



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110366429 B

(45) 授权公告日 2024. 10. 11

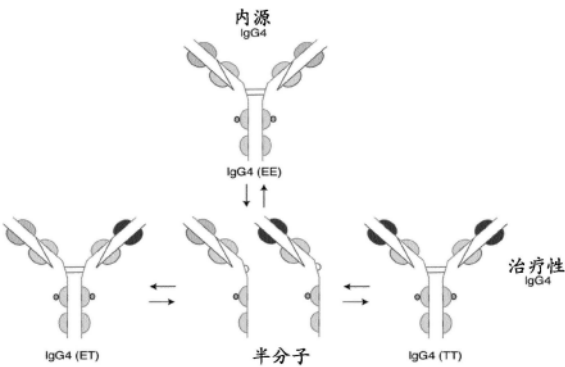
(21) 申请号 201880014493.0	(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
(22) 申请日 2018.02.28	专利代理师 梁谋 黄登高
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 110366429 A	(51) Int.Cl. A61K 39/395 (2006.01) C07K 16/24 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01) C07K 16/10 (2006.01)
(43) 申请公布日 2019.10.22	(56) 对比文件 JP 2013521296 A, 2013.06.10 US 2013344088 A1, 2013.12.26 WO 2009026122 A1, 2009.02.26 WO 2011090088 A1, 2011.07.28 WO 2013148686 A2, 2013.10.03 WO 2016059512 A1, 2016.04.21
(30) 优先权数据 62/465269 2017.03.01 US	审查员 唐雪珂
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2019.08.28	
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/EP2018/054960 2018.02.28	
(87) PCT国际申请的公布数据 W02018/158332 EN 2018.09.07	
(73) 专利权人 免疫医疗有限公司 地址 英国剑桥郡	
(72) 发明人 B.A.洛博 A.U.沙 M.S.沙尔马 D.S.戈尔德堡	权利要求书1页 说明书17页 序列表10页 附图15页

(54) 发明名称

单克隆抗体的配制品

(57) 摘要

本发明提供了一种配制品,该配制品包含:
(i) 单克隆抗体;和(ii) 离子型赋形剂;其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该离子型赋形剂以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至6.5的pH。



1. 一种配制品, 该配制品包含:

i. 单克隆IgG1抗体;

ii. 75至100mM精氨酸盐酸盐;

iii. 10mM至50mM L-组氨酸/L-组氨酸盐酸盐一水合物;

iv. 0.04% (w/v) 聚山梨醇酯-80; 和

v. 100mM至140mM蔗糖;

其中该单克隆抗体以100mg/ml的浓度存在, 并且该配制品具有5.5至6.5的pH, 其中该单克隆抗体具有在pH6.4至pH 6.7范围内的pI。

2. 根据权利要求1所述的配制品, 其中该精氨酸盐酸盐以80mM的浓度存在。

3. 根据权利要求2所述的配制品, 其中该蔗糖以120mM的浓度存在。

4. 根据权利要求3所述的配制品, 其中该L-组氨酸/L-组氨酸盐酸盐一水合物是以30mM的浓度存在。

5. 根据权利要求1所述的配制品, 该配制品为药物配制品。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述的配制品在制备用于在受试者中治疗疾病的药物中的用途。

7. 一种冻干饼, 该冻干饼能够仅使用无菌水重构成根据权利要求1至5中任一项所定义的配制品。

8. 一种能够冻干以形成冻干饼的配制品, 其中该冻干饼能够仅使用无菌水重构成根据权利要求1至5中任一项所定义的配制品。

单克隆抗体的配制品

技术领域

[0001] 本发明涉及一种抗体配制品(特别是单克隆抗体配制品)及其用途。本发明特别涉及在抗体配制品中提供改进的胶体稳定性。

背景技术

[0002] 由于许多单克隆抗体的等电点(pI)处于蛋白质的优选药物pH配制品范围内(pH 5.5至pH 7.5),所以这些分子存在独特的配制挑战。

[0003] 分子pI的胶体不稳定性是由于分子上缺乏静电荷,这允许更密切的蛋白质-蛋白质相互作用(所谓的“自缔合”),其导致物理不稳定性。出于这一原因,典型地,将蛋白质配制品的pH选择为偏离蛋白质pI至少1个pH单位。这旨在提供胶体稳定性并因此预防物理不稳定性,例如聚集、沉淀、乳光、相分离和/或颗粒形成。

[0004] 根据“偏离1个pH单位”规则,具有低或中性pI(例如pH 5.5至pH 7.5的pI)的抗体因此应被配制成具有在5.5至7.5范围之外的pH的配制品。然而,在此范围之外,可以观察到另外的不稳定性。在更高酸性的pH下,可以观察到片段化速率的增加降低了构象稳定性并且增加了聚集。在更高碱性的pH下,存在增加氧化、脱酰胺和片段化以及与玻璃容器不相容的可能性。

[0005] 上述不稳定性在抗体配制品(其中抗体以商业上所希望的浓度(例如50mg/ml及以上)存在)中尤其成问题。

[0006] 因此,对提供具有低或中性pI的抗体的改进的配制品存在需求。具体地,对提供具有低或中性pI的抗体的稳定配制品,并且特别是具有商业上所希望的抗体浓度的配制品存在需求。

发明内容

[0007] 本发明提供了新的抗体配制品,特别是新的单克隆抗体配制品。具体地,本发明的配制品提供了用于改进具有低或中性pI的抗体的胶体稳定性的手段。因此,本发明提供了用于提供胶体稳定性的“偏离1个pH”规则的替代方案。因此,本发明允许在抗体pI的1个pH单位内配制具有低或中性pI的抗体。因此,本发明使得能够在5.5至7.5的pH范围内并且以商业上有用的浓度配制此类抗体,同时基本上避免了与更高酸性或更高碱性pH相关的不稳定性。

[0008] 本发明提供了一种配制品,该配制品包含:

[0009] i. 单克隆抗体;和

[0010] ii. 离子型赋形剂;

[0011] 其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该离子型赋形剂以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至7.5的pH。

[0012] 因此,本发明进一步提供了一种配制品,该配制品包含:

[0013] i. 单克隆抗体;和

[0014] ii. 离子型赋形剂;

[0015] 其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该离子型赋形剂以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至7.5的pH;并且其中该配制品中的单克隆抗体的聚集速率与相同配制品但不含离子型赋形剂中的相同抗体的聚集速率相比降低。

[0016] 本发明的配制品特别适用于具有低或中性pI的抗体,例如在pH 5.5至pH 7.5的范围内。本发明提供了一种配制品,该配制品包含:

[0017] i. 具有低或中性pI(例如5.5至7.5)的单克隆抗体;和

[0018] ii. 离子型赋形剂;

[0019] 其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该离子型赋形剂以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至7.5的pH。

[0020] 因此,本发明进一步提供了一种配制品,该配制品包含:

[0021] i. 具有低或中性pI(例如5.5至7.5)的单克隆抗体;和

[0022] ii. 离子型赋形剂;

[0023] 其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该离子型赋形剂以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至7.5的pH;并且其中该配制品中的单克隆抗体的聚集速率与相同配制品但不含离子型赋形剂中配制的相同抗体的聚集速率相比降低。

[0024] 在一个实施例中,该单克隆抗体具有在5.5至7.5范围内的pI。在一个实施例中,该单克隆抗体具有在6.0至7.5范围内的pI。在一个实施例中,该单克隆抗体具有在6.3至7.5范围内的pI。在一个实施例中,该单克隆抗体具有在6.4至7.5范围内的pI。不希望受到理论的束缚,对于其中在蛋白质上存在带有相反电荷(阳性的胺基和阴性的羧基)的氨基酸侧链的净平衡或者不同域具有总体相反电荷在5.5至7.5的pH范围内的情况下,蛋白质可以具有低至中性的pI。同样,不希望受到理论的束缚,本发明的配制品中的离子型赋形剂可能屏蔽这些相反且相互吸引的电荷,从而使具有在该范围内的pI的蛋白质胶体稳定。因此,本发明提供了离子型赋形剂在抗体配制品中用于改变该配制品中的抗体的电荷状态或分布的用途。本发明进一步提供了离子型赋形剂在抗体配制品中用于胶体稳定该配制品中的抗体的用途。

[0025] 在一个实施例中,该单克隆抗体以约75mg/ml或更高(例如约75mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在于本文所述的配制品中。在一个实施例中,该单克隆抗体以约100mg/ml或更高(例如约100mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在于本文所述的配制品中。在一个实施例中,该单克隆抗体以约100mg/ml至约165mg/ml的浓度存在于本文所述的配制品中。在一个实施例中,该单克隆抗体以约100mg/ml的浓度存在。

[0026] 在一个实施例中,该离子型赋形剂以约75mM至约100mM的浓度存在。在一个实施例中,该离子型赋形剂以约75mM的浓度存在。在一个实施例中,该离子型赋形剂以约80mM的浓度存在。

[0027] 在一个实施例中,该单克隆抗体是IgG1或IgG4单克隆抗体。最优选地,该单克隆抗体是IgG4单克隆抗体。IgG4抗体典型地具有低或中性pI。因此,本发明提供了一种配制品,该配制品包含:

[0028] i. IgG4单克隆抗体;和

[0029] ii. 离子型赋形剂;

[0030] 其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该离子型赋形剂以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至7.5的pH。

[0031] 因此,本发明进一步提供了一种配制品,该配制品包含:

[0032] i. IgG4单克隆抗体;和

[0033] ii. 离子型赋形剂;

[0034] 其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该离子型赋形剂以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至7.5的pH;并且其中该配制品中的单克隆抗体的聚集速率与相同配制品但不含离子型赋形剂中的相同抗体的聚集速率相比降低。

[0035] 在一个实施例中,本文所述的配制品具有在约pH 5.5至约pH 6.5范围内的pH。在一个实施例中,本文所述的配制品具有在约pH 5.7至约pH 6.3范围内的pH。在一个实施例中,本文所述的配制品具有在约pH 5.7至约pH 6.1范围内的pH。优选的配制品具有约5.8的pH。其他优选的配制品具有约6.0的pH。

[0036] 在一个实施例中,该离子型赋形剂是带电荷的氨基酸。在一个实施例中,该离子型赋形剂是赖氨酸。在另一个实施例中,该离子型赋形剂是精氨酸。

[0037] 在一个实施例中,该离子型赋形剂是盐。因此,本发明提供了一种配制品,该配制品包含:

[0038] i. 如本文任何地方所定义的单克隆抗体;和

[0039] ii. 盐;

[0040] 其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该盐以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至7.5的pH。

[0041] 因此,本发明进一步提供了一种配制品,该配制品包含:

[0042] i. 如本文任何地方所定义的单克隆抗体;和

[0043] ii. 盐;

[0044] 其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该盐以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至7.5的pH;并且其中该配制品中的单克隆抗体的聚集速率与相同配制品但不含盐中的相同抗体的聚集速率相比降低。

[0045] 在一个实施例中,该盐以约75mM至约100mM的浓度存在。在一个实施例中,该盐以约75mM或约80mM的浓度存在。

[0046] 在一个实施例中,该盐是NaCl,例如为约75mM至约100mM的浓度,合适地为约75mM的浓度。

[0047] 在一个实施例中,该盐是精氨酸盐酸盐,例如为约75mM至约100mM的浓度,合适地为约80mM的浓度。

[0048] 在一个实施例中,该配制品进一步包含糖。在其他已知的益处中,糖的存在可以改进配制品的张力。这是所希望的,因为优选的配制品是等渗的或接近等渗的(例如,具有240至500mOsm/kg之间的重量摩尔渗透压浓度。在一个实施例中,该离子型赋形剂是盐,并且该配制品进一步包含糖。

[0049] 在一个实施例中,该配制品进一步包含糖,并且该离子型赋形剂以在约75mM至约150mM范围内的浓度存在。在一个实施例中,该配制品进一步包含糖,并且该离子型赋形剂以在约75mM至约100mM范围内的浓度存在。在一个实施例中,该配制品进一步包含以在约100mM至140mM范围内的浓度存在的糖,并且该离子型赋形剂以约75mM至100mM范围内的浓度存在。

[0050] 因此,本发明提供了一种配制品,该配制品包含:

[0051] i. 如本文任何地方所定义的单克隆抗体;

[0052] ii. 如本文任何地方所定义的离子型赋形剂(例如盐);

[0053] iii. 如本文任何地方所定义的糖;并且

[0054] 其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该离子型赋形剂以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至7.5的pH。该离子型赋形剂优选地以在约75mM至约150mM,更优选地约75mM至约100mM范围内的浓度存在。

[0055] 因此,本发明进一步提供了一种配制品,该配制品包含:

[0056] i. 如本文任何地方所定义的单克隆抗体;和

[0057] ii. 如本文任何地方所定义的离子型赋形剂(例如盐);

[0058] iii. 如本文任何地方所定义的糖;并且

[0059] 其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该离子型赋形剂以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至7.5的pH;并且其中该配制品中的单克隆抗体的聚集速率与相同配制品但不含离子型赋形剂中的相同抗体的聚集速率相比降低。该离子型赋形剂优选地以在约75mM至约150mM,更优选地约75mM至约100mM范围内的浓度存在。

[0060] 在一个实施例中,该糖是海藻糖。在另一个实施例中,该糖是蔗糖。例如,该糖被发现在约100mM至约140mM的浓度,合适地在约120mM的浓度。

[0061] 在一个实施例中,该配制品进一步包含一种或多种缓冲剂。在一个实施例中,该一种或多种缓冲剂是包含组氨酸的缓冲剂。在一个实施例中,该一种或多种缓冲剂选自包含组氨酸琥珀酸盐、组氨酸乙酸盐、组氨酸柠檬酸盐、组氨酸氯化物或组氨酸硫酸盐的缓冲剂。在一个实施例中,该一种或多种缓冲剂是组氨酸、组氨酸盐酸盐或其组合(组氨酸/组氨酸盐酸盐)。在一个实施例中,该一种或多种缓冲剂是L-组氨酸/L-组氨酸盐酸盐一水合物。例如,该缓冲剂可以为约10mM至约50mM的浓度,合适地为约30mM的浓度。应理解,缓冲剂本身可以是离子型赋形剂。因此,在一个实施例中,该缓冲剂是离子型赋形剂。在这个实施例中,缓冲剂的浓度应当高于50mM,即与本文披露的离子型赋形剂的浓度一致。换句话说,在一个实施例中,该离子型赋形剂也用作配制品中的缓冲剂。在这个实施例中,另外的缓冲剂可以存在也可以不存在。

[0062] 在一个实施例中,该配制品进一步包含表面活性剂。在一个实施例中,该表面活性剂是聚山梨醇酯,包括例如聚山梨醇酯-80。

[0063] 在一个实施例中,该配制品进一步包含糖和一种或多种缓冲剂。在一个实施例中,该离子型赋形剂是盐,并且该配制品进一步包含糖和一种或多种缓冲剂。

[0064] 在一个实施例中,该配制品进一步包含表面活性剂、糖和一种或多种缓冲剂。在一个实施例中,该离子型赋形剂是盐,并且该配制品进一步包含表面活性剂、糖和一种或多种

缓冲剂。

[0065] 因此,本发明提供了一种配制品,该配制品包含:

[0066] i.如本文任何地方所定义的单克隆抗体;

[0067] ii.如本文任何地方所定义的离子型赋形剂(例如盐);

[0068] iii.如本文任何地方所定义的糖;

[0069] iv.一种或多种如本文任何地方所定义的缓冲剂;和

[0070] v.任选地如本文任何地方所定义的表面活性剂

[0071] 其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该离子型赋形剂以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至7.5的pH。

[0072] 因此,本发明进一步提供了一种配制品,该配制品包含:

[0073] i.如本文任何地方所定义的单克隆抗体;和

[0074] ii.如本文任何地方所定义的离子型赋形剂(例如盐);

[0075] iii.如本文任何地方所定义的糖;

[0076] iv.一种或多种如本文任何地方所定义的缓冲剂;和

[0077] v.任选地如本文任何地方所定义的表面活性剂

[0078] 其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该离子型赋形剂以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至7.5的pH;并且其中该配制品中的单克隆抗体的聚集速率与相同配制品但不含离子型赋形剂中的相同抗体的聚集速率相比降低。

