



(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 202304509 A

(43)公開日：中華民國 112 (2023) 年 02 月 01 日

(21)申請案號：111112918

(22)申請日：中華民國 111 (2022) 年 04 月 01 日

(51)Int. Cl.：

*A61K39/395 (2006.01)**A61K47/26 (2006.01)**A61K47/28 (2006.01)**A61K47/02 (2006.01)**A61K9/08 (2006.01)**A61P37/00 (2006.01)*

(30)優先權：2021/04/02

美國

63/170,042

(71)申請人：合一生技股份有限公司 (中華民國) ONENESS BIOTECH CO., LTD. (TW)

臺北市大安區信義路 4 段 236 號 11 樓

(72)發明人：陳念宜 CHEN, NIEN-YI (TW)；高維廷 KAO, WEI TING (TW)

(74)代理人：鄭志玲

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：22 項 圖式數：0 共 69 頁

(54)名稱

高濃度抗體製劑

(57)摘要

一種高濃度抗體製劑，其包含濃度為約 120-200 mg/ml 之抗體、濃度為約 5-15 mM 之組胺酸緩衝液、濃度為約 1-1.5% (w/v) 之胺基酸、濃度為約 50-100 mM 之張力調節劑(如氯化鈉)；以及非離子界面活性劑，如濃度為約 0.005-0.02% (w/v) 之聚山梨醇酯 80。在一些情況下，所述高濃度抗體製劑之 pH 值可為約 5.5 至 6.5。

A high concentration antibody formulation comprising an antibody at a concentration of about 120-200 mg/ml, a histidine buffer at a concentration of about 5-15 mM, an amino acid at a concentration of about 1-1.5% (w/v), a tonicity modifier such as sodium chloride at a concentration of about 50-100 mM; and a non-ionic surfactant such as polysorbate 80 at a concentration of about 0.005-0.02% (w/v). In some instances, the high concentration antibody formulation may have a pH of about 5.5 to 6.5.

【發明摘要】

【中文發明名稱】 高濃度抗體製劑

【英文發明名稱】 HIGH CONCENTRATION ANTIBODY FORMULATIONS

【中文】一種高濃度抗體製劑，其包含濃度為約120-200 mg/ml之抗體、濃度為約5-15 mM之組胺酸緩衝液、濃度為約1-1.5% (w/v)之胺基酸、濃度為約50-100 mM之張力調節劑(如氯化鈉)；以及非離子界面活性劑，如濃度為約0.005-0.02% (w/v)之聚山梨醇酯80。在一些情況下，所述高濃度抗體製劑之pH值可為約5.5至6.5。

【英文】 A high concentration antibody formulation comprising an antibody at a concentration of about 120-200 mg/ml, a histidine buffer at a concentration of about 5-15 mM, an amino acid at a concentration of about 1-1.5% (w/v), a tonicity modifier such as sodium chloride at a concentration of about 50-100 mM; and a non-ionic surfactant such as polysorbate 80 at a concentration of about 0.005-0.02% (w/v). In some instances, the high concentration antibody formulation may have a pH of about 5.5 to 6.5.

【指定代表圖】 無

【代表圖之符號簡單說明】 無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 高濃度抗體製劑

【英文發明名稱】 HIGH CONCENTRATION ANTIBODY FORMULATIONS

【技術領域】

【0001】 參考相關申請案。本申請案主張於2021年4月2日提申之美國臨時申請系列號63/170,042的權益，其之全部內容在此併入本案以作為參考資料。本發明涉及高濃度抗體製劑。

【先前技術】

【0002】 針對特定藥物遞輸路徑(例如，皮下注射)，通常需要具有高濃度生物分子(如重組型蛋白)與單株抗體的製劑。儘管已針對特定抗體藥物開發了高濃度抗體製劑，但生產高濃度抗體製劑(例如，>100 mg/ml)仍具挑戰性，包括不可逆之聚集、不可逆之沉澱及/或高黏度。

【發明內容】

【0003】 本發明至少部分基於高濃度抗體製劑之開發，其在各種條件下與超過兩年的儲存期內顯示優異的穩定性及優異的可注射性。

【0004】 據此，本發明之一方面之特徵為一種抗體製劑，其包含：(a)濃度為約120-200 mg/ml之結合至膜結合IgE之C ϵ mX結構域之抗體，(b)濃度為約5-15 mM之組胺酸，(c)濃度為約1-3.0% (w/v)之胺基酸，其中所述胺基酸為精胺酸或蘇胺酸；(d)濃度為約50-100 mM之氯化鈉；以及(e)濃度為約0.005-0.02%之聚山

梨醇酯80。此一抗體製劑之pH值可為約5.5至6.5。在一些具體實施例中，所述抗體製劑基本上由(a)-(e)之組分組成。或者或此外，抗體製劑係不含糖系或糖醇系穩定劑。實例包括蔗糖、山梨糖醇或海藻糖。

【0005】 在一些具體實施例中，所述抗體製劑可包含約150 mg/ml之抗體、約10 mM之組胺酸、約1.25%之胺基酸、約75 mM之氯化鈉及約0.01%之聚山梨醇酯80。在一些實例中，所述抗體製劑中之胺基酸可為精胺酸且所述抗體製劑之pH值為約6.0至6.5。在其他實例中，所述抗體製劑中之胺基酸為蘇胺酸且所述抗體製劑之pH值為約6.0。

【0006】 在本文所揭示之任何抗體製劑中，含於其中之結合膜結合IgE之C ϵ mX結構域之抗體可包含與抗體FB825相同的重鏈互補決定區(CDR)；及/或與抗體FB825相同的輕鏈互補決定區(CDR)。在一些具體實施例中，所述抗體為人類抗體或人源化抗體。在一些具體實施例中，所述抗體為全長抗體。

【0007】 在一些具體實施例中，所述抗體包含具有胺基酸序列為SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:9之重鏈可變區(VH)，以及具有胺基酸序列為SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:10之輕鏈可變區(VL)。在一些實例中，所述抗體包含SEQ ID NO:9之VH與SEQ ID NO:10之VL。在一些實例中，所述抗體為IgG1分子。在具體實例中，所述抗體包含含有胺基酸序列為SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO:11之重鏈及含有胺基酸序列為SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:12之輕鏈。

【0008】 在其他態樣中，本文提供預填充注射器，其包含本文揭示之任何高濃度抗體製劑。在一些具體實施例中，所述抗體製劑在預填充注射器中之體積為約1-2 ml。

【0009】在又其他態樣中，本發明之特徵為一種用於治療與免疫球蛋白E (IgE)相關聯之病症的方法，所述方法包含投予有需求之個體有效量之本文揭示之任何抗體製劑。在一些具體實施例中，所述個體接受一劑之抗體製劑。在其他具體實施例中，所述個體接受至少兩劑之抗體製劑。在一些情況下，兩連續劑量係至少相隔3個月投予至所述個體。在本文揭示之任何方法中，所述抗體製劑係皮下投予。

【0010】在一些具體實施例中，所述個體為患有或疑似患有過敏性氣喘、過敏性鼻炎、異位性皮膚炎或高IgE症候群之人類患者。在一些實例中，所述人類患者患有異位性皮膚炎。

【0011】同時，落入本發明範疇內的是用於治療與免疫球蛋白E (IgE)相關聯之病症(如本文揭示之該等)之本文揭示之任何抗體製劑，以及所述抗體製劑在製造用於治療目標病症之藥劑的用途。

【0012】本發明之一或多個具體實施例之細節係於下列描述中闡述。本發明之其他特徵或優勢將從下列圖示與數個具體實施例之詳細描述以及從所附申請專利範圍中顯見。

【圖式簡單說明】

無

【實施方式】

【0013】在有發展高過敏風險之特應性個體中，循環系統中之IgE濃度可升高至例如比正常程度高出至少10倍的程度。過敏原特異性IgE抗體之濃度與臨

床症狀密切相關，且過敏性疾病患者之IgE抗體濃度可比健康個體高出1000倍以上。免疫球蛋白E使效應細胞(如嗜鹼性細胞、肥大細胞及活化之嗜酸性細胞)致敏，其係藉由佔據其等所表達之高親和性IgE受體FcεRI所致。在第I型過敏反應中，過敏原與FcεRI結合之IgE分子交聯，隨後引發效應細胞去顆粒反應(degranulation)，釋放促發炎性介質，如組織胺與白三烯。IgE介導之過敏途徑(其生成與介質相關之過敏症狀)會啟動局部或全身免疫活性。嗜鹼性細胞與肥大細胞亦釋放廣泛之發炎性細胞激素與趨化激素，其不僅直接引起臨床症狀，還活化與募集各種細胞類型以增強發炎性狀態。因此，抗IgE療法可減弱IgE介導之途徑與發炎性病況。

【0014】 已開發出多種用於治療IgE相關過敏性病症之抗IgE抗體。然而，開發經由非靜脈輸注途徑(例如，經由皮下注射)遞輸此類抗體之高濃度抗體製劑仍具挑戰性。

【0015】 本發明至少部分基於開發包含示例性抗IgE抗體(FB825)之高濃度抗體製劑，其在各種條件下與長達兩年之儲存期內顯示優異之穩定性及優異之可注射性。據此，本文提供高濃度抗體製劑及其用於治療IgE相關過敏性病症之用途。

【0016】 I. 高濃度抗體製劑

【0017】 在一些方面，本文提供包含本文所揭示之任何抗IgE抗體的高濃度抗體製劑。本文中使用的「高濃度製劑」意指包含濃度為至少100 mg/ml之生物分子(如抗體)的製劑。除了抗IgE抗體以外，高濃度抗體製劑可包含適用之緩衝試劑、適用之胺基酸賦形劑、適用之張力調節劑及適用之非離子界面活性劑。此一高濃度抗體製劑之pH值可為約5.5-6.5。

【0018】 本文揭示之高濃度抗體製劑可具有一或多個下列優異特徵：(a)在例如攪拌(例如，在室溫下4小時)、冷凍/解凍(例如，至少5個連續循環)、紫外光暴露等條件下維持穩定，(b)在短期儲存(例如，在40°C下8週、在45°C下兩週及/或在55°C下一週)及/或長期儲存(例如，在各種溫度條件下兩年)時維持穩定，(c)適用之物理特徵，如濁度(例如， $A_{650} < 0.01$ ，如大約0.006-0.008)、滲透壓(例如，等張；大約300 mOsm)、黏度及/或可注射性(例如，需要小於2 lb_f以在5-10秒內排出1 ml之製劑，或使用3-5 lb_f以在小於5秒內遞輸1 ml之製劑)。在一些情況下，遵循下列實施例中提供之常規實施及/或揭示，藉由SEC-HPLC分析之主要尖峰、低分子量尖峰及/或高分子量尖峰以及藉由SCX-HPLC分析之主要尖峰、酸性尖峰、鹼性尖峰的百分比變化，可表明穩定性。

【0019】 A. 能結合至膜結合IgE之C ϵ mX結構域之抗體

【0020】 在一些情況下，本文揭示之高濃度抗體製劑中之抗IgE抗體可為結合膜結合IgE分子之C ϵ mX結構域之抗體。C ϵ mX為位於人類膜結合之 ϵ 鏈(m ϵ)之CH4結構域與C端膜錨定段間之52個胺基酸的段。人類mIgE之示例性C ϵ mX片段之胺基酸序列係提供如下(SEQ ID NO:6)：

GLAGGSAQSQ RAPDRVLCVS GQQQGLPRAA GGSVPHPRCH CGAGRADWPG PP

【0021】 本文所述之抗體可結合至mIgE (例如，在B細胞表面上表達之mIgE)之C ϵ mX結構域。此類抗體可誘發表達mIgE之B細胞的細胞死亡，其係經由例如抗體依賴性細胞毒性及/或細胞凋亡，從而消除B細胞，此將導致游離IgE之產量減少。據此，本文所述之抗C ϵ mX抗體可降低欲以抗體治療之個體(例如，人類患者)中總IgE之量。

【0022】 抗體(以複數形式互換使用)為能特異性結合至標靶(如碳水化合物、多核苷酸、脂質、多胜肽等)之免疫球蛋白分子，其係通過位於免疫球蛋白分子之可變區之至少一抗原識別位點進行。本文中使用的「抗體」乙詞不僅包括完整(亦即，全長)多株或單株抗體，還包括其抗原結合片段(如Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv)、單鏈(scFv)、其突變體、包含抗體蛋白之融合蛋白、人源化抗體、嵌合抗體、雙抗體、線型抗體、單鏈抗體、多特異性抗體(例如，雙特異性抗體)及免疫球蛋白分子之任何其他修飾構型，其包含所需特異性之抗原識別位點，包括抗體之醣化變體、抗體之胺基酸序列變體及共價修飾之抗體。抗體包括任何類別之抗體，如IgD、IgE、IgG、IgA或IgM (或其亞類)，以及不需要屬於任何特定類別之抗體。根據抗體重鏈之恆定結構域之胺基酸序列，免疫球蛋白可分為不同的類別。有五種主要的免疫球蛋白類別：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，且彼等之中有數種可進一步分為亞類(異構型)，例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2。對應於不同類別之免疫球蛋白的重鏈恆定結構域分別稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 。不同類別之免疫球蛋白的亞單元結構與三維構型係熟知。

