(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 113785054 A
(43)申请公布日 2021.12.10

(21)申请号 202080033104.6

(22)申请日 2020.04.03

(30)优先权数据
62/828,859 2019.04.03 US
62/832,032 2019.04.10 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.11.02

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/026669 2020.04.03

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/206320 EN 2020.10.08

(71)申请人 戴纳立制药公司
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 D·安德森 A·凯瑟曼 T·吉斯 G·坎南 M·科里奥利 C·马霍 A·帕特尔

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
代理人 封新琴

(51)Int.Cl.
C12N 9/16(2006.01)
A61K 47/68(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)
A61P 3/00(2006.01)

权利要求书4页 说明书86页

(54)发明名称

包含艾杜糖醛酸2-硫酸酯酶的蛋白质分子制剂

(57)摘要

某些实施方案提供了药物组合物,其包含:包含ERT酶-Fc融合多肽和经修饰的Fc多肽的蛋白质分子;缓冲剂;等渗剂;表面活性剂;和稳定剂;其中所述药物组合物的pH为约5.5至7.0,以及其使用方法。

CN 113785054 A

1.一种药物组合物,其包含:

a.蛋白质分子,其包含:

i.第一Fc多肽,根据EU编号,其包含在选自由380、384、386、387、388、389、390、413、415、416和421组成的组的至少9个氨基酸残基位置处的取代;以及

ii.与艾杜糖醛酸2-硫酸酯酶(IDS)连接的第二Fc多肽,其中所述IDS氨基酸序列包含与SEQ ID NO:1具有至少90%同一性的序列;

b.缓冲剂;以及

c.盐;

其中所述药物组合物的pH为约5.5至7.0。

2.如权利要求1所述的药物组合物,其中所述缓冲剂选自由以下组成的组:磷酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、精氨酸缓冲剂和组氨酸缓冲剂。

3.如权利要求2所述的药物组合物,其中所述磷酸盐缓冲剂是磷酸钠缓冲剂或磷酸钾缓冲剂。

4.如权利要求1至3中任一项所述的药物组合物,其中所述盐是钠盐。

5.如权利要求4所述的药物组合物,其中所述钠盐选自由以下组成的组:氯化钠、硫酸钠和磷酸钠。

6.如权利要求1至5中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物还包含表面活性剂。

7.如权利要求1至6中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物还包含含有糖的稳定剂。

8.如权利要求1至7中任一项所述的药物组合物,其中所述IDS氨基酸序列包含选自由SEQ ID NO:1、2和3组成的组的序列。

9.如权利要求1至8中任一项所述的药物组合物,其中根据EU编号,所述第一Fc多肽包含在氨基酸残基位置384、386、387、388、389、413、415、416和421处的取代。

10.如权利要求1至9中任一项所述的药物组合物,其中所述IDS氨基酸序列与所述第二Fc多肽的N端连接。

11.如权利要求1至10中任一项所述的药物组合物,其中与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含与SEQ ID NO:4或5具有至少95%同一性的氨基酸序列。

12.如权利要求1至10中任一项所述的药物组合物,其中与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:4或5的氨基酸序列。

13.如权利要求1至12中任一项所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含与SEQ ID NO:6具有至少90%同一性的序列。

14.如权利要求1至12中任一项所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含与SEQ ID NO:6具有至少95%同一性的序列。

15.如权利要求1至14中任一项所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含:

a.位置380处的Trp、Leu或Glu;

b.位置384处的Tyr;

c.位置386处的Thr;

d.位置387处的Glu;

e.位置388处的Trp；

f.位置389处的Ser或Ala；

g.位置390处的Ser或Asn；

h.位置413处的Thr；

i.位置415处的Glu；

j.位置416处的Glu;以及

k.位置421处的Phe。

16.如权利要求1至15中任一项所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含与SEQ ID NO:6、7、25和30中的任一个具有至少95％序列同一性的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含与SEQ ID NO:4或5具有至少95％序列同一性的氨基酸序列。

17.如权利要求16所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:4或5的序列。

18.如权利要求16所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:4或5的序列。

19.如权利要求16所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:4或5的序列。

20.如权利要求16所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:4或5的序列。

21.如权利要求1至15中任一项所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含与SEQ ID NO:41、42、44和49中的任一个具有至少95％序列同一性的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含与SEQ ID NO:39或40具有至少95％序列同一性的氨基酸序列。

22.如权利要求21所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:39或40的序列。

23.如权利要求21所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:39或40的序列。

24.如权利要求21所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:39或40的序列。

25.如权利要求21所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:39或40的序列。

26.如权利要求1至25中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子浓度为约5-50mg/mL。

27.如权利要求1至26中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子浓度为约10-30mg/mL。

28.如权利要求1至27中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子浓度为约10mg/mL。

29.如权利要求1至27中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子浓度为约20mg/mL。

30.如权利要求1至27中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子浓度为约30mg/mL。

31.如权利要求1至30中任一项所述的药物组合物,其中所述缓冲剂浓度为约5-50mM。

32.如权利要求1至31中任一项所述的药物组合物,其中所述缓冲剂浓度为约10-30mM。

33.如权利要求1至32中任一项所述的药物组合物,其中所述缓冲剂浓度为约20mM。

34.如权利要求1至33中任一项所述的药物组合物,其中所述盐浓度为约30-150mM。

35.如权利要求1至34中任一项所述的药物组合物,其中所述盐浓度为约50-137mM。

36.如权利要求1至35中任一项所述的药物组合物,其中所述盐浓度为约50mM。

37.如权利要求1至35中任一项所述的药物组合物,其中所述盐浓度为约137mM。

38.如权利要求6至37中任一项所述的药物组合物,其中所述表面活性剂浓度为约0.1-1.0mg/mL。

39.如权利要求6至38中任一项所述的药物组合物,其中所述表面活性剂浓度为约0.2-0.6mg/mL。

40.如权利要求6至39中任一项所述的药物组合物,其中所述表面活性剂浓度为约0.4mg/mL。

41.如权利要求6至39中任一项所述的药物组合物,其中所述表面活性剂浓度为约0.6mg/mL。

42.如权利要求6至41中任一项所述的药物组合物,其中所述表面活性剂包括聚山梨酸酯。

43.如权利要求42所述的药物组合物,其中所述表面活性剂选自由以下组成的组:聚山梨酸酯-20(PS-20)和聚山梨酸酯-80(PS-80)。

44.如权利要求43所述的药物组合物,其中所述表面活性剂是聚山梨酸酯-20(PS-20)。

45.如权利要求43所述的药物组合物,其中所述表面活性剂是聚山梨酸酯-80(PS-80)。

46.如权利要求7至45中任一项所述的药物组合物,其中所述稳定剂包含选自蔗糖或海藻糖的糖。

47.如权利要求7至46中任一项所述的药物组合物,其中所述糖浓度为约100-250mM。

48.如权利要求7至47中任一项所述的药物组合物,其中所述糖浓度为约175mM。

49.如权利要求7至48中任一项所述的药物组合物,其中所述稳定剂包括蔗糖。

50.如权利要求1至49中任一项所述的药物组合物,其中所述组合物还包含甲硫氨酸。

51.如权利要求50所述的药物组合物,其中所述甲硫氨酸浓度为约5-20mM。

52.如权利要求50或51中任一项所述的药物组合物,其中所述甲硫氨酸浓度为约10mM。

53.如权利要求1至52中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物的pH为约5.5至6.5。

54.如权利要求1至52中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物的pH为约6.5±0.5。

55.如权利要求1至54中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子在约5.5-7.0的pH下保持完整。

56.如权利要求1至55中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物被提供为液体组合物。

57.如权利要求1至55中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物被提供为冻干组合物。

58.一种治疗有需要的受试者的亨特综合征的方法,其包括向所述受试者提供和施用如权利要求1至57中任一项所述的药物组合物。

59.如权利要求58所述的方法,其中将所述药物组合物静脉内施用。

60.如权利要求1至57中任一项所述的药物组合物,其用于治疗有需要的受试者的亨特综合征。

61.如权利要求1至57中任一项所述的药物组合物在制备用于治疗有需要的受试者的亨特综合征的药剂中的用途。

包含艾杜糖醛酸2-硫酸酯酶的蛋白质分子制剂

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2019年4月3日提交的美国临时申请序列第62/828,859号和2019年4月10日提交的美国临时申请序列第62/832,032号的优先权。以上引用的申请的全部内容在此通过引用并入文中。

背景技术

[0003] 溶酶体贮积症(LSD)是由溶酶体功能缺陷引起的相对罕见的遗传性代谢疾病。LSD通常由参与溶酶体中代谢产物分解的单一酶的缺乏引起。由于缺乏酶活性而导致的产物累积影响各种器官系统,并可导致严重症状和过早死亡。大多数LSD还具有重要的神经组分,其范围从进行性神经变性和严重的认知损害到癫痫、行为和精神障碍。LSD中缺陷的酶的重组形式可用于治疗这种病症,但由于重组酶难以穿过血脑屏障(BBB)进行递送,此类疗法可能对脑几乎没有影响。因此,需要用于治疗这些病症的新组合物。特别地,需要用于治疗亨特综合征的新组合物。

发明内容

[0004] 某些实施方案提供了药物组合物,其包含:

[0005] a.蛋白质分子,其包含:

[0006] i.第一Fc多肽;以及

[0007] ii.与酶替代疗法(ERT)酶、ERT酶变体或其催化活性片段连接的第二Fc多肽;

[0008] b.缓冲剂;以及

[0009] c.盐;

[0010] 其中所述药物组合物的pH为约5.5至7.0。

[0011] 在某些实施方案中,缓冲剂选自由以下组成的组:磷酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、精氨酸缓冲剂和组氨酸缓冲剂。在某些实施方案中,磷酸盐缓冲剂是磷酸钠缓冲剂或磷酸钾缓冲剂。

[0012] 在某些实施方案中,盐是钠盐。在某些实施方案中,钠盐选自由以下组成的组:氯化钠、硫酸钠和磷酸钠。

[0013] 在某些实施方案中,药物组合物还包含表面活性剂。

[0014] 在某些实施方案中,药物组合物还包含含有糖的稳定剂。

[0015] 在一些实施方案中,药物组合物还包含甲硫氨酸。

[0016] 在一些实施方案中,ERT酶是艾杜糖醛酸2-硫酸酯酶(IDS)、或野生型IDS例如野生型人IDS的催化活性变体或片段。

[0017] 在一些实施方案中,ERT酶是艾杜糖醛酸2-硫酸酯酶(IDS)、IDS变体或其催化活性片段。在一些实施方案中,ERT酶包含与SEQ ID NO:1、2、3、11和23中任一个的氨基酸序列具有至少80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,ERT酶包含SEQ ID NO:1、2、3、11和23中任一个的氨基酸序列。

[0018] 在一些实施方案中，根据EU编号，第一或第二Fc多肽包含在选自由380、384、386、387、388、389、390、413、415、416和421组成的组的至少9个氨基酸残基位置处的取代。

[0019] 某些实施方案还提供了药物组合物，其包含：

[0020] a.蛋白质分子，其包含：

[0021] i.第一Fc多肽，根据EU编号，其包含在选自由380、384、386、387、388、389、390、413、415、416和421组成的组的至少9个氨基酸残基位置处的取代；以及

[0022] ii.与艾杜糖醛酸2-硫酸酯酶(IDS)氨基酸序列连接的第二Fc多肽，其中所述IDS氨基酸序列包含与SEQ ID NO:1具有至少90％同一性的序列；

[0023] b.缓冲剂；以及

[0024] c.盐；

[0025] 其中所述药物组合物的pH为约5.5至7.0。

[0026] 在某些实施方案中，缓冲剂选自由以下组成的组：磷酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、精氨酸缓冲剂和组氨酸缓冲剂。在某些实施方案中，磷酸盐缓冲剂是磷酸钠缓冲剂或磷酸钾缓冲剂。

[0027] 在某些实施方案中，盐是钠盐。在某些实施方案中，钠盐选自由以下组成的组：氯化钠、硫酸钠和磷酸钠。

[0028] 在某些实施方案中，药物组合物还包含表面活性剂。

[0029] 在某些实施方案中，药物组合物还包含含有糖的稳定剂。

[0030] 在某些实施方案中，药物组合物还包含甲硫氨酸。

[0031] 在某些实施方案中，IDS氨基酸序列包含选自由SEQ ID NO:1、2、和3组成的组的序列。在某些实施方案中，IDS氨基酸序列与第二Fc多肽的N端连接。在某些实施方案中，与IDS氨基酸序列连接的第二Fc多肽包含SEQ ID NO:4或5的氨基酸序列。

[0032] 在某些实施方案中，根据EU编号，第一Fc多肽包含在氨基酸残基位置384、386、387、388、389、413、415、416和421处的取代。在某些实施方案中，第一Fc多肽包含与SEQ ID NO:6具有至少90％同一性的序列。在某些实施方案中，第一Fc多肽包含：位置380处的Trp、Leu或Glu；位置384处的Tyr；位置386处的Thr；位置387处的Glu；位置388处的Trp；位置389处的Ser或Ala；位置390处的Ser或Asn；位置413处的Thr；位置415处的Glu；位置416处的Glu；和位置421处的Phe。

[0033] 在某些实施方案中，第一Fc多肽和第二Fc多肽二聚化。

[0034] 在某些实施方案中，第一Fc多肽包含与SEQ ID NO:6具有至少90％同一性的氨基酸序列，并且与IDS氨基酸序列连接的第二Fc多肽包含SEQ ID NO:4或5的序列。

[0035] 在某些实施方案中，药物组合物是液体组合物。在某些实施方案中，药物组合物是冻干组合物。

[0036] 某些实施方案还提供了治疗有需要的受试者的LSD(例如亨特综合征)的方法，其包括向所述受试者提供和施用本文所述的药物组合物。

[0037] 某些实施方案提供了用于治疗有需要的受试者的LSD(例如亨特综合征)的本文所述的药物组合物。

具体实施方式

[0038] 某些实施方案提供了药物组合物，其包含：(a)包含ERT酶-Fc融合多肽和Fc多肽(例如，经修饰的Fc多肽)的蛋白质分子；(b)缓冲剂；和(c)等渗剂，例如盐，以及使用这种组合物的方法。在某些实施方案中，药物组合物还包含一种或多种本文所述的另外组分。例如，在某些实施方案中，药物组合物还包含表面活性剂；和/或一种或多种稳定剂。因此，某些实施方案提供了药物组合物，其包含：(a)包含ERT酶-Fc融合多肽和Fc多肽(例如经修饰的Fc多肽)的蛋白质分子；(b)缓冲剂(例如，包含磷酸钠或磷酸钾)；(c)等渗剂(例如氯化钠、硫酸钠或磷酸钠)；(d)表面活性剂；和(e)一种或多种稳定剂(例如，包含糖的稳定剂)。在一些实施方案中，药物组合物还包含甲硫氨酸。在某些实施方案中，药物组合物包含多种蛋白质分子，其可以相同或不同。在一些实施方案中，药物组合物经配制使得它们能够稳定，或者替代地减缓或防止本文所述的蛋白质分子的降解。特别地，已经开发了制剂，其中蛋白质分子在储存时和在某些过程(例如冷冻/解冻、机械混合和冻干)期间保持其物理和/或化学完整性和生物活性(参见实施例)。

[0039] 包含ERT酶-Fc融合多肽的蛋白质分子

[0040] 如本文所述，某些实施方案提供了包含蛋白质分子的药物组合物，所述蛋白质分子包含ERT酶-Fc融合多肽。ERT酶可以是在LSD中缺陷的任何酶。掺入融合蛋白的ERT酶具有催化活性，即其保留在LSD中缺陷的酶活性。在一些实施方案中，ERT酶是艾杜糖醛酸2-硫酸酯酶(IDS)，其在亨特综合征中是缺陷的。

[0041] 下文描述了包含融合蛋白的蛋白质分子的某些实施方案，所述融合蛋白包含与Fc多肽连接的ERT酶；这些融合蛋白可在本文所述的某些方法中用作LSD的治疗。在某些实施方案中，蛋白质分子包括二聚体Fc多肽，其中至少一个Fc多肽单体与ERT酶连接。Fc多肽可增加酶半衰期，并且在一些情况下可被修饰以赋予蛋白质额外的功能特性。本文还描述了包含促进ERT酶穿过血脑屏障(BBB)递送的融合蛋白的蛋白质分子。这些蛋白质分子包含形成二聚体的Fc多肽和经修饰的Fc多肽，以及与Fc区和/或经修饰的Fc区连接的ERT酶。经修饰的Fc区可特异性结合BBB受体如转铁蛋白受体(TfR)。在一些实施方案中，ERT氨基酸序列是全长ERT序列。在其它实施方案中，ERT氨基酸序列是野生型ERT例如野生型人IDS的催化活性变体或片段。这些蛋白质分子的某些实施方案在本文中可被称为与ERT酶缀合的酶转运载体(ETV)，例如ETV:IDS。

[0042] 在一些实施方案中，ERT酶是艾杜糖醛酸2-硫酸酯酶(IDS)、IDS变体或其催化活性片段。在一些实施方案中，IDS酶包含与SEQ ID NO:1、2、3、11和23中任一个的氨基酸序列具有至少80％、85％、90％或95％同一性，或至少96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IDS酶包含SEQ ID NO:1、2、3、11和23中任一个的氨基酸序列。

[0043] 在一些实施方案中，IDS酶包含与SEQ ID NO:1、2和3中任一个的氨基酸序列具有至少80％、85％、90％或95％同一性，或至少96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IDS酶包含SEQ ID NO:1、2和3中任一个的氨基酸序列。

[0044] 在一些实施方案中，IDS酶包含与SEQ ID NO:1的氨基酸序列具有至少80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IDS酶包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列。

[0045] 在一些实施方案中，IDS酶包含与SEQ ID NO:2的氨基酸序列具有至少80％、85％、

90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IDS酶包含SEQ ID NO:2的氨基酸序列。

[0046] 在一些实施方案中，IDS酶包含与SEQ ID NO:3的氨基酸序列具有至少80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，IDS酶包含SEQ ID NO:3的氨基酸序列。

[0047] 在一些方面，本文所述的蛋白质分子包含：(i)Fc多肽，其可以含有修饰(例如，一个或多个促进异二聚化的修饰)或可以是野生型Fc多肽；和ERT酶氨基酸序列；和(ii)Fc多肽，其可以含有修饰(例如，一个或多个促进异二聚化的修饰)或可以是野生型Fc多肽；和任选地ERT酶氨基酸序列。在一些实施方案中，一个或两个Fc多肽可以含有导致与血脑屏障(BBB)受体例如TfR结合的修饰。ERT酶可以是在LSD中缺陷的任何酶。掺入融合蛋白的ERT酶具有催化活性，即其保留在LSD中缺陷的酶活性。在一些实施方案中，ERT酶是IDS，其在亨特综合征中是缺陷的。

[0048] 在一些实施方案中，本文所述的蛋白质分子包含IDS酶和任选地结合BBB受体的经修饰的Fc多肽，例如包含野生型IDS的催化活性片段或变体的结合TfR的Fc多肽。在一些实施方案中，IDS酶是包含SEQ ID NO:1、2、3、11和23中任一个的氨基酸序列的IDS蛋白的变体或催化活性片段。在一些实施方案中，IDS酶的催化活性变体或片段具有野生型IDS酶活性的至少50％、至少55％、至少60％、至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少95％或更高。

[0049] 在一些实施方案中，存在于本文所述融合蛋白中的ERT酶(例如IDS)或其催化活性变体或片段与其未连接至Fc多肽或结合TfR的Fc多肽时的活性相比保留其活性的至少25％。在一些实施方案中，ERT酶或其催化活性变体或片段与其未连接至Fc多肽或结合TfR的Fc多肽时的活性相比保留其活性的至少10％，或至少15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％或95％。在一些实施方案中，ERT酶或其催化活性变体或片段与其未连接至Fc多肽或结合TfR的Fc多肽时的活性相比保留其活性的至少80％、85％、90％或95％。在一些实施方案中，与Fc多肽的融合不降低ERT酶或其催化活性变体或片段的活性。在一些实施方案中，与结合TfR的Fc多肽的融合不降低ERT酶的活性。

[0050] 用于血脑屏障(BBB)受体结合的Fc多肽修饰

[0051] 在一些方面，分子能够穿过血脑屏障(BBB)被转运。这样的蛋白质包含结合BBB受体的经修饰的Fc多肽。BBB受体在BBB内皮以及其它细胞和组织类型上表达。在一些实施方案中，BBB受体是转铁蛋白受体(TfR)。

[0052] 在各种Fc修饰中指定的氨基酸残基，包括在结合BBB受体例如TfR的经修饰的Fc多肽中引入的那些，在本文中使用EU索引编号进行编号。任何Fc多肽，例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc多肽，可具有在本文所述的一个或多个位置中的修饰，例如氨基酸取代。

[0053] 存在于本文所述蛋白质分子中的经修饰(例如增强异二聚化和/或BBB受体结合)的Fc多肽可与天然Fc区序列或其片段(例如长度为至少50个氨基酸或至少100个氨基酸或更大的片段)具有至少70％同一性、至少75％同一性、至少80％同一性、至少85％同一性、至少90％同一性、至少95％同一性。在一些实施方案中，天然Fc氨基酸序列是SEQ ID NO:8的Fc区序列。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:8的氨基酸1-110或与SEQ ID

