLSPVHKCSF YKNNTKVSYG FLSPPQLNKN 651 SSGIYSEALL TTNIVPMYQS FQVIWRYFHD TLLRKYAEER NGVNVVSGPV 701 FDFDYDGRCD SLENLRQKRR VIRNQEILIP THFFIVLTSC KDTSQTPLHC 751 ENLDTLAFIL PHRTDNSESC VHGKHDSSWV EELLMLHRAR ITDVEHITGL	經加工(成熟)的胞外ENPP1多肽序列

	801 SFYQQRKEPV SDILKLKTHL PTFSQED	
9	FTAGLKPSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETCIEPEHIW TCNKFRCGEKRLTRSLCACSDDCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQ CPAGFETPPTLLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISKLKKCGTYTKNMRPVYPTKTFP NHYSIVTGLYPESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQ GLKSGTFFWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEERILAVLQWLQLPKDERPHFYT LYLEEPDSSGHSYGPVSSEVIKALQRVDGMVGMLMDGLKELNLHRCLNLILISDH GMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDVPDKYYSFNYEGIARNLS CREPNQHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSERKYCGSGFH GSDNVFSNMQALFVGYGPGFKHGIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGS LNHLLKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNPRDNLGCSCNPSILPIEDFQTQFNLTVA EEKIIKHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDSF STEDFSNCLYQDFRIPLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEALLTT NIVPMYQSFQVIWRYFHDTLLRKYAEERNGVNVVSGPVFDFDYDGRCDSLENLR QKRRVIRNQEILIPTHFFIVLTSCKDTSQTPLHCENLDTLAFILPHRTDNSESCVHGK HDSSWVEELLMLHRARITDVEHITGLSFYQQRKEPVSDILKLKTHLPTFSQEDLIN**D KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK**	ENPP1- 連接子 -hIgG1 Fc 構建體
10	GLKPSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETCIEPEHIWTCN KFRCGEKRLTRSLCACSDDCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCPA GFETPPTLLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISKLKKCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHY SIVTGLYPESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQGLK SGTFFWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEERILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLE EPDSSGHSYGPVSSEVIKALQRVDGMVGMLMDGLKELNLHRCLNLILISDHGMEQ GSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDVPDKYYSFNYEGIARNLSCREPN QHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSERKYCGSGFHGSDN VFSNMQALFVGYGPGFKHGIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHL LKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNPRDNLGCSCNPSILPIEDFQTQFNLTVAEEKII KHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDSFSTEDF SNCLYQDFRIPLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEALLTTNIVPM YQSFQVIWRYFHDTLLRKYAEERNGVNVVSGPVFDFDYDGRCDSLENLRQKRRVI RNQEILIPTHFFIVLTSCKDTSQTPLHCENLDTLAFILPHRTDNSESCVHGKHDSSW VEELLMLHRARITDVEHITGLSFYQQRKEPVSDILKLKTHLPTFSQEDLIN**DKTHT**	ENPP1- 連接子 -hIgG1 Fc 構建體

	CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK	
11	PSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETCIEPEHIWTCNKFR CGEKRLTRSLCACSDDCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCPAGFET PPTLLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISKLKKCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVT GLYPESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQGLKSGTF FWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEERILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDS SGHSYGPVSSEVIKALQRVDGMVGMLMDGLKELNLHRCLNLILISDHGMEQGSC KKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDVPDKYYSFNYEGIARNLSCREPNQHF KPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSERKYCGSGFHGSDNVFSN MQALFVGYGPGFKHGIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHLLKNP VYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNPRDNLGCSCNPSILPIEDFQTQFNLTVAEEKIIKHET LPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDSFSTEDFSNCL YQDFRIPLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEALLTTNIVPMYQSF QVIWRYFHDTLLRKYAEERNGVNVVSGPVFDFDYDGRCDSLENLRQKRRVIRNQ EILIPTHFFIVLTSCKDTSQTPLHCENLDTLAFILPHRTDNSESCVHGKHDSSWVEEL LMLHRARITDVEHITGLSFYQQRKEPVSDILKLKTHLPTFSQEDLIN**DKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK**	ENPP1- 連接子 -hIgG1 Fc 構建體
12	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK	人類 IgG1 Fc
13	FTAGLKPSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETCIEPEHIW TCNKFRCGEKRLTRSLCACSDDCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQ CPAGFETPPTLLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISKLKKCGTYTKNMRPVYPTKTFP NHYSIVTGLYPESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQ GLKSGTFFWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEERILAVLQWLQLPKDERPHFYT LYLEEPDSSGHSYGPVSSEVIKALQRVDGMVGMLMDGLKELNLHRCLNLILISDH	例示性可溶形式的 ENPP1

	GMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDVPDKYYSFNYEGIARNLS CREPNQHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSERKYCGSGFH GSDNVFSNMQALFVGYGPGFKHGIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGS LNHLLKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNPRDNLGCSCNPSILPIEDFQTQFNLTVA EEKIIKHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDSF STEDFSNCLYQDFRIPLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEALLTT NIVPMYQSFQVIWRYFHDTLLRKYAEERNGVNVVSGPVFDFDYDGRCDSLENLR QKRRVIRNQEILIPTHFFIVLTSCKDTSQTPLHCENLDTLAFILPHRTDNSESCVHGK HDSSWVEELLMLHRARITDVEHITGLSFYQQRKEPVSDILKLKTHLPTFSQED	
14	GLKPSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETCIEPEHIWTCN KFRCGEKRLTRSLCACSDDCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCPA GFETPPTLLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISKLKKCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHY SIVTGLYPESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQGLK SGTFFWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEERILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLE EPDSSGHSYGPVSSEVIKALQRVDGMVGMLMDGLKELNLHRCLNLILISDHGMEQ GSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDVPDKYYSFNYEGIARNLSCREPN QHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSERKYCGSGFHGSDN VFSNMQALFVGYGPGFKHGIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHL LKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNPRDNLGCSCNPSILPIEDFQTQFNLTVAEEKII KHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDSFSTEDF SNCLYQDFRIPLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEALLTTNIVPM YQSFQVIWRYFHDTLLRKYAEERNGVNVVSGPVFDFDYDGRCDSLENLRQKRRVI RNQEILIPTHFFIVLTSCKDTSQTPLHCENLDTLAFILPHRTDNSESCVHGKHDSSW VEELLMLHRARITDVEHITGLSFYQQRKEPVSDILKLKTHLPTFSQED	例示性可溶形 式的 ENPP1
15	PSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETCIEPEHIWTCNKFR CGEKRLTRSLCACSDDCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCPAGFET PPTLLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISKLKKCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVT GLYPESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQGLKSGTF FWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEERILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDS SGHSYGPVSSEVIKALQRVDGMVGMLMDGLKELNLHRCLNLILISDHGMEQGSC KKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDVPDKYYSFNYEGIARNLSCREPNQHF KPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSERKYCGSGFHGSDNVFSN MQALFVGYGPGFKHGIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHLLKNP VYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNPRDNLGCSCNPSILPIEDFQTQFNLTVAEEKIIKHET LPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDSFSTEDFSNCL YQDFRIPLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEALLTTNIVPMYQSF	例示性可溶形 式的 ENPP1

	QVIWRYFHDTLLRKYAEERNGVNVVSGPVFDFDYDGRCDSLENLRQKRRVIRNQ EILIPTHFFIVLTSCKDTSQTPLHCENLDTLAFILPHRTDNSESCVHGKHDSSWVEEL LMLHRARITDVEHITGLSFYQQRKEPVSDILKLKTHLPTFSQED	

【0262】 本說明書中所用的術語，在本公開的上下文內及在使用各術語之特定上下文中，通常具有其在所屬技術領域中的普通含義。某些術語在下文或本說明書別處論述，以在描述本文之揭示內容的組成物及方法以及如何製造及使用其時向從業者提供額外指導。術語之任何使用範圍或含義將自使用該術語之特定上下文中顯而易見。

【0263】 「約 (about)」及「大致 (approximately)」一般應意謂鑒於量測值的性質或精確度，所量測的量之可接受誤差程度。典型地，例示性誤差程度在給定值或值範圍的百分之 20 (%) 內，較佳是在 10%內，且更佳是在 5%內。

【0264】 可替代地，尤其在生物系統中，術語「約」及「大致」可意謂在給定值之數量級內，較佳是在 5 倍內且更佳是在 2 倍內的值。除非另外說明，否則本文中給定之數值量為近似值，意謂當未明確陳述時可推斷術語「約」或「大致」。

【0265】 除非使用術語的上下文另外明確規定，否則術語「一 (a/an)」包括複數個指示物。術語「一 (a/an)」以及術語「一個或多個 (one or more)」及「至少一個 (at least one)」在本文中可互換使用。此外，本文所用之「及/或 (and/or)」應視為兩個或更多個指定特徵或組分中之每一者具有或不具有另一者的特定揭示內容。因此，本文在諸如「A 及/或 B」之片語中所用的術語「及/或」意欲包括「A 及 B」、「A 或 B」、「A」 (單獨)及「B」 (單獨)。同樣地，諸如「A、B 及/或 C」之片語中所用的術語「及/或」意欲涵蓋以下態樣中的每一者：A、B 及 C；A、B 或 C；A 或 C；A 或 B；B 或 C；A 及 C；A 及 B；B 及 C；A (單獨)；B (單獨)；及 C (單獨)。

【0266】 本文所揭示的數值範圍包括界定範圍的數值。

【0267】 本文所揭示之多肽可包含非天然存在的胺基酸序列。此類變異體必須與起始分子具有小於 100%的序列同一性或相似性。在某些實施例中，變異體的胺基酸序列將例如在變異分子的長度上與起始 (例如天然存在或野生型) 多肽的胺基酸序列具有約 75%至小於 100%的胺基酸序列同一性或相似性，更佳約 80%至小於 100%，更佳約 85%至小於 100%，更佳約 90%至小於 100% (例如 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%)，且最佳約 95%至小於 100%。

【0268】 本文描述較佳方法及材料，但與本文所述之方法及材料類似或等效的方法及材料亦可用於本發明所揭示之方法及組成物的實踐或測試。本文提及的所有出版物、專利申請案、專利及其他參考文獻均以全文引用的方式併入。

【0269】 **實例**

【0270】 現在對本發明進行一般性描述，藉由參考以下實例將更容易理解本發明，包括該等實例僅為了說明本發明之某些實施方式，且不意欲限制本發明。

【0271】 ***實例 1：生成 ENPP1 融合蛋白***

【0272】 可溶性 ENPP1 融合蛋白是透過連結子 (包括白胺酸、異白胺酸和天冬醯胺酸) 融合到人類 Fc 結構域，以下稱為 ENPP1-Fc。表 2 中顯示了三個 ENPP1-Fc 構建體，其為從 CHO 細胞所純化出的 SEQ ID NO：9、10 和 11。

【0273】 ENPP1-Fc 的純化可以藉由一系列管柱層析步驟來實現，包括例如以下三者或更多者，按任意順序：蛋白 A 層析、Q 瓊脂糖層析、苯基瓊脂糖層析、尺寸排阻層析和陽離子交換層析。純化可以加上病毒過濾和緩衝液交換來完成。蛋白質純化後，可以使用 pNP-TMP 作為顯色受質來評估 ENPP1-Fc 蛋白的催化活性。為了確定在應力和非應力條件下都能使 ENPP1-Fc 具有最佳化學、

物理和結構穩定性的調配物，在基準緩衝劑、添加劑、溶解度、界面活性劑篩選和輔助因子篩選的過程中，以反覆的方式來評估多種緩衝劑類型、pH 條件、賦形劑和界面活性劑的濃度。

【0274】 ***實施例2：生成凍乾ENPP1多肽調配物***

【0275】 本文公開的凍乾 ENPP1 多肽調配物是根據以下步驟而生成。將濃度為 44 mg/mL 的 ENPP1-Fc 進行緩衝液交換，使之變成缺乏界面活性劑的調配物緩衝液。緩衝液交換過程共進行四個循環週期以及總稀釋倍率大於 400 倍。利用 1.47 ml/mg*cm 的吸光度和 1.0 cm 的路徑長度，透過紫外光-可見光分光光譜儀來測量緩衝液交換樣品中的蛋白質濃度。在標準化至 50.0 mg/mL 過程中，將界面活性劑 (PS20) 加入到所有的調配物中，最終濃度為 0.05%。在緩衝液交換後，將調配物進行無菌過濾，以 0.5 mL 的填充量充填到經三重沖洗且高壓滅菌的小瓶中，並裝上經滅菌的橡膠塞。

【0276】 ENPP1-Fc 凍乾循環週期 (表 3) 是由初始黏著 (annealing) 步驟所組成，其中溫度是從-50°C 至-20°C 持續數小時，以允許含有甘露醇的調配物完全結晶。在黏著步驟之後，透過將壓力設定為 100 mTorr 且將棚架溫度提高到 25°C 來開始初次乾燥，初次乾燥將持續 1793 分鐘 (約 30 小時)。初次乾燥完成後，透過將溫度提高到 40°C 且持續 600 分鐘 (10 小時) 來進行二次乾燥，以除去任何殘留的水分。凍乾循環週期的總持續時間為 3648 分鐘 (約 2.5 天)。在循環週期結束時，以約 570 Torrs 的分壓，用氮氣重新充填小瓶，壓塞並適當密封。所有含有 ENPP1-Fc 的凍乾塊均顯示出完整的象牙色結構。在復水後，於所有樣品類型和條件下均可觀察到棕黃色，並澄清且無可見顆粒的液體外觀。為了確定在應力和非應力條件下都能使 ENPP1-Fc 具有最佳化學、物理和結構穩定性的調配物，以反覆的方式來評估多種緩衝液、pH 條件、賦形劑、添加劑、界面活性劑和輔助因子。

【0277】 表 3：ENPP1-Fc 凍乾循環週期

	溫度 (°C)	速率 (°C/分鐘)	斜坡時間 (分鐘)	保持時間 (分鐘)	壓力	總時間		
室溫下負載	25°C			10 分鐘				
斜坡	-5°C	0.5°C/分鐘	60 分鐘			70 分鐘	1.2 小時	0.05 天
保持	-5°C			60 分鐘		130 分鐘	2.2 小時	0.09 天
斜坡	-50°C	0.5°C/分鐘	90 分鐘			220 分鐘	3.7 小時	0.15 天
保持	-50°C			180 分鐘		400 分鐘	6.7 小時	0.28 天
斜坡	-20°C	0.5°C/分鐘	60 分鐘			460 分鐘	7.7 小時	0.32 天
保持	-20°C			180 分鐘		640 分鐘	10.7 小時	0.44 天
斜坡	-50°C	0.5°C/分鐘	60 分鐘			700 分鐘	11.7 小時	0.49 天
保持	-50°C			180 分鐘		880 分鐘	14.7 小時	0.61 天
真空啟動	-50°C				100m Torr	880 分鐘	14.7 小時	0.61 天
斜坡	-25°C	0.5°C/分鐘	50 分鐘		100m Torr	930 分鐘	15.5 小時	0.65 天
初次	-25°C			1793 分鐘	100m Torr	2723 分鐘	45.4 小時	1.89 天
斜坡	-40°C	0.2°C/分鐘	325 分鐘		100m Torr	3048 分鐘	50.8 小時	2.12 天
二次	-40°C			600 分鐘	100m Torr	3648 分鐘	60.8 小時	2.53 天

【0278】 ***實施例 3：復水凍乾 ENPP1 多肽調配物***

【0279】 凍乾樣品的復水情況是根據以 0.5 mL 的注射用水來復水以進行評估。測量當所有顆粒物溶解的所需時間。每個凍乾樣品可在至少 46 秒的時間內完全溶解，而不留下可見的殘留物或未溶解的物質。復水數據概要如表 4 所示。

【0280】 表 4：凍乾 ENPP1 多肽調配物的復水時間

緩衝劑	賦形劑	調配物	時間點	條件	復水時間 (秒)

20 mM 琥珀酸鹽，2 mM 氯化鈣，pH 6.0	蔗糖 (9%)	A	T0	凍乾	76
			4 週	5°C	53
				40°C	76
			13 週	5°C	52
	蔗糖 (3%) 甘露醇 (1.5%)	B	T0	凍乾	60
			4 週	5°C	88
				40°C	83
			13 週	5°C	46
	蔗糖 (2%) 甘露醇 (2%)	C	T0	凍乾	73
			4 週	5°C	91
				40°C	95
			13 週	5°C	60
20 mM 檸檬酸鹽，2 mM 氯化鈣，pH 6.0	蔗糖 (9%)	D	T0	凍乾	71
			4 週	5°C	62
				40°C	77
			13 週	5°C	92
	蔗糖 (3%) 甘露醇 (1.5%)	E	T0	凍乾	47
			4 週	5°C	69
				40°C	68
			13 週	5°C	54
	蔗糖 (2%) 甘露醇 (2%)	F	T0	凍乾	87
			4 週	5°C	82
				40°C	85
			13 週	5°C	88

【0281】 ***實施例 4：凍乾 ENPP1 多肽調配物中殘留水分的評估***

【0282】 評估凍乾塊的殘留水分。所有凍乾樣品在各時間點和條件下均具有非常低或無水分含量。殘留水分含量的範圍為 0.0%至 0.3%。數據概要如表 5 所示。

【0283】 表 5：凍乾樣品的殘留水分含量

緩衝劑	賦形劑	調配物	時間點	條件	水分 (%)
20 mM 琥珀酸鹽，2 mM	蔗糖 (9%)	A	T0		0.1

氯化鈣，pH 6.0			4 週	5°C	0.1
				40°C	0.2
			13 週	5°C	0.2
	蔗糖 (3%) 甘露醇 (1.5%)	B	T0	凍乾	0.0
			4 週	5°C	0.1
				40°C	0.2
			13 週	5°C	0.0
	蔗糖 (2%) 甘露醇 (2%)	C	T0		0.1
			4 週	5°C	0.1
				40°C	0.2
			13 週	5°C	0.0
20 mM 檸檬酸鹽，2 mM 氯化鈣，pH 6.0	蔗糖 (9%)	D	T0		0.3
			4 週	5°C	0.1
				40°C	0.2
			13 週	5°C	0.1
	蔗糖 (3%) 甘露醇 (1.5%)	E	T0		0.1
			4 週	5°C	0.1
				40°C	0.2
			13 週	5°C	0.0
	蔗糖 (2%) 甘露醇 (2%)	F	T0		0.0
			4 週	5°C	0.1
				40°C	0.1
			13 週	5°C	0.0

【0284】 ***實施例5：基準緩衝劑評估***

【0285】 使用一組候選緩衝劑 (包括檸檬酸鹽、組胺酸、磷酸鹽、醋酸鹽、碳酸氫鈉、琥珀酸鹽、甘胺醯甘胺酸以及 tris)，在 pH 5.0 至 8.0 的範圍內，以評估 ENPP1 多肽調配物的穩定性。為了評估這些調配物的自我緩衝能力，將樣品進行緩衝液交換到水中。在這項試驗中，透過緩衝液交換而將 ENPP1-Fc 置換到 20 mM 醋酸鹽 (pH 5.0)、琥珀酸鹽 (pH 5.0 和 6.0)、檸檬酸鹽 (pH 5.0、6.0 和 7.0)、碳酸氫鈉 (pH 6.0 和 7.0)、組胺酸 (pH 6.0 和 7.0)、磷酸鉀 (pH 7.0 和 8.0)、tris (pH

7.0 和 8.0) 和甘胺醯甘胺酸 (pH 8.0) 緩衝劑中。將 ENPP1-Fc 透過緩衝液交換至上述調配物緩衝劑之一中，並濃縮至 0.5 mL (濃度為 2 mg/mL)。在濃縮和緩衝液交換後，在各種調配物中的蛋白質回收率普遍相當，範圍為約 70 至 100%，但不包括將ENPP1-Fc透過緩衝液交換至水中。經緩衝液交換至水中之ENPP1-Fc的回收率為 34%，表明了 ENPP1-Fc 缺乏自我緩衝能力。

【0286】 透過差示掃描螢光法 (DSF) 來監測 ENPP1 多肽調配物的熱穩定性，該測定法提供了有關多肽熔化溫度 (Tm) 的數據。收集蛋白質樣品在 2 mg/mL 下的 Tm 數據。將樣品在 20°C 下平衡 30 秒，並以 0.5 °C/min 的速率將溫度升高至 95°C，同時監測 250-500 nm (266 nm 激發波長) 的固有螢光光譜的重心平均值 (BCM)。在展開 (unfolding) 事件期間，BCM 與溫度曲線的拐點 (以導數跡線的最大值或最小值來確定) 被確定為該轉變的 Tm。在 266 nm 和 473 nm 處的靜態光散射 (SLS) 強度也與 DSF 測定並行測量，以分別觀察小型和大型聚集體形成 (Tagg) 的起始溫度。相對熱穩定性會受到緩衝劑類型和調配物 pH 值的影響。檸檬酸鹽 pH 7.0、磷酸鹽 pH 7.0/8.0、碳酸氫鈉和甘胺醯甘胺酸樣品在 266 nm 或 473 nm 處沒有顯示出顯著的光散射，表明了這些調配物明顯沒有聚集體。在各種調配物中，醋酸鹽、琥珀酸鹽 pH 5.0、檸檬酸鹽 pH 5.0 和 tris pH 7.0 調配物表現出最高的 Tagg。對於檸檬酸鹽、組胺酸和 tris 樣品，Tagg 隨著 pH 值的增加而降低，磷酸鹽的 Tagg 似乎對 pH 值的變化不敏感。令人驚訝的是，Tm 值在每個 pH 值下的緩衝劑類型方面顯示出明顯的趨勢，表明了琥珀酸鹽在 pH 5.0 和 pH 6.0 下以及磷酸鹽在 pH 5.0 和 pH 6.0 下的熱穩定性較高。DSF 數據概要如表 6 所示。

【0287】 表 6：基準緩衝劑 DFS/SLS 數據概要

緩衝劑	pH	調配物	T_{agg} 266 nm (°C)	T_{agg} 473 nm (°C)	T_{onset} BCM (°C)	T_{m1} BCM (°C)

本身(水)	N/A	A	62.4	62.1	43.9	55.4
20 mM 醋酸鹽	pH 5.0	B	80.6	80.2	39.7	54.6
20 mM 琥珀酸鹽	pH 5.0	C	77.7	79.5	40.5	57.4
	pH 6.0	D	65.7	66.2	53.5	62.8
20 mM 檸檬酸鹽	pH 5.0	E	81.0	80.8	45.7	57.1
	pH 6.0	F	61.2	61.3	51.2	60.9
	pH 7.0	G	58.4	61.7	49.7	60.5
20 mM 碳酸氫鈉	pH 6.0	H	ND	ND	45.4	57.0
	pH 7.0	I	ND	ND	44.7	56.6
20 mM 組胺酸	pH 6.0	J	66.9	66.5	40.1	54.3
	pH 7.0	K	60.7	62.0	27.4	54.6
20 mM 磷酸鉀	pH 7.0	L	61.0	63.6	51.1	60.8
	pH 8.0	M	62.5	64.0	54.4	63.5
20 mM Tris	pH 7.0	N	76.6	79.9	51.3	59.7
	pH 8.0	O	58.8	61.4	49.7	58.6
20 mM 甘胺醯甘胺酸	pH 8.0	P	58.4	61.2	48.0	57.2

ND：由於計數非常低，無法確定數值。

【0288】 利用尺寸排阻層析 (SEC) 來評估存在於 ENPP1 多肽調配物樣品中的聚集體和降解產物的數量。彙報了總高分子量 (HMW) 物質、低分子量 (LMW) 物質和主峰純度的豐度百分比。SEC 結果總結在表 7 和圖 5 中。在透過 SEC 進行分析之前，所有的樣品均在 30°C 下培養 48 小時。HMW 物質存在於所有的調配物中，介於 3.3 至 14.5%。在碳酸氫鈉和磷酸鹽調配物中觀察到最低水平的 HMW 物質。高階 HMW 物質在組胺酸 pH 7.0 中最高。

【0289】 表 7：基準緩衝劑評估 — 尺寸排阻層析數據概要

緩衝劑	pH	調配物	HMW %	主峰 %	LMW %	管柱回收率 (%)[a]	總面積 (μV*s)
本身(水)	0	A	6.2	93.3	0.5	94	8691405
20 mM 醋酸鹽	5.0	B	4.6	95.4	ND	86	16192216
20 mM 琥珀酸鹽	5.0	C	5.1	94.9	ND	91	17757935

	6.0	D	3.3	96.5	0.3	99	20957945
20 mM 檸檬酸鹽	5.0	E	4.8	95.2	ND	94	19085508
	6.0	F	4.7	95.1	0.2	97	19232879
	7.0	G	5.5	94.5	ND	97	19272431
20 mM 碳酸氫鈉	6.0	H	4.4	95.3	0.3	98	19623052
	7.0	I	3.9	95.7	0.3	97	20538912
20 mM 組胺酸	6.0	J	6.2	93.8	ND	95	20688528
	7.0	K	14.5	85.0	0.5	95	16752179
20 mM 磷酸鉀	7.0	L	4.4	95.4	0.2	97	18897632
	8.0	M	4.0	95.8	0.2	98	19646363
20 mM Tris	7.0	N	5.9	93.9	0.3	96	19059185
	8.0	O	5.7	93.9	0.4	98	18835534
20 mM 甘胺醯甘胺酸	8.0	P	4.0	96.0	ND	98	19571596
CC-15 起始材料			6.4	92.9	0.7	98	18917341
CC-15 光應力 (Photo Stressed)			48.4	50.5	1.1	101	19483433

[a]管柱回收率 (%) = ((總峰面積/10^6)*(流速/60)(吸光度*光程長度))/(樣品濃度*進樣體積/10^3)*100

【0290】 總之，基準緩衝劑評估數據表明了含有 ≤ pH 5.0 以及 ≥ pH 6.0 的緩衝劑調配物可為凍乾 ENPP1 多肽調配物提供最大的穩定性。組胺酸 pH 7.0 較不優選於其他經測試的緩衝劑系統。醋酸鹽無法在必要的範圍內緩衝凍乾調配物。根據上述數據，緩衝劑可歸入兩種方案，其包括可支持 pH 值範圍為 pH 6 至 pH 7 的緩衝劑方案 (琥珀酸鹽、檸檬酸鹽、碳酸氫鹽) 以及可支持 pH 值範圍為 pH 7 至 pH 8 的緩衝劑方案 (磷酸鹽、tris、甘胺醯甘胺酸)。在第一種緩衝劑方案中，檸檬酸鹽調配物顯示出優異的 T_{onset} (大約 5°C)。在第二種緩衝劑方案中，tris 調配物顯示出優異的 T_{onset} (大約 2°C)。為了進一步開發調配物，分別使用琥珀酸鹽、檸檬酸鹽和磷酸鹽緩衝劑系統，所選定的 pH 值分別為 pH 6.0、pH 7.0 和 pH 8.0。在每種緩衝劑類型中，評估了五種不同的醫藥上可接受的添加劑：

精胺酸、NaCl、蔗糖、甘露醇和甘胺酸。所提出的添加劑涵蓋了一系列的分子類別 (亦即胺基酸、鹽類、糖類和多元醇)。

【0291】 ***實施例6：醫藥上可接受的添加劑篩選***

【0292】 使用基準緩衝劑評估中所定義的緩衝系統 (20 mM 琥珀酸鹽，pH 6.0；檸檬酸鹽，pH 7.0；和磷酸鹽，pH 8.0)，在大致等張濃度下顯示有穩定性質的各種添加劑存在下，評估凍乾 ENPP1 多肽調配物的穩定性。將 ENPP1-Fc 透過緩衝液交換到含有 150 mM NaCl、150 mM L-精胺酸、250 mM 蔗糖、250 mM 甘露醇或 200 mM 甘胺酸的每個候選緩衝劑中。

【0293】 含有添加劑之 ENPP1-Fc 調配物的 DSF/SLS 數據表明，如同 T_m (DSF) 以及在 266 nm 和 473 nm 處之 T_{agg} (SLS) 所評估的結果，這些添加劑對熱穩定性沒有重大影響。總體而言，DSF 數據顯示了大多數調配物的熔化溫度相當，並且明顯沒有較大的聚集體。

【0294】 SEC 數據 (總結在表 8 和圖 6 中) 表明了甘胺酸和 NaCl/精胺酸組合在各種調配物中所產生的 HMW 物質百分比最高。NaCl 在 pH 6.0 與 pH 7.0 下以及精胺酸 pH 6.0 表現與蔗糖相似。在每種經測試的調配物中，蔗糖所產生的 HMW 物質百分比最低 (≤5.3%)。SEC 數據證實了含有蔗糖的調配物提供了最高的整體穩定性。

【0295】 表 8：SEC 添加劑篩選數據概要

緩衝劑	賦形劑	調配物	HMW %	主峰 %	LMW %	管柱回收率 (%)[a]	總面積 (μV*s)
琥珀酸鹽 pH 6.0	NaCl	A	5.3	94.4	0.3	99	19084426
	精胺酸	B	4.7	94.9	0.3	98	18440146
	蔗糖	C	4.6	94.9	0.5	99	18651298
	甘露醇	D	5.1	94.3	0.6	98	19005559
	甘胺酸	E	7.1	92.6	0.3	98	18936695

檸檬酸鹽 pH 7.0	NaCl	F	5.7	93.9	0.4	97	18937420
	精胺酸	G	8.4	91.1	0.4	96	18724123
	蔗糖	H	5.2	94.4	0.4	97	19198190
	甘露醇	I	5.9	93.7	0.4	98	19285938
	甘胺酸	J	10.4	89.3	0.4	96	18259087
磷酸鹽 pH 8.0	NaCl	K	7.1	92.7	0.2	98	19447707
	精胺酸	L	6.8	92.9	0.3	97	19095422
	蔗糖	M	5.3	94.4	0.2	99	19455680
	甘露醇	N	8.1	91.7	0.2	98	19564507
	甘胺酸	O	14.9	84.8	0.3	96	18730132
組胺酸 pH 6.0	精胺酸 /NaCl	P	15.7	83.8	0.4	93	18378845
起始材料			8.1	91.5	0.4	96	18756246

[a]管柱回收率 (%) = ((總峰面積/10^6)*(流速/60)(吸光度*光程長度))/(樣品濃度*進樣體積/10^3)*100

【0296】 ***實施例 7：凍乾 ENPP1 多肽調配物的溶解度篩選***

【0297】 為了建立凍乾 ENPP1 多肽調配物的最大溶解度條件，在蔗糖、脯胺酸和 NaCl 的等張濃度存在下，使用 20 mM 琥珀酸鹽 pH 6.0、20 mM 檸檬酸鹽 pH 5.0 和 pH 6.0、20 mM 碳酸氫鈉 pH 7.0 以及 20 mM 組胺酸 pH 6.0。在緩衝液交換和濃縮後，將樣品分成兩個等體積等分試樣，其中一個等分試樣在 40°C 下熱應力處理約 7 天，另一個等分試樣則在 5°C 下保存。透過 SEC 來評估經熱應力處理的樣品和 5°C 樣品的酶活性和 HMW 物質的形成。透過將 ENPP1-Fc 與 pNP-TMP 混合來進行用於評估每個樣品活性的酶測定。以分光光度法，在 405 nm、25°C 下，監測產物形成 (pNP) 5 分鐘。透過將每種樣品製備物所獲得之隨時間經過的吸光度變化插值到已知 pNP 濃度的標準曲線來計算出 ENPP1-Fc 的比活性。結果是以相對於參考樣品材料來顯示，其中單位是對應於隨時間 (min) 經過而產生的產物莫耳數。溶解度篩選的酶活性測定結果如表 9 和圖 7 所示。正

如每個樣品所觀察到的增強酶活性所示，含有 pH 6.0 的調配物顯示出較高的熱穩定性。由於樣品的膠凝作用，在 40°C 下培育的檸檬酸鹽 pH 5.0 的數值未進行測定。總體而言，酶活性表明了在將 5°C 與 40°C 下培育的樣品進行比較時，pH 6.0 的琥珀酸鹽和檸檬酸鹽是在各種經評估的添加劑中性能最佳的緩衝劑類型。

【0298】 表 9：酶活性測定溶解度篩選數據概要

緩衝劑	pH	賦形劑	調配物	條件	U/mL	U/mg
20 mM 琥珀酸鹽	pH 6.0	250 mM 蔗糖	A	5°C	9.8	9668
				40°C	11.8	11721
		250 mM 脯胺酸	B	5°C	10.5	9878
				40°C	11.9	11156
		150 mM NaCl	C	5°C	9.2	9363
				40°C	12.0	12180
20 mM 檸檬酸鹽	pH 5.0	250 mM 蔗糖	D	5°C	8.9	8905
				40°C	ND	ND
		250 mM 脯胺酸	E	5°C	7.9	7607
				40°C	ND	ND
		150 mM NaCl	F	5°C	8.7	8365
				40°C	ND	ND
	pH 6.0	250 mM 蔗糖	G	5°C	10.1	9612
				40°C	11.7	11127
		250 mM 脯胺酸	H	5°C	10.6	10409
				40°C	9.5	9349
		150 mM NaCl	I	5°C	9.7	9582
				40°C	11.0	10863
20 mM 碳酸氫鈉	pH 7.0	250 mM 蔗糖	J	5°C	8.6	8291
				40°C	6.5	6309
		250 mM 脯胺酸	K	5°C	10.5	10249
				40°C	3.2	3107
		150 mM NaCl	L	5°C	9.7	9300
				40°C	8.9	8528
20 mM 組胺酸	pH 6.0	100 mM Arg/50 mM NaCl	M	5°C	9.6	9704
				40°C	10.0	10113