【0023】 本文所述方法中使用之抗體可為鼠科、大鼠、人類或任何其他來源(包括嵌合或人源化抗體)。

【0024】 本文所述之任何抗體可為單株或多株。「單株抗體」意指同源性抗體群且「多株抗體」意指異源性抗體群。彼等兩術語未侷限抗體之來源或其製備方式。

【0025】 在一實例中，本文所述方法中使用之抗體為人源化抗體。人源化抗體意指非人類(例如，鼠科)抗體之形式，其為特異性嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白鏈或其抗原結合片段，其含有源自非人類免疫球蛋白之最小序列。在大多數

情況下，人源化抗體為人類免疫球蛋白(接受者抗體)，其中來自接受者之互補決定區(CDR)之殘基係由來自非人類物種(供體抗體)之CDR之殘基替代，所述非人類物種為例如具有所需特異性、親和性及能力之小鼠、大鼠或兔子。在一些情況下，人類免疫球蛋白之Fv框架區(FR)殘基係由相應之非人類殘基替代。此外，人源化抗體可包含既不在受體抗體中亦不在導入之CDR或框架序列中發現之殘基，但包括進一步改進與優化抗體性能。一般而言，人源化抗體將包含實質上所有的至少一個，典型上兩個可變結構域，其中所有或實質上所有的CDR區對應於該等非人類免疫球蛋白，且所有或實質上所有的FR區為該等人類免疫球蛋白共有序列。人源化抗體理想上亦將包含至少一部分之免疫球蛋白(典型上為人類免疫球蛋白)恆定區或結構域(Fc)。抗體可具有如WO 99/58572中所述之修飾之Fc區。其他形式之人源化抗體具有相對於原始抗體而改變之一或多個CDR (一個、二個、三個、四個、五個、六個)，其亦稱為「衍生自」原始抗體之一或多個CDR的一或多個CDR。人源化抗體亦可涉及親和性成熟。

【0026】 在另一實例中，本文所述之抗體為嵌合抗體，其可包括來自人類抗體之重鏈恆定區與輕鏈恆定區。嵌合抗體意指具有來自第一物種之可變區或部分可變區及來自第二物種之恆定區的抗體。典型上，在彼等嵌合抗體中，輕鏈與重鏈之可變區兩者皆模擬源自一哺乳類動物物種(例如，非人類哺乳類動物，如小鼠、兔子及大鼠)之抗體的可變區，而恆定部分係與衍生自另一哺乳類動物(如人類)之抗體序列同源。在一些具體實施例中，可在可變區及/或恆定區中進行胺基酸修飾。

【0027】 在一些實例中，本文揭示之抗體特異性結合膜結合IgE之C ϵ mX結構域，其可在B細胞之表面上表達。「特異性結合」(在本文中可互換使用)至標

靶或表位之抗體為本領域熟知之術語，且用於確定此特異性結合之方法亦為本領域熟知。若一分子與特定標靶抗原之反應或結合比與另一標靶的更頻繁、更迅速、持續時間更長及/或親和性更大，則稱其呈現「特異性結合」。若抗體與標靶抗原之結合比其與其他物質之結合具有更大的親和性、親和力、更容易及/或持續時間更長，則其「特異性結合」至標靶抗原。舉例而言，特異性(或優先)結合至CεmX結構域表位之抗體為以比其結合至其他CεmX結構域表位或非CεmX結構域表位更大的親和性、親和力、更容易及/或更長持續時間之抗體。亦可理解到，藉由閱讀此定義，例如，特異性結合至第一標靶抗原之抗體可或可不特異性或優先結合至第二標靶抗原。因此，「特異性結合」或「優先結合」不一定需要(儘管其可包括)獨佔性結合。一般而言，但不一定，提及結合時意指優先結合。

【0028】 本文所述之抗CεmX抗體之結合親和性可小於約100 nM，例如，小於約50 nM、約10 nM、約1 nM、約500 pM、約100 pM或約50 pM至任何的約2 pM。結合親和性可表示為 K_D 或解離常數，且結合親和性增加對應於 K_D 降低。確定抗體與CεmX之結合親和性之一方法為藉由測量抗體之單功能Fab片段的結合親和性。為了獲得單功能Fab片段，抗體(例如，IgG)可以木瓜酶(papain)切割或以重組方式表達。抗體之抗CεmX Fab片段之親和性可藉由表面電漿共振(BIAcore3000™表面電漿共振(SPR)系統，BIAcore, INC，Piscaway N.J.)確定。獲得動力學結合速率(k_{on})與解離速率(k_{off})(通常在25°C下測量)；且平衡解離常數(K_D)值計算為 k_{off}/k_{on} 。

【0029】 在一些具體實施例中，抗體結合人類IgE之CεmX結構域，且不顯著結合來自另一哺乳類動物物種之IgE。在一些具體實施例中，抗體結合人類IgE

以及來自另一哺乳類動物物種之一或多個IgE。抗體結合之表位可為連續的或不連續的。

【0030】 在一些具體實施例中，本文所述之抗CemX抗體結合CemX結構域之N端部分，例如，GLAGGSAQSQRAPDRV L (SEQ ID NO:1) 或GLAGGSAQSQRA (SEQ ID NO:7)。此一抗體可具有與抗體FB825相同的重鏈及/或輕鏈CDR。亦參見美國專利號8,460,664，其相關揭示在此併入本案以作為參考資料。抗CemX抗體可為人源化抗體。在一些實例中，用於本文所述方法之抗CemX抗體為FB825，或其功能性變體。亦參見美國專利號8,460,664與US20200297815，其相關揭示在此併入本案以作為參考資料。

【0031】 兩抗體具有相同的V_H及/或V_L CDR意指當藉由相同方法(例如，Kabat方法、Chothia方法、AbM方法、Contact方法或IMGT方法，如本領域已知。參見，例如，bioinf.org.uk/abs/)測定時，其等之CDR一致。

【0032】 FB825之功能性變體(等效物)基本上具有與FB825相同的表位結合特異性，且實質上呈現出與FB825類似的生物活性，包括消除個體體內表達mIgE之B細胞並降低總IgE量的活性。在一些具體實施例中，FB825之功能性變體含有與FB825相同之負責抗原結合的區域/殘基，如在CDR或整個CDR中之相同特異性決定殘基。在其他具體實施例中，FB825之功能性變體包含V_H鏈，其包括與相應之FB825之V_H CDR具有至少75% (例如，80%、85%、90%、95%或98%)一致性之V_H CDR1、V_H CDR2及V_H CDR3，以及V_L鏈，其包括與相應之FB825之V_H CDR具有至少75% (例如，80%、85%、90%、95%或98%)一致性之V_L CDR1、V_L CDR2及V_L CDR3。舉例而言，FB825之功能性變體可包含V_H鏈，其相較於FB825之V_H CDR，在V_H CDR區(共計V_H CDR1、CDR2及/或CDR3)中包括至多5個(例

如，1個、2個、3個、4個或5個)胺基酸殘基變異，及/或V_L鏈，其相較於FB825之V_H CDR，在V_L CDR區(共計V_L CDR1、CDR2及/或CDR3)中包括至多5個(例如，1個、2個、3個、4個或5個)胺基酸殘基變異。

【0033】 或者，FB825之功能性變體包含與FB825之V_H鏈具有至少75% (例如，80%、85%、90%、95%或98%)一致性之V_H鏈以及與FB825之V_L鏈具有至少75% (例如，80%、85%、90%、95%或98%)一致性之V_L鏈。胺基酸序列變異可僅發生在一或多個V_H及/或V_L框架區中。

【0034】 兩胺基酸序列之「一致性百分比」係使用Karlin and Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-68，1990 (修改為Karlin and Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-77，1993)之演算法確定。此一演算法係併入Altschul等人，J. Mol. Biol. 215:403-10，1990之NBLAST與XBLAST程式(2.0版)中。BLAST蛋白搜尋可以XBLAST程式進行，積分=50，字長=3，以獲得與感興趣蛋白分子同源之胺基酸序列。當兩序列之間存在間隙時，可使用Gapped BLAST，如Altschul等人，Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402，1997中之描述。當使用BLAST與Gapped BLAST程式時，可使用個別程式(例如，XBLAST與NBLAST)之預設參數。

【0035】 或者或此外，胺基酸殘基變異可為保留性胺基酸殘基取代。本文中使用的「保留性胺基酸取代」意指不改變所進行之胺基酸取代之蛋白相對電荷或大小特徵的胺基酸取代。可根據本領域普通技術人員已知之改變多胜肽序列之方法製備變體，如在彙編此類方法之參考資料中發現的，例如，Molecular Cloning: A Laboratory Manual，J. Sambrook等人編輯，第二版，Cold Spring Harbor Laboratory Press，Cold Spring Harbor，New York，1989，或Current Protocols in Molecular Biology，F.M. Ausubel等人，編輯，John Wiley & Sons, Inc.，New York。

胺基酸之保留性取代包括在下列群組內之胺基酸中進行的取代：(a) M、I、L、V；(b) F、Y、W；(c) K、R、H；(d) A、G；(e) S、T；(f) Q、N；以及(g) E、D。

【0036】 在一些具體實施例中，用於本文揭示之治療方法中之抗CemX抗體可具有下列重鏈可變區(遵循Kabat定義之CDR係以粗體與下劃線顯示。SEQ ID NOs: 13-15分別針對重鏈CDRs 1-3)之一者：

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS**GYSITSDYAWN**WIRQPPGKGLEWIG**SISYSGI**
TGYNPSLKSRVVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA**RMGYDGLAY**WGQGLT
VSS (SEQ ID NO:2)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS**GYSITSDYAWN**WIRQPPGKGLEWMI**SISYSGI**
TGYNPSLKSRVVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA**RMGYDGLAY**WGQGLT
VSS (SEQ ID NO:8)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS**GYSITSDYAWN**WIRQPPGKGLEWIG**SISYSGI**
TGYNPSLKSRVVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA**RMGYDGLAY**WGQGLT
VSS (SEQ ID NO:9)

【0037】 或者或此外，用於本文揭示之治療方法中之抗CemX抗體可具有下列輕鏈可變區(遵循Kabat定義之CDR係以粗體與下劃線顯示。SEQ ID NOs: 16-19分別針對輕鏈CDRs 1-3)之一者：

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCR**RSSQSIVHSNGNTYLE**WYLQKPGQSPQLLIY**KVS**
NRFSGVDPDRFSGSGSGTEFTLKISRVEAEDVGVYYC**FQGSHPPT**FGGGTKVEIKR
(SEQ ID NO:3)

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCR**RSSQSIVHSNGNTYLE**WYLQKPGQSPQLLIY**KVS**
NRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**FQGSHPPT**FGGGTKVEIKR
(SEQ ID NO:10)

【0038】 在一些具體實施例中，本文所述之任何抗IgE抗體之重鏈可進一步包含重鏈恆定區(CH)或其部分(例如，CH1、CH2、CH3或其組合)。重鏈恆定區可為任何適用之來源，例如，人類、小鼠、大鼠或兔子。在一些實例中，重鏈恆定區為人類來源。或者或此外，抗IgE抗體之輕鏈可進一步包含輕鏈恆定區(CL)，其可為本領域已知之任何CL，例如，人類輕鏈恆定區。在一些實例中，CL為κ輕鏈。在其他實例中，CL為λ輕鏈。抗體重鏈與輕鏈恆定區為本領域熟知，例如，在IMGT數據庫(www.imgt.org)或在www.vbase2.org/vbstat.php.中提供之該等，兩者在此併入本案以作為參考資料。

【0039】 在一些情況下，抗IgE抗體為FB825，其為具有下列提供之重鏈與輕鏈的IgG1分子，其分別包含SEQ ID NO:2之V_H與SEQ ID NO:3之V_L。下列提供全長型式之FB825的重鏈(上方)與輕鏈(下方)胺基酸序列(包括N端訊息胜肽序列，其以斜體呈現)。

MEFGLSWLFLVAILKGVQCQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGYSITSDYAWNWI
RQPPGKGLEWIGSISYSGITGYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY
CARMGYDGLAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT
KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV
SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 11)

MRVPAQLLGLLLLWLPGARCDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSIVHSNGNTY
LEWYLQKPGQSPQQLLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCF
QGSHVPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSS
PVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 12)

【0040】 SEQ ID NO:4代表FB825之成熟重鏈的胺基酸序列(不具有N端訊息胜肽序列)且SEQ ID NO:5代表成熟輕鏈之FB825的胺基酸序列(不具有N端訊息胜肽序列)。