NO:8的氨基酸111-217或其片段(例如长度为至少50个氨基酸或至少100个氨基酸或更大的片段)具有至少70%同一性、至少75%同一性、至少80%同一性、至少85%同一性、至少90%同一性、至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性或至少99%同一性。在一些实施方案中,经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:8的氨基酸1-216或其片段(例如长度为至少50个氨基酸或至少100个氨基酸或更大的片段)具有至少70%同一性、至少75%同一性、至少80%同一性、至少85%同一性、至少90%同一性、至少95%同一性、至少96%同一性、至少97%同一性、至少98%同一性或至少99%同一性。

[0054] 在一些实施方案中,经修饰的(例如,增强异源二聚化和/或BBB受体结合)Fc多肽包含与天然Fc区氨基酸序列相对应的至少50个氨基酸,或至少60、65、70、75、80、85、90或95或更多个,或至少100个氨基酸,或更多个氨基酸。在一些实施方案中,经修饰的Fc多肽包含与天然Fc区氨基酸序列(诸如SEQ ID NO:8)相对应的至少25个连续氨基酸,或至少30、35、40或45个连续氨基酸,或50个连续氨基酸,或至少60、65、70、75、80 85、90或95或更多个连续氨基酸,或100或更多个连续氨基酸。

[0055] 在一些实施方案中,针对BBB受体结合活性进行修饰的结构域是人Ig CH3结构域,诸如IgG1 CH3结构域。CH3结构域可以属于任何IgG亚型,即来自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。在IgG1抗体的上下文中,CH3结构域是指根据EU编号方案进行编号的从约位置341至约位置447的氨基酸的区段。

[0056] 在一些实施方案中,本文所述的蛋白质分子中存在的经修饰的(例如,结合BBB受体的)Fc多肽包含至少一个、两个或三个取代;并且在一些实施方案中,根据EU编号方案,包含氨基酸位置384、386、387、388、389、390、413、416和421处的至少四个、五个、六个、七个、八个或九个取代。在一些实施方案中,本文所述的蛋白质分子中存在的经修饰的(例如,结合BBB受体的)Fc多肽包含至少一个、两个或三个取代;并且在一些实施方案中,根据EU编号方案,包含在参考序列(例如SEQ ID NO:8)中的氨基酸位置384、386、387、388、389、390、413、416和421处的至少四个、五个、六个、七个、八个或九个取代。

[0057] FcRn结合位点

[0058] 在某些方面,本文所述的蛋白质分子中存在的经修饰的(例如,结合BBB受体的)Fc多肽或不特异性结合BBB受体的Fc多肽还可以包含FcRn结合位点。在一些实施方案中,FcRn结合位点处于Fc多肽或其片段内。

[0059] 在一些实施方案中,FcRn结合位点包含天然FcRn结合位点。在一些实施方案中,相对于天然FcRn结合位点的氨基酸序列,FcRn结合位点不包含氨基酸变化。在一些实施方案中,天然FcRn结合位点是IgG结合位点,例如人IgG结合位点。在一些实施方案中,FcRn结合位点包含改变FcRn结合的修饰。

[0060] 在一些实施方案中,FcRn结合位点具有被突变(例如被取代)的一个或多个氨基酸残基,其中所述一个或多个突变增加血清半衰期或基本上不降低血清半衰期(即,当在相同条件下测定时,与具有在突变位置上的野生型残基的对应物经修饰的Fc多肽相比,血清半衰期的降低不超过25%)。在一些实施方案中,根据EU编号方案,FcRn结合位点具有在位置250-256、307、380、428和433-436处的一个或多个被取代的氨基酸残基。

[0061] 在一些实施方案中,相对于天然人IgG序列,FcRn结合位点处或附近的一个或多个残基被突变,以延长经修饰多肽的血清半衰期。在一些实施方案中,根据EU编号方案,在位

置252、254和256中的一个、两个或三个中引入突变。在一些实施方案中，突变是M252Y、S254T和T256E。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽还包含突变M252Y、S254T和T256E。在一些实施方案中，根据EU编号方案，经修饰的Fc多肽包含在位置T307、E380和N434中的一个、两个或全部三个处的取代。在一些实施方案中，突变是T307Q和N434A。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含突变T307A、E380A和N434A。在一些实施方案中，根据EU编号方案，经修饰的Fc多肽包含在位置T250和M428处的取代。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含突变T250Q和/或M428L。在一些实施方案中，根据EU编号方案，经修饰的Fc多肽包含在位置M428和N434处的取代。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含突变M428L和N434S。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含N434S或N434A突变。

[0062] 结合转铁蛋白受体的Fc多肽

[0063] 本部分描述了结合转铁蛋白受体(TfR)并能够穿过血脑屏障(BBB)转运的本文所述的经修饰的Fc多肽的产生。

[0064] 包含在CH3结构域中的突变的结合TfR的Fc多肽

[0065] 在一些实施方案中，特异性结合TfR的经修饰的Fc多肽包含在CH3结构域中的取代。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含针对TfR结合活性进行修饰的人Ig CH3结构域，诸如IgG CH3结构域。CH3结构域可以属于任何IgG亚型，即来自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。在IgG抗体的上下文中，CH3结构域是指根据EU编号方案进行编号的从约位置341至约位置447的氨基酸的区段。

[0066] 在一些实施方案中，特异性结合TfR的经修饰的Fc多肽结合TfR的顶端结构域，并且可在不阻断或以其他方式抑制转铁蛋白与TfR的结合的情况下结合TfR。在一些实施方案中，转铁蛋白与TfR的结合基本上不受抑制。在一些实施方案中，转铁蛋白与TfR的结合被抑制小于约50％(例如，小于约45％、40％、35％、30％、25％、20％、15％、10％或5％)。在一些实施方案中，转铁蛋白与TfR的结合被抑制小于约20％(例如，小于约19％、18％、17％、16％、15％、14％、13％、12％、11％、10％、9％、8％、7％、6％、5％、4％、3％、2％或1％)。

[0067] 在一些实施方案中，根据EU编号方案，特异性结合TfR的经修饰的Fc多肽包含在位置384、386、387、388、389、390、413、416和421处的至少两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个或九个取代。在一些实施方案中，根据EU编号方案，特异性结合TfR的经修饰的Fc多肽包含在参考序列(例如SEQ ID NO:8)中的位置384、386、387、388、389、390、413、416和421处的至少两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个或九个取代。在一些实施方案中，位置388和/或421处的氨基酸是芳族氨基酸，例如Trp、Phe或Tyr。在一些实施方案中，位置388处的氨基酸是Trp。在一些实施方案中，位置421处的芳族氨基酸是Trp或Phe。

[0068] 在一些实施方案中，如下的至少一个位置被取代：位置384处的Leu、Tyr、Met或Val；位置386处的Leu、Thr、His或Pro；位置387处的Val、Pro或酸性氨基酸；位置388处的芳族氨基酸，例如Trp；位置389处的Val、Ser或Ala；位置413处的酸性氨基酸、Ala、Ser、Leu、Thr或Pro；位置416处的Thr或酸性氨基酸；或位置421处的Trp、Tyr、His或Phe。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽可包含保守取代，例如该集合中的一个或多个位置处的指定氨基酸的相同电荷分组、疏水性分组、侧链环结构分组(例如，芳族氨基酸)，或大小分组，和/或极性或非极性分组中的氨基酸。因此，例如，Ile可存在于位置384、386和/或位置413处。在一些实施方案中，位置387、413和416中的一个、两个或每一个位置上的酸性氨基酸是Glu。

在其他实施方案中，位置387、413和416中的一个、两个或每一个上的酸性氨基酸是Asp。在一些实施方案中，位置384、386、387、388、389、413、416和421中的两个、三个、四个、五个、六个、七个或全部八个具有如在本段中所指出的氨基酸取代。

[0069] 在一些实施方案中，如前两段中所述被修饰的Fc多肽包含在位置390处的天然Asn。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含在位置390处的Gly、His、Gln、Leu、Lys、Val、Phe、Ser、Ala或Asp。在一些实施方案中，根据EU编号方案，经修饰的Fc多肽还包含在包括380、391、392和415的位置处的一个、两个、三个或四个取代。在一些实施方案中，Trp、Tyr、Leu或Gln可存在于位置380处。在一些实施方案中，Ser、Thr、Gln或Phe可存在于位置391处。在一些实施方案中，Gln、Phe或His可存在于位置392处。在一些实施方案中，Glu可存在于位置415处。

[0070] 在某些实施方案中，根据EU编号，经修饰的Fc多肽包含在选自由380、384、386、387、388、389、390、413、415、416和421组成的组的位置处的至少两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或十一个取代。在某些实施方案中，根据EU编号，经修饰的Fc多肽包含在选自由380、384、386、387、388、389、390、413、415、416和421组成的组的位置处的至少八个取代。在某些实施方案中，根据EU编号，经修饰的Fc多肽包含在选自由380、384、386、387、388、389、390、413、415、416和421组成的组的位置处的至少九个取代。在某些实施方案中，根据EU编号，经修饰的Fc多肽包含在选自由380、384、386、387、388、389、390、413、415、416和421组成的组的位置处的至少十个取代。在某些实施方案中，根据EU编号，经修饰的Fc多肽包含在选自由380、384、386、387、388、389、390、413、415、416和421组成的组的位置处的十一个取代。在某些实施方案中，根据EU编号，经修饰的Fc多肽包含在位置384、386、387、388、389、413、415、416和421处的取代。

[0071] 在某些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含选自以下的两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或十一个位置：位置380处的Trp、Leu或Glu；位置384处的Tyr或Phe；位置386处的Thr；位置387处的Glu；位置388处的Trp；位置389处的Ser、Ala、Val或Asn；位置390处的Ser或Asn；位置413处的Thr或Ser；位置415处的Glu或Ser；位置416处的Glu；和/或位置421处的Phe，其中位置根据EU编号。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含：位置380处的Trp、Leu或Glu；位置384处的Tyr或Phe；位置386处的Thr；位置387处的Glu；位置388处的Trp；位置389处的Ser、Ala、Val或Asn；位置390处的Ser或Asn；位置413处的Thr或Ser；位置415处的Glu或Ser；位置416处的Glu；和位置421处的Phe，其中位置根据EU编号。

[0072] 在某些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含选自以下的两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或十一个位置：位置380处的Trp、Leu或Glu；位置384处的Tyr；位置386处的Thr；位置387处的Glu；位置388处的Trp；位置389处的Ser或Ala；位置390处的Ser或Asn；位置413处的Thr；位置415处的Glu；位置416处的Glu；和/或位置421处的Phe，其中位置根据EU编号。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含：位置380处的Trp、Leu或Glu；位置384处的Tyr；位置386处的Thr；位置387处的Glu；位置388处的Trp；位置389处的Ser或Ala；位置390处的Ser或Asn；位置413处的Thr；位置415处的Glu；位置416处的Glu；和位置421处的Phe，其中位置根据EU编号。

[0073] 在某些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含选自以下的两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或十一个位置：位置380处的Trp；位置384处的Tyr；位置386处的

Thr;位置387处的Glu;位置388处的Trp;位置389处的Ser;位置390处的Ser;位置413处的Thr;位置415处的Glu;位置416处的Glu;和/或位置421处的Phe,其中位置根据EU编号。在一些实施方案中,经修饰的Fc多肽包含:位置380处的Trp;位置384处的Tyr;位置386处的Thr;位置387处的Glu;位置388处的Trp;位置389处的Ser;位置390处的Ser;位置413处的Thr;位置415处的Glu;位置416处的Glu;和位置421处的Phe,其中位置根据EU编号。

[0074] 在某些实施方案中,经修饰的Fc多肽包含选自以下的两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或十一个位置:位置380处的Leu;位置384处的Tyr;位置386处的Thr;位置387处的Glu;位置388处的Trp;位置389处的Ala;位置390处的Ser;位置413处的Thr;位置415处的Glu;位置416处的Glu;和/或位置421处的Phe,其中位置根据EU编号。在一些实施方案中,经修饰的Fc多肽包含:位置380处的Leu;位置384处的Tyr;位置386处的Thr;位置387处的Glu;位置388处的Trp;位置389处的Ala;位置390处的Ser;位置413处的Thr;位置415处的Glu;位置416处的Glu;和位置421处的Phe,其中位置根据EU编号。

[0075] 在某些实施方案中,经修饰的Fc多肽包含选自以下的两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或十一个位置:位置380处的Glu;位置384处的Tyr;位置386处的Thr;位置387处的Glu;位置388处的Trp;位置389处的Ala;位置390处的Asn;位置413处的Thr;位置415处的Glu;位置416处的Glu;和/或位置421处的Phe,其中位置根据EU编号。在一些实施方案中,经修饰的Fc多肽包含:位置380处的Glu;位置384处的Tyr;位置386处的Thr;位置387处的Glu;位置388处的Trp;位置389处的Ala;位置390处的Asn;位置413处的Thr;位置415处的Glu;位置416处的Glu;和位置421处的Phe,其中位置根据EU编号。

[0076] 在某些实施方案中,经修饰的Fc多肽包含选自以下的两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或十一个位置:位置380处的Leu;位置384处的Tyr;位置386处的Thr;位置387处的Glu;位置388处的Trp;位置389处的Ser;位置390处的Ser;位置413处的Thr;位置415处的Glu;位置416处的Glu;和/或位置421处的Phe,其中位置根据EU编号。在一些实施方案中,经修饰的Fc多肽包含:位置380处的Leu;位置384处的Tyr;位置386处的Thr;位置387处的Glu;位置388处的Trp;位置389处的Ser;位置390处的Ser;位置413处的Thr;位置415处的Glu;位置416处的Glu;和位置421处的Phe,其中位置根据EU编号。

[0077] 在某些实施方案中,经修饰的Fc多肽包含位置384处的Leu或Met;位置386处的Leu、His或Pro;位置387处的Val;位置388处的Trp;位置389处的Val或Ala;位置413处的Pro;位置416处的Thr;和/或位置421处的Trp,其中位置根据EU编号。在一些实施方案中,根据EU编号,经修饰的Fc多肽还包含位置391处的Ser、Thr、Gln或Phe。在一些实施方案中,经修饰的Fc多肽还包含位置380处的Trp、Tyr、Leu或Gln和/或位置392处的Gln、Phe或His,其中位置根据EU编号。在一些实施方案中,根据EU编号,Trp存在于位置380处和/或Gln存在于位置392处。在一些实施方案中,根据EU编号,经修饰的Fc多肽不具有在位置380处的Trp。

[0078] 在其他实施方案中,经修饰的Fc多肽包含位置384处的Tyr;位置386处的Thr;位置387处的Glu或Val;位置388处的Trp;位置389处的Ser;位置413处的Ser或Thr;位置416处的Glu;和/或位置421处的Phe,其中位置根据EU编号。在一些实施方案中,根据EU编号,经修饰的Fc多肽包含在位置390处的天然Asn。在某些实施方案中,经修饰的Fc多肽还包含位置380处的Trp、Tyr、Leu或Gln;和/或位置415处的Glu,其中位置根据EU编号。在一些实施方案中,经修饰的Fc多肽还包含位置380处的Trp和/或位置415处的Glu,其中位置根据EU编号。

[0079] 在另外的实施方案中，根据EU编号方案，经修饰的Fc多肽还包含在包括414、424和426的位置处的一个、两个或三个取代。在一些实施方案中，位置414是Lys、Arg、Gly或Pro；位置424是Ser、Thr、Glu或Lys；和/或位置426是Ser、Trp或Gly。

[0080] 在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含以下取代中的一个或多个：位置380处的Trp；位置386处的Thr；位置388处的Trp；位置389处的Val；位置413处的Thr或Ser；位置415处的Glu；和/或位置421处的Phe，根据EU编号方案。

[0081] 在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含另外的突变，诸如在以下部分中描述的突变，包括但不限于，杵突变(例如，如参考EU编号进行编号的T366W)、臼突变(例如，如参考EU编号进行编号的T366S、L368A和Y407V)、调节效应功能的突变(例如，如参考EU编号进行编号的L234A、L235A和/或P329G(例如，L234A和L235A))，和/或增加血清稳定性或血清半衰期的突变(例如(i)参照EU编号而编号的M252Y、S254T和T256E，或(ii)根据EU编号方案进行编号的N434S，有或没有M428L)。举例来说，SEQ ID NO:6、7、25、28、29、30、41、42、44、47、48和49提供了具有在CH3结构域中的突变的经修饰的Fc多肽的非限制性实例，所述CH3结构域包含一个或多个这些另外的突变。

[0082] 在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含杵突变(例如，参考EU编号进行编号的T366W)。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含杵突变(例如，参考EU编号进行编号的T366W)和调节效应功能的突变(例如，参考EU编号进行编号的L234A、L235A和/或P329G(例如，L234A和L235A))。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:6、7、25、28、29、30、41、42、44、47、48或49的序列具有至少85％同一性、至少90％同一性、至少95％同一性、至少96％同一性、至少97％同一性、至少98％同一性或至少99％同一性。在某些实施方案中，经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:6、7、25、28、29或30的序列具有至少85％同一性、至少90％同一性、至少95％同一性、至少96％同一性、至少97％同一性、至少98％同一性或至少99％同一性。在某些实施方案中，经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:41、42、44、47、48或49的序列具有至少85％同一性、至少90％同一性、至少95％同一性、至少96％同一性、至少97％同一性、至少98％同一性或至少99％同一性。

[0083] 在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含杵突变(例如，如参考EU编号进行编号的T366W)和增加血清稳定性或血清半衰期的突变(例如(i)参考EU编号进行编号的M252Y、S254T和T256E，或(ii)根据EU编号方案进行编号的N434S，有或没有M428L)。

[0084] 在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含杵突变(例如，如参考EU编号进行编号的T366W)、调节效应功能的突变(例如，如参考EU编号进行编号的L234A、L235A和/或P329G(例如，L234A和L235A))，和增加血清稳定性或血清半衰期的突变(例如(i)参照EU编号进行编号的M252Y、S254T和T256E，或(ii)根据EU编号方案进行编号的N434S，有或没有M428L)。

[0085] 在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含臼突变(例如，如参考EU编号进行编号的T366S、L368A和Y407V)。

[0086] 在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含臼突变(例如，如参考EU编号进行编号的T366S、L368A和Y407V)和调节效应功能的突变(例如，如参考EU编号进行编号的L234A、L235A和/或P329G(例如，L234A和L235A))。

[0087] 在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含臼突变(例如如参考EU编号进行编号的T366S、L368A和Y407V)和增加血清稳定性或血清半衰期的突变(例如(i)参考EU编号进行编

号的M252Y、S254T和T256E,或(ii)根据EU编号方案进行编号的N434S,有或没有M428L)。

[0088] 在一些实施方案中,经修饰的Fc多肽包含臼突变(例如,如参考EU编号进行编号的T366S、L368A和Y407V)、调节效应功能的突变(例如,如参考EU编号进行编号的L234A、L235A和/或P329G(例如,L234A和L235A))、和增加血清稳定性或血清半衰期的突变(例如(i)参考EU编号进行编号的M252Y、S254T和T256E,或(ii)根据EU编号方案进行编号的N434S,有或没有M428L)。

[0089] 在一些实施方案中,根据EU编号方案,特异性结合TfR的经修饰的Fc多肽包含在位置345、346、347、349、437、438、439和440处的至少两个、三个、四个、五个、六个、七个、或八个取代。在一些实施方案中,经修饰的Fc多肽包含位置437处的Gly;位置438处的Phe;和/或位置440处的Asp。在一些实施方案中,Glu存在于位置440处。在某些实施方案中,经修饰的Fc多肽包含如下位置处的至少一个取代:位置345处的Phe或Ile;位置346处的Asp、Glu、Gly、Ala或Lys;位置347处的Tyr、Met、Leu、Ile或Asp;位置349处的Thr或Ala;位置437处的Gly;位置438处的Phe;位置439处的His、Tyr、Ser或Phe;或位置440处的Asp。在一些实施方案中,位置345、346、347、349、437、438、439和440中的两个、三个、四个、五个、六个、七个或全部八个具有如在本段中所指出的取代。在一些实施方案中,经修饰的Fc多肽可包含保守取代,例如该集合中的一个或多个位置处的指定氨基酸的相同电荷分组、疏水性分组、侧链环结构分组(例如,芳族氨基酸),或大小分组,和/或极性或非极性分组中的氨基酸。

[0090] 另外的Fc多肽突变

[0091] 在一些方面,文中所述的蛋白质分子包含两个Fc多肽,其各自包含独立选择的修饰或可以是野生型Fc多肽,例如人IgG1 Fc多肽。在一些实施方案中,一个或两个Fc多肽含有赋予与血脑屏障(BBB)受体例如转铁蛋白受体(TfR)的结合的一个或多个修饰。可以引入一个或两个Fc多肽中的其他突变的非限制性实例包括,例如,增加血清稳定性或血清半衰期、调节效应功能、影响糖基化、降低在人体中的免疫原性和/或提供Fc多肽的杵和臼异源二聚化的突变。

[0092] 在一些实施方案中,存在于蛋白质分子中的Fc多肽独立地具有与相应的野生型Fc多肽(例如,人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc多肽)至少约75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的氨基酸序列同一性。

[0093] 在一些实施方案中,蛋白质分子中存在的Fc多肽包含杵和臼突变,以促进异源二聚体形成并阻碍同源二聚体形成。通常,修饰在第一多肽的界面处引入突出部(“杵”),并且在第二多肽的界面中引入对应的腔穴(“臼”),使得突出部可以定位在腔穴中,以便促进异源二聚体形成,并且从而阻碍同源二聚体形成。通过将第一多肽的界面的小氨基酸侧链替换为更大侧链(例如,酪氨酸或色氨酸)来构造突出部。在第二多肽的界面中通过将大氨基酸侧链替换为更小的氨基酸侧链(例如,丙氨酸或苏氨酸)而产生具有与突出部相同或相似大小的补偿性腔穴。在一些实施方案中,此类另外的突变处于Fc多肽中对多肽与BBB受体(例如TfR)的结合没有负面影响的位置上。

