



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 (11)證書號數：TW I639440 B

(45)公告日：中華民國 107 (2018) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：102139662

(22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 10 月 31 日

(51)Int. Cl. : A61K39/395 (2006.01)

C07K16/24 (2006.01)

A61K47/10 (2006.01)

(30)優先權：2012/10/31 美國 61/720,892

2012/12/21 歐洲專利局 12199191.3

(71)申請人：安進研究（慕尼黑）有限公司（德國）AMGEN RESEARCH (MUNICH) GMBH

(DE)

德國

武田有限公司（德國）TAKEDA GMBH (DE)

德國

(72)發明人：烏比 托馬斯 URBIG, THOMAS (DE)；伯姆 托馬斯 BOEHM, THOMAS (DE)；

莫爾霍 米切爾 MOLHOJ, MICHAEL (DK)；史坦希伯 沃爾夫拉姆

STEINHILBER, WOLFRAM (DE)

(74)代理人：鄭志玲

(56)參考文獻：

US 2011/0182905A1

審查人員：徐永任

申請專利範圍項數：14 項 圖式數：2 共 140 頁

(54)名稱

包括 G M – C S F 中和化合物之液態配方

LIQUID FORMULATION COMPRISING GM-CSF NEUTRALIZING COMPOUND

(57)摘要

本發明係關於水溶性配方，其包括濃度呈至少約 20mg/ml 中和 GM-CSF 之化合物、張力調節劑及緩衝劑，其中該組合物為穩定的。配方之成份較佳提供於長期儲存下對中和 GM-CSF 之化合物之穩定性。於較佳方面中，配方係用於治療，較佳用於發炎及自體免疫疾病之治療，較佳包括過敏與牛皮癬疾病，以及關節炎與氣喘疾病。此外，亦提供包括本發明配方之套組。

The present invention relates to aqueous formulations comprising a compound neutralizing GM-CSF in concentrations of at least about 20 mg/ml, a tonicity modifier and a buffer, wherein the composition is stable. The ingredients of the formulation preferably provide stability to the compound neutralizing GM-CSF in view of long-term storage. In a preferred aspect, the formulation is for use in therapy, preferably for use in the treatment of inflammatory and autoimmune disorders, preferably including allergic and psoriatic disorders, as well as arthritic and asthmatic disorders. Furthermore, a kit comprising the formulation of the invention is provided.

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

包括GM-CSF中和化合物之液態配方/LIQUID FORMULATION

COMPRISING GM-CSF NEUTRALIZING COMPOUND

【技術領域】

【0001】 本發明係關於穩定的液態配方，其包括中和顆粒球巨噬細胞株刺激因子 (Granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF) 之化合物。配方之成份較佳提供於長期儲存及凍融循環下之穩定性。於一較佳方面中，配方係用於治療，較佳用於發炎及自體免疫疾病之治療，較佳包括過敏與牛皮癬疾病，以及關節炎與氣喘疾病。此外，亦提供包括本發明配方之套組。

【先前技術】

【0002】 於醫藥、獸醫產品、化妝品級其他消費產品、食物、飼料、診斷學、工業化學及除污之廣泛領域使用蛋白質。有時，此類用途已由蛋白質本身固有之束縛而受限制，抑或於其使用之環境或介質所影響。此類束縛可能導致蛋白質之不佳穩定性，效能的變異或高成本。歸因於生物技術的出現，可製造於治療應用之多種蛋白質。於其製造後，蛋白質藥品通常在使用前儲存。由於蛋白質通常較「傳統」藥品大且更加複雜之事實，適合於儲存之蛋白質藥品配方及加工具體而言係具有挑戰性的。關於蛋白質藥品配方及方法設計之總覽，參見Carpenter et al. (1997), Pharm. Res. 14: 969-975; Wang (2000), Int. J. Pharmaceutics 203: 1 -60及Tang及Pikal (2004), Pharm. Res. 21: 191-200。

【0003】 於設計配方與蛋白質藥品之製造方法中可考慮數種因素。首先要考量為通過任何或所有製造、運輸及處理步驟之蛋白質的穩定性，步驟可包括組合物的製備、冷凍、冷凍乾燥、乾燥、儲存、運輸、復原、冷凍/融化循環及最終使用者之復原後儲存。其他潛在考慮者包括簡易及經濟之製造、處理及分配；用於投與患者之最終產物的組合物；及最終使用者之輕易使用，包括復原後冷凍乾燥的配方之溶解度。

【0004】 液態配方可滿足某些目的。液態配方可能的優點包括簡易及經濟的製造與對最終使用者之便利性。通常，當儲存展延之期間時，多肽於溶液中為不穩定的 (Manning et al (1989), Pham. Res. 6: 903-918)。據此，已發展額外的加工步驟而容許較長之保存期限，包括乾燥，例如冷凍乾燥。冷凍乾燥的配方亦可提供某些優點。冷凍乾燥的潛在益處包括改善的蛋白質穩定性及運輸與儲存之便利性與經濟性。然而，冷凍乾燥的醫藥組合物對最終使用者可能較為不便利。

【0005】 除了選擇組合物的基本形式 (例如冷凍乾燥的、液態、凍體等)，蛋白質配方的最佳化典型地涉及改變配方的組份及其等個別的濃度以最大化蛋白質穩定性。多種因素可影響蛋白質穩定性，包括離子強度、pH、溫度、冷凍/融化循環、剪切力、冷凍、冷凍乾燥、乾燥、攪拌及復原。蛋白質不穩定性可能因物理降解 (例如變性、聚集或沈澱) 或化學降解 (例如脫醯胺作用、氧化或水解) 而造成。配方組份及濃度的最佳化係單獨基於經驗研究及/或理論近似以克服不穩定性的來源。

【0006】 有時，於含有多肽醫藥組合物 (包括水溶性及冷凍乾燥的配方) 之長期儲存中，可能因為聚集及/或降解而損失活性多肽。

【0007】據此，於改善多肽穩定性之典型實務可藉由改變配方內元素濃度、或藉由添加賦形劑以改質配方而達成（U.S. 專利 Nos. 5,580, 856 及 6,171,586，與 U.S. 專利申請案 Nos. US 2003/0202972、US 2003/0180287）。US 5,580,856 係一原形專利，揭示諸如天然聚合物、界面活性劑、硫酸化多醣、蛋白質及緩衝劑的試劑，其可於復水期間或之後添加以穩定化乾燥的蛋白質。然而，除了多種選項以外，US 專利 5,580,856 並未教示對哪種蛋白質應添加哪種穩定劑。據此，當熟知技藝之讀者注意到那麼多種選項時，其將必須於 US 5,580,856 描述之多種選項中找出對其蛋白質之最佳條件。US 專利申請案 2003/0202972 描述抗-Her2 抗體穩定的冷凍乾燥配方，其中穩定劑為糖、海藻糖或緩衝劑。但是，當此等穩定劑可對一抗體有用時，其等無法推廣至其他蛋白質。US 專利申請案 2003/0180287 係類似於 US 2003/0202972，其中亦描述類免疫球蛋白蛋白質之穩定溶液，亦即含 Fc 域之蛋白質。該穩定劑可為磷酸鈉、磷酸鉀、檸檬酸鈉或鉀、順丁烯二酸、醋酸銨、Tris 緩衝劑、醋酸鹽、二乙醇胺 (diethanolamine)、組胺酸、離胺酸或半胱胺酸。於此等可由熟知技藝之讀者選擇之化學上迥異之穩定劑中，結論為離胺酸係適合的。然而，像 US 2003/0202972 一樣，該特定的穩定劑僅對特定的蛋白質適用，此處為含 Fc 域之蛋白質，且無法推廣其本身至其他蛋白質。據此，添加劑之使用無法由特定蛋白質推廣至另一個不相關的蛋白質。的確，(當於改善儲存時) 添加劑之使用仍可導致去活性多肽。此外，於冷凍乾燥的情況中，復水步驟可引入導致使多肽去活化之條件，例如聚集或變性 (Hora et al. (1992), Pharm. Res., 9: 33-36; Liu et al. (1991), Biotechnol. Bioeng., 37: 177-184)。事實上，多肽的聚集係非所欲的，因其可

能導致免疫原性 (immunogenicity) (Cleland et al. (1993), Crit. Rev. Therapeutic Drug Carrier Systems, 10: 307-377; 及 Robbins et al. (1987), Diabetes, 36: 838-845)。

【0008】 於醫藥產品發展及製造期間生物活性的維持係仰賴於巨分子之固有穩定性以及所使用的穩定化技術。存有多種蛋白質穩定化技術；包括添加化學「穩定劑」至蛋白質水溶液或懸浮體中。例如，美國專利4,297,344揭示凝結因子II與VIII之穩定化，藉由加入選定之胺基酸至凝血酶III與血纖維蛋白溶酶原以對抗熱。美國專利4,783,441揭示藉由加入表面活化物質而用於穩定化蛋白質之方法。美國專利4,812,557揭示使用人體血清蛋白於穩定化介白素-2之方法。製劑與低溫保護劑混合及儲存於非常低溫的冷凍/融化方法係穩定化蛋白質的另一選項。然而，並非所有蛋白質於冷凍/融化循環下存活。與低溫保護劑添加劑（通常為甘油）之冷儲存係另一選項。亦可如於美國專利5,098,893中描述呈玻璃形式之儲存。於此情況中，蛋白質係溶解於呈非定型或玻璃態之水可溶性或水可膨潤性物質。於蛋白質穩定化中最為廣泛使用的方法係冷凍-乾燥 (freeze-drying) 或冷凍乾燥 (lyophilization)。當於水溶液中無法達成足夠的蛋白質穩定性時，冷凍乾燥提供最可行的替代方案。冷凍乾燥之一缺點為其需要熟練的處置、係耗時的及昂貴的。此外，若冷凍乾燥非小心地進行，多數製劑因技術之冷凍及脫水步驟而至少部份變性。結果經常為部份蛋白質分子不可逆的聚集，導致不可用於非經口投與的配方。

【0009】 普遍而言，蛋白質的降解已於文獻中詳盡描述，但中和顆粒球巨噬細胞株刺激因子（進一步稱為GM-CSF）之化合物其儲存及穩定度，

具體而言是多肽與抗GM-CSF抗體並未被描述。

【0010】 此外，技術領域中感知對蛋白質穩定劑之眾多選項，以及當允許蛋白質高濃度的同時可保持穩定之試劑，直至本發明之前，技術領域中並未認知到含有高濃度中和GM-CSF化合物之配方可能為不穩定的，因而需要改進。

【0011】 於包括蛋白質（諸如抗體，例如單株抗體）之醫藥組合物的製備中，因潛在對患者具較高便利性之皮下注射，一目標係為發展高濃度液態配方。然而，一般共識為發展抗體（具體而言是單株抗體）的高濃度配方於單株抗體之物理及化學穩定性具有嚴苛挑戰，諸如可溶性及不可溶聚集體之形成增強免疫反應的機會及造成低的生物活性。

【0012】 於液態醫藥組合物儲存期間多肽的聚集體形成可對該多肽的生物活性有負面效應，導致醫藥組合物治療功效的損失。又，當使用注入系統投與含多肽之醫藥組合物時，聚集體形成可導致其他挑戰，例如管道、膜或泵的阻塞。又，抗體的高濃度配方已被報告會導致增加的黏度，從而對可製造性及可注射性產生嚴苛的挑戰。高黏滯性配方係難以製造、抽入注射器及注射。操縱黏滯性配方所用的力導致過量起泡，其可導致活性單株抗體之變性與去活化作用。

【0013】 因此，對於含中和GM-CSF之化合物（例如抗體）及具有適合皮下注射之低與可用黏度（諸如即可使用的裝置）的穩定高濃度蛋白質醫藥組合物有高的需求。又，從患者的觀點而言，高度希望存有室溫穩定產品。現時，已有特定的非市售抗體配方，其於室溫的儲存可能跨及藥物產品的保存期限。典型地，發生增加的蛋白質聚集會造成不可接受之高量

的聚集物與蛋白質相關不純物，其可導致免疫性反應。許多的市售單株抗體產品於其配方中含有界面活性劑。典型地，添加界面活性劑俾使減少介面應力，其可誘發蛋白質聚集與粒子形成而導致不可接受的產品品質。介面應力的實例可為蛋白質與下列者之接觸：i) 空氣、ii) 容器閉合材料，諸如橡膠柱塞、活塞、玻璃、預填充的注射器、iii) 與製造相關的材料，諸如鋼槽、管與泵、iv) 冷凍/融化期間的冰等等。然而，界面活性劑（諸如聚山梨糖醇酯）典型地含有過氧化物殘基，其可能氧化蛋白質分子而導致惡化的產品品質，又，從製造的觀點而言，聚山梨糖醇酯的添加於製造中需要額外的步驟，因為當配方含有該聚山梨糖醇酯時，進行超/透析過濾（*diafiltration*）係具有挑戰性的。避免形成氧化的產品為挑戰性的議題，因而必須穩當處理聚山梨糖醇酯以控制氧化產品的形成。故，從穩定性與製造觀點兩者而言，希望設計不含有界面活性劑的配方。

【0014】 顆粒球巨噬細胞株刺激因子（GM-CSF）（最初鑑別為造血生長因子）最近期已熟知於發炎及自體免疫中為重要的細胞介素。已於包括過敏與牛皮癬患者、關節炎與氣喘患者之多種發炎部位測得升高量的 GM-CSF mRNA 或蛋白質。多數體內研究已顯示過去數年間經由中和抗體阻斷 GM-CSF 可避免或甚至治癒多種發炎模式之促炎性疾病，包括於關節炎實驗性自體免疫性腦炎、牛皮癬及肺部疾病之模式。故，非常希望可擁有具 GM-CSF 中和化合物之配方，其特別為穩定的、含有高含量之 GM-CSF 中和化合物的、及/或可經由皮下途徑投與的。

【發明內容】

【0015】 因此，本發明之技術挑戰為符合上述之需求。

【0016】 本發明達成此等需求，且因此提供對關於配方之具體實施例的技術挑戰之解決方法，亦及提供方法及施用此等配方於治療罹患可受惠於投與中和GM-CSF化合物之疾病的個體的用途。此等具體實施例係於本文中表徵及描述，於實施例中闡明及反映於申請專利範圍中。

【0017】 應注意者為除非上下文明確另有指示，本文所使用的單數形式「一 (a)」、「一 (an)」及「該 (the)」係包括複數參照例。故，例如提及「一抗體」時係包括一或多種此類不同抗體，且提及「該方法」時係包括參考所屬技術領域中具有通常技藝者所習知之可修飾或替換本文所述方法之等效步驟及方法。

【0018】 除非另有指示，於一系列元素前之「至少」乙詞係理解為參照該系列中之每一元素。該等技術領域中習知技藝者，將理解或可查明使用不多於例行實驗之本發明文中描述之多種特定具體實施例之等效者。此類等效者係為本發明欲涵蓋者。

【0019】 本說明書與申請專利範圍通篇中除非上下文另有要求，接續「包括 (comprise)」一詞及其變形諸如「包括 (comprises)」與「包括 (comprising)」將理解為隱含包括所述整數或步驟、或整數或步驟之群組，但不排除任何其他整數或步驟、或排除整數或步驟之群組。當本文使用「包括」乙詞時可替換為「包含 (containing)」乙詞或有時於本文中時使用「具有 (having)」乙詞或甚至可由「由...所組成」替換。

【0020】 當本文使用「由...所組成」時係排除所請元素中未指明之任何元素、步驟或成份。當於本文使用時，「實質上由...所組成」未排除大體上未影響所請之基礎及新穎特徵的材料或步驟。於本文中每一實例之任何

「實質上由...所組成」及「由...所組成」之詞可相互替換。

【0021】 如本文中所使用，介於多種引述元素間的連接性「及/或」乙詞係理解為涵蓋個別及組合之選項。例如，當兩元素以「及/或」連接時，第一選項意指可施用第一元素而排除第二者。第二選項意指可施用第二元素而排出第一者。第三選項意指可一起施用第一及第二元素。此等選項之任一者係理解為落入定義中，且因此滿足本文所使用之「及/或」乙詞之要件。多於一種選項之併行施用亦理解為落入定義中，且因此滿足本文所使用之「及/或」乙詞之要件。

【0022】 本說明書行文中通篇引述多種文件。本文所引述之每一文件（包括所有專利、專利申請案、科學出版品、製造商規格書、操作指南等）無論其前文或後文，係以其等整體以參考之形式併入此文。藉由參考形式併入之材料內容若與本說明書矛盾或不一致，本說明書將優先於任何此類材料。本文中並未有任何內容詮釋為認定本發明係非先於此類揭示內容之先前發明。

【0023】 謹記提供具高濃度中和GM-CSF化合物配方之目標，本發明人等認知中和GM-CSF化合物可能於高濃度下不穩定且亦可能於延長的儲存時間後不穩定。

【0024】 的確，有許多方式可使中和GM-CSF化合物（像蛋白質類）不穩定。例如，蛋白質不穩定性可由蛋白質聚集或降解造成，亦可因脫胺作用、脫醯胺作用、氧化、雙硫鍵斷裂及形成、水解、丁二醯亞胺化、非雙硫鍵交聯、脫醣化作用、或「酵素性褐變（梅納反應(Maillard reaction)）」或此等現象之任何組合之化學不穩定性造成；參見例如Wang et al. (1999)，

Int. J. Pharm. 185: 129-188。又，物化參數諸如溫度、pH值、表面吸收、鹽、金屬離子、螯合劑、物理力諸如剪切力、蛋白質變性劑、非水溶性溶劑、蛋白質濃度、蛋白質來源及純度、蛋白質型態（morphism）或壓力會影響蛋白質穩定性。

【0025】 然而，雖多種因素可影響蛋白質穩定性，亦可採取多種方式以穩定蛋白質。例如，蛋白質可內部地（藉由改變胺基酸）或外部地穩定化。外部穩定化可藉由添加螯合劑、金屬離子、還原劑、聚合物、聚乙二醇/多元醇、血清蛋白、界面活性劑、糖與多元醇、脂肪酸及磷脂質、胺基酸、緩衝劑等而達成；參見例如Wang, Y及Hanson M (1988), J. Parental Sci. & Technology, 42, Supplement: 4-26；Wang et al. (1999), Int. J. Pharm. 185: 129-188。總之，於穩定配方中的GM-CSF中和化合物（諸如抗體），習知技藝者將有多種可能的選項。

【0026】 於本情況中，本發明人等觀察到中和GM-CSF化合物可能顯示聚集及/或可能於較高濃度中不溶解。多種不同的因素可導致配方中蛋白質的聚集。典型的純化及儲存程序會使蛋白質配方暴露至導致該蛋白質聚集的條件及成份。例如，於配方中的蛋白質可因以下任何一或多者聚集：儲存、暴露至提昇的溫度、配方的pH、配方的離子強度及某些界面活性劑的存在（例如聚山梨糖醇酯-20與聚山梨糖醇酯-80）及乳化劑。類似地，當暴露至剪切應力時，諸如於溶液中復原冷凍乾燥的蛋白質塊、過濾-純化蛋白質樣品、冷凍-融化、搖晃或經由注射器轉移蛋白質溶液，蛋白質可能聚集。聚集亦可因儲存小瓶間溶液中多肽分子與液態-空氣介面之交互作用而發生。於運輸期間由於攪拌所導致之介面壓縮或延伸，吸附至空氣-液態及

固體-液態介面之多肽可能發生構型變化。此類攪拌可造成配方的蛋白質聚集及與其他吸附的蛋白質最終地沉澱。

【0027】 此外，使蛋白質配方暴露至光可造成蛋白質聚集。本發明故提供容許高濃度的中和GM-CSF化合物及減低此等化合物聚集之配方。不受理論所束縛，聚集的減少據信藉由控制一或多種上述聚集機制而達成。此可導致例如改善的產品穩定性與在製造過程及儲存條件中較佳的彈性。

【0028】 本發明係旨在提供具高濃度中和GM-CSF化合物之配方，俾使例如容許較低注射體積，其係適合降低例如因高注射體積而疼痛的副作用，或允許低體積的皮下注射。

【0029】 因此，本發明人等於其研究期間已觀察到部份之中和GM-CSF化合物不穩定性，因而旨在改善此非所欲的觀測。據此，其等旨在於濃縮時維持中和GM-CSF化合物於溶液中，亦即呈溶解狀態。為此，其等有眾多可能的選項及替代方案，然而並沒有任何徵兆係該等中任一者將適合於解決此目標問題。

【0030】 「溶解狀態」意謂該中和GM-CSF之化合物，較佳濃度呈至少約20 mg/ml於溶液中，亦即直接地（溶）解及/或分散於配方的水溶液中（亦即於水相中）。較佳地，中和GM-CSF之化合物係勻相地（溶）解及/或勻相地分散。勻相意謂該（溶）解及/或分散於水溶性配方中之中和GM-CSF之化合物係近幾均勻地、較佳均勻地分佈於水溶性配方中以使中和GM-CSF之化合物之濃度（「c」）（於莫耳質量的情況為「n」或於質量的情況為「m」）係於（或遍及）水溶性溶液的體積（「v」）中近幾相同的、較佳為相同的，亦即 $c=n/v$ 或 $c=m/v$ 分別地係接近常數，較佳為常數。較佳於配方間沒有濃度

梯度。

【0031】 據此本發明包括中和GM-CSF之化合物之穩定配方較佳可視為水溶液，其中中和GM-CSF之化合物係直接地溶解於及/或分散於其中。

【0032】 「溶液」係兩或多種物質/組份的勻相混合物。於此類混合物中，溶質（本發明中為中和GM-CSF之化合物）係（同上所述地）溶解於另一物質（本發明中較佳為水溶性配方），亦稱作溶劑。

【0033】 有鑑於上述者，中和GM-CSF之化合物較佳非為非勻相地（溶）解及/或分散於水溶液中。「溶解態」乙詞亦包括中和GM-CSF之化合物較佳實質上非為乳化的，或更佳於水溶液中非全然乳化的。

【0034】 又，「溶解態」乙詞包括中和GM-CSF之化合物較佳實質上非為被封裝及/或包覆的，較佳低於2%、1%或0.5%的中和GM-CSF之化合物可被封裝及/或包覆的，或更佳非全然被封裝及/或包覆的，例如於微脂體、多層微脂體或其類似物中。

【0035】 據此，本發明一較佳的具體實施例係含有中和GM-CSF之化合物的液態配方，當儲存長期間時其係穩定的且不會進行共軛體/聚集物或片段/降解產物的形成，且其配方係適用於皮下注射。

【0036】 特定而言，於測試多種不同穩定劑後，本發明人等發現若將張力調節劑添加至欲被儲存的溶液中，中和GM-CSF化合物可被穩定化。張力調節劑之實例包括但不限於糖類及糖醇類。簡單的糖類稱為單醣類，且包括葡萄糖、左旋糖、半乳糖、木糖、核糖、甘露糖、乳酮糖、阿洛糖、阿卓糖、古洛糖、艾杜糖、太洛糖、阿拉伯糖及來蘇糖。對本發明更佳為雙醣類，其包括例如蔗糖、麥芽糖、乳糖、異麥芽糖、海藻糖及纖維素二

醣。糖醇類包括山梨糖醇、甘露糖醇、甘油、赤藻糖醇、麥芽糖醇、木糖醇、聚糖醇。於較佳具體實施例中，糖為非還原糖，諸如蔗糖或海藻糖。非還原糖類係特徵在於缺乏開鏈結構，故其等不易受氧化-還原反應影響。因此一或多種非還原糖類、諸如蔗糖或海藻糖，或一或多種糖醇類、諸如甘露糖醇或山梨糖醇可添加至包括中和GM-CSF之化合物的配方。亦可添加非還原糖類與糖醇類的結合至溶液中，諸如蔗糖與甘露糖醇、蔗糖與山梨糖醇、海藻糖與甘露糖醇或海藻糖與山梨糖醇。更佳為添加糖醇類甘露糖醇及/或山梨糖醇，較佳呈其等D-式，最佳為添加山梨糖醇至溶液。張力調節劑（較佳為山梨糖醇）的濃度係介於約1%與約15%（w/v）之間，較佳介於約2%與約10%（w/v）之間，更佳介於約3%與約7%（w/v）之間，更佳介於約4%與約6%（w/v）之間且最較佳約5%（w/v）。

【0037】 於高濃度及長期儲存下另一特定較佳穩定化中和GM-CSF化合物的物質，係具有pH為介於約4與約10之間、較佳介於約4與約7之間、更佳介於約4與約6之間或介於約5與約7之間、甚至更佳介於約5.5與約6.5之間且最佳具有pH為約5.8的緩衝劑系統。緩衝劑較佳可選自組胺酸緩衝劑、醋酸鹽緩衝劑及檸檬酸鹽緩衝劑。當參照本文時，胺基酸係意謂L-胺基酸或D-胺基酸，其中L-胺基係較佳的。較佳的組胺酸或其鹽係用於緩衝劑系統。該鹽較佳為氯鹽、磷酸鹽、醋酸鹽或硫酸鹽，該鹽更佳為氯鹽。組胺酸緩衝劑系統的pH係介於約5及約7之間、較佳介於約5.5及約6.5之間、pH更佳為約或正好5.8。pH可藉由使用習用之鹼及酸調整，較佳為NaOH。緩衝劑系統（較佳組胺酸緩衝劑系統）的濃度係介於約10 mM及約50 mM之間、較佳介於約20 mM及約40 mM之間、更佳約30 mM。