【0041】 在一些實例中，FB825抗體可包含含有SEQ ID NO:4之胺基酸序列的重鏈及含有SEQ ID NO:5之胺基酸序列的輕鏈。或者，FB825之重鏈及/或輕鏈可含有N端訊息胜肽，例如，上述之該等。在一些情況下，FB825抗體可包含含有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的重鏈及含有SEQ ID NO:12之胺基酸序列的輕鏈。

【0042】 *B. 抗體製備*

【0043】 可藉由本領域已知之任何方法製造能結合本文所述之膜結合IgE之C ϵ mX結構域的抗體。參見，例如，Harlow and Lane，(1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*，Cold Spring Harbor Laboratory，New York。

【0044】 在一些具體實施例中，可藉由常規融合瘤技術製造具有標靶抗原(例如，mIgE之C ϵ mX結構域，如人類mIgE)特異性之抗體。若有需要，可進行感興趣之抗體(單株或多株)(例如，藉由融合瘤產生)的定序，隨後可將多核苷酸序列選殖至用於表達或增殖之載體中。編碼感興趣之抗體的序列可維持在宿主細胞之載體中，隨後可將宿主細胞擴增並冷凍以供將來使用。在一替代方案中，多核苷酸序列可用於基因操作，以「人源化」抗體或改進抗體之親和性(親和性成熟)或其他特性。舉例而言，若抗體用於人類之臨床試驗與治療，則恆定區可工程改造為更類似於人類恆定區以避免免疫反應。可能需要對抗體序列進行基因操作，以獲得對標靶抗原的更大親和性與更大的降低總IgE的功效。本領域技術

人員將顯見的是，可對抗體進行一或多個多核苷酸的改變，且仍維持其對標靶抗原的結合特異性。

【0045】 在其他具體實施例中，藉由使用工程改造之表達特定人類免疫球蛋白之商業上購得的小鼠，可獲得完整人類抗體。經設計以產生更所需(例如，完整人類抗體)或更強免疫反應之轉基因動物亦可用於生成人源化或人類抗體。此技術之實例為來自 Amgen, Inc. (Fremont, Calif.) 之 Xenomouse^{RTM} 及來自 Medarex, Inc. (Princeton, N.J.) 之 HuMAb-Mouse^{RTM} 與 TC MouseTM。在另一替代方案中，可藉由噬菌體顯示技術以重組方式製造抗體。參見，例如，美國專利號 5,565,332；5,580,717；5,733,743；以及 6,265,150；以及 Winter 等人，(1994) Annu. Rev. Immunol. 12:433-455。或者，噬菌體顯示技術(McCafferty 等人，(1990) Nature 348:552-553)可用於從未賦予免疫供體之免疫球蛋白可變(V)結構域基因庫產生體外人類抗體與抗體片段。

【0046】 可經由常規方法製備完整抗體(全長抗體)之抗原結合片段。舉例而言，藉由抗體分子之胃蛋白酶分解，可產生 F(ab')₂ 片段，並可藉由將 F(ab')₂ 片段之雙硫鍵還原而產生 Fab 片段。

【0047】 可經由，例如，常規重組技術而產生基因工程改造之抗體，如人源化抗體、嵌合抗體、單鏈抗體及雙特異性抗體。在一實例中，使用常規程序(例如，藉由使用能特異性結合至編碼單株抗體之重鏈與輕鏈之基因的寡核苷酸探針)，可易於將編碼具有標靶抗原特異性之單株抗體的 DNA 分離與定序。融合瘤細胞作為此 DNA 之較佳來源。一旦分離，DNA 可置入一或多種表達載體中，隨後轉染至不另外產生免疫球蛋白之宿主細胞中，如大腸桿菌細胞、猿猴 COS 細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或骨髓瘤細胞，以在重組宿主細胞中取得合成之單

株抗體。參見，例如，PCT公開號WO 87/04462。隨後，可修改DNA，例如，藉由以人類重鏈與輕鏈恆定結構域之編碼序列取代同源鼠科序列，Morrison等人，(1984) Proc. Nat. Acad. Sci. 81:6851，或藉由將非免疫球蛋白多胜肽之全部或部分編碼序列共價連接至免疫球蛋白編碼序列。以該方式，可製備具有標靶抗原結合特異性之基因工程改造抗體，如「嵌合」或「雜交」抗體。

【0048】 用於產生「嵌合抗體」而發展之技術為本領域熟知。參見，例如，Morrison等人，(1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81, 6851；Neuberger等人，(1984) Nature 312, 604；以及Takeda等人(1984) Nature 314:452。

【0049】 用於構築人源化抗體之方法亦為本領域熟知。參見，例如，Queen等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:10029-10033 (1989)。在一實例中，遵照本領域已知之方法，進行親代非人類抗體之V_H與V_L之可變區的三維分子建模分析。隨後，利用相同的分子建模分析鑑定出預期對正確CDR結構之形成而言重要的骨架胺基酸殘基。同時，利用親代V_H與V_L序列作為搜索查詢，從任何抗體基因數據庫中鑑定出具有與該等親代非人類抗體同源之胺基酸序列的人類V_H與V_L鏈。隨後，選擇人類V_H與V_L受體基因。

【0050】 在所選擇之人類受體基因內之CDR區可以來自親代非人類抗體或其功能性變體之CDR區替代。當必要時，預期對與CDR區(參見上述)交互作用而言重要之親代鏈之框架區內的殘基可用於取代人類受體基因中相應之殘基。

【0051】 或者，能結合至本文所述之標靶抗原(IgE分子或其片段)的抗體可經由常規實施從適用之抗體庫中分離。抗體庫可用於經由常規選擇過程鑑定出結合至標靶抗原(例如，人類IgE，如其C_εmX片段)的蛋白。在選擇過程中，以標靶抗原或其片段探測多胜肽組分，若多胜肽組分結合至標靶，則鑑定出抗體庫成

員，典型上藉由保留在撐體上。從撐體回收保留的顯示庫成員並分析。分析可包括擴增及隨後在類似或不同條件下的選擇。舉例而言，正向與負向選擇可交替進行。所述分析亦可包括確定多胜肽組分之胺基酸序列及純化多胜肽組分以詳細確認。

【0052】 有許多本領域已知之常規方法用以鑑定與分離能結合至本文所述之靶抗原的抗體，包括噬菌體顯示、酵母菌顯示、核醣體顯示或哺乳類動物顯示技術。

【0053】 遵循本領域已知與本文所述之方法所獲得的抗體可使用本領域熟知之方法確認。舉例而言，一方法為鑑定抗原結合之表位，或「表位圖譜」。有許多本領域已知之用於繪製與確認蛋白上之表位位置的方法，包括解析抗體-抗原複合體的晶體結構、競爭試驗、基因片段表達試驗及基於合成胜肽之試驗，如例如在Harlow與Lane，Using Antibodies, a Laboratory Manual，Cold Spring Harbor Laboratory Press，Cold Spring Harbor，N.Y.，1999之第11章中所述。在額外之實例中，表位圖譜可用於確定抗體結合之序列。表位可為線性表位，亦即，含於單一段之胺基酸中，或由胺基酸之三維交互作用形成的構形表位，其可能不一定含於單一段(一級結構線性序列)中。可分離或合成(例如，以重組方式)不同長度之胜肽(例如，至少4-6個胺基酸長)，並用於與抗體之結合測定。在另一實例中，抗體結合之表位可在系統性篩選中確定，其係藉由使用來自標靶抗原序列之重疊胜肽並確定抗體之結合。根據基因片段表達試驗，編碼標靶抗原之開放閱讀框係隨機或藉由特定基因構築而片段化，並確定所表達之抗原片段與待測抗體的反應性。基因片段可，例如，藉由PCR產生，隨後在放射性胺基酸存在下體外轉錄與轉譯成蛋白。隨後，藉由免疫沉澱與凝膠電泳，確定抗體與放射性標記之

抗原片段的結合。藉由使用顯示於噬菌體顆粒表面上之隨機胜肽序列的大型庫(噬菌體庫)，亦可鑑定出特定表位。或者，在簡易結合測定中，可測試一定義之重疊胜肽片段庫與測試抗體的結合。在額外之實例中，可進行抗原結合結構域之突變、結構域交換實驗及丙胺酸掃描突變，以鑑定出表位結合所需、足夠及/或必需的殘基。舉例而言，可以標靶抗原之突變體進行結構域交換實驗，其中IgE多胜肽之各種片段已由來自密切相關但抗原性不同之蛋白(如免疫球蛋白家族之另一成員)的序列替代(交換)。藉由評估抗體與突變體免疫球蛋白之結合，可評估特定抗原片段與抗體結合的重要性。

【0054】 或者，可使用已知與相同抗原結合之其他抗體進行競爭試驗，以確定抗體是否如同其他抗體結合至相同的表位。競爭試驗為本領域技術人員熟知。

【0055】 在一些實例中，藉由下列示例之重組技術，可製備本文揭示之抗IgE抗體(如FB825)。

【0056】 可將編碼本文所述之抗C ϵ mX抗體之重鏈與輕鏈的核酸選殖至一表達載體中，每一核苷酸序列係可操作連接至適用之啟動子。在一實例中，編碼重鏈與輕鏈之每一核苷酸序列係可操作連接至不同的啟動子。或者，編碼重鏈與輕鏈之核苷酸序列可與單一啟動子可操作連接，使得重鏈與輕鏈兩者由相同的啟動子表達。當必要時，可將內部核糖體進入位點(IRES)插入重鏈與輕鏈編碼序列之間。

【0057】 在一些實例中，將編碼兩條鏈之抗體的核苷酸序列選殖至兩種載體中，其可導入相同或不同的細胞中。當兩條鏈在不同細胞中表達時，可從表達

其等之宿主細胞中分離出其等之每一者，並可將分離之重鏈與輕鏈混合且在適用條件下培養，以允許抗體形成。

【0058】一般而言，使用本領域已知之方法，可將編碼一條或全部鏈之抗體的核酸序列選殖至與適用之啟動子可操作連接的適用表達載體中。舉例而言，核苷酸序列與載體可在適用條件下與限制酶接觸，以在每一分子上創建互補端，其可彼此配對並以連接酶連接在一起。或者，合成之核酸連接子可連接至基因末端。彼等合成之連接子含有對應於載體之特定限制位點的核酸序列。表達載體/啟動子之選擇將取決於用於產生抗體之宿主細胞的類型。

【0059】有多種啟動子可用於本文所述抗體之表達，包括但不侷限於，巨細胞病毒(CMV)中間早期啟動子、病毒LTR (如勞斯肉瘤病毒LTR、HIV-LTR、HTLV-1 LTR)、猿猴病毒40 (SV40)早期啟動子、大腸桿菌lac UV5啟動子及單純疱疹tk病毒啟動子。

【0060】亦可使用可調節啟動子。此類可調節啟動子包括該等使用來自大腸桿菌之lac抑制子以作為轉錄調節子而調節來自帶有lac操縱子之哺乳類動物細胞啟動子的轉錄[Brown, M.等人，*Cell*, 49:603-612 (1987)]、該等使用四環黴素抑制子(tetR)[Gossen, M., 與 Bujard, H.，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:5547-5551 (1992)；Yao, F.等人，*Human Gene Therapy*, 9:1939-1950 (1998)；Shockelt, P., 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92:6522-6526 (1995)]。其他系統包括FK506二聚體、使用雌二醇之VP16或p65、RU486、二酚米勒留酮(diphenol murislerone)或雷帕黴素(rapamycin)。誘發系統可購自Invitrogen、Clontech及Ariad。

【0061】可使用包括帶有操縱子之抑制子的可調節啟動子。在一具體實施例中，來自大腸桿菌之lac抑制子可作為轉錄調節子而調節由帶有lac操縱子之哺

乳類動物細胞啟動子的轉錄[M. Brown等人, *Cell*, 49:603-612 (1987); Gossen and Bujard (1992); M. Gossen等人, *Natl. Acad. Sci. USA*, 89:5547-5551 (1992)], 其結合四環黴素抑制子(tetR)與轉錄活化子(VP 16)以創建tetR哺乳類動物細胞轉錄活化子融合蛋白tTa (tetR-VP 16), 其中帶有源自於人類巨細胞病毒(hCMV)主要立即早期啟動子之tetO最小啟動子, 以創建tetR-tet操縱子系統而控制哺乳類動物細胞中的基因表達。在一具體實施例中, 使用四環黴素可誘發開關。適當地位於CMVIE啟動子之TATA元件下游時, 單獨的四環黴素抑制子(tetR), 而非tetR-哺乳類動物細胞轉錄因子融合衍生物可作為潛在之反式調節子以調節哺乳類動物細胞中之基因表達(Yao等人, *Human Gene Therapy*, 10(16):1392-1399 (2003))。此四環黴素誘發開關之一特別優勢為其不需要使用四環黴素抑制子-哺乳類動物細胞轉活化子或抑制子融合蛋白, 其在一些情況下可能對細胞有毒(Gossen等人, *Natl. Acad. Sci. USA*, 89:5547-5551 (1992); Shockett等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92:6522-6526 (1995)), 以達到其可調節之效果。