[0094] 在用于二聚化的杵和臼方法的一个例示性实施方案中,蛋白质分子中存在的Fc多肽中的一个的位置366(根据EU编号方案进行编号)包含色氨酸代替了天然苏氨酸。二聚体中的另一个Fc多肽具有在位置407(根据EU编号方案进行编号)处的缬氨酸代替了天然酪氨

酸。另一个Fc多肽还可包含这样的取代:其中位置366(根据EU编号方案进行编号)处的天然苏氨酸被丝氨酸取代,并且位置368(根据EU编号方案进行编号)处的天然亮氨酸被丙氨酸取代。因此,本文所述的蛋白质分子的Fc多肽中的一个具有T366W杵突变,并且另一个Fc多肽具有Y407V突变,其通常伴有T366S和L368A臼突变。

[0095] 在一些实施方案中,可引入增强血清半衰期的修饰。例如,在一些实施方案中,如根据EU编号方案进行编号,本文所述的蛋白质分子中存在的一个或两个Fc多肽可包含位置252处的酪氨酸、位置254处的苏氨酸和位置256处的谷氨酸。因此,一个或两个Fc多肽可具有M252Y、S254T和T256E取代。可替代地,如根据EU编号方案进行编号,一个或两个Fc多肽可具有M428L和N434S取代。可替代地,一个或两个Fc多肽可具有N434S或N434A取代。

[0096] 在一些实施方案中,本文所述的蛋白质分子中存在的一个或两个Fc多肽可包含降低效应功能(即,在与介导效应功能的在效应细胞上表达的Fc受体结合后诱导某些生物学功能的能力降低)的修饰。抗体效应功能的实例包括但不限于C1q结合和补体依赖性细胞毒性(CDC)、Fc受体结合、抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(ADCP)、细胞表面受体(例如B细胞受体)的下调,以及B细胞活化。效应功能可随抗体类别而变化。例如,天然人IgG1和IgG3抗体在与存在于免疫系统细胞上的适当Fc受体结合后可以引发ADCC和CDC活性;并且天然人IgG1、IgG2、IgG3和IgG4在与存在于免疫细胞上的适当Fc受体结合后可以引发ADCP功能。

[0097] 在一些实施方案中,本文所述的蛋白质分子中存在的一个或两个Fc多肽还可被工程改造以含有用于异源二聚化的其他修饰,例如,CH3-CH3界面内的天然带电的接触残基的静电工程改造或疏水性补丁修饰(patch modification)。

[0098] 在一些实施方案中,本文所述的蛋白质分子中存在的一个或两个Fc多肽可包括调节效应功能的另外修饰。

[0099] 在一些实施方案中,本文所述的蛋白质分子中存在的一个或两个Fc多肽可包含减少或消除效应功能的修饰。根据EU编号方案,降低效应功能的例示性Fc多肽突变包括但不限于CH2结构域中的取代,例如在位置234和235处。例如,在一些实施方案中,一个或两个Fc多肽可以包含在位置234和235处的丙氨酸残基。因此,一个或两个Fc多肽可具有L234A和L235A(LALA)取代。

[0100] 调节效应功能的其它Fc多肽突变包括但不限于以下:位置329可具有其中脯氨酸被甘氨酸或精氨酸或大到足以破坏在Fc的脯氨酸329与FcγRIII的色氨酸残基Trp 87和Trp 110之间形成的Fc/Fcγ受体界面的氨基酸残基取代的突变。根据EU编号方案,另外的例示性取代包括S228P、E233P、L235E、N297A、N297D和P331S。还可存在多个取代,例如,根据EU编号方案,人IgG1 Fc区的L234A和L235A;人IgG1 Fc区的L234A、L235A和P329G;人IgG4 Fc区的S228P和L235E;人IgG1 Fc区的L234A和G237A;人IgG1 Fc区的L234A、L235A和G237A;人IgG2 Fc区的V234A和G237A;人IgG4Fc区的L235A、G237A和E318A;以及人IgG4 Fc区的S228P和L236E。在一些实施方案中,一个或两个Fc多肽可具有调节ADCC的一个或多个氨基酸取代,例如,根据EU编号方案,在位置298、333和/或334处的取代。

[0101] 包含另外的突变的例示性Fc多肽

[0102] 通过非限制性实例的方式,本文所述的蛋白质分子中存在的一个或两个Fc多肽可包含另外的突变,包括杵突变(例如,根据EU编号方案进行编号的T366W)、臼突变(例如,根

据EU编号方案进行编号的T366S、L368A和Y407V)、调节效应功能的突变(例如,根据EU编号方案进行编号的L234A、L235A和/或P329G(例如L234A和L235A)),和/或增加血清稳定性或血清半衰期的突变(例如,(i)参考EU编号进行编号的M252Y、S254T和T256E,或(ii)如根据EU编号方案进行编号的N434S,有或没有M428L)。

[0103] 在一些实施方案中,Fc多肽可具有杵突变(例如,根据EU编号方案进行编号的T366W)(例如,与SEQ ID NO:8的序列具有至少85%同一性、至少90%同一性或至少95%同一性)。

[0104] 在一些实施方案中,Fc多肽可具有杵突变(例如,根据EU编号方案进行编号的T366W)、调节效应功能的突变(例如,根据EU编号方案进行编号的L234A、L235A和/或P329G(例如L234A和L235A))。在一些实施方案中,Fc多肽可具有杵突变(例如,根据EU编号方案进行编号的T366W)、调节效应功能的突变(例如,根据EU编号方案进行编号的L234A、L235A和/或P329G(例如L234A和L235A))(例如,与SEQ ID NO:8的序列具有至少85%同一性、至少90%同一性或至少95%同一性)。

[0105] 在一些实施方案中,Fc多肽可具有杵突变(例如,根据EU编号方案进行编号的T366W)、增加血清稳定性或血清半衰期的的突变(例如,(i)参考EU编号进行编号的M252Y、S254T和T256E,或(ii)如根据EU编号方案进行编号的N434S,有或没有M428L)(例如,与SEQ ID NO:8的序列具有至少85%同一性、至少90%同一性或至少95%同一性)。

[0106] 在一些实施方案中,Fc多肽可具有杵突变(例如,根据EU编号方案进行编号的T366W)、调节效应功能的突变(例如,根据EU编号方案进行编号的L234A、L235A和/或P329G(例如L234A和L235A))、增加血清稳定性或血清半衰期的的突变(例如,(i)参考EU编号进行编号的M252Y、S254T和T256E,或(ii)如根据EU编号方案进行编号的N434S,有或没有M428L)(例如,与SEQ ID NO:8的序列具有至少85%同一性、至少90%同一性或至少95%同一性)。

[0107] 在一些实施方案中,Fc多肽可具有臼突变(例如,根据EU编号方案进行编号的T366S、L368A和Y407V)(例如,与SEQ ID NO:8的序列具有至少85%同一性、至少90%同一性或至少95%同一性)。

[0108] 在一些实施方案中,Fc多肽可具有臼突变(例如,根据EU编号方案进行编号的T366S、L368A和Y407V)、调节效应功能的突变(例如,根据EU编号方案进行编号的L234A、L235A和/或P329G(例如L234A和L235A))(例如,与SEQ ID NO:8的序列具有至少85%同一性、至少90%同一性或至少95%同一性)。

[0109] 在一些实施方案中,Fc多肽可具有臼突变(例如,根据EU编号方案进行编号的T366S、L368A和Y407V)、增加血清或血清半衰期的的突变(例如,(i)参考EU编号进行编号的M252Y、S254T和T256E,或(ii)如根据EU编号方案进行编号的N434S,有或没有M428L)(例如,与SEQ ID NO:8的序列具有至少85%同一性、至少90%同一性或至少95%同一性)。

[0110] 在一些实施方案中,Fc多肽可具有臼突变(例如,根据EU编号方案进行编号的T366S、L368A和Y407V)、调节效应功能的突变(例如,根据EU编号方案进行编号的L234A、L235A和/或P329G(例如L234A和L235A))、增加血清稳定性或血清半衰期的的突变(例如,(i)参考EU编号进行编号的M252Y、S254T和T256E,或(ii)如根据EU编号方案进行编号的N434S,有或没有M428L)(例如,与SEQ ID NO:8的序列具有至少85%同一性、至少90%同一性或至少95%同一性)。

[0111] 包含ERT酶的例示性蛋白质分子

[0112] 在一些方面，本文所述的蛋白质分子包含第一Fc多肽和第二Fc多肽，所述第二Fc多肽与ERT酶、ERT酶变体或其催化活性片段连接，其中第一Fc多肽与第二Fc多肽形成Fc二聚体。在一些实施方案中，第一Fc多肽和/或第二Fc多肽不包含免疫球蛋白重链和/或轻链可变区序列或其抗原结合部分。在一些实施方案中，第一Fc多肽是经修饰的Fc多肽和/或第二Fc多肽是经修饰的Fc多肽。在一些实施方案中，第一Fc多肽是经修饰的Fc多肽。在一些实施方案中，第二Fc多肽是经修饰的Fc多肽。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽含有一个或多个促进其与其它Fc多肽异二聚化的修饰。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽含有一个或多个降低效应功能的修饰。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽含有一个或多个延长血清半衰期的修饰。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽含有一个或多个赋予与血脑屏障(BBB)受体，例如转铁蛋白受体(TfR)结合的修饰。

[0113] 在其它方面，本文所述的蛋白质分子包含第一多肽链和第二多肽链，所述第一多肽链包含特异性结合BBB受体例如TfR的经修饰的Fc多肽，所述第二多肽链包含与经修饰的Fc多肽二聚化以形成Fc二聚体的Fc多肽。ERT酶可以与第一或第二多肽链连接。在一些实施方案中，ERT酶与第二多肽链连接。在一些实施方案中，蛋白质包含两种ERT酶，每种ERT酶与多肽链中的一个连接。在一些实施方案中，第二多肽链中的Fc多肽可以是BBB受体结合多肽，其与第一多肽链中的经修饰的Fc多肽特异性结合相同的BBB受体。在一些实施方案中，第二多肽链中的Fc多肽不特异性结合BBB受体。

[0114] 在一些实施方案中，本文所述的蛋白质分子包含第一多肽链和第二多肽链，所述第一多肽链包含特异性结合TfR的经修饰的Fc多肽，所述第二多肽链包含Fc多肽，其中经修饰的Fc多肽和Fc多肽二聚化形成Fc二聚体。在一些实施方案中，ERT酶与第一多肽链连接。在一些实施方案中，ERT酶与第二多肽链连接。在一些实施方案中，第二多肽链的Fc多肽不特异性结合BBB受体，例如TfR。

[0115] 在一些实施方案中，本文所述的蛋白质分子包含第一多肽链和第二多肽链，所述第一多肽链包含结合TfR并包含T366W(杵)取代的经修饰的Fc多肽；并且所述第二多肽链包含含有根据EU编号方案进行编号的T366S、L368A和Y407V(臼)取代的Fc多肽。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽和/或Fc多肽还包含根据EU编号方案进行编号的L234A和L235A(LALA)取代。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽和/或Fc多肽还包含根据EU编号方案进行编号的M252Y、S254T和T256E(YTE)取代。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽和/或Fc多肽还包含根据EU编号方案进行编号的L234A和L235A(LALA)取代以及M252Y、S254T和T256E(YTE)取代。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽和/或Fc多肽包含在根据EU编号方案进行编号的位置234、235、252、254、256和366处的人IgG1野生型残基。

[0116] 在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含如SEQ ID NO:6、28、29、41、47和48中任一个所指定的杵和LALA突变，并且与相应序列具有至少85％同一性、至少90％同一性、至少95％同一性、至少96％同一性、至少97％同一性、至少98％同一性或至少99％同一性；或包含SEQ ID NO:6、28、29、41、47和48中任一个的序列。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含如SEQ ID NO:6、28和29中任一个所指定的杵和LALA突变，并且与相应序列具有至少85％同一性、至少90％同一性、至少95％同一性、至少96％同一性、至少97％同一性、至少98％同一性或至少99％同一性；或包含SEQ ID NO:6、28和29中任一个的序列。在一些实施方案中，

经修饰的Fc多肽包含如SEQ ID NO:41、47和48中任一个所指定的杵和LALA突变，并且与相应序列具有至少85％同一性、至少90％同一性、至少95％同一性、至少96％同一性、至少97％同一性、至少98％同一性或至少99％同一性；或包含SEQ ID NO:41、47和48中任一个的序列。在一些实施方案中，Fc多肽包含如SEQ ID NO:14-17中任一个所指定的臼、LALA和/或YTE突变，并且与相应序列具有至少85％同一性、至少90％同一性、至少95％同一性、至少96％同一性、至少97％同一性、至少98％同一性或至少99％同一性；或包含SEQ ID NO:14-17中任一个的序列。在一些实施方案中，Fc多肽包含如SEQ ID NO:54-57中任一个所指定的臼、LALA和/或YTE突变，并且与相应序列具有至少85％同一性、至少90％同一性、至少95％同一性、至少96％同一性、至少97％同一性、至少98％同一性或至少99％同一性；或包含SEQ ID NO:54-57中任一个的序列。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含SEQ ID NO:6、28、29、41、47和48中任一个以及Fc多肽包含SEQ ID NO:14、15、16、17、54、55、56和57中任一个。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含SEQ ID NO:6、28和29中任一个以及Fc多肽包含SEQ ID NO:14-17中任一个。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含SEQ ID NO:41、47和48中任一个以及Fc多肽包含SEQ ID NO:54、55、56和57中任一个。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽和/或Fc多肽的N端包括IgG1铰链区的一部分(例如DKTHTCPPCP；SEQ ID NO:22)。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:7、25、30、42、44和49中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或包含SEQ ID NO:7、25、30、42、44和49中的任一个的序列。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:7、25和30中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或包含SEQ ID NO:7、25和30中的任一个的序列。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:42、44和49中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或包含SEQ ID NO:42、44和49中的任一个的序列。

[0117] 在一些实施方案中，本文所述的蛋白质分子包含第一多肽链和第二多肽链，所述第一多肽链包含结合TfR并包含T366S、L368A和Y407V(臼)取代的经修饰的Fc多肽；并且所述第二多肽链包含含有根据EU编号方案进行编号的T366W(杵)取代的Fc多肽。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽和/或Fc多肽还包含根据EU编号方案进行编号的L234A和L235A(LALA)取代。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽和/或Fc多肽还包含根据EU编号方案进行编号的M252Y、S254T和T256E(YTE)取代。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽和/或Fc多肽还包含根据EU编号方案进行编号的L234A和L235A(LALA)取代以及M252Y、S254T和T256E(YTE)取代。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽和/或Fc多肽包含在根据EU编号方案进行编号的位置234、235、252、254、256和366处的人IgG1野生型残基。

[0118] 在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽包含臼、LALA和YTE突变。在一些实施方案中，Fc多肽包含如SEQ ID NO:18-21中任一个所指定的杵、LALA和YTE突变，并且与相应序列具有至少85％同一性、至少90％同一性、至少95％同一性、至少96％同一性、至少97％同一性、至少98％同一性或至少99％同一性；或包含SEQ ID NO:18-21中任一个的序列。在一些实施方案中，Fc多肽包含如SEQ ID NO:58-61中任一个所指定的杵、LALA和YTE突变，并且与相应序列具有至少85％同一性、至少90％同一性、至少95％同一性、至少96％同一性、至少97％同一性、至少98％同一性或至少99％同一性；或包含SEQ ID NO:58-61中任一个的序列。在

一些实施方案中，经修饰的Fc多肽和/或Fc多肽的N端包括IgG1铰链区的一部分(例如DKTHTCPPCP;SEQ ID NO:22)。

[0119] 在一些实施方案中，存在于本文所述的蛋白质分子中的IDS酶与如下多肽链连接，所述多肽链包含与SEQ ID NO:14-17中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的Fc多肽，或包含SEQ ID NO:14-17中的任一个的序列(例如，作为融合多肽)。在一些实施方案中，存在于本文所述的蛋白质分子中的IDS酶与如下多肽链连接，所述多肽链包含与SEQ ID NO:14-17和SEQ ID NO:54-57中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的Fc多肽，或包含SEQ ID NO:14-17和SEQ ID NO:54-57中的任一个的序列(例如，作为融合多肽)。在一些实施方案中，IDS酶与Fc多肽的N端连接。在一些实施方案中，IDS酶通过接头(例如柔性接头)和/或铰链区或其部分(例如DKTHTCPPCP;SEQ ID NO:22)与Fc多肽连接。在一些实施方案中，IDS序列与SEQ ID NO:1、2、3和23中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性或包含SEQ ID NO:1、2、3和23中的任一个的序列。在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列与SEQ ID NO:4、5、24、26、31、33、39、40、43、45、50和52中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性或包含SEQ ID NO:4、5、24、26、31、33、39、40、43、45、50和52中的任一个的序列。在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列与SEQ ID NO:4、5、24、26、31和33中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性或包含SEQ ID NO:4、5、24、26、31和33中的任一个的序列。在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列与SEQ ID NO:39、40、43、45、50和52中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性或包含SEQ ID NO:39、40、43、45、50和52中的任一个的序列。在一些实施方案中，蛋白质分子包含与SEQ ID NOS:6、28、29、41、47和48中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的经修饰的Fc多肽，或包含SEQ ID NOS:6、28、29、41、47和48中的任一个的序列。在一些实施方案中，蛋白质分子包含与SEQ ID NO:6、28和29中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的经修饰的Fc多肽，或包含SEQ ID NO:6、28和29中的任一个的序列。在一些实施方案中，蛋白质分子包含与SEQ ID NO:41、47和48中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的经修饰的Fc多肽，或包含SEQ ID NO:41、47和48中的任一个的序列。在一些实施方案中，Fc多肽和/或经修饰的Fc多肽的N端包括IgG1铰链区的一部分(例如DKTHTCPPCP;SEQ ID NO:22)。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:7、25、30、42、49和50中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或包含SEQ ID NO:7、25、30、42、49和50中的任一个的序列。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:7、25和30中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或包含SEQ ID NO:7、25和30中的任一个的序列。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:42、49和50中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或包含SEQ ID NO:42、49和50中的任一个的序列。

[0120] 在一些实施方案中，存在于本文所述的蛋白质分子中的IDS酶与如下多肽链连接，

所述多肽链包含与SEQ ID NO:14-17中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的Fc多肽，或包含SEQ ID NO:14-17中的任一个的序列(例如，作为融合多肽)。在一些实施方案中，存在于本文所述的蛋白质分子中的IDS酶与如下多肽链连接，所述多肽链包含与SEQ ID NO:54-57中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的Fc多肽，或包含SEQ ID NO:54-57中的任一个的序列(例如，作为融合多肽)。在一些实施方案中，IDS酶与Fc多肽的N端连接。在一些实施方案中，IDS酶通过接头(例如柔性接头)和/或铰链区或其部分(例如DKTHTCPPCP;SEQ ID NO:22)与Fc多肽连接。在一些实施方案中，IDS序列与SEQ ID NO:1、2和3中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性或包含SEQ ID NO:1、2和3中的任一个的序列。在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列与SEQ ID NO:4、5、39和40中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性或包含SEQ ID NO:4、5、39和40中的任一个的序列。在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列与SEQ ID NO:4和5中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性或包含SEQ ID NO:4和5中的任一个的序列。在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列与SEQ ID NO:39和40中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性或包含SEQ ID NO:39和40中的任一个的序列。在一些实施方案中，蛋白质分子包含与SEQ ID NOS:6具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的经修饰的Fc多肽，或包含SEQ ID NOS:6的序列。在一些实施方案中，蛋白质分子包含与SEQ ID NOS:41具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的经修饰的Fc多肽，或包含SEQ ID NOS:41的序列。在一些实施方案中，Fc多肽和/或经修饰的Fc多肽的N端包括IgG1铰链区的一部分(例如DKTHTCPPCP;SEQ ID NO:22)。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:7具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性，或包含SEQ ID NO:7的序列。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:42具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性，或包含SEQ ID NO:42的序列。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:25具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性，或包含SEQ ID NO:25的序列。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:44具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性，或包含SEQ ID NO:44的序列。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:30具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性，或包含SEQ ID NO:30的序列。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:49具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性，或包含SEQ ID NO:49的序列。

[0121] 在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列与SEQ ID NO:4和5中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性，或包含SEQ ID NO:4和5中的任一个的序列;经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:6具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性，或包含SEQ ID NO:6的序列。

[0122] 在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列包含SEQ ID NO:4和5中的任一个的序列；并且经修饰的Fc多肽包含SEQ ID NO:6的序列。

[0123] 在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列与SEQ ID NO:39和40中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或包含SEQ ID NO:39和40中的任一个的序列；并且经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:41具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或包含SEQ ID NO:41的序列。

[0124] 在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列包含SEQ ID NO:39和40中的任一个的序列；并且经修饰的Fc多肽包含SEQ ID NO:41的序列。

[0125] 在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列与SEQ ID NO:4和5中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或包含SEQ ID NO:4和5中的任一个的序列；并且经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:7具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或包含SEQ ID NO:7的序列。

[0126] 在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列包含SEQ ID NO:4和5中的任一个的序列；并且经修饰的Fc多肽包含SEQ ID NO:7的序列。

[0127] 在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列与SEQ ID NO:39和40中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或包含SEQ ID NO:39和40中的任一个的序列；并且经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:42具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或包含SEQ ID NO:42的序列。