起始材料	10.3	10459

ND：未測定

【0299】 透過 SEC 所確定的 HMW 物質形成與酶活性篩選中所觀察到的趨勢一致。琥珀酸鹽和檸檬酸鹽在 pH 6.0 下表現出最低的 HMW 物質百分比，此與調配物中所使用的添加劑無關。檸檬酸鹽在 40°C、pH 6.0 下優於所有其他 40°C 下的樣品。脯胺酸和 NaCl 在檸檬酸鹽 pH 5.0 和碳酸氫鈉 pH 7.0 中可產生總體最高的 HMW 物質百分比。SEC 溶解度篩選數據概要如表 10 和圖 8 所示。

【0300】 表 10：SEC 溶解度篩選數據概要

緩衝劑	pH	賦形劑	調配物	HMW (%)	主峰 (%)	LMW (%)	總面積 (μV*s)
20 mM 琥珀酸鹽	pH 6.0	250 mM 蔗糖	A	6.0	93.8	0.2	50123877
		250 mM 脯胺酸	B	6.3	93.5	0.2	35728620
		150 mM NaCl	C	5.9	93.8	0.2	35824216
20 mM 檸檬酸鹽	pH 5.0	250 mM 蔗糖	D	8.2	91.5	0.3	39059229
		250 mM 脯胺酸	E	14.6	85.0	0.4	27138683
		150 mM NaCl	F	11.7	88.0	0.3	28169043
	pH 6.0	250 mM 蔗糖	G	5.3	94.5	0.2	52451719
		250 mM 脯胺酸	H	5.1	94.7	0.3	30695670
		150 mM NaCl	I	5.5	94.3	0.3	41407595
20 mM 碳酸氫鈉	pH 7.0	250 mM 蔗糖	J	13.6	86.2	0.2	43615676
		250 mM 脯胺酸	K	16.5	83.3	0.2	51379433
		150 mM NaCl	L	12.5	87.3	0.2	34932916
20 mM 組胺酸	pH 6.0	100 mM Arg/50 mM NaCl	M	5.7	94.0	0.3	33330444

【0301】 ***實施例 8：界面活性劑篩選***

【0302】 為了鑒定出可用於凍乾 ENPP1 多肽調配物的優異界面活性劑，將 ENPP1-Fc 透過緩衝液交換至三種鹼性調配物 (琥珀酸鹽/蔗糖 pH 6.0、琥珀酸

鹽/NaCl pH 6.0 和檸檬酸鹽/蔗糖 pH 7.0) 以及對照調配物 (組胺酸/精胺酸/NaCl pH 6.0) 中。透過冷凍解凍循環和機械應力來使調配物樣品承受應力，此外還保留了兩個小等分試樣作為無應力對照組。冷凍解凍循環樣品是在-80°C 下冷凍 ≥ 60 分鐘，並在室溫下解凍。該過程重複了總共 5 個循環週期。對於攪拌應力，將樣品放置在設定為約 600 rpm 的微孔盤振盪器上，避光，在室溫下放置約 72 小時。

【0303】 為了評估受應力樣品的穩定性/聚集性，故測量酶活性並進行 SEC-HPLC。對於所有應力條件和調配物，在各個界面活性劑中的酶活性均相當，表明了 ENPP1-Fc 的酶活性在測試條件下並不受影響。針對界面活性劑試驗的 SEC 評估如表 11、圖 9A 和圖 9B 所示。所有調配物中的 HMW 百分比含量表明了界面活性劑對承受冷凍/解凍應力的樣品並沒有影響，因為受應力樣品和相應的對照組之間的數值是相等的。對於受攪拌應力的樣品，P188 樣品是在三種經測試界面活性劑中最不穩定的。PS20 在攪拌應力下具有優異的穩定性，並且在三種經測試界面活性劑中產生較低的 HMW 百分比含量。這些數據表明了界面活性劑的存在和類型會影響經物理應力處理後的 ENPP1-Fc 穩定性。SEC 證實了針對在 50 mg/mL 下的 ENPP1-Fc 穩定性，PS20 是最理想的界面活性劑類型。在攪拌後，於大多數的賦形劑/緩衝劑類型組合中，P188 顯示了總體更高階聚集體的水平有所升高。

【0304】 表 11：界面活性劑篩選的 SEC 數據概要

緩衝劑	pH	賦形劑	調配物	界面活性劑	條件	HMW %	主峰 %	LMW %	管柱回收率	總面積 (μV*s)
20 mM 琥珀酸鹽	pH 6.0	250 mM 蔗糖	A	-	攪拌	8.9	90.8	0.3	101	3480
					攪拌對照	7.3	92.4	0.3	101	3303
					冷凍/	5.6	94.1	0.3	100	3505

					解凍					
					5°C	6.0	93.7	0.3	101	3598
			B	0.05% PS20	攪拌	7.8	92.0	0.3	98	3365
					攪拌對照	7.2	92.4	0.3	98	3330
					冷凍/解凍	5.5	94.2	0.3	98	3510
					5°C	5.9	93.8	0.3	98	3634
			C	0.05% PS80	攪拌	8.1	91.6	0.3	98	3415
					攪拌對照	7.5	92.1	0.3	97	3260
					冷凍/解凍	5.6	94.1	0.3	99	3568
					5°C	6.0	93.7	0.3	97	3648
			D	0.1% P188	攪拌	8.9	90.9	0.3	87	3332
					攪拌對照	8.0	91.7	0.3	87	3316
					冷凍/解凍	5.6	94.1	0.3	87	3528
					5°C	6.0	93.7	0.3	88	3595
		150 mM NaCl	E	-	攪拌	7.7	92.0	0.3	99	3346
					攪拌對照	6.9	92.8	0.3	98	3223
					冷凍/解凍	5.6	94.1	0.3	99	3510
					5°C	5.8	93.9	0.3	99	3621
			F	0.05% PS20	攪拌	7.2	92.5	0.3	90	3406
					攪拌對照	6.8	92.8	0.3	92	3133
					冷凍/解凍	5.5	94.2	0.3	91	3494
					5°C	5.8	93.9	0.3	94	3596
			G	0.05% PS80	攪拌	7.5	92.2	0.3	90	3433
					攪拌對照	7.0	92.7	0.3	91	3278

					冷凍/解凍	5.6	94.1	0.3	90	3562
					5°C	5.8	93.9	0.3	90	3631
			H	0.1% P188	攪拌	8.2	91.5	0.3	92	3309
					攪拌對照	7.5	92.1	0.3	94	3151
					冷凍/解凍	5.6	94.1	0.3	95	3460
					5°C	5.9	93.8	0.3	95	3584
20 mM 檸檬酸鹽	pH 7.0	250 mM 蔗糖	I	-	攪拌	9.9	89.8	0.3	87	3403
					攪拌對照	9.2	90.5	0.3	88	3115
					冷凍/解凍	7.2	92.4	0.3	8	3454
					5°C	7.8	91.9	0.3	88	3598
			J	0.05% PS20	攪拌	9.5	90.2	0.3	93	3339
					攪拌對照	9.2	90.5	0.3	92	3074
					冷凍/解凍	7.2	92.5	0.3	93	3489
					5°C	7.7	92.0	0.4	93	3537
			K	0.05% PS80	攪拌	9.7	90.0	0.3	101	3304
					攪拌對照	9.2	90.5	0.3	100	3081
					冷凍/解凍	7.2	92.4	0.4	101	3535
					5°C	7.7	91.9	0.4	101	3555
			L	0.1% P188	攪拌	10.8	88.8	0.4	91	3268
					攪拌對照	10.6	89.0	0.3	92	3063
					冷凍/解凍	7.3	92.4	0.4	92	3512
					5°C	7.8	91.9	0.3	92	3600
20 mM	pH 6.0	100 mM Arg/50	M	-	攪拌	8.6	91.0	0.3	101	3329
					攪拌	8.1	91.6	0.3	96	3112

組胺酸		mM NaCl			對照				
					冷凍/解凍	6.9	92.7	0.4	101	3468
					5°C	7.1	92.6	0.3	101	3560
起始材料						4.9	94.8	0.3	102	3590

【0305】 ***實施例9：輔因子篩選***

【0306】 針對在 20 mM 琥珀酸鹽、250 mM 蔗糖、pH 6.0 中的 11 種不同輔因子組合 (包括無輔因子的陰性對照) 進行研究。經測試的輔因子包括 Zn^{2+}和 Ca^{2+}，以氯化物和硫酸鹽作為相對離子，以及單磷酸腺苷 (AMP)。針對每種輔因子組合進行 SEC 實驗。SEC 數據彙總於表 12 及圖 10 中。這些數據證實了 AMP/$ZnCl_2$ 表現出最低的 HMW 百分比水平。然而，對於經測試的輔因子，在無 AMP 的情況下，Ca^{2+}無論是以氯化物還是硫酸鹽作為相對離子，均可產生最低的 HMW 百分比含量。Ca^{2+}輔因子令人驚訝地穩定了 ENPP1-Fc，但也證實了具有恢復在樣品製備過程中可能形成的更高階聚集體的能力。藉由比較調配物 A 和 C 可觀察到這些影響 (圖 11)。鋅可產生最高的 HMW 百分比含量，然而在鋅存在下的 HMW 百分比可藉由添加 AMP 而顯著降低，可將 HMW 百分比水平減少至低於用於生產所有調配物 A 樣品之來源材料的 HMW 百分比水平。這些結果表明了輔因子的存在和類型可令人驚訝地顯著提高 ENPP1-Fc 的穩定性。

【0307】 表 12：輔因子篩選 — 輔因子組合的 SEC 數據概要

緩衝劑	調配物	樣品類型	輔因子	HMW (%)	主峰 (%)	LMW (%)	管柱回收率 (%)	總面積 (μV*s)	濃度 (mg/mL)
20 mM 琥珀酸鹽 250 mM 蔗糖	A	經緩衝液交換	-	18.8	80.9	0.3	97	3607	50.5
	B		2 mM ZnCl	71.0	28.8	0.2	95	3300	49.9
	C		2 mM	11.5	88.2	0.3	99	3523	50.6

0.05% PS20 pH 6.0			CaCl						
	D		2 mM ZnCl + 2 mM CaCl	72.5	27.3	0.2	96	3368	52.1
	E	經添加調配物 A	2 mM ZnCl	46.8	53.0	0.2	99	3644	50.6
	F		2 mM CaCl	12.1	87.4	0.5	97	3540	51.4
	G		2 mM ZnCl + 2 mM CaCl	47.8	52.0	0.2	100	3538	51.0
	H		2 mM $ZnSO_4$	48.8	51.0	0.2	93	3472	54.0
	I		2 mM $CaSO_4$	12.3	87.3	0.4	97	3489	50.1
	J		2 mM $ZnSO_4$ + 2 mM $CaSO_4$	52.0	47.9	0.2	97	3294	50.4
	K		2 mM $ZnCl_2$ + 50 mM AMP	8.4	91.2	0.4	-	3396	44.0

【0308】 進一步研究了 15 種不同的緩衝劑/輔因子組合。將 ENPP1-Fc 經緩衝液交換至 12 種不同的調配物中。透過 SEC 來評估蛋白質在各種調配物中的穩定性。在進行 SEC 分析之前，將樣品在 40°C 下儲存 6 天。在研究期間，將每種調配物的對照樣品保持在 5°C 下。SEC 數據彙總在表 13 和圖 12 中。與以上所呈現的輔因子數據一致，Ca^{2+}和 Ca^{2+}/單磷酸腺苷在被測樣品中所產生的高階聚集體量最低。當與檸檬酸鹽和蔗糖結合時，Ca^{2+}和 Ca^{2+}/單磷酸腺苷各自可產

生最低百分比 (8.6%) 的HMW，表明了Ca^{2+}和Ca^{2+}/單磷酸腺苷是優異的輔因子，以及當與檸檬酸鹽和蔗糖結合使用時，其可令人驚訝地增強調配物的整體穩定性。

【0309】 表 13：輔因子篩選 — 緩衝劑/輔因子的 SEC 數據概要

緩衝劑	賦形劑	調配物	HMW (%)	主峰 (%)	LMW (%)
20 mM 琥珀酸鹽，250 mM 蔗糖 0.05% PS20，pH 6.0	-	A	19.1	80.4	0.5
	AMP (0.5 mM)	B	18.4	81.2	0.4
	AMP (5 mM)	C	18.7	80.9	0.4
	AMP (50 mM)	D	12.4	86.6	0.9
	$ZnCl_2$ (2 mM)	E	74.2	25.5	0.3
	$ZnCl_2$ (2 mM) + AMP (5 mM)	F	27.9	71.6	0.6
	$ZnCl_2$ (2 mM) + AMP (50 mM)	G	9.5	89.7	0.7
	$CaCl_2$ (2 mM)	H	11.3	88.1	0.6
	$CaCl_2$ (2 mM) + AMP (5 mM)	I	10.2	89.3	0.5
20 mM 檸檬酸鹽，250 mM 蔗糖 0.05% PS20，pH 6.0	AMP (5 mM)	J	15.3	84.1	0.5
	$CaCl_2$ (2 mM)	K	12.7	86.4	0.9
	$CaCl_2$ (2 mM) + AMP (5 mM)	L	8.6	90.9	0.6
20 mM 檸檬酸鹽，150 mM NaCl 0.05% PS20，pH 6.0	AMP (5 mM)	M	15.2	84.3	0.5
	$CaCl_2$ (2 mM)	N	15.0	84.3	0.8
	$CaCl_2$ (2 mM) + AMP (5 mM)	O	8.6	90.9	0.5

【0310】 ***實施例 10：較佳的凍乾 ENPP1 多肽調配物的表徵***

【0311】 基於以上所呈現的表徵和穩定性數據，較佳的凍乾 ENPP1 多肽調配物包括琥珀酸鹽和檸檬酸鹽。這些較佳的調配物被列舉在表 13 中，並且針對多肽隨時間經過的穩定性作進一步的表徵。對於每個含有檸檬酸鹽的調配物

樣品，pH 值經測定為 pH 6.3 ± 0.1，對於每個含有琥珀酸鹽的樣品，pH 值為 6.1 ± 0.1。對於含有琥珀酸鹽或檸檬酸鹽的 ENPP1-Fc 樣品進行滲透壓量測，所有樣品的滲透壓值範圍為 265 至 432 mOsm/kg。數據概要如圖 13 所示。透過 SEC 對這些調配物之 ENPP1-Fc 的主峰純度和更高階聚集體進行了評估。結果如圖 14 所示。調配物 A、B、C、E 和 F 中的凍乾 ENPP1-Fc 和對照組在所有時間點和條件下均顯示出相對主峰純度 > 94%。在 5°C 下儲存 13 週 (時間點) 之琥珀酸鹽樣品的 HMW 百分比含量增加了 1%，而檸檬酸鹽樣品的 HMW 百分比含量增加了約 0.5%。透過微流成像分析 (MFI) 對粒徑分佈和形態進行了評估。在 MFI 中，當連續的樣品流通過位於顯微系統視場中的流體槽時，將捕獲連續的亮視野顯微鏡圖像。存在於樣品中的顆粒圖像是透過圖像形態分析軟體加以處理，該軟體可針對大小和計數進行量化。針對 ≥ 2 μm、≥ 5 μm、≥ 10 μm、≥ 25 μm 等效圓直徑 (ECD) 大小組距來顯示其代表性圖像和顆粒濃度 (每毫升)。物體的 ECD 是以微米來表示，且其代表與顆粒佔據相同二維表面積之球體的直徑。結果彙總在表 14 中。對於所有調配物，總顆粒數一般都在可接受的範圍內。≥ 10 μm ECD 組距的總顆粒數均低於 749，≥ 25 μm ECD 組距的總顆粒數均低於 132，表明了本文公開的調配物並無較大尺寸的顆粒。

【0312】 表 14：MFI 數據概要

緩衝劑	賦形劑	調配物	時間點	條件	每毫升總顆粒數			
					≥ 2	**≥ 5**	**≥ 10**	**≥ 25**
20 mM 琥珀酸鹽、2 mM $CaCl_2$、pH 6.0	蔗糖 (9%)	A	T0	-75°C - 對照組	1505	117	26	7
				凍乾	2902	767	214	12
			4 週	-75°C - 對照組	1835	582	201	34
				5°C	2301	830	320	35

				40°C	1210	398	123	16
			13 週	5°C	4068	1223	231	23
	蔗糖 (3%) 甘露醇 (1.5%)	B	T0	-75°C - 對照組	720	90	17	1
				凍乾	2753	763	267	42
			4 週	-75°C - 對照組	2482	800	304	36
				5°C	1395	446	150	22
				40°C	839	218	77	8
			13 週	5°C	2090	652	142	31
	蔗糖 (2%) 甘露醇 (2%)	C	T0	-75°C - 對照組	2280	659	210	26
				凍乾	2634	617	201	23
			4 週	-75°C - 對照組	2953	976	346	65
				5°C	3900	976	297	33
				40°C	877	211	70	15
			13 週	5°C	2127	615	99	4
20 mM 檸檬酸鹽、 2 mM $CaCl_2$、pH 6.0	蔗糖 (9%)	D	T0	-75°C - 對照組	306	81	36	11
				凍乾	3574	386	92	9
			4 週	-75°C - 對照組	234	73	31	7
				5°C	818	214	61	10
				40°C	1836	754	302	29
			13 週	5°C	4033	1951	749	132
	蔗糖 (3%) 甘露醇 (1.5%)	E	T0	-75°C - 對照組	188	48	17	5
				凍乾	1235	195	67	10

			4 週	-75°C - 對照組	2805	1174	349	34
				5°C	1389	411	140	22
				40°C	2090	850	326	47
			13 週	5°C	1842	566	121	23
	蔗糖 (2%) 甘露醇 (2%)	F	T0	-75°C - 對照組	718	289	114	26
				凍乾	2285	357	117	8
			4 週	-75°C - 對照組	1683	639	212	22
				5°C	1522	406	123	15
				40°C	1156	357	107	6
			13 週	5°C	3182	1283	492	95

【0313】 根據上述顯示的數據，20 mM 檸檬酸鹽、88 mM 蔗糖、82 mM 甘露醇、2 mM 氯化鈣、0.05% PS20 pH 6.3 (調配物 A) 以及 20 mM 檸檬酸鹽、263 mM 蔗糖、2 mM 氯化鈣、0.05% PS20 pH 6.3 (調配物 B) 被選定作為凍乾 ENPP1-Fc 的最合適調配物。進一步研究了這些調配物在不同儲存條件下對凍乾多肽穩定性的長期影響。在三個不同的儲存條件下 (5°C、25°C 和 40°C)，針對這兩種調配物進行了為期三個月的測試。三個月後，所有含有 ENPP1-Fc 的凍乾塊均顯示出完整的象牙色結構。在復水後，於所有樣品類型下均可觀察到棕黃色，並澄清且無可見顆粒的液體外觀。凍乾樣品可在與上述數據一致的時間段內進行復水，即凍乾樣品可在 59 秒至 108 秒內完全復水。隨著時間的推移，這兩種調配物在各溫度條件下的水份含量也與上述水分含量數據保持一致。在所有測試的儲存溫度下，所有的凍乾樣品在各時間點和條件下均具有非常低的或沒有水分含量，殘留水分含量範圍為 0.0%至 0.3%。每個樣品在每種儲存條件下

的pH值也隨著時間的推移保持一致，樣品的pH值在三個月內保持在pH 6.3 ± 0.1。還測量了每個樣品相對於 50 mg/mL 經標準化起始濃度的蛋白質回收率。蛋白質回收率數據概要顯示於表 15 中。每個樣品的回收率與零時間點陽性對照的回收率數據一致。零時間點陽性對照的濃度經測量為 40.1 mg/mL。所有經回收樣品的濃度均在 0.3 mg/mL 內 (低於陽性對照樣品)，或在 8.8 mg/mL 內 (高於陽性對照樣品)。這些數據表明了在 5°C、25°C 和 40°C 儲存條件下，蛋白質回收率不會隨著時間的推移而降低。

【0314】 表 15：在 5°C、25°C 和 40°C 下三個月內之較佳調配物蛋白質回收率數據概要

樣品	理論濃度 (mg/mL)	復水填充量 (mL)	時間點	條件	回收率 A280 (mg/mL)
調配物 A	50.0	0.5	T0	冷凍對照	47.5
				凍乾	40.1
			1 個月	冷凍對照	43.4
				5°C	43.1
				25°C	40.2
				40°C	39.8
			3 個月	冷凍對照	46.8
				5°C	43.9
				25°C	40.7
				40°C	46.3
調配物 B			T0	冷凍對照	53.9
				凍乾	48.5
			1 個月	冷凍對照	52.7
				5°C	48.0
				25°C	47.1
				40°C	48.9
			3 個月	冷凍對照	55.3
				5°C	49.4
				25°C	48.9

				40°C	49.9

【0315】 當較佳的調配物樣品儲存在 5°C、25°C 和 40°C 下，透過 SEC 實驗來表徵 HMW 物質在三個月內的發展趨向。關於 HMW 物質總數、LMW 物質總數和主峰物質總數之豐度百分比的 SEC 數據概要顯示在表 16 中。圖 15 顯示了在每個儲存條件下，隨時間推移的 HMW 豐度百分比和主峰豐度百分比的 SEC 數據概要。陽性對照零時間點樣品的 HMW 含量約為 4%。所有較佳調配物樣品均與對照組保持一致，在 5°C、25°C 和 40°C 儲存條件下，每個樣品於三個月內均具有 ± 5%的 HMW 含量。這些結果表明了每個較佳調配物都出乎意料地能夠於至少三個月的延長時間內防止高分子量聚集體物質的形成。這些數據還表明了較佳調配物能夠穩定凍乾多肽而防止 HMW 物質的形成，即使在較高或非冷藏溫度下儲存，諸如 25°C 和 40°C。

【0316】 表 16：在 5°C、25°C 和 40°C 下三個月內之較佳調配物的 SEC 數據概要

樣品	理論濃度 (mg/mL)	復水填充量 (mL)	樣品類型	時間點	條件	HMW (%)	主峰純度 (%)	LMW (%)
調配物 A	50.0	0.5	凍乾	T0	冷凍對照	3.8	95.7	0.5
					凍乾	3.7	95.8	0.5
				1 個月	冷凍對照	4.2	95.1	0.7
					5°C	4.0	95.2	0.7
					25°C	4.1	95.1	0.8
					40°C	4.3	95.0	0.7
				3 個月	冷凍對照	4.0	95.3	0.6

					5°C	4.2	95.2	0.6
					25°C	4.7	94.7	0.6
					40°C	4.2	95.2	0.6
調配物 B				T0	冷凍對照	3.9	95.5	0.6
					凍乾	3.9	95.6	0.5
				1 個月	冷凍對照	4.2	95.1	0.8
					5°C	4.1	95.1	0.8
					25°C	4.2	95.1	0.8
					40°C	4.8	94.5	0.8
				3 個月	冷凍對照	4.1	95.3	0.6
					5°C	4.3	95.1	0.6
					25°C	4.9	94.5	0.6
					40°C	4.0	95.5	0.6

【0317】 利用上述的酶活性篩選來評估對應於每個時間點和儲存條件下之所有較佳調配物樣品的比活性。數據概要如表 17 所示。繪製了每個樣品，包括冷凍對照組，隨著時間推移的活性數據。代表性活性與時間的關係圖如圖 16 所示。所有樣品在各時間點和儲存條件下均表現出與陽性對照一致的酶活性水平，活性水平為 46009 μmol min^{-1} mg^{-1} 至 73173 μmol min^{-1} mg^{-1}。

【0318】 表 17：在 5°C、25°C 和 40°C 下三個月內之較佳調配物的酶活性數據概要

樣品	理論濃度 (mg/mL)	填充量 (mL)	樣品類型	時間點	條件	比活性 (μmol.min^{-1}.mg^{-1})	標準差
調配物 A	50.0	0.5	凍乾	T0	冷凍對照	54374	2181
					凍乾	50840	3443
				1 個月	冷凍對照	46899	1679

					5°C	50717	2480
					25°C	46009	1776
					40°C	49521	2633
				3 個月	冷凍對照	75625	344
					5°C	69830	1623
					25°C	73173	1233
					40°C	68859	611
調配物 B				T0	冷凍對照	56227	3859
					凍乾	75734	911
				1 個月	冷凍對照	49683	481
					5°C	49343	652
					25°C	55132	3391
					40°C	52421	1210
				3 個月	冷凍對照	67093	385
					5°C	68920	2554
					25°C	76087	803
					40°C	78107	2883

【0319】 透過 MFI 分析來評估所有較佳調配物時間點樣品的粒度分佈和形態。針對 ≥ 2 μm、≥ 5 μm、≥ 10 μm、≥ 25 μm ECD 大小組距來顯示其代表性圖像和顆粒濃度 (每毫升)。結果彙總在表 18 中。總顆粒數出乎意料地遠低於上述 MFI 結果中所觀察到的顆粒數，並且對於所有較佳調配物樣品均在可接受的範圍之內。≥ 10 μm ECD 組距的總顆粒數均低於 146，≥ 25 μm ECD 組距的總顆粒數均低於 21，表明了與先前 MFI 分析中所述的其他調配物組合相比，本文公開的較佳調配物能夠將較大尺寸的顆粒減少近十倍。

【0320】 表 18：在 5°C、25°C 和 40°C 下三個月內之較佳調配物的 MFI 數據概要

樣品	理論濃度	填充	樣	時間點	條件	總顆粒數/毫升

	(mg/mL)	量 (mL)	品類型			≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25
調配物 A	50.0	0.5	凍乾	T0	冷凍對照	2128	504	103	14
					凍乾	27676	2200	20	8
				1 個月	冷凍對照	1473	523	146	10
					5°C	2033	675	101	10
					25°C	1856	571	80	12
					40°C	2037	735	142	21
				3 個月	冷凍對照	2760	410	93	10
					5°C	521	76	14	0
					25°C	412	70	21	0
					40°C	424	45	0	0
調配物 B				T0	冷凍對照	591	103	37	0
					凍乾	28553	1961	43	6
				1 個月	冷凍對照	1134	412	86	8
					5°C	2393	354	35	2
					25°C	3124	379	21	0
					40°C	1864	360	39	0
				3 個月	冷凍對照	1114	140	29	0
					5°C	1988	64	12	2
					25°C	564	27	6	0
					40°C	342	76	19	2

【0321】 上述調配物開發研究的重點在於確定調配物成分，這些成分可以使 ENPP1-Fc 調配物在應力和非應力條件下具有最佳的化學、物理和結構穩定性。在基準緩衝劑、賦形劑、溶解度、界面活性劑和輔因子研究過程中，以反覆方

式來評估多種緩衝劑類型、pH 條件、賦形劑和界面活性劑濃度。基於本文公開的凍乾調配物研究結果，20 mM 檸檬酸鹽 pH 6.3、88 mM 蔗糖、82 mM 甘露醇、2 mM 氯化鈣、0.05% PS20 以及 20 mM 檸檬酸鹽 pH 6.3、263 mM 蔗糖、2 mM 氯化鈣、0.05% PS20 被選定作為 ENPP1-Fc 的最合適調配物。這些較佳的調配物在目標濃度為 50 mg/mL 的凍乾多肽調配物下可賦予 ENPP1-Fc 最大的化學、物理和構象穩定性。

【0322】 此外，還測試了另一個例示性調配物 (調配物 C1)：50 mg/mL ENPP1 多肽、約 pH 6.3 的 20 mM 檸檬酸鹽、2 mM 氯化鈣、175 mM 蔗糖、82 mM (D) 甘露醇和 0.05% w/v 聚山梨醇酯 20。在三種不同的儲存條件 (5°C、25°C 和 40°C) 下，研究了此調配物在不同的儲存條件下為期 12 個月，對凍乾 ENPP1-Fc 多肽穩定性的長期影響。經過 3 個月的增長，含有 ENPP1-Fc 的凍乾塊均顯示出完整的象牙色結構。在復水後，於所有樣品類型下均可觀察到棕黃色，並澄清且無可見顆粒的液體外觀。凍乾樣品可在與上述數據一致的時間段內進行復水，即凍乾樣品可在 2 至 3 分鐘內完全復水。隨著時間的推移，不同溫度條件下的水分含量也保持一致。在所有測試的儲存溫度下，所有的凍乾樣品在各時間點和條件下均具有非常低的或沒有水分含量，殘留水分含量範圍為 0.0%至 0.16%。每個樣品在每種儲存條件下的 pH 值也隨著時間的推移保持一致，樣品的 pH 值在三個月內保持在 pH 6.3 ± 0.1。

【0323】 利用尺寸排阻層析 (SEC) 來評估存在於 ENPP1 多肽調配物樣品中的聚集體和降解產物的數量。顯示了在 12 個月 (5°C 和 25°C) 以及 6 個月 (40°C) 期間內之總高分子量 (HMW) 物質、低分子量 (LMW) 物質和主峰純度的豐度百分比。

【0324】 表 19：在 5°C 下 12 個月內之調配物 C1 的酶活性數據概要

分析流程	單位	時間零	一個月	三個月	六個月	九個月	十二個月
比活性	U/mg – umol/min*mg	90.10	98.30	96.40	81.80	99.90	90.90
SE-HPLC HMW	面積 %	3.8	4.1	4.0	4.0	3.8	3.6
SE-HPLC LMW	面積 %	< 0.3	< 0.3	< 0.3	< 0.3	< 0.3	< 0.3
SE-HPLC 主峰	面積 %	96.1	95.8	95.8	95.9	96.1	96.3

【0325】 **表 20：在 25°C 下 12 個月內之調配物 C1 的酶活性數據概要**

分析流程	單位	時間零	一個月	三個月	六個月	九個月	十二個月
比活性	U/mg – umol/min*mg	90.10	101.80	91.20	86.70	101.40	92.70
SE-HPLC HMW	面積 %	3.8	4.3	4.4	4.4	4.2	3.9
SE-HPLC LMW	面積 %	< 0.3	< 0.3	< 0.3	< 0.3	< 0.3	< 0.3
SE-HPLC 主峰	面積 %	96.1	95.6	95.4	95.4	95.7	96.0

【0326】 **表 21：在 40°C 下 6 個月內之調配物 C1 的酶活性數據概要**

分析流程	單位	時間零	一個月	三個月	六個月
比活性	U/mg – umol/min*mg	90.10	102.90	96.0	85.90
SE-HPLC HMW	面積 %	3.8	4.5	4.9	5.0
SE-HPLC LMW	面積 %	< 0.3	< 0.3	< 0.3	< 0.3
SE-HPLC 主峰	面積 %	96.1	95.3	94.9	94.8

【0327】 比活性和 SEC 數據表明了調配物 C1 如同調配物 A 和 B (如上)，可為 ENPP1-Fc 提供顯著的整體穩定性，特別是在一溫度範圍內和至少十二個月內。

【0328】 ***實施例 11：使用凍乾 ENPP1 多肽調配物進行治療***

【0329】 ENPP1-Fc 可以與上述公開的任何調配物一起投予。在一些實施例中，ENPP1-Fc 是以含有以下成分的調配物形式投予：約 pH 6.3 的 20 mM 檸檬酸鹽、2 mM 氯化鈣、175 mM 蔗糖、82 mM (D) 甘露醇和 0.05% w/v 聚山梨醇酯 20。在向有需要的個體投藥之前，凍乾調配物會在合適的復水緩衝劑 (或無菌水) 中進行復水。

【0330】 ENPP1-Fc 是以下列選定劑量之一投予：0.2 mg/kg、0.6 mg/kg 和 1.8 mg/kg。投藥是以皮下 (SC)，每兩個月至少一次或兩次、每個月至少一次或兩次、每個月三次、每週至少一次或兩次。

【0331】 第一劑量 ENPP1-Fc 可以在第 1 天投予。在第 8 天和之後，ENPP1-Fc 是以選定劑量的 ENPP1 每週兩次投予給個體。劑量可以在每個給藥日的大約相同時間投予。注射部位是交替的，在過去 2 週內之任何先前注射部位處的 2 英寸內沒有注射部位。

【0332】 ENPP1-Fc 選定劑量為 0.2 mg/kg、0.6 mg/kg 或 1.8 mg/kg SC 之一。第一劑量 ENPP1-Fc 可以在第 1 天投予。在第一劑之後，可以觀察個體 7 天以監控安全性並收集 PK 樣品。在第 8 天及之後，個體每週兩次接受選定的劑量。在醫療專業人員認為合適的情況下，繼續以選定的劑量投予 ENPP1-Fc。