[0079] 本文所述的配制品还可以包括一种或多种另外的赋形剂,包括例如一种或多种糖、盐、氨基酸、多元醇、螯合剂、乳化剂和/或防腐剂。

[0080] 本发明提供的一种优选的配制品包含150mg/ml抗体、50mM乙酸钠/乙酸、106mM海藻糖脱水物、70mM氯化钠、0.05% (w/v) 聚山梨醇酯80,其中该配制品具有pH 5.8的pH。此配制品中的抗体优选地为抗GM-CSF- α IgG4抗体,更优选地为具有本文所述CAM-3001抗体的VH和VL序列的抗GM-CSF- α IgG4抗体。此配制品中的抗体优选地为抗GM-CSF- α IgG4抗体,该抗体具有与本文所述的CAM-3001抗体相同的6个CDR。

[0081] 本发明提供的一种优选的配制品包含150mg/ml抗体、50mM乙酸钠、85mM氯化钠和0.01% 聚山梨醇酯80,其中该配制品具有pH 5.5的pH。此配制品中的抗体优选地为抗IL-13 IgG4抗体,更优选地为具有本文所述CAT-354抗体的VH和VL序列的抗IL-13 IgG4抗体。此配制品中的抗体优选地为抗IL-13 IgG4抗体,该抗体具有与本文所述的CAT-354抗体相同的6个CDR。

[0082] 本发明的配制品优选地是药物配制品。

[0083] 本发明提供了如本文任何地方所述的药物配制品,用于作为药物使用。

[0084] 本发明提供了如本文任何地方所述的药物配制品,用于在疾病的治疗中使用。

[0085] 本发明提供了在受试者中治疗疾病的方法,该方法包括向该受试者给予如本文任何地方所述的药物配制品。本文还提供了通过向受试者给予治疗有效量的如本文任何地方所述的药物配制品来治疗该受试者的方法。

[0086] 在一个实施例中,该受试者是人类。

[0087] 待治疗的疾病将取决于配制品中含有的特定抗体。在一个实施例中,该疾病是癌

症。该疾病可选自下组,该组由以下组成:糖尿病、心血管疾病、传染病、类风湿性关节炎、血管炎、巨细胞动脉炎、肾小球疾病、狼疮性肾炎、葡萄膜炎、特应性皮炎、肝硬化、银屑病关节炎、慢性阻塞性肺病、重症哮喘、中性粒细胞性哮喘、和髓细胞性白血病。

[0088] 本发明提供了一种冻干饼,其能够仅使用无菌水重构成如本文所定义的配制品或如本文所定义的药物配制品。本文还提供了能够被冻干以形成冻干饼的配制品,其中该冻干饼能够仅使用无菌水重构成如本文定义的配制品或如本文所定义的药物配制品。

附图说明

[0089] 图1示出了IgG4单克隆抗体向半分子的转化。

[0090] 图1-1和图1-2示出了与CAT-354抗体有关的序列。标记了 V_H 和 V_L 序列,并且6个CDR加下划线。

[0091] 图2示出了盐对IgG4分子聚集速率的影响。

[0092] 图3A示出了改变pH对 k_p 的结果。

[0093] 图3B示出了在100mM盐存在下改变pH对Kd的结果。

[0094] 图4示出了盐对 k_p 的影响。通常注意到在pH 5下胶体稳定性降低,但在pH 6和pH 7下胶体稳定性增加。

[0095] 图5示出了具有或不具有100mM盐的配制品在40℃下的聚集速率数据。

[0096] 图6示出了配制品pH对MEDI7814的聚集速率的变化。

[0097] 图7示出了离子型赋形剂对pH 6下抗体(MEDI7814)聚集速率的影响。

[0098] 图8示出了MEDI8897重链核苷酸序列和翻译。CDR加下划线,形成等位基因恒定区的氨基酸差异被圈出,并且在可变区和恒定区之间由'|'标记划分。

[0099] 图9示出了MEDI8897轻链核苷酸序列和翻译。CDR加下划线并且在可变区和恒定区之间由'|'标记划分。

[0100] 图10示出了在5℃、25℃和40℃下,经3个月时期,MEDI8897配制品的稳定性。

[0101] 图11示出了离子型赋形剂对pH 6下抗体(MEDI578)聚集速率的影响。

[0102] 图12示出了通过尺寸排阻色谱法的纯度。

[0103] 图13示出了在热应激条件下含有离子型赋形剂的配制品中亚可见颗粒的减少。胶体稳定性得到改进。

具体实施方式

[0104] 由于许多单克隆抗体(并且特别是IgG4抗体)具有接近生理pH(即通常用于人类给予的所希望的pH)的pI的事实,因此配制这些单克隆抗体时遇到困难。这些困难可能特别地与胶体稳定性有关。

[0105] IgG4单克隆抗体的特征在于防止补体活化的结构,并且还允许两个IgG4分子之间的体内半分子交换(一条重链和一条轻链),产生具有二价反应性的新IgG4。参见图1。IgG4铰链比IgG1的铰链短三个氨基酸,并且IgG4具有可用于H链之间的共价相互作用的两个半胱氨酸。[Aalberse和Schuurman, "IgG4 breaking the rules [IgG4打破规则]," Immunology [免疫学] 2002 105:9-19]。

[0106] 本发明提供了新的单克隆抗体配制品,特别是新的IgG4单克隆抗体配制品和新的

IgG1单克隆抗体配制品。

[0107] 本发明提供了一种配制品,该配制品包含:(i)单克隆抗体;和(ii)离子型赋形剂(例如盐);其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该离子型赋形剂以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至7.5的pH。

[0108] 本发明进一步提供了一种配制品,该配制品包含:(i)单克隆抗体;和(ii)离子型赋形剂(例如盐);其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该离子型赋形剂以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至7.5的pH;并且其中该配制品中的单克隆抗体的聚集速率与相同配制品但不含离子型赋形剂中的相同抗体的聚集速率相比降低。

[0109] 聚集速率可以根据如本文所述的标准技术来测量。令人惊讶的是,已经示出了根据本发明的配制品具有良好的稳定性并具有降低的自聚集,例如当在室温下储存3个月时展示 $\leq 2.0\%$ 的聚集。因此,本发明提供了离子型赋形剂在抗体配制品中用于提高该配制品中抗体的稳定性的用途。本发明进一步提供了离子型赋形剂在抗体配制品中用于减少该配制品中抗体的自聚集的用途。

[0110] 本发明的配制品特别适用于具有低或中性pI的抗体,例如具有在pH 5.5至pH 7.5、pH 6.0至pH 7.5、pH 6.3至pH 7.5、pH 6.4至pH 7.5或pH 6.5至pH 7.5范围内的pI的抗体。可以根据标准技术例如通过毛细管等电聚焦(cIEF)来测量抗体的pI。因此,本发明提供了一种配制品,该配制品包含:(i)具有低或中性pI(例如5.5至7.5)的单克隆抗体;和(ii)离子型赋形剂;其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该离子型赋形剂以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至7.5的pH。因此,本发明进一步提供了一种配制品,该配制品包含:(i)具有低或中性pI(例如5.5至7.5)的单克隆抗体;和(ii)离子型赋形剂;其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该离子型赋形剂以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至7.5的pH;并且其中该配制品中的单克隆抗体的聚集速率与相同配制品但不含离子型赋形剂中的相同抗体的聚集速率相比降低。

[0111] 在一个实施例中,该单克隆抗体具有在pH 6.4至pH 7.5范围内的pI。在另一个实施例中,本文所述的单克隆抗体具有在约pH 5.5至约pH 6.0的范围内、约pH 5.7至约pH 6.0的范围内、或约pH 5.5、约pH 5.6、约pH 5.7、约pH 5.8、约pH 5.9、约pH 6.0、约pH 6.1、约pH 6.2、约pH 6.3、约pH 6.4或约pH 6.5的pI。在实施例中,本文提供的单克隆抗体的pI为5.7至6.0,更合适地,约5.8或6.0的pI。

[0112] 在一个实施例中,该单克隆抗体是IgG1或IgG4单克隆抗体。最优选地,该单克隆抗体是IgG4单克隆抗体。因此,本发明提供了一种配制品,该配制品包含:(i)具有低或中性pI(例如5.5至7.5)的IgG4单克隆抗体;和(ii)离子型赋形剂;其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该离子型赋形剂以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至7.5的pH。因此,本发明进一步提供了一种配制品,该配制品包含:(i)具有低或中性pI(例如5.5至7.5)的IgG4单克隆抗体;和(ii)离子型赋形剂;其中该单克隆抗体以约50mg/ml或更高(例如约50mg/ml至约200mg/ml)的浓度存在且该离子型赋形剂以约50至约150mM的浓度存在,并且该配制品具有5.5至7.5的pH;并且其中该配制品中的单克隆抗体的聚集速率与相同配制品但不含离子型赋形剂中的相同抗体的聚集

速率相比降低。

[0113] 在一个实施例中,该单克隆抗体是抗GM-CSF- α 单克隆抗体、抗IL-13单克隆抗体、抗RSV单克隆抗体或抗C5/C5a单克隆抗体。在示例性实施例中,该单克隆抗体是IgG4单克隆抗体,例如抗GM-CSF- α 单克隆抗体。在一个实施例中,该单克隆抗体是CAM-3001。在一个实施例中,该单克隆抗体是MEDI8897。

[0114] 单克隆抗体包括抗体功能部分,例如抗体或其抗原结合片段、变体或衍生物。单克隆抗体进一步包括但不限于人类抗体、人源化抗体、或嵌合抗体、单链抗体、双特异性抗体、表位结合片段,例如Fab、Fab'和F(ab')₂、Fd、Fv、单链Fv(scFv)、单链抗体、二硫化物连接的Fv(sdFv)、包含VL或VH结构域的片段、由Fab表达文库产生的片段。ScFv分子在本领域中是已知的并且描述于例如美国专利5,892,019中。本披露涵盖的免疫球蛋白或抗体分子可以是免疫球蛋白分子的任何类型(例如IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、类别(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或子类。在优选的实施例中,该单克隆抗体是IgG1或IgG4单克隆抗体。

[0115] 抗体浓度

[0116] 合适地,单克隆抗体以例如约50mg/ml至约300mg/ml、约50mg/ml至约200mg/ml、约100mg/ml至约200mg/ml、约100mg/ml至约165mg/ml、约100mg/ml至约150mg/ml、或约50mg/ml、约75mg/ml、约100mg/ml、约105mg/ml、约110mg/ml、约115mg/ml、约120mg/ml、约125mg/ml、约130mg/ml、约135mg/ml、约140mg/ml、约145mg/ml、约150mg/ml、约155mg/ml、约160mg/ml、约165mg/ml、约170mg/ml、约175mg/ml、约180mg/ml、约185mg/ml、约190mg/ml、约195mg/ml、或约200mg/ml(包括这些范围内的值和范围)的商业上所希望的浓度存在于本文所述的配制品中。

[0117] 合适地,单克隆抗体以约100mg/ml至约165mg/ml的浓度存在于本文所述的配制品中。合适地,单克隆抗体以约100mg/ml的浓度存在于本文所述的配制品中。

[0118] pH

[0119] 合适地,为了提供接近最佳或最佳的化学稳定性(水解、脱酰胺、异构化),本文所述的配制品具有在约pH 5.5至约pH 7.5范围内的pH。在一个实施例中,本文所述的配制品具有在约pH 5.7至约pH 6.3范围内的pH。在一个实施例中,本文所述的配制品具有在约5.5至约6.5范围内的pH。在一个实施例中,本文所述的配制品具有在约pH 5.7至约pH 6.1范围内的pH。优选的配制品具有约5.8的pH。其他优选的配制品具有约6.0的pH。

[0120] 合适地,本文所述的配制品具有在约pH 5.5至约pH 6.0的范围内、在约pH 5.7至约pH 6.0的范围内、或约pH 5.5、约pH 5.6、约pH 5.7、约pH 5.8、约pH 5.9、约pH 6.0、约pH 6.1、约pH 6.2、约pH 6.3、约pH 6.4或约pH 6.5的pH。在实施例中,本文提供的配制品的pH为5.7至6.0,更合适地,该配制品具有约5.8或6.0的pH。

[0121] 接近约pH 7.4的配制品pH对于注射部位耐受性也是希望的。

[0122] 离子型赋形剂

[0123] 用于配制品中的示例性离子型赋形剂包括盐和带电荷的氨基酸。离子型赋形剂可以包含盐和带电荷的氨基酸的组合。

[0124] 示例性的带电荷的氨基酸包括精氨酸和赖氨酸。

[0125] 示例性的盐包括带电荷的氨基酸的盐,例如精氨酸和赖氨酸的琥珀酸盐、乙酸盐

和硫酸盐。

[0126] 此外,示例性的盐是本文所述的那些,包括但不限于:氯化钠以及与钠、钾、钙、镁等的其他盐,例如氯化物、碳酸盐、硫酸盐、乙酸盐、葡萄糖酸盐、乳酸盐、苹果酸盐以及肠胃外给予领域惯用的其他助剂等。

[0127] 合适地,盐选自氯化钠(NaCl)、赖氨酸盐酸盐和精氨酸盐酸盐。在一个实施例中,该盐是NaCl。在另一个实施例中,该盐是精氨酸盐酸盐。在另一个实施例中,该盐是赖氨酸盐酸盐。

[0128] 在本文所述的药物配制品中的离子型赋形剂(合适的盐)的浓度通常为在约50mM至约150mM的范围内、更合适地约50mM至约100mM、约60mM至约80mM、或约50mM、约55mM、约60mM、约65mM、约70mM、约75mM、约80mM、约85mM、约90mM、约95mM或约100mM,包括在这些范围内的任何范围或值。

[0129] 在一个实施例中,该离子型赋形剂以约50mM至约125mM的浓度存在。

[0130] 在一个实施例中,该离子型赋形剂以约50mM至约100mM的浓度存在。

[0131] 在一个实施例中,该离子型赋形剂以约75mM至约100mM的浓度存在。

[0132] 在合适的实施例中,该盐是NaCl,浓度为例如约50mM至约100mM,合适地为约70mM。

[0133] 在合适的实施例中,该盐是精氨酸盐酸盐,浓度为例如约50mM至约100mM,合适地为约80mM。

[0134] 缓冲剂

[0135] 本文所述的配制品合适地包含一种或多种缓冲剂。如本文所使用的,“缓冲剂”是指用于维持配制品的pH的赋形剂。用于本文提供的配制品中的示例性缓冲剂包括但不限于:组氨酸、组氨酸盐酸盐(组氨酸HCl)、琥珀酸钠、乙酸钠、乙酸钠/乙酸、磷酸钠、柠檬酸盐、磷酸盐、琥珀酸盐、甘氨酸和乙酸盐。在一个实施例中,用于本文所述的配制品中的缓冲剂是乙酸钠/乙酸。在一个实施例中,该一种或多种缓冲剂是包含组氨酸的缓冲剂。在一个实施例中,该一种或多种缓冲剂选自包含组氨酸琥珀酸盐、组氨酸乙酸盐、组氨酸柠檬酸盐、组氨酸氯化物或组氨酸硫酸盐的缓冲剂。在一个实施例中,该一种或多种缓冲剂是组氨酸、组氨酸盐酸盐或其组合(组氨酸/组氨酸盐酸盐)。在一个实施例中,该一种或多种缓冲剂是L-组氨酸/L-组氨酸盐酸盐一水合物。

[0136] 在本文所述的药物配制品中的缓冲剂(合适地为乙酸钠/乙酸)的浓度范围通常为约10mM至约100mM,更合适地约15mM至约80mM、约25mM至约75mM、约30mM至约60mM、约40mM至约60mM、约40mM至约50mM、或约15mM、约20mM、约25mM、约30mM、约35mM、约40mM、约45mM、约50mM、约55mM、约60mM、约65mM、约70mM或约75mM,包括在这些范围内的任何范围或值。

[0137] 在一个实施例中,这种或这些缓冲剂是L-组氨酸/L-组氨酸盐酸盐一水合物,浓度为例如约10mM至约50mM、合适地为约30mM。

[0138] 缓冲剂的pH优选地在pH 5.5至pH 6.0的范围内。

[0139] 应理解,缓冲剂本身可以是离子型赋形剂。因此,在一个实施例中,该缓冲剂是离子型赋形剂。在这个实施例中,缓冲剂的浓度应当高于50mM,即与本文披露的离子型赋形剂的浓度一致。这个实施例中缓冲剂的优选浓度是如本文任何地方关于离子型赋形剂所讨论的。