【0038】 根據一較佳具體實施例，緩衝劑（較佳組胺酸緩衝劑）系統與張力調節劑（較佳糖醇、更佳甘露糖醇或甚至更佳山梨糖醇）之組合係用於穩定化溶液中的中和GM-CSF化合物，俾使避免聚集及使配方於長期儲存下及/或一或多次冷凍/融化循環下足夠穩定。顯示對穩定性而言，於配方中較佳具有約6% (w/v) 及更高的糖醇（較佳山梨糖醇）。然而，配方滲透壓力之上限係設定於約470 mOsm/kg，其仍為高張的但類似於已核准產品（Synagis; Lm. administration）的滲透壓力。需於本發明實施例中所述者找尋介於中和GM-CSF之化合物的最佳化穩定性、張力及濃度之折衷。糖醇（較佳山梨糖醇）的濃度因此較佳為介於約3%及約7% (w/v) 之間、更佳介於約4%及約6% (w/v) 之間及最佳約5% (w/v)。

【0039】 於本發明部份具體實施例中，本發明包括中和GM-CSF之化合物的配方或組合物，除了以上揭示之該等者（亦即緩衝劑及張力調節劑）以外並不需要另外的賦形劑，像是諸如界面活性劑及胺基酸，其等係使用於傳統配方中以穩定化溶液中的蛋白質。此外，本文所描述之配方係較優於標準配方，因為其等因缺少通常需要用於蛋白質穩定化的添加劑而具有減少的免疫原性。

【0040】 已知胺基酸係有用於穩定化高濃度下的蛋白質，尤其是藉由調節蛋白質溶解度及/或抑制蛋白質聚集。雖然蘇胺酸（例如於250 mM）指出較小的穩定化效果，本發明的液態配方較佳不含其他胺基酸。

【0041】 又，本發明配方係較佳不含或實質上不含氯化鈉。「實質上不含」意指氯化鈉的濃度係於或非常接近0(零) mM，例如低於約50 mM、較佳低於約20 mM、更佳低於約10 mM、甚至更佳低於約5 mM及最佳低於

約2 mM或甚至低於約1 mM。

【0042】 於生化產品中，界面活性劑的添加係有用於儲存期間減低蛋白質降解。為此目的，聚山梨糖醇酯20及聚山梨糖醇酯80(Tween 20及Tween 80)係廣為接受的賦形劑。然而因為對中和GM-CSF化合物的穩定性無效用或負面效用，本發明液態配方較佳不包括任何界面活性劑。

【0043】 個別使用的中和GM-CSF化合物之濃度於待儲存、冷凍/融化及/或即可使用的液態配方中係至少約20 mg/ml、較佳至少約50 mg/ml、更佳至少約100 mg/ml。本發明所使用的濃度係約20 mg/ml至約200 mg/ml、較佳約50 mg/ml至約200 mg/ml、更佳約100 mg/ml至約180 mg/ml、甚至更佳約130 mg/ml至約170 mg/ml、甚至更佳約135 mg/ml至約165 mg/ml及最佳約150 mg/ml。

【0044】 所生產的液態配方之保存期限較佳具有最低需求於2至8°C下為24個月、較佳於2至8°C下為36個月、更佳於2至8°C下為48個月、最佳於2至8°C下為60個月，或至少於室溫下(25°C ± 2°C)為28日。

【0045】 本發明係關於穩定的配方、較佳為穩定的液態配方，其驚人地容許中和GM-CSF化合物的長期儲存。此配方某種程度上為有用的，因其對患者而言更為便利，如因此配方之中和GM-CSF化合物為高度濃縮的俾使降低因高體積注射之副作用(如疼痛)。

【0046】 據此，本發明之一方面係基於探索包括以下者之配方

- 中和GM-CSF之化合物，
- 緩衝劑系統，較佳選自組胺酸緩衝劑、醋酸鹽緩衝劑及/或檸檬酸鹽緩衝劑，較佳具有介於5及7之間的pH，

- 及張力調節劑，較佳選自非還原糖類，諸如蔗糖或海藻糖；或糖醇類，諸如甘露糖醇或山梨糖醇

使其於長期儲存及/或冷凍/融化循環及/或剪切應力（搖晃穩定性）下為足夠穩定的。本發明配方相較於標準的緩衝的配方具有許多優點。於一方面，本配方於長期儲存後顯示最小的聚集行為而沒有在高蛋白質配方下可預期的不好性質。根據本發明配方的另一優點為：長期儲存後中和GM-CSF之化合物的最小片段化及於中和GM-CSF之化合物之生物活性無顯著衝擊，及組合物的低黏度。最後，於一較佳具體實施例中，本配方係不含另外的賦形劑，諸如界面活性劑、額外的胺基酸及/或氯化鈉。

【0047】 本發明第一方面的較佳具體實施例為下列：

根據本發明的配方，其中該中和GM-CSF之化合物為多肽、擬肽物、核酸或小分子。

【0048】 於一較佳具體實施例中，該中和GM-CSF之化合物（其較佳為多肽及更佳為抗體或其官能化片段）鍵結、或特定而言鍵結至GM-CSF或至GM-CSF受體。咸認為GM-CSF或GM-CSF受體係為動物的，包括但不限於哺乳類、諸如實驗性動物（齧齒動物類諸如大鼠、天竺鼠、倉鼠或小鼠；非人類靈長目諸如馬來猴或獼猴）、家庭或寵物動物（例如狗或貓）、農場或農業動物（例如牛、綿羊、山羊及豬屬動物）及/或人類。較佳地，該GM-CSF或GM-CSF受體分別為人類GM-CSF（智人）或人類GM-CSF受體，或分別為非人類靈長目GM-CSF或非人類靈長目GM-CSF受體。非人類靈長目GM-CSF或非人類靈長目GM-CSF受體之尤其較佳的變體（同系物）包括長臂猿猴（黑冠長臂猿，*nomascus concolor*，亦稱為西方黑冠長臂猿）

之GM-CSF或GM-CSF受體及獼猴家族的猴，例如恆河猴（*Macaca mulatta*）之GM-CSF或GM-CSF受體及食蟹獼猴（*cynomolgous monkey*）（*Macaca fascicularis*）之GM-CSF或GM-CSF受體。根據本發明一特別較佳的具體實施例，結合至GM-CSF或至GM-CSF受體（較佳抗體或其片段）之化合物展現介於人類及至少一種上述提及之猴物種之間的交叉反應性。例如，抗體或其片段可以結合至（並中和）人類GM-CSF及食蟹獼猴（*Macaca fascicularis*）的GM-CSF。此尤其對欲用於治療投與至人類個體之抗體分子為有利的，因此類抗體於規範核准前一般將必須進行多種試驗，其中通常包含涉及非人類動物物種的早期試驗。於執行此類試驗中，通常希望使用對人類具有高度基因相關性的非人類物種（例如非人類靈長目，諸如食蟹獼猴），因為由此獲得之結果一般將對投與同樣分子至人類之相應結果為高度可預測的。然而，此類基於動物試驗之預測力至少部份地仰賴分子的相似性，及（歸因跨物種反應性下）當同樣治療分子可投與至人類及動物模型時此預測力為非常高的。如於本發明之此具體實施例中，當一抗體分子對人類及其他緊密相關物種之同樣抗原具交叉反應性時，可執行使用同樣抗體分子於人類及於此緊密相近物種中之試驗，例如於上述所提及之猴物種之一。此增加了試驗本身的效率、及增加了藉由試驗所提供之預測力，此類試驗係關於此類抗體於人體中、以治療觀點感興趣之最終物種中之行為。結合至GM-CSF或至GM-CSF受體之抗體或其功能片段功能片段較佳為單株抗體或其功能片段功能片段。同樣結果對與非為抗體或非抗體衍生之中和GM-CSF化合物的替代具體實施例亦為真。

【0049】 中和GM-CSF之化合物較佳為人類單株抗體或其功能片段

功能片段：

【0050】 中和GM-CSF之化合物可為結合至人類及非人類靈長目GM-CSF表位的抗體或其功能片段功能片段。此表位較佳包括胺基酸23-27 (RRLLN) 及/或胺基酸65-77 (GLR/QGSLTKLKGPL)。胺基酸序列延伸列65-77間於位置67的變異反映了GM-CSF此部份的異質性，於一方面為介於人類及長臂猿GM-CSF (其中位置67為R)，且於另一方面介於人類與獼猴家族的猴 (例如食蟹獼猴及恆河猴 (其中位置67為Q)) 之間的異質性。若該表位包括兩個非鄰接的胺基酸序列延伸列，諸如23-27 (RRLLN) 及65-77 (GLR/QGSLTKLKGPL)，該表位亦可稱作「不連續的」表位。該GM-CSF表位或該GM-CSF不連續的表位可進一步包括胺基酸28-31 (LSRD)、胺基酸32-33 (TA) 及/或胺基酸21-22 (EA)。

【0051】 該人類單株抗體或其功能片段功能片段較佳於其重鏈變異區包括含選自由載於SEQ ID NOs: 1-13及56所組成群組的胺基酸序列之CDR3；該重鏈變異區CDR3較佳包括載於SEQ ID NO: 2之胺基酸序列。

【0052】 任何該重鏈變異區CDR3序列可進一步與在具有以下之重鏈變異區一起存在：包括載於SEQ ID NO: 14的胺基酸序列之重鏈變異區CDR1及包括載於SEQ ID NO: 15的胺基酸序列之重鏈變異區CDR2。

【0053】 又，該人類單株抗體或其功能片段功能片段可於其輕鏈變異區包括含載於SEQ ID NO: 16的胺基酸序列之CDR1、包括載於SEQ ID NO: 17的胺基酸序列之CDR2及包括載於SEQ ID NO: 18的胺基酸序列之CDR3。

【0054】 於本發明一尤其較佳之方面，該人類單株抗體或其功能片段功能片段於其輕鏈變異區包括含如載於SEQ ID NO: 16的胺基酸序列的

CDR1、包括如載於SEQ ID NO: 17的胺基酸序列之CDR2及包括如載於SEQ ID NO: 18的胺基酸序列之CDR3，及於其重鏈變異區包括含如載於SEQ ID NO: 14的胺基酸序列之CDR1、包括如載於SEQ ID NO: 15的胺基酸序列之CDR2及包括選自由該等載於SEQ ID NOs: 1-13及56所組成群組的胺基酸序列、最佳選自SEQ ID NO: 2的胺基酸序列之CDR3。

【0055】 根據一較佳具體實施例，該人類單株抗體或其功能片段功能片段於其輕鏈變異區包括選自由該等載於SEQ ID NOs: 19、54及55所組成群組的胺基酸序列。根據另一較佳具體實施例，該人類單株抗體或其功能片段功能片段於其重鏈變異區包括選自由該等載於SEQ ID NOs: 20-33、52及53所組成群組的胺基酸序列。該人類單株抗體或其功能片段功能片段可於進一步具體實施例中包括如載於SEQ ID NO: 34之輕鏈胺基酸序列及/或選自由該等載於SEQ ID NOs: 35-48任一者、最佳載於SEQ ID NO: 35所組成群組之重鏈胺基酸序列。

【0056】 該人類單株抗體或其功能片段功能片段可包括帶有分別相對載於以下胺基酸序列至少70%、80%、90%、95%、98%或99%同源性之一或多個胺基酸序列： SEQ ID NOs: 1-48及52-56之任一者、較佳分別如載於SEQ ID NOs: 1-18及56之任一者的胺基酸序列及/或架構區（framework regions，FRs）的胺基酸序列中如載於SEQ ID NOs: 19-48及52-55任一者之胺基酸序列。故，於一較佳具體實施例中，該人類單株抗體或其功能片段功能片段可包括帶有分別如對載於SEQ ID NOs: 1-18及56任一者之胺基酸序列之至少70%、80%、90%、95%、98%或99%同源性之一或多個胺基酸序列。

【0057】 或者，於載於SEQ ID NOS: 1-18及56之任一者之CDR的任一
胺基酸序列中，一、二、三、四、五、六、七、八、九或或10個胺基酸可
被取代。較佳地，此類具有取代之CDR仍可如本文所述鍵結至GM-CSF。

【0058】 於一替代實例中或除此之外，該人類單株抗體或其功能片段
功能片段較佳可包括分別相對於VH、VL、H或L區之胺基酸序列帶有至少
70%、80%、90%、95%、98%或99%同源性的一或多個胺基酸序列，該等
區之胺基酸序列如載於SEQ ID NOS:19-48及52-55之任一者。較佳地，同源
性係涵蓋整個VH、VL、H或L胺基酸序列。更佳地。同源性係於同先前所
述CDRs之間、或同源性係於FRs（或非CDRs）之如此VH、VL、H或L區之
間，如載於SEQ ID NOS:19-48及52-55。據此，1、2、3、4、5、6、7、8、9、
10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或25個胺基酸於該FRs之每
一者中可被取代。此類FR取代變體仍可如本文所述鍵結至GM-CSF。

【0059】 熟知技藝者可於SEQ ID NOS: 19-48及52-55間輕易鑑別FRs
(或非CDRs)，因SEQ ID NOS: 1-18及56顯示包括於一或多個顯示於SEQ ID
NOS: 19-48及52-55之該VH、VL、H或L序列的CDR序列。亦即，序列列表
於序列識別碼 <223>中提供每一胺基酸序列的命名。相同的命名指示此等
胺基酸序列「歸屬」在一起，意謂CDR係包含於VH、VL、H或L區中，例
如SEQ ID NOS: 16、17、18係被包含於顯示在SEQ ID NO: 19胺基酸序列中
之CDRs的胺基酸序列（因其等均被命名為「5-306」）。

【0060】 藉由進一步的詮釋，若於一或多個或所有CDRs或重及/或輕
鏈之FRs中的胺基酸被取代，較佳為如此獲得的「經取代的」序列係與「原
始」CDR或FR序列為至少70%、更佳80%、甚至更佳90%、尤其更佳95%、

更尤其較佳98%或99%相同。此意謂對其係取決於CDR或FR對該「經取代的」序列同源性程度的長度。

【0061】 同源性係藉由標準序列排比程式諸如Vector NTI (InforMaxTM, Maryland, USA)、或更佳藉由程式BLASTP、較佳blastp 2.2.5版（2002年11月16日；參見Altschul, S. F. et al. (1997) *Nucl. Acids Res.* **25**, 3389-3402）而決定。同源性的百分比係基於整體多肽序列的排比（基質：BLOSUM 62；間隔花費：11.1；阻斷值設定至 10^{-3} ），其使用CDR、VH、VL、H或L胺基酸序列之任一者作為配對比較之參考。其係以「正向」（同源的胺基酸）數量的百分比計算，此以BLASTP程式輸出除以程式用於排比而選擇之胺基酸總數量之結果表明。

【0062】 當於本文使用時，胺基酸或核苷酸序列的同源性可用「同一性」乙詞相互交換地使用。於本發明中所使用的「同源性」乙詞意謂配對的相同殘基之百分比（對論及的序列接續本發明胺基酸序列或核苷酸序列之序列同源性排比），其係相對此等兩序列中較長者的殘基數目。同上所述，用於決定同源性（或同一性）之程式於胺基酸-對-胺基酸之基礎比較被排比的序列，及可對該比較設定至緊縮性的不同水平（例如相同胺基酸、保守胺基酸取代等）。如本文中所使用之詞語，若論及的兩胺基酸屬於相同的化學分類（亦即酸性、非極性/疏水性、不帶電荷極性及鹼性），其等係對彼此認定為「保守取代」。以非限制實例提及，屬於非極性胺基酸之兩個不同的胺基酸將對彼此認定為「保守取代」，即使此二胺基酸非為相同的，然而一方面為非極性胺基酸、與另一方面為鹼性胺基酸時將不認定對彼此為「保守取代」。Alberts, Johnson、Lewis, Raff、Roberts及Walter之「Molecular

Biology of the Cell」，第4版（2002）第3.1欄，其將胺基酸分組成四個主要組別：酸性、非極性、不帶電荷極性及鹼性，此類分組在本發明之上下文中可用於決定特定胺基酸對論及的另一胺基酸是否為保守取代之目的。上述提及主要組別可進一步次分類至例如小的非極性及大的非極性胺基酸、大的芳香族胺基酸等。「保守的胺基酸取代」乙詞亦指示對給定胺基酸殘基之任一胺基酸取代，其中該取代的殘基係與給定的殘基如此的化學相近而並未產生多肽功能（例如結合）之實質減少。

【0063】 中和GM-CSF之化合物係典型的調配為用於非經口的醫藥組合物，例如對個體的靜脈內、腹膜內、皮下、肌內、局部或皮內投與，其中較佳為皮下投與。於部份具體實施例中，醫藥組合物為液態組合物，較佳為水溶性組合物。

【0064】 於一具體實施例中，液態醫藥組合物中中和GM-CSF之化合物濃度係至少20 mg/ml、較佳至少50 mg/ml、更佳至少100 mg/ml、甚至更佳介於約100 mg/ml及約200 mg/ml之間、諸如約150 mg/ml。於某些具體實施例中、例如當該組合物係欲用於皮下傳輸時，可使用較高濃度的中和GM-CSF之化合物。

【0065】 如上所註明，本發明的組合物包括緩衝劑。如本文中所使用，「緩衝劑」乙詞指允許液態配方抵抗pH改變之添加組合物。於部份具體實施例中，添加的緩衝劑允許液態配方藉由其酸-鹼共軛組份抵抗pH變化。合適緩衝劑的實例包括但不限於緩衝的組胺酸、醋酸鹽或檸檬酸鹽系統。

【0066】 本文中所使用之「特定結合（specifically binds）」乙詞或相關表示法諸如「特定結合的（specific binding）」、「特定結合（binding

specifically)」、「特定結合劑」等係指GM-CSF-中和化合物及較佳（人類）（單株）抗體或其功能片段功能片段對辨別介於其目標（例如GM-CSF或GM-CSF受體）及任何其他與GM-CSF或GM-CSF受體不同的潛在抗原至某一程度的能力，此程度為自複數個作為潛在結合配偶體之不同抗原中，僅GM-CSF/GM-CSF受體被結合，或顯著的被結合。於本發明之意義中，當目標從複數個同等可結合的不同抗原作為潛在結合對象中而「顯著的」結合時，該目標係比其他任何與該目標相異的抗原至少10倍、較佳至少50倍、最佳至少100倍或更大地較高頻率（於動態觀點中）結合。此類動態測量可例如使用SPR技術諸如流動式生物感測系統（Biacore）儀器而實施。如本文中所使用，「（特定）結合至」乙詞或相關詞語諸如「（特定）辨識」、「指向」、「與...（特定）交互作用」及「與...（特定）反應」意謂根據本發明中和GM-CSF之化合物（例如抗體）對其目標（例如GM-CSF或GM-CSF受體）展現可察覺的親和力，且通常與別於前述目標之蛋白質或抗原不展現顯著的反應性。「可察覺的親和力」包括以約 10^{-6} M (KD) 或更強、諸如 10^{-7} M或更強的親和力結合。較佳地，當結合親和力係約 10^{-11} 至 10^{-8} M、較佳約 10^{-11} 至 10^{-9} M、更佳約 10^{-11} 至 10^{-10} M時，係認定結合為特定的。化合物（例如抗體）是否與目標特定反應或結合至目標，可尤其藉由將該化合物與其目標蛋白質或抗原之反應與該化合物與有別於其目標的蛋白質或抗原之反應相比較而輕易測試。較佳地，根據本發明的化合物實質上並未結合至、或無法結合至有別於GM-CSF或GM-CSF受體之蛋白質或抗原。「實質上並未結合」乙詞或「無法結合」乙詞意謂本發明的化合物並未顯示對有別於GM-CSF或GM-CSF受體之蛋白質或抗原高於30%、較佳高於20%、更佳高於10%、

具體而言較佳高於9%、8%、7%、6%或5%之反應性。

【0067】如本文中所使用者，「中和化（neutralization）」、「中和劑（neutralizer）」、「中和（neutralizing）」及其文法上相關變形係指GM-CSF生物效應之部份或完全衰減。此類GM-CSF生物效應之部份或完全衰減係因GM-CSF-介導過程之修飾、中斷及/或廢除而造成，諸如訊號轉導，例如表現於細胞內訊號、細胞增生或可溶物質的釋放、細胞內基因活化之上-或下-調節，其導致例如對有別於GM-CSF之配基的表面受體表現。如本領域中之技藝者所了解，存在有決定化合物（例如抗體或其功能片段功能片段）是否被分類為中和劑之多個模式。作為例示，此可藉如以下一般實施的體外（*in vitro*）測試之標準測試而完成：於第一增生實驗中，細胞株（其增生程度係已知取決於GM-CSF之活性）係與一系列具有變化濃度的GM-CSF之樣本培育，培育後量測該細胞株的增生程度。從此測量，決定允許細胞的最大半增生值之GM-CSF濃度。然後實施第二增生實驗，係於每一樣品系列中使用與該第一增生實驗所用之相同數量細胞、上述所決定的GM-CSF濃度且本次改變疑似為GM-CSF中和劑之化合物的濃度。再次測量細胞增生以決定所分析的化合物濃度，其係足以造成最大半生長抑制值。若所產生的生長抑制對所分析的化合物濃度之圖係呈S形，導致在增加的所分析的化合物濃度下減低的細胞增生，則已發生某種程度的生長抑制，亦即GM-CSF活性已被中和至某種程度。於此情況中，可認定論及的化合物為本發明意義中的「中和劑」。細胞株的一實例（其增生程度係已知取決於GM-CSF活性）為TF-1細胞株，如Kitamura, T. et al. (1989) . J Cell Physiol 140, 323-34中所描述。

【0068】如本領域中具有通常技藝者所明瞭，細胞增生的程度並非GM-CSF中和容量可建立的唯一參數。例如，訊號分子（例如細胞介素）之水平的測量、取決於GM-CSF的分泌之水平可用以辨識疑似GM-CSF中和劑/GM-CSF抑制化合物。

【0069】可用於決定論及之化合物（諸如抗體或其功能片段功能片段）是否為GM-CSF活性之中和劑的細胞株的其他實例包括AML-193（Lange, B. et al. (1987) . Blood 70, 192-9）；GF-D8（Rambaldi, A. et al. (1993) . Blood 81, 1376-83）；GM/SO（Oez, S. et al. (1990) . Experimental Hematology 18, 1108-11）；MO7E（Avanzi, G. C. et al. (1990) . Journal of Cellular Physiology 145, 458-64）；TALL-103（Valtieri, M. et al. (1987) . Journal of Immunology 138, 4042-50）；及UT-7（Komatsu, N. et al. (1991) . Cancer Research 51, 341-8）。

【0070】咸明瞭關於本發明之GM-CSF中和化可於帶有GM-CSF受體之細胞外亦或於該細胞內發生。故，藉由化合物之GM-CSF中和化可為抑制或預防GM-CSF結合至其特定受體、亦或藉由結合細胞介素至其等的受體以誘導細胞內訊號的抑制。中和GM-CSF之化合物可例如直接結合至GM-CSF或GM-CSF受體，從而於兩種情況中皆干擾GM-CSF之生物效應。

【0071】如本文以上所定義，GM-CSF之抑制劑可選自由多肽、擬肽物、核酸分子及小分子所組成的群組。

【0072】本文所使用「多肽」乙詞係描述分子的群組，其通常由經共價勝肽鍵而與彼此耦合之至少30個胺基酸所組成。根據本發明，多肽的群組包括由單一多肽或多於一種多肽所組成之「蛋白質」。只要此等片段由至

少30個胺基酸所組成，「多肽」乙詞亦描述蛋白質之片段。於此領域中已習知多肽可形成多聚體（multimers），諸如二聚體、三聚體及更高的寡聚體，亦即由多於一個多肽分子所組成。此類多聚體亦由「多肽」乙詞所涵蓋。形成此類二聚體、三聚體等之多肽分子可為相同的或非相同的。此類多聚體對應的較高級結構於是稱為同元-或異元二聚體、同元-或異元三聚體等。異元多聚體之實例為抗體分子，其在其天然存在形式中由兩個相同的輕多肽鏈及兩個相同的重多肽鏈所組成。「多肽」乙詞及「蛋白質」乙詞亦指天然或非天然修飾的多肽/蛋白質，其中修飾係例如藉由後轉譯修飾，如醣化、乙醯化、磷酸化、形成雙硫橋及其類似物；或藉化學修飾諸如聚乙二醇化（PEGylation）而進行。此類修飾係習知於此領域中。