【0062】此外, 載體可含有, 例如, 下列之一些或全部: 可篩選標記基因, 如用於在哺乳類動物細胞中選擇穩定或瞬時轉染物的新黴素基因; 用於高程度轉錄之來自人類CMV之立即早期基因的強化子/啟動子序列; 用於mRNA穩定性之來自SV40之轉錄終止與RNA處理訊號; 用於適當附加複製之SV40多瘤複製起點與ColE1; 內部核糖體結合位點(IRESes), 多功能多重選殖位點; 以及用於義股與反義股RNA之體外轉錄之T7與SP6 RNA啟動子。用於產生含有轉基因之載體的適用載體與方法為本領域熟知且可得。

【0063】適用於實施本文所述方法之多腺苷酸化訊號的實例包括但不限於，人類膠原蛋白I型多腺苷酸化訊號、人類膠原蛋白II型多腺苷酸化訊號及SV40多腺苷酸化訊號。

【0064】可將包含編碼任何抗體之核酸的一或多種載體(例如，表達載體)導入適用之宿主細胞中以產生抗體。宿主細胞可在適用條件下培養以表達抗體或其任何多胜肽鏈。此類抗體或其多胜肽鏈可藉由常規方法(例如，親和性純化)由培養的細胞(例如，從細胞或培養基上清液)回收。若有需要，抗體之多胜肽鏈可在適用條件下培養一段適用的時間，以允許產生抗體。

【0065】在一些具體實施例中，用於製備本文所述抗體之方法涉及重組表達載體，其編碼抗C ϵ mX抗體之重鏈與輕鏈，亦如本文所述。重組表達載體可藉由常規方法(例如，磷酸鈣介導之轉染)導入適用之宿主細胞(例如，dhfr-CHO細胞)中。可選擇陽性轉形體宿主細胞，並在適用之條件下培養，以允許表達形成抗體的兩條多胜肽鏈，其可從細胞或培養基中回收。當必要時，可在適用條件下培養從宿主細胞中回收的兩條鏈，以允許形成抗體。

【0066】在一實例中，提供兩種重組表達載體，一種編碼抗IgE抗體之重鏈，另一種編碼抗IgE抗體之輕鏈。兩種重組表達載體皆可藉由常規方法(例如，磷酸鈣介導之轉染)導入適用之宿主細胞(例如，dhfr-CHO細胞)中。或者，可將每種表達載體導入適用之宿主細胞中。可選擇陽性轉形體，並在適用之條件下培養，以允許表達抗體之多胜肽鏈。當將兩種表達載體導入相同宿主細胞中時，可從宿主細胞或培養基中回收其中產生的抗體。若有需要，可從宿主細胞或培養基中回收多胜肽鏈，隨後在適用之條件下培養，以允許形成抗體。當將兩種表達載

體導入不同宿主細胞中時，可從相應之宿主細胞或相應之培養基中回收其等之每一者。隨後，兩條多胜肽鏈可在適用之條件下培養，以形成抗體。

【0067】 標準分子生物學技術係用於製備重組表達載體、轉染宿主細胞、選擇轉形體、培養宿主細胞及從培養基中回收抗體。舉例而言，一些抗體可藉由具有蛋白A或蛋白G偶聯基質之親和性層析術進行分離。

【0068】 編碼本文所述抗CemX抗體之重鏈、輕鏈或兩者的任何核酸，含有此類之載體(例如，表達載體)；以及包含所述載體之宿主細胞係落入本發明之範疇內。

【0069】 *C. 高濃度抗體製劑*

【0070】 本文揭示之任何抗IgE抗體(例如，FB825)可用於製備高濃度抗體製劑。除了抗IgE抗體以外，本文揭示之高濃度抗體製劑可進一步包含適用之緩衝試劑(例如，濃度為約5-15 mM之組胺酸)、胺基酸賦形劑(例如，濃度為約1-3% (w/v)之精胺酸或蘇胺酸)、張力調節劑(例如，濃度為約50-100 mM之氯化鈉)及非離子界面活性劑(例如，濃度為約0.005-0.02%之聚山梨醇酯80)。抗體製劑之pH值可為約5.5至6.5。在一些實例中，抗體製劑之pH值可為約6.0至約6.5。在具體實例中，抗體製劑之pH值可為約6.0。

【0071】 「約」或「大約」等詞意指在本領域普通技術人員確定之特定值的可接受誤差範圍內，其將部分取決於如何測量或確定所述數值，亦即，測量系統之侷限。舉例而言，根據本領域之實施，「約」可指在可接受之標準差內。或者，「約」可指至多 $\pm 20\%$ ，較佳為至多 $\pm 10\%$ ，更佳為至多 $\pm 5\%$ ，且更佳為仍至多 $\pm 1\%$ 之給定值的範圍。或者，特別是關於生物系統或過程，本術語可指在一個數量級內，較佳為在2倍內，之一數值。特定值係於申請案與申請專利範圍中描

述，除非另有說明，否則術語「約」具隱含性，且在上下文中意指在特定值之可接受誤差範圍內。

【0072】 高濃度製劑中之抗IgE抗體的濃度可為至少100 mg/ml。在一些具體實施例中，高濃度製劑含有抗體濃度為約100 mg/ml至約250 mg/ml，例如，約100 mg/ml至約150 mg/ml、約125 mg/ml至約150 mg/ml、約150 mg/ml至約180 mg/ml、約150 mg/ml至約200 mg/ml、約180 mg/ml至約200 mg/ml或約200 mg/ml至約250 mg/ml。在一些實例中，高濃度抗體製劑可包含濃度為約130-165 mg/ml (例如，約150 mg/ml)之抗體(例如，FB825)。

【0073】 本文揭示之高濃度抗體製劑進一步包含緩衝試劑。緩衝試劑意指有助於維持水溶液pH值的弱酸或弱鹼。在一些情況下，用於高濃度抗體製劑中之緩衝試劑為組胺酸，其濃度可為約5-15 mM。在一些實例中，組胺酸之濃度為約5-8 mM、5-10 mM、10-15 mM或12-15 mM。在具體實例中，組胺酸之濃度為約10 mM。

【0074】 此外，高濃度抗體製劑可包含胺基酸賦形劑，其濃度可為約1-3% (w/v)。在一些具體實施例中，胺基酸賦形劑為精胺酸。在一些實例中，精胺酸之濃度為約1-1.3% (w/v)，例如，約1.25% (w/v)。在其他實例中，精胺酸之濃度可為約2-3% (w/v)，例如，約2.5% (w/v)。在一些具體實施例中，胺基酸賦形劑為蘇胺酸。在一些實例中，蘇胺酸之濃度為約1-1.3% (w/v)，例如，約1.25% (w/v)。在其他實例中，蘇胺酸之濃度可為約2-3% (w/v)，例如，約2.5% (w/v)。

【0075】 此外，本文揭示之高濃度抗體製劑進一步包含張力調節劑。關於溶液，張力為與特定之膜(例如，細胞膜)相關的性質，且相當於溶液(例如，水性製劑)中之溶質濃度的總和，所述溶質具有發揮跨膜滲透力的能力。張力調節劑

調節製劑之張力。在一些具體實施例中，含於本文揭示之高濃度抗體製劑的張力調節劑為氯化鈉，其濃度可為約50-100 mM。在一些實例中，張力調節劑(例如，氯化鈉)之濃度為約50-80 mM、約60-80 mM或約70-80 mM。在具體實例中，張力調節劑為濃度約75 mM之氯化鈉。

【0076】 此外，本文揭示之高濃度抗體製劑進一步包含非離子界面活性劑。非離子界面活性劑為一類在其親水性頭部基團上不帶電荷之界面活性劑，因此在其等之配方中沒有淨電荷。在一些具體實施例中，本文揭示之高濃度抗體製劑中之非離子界面活性劑為聚山梨醇酯80，其濃度可為約0.005-0.02% (w/v)。在一些實例中，非離子界面活性劑(如聚山梨醇酯80)之濃度範圍可為0.008-0.015%。在具體實例中，非離子界面活性劑為濃度約0.01%之聚山梨醇酯80。

【0077】 在一些實例中，本文揭示之高濃度抗體製劑可包含約150 mg/ml之抗IgE抗體(例如，FB825)、約10 mM之組胺酸、約1.25%之胺基酸、約75 mM之氯化鈉及約0.01%之聚山梨醇酯80。

【0078】 在一些實例中，本文揭示之高濃度抗體製劑基本上由抗IgE抗體、緩衝試劑、胺基酸賦形劑、張力調節劑及非離子界面活性劑組成。此一製劑不含會嚴重影響製劑之基本與新穎特性的組分。

【0079】 在一些實例中，高濃度抗體製劑實質上不含(例如，完全不含)糖系或糖醇系穩定劑。舉例而言，所述製劑實質上不含(例如，完全不含)蔗糖。或者，所述製劑實質上不含(例如，完全不含)山梨糖醇。在又另一實例中，所述製劑實質上不含(例如，完全不含)海藻糖。

【0080】 *D. 包含高濃度抗體製劑之遞輸裝置*

【0081】 本文揭示之任何高濃度抗體製劑可置於遞輸裝置中，例如，玻璃小瓶、注射器、預填充注射器、筆型遞輸裝置或自動注射器。在一些具體實施例中，高濃度抗體製劑(例如，包含或基本上由約150 mg/ml之抗IgE抗體(如FB825)、約10 mM之組胺酸、約1.25%之胺基酸、約75 mM之氯化鈉及約0.01%之聚山梨醇酯80組成)可含於預填充注射器中。在一些實例中，預填充注射器為單劑量預填充注射器。在其他實例中，高濃度抗體製劑係含於自動注射器中。在又其他實例中，高濃度抗體製劑係含於筆型遞輸裝置(例如，預填充筆)中。

【0082】 在一些具體實施例中，本文揭示之高濃度抗體製劑可以標準針頭與注射器遞輸(例如，以皮下方式)。在一些具體實施例中，注射器為預填充注射器。在一些具體實施例中，筆型遞輸裝置或自動注射器係用於遞輸高濃度抗體製劑(例如，用於皮下遞輸)。筆型遞輸裝置可為可重複使用或拋棄式。典型上，可重複使用之筆型遞輸裝置使用含有高濃度抗體製劑之可更換藥匣。一旦藥匣內之抗體製劑經投予且藥匣清空，空藥匣可易於丟棄並以含有抗體製劑之新藥匣更換。隨後，可重新使用筆型遞輸裝置。在拋棄式筆型遞輸裝置中，沒有可更換的藥匣。反而，拋棄式筆型遞輸裝置預先填充抗體製劑，其保存在裝置內之儲存器中。一旦儲存器中之抗體製劑清空，將整個裝置丟棄。

【0083】 適用之筆型與自動注射器遞輸裝置的實例包括但不侷限於，AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc. , Woodstock , UK)、DISETRONIC™ 筆 (Disetronic Medical Systems , Bergdorf , Switzerland)、HUMALOG MIX 75/25™ 筆、HUMALOG™ 筆、HUMALIN 70/30™ 筆(Eli Lilly and Co. , Indianapolis , Ind.)、NOVOPEN™ I、II及III (Novo Nordisk , Copenhagen , Denmark)、NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk , Copenhagen , Denmark)、BDM筆(Becton Dickinson ,

Franklin Lakes, N.J.)、OPTIPEN™、OPTIPEN PRO™、OPTIPEN STARLET™及 OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany)。在皮下遞輸本文揭示之高濃度抗體製劑中具有應用性之拋棄式筆型遞輸裝置的實例包括但不侷限於， SOLOSTAR™筆 (Sanofi-Aventis)、FLEXPEN™ (Novo Nordisk) 及 KWiKPEN™ (Eli Lilly)、SURECLICK™自動注射器 (Amgen, Thousand Oaks, Calif.)、PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany)、EPIPEN™ (Dey, L.P.) 及 HUMIRA™筆 (Abbott Labs, Abbott Park Ill.)。

【0084】 在一些具體實施例中，本文揭示之高濃度抗體製劑係使用控釋系統遞輸。在一具體實施例中，可使用泵(參見，Langer，同上；Sefton，1987，CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201)。在另一具體實施例中，可使用聚合物材料；參見，Medical Applications of Controlled Release，Langer與Wise (eds.)，1974，CRC Pres.，Boca Raton，Fla。在又另一具體實施例中，控釋系統可置於組成物之標靶附近，因此僅需全身劑量之一部分(參見，例如，Goodson，1984，in Medical Applications of Controlled Release，同上，第2卷，第115-138頁)。在Langer，1990，Science 249:1527-1533之回顧文獻中討論了其他的控釋系統。

【0085】 含有本文揭示之高濃度抗體製劑的任何遞輸裝置亦落入本發明之範疇內。

【0086】 II. 高濃度抗體製劑之治療應用

【0087】 為了實施本文揭示之方法，經由適用之途徑(如皮下注射或肌肉注射)，可將一有效量之本文揭示之任何高濃度的抗IgE抗體製劑投予有治療需求之個體(例如，人類)。