【0333】 個體可以在為期 29 天的時間內接受 8 劑 ENPP1-Fc，舉例而言，針對劑量數量為 0.2 mg/kg、0.6 mg/kg 和 1.8 mg/kg，分別使得每 29 天的藥物暴

露為 1.6 mg、4.8 mg 和 14.4 mg。或者個體可以接受多於或少於 8 劑，這被醫學專業上被認為是適當的。

【0334】 如同內源性 ENPP1 酶，ENPP1-Fc 可切割 ATP 而生成 AMP 和 PPi，從而提高血漿 PPi 含量和 AMP，CD73 可迅速將 AMP 轉化為腺苷。內源性人類酶的替代旨在糾正固有缺失，並改善健康且減輕與 ENPP1 基準患者、臨床醫師和看護者結果相關的臨床併發症。

【0335】 ***實施例 12：治療罹有 ENPP1 缺乏症的患者***

【0336】 在第 1 天藉由皮下注射將如上所配製的 ENPP1-Fc 投予經鑑定為罹有 ENPP1 缺乏症的患者，並從第 8 天開始每週兩次，使用如下選定的劑量。

【0337】 **表 22：例示性劑量**

1	0.2 mg/kg
2	0.6 mg/kg
3	1.8 mg/kg

【0338】 以選定的 ENPP1-Fc 劑量投予 ENPP1-Fc，該劑量是 0.2 mg/kg、0.6 mg/kg 或 1.8 mg/kg SC 中之一者，每週至少兩次，持續一段由醫療專業人員所決定的時間。視情況而定，針對患者對酶替代物的反應進行監控，由醫療專業人員加以測定，例如使用本文所提供的指南來追蹤 ENPP1 缺乏症之一個或多個症狀的減少。

【0339】 ***實施例 13：治療經診斷罹有 GACI 的患者***

【0340】 ENPP1 缺乏症可能偽裝成 GACI。GACI 是一種發生在嬰兒中的罕見疾病，涉及廣泛動脈鈣化 (Albright 等人，2015，Nature Comm. 10006)。

【0341】 以選定的 ENPP1-Fc 劑量投予如上所配製的 ENPP1-Fc，該劑量是 0.2 mg/kg、0.6 mg/kg 或 1.8 mg/kg SC 中之一者，每週至少兩次，持續一段由

醫療專業人員所決定的時間。視情況而定，針對 GACI 患者對酶替代物的反應進行監控，由醫療專業人員加以測定，例如使用本文所提供的指南來追蹤 GACI 之一個或多個症狀的減少。

【0342】 ***實施例 14：治療經診斷罹有 ARHR2 的患者***

【0343】 ENPP1 缺乏症可能偽裝成 ARHR2。ARHR2 是一種罕見的骨骼疾病，其特徵是血漿 PPi 和血清磷酸含量低，可導致佝僂病、長骨反覆骨折、佝僂性骨骼畸形和生長發育受損 (Ferreira 等人，2014；Moran，1975；Rutsch 等人，2008)。

【0344】 以選定的 ENPP1-Fc 劑量投予如上所配製的 ENPP1-Fc，該劑量是 0.2 mg/kg、0.6 mg/kg 或 1.8 mg/kg SC 中之一者，每週至少兩次，持續一段由醫療專業人員所決定的時間。視情況而定，針對 ARHR2 患者對酶替代物的反應進行監控，由醫療專業人員加以測定，例如使用本文所提供的指南來追蹤 ARHR2 之一個或多個症狀的減少。

【0345】 以下實例，在整個說明書上下文內，為確定治療方案和功效提供了指南。

【0346】 ***實施例 15：測量血漿無機焦磷酸***

【0347】 血漿 PPi 含量低是 ENPP1 缺乏症的一個特徵，並被用作為治療功效的一個指標。ENPP1-Fc 可特異地切割 ATP 而生成 AMP 和 PPi。ENPP1 ERT 的治療目標是使胞外 PPi 含量正常化並改正與 ENPP1 缺乏症相關的臨床異常。

【0348】 透過取得患者血漿樣品來測量 PPi。經測定的 PPi 數據可用於調整劑量含量。PPi 含量也可以用作為 PK/PD 分析的主要 PD 標記。

【0349】 哺乳動物中的 Pi 和 PPi 濃度分別為 1-3 mM 和 2-3 pM。

【0350】 ***實施例 16：與骨骼健康相關的生物標記***

【0351】 除了低血漿 PPi 之外，ENPP1 缺乏患者的生化特徵還包括血清磷酸低、尿磷酸高、腎 TmP/GFR 低、鈣 (Ca) 正常、尿鈣低-正常、25-羥基維生素 D (25 OH D) 正常、1,25 (OH) 2D 低-正常、BAP 高、完整 FGF23 高以及 PTH 正常 (IOF 2019)。

【0352】 表 19 中列出了可用作為治療患者骨骼健康的其他決定因素的生物標記。

【0353】 **表 23：臨床中間物與生物標記**

	實驗室分析物	**樣品類型**
主要藥效動力學標記	焦磷酸 (PPi)	血漿
	無機磷酸	血清
	FGF23 (完整)	血漿
	TmP/GFR	血清肌酐、血清磷酸、尿磷酸
	ALP、BALP、CTx、P1NP	血清、血漿、尿液

【0354】 ***實施例 17：用 ENPP1-Fc 治療的功效***

【0355】 治療功效可以透過測量血漿 PPi，以及測量其他血漿分析物來進行評估，其他血漿分析物為諸如 FGF23、Pi、FGF23、Pi、TmP/GFR、血清鹼性磷酸酶 (ALP)、骨特異性 ALP (BALP)、第 I 型膠原蛋白羧基端交聯端肽 (CTx) 和膠原蛋白原第 1 型 N 端原肽 (P1NP)。這些分析物測量值可用作為與 ENPP1 缺乏症相關的 PD 標記，以確定 ENPP1-FC 的功效。這些分析物的變化可以描述為在治療過程中相對於基準的變化，並且以時間依賴的方式發生變化。還可以評估 PK 和 PD 參數的劑量線性。

【0356】 可以使用成對差異 t 檢定來分析血漿 PPi 含量、FGF23 含量和尿磷排泄 (依據肌酐清除) 相對於基準的變化，以檢驗與基準 PPi 含量的變化等於零的零假設。

【0357】 ***實施例18：藥物濃度測量***

【0358】 此外，於第一劑後 (即單劑) 以及多劑時/後 (即穩態)，可以從患者取得血液樣品，用於測量血漿中的 ENPP1-Fc 濃度並接著測定 PK 參數。

【0359】 ***實施例19：免疫原性 (抗藥物抗體)***

【0360】 如果有需要的話，可以使用抗藥物抗體 (ADA) 來測量對 ENPP1-Fc 的免疫原性。免疫原性測試可以採用多層方法；如果在初始篩選中偵測到 ADA，則可以進行確認測試以確定特異性。樣品也可用於評估和進一步建立特異性確認 (即效價) 與中和抗體的分析。

【0361】 ***實施例20：藥物動力學、藥效動力學和探索性生物標記分析***

【0362】 可以對 PK 群體進行藥物動力學分析，並且 ENPP1-Fc 的 PK 參數可以透過描述性統計依照治療來總結。還可以評估 PK 和 PD 參數的劑量線性。可測定 PK/PD 分析、免疫原性分析，以及探索性生物標記分析。

【0363】 ***實施例21：功效的其他決定因素***

【0364】 儘管回復正常 PPi 含量是使用 NEPP1-Fc 治療功效的主要指標，但如果需要的話，也可以使用其他物理測量來幫助確定治療功效。這些包括以下之一或多者。

【0365】 **1. 放射照相和成像**

【0366】 **骨骼嚴重程度的 X 射線** — 可以獲得標準 X 射線來偵測佝僂性骨骼畸形。可以在例如手腕和膝蓋上獲得 X 射線。

【0367】 **DEXA 掃描** — DEXA 掃描可用於評估骨密度的變化。

【0368】 **正電子發射斷層掃描 - 電腦斷層掃描** — 基準 Na 18F-PET/HRpQCT (或 HR-CT) 可以是在第一劑 ENPP1-Fc 後的 1 個月內所進行的全身掃描，以測量基準時動脈和器官的鈣化以及骨骼異常，並用於未來的干預評估。Na 18F-PET 可測量骨轉換以及動脈的微鈣化。高解析度定量電腦斷層

掃描 (HRQCT) 或 HR-CT 可以確定非顯性遠端橈骨和脛骨的骨骼微結構。計算標準骨骼幾何參數。

【0369】 **都普勒心臟超音波圖** — 基準心臟超音波圖可在第一劑 ENPP1-FC 前 3 天內取得。都普勒回波可用於測量心臟功能 [LVEF，血流]、心臟和瓣膜的鈣化，以及動脈硬度。

【0370】 **光同調斷層掃描** — 光同調斷層掃描可用於可視化新內膜增生。

【0371】 **周邊動脈壓力測量術** — 周邊動脈壓力測量術 (PAT) 可用於評估數位脈波振幅 (PWA)，它是對應於數位容積變化。

【0372】 **腎臟超音波** — 舉例而言，在開始 ENPP1-Fc 的 1 週內，可以使用腎臟超音波來測量腎臟鈣化。

【0373】 **骨組織形態學和骨生檢** — 骨生檢可以作為基準測量進行。較佳在骨生檢前加載四環素持續 10 天。

【0374】 **2. 行走能力** — 步行測試可用作次最大運動測量，以測量結合心肺、神經肌肉和肌肉骨骼功能之走動患者的功能性能力。6 分鐘步行測試 (6MWT) 最初是由美國胸科學會 (ATS 2002) 所開發用於成人，現在普遍用於成人和兒童群體 (Mylius 等人，2016)，以及患有神經肌肉疾病的兒童，諸如脊髓肌肉萎縮症 (Montes 等人，2018)、杜興氏肌肉營養萎縮症 (McDonald 等人，2013) 和嬰兒型龐貝病 (van der Meijden 等人，2018)。2 分鐘步行測試 (2MWT) 包含在 NIH Toolbox 中，並且越來越多用於測量相同的性質。

【0375】 6MWT 和 2MWT 可根據保健提供者的判斷在治療前和治療期間施予患者。如果個體在基準時無法完成至少 2MWT，則治療期間的額外評估可由保健提供者自行決定。在測試前和測試後獲得靜止心率。6MWT 的前 2 分鐘和完整 6 分鐘的步行距離可以記錄下來。可以將 2 分鐘和 6 分鐘內步行的距離與年齡和性別匹配的規範數據 (預測值百分率) 進行比較。

【0376】 **3. 測力計** — 根據保健提供者的判斷，可以在治療前及/或治療期間使用測力計評估力量。手持測力計是一種直接測量力量的方法，通常用於兒童和成人。可評估的肌肉群包括：肩外展、肩屈曲、肘屈曲、肘伸展、髖外展、髖屈曲、髖伸展和膝伸展。每個肌肉群可以雙側測量 2 次。

【0377】 **握力** — 根據保健提供者的判斷，可以在治療前及/或治療期間使用握力測力計測量握力。設備和評估員指示可以跨站點間進行標準化。可以透過對每隻手採取 1 次練習和 1 次最大力量測量來評估雙側握力，並且可以將結果與年齡和性別匹配的規範數據 (如果可用) 進行比較。

【0378】 **運動範圍** — 運動範圍可以使用測角儀進行評估，測角儀是一種測試關節角度並測量關節運動程度的儀器。測角儀的固定臂與固定體段上的指定骨性標誌加以對齊，測角儀的移動臂與正在移動的肢體的指定骨性標誌加以對齊。使用運動軸和骨性標誌將測角儀的支點針對每個經測量的運動而加以特定。可以針對以下一或多者來評估運動範圍：肩外展、肩屈曲、肘屈曲、肘伸展、髖外展、髖屈曲、髖伸展和膝伸展。

【0379】 **4. 聽力測試** — 中度聽力喪失與 ARHR2 相關 (Brachet 等人，2014；Steichen-Gersdorf 等人，2015)。基準聽力可以藉由以下一或多者來確定：身體檢查和耳鏡檢查、阻抗測聽術 (通常稱為鼓室測聽術)、如果可能的話，頻率至多 8 kHz 的純音測聽術 (PTA) (如果 PTA 閾值＞15dB，個體還應接受骨傳導測試)、頻率至多 16 kHz 的高頻測聽術 (HFA)。

【0380】 **5. 臨床整體印象量表** — 臨床整體印象 (CGI-S) 量表是研制用於國家心理健康研究院所贊助的臨床試驗，對臨床醫生在開始研究用藥之前和之後對患者整體功能的看法提供了一個簡短的、獨立的評估 (Guy 1976)。CGI 提供了一個由臨床醫生所確定的綜合衡量標準，該衡量標準考慮了所有可用資訊，包括對患者病史、心理社會環境、症狀、行為以及症狀對患者功能能力的影響

的瞭解。CGI-S 可以根據保健提供者的判斷在治療前及/或治療期間執行，並使用從 -3 (嚴重惡化)到 +3 (顯著改善) 的 7 點量表提供對變化的總體評估。

【0381】 **6. 粗大動作功能分類系統-擴展和修訂** — 粗大動作分類系統-擴展和修訂 (GMFCS-E 和 R) 可以在治療前及/或治療期間由保健提供者自行決定執行。GMFCS-E 和 R 將患者起始的動作加以分類，著重在量表為 1 到 5 的活動性。

【0382】 **7. 患者回報結果測量資訊系統** — 患者回報結果測量資訊系統 (PROMIS) 是由美國國立衛生研究院 (NIH) 開發的各種問卷所組成，用於從患者的角度來評估身體、心理和社會福祉 (http：//www.healthmeasures.com)。這些問卷已用於患有慢性健康病況的人類的臨床試驗，諸如 X-性聯遺傳型低磷酸鹽血症、關節炎、多發性硬化症和神經纖維瘤病。每份問卷包含 8 到 10 個項目，由參與者按照從 1 (從不) 到 5 (總是) 的 5 點李克特量表 (5-point Likert scale) 進行評分。將每份問卷的分數加總，高分表明了更屬於被測量的領域 (例如更為疲勞、更多身體機能)。原始分數根據平均值 50 和標準差 10 轉換為 T 分數，從而可以將研究樣本與一般群體進行比較。PROMIS 量表可能包括疼痛干擾 (簡表 8a)、疼痛強度 (3a 版)、身體功能-上肢 (自定義簡表)、身體功能-活動性 (簡表 13a FACIT 疲勞)、疲勞 (簡表) 和認知影響 (簡表 8a)，且可根據保健提供者的判斷在治療前及/或治療期間執行。這些評估可以在沒有幫助的情況下由個體完成。

【0383】 **8. 看護者整體印象量表** — 根據保健提供者的判斷，可以在治療前及/或治療期間向患者的看護者進行「看護者整體狀態印象」。看護者整體印象變化是使用從 -3 (嚴重惡化) 到 +3 (顯著改善) 的 7 點量表來提供對變化的整體評估。

【0384】 **9. 西安大略和麥克馬斯特大學骨關節炎指數** — WOMAC 是一種由患者回報的結果，用於評估髖部或膝部疼痛患者的日常生活活動、功能活動

性、步態、一般健康狀況、疼痛和生活質量 (www.sralab.org)。評估是由 24 個項目所組成，大約需要 12 分鐘來執行。WOMAC 可根據保健提供者的判斷在治療前及/或治療期間執行。評估可以在沒有幫助的情況下由個體完成。

【0385】 **實施例 20：凍乾 ENPP1 多肽調配物的持續穩定性試驗**

【0386】 在三個不同的儲存條件下 (5°C、25°C 和 40°C) 儲存 36 個月，針對較佳調配物中的凍乾 ENPP1-Fc 進行了長期穩定性測試。24 個月後，所有含有 ENPP1-Fc 的凍乾塊均顯示出完整的象牙色結構。在水中復水後，於所有樣品類型下均可觀察到棕黃色，並澄清且無可見顆粒的液體外觀。凍乾樣品可在與上述數據一致的時間段內進行復水，即凍乾樣品可在 59 秒至 108 秒內完全復水。

【0387】 隨著時間的推移，這兩種調配物在各溫度條件下的水份含量也與上述水分含量數據保持一致。在所有測試的儲存溫度下，所有的凍乾樣品時間點 (0、3、6、9、12、18、24、30、36 個月) 在各時間點和條件下均具有非常低的或沒有水分含量，殘留水分含量範圍為 0.0%至 0.3%。每個樣品在每種儲存條件下的 pH 值也隨著時間的推移保持一致，樣品的 pH 值在 36 個月內保持在 pH 6.3 ± 0.1。還測量了每個樣品相對於 50 mg/mL 經標準化起始濃度的蛋白質回收率。這些數據表明了在 5°C、25°C 和 40°C 儲存條件下，蛋白質回收率不會隨著時間的推移而降低。

【0388】 當較佳的調配物樣品儲存在 5°C、25°C 和 40°C 下，透過 SEC 實驗來表徵 HMW 物質在 36 個月內的發展趨向。關於 HMW 物質總數、LMW 物質總數和主峰物質總數之豐度百分比的 SEC 數據概要是按照先前實施例中所概述的流程進行收集。圖 17 至 19 分別顯示了在 5°C、25°C 和 40°C 下，隨著時間推移之 HMW 豐度百分比和主峰豐度百分比的 SEC 數據概要。陽性對照零時間

點樣品的 HMW 含量約為 4%。所有較佳調配物樣品均與對照組保持一致，在 5°C、25°C 和 40°C 儲存條件下，每個樣品於至少 24 個月內均具有 ± 5% 的 HMW 含量。這些結果表明了每個較佳調配物都出乎意料地能夠於延長時間內防止高分子量聚集體物質的形成。對於儲存長達 36 個月的樣品，也看到了類似的結果。這些數據還表明了較佳調配物能夠穩定凍乾多肽而防止 HMW 物質的形成，即使在較高或非冷藏溫度下儲存，諸如 25°C 和 40°C。

【0389】 利用上述實施例 7 中的酶活性篩選來評估對應於每個時間點和儲存條件下之所有較佳調配物樣品的比活性。簡而言之，透過將 ENPP1-Fc 與 pNP-TMP 混合來進行用於評估每個調配物樣品活性的酶測定。以分光光度法，在 405 nm、25°C 下，監測產物形成 (pNP) 5 分鐘。透過將每種樣品製備物所獲得之隨時間經過的吸光度變化插值到已知 pNP 濃度的標準曲線來計算出 ENPP1-Fc 的比活性。繪製了每個樣品，包括冷凍對照組，隨著時間推移的活性數據。圖 20 顯示了在 5°C、25°C 和 40°C 下儲存長達 24 個月之樣品的代表性活性與時間的關係圖。對於儲存長達 36 個月的樣品，也看到了類似的結果。

【0390】 所有樣品在各時間點和儲存條件下均表現出一致的酶活性水平。因此，實驗表明了凍乾 ENPP1-Fc 調配物即使在不同溫度條件下長期儲存仍能保持穩定。

【0391】 **實施例 21：在小瓶和注射器中經復水樣品的穩定性分析**

【0392】 進行以下分析來確定當儲存在小瓶和注射器中的不同時間點，經復水的調配物是否會在一段時間內發生任何蛋白質損失或活性損失。

【0393】 將較佳調配物中的凍乾 ENPP1-Fc 在水中復水，以達到 1 mg/ml、2.5 mg/ml 和 10 mg/ml 的不同濃度。將不同濃度的樣品在 5°C 下於兩組注射器 (大體積樣品-250 µl 和小體積樣品-50µl) 中進行培育，時間間隔從 1 至 12 小時不等。

進行三重複實驗。將在測定時復水並稀釋至 10、2.5 和 1 mg/mL 的樣品用作為對照組。測定未經培育樣品 (時間-0 小時) 的酶活性。接著將經培育樣品 (8 至 12 小時) 的活性與對照組數值進行標準化。還依照以上先前實施例中所述的方案來測量每個樣品相對於 50 mg/mL 經標準化起始濃度的蛋白質回收率。

【0394】 圖 21 顯示了在不同時間間隔下儲存於注射器或小瓶中之經復水 ENPP1-Fc 的回收百分比。這些數據表明了以不同濃度儲存在注射器中的經復水 ENPP1-Fc 蛋白是穩定的。按照上述實施例中所描述的方案來測量經復水 ENPP1-Fc 樣品的比活性。圖 22 顯示了在不同時間間隔下儲存於注射器或小瓶中之經復水 ENPP1-Fc 多肽樣品的酶活性數據概要。所有樣品在各時間點和儲存條件下均表現出一致的酶活性水平。當儲存在小瓶中時，蛋白質活性保持不變，但當樣品儲存在注射器中超過 8 小時，活性略有損失。

【0395】 實施例 22：經復水樣品稀釋後的穩定性分析

【0396】 將小瓶中的凍乾 ENPP1-Fc 調配物復水成 25 mg/mL。產生兩組 2.5 mg/mL 和 1 mg/mL 稀釋液。取一個單獨的小瓶並在測定時使用注射器進行稀釋至 2.5 mg/mL 和 1 mg/mL 來建立對照樣品。因此，對照樣品將會是零培育時間。將經稀釋的樣品 2.5 mg/ml 和 1 mg/ml 在 5°C 下培育過夜，並將一部分樣品在室溫 (25°C) 下培育，時間間隔為 1 小時、2 小時、3 小時、4 小時和 8 小時。如以上先前實施例中所述對酶活性和蛋白質濃度進行測量。這些數值與對照樣品進行標準化。圖 23 顯示了在不同時間間隔下儲存於注射器或小瓶中之經復水 ENPP1-Fc 的回收百分比。該測定表明了當於 5°C 下儲存在小瓶中過夜或在室溫下儲存長達 8 小時，蛋白質濃度沒有損失。圖 24 顯示了在不同時間間隔下儲存於注射器或小瓶中之經復水 ENPP1-Fc 多肽樣品的酶活性數據概要。該測定表明

了當於 5°C 下儲存在小瓶中過夜或在室溫下儲存長達 4 小時，蛋白質活性沒有損失。當樣品在室溫下儲存 4 小時後，可觀察到酶活性會輕微損失。

【0397】 **參考文獻**

1. ATS.「美國胸科學會聲明：六分鐘步行測試指南」，AmJRespir, CritCare Med. 2002；166(1)：111-7。
2. Brachet C, Mansbach AL, Clerckx A, Deltenre P, Heinrichs C.，「聽力損失是 ENPP1 功能喪失突變之臨床表現的一部分」，Horm Res Paediatr. 2014；81(1)：63-6。
3. CTFG.「與臨床試驗中的避孕和妊娠試驗相關的建議」，2014 [19 May 2020]；可從以下位置獲得：http://www.hma.eu/fileadmin/dateien/Human_Medicines/01-About HMA/Working Groups/CTFG/2014 09 HMA CTFG Contraception.pdf.
4. Ferreira C, Ziegler S, Gahl W.，「嬰兒期全身動脈鈣化」，In：Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K 等人, editors. GeneReviews((R)). Seattle (WA)2014。
5. Guy W.「臨床整體印象量表」，In：Rush Jr AJ, First MB, Blacker D, editors，《精神科措施手冊》，2008. Washington, DC：American Psychiatric Publishing, Inc； 1976. p. 90-2。
6. IOF.「體染色體隱性遺傳性低磷酸鹽佝僂症第 2 型 (ARHR2) 」，2019 [19 May 2020]；可從以下位置獲得：https://www.iofbonehealth.org/osteoporosis-musculoskeletal-disorders/skeletal-rare-disorders/autosomal-recessive-hypophosphatemi-0.
7. Mackenzie NC, Huesa C, Rutsch F, MacRae VE.，「對 NPP1 功能的新見解：臨床和動物研究的所學經驗」，Bone. 2012 Nov；51(5)：961-8。

8. McDonald CM, Henricson EK, Abresch RT, Florence JM, Eagle M, Gappmaier E 等人，「杜興氏肌肉萎縮症的 6 分鐘步行測試和其他終點：來自多中心研究的 48 周的縱向自然史觀察」，Muscle Nerve. 2013 Sep；48(3)：343-56。

9. Montes J, McDermott MP, Mirek E, Mazzone ES, Main M, Glanzman AM 等人，「脊髓性肌萎縮的動態功能：與年齡相關的進展模式」，PLoS One. 2018；13(6)：e0199657。

10. Moran JJ.，「嬰兒特發性動脈鈣化：臨床病理學研究」，Pathol Annu. 1975；10：393-417。

11. Mylius CF, Paap D, Takken T.，「兒童和青少年 6 分鐘步行試驗的參考值：系統性評價」，Expert Rev Respir Med. 2016 Dec；10(12)：1335-52。

12. NCI. 美國國家癌症研究所癌症治療和診斷部門 (DCTD)、國家癌症研究所 (NCI)、美國國立衛生研究院 (NIH)、衛生與公眾服務部(DHHS)：「不良事件通用術語標準 V5.0 (CTCAE)」，Published：November 27, 2017，可從以下位置獲得：https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic_applications/docs/ctcae_v5_quick_re ference 8.5x11.pdf.

13. Orriss IR, Arnett TR, Russell RG.，「焦磷酸：礦化的關鍵抑制劑」，Curr Opin Pharmacol. 2016 Jun；28：57-68。

14. Rutsch F, Boyer P, Nitschke Y, Ruf N, Lorenz-Depierieux B, Wittkampf T 等人，「低磷血症、高磷酸化和雙膦酸鹽治療與嬰兒期全身動脈鈣化中之嬰兒期以上的生存率相關」，Circ Cardiovasc Genet. 2008 Dec；1(2)：133-40。

15. Steichen-Gersdorf E, Lorenz-Depiereux B, Strom TM, Shaw NJ.，「由ENPP1 功能突變引起的常染色體隱性低磷血症性佝僂病的早發性聽力損失」，J Pediatr Endocrinol Metab. 2015 Jul；28(7-8)：967-70。

16. van der Meijden JC, Kruijshaar ME, Harlaar L, Rizopoulos D, van der Beek N, van der Ploeg AT.，「長期隨訪了 17 例接受酶替代療法治療的兒童龐貝病患者」，J Inherit Metab Dis. 2018 Nov；41(6)：1205-14。

【0398】 以引用的方式併入

【0399】 本文提及的所有出版物和專利案均以全文引用的方式併入本文，就好像每個單獨的出版物或專利案被具體地和單獨地指示以引用的方式併入一樣。

【0400】 儘管已經討論了本標的之特定具體例，但上述說明是說明性的而不是限制性的。在閱讀過本說明書和以下申請專利範圍後，許多變化對於那些習於技藝者來說將變得顯而易見。本發明的全部範疇應透過參照申請專利範圍及其等效物的全部範圍和說明書以及這些變化來決定。

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"
nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3" fileName="111329-發明序列
表-MH.xml" softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.2.0"
productionDate="2023-03-13">
 <ApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>111136212</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2022-09-23</FilingDate>
 </ApplicationIdentification>
 <ApplicantFileReference>4427-11902</ApplicantFileReference>
 <EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>63/248,803</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2021-09-24</FilingDate>
 </EarliestPriorityApplicationIdentification>
 <ApplicantName languageCode="zh">美商伊諾臻醫藥公司</ApplicantName>
 <ApplicantNameLatin>Inozyme Pharma, Inc.</ApplicantNameLatin>
 <InventionTitle languageCode="zh">凍乾的ENPP1多肽調配物及其用途
</InventionTitle>
 <SequenceTotalQuantity>115</SequenceTotalQuantity>
 <SequenceData sequenceIDNumber="1">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>925</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..925</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q1">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MERDGCAGGGSRGGEGGRAPREGPAGNGRDRGRSHAAEAPGDPQAAASLLAPMDVGEEPLEK
AARARTAKDPNTYKVLSLVLSVCVLTTILGCIFGLKPSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETCIE
PEHIWTCNKFRCGEKRLTRSLCACSDDCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCPAGFETPPTLLFSLDGFRA
EYLHTWGGLLPVISKLKKCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWYK
GEPIWVTAKYQGLKSGTFFWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEERILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHSY
GPVSSEVIKALQRVDGMVGMLMDGLKELNLHRCLNLILISDHGMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDV
PDKYYSFNYEGIARNLSCREPNQHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSERKYCGSGFHGSDNVFS
NMQALFVGYGPGFKHGIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHLLKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNPRD
NLGCSCNPSILPIEDFQTQFNLTVAEEKIIKHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDS
FSTEDFSNCLYQDFRIPLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEALLTTNIVPMYQSFQVIWRYFHDTLLR
KYAEERNGVNVVSGPVFDFDYDGRCDSLENLRQKRRVIRNQEILIPTHFFIVLTSCKDTSQTPLHCENLDTLAFILPHRT
DNSESCVHGKHDSSWVEELLMLHRARITDVEHITGLSFYQQRKEPVSDILKLKTHLPTFSQED</INSDSeq_sequenc
e>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>827</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..827</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q2">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>ENPP1 Polypeptide</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>ENPP1 多肽</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..827</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q3">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>PSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETCIEPEHIWTCNKFRCGEKRLT
RSLCACSDDCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCPAGFETPPTLLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISKLKK
CGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQGLKSGTF
FWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEERILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHSYGPVSSEVIKALQRVDGMV
GMLMDGLKELNLHRCLNLILISDHGMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDVPDKYYSFNYEGIARNLSC
REPNQHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSERKYCGSGFHGSDNVFSNMQALFVGYGPGFKHGIE
ADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHLLKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNPRDNLGCSCNPSILPIEDFQT
QFNLTVAEEKIIKHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDSFSTEDFSNCLYQDFRIPL
SPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEALLTTNIVPMYQSFQVIWRYFHDTLLRKYAEERNGVNVVSGPVFD
FDYDGRCDSLENLRQKRRVIRNQEILIPTHFFIVLTSCKDTSQTPLHCENLDTLAFILPHRTDNSESCVHGKHDSSWVEE
LLMLHRARITDVEHITGLSFYQQRKEPVSDILKLKTHLPTFSQED</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="3">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q4">
```

```
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>ENPP2 Signal sequence</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>ENPP2訊號序列</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q5">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>LFTFAVGVNICLGFTA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>906</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..906</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q6">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Mus musculus</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>小鼠</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MERDGDQAGHGPRHGSAGNGRELESPAAASLLAPMDLGEEPLEKAERARPAKDPNTYKVLSL
VLSVCVLTTILGCIFGLKPSCAKEVKSCKGRCFERTFSNCRCDAACVSLGNCCLDFQETCVEPTHIWTCNKFRCGEKRLS
RFVCSCADDCKTHNDCCINYSSVCQDKKSWVEETCESIDTPECPAEFESPPTLLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISKLKN
CGTYTKNMRPMYPTKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPLWYKGQPIWVTANHQEVKSGTY
FWPGSDVEIDGILPDIYKVYNGSVPFEERILAVLEWLQLPSHERPHFYTLYLEEPDSSGHSHGPVSSEVIKALQKVDRLV
GMLMDGLKDLGLDKCLNLILISDHGMEQGSCKKYVYLNKYLGDVNNVKVVYGPAARLRPTDVPETYYSFNYEALAKNLSC
REPNQHFRPYLKPFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSERKYCGSGFHGSDNLFSNMQALFIGYGPAFKHGAE
VDSFENIEVYNLMCDLLGLIPAPNNGSHGSLNHLLKKPIYNPSHPKEEGFLSQCPIKSTSNDLGCTCDPWIVPIKDFEKQ
LNLTTEDVDDIYHMTVPYGRPRILLKQHRVCLLQQQQFLTGYSLDLLMPLWASYTFLSNDQFSRDDFSNCLYQDLRIPLS
PVHKCSYYKSNSKLSYGFLTPPRLNRVSNHIYSEALLTSNIVPMYQSFQVIWHYLHDTLLQRYAHERNGINVVSGPVFDF
DYDGRYDSLEILKQNSRVIRSQEILIPTHFFIVLTSCKQLSETPLECSALESSAYILPHRPDNIESCTHGKRESSWVEEL
LTLHRARVTDVELITGLSFYQDRQESVSELLRLKTHLPIFSQED</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="5">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>924</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..924</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q7">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Bos taurus</INSDQualifier_value>
```