【0073】 「核酸」乙詞或「多核苷酸」乙詞於本發明之上下文中定義由多個磷酸、糖及嘌呤及嘧啶鹼的重複單元所組成的聚合的巨分子。此等分子的具體實施例包括DNA、RNA及PNA。核酸可為單股或雙股、線性或環狀的。本發明上下文中核酸之一特定較佳具體實施例為適體（aptamer）。核酸適體為DNA或RNA分子，其已選自基於其結合至其他分子之能力的隨機池。適體已選擇為結合核酸、蛋白質、小的有機化合物及整個生物體。其通常由寡核苷酸的短股、一般為50個鹼或更少所組成。

【0074】 「小分子」乙詞定義具有分子量為低於1000道耳吞（Daltons）、較佳至多800道耳吞及更佳300至700道耳吞的有機藥物化合物之群組。對小分子的分子量上限允許快速經由細胞膜擴散的可能性，俾使其等可到達作用的細胞內位置。對應的小分子可自至少部份隨機化勝肽庫而衍生。根據本發明適合的小分子庫係於此領域中習知及/或可由商業發布者

購買。

【0075】 「擬肽物」乙詞描述設計以模擬胜肽的小的類蛋白質鏈。此類分子係藉由修飾存在的胜肽而人工地衍生以便改變分子的性質。例如，修飾存在的母胜肽以改變分子的穩定性或生物活性。此等修飾包括骨架的改變及併入非天然胺基酸。

【0076】 「GM-CSF受體」乙詞指GM-CSF的生理細胞表面受體，其於本領域中描述為 α -鏈(CD116)及普通 β (β -c)次單元之異元體(heteromer)。

【0077】 中和多肽的較佳具體實施例係抗體或其功能片段功能片段、更佳係人類抗體或其功能片段功能片段。用於製造抗體之技術係於此領域中所習知及，例如於Harlow及Lane "Antibodies, A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988 及 Harlow 及 Lane "Using Antibodies: A Laboratory Manual" Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999。

【0078】 「抗體」乙詞的定義包括具體實施例諸如單株、嵌合、單鏈、人源化及人類抗體。除了全長度的抗體外，該定義亦包括抗體衍生物及抗體片段，尤其像是Fab片段。抗體片段或衍生物進一步包括 $F(ab')_2$ 、Fv、scFv片段或單域抗體諸如域抗體或奈米抗體(nanobodies)、單可變域抗體或包括僅一個可變域的免疫球蛋白單可變域，其可為VHH、VH或VL，其與其他V區域或域的抗原或表位獨立地特定結合；參見例如引述於Harlow及Lane (1988)及(1999)；Kontermann及Dübel, Antibody Engineering, Springer, 2nd ed. 2010 及 Little, Recombinant Antibodies for Immunotherapy, Cambridge University Press 2009。該詞亦包括二抗體(diabodies)或雙-親和力再-目標化(Dual-Affinity Re-Targeting, DART)抗體。進一步設想係(雙特定)單

鏈二抗體、串聯二抗體（Tandab）、「迷你抗體」（minibodies），係藉下列結構例示：(VH-VL-CH3)₂、(scFv-CH3)₂或(scFv-CH3-scFv)₂、「Fc DART」及「IgG DART」；多抗體（multibodies）諸如三抗體（triabodies）。免疫球蛋白單可變域不僅涵蓋獨立抗體單可變域多肽，亦及涵蓋包括抗體單可變域多肽序列的一或多個單體之較大多肽。

【0079】 又，如本文所使用之「抗體」乙詞亦關於本文所述抗體的衍生物或變體，其顯示如所述抗體之相同專一性。「抗體變體」之實例包括非人類抗體的人源化變體、「親和力成熟」抗體，參見例如Hawkins *et al.* *J. Mol. Biol.* 254, 889-896 (1992) 及Lowman *et al.*, *Biochemistry* 30, 10832- 10837 (1991)) 及具有經改變作用功能之抗體突變體（參見例如引述於US 專利5, 648, 260, Kontermann及Dübel (2010) 及引述於Little (2009))。

【0080】 「抗體」乙詞亦包括不同類別的免疫球蛋白（Ig's）（亦即IgA、IgG、IgM、IgD及IgE）及次類別（諸如IgG1、IgG2等）。抗體的衍生物（其亦落入本發明意義中抗體乙詞的定義）包括此類分子的修飾，例如糖化、乙醯化、磷酸化、形成雙硫鍵、法尼基化（farnesylation）、羥基化、甲基化或酯化。

【0081】 抗體的功能片段功能片段包括F(ab')₂片段的域、Fab片段、scFv或包括單免疫球蛋白可變域或單域抗體多肽的構築體，例如單重鏈可變域或單輕鏈可變域、以及其他如本文以上所描述之抗體片段。F(ab')₂或Fab可經工程化以最小化或完全移除介於C_{H1}及C_L域發生之分子間雙硫鍵交互作用。

【0082】 如本文中所使用之「人類」抗體乙詞係理解抗體或其功能片

段功能片段，包括人類生殖系列抗體指令的所包含的胺基酸序列。對於本文的定義，若其由此類人類生殖系列胺基酸序列所組成，亦即若該論及的抗體或其功能片段功能片段胺基酸序列與表現的人類生殖系列胺基酸序列相同的話，可因此認定抗體或其片段為人類的。若一抗體或其功能片段功能片段所組成的序列與其（等）最接近的人類生殖序列之偏移不多於肇因於體細胞超突變所預期者的話，亦可被認為是人類的。此外，許多非人哺乳類（例如嚙齒類、諸如小鼠及大鼠）的抗體包括VH CDR3胺基酸序列，係可預期其亦存在於表現的人類抗體指令中。任何此類人類或非人類源之序列可預期其存在於表現的人類指令中亦被認為是本發明目的的「人類的」。「人類抗體」乙詞因此包括具有於此領域中習知、實質上對應人類生殖系列免疫球蛋白序列之可變及恆定區域的抗體，包括例如該等描述於Kabat *et al.* (參見引述於Kabat *et al.* (1991))。本發明的人類抗體可包括非由人類生殖系列免疫球蛋白序列編碼的胺基酸殘基（例如由體外隨機或位置特定的突變誘發引入，或藉由體內體細胞突變所引入的突變），例如於CDRs中，及尤其於CDR3中。人類抗體可具有至少一、二、三、四、五或更多位置以非由人類生殖系列免疫球蛋白序列編碼的胺基酸殘基替換。

【0083】 非人類及人類抗體或其功能片段功能片段較佳為單株的。準備單株的人類抗體係尤其困難的。與鼠類B細胞和永生的細胞株之融合相異，人類B細胞和永生的細胞株的融合並非可實行的。故，人類單株抗體為克服一般已知存在於抗體技術的顯著技術障礙之結果。抗體的單株天性使其特別適於用做治療劑，因此類抗體將呈可良好表徵及可再現地製造和純化之單一、均勻分子物種。此類因素導致生物活性可以高水平精確度預測

的產品，若此類分子將於人體中治療投與得到審查批准，其係非常重要的。本文所用「單株抗體」乙詞係指獲自一群實質均勻抗體的抗體，亦即包括該群的個別抗體除了可能自然發生的突變及/或可能少量存在的後轉譯突變（例如異構化、醯胺化）以外為相同的。單株抗體係高度特定的，指向單一抗原位置。又，與典型包括指向不同決定子（表位）的不同抗體之傳統（多株）抗體製備品相反，每一單株抗體係指向抗原上的單一決定子。除了其等的專一性外，單株抗體係優異在其等為藉由融合瘤培養而合成，並未被其他免疫球蛋白污染。修飾詞「單株」指出作為抗體的特徵，係由抗體的實質上均勻群體所獲得、及未被推斷為需要藉任何特定方法製造抗體。例如，根據本發明待使用的單株抗體可首先由Kohler *et al.*, *Nature*, 256: 495 (1975) 描述的融合瘤方法製造，或可藉由重組DNA法製造（參見例如U. S. 專利 No. 4,816,567）。「單株抗體」亦可使用例如描述於Clackson *et al.*, *Nature*, 352: 624-628 (1991) 及Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222: 581-597 (1991) 之技術自噬菌抗體庫分離。

【0084】 單株抗體或對應的功能片段功能片段、尤其較佳為人類抗體或對應的功能片段功能片段。於構思欲用於對人類的治療投與之抗體劑中，抗體為人類源係高度有利的。投與至人類患者後，人類抗體或其功能片段功能片段將最可能不引起患者的免疫系統之強烈免疫反應，亦即將不會被認為是非人類蛋白質的外來物。此意謂沒有宿主（亦即患者）抗體會產生而對抗治療抗體，其將另外阻斷治療抗體的活性及/或加速或治療抗體自患者體內的削減，因而避免其防止發揮所欲的治療效果。

【0085】 根據本發明之一較佳具體實施例，於醫藥目的中欲使用的人

類單株抗體或其功能片段功能片段展現介於人類及至少一種猴物種之間的反應性。對所有其他非抗體或非抗體衍生的GM-CSF中和/抑制化合物，同樣的跨物種反應性亦為較佳的。

【0086】 根據本發明的另一具體實施例，抗體可為IgG抗體。IgG同形不僅包括對高度區變性抗原辨識及結合同應的重及輕鏈之可變抗體區域，還包括通常存在於「自然」產生的抗體（於某些實例中甚至於一或多個位置以碳水化合物修飾）之重及輕抗體多肽鏈的恆定區域。此類糖化通常為IgG形式的標誌及座落於包括所調整個抗體的Fc區域之恆定區域，其係習知於在體內引起不同的作用功能。此外，Fc區域介質結合IgG至Fc受體，以及促進IgG自導引至具增加的Fc受體存在座落處-例如發炎組織。有利地，IgG 抗體為IgG1抗體或IgG4抗體，較佳為形式化，因其等於體內的機制係特別的明瞭及表徵的。尤其為IgG1抗體的情況。

【0087】 根據本發明的另一具體實施例，抗體的功能片段功能片段較佳可為scFv、單域抗體、Fv、VHH抗體、二抗體、串聯二抗體、Fab、Fab'或F(ab)2。此等形式通常可被分成兩種次類別，亦即由單一多肽鏈所組成該等者、及包括至少兩個多肽鏈之該等者。前一次類別之成員包括scFv（其包括一VH區域及經由多肽連接子與單一多肽鏈聯結的一VL區域）；單域抗體（其包括單一抗體可變區域）諸如VHH抗體（其包括單一VH區域）。後一次類別之成員包括Fv（其包括一VH區域及一作為彼此非共價地連接的分離多肽鏈之VL區域）；二抗體（其包括兩個非共價地連接多肽鏈，其中每者包括兩個抗體可變區域（通常為每一多肽鏈一VH及一VL），該兩個多肽鏈係呈頭對尾構型排列俾使產生二價抗體分子）；串聯二抗體（二特定單鏈Fv

抗體，其包括四個共價連接的兩個不同專一性的免疫球蛋白可變(VH及VL)區域，形成如同上述二抗體之兩倍大的同元二聚體；Fab(其包括作為一多肽鏈的一整體抗體輕鏈，其本身包括VL區域及該整體輕鏈恆定區域，及作為另一多肽鏈的部份抗體重鏈，其包括全部的VH區域及部份重鏈恆定區域，該二多肽鏈係經由鏈間雙硫鍵而分子間連接)；Fab'(如以上Fab，除了具有包括於該抗體重鏈中的額外還原的雙硫鍵)；及F(ab)2(其包括兩個Fab'分子，每個Fab'分子係經由鏈間雙硫鍵分別連接至其他Fab'分子)。一般而言，本文上述所描述類型之官能抗體片段允許較佳的調適彈性，例如針對即將到來的特定緊急狀況之治療投與之所欲抗體的藥物動力學性質。例如，希望減低投與的抗體尺寸，俾使當處理的組織已知難以血管化(例如關節)時增加組織穿透的程度。於某些情況下，亦希望增加治療抗體自體內削減的速率，該速率通常藉由降低所投與抗體的尺寸而可加速。於本發明上下文中，只要該片段維持對母抗體之表位/目標的特定結合特徵，亦即只要其特定結合至GM-CSF或GM-CSF受體，抗體片段係定義為官能抗體片段。

【0088】 根據本發明另一具體實施例，該抗體或其功能片段功能片段可呈單價單特定的；多價單特定的、尤其是二價單特定的；或多價多特定的、尤其是二價二特定的形式存在。一般而言，多價單特定、尤其是雙價單特定的抗體諸如本文上述之整體人類IgG可使其符合治療優勢，藉由此類抗體實施中和化係可能藉由強結合效應而發生，亦即藉由結合相同抗體至相同抗原的多個分子，此處為GM-CSF或GM-CSF受體。數種單價單特定的抗體片段形式已於上文描述(例如scFv、Fv、VHH或單域抗體)。多價多特

定的、尤其是二價二特定的抗體形式可包括整體IgG，其中一結合臂結合至靈長目GM-CSF/GM-CSF受體，同時其之另一結合臂結合至與GM-CSF/GM-CSF受體相異的另一抗原。另一多價多特定的、尤其是二價二特定的形式可有利地為人類單鏈二特定地抗體，亦即包括如上所述之兩個scFv整體的重組人類抗體構築體，藉由此領域中習知的短插入多肽間隔體連接至一接觸的多肽鏈（參見例如WO 99/54440針對抗-CD19 x抗-CD3雙特定單鏈抗體）。此處，包括於雙特定單鏈抗體中之雙特定的單鏈抗體的一scFv部份將同上所載特定結合GM-CSF/GM-CSF受體，同時此雙特定的單鏈抗體之另一scFv部份將結合決定為治療效益之另一抗原。

【0089】 根據另一具體實施例該抗體或其功能片段功能片段可被衍生化，例如與有機聚合物、例如與一或多個聚乙二醇（「PEG」）及/或聚乙烯基吡咯啶酮（「PVP」(polyvinyl pyrrolidone)）分子。如此領域中所習知，此類衍生化可有利於調變抗體或其功能片段功能片段之藥物動力學性質。尤其較佳為衍生為PEG-順丁烯二醯亞胺的PEG分子，允許以特定位置方式經由半胱氨酸胺基酸的硫氫基團與抗體或其功能片段功能片段接合。如此，尤其較佳為20kD及/或40kD的PEG-順丁烯二醯亞胺，呈分支或直鏈形式。尤其有利的為增加較小人類抗-GM-CSF抗體片段（諸如scFv片段）之有效分子量，係藉由耦合後者至一或多個PEG、尤其是PEG-順丁烯二醯亞胺分子。

【0090】 本發明的抗體亦包括「嵌合」抗體（免疫球蛋白），其中該重及/或輕鏈之一部份，係與衍生自特定物種、或屬於特定抗體類別或次類別的抗體中對應的序列相同或為同源的，同時該鏈的剩餘部份，係與衍生

自另一物種、或屬於另一抗體類別或次類別之抗體、及此類抗體的片段中對應的序列相同或為同源的，俾使其等展現所欲的生物活性 (U. S. 專利 No. 4,816,567；Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 (1984))。本文中感興趣的嵌合抗體包括「靈長目屬 (primitized)」抗體，其包括衍生自非人類靈長目 (例如舊大陸猴、人猿等) 之可變域抗原-結合序列及人類固定區域序列。

【0091】 非人類 (例如鼠類) 的「人源化」形式抗體係大多人類序列的嵌合免疫球蛋白類、免疫球蛋白鏈或其片段 (諸如Fv、Fab、Fab'、F(ab')2或其他抗體的抗原-結合次序列)，其包含衍生自非人類免疫球蛋白的最少序列。於多數部份，人源化抗體係人類免疫球蛋白 (受體抗體)，其中來自受體的超可變區域 (及CDR) 的殘基係以來自非人類物種 (予體抗體) 的超可變區域之殘基替換，諸如具有所欲專一性、親和力及容量的小鼠、大鼠或兔。於部份例子中，人類免疫球蛋白的Fv架構區 (FR) 殘基以對應的非人類殘基替換。又，用於本文中之「人源化抗體」亦可包括非於受體抗體中亦未於予體抗體中發現之殘基。係進行此等修飾以進一步改良及最佳化抗體效能。人源化抗體亦將視需要地包括至少免疫球蛋白恆定區域 (Fc) 的一部分，典型地為人類免疫球蛋白之部份。關於進一步詳情，參見Jones et al., Nature, 321: 522-525 (1986)；Reichmann et al., Nature, 332: 323-329 (1988)；及Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2: 593-596 (1992)。

【0092】 如本文中所使用，胺基酸殘基或人類及非人類靈長目GM-CSF位置之數目係指成熟GM-CSF之數目，亦即不含其17胺基酸訊號序列之GM-CSF (於上述人類及非人類靈長目物種兩者中成熟GM-CSF之總長

為127個胺基酸)。人類GM-CSF及長臂猿GM-CSF之序列係如下所示：

SEQ ID NO : 49

APARSPSPST QPWEHVNAIQ EARRLLNLSR DTAAEMNETV EVISEMFDLQ
EPTCLQTRLE LYKQ~~GL~~**RGSL** **TKLKGPLTMM** ASHYKQHCPP TPETSCATQI
ITFESFKENL KDFLLVIPFD CWEPVQE

【0093】 獼猴家族一般成員中（諸如例如恆河猴及食蟹獼猴（cynomolgous monkey））之GM-CSF序列係如下所示：

SEQ ID NO: 50

APARSPSPGT QPWEHVNAIQ EARRLLNLSR DTAAEMNKTV EVVSEMFDLQ
EPSCLQTRLE LYKQ~~GL~~**LQGSL** **TKLKGPLTMM** ASHYKQHCPP TPETSCATQI
ITFQSFKENL KDFLLVIPFD CWEPVQE

【0094】 人類GM-CSF之序列亦於SEQ ID NO:57中所示。長臂猿GM-CSF的序列亦如SEQ ID NO: 58中所示：

APARSPSPST QPWEHVNAIQ EARRLLNLSR DTAAEMNETV EVISEMFDLQ
EPTCLQTRLE LYKQ~~GL~~**RGSL** **TKLKGPLTMM** ASHYKQHCPP TPETSCATQI
ITFESFKENL KDFLLVIPFD CWEPVQE

(SEQ ID NO: 57及58)

【0095】 獼猴家族中之某些成員（諸如例如 恒河猴（SEQ ID NO:59）及食蟹獼猴（cynomolgous monkey）（SEQ ID NO:60））的GM-CSF序列亦如下所示：

APARSPSPGT QPWEHVNAIQ EARRLLNLSR DTAAEMNKTV EVVSEMFDLQ
EPSCLQTRLE LYKQ~~GL~~**GLOGSL** **TKLKGPLTMM** ASHYKQHCPP TPETSCATQI
ITFQSFKENL KDFLLVIPFD CWEPVQE

(SEQ ID NO: 59及60)

【0096】 如本文中所述藉由抗體、較佳為人類單株抗體（或其功能片段功能片段）結合之最小的表位、有利地為不連續的表位係於GM-CSF序列

指出且於上所示呈粗體者。

【0097】 根據一較佳具體實施例，中和GM-CSF之化合物為抗體（較佳為人類單株抗體）或其功能片段功能片段，其結合至GM-CSF。更佳地，其結合至GM-CSF的表位，較佳包括胺基酸23-27（RRLLN）及/或胺基酸65-77（GLR/QGSLTKLKGPL）。此等胺基酸序列延伸列係於以上之GM-CSF序列中呈粗體指明。「表位」乙詞係指抗原或目標（例如GM-CSF）上化合物（諸如抗體或其功能片段功能片段）特定結合之位置。該結合/交互作用亦理解為定義「特定辨識」。「表位」可藉由接觸的胺基酸或藉由蛋白質三級折疊而相鄰的非接觸的胺基酸兩者所形成。「線性表位」係其中胺基酸一級序列包括所辨識的表位之表位。線性表位典型地於一唯一序列中包括至少3個或至少4個、及更常見的至少5個或至少6個或至少7個、例如約8至約10個胺基酸或更多。於本發明上下文中，該GM-CSF表位較佳係不連續的表位。於抗體結合至序列延伸列23-27及65-77兩者的情況中，該表位可被稱為「不連續的」。於人類GM-CSF的二級結構中，胺基酸15-35係處於螺旋A中，而對應至位置65-77之殘基係座落於螺旋C及D間的環狀結構之部份。分子折疊的三維結構模型揭露了此等位置相對於彼此間的相近空間鄰近性（亦參見WO 2006/111353）。如本文中所使用，「不連續的表位」乙詞係理解為於給定的多肽鏈間至少兩個非相鄰胺基酸序列延伸列，此處為成熟人類及非人類靈長目GM-CSF，其係同時地及特定地藉抗體結合。根據此定義，此類同時特定結合可為呈線性形式的GM-CSF多肽的。此處，咸可想像形成延伸圈的成熟GM-CSF多肽，於其一區域中於以上粗體指出之該兩個序列排列，例如呈多於或少於平行狀及與彼此鄰近。於此狀態中其等係特定地及同時

地藉由抗體片段結合。根據此定義，以上指出之成熟GM-CSF兩序列延伸列的同時特定結合亦可採取抗體結合至構型表位的形式。此處，成熟GM-CSF已形成如其一般於體內存在之三級構型。於此三級構型中，該成熟GM-CSF的多肽鏈係呈使以上所指出之兩序列延伸列成為空間鄰近之方式折疊，例如於成熟、折疊的GM-CSF的特定區域之外表面上，其中其等接著藉由其等於所環繞的多肽序列之脈絡下的三維構型辨識。

【0098】 於另一較佳具體實施例中，GM-CSF的上述表位或上述不連續的表位進一步包括：

- 氨基酸28-31 (LSRD)，於人類及非人類靈長目GM-CSF的上述序列中呈斜體者；
- 氨基酸32-33 (TA)，於人類及非人類靈長目GM-CSF的上述序列中畫底線者；及/或
- 氨基酸21-22 (EA)，於人類及非人類靈長目GM-CSF的上述序列中畫底線者。

【0099】 較佳人類單株抗-GM-CSF抗體或其功能片段功能片段為如特定揭示於WO2006/111353中參照SEQ ID NOs 1至48及52至56之該等者，描繪重及輕鏈互補決定區域 (CDRs) 1-3的氨基酸序列以及重及輕鏈的可變區域及重及輕鏈之全長。

【0100】 尤其較佳為抗-GM-CSF抗體或其功能片段功能片段，其包括如載於SEQ ID NO: 14之重鏈變異區CDR1序列、如載於SEQ ID NO: 15之重鏈變異區CDR2序列及如載於SEQ ID NO: 1之重鏈變異區CDR3序列；或包括如載於SEQ ID NO: 14之重鏈變異區CDR1序列、如載於SEQ ID NO: 15

之重鏈變異區CDR2序列及如載於SEQ ID NO: 2之重鏈變異區CDR3序列；或包括如載於SEQ ID NO: 14之重鏈變異區CDR1序列、如載於SEQ ID NO: 15之重鏈變異區CDR2序列及如載於SEQ ID NO: 3之重鏈變異區CDR3序列；或包括如載於SEQ ID NO: 14之重鏈變異區CDR1序列、如載於SEQ ID NO: 15之重鏈變異區CDR2序列及如載於SEQ ID NO: 4之重鏈變異區CDR3序列；或包括如載於SEQ ID NO: 14之重鏈變異區CDR1序列、如載於SEQ ID NO: 15之重鏈變異區CDR2序列及如載於SEQ ID NO: 5之重鏈變異區CDR3序列；或包括如載於SEQ ID NO: 14之重鏈變異區CDR1序列、如載於SEQ ID NO: 15之重鏈變異區CDR2序列及如載於SEQ ID NO: 6之重鏈變異區CDR3序列；或包括如載於SEQ ID NO: 14之重鏈變異區CDR1序列、如載於SEQ ID NO: 15之重鏈變異區CDR2序列及如載於SEQ ID NO: 7之重鏈變異區CDR3序列；或包括如載於SEQ ID NO: 14之重鏈變異區CDR1序列、如載於SEQ ID NO: 15之重鏈變異區CDR2序列及如載於SEQ ID NO: 8之重鏈變異區CDR3序列；或包括如載於SEQ ID NO: 14之重鏈變異區CDR1序列、如載於SEQ ID NO: 15之重鏈變異區CDR2序列及如載於SEQ ID NO: 9之重鏈變異區CDR3序列；或包括如載於SEQ ID NO: 14之重鏈變異區CDR1序列、如載於SEQ ID NO: 15之重鏈變異區CDR2序列及如載於SEQ ID NO: 10之重鏈變異區CDR3序列；或包括如載於SEQ ID NO: 14之重鏈變異區CDR1序列、如載於SEQ ID NO: 15之重鏈變異區CDR2序列及如載於SEQ ID NO: 11之重鏈變異區CDR3序列；或包括如載於SEQ ID NO: 14之重鏈變異區CDR1序列、如載於SEQ ID NO: 15之重鏈變異區CDR2序列及如載於SEQ ID NO: 12之重鏈變異區CDR3序列；或包括如載於SEQ ID NO: 14之重鏈變異區CDR1序列、