[0128] 在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列包含SEQ ID NO:39和40中的任一个的序列；并且经修饰的Fc多肽包含SEQ ID NO:42的序列。

[0129] 在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列与SEQ ID NO:4和5中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或包含SEQ ID NO:4和5中的任一个的序列；并且经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:25具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或包含SEQ ID NO:25的序列。

[0130] 在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列包含SEQ ID NO:4和5中的任一个的序列；并且经修饰的Fc多肽包含SEQ ID NO:25的序列。

[0131] 在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列与SEQ ID NO:39和40中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或包含SEQ ID NO:39和40中的任一个的序列；并且经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:44具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或包含SEQ ID NO:44的序列。

[0132] 在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列包含SEQ ID NO:39和40中的任一个的序列；并且经修饰的Fc多肽包含SEQ ID NO:44的序列。

[0133] 在一些实施方案中，与Fc多肽连接的IDS序列与SEQ ID NO:4和5中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性，或包含

SEQ ID NO:4和5中的任一个的序列;并且经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:30具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性,或包含SEQ ID NO:30的序列。

[0134] 在一些实施方案中,与Fc多肽连接的IDS序列包含SEQ ID NO:4和5中的任一个的序列;并且经修饰的Fc多肽包含SEQ ID NO:30的序列。

[0135] 在一些实施方案中,与Fc多肽连接的IDS序列与SEQ ID NO:39和40中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性,或包含SEQ ID NO:39和40中的任一个的序列;并且经修饰的Fc多肽与SEQ ID NO:49具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性,或包含SEQ ID NO:49的序列。

[0136] 在一些实施方案中,与Fc多肽连接的IDS序列包含SEQ ID NO:39和40中的任一个的序列;并且经修饰的Fc多肽包含SEQ ID NO:49的序列。

[0137] 在一些实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:24的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:29和30中的任一个(例如,SEQ ID NO:30)的序列的经修饰的Fc多肽。在其他实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:24的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:7和28中的任一个(例如,SEQ ID NO:7)的序列的经修饰的Fc多肽。在一些实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:24的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:6的序列的经修饰的Fc多肽,其中经修饰的Fc多肽的N端任选地包括IgG1铰链区的一部分(例如,DKTHTCPPCP;SEQ ID NO:22)。在一些实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:24的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:25的序列的经修饰的Fc多肽。

[0138] 在一些实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:43的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:48和49中的任一个(例如,SEQ ID NO:49)的序列的经修饰的Fc多肽。在其他实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:43的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:42和47中的任一个(例如,SEQ ID NO:42)的序列的经修饰的Fc多肽。在一些实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:43的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:41的序列的经修饰的Fc多肽,其中经修饰的Fc多肽的N端任选地包括IgG1铰链区的一部分(例如,DKTHTCPPCP;SEQ ID NO:22)。在一些实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:43的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:44的序列的经修饰的Fc多肽。

[0139] 在一些实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:4的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:29和30中的任一个(例如,SEQ ID NO:30)的序列的经修饰的Fc多肽。在其他实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:4的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:7和28中的任一个(例如,SEQ ID NO:7)的序列的经修饰的Fc多肽。在一些实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:4的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:6的序列的经修饰的Fc多肽,其中经修饰的Fc多肽的N端任选地包括IgG1铰链区的一部分(例如,DKTHTCPPCP;SEQ ID NO:22)。在一些实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:4的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:25的序列的经修饰的Fc多肽。

[0140] 在一些实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:39的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:48和49中的任一个(例如,SEQ ID NO:49)的序列的经修饰的Fc多肽。在其他实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:39的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有

SEQ ID NO:42和47中的任一个(例如,SEQ ID NO:42)的序列的经修饰的Fc多肽。在一些实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:39的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:41的序列的经修饰的Fc多肽,其中经修饰的Fc多肽的N端任选地包括IgG1铰链区的一部分(例如,DKTHTCPPCP;SEQ ID NO:22)。在一些实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:39的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:44的序列的经修饰的Fc多肽。

[0141] 在一些实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:5的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:29和30中的任一个(例如,SEQ ID NO:30)的序列的经修饰的Fc多肽。在其他实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:5的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:7和28中的任一个(例如,SEQ ID NO:7)的序列的经修饰的Fc多肽。在一些实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:5的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:6的序列的经修饰的Fc多肽,其中经修饰的Fc多肽的N端任选地包括IgG1铰链区的一部分(例如,DKTHTCPPCP;SEQ ID NO:22)。在一些实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:5的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:25的序列的经修饰的Fc多肽。

[0142] 在一些实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:40的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:48和49中的任一个(例如,SEQ ID NO:49)的序列的经修饰的Fc多肽。在其他实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:40的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:42和47中的任一个(例如,SEQ ID NO:42)的序列的经修饰的Fc多肽。在一些实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:40的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:41的序列的经修饰的Fc多肽,其中经修饰的Fc多肽的N端任选地包括IgG1铰链区的一部分(例如,DKTHTCPPCP;SEQ ID NO:22)。在一些实施方案中,蛋白质分子包含含有SEQ ID NO:40的序列的IDS-Fc融合多肽,和含有SEQ ID NO:44的序列的经修饰的Fc多肽。

[0143] 在一些实施方案中,存在于本文所述的蛋白质分子中的IDS酶与如下多肽链连接,所述多肽链包含与SEQ ID NO:18-21中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的Fc多肽,或包含SEQ ID NO:18-21中的任一个的序列(例如,作为融合多肽)。在一些实施方案中,存在于本文所述的蛋白质分子中的IDS酶与如下多肽链连接,所述多肽链包含与SEQ ID NO:58-61中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的Fc多肽,或包含SEQ ID NO:58-61中的任一个的序列(例如,作为融合多肽)。在一些实施方案中,IDS酶通过接头(例如柔性接头)和/或铰链区或其部分(例如DKTHTCPPCP;SEQ ID NO:22)与Fc多肽连接。在一些实施方案中,IDS酶包含与SEQ ID NO:2、3和23中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性的序列,或包含SEQ ID NO:2、3和23中的任一个的序列。在一些实施方案中,与Fc多肽连接的IDS序列与SEQ ID NO:27、32和34中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性,或包含SEQ ID NO:27、32和34中的任一个的序列。在一些实施方案中,与Fc多肽连接的IDS序列与SEQ ID NO:46、51和53中的任一个具有至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%同一性,或包含SEQ ID NO:46、51和53中的任一个的序列。在一些实施方案中,Fc多肽和/或经修饰的Fc多肽的N端包括IgG1铰链区的一部分(例如DKTHTCPPCP;SEQ ID NO:22)。

[0144] 在一些实施方案中,存在于本文所述的蛋白质分子中的IDS酶与如下多肽链连接,

所述多肽链包含与SEQ ID NO:6、28和29中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的经修饰的Fc多肽，或包含SEQ ID NO:6、28和29中的任一个的序列(例如，作为融合多肽)。在一些实施方案中，存在于本文所述的蛋白质分子中的IDS酶与如下多肽链连接，所述多肽链包含与SEQ ID NO:41、47和48中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的经修饰的Fc多肽，或包含SEQ ID NO:41、47和48中的任一个的序列(例如，作为融合多肽)。在一些实施方案中，IDS酶通过接头(例如柔性接头)和/或铰链区或其部分(例如DKTHTCPPCP；SEQ ID NO:22)与经修饰的Fc多肽连接。在一些实施方案中，IDS酶包含与SEQ ID NO:2、3和23中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的IDS序列，或包含SEQ ID NO:2、3和23中的任一个的序列。在一些实施方案中，蛋白质分子包含与SEQ ID NO:14-17中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的Fc多肽，或包含SEQ ID NO:14-17中的任一个的序列。在一些实施方案中，蛋白质分子包含与SEQ ID NO:54-57中的任一个具有至少85％、至少90％、至少95％、至少96％、至少97％、至少98％或至少99％同一性的Fc多肽，或包含SEQ ID NO:54-57中的任一个的序列。在一些实施方案中，经修饰的Fc多肽和/或Fc多肽的N端包括IgG1铰链区的一部分(例如DKTHTCPPCP；SEQ ID NO:22)。

[0145] 与Fc多肽连接的ERT酶

[0146] 在一些实施方案中，本文所述的蛋白质分子包含如本文所述的两个Fc多肽，且Fc多肽中的一个或两个可进一步包含部分或完全铰链区。铰链区可以来自任何免疫球蛋白亚类或同种型。例示性的免疫球蛋白铰链是IgG铰链区，例如IgG1铰链区，例如人IgG1铰链氨基酸序列EPKSCDKTHTCPPCP(SEQ ID NO:12)或其部分(例如DKTHTCPPCP；SEQ ID NO:22)。在一些实施方案中，铰链区在Fc多肽的N端区域。

[0147] 在一些实施方案中，Fc多肽通过接头例如肽接头与ERT酶连接。在一些实施方案中，Fc多肽通过肽键或通过肽接头与ERT酶连接，例如是融合多肽。肽接头可以被配置成使得它允许ERT酶相对于它所连接的Fc多肽旋转；和/或对蛋白酶的消化有抗性。肽接头可以含有天然氨基酸、非天然氨基酸或其组合。在一些实施方案中，肽接头可以是柔性接头，例如含有氨基酸如Gly、Asn、Ser、Thr、Ala等。此类接头是使用已知参数设计的，并且可以具有任何长度并且含有任何数量的任何长度的重复单元(例如，Gly和Ser残基的重复单元)。例如，接头可以具有重复，例如2、3、4、5或更多个Gly_4-Ser(SEQ ID NO:36)重复或单个Gly_4-Ser(SEQ ID NO:36)。在一些实施方案中，肽接头可以包括蛋白酶裂解位点，例如，其可以被存在于中枢神经系统中的酶裂解。

[0148] 在一些实施方案中，ERT酶例如通过Gly_4-Ser接头(SEQ ID NO:36)或$(Gly_4\text{-}Ser)_2$接头(SEQ ID NO:37)与Fc多肽的N端连接。在一些实施方案中，Fc多肽可包含在N端的与接头连接或直接与ERT酶连接的铰链序列或部分铰链序列。

[0149] 在一些实施方案中，ERT酶例如通过Gly_4-Ser接头(SEQ ID NO:36)或$(Gly_4\text{-}Ser)_2$接头(SEQ ID NO:37)与Fc多肽的C端连接。在一些实施方案中，Fc多肽的C端直接与ERT酶连接。

[0150] 在一些实施方案中，ERT酶通过化学交联剂与Fc多肽连接。此类缀合物可使用熟知的化学交联试剂和方案产生。例如，许多本领域技术人员已知的化学交联剂可用于使多肽

与感兴趣的剂交联。例如，交联剂是异双功能交联剂，其可用于以逐步方式连接分子。异双功能交联剂提供了设计用于缀合蛋白质的更具特异性偶联方法，从而减少不需要的副反应例如同蛋白聚合物的发生的能力。本领域已知多种异双功能交联剂，包括N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)或其水溶性类似物N-羟基磺基琥珀酰亚胺(磺基-NHS)、4-(N-马来酰亚胺甲基)环己烷-1-甲酸琥珀酰亚胺基酯(SMCC)、间马来酰亚胺苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯(MBS)；(4-碘乙酰基)氨基苯甲酸N-琥珀酰亚胺基酯(SIAB)、4-(对马来酰亚胺基苯基)丁酸琥珀酰亚胺基酯(SMPB)、1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC)；4-琥珀酰亚胺氧基羰基-a-甲基-a-(2-吡啶基二硫代)-甲苯(SMPT)、3-(2-吡啶基二硫代)丙酸N-琥珀酰亚胺基酯(SPDP)和6-[3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯]己酸琥珀酰亚胺基酯(LC-SPDP)。具有N-羟基琥珀酰亚胺部分的那些交联剂可以作为N-羟基磺基琥珀酰亚胺类似物获得，其通常具有更大的水溶性。此外，在连接链内具有二硫桥的那些交联剂可以合成为烷基衍生物，以减少体内接头裂解的量。除了异双功能交联剂之外，还存在许多其它交联剂，包括同双官能和光反应性交联剂。二琥珀酰亚胺基次酸盐(DSS)、双马来酰亚胺己烷(BMH)和庚二酰亚胺酸二甲酯。2HCl(DMP)是有用的同双功能交联剂的实例，并且双-[B-(4-叠氮基水杨基氨基)乙基]二硫化物(BASED)和N-琥珀酰亚胺基-6(4'-叠氮基-2'-硝基苯基氨基)己酸酯(SANPAH)是有用的光反应性交联剂的实例。

[0151] 蛋白质分子的浓度

[0152] 在某些实施方案中，本文所述的药物组合物(例如，水性、预冻干、冻干或复原形式)中蛋白质分子的浓度为约5-50mg/mL、5-45mg/mL、5-40mg/mL、5-35mg/mL、5-30mg/mL、10-40mg/mL或10-30mg/mL。在某些实施方案中，本文所述的水性/液体药物组合物中蛋白质分子的浓度为约5-50mg/mL、5-45mg/mL、5-40mg/mL、5-35mg/mL、5-30mg/mL、10-40mg/mL或10-30mg/mL。

[0153] 在某些实施方案中，蛋白质分子浓度为约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45或50mg/mL±2mg/mL。在某些实施方案中，蛋白质分子浓度为约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45或50mg/mL。

[0154] 在某些实施方案中，蛋白质分子浓度为约10mg/mL±2mg/mL。在某些实施方案中，蛋白质分子浓度为约15mg/mL±2mg/mL。在某些实施方案中，蛋白质分子浓度为约20mg/mL±2mg/mL。在某些实施方案中，蛋白质分子浓度为约25mg/mL±2mg/mL。在某些实施方案中，蛋白质分子浓度为约30mg/mL±2mg/mL。在某些实施方案中，蛋白质分子浓度为约35mg/mL±2mg/mL。在某些实施方案中，蛋白质分子浓度为约40mg/mL±2mg/mL。

[0155] 在某些实施方案中，蛋白质分子浓度为约10mg/mL。在某些实施方案中，蛋白质分子浓度为约15mg/mL。在某些实施方案中，蛋白质分子浓度为约20mg/mL。在某些实施方案中，蛋白质分子浓度为约25mg/mL。在某些实施方案中，蛋白质分子浓度为约30mg/mL。在某些实施方案中，蛋白质分子浓度为约35mg/mL。在某些实施方案中，蛋白质分子浓度为约40mg/mL。

[0156] 缓冲剂

[0157] 药物组合物的pH能够改变治疗剂(例如酶或蛋白质)在水性制剂或冻干前或复原

制剂中的溶解度。因此，在某些实施方案中，本文所述的药物组合物包含一种或多种缓冲剂。在一些实施方案中，本文所述的药物组合物包含足以将所述组合物的最佳pH维持在约5.0-7.5之间的量的缓冲剂。

[0158] 因此，在某些实施方案中，本文所述的药物组合物的pH为约5.0至7.5、或约5.0至7.0、或约5.5至7.0。

[0159] 在某些实施方案中，本文所述的药物组合物的pH为约5.0、5.5、6.0、6.5或7.0±0.5。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物的pH为约5.5、6.0、6.5或7.0±0.3。

[0160] 在某些实施方案中，本文所述的药物组合物的pH为约5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9或7.0±0.2。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物的pH为约5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9或7.0。

[0161] 在某些实施方案中，本文所述的药物组合物的pH为约5.5±0.5、5.8±0.5、6.0±0.5、6.2±0.5、6.5±0.5或6.8±0.5。

[0162] 在某些实施方案中，本文所述的药物组合物的pH为约5.5±0.3、5.8±0.3、6.0±0.3、6.2±0.3、6.5±0.3或6.8±0.3。

[0163] 在某些实施方案中，本文所述的药物组合物的pH为约5.5±0.2、5.8±0.2、6.0±0.2、6.2±0.2、6.5±0.2或6.8±0.2。

[0164] 在某些实施方案中，本文所述的药物组合物的pH为约5.0。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物的pH为约5.5。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物的pH为约5.8。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物的pH为约6.0。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物的pH为约6.2。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物的pH为约6.5。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物的pH为约6.8。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物的pH为约7.0。

[0165] 合适的缓冲剂包括例如乙酸盐、精氨酸、柠檬酸盐、组氨酸、磷酸盐、琥珀酸盐、三(羟甲基)氨基甲烷(“Tris”)和其它有机酸。在某些实施方案中，缓冲剂选自由以下组成的组：磷酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、精氨酸缓冲剂和组氨酸缓冲剂。在一些实施方案中，缓冲剂以约1mM至约150mM、或约10mM至约50mM、或约5mM至约50mM、或约15mM至约50mM、或约20mM至约50mM、或约25mM至约50mM、或约10mM至约30mM的浓度存在。在一些实施方案中，合适的缓冲剂以约1mM、5mM、10mM、15mM、20mM、25mM、30mM、35mM、40mM、45mM、50mM、75mM、100mM、125mM或150mM的浓度存在。

[0166] 磷酸钠和其它基于磷酸盐的缓冲剂，如磷酸钾缓冲剂，可用于将IDS酶保持在可逆非活性状态，从而在适当的储存条件下(例如，在如本文所公开的pH范围下，在2℃至25℃范围内的温度下)保持酶的稳定性。因此，在某些实施方案中，本文所述的药物组合物包含含有磷酸盐的缓冲剂(即，磷酸盐缓冲剂)。

[0167] 在某些实施方案中，本文所述的药物组合物包含含有磷酸钠的缓冲剂。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物中磷酸钠缓冲剂的浓度为约5-50mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约10-50mM、5-45mM、5-40mM、5-35mM、5-30mM、10-40mM、10-30mM、10-25mM或15-25mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约10-50mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约10-40mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约10-30mM。在某

些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约15-25mM。

[0168] 在某些实施方案中，本文所述的药物组合物中磷酸钠缓冲剂浓度为约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45或50mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45或50mM。

[0169] 在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约5mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约10mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约15mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约20mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约25mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约30mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约35mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约40mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约45mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约50mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约5mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约10mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约15mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约20mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约25mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约30mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约35mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约40mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约45mM。在某些实施方案中，磷酸钠缓冲剂浓度为约50mM。

[0170] 在某些实施方案中，本文所述的药物组合物包含含有磷酸钾的缓冲剂。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物中磷酸钾缓冲剂的浓度为约5-50mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约10-50mM、5-45mM、5-40mM、5-35mM、5-30mM、10-40mM、10-30mM、10-25mM或15-25mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约10-50mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约10-40mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约10-30mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约15-25mM。

[0171] 在某些实施方案中，本文所述的药物组合物中磷酸钾缓冲剂浓度为约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45或50mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45或50mM。

[0172] 在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约5mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约10mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约15mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约20mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约25mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约30mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约35mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约40mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约45mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约50mM±3mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约5mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约10mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约15mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约20mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约25mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约30mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约

35mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约40mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约45mM。在某些实施方案中，磷酸钾缓冲剂浓度为约50mM。

[0173] 等渗剂

[0174] 在一些实施方案中，本文所述的呈水性、预冻干、冻干或复原形式的药物组合物包含一种或多种等渗剂以使组合物保持等渗。通常，“等渗”是指目标制剂具有与人血液基本相同的渗透压。等渗制剂将通常具有约240mOsm/kg至约350mOsm/kg的渗透压。等渗性可使用例如蒸气压或冰点型渗透压计测量。示例性的等渗剂包括但不限于甘氨酸、山梨糖醇、甘露糖醇、氯化钠和精氨酸。在一些实施方案中，合适的等渗剂可以约0.01-5重量％(例如，0.05、0.1、0.15、0.2、0.3、0.4、0.5、0.75、1.0、1.25、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0或5.0重量％)的浓度存在于水性和/或预冻干制剂中。在一些实施方案中，用于冻干的制剂含有等渗剂以保持预冻干制剂或复原制剂等渗。

[0175] 类似于磷酸钠和其它基于磷酸盐的缓冲剂，某些盐可用于将IDS酶保持在可逆的非活性状态，从而在适当的储存条件下(例如，在如本文所公开的pH范围内，在2℃至25℃范围内的温度下)保持酶的稳定性。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物包含盐，例如钠盐。在某些实施方案中，盐(例如钠盐)的浓度为约20-175mM、20-170mM、20-165mM、20-160mM、20-155mM、25-150mM、30-150mM、30-145mM、30-140mM、30-135mM、30-130mM、30-125mM、30-120mM、30-115mM、30-110mM、30-105mM、30-100mM、30-95mM、30-90mM、30-85mM、30-80mM、30-75mM、30-70mM、30-65mM、30-60mM或40-60mM。在某些实施方案中，盐(例如钠盐)浓度为约40-150mM、40-145mM、40-140mM、40-135mM、40-130mM、40-125mM、40-120mM、40-115mM、40-110mM、40-105mM、40-100mM、40-95mM、40-90mM、40-85mM、40-80mM、40-75mM、40-70mM或40-65mM。在某些实施方案中，盐(例如钠盐)浓度为约30-150mM。在某些实施方案中，盐(例如钠盐)浓度为约40-140mM。在某些实施方案中，盐(例如钠盐)浓度为约50-137mM。在某些实施方案中，盐(例如钠盐)浓度为约40-100mM。在某些实施方案中，盐(例如钠盐)浓度为约40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139或140mM±2mM。在某些实施方案中，盐(例如钠盐)浓度为约40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139或140mM。

[0176] 在某些实施方案中，盐可以是选自由以下组成的组的盐：氯化钠、硫酸钠、磷酸钠和乙酸铜。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物包含钠盐，例如氯化钠、硫酸钠或磷酸钠。