```
        <NonEnglishQualifier_value>牛</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MERDSCAGGGSRGGEGGRGPREGLAGNGRDPGPGRAAEASGEPQAAASLLAPMDLGEEPLER
AARARPAKDPNTYKVLSLVLSVCVLTTILGCIFGLKPSCAKEIKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVDLGNCCLDYQETCIE
PERIWTCTKFRCGEKRLSRSLCSCSDDCKDKGDCCINHGSVCRGEKSWAEEECDSIDEPQCPAGFETPPTLLFSLDGFRA
EYLHTWGGLLPVISKLKTCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIDNNIYDPQMNANFALKNKEKFNPEWYK
GEPIWLTAKYQGLKTGTFFWPGSDVKINGIFPDIYKIYNVSVPFEERILAILKWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHSY
GPVSSEVIRALQRVDNMVGMLMDGLKELNLHRCLNLILISDHGMEQGSCKKYVYLNKYLGDTKDYKVVYGPAARLRPSDV
PDKYYSFDYEGIAKNLSCQEPNQHFKPYLKHFLPKRLHFAKNDRIERLTFYLDPQWQLALNPSERKYCGGGFHGSDNTFL
NMQALFIGYGPGFKHSTEVDSFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHLLSNPVYTPKHPKEVRPLVQCPFTRAPRE
SLDCSCDPSILPIVDFQTQLNLTMAEEKTIKRGALPYGRPRVLQNSTVCLLYQHQFVSGYSRDILMPLWTSYTIGRNDSF
STEDFSNCLYQDLRIPLSPVHKCSFYKNNAKLSYGLLSPPQLHKGSSQVYSEALLTTNIVPMYQSFQVIWHYLHGTLLQR
YAEERNGLNVVSGPVFDSDYDGRYDSLETLKQNSKIIRNLEVLIPTHFFLVLTSCKNTSQTPLQCENLDAMAFILPHKTD
NSESCAHGKHESLWVEELLKLHTARITDVEHITGLSFYQERKEPISDILKLKTHLPTFNQED</INSDSeq_sequence
>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="6">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>925</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..925</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q8">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Oryctolagus cuniculus</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>兔</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MERDGCAGGGSRGGEGGRAPREGPAGNSRDPGRSHAAEAPGNPQAAASLLAPMDVGEEPLEK
AARARTAKDPNTYKVLSLVLSVCVLTTILGCIFGLKPSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETCIE
PEHIWTCNKFRCGEKRLTRSLCACSDDCKDQGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCPAGFETPPTLLFSLDGFRA
EYLHTWGGLLPVISKLKKCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWYK
GEPIWVTAKYQGLKSGTFFWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEERILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHSY
GPVSSEVIKALQRVDNMVGMLMDGLKELNLHRCLNLILVSDHGMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDV
PDKYYSFNYEGIARNLSCREPNQHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSERKYCGSGFHGSDNIFS
NMQALFVGYGPGFKHGIEVDTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHLLKNPVYTPKHPKEVHPLIQCPFTRNPRD
NLGCSCNPSILPIEDFQTQFNLTVAEEKNIKHETLPYGRPRVLQKKNTICLLSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDS
FSTEDFSNCLYQDFRISLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSRGIYSEALLTTNIVPMYQSFQVIWRYFHDTLLR
KYAEERNGVNVVSGPVFDFDYDGRYDSLEILRQKRRVIRNQEILIPTHFFIVLTSCKDASQTPLHCENLDTLAFILPHRT
DNSESCLHGKHESSWVEELLMLHRARITDVEHITGLSFYQQRKEPVSDILKLKTHLPTFSQED</INSDSeq_sequenc
e>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="7">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q9">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Azurocidin Signal sequence</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>Azurocidin訊號序列</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q10">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>MTRLTVLALLAGLLASSRA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="8">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>926</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..926</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q11">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Papio hamadryas</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>狒狒</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MERDGCAGGGSQGGGKGGRGPREGLAGNGRDPSHGQASEAPGDPQAAASLLAPMDLGEEPLE
KAAGARPAKDPNTYKVLSLVLSVCVLTTILGCIFGLKPSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDVACVDLGNCCLDYQETCI
EPERIWTCNKFRCGEKRLSRSLCACSDDCKERGDCCINYSAVCQGEKSWVEETCENINEPQCPEGFEMPPTLLFSLDGFR
```

AEYLHTWGGLLPVISKLKKCGTYAKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWY
KGEPIWLTAKYQGLRSGTFFWPGSDVKINGIFPDIYKIYNGSVPFEERILAILKWLRLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHS
YGPVSSEVIKALQRVDNMVGMLMDGLKELNLHQCLNLILISDHGMEQGSCKKYIYLNKYLGDTKNIKVIYGPAARLRPSD
VPEKYYSFNYENIARNLSCREPNQHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALSPSERKYCGSGFHGSDNVF
SNMQALFVGYGPGFQHGIEVDSFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHLLKNPIYTPKHPKEVQPSVQCPLAGSPR
DSLGCSCNPSILPIVDFQTQFNLTTAEEKNINRASLPYGRPRLLQKKSSVCLLYQHQFVSGYSHDVLMPLWTSYTVNRND
SFSTEDFSNCLYQDLRISFSPIHNCSFYKNNAKLSYGFLSPPQLSKDSSQIYSEALLTSNIVPMYQSFQVIWRYFHDTLL
QRYAEERNSINVVSGPVFDSDYDGRYDSSEALKRNRRVIRNQEILIPTHFFIVITSCKNTSQTPLQCDNLDPLAFILPHR
SDNSESCVHEKRESSWIEELLMMHRARIMDVEHITGLSFYQERKEPVSDILKLKTHLPTVSQED</INSDSeq_sequen
ce>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="9">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>1063</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..1063</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q12">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>ENPPI Polypeptide</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>ENPP1 多肽</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..1063</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q13">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>

```
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>FTAGLKPSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETCIEPEHIWTCNKFRC
GEKRLTRSLCACSDDCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCPAGFETPPTLLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPV
ISKLKKCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQG
LKSGTFFWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEERILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHSYGPVSSEVIKALQ
RVDGMVGMLMDGLKELNLHRCLNLILISDHGMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDVPDKYYSFNYEGI
ARNLSCREPNQHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSERKYCGSGFHGSDNVFSNMQALFVGYGPG
FKHGIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHLLKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNPRDNLGCSCNPSILP
IEDFQTQFNLTVAEEKIIKHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDSFSTEDFSNCLYQ
DFRIPLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEALLTTNIVPMYQSFQVIWRYFHDTLLRKYAEERNGVNVV
SGPVFDFDYDGRCDSLENLRQKRRVIRNQEILIPTHFFIVLTSCKDTSQTPLHCENLDTLAFILPHRTDNSESCVHGKHD
SSWVEELLMLHRARITDVEHITGLSFYQQRKEPVSDILKLKTHLPTFSQEDLINDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="10">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>1060</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..1060</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q14">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>ENPP1 Polypeptide</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>ENPP1 多肽</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..1060</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q15">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GLKPSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETCIEPEHIWTCNKFRCGEK
RLTRSLCACSDDCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCPAGFETPPTLLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISK
LKKCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQGLKS
GTFFWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEERILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHSYGPVSSEVIKALQRVD
GMVGMLMDGLKELNLHRCLNLILISDHGMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDVPDKYYSFNYEGIARN
LSCREPNQHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSERKYCGSGFHGSDNVFSNMQALFVGYGPGFKH
GIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHLLKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNPRDNLGCSCNPSILPIED
FQTQFNLTVAEEKIIKHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDSFSTEDFSNCLYQDFR
IPLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEALLTTNIVPMYQSFQVIWRYFHDTLLRKYAEERNGVNVVSGP
VFDFDYDGRCDSLENLRQKRRVIRNQEILIPTHFFIVLTSCKDTSQTPLHCENLDTLAFILPHRTDNSESCVHGKHDSSW
VEELLMLHRARITDVEHITGLSFYQQRKEPVSDILKLKTHLPTFSQEDLINDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="11">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>1057</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..1057</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q16">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>ENPP1 Polypeptide</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>ENPP1 多肽</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..1057</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q17">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>PSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETCIEPEHIWTCNKFRCGEKRLT
RSLCACSDDCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCPAGFETPPTLLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISKLKK
CGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQGLKSGTF
FWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEERILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHSYGPVSSEVIKALQRVDGMV
GMLMDGLKELNLHRCLNLILISDHGMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDVPDKYYSFNYEGIARNLSC
REPNQHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSERKYCGSGFHGSDNVFSNMQALFVGYGPGFKHGIE
ADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHLLKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNPRDNLGCSCNPSILPIEDFQT
QFNLTVAEEKIIKHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDSFSTEDFSNCLYQDFRIPL
SPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEALLTTNIVPMYQSFQVIWRYFHDTLLRKYAEERNGVNVVSGPVFD
FDYDGRCDSLENLRQKRRVIRNQEILIPTHFFIVLTSCKDTSQTPLHCENLDTLAFILPHRTDNSESCVHGKHDSSWVEE
LLMLHRARITDVEHITGLSFYQQRKEPVSDILKLKTHLPTFSQEDLINDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequence>
```

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="12">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>227</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..227</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q18">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Human IgG1 Fc</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>人類IgG1 Fc</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..227</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q19">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK</INSDSeq_sequence>
```

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="13">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>832</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..832</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q20">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>ENPP1 Polypeptide</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>ENPP1 多肽</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..832</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q21">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>TAGLKPSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETCIEPEHIWTCNKFRCG
EKRLTRSLCACSDDCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCPAGFETPPTLLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVI
SKLKKCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQGL
KSGTFFWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEERILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHSYGPVSSEVIKALQR
VDGMVGMLMDGLKELNLHRCLNLILISDHGMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDVPDKYYSFNYEGIA
```

RNLSCREPNQHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSERKYCGSGFHGSDNVFSNMQALFVGYGPGF
KHGIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHLLKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNPRDNLGCSCNPSILPI
EDFQTQFNLTVAEEKIIKHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDSFSTEDFSNCLYQD
FRIPLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEALLTTNIVPMYQSFQVIWRYFHDTLLRKYAEERNGVNVVS
GPVFDFDYDGRCDSLENLRQKRRVIRNQEILIPTHFFIVLTSCKDTSQTPLHCENLDTLAFILPHRTDNSESCVHGKHDS
SWVEELLMLHRARITDVEHITGLSFYQQRKEPVSDILKLKTHLPTFSQED
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>830</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..830</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q22">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>ENPP1 Polypeptide</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>ENPP1 多肽</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..830</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q23">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GLKPSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETCIEPEHIWTCNKFRCGEK
RLTRSLCACSDDCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCPAGFETPPTLLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISK
LKKCGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQGLKS
GTFFWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEERILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHSYGPVSSEVIKALQRVD
GMVGMLMDGLKELNLHRCLNLILISDHGMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDVPDKYYSFNYEGIARN
LSCREPNQHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSERKYCGSGFHGSDNVFSNMQALFVGYGPGFKH
GIEADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHLLKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNPRDNLGCSCNPSILPIED
FQTQFNLTVAEEKIIKHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDSFSTEDFSNCLYQDFR
IPLSPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEALLTTNIVPMYQSFQVIWRYFHDTLLRKYAEERNGVNVVSGP
VFDFDYDGRCDSLENLRQKRRVIRNQEILIPTHFFIVLTSCKDTSQTPLHCENLDTLAFILPHRTDNSESCVHGKHDSSW
VEELLMLHRARITDVEHITGLSFYQQRKEPVSDILKLKTHLPTFSQED</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="15">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>827</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..827</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q24">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>ENPP1 Polypeptide</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>ENPP1 多肽</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..827</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q25">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>PSCAKEVKSCKGRCFERTFGNCRCDAACVELGNCCLDYQETCIEPEHIWTCNKFRCGEKRLT
RSLCACSDDCKDKGDCCINYSSVCQGEKSWVEEPCESINEPQCPAGFETPPTLLFSLDGFRAEYLHTWGGLLPVISKLKK
CGTYTKNMRPVYPTKTFPNHYSIVTGLYPESHGIIDNKMYDPKMNASFSLKSKEKFNPEWYKGEPIWVTAKYQGLKSGTF
FWPGSDVEINGIFPDIYKMYNGSVPFEERILAVLQWLQLPKDERPHFYTLYLEEPDSSGHSYGPVSSEVIKALQRVDGMV
GMLMDGLKELNLHRCLNLILISDHGMEQGSCKKYIYLNKYLGDVKNIKVIYGPAARLRPSDVPDKYYSFNYEGIARNLSC
REPNQHFKPYLKHFLPKRLHFAKSDRIEPLTFYLDPQWQLALNPSERKYCGSGFHGSDNVFSNMQALFVGYGPGFKHGIE
ADTFENIEVYNLMCDLLNLTPAPNNGTHGSLNHLLKNPVYTPKHPKEVHPLVQCPFTRNPRDNLGCSCNPSILPIEDFQT
QFNLTVAEEKIIKHETLPYGRPRVLQKENTICLLSQHQFMSGYSQDILMPLWTSYTVDRNDSFSTEDFSNCLYQDFRIPL
SPVHKCSFYKNNTKVSYGFLSPPQLNKNSSGIYSEALLTTNIVPMYQSFQVIWRYFHDTLLRKYAEERNGVNVVSGPVFD
FDYDGRCDSLENLRQKRRVIRNQEILIPTHFFIVLTSCKDTSQTPLHCENLDTLAFILPHRTDNSESCVHGKHDSSWVEE
LLMLHRARITDVEHITGLSFYQQRKEPVSDILKLKTHLPTFSQED</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="16">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q26">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>ENPP7 Signal sequence</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>ENPP7訊號序列</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q27">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>MRGPAVLLTVALATLLAPGA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>22</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q28">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>ENPP7 Signal sequence</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>ENPP7 訊號序列</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q29">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>MRGPAVLLTVALATLLAPGAGA</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="18">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>22</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q30">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>ENPP5 Signal sequence</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>ENPP5訊號序列</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q31">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>MTSKFLLVSFILAALSLSTTFS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>98</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..98</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q32">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>ENPP121GLK Signal sequence</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>ENPP121GLK訊號序列</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..98</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q33">
```

```
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MERDGCAGGGSRGGEGGRAPREGPAGNGRDRGRSHAAEAPGDPQAAASLLAPMDVGEEPLEK
AARARTAKDPNTYKIISLFTFAVGVNICLGFTAGLK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="20">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>94</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..94</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q34">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>ENPP121 protein export signal
sequence</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>ENPP121蛋白輸出訊號序列
</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..94</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q35">
```

```
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MERDGCAGGGSRGGEGGRAPREGPAGNGRDRGRSHAAEAPGDPQAAASLLAPMDVGEEPLEK
AARARTAKDPNTYKIISLFTFAVGVNICLGFT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="21">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q36">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q37">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="22">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q38">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q39">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGGS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="23">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q40">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q41">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGG</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="24">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q42">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q43">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGGA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q44">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q45">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="26">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q46">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q47">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGGG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="27">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q48">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q49">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GGAG</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="28">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier id="q50">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q51">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGSG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="29">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q52">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q53">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AGGG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="30">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q54">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q55">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>SGGGG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="31">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q56">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q57">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>SGGG</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="32">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q58">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q59">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GAGA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="33">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q60">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q61">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GSGS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="34">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q62">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q63">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GAGAGA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="35">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q64">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q65">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GSGSGS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="36">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q66">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q67">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GAGAGAGA</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="37">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q68">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q69">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GSGSGSGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="38">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q70">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q71">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GAGAGAGAGA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="39">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q72">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q73">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GSGSGSGSGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="40">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q74">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q75">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GAGAGAGAGAGA</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="41">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier id="q76">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q77">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GSGSGSGSGSGS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="42">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q78">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q79">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGAGGA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="43">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q80">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q81">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGSGGS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="44">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q82">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q83">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GGAGGAGGA</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="45">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q84">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q85">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGSGGSGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="46">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q86">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q87">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGAGGAGGAGGA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="47">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q88">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q89">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGSGGSGGSGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="48">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q90">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q91">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGAG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="49">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q92">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q93">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGSG</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="50">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q94">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q95">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGAG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="51">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q96">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q97">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGSG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="52">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q98">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q99">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGAGGGAG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="53">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q100">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q101">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GGSGGGSG</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="54">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier id="q102">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q103">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGAGGGAGGGAG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="55">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q104">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q105">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGSGGGSGGGSG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="56">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q106">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q107">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGGGA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="57">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q108">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q109">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GGGGS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="58">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q110">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q111">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGGAGGGGAGGGGA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="59">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q112">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q113">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGGGSGGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="60">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q114">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q115">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGAG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="61">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q116">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q117">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGGAGG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="62">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q118">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q119">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGGAGGG</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="63">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q120">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q121">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>TGGGG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="64">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q122">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q123">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AAAL</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="65">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q124">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q125">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AAAK</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="66">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q126">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q127">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>AAAR</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="67">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier id="q128">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q129">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>EGKSSGSGSESKST</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="68">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q130">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q131">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GSAGSAAGSGEF</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="69">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q132">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q133">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>AEAAAKEAAAKA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="70">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q134">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q135">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>KESGSVSSEQLAQFRSLD</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="71">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q136">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q137">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GENLYFQSGG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="72">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q138">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q139">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>SACYCELS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="73">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q140">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q141">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RSIAT</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="74">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q142">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q143">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>RPACKIPNDLKQKVMNH</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="75">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>36</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..36</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q144">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..36</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q145">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="76">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q146">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q147">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AAANSSIDLISVPVDSR</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="77">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>36</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..36</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q148">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..36</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q149">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="78">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q150">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q151">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Features section of the listing that any one or all of aminoacids 1-15 can either be present or absent</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>MISC_FEATURE - 列表的特徵部分，胺基酸 1-15 中的任何一個或所有胺基酸可以存在或不存在</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q152">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>RRRRRRRRRRRRRRR</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="79">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q153">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q154">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
```

```
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>DSSSEEKFLRRIGRFG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="80">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q155">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q156">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>EEEEEEEPRGDT</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="81">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q157">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q158">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>APWHLSSQYSRT</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="82">
 <INSDSeq>
```

```
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q159">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q160">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>STLPIPHEFSRE</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="83">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q161">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q162">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>VTKHLNQISQSY</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="84">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q163">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q164">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Features section of the listing that
any one or all of aminoacids 2-15 can either be present or
absent</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>MISC_FEATURE - 列表的特徵部分，胺基酸 2-15 中
的任何一個或所有胺基酸可以存在或不存在</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q165">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