如載於SEQ ID NO: 15之重鏈變異區CDR2序列及如載於SEQ ID NO: 13之重鏈變異區CDR3序列；或包括如載於SEQ ID NO: 14之重鏈變異區CDR1序列、如載於SEQ ID NO: 15之重鏈變異區CDR2序列及如載於SEQ ID NO: 56之重鏈變異區CDR3序列。

【0101】更為較佳地，任何以上14個重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列之組合存在於抗體或其功能片段功能片段中進一步於其輕鏈變異區包含包括載於SEQ ID NO: 16之胺基酸序列的CDR1、包括載於SEQ ID NO: 17之胺基酸序列的CDR2，及包括載於SEQ ID NO: 18之胺基酸序列的CDR3。

【0102】尤其較佳的抗-GM-CSF抗體或其功能片段功能片段包括如載於SEQ ID NO: 14之重鏈變異區CDR1序列、如載於SEQ ID NO: 15之重鏈變異區CDR2序列及如載於SEQ ID NO: 2之重鏈變異區CDR3序列，及進一步於其輕鏈變異區包含包括載於SEQ ID NO: 16之胺基酸序列的CDR1、包括載於SEQ ID NO: 17之胺基酸序列的CDR2及包括載於SEQ ID NO: 18之胺基酸序列的CDR3。此抗-GM-CSF抗體係於中和GM-CSF最佳的化合物及亦描述於WO 2006/111353。

【0103】根據另一具體實施例，抗-GM-CSF抗體或其功能片段功能片段於輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 19之胺基酸序列。較佳為抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 19之胺基酸序列及該重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 20之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 19之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 21之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 19之胺基酸序列及重

NO: 33之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 19之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 52之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 19之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 53之胺基酸序列。

【0104】 根據另一具體實施例，該抗-GM-CSF抗體或其功能片段功能片段於其輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 54之胺基酸序列。較佳為一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 54之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 20之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 54之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 21之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 54之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 22之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 54之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 23之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 54之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 24之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 54之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 25之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 54之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 26之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 54之胺基酸序列及重鏈變異區包括如

載於SEQ ID NO: 27之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 54之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 28之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 54之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 29之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 54之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 30之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 54之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 31之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 54之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 32之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 54之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 33之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 54之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 52之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 54之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 53之胺基酸序列。

【0105】 根據另一具體實施例，該抗-GM-CSF抗體或其功能片段功能片段於其輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 55之胺基酸序列。較佳為一抗體或其功能片段功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 55之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 20之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 55之胺基酸序列及重

鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 21之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 55之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 22之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 55之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 23之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 55之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 24之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 55之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 25之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 55之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 26之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 55之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 27之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 55之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 28之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 55之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 29之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 55之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 30之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 55之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 31之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 55之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 32之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 55之胺基酸序列及重鏈變異區包

括如載於SEQ ID NO: 33之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 55之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 52之胺基酸序列；或一抗體或其功能片段，該輕鏈變異區包括如載於SEQ ID NO. 55之胺基酸序列及重鏈變異區包括如載於SEQ ID NO: 53之胺基酸序列。

【0106】 較佳抗-GM-CSF抗體或其功能片段於其輕鏈變異區包含包括如載於SEQ ID NO. 16之胺基酸序列的CDR1、包括如載於SEQ ID NO. 17之胺基酸序列的CDR2及包括如載於SEQ ID NO. 18之胺基酸序列的CDR3及於其重鏈變異區包含包括如載於SEQ ID NO. 14之胺基酸序列的CDR1、包括如載於SEQ ID NO. 15之胺基酸序列的CDR2及包括如載於SEQ ID NOS. 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或56之任一者之胺基酸序列的CDR3。

【0107】 於另一較佳具體實施例中，抗體於其輕鏈包括如載於SEQ ID NO: 34之胺基酸序列及於其重鏈包括如載於SEQ ID NO: 35之胺基酸序列；或於其輕鏈包括如載於SEQ ID NO: 34之胺基酸序列及於其重鏈包括如載於SEQ ID NO: 36之胺基酸序列；或於其輕鏈包括如載於SEQ ID NO: 34之胺基酸序列及於其重鏈包括如載於SEQ ID NO: 37之胺基酸序列；或於其輕鏈包括如載於SEQ ID NO: 34之胺基酸序列及於其重鏈包括如載於SEQ ID NO: 38之胺基酸序列；或於其輕鏈包括如載於SEQ ID NO: 34之胺基酸序列及於其重鏈包括如載於SEQ ID NO: 39之胺基酸序列；或於其輕鏈包括如載於SEQ ID NO: 34之胺基酸序列及於其重鏈包括如載於SEQ ID NO: 40之胺基酸序列；或於其輕鏈包括如載於SEQ ID NO: 34之胺基酸序列及於其重

鏈包括如載於SEQ ID NO: 41之胺基酸序列；或於其輕鏈包括如載於SEQ ID NO: 34之胺基酸序列及於其重鏈包括如載於SEQ ID NO: 42之胺基酸序列；或於其輕鏈包括如載於SEQ ID NO: 34之胺基酸序列及於其重鏈包括如載於SEQ ID NO: 43之胺基酸序列；或於其輕鏈包括如載於SEQ ID NO: 34之胺基酸序列及於其重鏈包括如載於SEQ ID NO: 44之胺基酸序列；或於其輕鏈包括如載於SEQ ID NO: 34之胺基酸序列及於其重鏈包括如載於SEQ ID NO: 45之胺基酸序列；或於其輕鏈包括如載於SEQ ID NO: 34之胺基酸序列及於其重鏈包括如載於SEQ ID NO: 46之胺基酸序列；或於其輕鏈包括如載於SEQ ID NO: 34之胺基酸序列及於其重鏈包括如載於SEQ ID NO: 47之胺基酸序列；或於其輕鏈包括如載於SEQ ID NO: 34之胺基酸序列及於其重鏈包括如載於SEQ ID NO: 48之胺基酸序列。該抗-GM-CSF抗體於其輕鏈包括如載於SEQ ID NO: 34之胺基酸序列及於其重鏈包括如載於SEQ ID NO: 35之胺基酸序列係對中和GM-CSF最佳的化合物及亦描述於WO 2006/111353。

【0108】 以上較佳具體實施例提供抗體分子及/或其功能片段，較佳為人類單株抗體分子及/或其功能片段，其尤其有利於作為靈長目及人類GM-CSF活性之中和劑。根據此等尤其較佳具體實施例的抗體或其功能片段於數種理由中係高度有利的。

【0109】 首先，其等具高專一性地辨識靈長目及人類GM-CSF。亦即從靈長目GM-CSF與其他靈長目群落刺激因子的混合物（例如靈長目G-CSF及M-CSF），根據此等尤其較佳具體實施例的結合分子係對靈長目GM-CSF高度鑑別，然而相同環境中的其他群落刺激因子未被辨識。相同情況比照適用於人類GM-CSF。此意謂根據該等具體實施例的抗體或其功能片段，當

投與至人類時將被預期特定結合至及僅中和所欲的目標，然而其他非所欲的目標未被結合亦未被中和。最終地，此導致關於此治療模式於體內作用的高可預測性。

【0110】 第二，根據此等尤其較佳具體實施例之結合劑以可察覺的親和力結合至靈長目及人類GM-CSF。「可察覺的親和力」包括以約 10^{-6} M (KD) 親和力或更強的親和力結合。較佳地，當結合親和力為約 10^{-12} 至 10^{-8} M、 10^{-12} 至 10^{-9} M、 10^{-12} 至 10^{-10} M、 10^{-11} 至 10^{-8} M，較佳為約 10^{-11} 至 10^{-9} M時，結合係被認為是可察覺的（或高的、或特定的）。據此，本發明之結合劑較佳具有於該範圍之 K_D 。對本文中所描述的抗體分子，已觀察到 K_D 值為自約 4×10^{-9} M至低至約 0.04×10^{-9} M（後者對應至約40 pM），較佳為本發明的抗體分子具有於該距離範圍間的 K_D 。然而，亦較佳的是本發明之該抗體分子具有如本文以上所描述的 K_D 。因為此類分子於水溶性媒介中動力學向前速率（on-rate）係大幅地擴散控制的及因此其無法改善至超過將於生理條件下允許的局部擴散條件，主要發生由於動力學的往回速率（off-rate， k_{off} ）所產生之低 K_D ，其對最高的親和力抗體結合劑係大約 10^{-5} s⁻¹。此意謂只要一方面為介於根據任一此等具體實施例之人類單株抗體或其功能片段及另一方面為GM-CSF之錯合物形成的話，其非輕易的、或至少不快速的分開。對於欲作為生物活性中和劑之結合分子，此等特徵係高度有利的，因只要分子（其生物活性係待中和的（此處為靈長目及人類GM-CSF））藉由中和結合分子而維持結合，所欲的中和效應一般將持續下去。故維持結合至其意欲目標一段時間的中和分子於相對地長時間將繼續中和。

【0111】 抗體或其功能片段對靈長目及人類GM-CSF之高結合親和

力具有一額外優點。一般而言，抗體或其功能片段將以取決於尺寸之方式自患者的血流中削減，較小分子係比較大者先被排出及削減。因該兩個多肽（抗體或抗體片段及結合的GM-CSF）的錯合物顯然地大於單獨的抗體，以上所提及的低 k_{off} 具有若與該治療中和劑未結合至GM-CSF的情況相比時，其係更慢地自患者的體內排出與削減的效應。故，不僅中和活性的小，其於體內的存續期間亦增加。

【0112】 對根據以上具體實施例的結合劑所決定的中和活性係驚人地高。如將於以下更詳盡的描述，GM-CSF-中和活性係使用TF-1生長抑制測定法於體外測量（Kitamura, T. *et al.* (1989). *J. Cell Physiol.* 140, 323-34）。作為中和潛力的指示，測量 IC_{50} 值， IC_{50} 係代表需要引起TF-1細胞增生之最大半抑制值之根據任一此等具體實施例之抗體或其功能片段的濃度。對以上指明之人類單株抗-GM-CSF抗體或其功能片段，係決定 IC_{50} 值為大約 3×10^{-10} M、或約0.3 nM。結合分子因此為靈長目及人類GM-CSF活性的高強度中和劑。

【0113】 中和抗-GM-CSF抗體之其他實例為人類 E10抗體及人類 G9抗體，係描述於Li *et al.*, (2006) *PNAS* 103 (10) :3557-3562。E10及G9為IgG類抗體。E10具有對GM-CSF之870 pM的結合親和力，而G9具有對GM-CSF之14 pM的親和力。兩者抗體均對結合至人類GM-CSF為特定的及顯示如以TF-1細胞增生測定法評估之強的中和活性。其他實例為如揭示於WO 2006/122797之人類抗-GM-CSF抗體。

【0114】 為抗-GM-CSF受體抗體之GM-CSF拮抗劑或中和劑亦可於本發明中使用。此類GM-CSF拮抗劑包括對GM-CSF受體 α 鏈或 β 鏈之抗體。

於本發明中使用的抗-GM-CSF受體抗體可為如上所闡釋之任一抗體形式，例如完整、嵌合、單株、多株、抗體片段或衍生物、單鏈、人源化、與人類相關的（humaneered）及其類似物。適用於本發明之抗-GM-CSF受體抗體之實例（例如中和高親和力抗體）係於本領域中習知（參見例如US 專利5,747,032及Nicola et al., Blood 82:15 1724, 1993）。

【0115】 對合適抗體之更進一步序列係於申請案中提供且其整體以參考形式併入本文。抗-GM-CSF抗體係於WO2006/122797、WO2007/049472、WO2007/092939、WO2009/134805、WO2009/064399、WO2009/038760中提供。對抗GM-CSF受體之抗體係於WO2007/110631中提供。

【0116】 總而言之，抗-GM-CSF抗體或其功能片段展現對所欲抗原高程度的辨識度、極度緊密地且長時間結合此抗原、及展現於長時間下其等維持結合之高度強度中和活性。同時，結合劑-抗原錯合物的長持久性減慢此結合劑自體內的削減，從而增長體內所欲的治療效果之存續期間。相同特徵較佳亦適用於辨識GM-CSF受體之抗體，同以上所述。

【0117】 根據本發明之組合物較佳為醫藥組合物。根據本具體實施例，「醫藥組合物」乙詞係關於用於投與至患者的組合物、較佳為人類患者。醫藥組合物或配方通常呈允許活性成份之生物活性為有效的形式及可因此如本文所述以治療用途投與至個體。醫藥組合物通常包括合適的（亦即醫藥上可接受的）配方載體、穩定劑及/或賦形劑。於一較佳具體實施例中，醫藥組合物為用於非經口的、皮膚的（trans-dermal）、腔內的、動脈內的、囊內的（intra-thecal）及/或鼻內的投與或用於直接注射至組織之組合物。特

別設想為該組合物係經由輸液或注射而投與至患者。合適組合物的投與可藉由不同方式施行，例如藉由靜脈內的、腹膜內的、皮下、肌內的、局部或皮內的投與。本發明的組合物可進一步包括醫藥可接受載體。合適的醫藥載體的實例係於本領域中習知及包括緩衝鹽水溶液、水、乳液，諸如油/水乳液、各種類型的潤濕劑、無菌溶液、微脂體等。包括此類載體的組合物可藉習知傳統方法配製。

【0118】 根據本具體實施例，「有效量」乙詞係指對治療與GM-CSF關聯的疾病(如發炎性及自體免疫性疾病)有效的中和GM-CSF化合物的量。

【0119】 投與的較佳劑量及較佳方法係使投與後中和GM-CSF之化合物以有效劑量存在於血液中。可調整投與行程，係藉由觀察疾病狀況及於實驗室測試中分析中和GM-CSF之化合物之血清水平，接著延展投與間隔，例如從每週兩次或每週一次延展至每兩週一次、每三週一次、每四周一次及類似者，或可替代地對應減少投與間隔。

【0120】 醫藥組合物可以合適的劑量投與至個體。劑量方案 (regimen) 將藉由參與的醫師及臨床因素所決定。如於醫學領域中習知的，對任一患者的劑量取決於許多因素，包括患者的體型、身體表面積、年齡、待投與的特定化合物、性別、投與的時間及途徑、一般健康及並存投與的其他藥物。

【0121】 用於非經口投與的製劑包括無菌水溶性或非水溶性溶液、懸浮液及乳液。非水溶性溶劑的實例為丙二醇、聚乙二醇、植物油諸如橄欖油，及可注射的有機酯諸如油酸乙酯。水溶性載體包括水、醇/水溶液、乳液或懸浮液、包括鹽水及緩衝介質。非經口的載具包括氯化鈉溶液、Ringer

式右旋葡萄糖、右旋葡萄糖及氯化鈉、乳酸化Ringer式或不揮發油。靜脈內載具包括流體及營養素補充劑、電解質補充劑（諸如基於Ringer式右旋葡萄糖之彼等者）及類似物。防腐劑及其他添加劑亦可存在，諸如例如抗微生物劑、抗氧化劑、螯合試劑、惰性氣體及類似者。此外，根據本發明之醫藥組合物可包括蛋白質性（proteinaceous）載體，例如 血清白蛋白或免疫球蛋白、較佳人源的。除了上述化合物以外，設想根據本發明醫藥組合物可包括進一步的生物活性試劑，取決於醫藥組合物的預期用途。此類試劑可為作用於胃-腸系統之藥物、作為細胞增殖抑制劑（cytostatic）之藥物、預防高尿酸血症（hyperurikemia）之藥物、抑制免疫反應之藥物（例 皮質類固醇）、調節發炎性反應之藥物、作用於循環系統之藥物及/或試劑、諸如本領域中習知的細胞介素。

【0122】 為了分析 GM-CSF 中和化合物於例如風濕性關節炎（rheumatoid arthritis，RA）中的效果，結果的測量可例如選自藥物動力學、免疫原性及改善RA臨床徵兆及症狀之潛因，藉以DAS28、ACR20/50/70及/或EULAR反應現象，對滑膜炎及骨水腫之MRI成像以及患者報告之結果測量。ACR係綜述於變軟及腫脹關節數量的改善、疼痛尺度、患者及醫師對改善及部份實驗標記之評估的度量。ACR 20描述所研究的參加者中於臨床徵兆及症狀達到20%改善之百分比，例如於變軟或腫脹關節數中20%的改善以及於三種其他疾病相關現象中20%的改善。

【0123】 於發展藥品（諸如根據本發明之醫藥組合物）中的另一主要挑戰為可預測的藥物動力學性質調節。為此目的，候選藥物的藥物動力學輪廓，亦即建立影響特定藥物於治療給定症狀的能力之藥物動力學參數的

輪廓。影響用於治療某些疾病實體的藥物能力之藥物動力學參數包括但不限於：半生期、分配的體積、肝一級代謝及血液血清結合的程度。給定藥物試劑的效率可受上述每一參數所影響。「半生期」意謂50%的投與藥物通過生物途徑，例如代謝、排泄等而削減的時間。「肝一級代謝」係意謂經與肝第一接觸待代謝的藥物之傾向，亦即藥物於藥物第一通過肝的期間。「分配體積」意謂遍及多種身體腔室之藥物滯留程度，像是例如細胞內及細胞外空間、組織及器官等與該藥物於此等腔室間的分佈。

【0124】 「血液血清結合的程度」意謂與血清蛋白質（諸如白蛋白）交互作用或結合的藥物導致藥物的生物活性減少或損失的傾向。

【0125】 藥物動力學參數亦包括生物有效性、延遲時間（Tlag）、Tmax、吸收速率及/或對投與藥物給定量的Cmax。「生物有效性」意謂藥物於血液腔室中的量。「延遲時間」意謂介於藥物投與及其偵測及於血液或血漿中可偵測性之間的時間延遲。「Tmax」係達到藥物的最大血液濃度後之時間，吸收係定義為藥物自投與處進至體循環的移動，及「Cmax」係以給定藥物最大獲得的血液濃度。達成對其生物效用所需之藥物血液或組織濃度的時間係受所有參數影響。

【0126】 本文所使用「毒性」乙詞係指藥物的毒效用顯露負面作用或嚴重負面作用。此等副作用可指整體缺乏藥物的可容忍性及/或於投與後缺乏局部容忍性。毒性亦可包括藥物造成的致畸形的或致癌的效應。

【0127】 本文所使用「安全性」乙詞、「體內安全性」或「可容忍性」係定義為直接投與後（局部容忍性）及於施用藥物的長期間不具誘導嚴重負面作用的藥物投與。「安全性」、「體內安全性」或「可容忍性」可例如於

治療期間的規則間隔及後續期間評估。測量包括臨床評估，例如器官表現及實驗室異常性之篩選。臨床評估可根據NCI-CTC及/或MedDRA標準進行及對所紀錄/編錄之正常發現偏移。器官表現可包括諸如過敏/免疫學、血液/骨髓、心律不整、凝結及類似者之現象，如載於例如Common Terminology Criteria for adverse events v3.0 (CTCAE) 中。可被測試的實驗室參數例如包括血液學、臨床化學、凝結輪廓及尿液分析及其他體液的檢查，諸如血清、血漿、淋巴液或脊髓液、液體及類似物。安全性可因此藉由例如生理檢查、成像技術（亦即超音波、x光、CT掃描、核磁共振成像（Magnetic Resonance Imaging, MRI）、以技術裝置之其他測量（亦即心電圖）、生命跡象、藉由測量實驗室參數及紀錄負面作用而評估。本文所使用「有效及非毒性劑量」乙詞係指對該中和GM-CSF之化合物、較佳本文所定義之抗體的可容忍劑量，其係足夠高以治癒或穩定感興趣的疾病而未有或實質上未有主要毒性效果。此類有效及非毒性劑量可例如藉由本領域中所描述的劑量升高研究而決定及應低於誘導嚴重負面副作用的劑量（劑量限制毒性，DLT(dose limiting toxicity)）。

【0128】 本發明的配方(本文有時亦指為「物質的組合物」、「組合物」或「溶液」)較佳可呈多種物理型態，諸如液態、冷凍的、冷凍乾燥的 (lyophilized)、冷凍-乾燥的 (freeze-dried)、噴灑-乾燥的及重組配方，以液態及冷凍為較佳。

【0129】 本文所用的「液態配方」係指發現呈液態的物質的組合物，特徵為於其等本身中組成分子的自由移動但於室溫下並沒有分離的傾向。液態配方包括水溶性及非水溶性液態，以水溶性配方為較佳。水溶性配方

係其中之溶劑或主要溶劑為水、較佳為用於注射的水（water for injection，WFI）的配方。中和GM-CSF之化合物於配方中的溶解可為勻相或非勻相，以如上述之勻相為較佳。

【0130】 可使用任何提供本發明配方穩定性之合適的非水溶性液體。較佳地，非水溶性液體係親水的液體。合適的非水溶性液體之闡述實例包括：甘油；二甲亞礦（dimethyl sulfoxide，DMSO）；聚二甲基矽氧烷（polydimethylsiloxane，PMS）；伸乙基二醇類，諸如乙二醇、二乙二醇、三乙二醇、聚乙二醇（「PEG」）200、PEG 300及PEG 400；及伸丙基二醇類，諸如二丙二醇、三丙二醇、聚丙二醇（「PPG」，polypropylene glycol）425及PPG 725。

【0131】 本文所用之「混合的水溶性/非水溶性液態配方」係指包含水（較佳WFI）的混合物及額外液態組合物之液態配方。

【0132】 當使用於本文時，「配方」或「組合物」係中和GM-CSF之化合物（亦即活性藥物/物質）及另外的化學物質及/或於藥用產品中所需之添加劑之混合物，其較佳呈液態狀態。本發明的配方包括醫藥配方。

【0133】 配方之製備包括製程中結合不同化學物質（包括活性藥物）以生產最終藥用產品、諸如醫藥組合物。本發明配方的活性藥物係中和GM-CSF之化合物。

【0134】 於某些具體實施例中，待配製的中和GM-CSF之化合物實質上為純的及/或實質上勻相的（亦即實質上不含污染物質，例如蛋白質等，其可為產品相關及/或製程相關的不純物）。「實質上純的」乙詞意謂包括至少約80%、較佳約化合物重量的90%、較佳至少約化合物重量的95%、更佳

至少約化合物重量的97%或最佳至少約化合物重量的98%（化合物較佳呈單體型態）之組合物。「實質上勻相的」乙詞意謂包括至少約化合物重量的99%、化合物較佳呈單體型態、排除溶液中多種穩定劑與水的質量之組合物。

【0135】 當於本文中使用時，「約」乙詞係理解為意謂於個別值或範圍中（諸如pH、濃度、百分比、莫耳濃度、胺基酸數目、時間等）可具有變動性，其可為高至給定值的5%、高至給定值的10%、高至給定值的15%或高至及包括給定值的20%。例如，若配方包括約5 mg/ml的化合物，此可理解為意謂配方可具介於4及6 mg/ml之間、較佳介於4.25及5.75 mg/ml之間、更佳介於4.5及5.5 mg/ml之間及甚至更佳介於4.75及5.25 mg/ml之間、與最佳為5 mg/ml。如本文中所使用，間隔係定義為「（從）X至Y」，並等同於定義為「介於X及Y之間」的間隔。兩種間隔特定而言包括上限及下限。此意謂例如「5 mg/ml至10 mg/ml」或「介於5 mg/ml及10 mg/ml之間」的間隔包括濃度為5、6、7、8、9及10 mg/ml以及任何給定的中間值。

【0136】 「穩定的」配方係於配方中的中和GM-CSF之化合物實質上於儲存後維持其物理穩定性及/或化學穩定性及/或生物活性及/或與對照樣本相比未顯示聚集、沈澱、裂解、降解及/或變性的大量跡象之配方，較佳係於以視覺檢查顏色及/或澄清度後、或藉由UV光散射或藉由粒徑篩析層析法測量。多種另外對測量蛋白質穩定性的分析技術於本領域中可用且例如於下列之中回顧：Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991) 及 Jones, A. Adv. Drug Delivery Rev. 10: 29-90 (1993)。