【0088】 欲藉由本文所述方法治療之個體可為哺乳類動物，更佳為人類。哺乳類動物包括但不侷限於，農場動物、運動動物、寵物、靈長類動物、馬、狗、貓、小鼠及大鼠。需要治療之人類個體可為患有、處於風險中或疑似患有IgE相關聯之病症(例如，過敏性氣喘，以及本領域已知及/或本文揭示之其他病症)的人類患者。可藉由常規醫學檢查(例如，實驗室測試)鑑定患有IgE相關聯之病症(如過敏性氣喘)的個體。疑似患有IgE相關聯之病症的個體可能表現出一或多種病症的症狀，例如，IgE量升高及/或對過敏原及/或抗原的高反應性。處於病症風險中之個體可為具有所述病症之一或多個危險因子的個體。

【0089】 示例性IgE相關聯之病症包括但不侷限於，氣喘、過敏性鼻炎、高IgE症候群、異位性皮膚炎、寒冷引起之蕁麻疹、慢性蕁麻疹、膽鹼性蕁麻疹、慢性鼻竇炎、全身性肥胖細胞增多症、皮膚肥胖細胞增多症、過敏性支氣管與肺的麴菌病、復發之特發性血管性水腫與間質性膀胱炎、嗜酸性細胞相關之胃腸道病症、食物過敏或藥物過敏。在一些實例中，目標IgE相關聯之病症為異位性皮膚炎。

【0090】 本文中使用的「有效量」意指單獨或與一或多種其他活性劑組合時賦予個體治療效果所需之每一活性劑的量。如本領域技術人員所知，有效量取決於所治療之特定病況、病況之嚴重程度、個體患者參數(包括年齡、身體狀況、大小、性別及體重)、治療期間、同步治療(若有)之性質、特定投予途徑及健康從業人員之知識與專長範圍內的類似因素。彼等因素對於本領域普通技術人員而言係熟知，並可藉由不逾越常規之實驗而解決。一般而言較佳為使用最大劑量之個別組分或其組合，亦即，根據合理醫學判斷之最高安全劑量。然而，本領域普

通技術人員將理解，患者可能出於醫學原因、心理原因或幾乎任何其他原因而堅持較低劑量或可耐受劑量。

【0091】經驗考量(如半衰期)通常將有助於確定劑量。舉例而言，與人類免疫系統兼容之抗體(如人源化抗體或完整人類抗體)可用於延長抗體之半衰期並防止抗體受宿主免疫系統之攻擊。在治療過程中可確定與調整投予頻率，且一般而言，但不一定，根據IgE相關聯病症之治療及/或抑制及/或改善及/或延緩。或者，抗CεmX抗體之持續連續釋放製劑可能合適。用於達成持續釋放之各種製劑與裝置為本領域已知。

【0092】在一實例中，本文所述之抗CεmX抗體之劑量可在已給予一或多次投予之抗CεmX抗體的個體中憑經驗確定。給予個體劑量漸增之抗CεmX抗體。為了評估抗CεmX抗體之功效，可遵循IgE (如IgE之量)相關聯之病症指標。

【0093】針對本發明之目的，抗CεmX抗體之合適劑量將取決於所使用之特定抗CεmX抗體(或其組成物)、IgE相關聯病症之類型與嚴重程度、抗體之投予是否用於預防或治療之目的、先前之療法、患者之臨床病史及對抗體之反應，以及主治醫師之判斷。典型上，臨床醫師將投予抗CεmX抗體(如FB825)，直到劑量達到所需之結果。抗CεmX抗體之投予可為連續性或間歇性，其取決於，例如，接受者之生理狀況、投予之目的為治療性或預防性，以及技術人員已知之其他因素。

【0094】在一些具體實施例中，本文所述之抗CεmX抗體(例如，FB825)係以足以將總IgE量降低至少20% (例如，30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或更大)之量投予有治療需求之個體。

【0095】本文中使用的「治療」乙詞意指將包括一或多種活性劑之組成物施加或投予個體，所述個體患有IgE相關聯之疾病、IgE相關聯疾病之症狀或易染病之體質，目的在於治療、治癒、減輕、緩解、改變、補救、改善、改進或影響疾病、疾病之症狀或易染病之體質。

【0096】緩解IgE相關聯之疾病包括延緩疾病之發展或進展，或降低疾病嚴重程度。緩解疾病並不一定需要治癒的結果。本文中使用的「延遲」疾病(如IgE相關聯之疾病)之發展意指推遲、阻礙、減緩、延緩、穩定及/或延後疾病之進展。此延遲可為不同的時間長度，其取決於疾病之病史及/或欲接受治療之個體。相較於不使用所述方法，「延遲」或減輕疾病發展或延遲疾病發作之方法為在一給定之時間範圍內降低疾病之一或多種症狀發展的可能性及/或在一給定之時間範圍內降低症狀之程度的方法。此類比較通常根據臨床研究，使用的個體數量足以給出統計學上顯著的結果。

【0097】疾病之「發展」或「進展」意指疾病之初始表現及/或後續進展。可使用本領域熟知之標準臨床技術檢測與評估疾病之發展。然而，發展亦指可能無法察覺的進展。針對本發明之目的，發展或進展意指症狀之生物學過程。「發展」包括發生、復發及發作。本文中使用的IgE相關聯疾病之「發作」或「發生」包括初始發作及/或復發。

【0098】為了進行本文所述之方法，任何抗CεmX抗體(如FB825)可經由適用途徑(例如，靜脈輸注或皮下注射)以單劑量或多劑量給予有治療需求之個體(例如，人類患者)。每次投予之抗CεmX抗體的劑量範圍可為從約0.5 mg/kg至約25 mg/kg (例如，約1 mg/kg至約20 mg/kg、約5 mg/kg至約15 mg/kg或約10 mg/kg至約20 mg/kg)，取決於各種因素，包括本文所述之該等。針對數天或更長時間內

之重複投予，取決於病況，治療持續至出現所需之症狀抑制或直至達到足夠之治療量，以減輕IgE相關聯之病症或其症狀。

【0099】 抗CεmX抗體(例如，FB825)之投予在預選之時間段內可能基本上是持續的或可為一系列之間隔劑量，例如，在發展為IgE相關聯之病症之前、期間或之後。示例性投劑方案包含投予有治療需求之個體第一劑之抗CεmX抗體(例如，以3 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg、15 mg/kg、20 mg/kg或25 mg/kg)，隨後在第一劑之後至少3個月(例如，4個月、5個月或6個月)投予第二劑之抗體。第二次投予之劑量可高於、相同或低於第一次投予。其他劑量方案可能適用，其取決於醫師期望達到的藥物動力學衰減樣貌。

【0100】 在一些具體實施例中，可給予有治療需求之個體(例如，患有IgE相關聯過敏性病症(如異位性皮膚炎)之人類患者)第一劑之適用量(例如，以3 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg、15 mg/kg、20 mg/kg或25 mg/kg)之抗體。隨後，定期監控個體IgE相關聯病症之指示症狀，例如，過敏反應及/或總IgE量升高。當觀察到此症狀時，可給予個體第二劑之抗體。第一劑與第二劑可至少相隔三個月(例如，相隔3個月、相隔4個月、相隔5個月、相隔6個月、相隔9個月或相隔12個月)投予個體。

【0101】 在一些具體實施例中，給予有治療需求之個體(例如，患有IgE相關聯過敏性病症(如異位性皮膚炎)之人類患者)僅一劑高濃度抗體製劑。抗體製劑可包含抗IgE抗體FB825。

【0102】 亦落入本發明範疇內的是以任何抗CεmX抗體對IgE相關聯病症之預防性治療，以降低發生此病症之風險。適用於此一預防性治療之個體可為患有IgE相關聯病症之病史及/或IgE相關聯病症之家族史之人類患者。

【0103】 醫學領域之普通技術人員已知之常規方法可用於將醫藥組成物投予個體，其取決於欲治療之疾病類型或疾病之部位。此組成物亦可經由其他常規途徑投予，例如，口服、非經口、藉由吸入噴霧、局部、直腸、鼻腔、口頰、陰道或經由植入之儲液投予。本文中使用的「非經口」乙詞包括皮下、皮內、靜脈、肌肉、關節內、動脈、滑膜、胸骨內、鞘內、病灶內及顱內注射或輸注技術。此外，其可經由可注射貯庫投予途徑(如使用1、3或6個月貯庫可注射或可生物降解材料與方法)投予個體。

【0104】 在本文所述方法中使用之特定投劑方案(亦即，劑量)、時間及重複數將取決於特定個體及所述個體之醫療史。本文所述之任何抗CεmX抗體可與其他藥劑(例如，用於治療IgE相關聯病症之其他藥劑)結合使用，以增進及/或補充藥劑之有效性。

【0105】 在一些具體實施例中，本文所述之抗CεmX抗體(例如，FB825)係用於治療如以下之異位性皮膚炎。異位性皮膚炎亦稱為濕疹(eczema)，特徵為發紅及/或發癢的慢性皮膚病。在兒童很常見，但可發生在任何年齡。需要治療之患者可藉由常規醫療實施確定其具有一或多種異位性皮膚炎之症狀，包括皮膚乾燥、瘙癢、紅色至棕灰色斑塊、小而隆起之腫塊，其在抓傷時可能滲出液體並結痂、增厚、開裂、鱗片狀的皮膚，及/或由於抓傷而產生之皮膚粗糙、敏感、腫脹。在一些情況下，可經由常規實施而檢查候選個體之總IgE量與過敏原特異性IgE量。候選個體之IgE量(例如，總 IgE、過敏原特異性IgE或兩者)高於正常量(代表相同物種之個體(例如，不具有異位性皮膚炎或IgE相關聯之其他過敏性病症的人類)之平均IgE量)。

【0106】經由本文所述之常規途徑，可給予需要治療之人類患者第一劑之抗體，其範圍為從3 mg/kg至8 mg/kg。在一些情況下，第一劑為5 mg/kg。在第一劑之後，可監控患者之總IgE量。若在第一劑之後3-4週IgE量之降低小於50%，則在第一劑之後3-4週可給予患者第二劑之抗體。第二劑可與第一劑相同，或低於第一劑。在一些情況下，第一劑與第二劑兩者皆為5 mg/kg，並在1-2小時內經由IV輸注投予。在治療過程中亦可監控其他表明功效及/或安全性的生物標記。此類生物標記包括但不侷限於，胸腺與活化調節之趨化激素(TARC)、Eotaxin-3、胸腺基質淋巴細胞生成素(TSLP)、骨膜蛋白(periostin)、IL-1a、IL-4、IL-5、IL-13、IL-16、IL-31、M-CSF或其組合。

【0107】進行上述治療之人類患者可能患有慢性異位性皮膚炎長達至少3年，如藉由常規醫療實施之診斷，例如，由Hannifin與Rajka之Eishenfield修訂標準所定義，並由過敏原特異性IgE陽性所支持。患者可能具有下列一或多項特徵：(i)濕疹面積與嚴重程度指數(EASI)積分大於14，(ii)研究人員之整體評估(IGA)積分大於3 (5分制)，(iii)大於10%之身體表面積(BSA)，(iv)在治療之前至少一個月或至少三個月對局部皮質類固醇類或鈣調神經磷酸酶(calcineurin)抑制劑之穩定治療方案有不適當反應的病史。此外，在治療之前可每天兩次給予人類患者穩定劑量之潤膚劑(emollient)至少7天。

【0108】在一些具體實施例中，用於本文揭示之治療的個體為具有低IgG4量(例如，低血清IgG4量)之人類患者。若有需要，IgE量與IgG4量係一起測量。人類患者可能患有或疑似患有IgE相關聯之過敏性病症，如異位性皮膚炎。

【0109】可使用本領域已知之方法檢測體液(如血清)中之IgG4，例如，在WO2019/089978中討論之定量試驗，包括酶聯免疫吸附試驗(ELISA)；鹼性磷酸

酶免疫試驗自動分析儀，如EVEVIULITE[®]系統(Siemens Healthcare Diagnostics，Erlangen，Germany)；放射性過敏吸附測試(RAST)或螢光酶免疫試驗自動分析儀，如ImmunoCAP[®]系統(Thermo Fisher Scientific/Phadia，Uppsala，Sweden)。額外之適用方法，包括螢光酶免疫試驗(FEIA)自動分析儀(例如，ImmunoCAP[®]系統)。可使用另外的技術，係因由所述技術確定之抗體(例如，IgE或IgG4)量可藉由螢光酶免疫試驗自動分析儀而標準化為測量值。亦即，抗體(例如，IgE或IgG4)之量可藉由技術確定，並可對應於藉由螢光酶免疫試驗自動分析儀測量之量。生物標記之量較佳為以體外方式確定。

【0110】 由候選患者獲得的IgG4量可與預定值進行比較，其代表區分對抗IgE療法產生反應之患者相對於對所述療法產生不良反應之患者的IgG4量。此一預定值可根據抗IgE療法反應者與抗IgE療法非反應者之代表性IgG4量的分析結果提出。預定值可考量與個體匹配之生理特徵，例如，年齡、性別、種族背景等。