[0177] 在某些实施方案中，本文所述的药物组合物包含氯化钠。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物中的氯化钠浓度为约20-175mM、20-170mM、20-165mM、20-160mM、20-155mM、25-150mM、30-150mM、30-145mM、30-140mM、30-135mM、30-130mM、30-125mM、30-

120mM、30-115mM、30-110mM、30-105mM、30-100mM、30-95mM、30-90mM、30-85mM、30-80mM、30-75mM、30-70mM、30-65mM、30-60mM或40-60mM。

[0178] 在某些实施方案中，氯化钠浓度为约40-150mM、40-145mM、40-140mM、40-135mM、40-130mM、40-125mM、40-120mM、40-115mM、40-110mM、40-105mM、40-100mM、40-95mM、40-90mM、40-85mM、40-80mM、40-75mM、40-70mM或40-65mM。

[0179] 在某些实施方案中，氯化钠浓度为约30-150mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约40-140mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约50-137mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约40-100mM。

[0180] 在某些实施方案中，氯化钠浓度为约40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139或140mM±2mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139或140mM。

[0181] 在某些实施方案中，氯化钠浓度为约40mM±2mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约45mM±2mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约50mM±2mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约55mM±2mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约40mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约45mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约50mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约55mM。

[0182] 在某些实施方案中，氯化钠浓度为约130mM±2mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约135mM±2mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约137mM±2mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约140mM±2mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约145mM±2mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约130mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约135mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约137mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约140mM。在某些实施方案中，氯化钠浓度为约145mM。

[0183] 表面活性剂

[0184] 在某些实施方案中，本文所述的药物组合物包含一种或多种表面活性剂。示例性表面活性剂包括非离子表面活性剂，诸如聚山梨酸酯(例如，聚山梨酸酯20、聚山梨酸酯40、聚山梨酸酯60、聚山梨酸酯80及其组合)；泊洛沙姆(例如，泊洛沙姆188)；Triton；十二烷基硫酸钠(SDS)；月桂硫酸钠；辛基糖苷钠；月桂基磺基甜菜碱、肉豆蔻基磺基甜菜碱、亚油烯基(linoleyl)磺基甜菜碱或硬脂酰基磺基甜菜碱；月桂基肌氨酸、肉豆蔻基肌氨酸、亚油烯基肌氨酸或硬脂酰基肌氨酸；亚油烯基甜菜碱、肉豆蔻基甜菜碱或鲸蜡基甜菜碱；月桂酰胺丙基甜菜碱、椰油酰胺丙基甜菜碱、亚油酰胺丙基甜菜碱、肉豆蔻酰胺丙基甜菜碱、棕榈酰胺丙基(palmidopropyl)甜菜碱或异硬脂酰胺丙基甜菜碱(例如月桂酰胺丙基甜菜碱)；肉

豆蔻酰胺丙基二甲胺、棕榈酰胺丙基二甲胺或异硬脂酰胺丙基二甲胺;甲基椰油酰基牛磺酸钠或甲基油烯基牛磺酸二钠;和MONAQUAT™系列(Mona Industries,Inc.,Paterson,N.J.)、聚乙二醇、聚丙二醇、以及乙二醇和丙二醇的共聚物(例如,Pluronics、PF68等)。

[0185] 在某些实施方案中,表面活性剂包括聚山梨酸酯。在某些实施方案中,表面活性剂选自由以下组成的组:聚山梨酸酯-20(PS-20)和聚山梨酸酯-80(PS-80)。在某些实施方案中,表面活性剂是聚山梨酸酯-20(PS-20)。在某些实施方案中,表面活性剂是聚山梨酸酯-80(PS-80)。

[0186] 在某些实施方案中,表面活性剂包含泊洛沙姆。

[0187] 通常,所添加的表面活性剂的量使得其减少蛋白质的聚集并使微粒或泡腾的形成最小化。例如,表面活性剂可以以约0.01-5mg/mL(例如,约0.05-0.5mg/mL、或约0.05-0.1mg/mL)的浓度存在于药物组合物中。特别地,表面活性剂可以以约0.05mg/mL、0.1mg/mL、0.2mg/mL、1.0mg/mL、2.0mg/mL、3.0mg/mL、4mg/mL或5.0mg/mL等的浓度存在于药物组合物中。替代地或另外地,可将表面活性剂添加到冻干制剂、预冻干制剂和/或复原制剂中。

[0188] 在某些实施方案中,本文所述的药物组合物中的表面活性剂浓度为约0.1-1.0mg/mL、0.1-0.9mg/mL、0.1-0.8mg/mL、0.1-0.7mg/mL、0.1-0.6mg/mL、0.1-0.5mg/mL、0.2-1.0mg/mL、0.2-0.9mg/mL、0.2-0.8mg/mL、0.2-0.7mg/mL、0.2-0.6mg/mL、0.3-0.8mg/mL、0.3-0.7mg/mL、0.3-0.6mg/mL、0.3-0.5mg/mL、0.4-0.8mg/mL、0.4-0.7mg/mL、0.5-0.8mg/mL或0.5-0.7mg/mL。

[0189] 在某些实施方案中,表面活性剂浓度为约0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9或1.0mg/mL±0.1mg/mL。在某些实施方案中,表面活性剂浓度为约0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9或1.0mg/mL。

[0190] 在某些实施方案中,表面活性剂浓度为约0.2mg/mL±0.1mg/mL。在某些实施方案中,表面活性剂浓度为约0.3mg/mL±0.1mg/mL。在某些实施方案中,表面活性剂浓度为约0.4mg/mL±0.1mg/mL。在某些实施方案中,表面活性剂浓度为约0.5mg/mL±0.1mg/mL。在某些实施方案中,表面活性剂浓度为约0.6mg/mL±0.1mg/mL。在某些实施方案中,表面活性剂浓度为约0.7mg/mL±0.1mg/mL。

[0191] 在某些实施方案中,表面活性剂浓度为约0.2mg/mL。在某些实施方案中,表面活性剂浓度为约0.3mg/mL。在某些实施方案中,表面活性剂浓度为约0.4mg/mL。在某些实施方案中,表面活性剂浓度为约0.5mg/mL。在某些实施方案中,表面活性剂浓度为约0.6mg/mL。在某些实施方案中,表面活性剂浓度为约0.7mg/mL。

[0192] 在某些实施方案中,表面活性剂是聚山梨酸酯表面活性剂,并且聚山梨酸酯表面活性剂在本文所述的药物组合物中的浓度为约0.4-0.7mg/mL。在某些实施方案中,聚山梨酸酯表面活性剂浓度为约0.4mg/mL。在某些实施方案中,聚山梨酸酯表面活性剂浓度为约0.5mg/mL。在某些实施方案中,聚山梨酸酯表面活性剂浓度为约0.6mg/mL。在某些实施方案中,聚山梨酸酯表面活性剂浓度为约0.7mg/mL。

[0193] 稳定剂

[0194] 在一些实施方案中,本文所述的药物组合物可含有一种或多种稳定剂、冷冻保护剂或冻干保护剂或其组合以保护蛋白质。通常,合适的稳定剂是糖、非还原糖和/或氨基酸。示例性糖包括但不限于葡聚糖、乳糖、甘露糖醇、甘露糖、山梨糖醇、棉子糖、蔗糖和海藻糖。

示例性氨基酸包括但不限于精氨酸、甘氨酸和甲硫氨酸。另外的稳定剂可以包括氯化钠、羟乙基淀粉和聚乙烯吡咯烷酮。

[0195] 在一些实施方案中，液体制剂含有无定形材料。在一些实施方案中，液体制剂含有大量的无定形材料(例如，基于蔗糖的制剂)。在一些实施方案中，液体制剂含有部分结晶/部分无定形的材料。

[0196] 在一些实施方案中，本文所述的药物组合物包含氯化钠。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物中的氯化钠浓度如上文所公开。例如，氯化钠浓度可以是约20-175mM、20-170mM、20-165mM、20-160mM、20-155mM、25-150mM、30-150mM、30-145mM、30-140mM、30-135mM、30-130mM、30-125mM、30-120mM、30-115mM、30-110mM、30-105mM、30-100mM、30-95mM、30-90mM、30-85mM、30-80mM、30-75mM、30-70mM、30-65mM、30-60mM 40-60mM、或本文公开的任何其它范围或浓度。

[0197] 在某些实施方案中，本文所述的药物组合物包含糖。在某些实施方案中，糖是蔗糖或海藻糖。在某些实施方案中，糖是蔗糖。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物包含甲硫氨酸。

[0198] 冻干制剂中稳定剂的量通常使得制剂是等渗的。然而，高渗复原制剂也可以是合适的。此外，稳定剂的量不应过低，以致发生不可接受量的治疗剂降解/聚集。制剂中的示例性稳定剂浓度可为约1mM至约400mM(例如，约30mM至约300mM、和约50mM至约100mM)，或替代地，0.1重量％至15重量％(例如，1重量％至10重量％、5重量％至15重量％、5重量％至10重量％)。在一些实施方案中，稳定剂和治疗剂的质量比为约1:1。在其它实施方案中，稳定剂和治疗剂的质量比可为约0.1:1、0.2:1、0.25:1、0.4:1、0.5:1、1:1、2:1、2.6:1、3:1、4:1、5:1、10:1或20:1。在一些实施方案中，适合于冻干，稳定剂也是冻干保护剂。

[0199] 在某些实施方案中，本文所述的药物组合物包含糖(例如蔗糖或海藻糖)。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物中的糖浓度为约30-300mM、50-300mM、75-300mM、100-300mM、100-275mM、100-250mM、125-250mM、150-250mM、150-225mM或150-200mM。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物中的糖浓度为约100-250mM。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物中的糖浓度为约150-200mM。

[0200] 在某些实施方案中，糖浓度为约170±2mM。在某些实施方案中，糖浓度为约175±2mM。在某些实施方案中，糖浓度为约180±2mM。在某些实施方案中，糖浓度为约170mM。在某些实施方案中，糖浓度为约175mM。在某些实施方案中，糖浓度为约180mM。

[0201] 在某些实施方案中，本文所述的药物组合物包含蔗糖。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物中的蔗糖浓度为约30-300mM、50-300mM、75-300mM、100-300mM、100-275mM、100-250mM、125-250mM、150-250mM、150-225mM或150-200mM。

[0202] 在某些实施方案中，蔗糖浓度为约150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、197、198、199或200mM±2mM。在某些实施方案中，蔗糖浓度为约150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、197、198、199或200mM。

[0203] 在某些实施方案中，蔗糖浓度为约170±2mM。在某些实施方案中，蔗糖浓度为约175±2mM。在某些实施方案中，蔗糖浓度为约180±2mM。在某些实施方案中，蔗糖浓度为约170mM。在某些实施方案中，蔗糖浓度为约175mM。在某些实施方案中，蔗糖浓度为约180mM。

[0204] 在某些实施方案中，本文所述的药物组合物包含甲硫氨酸。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物中的甲硫氨酸浓度为约2-50mM。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物中的甲硫氨酸浓度为约5-50mM、5-45mM、5-40mM、5-35mM、5-30mM、5-25mM、5-20mM或5-15mM。

[0205] 在某些实施方案中，甲硫氨酸浓度为约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15mM±2mM。在某些实施方案中，甲硫氨酸浓度为约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15mM。

[0206] 在某些实施方案中，甲硫氨酸浓度为约8mM±2mM。在某些实施方案中，甲硫氨酸浓度为约9mM±2mM。在某些实施方案中，甲硫氨酸浓度为约10mM±2mM。在某些实施方案中，甲硫氨酸浓度为约11mM±2mM。在某些实施方案中，甲硫氨酸浓度为约12mM±2mM。在某些实施方案中，甲硫氨酸浓度为约8mM。在某些实施方案中，甲硫氨酸浓度为约9mM。在某些实施方案中，甲硫氨酸浓度为约10mM。在某些实施方案中，甲硫氨酸浓度为约11mM。在某些实施方案中，甲硫氨酸浓度为约12mM。

[0207] 填充剂

[0208] 在一些实施方案中，用于冻干的合适制剂可进一步包括一种或多种填充剂。“填充剂”是向冻干混合物中添加质量并有助于冻干饼的物理结构的化合物。例如，填充剂可以改善冻干饼(例如，基本上均匀的冻干饼)的外观。合适的填充剂包括但不限于氯化钠、乳糖、甘露糖醇、甘氨酸、蔗糖、海藻糖、羟乙基淀粉。填充剂的示例性浓度为约1％至约10％(例如，1.0％、1.5％、2.0％、2.5％、3.0％、3.5％、4.0％、4.5％、5.0％、5.5％、6.0％、6.5％、7.0％、7.5％、8.0％、8.5％、9.0％、9.5％和10.0％)。

[0209] 另外的剂

[0210] 其它药学上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂如Remington’s Pharmaceutical Sciences第16版，Osol，A.编辑(1980)中所述的那些可以包含在本文所述的药物组合物(和/或冻干制剂和/或复原制剂)中，条件是它们不会不利地影响组合物的期望特性。可接受的载剂、赋形剂或稳定剂在所采用的剂量和浓度下对接受者是无毒的，并且包括但不限于另外的缓冲剂；防腐剂；助溶剂；抗氧化剂，包括抗坏血酸和甲硫氨酸；螯合剂如EDTA；金属络合物(例如，Zn-蛋白络合物)；生物可降解聚合物，例如聚酯；和/或成盐抗衡离子如钠。

[0211] 液体和冻干制剂

[0212] 在某些实施方案中，本文所述的药物组合物是液体制剂。在某些实施方案中，本文所述的药物组合物被配制为冻干干粉。

[0213] 冻干

[0214] 通常，预冻干制剂还含有适当选择的赋形剂或其它组分，例如稳定剂、缓冲剂、填充剂和表面活性剂，以防止目标化合物在冻干和储存期间降解(例如，蛋白质聚集、脱酰胺和/或氧化)。用于冻干的制剂可以包括一种或多种另外的成分，包括冻干保护剂或稳定剂、缓冲剂、填充剂、等渗剂和表面活性剂。

[0215] 在将感兴趣的物质和任何另外的组分混合在一起之后，将制剂冻干。冻干通常包括三个主要阶段：冷冻、初级干燥和二级干燥。冷冻是将水转化成冰或将一些无定形制剂组

分转化成结晶形式所必需的。初级干燥是在低压和低温下通过直接升华从冷冻产品中除去冰的工艺步骤。二级干燥是利用残余水向蒸发表面的扩散从产品基质中除去结合水的工艺步骤。二级干燥期间的产品温度通常高于初级干燥期间的温度。参见Tang X.等人(2004)“Design of freeze-drying processes for pharmaceuticals:Practical advice,”Pharm.Res.,21:191-200;Nail S.L.等人(2002)“Fundamentals of freeze-drying,”Development and manufacture of protein pharmaceuticals.Nail S.L.编辑New York:Kluwer Academic/Plenum Publishers,第281-353页;Wang等人(2000)“Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals,”Int.J.Pharm.,203:1-60;Williams N.A.等人(1984)“The lyophilization of pharmaceuticals;A literature review.”J Parenteral Sci.Technol.,38:48-59。

[0216] 在一些实施方案中,可以在产品的初始冷冻期间引入退火步骤。退火步骤可以减少总循环时间。不希望受任何理论束缚,预期退火步骤可有助于促进赋形剂结晶和由于在过冷期间形成的小晶体的重结晶而形成较大冰晶,这又改善复原。通常,退火步骤包括冷冻期间温度的间歇或振荡。例如,冷冻温度可以是-40℃,并且退火步骤将温度增加到例如-10℃并将该温度保持设定的一段时间。退火步骤时间可以为0.5小时至8小时(例如,0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3、4、6和8小时)。退火温度可以在冷冻温度和0℃之间。

[0217] 冻干可以在容器如管、袋、瓶、托盘、小瓶(例如玻璃小瓶)、注射器或任何其它合适的容器中进行。容器可以是一次性的。冻干也可以大规模或小规模进行。在一些情况下,可能需要在容器中冻干蛋白质制剂,在所述容器中进行蛋白质的复原以避免转移步骤。在这种情况下,容器可以是例如3、4、5、10、20、50或100cc小瓶。

[0218] 许多不同的冷冻干燥机可用于此目的,例如Hull中试规模干燥机(SP Industries,USA)、Genesis(SP Industries)实验室冷冻干燥机、或能够控制给定冻干工艺参数的任何冷冻干燥机。冷冻干燥通过将制剂冷冻并随后在适于初级干燥的温度下从冷冻的内容物中升华冰来实现。初始冷冻使制剂在通常不超过约4小时(例如,不超过约3小时、不超过约2.5小时、不超过约2小时)内达到低于约-20℃(例如,-50℃、-45℃、-40℃、-35℃、-30℃、-25℃等)的温度。在这种条件下,产品温度通常低于制剂的共晶点或崩塌温度。通常,用于初级干燥的架温度为约-30至25℃。(条件是产品在初级干燥期间保持在熔点以下)在合适的压力下,通常为约20-250mTorr。容纳样品的容器(例如玻璃小瓶)的配方、尺寸和类型以及液体的体积将主要决定干燥所需的时间,其可以在几小时至几天的范围内。二级干燥阶段在约0-60℃下进行,主要取决于容器的类型和大小以及所用治疗性蛋白质的类型。同样,液体的体积将主要决定干燥所需的时间,其范围可以从几小时到几天。

[0219] 作为一般建议,冻干将产生冻干制剂,其中其水分含量小于约5%、小于约4%、小于约3%、小于约2%、小于约1%和小于约0.5%。

[0220] 复原

[0221] 虽然本文所述的药物组合物通常在施用于受试者时呈水性形式,但在一些实施方案中,本文所述的药物组合物是冻干的。此类组合物必须在向受试者施用之前通过向其中添加一种或多种稀释剂来复原。在所需阶段,通常在施用于患者之前的适当时间,可以用稀释剂复原冻干制剂,使得复原制剂中的蛋白质浓度是所需的。

[0222] 如本文所述,可以使用各种稀释剂。在一些实施方案中,用于复原的合适的稀释剂

是水。用作稀释剂的水可以多种方式处理，包括反渗透、蒸馏、去离子、过滤(例如活性炭、微滤、纳滤)和这些处理方法的组合。通常，水应适于注射，包括但不限于无菌水或抑菌注射用水。

[0223] 另外的示例性稀释剂包括pH缓冲溶液(例如，磷酸盐缓冲盐水)、无菌盐水溶液、Elliot溶液、林格氏溶液或葡萄糖溶液。合适的稀释剂可任选地含有防腐剂。示例性的防腐剂包括芳族醇如苄醇或苯酚醇。使用的防腐剂的量通过评估不同防腐剂浓度与蛋白质的相容性和防腐剂功效测试来确定。例如，如果防腐剂是芳香醇(例如苄醇)，其可以以约0.1-2.0%、约0.5-1.5%或约1.0-1.2%的量存在。

[0224] 合适的稀释剂可包括多种添加剂，包括但不限于pH缓冲剂(例如Tris、组氨酸)、盐(例如氯化钠)和其它添加剂(例如蔗糖)，包括上述那些(例如稳定剂、等渗剂)。

[0225] 如本文所述，冻干物质(例如，蛋白质)可以复原至例如至少5mg/ml(例如，至少10mg/ml、至少15mg/ml、至少20mg/ml、至少25mg/ml、至少30mg/ml、至少50mg/ml、至少75mg/ml、至少100mg/ml)和其间的任何范围的浓度。在一些实施方案中，冻干物质(例如，蛋白质)可复原至约1mg/ml至100mg/ml的浓度(例如，约1mg/ml至50mg/ml、1mg/ml至100mg/ml、约1mg/ml至约5mg/ml、约1mg/ml至约10mg/ml、约1mg/ml至约25mg/ml、约1mg/ml至约75mg/ml、约10mg/ml至约30mg/ml、约10mg/ml至约50mg/ml、约10mg/ml至约75mg/ml、约10mg/ml至约100mg/ml、约25mg/ml至约50mg/ml、约25mg/ml至约75mg/ml、约25mg/ml至约100mg/ml、约50mg/ml至约75mg/ml、约50mg/ml至约100mg/ml)。在一些实施方案中，复原制剂中的蛋白质浓度可以高于预冻干制剂中的浓度。在一些实施方案中，复原制剂中的蛋白质浓度可为预冻干制剂的约2-50倍(例如，约2-20倍、约2-10倍或约2-5倍)。在一些实施方案中，复原制剂中的蛋白质浓度可以是预冻干制剂的至少约2倍(例如，至少约3、4、5、10、20、40倍)。

[0226] 复原可以在任何容器中进行。示例性容器包括但不限于例如管、小瓶、注射器(例如单室或双室)、袋、瓶和托盘。合适的容器可以由任何材料制成，例如玻璃、塑料、金属。容器可以是一次性的或可重复使用的。复原也可以大规模或小规模进行。

[0227] 在一些情况下，可能需要在容器中冻干蛋白质制剂，在所述容器中进行蛋白质的复原以避免转移步骤。在这种情况下，容器可以是例如3、4、5、10、20、50或100cc小瓶。在一些实施方案中，用于冻干和复原的合适容器是双室注射器(例如Lyo-Ject®(Vetter)注射器)。例如，双室注射器可包含冻干物质和稀释剂，各自在由塞子分开的单独室中。为了复原，可以将柱塞在稀释剂侧附接到塞子上，并被按压以将稀释剂移动到产品室中，使得稀释剂可以接触冻干物质，并且可以如本文所述进行复原。