【0137】 本文所使用「於儲存期間」意謂一旦配方製備後並未立即使

用；取而代之的於其製備之後，將其包裝而儲存，係呈液態形式、呈冷凍狀態或呈後續復原至液態形式或其他形式的乾燥形式。

【0138】 該中和GM-CSF之化合物較佳設想為到以下之程度為穩定的：於儲存期間、及/或於冷凍/融化期間或之後、及/或於剪切（例如搖晃）應力期間或之後，其未實質形成聚集體或片段/降解產物（例如因為一或多種前述原因）。據此，較佳設想，不高於10%、更佳不高於8%、甚至更佳不高於5%、特別較佳不高於2%的中和GM-CSF之化合物形成聚集體及/或片段，其量係相對於在開始儲存時、或於進行一或多個冷凍/融化循環之前、或於進行搖晃研究之前中和GM-CSF之化合物的量。此穩定性較佳適用於至少1個月、至少2個月或至少3個月；較佳至少4個月、至少5個月或至少6個月；更佳至少9個月或至少12個月；甚至更佳至少18個月或至少24個月；及最佳至少30個月或至少36個月或至少48個月或至少54個月或至少60個月的時間範圍。較佳儲存溫度條件係高至室溫（約20°C至約25°C）、更佳約2-8°C、最佳時間範圍係至少3年或甚至至少4年。於化合物根據上述參數為較佳穩定的之期間冷凍/融化循環的次數係至少一循環、較佳至少2、3、或4循環、更佳至少5、6或7循環及最佳至少8、9或10循環。於化合物根據上述參數為較佳穩定的之期間搖晃的天數（例如於+5°C ± 3°C之溫度下、亦參見實施例12d）係至少1天、較佳至少2、3、或4天、更佳至少5、6或7天、甚至更佳至少8、9、10或11天及最佳至少12、13或14天。

【0139】 於另一替代例中，中和GM-CSF之化合物較佳設想為到其未形成二聚體、寡聚體或片段之程度則為穩定的。換言之，中和GM-CSF之化合物的穩定性之決定可根據溶液中蛋白質單體的百分比，與較低降解的（例

如裂解的) 及/或聚集的蛋白質百分比。例如，包括GM-CSF中和化合物(諸如抗體)之本發明配方可包括至少90%、更佳至少92%、甚至更佳至少95%、特別較佳至少98%及最佳至少99%的中和GM-CSF之化合物單體。

【0140】 「聚集體」係意謂介於蛋白質分子之間的物理交互作用，其導致形成共價的或非共價的二聚體或寡聚體(亦即高分子量實體)的形成，其可維持可溶的或形成由溶液中沉澱出來的不可溶的聚集體。「聚集體」亦包括降解的及/或裂解的蛋白質。

【0141】 如本文以上所提及，數種不同分析方法可用於偵測於包括中和GM-CSF化合物之配方中聚集體的存在及水平。此等包括但不限於例如天然聚丙烯醯胺凝膠電泳 (polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE)、十二礦酸鈉-聚丙烯醯胺凝膠電泳 (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)、毛細管凝膠電泳 (capillary gel electrophoresis, CGE)、粒徑篩析層析法 (size exclusion chromatography, SEC)、分析級超離心 (analytical ultracentrifugation, AUC)、場流分離 (field flow fractionation, FFF)、光散射偵測、沉降速度、UV光譜、微差掃描熱量法 (differential scanning calorimetry)、濁度測定法 (turbidimetry)、比濁測定法 (nephelometry)、顯微術、粒徑篩析-高效能液相層析法 (size exclusion-high performance liquid chromatography, SE-HPLC)、逆相-高效能液相層析法 (reverse phase-high performance liquid chromatography, RP-HPLC)、電噴灑串聯質譜法 (electrospray ionization tandem mass spectroscopy, ESI-MS) 及串聯RP-HPLC/ESI-MS、場流分離技術及靜態及/或動態光散射。此等方法可單獨或結合使用。較佳地，用於偵測於包括中和GM-CSF化合物之配方中

聚集體及/或片段之存在及水平的分析方法為粒徑篩析層析法，諸如 SE-HPLC、分析級超離心及非對稱場流分離。決定中和GM-CSF之化合物生物活性的方法係例如測量其結合至（固定的，immobilized）GM-CSF（或 GM-CSF受體）的程度，係所謂的表面電漿子共振（surface plasmon resonance，SPR）。

【0142】 包括蛋白質配方的常見挑戰為隨時間、熱或剪切應力之不可逆的聚集體累積。典型地，當聚集體沉澱時，其等形成易於偵測的大粒子。然而較小的、非共價的可溶性聚集體（其通常為沉澱至大粒子的前軀體）係較難偵測及定量。故，偵測及定量於蛋白質配方中的蛋白質聚集之方法需要基於待評估的聚集體種類。

【0143】 於以上方法中，用於決定於蛋白質配方中可溶的、共價聚集體的存在及/或量之建議方法為：SEC/光散射、SDS-PAGE、CGE、RP-HPLC/ESI-MS、FFF及AUC。決定於蛋白質配方中可溶的、非共價聚集體的存在及/或量之建議方法為：SEC、PAGE、SDS-PAGE、CGE、FFF、AUC及動態光散射。決定於蛋白質配方中不可溶的、非共價聚集體的存在及/或量之建議方法為：UV光譜、濁度測定法、比濁測定法、顯微術、AUC、非對稱場流分離及動態光散射。

【0144】 更甚者，本發明的配方較佳提供改善的長期儲存，以使呈液態或冷凍、較佳呈液態之中和GM-CSF之化合物於儲存期間為穩定的。如本文中所使用者，片語「長期」儲存係理解為意謂配方可儲存至少一個月、兩或三個月或更多、六個月或更多，及較佳一年及更多或甚至2年、3年或4年或5年及更多。長期儲存亦理解為意謂醫藥組合物係儲存於2-8°C下或於

室溫下、較佳於2-8°C下，從而配方較佳未失去其生物活性至如本文描述之程度及/或未形成聚集體至如本文描述之程度及/或包括單體至本文描述的程度。對此等性質的測試係於本文他處描述。

【0145】 於本發明之一方面中，配方中的中和GM-CSF之化合物呈液態形式在以下時間內為穩定的：至少1個月、2個月、3個月；至少4個月、至少5個月；至少6個月；至少12個月；至少24個月；至少36個月；至少48個月、至少60個月。上述引述時間期間中間的範圍係意欲為本發明之部份。例如9個月等等。此外，意欲包括使用上述引述值之組合作為上及/或下限之範圍。較佳地，配方於室溫下（約20°C至25°C）在至少1個月為穩定的及/或於約2-8°C下在至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12個月為穩定的，或更佳於約2-8°C下在至少2年、至少3年、至少4年或甚至至少5年為穩定的。

【0146】 穩定性的另一重要方面為於根據本發明組合物中的中和GM-CSF之化合物於儲存期間及儲存條件，尤其是溫度及可能溫度變化下維持其生物活性或潛能（potency）。活性或潛能係例如由化合物的中和容量本身（其可於基於細胞的測定法中測量，如本文以上所描述）或由GM-CSF中和化合物對結合至GM-CSF或至GM-CSF受體的容量所反映。結合親和力由SPR或其他本領域習知方法所評估，例如流動式生物感測系統（Biacore）或斯卡查德（Scatchard）測定法。

【0147】 本發明的配方係藉由加入如本文所描述之中和GM-CSF之化合物至例如水溶液、緩衝劑及張力調節劑中所製備。本領域中具有通常技藝者將理解包括於配方中多種組份的結合可以適當次序完成。例如可首

先、中間或最後添加緩衝劑，及可首先、中間或最後添加張力調節劑。本領域中具有通常技藝者亦可理解某些此等化學物於某些組合中不相容，及據此輕易的以具有相似性質但於相關混合物中相容的不同化學物取代。

【0148】 於本發明的一較佳方面中配方包括緩衝劑。本文所使用之「緩衝劑 (buffer)」乙詞或「緩衝試劑 (buffering agent)」乙詞包括維持pH於所欲範圍之彼等試劑。緩衝劑為由弱酸及其共軛鹼或弱鹼及其共軛酸之混合物所組成的水溶液。其具有當小量的強酸或鹼加入時，溶液pH變化非常小的性質。緩衝溶液係以於廣泛種類的化學應用中維持pH在近乎恆定值之方法使用。一般而言，當施用於本發明配方中緩衝劑較佳穩定化中和GM-CSF之化合物。

【0149】 當使用於本文時，「胺基酸緩衝劑」包括例如胺基酸鹼、例如組胺酸及其共軛鹽。胺基酸緩衝劑之一實例為組胺酸/組胺酸氯化物。此實例較佳應用於本發明中。

【0150】 如本文描述配方之較佳pH可選自以下範圍：從約4至約10、較佳從約4至約6或從約5至約7、更佳從約5.5至約6.5。pH最佳為約或正好5.8。據此，較佳使用可維持溶液於pH 5至7之緩衝劑。當使用於上下文之pH值/範圍時，「約」乙詞較佳意謂具有接近+/- 20%所述值的數值範圍。當醫藥組合物的pH係設定於或接近生理水平時，投與後患者的舒適度達到最大化。咸理解可如最大化穩定性及於特定配方中中和GM-CSF之化合物溶解度的必要而調整pH，及如此生理範圍以外、又較佳患者可容忍的的pH係落於本發明之範疇中。

【0151】 可用於本文描述配方中的緩衝劑之非限制性實例包括組胺

酸、琥珀酸鹽、葡萄糖酸鹽、檸檬酸鹽、精胺酸、離胺酸、天門冬胺酸、麩胺酸、參（氨基丁三醇）(tris(trometamol))、雙-三緩衝液 (Bis-Tris)、MOPS、ACES、TES、HEPES、EPPS、乙二胺、磷酸、順丁烯二酸/磷酸鹽、2-嗎福林基乙烷磺酸 (2-morpholinoethanesulfonic acid, MES)、磷酸鹽、醋酸鹽及二乙二醇胺。

【0152】 較佳緩衝劑為組胺酸、醋酸鹽及檸檬酸鹽緩衝劑。更佳為於本發明配方中施用組胺酸緩衝劑，較佳介於pH 5及7之間、更佳介於pH 5.5及6.5之間、甚至更佳於pH 5.8。施用於本發明的緩衝劑係於本領域中習知且藉已知方法製造及可自商業供應者獲得。

【0153】 於部份具體實施例中，配方進一步包括氫氧化鈉 (NaOH)。於特定具體實施例中，配方包括1-200 mM、或低於50 mM、低於40 mM、低於35 mM、低於30 mM、低於25 mM、低於 20 mM、或低於15 mM、例如10 mM NaOH或低於諸如5 mM或1 mM氫氧化鈉。

【0154】 除了中和GM-CSF之化合物及緩衝劑以外，根據本發明的配方亦可包含其他物質，其包括但不限於穩定試劑 (stabilizing agents) (穩定劑 (stabilizers))。

【0155】 據此，於一較佳方面，配方包括亦可作用為張力調節劑的穩定劑。「穩定試劑」乙詞係指改善或增強配方穩定性的試劑，特別是對中和GM-CSF化合物。為張力調節劑之穩定試劑可為非還原糖、糖醇或其組合。本發明液態組合物中的張力調節劑確保溶液的張力（亦即滲透壓度）實質上係與正常生理流體相同及因此避免投與後腫脹或因介於組合物及生理流體間的不同離子濃度造成的組合物快速吸收。通常，描述於本文的配方之

性質係使配方的滲透壓度介於約240及約470 mOsmol/kg之間、更佳介於約300及約400 mOsmol/kg之間、最佳約350 mOsmol/kg。

【0156】 較佳地，穩定試劑/張力調節劑可為一或多種非還原糖類、諸如蔗糖或海藻糖，或一或多種糖醇類、諸如甘露糖醇或山梨糖醇，較佳亦可為非還原糖類及糖醇類的組合。於某些具體實施例中，組合物中穩定試劑/張力調節劑濃度係選自以下範圍：自1至15% (w/v)、自2至10 % (w/v)、自3至8% (w/v)、自4至6.5% (w/w)、自4.5至6% (w/v)。於特定具體實施例中，濃度為約5至6% (w/v)。施用於本發明配方中的穩定劑/張力調節劑較佳為山梨糖醇、較佳於5% (w/v)。

【0157】 於一較佳具體實施例中，本文描述的配方並未包括另外的賦形劑，如胺基酸（除了當緩衝劑選自胺基酸緩衝劑時、諸如組胺酸緩衝劑）或界面活性劑。

【0158】 於較不那麼佳的具體實施例中，本文描述的配方包括額外的賦形劑。賦形劑較佳係選自由胺基酸、低溫保護劑、冷凍防護劑 (lyoprotectant)、界面活性劑、增積劑、抗氧化劑及其組合所組成的群組。

【0159】 賦形劑，亦指作為當於溶液中（亦呈乾燥或冷凍形式）時較佳穩定中和GM-CSF化合物的化學添加劑、共溶質或共溶劑，可添加至本發明的配方。較佳地，賦形劑對中和GM-CSF化合物的穩定性具有貢獻，但亦理解賦形劑或可對配方的物理、化學及生物性質具有貢獻。賦形劑為本領域中習知的、及藉由已知方法製造及可自商業供應者獲得。

【0160】 賦形劑之實例包括但不限於糖類/多元醇類諸如：蔗糖、乳糖、甘油、木糖醇、山梨糖醇、甘露糖醇、麥芽糖、肌醇、海藻糖、葡萄

糖；聚合物類諸如：血清白蛋白（牛血清白蛋白（bovine serum albumin，BSA）、人類SA或重組HA）、聚葡萄糖、PVA、羥基丙基甲基纖維素（hydroxypropyl methylcellulose，HPMC）、聚乙二亞胺、明膠、聚乙烯基吡咯 呢 酮（polyvinylpyrrolidone，PVP）、羥基乙基纖維素（hydroxyethylcellulose，HEC）、羥基乙基澱粉（hydroxyethylstarch，HES）；非水溶性溶劑諸如：多元醇類（例如PEG、乙二醇及甘油）、二甲亞礎（dimethylsulfoxide，DMSO）及二甲基甲醯胺（dimethylformamide，DMF）；胺基酸類諸如：蘇胺酸、絲胺酸、脯胺酸、丙胺酸、纈胺酸、麴醯胺酸、甲硫胺酸、半胱胺酸、異白胺酸、天門冬胺酸、麴胺酸、精胺酸、甘胺酸、組胺酸、離胺酸、苯基丙胺酸、白胺酸、天門冬醯胺酸、色胺酸及酪胺酸；界面活性劑類諸如：Tween-80、Tween-20、SDS、聚山梨糖醇酯、聚oxyethylene共聚物；及各式賦形劑諸如：磷酸鉀、醋酸鈉、硫酸銨、硫酸鎂、硫酸鈉、三甲胺N-氧化物、甜菜鹼、金屬離子（例如、鋅、銅、鈣、錳及鎂）、CHAPS、單月桂酸鹽、2-O-β-甘油酸甘露糖酯（2-O-beta-mannoglycerate）或以上之任意組合。

【0161】「低溫保護劑」包括於製造、冷凍、儲存、搬運、分配、復原或使用期間提供穩定性至冷凍蛋白質之物質。於一特定方面，「低溫保護劑」包括防止由冷凍製程所誘導之應力於蛋白質的物質。低溫保護劑可具有冷凍防護劑效果。低溫保護劑的非限制性實例包括糖，諸如蔗糖、葡萄糖、海藻糖、甘露糖醇、山梨糖醇、甘露糖及乳糖；聚合物，諸如聚葡萄糖、羥基乙基澱粉、聚乙烯基吡咯呢酮（PVP）及聚乙二醇；界面活性劑，諸如聚山梨糖醇酯類（例如PS-20或PS-80）；及胺基酸，諸如甘胺酸、精胺

酸、白胺酸及絲胺酸。通常使用於生物系統中展現低毒性的低溫保護劑。

【0162】如本文描述的雙醣可作用為冷凍防護劑或低溫保護劑。「冷凍防護劑」包括避免或減少冷凍乾燥及後續儲存後蛋白質的化學或物理不穩定性之物質。於一方面，冷凍防護劑於乾燥製程期間當水自組合物移除時，避免或減少於蛋白質中化學或物理不穩定性。於另一方面，冷凍防護劑藉由通過氫鍵幫助維持蛋白質的適當構型而穩定化蛋白質。

【0163】據此，於一方面如本文描述之雙醣於冷凍期間可供於穩定化中和GM-CSF化合物。因於冷凍期間之保護可取決於雙醣的絕對濃度（Carpenter et al., Pharm. Res. (1997), 14:969-975，高於5%的濃度對最大化穩定性可為必要的。

【0164】於一具體實施例中，冷凍防護劑係添加至本文描述之配方。如本文所使用之「冷凍防護劑」乙詞包括於冷凍-乾燥或脫水製程（第一及第二冷凍-乾燥循環）期間，藉由提供非定型玻璃狀介質及藉由通過氫鍵與蛋白質結合，取代於乾燥製程期間被移除的水分子，對蛋白質提供穩定性之試劑。此幫助維持蛋白質構型，最小化於冷凍乾燥循環期間的蛋白質降解及改善長期產品穩定性。冷凍防護劑係以「冷凍防護量」添加至預冷凍乾燥的配方，其意謂於冷凍防護量之冷凍防護劑的存在下，中和GM-CSF化合物冷凍乾燥後，化合物在冷凍乾燥及儲存下實質上保留其等之物理及化學穩定性及完整性。

【0165】冷凍防護劑的非限制性實例包括糖，諸如蔗糖或海藻糖；胺基酸，諸如麩胺酸單鈉、甘胺酸或組胺酸；甲基胺，諸如甜菜鹼；溶致性鹽，諸如硫酸鎂；多元醇，諸如三元或更多元糖醇，例如阿拉伯膠醇、木

糖醇、山梨糖醇及甘露糖醇；聚乙二醇；PEO-PPO-PEO團聯共聚高分子（pluronics）；及其組合。較佳冷凍防護劑係如以上對穩定試劑之描述。添加至配方的冷凍防護劑的量通常相當蛋白質配方為冷凍乾燥時，不導致不可接受程度的蛋白質降解/聚集之量。

【0166】 另一種賦形劑為界面活性劑。「界面活性劑」乙詞一般包括彼等防止空氣/溶液介面-誘導應力及溶液/表面誘導-應力於中和GM-CSF化合物之試劑。例如界面活性劑可防止蛋白質聚集。

【0167】 界面活性劑之實例包括但不限於非離子性界面活性劑，諸如聚山梨糖醇酯類（例如聚山梨糖醇酯80或聚山梨糖醇酯20）；泊洛沙姆（poloxamers）（例如、泊洛沙姆 188）；三硝基甲苯（Triton）、十二烷基硫酸鈉（sodium dodecyl sulfate，SDS）；月桂基硫酸鈉；辛基糖昔鈉；月桂基-礦醯基甜菜鹼、肉豆蔻基-礦醯基甜菜鹼、亞麻基-礦醯基甜菜鹼、硬脂基-礦醯基甜菜鹼、月桂基-肌胺酸、肉豆蔻基-肌胺酸、亞麻基-肌胺酸、硬脂基-肌胺酸、亞麻基-甜菜鹼、肉豆蔻基-甜菜鹼、鯨蠟基-甜菜鹼、月桂醯胺基丙基-甜菜鹼、椰油醯胺基丙基-甜菜鹼、亞麻油醯胺基丙基-甜菜鹼、肉豆蔻醯胺基丙基-甜菜鹼、棕櫚醯胺基丙基-甜菜鹼（palmidopropyl-betaine）、異硬脂醯胺基丙基-甜菜鹼（例如月桂醯胺基丙基）、肉豆蔻醯胺基丙基-（myristarnidopropyl-）二甲基胺、棕櫚醯胺基丙基-二甲基胺或異硬脂醯胺基丙基-二甲基胺；甲基椰油基-牛磺酸鈉或甲基歐非基-牛磺酸二鈉（disodium methyl oleyl-taurate）；及Monaquat系列（Mona Industries, Inc., Paterson, NJ.）；聚乙二醇、聚丙二醇及乙二醇及丙二醇共聚物（例如、PEO-PPO-PEO團聯共聚高分子、PF68）。添加的界面活性劑量係使其維持蛋

白質聚集在一可接受的水平，如使用例如SEC-HPLC或光障測量以決定高分子量 (high molecular weight, HMW) 物種或低分子量 (low molecular weight, LMW) 物種而測定，及最小化本文描述蛋白質配方之微粒形成。

【0168】 另一較佳賦形劑可為增積劑。如本文所使用之「增積劑」乙詞包括提供冷凍-乾燥產品之結構而不具直接與醫藥產品交互作用之試劑。除了提供醫藥用精緻餅 (pharmaceutically elegant cake) 以外，增積劑亦可對於修飾塌陷溫度、提供冷凍-融化保護及增強長期儲存下蛋白質穩定性給予有用的品質。增積劑的非限制性實例包括甘露糖醇、甘胺酸、乳糖及蔗糖。增積劑可為結晶形 (諸如甘胺酸、甘露糖醇或氯化鈉) 或非定型 (諸如聚葡萄糖、羥基乙基澱粉) 及一般呈0.5%至10%的量用於蛋白質配方中。

【0169】 較佳地，施用於本發明配方中的增積劑促進餅的形成，該餅為美觀可接受的、均勻的或機械上強的。增積劑較佳亦促進開孔結構的形成及復原的容易性及速度。增積劑較佳亦減少或避免餅塌陷、共熔融或殘餘水汽的滯留。於另一方面，增積劑較佳幫助保護中和GM-CSF化合物抵抗應力 (例如 物理及化學應力) 及幫助維持蛋白質活性。

【0170】 另一較佳的賦形劑可為抗氧化劑。如本文所使用，「抗氧化劑」係可減緩或避免其他分子的氧化之分子。氧化係自一物質轉移電子至氧化試劑之化學反應。對用於本發明組合物，生理的可接受的抗氧化劑為感興趣的。此類抗氧化劑包括但不限於還原試劑、抗壞血酸 (維生素C)、類脂酸、褪黑激素、尿酸、胡蘿蔔素、視黃醇、生育酚及生育三烯酚 (tocotrienols)、例如 α -生育酚 (維生素 E)、泛醌 (輔酶Q) 及類似者。

【0171】 於部份具體實施例中，配方可視需要包含防腐劑。「防腐劑」

係可添加至本文配方以減少細菌活性之化合物。防腐劑的添加可例如促使多用途（多種劑量）配方之製造。潛在的防腐劑實例包括氯化十八基二甲基苄基銨、氯化六甲雙三級銨（hexamethonium chloride）、氯化烷基二甲基苄基銨（氯化烷基苄基二甲基銨之混合物，其中烷基為長鏈化合物）及陽性皂（benzethonium chloride）。其他類型的防腐劑包括芳香族醇諸如酚、丁基及苄醇、對羥苯甲酸烷基酯諸如對羥苯甲酸甲酯或丙酯、兒茶酚、間苯二酚、環己醇、3-戊醇及間甲酚。本文中最佳防腐劑為苄醇。

【0172】 據此，於更佳具體實施例中，本發明配方為長期儲存的液態、較佳為水溶性配方，其包括介於約100 mg/ml及200 mg/ml之間的中和GM-CSF之化合物及選自由組胺酸、醋酸鹽及檸檬酸鹽所組成群組之緩衝劑，於pH為約5至約7，及配方可額外地包括一或多種蔗糖、海藻糖、甘露糖醇及/或山梨糖醇作為穩定劑/張力調節劑。

【0173】 於特別較佳具體實施例中，本發明配方為長期儲存的液態、較佳為水溶性配方，其包括介於約100 mg/ml及200 mg/ml之間、更佳約150mg/ml的中和GM-CSF之化合物，及組胺酸緩衝劑於濃度為約20 mM至約40 mM、更佳約30 mM，於pH為約5.5至約6.5、更佳5.8，及配方可額外地包括約4%至約6%、更佳約5% (w/v) 山梨糖醇，及視需要沒有額外的賦形劑如介面活性劑、胺基酸及/或NaCl。

【0174】 咸理解組合物的部份組份可以本領域中已知的替代物交換。然而，本領域中習知技藝者亦將理解，包括部份組份為了包括但不限於化學相容性、pH、張力及穩定性之原因而排除使用其他組份、濃度或製備本配方方法。

【0175】 對本發明液態配方有益的係具有低及可行的黏度，其係適於皮下投與，諸如於即可用的裝置。根據本發明配方的黏度係因此較佳於介於約50及約1000 [1/sec]之間的剪切速率下及在約20°C的溫度下低於20 mPa*s。更佳該黏度係於以上狀況下低於15 mPa*s。

【0176】 如本文所提及，此應用一般關於發現數種物質添加至包括中和GM-CSF化合物之配方可減少配方中此等化合物之聚集及/或降解/碎裂。無論是何種原因使配方中之中和GM-CSF之化合物成聚集體或被降解，如本文描述物質之添加減少配方中之中和GM-CSF化合物的聚集/碎裂。於部份具體實施例中，所描述物質之添加減少配方中由例如儲存、暴露至提昇的溫度、暴露至光、暴露至剪切應力、界面活性劑的存在、pH及離子條件及其任意組合所造成的聚集/降解。

【0177】 本發明人所發現之手段可用以減少所調配的中和GM-CSF化合物之聚集及/或降解/碎裂，特別是於液態及冷凍形式。減少的聚集/碎裂係因此較佳於液態配方中觀測到。係假設減少聚集/降解亦於以下情況可觀測到：當直接呈液態形式用於之後使用而儲存時、儲存於冷凍狀態及使用前融化時、或以乾燥形式製備時，諸如冷凍乾燥的、空氣-乾燥或噴灑-乾燥形式，其用於之後在使用前復原至液態形式或其他形式。