[0140] 换句话说,在一个实施例中,该离子型赋形剂也用作配制品中的缓冲剂。在这个实

施例中,另外的缓冲剂可以存在也可以不存在。

[0141] 糖和表面活性剂

[0142] 合适地,本文所述的配制品包含糖,例如但不限于:海藻糖、乳糖、甘露糖醇、蜜二糖、松三糖、棉子糖、甘露三糖、水苏糖和蔗糖。在其他实施例中,可以使用多元醇,例如三元或更高分子量的糖醇,例如甘油(glycerin)、葡聚糖、赤藓糖醇、甘油(glycerol)、阿拉伯糖醇、木糖醇、山梨糖醇和甘露糖醇。还原糖的实例包括但不限于:葡萄糖、麦芽糖、麦芽酮糖、异麦芽酮糖和乳果糖。非还原糖的实例包括但不限于:海藻糖、选自糖醇和其他直链多元醇的多羟基化合物的非还原糖苷。糖醇的实例包括但不限于:单糖苷、通过二糖(例如乳糖、麦芽糖、乳果糖和麦芽酮糖)的还原而获得的化合物。糖苷侧基可以是糖苷的或半乳糖苷的。糖醇的另外的实例包括但不限于:葡萄糖醇、麦芽糖醇、乳糖醇和异麦芽酮糖。在一个实施例中,该糖选自下组,该组由以下组成:海藻糖、乳糖、甘露糖醇、棉子糖和蔗糖。在具体的实施例中,海藻糖在本文所述的配制品中用作糖。在具体的实施例中,蔗糖在本文所述的配制品中用作糖。

[0143] 合适地,本文所述配制品中的糖(例如海藻糖)的量约为1% (w/v) 至约10% (w/v)。除非另有说明,否则组分的百分比(%)在本文中用于表示重量/体积(w/v) %。在示例性实施例中,在本文所述的药物配制品中的糖的量为约1% (w/v) 至约8% (w/v)、或约2% (w/v) 至约6% (w/v)、约2% (w/v) 至约5% (w/v)、约3% (w/v) 至约5% (w/v)、或约1% (W/V)、约2% (W/V)、约3% (W/V)、约4% (W/V)、约5% (W/V)、约6% (W/V)、约7% (W/V)、约8% (w/v)、约9% (w/v) 或约10% (w/v),包括在这些范围内的任何值和范围。

[0144] 本文所述的配制品合适地包含表面活性剂。

[0145] 本文使用的术语“表面活性剂”是指具有两亲结构的有机物质;即它们由具有相反溶解度倾向的基团构成,典型地是油溶性烃链和水溶性离子基团。表面活性剂可以取决于表面活性部分的电荷分为阴离子型、阳离子型和非离子型表面活性剂。表面活性剂通常用作生物材料的不同药物配制品和制剂的润湿剂、乳化剂、增溶剂和分散剂。药学上可接受的表面活性剂像聚山梨醇酯(例如聚山梨醇酯20、40、60或80);泊洛沙姆(例如泊洛沙姆188);曲通;辛基糖苷钠;月桂基-、肉豆蔻基-、亚油基-、或十八烷基-磺基甜菜碱;月桂基-、肉豆蔻基-、亚油基-、或十八烷基-肌氨酸;亚油基-、肉豆蔻基或鲸蜡基-甜菜碱;月桂酰胺丙基-、椰油酰胺丙基-、亚油酰胺丙基-、肉豆蔻酰胺丙基-、棕榈酰胺丙基-、或异硬脂酰胺丙基-甜菜碱(例如月桂酰氨丙基);肉豆蔻酰氨丙基-、棕榈酰氨丙基-、或异硬脂酰氨丙基-二甲胺;甲基椰油酰基牛磺酸钠或甲基油烯基牛磺酸二钠;以及MONAQUA™系列(孟那工业公司(Mona Industries, Inc.) 帕特森市,新泽西州)、聚乙二醇、聚丙二醇以及乙二醇和丙二醇的共聚物(例如普朗尼克(Pluronic), PF68等))可以用于本文所述的药物配制品中。合适地,表面活性剂是聚山梨醇酯,包括例如聚山梨醇酯-20、聚山梨醇酯-40、聚山梨醇酯-60和聚山梨醇酯-80。在一个实施例中,表面活性剂是聚山梨醇酯-80。

[0146] 合适地,本文所述的配制品包含约0.001% 至约0.5% (w/v) 的、更合适地约0.002% 至约0.1% 的表面活性剂(合适地为聚山梨醇酯-80),例如约0.01% 至约0.2%、约0.02% 至约0.01%、约0.02% 至约0.07%、约0.03% 至约0.06%、约0.04% 至约0.06%、或约0.02%、约0.025%、约0.03%、约0.035%、约0.04%、约0.045%、约0.05%、约0.055%、约0.060%、约0.065%、约0.07%、约0.075%、约0.08%、约0.085%、约0.09%、约0.095%

或约0.1%的表面活性剂,包括在这些范围内的任何范围或值。

[0147] 本文所述的配制品合适地包含表面活性剂和糖。本文所述的配制品合适地包含表面活性剂和一种或多种缓冲剂。本文所述的配制品合适地包含糖和一种或多种缓冲剂。本文所述的配制品合适地包含表面活性剂、糖和一种或多种缓冲剂。

[0148] 本文所述的配制品还可以包括一种或多种另外的赋形剂,包括例如一种或多种糖、盐、氨基酸、多元醇、螯合剂、乳化剂和/或防腐剂。

[0149] 药物用途

[0150] 本发明的配制品优选地是药物配制品。合适地,本文所述的药物配制品是“药学上可接受的”,并且因此将满足联邦或州政府的管理机构所要求的或在美国药典、欧洲药典或其他公认的药典中列出的必要批准要求,以便用于动物,更具体地用于人类。

[0151] 本发明提供了如本文任何地方所述的药物配制品,用于作为药物使用。本发明提供了如本文任何地方所述的药物配制品,用于在疾病的治疗中使用。本发明提供了在受试者中治疗疾病的方法,该方法包括向该受试者给予如本文任何地方所述的药物配制品。本文还提供了通过向受试者给予治疗有效量的如本文任何地方所述的药物配制品来治疗该受试者的方法。

[0152] 如本文所使用的,术语“受试者”包括任何人类或非人类动物。术语“非人类动物”包括所有脊椎动物,例如但不限于:哺乳动物和非哺乳动物,例如非人类灵长动物、绵羊、狗、猫、马、牛、鸡、两栖动物、爬行动物等。在一个实施例中,该受试者是人类。

[0153] 该疾病可选自下组,该组由以下组成:糖尿病、心血管疾病、传染病、类风湿性关节炎、血管炎、巨细胞动脉炎、肾小球疾病、狼疮性肾炎、葡萄膜炎、特应性皮炎、肝硬化、银屑病关节炎、慢性阻塞性肺病、重症哮喘、中性粒细胞性哮喘、和髓细胞性白血病。

[0154] 在实施例中,将配制品皮下或通过注射给予至受试者。

[0155] 合适地,配制品是液体配制品或冷冻配制品。

[0156] 本文还提供了制备药物配制品的方法,该方法包括制备如本文所述的药物配制品,并且将该药物配制品合适地装载到注射器中以形成预填充的注射器。

[0157] 合适地,本文所述的药物配制品在无菌水中制备,或以所希望的体积重悬浮在注射用无菌水中。

[0158] 在示例性实施例中,药物配制品具有约0.1mL至约20.0mL、更合适地约0.5mL至约15.0mL、约0.5mL至约12.0mL、约1.0mL至约10.0mL、约1.0mL至约5.0mL、约1.0mL至约2.0mL、或约0.5mL、约0.6mL、约0.7mL、约0.8mL、约0.9mL、约1.0mL、约1.1mL、约1.2mL、约1.3mL、约1.4mL、约1.5mL、约1.6mL、约1.7mL、约1.8mL、约1.9mL、约2.0mL、约2.1mL、约2.2mL、约2.3mL、约2.4mL、约2.5mL、约2.6mL、约2.7mL、约2.8mL、约2.9mL或约3.0mL的体积,包括在这些范围内的任何范围或值。

[0159] 尽管在合适的实施例中,本文所述的药物配制品是液体配制品,即在无菌水或注射用水(WFI)中制备的药物配制品,但该药物配制品也可以是冷冻配制品或先前的冷冻干燥的配制品。

[0160] 本发明还提供了冻干饼,该冻干饼能够仅用无菌水重构成如本文所述的根据本发明的配制品。应理解,冻干饼中的抗体:离子型赋形剂的比率与冻干后的配制品中的相同。在一个实施例中,离子型赋形剂:抗体的摩尔比率在450:1至40:1的范围内。当配制品已被

冻干时,本文提供的用于配制品的浓度是重构后浓度,因此是所谓的“药物产品”中的浓度。举例来说,如果使用半重构策略(其中冻干期间去除的水的体积的一半在重建期间中恢复),则在重构之后,抗体的浓度将是冻干前的两倍,即是所谓的冻干前“药物物质”组合物中的浓度的两倍。因此,应理解,本发明进一步提供了能够被冻干以形成冻干饼的组合物,其中该冻干饼能够仅使用无菌水重构成如本文所述的根据本发明的配制品。合适的重构策略对于本领域技术人员是已知的。

[0161] 在实施例中,令人希望的是通过提供如本文所述的液体药物配制品并在适当的条件下将配制品冷冻来制备冷冻配制品。例如,可通过将液体配制品冷冻至小于0℃、更合适地至约-20℃、约-40℃、约-60℃或合适地至约-80℃来提供冷冻配制品。药物配制品也被合适地制备成液体配制品并储存在约2℃至约8℃、或约2℃、约3℃、约4℃、约5℃、约6℃、约7℃或约8℃下。

[0162] 用于从液体和/或冷冻配制品来制备冷冻干燥的药物配制品的合适方案和方法是本领域已知的。

[0163] 配制品的稳定性

[0164] 在示例性实施例中,本文所述的配制品在室温下或在约2℃至约8℃的温度范围、合适地在约5℃的温度下长期储存是稳定的。如本文所使用的,室温通常在约22℃至约25℃的范围内。合适地,药物配制品在约2℃至约8℃(例如5℃)储存至少六(6)个月后是稳定的。如本文所使用的,对于储存(或“稳定性”),术语“稳定的”用于表示单克隆抗体,合适地IgG4单克隆抗体、药物配制品抵抗聚集、降解、半抗体形成和/或片段化。与参考相比,如通过高效尺寸排阻色谱法(HPSEC)、静态光散射(SLS)、傅立叶变换红外光谱法(FTIR)、圆二色性(CD)、尿素展开技术(ureaunfolding technique)、内源色氨酸荧光、差示扫描量热法和/或ANS结合技术所测量的,单克隆抗体的稳定性可以通过聚集、降解、半抗体形成或片段化的程度来评估。

[0165] 包含单克隆抗体的药物配制品的整体稳定性可以通过不同免疫学测定来评估,包括例如使用分离的抗原分子的ELISA和放射免疫测定。

[0166] 如本文所使用的,短语“低至不可检测的聚集水平”是指如通过高效尺寸排阻色谱法(HPSEC)或静态光散射(SLS)技术测量的,按蛋白质的重量计药物配制品含有不多于约5%、不多于约4%、不多于约3%、不多于约2%、不多于约1%或不多于约0.5%的聚集。合适地,药物配制品展现出≤5.0%聚集,更合适地≤4.0%聚集、≤3.0%聚集、≤2.0%聚集、≤1.0%聚集或0.5%聚集。合适地,液体药物配制品和/或冷冻药物配制品展现出≤5.0%聚集,更合适地≤4.0%聚集、≤3.0%聚集、≤2.0%聚集、≤1.0%聚集或0.5%聚集。

[0167] 如本文所使用的,术语“低至不可检测的片段化水平”是指药物配制品例如在通过HPSEC或还原型毛细管凝胶电泳(rCGE)所确定的单峰内,含有等于或大于约80%、约85%、约90%、约95%、约98%或约99%的总单克隆抗体,代表未降解的单克隆抗体或其非降解片段,并且不包含单克隆抗体总量超过约5%、超过约4%、超过约3%、超过约2%、超过约1%或超过约0.5%的其他单峰。可以在IgG4单克隆抗体中合适地测量片段化。不希望受到理论的束缚,认为减少的自聚集是由于如通过kD值增加所证明的改进的胶体稳定性引起的。在示例性实施例中,依照视觉观察、光散射、比浊法或浊度测定法,本文所述的配制品具有减少的乳光和降低的相分离。

[0168] 参照附图,下文详细地描述了这些实施例的另外的实施例、特征、和优点,连同不同实施例的结构和操作。

[0169] 实例

[0170] 实例1-IgG4配制品

[0171] 具有低或中性pI值的抗体的配制品挑战是当这些抗体在5.5至7.5范围之外的pH下配制时(通常需要增加蛋白质电荷和胶体稳定性),观察到另外的不稳定性。在酸性的pH下观察到片段化速率的增加降低了构象稳定性并且增加了聚集。在碱性的pH下,存在增加氧化、脱酰胺和片段化以及与玻璃容器不相容的可能性。IgG4抗体特别适用于研究这种不稳定性,因为IgG4抗体典型地具有低或中性pI值。

[0172] 以下详述了用于开发本文所述配制品的方法,该配制品已经优化了具有中性pI的单克隆抗体的储存稳定性,并且还克服了上述中性pH物理不稳定性。

[0173] 如本文所述,该配制品具有中性pH和离子型赋形剂(例如盐)的组合。任选地,糖也可以用于配制品中,并且已经示出这在某些情况下提供了进一步的改进。

[0174] 糖(例如蔗糖和海藻糖)可以(与离子型赋形剂组合)进一步增加构象稳定性;并且该离子型赋形剂(例如氯化钠、赖氨酸盐酸盐和精氨酸盐酸盐)增加了单克隆抗体分子的胶体稳定性。此外,配制品的中性pH(约pH 6)也使上述酸性和碱性降解途径最小化。这些配制品为这些单克隆抗体提供了优异的总体储存稳定性。配制品的其他合适组分是具有中性pKa的缓冲剂(例如,NaAC、组氨酸HCl、磷酸钠)。

[0175] 如本文所述,并且在表1中列出,CAM-3001(抗GM-CSFR α 单克隆抗体),两种抗IL-13单克隆抗体和抗C5/C5a单克隆抗体被选择用于此研究,因为它们是具有中性pI值的IgG4。

[0176] 表1:研究的IgG4分子

[0177]	分子	类型	pI
	CAM-3001 (抗GM-CSF-R α)	IgG4	6.7
	抗 IL13 mAb A (CAT-354)	IgG4	7.4
	抗 C5/C5a mAb (MEDI7814)	IgG4-P	6.8-7.3
	抗 IL-13 mAb B	IgG4-P	6.6

[0178] CAT-354是IgG4亚类的人类抗体,其特异性结合人类白细胞介素13(IL-13),阻断与IL-13受体的相互作用。用于CAT-354的轻链和重链的DNA和衍生的氨基酸序列分别以错误!找不到参考源。(Error!Reference source not found.)、和错误!找不到参考源。提供。以错误!找不到参考源。和错误!找不到参考源。、V_H和V_L序列被标记,并且6个CDR加下划线。CAT-354分子是人类单克隆IgG4(λ 轻链)抗体,分子量大约为147,000道尔顿(Da)(包括寡糖)。抗体由两条相同的重链组成,每条重链大约49,500Da,并且两条相同的轻链各大约22,500Da。CAT-354含有岩藻糖基化的双触角复合物和高甘露糖N-连接的碳水化合物,该碳水

化合物在Asn-299附接至每条重链。寡糖部分的平均大小为每重链大约1,650Da。

[0179] CAM-3001是与粒细胞巨噬细胞集落刺激因子受体 α (GM-CSFR α) 结合的抗体。CAM-3001披露于国际专利申请公开WO 2007/110631中,其披露内容通过援引并入本文。CAM-3001的重链CDR (HCDR) 在WO 2007/110631中披露为SEQ ID NO:53-55。CAM-3001的轻链CDR (LCDR) 在WO 2007/110631中披露为SEQ ID NO:58-60。CAM-3001的重链可变区 (VH) 在WO 2007/110631中披露为SEQ ID NO:52。CAM-3001的轻链可变区 (VL) 在WO 2007/110631中披露为SEQ ID NO:218。

[0180] 如图2示出的,在浓度为100mM的盐存在下,当分子在pH 5时聚集速率增加,但当分子处于pH 6和pH 7时聚集速率降低。

[0181] 通过测试构象稳定性和胶体稳定性的组合来检查单克隆抗体的溶液性质与扩散相互作用参数 (k_D) 之间的相关性,以获得最稳定的配制品。测量 k_D 作为胶体稳定性的指示,同时检查差示扫描量热法 (DSC) 作为构象稳定性的测量。图3示出了所研究的单克隆抗体在不同pH下的 k_D 。图3B示出了在添加浓度为100mM的盐后研究的单克隆抗体在不同pH下的 k_D 。在低离子强度下,随着pH的增加, k_D 通常变得更负。添加盐使得所研究的所有分子的 k_D 负得更少。