[0228] 稳定性

[0229] 在一些实施方案中，本文所述的药物组合物被配制成使得它们能够稳定或替代地减缓或防止与其一起配制的治疗剂(即，本文所述的蛋白质分子)的降解。如本文所用，术语“稳定的”是指本文所述的蛋白质分子在延长的时间段内保持其治疗功效(例如，其全部或大部分预期生物活性和/或生理化学完整性)的能力。可以在延长的时间段内(例如，至少1、3、6、12、18、24、30、36个月或更长时间)评估治疗剂的稳定性和药物组合物保持这种治疗剂的稳定性的能力。在制剂的上下文中，稳定的制剂是其中的治疗剂在储存时和某些过程(例如冷冻/解冻、机械混合和冻干)期间基本上保持其物理和/或化学完整性和生物活性的制剂。对于蛋白质稳定性，其可通过例如高分子量(HMW)聚集体的形成、酶活性的损失、肽片段

的产生和电荷分布(charge profile)的变化来测量。在某些实施方案中,使用本文所述的测定或一组条件(参见例如实施例)评估药物组合物的稳定性。

[0230] 治疗剂的稳定性可以进一步相对于治疗剂在延长的时间段内的生物活性或生理化学完整性进行评估。例如,可以将给定时间点的稳定性与较早时间点(例如,在配制第0天)的稳定性或与未配制的治疗剂进行比较,并且将该比较的结果表示为百分比。在某些实施方案中,药物组合物在延长的时间段内(例如,在室温下或在加速储存条件下在至少约6-12个月内测量)维持至少100%、至少99%、至少98%、至少97%、至少95%、至少90%、至少85%、至少80%、至少75%、至少70%、至少65%、至少60%、至少55%或至少50%的治疗剂的生物活性或生理化学完整性。

[0231] 在某些实施方案中,本文所述的药物组合物在多种条件(例如,正常储存条件或压力条件)下是稳定的。例如,药物组合物的稳定性可通过检查多种因素,如本文所述蛋白质分子的pH、浊度或裂解/剪切随时间、在一定温度范围内或在冷冻/解冻循环期间评估。另外,可以基于产品质量分析、复原时间(如果冻干)、复原质量(如果冻干)、高分子量含量(指示分子聚集)、低分子量含量(指示分子稳定性)水分和玻璃化转变温度来评估组合物。通常,蛋白质质量和产品分析包括使用以下方法的产品降解速率分析,所述方法包括但不限于尺寸排阻HPLC(SE-HPLC)、阳离子交换HPLC(CEX-HPLC)、X射线衍射(XRD)、调制式差示扫描量热法(mDSC)、反相HPLC(RP-HPLC)、多角度光散射(MALS)、荧光、紫外吸收、浊度法、毛细管电泳(CE)、SDS-PAGE和其组合。在一些实施方案中,产品的评估可包括评估外观(液体或饼外观)的步骤。

[0232] 在某些实施方案中,药物组合物的pH在约2-8℃(例如2、3、4、5、6、7或8℃)下保持稳定一段时间(例如约1个月、3个月、6个月、12个月等)。在某些实施方案中,药物组合物的pH在约2-8℃(例如2、3、4、5、6、7或8℃)下保持稳定一段时间(例如约1个月、3个月、6个月、12个月等)。

[0233] 在某些实施方案中,药物组合物的pH在约20-40℃的温度范围内保持稳定一段时间(例如,约1周、2周、3周、4周等)。在某些实施方案中,药物组合物的pH在约25-40℃的温度范围内保持稳定。

[0234] 在某些实施方案中,药物组合物的pH在约25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40℃的温度下保持稳定。在某些实施方案中,药物组合物的pH在约25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40℃的温度下保持稳定1周。在某些实施方案中,药物组合物的pH在约25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40℃的温度下保持稳定2周。在某些实施方案中,药物组合物的pH在约25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40℃的温度下保持稳定3周。在某些实施方案中,药物组合物的pH在约25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40℃的温度下保持稳定4周。

[0235] 在某些实施方案中,药物组合物的pH在约25℃的温度下保持稳定。在某些实施方案中,药物组合物的pH在约30℃的温度下保持稳定。在某些实施方案中,药物组合物的pH在约35℃的温度下保持稳定。在某些实施方案中,药物组合物的pH在约40℃的温度下保持稳定。

[0236] 在某些实施方案中,药物组合物的pH在约25℃的温度下保持稳定约1周。在某些实施方案中,药物组合物的pH在约30℃的温度下保持稳定约1周。在某些实施方案中,药物组

合物的pH在约35℃的温度下保持稳定约1周。在某些实施方案中，药物组合物的pH在约40℃的温度下保持稳定约1周。

[0237] 在某些实施方案中，药物组合物的pH在约25℃的温度下保持稳定约2周。在某些实施方案中，药物组合物的pH在约30℃的温度下保持稳定约2周。在某些实施方案中，药物组合物的pH在约35℃的温度下保持稳定约2周。在某些实施方案中，药物组合物的pH在约40℃的温度下保持稳定约2周。

[0238] 在某些实施方案中，药物组合物的浊度例如随时间和/或在各种温度下保持稳定。评估浊度的方法是本领域已知的并且在本文中描述(参见例如实施例)。

[0239] 在某些实施方案中，药物组合物的浊度在约2-40℃的温度范围内保持稳定。在某些实施方案中，药物组合物的浊度在约2-40℃的温度范围内保持稳定一段时间(例如，约1周、2周、3周、4周等)。

[0240] 在某些实施方案中，药物组合物的浊度在约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40℃的温度下保持稳定。在某些实施方案中，药物组合物的浊度在约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40℃的温度下保持稳定约1周。在某些实施方案中，药物组合物的浊度在约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40℃的温度下保持稳定约2周。在某些实施方案中，药物组合物的浊度在约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40℃的温度下保持稳定约3周。在某些实施方案中，药物组合物的浊度在约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40℃的温度下保持稳定约4周。

[0241] 在某些实施方案中，本文所述的蛋白质分子例如随时间、在一定温度范围内、在一定pH值范围内和/或在冻融循环期间保持完整(即不被裂解或“剪切”)。评估蛋白质裂解或剪切的方法是本领域已知的并在本文中描述(参见例如实施例)。

[0242] 在某些实施方案中，本文所述的蛋白质分子在约2-40℃的温度范围内保持完整。在某些实施方案中，蛋白质分子在约2-40℃的温度范围内保持完整一段时间(例如，约1周、2周、3周、4周等)。在某些实施方案中，本文所述的蛋白质分子在约2-8℃的温度范围内保持完整。在某些实施方案中，蛋白质分子在约2-8℃的温度范围内保持完整一段时间(例如，约1个月、三个月、六个月、12个月等)。

[0243] 在某些实施方案中，本文所述的蛋白质分子在约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40℃的温度下保持完整。在某些实施方案中，蛋白质分子在约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40℃的温度下保持完整约1周。在某些实施方案中，蛋白质分子在约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40℃的温度下保持完整约2周。在某些实施方案中，蛋白质分子在约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、

29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40℃的温度下保持完整约3周。在某些实施方案中，蛋白质分子在约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40℃的温度下保持完整约4周。

[0244] 在某些实施方案中，本文所述的蛋白质分子在冻融循环期间保持完整。例如，在某些实施方案中，蛋白质分子在1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个或更多个冻融循环期间保持完整。在某些实施方案中，蛋白质分子在5个或更多个冻融循环期间保持完整。

[0245] 在某些实施方案中，本文所述的蛋白质分子在一定pH值范围内保持完整。在某些实施方案中，蛋白质分子在约5.0至约7.5的pH范围内保持完整。在某些实施方案中，蛋白质分子在约5.0至7.0的pH范围内保持完整。在某些实施方案中，蛋白质分子在约5.5至7.0的pH范围内保持完整。

[0246] 在某些实施方案中，本文所述的蛋白质分子在约5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9或7.0±0.2的pH下保持完整。在某些实施方案中，蛋白质分子在约5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9或7.0的pH下保持完整。

[0247] 在某些实施方案中，本文所述的蛋白质分子在一定pH值范围内是胶体稳定的。测量胶体稳定性的方法是本领域已知的并且在本文中描述(参见例如实施例)。

[0248] 在某些实施方案中，本文所述的蛋白质分子在约5.5至约7.5的pH范围内是胶体稳定的。在某些实施方案中，蛋白质分子在约5.5至7.0的pH范围内是胶体稳定的。在某些实施方案中，蛋白质分子在约6.0至7.0的pH范围内是胶体稳定的。在某些实施方案中，蛋白质分子在约6.5至7.0的pH范围内是胶体稳定的。

[0249] 在某些实施方案中，本文所述的蛋白质分子在约6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9或7.0±0.2的pH下是胶体稳定的。在某些实施方案中，蛋白质分子在约6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9或7.0的pH下是胶体稳定的。

[0250] 在某些实施方案中，本文所述的蛋白质分子在一定pH值范围内是构象稳定的。测量构象稳定性的方法是本领域已知的并且在本文中描述(参见例如实施例)。

[0251] 在某些实施方案中，本文所述的蛋白质分子在约5.5至约7.5的pH范围内是构象稳定的。在某些实施方案中，蛋白质分子在约5.5至7.0的pH范围内是构象稳定的。在某些实施方案中，蛋白质分子在约6.0至7.0的pH范围内是构象稳定的。在某些实施方案中，蛋白质分子在约6.5至7.0的pH范围内是构象稳定的。

[0252] 在某些实施方案中，本文所述的蛋白质分子在约6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9或7.0±0.2的pH下是构象稳定的。在某些实施方案中，蛋白质分子在约6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9或7.0的pH下是构象稳定的。

[0253] 在某些实施方案中，本文所述的蛋白质分子在一定pH值范围内不聚集或具有有限的聚集(例如，与对照蛋白质或参考值相比)。测量聚集的方法是本领域已知的并且在本文中描述(参见例如实施例)。

[0254] 在某些实施方案中，本文所述的蛋白质分子在约5.5至约7.5的pH范围内不聚集或具有有限的聚集。在某些实施方案中，蛋白质分子在约5.5至7.0的pH范围内不聚集或具有有限的聚集。在某些实施方案中，蛋白质分子在约6.0至7.0的pH范围内不聚集或具有有限

的聚集。

[0255] 在某些实施方案中，本文所述的蛋白质分子在约6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9或7.0±0.2的pH下不聚集或具有有限的聚集。在某些实施方案中，蛋白质分子在约6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9或7.0的pH下不聚集或具有有限的聚集。

[0256] 治疗方法

[0257] LSD是遗传性代谢疾病，其特征在于未消化或部分消化的大分子的累积，其最终导致细胞功能障碍和临床异常。传统上，LSD已经被定义为溶酶体功能缺陷，其通常按累积的底物分类，并且包括鞘脂贮积症、寡糖贮积症、粘脂贮积症、粘多糖贮积症、脂蛋白贮积症、神经元蜡样脂褐质贮积症等。这些病症的分类最近已经扩展到包括导致大分子累积的蛋白质的其它缺乏或缺陷，例如溶酶体酶的正常翻译后修饰所必需的蛋白质，或对于适当溶酶体运输重要的蛋白质。

[0258] 本文所述的药物组合物可用于治疗患有或易患LSD的个体。因此，某些实施方案提供治疗有需要的受试者的LSD的方法，其包括向受试者施用本文所述的药物组合物。某些实施方案还提供了治疗有需要的受试者的LSD的方法，其包括向受试者提供和施用本文所述的药物组合物。

[0259] 在某些实施方案中，药物组合物被提供为液体组合物。

[0260] 在某些实施方案中，药物组合物被提供为冻干组合物。在这样的实施方案中，将药物组合物在施用前复原。

[0261] 在某些实施方案中，所述方法还包括施用第二治疗剂。

[0262] 某些实施方案还提供了用于治疗有需要的受试者中的LSD的本文所述的药物组合物。某些实施方案提供了本文所述的药物组合物在制备用于治疗有需要的受试者的LSD的药剂中的用途。

[0263] 在某些实施方案中，LSD是亨特综合征。

[0264] 本文所用的术语“治疗(treat或treatment)”包括改善与疾病有关的一种或多种症状、预防或延迟疾病的一种或多种症状的发作、和/或减轻疾病的一种或多种症状的严重性或频率。

[0265] 在一些实施方案中，治疗是指在LSD患者中部分或完全减轻、改善、缓解、抑制、延迟发作、降低神经损伤的严重性和/或发生率。如本文所用，术语“神经损伤”包括与中枢神经系统(例如，脑和脊髓)损伤相关的各种症状。神经损伤的症状可包括例如认知损伤；白质病变；脑实质、神经节、胼胝体和/或脑干中的血管周围空间扩张；萎缩；和/或脑室扩大等。

[0266] 在一些实施方案中，治疗是指减少各种组织中的溶酶体贮积(例如，GAG)。在一些实施方案中，治疗是指减少脑靶组织、脊髓神经元和/或外周靶组织中的溶酶体贮积。在某些实施方案中，与对照相比，溶酶体贮积减少约5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、100％或更多。在一些实施方案中，与对照相比，溶酶体贮积减少至少1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或10倍。在一些实施方案中，溶酶体贮积通过溶酶体贮积颗粒(例如斑马条纹形态)的存在来测量。溶酶体贮积颗粒的存在可以通过本领域已知的各种方法测量，例如通过组织学分析。

[0267] 在一些实施方案中，治疗是指减少神经元(例如，含有浦肯野细胞的神经元)中的

空泡化。在某些实施方案中，与对照相比，神经元中的空泡化减少约5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、100％或更多。在一些实施方案中，与对照相比，空泡化减少至少1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或10倍。空泡化的存在和减少可以通过本领域已知的各种方法测量，例如通过组织学分析。

[0268] 在一些实施方案中，治疗是指增加各种组织中的ERT酶活性。在一些实施方案中，与对照相比，ERT酶活性增加约5％至约100％、或约10％至约100％、或约20％至约100％、或约30％至约100％、或约40％至约100％、或约50％至约100％、或约60％至约100％、或约70％至约100％、或约80％至约100％。在一些实施方案中，与对照相比，ERT酶活性增加约5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、100％、200％、300％、400％、500％、600％、700％、800％、900％、1000％或更多。在一些实施方案中，与对照相比，ERT酶活性增加至少1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或10倍。在一些实施方案中，增加的ERT酶活性为至少约10nmol/h/mg、20nmol/h/mg、40nmol/h/mg、50nmol/h/mg、60nmol/h/mg、70nmol/h/mg、80nmol/h/mg、90nmol/h/mg、100nmol/h/mg、150nmol/h/mg、200nmol/h/mg、250nmol/h/mg、300nmol/h/mg、350nmol/h/mg、400nmol/h/mg、450nmol/h/mg、500nmol/h/mg、550nmol/h/mg、600nmol/h/mg或更多。

[0269] 在一些实施方案中，治疗是指减缓认知能力丧失的进展。在某些实施方案中，与对照(例如，未治疗的受试者)相比，认知能力丧失的进展减缓约5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、100％或更多。在一些实施方案中，治疗是指降低发育延迟。在某些实施方案中，与对照(例如未治疗的受试者)相比，发育延迟降低约5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、100％或更多。

[0270] 在一些实施方案中，治疗是指增加存活(例如存活时间)。例如，治疗可导致患者的预期寿命增加。在一些实施方案中，与具有相似疾病但未经治疗的一个或多个对照个体的平均预期寿命相比，根据本发明的治疗导致患者的预期寿命增加超过约5％、约10％、约15％、约20％、约25％、约30％、约35％、约40％、约45％、约50％、约55％、约60％、约65％、约70％、约75％、约80％、约85％、约90％、约95％、约100％、约105％、约110％、约115％、约120％、约125％、约130％、约135％、约140％、约145％、约150％、约155％、约160％、约165％、约170％、约175％、约180％、约185％、约190％、约195％、约200％或更多。在一些实施方案中，与具有相似疾病但未经治疗的一个或多个对照个体的平均预期寿命相比，根据本发明的治疗导致患者的预期寿命增加超过约6个月、约7个月、约8个月、约9个月、约10个月、约11个月、约12个月、约2年、约3年、约4年、约5年、约6年、约7年、约8年、约9年、约10年或更长。在一些实施方案中，根据本发明的治疗导致患者长期存活。如本文所用，术语“长期存活”是指存活时间或预期寿命长于约40年、45年、50年、55年、60年或更长。

[0271] 本文使用的术语“改善”、“增加”或“减少”表示相对于对照的值。在一些实施方案中，合适的对照是基线测量值，例如在本文所述的治疗开始之前在相同个体中的测量值，或在不存在本文所述的治疗的情况下在对照个体(或多个对照个体)中的测量值。“对照个体”是患有LSD(例如亨特综合征)的个体，其年龄和/或性别与所治疗的个体大致相同(以确保

所治疗的个体和对照个体中疾病的阶段是相当的)。

[0272] 施用

[0273] 可将本文所述的药物组合物以治疗有效量或剂量向受试者施用。例示性剂量包括可以使用约0.01mg/kg至约500mg/kg、或约0.1mg/kg至约200mg/kg、或约1mg/kg至约100mg/kg、或约10mg/kg至约50mg/kg的日剂量范围。在一些实施方案中,将药物组合物以约0.01mg/kg至约500mg/kg、或约0.1mg/kg至约200mg/kg、或约1mg/kg至约100mg/kg、或约10mg/kg至约50mg/kg的周剂量范围施用。在一些实施方案中,本文所述的蛋白质分子具有至少约500单位(U)/mg、约1,000U/mg、或至少约1,500、2,000、2,500、3,000、3,500、4,000、4,500、5,000、6,000、7,000、8,000、9,000或10,000U/mg的酶活性。在一些实施方案中,酶活性为至少约11,000U/mg、或至少约12,000、13,000、14,000、15,000、16,000、17,000、18,000、19,000、20,000、25,000、30,000、35,000、40,000、45000或50,000U/mg;或在约500U/mg至约50,000U/mg范围内的任何值。然而,剂量可根据若干因素变化,包括选择的施用途径、组合物的配方、患者反应、病状的严重程度、受试者的体重、受试者的年龄、受试者的头部大小和/或头部大小与身高的比率、以及处方医生的判断。剂量可以根据个体患者的需要随时间增加或减少。在一些实施方案中,初始给予患者低剂量,然后将其增加至该患者可耐受的有效剂量。有效量的确定完全在本领域技术人员的能力范围内。

[0274] 在各种实施方案中,将本文所述的蛋白质分子(例如,存在于本文所述的药物组合物中)胃肠外施用。在一些实施方案中,将蛋白质分子(例如,存在于本文所述的药物组合物中)静脉内施用。静脉内施用可以通过输注,例如在约10至约30分钟的时间段内、或在至少1小时、2小时、3小时、4小时、6小时、8小时或10小时的时间段内。在一些实施方案中,将蛋白质分子在约20分钟至6小时、或约30分钟至4小时的时间段内静脉内施用。在一些实施方案中,将蛋白质分子作为静脉内推注施用。也可以使用输注和推注施用的组合。

[0275] 在一些肠胃外实施方案中,将本文所述的药物组合物腹膜内、皮下、皮内或肌内施用。在一些实施方案中,将本文所述的药物组合物皮内或肌内施用。在一些实施方案中,将本文所述的药物组合物鞘内施用,例如通过硬膜外施用、或脑室内施用。

[0276] 试剂盒和包装

[0277] 还提供了用于治疗LSD(例如亨特综合征)的试剂盒,其包含如本文所述的药物组合物。还提供了用于治疗LSD(例如亨特综合征)的包装,其包含如本文所述的药物组合物。

[0278] 在某些实施方案中,试剂盒/包装包括容纳本文所述的药物组合物的容器(例如,安瓿或小瓶,诸如6R玻璃小瓶)。通常,药物组合物以液体溶液或脱水形式提供。

[0279] 在某些实施方案中,包含在试剂盒/包装中的药物组合物以液体形式提供,其中蛋白质分子以本文所述的浓度存在,例如30mg/ml。在某些实施方案中,提供了0.5ml、1.0ml、1.5ml、2.0ml、2.5ml、3.0ml、3.5ml、4.0ml、4.5ml、5.0ml、5.5ml、6.0ml、6.5ml、7.0ml、7.5ml、8.0ml、8.5ml、9.0ml、9.5ml、10ml、15ml、20ml、25ml、30ml、35ml、40ml、45ml、50ml或更多的药物组合物。在某些实施方案中,提供了5ml本文所述的药物组合物(例如,在5ml液体中包含150mg蛋白质分子)。

[0280] 在一些实施方案中,试剂盒/包装还包含一种或多种另外的治疗剂。例如,在一些实施方案中,试剂盒/包装包含如本文所述的药物组合物并且还包含一种或多种用于治疗LSD的神经症状(例如亨特综合征)的另外的治疗剂。在某些实施方案中,一种或多种另外的

治疗剂在单独的容器中提供。

[0281] 在一些实施方案中，试剂盒/包装还包含含有用于实施本文所述的方法的指导(即，方案)的指导性材料(例如，用于施用本文所述的组合物的试剂盒/包装的使用说明书)。在某些实施方案中，如果药物组合物是冻干的，则说明书包括再水化的指导。另外，在某些实施方案中，说明书包括在施用前将药物组合物稀释至适当剂量的指导。例如，药物组合物可以在盐水(例如，100ml盐水)中稀释。虽然所述说明资料一般包含书面或打印资料，但它们并不限于这些。本公开涵盖能够存储此类说明书并且将它们传达给最终用户的任何介质。这样的介质包括但不限于电子存储介质(例如，磁盘、磁带、盒式磁带、芯片)、光学介质(例如，CD-ROM)等。这样的介质可包括提供此类说明材料的互联网网站的网址。