```
  <INSDSeq_sequence>EEEEEEEEEEEEEEE</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="85">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q166">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q167">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RSGSGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="86">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q168">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q169">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Features section of the listing that any one or all of aminoacids 2-15 can either be present or absent</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>MISC_FEATURE - 列表的特徵部分，胺基酸 2-15 中的任何一個或所有胺基酸可以存在或不存在</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>

```
      <INSDQualifier id="q170">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>DDDDDDDDDDDDDDD</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="87">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q171">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q172">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>LVIMSLGLGLGLGLRK</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="88">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q173">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q174">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>VIMSLGLGLGLGLRK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="89">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q175">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q176">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>IMSLGLGLGLGLRK</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="90">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q177">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q178">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>MSLGLGLGLGLRK</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="91">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q179">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q180">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SLGLGLGLGLRK</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="92">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q181">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q182">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>LGLGLGLGLRK</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="93">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q183">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q184">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GLGLGLGLRK</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="94">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier id="q185">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q186">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>LGLGLGLRK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="95">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q187">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q188">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GLGLGLRK</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="96">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q189">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q190">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>LGLGLRK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="97">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q191">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q192">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GLGLRK</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="98">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q193">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q194">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>LGLRK</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="99">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q195">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q196">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GLRK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="100">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q197">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q198">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>MISC_FEATURE - Features section of the listing that
any one or all of aminoacids 2-15 can either be present or
absent</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>MISC_FEATURE - 列表的特徵部分，胺基酸 2-15 中
的任何一個或所有胺基酸可以存在或不存在</NonEnglishQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q199">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>KKKKKKKKKKKKKKK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="101">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q200">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q201">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>EAAAK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="102">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q202">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q203">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構建體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>PAPAP</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="103">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="104">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="105">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="106">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="107">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="108">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="109">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="110">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="111">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="112">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="113">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="114">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="115">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
```

```
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
 </ST26SequenceListing>
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種凍乾多肽調配物，其中該調配物包括：(a) ENPP1多肽和 (b) 緩衝劑、穩定劑、鹽和界面活性劑中的一種或多種。

【請求項2】 如請求項 1 所述的調配物，其中該調配物包含緩衝劑。

【請求項3】 如請求項 2 所述的調配物，其中當復水在溶液中時，該緩衝劑可將 pH 值範圍維持在 pH 6 至 7。

【請求項4】 如請求項 2 所述的調配物，其中當復水在溶液中時，該緩衝劑可將 pH 值範圍維持在 pH 7 至 8。

【請求項5】 如請求項 3 或 4 所述的調配物，其中該緩衝劑是選自於由琥珀酸鹽、檸檬酸鹽、碳酸氫鹽、磷酸鹽、三羥甲基胺基甲烷(tris)或甘胺醯甘胺酸(glycylglycine)所組成的群組。

【請求項6】 如請求項 5 所述的調配物，其中該緩衝劑是琥珀酸鹽、檸檬酸鹽或磷酸鹽。

【請求項7】 如請求項 6 所述的調配物，其中該緩衝劑是檸檬酸鹽。

【請求項8】 如請求項 6 所述的調配物，其中該緩衝劑是琥珀酸鹽。

【請求項9】 如請求項 6 所述的調配物，其中該緩衝劑是磷酸鹽。

【請求項10】 如請求項 2 至 9 中任一項所述的調配物，其中當復水在溶液中時，該緩衝劑包含濃度範圍為 5 mM 至 100 mM。

【請求項11】 如請求項 2 至 10 中任一項所述的調配物，其中該緩衝劑可提高聚集體形成的起始溫度。

【請求項12】 如請求項 2 至 11 中任一項所述的調配物，其中該緩衝劑可使聚集體形成的起始溫度提高至少 2 ℃。

【請求項13】 如請求項 2 至 12 中任一項所述的調配物，其中該緩衝劑可減少高分子量物質的形成。

【請求項14】 如請求項 2 至 13 中任一項所述的調配物，其中該緩衝劑可使高分子量物質的形成減少至少 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%。

【請求項15】 如請求項 1 至 12 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含一種或多種醫藥上可接受的添加劑。

【請求項16】 如請求項 15 所述的調配物，其中該一種或多種醫藥上可接受的添加劑包含穩定劑、胺基酸、鹽、金屬離子和界面活性劑。

【請求項17】 如請求項 15 或 16 所述的調配物，其中該穩定劑是糖、碳水化合物或多醣。

【請求項18】 如請求項 17 所述的調配物，其中該糖是選自於由蔗糖、海藻糖、甘露糖、麥芽糖、乳糖、葡萄糖、棉子糖、纖維雙糖、龍膽二糖、異麥芽糖、阿拉伯糖、葡萄糖胺、果糖、甘露醇或山梨糖醇所組成的群組。

【請求項19】 如請求項 15 所述的調配物，其中該一種或多種醫藥上可接受的添加劑是甘露醇。

【請求項20】 如請求項 15 所述的調配物，其中該一種或多種醫藥上可接受的添加劑是蔗糖。

【請求項21】 如請求項 15 所述的調配物，其中該醫藥上可接受的添加劑是胺基酸。

【請求項22】 如請求項21所述的調配物，其中該胺基酸是選自於由甘胺酸、精胺酸、組胺酸、丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸和麩胺酸所組成的群組。

【請求項23】 如請求項 15 所述的調配物，其中該一種或多種醫藥上可接受的添加劑是精胺酸。

【請求項24】 如請求項 15 所述的調配物，其中該醫藥上可接受的添加劑是鹽。

【請求項25】 如請求項 24 所述的調配物，其中該鹽是選自於由氯化鈉 (NaCl)、氯化鈣 ($CaCl_2$)、氯化鋅 ($ZnCl_2$) 及/或氯化鎂 ($MgCl_2$) 所組成的群組。

【請求項26】 如請求項 15 所述的調配物，其中該一種或多種醫藥上可接受的添加劑是氯化鈣 ($CaCl_2$)。

【請求項27】 如請求項 15 所述的調配物，其中該醫藥上可接受的添加劑是界面活性劑。

【請求項28】 如請求項 27 所述的調配物，其中該界面活性劑是選自於由聚山梨醇酯、泊洛沙姆 (poloxamer)、聚乙二醇辛基苯基醚 (triton)、十二烷基硫酸鈉、月桂基硫酸鈉、辛基糖苷鈉、月桂基磺基甜菜鹼、肉豆蔻基磺基甜菜鹼、亞油醯基磺基甜菜鹼、硬脂基磺基甜菜鹼、月桂基肌胺酸、肉豆蔻基肌胺酸、亞油醯肌胺酸、硬脂基肌胺酸、亞油醯甜菜鹼、肉豆蔻基甜菜鹼、鯨蠟基甜菜鹼、月桂醯桔基甜菜鹼、椰油醯胺對碘丙基甜菜鹼、亞油醯胺丙基甜菜鹼、肉豆蔻醯基甜菜鹼、棕櫚醯丙基甜菜鹼、異硬脂酸酯醯丙基甜菜鹼、肉豆蔻醯胺丙基二甲胺、棕櫚醯胺丙基二甲胺、硬脂醯胺丙基二甲胺、甲基椰油醯基牛磺酸鈉、甲基油醯基牛磺酸二鈉、二羥丙基 PEG 5 亞油基氯化銨、聚乙二醇、聚丙二醇、聚山梨醇酯 20、聚山梨醇酯 21、聚山梨醇酯 40、聚山梨醇酯 60、聚山梨醇酯 61、聚山梨醇酯 65、聚山梨醇酯 80、聚山梨醇酯 81、聚山梨醇酯 85、聚山梨醇酯 188、PEG 3350、以及其混合物所組成的群組。

【請求項29】 如請求項 27 所述的調配物，其中該界面活性劑是選自於由聚山梨醇酯 20 (PS20)、聚山梨醇酯 80 (PS80) 或聚山梨醇酯 188 (PS188) 所組成的群組。

【請求項30】 如請求項 29 所述的調配物，其中該界面活性劑是聚山梨醇酯 20 (PS20)。

【請求項31】 如請求項 1 至 30 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含緩衝劑、穩定劑、鹽、胺基酸和界面活性劑。

【請求項32】 如請求項 31 所述的調配物，其中該緩衝劑為檸檬酸鹽或琥珀酸鹽，該穩定劑為蔗糖或甘露醇，該鹽為氯化鈣 ($CaCl_2$)，該界面活性劑為 PS20。

【請求項33】 如請求項 1 至 32 中任一項所述的調配物，其中該調配物的 pH 值為 pH 6.2 至 pH 6.5。

【請求項34】 如請求項 1 至 32 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含 15 至 25 mM 的檸檬酸鹽。

【請求項35】 如請求項 32 至 34 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含 75 mM 至 95 mM 的蔗糖、甘露醇或其組合。

【請求項36】 如請求項 1 至 35 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含 100 mM 至 300 mM 的蔗糖。

【請求項37】 如請求項 1 至 36 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含 1 mM 至 3 mM 的氯化鈣。

【請求項38】 如請求項 1 至 37 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含 0.005%至 0.1% (w/v) 的 PS20。

【請求項39】 如請求項 15 至 38 中任一項所述的調配物，其中當復水（reconstitute）在溶液中時，該一種或多種醫藥上可接受的添加劑是以濃度範圍為 5 mM 至 300 mM 存在。

【請求項40】 如請求項 15 至 39 中任一項所述的調配物，其中該一種或多種醫藥上可接受的添加劑可減少高分子量物質的形成。

【請求項41】 如請求項 40 所述的調配物，其中該一種或多種醫藥上可接受的添加劑可使高分子量物質的形成減少至少 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%。

【請求項42】 如請求項 1 至 41 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含 ENPP1 多肽輔因子。

【請求項43】 如請求項 42 所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽輔因子包括鈣、鋅及/或單磷酸腺苷。

【請求項44】 如請求項 42 或 43 所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽輔因子為 $CaCl_2$、$CaSO_4$、$ZnCl_2$、$ZnSO_4$ 及/或單磷酸腺苷。

【請求項45】 如請求項 42 或 43 所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽輔因子為 $CaCl_2$ 及/或單磷酸腺苷。

【請求項46】 如請求項 42 至 45 中任一項所述的調配物，其中當復水在溶液中時，該 ENPP1 多肽輔因子是以 1 mM 至 10 mM 的濃度存在。

【請求項47】 如請求項 42 至 45 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽輔因子可使高分子量物質的形成減少至少 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%。

【請求項48】 如請求項 1 至 47 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含界面活性劑。

【請求項49】 如請求項 48 所述的調配物，其中該界面活性劑包括 PS20、PS80 或 PS188。

【請求項50】 如請求項 48 或 49 所述的調配物，其中該界面活性劑包括 PS20。

【請求項51】 如請求項 48 至 50 中任一項所述的調配物，其中當復水在溶液中時，該界面活性劑是以 0.02%至 0.10% (w/v) 的濃度存在。

【請求項52】 如請求項 48 至 51 中任一項所述的調配物，其中該界面活性劑可增加對物理應力的抗性。

【請求項53】 如請求項 1 至 52 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含大小均勻的顆粒。

【請求項54】 如請求項 1 至 53 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含在較大尺寸顆粒中的二倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍減少，如微流成像分析所確定者。

【請求項55】 如前述請求項中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包括與含有 SEQ ID NO：13、SEQ ID NO：14 或 SEQ ID NO：15 之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同的胺基酸序列。

【請求項56】 如前述請求項中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包括與含有 SEQ ID NO：2 之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同的胺基酸序列。

【請求項57】 如請求項 1 至 56 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽是融合蛋白，該融合蛋白包含可溶性 ENPP1 多肽結構域以及一個或多個異源蛋白質部分。

【請求項58】 如請求項 1 至 57 中任一項所述的調配物，其中該異源蛋白質部分提高可溶性 ENPP1 多肽在哺乳動物中的循環半衰期。

【請求項59】 如請求項 57 或 58 所述的調配物，其中該異源蛋白質部分包含 Fc 結構域。

【請求項60】 如請求項 59 所述的調配物，其中該 Fc 結構域包括與 SEQ ID NO：12 之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更加相同的胺基酸序列。

【請求項61】 如請求項 59 或 60 所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽是 ENPP1-Fc 融合蛋白。

【請求項62】 如請求項 1 至 60 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽還包含異源部分。

【請求項63】 如請求項 62 所述的調配物，其中該異源部分是選自於由醣基化胺基酸、聚乙二醇化胺基酸、法尼基化(farnesylated)胺基酸、乙醯化胺基酸、生物素化胺基酸和脂質部分所組成的群組。

【請求項64】 如前述請求項中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包括與含有 SEQ ID NO：13 之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同的胺基酸序列。

【請求項65】 如請求項 1 至 64 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽與 SEQ ID NO：13 是至少 90%相同。

【請求項66】 如請求項 1 至 64 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽與 SEQ ID NO：13 是至少 95%相同。

【請求項67】 如請求項 1 至 64 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽與 SEQ ID NO：13 是至少 99%相同。

【請求項68】 如請求項 1 至 67 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：13。

【請求項69】 如請求項 1 至 67 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽是由 SEQ ID NO：13 所組成。

【請求項70】 如前述請求項中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包括與含有 SEQ ID NO：14 之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同的胺基酸序列。

【請求項71】 如請求項 1 至 64 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽與 SEQ ID NO：14 是至少 90%相同。

【請求項72】 如請求項 1 至 64 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽與 SEQ ID NO：14 是至少 95%相同。

【請求項73】 如請求項 1 至 64 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽與 SEQ ID NO：14 是至少 99%相同。

【請求項74】 如請求項 1 至 64 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：14。

【請求項75】 如請求項 1 至 64 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽是由 SEQ ID NO：14 所組成。

【請求項76】 如前述請求項中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包括與含有 SEQ ID NO：15 之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同的胺基酸序列。

【請求項77】 如請求項 1 至 64 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽與 SEQ ID NO：15 是至少 90%相同。

【請求項78】 如請求項 1 至 64 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽與 SEQ ID NO：15 是至少 95%相同。

【請求項79】 如請求項 1 至 64 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽與 SEQ ID NO：15 是至少 99%相同。

【請求項80】 如請求項 1 至 64 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：15。

【請求項81】 如請求項 1 至 64 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽是由 SEQ ID NO：15 所組成。

【請求項82】 如請求項 1 至 81 中任一項所述的調配物，其中該調配物包括 ENPP1 多肽、緩衝劑、醫藥上可接受的鹽、穩定劑、界面活性劑以及一種或多種醫藥上可接受的添加劑。

【請求項83】 如請求項 82 所述的調配物，其中該緩衝劑是檸檬酸鹽緩衝劑。

【請求項84】 如請求項 82 或 83 所述的調配物，其中該檸檬酸鹽緩衝劑為檸檬酸三鈉鹽二水合物。

【請求項85】 如請求項 82 至 84 中任一項所述的調配物，其中該醫藥上可接受的鹽為氯化鈣。

【請求項86】 如請求項 82 至 85 中任一項所述的調配物，其中該穩定劑為糖。

【請求項87】 如請求項 86 所述的調配物，其中該穩定劑為蔗糖。

【請求項88】 如請求項 82 至 87 中任一項所述的調配物，其中該一種或多種醫藥上可接受的添加劑包含甘露醇。

【請求項89】 如請求項 82 至 87 中任一項所述的調配物，其中該調配物包括 ENPP1 多肽、檸檬酸鹽緩衝劑、氯化鈣、蔗糖以及聚山梨醇酯。

【請求項90】 如請求項 82 至 87 中任一項所述的調配物，其中該調配物包括 ENPP1 多肽、檸檬酸三鈉鹽二水合物、氯化鈣二水合物、蔗糖以及聚山梨醇酯 20。

【請求項91】 如請求項 82 至 87 中任一項所述的調配物，其中該調配物包括 ENPP1 多肽、檸檬酸鹽緩衝劑、氯化鈣、蔗糖、甘露醇以及聚山梨醇酯。

【請求項92】 如請求項 82 至 87 中任一項所述的調配物，其中該調配物包括 ENPP1 多肽、檸檬酸三鈉鹽二水合物、氯化鈣二水合物、蔗糖、D(-)甘露醇以及聚山梨醇酯 20。

【請求項93】 如請求項 82 至 87 中任一項所述的調配物，其中該調配物包括在每 0.5 毫升之最終復水體積中約 25 毫克 ENPP1 多肽、約 2.94 毫克檸檬酸三鈉鹽二水合物、約 0.15 毫克氯化鈣二水合物、約 30 毫克蔗糖、約 7.5 毫克 D (-) 甘露醇以及約 0.25 毫克聚山梨醇酯。

【請求項94】 如請求項 82 至 93 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：13。

【請求項95】 如請求項 82 至 93 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽是由 SEQ ID NO：13 所組成。

【請求項96】 如請求項 82 至 93 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：14。

【請求項97】 如請求項 82 至 93 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽是由 SEQ ID NO：14 所組成。

【請求項98】 如請求項 82 至 93 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包含 SEQ ID NO：15。

【請求項99】 如請求項 82 至 93 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽是由 SEQ ID NO：15 所組成。

【請求項100】 如請求項 82 至 99 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽還包含 Fc 結構域。

【請求項101】 如請求項 100 所述的調配物，其中該 Fc 結構域包含 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列或由 SEQ ID NO：12 中所描述的胺基酸序列所組成。

【請求項102】 如請求項 100 或 101 所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包含連接 ENPP1 多肽部分與 Fc 結構域的連接子胺基酸序列。

【請求項103】 如請求項 82 至 101 中任一項所述的調配物，其中該連接子胺基酸序列包括胺基酸序列 LIN 或由胺基酸序列 LIN 所組成。

【請求項104】 如請求項 82 至 103 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽由 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11 所組成或包含 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11。

【請求項105】 如請求項 1 至 104 中任一項所述的調配物，其中該調配物是被復水在無菌可注射溶液中。

【請求項106】 如請求項 105 所述的調配物，其中該調配物是被復水在復水溶液或無菌水中。

【請求項107】 如請求項 106 所述的調配物，其中該復水溶液包含醫藥上可接受的載劑及/或添加劑。

【請求項108】 如請求項 107 所述的調配物，其中該醫藥上可接受的載劑是選自於生理食鹽溶液、純水或注射用無菌水。

【請求項109】 如請求項 105 至 108 中任一項所述的調配物，其中該調配物是在小於 100 秒、80 秒、70 秒、68 秒、65 秒或 60 秒的時間內完全復水。

【請求項110】 如請求項 105 至 109 中任一項所述的調配物，其中該經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 2 mM 的氯化鈣、約 175 mM 的蔗糖、約 82 mM 的甘露醇以及約 0.05% w/v 的聚山梨醇酯。

【請求項111】 如請求項 105 至 109 中任一項所述的調配物，其中該經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 2 mM 的氯化鈣、約 175 mM 的蔗糖、約 82 mM 的 (D) 甘露醇以及約 0.05% w/v 的聚山梨醇酯 20。

【請求項112】 如請求項 105 至 109 中任一項所述的調配物，其中該經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 88 mM 的蔗糖、約 82 mM 的甘露醇、約 2 mM 的氯化鈣以及約 0.05%的聚山梨醇酯 20。

【請求項113】 如請求項 105 至 109 中任一項所述的調配物，其中該經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 263 mM 的蔗糖、約 2 mM 的氯化鈣以及約 0.05%的聚山梨醇酯 20。

【請求項114】 如請求項 1 至 113 中任一項所述的調配物，其中該調配物在 -80°C 至 40°C 下表現出長期穩定性。

【請求項115】 如請求項 114 所述的調配物，其中該調配物的保存期限為至少 3、6、12、24、36、48 或 60 個月。

【請求項116】 如請求項 105 至 115 中任一項所述的調配物，其中該經復水調配物的保存期限為至少 1、2、3、4、5、6、12、18、24、48 或 60 小時。

【請求項117】 一種生成含有 ENPP1 多肽的藥物溶液的方法，該方法包括將請求項 1 至 104 中任一項所述的凍乾多肽調配物與無菌復水溶液或無菌水接觸，從而生成含有 ENPP1 多肽的復水溶液。

【請求項118】 如請求項 117 所述的方法，其中該復水溶液包含醫藥上可接受的載劑及/或添加劑。

【請求項119】 如請求項 118 所述的方法，其中該醫藥上可接受的載劑是選自於生理食鹽溶液、純水或注射用無菌水。

【請求項120】 如請求項 117 至 119 中任一項所述的方法，其中該調配物是在小於 100 秒、80 秒、70 秒、68 秒、65 秒或 60 秒的時間內完全復水。

【請求項121】 如請求項 117 至 120 中任一項所述的方法，其中該經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、

約 2 mM 的氯化鈣、約 175 mM 的蔗糖、約 82 mM 的甘露醇以及約 0.05% w/v 的聚山梨醇酯。

【請求項122】 如請求項 117 至 120 中任一項所述的方法，其中該經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 2 mM 的氯化鈣、約 175 mM 的蔗糖、約 82 mM 的 (D) 甘露醇以及約 0.05% w/v 的聚山梨醇酯 20。

【請求項123】 如請求項 117 至 120 中任一項所述的方法，其中該經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 88 mM 的蔗糖、約 82 mM 的甘露醇、約 2 mM 的氯化鈣以及約 0.05%的聚山梨醇酯 20。

【請求項124】 如請求項 117 至 120 中任一項所述的方法，其中該經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 263 mM 的蔗糖、約 2 mM 的氯化鈣以及約 0.05%的聚山梨醇酯 20。

【請求項125】 一種由請求項 117 至 124 中任一項所述的方法所製成的經復水溶液。

【請求項126】 一種預防有需要的個體中血管鈣化惡化或減少血管鈣化的方法，該方法包括：向該個體投予有效量之如請求項 105 至 116 或 125 中任一項所述的經復水調配物，從而預防該個體中血管鈣化的惡化或減少血管鈣化。

【請求項127】 一種預防患有 ENPP1 缺乏症的個體中病理性鈣化惡化或減少病理性鈣化的方法，該方法包括：向該個體投予有效量之如請求項 105 至 116 或 125 中任一項所述的經復水調配物，從而預防該個體中病理性鈣化的惡化或減少病理性鈣化。

【請求項128】 一種預防有需要的個體中組織鈣化惡化或減少組織鈣化的方法，該方法包括：向該個體投予有效量之如請求項 105 至 116 或 125 中任一項所述的經復水調配物，從而預防該個體中組織鈣化的惡化或減少組織鈣化。

【請求項129】 一種預防有需要的個體中病理性骨化(pathological ossification)惡化或減少病理性骨化的方法，該方法包括：向該個體投予有效量之如請求項 105 至 116 或 125 中任一項所述的經復水調配物，從而預防該個體中病理性骨化的惡化或減少病理性骨化。

【請求項130】 一種增加有需要的個體中循環焦磷酸 (pyrophosphate，PPi) 的方法，該方法包括：向該個體投予有效量之如請求項 105 至 116 或 125 中任一項所述的經復水調配物，從而增加該個體中的循環 PPi。

【請求項131】 一種增加有需要的個體中焦磷酸酶活性的方法，該方法包括：向該個體投予有效量之如請求項 105 至 116 或 125 中任一項所述的經復水調配物，從而增加該個體中的循環 PPi。

【請求項132】 如請求項 126 至 131 中任一項所述的方法，其中該個體患有 ENPP1 缺乏症。

【請求項133】 如請求項 126 至 131 中任一項所述的方法，其中該個體患有 ABCC6 缺乏症。

【請求項134】 如請求項 133 所述的方法，其中該 ABCC6 缺乏症為彈性纖維假黃瘤(Pseudoxanthoma Elasticum)。

【請求項135】 如請求項 126 至 131 中任一項所述的方法，其中該個體患有涉及病理性鈣化的病症。

【請求項136】 如請求項 126 至 131 中任一項所述的方法，其中該個體患有涉及病理性骨化的病症。

【請求項137】 如請求項 126 至 131 中任一項所述的方法，其中該個體患有或有風險罹患病理性軟組織鈣化、動脈鈣化、血管鈣化、慢性腎臟病 (chronic kidney disease，CKD)、末期腎病 (end stage renal disease，ESRD)、鈣化尿毒症性小動脈病變 (calcific uremic arteriolopathy，CUA)、鈣過敏、後縱韌帶骨化症 (ossification of the posterior longitudinal ligament，OPLL) 或低磷酸鹽佝僂症。

【請求項138】 一種緩解個體中 ENPP1 缺乏症的一種或多種症狀的方法，該方法包括：向該個體投予有效量之如請求項 105 至 116 或 125 中任一項所述的經復水調配物，從而緩解該個體中 ENPP1 缺乏症的一種或多種症狀。

【請求項139】 一種治療患有 ENPP1 缺乏症之個體的方法，該方法包括：向該個體投予有效量之如請求項 105 至 116 或 125 中任一項所述的經復水調配物，從而治療該個體。

【請求項140】 一種緩解個體中 ABCC6 缺乏症的一種或多種症狀的方法，該方法包括：向該個體投予有效量之如請求項 105 至 116 或 125 中任一項所述的經復水調配物，從而緩解該個體中 ABCC6 缺乏症的一種或多種症狀。

【請求項141】 一種治療患有 ABCC6 缺乏症之個體的方法，該方法包括：向該個體投予有效量之如請求項 105 至 116 或 125 中任一項所述的經復水調配物，從而治療該個體。

【請求項142】 如請求項 126 至 141 中任一項所述的方法，其中該經復水的調配物是以非經腸道方式給藥。

【請求項143】 如請求項 126 至 141 中任一項所述的方法，其中該經復水的調配物是透過皮下注射給藥。

【請求項144】 如請求項 126 至 141 中任一項所述的方法，其中該經復水的調配物是透過靜脈注射給藥。

【請求項145】 如請求項 126 至 141 中任一項所述的方法，其中該經復水的調配物是透過皮內注射給藥。

【請求項146】 如請求項 126 至 141 中任一項所述的方法，其中該經復水的調配物是透過肌肉注射給藥。

【請求項147】 如請求項 126 至 146 中任一項所述的方法，其中該經復水的調配物是自身給藥的(self-administered)。

【請求項148】 如請求項 126 至 147 中任一項所述的方法，其中該調配物是每天、每兩天、三天、一周或一個月給藥數次。

【請求項149】 如請求項 148 所述的調配物，其中該調配物的第二劑量是在至少兩天後、四天後、一周後或一個月後的合適時間間隔後進行給藥。

【請求項150】 如請求項 1 至 116 中任一項所述的調配物，其中該凍乾調配物包含治療有效劑量。

【請求項151】 如請求項 105 至 116 或 125 中任一項所述的調配物，其中該經復水的調配物包含治療有效劑量。

【請求項152】 一種調配物，該調配物包含經復水在溶液中之濃度為 5 至 100 mM 的凍乾 ENPP1，其中該調配物包含一種或多種緩衝劑、一種或多種醫藥上可接受的添加劑。

【請求項153】 如請求項 152 所述的調配物，其中當復水在溶液中時，該緩衝劑可將 pH 值範圍維持在 pH 6 至 7。

【請求項154】 如請求項 152 至 153 中任一項所述的調配物，其中當復水在溶液中時，該緩衝劑可將 pH 值範圍維持在 pH 7 至 8。

【請求項155】 如請求項 152 至 154 中任一項所述的調配物，其中該緩衝劑是選自於由琥珀酸鹽、檸檬酸鹽、碳酸氫鹽、磷酸鹽、三羥甲基胺基甲烷或甘胺醯甘胺酸所組成的群組。

【請求項156】 如請求項 152 至 155 中任一項所述的調配物，其中該緩衝劑是琥珀酸鹽、檸檬酸鹽或磷酸鹽。

【請求項157】 如請求項 152 至 156 中任一項所述的調配物，其中該緩衝劑是檸檬酸鹽。

【請求項158】 如請求項 152 至 157 中任一項所述的調配物，其中該緩衝劑是琥珀酸鹽。

【請求項159】 如請求項 152 至 158 中任一項所述的調配物，其中該緩衝劑是磷酸鹽。

【請求項160】 如請求項 152 至 159 中任一項所述的調配物，其中該緩衝劑可提高聚集體形成的起始溫度。

【請求項161】 如請求項 152 至 160 中任一項所述的調配物，其中該緩衝劑可使聚集體形成的起始溫度提高至少 2℃。

【請求項162】 如請求項 152 至 161 中任一項所述的調配物，其中該緩衝劑可減少高分子量物質的形成。

【請求項163】 如請求項 152 至 162 中任一項所述的調配物，其中該緩衝劑可使高分子量物質的形成減少至少 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%。

【請求項164】 如請求項 152 至 163 中任一項所述的調配物，其中該一種或多種醫藥上可接受的添加劑包含穩定劑、胺基酸、鹽、金屬離子和界面活性劑。

【請求項165】 如請求項 152 至 164 中任一項所述的調配物，其中該穩定劑是糖、碳水化合物或多醣。

【請求項166】 如請求項 152 至 165 中任一項所述的調配物，其中該糖是選自於由蔗糖、海藻糖、甘露糖、麥芽糖、乳糖、葡萄糖、棉子糖、纖維雙糖、

龍膽二糖、異麥芽糖、阿拉伯糖、葡萄糖胺、果糖、甘露醇或山梨糖醇所組成的群組。

【請求項167】 如請求項 152 至 166 中任一項所述的調配物，其中該一種或多種醫藥上可接受的添加劑是甘露醇。

【請求項168】 如請求項 152 至 167 中任一項所述的調配物，其中該一種或多種醫藥上可接受的添加劑是蔗糖。

【請求項169】 如請求項 152 至 168 中任一項所述的調配物，其中該醫藥上可接受的添加劑是胺基酸。

【請求項170】 如請求項 152 至 169 中任一項所述的調配物，其中該胺基酸是選自於由甘胺酸、精胺酸、組胺酸、丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸和麩胺酸所組成的群組。

【請求項171】 如請求項 152 至 170 中任一項所述的調配物，其中該一種或多種醫藥上可接受的添加劑是精胺酸。

【請求項172】 如請求項 152 至 171 中任一項所述的調配物，其中該醫藥上可接受的添加劑是鹽。

【請求項173】 如請求項 152 至 172 中任一項所述的調配物，其中該鹽是選自於由氯化鈉 (NaCl)、氯化鈣 ($CaCl_2$)、氯化鋅 ($ZnCl_2$) 及/或氯化鎂 ($MgCl_2$) 所組成的群組。

【請求項174】 如請求項 152 至 173 中任一項所述的調配物，其中該一種或多種醫藥上可接受的添加劑是氯化鈣 ($CaCl_2$)。

【請求項175】 如請求項 152 至 174 中任一項所述的調配物，其中該醫藥上可接受的添加劑是界面活性劑。

【請求項176】 如請求項 152 至 175 中任一項所述的調配物，其中該界面活性劑是選自於由聚山梨醇酯、泊洛沙姆 (poloxamer)、聚乙二醇辛基苯基醚 (triton)、

十二烷基硫酸鈉、月桂基硫酸鈉、辛基糖苷鈉、月桂基磺基甜菜鹼、肉豆蔻基磺基甜菜鹼、亞油醯基磺基甜菜鹼、硬脂基磺基甜菜鹼、月桂基肌胺酸、肉豆蔻基肌胺酸、亞油醯肌胺酸、硬脂基肌胺酸、亞油醯甜菜鹼、肉豆蔻基甜菜鹼、鯨蠟基甜菜鹼、月桂醯桔基甜菜鹼、椰油醯胺對碘丙基甜菜鹼、亞油醯胺丙基甜菜鹼、肉豆蔻醯基甜菜鹼、棕櫚醯丙基甜菜鹼、異硬脂酸酯醯丙基甜菜鹼、肉豆蔻醯胺丙基二甲胺、棕櫚醯胺丙基二甲胺、硬脂醯胺丙基二甲胺、甲基椰油醯基牛磺酸鈉、甲基油醯基牛磺酸二鈉、二羥丙基 PEG 5 亞油基氯化銨、聚乙二醇、聚丙二醇、聚山梨醇酯 20、聚山梨醇酯 21、聚山梨醇酯 40、聚山梨醇酯 60、聚山梨醇酯 61、聚山梨醇酯 65、聚山梨醇酯 80、聚山梨醇酯 81、聚山梨醇酯 85、聚山梨醇酯 188、PEG 3350、以及其混合物所組成的群組。

【請求項177】 如請求項 152 至 176 中任一項所述的調配物，其中該界面活性劑是選自於由聚山梨醇酯 20 (PS20)、聚山梨醇酯 80 (PS80) 或聚山梨醇酯 188 (PS188) 所組成的群組。

【請求項178】 如請求項 152 至 177 中任一項所述的調配物，其中該界面活性劑是聚山梨醇酯 20 (PS20)。

【請求項179】 如請求項 152 至 178 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含緩衝劑、穩定劑、鹽、胺基酸和界面活性劑。

【請求項180】 如請求項 152 至 179 中任一項所述的調配物，其中該緩衝劑為檸檬酸鹽或琥珀酸鹽，該穩定劑為蔗糖或甘露醇，該鹽為氯化鈣 ($CaCl_2$)，該界面活性劑為 PS20。

【請求項181】 如請求項 152 至 180 中任一項所述的調配物，其中該調配物的 pH 值為 pH 6.2 至 pH 6.5。

【請求項182】 如請求項 152 至 181 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含 15 至 25 mM 的檸檬酸鹽。

【請求項183】 如請求項 152 至 182 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含 75 mM 至 95 mM 的蔗糖、甘露醇或其組合。

【請求項184】 如請求項 152 至 183 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含 100 mM 至 300 mM 的蔗糖。

【請求項185】 如請求項 152 至 184 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含 1 mM 至 3 mM 的氯化鈣。

【請求項186】 如請求項 152 至 185 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含 0.005%至 0.1% (w/v) 的 PS20。

【請求項187】 如請求項 152 至 186 中任一項所述的調配物，其中當復水在溶液中時，該一種或多種醫藥上可接受的添加劑是以濃度範圍為 5 mM 至 300 mM 存在。

【請求項188】 如請求項 152 至 187 中任一項所述的調配物，其中該一種或多種醫藥上可接受的添加劑可減少高分子量物質的形成。

【請求項189】 如請求項 152 至 188 中任一項所述的調配物，其中該一種或多種醫藥上可接受的添加劑可使高分子量物質的形成減少至少 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%。

【請求項190】 如請求項 152 至 189 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含 ENPP1 多肽輔因子。

【請求項191】 如請求項 152 至 190 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽輔因子包括鈣、鋅及/或單磷酸腺苷。

【請求項192】 如請求項 152 至 191 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽輔因子為 $CaCl_2$、$CaSO_4$、$ZnCl_2$、$ZnSO_4$ 及/或單磷酸腺苷。

【請求項193】 如請求項 152 至 192 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽輔因子為 $CaCl_2$ 及/或單磷酸腺苷。

【請求項194】 如請求項 152 至 193 中任一項所述的調配物，其中當復水在溶液中時，該 ENPP1 多肽輔因子是以 1 mM 至 10 mM 的濃度存在。

【請求項195】 如請求項 152 至 194 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽輔因子可使高分子量物質的形成減少至少 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%。

【請求項196】 如請求項 152 至 195 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含界面活性劑。

【請求項197】 如請求項 152 至 196 中任一項所述的調配物，其中該界面活性劑包括 PS20、PS80 或 PS188。

【請求項198】 如請求項 152 至 197 中任一項所述的調配物，其中該界面活性劑包括 PS20。

【請求項199】 如請求項 152 至 198 中任一項所述的調配物，其中當復水在溶液中時，該界面活性劑是以 0.02%至 0.10% (w/v) 的濃度存在。

【請求項200】 如請求項 152 至 199 中任一項所述的調配物，其中該界面活性劑可增加對物理應力的抗性。

【請求項201】 如請求項 152 至 200 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含大小均勻的顆粒。

【請求項202】 如請求項 152 至 201 中任一項所述的調配物，其中該調配物包含在較大尺寸顆粒中的二倍、三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或十倍減少，如經由微流成像分析所確定者。

【請求項203】 如請求項 152 至 202 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包括與含有 SEQ ID NO：13、SEQ ID NO：14 或 SEQ ID NO：15 之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同的胺基酸序列。

【請求項204】 如請求項 152 至 203 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包括與含有 SEQ ID NO：2 之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同的胺基酸序列。

【請求項205】 如請求項 152 至 204 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽是融合蛋白，該融合蛋白包含可溶性 ENPP1 多肽結構域以及一個或多個異源蛋白質部分。

【請求項206】 如請求項 152 至 205 中任一項所述的調配物，其中該異源蛋白質部分提高可溶性 ENPP1 多肽在哺乳動物中的循環半衰期。

【請求項207】 如請求項 152 至 206 中任一項所述的調配物，其中該異源蛋白質部分包含 Fc 結構域。

【請求項208】 如請求項 152 至 207 中任一項所述的調配物，其中該 Fc 結構域包括與 SEQ ID NO：12 之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更加相同的胺基酸序列。

【請求項209】 如請求項 152 至 208 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽是 ENPP1-Fc 融合蛋白。

【請求項210】 如請求項 152 至 209 中任一項所述的調配物，其中該異源部分是選自於由醣基化胺基酸、聚乙二醇化胺基酸、法尼基化胺基酸（farnesylated amino acid）、乙醯化胺基酸、生物素化胺基酸和脂質部分所組成的群組。

【請求項211】 如請求項 152 至 210 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包括與含有 SEQ ID NO：13 之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同的胺基酸序列。

【請求項212】 如請求項 152 至 211 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包括與含有 SEQ ID NO：14 之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同的胺基酸序列。

【請求項213】 如請求項 152 至 212 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包括與含有 SEQ ID NO：15 之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%相同的胺基酸序列。

【請求項214】 如請求項 152 至 213 中任一項所述的調配物，其中該調配物包括 ENPP1 多肽、緩衝劑、醫藥上可接受的鹽、穩定劑、界面活性劑以及一種或多種醫藥上可接受的添加劑。

【請求項215】 如請求項 152 至 214 中任一項所述的調配物，其中該緩衝劑是檸檬酸鹽緩衝劑。

【請求項216】 如請求項 152 至 215 中任一項所述的調配物，其中該檸檬酸鹽緩衝劑為檸檬酸三鈉鹽二水合物。

【請求項217】 如請求項 152 至 216 中任一項所述的調配物，其中該醫藥上可接受的鹽為氯化鈣。

【請求項218】 如請求項 152 至 217 中任一項所述的調配物，其中該穩定劑為糖。

【請求項219】 如請求項 152 至 218 中任一項所述的調配物，其中該穩定劑為蔗糖。

【請求項220】 如請求項 152 至 219 中任一項所述的調配物，其中該一種或多種醫藥上可接受的添加劑包含甘露醇。

【請求項221】 如請求項 152 至 220 中任一項所述的調配物，其中該調配物包括 ENPP1 多肽、檸檬酸鹽緩衝劑、氯化鈣、蔗糖以及聚山梨醇酯。

【請求項222】 如請求項 152 至 221 中任一項所述的調配物，其中該調配物包括 ENPP1 多肽、檸檬酸三鈉鹽二水合物、氯化鈣二水合物、蔗糖以及聚山梨醇酯 20。

【請求項223】 如請求項 152 至 222 中任一項所述的調配物，其中該調配物包括 ENPP1 多肽、檸檬酸鹽緩衝劑、氯化鈣、蔗糖、甘露醇以及聚山梨醇酯。

【請求項224】 如請求項 152 至 223 中任一項所述的調配物，其中該調配物包括 ENPP1 多肽、檸檬酸三鈉鹽二水合物、氯化鈣二水合物、蔗糖、D(-)甘露醇以及聚山梨醇酯 20。

【請求項225】 如請求項 152 至 224 中任一項所述的調配物，其中該調配物包括在每 0.5 毫升之最終復水體積中約 25 毫克 ENPP1 多肽、約 2.94 毫克檸檬酸三鈉鹽二水合物、約 0.15 毫克氯化鈣二水合物、約 30 毫克蔗糖、約 7.5 毫克 D (-) 甘露醇以及約 0.25 毫克聚山梨醇酯。

【請求項226】 如請求項 152 至 225 中任一項所述的調配物，其中該調配物的保存期限為至少 1、2、3、4、5、6、12、18、24、48 或 60 小時。

【請求項227】 如請求項 152 至 226 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包含連接該 ENPP1 多肽部分與該 Fc 結構域的連接子胺基酸序列。

【請求項228】 如請求項 152 至 227 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽包含連接該 ENPP1 多肽部分與該 Fc 結構域的連接子胺基酸序列。

【請求項229】 如請求項 152 至 228 中任一項所述的調配物，其中該連接子胺基酸序列包括胺基酸序列 LIN 或由胺基酸序列 LIN 所組成。

【請求項230】 如請求項 152 至 229 中任一項所述的調配物，其中該 ENPP1 多肽由 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11 所組成或包含 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 或 SEQ ID NO：11。

【請求項231】 如請求項 152 至 230 中任一項所述的調配物，其中該調配物是無菌可注射溶液。

【請求項232】 如請求項 152 至 231 中任一項所述的調配物，其中該復水溶液包含醫藥上可接受的載劑及/或添加劑。

【請求項233】 如請求項 152 至 232 中任一項所述的調配物，其中該醫藥上可接受的載劑是選自於生理食鹽溶液、純水或注射用無菌水。

【請求項234】 如請求項 152 至 233 中任一項所述的調配物，其中該調配物是在小於 100 秒、80 秒、70 秒、68 秒、65 秒或 60 秒的時間內完全復水。

【請求項235】 如請求項 152 至 234 中任一項所述的調配物，其中該調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 2 mM 的氯化鈣、約 175 mM 的蔗糖、約 82 mM 的甘露醇以及約 0.05% w/v 的聚山梨醇酯。

【請求項236】 如請求項 152 至 235 中任一項所述的調配物，其中該經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 2 mM 的氯化鈣、約 175 mM 的蔗糖、約 82 mM 的 (D) 甘露醇以及約 0.05% w/v 的聚山梨醇酯 20。

【請求項237】 如請求項 152 至 236 中任一項所述的調配物，其中該經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 88 mM 的蔗糖、約 82 mM 的甘露醇、約 2 mM 的氯化鈣以及約 0.05%的聚山梨醇酯 20。

【請求項238】 如請求項 152 至 237 中任一項所述的調配物，其中該經復水的調配物包括：至少或約 50 mg/mL 的 ENPP1 多肽、約 20 mM pH 6.3 的檸檬酸鹽、約 263 mM 的蔗糖、約 2 mM 的氯化鈣以及約 0.05%的聚山梨醇酯 20。

【請求項239】 如請求項 152 至 238 中任一項所述的調配物，其中該經復水調配物的保存期限為至少 1、2、3、4、5、6、12、18、24、48 或 60 小時。

【請求項240】 一種小瓶，包括如請求項 1 至 116 中任一項所述的凍乾調配物。

【請求項241】 一種小瓶，包括如請求項 155 至 239 中任一項所述的經復水調配物。

【請求項242】 一種小瓶，包括如請求項 1 至 116 中任一項所述的凍乾調配物。

【請求項243】 一種注射器，包括如請求項 115 至 239 中任一項所述的經復水調配物。

【請求項244】 如請求項 152 至 239 中任一項所述的調配物，用於治療病理性鈣化或骨化疾病。

【請求項245】 如請求項 152 至 239 中任一項所述的調配物，用於預防在有需要的個體中之血管鈣化惡化或減少血管鈣化。

【請求項246】 如請求項 152 至 239 中任一項所述的調配物，用於預防在患有 ENPP1 缺乏症的個體中之病理性鈣化惡化或減少病理性鈣化。

【請求項247】 如請求項 152 至 239 中任一項所述的調配物，用於預防在有需要的個體中之組織鈣化惡化或減少組織鈣化。

【請求項248】 如請求項 152 至 239 中任一項所述的調配物，用於提高在有需要的個體中之循環焦磷酸 (PPi)。

【請求項249】 如請求項 152 至 239 中任一項所述的調配物，用於提高在有需要的個體中之焦磷酸酶活性。

【請求項250】 如請求項 249 所述的調配物，其中該個體患有或有風險罹患病理性軟組織鈣化、動脈鈣化、血管鈣化、慢性腎臟病 (CKD)、末期腎病 (ESRD)、鈣化尿毒症性小動脈病變 (CUA)、鈣過敏、後縱韌帶骨化症 (OPLL) 或低磷酸鹽佝僂症。

【請求項251】 如請求項 152 至 239 中任一項所述的調配物，用於緩解 ENPP1 缺乏症的一種或多種症狀。

【請求項252】如請求項 152 至 239 中任一項所述的調配物，用於治療患有 ENPP1 缺乏症的個體。

【請求項253】如請求項 152 至 239 中任一項所述的調配物，用於緩解 ABCC6 缺乏症的一種或多種症狀。

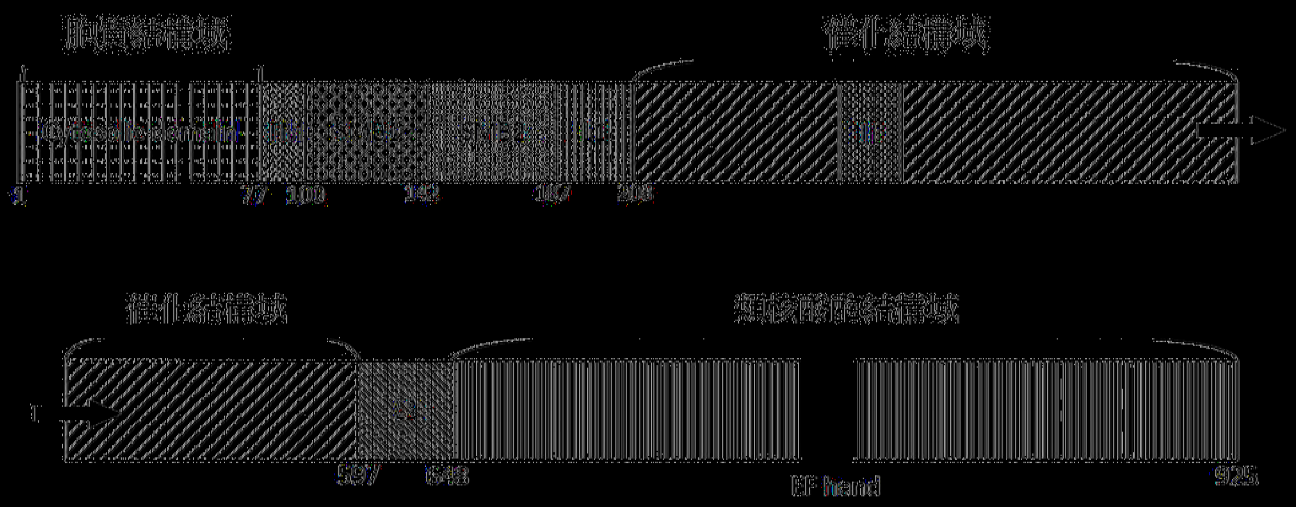
【請求項254】如請求項 152 至 239 中任一項所述的調配物，用於緩解 PXE 的一種或多種症狀。

(發明圖式)