【0111】 在一些情況下，本文所述之抗CemX抗體(例如，FB825)可與保濕劑(例如，以穩定之劑量，如每天至少兩次)及/或局部皮質類固醇(TCS)共同使用。中效TCS可施加於具有活性病變之區域，且在病變得到控制之後轉為低效TCS。若病變再次發生，則可以逐步降級(step-down)之方法恢復中效TCS的治療。若在以中效TCS進行每日治療之後病變持續存在或惡化，則可使用高效或超高效TCS，除非其被視為不安全。低效TCS可用於皮膚薄之區域(例如，面部、頸部、擦傷部位、生殖器區域或皮膚萎縮區域)或中效TCS之持續使用被視為不安全的區域。

【0112】 具有低效、中效、高效或超高效的TCS為本領域熟知。示例性中效TCS包括0.05%氟替皮質醇丙酸酯乳膏、0.1%糠酸莫美他松乳膏或0.06%戊酸

貝皮質醇乳膏。示例性低效TCS包括1%氫皮質酮乳膏。示例性高效TCS可為0.05%氟洛奈皮質醇乳膏或0.25%去羥米松(desomimetasone)乳膏。示例性超高效TCS可為0.05%丙酸氫貝皮質醇乳膏。

【0113】 在一些情況下，進行本文所述治療之患者係未接受一或多種下列療法：(i)局部他克莫司(tacrolimus)與吡美莫司(pimecrolimus)，(ii)皮質類固醇之全身性治療，(iii)白三烯抑制劑，(iv)過敏原免疫療法，(v)免疫抑制劑或免疫調節劑(例如，環孢素、黴酚酸酯-莫非替(mycophenolate-mofetil)、IFN- γ 、硫唑嘌呤、胺甲喋呤或生物製劑)之全身性治療，(vi)活(例如，減毒)疫苗，及/或(vii)傳統中藥。患者亦可未經歷任何外科手術及/或紫外線程序。

【0114】 本文所述之任何方法可進一步包含在第一劑之後評估個體中之血紅素下降、上呼吸道感染、尿道感染或其組合的發生。若觀察到發生一或多次，則可減少第二劑之抗C ϵ mX抗體(例如，FB825)的量。或者，可停止治療。

【0115】 III. 用於治療IgE相關聯病症之套組

【0116】 本發明亦提供用於以本文揭示之任何高濃度抗體製劑治療IgE相關聯病症之套組。此類套組可包括一或多個包含高濃度抗體製劑(例如，包含約150 mg/ml之抗體(如FB825)、約10 mM之組胺酸、約1.25%之胺基酸、約75 mM之氯化鈉及約0.01%之聚山梨醇酯80的製劑)的容器。

【0117】 在一些具體實施例中，套組可包含根據本文所述之任何方法的使用說明書。所包括之說明書可包含根據本文所述之任何方法而投予高濃度抗體製劑以治療、延遲發作或減輕IgE相關聯病症的描述。套組可進一步包含根據鑑定個體是否患有病症、疑似患有病症或處於病症風險而選擇適合治療之個體的

描述。在又其他具體實施例中，說明書包含投予有治療需求之個體高濃度抗體製劑以降低發展為IgE相關聯病症之風險的描述。

【0118】 與高濃度抗體製劑之使用有關的說明書一般而言包括用於預期治療之劑量、投劑方案及投予途徑的資訊。容器可為單位劑量、大包裝(例如，多劑量包裝)或次單位劑量。本發明套組中提供之說明書典型上為標籤或包裝插頁(例如，包括在套組中之紙張)上之書面說明書，但亦可接受機器可讀取之說明(例如，儲存磁碟或光碟上附帶之說明)。

【0119】 標籤或包裝插頁表明所述組成物用於治療、延遲發作及/或減輕IgE相關聯之病症。可提供用於實施本文所述之任何方法的說明書。

【0120】 本發明之套組係在適用之包裝中。適用之包裝包括但不侷限於，小瓶、瓶、罐、軟質包裝(例如，密封之邁拉(Mylar)或塑料袋)及其類似物。亦考量與特定裝置(如吸入器、鼻投予裝置(例如，霧化器)或輸液裝置(如微型泵))組合使用的包裝。

【0121】 套組可任意提供額外之組分，如緩衝液與解釋資訊。正常情況下，套組包含容器及在容器上或與容器相關之標籤或包裝插頁。在一些具體實施例中，本發明提供包含上述套組之內容物的製品。

【0122】 一般技術

【0123】 除非另有說明，否則本發明之實施將採用分子生物學(包括重組技術)、微生物學、細胞生物學、生物化學及免疫學之常規技術，其落入本領域之技術範圍內。此類技術係充分解釋於文獻中，如*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*，第二版(Sambrook等人，1989) Cold Spring Harbor Press；*Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait，ed.，1984)；*Methods in Molecular Biology*，Humana Press；

Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis , ed. , 1989) Academic Press ; *Animal Cell Culture* (R. I. Freshney , ed. , 1987) ; *Introuction to Cell and Tissue Culture* (J. P. Mather與P. E. Roberts , 1998) Plenum Press ; *Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures* (A. Doyle, J. B. Griffiths及D. G. Newell , eds. , 1993-8) J. Wiley and Sons ; *Methods in Enzymology* (Academic Press, Inc.) ; *Handbook of Experimental Immunology* (D. M. Weir and C. C. Blackwell , eds.) ; *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells* (J. M. Miller and M. P. Calos , eds. , 1987) ; *Current Protocols in Molecular Biology* (F. M. Ausubel等人 , eds. , 1987) ; *PCR: The Polymerase Chain Reaction* (Mullis等人 , eds. , 1994) ; *Current Protocols in Immunology* (J. E. Coligan等人 , eds. , 1991) ; *Short Protocols in Molecular Biology* (Wiley and Sons , 1999) ; *Immunobiology* (C. A. Janeway and P. Travers , 1997) ; *Antibodies* (P. Finch , 1997) ; *Antibodies: a practice approach* (D. Catty. , ed. , IRL Press , 1988-1989) ; *Monoclonal antibodies: a practical approach* (P. Shepherd and C. Dean , eds. , Oxford University Press , 2000) ; *Using antibodies: a laboratory manual* (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press , 1999) ; *The Antibodies* (M. Zanetti and J. D. Capra , eds. , Harwood Academic Publishers , 1995) ; *DNA Cloning: A practical Approach* , Volumes I and II (D.N. Glover , ed. , 1985) ; *Nucleic Acid Hybridization* (B.D. Hames & S.J. Higgins , eds.(1985) ; *Transcription and Translation* (B.D. Hames & S.J. Higgins , eds. (1984) ; *Animal Cell Culture* (R.I. Freshney , ed. (1986) ; *Immobilized Cells and Enzymes* (IRL Press (1986) ; 以及B. Perbal , *A practical Guide To Molecular Cloning* (1984) ; F.M. Ausubel等人(eds.) 。

【0124】 在未進一步闡述之情況下，據信本領域之技術人員可根據上述充分利用本發明。因此，下列特定具體實施例應解釋為僅具說明性，且不得以任何方式侷限本發明之其餘部分。出於本文所引用之目的或主題，本文引用之所有出版品皆併入本案以作為參考資料。

【0125】 實施例1：篩選適用之界面活性劑

【0126】 使用10 kDa MWCO離心濃縮器，將FB825濃縮至10 mg/ml，隨後摻入各種候選界面活性劑至最終所需濃度。在室溫下將所得製劑攪拌4小時，隨後以SEC-HPLC與微流成像(Micro-Flow Imaging，MFI)進行分析。利用來自Brightwell Technologies之MFI儀器收集低可見顆粒之尺寸測量值與計數值。將數位濾波器應用於MFI數據以排除氣泡或靜態顆粒。

【0127】 本研究調查三種表面活性劑，包括聚山梨醇酯80 (P80，0.01%)、聚山梨醇酯20 (P20，0.01%)及Pluronic F68 (F68，0.1%)。MFI分析顯示，不具有界面活性劑之攪拌樣品顯示顆粒累積，而添加界面活性劑減少顆粒累積。0.01%之聚山梨醇酯80顯示最低之顆粒數。

【0128】 實施例2：篩選適用之緩衝液與張力調節劑

【0129】 在本實施例中研究多種緩衝試劑(乙酸鹽、組胺酸及磷酸鹽)、pH值條件(pH 4.0、5.0、6.0、7.0及8.0)及張力調節劑(氯化鈉與山梨糖醇)以確定用於產生穩定FB825配方之任意組分與濃度。下表1列出本實施例中測試之各種F825製劑的組分。

【0130】 表1. 測試之FB825製劑

製劑	緩衝液	pH	張力調節劑	界面活性劑 PS80 (%)
----	-----	----	-------	----------------

A4N	10 mM 乙酸钠	4.0	150 mM NaCl	0.01
A4S	10 mM 乙酸钠	4.0	5%山梨糖醇	0.01
A5N	10 mM 乙酸钠	5.0	150 mM NaCl	0.01
A5S	10 mM 乙酸钠	5.0	5%山梨糖醇	0.01
H6N	10 mM 组胺酸	6.0	150 mM NaCl	0.01
H6S	10 mM 组胺酸	6.0	5%山梨糖醇	0.01
P6N	10 mM 磷酸钠	6.0	150 mM NaCl	0.01
P6S	10 mM 磷酸钠	6.0	5%山梨糖醇	0.01
P7N	10 mM 磷酸钠	7.0	150 mM NaCl	0.01
P7S	10 mM 磷酸钠	7.0	5%山梨糖醇	0.01
P8N	10 mM 磷酸钠	8.0	150 mM NaCl	0.01
P8S	10 mM 磷酸钠	8.0	5%山梨糖醇	0.01

【0131】 使用SEC-HPLC分析，檢查上表1中所列製劑在下表2中提供之攪拌、冷凍/解凍、光敏性及溫度條件下的穩定性。

【0132】 表2. 用於穩定性測試之條件

壓力條件與分析時間點		
壓力	條件	時間點
攪拌	旋渦	4 小時
冷凍/解凍	-70℃ 至環境溫度	5 個連續循環
光敏性	廣譜紫外光暴露	24 小時
溫度	-20℃ ； 5℃ ； 25℃ ； 40℃	0、1、2、4、8 週

【0133】 結果顯示，在上述測試條件下，含有10 mM組胺酸、150 mM NaCl、0.01% PS80 (pH 6.0)之製劑(H6N)表現出最佳穩定性。舉例而言，製劑H6N在40℃下保持8週後表現出最佳穩定性。表3。

【0134】 表3. 穩定性測試 – 溫度(40℃，歷經8週)

壓力	製劑	SEC-HPLC 分析			SCX-HPLC 分析		
		HMW (%)	主 要 尖 峰(%)	LMW (%)	酸 性 尖 峰(%)	主 要 尖 峰(%)	鹼 性 尖 峰(%)
40℃，歷 經 8 週	DS 對照組	0.3	98.9	0.8	27.2	61.1	11.6
	A4N	0.0	19.2	80.7	60.1	13.4	24.1
	A4S	0.1	76.3	19.5	58.4	19.4	21.7
	A5N	0.6	86.8	12.2	51.4	27.8	20.8
	A5S	0.5	93.6	5.3	57.9	27.7	14.3
	H6N	0.6	96.2	3.3	50.1	37.5	12.4
	H6S	0.5	96.0	3.5	57.3	30.5	12.2
	P6N	0.6	95.1	4.3	54.4	33.6	11.9
	P6S	0.6	96.1	3.4	61.6	28.0	10.4
	P7N	0.9	94.9	4.1	76.3	15.3	8.2
	P7S	0.9	95.2	3.8	76.0	15.2	8.8
	P8N	1.3	93.9	4.8	88.9	6.0	4.7
	P8S	1.1	94.5	4.4	82.6	11.8	5.6

【0135】 實施例3：篩選胺基酸賦形劑、穩定劑及pH值條件

【0136】 使用10 kDa MWCO離心濃縮器，將FB825濃縮至約200 mg/ml (20 mg/ml之FB825儲液，溶於20 mM組胺酸、140 mM NaCl及0.02% PS80 (pH 6.5)中)。濃縮之FB825製劑以10 mM組胺酸、75 mM NaCl (pH 6.0)與0.01% PS80或10 mM 組胺酸(pH 6.0)與0.01% PS80進行透析，以篩選穩定劑與pH值效用。將透析樣品濃縮至約200 mg/ml FB825，並用於鑑定任意之胺基酸賦形劑、穩定劑及pH值條件。