[0282] 某些实施方案

[0283] 实施方案1.一种药物组合物，其包含：

[0284] a.蛋白质分子，其包含：

[0285] i.第一Fc多肽；以及

[0286] ii.与酶替代疗法(ERT)酶、ERT酶变体或其催化活性片段连接的第二Fc多肽；

[0287] b.缓冲剂；以及

[0288] c.盐；

[0289] 其中所述药物组合物的pH为约5.5至7.0。

[0290] 实施方案2.如实施方案1所述的药物组合物，其中所述缓冲剂选自由以下组成的组：磷酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、精氨酸缓冲剂和组氨酸缓冲剂。

[0291] 实施方案3.如实施方案2所述的药物组合物，其中所述磷酸盐缓冲剂是磷酸钠缓冲剂或磷酸钾缓冲剂。

[0292] 实施方案4.如实施方案1至3中任一项所述的药物组合物，其中所述盐是钠盐。

[0293] 实施方案5.如实施方案4所述的药物组合物，其中所述钠盐选自由以下组成的组：氯化钠、硫酸钠和磷酸钠。

[0294] 实施方案6.如实施方案1至5中任一项所述的药物组合物，其中所述药物组合物还包含表面活性剂。

[0295] 实施方案7.如实施方案1至6中任一项所述的药物组合物，其中所述药物组合物还包含含有糖的稳定剂。

[0296] 实施方案8.如实施方案1至7中任一项所述的药物组合物，其中所述药物组合物还包含甲硫氨酸。

[0297] 实施方案9.一种药物组合物，其包含：

[0298] a.蛋白质分子，其包含：

[0299] i.第一Fc多肽；以及

[0300] ii.与酶替代疗法(ERT)酶、ERT酶变体或其催化活性片段连接的第二Fc多肽；

[0301] b.包含磷酸钠的缓冲剂；

[0302] c.氯化钠；

[0303] d.表面活性剂；和

[0304] e.包含糖的稳定剂；

[0305] 其中所述药物组合物的pH为约5.5至7.0。

[0306] 实施方案10.一种药物组合物,其包含:

[0307] a.蛋白质分子,其包含:

[0308] i.第一Fc多肽;以及

[0309] ii.与酶替代疗法(ERT)酶、ERT酶变体或其催化活性片段连接的第二Fc多肽;

[0310] b.包含磷酸钠的缓冲剂;

[0311] c.氯化钠;

[0312] d.表面活性剂;

[0313] e.包含糖的稳定剂;和

[0314] f.甲硫氨酸;

[0315] 其中所述药物组合物的pH为约5.5至7.0。

[0316] 实施方案11.如实施方案1至10中任一项所述的药物组合物,其中所述ERT酶是艾杜糖醛酸2-硫酸酯酶(IDS)和IDS变体或其催化活性片段。

[0317] 实施方案12.如实施方案1至11中任一项所述的药物组合物,其中所述ERT酶包含IDS氨基酸序列,并且其中所述IDS氨基酸序列包含与SEQ ID NO:1具有至少90%同一性的序列。

[0318] 实施方案13.如实施方案12所述的药物组合物,其中所述IDS氨基酸序列包含选自由SEQ ID NO:1、2和3组成的组的序列。

[0319] 实施方案14.如实施方案1至13中任一项所述的药物组合物,其中根据EU编号,所述第一或第二Fc多肽包含在选自由380、384、386、387、388、389、390、413、415、416和421组成的组的至少9个氨基酸残基位置处的取代。

[0320] 实施方案15.如实施方案14所述的药物组合物,其中根据EU编号,所述第一Fc多肽包含在选自由380、384、386、387、388、389、390、413、415、416和421组成的组的至少9个氨基酸残基位置处的取代。

[0321] 实施方案16.一种药物组合物,其包含:

[0322] a.蛋白质分子,其包含:

[0323] i.第一Fc多肽,根据EU编号,其包含在选自由380、384、386、387、388、389、390、413、415、416和421组成的组的至少9个氨基酸残基位置处的取代;以及

[0324] ii.与艾杜糖醛酸2-硫酸酯酶(IDS)连接的第二Fc多肽,其中所述IDS氨基酸序列包含与SEQ ID NO:1具有至少90%同一性的序列;

[0325] b.缓冲剂;以及

[0326] c.盐;

[0327] 其中所述药物组合物的pH为约5.5至7.0。

[0328] 实施方案17.如实施方案16所述的药物组合物,其中所述缓冲剂选自由以下组成的组:磷酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、精氨酸缓冲剂和组氨酸缓冲剂。

[0329] 实施方案18.如实施方案17所述的药物组合物,其中所述磷酸盐缓冲剂是磷酸钠缓冲剂或磷酸钾缓冲剂。

[0330] 实施方案19.如实施方案16至18中任一项所述的药物组合物,其中所述盐是钠盐。

[0331] 实施方案20.如实施方案19所述的药物组合物,其中所述钠盐选自由以下组成的组:氯化钠、硫酸钠和磷酸钠。

[0332] 实施方案21.如实施方案16至20中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物还包含表面活性剂。

[0333] 实施方案22.如实施方案16至21中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物还包含含有糖的稳定剂。

[0334] 实施方案23.如实施方案16至22中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物还包含甲硫氨酸。

[0335] 实施方案24.一种药物组合物,其包含:

[0336] a.蛋白质分子,其包含:

[0337] i.第一Fc多肽,根据EU编号,其包含在选自由380、384、386、387、388、389、390、413、415、416和421组成的组的至少9个氨基酸残基位置处的取代;以及

[0338] ii.与艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)连接的第二Fc多肽,其中所述IDS氨基酸序列包含与SEQ ID NO:1具有至少90%同一性的序列;

[0339] b.包含磷酸钠的缓冲剂;

[0340] c.氯化钠;

[0341] d.表面活性剂;和

[0342] e.包含糖的稳定剂;

[0343] 其中所述药物组合物的pH为约5.5至7.0。

[0344] 实施方案25.如实施方案24所述的药物组合物,其进一步包含甲硫氨酸。

[0345] 实施方案26.如实施方案15至25中任一项所述的药物组合物,其中根据EU编号,所述第一Fc多肽包含在氨基酸残基位置384、386、387、388、389、413、415、416和421处的取代。

[0346] 实施方案27.如实施方案11至26中任一项所述的药物组合物,其中所述IDS氨基酸序列与所述第二Fc多肽的N端连接。

[0347] 实施方案28.如实施方案11至27中任一项所述的药物组合物,其中与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含与SEQ ID NO:4、5、39或40具有至少95%同一性的氨基酸序列。

[0348] 实施方案29.如实施方案11至28中任一项所述的药物组合物,其中与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:4、5、39或40的氨基酸序列。

[0349] 实施方案30.如实施方案11至29中任一项所述的药物组合物,其中与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:4或5的氨基酸序列。

[0350] 实施方案31.如实施方案11至29中任一项所述的药物组合物,其中与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:39或40的氨基酸序列。

[0351] 实施方案32.如实施方案1至31中任一项所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含与SEQ ID NO:6或41具有至少90%同一性(例如95%同一性)的序列。

[0352] 实施方案33.如实施方案1至32中任一项所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含与SEQ ID NO:6具有至少90%同一性的序列。

[0353] 实施方案34.如实施方案1至32中任一项所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含与SEQ ID NO:41具有至少90%同一性的序列。

[0354] 实施方案35.如实施方案1至34中任一项所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含:

[0355] a.位置380处的Trp、Leu或Glu；

[0356] b.位置384处的Tyr；

[0357] c.位置386处的Thr；

[0358] d.位置387处的Glu；

[0359] e.位置388处的Trp；

[0360] f.位置389处的Ser或Ala；

[0361] g.位置390处的Ser或Asn；

[0362] h.位置413处的Thr；

[0363] i.位置415处的Glu；

[0364] j.位置416处的Glu;以及

[0365] k.位置421处的Phe。

[0366] 实施方案36.如实施方案1至35中任一项所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽和所述第二Fc多肽二聚化。

[0367] 实施方案37.如实施方案11至36中任一项所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含与SEQ ID NO:6、7、25和30中的任一个具有至少95%同一性的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含与SEQ ID NO:4或5具有至少95%同一性的氨基酸序列。

[0368] 实施方案38.如实施方案37所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:4或5的序列。

[0369] 实施方案39.如实施方案37所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:4或5的序列。

[0370] 实施方案40.如实施方案37所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:4或5的序列。

[0371] 实施方案41.如实施方案37所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:4或5的序列。

[0372] 实施方案42.如实施方案11至36中任一项所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含与SEQ ID NO:41、42、44和49中的任一个具有至少95%同一性的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含与SEQ ID NO:39或40具有至少95%同一性的氨基酸序列。

[0373] 实施方案43.如实施方案42所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:39或40的序列。

[0374] 实施方案44.如实施方案42所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:39或40的序列。

[0375] 实施方案45.如实施方案42所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:39或40的序列。

[0376] 实施方案46.如实施方案42所述的药物组合物,其中所述第一Fc多肽包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列,并且与所述IDS氨基酸序列连接的所述第二Fc多肽包含SEQ ID NO:39或40的序列。

[0377] 实施方案47.如实施方案1至46中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子浓度为约5-50mg/mL。

[0378] 实施方案48.如实施方案1至47中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子浓度为约10-40mg/mL。

[0379] 实施方案49.如实施方案1至48中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子浓度为约10-30mg/mL。

[0380] 实施方案50.如实施方案1至49中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子浓度为约10mg/mL。

[0381] 实施方案51.如实施方案1至49中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子浓度为约20mg/mL。

[0382] 实施方案52.如实施方案1至49中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子浓度为约30mg/mL。

[0383] 实施方案53.如实施方案1至52中任一项所述的药物组合物,其中缓冲剂浓度为约5-50mM。

[0384] 实施方案54.如实施方案1至53中任一项所述的药物组合物,其中所述缓冲剂浓度为约10-50mM。

[0385] 实施方案55.如实施方案1至54中任一项所述的药物组合物,其中所述缓冲剂浓度为约10-40mM。

[0386] 实施方案56.如实施方案1至55中任一项所述的药物组合物,其中所述缓冲剂浓度为约10-30mM。

[0387] 实施方案57.如实施方案1至56中任一项所述的药物组合物,其中所述缓冲剂浓度为约15-25mM。

[0388] 实施方案58.如实施方案1至57中任一项所述的药物组合物,其中所述缓冲剂浓度为约20mM。

[0389] 实施方案59.如实施方案1至52中任一项所述的药物组合物,其中所述缓冲剂为浓度为约5-50mM的磷酸钠缓冲剂。

[0390] 实施方案60.如实施方案1至52和59中任一项所述的药物组合物,其中所述缓冲剂为浓度为约10-50mM的磷酸钠缓冲剂。

[0391] 实施方案61.如实施方案1至52和59至60中任一项所述的药物组合物,其中所述缓冲剂为浓度为约10-40mM的磷酸钠缓冲剂。

[0392] 实施方案62.如实施方案1至52和59至61中任一项所述的药物组合物,其中所述缓冲剂为浓度为约10-30mM的磷酸钠缓冲剂。

[0393] 实施方案63.如实施方案1至52和59至62中任一项所述的药物组合物,其中所述缓

冲剂为浓度为约15-25mM的磷酸钠缓冲剂。

[0394] 实施方案64.如实施方案1至52和59至63中任一项所述的药物组合物,其中所述缓冲剂为浓度为约20mM的磷酸钠缓冲剂。

[0395] 实施方案65.如实施方案1至64中任一项所述的药物组合物,其中所述盐(例如钠盐)浓度为约30-150mM。

[0396] 实施方案66.如实施方案1至65中任一项所述的药物组合物,其中所述盐(例如钠盐)浓度为约40-140mM。

[0397] 实施方案67.如实施方案1至66中任一项所述的药物组合物,其中所述盐(例如钠盐)浓度为约50-137mM。

[0398] 实施方案68.如实施方案1至66中任一项所述的药物组合物,其中所述盐(例如钠盐)浓度为约40-100mM。

[0399] 实施方案69.如实施方案1至68中任一项所述的药物组合物,其中所述盐(例如钠盐)浓度为约50mM。

[0400] 实施方案70.如实施方案1至67中任一项所述的药物组合物,其中所述盐(例如钠盐)浓度为约137mM。

[0401] 实施方案71.如实施方案1至64中任一项所述的药物组合物,其中所述盐是浓度为约30-150mM的氯化钠。

[0402] 实施方案72.如实施方案1至64和71中任一项所述的药物组合物,其中所述盐是浓度为约40-140mM的氯化钠。

[0403] 实施方案73.如实施方案1至64和71至72中任一项所述的药物组合物,其中所述盐是浓度为约50-137mM的氯化钠。

[0404] 实施方案74.如实施方案1至64和71至72中任一项所述的药物组合物,其中所述盐是浓度为约40-100mM的氯化钠。

[0405] 实施方案75.如实施方案1至64和71至74中任一项所述的药物组合物,其中所述盐是浓度为约50mM的氯化钠。

[0406] 实施方案76.如实施方案1至64和71至73中任一项所述的药物组合物,其中所述盐是浓度为约137mM的氯化钠。

[0407] 实施方案77.如实施方案6至15和21至76中任一项所述的药物组合物,其中所述表面活性剂浓度为约0.1-1.0mg/mL。

[0408] 实施方案78.如实施方案6至15和21至77中任一项所述的药物组合物,其中所述表面活性剂浓度为约0.2-0.8mg/mL。

[0409] 实施方案79.如实施方案6至15和21至78中任一项所述的药物组合物,其中所述表面活性剂浓度为约0.2-0.6mg/mL。

[0410] 实施方案80.如实施方案6至15和21至79中任一项所述的药物组合物,其中所述表面活性剂浓度为约0.2mg/mL。

[0411] 实施方案81.如实施方案6至15和21至79中任一项所述的药物组合物,其中所述表面活性剂浓度为约0.4mg/mL。

[0412] 实施方案82.如实施方案6至15和21至79中任一项所述的药物组合物,其中所述表面活性剂浓度为约0.5mg/mL。

[0413] 实施方案83.如实施方案6至15和21至79中任一项所述的药物组合物,其中所述表面活性剂浓度为约0.6mg/mL。

[0414] 实施方案84.如实施方案6至15和21至83中任一项所述的药物组合物,其中所述表面活性剂包括聚山梨酸酯。

[0415] 实施方案85.如实施方案84所述的药物组合物,其中所述表面活性剂选自由以下组成的组:聚山梨酸酯-20(PS-20)和聚山梨酸酯-80(PS-80)。

[0416] 实施方案86.如实施方案85所述的药物组合物,其中所述表面活性剂是聚山梨酸酯-20(PS-20)。

[0417] 实施方案87.如实施方案85所述的药物组合物,其中所述表面活性剂是聚山梨酸酯-80(PS-80)。

[0418] 实施方案88.如实施方案6至15和21至83中任一项所述的药物组合物,其中所述表面活性剂包含泊洛沙姆。

[0419] 实施方案89.如实施方案7至15和22至88中任一项所述的药物组合物,其中所述稳定剂包含选自蔗糖或海藻糖的糖。

[0420] 实施方案90.如实施方案7至15和22至89中任一项所述的药物组合物,其中所述糖浓度为约50-300mM。

[0421] 实施方案91.如实施方案7至15和22至90中任一项所述的药物组合物,其中所述糖浓度为约100-250mM。

[0422] 实施方案92.如实施方案7至15和22至91中任一项所述的药物组合物,其中所述糖浓度为约150-200mM。

[0423] 实施方案93.如实施方案7至15和22至92中任一项所述的药物组合物,其中所述糖浓度为约175mM。

[0424] 实施方案94.如实施方案7至15和22至93中任一项所述的药物组合物,其中所述稳定剂包括蔗糖。

[0425] 实施方案95.如实施方案8至15、23和25至94中任一项所述的药物组合物,其中所述甲硫氨酸浓度为约5-25mM。

[0426] 实施方案96.如实施方案8至15、23和25至95中任一项所述的药物组合物,其中所述甲硫氨酸浓度为约5-20mM。

[0427] 实施方案97.如实施方案8至15、23和25至96中任一项所述的药物组合物,其中所述甲硫氨酸浓度为约5-15mM。

[0428] 实施方案98.如实施方案8至15、23和25至97中任一项所述的药物组合物,其中所述甲硫氨酸浓度为约10mM。

[0429] 实施方案99.如实施方案1至98中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物的pH为约5.5至6.5。

[0430] 实施方案100.如实施方案1至99中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物的pH为约5.5±0.5。

[0431] 实施方案101.如实施方案100所述的药物组合物,其中所述药物组合物的pH为约5.5。

[0432] 实施方案102.如实施方案1至99中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合

物的pH为约6.0±0.5。

[0433] 实施方案103.如实施方案102所述的药物组合物,其中所述药物组合物的pH为约6.0。

[0434] 实施方案104.如实施方案1至99中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物的pH为约6.5±0.5。

[0435] 实施方案105.如实施方案104所述的药物组合物,其中所述药物组合物的pH为约6.5。

[0436] 实施方案106.一种药物组合物,其包含:

[0437] a.蛋白质分子,其包含:

[0438] i.第一多肽,其包含与SEQ ID NO:6、7、25和30中的任一个具有至少95%同一性的氨基酸序列;以及

[0439] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽,所述IDS包含与SEQ ID NO:4或5具有至少95%同一性的氨基酸序列;

[0440] b.约10-30mM的磷酸钠缓冲剂;

[0441] c.约30-100mM的氯化钠;

[0442] d.约0.4-0.7mg/mL的聚山梨酸酯表面活性剂;以及

[0443] e.约150-200mM的蔗糖;

[0444] 其中所述药物组合物的pH为约6.5±0.5

[0445] 实施方案107.如实施方案106所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子包含:

[0446] i.第一多肽,其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列以及

[0447] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽,所述IDS包含SEQ ID NO:4或5的氨基酸序列。

[0448] 实施方案108.如实施方案106所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子包含:

[0449] i.第一多肽,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列;以及

[0450] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽,所述IDS包含SEQ ID NO:4或5的氨基酸序列。

[0451] 实施方案109.如实施方案106所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子包含:

[0452] i.第一多肽,其包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列;以及

[0453] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽,所述IDS包含SEQ ID NO:4或5的氨基酸序列。

[0454] 实施方案110.如实施方案106所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子包含:

[0455] i.第一多肽,其包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列;以及

[0456] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽,所述IDS包含SEQ ID NO:4或5的氨基酸序列。

[0457] 实施方案111.一种药物组合物,其包含:

[0458] a.蛋白质分子,其包含:

[0459] i.第一多肽,其包含与SEQ ID NO:41、42、44和49中的任一个具有至少95%同一性的氨基酸序列;以及

[0460] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽,所述IDS包含与SEQ ID NO:39

或40具有至少95％同一性的氨基酸序列；

[0461] b.约10-30mM的磷酸钠缓冲剂；

[0462] c.约30-100mM的氯化钠；

[0463] d.约0.4-0.7mg/mL的聚山梨酸酯表面活性剂；以及

[0464] e.约150-200mM的蔗糖；

[0465] 其中所述药物组合物的pH为约6.5±0.5。

[0466] 实施方案112.如实施方案111所述的药物组合物，其中所述蛋白质分子包含：

[0467] i.第一多肽，其包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列；以及

[0468] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽，所述IDS包含SEQ ID NO:39或40的氨基酸序列。

[0469] 实施方案113.如实施方案111所述的药物组合物，其中所述蛋白质分子包含：

[0470] i.第一多肽，其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列；以及

[0471] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽，所述IDS包含SEQ ID NO:39或40的氨基酸序列。

[0472] 实施方案114.如实施方案111所述的药物组合物，其中所述蛋白质分子包含：

[0473] i.第一多肽，其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列；以及

[0474] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽，所述IDS包含SEQ ID NO:39或40的氨基酸序列。

[0475] 实施方案115.如实施方案111所述的药物组合物，其中所述蛋白质分子包含：

[0476] i.第一多肽，其包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列；以及

[0477] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽，所述IDS包含SEQ ID NO:39或40的氨基酸序列。

[0478] 实施方案116.一种药物组合物，其包含：

[0479] a.蛋白质分子，其包含：

[0480] i.第一多肽，其包含与SEQ ID NO:6、7、25和30中的任一个具有至少95％同一性的氨基酸序列；以及

[0481] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽，所述IDS包含与SEQ ID NO:4或5具有至少95％同一性的氨基酸序列；

[0482] b.约10-30mM的磷酸钠缓冲剂；

[0483] c.约30-100mM的氯化钠；

[0484] d.约0.4-0.7mg/mL的聚山梨酸酯表面活性剂；

[0485] e.约150-200mM的蔗糖；以及

[0486] f.约5-25mM的甲硫氨酸；

[0487] 其中所述药物组合物的pH为约6.5±0.5。

[0488] 实施方案117.如权利要求116所述的药物组合物，其中所述蛋白质分子包含：

[0489] i.第一多肽，其包含SEQ ID NO:6的氨基酸序列；以及

[0490] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽，所述IDS包含SEQ ID NO:4或5的氨基酸序列。

[0491] 实施方案118.如权利要求116所述的药物组合物，其中所述蛋白质分子包含：

[0492] i.第一多肽,其包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列;以及

[0493] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽,所述IDS包含SEQ ID NO:4或5的氨基酸序列。

[0494] 实施方案119.如权利要求116所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子包含:

[0495] i.第一多肽,其包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列;以及

[0496] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽,所述IDS包含SEQ ID NO:4或5的氨基酸序列。

[0497] 实施方案120.如权利要求116所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子包含:

[0498] i.第一多肽,其包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列;以及

[0499] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽,所述IDS包含SEQ ID NO:4或5的氨基酸序列。