[0182] 在图4中描绘的结果中,以100mM的浓度向配制品中添加盐并检查胶体稳定性。通常注意到在pH 5下胶体稳定性降低,但在pH 6和pH 7下胶体稳定性增加。




















[0183] 在图5中描绘的结果中,对于含有或不含有100mM盐的配制品,在40°C下获得了的聚集速率数据。与没有盐远离pI的配制品相比,具有接近pI (pH 6或7) 的盐的配制品显示出减少的聚集。

[0184] 根据图6和7中描绘的聚集速率结果,可以看出带电荷的氨基酸也可以作为接近分子pI的离子型稳定剂,并且在某些情况下比NaCl更具稳定化作用。

[0185] 检查向基于组氨酸的缓冲剂中添加盐以确定对IgG4稳定性的影响。检查以下缓冲系统:对照缓冲剂 (25mM组氨酸、7%蔗糖,pH 6);测试缓冲剂 (25mM组氨酸,7%蔗糖;100mM NaCl,pH 6) 和盐对外观的影响总结在下表2中。

[0186] 表2:比较和对照以及测试缓冲系统 (盐的影响)

[0187]

	CAM3001	CAT-354	MEDI7814	抗 IL13 NG	
糖 pH 6					 LLPS
糖 pH 7					 乳光
糖,盐, pH 6					
糖,盐, pH 7					 澄清

[0188] LLPS:液-液相分离

[0189] 如上所述,盐的添加降低了聚集速率和单体损失速率,并改进了配制品的外观。

[0190] 总之,包含盐和含或不含糖的配制品在一些情况下具有更低的乳光、减轻的相分离,并且与仅包含蔗糖的配制品相比提供了良好或更好的稳定性。

[0191] 冻融研究显示,在三次冻融循环后,没有看到产品质量,例如亚可见颗粒的显著变

化。总之,即使当在接近其pI的pH下配制时,添加盐和糖两者也改进了IgG4分子的稳定性。

[0192] 实例2-IgG1配制品

[0193] MEDI8897是针对RSV-F蛋白的人类IgG1 κ -YTE单克隆抗体。引入Fc结构域的CH2区中的三个氨基酸取代(M252Y/S254T/T256E,称为YTE)以增加MEDI8897的血清半衰期。图8和图9中提供了MEDI8897的序列信息。通过cIEF测量MEDI8897 pI为6.4-6.7,主峰为6.4。pI与配制品缓冲剂范围(5.5-6.5)重叠,表明制造、配制和储存稳定性具有潜在问题。

[0194] 通过差示扫描量热法测量MEDI8897的热稳定性。发现Tm1为61℃,而Tm2为82℃。Tm1大于50℃表明该分子具有可接受的胶体稳定性。

[0195] 稳定性总结

[0196] 在标准缓冲剂(25mM组氨酸、7%蔗糖、pH 6.0)中接受MEDI8897后,在2℃至8℃下观察到相分离。上清液层具有75mg/ml的蛋白质浓度,而底层为125mg/ml。在25℃下平衡时,两个不同的相消失,并且仅观察到一个单相。在2℃-8℃下的相分离被认为是由于MEDI8897的pI接近6.0的配制品pH引起的。开始侦查研究以找到用于MEDI8897稳定性评估的更适当的配制品缓冲剂,靶向MEDI8897(在100mg/ml处)保持溶解度并防止相分离的条件。

[0197] 在pH低于5.9或高于6.7,在标准缓冲剂(25mM组氨酸,7%蔗糖)中配制减轻了相分离。在pH 5.0和6.7之间向标准缓冲剂中添加75mM NaCl也减轻了相分离。最后,pH值偏离pI的乙酸盐和磷酸盐缓冲剂也减轻了相分离。基于这些筛选研究以及在配制空间内具有pI的mAb的先前知识,选择替代的缓冲剂(25mM His/HisHCl、75mM NaCl、4%蔗糖、0.02%PS80、pH 6.0)用于评估。

[0198] kD研究

[0199] 对于第一kD筛选,在25℃下在从2-10mg/ml的25mM组氨酸pH 5.5缓冲碱(base buffer)中评估所有样品。选择该缓冲剂代替pH 6.0,因为MEDI8897在pH 5.5下更易溶,有利于对不溶性颗粒敏感的DLS测量。在10、25、50、75和100mM浓度下评估包括精氨酸-HCl、赖氨酸-HCl和NaCl的离子型赋形剂。另外,仅在100mM浓度下评估脯氨酸、丙氨酸、Na₂SO₄和组氨酸。最后,评估2%、4%和6%蔗糖以确定蔗糖是否影响蛋白质-蛋白质相互作用。将所有条件与缓冲剂对照(25mM组氨酸,pH 5.5)进行比较。

[0200] 对照样品显示出不同的蛋白质-蛋白质相互作用,从2-10mg/ml,流体动力学半径从6.2增加到7.8nm。如通过在2-10mg/ml浓度范围内不增加流体动力学尺寸所证明的,精氨酸-HCl、赖氨酸-HCl和NaCl显示从25mM浓度开始的蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)的降低。在25和100mM之间没有看到另外的效果。在100mM浓度下,脯氨酸和丙氨酸显示与对照相似的PPI,而Na₂SO₄和组氨酸减轻PPI。最后,蔗糖浓度显示对PPI没有影响。该数据说明带电荷的赋形剂(Arg-HCl、Lys-HCl、组氨酸和Na₂SO₄)减轻蛋白质-蛋白质相互作用,而中性赋形剂(蔗糖、脯氨酸、丙氨酸)不减轻PPI。因此,在pH 5.5下添加离子型赋形剂降低了在100mg/ml下的相分离。

[0201] 40℃稳定性评估

[0202] 基于kD筛选,选择用于40℃稳定性评估的若干个条件。表3总结了在40℃下观察到的配制品条件和1个月的降解速率。

[0203] 表3-40℃稳定性速率,配制品筛选1-赋形剂筛选

[0204]

编号	赋形剂	浓度(mM)	%Mon/mo	%Agg/mo	%Frag/mo
----	-----	--------	---------	---------	----------

1	NaCl	25	-5.9	4.2	1.8
2	NaCl	75	-6.1	4.1	1.9
3	NaCl	95	-5.4	3.5	1.9
4	NaCl	120	-5.4	3.5	1.9
5	Arg-HCl	25	-5.4	3.5	1.8
6	Arg-HCl	75	-4.8	2.8	2.0
7	Arg-HCl	95	-4.5	2.6	1.9
8	Arg-HCl	120	-4.8	2.8	2.0
9	Lys-HCl	25	-5.7	3.9	1.9
10	Lys-HCl	75	-5.0	2.7	2.3
11	Lys-HCl	95	-5.1	3.1	2.0
12	Lys-HCl	120	-4.9	2.9	2.0

[0205] 用于该研究的缓冲碱是25mM组氨酸 (pH 6.0)

[0206] 该研究说明精氨酸和赖氨酸比NaCl更具稳定化作用。此外,75mM及以上似乎稳定(针对聚集)。在该研究的基础上,精氨酸被选为最具稳定化作用的Lyo友好赋形剂,并用于下一组研究。

[0207] 最后的Lyo循环/代表性材料上的药物产品稳定性

[0208] 评估药物产品的稳定性。在30mM L-组氨酸/L-组氨酸盐酸盐一水合物、80mM L-精氨酸盐酸盐、120mM蔗糖、0.04% (w/v) 聚山梨醇酯80 (pH 6.0) 中,针对100mg/ml的重构后配制品收集三个月的数据。结果示出于图10中。2°C-8°C储存在3个月期间几乎没有变化,证实了配制品和Lyo循环在临床应用上的适用性。因此,这些数据证明该配制品提供了适当的稳定性和溶解性,并且适合于初次人类临床使用。

[0209] 表4- 药物产品稳定性3个月数据总结

温度	HIAC (≥ 10 μm)	HIAC (≥ 25 μm)	生物测定	重构时间	VI	KF
2°C-8°C	216	108	97%	2 min	< STD1	1.3%
25°C	522	90	97%	3 min	< STD1	1.4%
40°C	126	0	90%	3 min	< STD2	1.7%

[0211] 实例3-IgG4配制品

[0212] 在pH 6下测试抗体MEDI578的配制品。MEDI578是具有6.3至6.8的pI的IgG4单克隆抗体。

[0213] 结果示出于图11中。

[0214] 实例4-IgG4配制品

[0215] 所有测试的配制品含有100mg/ml MEDI578、20mM组氨酸,pH 6.5而不含聚山梨醇酯。MEDI578是具有6.3至6.8的pI的IgG4单克隆抗体。

[0216] 表5-配制品信息

[0217]

配制品 #	赋形剂	Tg'	Osmo (mOsm/kg)	乳光	颗粒
1	9% 蔗糖	-25.8	387	4	2
2	9% 海藻糖	-23.6	341	4	2
3	275mM 甘露糖醇	-28.2	331	5	2
4	125mM Lys/35mM NaCl	-30.1	361	3	1
5	20mM Lys/8% 蔗糖	-25.7	392	3	1
6	50mM Lys/6% 蔗糖	-26.4	379	3	1
7	80mM Lys/4% 蔗糖	-27.3	326	3	1
8	80mM NaCl/4% 蔗糖	-26	365	3	1
9	80mM Arg/4% 蔗糖	-24.4	363	3	1
10	150mM 甘露糖醇/4% 蔗糖	-27.8	379	5	2

[0218] 图12示出了通过尺寸排阻色谱法的纯度。

[0219] 图13示出了在热应激条件下含有离子型赋形剂的配制品中亚可见颗粒的减少。胶体稳定性得到改进。

[0220] 本申请中所引述的所有文件、专利、期刊论文和其他材料通过援引并入本文。

[0221] 尽管已经结合本发明的若干实施例,参照附图完整地描述本发明,但应理解,不同变化和修改对于本领域的技术人员可以是显而易见的。应理解,此类变化和修改都包括在如所附权利要求书所界定的本发明的范围内,除非它们背离该范围。

[0001]	序列表
[0002]	<110> 免疫医疗有限公司
[0003]	<120> 单克隆抗体的配制品
[0004]	<130> FSISO-100-W0-PCT
[0005]	<150> US 62/465,269
[0006]	<151> 2017-03-01
[0007]	<160> 10
[0008]	<170> PatentIn版本3.5
[0009]	<210> 1
[0010]	<211> 1074
[0011]	<212> DNA
[0012]	<213> 人工序列
[0013]	<220>
[0014]	<223> CAT-354轻链DNA序列的编码链
[0015]	<400> 1
[0016]	tcagatcgcc tggagacgcc atccacgctg ttttgacctc catagaagac accgggaccg 60
[0017]	atccagcctc cgcgccggg aacggtgcat tggaacgcgg attccccgtg ccaagagtga 120
[0018]	ctcaccgtcc ttgacacgaa gctattcgaa ctacagttac tgagcacaca ggacctcacc 180
[0019]	atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggtgt ccaactcctcc 240
[0020]	tatgtgctga ctacgccacc ctcggtgtca gtggccccag gaaagacggc caggattacc 300
[0021]	tgtgggggaa acatcattgg aagtaactt gtacactggt accagcagaa gccaggccag 360
[0022]	gcccctgtgc tggatcatcta tgatgatggc gaccggccct cagggatccc tgagcgattc 420
[0023]	tctggtcca actctgggaa cacggccacc ctgaccatca gcagggtcga ggccggggat 480
[0024]	gaggccgact attattgtca ggtgtgggat actggtagtgt atcccgtggt attcggcgga 540
[0025]	gggaccaagc tgaccgtcct aggtcagccc aaggctgccc cctcggtcac tctgttcccg 600
[0026]	ccctcctctg aggagcttca agccaacaag gccacactgg tgtgtctcat aagtgaattc 660
[0027]	taccggggag ccgtgacagt ggcctggaag gcagatagca gcccgtcaa ggcgggagtg 720
[0028]	gagaccacca caccctcaa acaaagcaac aacaagtacg cggccagcag ctatctgagc 780
[0029]	ctgacgcctg agcagtggaa gtcccacaga agctacagct gccaggtcac gcatgaaggg 840
[0030]	agcaccgtgg agaagacagt ggccttaca gaatgttcat aggaattcat tgatcataat 900
[0031]	cagccatacc acattttagt aggttttact tgctttaaaa aacctccac acctccccct 960
[0032]	gaacctgaaa cataaaatga atgcaattgt tgttgtaac ttgtttattg cagcttataa 1020
[0033]	tggttacaaa taaagcaata gcatcacaaa tttcacaaat aaagcatttt tttc 1074
[0034]	<210> 2
[0035]	<211> 1074
[0036]	<212> DNA
[0037]	<213> 人工序列
[0038]	<220>
[0039]	<223> CAT-354轻链DNA序列的互补链
[0040]	<400> 2
[0041]	agtctagcgg acctctgcgg taggtgcgac aaaactggag gtatcttctg tggccctggc 60

[0042]	taggtcggag gcgccggccc ttgccacgta accttgccg taaggggcac ggttctcact	120
[0043]	gagtggcagg aactgtgctt cgataagctt gatgtcaatg actcgtgtgt cctggagtgg	180
[0044]	tacctacct cgacatagta ggagaagaac catcgttgtc gatgtccaca ggtgaggagg	240
[0045]	atacacgact gagtcggtgg gagccacagt caccggggtc ctttctgccg gtcctaattg	300
[0046]	acacccctt tgtagtaacc ttcatgtgaa catgtgacca tggctgtctt cggctccggtc	360
[0047]	cggggacacg accagtagat actactaccg ctggccggga gtccctaggg actcgctaag	420
[0048]	agaccgaggt tgagaccctt gtgccggtgg gactggtagt cgtcccagct ccggccccta	480
[0049]	ctccggtga taataacagt ccacacccta tgaccatcac tagggcacca taagccgcct	540
[0050]	ccctggttcg actggcagga tccagtcggg ttccgacggg ggagccagtg agacaagggc	600
[0051]	gggaggagac tcctcgaagt tcggtgttc cgggtgtgacc acacagagta ttactgaag	660
[0052]	atggcccctc ggcactgtca ccggacctc cgtctatcgt cggggcagtt ccgccctcac	720
[0053]	ctctggtggt gtgggaggtt tgtttcgttg ttgttcatgc gccggtcgtc gatagactcg	780
[0054]	gactgcggac tcgtcacctt cagggtgtct tcgatgtcga cggctccagt cgtacttccc	840
[0055]	tcgtggcacc tcttctgtca ccggggatgt cttacaagta tccttaagta actagtatta	900
[0056]	gtcggtatgg tgtaaacatc tccaaaatga acgaaattt ttggagggtg tggaggggga	960
[0057]	cttggacttt gtattttact tacgttaaca acaacaattg aacaaataac gtggaatatt	1020
[0058]	accaatgttt atttcgttat cgtagtgttt aaagtgttta tttcgtaaaa aaag	1074
[0059]	<210>	3
[0060]	<211>	233
[0061]	<212>	PRT
[0062]	<213>	人工序列
[0063]	<220>	
[0064]	<223>	CAT-354轻链
[0065]	<400>	3
[0066]	Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly	
[0067]	1 5 10 15	
[0068]	Val His Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala	
[0069]	20 25 30	
[0070]	Pro Gly Lys Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Ile Ile Gly Ser	
[0071]	35 40 45	
[0072]	Lys Leu Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu	
[0073]	50 55 60	
[0074]	Val Ile Tyr Asp Asp Gly Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe	
[0075]	65 70 75 80	
[0076]	Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val	
[0077]	85 90 95	
[0078]	Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Thr Gly	
[0079]	100 105 110	
[0080]	Ser Asp Pro Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly	
[0081]	115 120 125	
[0082]	Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu	
[0083]	130 135 140	