【0137】 (i) 篩選胺基酸賦形劑

【0138】 在將製劑保持在50℃下48小時之後，檢查各包含下表5所列19種胺基酸之一者之FB825製劑的物理特徵，其亦列於表4中。

【0139】 表4. 用於胺基酸賦形劑篩選之條件

19 種不同的胺基酸賦形劑	
時間與溫度	分析方法
50℃，48 小時	濁度(A ₆₅₀)
	滲透壓
	SEC-HPLC
	DLS

【0140】 結果顯示於下表5中。

【0141】 表5. 胺基酸賦形劑篩選

胺基酸 (w/v)	pH	緩衝液	張力 調節劑	界面活性劑	FB825 (mg/ml)	濁度(A ₆₅₀)	HMW (%)	主 要 尖 峰 (%)	LMW (%)
無	6.0	10 mM 組 胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	10	NA	0.5	99.5	0.0
無	6.0	10 mM 組 胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	10	NA	0.5	99.5	0.0
無	6.0	10 mM 組 胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	NA	0.9	99.1	0.0
無	6.0	10 mM 組 胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.001	1.8	98.1	0.1
1.25% L- Ala	6.0	10 mM 組 胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.004	1.7	98.2	0.1
1.25% L- Arg	6.0	10 mM 組 胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.003	1.4	98.5	0.1
0.75% L- Asn	6.0	10 mM 組 胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.006	1.5	98.4	0.1

0.2% L-Asp	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.003	2.0	97.9	0.1
0.5% L-Gln	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.003	1.9	98.0	0.1
0.225% L-Glu	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.004	1.8	98.1	0.2
1.25% L-Gly	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.003	1.4	98.5	0.1
1.0% L-His	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.003	1.7	98.1	0.3
0.75% L-Ile	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.002	1.6	98.3	0.1
0.5% L-Leu	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.002	1.7	98.2	0.2
1.25% L-Lys	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.002	1.4	98.5	0.1
0.75% L-Met	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.002	1.5	98.3	0.1
0.625% L-Phe	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.003	1.6	98.3	0.1
1.25% L-Pro	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.003	1.7	98.2	0.1
1.25% L-Ser	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.002	1.4	98.4	0.1
1.25% L-Thr	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.002	1.4	98.5	0.1
0.25% L-Trp	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.003	1.6	98.3	0.1
0.0125% L-Tyr	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.002	1.7	98.1	0.1
1.25% L-Val	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.002	1.5	98.3	0.1

【0142】 如上表4所示，精胺酸、甘胺酸、離胺酸、絲胺酸及蘇胺酸在本試驗中證實優異之物理穩定性。

【0143】 (b) 篩選穩定劑與pH值條件

【0144】 檢查下表7中所列製劑(包含各種穩定劑與pH值條件)之物理穩定性特徵，其列於下表6中。結果如表7與表8所示。

【0145】 表6. 用於穩定劑與pH值條件篩選之條件

穩定劑與 pH 值條件	
時間與溫度	分析方法
55°C ， 48 小時	濁度(A ₆₅₀)
	滲透壓
	SEC-HPLC

【0146】 表7. 穩定劑與pH值條件篩選 – SEC-HPLC

製劑代碼	胺基酸(w/v)	穩定劑(w/v)	pH	緩衝液	張力調節劑	界面活性劑	FB825 (mg/ml)	SEC-HPLC 主要尖峰 (%)
C20	無	無	6	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	20	98.8
C150	無	無	6	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.5
R5.5	1.25% L-Arg	無	5.5	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	98.1
G5.5	1.25% L-Gly	無	5.5	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.8
K5.5	1.25% L-Lys	無	5.5	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.8
S5.5	1.25% L-Ser	無	5.5	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.8

T5.5	1.25% L-Thr	無	5.5	10 mM 組 胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.8
R6.0	1.25% L-Arg	無	6.0	10 mM 組 胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.9
G6.0	1.25% L-Gly	無	6.0	10 mM 組 胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.8
K6.0	1.25% L-Lys	無	6.0	10 mM 組 胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.8
S6.0	1.25% L-Ser	無	6.0	10 mM 組 胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.8
T6.0	1.25% L-Thr	無	6.0	10 mM 組 胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	98.0
R6.5	1.25% L-Arg	無	6.5	10 mM 組 胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.9
G6.5	1.25% L-Gly	無	6.5	10 mM 組 胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.7
K6.5	1.25% L-Lys	無	6.5	10 mM 組 胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.7
S6.5	1.25% L-Ser	無	6.5	10 mM 組 胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.7
T6.5	1.25% L-Thr	無	6.5	10 mM 組 胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.7
TT6.0	2.5% L- Thr	無	6.0	10 mM 組 胺酸	無	0.01% PS80	150	97.8
Suc5.5	無	5%蔗糖	5.5	10 mM 組 胺酸	無	0.01% PS80	150	97.3
Sor5.5	無	2.5%山 梨 糖醇	5.5	10 mM 組 胺酸	無	0.01% PS80	150	97.3
Tre5.5	無	5%海藻糖	5.5	10 mM 組 胺酸	無	0.01% PS80	150	97.0
Suc6.0	無	5%蔗糖	6.0	10 mM 組 胺酸	無	0.01% PS80	150	97.1

Sor6.0	無	2.5%山 梨糖醇	6.0	10 mM 組胺酸	無	0.01% PS80	150	97.0
Tre6.0	無	5%海藻糖	6.0	10 mM 組胺酸	無	0.01% PS80	150	97.1
Suc6.5	無	5%蔗糖	6.5	10 mM 組胺酸	無	0.01% PS80	150	96.9
Sor6.5	無	2.5%山 梨糖醇	6.5	10 mM 組胺酸	無	0.01% PS80	150	96.8
Tre6.5	無	5%海藻糖	6.5	10 mM 組胺酸	無	0.01% PS80	150	96.7

【0147】 在本研究中，相較於相應之非穩定劑製劑，含有測試穩定劑(蔗糖、山梨糖醇或海藻糖)之製劑顯示相對較低之主要尖峰百分比。製劑R5.5、T6.0及R6.5顯示最高之主要尖峰百分比，表明在55℃下培養48小時之後有高穩定性。所有含精胺酸之製劑皆顯示高的主要尖峰百分比與低的HMW尖峰百分比，表明彼等製劑之穩定性(例如，些許降解與聚集)。

【0148】 表8. 穩定劑與pH值條件篩選 – 滲透壓

製劑代碼	mOsm 理論值	mOsm 測量值	製劑代碼	mOsm 理論值	mOsm 測量值
C20	180	155	K6.5	378	348
C150	310	311	S6.5	405	365
R5.5	367	364	T6.5	394	354
G5.5	443	404	TT6.0	369	335
K5.5	378	356	Suc5.5	306	279
S5.5	405	362	Sor5.5	297	240
T5.5	394	353	Tre5.5	292	255
R6.0	367	377	Suc6.0	306	253

G6.0	443	392	Sor6.0	297	270
K6.0	378	351	Tre6.0	292	265
S6.0	405	353	Suc6.5	306	274
T6.0	394	337	Sor6.5	297	243
R6.5	367	364	Tre6.5	292	254
G6.5	443	414			

【0149】 所有製劑呈現出滲透壓值與理論值相當。大多數製劑接近等張，伴隨些微變異。

【0150】 (c) 壓力優化篩選

【0151】 將高濃度FB825製劑(~150 mg/ml)儲存在45°C下長達2週或儲存在55°C下1週。隨後，藉由SEC-HPLC分析彼等樣品。如下表9所示，儲存在45°C下長達2週之製劑顯示主要尖峰值無顯著變化，而儲存在55°C下1週之製劑顯示主要尖峰百分比下降更大(~4%)。

【0152】 表9. 壓力優化篩選

樣品	培養(□)	HMW (%)	主要尖峰(%)	LMW (%)
C150 T=0	NA	2.1	95.4	2.4
C150 T=1 週，45□	45□	3.1	93.3	3.6
C150 T=2 週，45□	45□	3.6	93.4	3.0
C150 T=1 週，55□	55□	4.8	91.5	3.8

【0153】 此外，表10所列製劑在55°C下保持1週之後進行相同的穩定性分析，其結果如表11所示。

【0154】 表10. 用於壓力優化篩選之製劑

製劑代碼	胺基酸 (w/v)	pH	緩衝液	張力調節劑	界面活性劑	FB825
------	-----------	----	-----	-------	-------	-------

						(mg/ml)
C20	無	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	20
C150	無	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
R5.5	1.25% L-Arg	5.5	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
G5.5	1.25% L-Gly	5.5	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
K5.5	1.25% L-Lys	5.5	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
S5.5	1.25% L-Ser	5.5	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
T5.5	1.25% L-Thr	5.5	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
R6.0	1.25% L-Arg	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
G6.0	1.25% L-Gly	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
K6.0	1.25% L-Lys	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
S6.0	1.25% L-Ser	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
T6.0	1.25% L-Thr	6.0	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
R6.5	1.25% L-Arg	6.5	10 mM 組胺酸	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
TT6.0	2.50% L-Thr	6.0	10 mM 組胺酸	無	0.01% PS80	150
RR6.0	2.50% L-Arg	6.0	10 mM 組胺酸	無	0.01% PS80	150

【0155】 表11. 壓力優化篩選結果

製劑代碼	培養(55□)	濁度(A ₆₅₀)	HMW (%)	主要尖峰(%)	LMW (%)
C20 T=0 , 55□	NA	NA	0.8	99.2	0.0
C20 T=1 週 , 55□	55□	0.001	1.4	97.6	1.0
C150 T=0 , 55□	NA	NA	0.8	99.2	0.0
C150 T=1 週 , 55□	55□	0.004	4.7	94.4	0.9
R5.5 T=1 週 , 55□	55□	0.008	3.0	96.2	0.9
RR6.0 T=1 週 , 55□	55□	0.003	3.3	95.7	1.0
R6.0 T=1 週 , 55□	55□	0.004	3.4	95.6	1.0
K5.5 T=1 週 , 55□	55□	0.004	3.6	95.5	1.0
R6.5 T=1 週 , 55□	55□	0.004	3.7	95.3	1.0
K6.0 T=1 週 , 55□	55□	0.003	3.8	95.3	0.9
T5.5 T=1 週 , 55□	55□	0.004	3.9	95.1	1.0
G5.5 T=1 週 , 55□	55□	0.003	4.0	95.1	1.0
G6.0 T=1 週 , 55□	55□	0.004	4.0	95.0	1.0
S5.5 T=1 週 , 55□	55□	0.004	4.4	94.5	1.0
T6.0 T=1 週 , 55□	55□	0.003	4.5	94.5	1.0
S6.0 T=1 週 , 55□	55□	0.004	4.7	94.4	1.0
TT6.0 T=1 週 , 55□	55□	0.004	5.0	94.0	1.1

【0156】 如表11所示，含精胺酸之製劑在壓力優化篩選試驗中表現出最高的穩定性。含精胺酸之製劑(R5.5、R6.0及RR6.0)係澄清，呈現低濁度值，且等張。彼等製劑在可注射性研究中亦顯示良好的可注射特徵。

【0157】 實施例4. 高濃度製劑之加速穩定性評估

【0158】 在表12所示條件下之加速穩定性測定中進一步研究製劑C150、R5.5、R6.0及RR6.0。

【0159】 表12. 用於加速穩定性分析之條件

壓力	條件	時間點
溫度	-20℃；5℃；25℃；40℃	0、2、4、8 週
攪拌	旋渦	4 小時
冷凍/解凍	-70℃至室溫	5 個連續循環
光敏性	紫外光暴露(廣譜)	8 瓦小時/平方公尺

【0160】 SEC-HPLC分析表明，製劑在藉由攪拌與冷凍/解凍處理之後未觀察到顯著變化。此外，在紫外光暴露之後，四種製劑之間未觀察到顯著差異。此外，製劑R5.5、R6.0及RR6.0顯示極佳之物理穩定性，且在彼等三種製劑之間未觀察到顯著純度差異。

【0161】 實施例5. 長期穩定性評估

【0162】 如表13所示，藉由目視檢查、蛋白濃度(A₂₈₀)、pH值、滲透壓、SEC-HPLC、SCX-HPLC及SDS-PAGE，進行製劑C10、R6.0及RR6.0之長期穩定性分析。

【0163】 表13. 長期穩定性評估

壓力	條件	時間點
溫度	-70℃	1、3、6、9、12、18 及 24 個月

	5℃	0、1、3、6、9、12、18 及 24 個月
	25℃	1、3 及 6 個月
	40℃	1 與 3 個月

【0164】 SEC-HPLC方法係於下列條件下進行：

- 管柱：Tosoh TSK-Gel G3000W_{XL}，7.8 mm ID X 30 cm，5 μm P/N 08541
- 移動相：4X Dulbecco’s PBS (pH 7.3)
- 儀器：Agilent 1100 HPLC系統
- 流速：0.4 ml/min
- 管柱溫度：室溫
- 檢測：280 nm
- 樣品填充量：20 μg (以移動相稀釋)
- 總運行時間：30分鐘