```
   1 MERDGCAGGG SRGGEGGRAP REGPAGNGRD RGRSHAAEAP GDPQAAASLL
  51 APMDVGEEPL EKAARARTAK DPNTYYKVLS VLSVCVLHTT LGCLPGLKPS
 101 CAKEVKSCKG RCFERTFGNC RCDAACVELG NCCLDYQETC LEPEHLWTCN
 151 KFRCGEKRLT RSLCACSDDC KDKGDCCINY SSVCQGEKSW VEEPCESINK
 201 PQCPAGFETP PTLLFSLDGF RAEYLHTWGG LLPVLSKLKK CGTYTKNMRP
 251 VYPTKTFPNH YSIVTGLYPE SHGIIDNKMY DPKMNASFSL KSKEKFNPEW
 301 YKGEPIWVTA KYQGLKSGTF FWPGSDVEIN GLFPDIYKMY NGSVPFEERI
 351 LAVLQWLQLP KDERPHFYTL YLEEPDSSGH SYGPVSSEVI KALQRVDGMV
 401 GMLMDGLKEL NLHRCLNLLL LSDHGMEQGS CKKYLYLNKY LGDVKNIKVI
 451 YGPAARLRPS DVPDKYYSFN YEGLARNLSC REPNQHFKPY LKHFLPKRLH
 501 FAKSDRIEPL TFYLDPQWQL ALNPSERKYC GSGFHGSDNV FSNMQALFVG
 551 YGPGFKHGIE ADTFENIEVY NLMCDLLNLT PAPNNGTHGS LNHLLKNPVY
 601 TPKHPKEVHP LVQCPFTRNP RDNLGCSCNP SLLPIEDFQT QFNLTVAEEK
 651 LLKHETLPYG RPRVLQKENT TCLLSQHQFM SGYSQDLLMP LWTSYTVDRN
 701 DSFSTEDFSN CLYQDFRLPL SPVHKCSFYK NNTKVSYGFL SPPQLNKNSS
 751 GLYSFALLFT NLVPMYQSFQ VTWRYFHDTL LRKYAEERNG VNVVSGPVFD
 801 FDYDGRCDSL ENLRQKRRVL RNQKLLIPTL FFLVLFSCKD TSQTPLHCKN
 851 LDTLAFILPH RTDNSFSCVH GKHDSSWVEE LLMLHRARLT DVEHLTGLSF
 901 YQQRKEPVSD LLKLKTHLPL FSQED (SEQ ID NO: 1)
```

(圖 1)

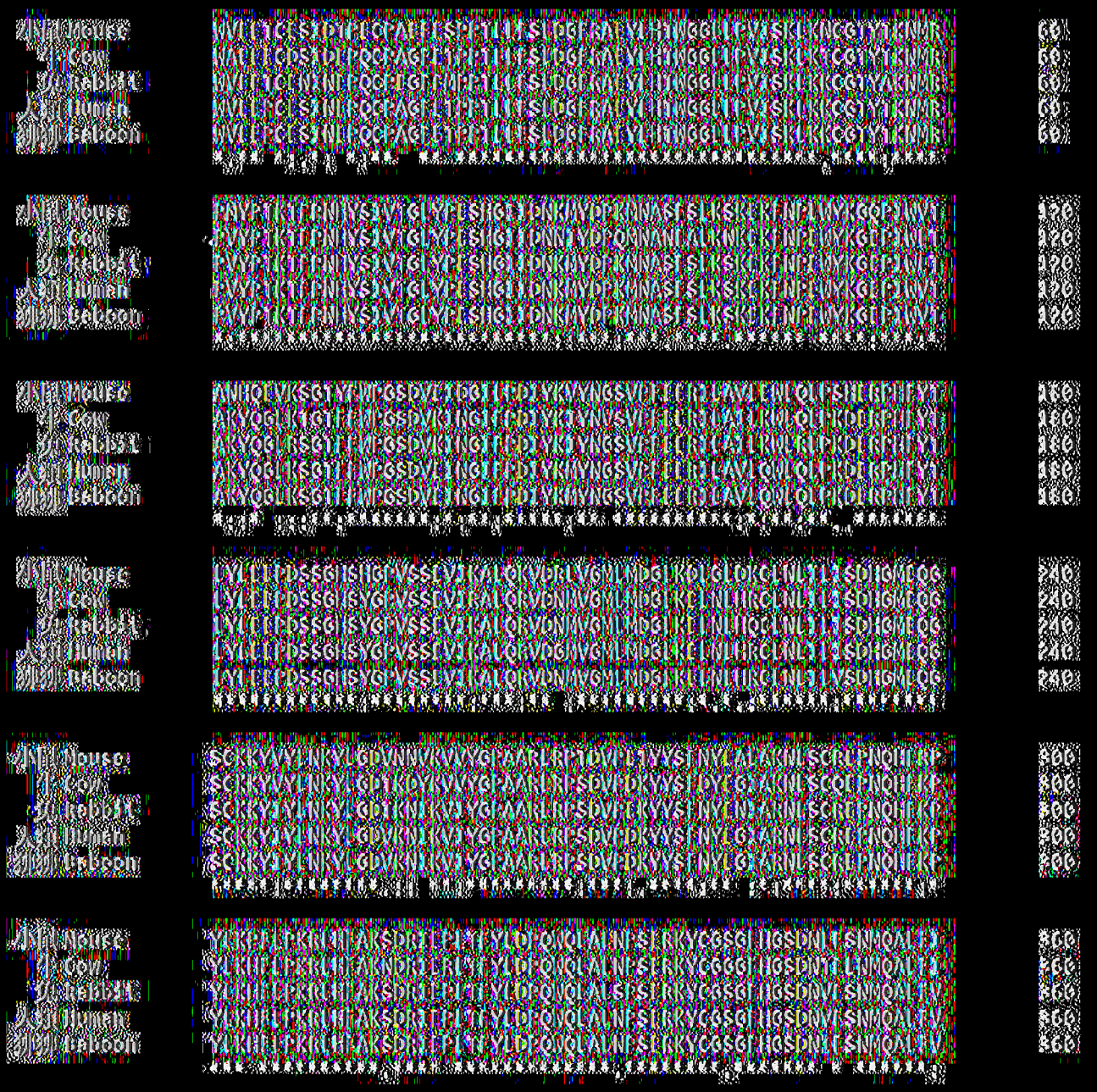
人類IL1RN


間隔領域
傳作結構域
傳作結構域
類後面領域結構域
1
77
109
143
167
206
567
642
EF hand
925

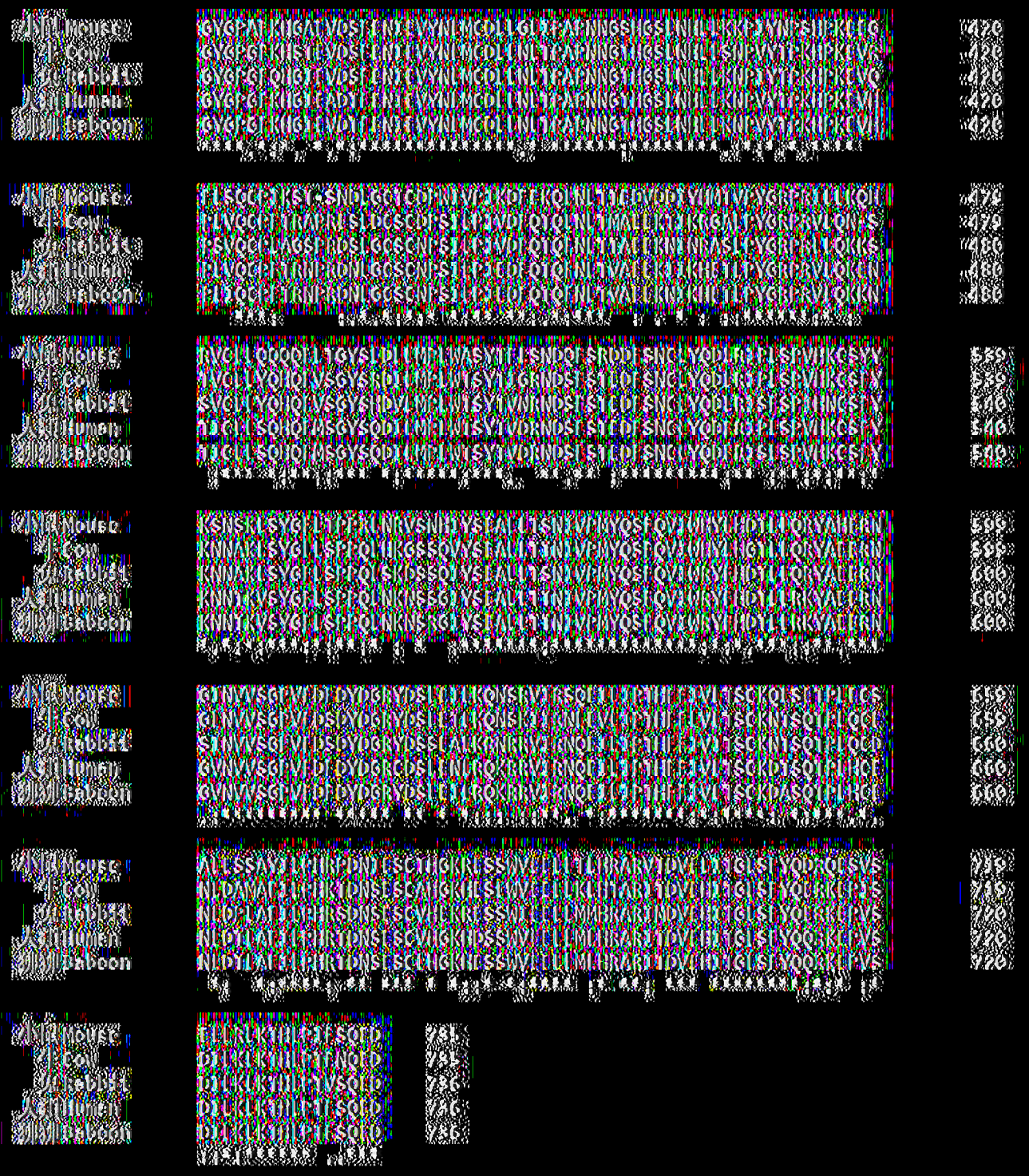
(圖 2)

1	PSCAKEVKSC	KGRCFERTFG	NCRCDAACVE	LGNCCLDYQE	TCIEPEHIWT
51	CNKFRCGEKR	LTRSLCACSD	DCKDKGDCCI	NYSSVCQGEK	SWVEEPCESI
101	NEPQCPAGEF	TPPTLLFSLD	GFRAEYLHTW	GGLLPVISKL	KKCGTYTKNM
151	RPVYPTKTFP	NHYSIVTGLY	PESHGIIDNK	MYDPKMNASF	SLKSKEKFNP
201	EWYKGEPIWV	TAKYQGLKSG	TFFWPGSDVE	INGLFPDLYK	MYNGSVPFEE
251	RILAVLQWLQ	LPKDERPHFY	TLYLEEPDSS	GHSYGPVSSE	VIKALQRVDG
301	MVGMLMDGLK	ELNLHRCLNL	LLISDHGMEQ	GSCKKYIYLN	KYLGDVKNLK
351	VIYGPAARLR	PSDVPDKYYS	FNYEGLARNL	SCREPNQHFK	PYLKHFLPKR
401	LHFAKSDRIE	PLTFYLDPQW	QLALNPSFRK	YCGSGFHGSD	NVFSNMQALF
451	VGYGPGFKHG	IEADTFENIE	VYNLMCDLLN	LEPAPNNGTH	GSLNHLLKNP
501	VYTPKHPKEV	HPLVQCPFTR	NPRDNLGCSC	NPSILPIEDF	QTQFNLTVAE
551	EKLTKHFTLP	YGRPRVLQKE	NTICLLSQHQ	FMSGYSQDLL	MPLWTSYTVD
601	RNDSFSTEDF	SNCLYQDFRI	PLSPVHKCSF	YKNNTKVSYG	FLSPPQLNKN
651	SSGLYSEALL	TTNIVPMYQS	FQVIWRYFHD	TLLRKYAFER	NGVNVVSGPV
701	FDFDYDGRCD	SLENLRQKRR	VERNQELLLP	THFFIVLFSC	KDTSQTPLIC
751	FNLDTLAFLL	PHRTDNSFSC	VHGKHDSSWV	FELLMLHRAR	LTDVEHLTGL
801	SFYQQRKFPV	SDLLKLKTHL	PTFSQFD (SEQ ID NO: 2)		

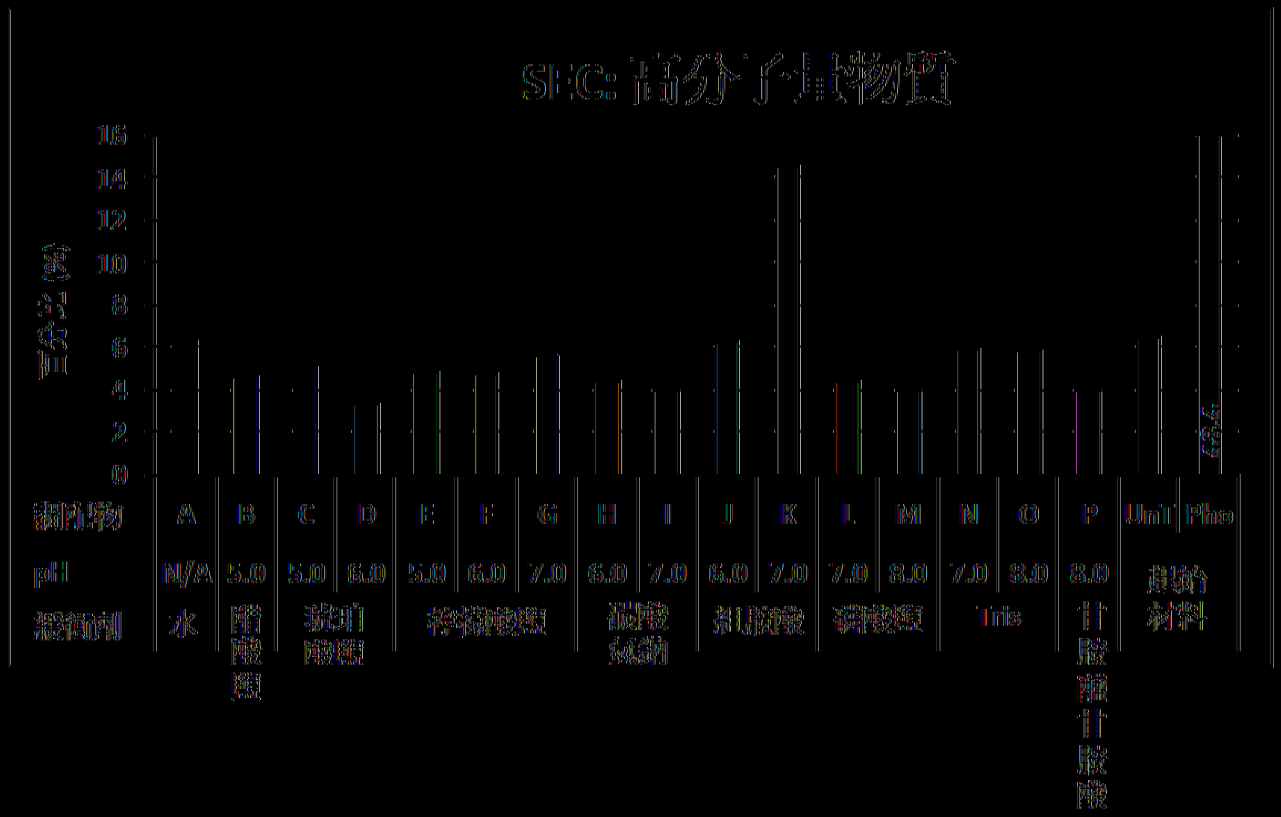
(圖 3)

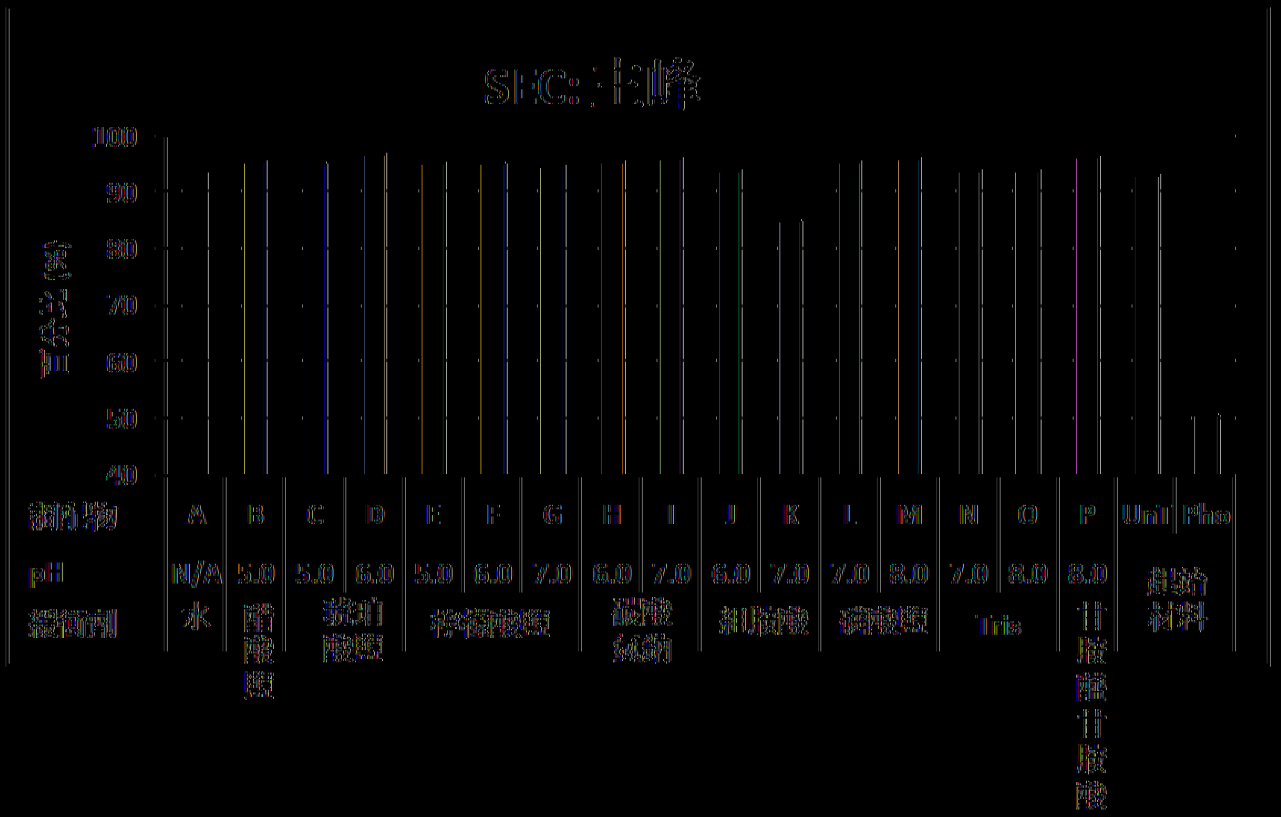


(圖 4A)

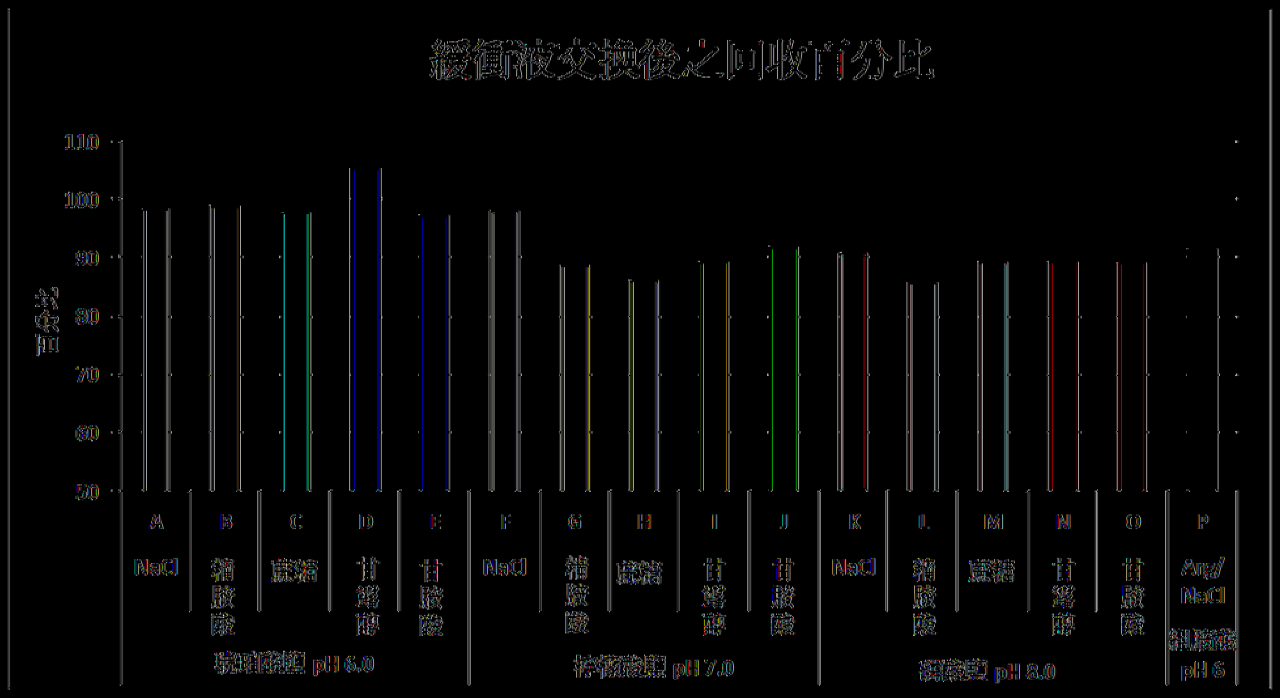


(圖 4B)


SEC:高分子量物質
16
14
12
10
8
6
4
2
0
緩衝物
A
B
C
D
E
F
G
H
I
J
K
L
M
N
O
P
Unit
Pho
pH
N/A
5.0
5.0
6.0
5.0
6.0
7.0
6.0
7.0
6.0
7.0
7.0
8.0
7.0
8.0
8.0
緩衝劑
水
醋酸鹽
琥珀酸鹽
檸檬酸鹽
磷酸鹽
組胺酸
磷酸鹽
Tris
甘胺酸
對照材料


SEC:主峰
100
90
80
70
60
50
40
緩衝物
A
B
C
D
E
F
G
H
I
J
K
L
M
N
O
P
Unit
Pho
pH
N/A
5.0
5.0
6.0
5.0
6.0
7.0
6.0
7.0
6.0
7.0
7.0
8.0
7.0
8.0
8.0
緩衝劑
水
醋酸鹽
琥珀酸鹽