【0178】 故，設想本文描述的配方可以任何本領域習知技藝者已知的方法儲存。非限制性實例包括冷卻、冷凍、冷凍乾燥及噴灑乾燥此配方，其中藉冷卻儲存係較佳。

【0179】 於部份案例中，蛋白質配方係為儲存而冷凍。據此，希望配方可於此類狀況下為相對穩定的，包括於凍融循環下。決定配方合適性的

一方法為使配方之樣品經受至少一次、例如一次、三次、五次、七次及至多十次冷凍及融化之循環（例如藉由在約-80°C ± 10°C下冷凍整夜及在室溫下快速融化或於冰上緩慢融化例如6小時），而決定於凍融循環後累積之低分子量（LMW）物種的量及/或高分子量（HMW）物種的量並相比於在冷凍-融化程序前樣品中存在的LMW物種或HMW物種的量。LMW或HMW物種的增加指示作為配方部份之蛋白質穩定性的減少。粒徑篩析高效能液相層析法（SE-HPLC）可用於決定LMW及HMW物種的存在。

【0180】 較佳地，蛋白質配方可呈液態儲存。據此，如本文描述的，希望液態配方於此類條件下為穩定的，包括在各種溫度下。例如，決定配方合適性的一方法係儲存樣品配方於數種溫度下（諸如2-8°C、15°C、20°C、25°C、30°C、35°C、40°C及50°C）及監控隨時間累積之HMW及/或LMW物種的量。隨時間累積之HMW及/或LMW物種的量越小，對配方的儲存條件越好。此外，蛋白質的電荷輪廓可藉由陽離子交換-高效能液相層析法(*cation exchange-high performance liquid chromatography*，CEX-HPLC)監測。替代地，配方可於冷凍乾燥後儲存。此外希望配方於剪切應力的條件下為穩定的。決定配方的合適性之一方法係輕搖搖動器上容器中的配方，例如垂直搖動器在所欲的溫度下（諸如2-8°C、15°C、20°C、25°C、30°C、35°C、40°C及50°C、較佳+5°C ± 3°C）。容器（例如小瓶）可儲存於搖動器上於所欲的時間期間，例如高至14天或更長，相對儲存於非搖動及在相同溫度下的對照組。資料點收集可於例如0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 14及14天後進行。可決定於搖動儲存後累積的低分子量（LMW）物種及/或高分子量（HMW）物種的量及與非搖動樣品中存在的LMW物種或HMW物種

的量相比較。LMW或HMW物種的增加指示作為配方部份的蛋白質穩定性之減少。可使用粒徑篩析高效能液相層析法（SE-HPLC）以決定LMW及HMW 物種的存在。

【0181】 於部份案例中，配方係噴灑-乾燥然後儲存。針對噴灑-乾燥，液態配方係於乾氣體流的存在下氣溶膠化。從配方液滴中移除水至氣體流，產生藥物配方的乾燥顆粒。賦形劑可包括於配方中以 (i) 於噴灑-乾燥脫水期間保護蛋白質、(ii) 於噴灑-乾燥後儲存期間保護蛋白質、及/或(iii) 紿予適合氣溶膠化的溶液性質。該方法係類似於以上對冷凍的描述，除了樣品配方係噴散乾燥而非冷凍、於稀釋劑中重組及重組的配方係針對LMW物種及/或 HMW物種的存在測試。於噴灑-乾燥樣品中的LMW或HMW物種相對於非冷凍乾燥的對應樣品配方之增加指示噴灑-乾燥樣品中減少的穩定性。

【0182】 「冷凍乾燥的」乙詞或「冷凍-乾燥」乙詞包括已經經受乾燥程序（諸如冷凍乾燥）之物質狀態，其中至少90%、較佳95%、最佳98%的水氣已被移除。據此，如本文所使用「冷凍乾燥」乙詞係指其中待乾燥的材料首先冷凍、接著藉由於真空環境中昇華而移除冰或冷凍溶劑之製程。賦形劑（例如冷凍防護劑）可包括於待冷凍乾燥的配方中，俾使增強冷凍乾燥的產品於儲存下之穩定性。如本文所使用「重組的配方」乙詞係指已藉由溶解冷凍乾燥的蛋白質配方於稀釋劑中而使中和GM-CSF之化合物分散於該稀釋劑中而製備的配方。

【0183】 如本文所使用之「稀釋劑」乙詞係為醫藥上可接受的（對投與至人類為安全及非毒性的）及有用於製備液態配方之物質，諸如冷凍乾

燥後重組的配方。稀釋劑的非限制性實例包括無菌水、用於注射之抑菌水（bacteriostatic water for injection, BWFI）、pH緩衝溶液（例如、磷酸鹽-緩衝鹽水）、無菌鹽水溶液、Ringer式溶液、右旋葡萄糖溶液或鹽的水溶液及/或緩衝劑。

【0184】 於本發明另一方面中，設想配方為用於治療中。據此，本發明設想包括本文描述的配方之醫藥組合物（或藥劑）。

【0185】 於又另一具體實施例中，本發明提供治療個體之方法，包括投與治療有效量的本文描述之配方，其中該個體具有可有利的以中和GM-CSF之化合物治療之疾病或失調。

【0186】 較佳地，本文描述的配方係應用於預防及/或治療可用中和GM-CSF化合物避免及/或治療及/或改善之疾病。

【0187】 「個體」乙詞係意欲包括活的生物。個體的實例包括哺乳類，例如人類、狗、牛、馬、豬、綿羊、山羊、貓、小鼠、兔、鼠及基因轉殖非人類動物。於本發明較佳具體實施例中個體為人類。

【0188】 「有效劑量（effective dose）」乙詞或「有效劑量（effective dosage）」乙詞係定義為足以達成或至少部份地達成所欲效果的量。「治療上有效劑量」乙詞係定義為足以治癒或至少部份地遏止已罹患該疾病之患者的疾病及其併發症的量。對此用途有效的量將取決於醫學情況的嚴重性及個體本身免疫系統的一般狀態。「患者」乙詞包括人類及其他哺乳類個體，其接收預防性或治療性處理。

【0189】 配方的適合劑量或治療上有效量將仰賴待處理的情況、治療前情況的嚴重性及患者的臨床歷史及對治療試劑的反應。合適的劑量可根

據參與醫師的判斷調整以使其可一次或一系列的投與至患者。醫藥組合物可以單一療法或與額外所需療法之結合投與。

【0190】 本發明的醫藥組合物係特定地有用於非經口的投與，亦即皮下地、肌內地、靜脈內地、關節間及/或滑液囊間的，其中皮下投與為較佳的。非經口的投與可藉由推注或於連續式注入而進行。

【0191】 用於注射的醫藥組合物可呈單一劑量形式存在，例如於安瓿中或於多劑量容器中，及含有添加的防腐劑。此外，已發展數種近期藥物輸送方案及本發明的醫藥組合物係適合於使用此等新方法之投與，例如 Inject-ease、Genject、注射器筆諸如Genen及無針裝置諸如MediJector及 BioJector。本醫藥組合物亦可適用於尚未被發現的投與方法。亦參見Langer, 1990, *Science*, 249: 1527-1533。

【0192】 冷凍乾燥的醫藥組合物可較佳存在包含活性成份的小瓶中。於一具體實施例中醫藥組合物額外地包括用於重組之溶液。

【0193】 醫藥組合物可進一步包括額外的醫藥上可接受組份。其他醫藥上可接受載體、賦形劑或穩定劑，諸如描述於 Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980) 之彼等者亦可包括於本文描述的蛋白質配方中，若其等並未負面地影響配方的所欲特徵。如本文所使用「醫藥上可接受的載體」意謂任何及所有與醫藥投與相容的溶劑、分散媒介、塗布、抗菌及抗真菌試劑、等張的及延緩吸收的試劑。此類用於醫藥活性物質的媒介及試劑之使用係於本領域中習知。可接受的載體、賦形劑或穩定劑係在對受體非毒性的劑量及濃度下使用，及包括：張力調節劑；額外的緩衝試劑；防腐劑；共溶劑；抗氧化劑，包括抗壞血酸

及甲硫胺酸；螯合試劑諸如EDTA；金屬錯合物（例如、Zn-蛋白質錯合物）；生物可降解聚合物，諸如聚酯類；鹽形成的相對離子，諸如鈉、多元糖醇；胺基酸，諸如丙胺酸、甘胺酸、天門冬醯胺酸、2-苯基丙胺酸及蘇胺酸；糖或糖醇，諸如乳糖醇、水蘇糖、甘露糖、山梨糖、木糖、核糖、核糖醇、肌糖(myoinositol)、肌醇(myoinositol)、半乳糖、乳糖醇、甘油、環多元醇（例如，肌醇）、聚乙二醇；含硫還原試劑諸如麴胱甘肽、硫辛酸、硫羥乙酸鈉、硫化甘油、 α -單硫甘油及硫代硫酸鈉；低分子量蛋白質諸如人類血清白蛋白、牛血清白蛋白、明膠或其他免疫球蛋白；及親水的聚合物，諸如聚乙烯基吡咯啶酮。

【0194】 本文描述的配方係有用於作為治療、及/或避免、及/或改善於需要之患者中其疾病或失調的醫藥組合物。「治療」乙詞係指治療性處理及預防或預防性手段。治療包括配方的施用或投與至身體、來自患者的獨立組織或細胞，該患者具有疾病/失調、疾病/失調的症候群或傾向疾病/失調的素質，而具有治癒、恢復健康（heal）、緩和（alleviate）、減輕（relieve）、改變、治療（remedy）、改善（ameliorate）、改善（improve）或影響疾病、疾病的症候群或對疾病的預防性之目的。

【0195】 彼等「需要治療」者包括彼等已具有失調者、以及彼等得避免失調者。「失調」乙詞係將得利於以本文描述的蛋白質配方治療之任何情況。此包括慢性的及急性的失調或疾病，包括彼等對哺乳類預防所論及的失調之病理情況。本文中待治療的失調之非限制性實例包括發炎性及自體免疫性疾病、較佳包括過敏及牛皮癬疾病以及關節炎及氣喘疾病，例如關節炎、風濕性關節炎（RA）、自體免疫性腦炎、牛皮癬、多發性硬化症、肺

部疾病諸如氣喘、慢性阻塞性肺臟疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 及急性呼吸窘迫症候群 (Acute Respiratory Distress Syndrome, ARDS)；克隆式疾病 (Crohn's Disease)、特發性肺纖維化 (Idiopathic Pulmonary Fibrosis, IPF)、發炎性腸疾 (Inflammatory Bowel Disease, IBD)、眼色素層炎、黃斑點退化、結腸炎、瓦勒式變性 (Wallerian Degeneration)、抗磷脂質症候群 (antiphospholipid syndrome, APS)、急性冠狀動脈症候群、血管再狹窄化 (restinosis)、動脈粥樣硬化、復發性多軟骨炎 (relapsing polychondritis, RP)、急性或慢性肝炎、失敗的骨科植入 (failed orthopedic implants)、腎絲球腎炎、狼瘡、異位性皮膚炎 (atopic dermatitis) 及發炎、關節炎及骨關節炎疼痛。

【0196】 過敏疾病係任何由過敏或過敏反應造成的失調。過敏係免疫系統的過敏性失調。其當人的免疫系統對通常無害的外來物質 (過敏原) 諸如食物、花粉、黴菌、屋塵、動物皮屑、塵蟎反應或過度反應時發生。

【0197】 牛皮癬係主要影響皮膚之自體免疫性疾病。皮膚細胞的生長循環因由免疫系統送出之錯誤訊號而加速。牛皮癬有五種類型：斑狀 (plaque)、點滴狀 (guttate)、逆向狀 (inverse)、膿庖狀 (pustular) 及紅皮狀 (erythrodermic)。最常見的斑狀牛皮癬係常見於呈紅及白色調的鱗片狀斑塊，其出現於表皮 (皮膚) 第一層的上方。然而某些患者不具有皮膚學的徵兆或症候群。此失調為慢性的復發情況，嚴重性自較小局部斑塊變至全身覆蓋。手指甲及腳趾甲係經常被影響 (牛皮癬指甲營養不良) 及可視為獨立的徵兆。牛皮癬亦可造成關節的發炎，稱為牛皮癬關節炎。

【0198】 關節炎為一種關節疾病之形式，其涉及一或多個關節的發

炎。關節炎具有超過100種不同的形式。最常見的形式骨關節炎（退化性關節疾病）係對關節的創傷、關節的感染或年紀的結果。其他關節炎形式為風濕性關節炎、牛皮癬關節炎及其他與自體免疫性疾病相關者。膿毒性關節炎係肇因於關節感染。

【0199】 氣喘係常見的呼吸道慢性發炎性疾病，呼吸道中許多細胞及細胞的元素扮演重要角色。氣喘係與呼吸道過度敏感（hyperresponsiveness）相關，其導致喘鳴、咳嗽、胸緊縮及呼吸短缺的重複發作。此等發作係通常與於肺中廣泛的、但可變化的氣流阻礙相關，其時常為自發性或用治療而可逆的。氣喘可根據症狀的頻率、於一秒鐘強迫呼氣的體積及峰值呼氣流速分類。氣喘 亦可分類為特應性的（外在的）或非特應性的（內在的）。

【0200】 除了中和GM-CSF化合物以外，本發明的醫藥組合物可包括額外的治療性或生物上活性的試劑。例如，有用於治療特定適應症諸如骨關節炎（例如一或多種涉及關節軟骨或滑液組份損壞的抑制劑選自但不限於抗金屬蛋白酶（anti-metalloproteinases）、細胞週期素（cycline）化合物、細胞介素拮抗劑、皮質類固醇、TNF抑制劑、IL-抑制劑、抗血管生成的物質、蛋白聚醣酶（aggrecanase）抑制劑、p38激酶抑制劑、細胞凋亡抑制劑、玻糖醛酸酶抑制劑及蛋白解酶的抑制劑）之治療性因子可存在。控制發炎的因子包括英夫利昔（infliximab）、恩博（etanercept）、復邁（adalimumab）、內雷利蒙邁（nerelimonmab）、來那西普（lenercept）及類似者或其組合亦可為組合物之部份。亦設想醫藥組合物可包括細胞外介質組份諸如玻糖醛酸或其衍生物，包括鹽、酯、內酯及硫酸化衍生物、較佳為玻糖醛酸之偏酯。

【0201】 於另一具體實施例中，本發明係關於一種套組（或製造的物件）或容器，其包含本發明的配方。該配方較佳可已呈液態狀態。然而可替換地，其較佳可呈冷凍乾燥的狀態。其亦可呈冷凍、冷凍乾燥的、冷凍-乾燥或噴灑-乾燥狀態。據此，若該配方係呈有別於液態之狀態，其可藉由從業者製備為（液態）水溶性醫藥組合物。例如，該配方可為冷凍乾燥的然後將必須被重組。據此，套組可進一步分別包括對冷凍、冷凍乾燥的、冷凍-乾燥或噴灑-乾燥配方的復原之方法及/或對稀釋配方的方法及/或對投與配方或醫藥組合物的方法，諸如注射器、泵、注入器、針或類似者。套組可包括一或多個包含本發明配方的小瓶。套組亦可伴隨使用指南。

【0202】 故，提供一製造的物件，其包含本文描述的配方及較佳提供其使用指南。製造的物件包括適合用於包含本配方的容器。適合的容器包括但不限於瓶、小瓶（例如雙腔小瓶）、注射器（例如單或雙腔注射器）、試管、霧化器、吸入器（例如計量劑量吸入器或乾粉吸入器）或儲藏器。容器可自多種材料形成，諸如玻璃、金屬或塑膠（例如聚碳酸酯、聚苯乙烯、聚丙烯、聚烯烴）。容器容納配方，及於容器上或與其相關連之標記可指示對復原及/或使用之方向。標記可進一步指示配方係有用於或意欲於皮下投與。容納配方的容器可為多用途小瓶，其允許配方的重複投與（例如自2-6投與）。製造的物件可進一步包括包含適合稀釋劑（例如WFI、0.9% NaCl、BWFI、磷酸鹽緩衝水）的第二容器。當製造的物件包括中和GM-CSF之化合物配方之冷凍乾燥的版本時，稀釋劑與冷凍乾燥的配方之混合將提供於重組的配方中所欲的最終蛋白質濃度。製造的物件可進一步包括其他自商業及使用者觀點所欲的材料，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針、

注射器及包裝嵌入使用指南。

【0203】 亦包括於本發明中的為可用於傳遞本發明配方的裝置。此類裝置之實例包括但不限於注射器、筆、植人物、無針注射裝置、吸入裝置及貼片。

【0204】 本發明進一步藉由圖示及實施例詮釋，其等係僅用詮釋且不構成對本發明範圍之限制。

【圖式簡單說明】

圖1：儲存時間、儲存溫度及蛋白質濃度於單體水平之抗-GM-CSF抗體的效果。

圖2：標準化效應與滲透壓度 [mOsmol/kg]作為變數的柏拉圖 (Pareto chart)。

【實施方式】

【0205】 以下項目亦特徵化本發明：

1. 一種組合物，其包括呈濃度為至少約20 mg/ml之中和GM-CSF之化合物、張力調節劑及緩衝劑，其中該組合物為穩定的。
2. 根據項目1的組合物，其中該中和GM-CSF之化合物係呈濃度為至少約50mg/ml、該張力調節劑係呈濃度自約1%至約15% (w/v) 及該緩衝劑係呈濃度自約10 mM至約50 mM。
3. 根據項目1或2的組合物，其中該張力調節劑係選自甘露糖醇、山梨糖醇、蔗糖及/或海藻糖。
4. 根據項目1至3中任一者的組合物，其中該緩衝劑係選自組胺酸、醋酸鹽及/或檸檬酸鹽緩衝劑。

5. 根據項目1至4中任一者的組合物，其中該中和GM-CSF之化合物係呈濃度為至少約100 mg/ml及低於約200 mg/ml、該張力調節劑係呈濃度自約3%至約7% (w/v) 及該緩衝劑係呈濃度自約20 mM至約40 mM。

6. 根據項目1至5中任一者的組合物，其中該pH係介於約5及約7之間。

7. 根據項目1至6中任一者的組合物，其中該張力調節劑為山梨糖醇及該緩衝劑為組胺酸緩衝劑。

8. 根據項目1至6中任一者的組合物，其係不含界面活性劑或胺基酸。

9. 根據項目4至7中任一者的組合物，其係不含界面活性劑或其他胺基酸。

10. 根據項目1至9中任一者的組合物，其係實質上不含氯化鈉。

11. 根據項目1至10中任一者的組合物，其係不含任何其他賦形劑。

12. 根據項目1至11中任一者的組合物，其中該中和GM-CSF之化合物係選自由多肽、擬肽物、核酸及小分子所組成的群組。

13. 根據項目12的組合物，其中多肽為結合至GM-CSF或至該GM-CSF受體之抗體或其功能片段。

14. 根據項目13的組合物，其中該抗體或該其功能片段為人類單株抗體或其功能片段。

15. 根據項目13或14的組合物，其中該抗體為IgG、IgG1或IgG4抗體。

16. 根據項目13至15中任一者的組合物，其中該抗體或該其功能片段結合至GM-CSF的表位，該表位較佳包括胺基酸23-27 (RRLLN) 及/或胺基

酸65-77 (GLR/QGS GTKLKGPL)。

17. 根據項目16的組合物，其中該表位進一步包括：

- (i) 肽基酸28-31 (LSRD)；
- (ii) 肽基酸32-33 (TA) 及/或
- (iii) 肽基酸21-22 (EA)。

18. 根據項目16或17的組合物，其中該表位為不連續的表位。

19. 根據項目13至18中任一者的組合物，其中該抗體或其功能片段於其重鏈變異區包括包含選自由彼等載於SEQ ID NOs: 1-13及56中任一者所組成群組之肽基酸序列的CDR3。

20. 根據項目19的組合物，其中任一該重鏈變異區CDR3序列於重鏈變異區中與包括載於SEQ ID NO: 14之肽基酸序列的重鏈變異區CDR1及包括載於SEQ ID NO: 15之肽基酸序列的重鏈變異區CDR2一起存在。

21. 根據項目13至20中任一者的組合物，其中該抗體或其功能片段於其輕鏈變異區中包括包含載於SEQ ID NO: 16之肽基酸序列的CDR1、包括載於SEQ ID NO: 17之肽基酸序列的CDR2及包括載於SEQ ID NO: 18之肽基酸序列的CDR3。

22. 根據項目13至21中任一者的組合物，其中該抗體或其功能片段於其輕鏈變異區中包括如載於SEQ ID NOs. 19、54及55之任一者的肽基酸序列。

23. 根據項目13至22中任一者的組合物，其中該抗體或其功能片段於其重鏈變異區中包括如載於SEQ ID NOs: 20-33、52及53任一者之肽基酸序列。

24. 根據項目13至23中任一者的組合物，其中該抗體或其功能片段於其輕鏈變異區中包括包含如載於SEQ ID NO. 16之胺基酸序列的CDR1、包括如載於SEQ ID NO. 17之胺基酸序列的CDR2及包括如載於SEQ ID NO. 18之胺基酸序列的CDR3；及於其重鏈變異區中包括包含如載於SEQ ID NO. 14之胺基酸序列的CDR1、包括如載於SEQ ID NO. 15之胺基酸序列的CDR2及包括如載於SEQ ID NOs. 1-13及56之任一者之胺基酸序列的CDR3。

25. 根據項目13至24中任一者的組合物，其中該抗體或其功能片段於其輕鏈變異區中包括包含如載於SEQ ID NO. 16之胺基酸序列的CDR1、包括如載於SEQ ID NO. 17之胺基酸序列的CDR2及包括如載於SEQ ID NO. 18之胺基酸序列的CDR3；及於其重鏈變異區中包括包含如載於SEQ ID NO. 14之胺基酸序列的CDR1、包括如載於SEQ ID NO. 15之胺基酸序列的CDR2及包括如載於SEQ ID NO. 2之胺基酸序列的CDR3。

26. 根據項目13至25中任一者的組合物，其中該抗體或其功能片段包括如載於SEQ ID NO: 34輕鏈胺基酸序列及選自彼等如載於SEQ ID NOs: 35-48任一者所組成群組之重鏈胺基酸序列。

27. 根據項目13至26中任一者的組合物，其中該抗體或其功能片段包括帶有分別相對如載於SEQ ID NOs: 1-48及52-56任一者之胺基酸序列之至少70%同源性的胺基酸序列、較佳相對如載於SEQ ID NOs: 1-18及56任一者之胺基酸序列及/或相對如載於SEQ ID NOs: 19-48及52-55任一者之胺基酸序列之間的胺基酸序列架構區。

28. 根據前述項目中任一者的組合物，其包括

i) 約100 mg/ml至約180 mg/ml的中和GM-CSF之化合物，

ii) 約5% (w/v) 山梨糖醇，

iii) 約30 mM的L-組胺酸及

iv) 具有pH為約5.8。

29. 根據項目28的組合物，其包括約150 mg/ml的中和GM-CSF之化合物。

30. 根據前述項目中任一者的組合物，其為液態、較佳為水溶性組合物。

31. 根據前述項目中任一者的組合物，其在約2-8°C下至少24個月或在室溫下至少28天為穩定的。

32. 根據前述項目中任一者的組合物用於治療。

33. 根據前述項目中任一者的組合物，其係用於靜脈內及/或皮下投與。

34. 根據前述項目中任一者的組合物，其係用於發炎性及自體免疫性疾病治療、較佳包括過敏及牛皮癬疾病、以及關節炎及氣喘疾病。

35. 一種套組，其包括前述項目中任一者的組合物。

【0206】 應理解本文所揭示的發明並未限制於特定方法學、協定或試劑，其等係可變化。本文提供的討論及實例係為描述特定具體實施例之目的呈現且不意欲於限制本發明之範圍，其係僅由申請專利範圍所界定。以下實施例將闡述本發明。

實施例1：材料

【0207】 以下實施例係以人類單株IgG1抗體（以下註記為「該抗體」）進行，其結合至並以高親和力及專一性中和人類GM-CSF，及其係描述於

WO-2006/111353。其世代係描述於WO 2006/111353的實施例2。更特定而言，抗體包括如描繪於SEQ ID NOs: 16、17、18、14、15及2中的輕鏈及重鏈CDR序列。此等CDR序列係分別包括於重及輕鏈可變域中，係分別顯示於SEQ ID Nos: 34及35。GM-CSF異常地過度生產於許多促-發炎性及自體免疫性人類疾病中，且發現附加重組GM-CSF加重此類疾病。以GM-CSF-中和抗體用於治療的可能疾病適應症包括風濕性關節炎 (RA)、氣喘及其他形式的肺炎、多發性硬化症 (multiple sclerosis, MS) 及牛皮癬。