[0084]	Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe	
[0085]	145	150 155 160
[0086]	Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val	
[0087]	165	170 175
[0088]	Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys	
[0089]	180	185 190
[0090]	Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser	
[0091]	195	200 205
[0092]	His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu	
[0093]	210	215 220
[0094]	Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser	
[0095]	225	230
[0096]	<210>	4
[0097]	<211>	1937
[0098]	<212>	DNA
[0099]	<213>	人工序列
[0100]	<220>	
[0101]	<223>	CAT-354重链DNA序列的编码序列
[0102]	<400>	4
[0103]	tcagatcgcc tggagacgcc atccacgctg ttttgacctc catagaagac accgggaccg	60
[0104]	atccagcctc cgcggccggg aacggtgcat tggaacgcgg attccccgtg ccaagagtga	120
[0105]	ctcaccgtcc ttgacacgaa gcttactgag cacacaggac ctcaccatgg gatggagctg	180
[0106]	tatcatcctc ttcttggtag caacagctac aggtgtccac tcccaagtgc agctgggtga	240
[0107]	gtctggggct gaggtgaaga agcctggggc ctcaagtgaag gtctcctgca aggcttctgg	300
[0108]	ttacaccttt acaaattatg gtctcagctg ggtgcgacag gcccttggaag aagggtctga	360
[0109]	gtggatggga tggatcagcg ctaataatgg cgacacaaat tatggacagg aattccaggg	420
[0110]	cagagtcacc atgaccacag atacatccac gagcacagcc tacatggagt tgaggagcct	480
[0111]	gagatctgac gacacggccg tttattactg tgcgagagac tccagcagca gctgggctcg	540
[0112]	ctggtttttc gatctctggg gccgggggac actggtcacc gtctcgagtg ctccacca	600
[0113]	gggcccatec gtcttcccc tggcgccctg ctccaggagc acctccgaga gcacagccgc	660
[0114]	cctgggctgc ctgggtcaagg actacttccc cgaaccggtg acggtgtcgt ggaactcagg	720
[0115]	cgccctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta cagtcctcag gactctactc	780
[0116]	cctcagcagc gtgggtgaccg tgccctccag cagcttgggc acgaagacct acacctgcaa	840
[0117]	cgtagatcac aagcccagca acaccaaggt cgacaagaga gttgagtcca aatatgttcc	900
[0118]	cccatgcccc tcatgcccag cacctgagtt cctgggggga ccatcagtct tcctgttccc	960
[0119]	cccaaaaccc aaggacactc tcatgatctc ccggaccctt gaggtcacgt gcgtgggtgt	1020
[0120]	ggacgtgagc caggaagacc ccgaggtcca gttcaactgg tacgtggatg gcgtggaggt	1080
[0121]	gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagttcaac agcacgtacc gtgtgggtcag	1140
[0122]	cgctctcacc gtctctgacc aggactggct gaacggcaag gagtacaagt gcaaggtctc	1200
[0123]	caacaaaggc ctcccgctct ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag ggcagccccg	1260
[0124]	agagccacag gtgtacaccc tgccccatc ccaggaggag atgaccaaga accaggtcag	1320
[0125]	cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa	1380

[0126]	tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg ctggactccg acggctcctt	1440
[0127]	cttcctctac agcaggctaa ccgtggacaa gagcagggtg caggagggga atgtcttctc	1500
[0128]	atgtccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccaactacaca cagaagagcc tctccctgtc	1560
[0129]	tctgggtaaa tgagtgccag ggccggcaag cccccgtcc cggggtctc ggggtcgcgc	1620
[0130]	gaggatgctt ggcacgtacc ccgtctacat acttcccagg caccagcat ggaaataaag	1680
[0131]	caccaccac tgccctggct cgaattcatt gatcataatc agccatacca catttgtaga	1740
[0132]	ggttttactt gctttaaaaa acctcccaca cttcccctg aacctgaaac ataaaaatgaa	1800
[0133]	tgcaattgtt gttgttaact tgtttattgc agcttataat ggttacaaat aaagcaatag	1860
[0134]	catcacaat ttcacaaata aagcattttt ttcactgcat tctagtgtg gtttgtccaa	1920
[0135]	actcatcaat gtatctt	1937
[0136]	<210> 5	
[0137]	<211> 1937	
[0138]	<212> DNA	
[0139]	<213> 人工序列	
[0140]	<220>	
[0141]	<223> CAT-354重链DNA序列的互补链	
[0142]	<400> 5	
[0143]	agtctagcgg acctctgcgg taggtgcgac aaaactggag gtatcttctg tggccctggc	60
[0144]	taggtcggag gcgccggccc ttgccacgta accttgcgcc taaggggcac ggttctcact	120
[0145]	gagtggcagg aactgtgctt cgaatgactc gtgtgtcctg gagtgggtacc ctacctgac	180
[0146]	atagtaggag aagaaccatc gttgtcgatg tccacagtg agggttcacg tcgaccacgt	240
[0147]	cagaccccgga ctccacttct tcggaccccg gagtcacttc cagaggacgt tccgaagacc	300
[0148]	aatgtggaaa tgtttaatac cagagtcgac ccacgctgtc cggggacctg ttcccgaaact	360
[0149]	cacctaccct acctagtgcg gattattacc gctgtgttta atacctgtcc ttaaggtccc	420
[0150]	gtctcagtgg tactggtgtc tatgtaggtg ctctgtcgg atgtacctca actcctcgga	480
[0151]	ctctagactg ctgtgccggc aaataatgac acgctctctg aggtcgtcgt cgacccgagc	540
[0152]	gacaaaaag ctagagaccc cggccccctg tgaccagtgg cagagctcac gaaggtggtt	600
[0153]	ccgggtagg cagaaggggg accgcgggac gaggtcctcg tggaggctct cgtgtcggcg	660
[0154]	ggaccgcagc gaccagttcc tgatgaagg gcttggccac tgccacagca ccttgagtcc	720
[0155]	gcgggactgg tcgccgcacg tgtggaagg cgcacaggat gtcaggagtc ctgagatgag	780
[0156]	ggagtcgtcg caccactggc acgggaggtc gtcgaaccg tgcttctgga tgtggacgtt	840
[0157]	gcatctagtg ttcgggtcgt tgtggttcca gctgttctct caactcaggt ttataccagg	900
[0158]	gggtacgggt agtacgggtc gtggactcaa ggacccccct ggtagtcaga aggacaagg	960
[0159]	gggttttggg ttctgtgag agtactagag ggctgggga ctccagtga cgcaccacca	1020
[0160]	cctgcactcg gtccttctgg ggctccaggt caagttgacc atgcacctac cgcacctcca	1080
[0161]	cgtattacgg ttctgtttcg gcgccctcct cgtcaagttg tcgtgcatgg cacaccagtc	1140
[0162]	gcaggagtgg caggacgtgg tcctgaccga cttgccgttc ctcatgttca cgttccagag	1200
[0163]	gttgtttccg gagggcagga ggtagctctt ttggtagagg ttctcggttc ccgtcggggc	1260
[0164]	tctcggtgtc cacatgtggg acgggggtag ggtcctcctc tactggttct tgggtccagtc	1320
[0165]	ggactggacg gaccagtttc cgaagatggg gtcgctgtag cggcacctca ccctctcgtt	1380
[0166]	acccgtcggc ctcttgttga tgttctggtg cggagggcac gacctgaggc tgccgaggaa	1440
[0167]	gaaggagatg tcgtccgatt ggcacctgtt ctctgccacc gtcttccct tacagaagag	1500

[0168]	tacgaggcac tacgtactcc gagacgtgtt ggtgatgtgt gtcttctcgg agaggacag	1560
[0169]	agaccatttt actcacggtc ccggccgttc gggggcgagg ggcccagagag cccagcgcg	1620
[0170]	ctcctacgaa ccgtgcatgg ggcagatgta tgaagggtcc gtgggtcgta cctttatttc	1680
[0171]	gtgggtgggtg acgggaccga gcttaagtaa ctagtattag tcggtatggt gtaaacaatct	1740
[0172]	ccaaaatgaa cgaaattttt tggagggtgt ggagggggac ttggactttg tattttactt	1800
[0173]	acgttaacaa caacaattga acaaataacg tcgaatatta ccaatgttta tttcgttatc	1860
[0174]	gtagtgttta aagtgtttat ttcgtaaaaa aagtgcacga agatcaacac caaacaggtt	1920
[0175]	tgagtagtta catagaa	1937
[0176]	<210> 6	
[0177]	<211> 468	
[0178]	<212> PRT	
[0179]	<213> 人工序列	
[0180]	<220>	
[0181]	<223> CAT-354重链	
[0182]	<400> 6	
[0183]	Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly	
[0184]	1 5 10 15	
[0185]	Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys	
[0186]	20 25 30	
[0187]	Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe	
[0188]	35 40 45	
[0189]	Thr Asn Tyr Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu	
[0190]	50 55 60	
[0191]	Glu Trp Met Gly Trp Ile Ser Ala Asn Asn Gly Asp Thr Asn Tyr Gly	
[0192]	65 70 75 80	
[0193]	Gln Glu Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser	
[0194]	85 90 95	
[0195]	Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val	
[0196]	100 105 110	
[0197]	Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Ser Ser Ser Trp Ala Arg Trp Phe Phe	
[0198]	115 120 125	
[0199]	Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr	
[0200]	130 135 140	
[0201]	Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser	
[0202]	145 150 155 160	
[0203]	Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu	
[0204]	165 170 175	
[0205]	Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His	
[0206]	180 185 190	
[0207]	Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser	
[0208]	195 200 205	
[0209]	Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys	

[0210]	210	215	220
[0211]	Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu		
[0212]	225	230	235 240
[0213]	Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu		
[0214]	245	250	255
[0215]	Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu		
[0216]	260	265	270
[0217]	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
[0218]	275	280	285
[0219]	Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
[0220]	290	295	300
[0221]	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr		
[0222]	305	310	315 320
[0223]	Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn		
[0224]	325	330	335
[0225]	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser		
[0226]	340	345	350
[0227]	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
[0228]	355	360	365
[0229]	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val		
[0230]	370	375	380
[0231]	Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
[0232]	385	390	395 400
[0233]	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
[0234]	405	410	415
[0235]	Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr		
[0236]	420	425	430
[0237]	Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
[0238]	435	440	445
[0239]	Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		
[0240]	450	455	460
[0241]	Ser Leu Gly Lys		
[0242]	465		
[0243]	<210> 7		
[0244]	<211> 456		
[0245]	<212> PRT		
[0246]	<213> 人工序列		
[0247]	<220>		
[0248]	<223> MEDI8897重链		
[0249]	<400> 7		
[0250]	Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser		
[0251]	1	5	10 15

[0252]	Ser Val Met Val Ser Cys Gln Ala Ser Gly Gly Leu Leu Glu Asp Tyr
[0253]	20 25 30
[0254]	Ile Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met
[0255]	35 40 45
[0256]	Gly Gly Ile Ile Pro Val Leu Gly Thr Val His Tyr Gly Pro Lys Phe
[0257]	50 55 60
[0258]	Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
[0259]	65 70 75 80
[0260]	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
[0261]	85 90 95
[0262]	Ala Thr Glu Thr Ala Leu Val Val Ser Glu Thr Tyr Leu Pro His Tyr
[0263]	100 105 110
[0264]	Phe Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
[0265]	115 120 125
[0266]	Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
[0267]	130 135 140
[0268]	Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
[0269]	145 150 155 160
[0270]	Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
[0271]	165 170 175
[0272]	His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
[0273]	180 185 190
[0274]	Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
[0275]	195 200 205
[0276]	Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
[0277]	210 215 220
[0278]	Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
[0279]	225 230 235 240
[0280]	Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
[0281]	245 250 255
[0282]	Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val
[0283]	260 265 270
[0284]	Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
[0285]	275 280 285
[0286]	Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
[0287]	290 295 300
[0288]	Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
[0289]	305 310 315 320
[0290]	Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
[0291]	325 330 335
[0292]	Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
[0293]	340 345 350

[0294]	Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr	
[0295]	355	360 365
[0296]	Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser	
[0297]	370	375 380
[0298]	Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr	
[0299]	385	390 395 400
[0300]	Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr	
[0301]	405	410 415
[0302]	Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe	
[0303]	420	425 430
[0304]	Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys	
[0305]	435	440 445
[0306]	Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys	
[0307]	450	455
[0308]	<210> 8	
[0309]	<211> 1368	
[0310]	<212> DNA	
[0311]	<213> 人工序列	
[0312]	<220>	
[0313]	<223> MEDI8897重链	
[0314]	<400> 8	
[0315]	caagtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ccggctcctc cgtgatggtg	60
[0316]	tcctgccagg cttctggcgg cctgctggaa gattacatca tcaactgggt gcgacaggcc	120
[0317]	ccaggccagg gacctgaatg gatgggcgga atcatccccg tgctgggcac cgtgcactac	180
[0318]	ggcctaagt tccagggcag agtgaccatc accgccgacg agtctaccga caccgcctac	240
[0319]	atggaactgt cctccctgcg gacgcaggac accgccatgt actactgcgc caccgagaca	300
[0320]	gccctgggtgg tgtccgagac atacctgccc cactacttcg acaactgggg ccagggaacc	360
[0321]	ctcgtgaccg tctcctcagc ctccaccaag ggccccatcg tcttccccct ggcaccctcc	420
[0322]	tccaagtcca cctccggcgg caccgccgct ctgggtgcc tgggtgaagga ctacttccct	480
[0323]	gagcctgtga ccgtgtcctg gaactctggc gccctgacct ctggcgtgca cacccttccct	540
[0324]	gccgtgctgc agtcctccgg cctgtactcc ctgtcctccg tggtgacagt gccttccctcc	600
[0325]	tccttgggca cccagacctc catctgcaac gtgaaccaca agcccagcaa caccaagggtg	660
[0326]	gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca	720
[0327]	cctgaactcc tggggggacc gtcagtcttt ctgttccctc ctaagcctaa ggacaccctg	780
[0328]	tacatcaccg gggagcctga agtgacctgc gtgggtggtg atgtgtccca cgaggaccct	840
[0329]	gaggtgaagt tcaattggta cgtggacggc gtggaggtgc acaacgcaa gaccaagcct	900
[0330]	cgggaggagc agtacaactc cacctaccgg gtgggtgtctg tgctgaccgt gctgcaccag	960
[0331]	gactggctga acggcaaaga atacaagtgc aaagtctcca acaaggccct gcctgcccc	1020
[0332]	atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg	1080
[0333]	cctccctccc gcgaggagat gaccaagaac caggtgtccc tgacctgtct ggtgaagggc	1140
[0334]	ttctaccctt ccgatatcgc cgtggagtgg gagtccaacg gccagcctga gaacaactac	1200
[0335]	aagaccaccc ctctgtgtct ggactccgac ggctccttct tcctgtactc caagctgacc	1260

[0336]	gtggacaagt cccggtggca gcagggcaac gtgttctcct gctccgtgat gcacgaggct	1320
[0337]	ctgcacaacc actacacca gaaaagcctc tccctgtctc cgggtaaa	1368
[0338]	<210> 9	
[0339]	<211> 214	
[0340]	<212> PRT	
[0341]	<213> 人工序列	
[0342]	<220>	
[0343]	<223> MEDI8897轻链	
[0344]	<400> 9	
[0345]	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ala Val Gly	
[0346]	1 5 10 15	
[0347]	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Val Asn Tyr	
[0348]	20 25 30	
[0349]	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile	
[0350]	35 40 45	
[0351]	Tyr Val Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly	
[0352]	50 55 60	
[0353]	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro	
[0354]	65 70 75 80	
[0355]	Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu	
[0356]	85 90 95	
[0357]	Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala	
[0358]	100 105 110	
[0359]	Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly	
[0360]	115 120 125	
[0361]	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala	
[0362]	130 135 140	
[0363]	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln	
[0364]	145 150 155 160	
[0365]	Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser	
[0366]	165 170 175	
[0367]	Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr	
[0368]	180 185 190	
[0369]	Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser	
[0370]	195 200 205	
[0371]	Phe Asn Arg Gly Glu Cys	
[0372]	210	
[0373]	<210> 10	
[0374]	<211> 642	
[0375]	<212> DNA	
[0376]	<213> 人工序列	
[0377]	<220>	

[0378] <223> MEDI8897轻链
[0379] <400> 10
[0380] gacatccaga tgaccagtc cccctcctct ctgtctgctg ccgtgggcga cagagtgacc 60
[0381] atcacctgtc aggccctcca ggacatcgtg aactacctga actggtatca gcagaagccc 120
[0382] ggcaaggccc ccaagctgct gatctacgtg gcctccaacc tggaaaccgg cgtgccctcc 180
[0383] agattctccg gctctggctc tggcaccgac ttcagcctga ccatctccag cctgcagcct 240
[0384] gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcag tacgacaacc tgcccctgac ctttggcgga 300
[0385] ggcaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttccccccc 360
[0386] agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420
[0387] ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg caacagccag 480
[0388] gagagcgtca ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540
[0389] ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 600
[0390] ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac aggggcgagt gc 642