檸檬酸鹽
磷酸鹽
組胺酸
磷酸鹽
Tris
甘胺酸
對照材料

(圖 5)


緩衝液交換後之回收百分比
回收率 (%)
110
100
90
80
70
60
50
A NaCl
B 檸檬酸
C 蔗糖
D 甘露醇
E 甘胺酸
F NaCl
G 檸檬酸
H 蔗糖
I 甘露醇
J 甘胺酸
K NaCl
L 檸檬酸
M 蔗糖
N 甘露醇
O 甘胺酸
P Arg/NaCl
緩衝液 pH 6.0
檸檬酸鹽 pH 7.0
磷酸鹽 pH 8.0
組胺酸 pH 6

(圖 6)

圖 7-1


SEC: 高分子量物質
SEC: 単量体
SEC: 低分子量物質
%
5°C
40°C
A
B
C
D
E
F
G
H
I
J
K
L
M
250 mM 塩化物
150 mM NaCl
100 mM Arg/
50 mM NaCl
pH 6.0
pH 5.0
pH 8.0
pH 7.0
20 mM 酢酸緩衝液
20 mM ヒスチジン緩衝液
20 mM リン酸緩衝液
20 mM 緩衝液なし
ND

(図 8)

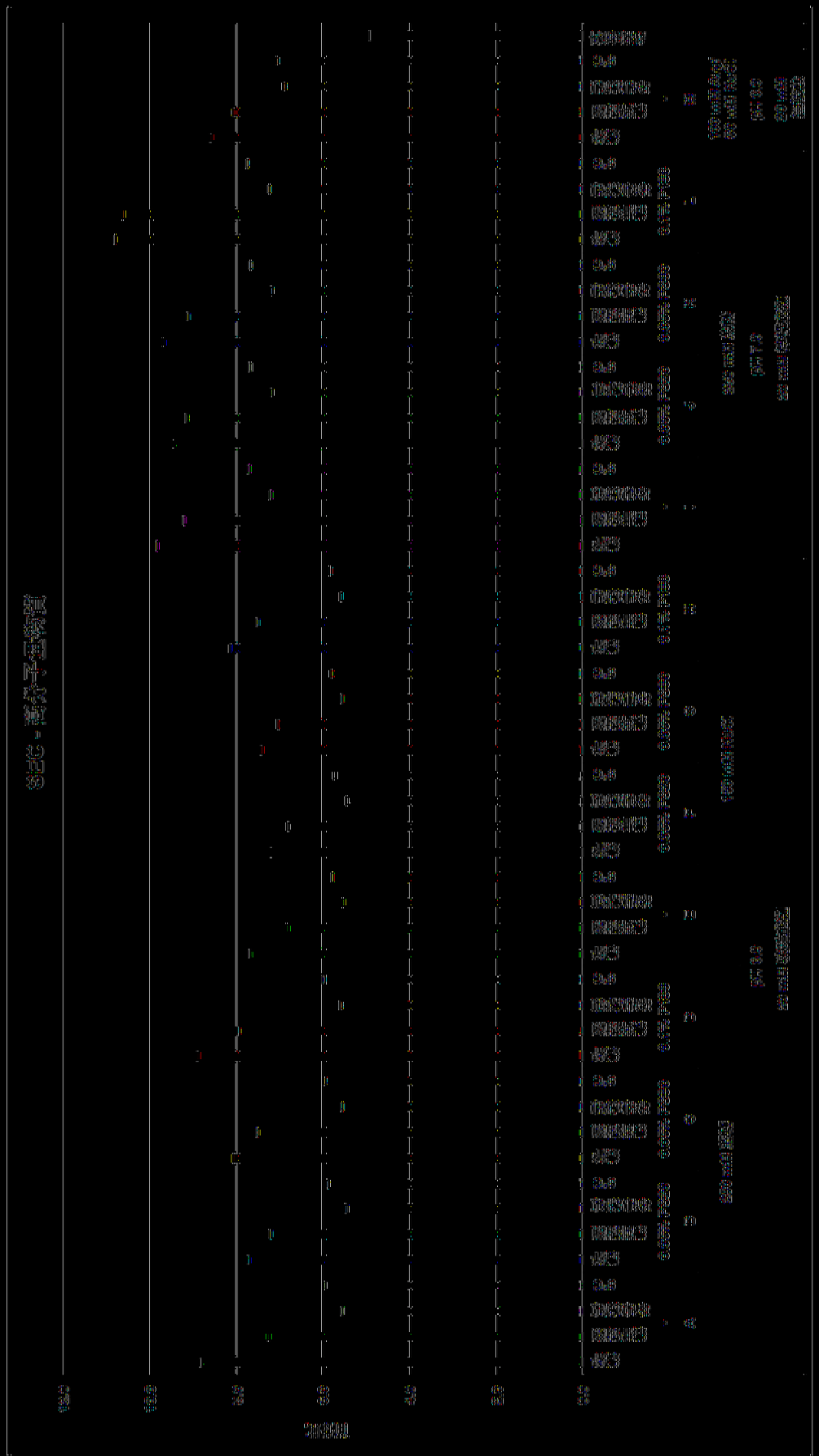
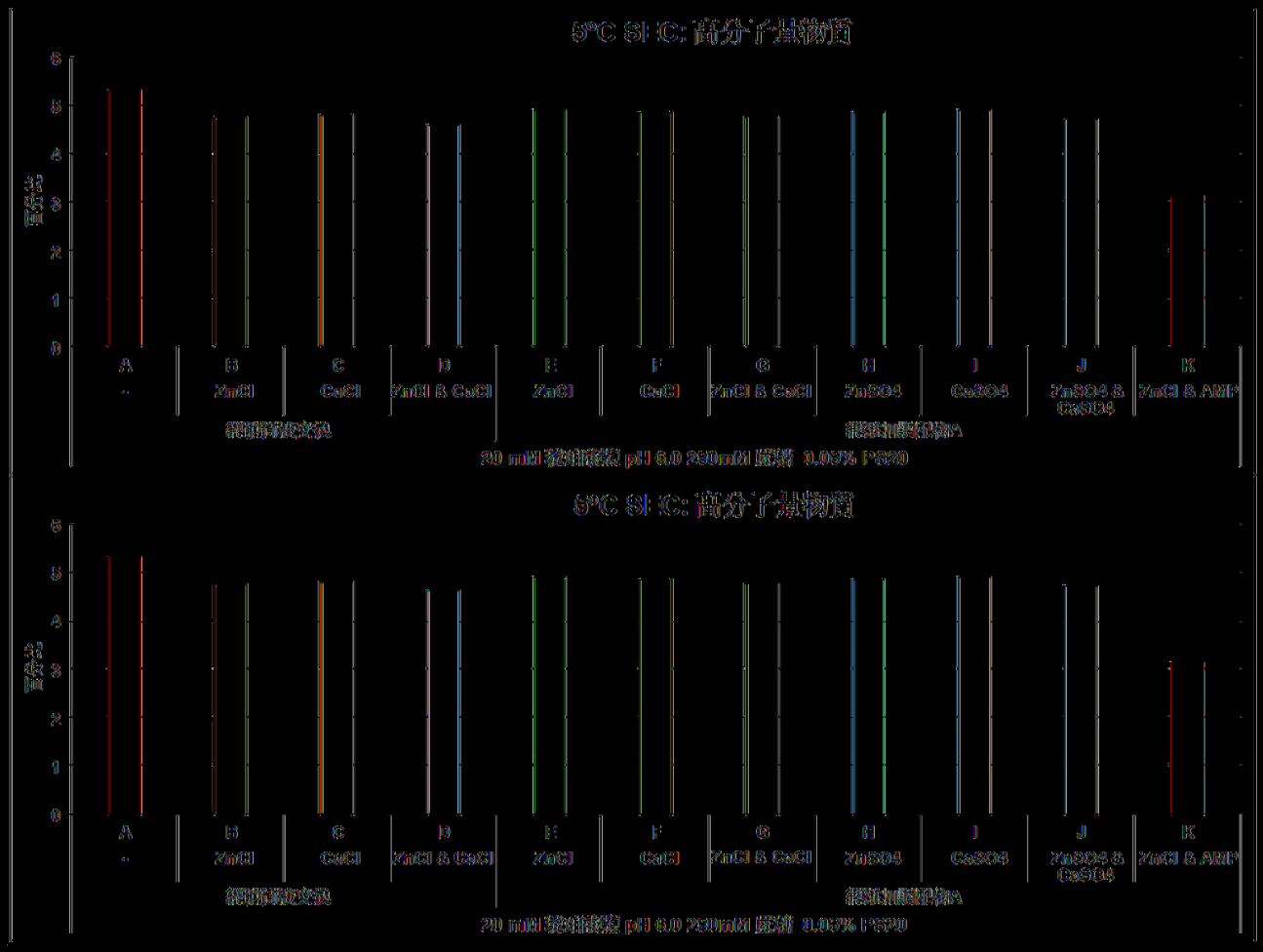
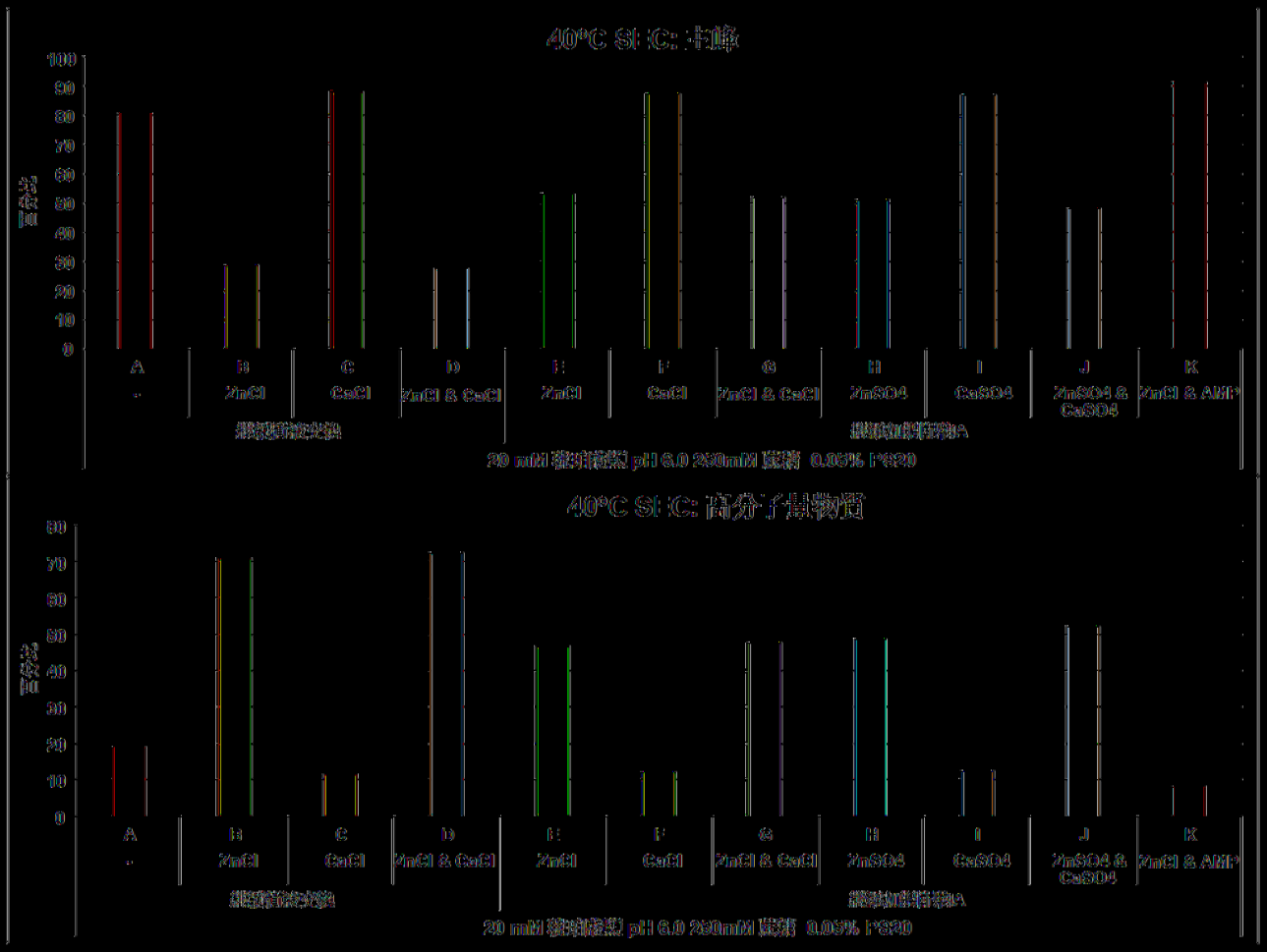


圖 9A

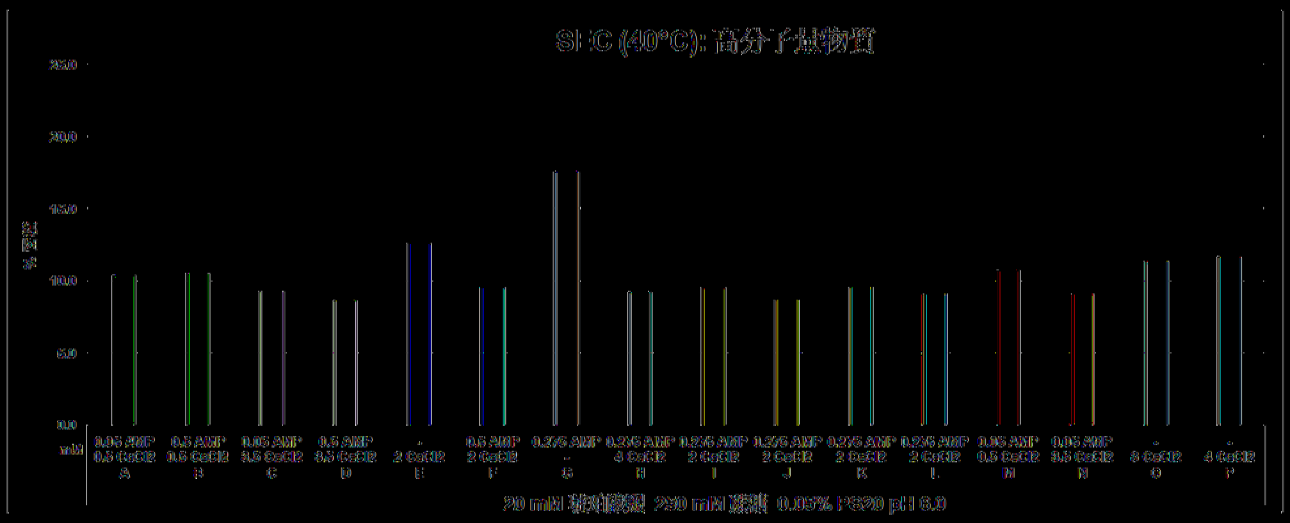
圖 1

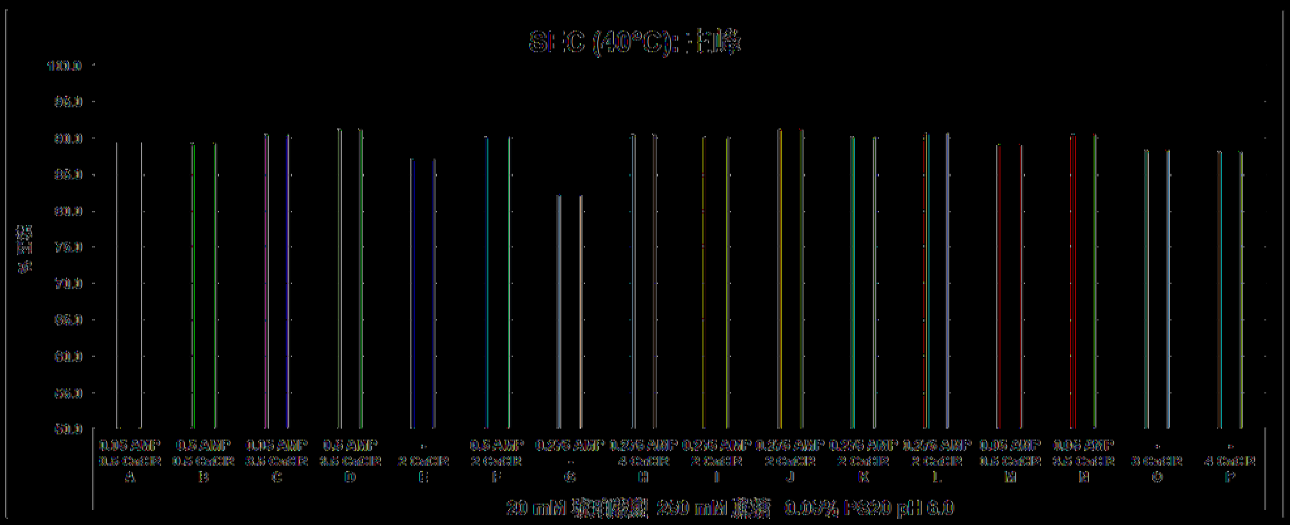

5°C SHC: 高分子基物質
5°C SHC: 高分子基物質
A
-
B
ZnCl
C
CaCl
D
ZnCl & CaCl
E
ZnCl
F
CaCl
G
ZnCl & CaCl
H
ZnSO4
I
CaSO4
J
ZnSO4 & CaSO4
K
ZnCl & AMP
細胞凝集誘導
細胞凝集誘導A
20 mM 緩衝溶液 pH 6.0 250mM 蔗糖 0.05% PS20

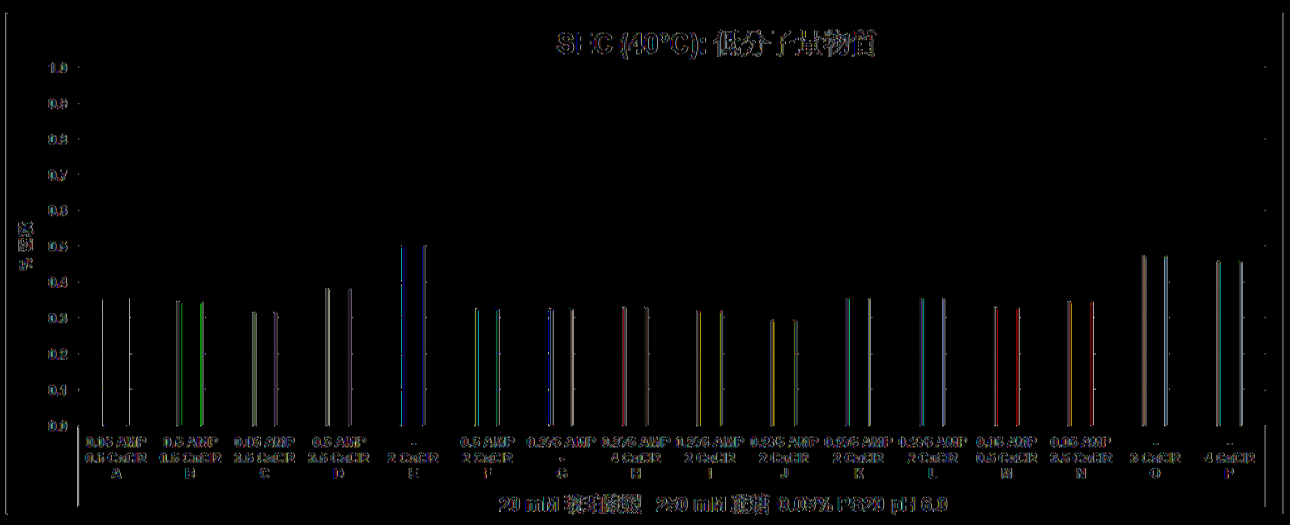
（圖 10）


40°C 8 h C: 主峰
殘留率 [%]
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
A
-
B
ZnCl
C
CaCl
D
ZnCl & CaCl
E
ZnCl
F
CaCl
G
ZnCl & CaCl
H
ZnSO4
I
CaSO4
J
ZnSO4 & CaSO4
K
ZnCl & AMP
緩衝液調整劑
緩衝液調整劑A
20 mM 醋酸緩衝液 pH 6.0 250mM 蔗糖 0.05% PS20
40°C 8 h C: 高分子量物質
殘留率 [%]
80
70
60
50
40
30
20
10
0
A
-
B
ZnCl
C
CaCl
D
ZnCl & CaCl
E
ZnCl
F
CaCl
G
ZnCl & CaCl
H
ZnSO4
I
CaSO4
J
ZnSO4 & CaSO4
K
ZnCl & AMP
緩衝液調整劑
緩衝液調整劑A
20 mM 醋酸緩衝液 pH 6.0 250mM 蔗糖 0.05% PS20

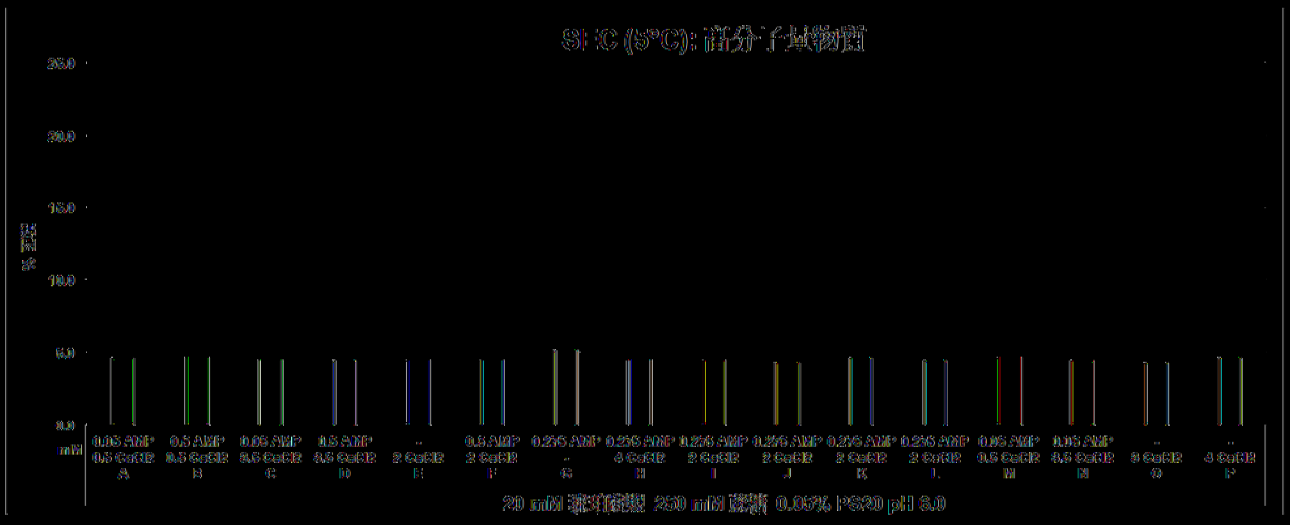
（圖 11）

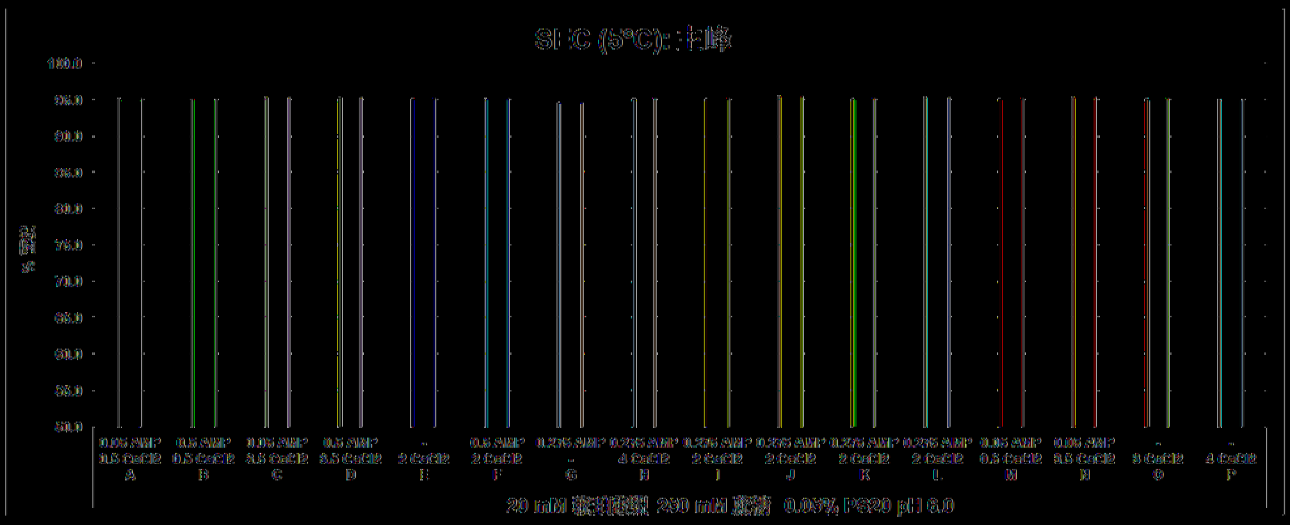

SEC (40°C): 高分子量物質
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
0.05 AMP 0.5 CaCl2 A
0.5 AMP 0.5 CaCl2 B
0.05 AMP 3.5 CaCl2 C
0.5 AMP 3.5 CaCl2 D
2 CaCl2 E
0.5 AMP 2 CaCl2 F
0.275 AMP 2 CaCl2 G
0.275 AMP 4 CaCl2 H
0.275 AMP 2 CaCl2 I
1.275 AMP 2 CaCl2 J
0.275 AMP 2 CaCl2 K
0.275 AMP 2 CaCl2 L
0.05 AMP 0.5 CaCl2 M
0.05 AMP 3.5 CaCl2 N
4 CaCl2 O
4 CaCl2 P
20 mM 琥珀酸鹽 250 mM 蔗糖 0.05% PS20 pH 6.0

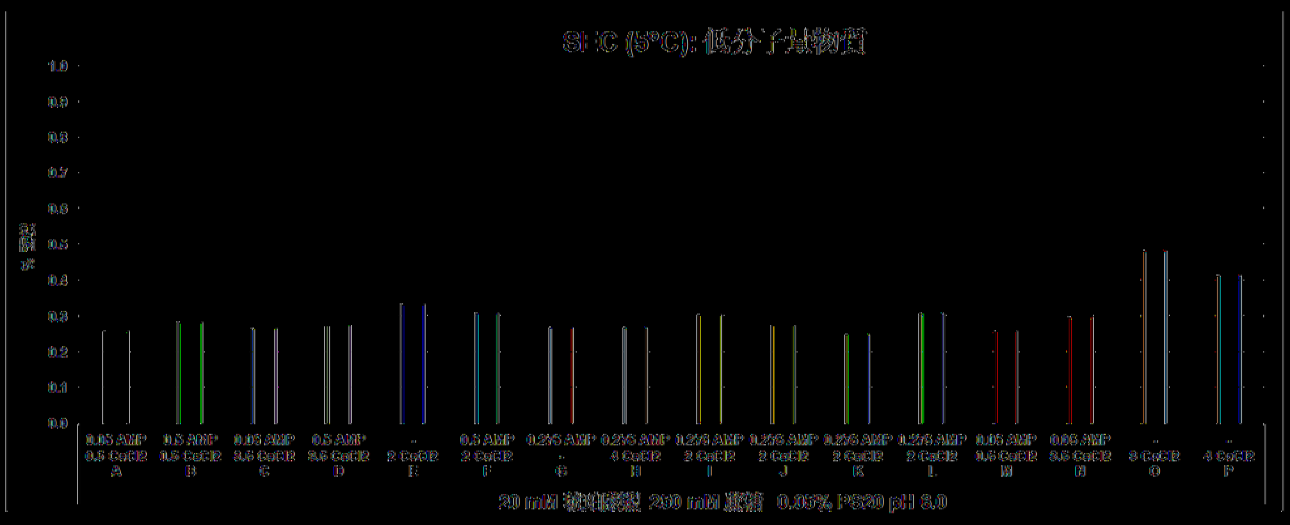

SEC (40°C): 主峰
100.0
95.0
90.0
85.0
80.0
75.0
70.0
65.0
60.0
55.0
0.05 AMP 0.5 CaCl2 A
0.5 AMP 0.5 CaCl2 B
0.05 AMP 3.5 CaCl2 C
0.5 AMP 3.5 CaCl2 D
2 CaCl2 E
0.5 AMP 2 CaCl2 F
0.275 AMP 2 CaCl2 G
0.275 AMP 4 CaCl2 H
0.275 AMP 2 CaCl2 I
1.275 AMP 2 CaCl2 J
0.275 AMP 2 CaCl2 K
0.275 AMP 2 CaCl2 L
0.05 AMP 0.5 CaCl2 M
0.05 AMP 3.5 CaCl2 N
4 CaCl2 O
4 CaCl2 P
20 mM 琥珀酸鹽 250 mM 蔗糖 0.05% PS20 pH 6.0


SEC (40°C): 低分子量物質
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
0.05 AMP 0.5 CaCl2 A
0.5 AMP 0.5 CaCl2 B
0.05 AMP 3.5 CaCl2 C
0.5 AMP 3.5 CaCl2 D
2 CaCl2 E
0.5 AMP 2 CaCl2 F
0.275 AMP 2 CaCl2 G
0.275 AMP 4 CaCl2 H
0.275 AMP 2 CaCl2 I
0.275 AMP 2 CaCl2 J
0.275 AMP 2 CaCl2 K
0.275 AMP 2 CaCl2 L
0.05 AMP 0.5 CaCl2 M
0.05 AMP 3.5 CaCl2 N
4 CaCl2 O
4 CaCl2 P
20 mM 琥珀酸鹽 250 mM 蔗糖 0.05% PS20 pH 6.0

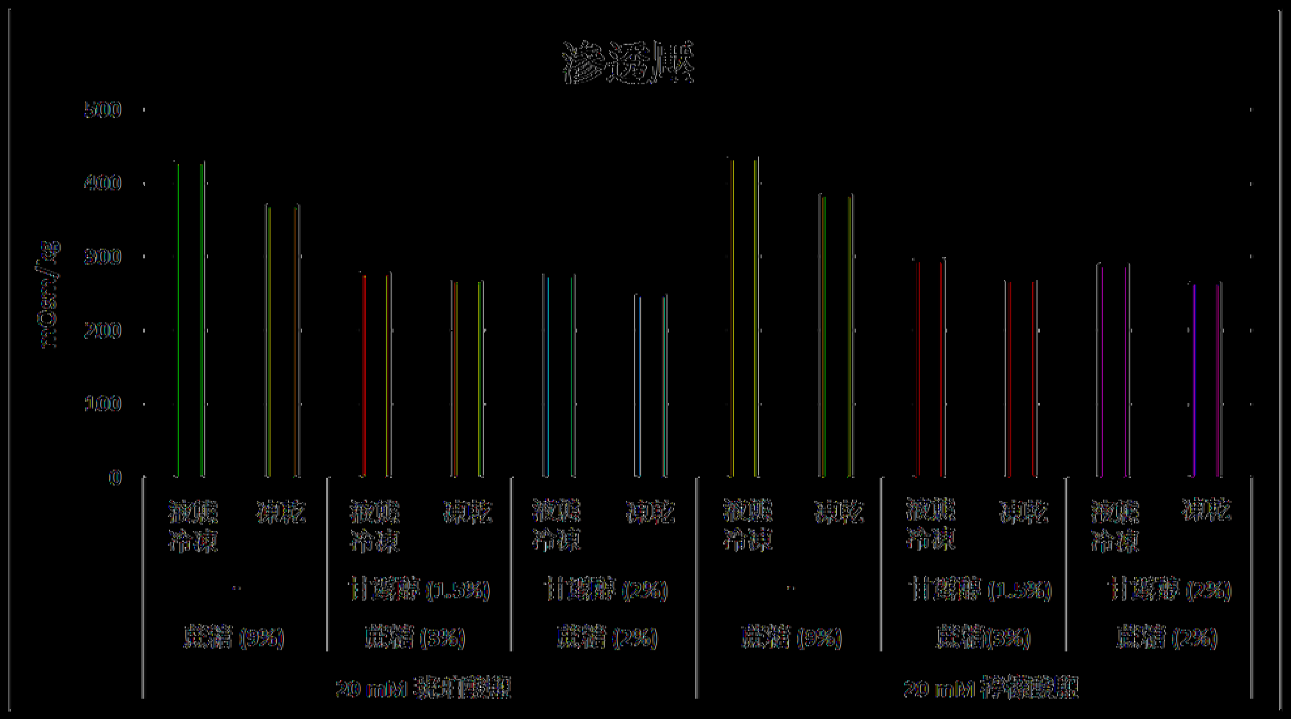
（圖 12A）


SEC (5°C): 高分子量物質
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