【0208】 該抗體係於使用無血清及無蛋白質介質之生物反應器中製造。用於製造發酵槽的接種體係從抗體製造殖株的單一小瓶製備。於完成發酵過程後，包含分泌的抗體之收成物係藉由過濾以從上清液中分離細胞及碎屑而加工。收穫物的純化係基於一般層析方案以減少HCPs、DNA及潛在病毒。整體的病毒去活化步驟係下游程序的額外的部份。對於該配方，進行濃度及緩衝劑交換步驟。

實施例2：測試方法

【0209】 建立粒徑篩析高效能液相層析法 (SE-HPLC) 以測定抗體聚集的程度 (HPLC : Agilent 1100 Chemstation；管柱 : Tosoh Biosep TSKgel G4000SWXL)。SE-HPLC方法係藉由進行九點範圍測試而合格化，決定及測定其精確度 (六次重複注射) 及線性度 (三重標準品曲線)。所有測定法係使用100 mM KH₂PO₄、200 mM Na₂SO₄、pH 6.6作為移動緩衝劑 (running buffer) 而進行。

建立表面電漿子共振 (surface plasmon resonance, SPR) 方法以測定抗體結合活性對固定化GM-CSF的程度 (Biacore 3000 / CM5 感應器晶片 /

HBS-EP 移動緩衝劑)。SPR方法係藉由進行九點範圍測試而合格化，決定及測定其精確度(六次重複注射)及線性度(三重標準品曲線)。

進行還原及非-還原(non-reducing) SDS-PAGE以偵測降解產物(片段)及該抗體的聚集體。

實施例3：pH及溫度應力的效應

【0210】 進行研究以評估於低離子強度快檢緩衝劑中(LISSLB: 2 mM 甘胺酸、2 mM 檸檬酸、2 mM HEPES、2 mM MES及2 mM Tris) 在pH值範圍自3至10下該抗體的穩定性。抗體樣品係在55°C下儲存於分別的溶液中14天的期間。在T0、T7及T14(天)時分析樣品。SPR分析指出該抗體係在pH 4-7下為最穩定的。當以SE-HPLC分析時，該抗體單體係被發現在pH 4-6下(T14)為最穩定的。T14樣品的非還原及還原SDS-PAGE兩者均顯示在pH 4-6下僅最小的降解產物及聚集體形成。

實施例4：離子強度及溫度應力的效應

【0211】 進行研究以評估於低離子強度快檢緩衝劑中(LISSLB)在0、10、100及500 mM NaCl存在下該抗體的穩定性。透析抗體樣品至具額外的NaCl之LISSLB的溶液(pH 4.5及pH 7.5)至大約1 mg/ml的濃度及在55°C下儲存14天的期間。在T0、T7及T14(天)時藉由SE-HPLC及SPR分析樣品。

【0212】 HPLC及SPR研究指出鹽的添加惡化了該抗體的穩定性及在pH 4.5下比在pH 7.5下效應更為顯著。又，SE-HPLC數據顯示在pH 4.5下具提昇的鹽濃度(≥ 100 mM)之該抗體的去穩定化主要造成該抗體的聚集體累積。在pH 7.5下具提昇的鹽濃度(500mM)之該抗體的去穩定化主要造成該抗體的降解產物累積。於LISSLB pH 4.5；500 mM NaCl中，該抗體的沉澱

水平 (T7及T14) 為非常高的。

實施例5：緩衝劑的效應

【0213】 進行研究以評估於各種pH 5-7緩衝劑中該抗體的穩定性。抗體樣品係透析至以下的溶液：20 mM檸檬酸鹽緩衝劑 pH 5、6及7；20 mM磷酸鹽緩衝劑pH 6及pH 7；20 mM琥珀酸鹽緩衝劑pH 6及pH 7、20 mM組胺酸緩衝劑pH 6及pH 7；及20 mM醋酸鹽緩衝劑pH 5及pH 6至大約1 mg/ml的濃度；及在55°C下儲存14天的期間。在T0、T7及T14(天)時藉由SE-HPLC、SPR、及還原與非還原SDS-PAGE分析樣品。

【0214】 SPR研究、HPLC單體及聚集體數據及還原及非還原SDS-PAGE指出該抗體於醋酸鹽緩衝劑pH 5、組胺酸緩衝劑pH 6及檸檬酸鹽緩衝劑 pH 5、6及7 (T14 數據) 中為最穩定的。

實施例6：胺基酸的效應

【0215】 進行研究以評估於低離子強度快檢 (screening) 緩衝劑 (LISSB) 中與不同胺基酸添加下該抗體的穩定性。抗體樣品係在pH 6、55°C下於具250 mM的分別胺基酸之溶液中儲存14天的期間。在T0、T7及T14(天)時分析樣品。SPR研究指出尤其是麴胺酸、蘇胺酸、離胺酸及纈胺酸 (T14) 的輕微穩定化效果。HPLC數據指出麴胺酸、蘇胺酸及丙胺酸穩定化及顯著的效應與未添加任何胺基酸的參照組相比，導致大約多了2-3%的完整單體及約分別少了30%、31%及20%聚集體。

實施例7：糖及界面活性劑的效應

【0216】 進行研究以評估於低離子強度快檢 (screening) 緩衝劑 (LISSB) 中與不同糖或界面活性劑添加下該抗體的穩定性。抗體樣品係透

析至pH 6.0 LISSB的溶液至大約1 mg/ml的濃度與額外的6% (w/v) 糖 (D-甘露糖醇、D-山梨糖醇、蔗糖、D-甘露糖、D-麥芽糖、D-海藻糖、D-葡萄糖)、0.05% (v/v) Tween 20或0.02% (v/v) Tween 80及在55°C下儲存14天的期間。在T0、T7及T14 (天) 時藉由SE-HPLC、SPR及還原與非還原SDS-PAGE分析樣品。

【0217】 SPR及HPLC研究指出D-山梨糖醇及D-甘露糖醇分別改善該抗體穩定性近約20% / 3% (SPR/HPLC數據, T14) 及14% / 4% (SPR/HPLC數據, T14)。海藻糖及蔗糖兩者已分別減少近7% / 0.7% (SPR/HPLC數據, T14) 及6% / 2% (SPR/HPLC 數據, T14) 之效果。又, HPLC數據指出D-山梨糖醇及D-甘露糖醇分別減少該抗體聚集體的形成近43%及50%, 其係亦可由SDS-PAGE所獲得之數據支持。0.05% (v/v) Tween 20或0.02% (v/v) Tween 80似乎均無法顯著地改善該抗體的穩定性。

實施例8：緩衝劑、胺基酸及糖的組合之效應

【0218】 基於先前的研究, 進行研究以評估於緩衝劑、胺基酸及糖的組合中所調配之1 mg/ml該抗體的穩定性。先前的研究指出下列者的穩定化效果: 20 mM醋酸鹽 pH 5; 20 mM組胺酸 pH 6; 250 mM 麥胺酸; 250 mM 蘇胺酸, 6% (w/v) 山梨糖醇及6% (w/v) 甘露糖醇。該抗體係在濃度為5.4 mg/ml下調配至如表1中指出之20 mM緩衝劑、250 mM胺基酸及6% (v/v) 糖的組合的溶液, 及在55°C下儲存14天的期間。包括於1xPBS中的抗體作為對照組。在T0、T7及T14 (天) 時藉由SE-HPLC及SPR分析樣品。

【0219】 此外。對於1xPBS中包括該抗體 (5.4 mg/ml) 之T0樣品測試對冷凍及融化的易感受性。儲存小瓶係緩慢地在-20°C下於冷凍器中冷凍。

在完成冷凍之後，於室溫下融化樣品。重複此過程直至已完成五次冷凍-融化循環。每一樣品於兩次及五次循環後檢查SPR及SE-HPLC回收率。

表1：緩衝劑、糖及胺基酸的組合（Ac = 醋酸鹽緩衝劑；His = 組胺酸緩衝劑；M = 甘露糖醇；S = 山梨糖醇）

樣品		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
緩衝劑	Ac	x	x			x	x			x	x	x	x					
	His			x	x			x	x					x	x	x	x	
胺基酸	Glu	x		x						x	x			x	x			
	Thr		x		x							x	x			x	x	
糖	M					x	x		x		x			x		x		
	S						x		x		x		x		x		x	

1 x PBS

【0220】 SPR數據顯示在T14/55°C下於樣品5-16中的結合活性相對於T0 >93%。對於1xPBS中的該抗體（樣品17）及樣品1-4（均不含甘露糖醇或山梨糖醇），該數字分別為62%、19%、26%、91%及85%。SPR數據因此指出添加甘露糖醇或山梨糖醇改善了結合活性的穩定性。又，樣品1-4在T7及T14時顯示帶黃色的則指出氧化現象。SE-HPLC數據顯示最低水平的聚集體（3.5% – 5.6%）及降解產物（4.2% – 5.4%）係於樣品5-8、11-12及15-16（T14/55°C數據）中發現，支持甘露糖醇及山梨糖醇於該抗體單體上穩定化的效應並指出添加250 mM 蘇胺酸的可能較小的效應。然而蘇胺酸的效應由樣品5-8、11-12及15-16中發現的單體水平判斷僅為至少最小的（分別為91.2%、89.8%、91.5%、90.8%、89.8%、89.0%、91.4%及90.9%） – 針

對樣品17 (PBS) 該數字為80.3% (T14/55°C數據)。250 mM麴胺酸連同山梨糖醇 (sorbiol) 或甘露糖醇於該抗體單體的穩定性上具有負面效果，尤其於醋酸鹽緩衝劑中。總言之，該抗體單體似乎於20 mM醋酸鹽緩衝劑pH 5 或20 mM組胺酸緩衝劑pH 6及6% (w/v) 山梨糖醇或6% (w/v) 甘露糖醇之結合中為最穩定的。

【0221】 來自冷凍/融化實驗的SE-HPLC數據指出相比於甘露糖穩定化該抗體單體，山梨糖醇之較小優越的效應。於樣品6及8中，在5回冷凍/融化後單體含量分別為98.6%及98.4%，相比於在樣品5及7中單體含量為96.9%及96.0%。

實施例9：組胺酸或醋酸鹽緩衝劑、山梨糖醇或甘露糖醇、及Tween 20或Tween 80的組合之效應

【0222】 基於來自先前研究的穩定性數據（其顯示特別於20 mM 醋酸鹽 pH 5、20 mM 組胺酸 pH 6、6% (w/v) 山梨糖醇及6% (w/v) 甘露糖醇之穩定化效果），進行新的研究以評估於組胺酸或醋酸鹽緩衝劑、山梨糖醇或甘露糖醇、及Tween 20或Tween 80的組合中調配的10 mg/ml該抗體之穩定性。歸因於該抗體在10 mg/ml下的濃度，亦測試添加0.02% (w/v) Tween 20及0.02% (w/v) Tween 80對其於聚集上之效應。

【0223】 該抗體係在10 mg/ml濃度下調配至20 mM醋酸鹽緩衝劑 pH 5.0或20 mM 組胺酸緩衝劑 pH 6.0之溶液及含有如表2所指出之添加劑，並在55°C下儲存14天的期間。在T0、T7及T14 (天) 時藉由SE-HPLC及SPR分析樣品。

【0224】 此外，對抗體樣品測試對冷凍及融化的易感受性。該抗體係

呈10 mg/ml的濃度緩慢地在-20°C下於冷凍器中冷凍。在完成冷凍之後，於室溫下融化樣品。重複此過程直至已完成三及/或五次冷凍-融化循環。每一樣品於三次及/或五次冷凍-融化循環後係由SPR及SE-HPLC回收率檢查。

表 2：緩衝劑、糖及清潔劑的組合 (Ac = 醋酸鹽緩衝劑；His = 組胺酸緩衝劑；M = 甘露糖醇；S = 山梨糖醇；T20 = Tween 20；T80 = Tween 80)

樣品		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
緩衝劑	Ac	x	x			x	x	x	x				
	His			x	x					x	x	x	x
糖	M		x		x			x	x			x	x
	S	x		x		x	x			x	x		
清潔劑	T20					x		x		x		x	
	T80						x		x		x		x

【0225】 HPLC數據清楚地顯示0.02% (w/v) Tween 20及0.02% (w/v) Tween 80於該抗體單體之穩定性上具有負面效果。在55°C下儲存14天後，不含清潔劑之調配抗體約剩餘89-90%單體及添加清潔劑之調配抗體約剩餘83-88%單體。抗體單體的損失主要由當添加清潔劑時高水平的抗體聚集體造成（約7.6% – 10.3%）。不含Tween 20及Tween 80時，該抗體聚集體約構成5.2% – 6.4%。雖然介於醋酸鹽及組胺酸作為緩衝劑系統之間的差異係微小的，組胺酸似乎至少與醋酸鹽同等的好。

【0226】 冷凍及融化實驗指出於五回合的冷凍及融化後，清潔劑於抗體單體的水平上至少沒有正面的效應。然而，相比於添加6% (w/v) 甘露糖醇，當添加6% (w/v) 山梨糖醇至配方時該抗體單體為更穩定的。添加甘

露糖醇時，於五回合的冷凍及融化後該抗體單體聚集至較高程度。來自冷凍及融化實驗之HPLC數據未顯示介於使用醋酸鹽及組胺酸之間的差異。

【0227】 總言之，包含20 mM組胺酸、pH 6.0及6% (w/v) 山梨糖醇的預-配方似乎對抗體單體的穩定性為最理想的。

實施例10：20 mM組胺酸、6% (w/v) D-山梨糖醇預-配方的短期穩定性評估

【0228】 基於20 mM組胺酸pH 6.0及6% (w/v) 山梨糖醇作為最佳預-配方的認定，進行短期穩定性測試以評估於高濃度該抗體之此預-配方。

【0229】 該抗體係調配至上述溶液於大約22、36、42、83及118 mg/ml的濃度。經調配的抗體係在5°C及25°C下儲存至多4周的期間。在T0、T14及T28 (天) 時藉由SE-HPLC分析樣品。

【0230】 SE-HPLC數據清楚的顯示該抗體於20 mM組胺酸 pH 6.0、6% (w/v) 山梨糖醇中為穩定的。在5°C或25°C下、28天的儲存後偵測的抗體單體濃度永遠高於97%，除了在25°C下所測試的最高抗體濃度 (118 mg/ml)，其中該抗體單體濃度約96.5%。結果顯示於圖1中。

實施例11：最終賦形劑的微調

【0231】 基於先前實驗產生的數據，山梨糖醇及組胺酸已被選為穩定化該抗體。於下一步驟中，使用「實驗設計」(Design of Experiment, DOE) (包括3個中間點及產生30個個別次數) 針對介於 10及100mg/ml之間的抗體濃度微調賦形劑的量及pH值。以下列參數進行隨機化的實驗計畫：

抗體：10 – 55 – 100 mg/ml

pH：5 – 6 – 7

組胺酸：10 – 30 – 50 mM

山梨糖醇：2 – 6 – 10 % (w/v)

【0232】 為允許短期評估，在50°C的加速情況下壓迫樣品14天。又，進行三次冷凍融化循環（-20°C）以模擬該抗體的儲存。

結果：

【0233】 決定滲透壓度以確保對配方的生理的情況。針對該抗體的i.v.或s.c.應用，介於250及450 mOsmol/kg之間的滲透壓度為可接受的範圍。如圖2所示，滲透壓度主要藉由配方中山梨糖醇的量控制。於低濃度（10-50 mM）組胺酸及該抗體本身對滲透壓度均僅具有最小的效應。

【0234】 取決於山梨糖醇及組胺酸濃度的滲透壓度可由示形線圖（contour plot）描繪。此圖（blot）顯示為了維持於生理區間的滲透壓度，濃度介於3%及7% (w/v) 之間的山梨糖醇為必要的。所產生的數據暗示最佳的山梨糖醇濃度為約6%，產生甚高的滲透壓度值 (>400 mOsmol/kg)。因山梨糖醇的部份減少並不影響該抗體的穩定性，山梨糖醇濃度可被減少至5%俾使達到約350 mOsmol/kg的滲透壓度及因此增加患者的便利性。

【0235】 基於所產生的數據，最佳的組胺酸濃度係設定至30 mM。於介於10 mM及50 mM之間的濃度範圍的組胺酸，以HP-SEC測量時並未偵測到聚集或碎裂的衝擊。

【0236】 該抗體的聚集係主要為濃度依賴的。增加的抗體濃度造成較高的聚集體水平及增加於冷凍/融化期間及在加速的溫度應力情況中的澄清度值。此外，pH值影響該抗體的單體含量。然而在pH<6下加速的壓迫導致該抗體增加的碎裂，於冷凍/融化期間的穩定性未受影響，但觀察到微微較

佳的穩定性。在pH>6的pH值下，對加速的溫度及冷凍/融化治療而言，使用HP-SEC及澄清度分析可測量到減少的單體含量。為了平衡反向的效應，對該抗體配方而言5.8的pH似乎為最適合的。

配方係以下列參數產生：

抗體 10 mg/ml – 55 mg/ml – 100 mg/ml

D-山梨糖醇 5% (w/v)

L-組胺酸緩衝劑 30 mM (氯化氫單水合物)

pH 5.8 (以2M 氢氧化鈉調整)

【0237】 此組合物的情況或參數亦可傳至具有較高抗體濃度的組合物，如將由下列實施例所示者。

實施例12：穩定性研究

a) 長期研究

【0238】 本研究係設計為測試期間為高至60個月。於此期間，抗體樣品係在 $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 下儲存於DIN R2玻璃小瓶中。此外，在 $+25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 下的加速研究及在 $+40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 下的壓迫研究係於DIN R2玻璃小瓶中分別進行至多12及6個月。使用該抗體呈濃度為106 mg/ml及145 mg/ml，於具有30 mM組胺酸單氯化氫及5% (w/v) 山梨糖醇在pH 5.8的配方中進行測試。

【0239】 測量下列參數：pH、滲透壓度、濃度 (OD280)、單體的百分比、藉SE-HPLC測得之聚集體及片段、電位 (細胞基質測定法)。結果顯示於下列表3-8中。

表3：在 $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 下的穩定性測試 (106 mg/ml 抗體)

儲存時間	pH	滲透壓度 [mOsmol/kg]	濃度 (OD280) [mg/ml]	單體 (M)	聚集體 (A)	片段 (F)	電位 (細胞基質測定 法)
[月]				M / A / F [%]			相對電位 (與參考 標準品比較)
0	5.83	379	106.51	99.20	0.80	0	0.83
1	5.88	379	103.00	99.18	0.82	0	1.03
3	5.90	379	108.75	99.07	0.93	0	1.23
6	5.89	376	100.05	98.87	1.13	0	0.89
9	5.83	377	102.59	99.01	0.99	0	1.00
12	5.86	387	103.34	98.97	1.03	0	1.01
18	5.87	379	102.49	98.78	1.04	0.18	0.84
24	5.85	377	101.73	98.68	1.11	0.21	1.05
30	5.81	383	102.52	98.55	1.17	0.28	0.83
36	5.84	380	107.78	98.56	1.18	0.25	1.06
42	5.92	384	96.32	98.34	1.11	0.55	1.26
48	5.90	376	94.33	98.54	1.23	0.23	1.03
54	5.86	382	107.67	98.25	1.28	0.47	1.04
60	5.90	379	106.79	98.26	1.26	0.48	0.97

表4：在+5°C ± 3°C下的穩定性測試 (145 mg/ml 抗體)

儲存時間	pH	滲透壓度 [mOsmol·kg ⁻¹]	濃度 (OD280) [mg·mL ⁻¹]	單體 (M)	聚集體 (A)	片段 (F)	電位 (細胞基質測定 法)
[月]				M / A / F [%]			相對電位 (相比於 參考標準品)
0	5.91	392	143.31	99.10	0.90	0	0.72
1	5.91	393	139.52	99.06	0.94	0	0.95
3	5.93	385	139.44	98.89	1.11	0	1.06
6	5.90	381	145.66	98.79	1.21	0	0.81
9	5.87	383	144.12	98.86	1.14	0	1.07
12	5.89	388	140.52	98.80	1.20	0	1.13
18	5.90	387	143.66	98.62	1.22	0.16	1.09
24	5.85	385	137.07	98.45	1.38	0.17	0.83
30	5.84	387	131.98	98.30	1.42	0.28	0.87
36	5.88	384	148.55	98.35	1.39	0.26	0.99
42	5.94	383	134.11	98.17	1.33	0.50	0.97
48	5.94	385	125.09	98.23	1.50	0.26	1.03
54	5.90	394	150.81	97.94	1.57	0.49	1.04

儲存時間	pH	滲透壓度	濃度 (OD280)	單體 (M) 聚集體 (A) 片段 (F) SE-HPLC	電位 (細胞基質測定 法)
[月]	-	[mOsmol·kg ⁻¹]	[mg·mL ⁻¹]	M / A / F [%]	相對電位 (相比於 參考標準品)
60	5.90	386	147.01	97.94 1.53 0.53	0.82

表5：在+25°C ± 2°C下的穩定性測試 (106 mg/ml 抗體)

儲存時間	pH	滲透壓度	濃度 (OD280)	單體 (M) 聚集體 (A) 片段 (F) SE-HPLC	電位 (細胞基質測定 法)
[月]	-	[mOsmol·kg ⁻¹]	[mg·mL ⁻¹]	M / A / F [%]	相對電位 (相比於 參考標準品)
0	5.83	379	106.51	99.20 0.80 0	0.83
1	5.84	385	101.35	98.77 1.06 0.17	1.20
3	5.90	382	107.36	98.15 1.44 0.42	0.92
6	5.85	387	100.14	97.85 1.51 0.64	1.00
9	5.83	374	107.49	94.71 1.49 3.80	1.10
12	5.85	383	106.27	94.71 1.56 3.73	1.30

表6：在+25°C ± 2°C下的穩定性測試 (145 mg/ml 抗體)

儲存時間	pH	滲透壓度	濃度 (OD280)	單體 (M) 聚集體 (A) 片段 (F) SE-HPLC	電位 (細胞基質測定 法)
[月]	-	[mOsmol·kg ⁻¹]	[mg·mL ⁻¹]	M / A / F [%]	相對電位 (相比於 參考標準品)
0	5.91	392	143.31	99.10 0.90 0	0.72
1	5.90	384	142.84	98.49 1.19 0.31	0.95
3	5.93	386	147.84	98.12 1.50 0.37	1.04
6	5.88	383	134.73	97.62 1.78 0.60	0.78
9	5.91	387	144.59	94.46 1.85 3.69	0.97
12	5.87	387	143.12	94.36 1.90 3.74	1.23

表7：在+40°C ± 2°C下的穩定性測試 (106 mg/ml 抗體)

儲存時間	pH	滲透壓度	濃度 (OD280)	單體 (M) 聚集體 (A) 片段 (F) SE-HPLC	電位 (細胞基質測定 法)
------	----	------	---------------	--	---------------------

[月]		[mOsmol·kg ⁻¹]	[mg·mL ⁻¹]	M / A / F [%]			相對電位 (相比於參考標準品)
0	5.83	379	106.51	99.20	0.80	0	0.83
1	5.88	377	102.68	94.66	1.34	3.99	1.05
3	5.89	382	108.60	91.85	2.06	6.09	1.01
6	5.85	378	99.75	87.39	2.46	10.15	0.97

表8：在+40°C ± 2°C下的穩定性測試 (145 mg/ml 抗體)

儲存時間	pH	滲透壓度	濃度 (OD280)	單體 (M) 聚集體 (A) 片段 (F) SE-HPLC	電位 (細胞基質測定 法)	相對電位 (相比於 參考標準品)	
[月]		[mOsmol·kg ⁻¹]	[mg·mL ⁻¹]	M / A / F [%]			
0	5.91	392	143.31	99.10	0.90	0	0.72
1	5.92	388	136.96	94.96	1.69	3.35	0.77
3	5.91	386	143.07	92.02	2.40	5.58	0.87
6	5.88	388	137.11	86.56	3.33	10.11	0.94

b) 加速/壓迫研究

【0240】 為了示範在規模化後藥物物質的可比性，已在加速的 (25°C) 及壓迫的 (40°C) 情況下使用兩批次的藥物物質、具有抗體濃度為165 mg/ml及171 mg/ml調配於30 mM組胺酸、5%山梨糖醇、pH 5.8的溶液進行穩定性研究。

【0241】 測量下列參數：pH、滲透壓度、濃度 (OD280)、單體的百分比、藉SE-HPLC測得之聚集體及片段、電位 (細胞基質測定法)。對該抗體濃度為171 mg/ml的結果顯示於下列表9及10中。.