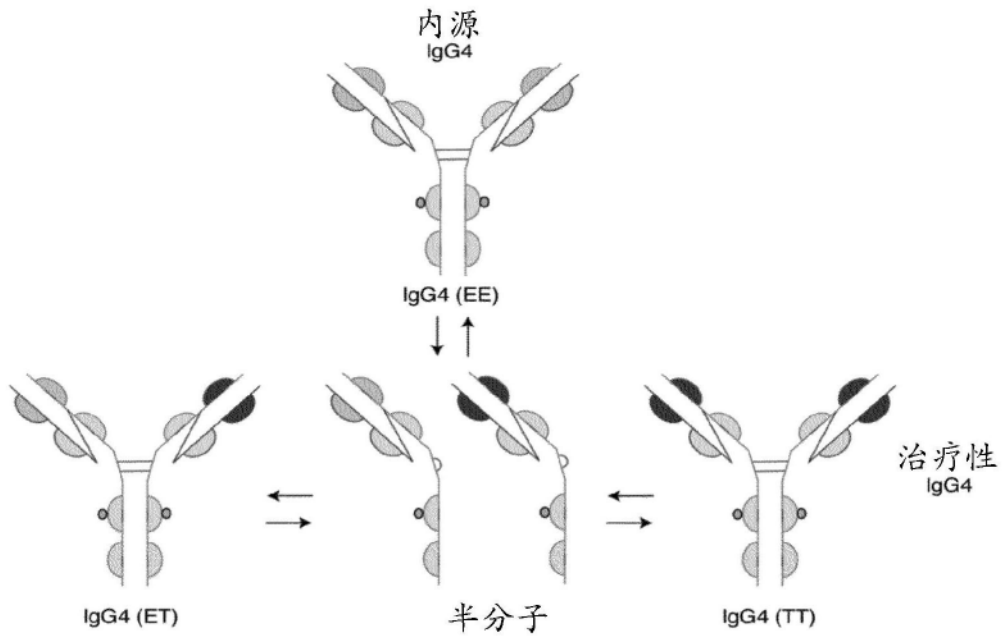


图1

CAT-354轻链的DNA和氨基酸序列

> 转录起始

```

|      10      20      30      40      50      60
TCAGATCGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACACCGGGACCG
AGTCTAGCGGACCTCTGCGGTAGGTGCGACAAACTGGAGGTATCTTCTGTGGCCCTGGC
_____5' UTR_____>

      70      80      90      100     110     120
ATCCAGCCTCCGCGGCCGGGAACGGTGCATTGGAACGCGGATTCCCCGTGCCAAGAGTGA
TAGGTGCGAGGCGCCGGCCCTTGCCACGTAACCTTGCGCCTAAGGGGCACGGTTCTCACT
_____5' UTR_____>

      130     140     150     160           180
CTCACCGTCCTTGACACGAAGCTATTGCAACTACAGTTACTGAGCACACAGGACCTCACC
GAGTGGCAGGAAGTGTGCTTCGATAAGCTTGATGTCAATGACTCGTGTGCTCTGGAGTGG
_____5' UTR_____>

      190     200     210     220     230     240
ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCTCC
TACCTACCTCGACATAGTAGGAGAAGAACCATCGTTGTCGATGTCCACAGGTGAGGAGG
M G W S C I I L F L V A T A T G V H S>
_____前导序列_____>S>
_____>

      250     260     270     280     290     300
TATGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGAAAGACGGCCAGGATTACC
ATACACGACTGAGTCGGTGGGAGCCACAGTCACCGGGGTCCTTCTGCCGGTCTTAATGG
Y V L T Q P P S V S V A P G K T A R I T>
_____CAT-354 VL_____>

      310     320     330     340     350     360
TGTGGGGGAAACATCATTGGAAGTAACTTGTACACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAG
ACACCCCCCTTTGTAGTAACCTTCATTTGAACATGTGACCATGGTCGTCTTCGGTCCGGTC
C G G N I I G S K L V H W Y Q Q K P G Q>
_____CAT-354 VL_____>

      370     380     390     400     410     420
GCCCCGTGTGCTGGTCATCTATGATGATGGCGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTG
CGGGGACACGACCAGTAGATACTACTACCGCTGGCCGGGAGTCCCTAGGGACTCGCTAAG
A P V L V I Y D D G D R P S G I P E R F>
_____CAT-354 VL_____>

      430     440     450     460     470     480
TCTGGCTCCAACCTCTGGGAACACGGCCACCCTGACCATCAGCAGGGTCGAGGCCGGGGAT
AGACCGAGGTTGAGACCCTTGTGCCGGTGGGACTGGTAGTCGTCCCAGCTCCGGCCCCCTA
S G S N S G N T A T L T I S R V E A G D>
_____CAT-354 VL_____>

      490     500     510     520     530     540
GAGGCCGACTATTATTGTCAGGTGTGGGATACTGGTAGTGATCCCGTGGTATTTCGGCGGA
CTCCGGCTGATAATAACAGTCCACACCCTATGACCATCACTAGGGCACCATAAGCCGCCT
E A D Y Y C Q V W D T G S D P V V F G G>
_____CAT-354 VL_____>

```

```

      550      560      580      590      600
GGGACCAAGCTGACCGTCCTAGGTCAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCTCG
CCCTGGTTCGACTGGCAGGATCCAGTCGGGTTCCGACGGGGGAGCCAGTGAGACAAGGGC
  G T K L T V L>
____CAT-354 VL____>
      G Q P K A A P S V T L F P>
      _____ 人类Cλ _____>

      610      620      630      640      650      660
CCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTC
GGGAGGAGACTCCTCGAAGTTCGGTTGTTCCGGTGTGACCACACAGAGTATTCACTGAAG
  P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F>
____ 人类Cλ _____>

      670      680      690      700      710      720
TACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTG
ATGGGCCCTCGGCACTGTCACCGGACCTTCCGTCTATCGTCGGGGCAGTTCGGCCCTCAC
  Y P G A V T V A W K A D S S P V K A G V>
____ 人类Cλ _____>

      730      740      750      760      770      780
GAGACCACCACACCCTCCAAACAAGCAACAACAAGTACGCGCCAGCAGCTATCTGAGC
CTCTGGTGGTGTGGGAGGTTTGTTCGTTGTTGTTTCATGCGCCGGTCGTCGATAGACTCG
  E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y L S>
____ 人类Cλ _____>

      790      800      810      820      830      840
CTGACGCCTGAGCAGTGGAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTACACGCATGAAGGG
GACTGCGGACTCGTCACCTTCAGGGTGTCTTCGATGTGACGGTCCAGTGCGTACTTCCC
  L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G>
____ 人类Cλ _____>
                                     >SV40_聚_A_
                                     |
      850      860      870      880      890|      900
AGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCTACAGAATGTTTCATAGGAATTCATTGATCATAAT
TCGTGGCACCTCTTCTGTACCGGGGATGTCTTACAAGTATCCTTAAGTAACTAGTATTA
  S T V E K T V A P T E C S *>
____ 人类Cλ _____>

      910      920      930      940      950      960
CAGCCATACCACATTTGTAGAGGTTTTACTTGCTTTAAAAAACCTCCCACACCTCCCCCT
GTCGGTATGGTGTAACATCTCCAAAATGAACGAAATTTTTTGGAGGGTGTGGAGGGGGA

      970      980      990      1000      1010      1020
GAACCTGAAACATAAAATGAATGCAATTGTTGTTGTTAACTTGTTTATTGCAGCTTATAA
CTTGGACTTTGTATTTTACTTACGTTAACAACAACAATGAACAAATAACGTCGAATATT

      1030      1040      1050      1060      1070      1080
TGTTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTACAAATAAAGCATTTTTTTTC
ACCAATGTTTATTTTCGTTATCGTAGTGTTTAAAGTGTTTATTTTCGTAAAAAAG

```

图1-1

CAT-354重链的DNA和氨基酸序列

>转录起始

```

|
|      10      20      30      40      50      60
TCAGATCGCCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTTGACCTCCATAGAAGACACCGGGACCG
AGTCTAGCGGACCTCTGCGGTAGGTGCGACAAAACCTGGAGGTATCTTCTGTGGCCCTGGC
_____5' UTR_____>

      70      80      90      100     110     120
ATCCAGCCTCCGCGGCCGGAACGGTGCATTGGAACGCGGATTCCCCGTGCCAAGAGTGA
TAGGTGCGGAGGCGCGGCCCTTGCCACGTAACCTTGCGCCTAAGGGGCACGGTTCTCACT
_____5' UTR_____>

      130     140     150     160     170     180
CTCACCGTCCTTGACACGAAGCTTACTGAGCACACAGGACCTCACCATGGGATGGAGCTG
GAGTGGCAGGAAGTGTGCTTCGAATGACTCGTGTGTCCTGGAGTGGTACCCTACCTCGAC
_____M G W S C>
_____5' UTR_____>

      190     200     210     220     230     240
TATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCAAGTGCAGCTGGTGCA
ATAGTAGGAGAAGAACCATCGTTGTCGATGTCCACAGGTGAGGGTTCACGTCGACCACGT
_____Q V Q L V Q>
_____CAT-354VH_____>

  I I L F L V A T A T G V H S>
_____前导序列_____>

      250     260     270     280     290     300
GTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGG
CAGACCCGACTCCACTTCTTCGGACCCCGAGTCACTTCCAGAGGACGTTCCGAAGACC
  S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G>
_____CAT-354VH_____>

      310     320     330     340     350     360
TTACACCTTTACAAATTATGGTCTCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGA
AATGTGGAAATGTTTAATACCAGAGTCGACCCACGCTGTCCGGGGACCTGTTCCCGAACT
  Y T F T N Y G L S W V R Q A P G Q G L E>
_____CAT-354VH_____>

      370     380     390     400     410     420
GTGGATGGGATGGATCAGCGCTAATAATGGCGACACAAATTATGGACAGGAATTCCAGGG
CACCTACCCTACCTAGTCGCGATTATTACCGCTGTGTTTAATACCTGTCCTTAAGGTCCC
  W M G W I S A N N G D T N Y G Q E F Q G>
_____CAT-354VH_____>

      430     440     450     460     470     480
CAGAGTCACCATGACCACAGATACATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGTTGAGGAGCCT
GTCTCAGTGGTACTGGTGTCTATGTAGGTGCTCGTGTGCGATGTACCTCAACTCCTCGGA
  R V T M T T D T S T S T A Y M E L R S L>
_____CAT-354VH_____>

```

```

      490      500      510      520      530      540
GAGATCTGACGACACGGCCGTTTATTACTGTGCGAGAGACTCCAGCAGCAGCTGGGCTCG
CTCTAGACTGCTGTGCCGGCAAATAATGACACGCTCTCTGAGGTCGTCGTCGACCCGAGC
  R S D D T A V Y Y C A R D S S S S W A R>
_____CAT-354VH_____>

      550      560      570      580      590      600
CTGGTTTTTTCGATCTCTGGGGCCGGGGGACACTGGTCACCGTCTCGAGTGCTTCCACCAA
GACCAAAAAGCTAGAGACCCCGGCCCCCTGTGACCAAGTGCGAGAGCTCACGAAGGTGGTT
  W F F D L W G R G T L V T V S S>
_____CAT-354VH_____>
                                     A S T K>
                                     _____>
P30  610      620      630      640      650      660
GGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGC
CCCGGGTAGGCAGAAGGGGGACCGCGGGACGAGGTCTCTCGTGGAGGCTCTCGTGTGGCG
  G P S V F P L A P C S R S T S E S T A A>
_____IG4 CH1_____>

      670      680      690      700      710      720
CCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGG
GGACCCGACGGACAGTTCTGATGAAGGGGCTTGGCCACTGCCACAGCACCTTGAGTCC
  L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G>
_____IG4 CH1_____>

      730      740      750      760      770      780
CGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTC
GCGGGACTGGTCGCCGCACGTGTGGAAGGGCCGACAGGATGTCAGGAGTCCTGAGATGAG
  A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S>
_____IG4 CH1_____>

      790      800      810      820      830      840
CCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAA
GGAGTCGTCGCACCACTGGCACGGGAGGTCGTGCAACCCGTGCTTCTGGATGTGGACGTT
  L S S V V T V P S S S L G T K T Y T C N>
_____IG4 CH1_____>

      850 P247 860      870      880      890      900
CGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTCGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCC
GCATCTAGTGTTTCGGGTCGTTGTGGTTCCAGCTGTTCTCTCAACTCAGGTTTATACCAGG
  V D H K P S N T K V D K R V>
_____IG4 CH1_____>
                                     E S K Y G P>
                                     ____IGG4 铰链____>

      910      920      930      940      950      960
CCCATGCCCATCATGCCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGGGACCATCAGTCTTCCTGTTCCC
GGGTACGGGTAGTACGGGTCGTGGACTCAAGGACCCCCCTGGTAGTCAGAAGGACAAGGG
  P C P S C P>
_____IGG4 铰链_____>A P E F L G G P S V F L F P>
                                     _____IGG4 CH2_____>
```

```

      970      980      990      1000      1010      1020
CCCCAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGT
GGGTTTTGGGTTCTGTGAGAGTACTAGAGGGCCTGGGGACTCCAGTGCACGCACCACCA
  P  K  P  K  D  T  L  M  I  S  R  T  P  E  V  T  C  V  V  V>
_____IGG4 CH2_____>

      1030      1040      1050      1060      1070      1080
GGACGTGAGCCAGGAAGACCCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGT
CCTGCACTCGGTCTTCTGCGGCTCCAGGTCAAGTTGACCATGCACCTACCGCACCTCCA
  D  V  S  Q  E  D  P  E  V  Q  F  N  W  Y  V  D  G  V  E  V>
_____IGG4 CH2_____>

      1090      1100      1110      1120      1130      1140
GCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAG
CGTATTACGGTTCTGTTTCGGCGCCCTCCTCGTCAAGTTGTCTGTCATGGCACACCAGTC
  H  N  A  K  T  K  P  R  E  E  Q  F  N  S  T  Y  R  V  V  S>
_____IGG4 CH2_____>

      1150      1160      1170      1180      1190      1200
CGTCCTCACCCTCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTC
GCAGGAGTGGCAGGACGTGGTCCTGACCGACTTGCCGTTCTCATGTTACGTTCCAGAG
  V  L  T  V  L  H  Q  D  W  L  N  G  K  E  Y  K  C  K  V  S>
_____IGG4 CH2_____>

      1210      1220      1230      1240      1250      1260
CAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCG
GTTGTTTTCCGGAGGGCAGGAGGTAGCTCTTTTGGTAGAGGTTTCGGTTTCCCGTCGGGGC
  N  K  G  L  P  S  S  I  E  K  T  I  S  K  A  K>
_____IGG4 CH2_____>
                                     G  Q  P  R>
                                     _____>

P41  1270      1280      1290      1300      1310      1320
AGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAG
TCTCGGTGTCCACATGTGGGACGGGGTAGGGTCTCTCTACTGGTTCTTGGTCCAGTC
  E  P  Q  V  Y  T  L  P  P  S  Q  E  E  M  T  K  N  Q  V  S>
_____IGG4 CH3_____>

      1330      1340      1350      1360      1370      1380
CCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA
GGACTGGACGGACCAGTTTCCGAAGATGGGGTCGCTGTAGCGGCACCTCACCTCTCGTT
  L  T  C  L  V  K  G  F  Y  P  S  D  I  A  V  E  W  E  S  N>
_____IGG4 CH3_____>

      1390      1400      1410      1420      1430      1440
TGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTT
ACCCGTCGGCCTCTTGTTGATGTTCTGGTGCAGGGGCACGACCTGAGGCTGCCGAGGAA
  G  Q  P  E  N  N  Y  K  T  T  P  P  V  L  D  S  D  G  S  F>
_____IGG4 CH3_____>
```

```

      1450      1460      1470      1480 P313 1490      1500
CTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTC
GAAGGAGATGTCGTCCGATTGGCACCTGTTCTCGTCCACCGTCCTCCCCTTACAGAAGAG
  F  L  Y  S  R  L  T  V  D  K  S  R  W  Q  E  G  N  V  F  S>
_____IGG4 CH3_____>

      1510      1520      1530      1540      1550      1560
ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTC
TACGAGGCACTACGTACTCCGAGACGTGTTGGTGATGTGTGTCTTCTCGGAGAGGGACAG
  C  S  V  M  H  E  A  L  H  N  H  Y  T  Q  K  S  L  S  L  S>
_____IGG4 CH3_____>

      1570      1580      1590      1600      1610      1620
TCTGGGTAAATGAGTGCCAGGGCCGGCAAGCCCCCGCTCCCCGGGCTCTCGGGGTCGCGC
AGACCCATTTACTCACGGTCCCGGCCGTTTCGGGGGCGAGGGGCCGAGAGCCCCAGCGCG
  L  G  K  *
_____>

      1630      1640      1650      1660      1670      1680
GAGGATGCTTGGCACGTACCCCGTCTACATACTTCCCAGGCACCCAGCATGGAAATAAAG
CTCCTACGAACCGTGCATGGGGCAGATGTATGAAGGGTCCGTGGGTCGTACCTTTATTTT

>SV40_聚_A_
      |
      1690      1700      1710|      1720      1730      1740
CACCCACCACTGCCCTGGCTCGAATTCATTGATCATAATCAGCCATACCACATTTGTAGA
GTGGGTGGTGACGGGACCGAGCTTAAGTAACTAGTATTAGTCGGTATGGTGTAACATCT

      1750      1760      1770      1780      1790      1800
GGTTTTTACTTGCTTTAAAAAACCTCCACACCTCCCCCTGAACCTGAAACATAAAATGAA
CCAAAATGAACGAAATTTTTTGGAGGGTGTGGAGGGGGACTTGGACTTTGTATTTTACTT

      1810      1820      1830      1840      1850      1860
TGCAATTGTTGTTGTTAACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAG
ACGTTAACAACAACAATTGAACAATAACGTCGAATATTACCAATGTTTATTTTCGTTATC

      1870      1880      1890      1900      1910      1920
CATCACAAATTTACAAATAAAGCATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAA
GTAGTGTTTAAAGTGTTTATTTTCGTAAAAAAGTGACGTAAGATCAACACCAAACAGGTT

      1930
ACTCATCAATGTATCTT
TGAGTAGTTACATAGAA