mAU
0.05 AMP+ 0.5 CaCl2 A
0.5 AMP+ 0.5 CaCl2 B
0.05 AMP+ 0.5 CaCl2 C
0.5 AMP+ 0.5 CaCl2 D
.. 2 CaCl2 E
0.5 AMP+ 2 CaCl2 F
0.25 AMP+ .. G
0.25 AMP+ 4 CaCl2 H
0.125 AMP+ 2 CaCl2 I
0.125 AMP+ 2 CaCl2 J
0.125 AMP+ 2 CaCl2 K
0.125 AMP+ 2 CaCl2 L
0.05 AMP+ 0.5 CaCl2 M
0.05 AMP+ 0.5 CaCl2 N
.. 0 CaCl2 O
.. 4 CaCl2 P
20 mM 琥珀酸鹽 250 mM 蔗糖 0.05% P80 pH 6.0

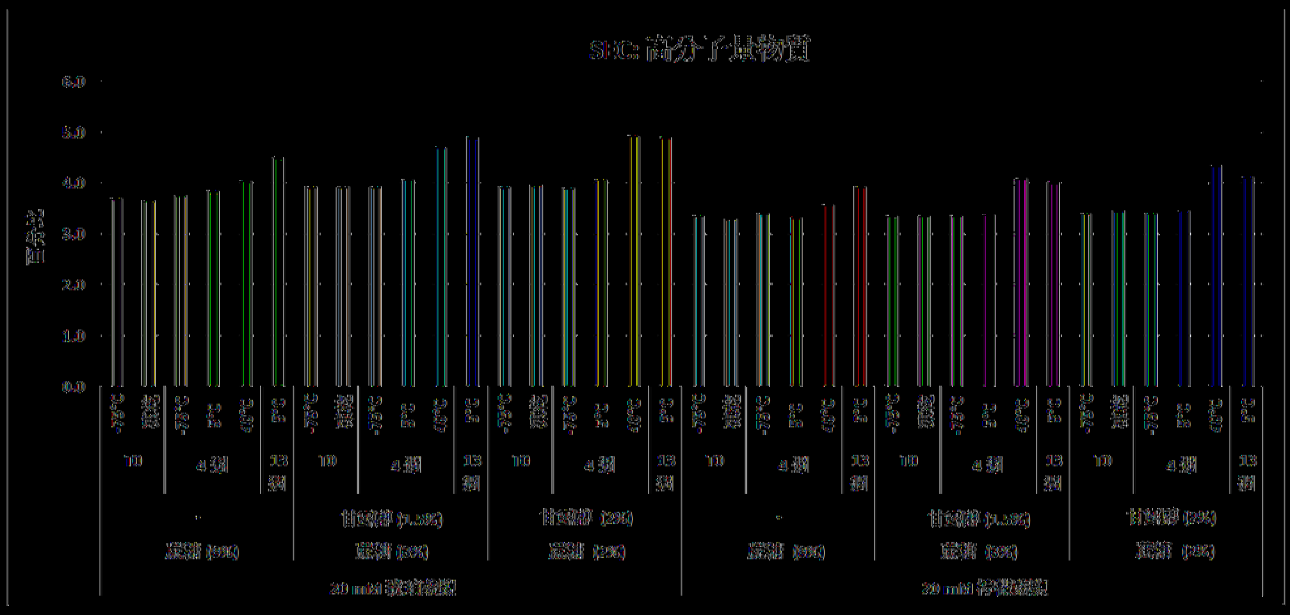

SEC (5°C): 主峰
100.0
95.0
90.0
85.0
80.0
75.0
70.0
65.0
60.0
55.0
50.0
%
0.05 AMP+ 0.5 CaCl2 A
0.5 AMP+ 0.5 CaCl2 B
0.05 AMP+ 0.5 CaCl2 C
0.5 AMP+ 0.5 CaCl2 D
.. 2 CaCl2 E
0.5 AMP+ 2 CaCl2 F
0.25 AMP+ .. G
0.25 AMP+ 4 CaCl2 H
0.125 AMP+ 2 CaCl2 I
0.125 AMP+ 2 CaCl2 J
0.125 AMP+ 2 CaCl2 K
0.125 AMP+ 2 CaCl2 L
0.05 AMP+ 0.5 CaCl2 M
0.05 AMP+ 0.5 CaCl2 N
.. 0 CaCl2 O
.. 4 CaCl2 P
20 mM 琥珀酸鹽 250 mM 蔗糖 0.05% P80 pH 6.0

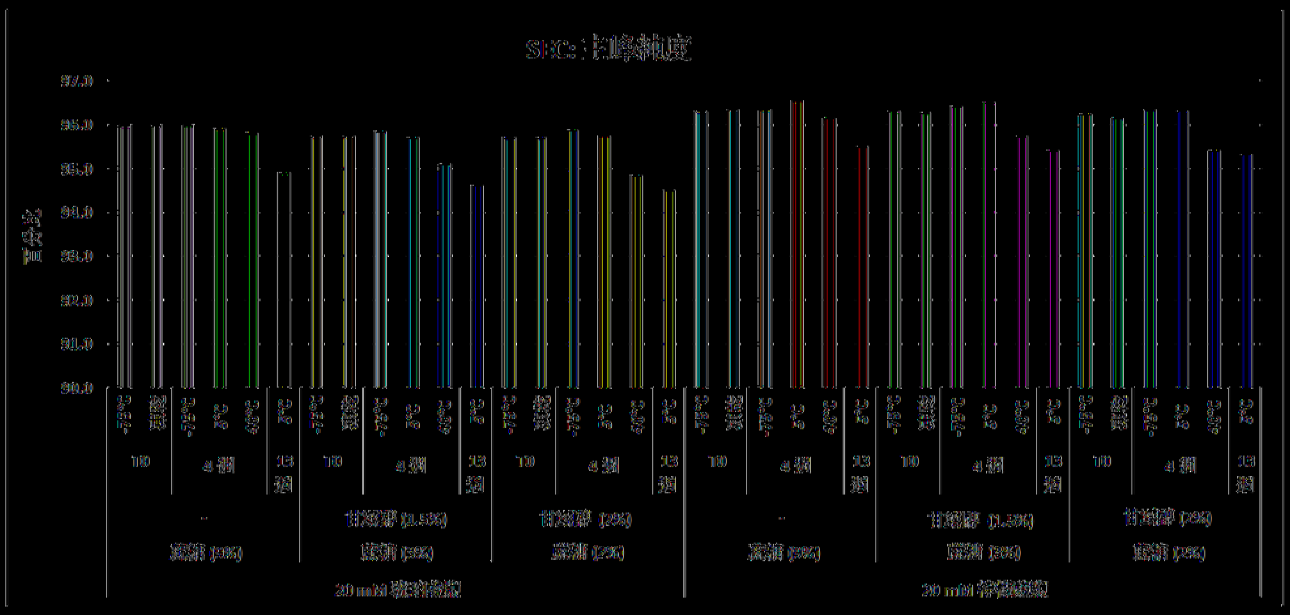

SEC (5°C): 低分子量物質
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
%
0.05 AMP+ 0.5 CaCl2 A
0.5 AMP+ 0.5 CaCl2 B
0.05 AMP+ 0.5 CaCl2 C
0.5 AMP+ 0.5 CaCl2 D
.. 2 CaCl2 E
0.5 AMP+ 2 CaCl2 F
0.25 AMP+ .. G
0.25 AMP+ 4 CaCl2 H
0.125 AMP+ 2 CaCl2 I
0.125 AMP+ 2 CaCl2 J
0.125 AMP+ 2 CaCl2 K
0.125 AMP+ 2 CaCl2 L
0.05 AMP+ 0.5 CaCl2 M
0.05 AMP+ 0.5 CaCl2 N
.. 0 CaCl2 O
.. 4 CaCl2 P
20 mM 琥珀酸鹽 200 mM 蔗糖 0.05% P80 pH 6.0

(圖 12B)

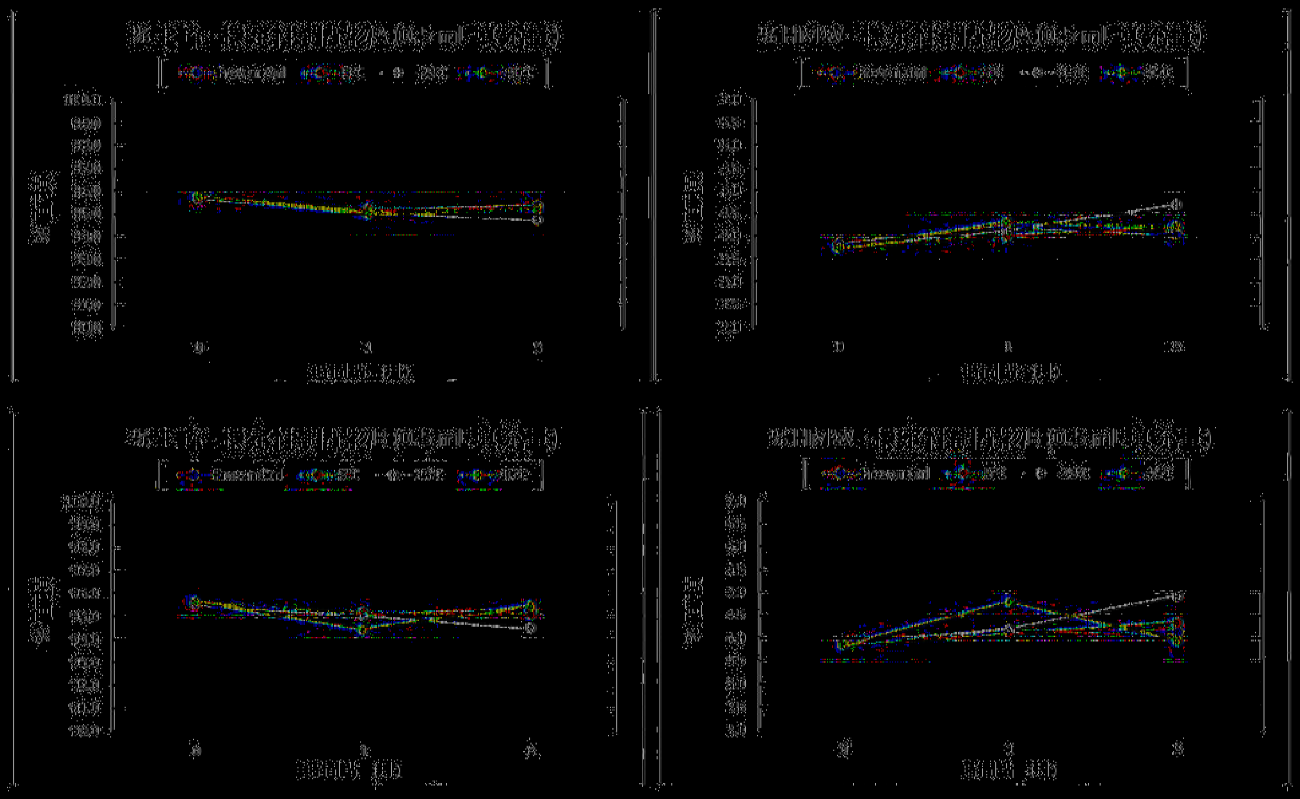

滲透壓
mOsm/kg
5000
4000
3000
2000
1000
0
液態冷藏
凍乾
甘露醇 (1.5%)
甘露醇 (2%)
蔗糖 (9%)
蔗糖 (3%)
蔗糖 (2%)
20 mM 琥珀酸緩
20 mM 檸檬酸緩

(圖 13)

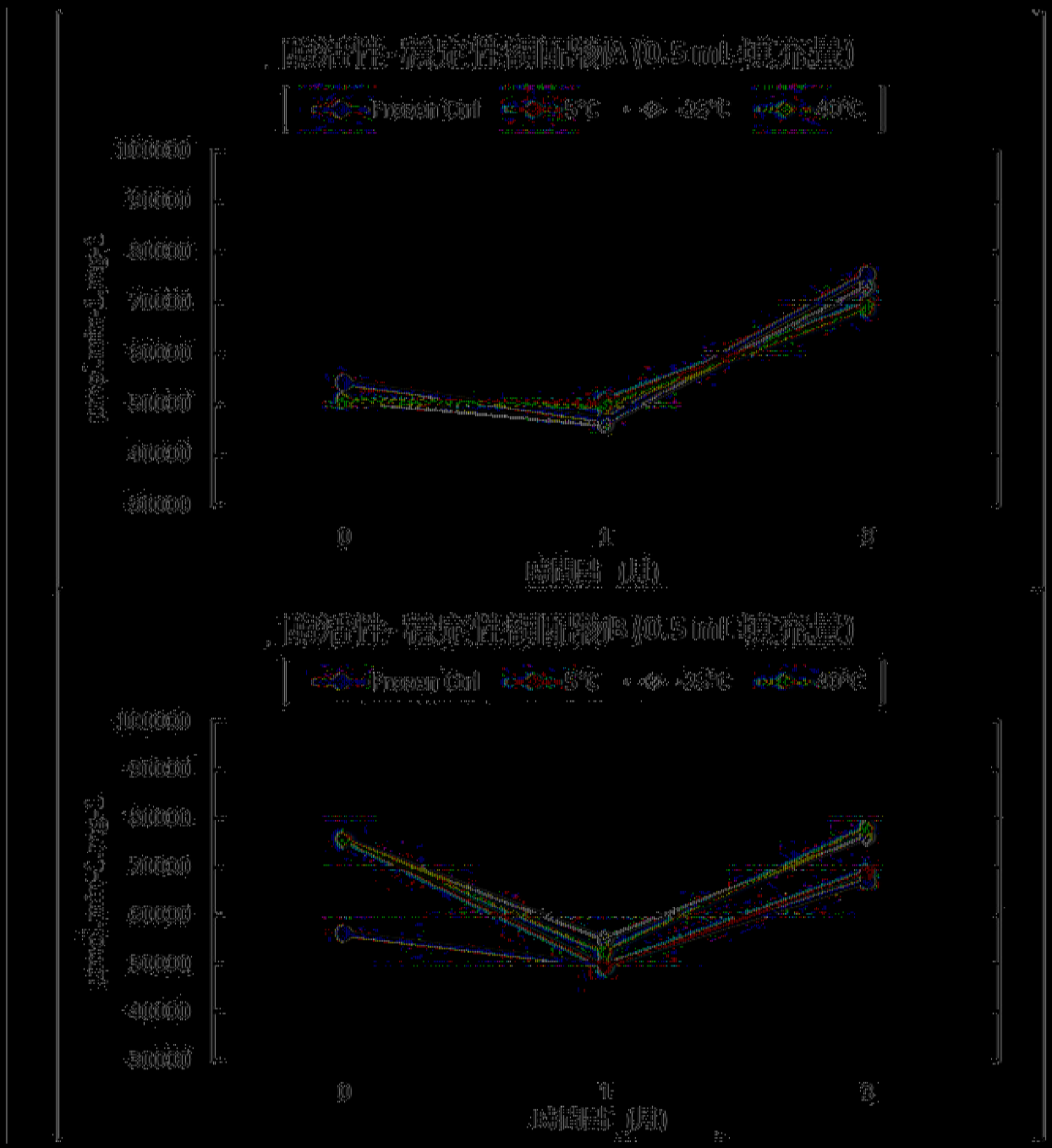

SEC:高分子量物質
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
10
4週
13週
-
甘露醇 (1.5%)
甘露醇 (2%)
蔗糖 (5%)
蔗糖 (3%)
蔗糖 (2%)
20 mM 琥珀酸鹽
20 mM 檸檬酸鹽


SEC:相對純度
97.0
95.0
94.0
93.0
92.0
91.0
90.0
10
4週
13週
-
甘露醇 (1.5%)
甘露醇 (2%)
蔗糖 (5%)
蔗糖 (3%)
蔗糖 (2%)
20 mM 琥珀酸鹽
20 mM 檸檬酸鹽

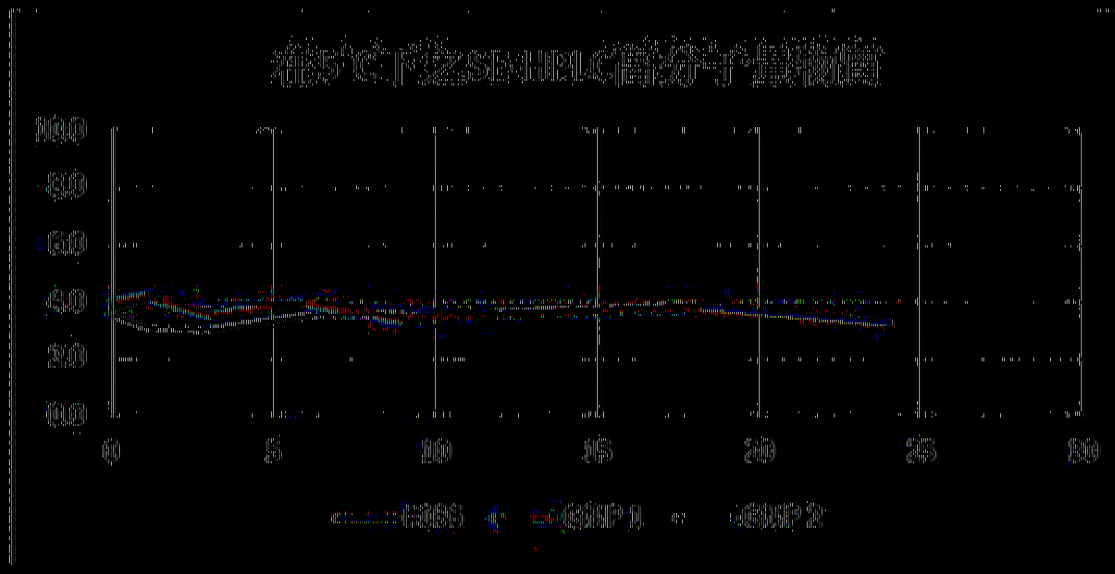
(圖 14)


第一實施例的光學成像鏡頭的縱向球差
第一實施例的光學成像鏡頭的場曲像差
第一實施例的光學成像鏡頭的畸變像差
第一實施例的光學成像鏡頭的橫向色差

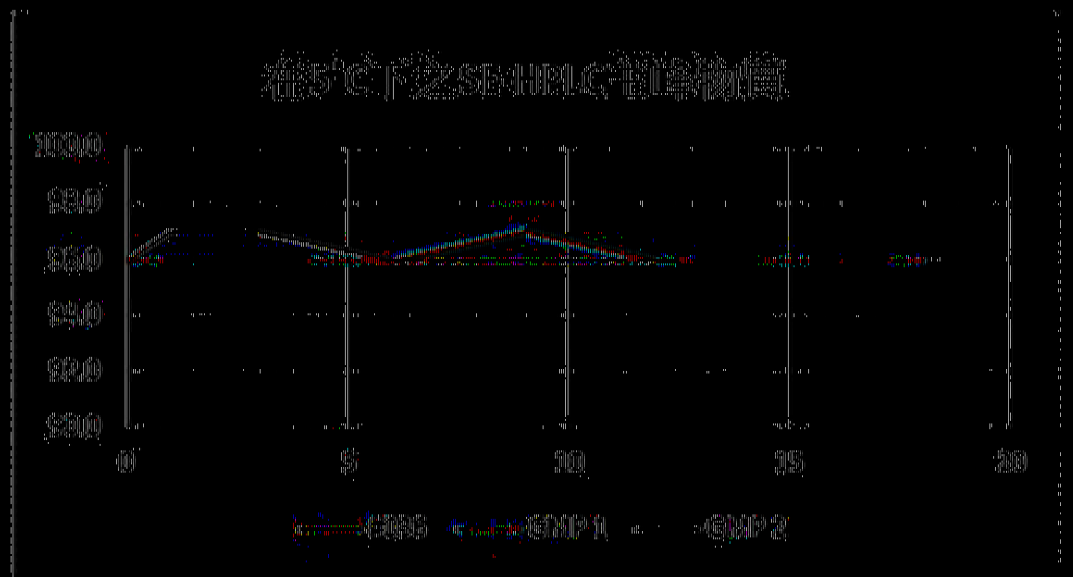
（圖 15）


A. 時間性-高效供體間期輸入(0.5 mL靜脈注射)
Inventor 5% 25% 40%
血漿濃度 (ng/mL)
時間 (小時)
B. 時間性-高效供體間期輸入(0.5 mL靜脈注射)
Inventor 5% 25% 40%
血漿濃度 (ng/mL)
時間 (小時)

(圖 16)



脳血管ページ内領域特定



走行方向ページ内領域特定

(図 17)

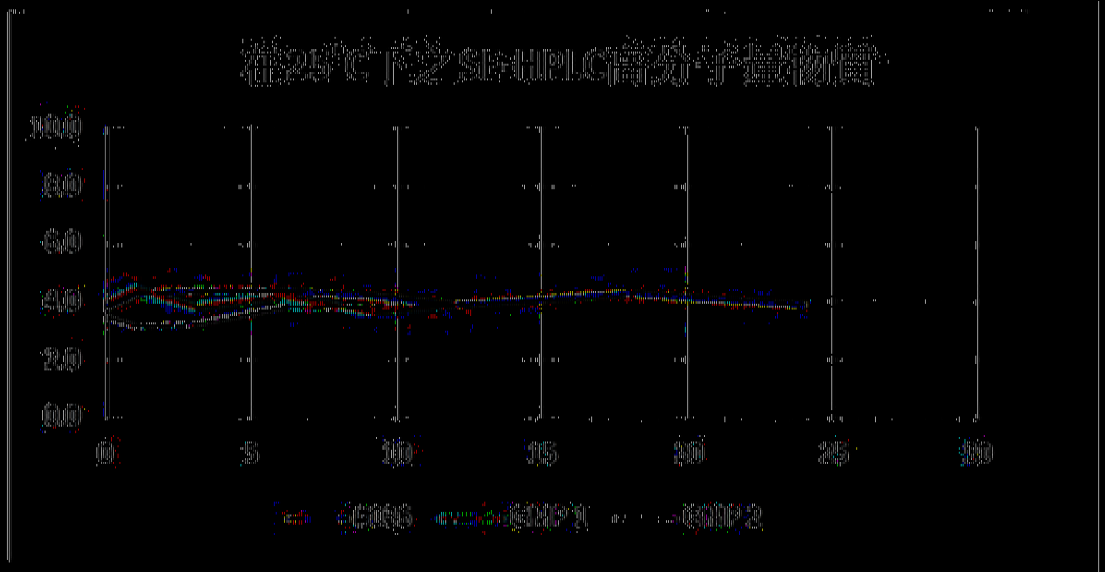
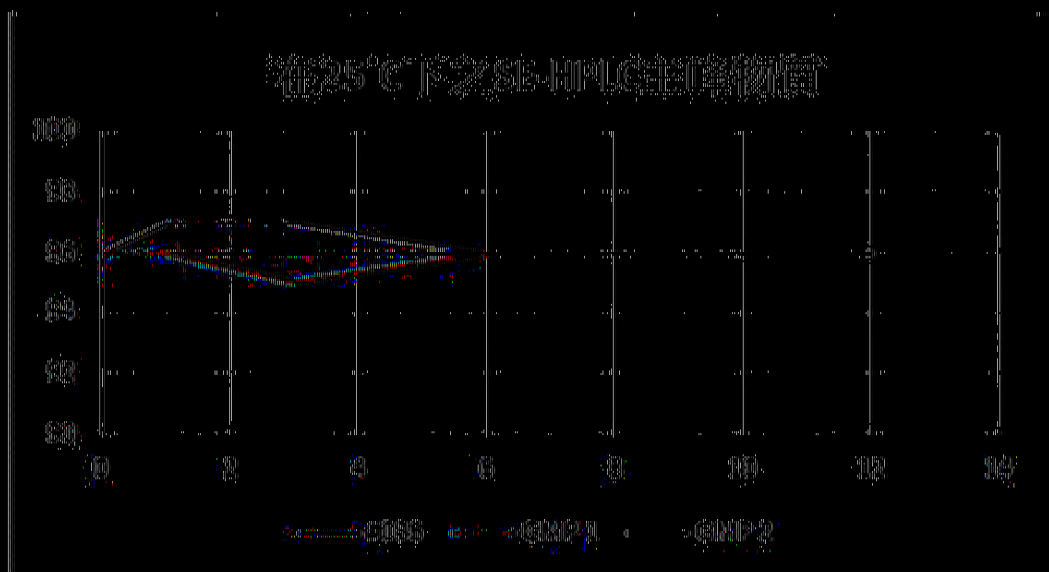


図1Bは推奨ゲート幅の経時変化



半値幅推奨ゲート幅の経時変化

（図 18）

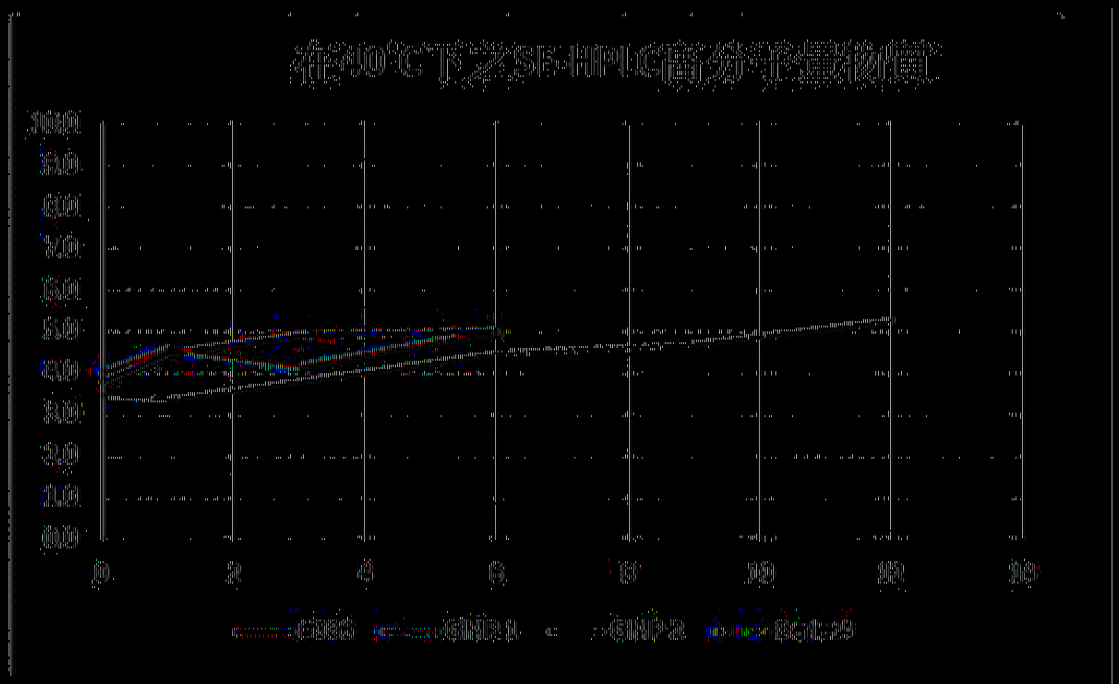


圖10 在40℃下之SE-HPLC自動分析圖譜

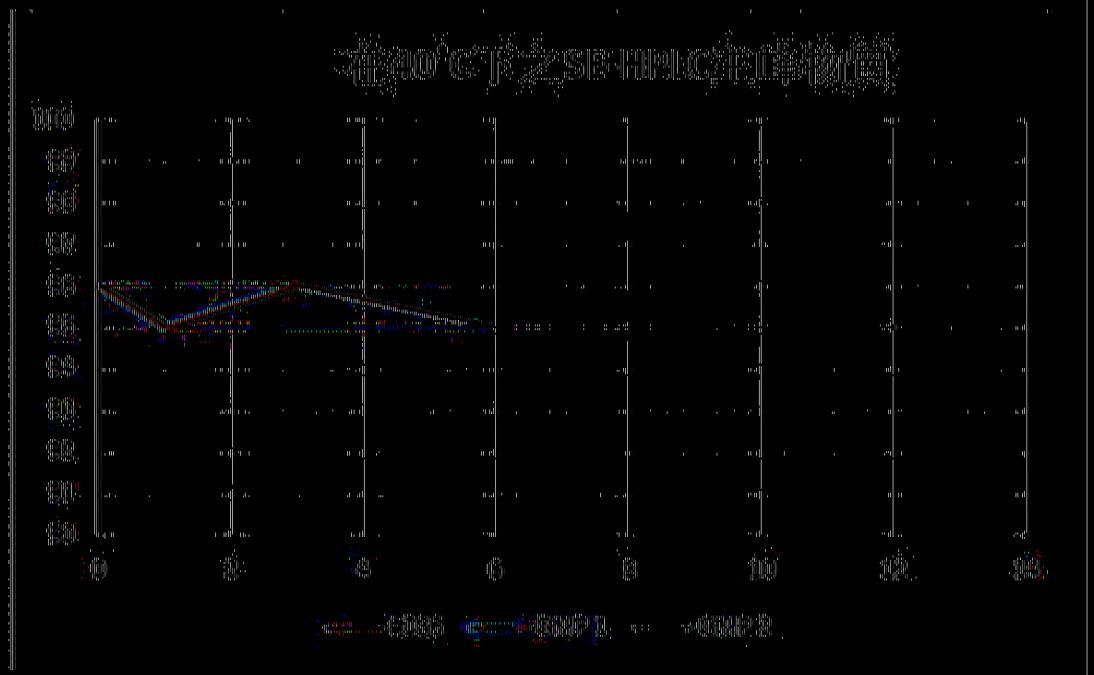
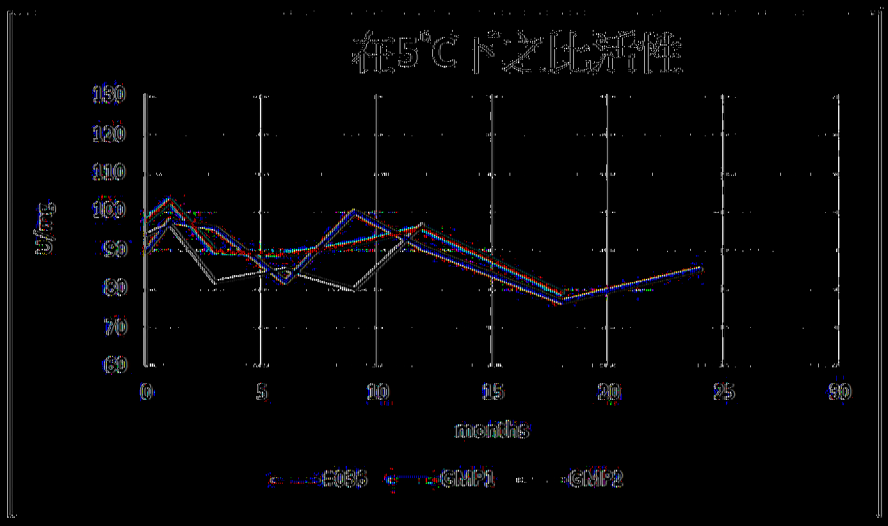
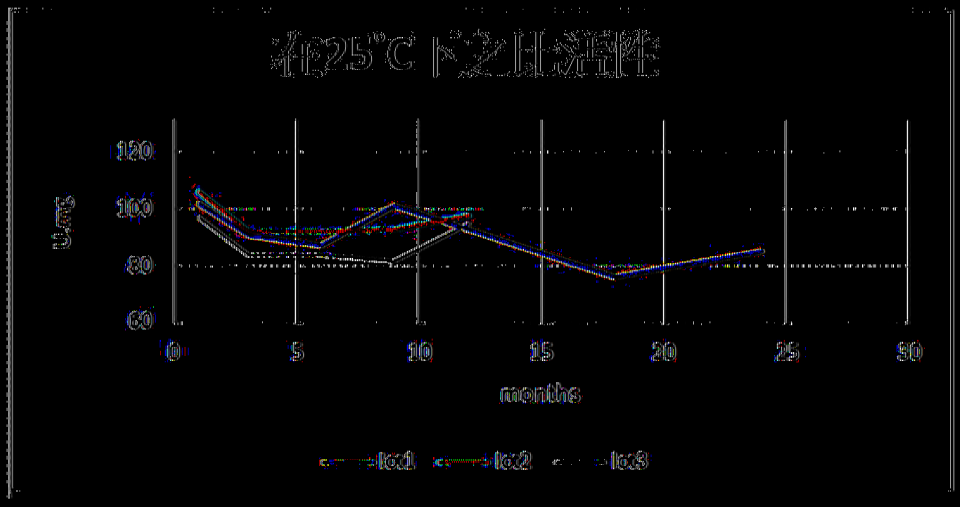


圖11 在60℃下之SE-HPLC自動分析圖譜

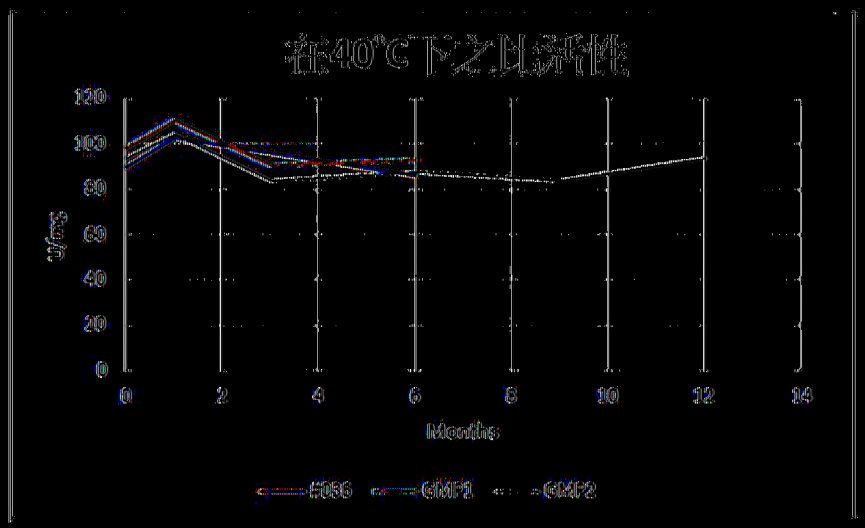
（共 19）



比活性在5℃下24個月無顯著變化

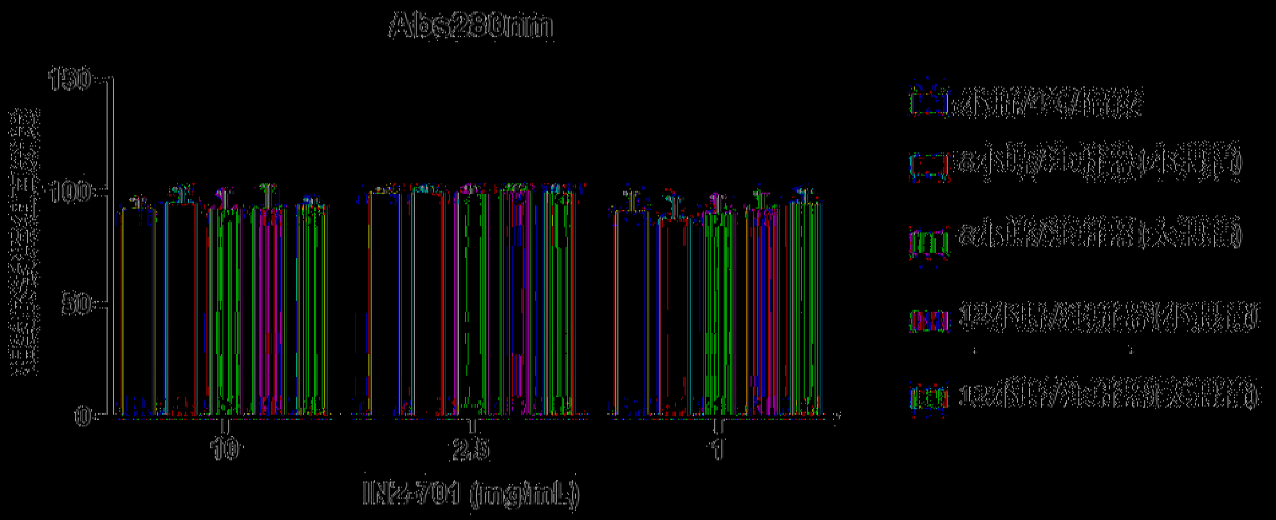


HMW在25℃下24個月無顯著變化

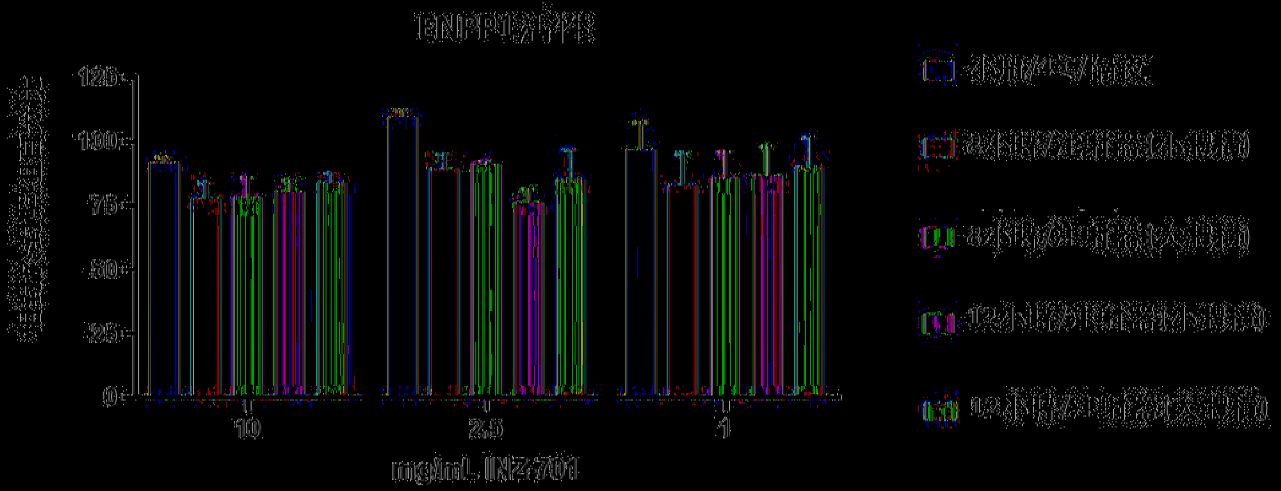


比活性在40℃下12個月後略為降低

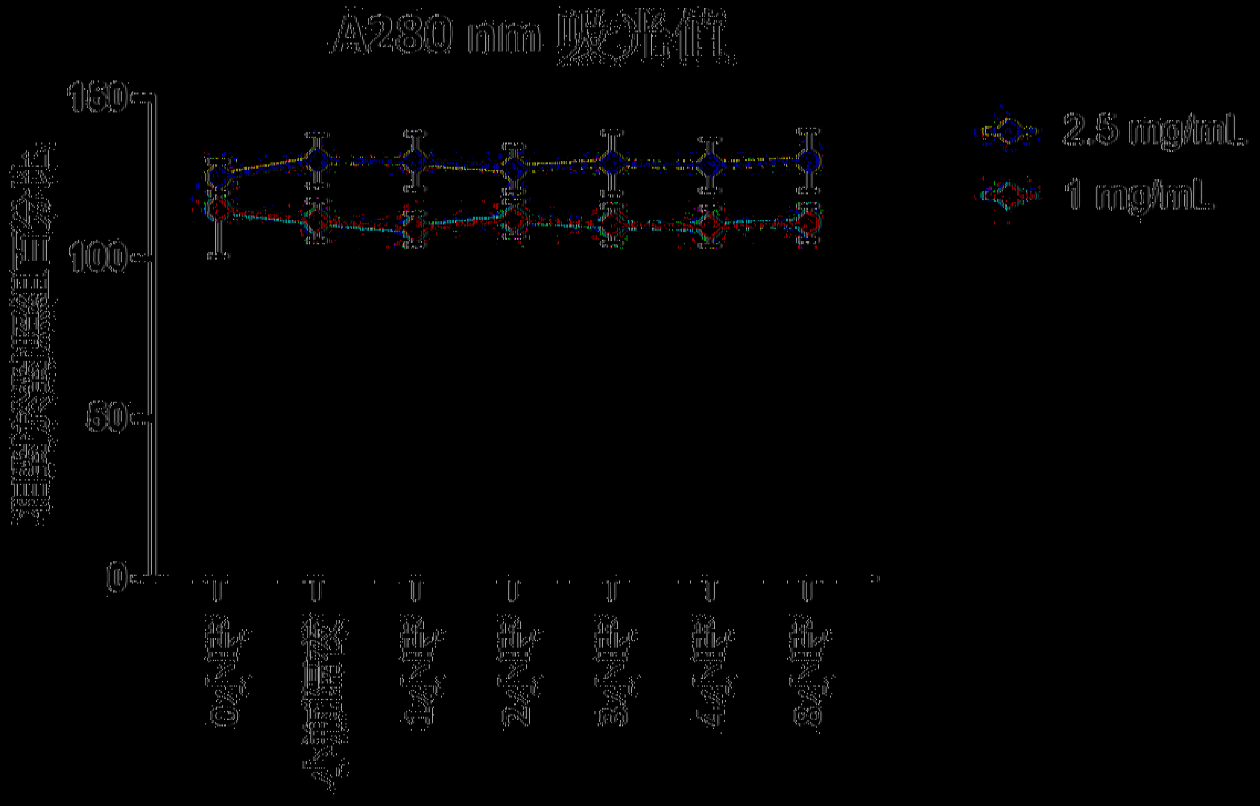
(圖 20)



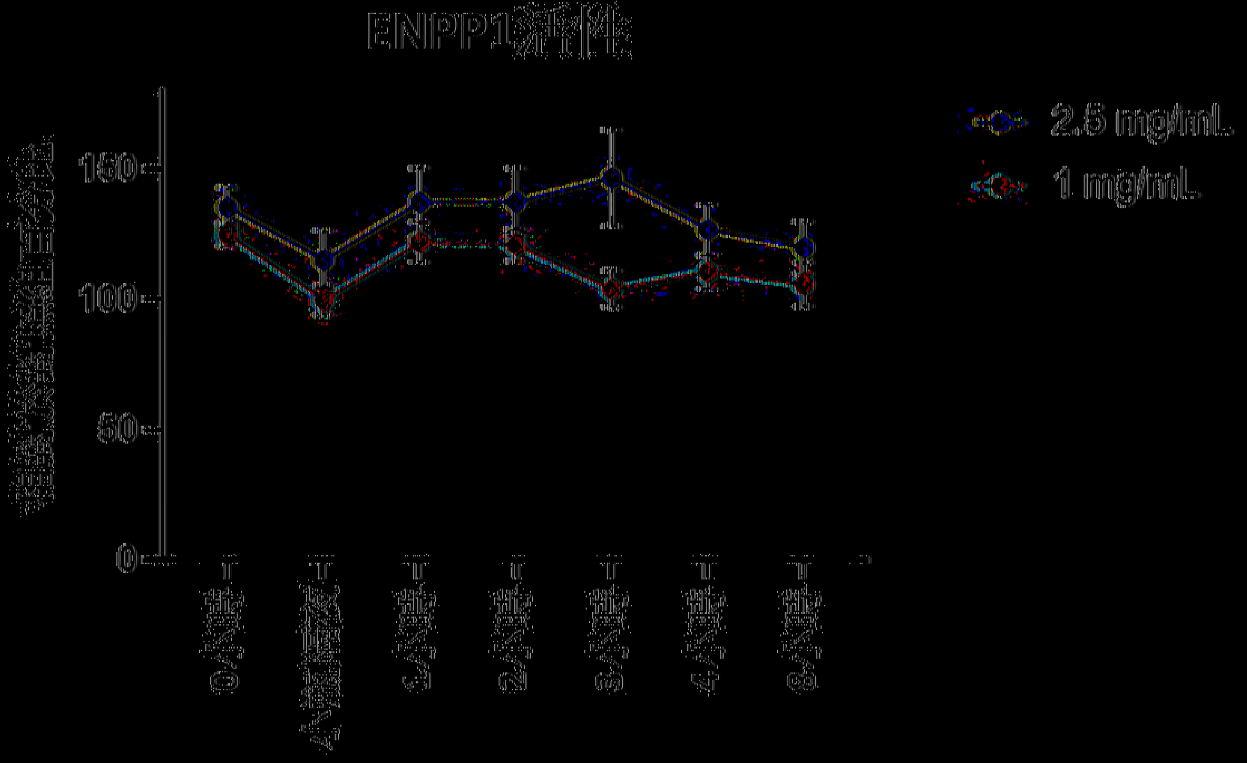
(圖 21)



（圖 22）



（同 23）



(圖 24)