表9：在+25°C ± 2°C下的穩定性測試 (171 mg/ml 抗體)

儲存時間	pH	滲透壓度	濃度 (OD280)	單體 (M) 聚集體 (A) 片段 (F) SE-HPLC	電位 (細胞基質測定 法)	相對電位 (相比於 參考標準品)
[月]	-	[mOsmol·kg ⁻¹]	[mg·mL ⁻¹]	M / A / F [%]		

儲存時間	pH	滲透壓度 [mOsmol·kg ⁻¹]	濃度 (OD280) [mg·mL ⁻¹]	單體 (M) 聚集體 (A) 片段 (F) SE-HPLC	電位 (細胞基質測定 法)
[月]				M / A / F [%]	相對電位 (相比於 參考標準品)
0	5.7	--	169.00	>99.0 0.6 <1%	0.97
2	5.6	--	171.00	98.3 1.7 <1%	0.92
3	5.7	--	173.00	98.0 2.0 <1%	1.14

表10：在+40°C ± 2°C下的穩定性測試 (171 mg/ml 抗體)

儲存時間	pH	滲透壓度 [mOsmol·kg ⁻¹]	濃度 (OD280) [mg·mL ⁻¹]	單體 (M) 聚集體 (A) 片段 (F) SE-HPLC	電位 (細胞基質測定 法)
[月]				M / A / F [%]	相對電位 (相比於 參考標準品)
0	5.7	--	169.0	>99.0 0.6 <1%	0.97
2	5.6	--	171.0	92.5 2.9 <5%	0.90
3	5.7	--	175.0	90.3 3.5 <7%	0.91

c) 冷凍/融化研究

【0242】 針對抗體濃度為106 mg/ml及145 mg/ml調配於30 mM組胺酸 pH 5.8及5%山梨糖醇之溶液中測試冷凍/融化穩定性。該抗體在-80°C ± 10°C下被冷凍至少整夜。在室溫下進行融化 ≥ 6h。進行0、1、3、5、7及10次冷凍/融化循環。

【0243】 測量下列參數：pH、滲透壓度、濃度 (OD280)、單體的百分比、藉SE-HPLC測得之聚集體及片段、電位 (細胞基質測定法)。結果顯示於下列表11及12中。

表11：在-80°C ± 10°C下的冷凍/融化穩定性測試 (106 mg/ml 抗體)

F/T 循環 的次數	pH	滲透壓度	濃度 (OD280)	單體 (M) 聚集體 (A) 片段 (F) SE-HPLC	電位 (細胞基質測定 法)
---------------	----	------	---------------	--	---------------------

[No.]		[mOsmol·kg ⁻¹]	[mg·mL ⁻¹]	M / A / F [%]			相對電位 (相比於參考標準品)
0x	5.86	373	99.07	99.05	0.95	0	0.84
1x	5.86	381	99.37	99.19	0.81	0	1.05
3x	5.89	379	98.23	99.20	0.80	0	1.11
5x	5.87	380	99.69	99.15	0.85	0	1.15
7x	5.86	380	99.96	99.12	0.88	0	1.24
10x	5.87	378	98.94	99.08	0.92	0	0.83

表12：在-80°C ± 10°C下的冷凍/融化穩定性測試 (145 mg/ml抗體)

F/T 循環的次數	pH	滲透壓度	濃度 (OD280)	單體 (M) 聚集體 (A) 片段 (F) SE-HPLC	電位 (細胞基質測定法)	相對電位 (相比於參考標準品)	
[No.]		[mOsmol·kg ⁻¹]	[mg·mL ⁻¹]	M / A / F [%]			
0x	5.86	373	133.13	98.94	1.06	0	0.81
1x	5.90	379	132.98	99.11	0.89	0	1.16
3x	5.89	380	134.56	99.09	0.91	0	1.04
5x	5.90	384	132.74	99.07	0.93	0	1.11
7x	5.90	383	134.54	99.03	0.97	0	1.04
10x	5.91	385	132.89	98.96	1.04	0	1.05

d) 搖晃穩定性

【0244】 起始此研究以獲得關於剪切應力於該抗體在填充（例如填充、包裝、運輸）至患者過程的期間的影響的資訊。因此該抗體呈濃度為 106 mg/ml 及 145 mg/ml 及調配於 30 mM 組胺酸 pH 5.8 及 5% 山梨糖醇的溶液，係在初級包裝材料（DIN R2 玻璃小瓶）中在垂直搖動器上輕搖。小瓶係在 +5°C ± 3°C 下於搖動器上儲存高達 14 天並比對對照組（在 +5°C ± 3°C 下未搖晃儲存）。在 0、1、2、3、7 及 14 天後進行數據點收集。

【0245】 測量下列參數：pH、滲透壓度、濃度 (OD280)、單體的百分比、藉 SE-HPLC 測得之聚集體及片段、電位（細胞基質測定法）。結果顯示於下列表 13-16 中。

表13：在 $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 下「具有」搖晃的搖晃穩定性測試 (106 mg/ml抗體)

儲存時間 [天]	pH	滲透壓度 [mOsmol·kg ⁻¹]	濃度 [mg·mL ⁻¹]	單體 (M) 聚集體 (A) 片段 (F) SE-HPLC	電位 (細胞基質測定 法)		
				M / A / F [%]		相對電位 (相比於 參考標準品)	
0	5.86	373	99.07	99.05	0.95	0	0.84
1	5.89	375	96.37	99.07	0.93	0	n.d.
2	5.92	376	99.84	99.04	0.96	0	n.d.
3	5.88	384	99.69	99.04	0.96	0	0.95
7	5.85	377	99.39	99.05	0.95	0	1.00
14	5.89	379	100.14	99.06	0.94	0	0.87

表14：在 $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 下「不具」搖晃的搖晃穩定性測試 (106 mg/ml抗體)

儲存時間 [天]	pH	滲透壓度 [mOsmol·kg ⁻¹]	濃度 [mg·mL ⁻¹]	單體 (M) 聚集體 (A) 片段 (F) SE-HPLC	電位 (細胞基質測定 法)		
				M / A / F [%]		相對電位 (相比 於參考標準品)	
0	5.86	373	99.07	99.05	0.95	0	0.84
1	5.93	380	96.54	99.09	0.91	0	n.d.
2	5.94	379	99.60	99.08	0.92	0	n.d.
3	5.86	378	98.98	99.05	0.95	0	0.98
7	5.85	378	98.79	99.02	0.98	0	1.04
14	5.92	384	99.43	99.08	0.92	0	1.13

表15：在 $+5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 下「具有」搖晃的搖晃穩定性測試 (145 mg/ml抗體)

儲存時間 [天]	pH	滲透壓度 [mOsmol·kg ⁻¹]	濃度 [mg·mL ⁻¹]	單體 (M) 聚集體 (A) 片段 (F) SE-HPLC	電位 (細胞基質測定 法)		
				M / A / F [%]		相對電位 (相比 於參考標準品)	
0	5.96	382	133.13	98.94	1.06	0	0.81
1	5.92	381	132.32	98.97	1.03	0	n.d.
2	5.94	385	135.31	98.93	1.07	0	n.d.
3	5.89	384	133.54	98.91	1.09	0	0.89
7	5.85	382	132.17	99.01	0.99	0	1.19

儲存時間	pH	滲透壓度	濃度 (OD280)	單體 (M) 聚集體 (A) 片段 (F) SE-HPLC	電位 (細胞基質測定 法)
[天]		[mOsmol·kg ⁻¹]	[mg·mL ⁻¹]	M/A/F [%]	相對電位 (相比 於參考標準品)
14	5.90	384	134.88	98.95 1.05 0	0.98

表16：在+5°C ± 3°C下「不具」搖晃的搖晃穩定性測試 (145 mg/ml抗體)

儲存時間	pH	滲透壓度	濃度 (OD280)	單體 (M) 聚集體 (A) 片段 (F) SE-HPLC	電位 (細胞基質測定 法)
[天]		[mOsmol·kg ⁻¹]	[mg·mL ⁻¹]	M/A/F [%]	相對電位 (相比於 參考標準品)
0	5.96	382	133.13	98.94 1.06 0	0.81
1	5.92	382	132.70	98.98 1.02 0	n.d.
2	5.95	383	137.85	98.98 1.02 0	n.d.
3	5.89	385	138.28	98.93 1.07 0	0.71
7	5.88	380	133.11	98.93 1.07 0	1.16
14	5.90	387	135.40	98.93 1.07 0	0.79

e) 結果及結論

【0246】 針對抗體濃度為約106 mg/ml及約145 mg/ml進行包括加速的及壓迫的情況之長期穩定性研究長達60個月。針對抗體濃度高達約171 mg/ml亦進行於加速的及壓迫的情況下額外的穩定性研究。

【0247】 於60個月期間，在+5°C ± 3°C下以兩種濃度儲存的樣品均顯示低於2%聚集及具有與參考者相比較之相同電位。

【0248】 在加速的情況 (+25°C ± 2°C) 下儲存12個月後，兩種濃度 (106 mg/ml及145 mg/ml) 均顯示低於2%聚集及具有與參考者相比之相同電位。在壓迫的情況下 (+40°C ± 2°C) 儲存6個月後，兩種濃度均顯示低於5%聚集及具有與參考者相比大約相同的電位。

【0249】 額外的加速/壓迫應力研究之數據分別顯示在25°C及40°C下

3個月及1個月的穩定性。此指出可預期在2-8°C下的穩定性可相比於同上討論之由抗體濃度為106 mg/ml及145 mg/ml獲得者。

【0250】 又該抗體在-80°C ± 10°C下於兩種測試的抗體濃度為約106 mg/ml及約145 mg/ml至少10次冷凍/融化循環期間為穩定的。

【0251】 最後，搖晃穩定性研究係設置在+5°C ± 3°C下於垂直搖動器上14天的時間期間並比對未搖晃對照組。於此期間沒有評估pH、滲透壓度、降解、聚集、碎裂、濃度或電位之參數上的趨勢可被偵測。搖晃似乎對抗體穩定性沒有影響。

【0252】 基於以上數據，在+5°C ± 3°C下針對濃度高達約171 mg/ml可設定至少60個月的保存期限。

實施例13: 黏度評估

【0253】 黏度係以流變計測定。流變計係用於彼等無法藉由單一黏度值所界定且因此需要設定及測量相對黏度計的情況更多參數之流體。

【0254】 對某些流體而言，黏度於廣範圍的剪切速率中為恆定的（牛頓流體）。不具有恆定黏度的流體（非-牛頓流體）無法藉由單一數字描述。非-牛頓流體展現於介於剪切應力及剪切速率之間多種不同的關係。因此，對非-牛頓流體而言黏度係取決於溫度以及剪切速率。黏度係於給定的溫度及給定的剪切速率 γ [1/sec]下以毫巴*秒 (mPas*s) 指出。

【0255】 具有約150 mg/ml抗體的配方之黏度在剪切速率介於約50及約1000 [1/sec]之間、在溫度為20°C下係低於12 mPas*s。

【0256】 具有約150 mg/ml抗體的配方之黏度在剪切速率介於約50及約1000 [1/sec]之間、在溫度為5°C下係低於20mPas*s。

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

無

【序列表】 (請換頁單獨記載)

序列表

<110> 安進研究（慕尼黑）有限公司
 <120> 包括GM-CSF中和化合物之液態配方
 <130> MIM14487PCT
 <150> US61/720,892
 <151> 2012-10-31
 <150> EP12199191.3
 <151> 2012-12-21
 <160> 56
 <170> PatentIn version 3.5

● <210> 1
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CDR-H3 7A-701

<400> 1

Ser Gly Leu Ile Ala Asn His Met Thr Pro
 1 5 10

● <210> 2
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CDR-H3 7B1-502

<400> 2

Thr Thr Leu Ile Ser Val Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

● <210> 3
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CDR-H3 L38-A1

<400> 3

Ser Gly Leu Ile Phe Asp Tyr Trp Leu Asp
 1 5 10

<210> 4
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CDR-H3 L38-A12

<400> 4

Ser Gly Leu Ile Ile Asp Ala Leu Ser Pro
 1 5 10

<210> 5
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CDR-H3 L38-G7

<400> 5

Thr Ser Leu Met Ser Ile Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 6
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CDR-H3 L39-D11

<400> 6

Ser Gly Leu Leu Phe Leu Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 7
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CDR-H3 E1-37-E7

<400> 7

Ser Gly Leu Ile Asn Leu Gly Met His Pro
 1 5 10

<210> 8
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CDR-H3 M1_3-82

<400> 8

Ser Gly Leu Ile Phe Asp Ala Leu Arg Asp
 1 5 10

<210> 9
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CDR-H3 Ln4p-23

<400> 9

Ser Gly Leu Ile Phe Asp Lys Leu Thr Ser
 1 5 10

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

<220>
 <223> CDR-H3 Ln4p-28

<400> 10

Ser Gly Leu Ile Asn Leu His Phe Asp Thr
 1 5 10

<210> 11
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CDR-H3 Ln4p-50

<400> 11

Ser Thr His Phe Ser Ala Tyr Phe Asp Tyr
 第 3 頁

1

5

10

<210> 12
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CDR-H3 Ln4p-65

<400> 12

Ser Gly Leu Ile Met Asp Lys Leu Asp Asn
 1 5 10

<210> 13
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CDR-H3 Ln4p-90

<400> 13

Ser Gly Leu Ile Ile Asp Asn Leu Asn Pro
 1 5 10

<210> 14
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CDR-H1 7B1-502

<400> 14

Asp Tyr Leu Leu His
 1 5

<210> 15
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CDR-H2 7B1-502

<400> 15

Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 16
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CDR-L1 5-306

<400> 16

Arg Ala Ser Gln Asn Ile Arg Asn Ile Leu Asn
 1 5 10

● <210> 17
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CDR-L2 5-306

<400> 17

Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser
 1 5

<210> 18
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

● <220>
 <223> CDR-L3 5-306

<400> 18

Gln Gln Ser Tyr Ser Met Pro Arg Thr
 1 5

<210> 19
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> VL 5-306* L-version

<400> 19

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 第 5 頁

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

<210> 20
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> VH with CDR-H3 = 7A-701

<400> 20

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

<210> 21
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> VH with CDR-H3 = 7B1-502*

<400> 21

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30

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

●
 <210> 22
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

●
 <220>
 <223> VH with CDR-H3 = 3077*

<400> 22

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

●
 <210> 23
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> VH with CDR-H3 = L38-A1

<400> 23

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val

<210> 24
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH with CDR-H3 = L38-A12

<400> 24

<210> 25
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH with CDR-H3 = L38-G7

<400> 25

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1					5				10				15		
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Phe	Gly	Tyr	Pro	Phe	Thr	Asp	Tyr
					20				25				30		
Leu	Leu	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
					35				40				45		

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Thr Ser Leu Met Ser Ile Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 26
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> VH with CDR-H3 = L39-D11
 <400> 26

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

<210> 27
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> VH with CDR-H3 = E1-37-E7
 <400> 27

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50	55	60	
Gln	Gly Arg Val Thr Met	Thr Arg Asp Thr Ser	Ile Ser Thr Ala Tyr
65	70	75	80
Met	Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp	Asp Thr Ala Val Tyr	Tyr Cys
	85	90	95
Ala	Arg Ser Gly Leu Ile Asn Leu	Gly Met His Pro Trp	Gly Gln Gly
	100	105	110
Thr	Met Val Thr Val Ser Ser		
	115		

<210> 28
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH with CDR-H3 = M1_3-82

<400> 28

<210> 29
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH with CDR-H3 = Ln4p-23

<400> 29

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1					5				10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Phe	Gly	Tyr	Pro	Phe	Thr	Asp	Tyr
					20				25				30		
Leu	Leu	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
					35				40			45			
Gly	Trp	Leu	Asn	Pro	Tyr	Ser	Gly	Asp	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
					50				55			60			

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Gly Leu Ile Phe Asp Lys Leu Thr Ser Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 30
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> VH with CDR-H3 = Ln4p-28

<400> 30

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

<210> 31
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> VH with CDR-H3 = Ln4p-50

<400> 31

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

<210> 32
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH with CDR-H3 = Ln4p-65

<400> 32

<210> 33
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH with CDR-H3 = Ln4p-90

<400> 33

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

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Gly Leu Ile Ile Asp Asn Leu Asn Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 34
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> Light Chain 5-306* L-version
 <400> 34

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

<210> 35
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> Heavy Chain with CDR-H3 = 7B1-502*
 <400> 35

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Thr Thr Leu Ile Ser Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

Lys

<210> 36
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> Heavy Chain with CDR-H3 =7A-701*

<400> 36

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Ser Gly Leu Ile Ala Asn His Met Thr Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

	340	345	350												
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr
	355					360					365				
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu
	370					375					380				
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu
	385					390					395				400
Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys
														415	
Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu
													420	430	
Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
													435	445	
Lys															

<210> 37
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> Heavy Chain with CDR-H3 = L38-A1*

<400> 37

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

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Lys

<210> 38
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> Heavy Chain with CDR-H3 = L38-A12*

<400> 38

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

130	135	140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp		
145	150	155
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu		
165	170	175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Val Val Thr Val Pro Ser		
180	185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro		
195	200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys		
210	215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro		
225	230	235
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
340	345	350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
385	390	395
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		
405	410	415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
420	425	430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
435	440	445
Lys		

<210> 39
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> Heavy Chain with CDR-H3 = L38-G7*

<400> 39

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala			
1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr			
20	25	30	

Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Thr Ser Leu Met Ser Ile Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Lys

<211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> Heavy Chain with CDR-H3 = L39-D11*

<400> 40

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Ser Gly Leu Leu Phe Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Lys

<210> 41
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> Heavy Chain with CDR-H3 = E1-37-E7*
 <400> 41

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

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

<210> 42
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> Heavy Chain with CDR-H3 = M1_3-82*

<400> 42

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

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Lys

● <210> 43
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> Heavy Chain with CDR-H3 = Ln4p-23*

<400> 43

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Gly Leu Ile Phe Asp Lys Leu Thr Ser Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Lys

<210> 44
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> Heavy Chain with CDR-H3 = Ln4p-28*

<400> 44

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Gly Leu Ile Asn Leu His Phe Asp Thr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

<210> 45
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Heavy Chain with CDR-H3 = Ln4p-50*

<400> 45

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Lys

<210> 46
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> Heavy Chain with CDR-H3 = Ln4p-65*

<400> 46

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

210	215	220	
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro			
225	230	235	
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		240	
245	250	255	
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser His Glu Asp			
260	265	270	
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn			
275	280	285	
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val			
290	295	300	
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu			
305	310	315	320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys			
325	330	335	
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr			
340	345	350	
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr			
355	360	365	
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu			
370	375	380	
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu			
385	390	395	400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys			
405	410	415	
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu			
420	425	430	
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
435	440	445	
Lys			

<210> 47
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> Heavy Chain with CDR-H3 = Ln4p-90*

<400> 47

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

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Lys

<210> 48
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> Heavy Chain with CDR-H3 = 3077*

<400> 48

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
第 29 頁

1 Ser Val Lys Val 5 Ser Cys Lys Ala Phe 10 Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Leu Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Ser Gly Leu Ile Ala Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Lys

<210> 49
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> 人類 GM-CSF

<400> 49

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

<210> 50
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> 猿猴 GM-CSF

<400> 50

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

<210> 51
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> 長臂猿 GM-CSF

<400> 51

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

<210> 52

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH with CDR-H3 7B1-502

<400> 52

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

<210> 53

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH with CDR-H3 3077

<400> 53

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

<210> 54
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> VL 5-306
 <400> 54

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

<210> 55
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> VL 5-306* V-version
 <400> 55

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

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

<210> 56
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-H3 3077

<400> 56

Ser Gly Leu Ile Ala Val Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

I639440

公告本

發明摘要

※ 申請案號： 102139662

A61K39/395 (2006.01)

※ 申請日： 102.10.31

※IPC 分類： C07K16/34 (2006.01)

A61P47/10 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

包括 GM-CSF 中和化合物之液態配方 /LIQUID FORMULATION

COMPRISING GM-CSF NEUTRALIZING COMPOUND

【中文】

本發明係關於水溶性配方，其包括濃度呈至少約 20 mg/ml 中和 GM-CSF 之化合物、張力調節劑及緩衝劑，其中該組合物為穩定的。配方之成份較佳提供於長期儲存下對中和 GM-CSF 之化合物之穩定性。於較佳方面中，配方係用於治療，較佳用於發炎及自體免疫疾病之治療，較佳包括過敏與牛皮癬疾病，以及關節炎與氣喘疾病。此外，亦提供包括本發明配方之套組。

【英文】

The present invention relates to aqueous formulations comprising a compound neutralizing GM-CSF in concentrations of at least about 20 mg/ml, a tonicity modifier and a buffer, wherein the composition is stable. The ingredients of the formulation preferably provide stability to the compound neutralizing GM-CSF in view of long-term storage. In a preferred aspect, the formulation is

for use in therapy, preferably for use in the treatment of inflammatory and autoimmune disorders, preferably including allergic and psoriatic disorders, as well as arthritic and asthmatic disorders. Furthermore, a kit comprising the formulation of the invention is provided.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（無）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：無

第 102139662 號發明專利申請案
修正後無劃線之申請專利範圍替換本 (107 年 3 月 20 日)

申請專利範圍

1. 一種水溶性組合物，其包括

i) 中和 GM-CSF 之化合物，其為結合至 GM-CSF 的人類單株抗體或其功能片段，且於其輕鏈變異區包含包括如載於 SEQ ID NO. 16 之胺基酸序列的 CDR1、包括如載於 SEQ ID NO. 17 之胺基酸序列的 CDR2 及包括如載於 SEQ ID NO. 18 之胺基酸序列的 CDR3，及於其重鏈變異區包含包括如載於 SEQ ID NO. 14 之胺基酸序列的 CDR1、包括如載於 SEQ ID NO. 15 之胺基酸序列的 CDR2 及包括選自由載於 SEQ ID NOs. 1-13 及 56 者所組成之群之胺基酸序列的 CDR3，其中該中和 GM-CSF 之化合物係以至少 100 mg/ml 及低於 200 mg/ml 之濃度存在，

ii) 張力調節劑，其係選自甘露糖醇、山梨糖醇、蔗糖及/或海藻糖，以 3%至 7% (w/v)之濃度存在，以及

iii) 緩衝劑，其係選自組胺酸、醋酸鹽及/或檸檬酸鹽緩衝劑，以 20 mM 至 40 mM 之濃度存在，

其中，該組合物具有 pH 介於 5 與 7 之間，以及其中該組合物為穩定的。

2. 如請求項 1 之組合物，其中該張力調節劑係山梨糖醇且該緩衝劑係組胺酸緩衝劑。

3. 如請求項 1 之組合物，其不含有界面活性劑或胺基酸。

4. 如請求項 1 之組合物，其包括

i) 100 mg/ml 至 180 mg/ml 之中和 GM-CSF 之化合物，

ii) 5% (w/v)山梨糖醇，

第 102139662 號發明專利申請案
修正後無劃線之申請專利範圍替換本 (107 年 3 月 20 日)

- iii) 30 mM L-組胺酸，及
 - iv) 具 5.8 之 pH。
5. 如請求項 4 之組合物，其包括 150 mg/ml 之中和 GM-CSF 之化合物。
6. 如請求項 1 之組合物，其中該抗體或其功能片段於其輕鏈變異區包含包括如載於 SEQ ID NO. 16 之胺基酸序列的 CDR1、包括如載於 SEQ ID NO. 17 之胺基酸序列的 CDR2 及包括如載於 SEQ ID NO. 18 之胺基酸序列的 CDR3，及於其重鏈變異區包含包括如載於 SEQ ID NO. 14 之胺基酸序列的 CDR1、包括如載於 SEQ ID NO. 15 之胺基酸序列的 CDR2 及包括如載於 SEQ ID NO. 2 之胺基酸序列的 CDR3。
7. 如請求項 1 之組合物，其中該抗體或其功能片段於其輕鏈變異區中包含如載於 SEQ ID NOs. 19、54 及 55 之任一者的胺基酸序列及於其重鏈變異區中包含如載於 SEQ ID NOs: 20-33、52 及 53 任一者之胺基酸序列。
8. 如請求項 1 之組合物，其中該抗體或其功能片段包含如載於 SEQ ID NO: 34 的輕鏈胺基酸序列及如載於 SEQ ID NO: 35 的重鏈胺基酸序列。
9. 如請求項 1 之組合物，其係於 2-8°C 至少 24 個月為穩定的或於室溫下至少 28 天為穩定的。
- 10.如請求項1-9中任一項之組合物，其係用於治療。
- 11.如請求項1-9中任一項之組合物，其係用於靜脈內及/或皮下投與。
- 12.如請求項1-9中任一項之組合物，其係用於發炎性及自體免疫性疾病之治療。
- 13.如請求項12之組合物，其中該疾病係選自由過敏、牛皮癬疾病、關

第 102139662 號發明專利申請案
修正後無劃線之申請專利範圍替換本 (107 年 3 月 20 日)

節炎及氣喘疾病所組成之群組者。

14. 一種套組，其包括如請求項1-13中任一項之組合物。