```

图1-2

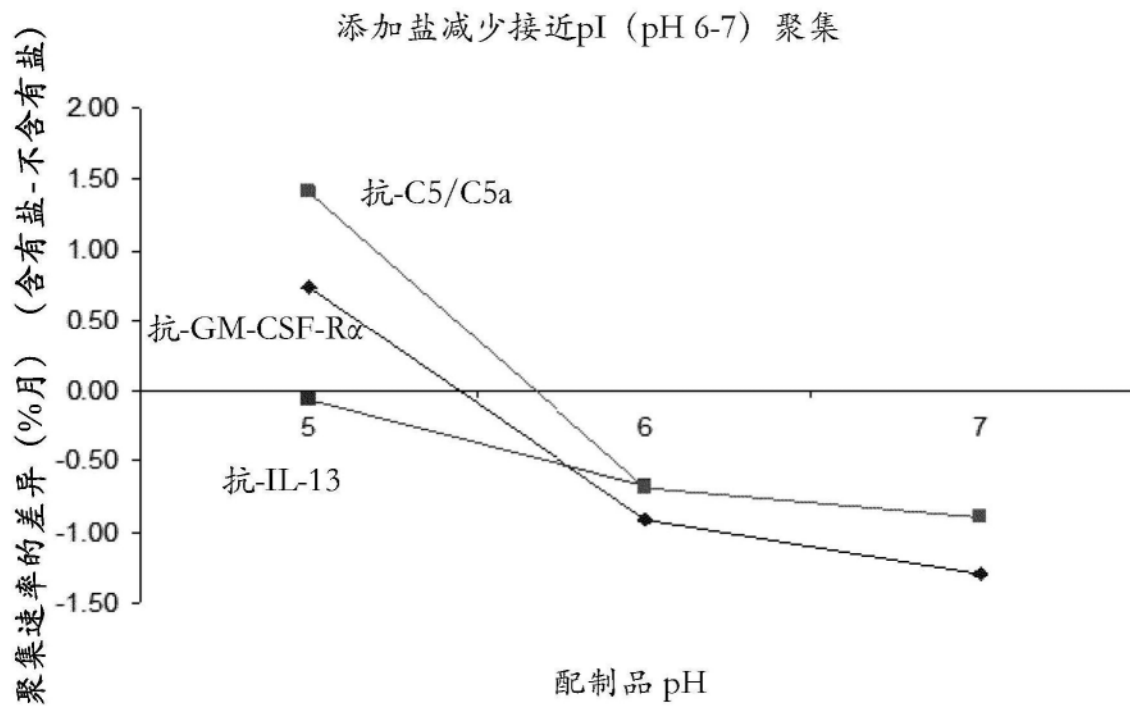


图2

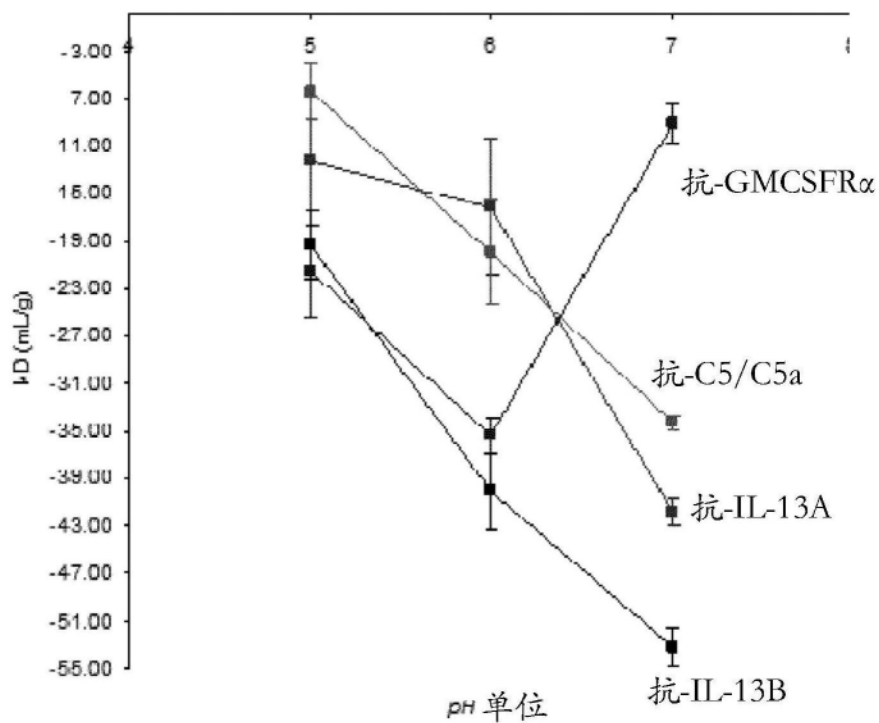
不同pH下IgG4分子对K_D的影响

图3A

不同pH下IgG4分子对KD的影响

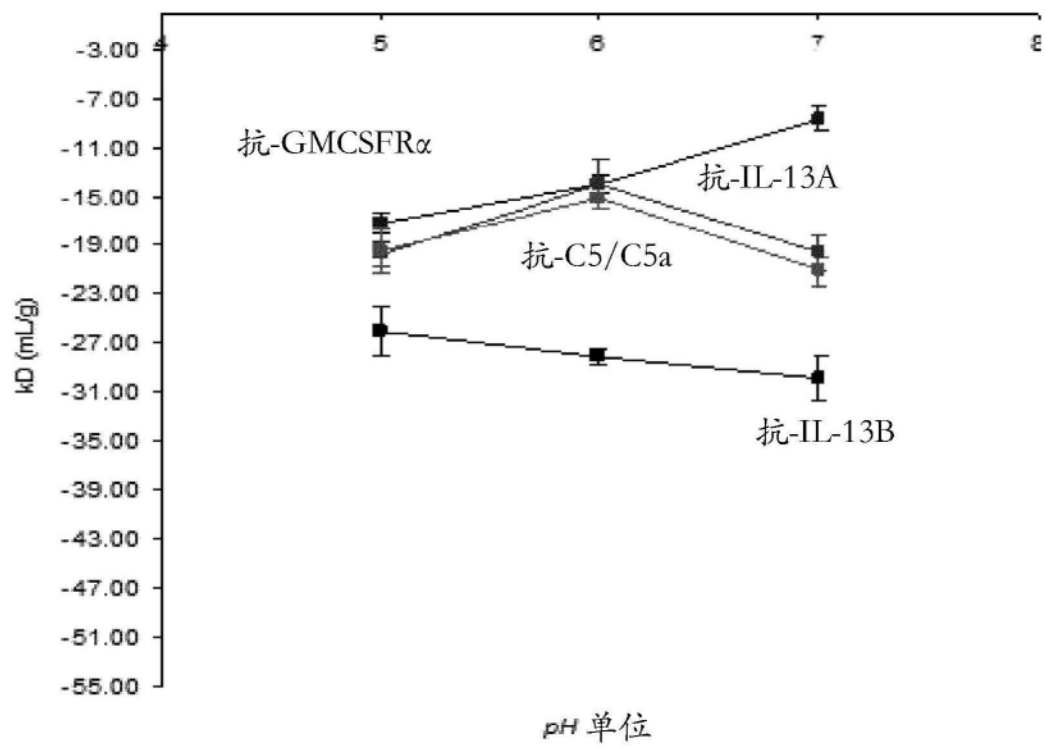


图3B

通过添加盐来减少聚集可能是由于改进的胶体稳定性引起，
这可以通过在接近pI添加盐来增加KD值来证明

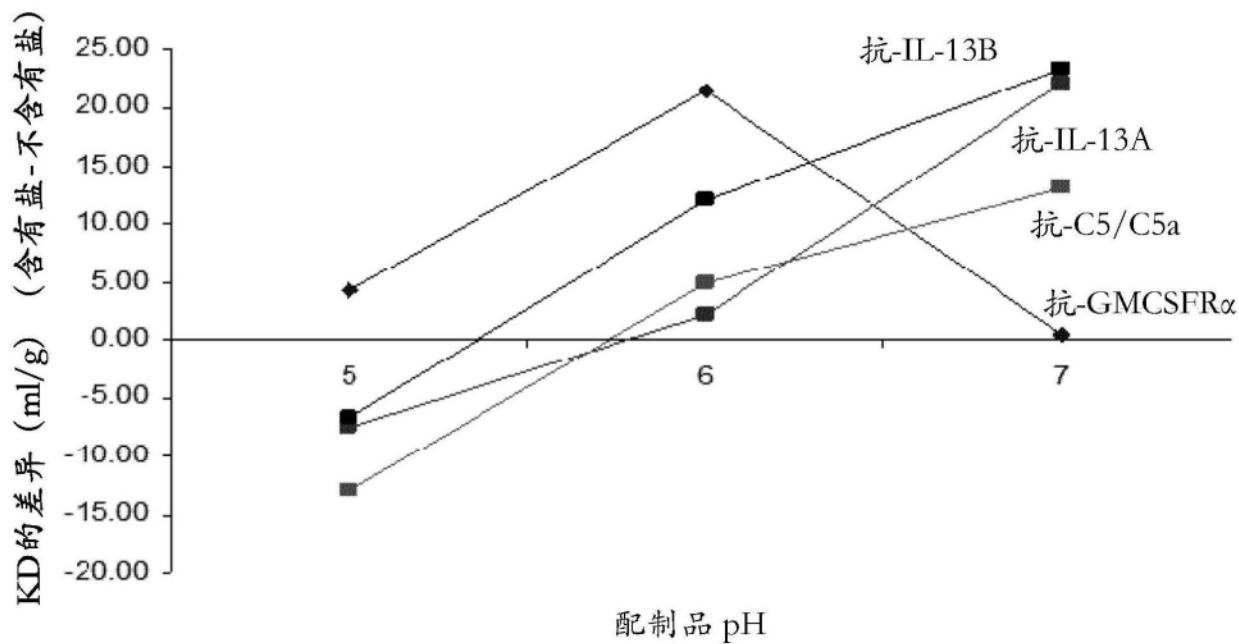


图4

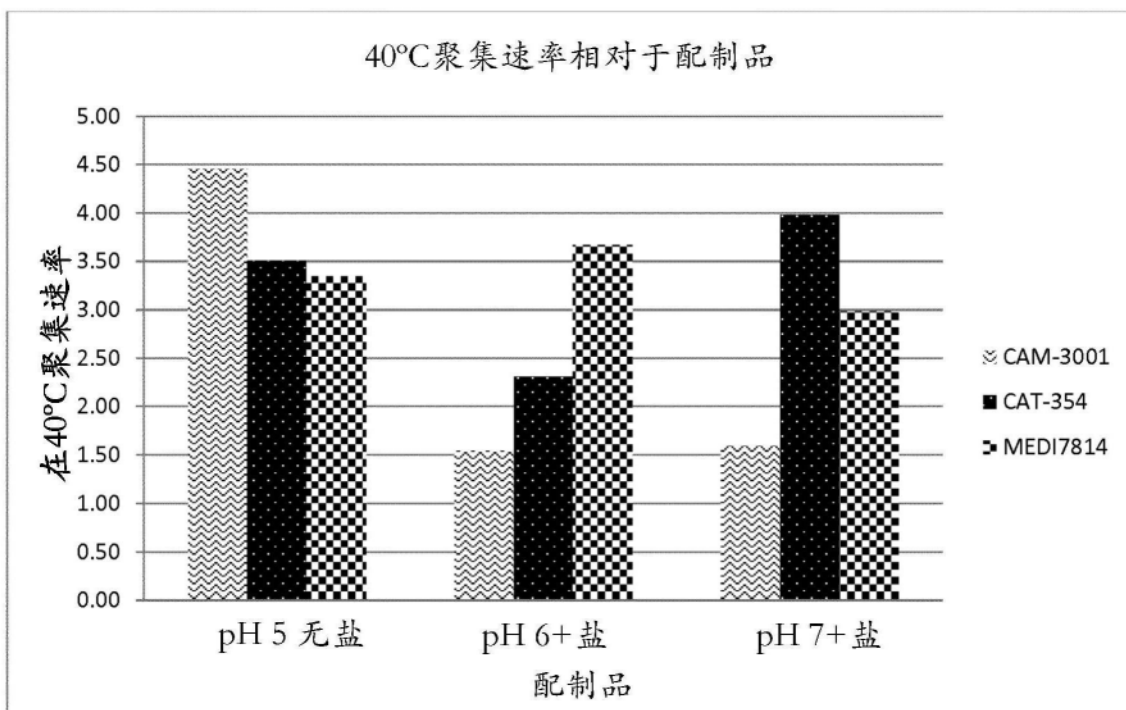


图5

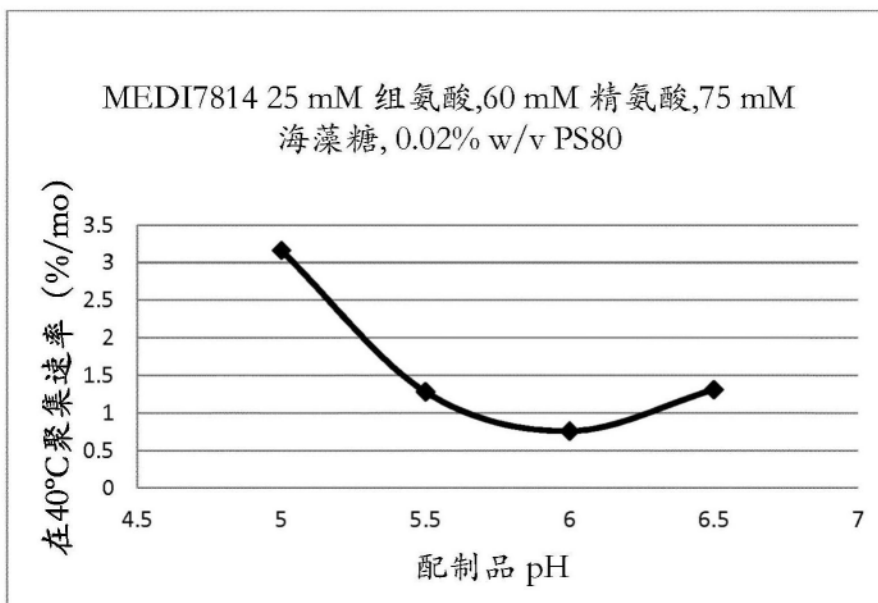


图6

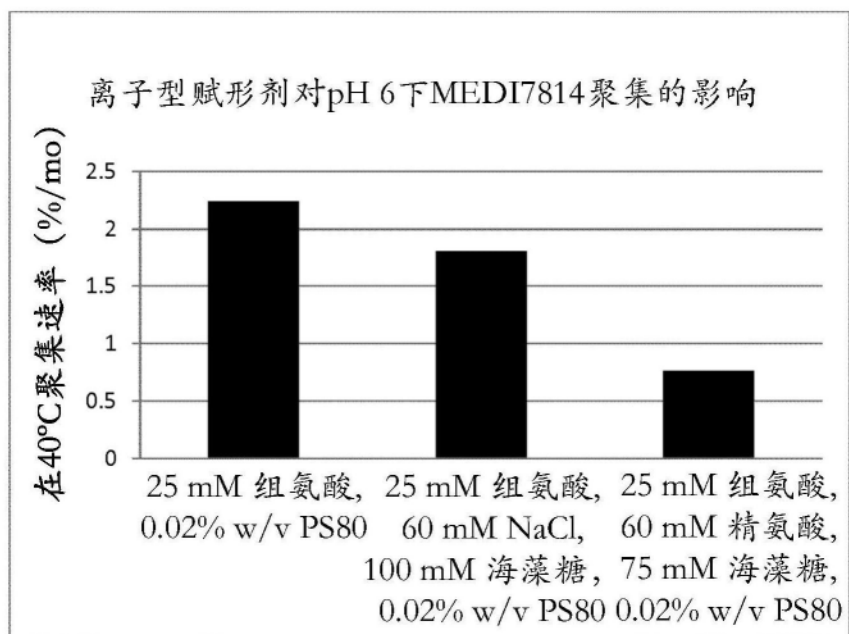


图7

MEDI8897重链核苷酸序列和翻译

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V M V
 1 CAA GTG CAG CTG GTG CAG TCT GGC GCC GAA GTG AAG AAA CCC GGC TCC TCC GTG ATG GTG