【0165】 SCX-HPLC方法係於下列條件下進行：

- 管柱：Dinoex MabPac SCX-10，4 X 250 mm，10 μm P/N 074625
- 移動相A：20 mM Tris (pH 7.2)
- 移動相A：20 mM Tris與0.2 M NaCl (pH 7.2)
- 儀器：Agilent 1100 HPLC系統
- 流速：0.5 ml/min
- 管柱溫度：40
- 自動進樣器：4
- 檢測：215 nm
- 樣品填充量：50 μg (以移動相A稀釋)

○ 總運行時間：90分鐘

(0166)| 下表14顯示製劑C10、R6.0及RR6.0在兩年期間之SEC-HPLC與SCX-HPLC結果。高濃度製劑R6.0與RR6.0在兩年儲存期內顯示優異之穩定性。

(0167)| 表14. FB825製劑兩年之SEC-HPLC與SCX-HPLC結果

藥名	批號	(%)FB825製劑2年SEC										(%)FB825製劑2年SCX									
		M					D					M					D				
		峰	峰	峰	峰	峰	峰	峰	峰	峰	峰	峰	峰	峰	峰	峰	峰	峰	峰	峰	峰
C10	0.5	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45
	1.5	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45
	2.5	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45
	3.5	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45
	4.5	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45
R6.0	0.5	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45
	1.5	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45
	2.5	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45
	3.5	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45
	4.5	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45
RR6.0	0.5	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45
	1.5	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45
	2.5	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45
	3.5	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45
	4.5	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45	5.75	5.55	5.47	5.55	5.45	5.45	5.35	5.25	5.55	5.45

【0168】 其他具體實施例

【0169】 本說明書中揭示之所有特徵可以任意組合進行組合。本說明書中揭示之每一特徵可由用於相同、等效或類似目的之另外的特徵替代。因此，除非另有明確說明，否則所揭示之每一特徵僅為等效物或類似特徵之通用系列的實例。

【0170】 從上述說明，本領域技術人員可易於確定本發明之基本特徵，且在不背離其精神與範疇之情況下，可對本發明進行各種變化與修改，使其適應各種用途與條件。因此，其他具體實施例亦落入申請專利範圍內。

【0171】 等效內容

【0172】 儘管本文已描述與說明數個創造性具體實施例，但本領域普通技術人員將易於設想各種其他方法及/或結構，以執行功能及/或獲得結果及/或一或多種本文所述之優勢，且此類變異及/或修改之每一者皆被視為落入本文所述之本發明具體實施例之範疇內。更一般而言，本領域技術人員將易於理解，本文所述之所有參數、尺寸、材料及配置皆為示例性，且實際參數、尺寸、材料及/或配置將取決於所使用之本發明教導的具體應用。本領域技術人員將認識到或能僅使用常規實驗而確定本文所述之特定本發明具體實施例之許多等效物。因此，應當理解，前述具體實施例僅作為實例呈現，且在所附申請專利範圍及其等效物之範疇內，可以具體描述與主張以外之方式實施本發明具體實施例。本發明之創造性具體實施例係針對本文所述之每一單獨特徵、系統、物品、材料、套組及/或方法。此外，二或多個此類特徵、系統、物品、材料、套組及/或方法之任何組合，若此類特徵、系統、物品、材料、套組及/或方法不相互矛盾，皆包括在本發明之範疇內。

【0173】 本文所定義與使用之所有定義應理解為控制在字典定義、併入本案以作為參考資料之文獻中之定義及/或所定義術語之普通含義之內。

【0174】 關於各別引用之主題，本文揭示之所有參考資料、專利及專利申請案，皆併入本案以作為參考資料併入，其在一些情況下可涵蓋整份文獻。

【0175】 除非反方面明確指明，否則在本說明書與申請專利範圍中使用的不定冠詞「一」與「一者」應理解為意指「至少一者」。

【0176】 在本說明書與申請專利範圍中使用的片語「及/或」應理解為意指所結合元件之「一或兩者」，亦即，在一些情況下以結合方式存在且在其他情況下以分離方式存在的元件。以「及/或」列出之多個元件應以相同方式解釋，亦即，所結合元件之「一或多者」。除了以「及/或」子句具體標識之元件以外，可任意地存在其他元件，不論與該等具體標識之元件相關或不相關。因此，作為非侷限實例，當與例如「包含」的開放式語言結合使用時，「A及/或B」之引用在一具體實施例中可指僅A (任意地包括B以外之元件)；在另一具體實施例中可指僅B (任意地包括A以外之元件)；在又另一具體實施例中可指A與B兩者(任意地包括其他元件)；等等。

【0177】 在本說明書與申請專利範圍中使用的「或」應理解為與上述定義之「及/或」有相同的含義。舉例而言，當將列表中之項目分隔時，「或」或「及/或」應解釋為具有包容性，亦即，包括至少一，但亦包括超過一，數量之元件或列之元件，以及，任意地，額外未列出之項目。僅就反方面明確指出之項目，如「僅一個」或「確切一個」，或在申請專利範圍中使用時，「由～組成」，將指包括一數量元件或一系列元件之確切一元件。一般而言，當前面帶有排他性術語如「任一者」、「其中一者」、「僅一者」或「確切一者」時，本文中使用的術

語「或」僅應解釋為表明排他性替代品(亦即，「一者或其他而非兩者」)。當在申請專利範圍中使用時，「基本上由～組成」應具有專利法領域中使用之普通含義。

【0178】 在本說明書與申請專利範圍中使用的片語「至少一者」，在提及一或多種元件之列表時，應理解為意指選自於所列元件中之任何一或多者之至少一元件，但不一定包括元件列中具體列出之每一者與每一元件之至少一者，且不排除元件列中之元件之任何組合。此定義亦允許除了在片語「至少一」所指之元件列中具體標識之元件以外，元件可任意地存在，不論與該等具體標識之元件相關或不相關。因此，作為非侷限實例，「A與B之至少一者」(或等效地，「A或B之至少一者」，或等效地，「A及/或B之至少一者」)，在一具體實施例中，可指至少一個，任意地包括超過一個A且B不存在(且任意地包括B以外之元件)；在另一具體實施例中，可指至少一個，任意地包括超過一個B且A不存在(且任意地包括A以外之元件)；在又另一具體實施例中，可指至少一個，任意地包括超過一個A且至少一個，任意地包括超過一個B(且任意地包括其他元件)；等等。

【0179】 亦應理解的是，除非有反方面明確指明，否則在本文主張之包括超過一步驟或動作之任何方法中，所述方法之步驟或動作的順序並不一定侷限於所引用方法之步驟或動作的順序。

【符號說明】

無

序列表

<110> 合一生技股份有限公司

<120> 高濃度抗體製劑

<140> 111112918

<141> 2022-04-01

<150> US 63/170,042

<151> 2021-04-02

<160> 18

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 1

Gly Leu Ala Gly Gly Ser Ala Gln Ser Gln Arg Ala Pro Asp Arg Val
1 5 10 15

Leu

<210> 2

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 2

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Asn Pro Ser Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Met Gly Tyr Asp Gly Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 3
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 3

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 4
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 4

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30
Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Ile Gly Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Met Gly Tyr Asp Gly Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser
			180					185					190		
Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn
		195					200					205			
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His
	210					215					220				
Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
225					230					235					240
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
				245					250					255	
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
			260					265					270		
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
		275					280					285			
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
	290					295					300				
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
305					310					315					320
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
				325					330					335	
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
			340					345					350		
Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
		355					360					365			
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
	370					375					380				
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
385					390					395					400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 5
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 5

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 6
<211> 52
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 6

Gly Leu Ala Gly Gly Ser Ala Gln Ser Gln Arg Ala Pro Asp Arg Val
1 5 10 15

Leu Cys His Ser Gly Gln Gln Gln Gly Leu Pro Arg Ala Ala Gly Gly
20 25 30

Ser Val Pro His Pro Arg Cys His Cys Gly Ala Gly Arg Ala Asp Trp
35 40 45

Pro Gly Pro Pro
50

<210> 7
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 7

Gly Leu Ala Gly Gly Ser Ala Gln Ser Gln Arg Ala
1 5 10

<210> 8
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 8

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Met Ile Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Met Gly Tyr Asp Gly Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 9
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 9

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Met Gly Tyr Asp Gly Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 10
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 10

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 11
<211> 466
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 11

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile
35 40 45

Thr Ser Asp Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly
50 55 60

Leu Glu Trp Ile Gly Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Asn
65 70 75 80

Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn
85 90 95

Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Met Gly Tyr Asp Gly Leu Ala Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
130						135					140				
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala
145					150					155					160
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
				165					170					175	
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
			180					185					190		
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
		195					200					205			
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys
	210					215					220				
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp
225					230					235					240
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly
				245					250					255	
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile
			260					265					270		
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu
		275					280					285			
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
	290					295					300				
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg
305					310					315					320
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys
				325					330					335	
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu
			340					345					350		

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455 460

Gly Lys
465

<210> 12
<211> 239
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 12

Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Gly Ala Arg Cys Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
20 25 30

Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser
35 40 45

Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys
50 55 60

Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
100 105 110

Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
115 120 125

Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
130 135 140

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
145 150 155 160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
165 170 175

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
180 185 190

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
195 200 205

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
210 215 220

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 13
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 13

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp Tyr Ala Trp Asn
1 5 10

<210> 14
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 14

Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 15
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 15

Arg Met Gly Tyr Asp Gly Leu Ala Tyr
1 5

<210> 16
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 16

Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
1 5 10 15

<210> 17
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 17

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 18
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 18

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Pro Thr
1 5

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種抗體製劑，其包含：

- (a) 濃度為約 120-200 mg/ml 之結合至膜結合 IgE 之 C ϵ mX 結構域之抗體，
- (b) 濃度為約 5-15 mM 之組胺酸，
- (c) 濃度為約 1-3.0% (w/v) 之胺基酸，其中該胺基酸為精胺酸或蘇胺酸；
- (d) 濃度為約 50-100 mM 之氯化鈉；以及
- (e) 濃度為約 0.005-0.02% 之聚山梨醇酯 80；

其中該抗體製劑之 pH 值為約 5.5 至 6.5。

【請求項2】 如請求項1之抗體製劑，其中該製劑包含約150 mg/ml之抗體、約10 mM之組胺酸、約1.25%之胺基酸、約75 mM之氯化鈉及約0.01%之聚山梨醇酯80。

【請求項3】 如請求項1或請求項2之抗體製劑，其中該胺基酸為精胺酸且該抗體製劑之pH值為約6.0至6.5。

【請求項4】 如請求項1或請求項2之抗體製劑，其中該胺基酸為蘇胺酸且該抗體製劑之pH值為約6.0。

【請求項5】 如請求項1-4中任一項之抗體製劑，其中該抗體製劑基本上由(a)-(e)組成。

【請求項6】 如請求項1-5中任一項之抗體製劑，其中該抗體製劑係不含糖系或糖醇系穩定劑。

【請求項7】 如請求項6之抗體製劑，其中該糖系或糖醇系穩定劑為蔗糖、山梨糖醇或海藻糖。

【請求項8】 如請求項1-7中任一項之抗體製劑，其中結合膜結合IgE之C ϵ mX結構域之抗體包含與抗體 FB825相同的重鏈互補決定區(CDR)；及/或與抗體 FB825相同的輕鏈互補決定區(CDR)。

【請求項9】 如請求項8之抗體製劑，其中該抗體為人類抗體或人源化抗體。

【請求項10】 如請求項8或請求項9之抗體製劑，其中該抗體為全長抗體。

【請求項11】 如請求項8-10中任一項之抗體製劑，其中該抗體包含具有胺基酸序列為SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:9之重鏈可變區(VH)，以及具有胺基酸序列為SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:10之輕鏈可變區(VL)。

【請求項12】 如請求項11之抗體製劑，其中該抗體包含SEQ ID NO:9之VH與SEQ ID NO:10之VL。

【請求項13】 如請求項8-12中任一項之抗體製劑，其中該抗體為IgG1分子。

【請求項14】 如請求項13之抗體製劑，其中該抗體包含含有胺基酸序列為SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO:11之重鏈及含有胺基酸序列為SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:12之輕鏈。

【請求項15】 一種預填充注射器，其包含如請求項1-14中任一項所述之抗體製劑。

【請求項16】 如請求項15之預填充注射器，其中該抗體製劑在預填充注射器中之體積為約1-2 ml。

【請求項17】 一種用於治療與免疫球蛋白E (IgE)相關聯之病症的方法，該方法包含投予有需求之個體有效量之如請求項1-14中任一項之抗體製劑。

【請求項18】 如請求項17之方法，其中該個體接受一劑之抗體製劑。

【請求項19】 如請求項17之方法，其中該個體接受至少兩劑之抗體製劑，其中兩連續劑量至少相隔3個月。

【請求項20】 如請求項17-19中任一項之方法，其中該抗體製劑係皮下投予。

【請求項21】 如請求項17-20中任一項之方法，其中該個體為患有或疑似患有過敏性氣喘、過敏性鼻炎、異位性皮膚炎或高IgE症候群之人類患者。

【請求項22】 如請求項21之方法，其中該人類患者患有異位性皮膚炎且任意地其中該人類患者具有低血清IgG4量。