 S C Q A S G G L L E D Y I I N W V R Q A
 61 TCC TGC CAG GCT TCT GGC GGC CTG CTG GAA GAT TAC ATC ATC AAC TGG GTG CGA CAG GCC

 P G Q G P E W M G G I I P V L G T V H Y
 121 CCA GGC CAG GGA CCT GAA TGG ATG GGC GGA ATC ATC CCC GTG CTG GGC ACC GTG CAC TAC

 G P K F Q G R V T I T A D E S T D T A Y
 181 GGC CCT AAG TTC CAG GGC AGA GTG ACC ATC ACC GCC GAC GAG TCT ACC GAC ACC GCC TAC

 M E L S S L R S E D T A M Y Y C A T E T
 241 ATG GAA CTG TCC TCC CTG CGG AGC GAG GAC ACC GCC ATG TAC TAC TGC GCC ACC GAG ACA

 A L V V S E T Y L P H Y F D N W G Q G T
 301 GCC CTG GTG GTG TCC GAG ACA TAC CTG CCC CAC TAC TTC GAC AAC TGG GGC CAG GGA ACC

 L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S
 361 CTC GTG ACC GTC TCC TCA GCC TCC ACC AAG GGC CCA TCG GTC TTC CCC CTG GCA CCC TCC

 S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P
 421 TCC AAG TCC ACC TCC GGC GGC ACC GCC GCT CTG GGC TGC CTG GTG AAG GAC TAC TTC CCT

 E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P
 481 GAG CCT GTG ACC GTG TCC TGG AAC TCT GGC GCC CTG ACC TCT GGC GTG CAC ACC TTC CCT

 A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S
 541 GCC GTG CTG CAG TCC TCC GGC CTG TAC TCC CTG TCC TCC GTG GTG ACA GTG CCT TCC TCC

 S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V
 601 TCC CTG GGC ACC CAG ACC TAC ATC TGC AAC GTG AAC CAC AAG CCC AGC AAC ACC AAG GTG

 D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A
 661 GAC AAG AGA GTT GAG CCC AAA TCT TGT GAC AAA ACT CAC ACA TGC CCA CCG TGC CCA GCA

 P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L
 721 CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC TTT CTG TTC CCT CCT AAG CCT AAG GAC ACC CTG

 Y I T R E P E V T C V V V D V S H E D P
 781 TAC ATC ACC CGG GAG CCT GAA GTG ACC TGC GTG GTG GTG GAT GTG TCC CAC GAG GAC CCT

 E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P
 841 GAG GTG AAG TTC AAT TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAC AAC GCC AAG ACC AAG CCT

 R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q
 901 CGG GAG GAG CAG TAC AAC TCC ACC TAC CGG GTG GTG TCT GTG CTG ACC GTG CTG CAC CAG

 D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P
 961 GAC TGG CTG AAC GGC AAA GAA TAC AAG TGC AAA GTC TCC AAC AAG GCC CTG CCT GCC CCC

 I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L
 1021 ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAA CCA CAG GTG TAC ACC CTG

 P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G
 1081 CCT CCC TCC CGC GAG GAG ATG ACC AAG AAC CAG GTG TCC CTG ACC TGT CTG GTG AAG GGC

 F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y
 1141 TTC TAC CCT TCC GAT ATC GCC GTG GAG TGG GAG TCC AAC GGC CAG CCT GAG AAC AAC TAC

 K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T
 1201 AAG ACC ACC CCT CCT GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCC TTC TTC CTG TAC TCC AAG CTG ACC

 V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A
 1261 GTG GAC AAG TCC CGG TGG CAG CAG GGC AAC GTG TTC TCC TGC TCC GTG ATG CAC GAG GCT

 L H N H Y T Q K S L S L S P G K
 1321 CTG CAC AAC CAC TAC ACC CAG AAA AGC CTC TCC CTG TCT CCG GGT AAA

图8

MEDI8897轻链核苷酸序列和翻译

```
      D   I   Q   M   T   Q   S   P   S   S   L   S   A   A   V   G   D   R   V   T
1    GAC ATC CAG ATG ACC CAG TCC CCC TCC TCT CTG TCT GCT GCC GTG GGC GAC AGA GTG ACC

      I   T   C   Q   A   S   Q   D   I   V   N   Y   L   N   W   Y   Q   Q   K   P
61   ATC ACC TGT CAG GCC TCC CAG GAC ATC GTG AAC TAC CTG AAC TGG TAT CAG CAG AAG CCC

      G   K   A   P   K   L   L   I   Y   V   A   S   N   L   E   T   G   V   P   S
121  GGC AAG GCC CCC AAG CTG CTG ATC TAC GTG GCC TCC AAC CTG GAA ACC GGC GTG CCC TCC

      R   F   S   G   S   G   S   G   T   D   F   S   L   T   I   S   S   L   Q   P
181  AGA TTC TCC GGC TCT GGC TCT GGC ACC GAC TTC AGC CTG ACC ATC TCC AGC CTG CAG CCT

      E   D   V   A   T   Y   Y   C   Q   Q   Y   D   N   L   P   L   T   F   G   G
241  GAG GAC GTG GCC ACC TAC TAC TGC CAG CAG TAC GAC AAC CTG CCC CTG ACC TTT GGC GGA

      G   T   K   V   E   I   K   R   T   V   A   A   P   S   V   F   I   F   P   P
301  GGC ACC AAG GTG GAG ATC AAA CGA ACT GTG GCT GCA CCA TCT GTC TTC ATC TTC CCC CCC

      S   D   E   Q   L   K   S   G   T   A   S   V   V   C   L   L   N   N   F   Y
361  AGC GAC GAG CAG CTG AAG AGC GGC ACC GCC TCC GTG GTG TGC CTG CTG AAC AAC TTC TAC

      P   R   E   A   K   V   Q   W   K   V   D   N   A   L   Q   S   G   N   S   Q
421  CCC CGC GAG GCC AAG GTG CAG TGG AAG GTG GAC AAC GCC CTG CAG TCC GGC AAC AGC CAG

      E   S   V   T   E   Q   D   S   K   D   S   T   Y   S   L   S   S   T   L   T
481  GAG AGC GTC ACC GAG CAG GAC AGC AAG GAC TCC ACC TAC AGC CTG AGC AGC ACC CTG ACC

      L   S   K   A   D   Y   E   K   H   K   V   Y   A   C   E   V   T   H   Q   G
541  CTG AGC AAG GCC GAC TAC GAG AAG CAC AAG GTG TAC GCC TGC GAG GTG ACC CAC CAG GGC

      L   S   S   P   V   T   K   S   F   N   R   G   E   C
601  CTG TCC AGC CCC GTG ACC AAG AGC TTC AAC AGG GGC GAG TGC
```

图9

MEDI8897代表性药物产品稳定性

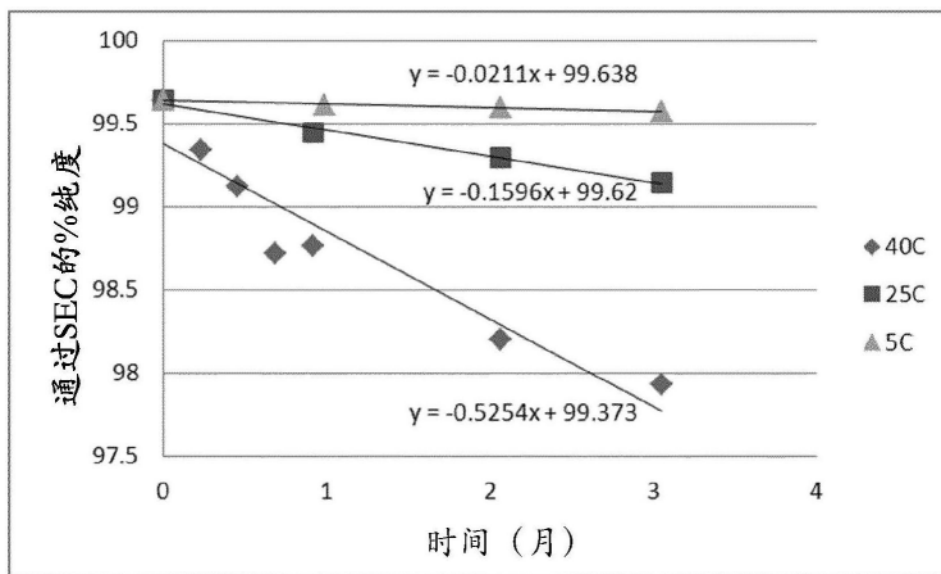


图10

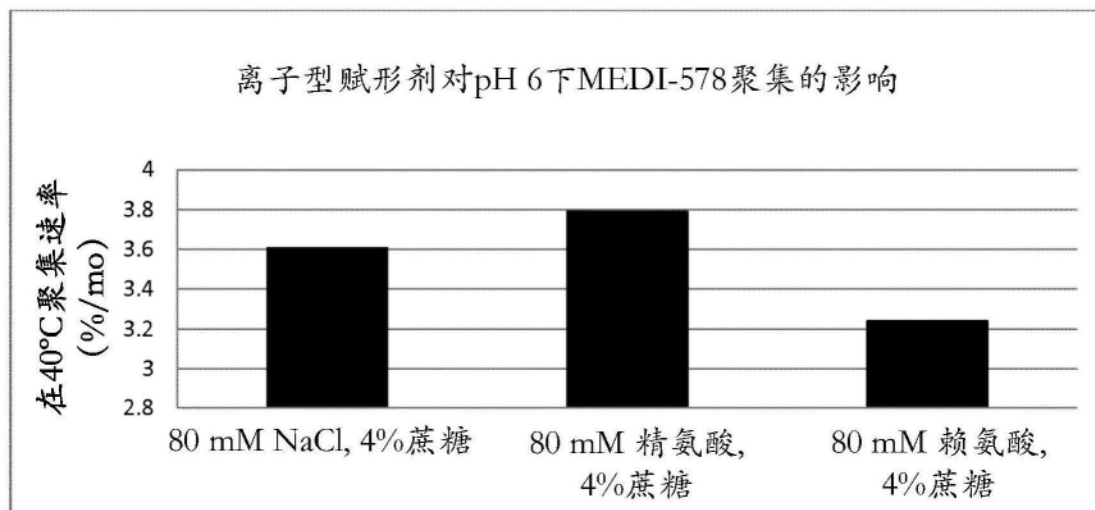
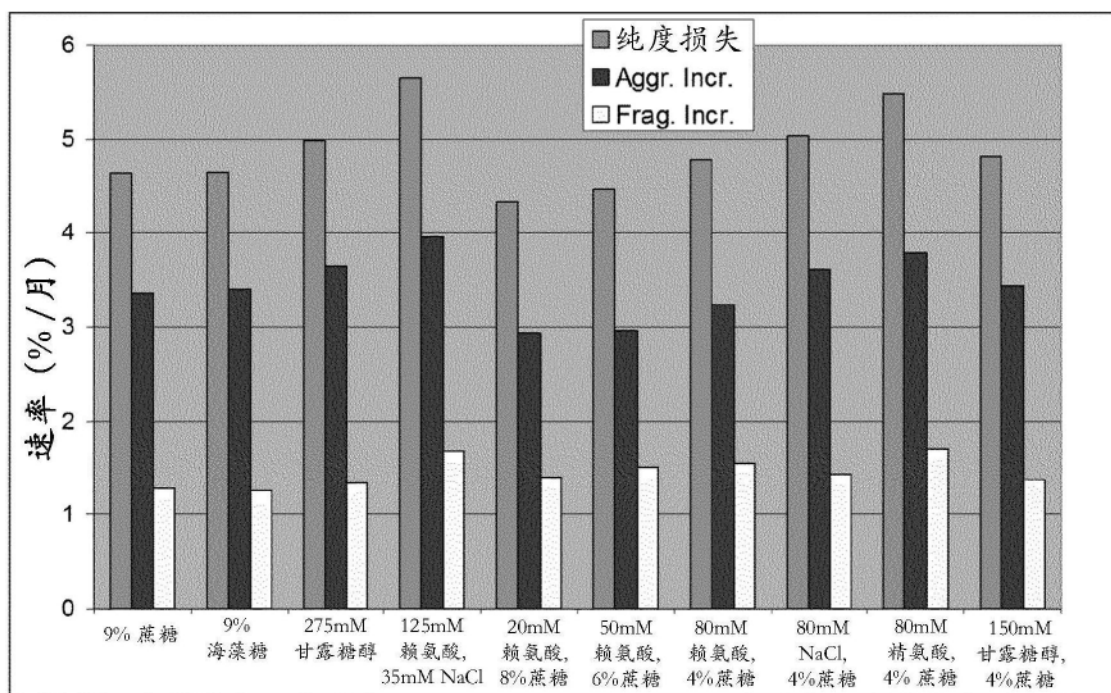


图11

赋形剂筛选：通过SEC的纯度(在40°C 4周)



■ CB 历史数据：(4周-T=0 @ 40°C)：4.1%/月(甘露糖醇)，4.5%/月(Lys/NaCl)

图12

赋形剂筛选：通过HIAC的SVP @在40°C 4周

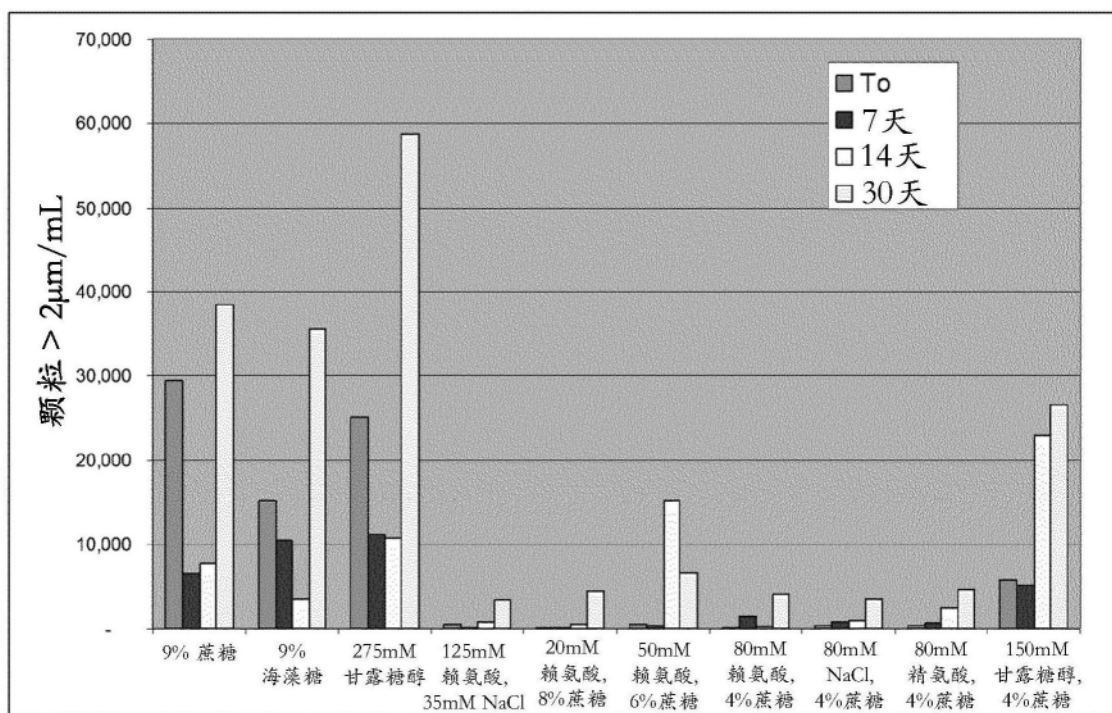


图13