[0500] 实施方案121.一种药物组合物,其包含:

[0501] a.蛋白质分子,其包含:

[0502] i.第一多肽,其包含与SEQ ID NO:41、42、44和49中的任一个具有至少95%同一性的氨基酸序列;以及

[0503] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽,所述IDS包含与SEQ ID NO:39或40具有至少95%同一性的氨基酸序列;

[0504] b.约10-30mM的磷酸钠缓冲剂;

[0505] c.约30-100mM的氯化钠;

[0506] d.约0.4-0.7mg/mL的聚山梨酸酯表面活性剂;

[0507] e.约150-200mM的蔗糖;以及

[0508] f.约5-25mM的甲硫氨酸;

[0509] 其中所述药物组合物的pH为约6.5±0.5。

[0510] 实施方案122.如实施方案121所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子包含:

[0511] i.第一多肽,其包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列;以及

[0512] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽,所述IDS包含SEQ ID NO:39或40的氨基酸序列。

[0513] 实施方案123.如实施方案121所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子包含:

[0514] i.第一多肽,其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列;以及

[0515] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽,所述IDS包含SEQ ID NO:39或40的氨基酸序列。

[0516] 实施方案124.如实施方案121所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子包含:

[0517] i.第一多肽,其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;以及

[0518] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽,所述IDS包含SEQ ID NO:39或40的氨基酸序列。

[0519] 实施方案125.如实施方案121所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子包含:

[0520] i.第一多肽,其包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列;以及

[0521] ii.包含艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶(IDS)的融合多肽,所述IDS包含SEQ ID NO:39或40的氨基酸序列。

[0522] 实施方案126.如实施方案106至125中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物的pH为约6.5±0.2。

[0523] 实施方案127.如实施方案106至126中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子以约5-50mg/mL存在于所述组合物中。

[0524] 实施方案128.如实施方案106至127中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子以约10-40mg/mL存在于所述组合物中。

[0525] 实施方案129.如实施方案106至128中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子以约10-30mg/mL存在于所述组合物中。

[0526] 实施方案130.如实施方案106至129中任一项所述的药物组合物,其中所述磷酸钠缓冲剂浓度为约15-25mM。

[0527] 实施方案131.如实施方案106至130中任一项所述的药物组合物,其中所述磷酸钠缓冲剂浓度为约20mM。

[0528] 实施方案132.如实施方案106至131中任一项所述的药物组合物,其中所述氯化钠浓度为约40-100mM。

[0529] 实施方案133.如实施方案106至132中任一项所述的药物组合物,其中所述氯化钠浓度为约50mM。

[0530] 实施方案134.如实施方案106至133中任一项所述的药物组合物,其中所述聚山梨酸酯表面活性剂浓度为约0.4mg/mL。

[0531] 实施方案135.如实施方案106至133中任一项所述的药物组合物,其中所述聚山梨酸酯表面活性剂浓度为约0.5mg/mL。

[0532] 实施方案136.如实施方案106至133中任一项所述的药物组合物,其中所述聚山梨酸酯表面活性剂浓度为约0.6mg/mL。

[0533] 实施方案137.如实施方案106至136中任一项所述的药物组合物,其中所述聚山梨酸酯表面活性剂选自由以下组成的组:聚山梨酸酯-20(PS-20)和聚山梨酸酯-80(PS-80)。

[0534] 实施方案138.如实施方案137所述的药物组合物,其中所述聚山梨酸酯表面活性剂是聚山梨酸酯-20(PS-20)。

[0535] 实施方案139.如实施方案137所述的药物组合物,其中所述聚山梨酸酯表面活性剂是聚山梨酸酯-80(PS-80)。

[0536] 实施方案140.如实施方案106至139中任一项所述的药物组合物,其中所述蔗糖浓度为约175mM。

[0537] 实施方案141.如实施方案116至140中任一项所述的药物组合物,其中所述甲硫氨酸浓度为约5-20mM。

[0538] 实施方案142.如实施方案116至141中任一项所述的药物组合物,其中所述甲硫氨酸浓度为约5-15mM。

[0539] 实施方案143.如实施方案116至142中任一项所述的药物组合物,其中所述甲硫氨酸浓度为约10mM。

[0540] 实施方案144.如实施方案116至125中任一项所述的药物组合物,其包含:

[0541] a.约5-50mg/mL的蛋白质分子;

[0542] b.约20mM的磷酸钠缓冲剂;

[0543] c.约50mM的氯化钠；

[0544] d.约0.4-0.7mg/mL(例如,0.6mg/mL)的聚山梨酸酯-20(PS-20)；

[0545] e.约175mM的蔗糖;以及

[0546] f.约10mM的甲硫氨酸；

[0547] 其中所述药物组合物的pH为约6.5±0.2。

[0548] 实施方案145.如实施方案1至144中任一项所述的药物组合物,其中将所述pH在25℃下维持两周。

[0549] 实施方案146.如实施方案1至144中任一项所述的药物组合物,其中将所述pH在40℃下维持两周。

[0550] 实施方案147.如实施方案1至146中任一项所述的药物组合物,其中将所述pH在约2-8℃的温度下维持约1个月。

[0551] 实施方案148.如实施方案1至147中任一项所述的药物组合物,其中浊度在约2-40℃的温度下保持稳定。

[0552] 实施方案149.如实施方案148所述的药物组合物,其中浊度在约2-8℃的温度下保持稳定。

[0553] 实施方案150.如实施方案1至149中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子在约2-40℃的温度下保持完整。

[0554] 实施方案151.如实施方案150所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子在约2-8℃的温度下保持完整。

[0555] 实施方案152.如实施方案1至151中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子在冻融循环期间保持完整。

[0556] 实施方案153.如实施方案1至152中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子在约5.5-7.0的pH下保持完整。

[0557] 实施方案154.如实施方案1至153中任一项所述的药物组合物,其中所述蛋白质分子在约6.0-7.0的pH下胶体和/或构象稳定。

[0558] 实施方案155.如实施方案1至154中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物被提供为液体组合物。

[0559] 实施方案156.如实施方案1至154中任一项所述的药物组合物,其中所述药物组合物被提供为冻干组合物。

[0560] 实施方案157.一种治疗有需要的受试者的溶酶体贮积症(LSD)(例如亨特综合征)的方法,其包括向所述受试者施用如实施方案1至156中任一项所述的药物组合物。

[0561] 实施方案158.一种治疗有需要的受试者的溶酶体贮积症(LSD)(例如亨特综合征)的方法,其包括向所述受试者提供和施用如实施方案1至156中任一项所述的药物组合物。

[0562] 实施方案159.如实施方案157或158所述的方法,其中将所述药物组合物静脉内施用。

[0563] 实施方案160.如实施方案1至156中任一项所述的药物组合物,其用于治疗有需要的受试者的溶酶体贮积症(LSD)(例如亨特综合征)。

[0564] 实施方案161.如实施方案1至156中任一项所述的药物组合物在制备用于治疗有需要的受试者的溶酶体贮积症(LSD)(例如亨特综合征)的药剂中的用途。

[0565] 实施方案162.如权利要求157至161中任一项所述的方法、药物组合物或用途，其中所述LSD是亨特综合征。

[0566] 某些定义

[0567] 如本文可互换使用的术语“受试者”、“个体”和“患者”是指哺乳动物，包括但不限于人、非人灵长类动物、啮齿动物(例如，大鼠、小鼠和豚鼠)、兔、牛、猪、马和其他哺乳动物物种。在一个实施方案中，患者为人。

[0568] 术语“药学上可接受的赋形剂”是指在生物学或药理学上相容以用于人或动物的非活性药物成分，诸如但不限于缓冲剂、载剂或防腐剂。

[0569] 术语“施用”是指将剂(例如，文中所述的蛋白质分子)、化合物或组合物(例如药物组合物)递送至生物作用的期望部位的方法。这些方法包括但不限于口服递送、局部递送、肠胃外递送、静脉内递送、皮内递送、肌内递送、鞘内递送、结肠递送、直肠递送或腹膜内递送。在一个实施方案中，将本文所述的药物组合物静脉内施用。

[0570] 本文使用术语“治疗(treatment)”、“治疗(treating)”等一般意指获得希望的药理作用和/或生理作用。“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”可指成功治疗或改善溶酶体贮积症(例如亨特综合征)的任何指标，包括任何客观或主观参数，诸如消减、缓解、患者生存的改善、生存时间或生存率的增加、症状的减轻或使患者更耐受该病症、退化或衰退速率的减缓，或患者身心健康的改善。症状的治疗或缓解可以基于客观或主观参数。可以将治疗的效果与未接受治疗的一个个体或一组个体进行比较，或与治疗前或治疗期间不同时间的同一患者进行比较。

[0571] 短语“有效量”意指本文所述化合物的量，其(i)治疗或预防特定的疾病、病状或病症；(ii)减弱、改善或消除特定的疾病、病状或病症的一种或多种症状；或(iii)预防或延缓本文所述的特定的疾病、病状或病症的一种或多种症状的发作。

[0572] 本文公开的物质/分子的“治疗有效量”可根据诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重，以及物质/分子在个体中引起所需反应的能力等因素而变化。治疗有效量包括治疗有益效果超过物质/分子的任何毒性或有害效果的量。“预防有效量”是指在必要的剂量和时间段内有效达到所需的预防结果的量。通常但非必定，因为防治剂量是在疾病之前或早期用于受试者中，所以防治有效量将小于治疗有效量。

[0573] “酶替代疗法酶”或“ERT酶”是指溶酶体贮积症中缺乏的酶。“ERT酶变体”是指野生型ERT酶或其片段的功能变体，包括等位基因变体和剪接变体，其中例如当在相同条件下测定时，ERT酶变体具有相应野生型ERT酶或其片段的活性的至少50％、至少55％、至少60％、至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％。ERT酶的“催化活性片段”是指全长ERT酶或其变体的一部分，其中例如当在相同条件下测定时，所述催化活性片段具有相应全长ERT酶或其变体的活性的至少50％、至少55％、至少60％、至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％。

[0574] 本文所用的“艾杜糖醛酸硫酸酯酶”、“艾杜糖醛酸-2-硫酸酯酶”或“IDS”是指艾杜糖醛酸2-硫酸酯酶(EC 3.1.6.13)，其是参与糖胺聚糖硫酸乙酰肝素和硫酸皮肤素的溶酶体降解的酶。IDS的缺乏与粘多糖症II(也称为亨特综合征)有关。如本文所用，作为包含Fc多肽的蛋白质组分的术语“IDS”具有催化活性并且涵盖野生型IDS或其片段的功能变体，包括等位基因和剪接变体。人IDS同种型I的序列，其是指定为规范序列的人序列，可在

UniProt条目P22304下获得，并且由Xq28处的人IDS基因编码。全长序列以SEQ ID NO:11提供。如本文所用的“成熟”IDS序列是指缺少天然存在的全长多肽链的信号和前肽序列的多肽链形式。成熟人IDS多肽的氨基酸序列以SEQ ID NO:1提供，其对应于全长人序列的氨基酸34-550。本文所用的“截短的”IDS序列是指天然存在的全长多肽链的催化活性片段。示例性截短的人IDS多肽的氨基酸序列以SEQ ID NO:23提供，其对应于全长人序列的氨基酸26-550。人IDS的结构已经被很好地表征。例示性结构可根据PDB登录代码5FQL获得。该结构也在Nat.Comm.8:15786doi:10.1038/ncomms15786,2017中进行了描述。还描述了非人灵长类动物IDS序列，包括黑猩猩(UniProt条目K7BKV4)和恒河猴(UniProt条目H9FTX2)。小鼠IDS序列可根据Uniprot条目Q08890获得。例如，当在相同条件下测定时，IDS变体具有相应野生型IDS或其片段的活性的至少50％、至少55％、至少60％、至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％。例如，当在相同条件下测定时，催化活性IDS片段具有相应全长IDS或其变体的活性的至少50％、至少55％、至少60％、至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％。

[0575] 本文所用的“转铁蛋白受体”或“TfR”是指转铁蛋白受体蛋白1。人转铁蛋白受体1多肽序列如SEQ ID NO:13所示。来自其他物种的转铁蛋白受体蛋白1序列也是已知的(例如，黑猩猩，登录号XP_003310238.1;恒河猴，NP_001244232.1;狗，NP_001003111.1;牛，NP_001193506.1;小鼠，NP_035768.1;大鼠，NP_073203.1;和鸡，NP_990587.1)。术语“转铁蛋白受体”还涵盖示例性参考序列(例如人序列)的等位基因变体，其由转铁蛋白受体蛋白1染色体基因座处的基因编码。全长转铁蛋白受体蛋白包括短的N端细胞内区、跨膜区和大的细胞外结构域。细胞外结构域特征在于三个结构域：蛋白酶样结构域、螺旋结构域和顶端结构域。人转铁蛋白受体1的顶端结构域序列如SEQ ID NO:35所示。

[0576] 如本文所用，“[ERT酶]-Fc融合蛋白”、“ETV:[ERT酶]蛋白质分子”或“蛋白质分子”是指包含第一Fc多肽和第二Fc多肽的二聚蛋白，所述第二Fc多肽与ERT酶、ERT酶变体或其催化活性片段连接(例如融合)(例如“IDS-Fc融合多肽”)，其中第一Fc多肽与第二Fc多肽形成Fc二聚体。第一Fc多肽还可以与ERT酶、ERT酶变体或其催化活性片段连接(例如融合)。第一Fc多肽和/或第二Fc多肽可以通过肽键或通过多肽接头与ERT酶、ERT酶变体或其催化活性片段连接。第一Fc多肽和/或第二Fc多肽可以是经修饰的Fc多肽，其含有一个或多个促进其与其它Fc多肽异二聚化的修饰。第一Fc多肽和/或第二Fc多肽可以是经修饰的Fc多肽，其含有一个或多个赋予与转铁蛋白受体结合的修饰。第一Fc多肽和/或第二Fc多肽可以是含有一个或多个降低效应功能的修饰的经修饰的Fc多肽。第一Fc多肽和/或第二Fc多肽可以是含有一个或多个延长血清半衰期的修饰的经修饰的Fc多肽。术语“[ERT酶]-Fc融合蛋白”、"ETV:[ERT酶]蛋白质分子“或”蛋白质分子"可指单个蛋白质分子或多个蛋白质分子。

[0577] 如本文所用，“融合多肽”或“[ERT酶]-Fc融合多肽”是指与ERT酶、ERT酶变体或其催化活性片段连接(例如融合)的Fc多肽。Fc多肽可以通过肽键或通过多肽接头与ERT酶、ERT酶变体或其催化活性片段连接。Fc多肽可以是经修饰的Fc多肽，其含有一个或多个促进其与另一Fc多肽异二聚化的修饰。Fc多肽可以是经修饰的Fc多肽，其含有一个或多个赋予与转铁蛋白受体结合的修饰。Fc多肽可以是含有一个或多个降低效应功能的修饰的经修饰的Fc多肽。Fc多肽可以是含有一个或多个延长血清半衰期的修饰的经修饰的Fc多肽。

[0578] 如本文所用，术语“Fc多肽”是指天然存在的免疫球蛋白重链多肽的C端区域，其特

征为结构域形式的Ig折叠。Fc多肽含有恒定区所述恒定区序列(包括至少CH2结构域和/或CH3结构域),并且可含有至少部分铰链区。一般而言,Fc多肽不包含可变区。

[0579] “经修饰的Fc多肽”是指与野生型免疫球蛋白重链Fc多肽序列相比具有至少一个突变,例如取代、缺失或插入,但保留天然Fc多肽的总体Ig折叠或结构的Fc多肽。

[0580] 术语“FcRn”是指新生儿Fc受体。Fc多肽与FcRn的结合降低清除并增加Fc多肽的血清半衰期。人FcRn蛋白是异源二聚体,其由与主要组织相容性(MHC)I类蛋白类似的大小为约50kDa的蛋白质和大小为约15kDa的β2-微球蛋白组成。

[0581] 如本文所用,“FcRn结合位点”是指Fc多肽的与FcRn结合的区域。在人IgG中,如使用EU索引所编号,FcRn结合位点包括T250、L251、M252、I253、S254、R255、T256、T307、E380、M428、H433、N434、H435和Y436。这些位置对应于SEQ ID NO:8的位置20至26、77、150、198和203至206。

[0582] 如本文所用,“天然FcRn结合位点”是指Fc多肽的与FcRn结合的区域,并且所述区域具有与天然存在的Fc多肽的与FcRn结合的区域相同的氨基酸序列。

[0583] 如本文所用术语“CH3结构域”和“CH2结构域”是指免疫球蛋白恒定区结构域多肽。出于本申请的目的,CH3结构域多肽是指如根据EU所编号的从约位置341至约位置447的氨基酸的区段,并且CH2结构域多肽是指如根据EU编号方案所编号的从约位置231至约位置340的氨基酸的区段并且不包括铰链区序列。根据IMGT Scientific图表编号(IMGT网站),CH2和CH3结构域多肽也可通过IMGT(ImMunoGeneTics)编号方案进行编号,其中CH2结构域编号为1-110并且CH3结构域编号为1-107。CH2和CH3结构域是免疫球蛋白的Fc区的部分。Fc区是指如根据EU编号方案所编号的从约位置231至约位置447的氨基酸的区段,但是如本文所用,可以包括抗体的铰链区的至少一部分。例示性的铰链区序列是人IgG1铰链序列EPKSCDKTHTCPPCP(SEQ ID NO:12)。

[0584] “天然存在的”、“天然的”或“野生型”用于描述可以在自然界中发现的不同于人工产生的物体。例如,可从自然中的来源分离并且不在实验室中经有意修饰的存在于生物(包括病毒)中的核苷酸序列为天然存在的。此外,“野生型”是指在自然界中发现的没有任何已知突变的正常基因或生物体。例如,关于CH3或CH2结构域的术语“野生型”、“天然”和“天然存在的”在本文中用于指具有天然存在的序列的结构域。

[0585] 如本文所用,关于突变多肽或突变多核苷酸的术语“突变体”可与“变体”互换使用。相对于给定的野生型CH3或CH2结构域参考序列的变体可以包括天然存在的等位基因变体。“非天然”存在的CH3或CH2结构域是指在自然界的细胞中不存在并且通过天然CH3结构域或CH2结构域多核苷酸或多肽的基因修饰(例如,使用基因工程改造技术或诱变技术)产生的变异或突变结构域。“变体”包括相对于野生型包含至少一个氨基酸突变的任何结构域。突变可包括取代、插入和缺失。

[0586] 术语“氨基酸”是指天然存在的和合成的氨基酸,以及以类似于天然存在的氨基酸的方式起作用的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。

[0587] 天然存在的氨基酸是由遗传密码编码的那些氨基酸,以及经后期修饰的那些氨基酸,例如,羟基脯氨酸、γ-羧基谷氨酸和O-磷酸丝氨酸。“氨基酸类似物”是指与天然存在的氨基酸具有相同的基本化学结构的化合物,即,结合至氢的α碳、羧基、氨基和R基团,例如,高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砜、甲硫氨酸甲基锍。此类类似物具有经修饰的R基团(例

如,正亮氨酸)或经修饰的肽骨架,但保留了与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构。“氨基酸模拟物”是指具有不同于氨基酸的一般化学结构的结构、但以类似于天然存在的氨基酸的方式起作用的化合物。

[0588] 天然存在的α-氨基酸包括但不限于丙氨酸(Ala)、半胱氨酸(Cys)、天冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)、苯丙氨酸(Phe)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、异亮氨酸(Ile)、精氨酸(Arg)、赖氨酸(Lys)、亮氨酸(Leu)、甲硫氨酸(Met)、天冬酰胺(Asn)、脯氨酸(Pro)、谷氨酰胺(Gln)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、缬氨酸(Val)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)及其组合。天然存在的α-氨基酸的立体异构体包括但不限于D-丙氨酸(D-Ala)、D-半胱氨酸(D-Cys)、D-天冬氨酸(D-Asp)、D-谷氨酸(D-Glu)、D-苯丙氨酸(D-Phe)、D-组氨酸(D-His)、D-异亮氨酸(D-Ile)、D-精氨酸(D-Arg)、D-赖氨酸(D-Lys)、D-亮氨酸(D-Leu)、D-甲硫氨酸(D-Met)、D-天冬酰胺(D-Asn)、D-脯氨酸(D-Pro)、D-谷氨酰胺(D-Gln)、D-丝氨酸(D-Ser)、D-苏氨酸(D-Thr)、D-缬氨酸(D-Val)、D-色氨酸(D-Trp)、D-酪氨酸(D-Tyr)及其组合。

[0589] 氨基酸可在本文中由其通常已知的三字母符号或由IUPAC-IUB生物化学命名委员会推荐的单字母符号来表示。

[0590] 术语“多肽”和“肽”在本文可互换用于指单链形式的氨基酸残基的聚合物。该术语应用于其中一个或多个氨基酸残基是对应的天然存在的氨基酸的人工化学模拟物的氨基酸聚合物,以及天然存在的氨基酸聚合物和非天然存在的氨基酸聚合物。氨基酸聚合物可包含完全L-氨基酸、完全D-氨基酸,或L和D氨基酸的混合物。

[0591] 如本文所用,术语“蛋白质”是指多肽或单链多肽的二聚体(即两个)或多聚体(即三个或更多个)。蛋白质的单链多肽可通过共价键(例如,二硫键)或非共价相互作用连接。

[0592] 术语“保守取代”、“保守突变”或“经保守修饰的变体”是指导致氨基酸被可以分类为具有相似特征的另一氨基酸取代的改变。以此方式定义的保守氨基酸组的类别的实例可以包括:“带电/极性组”,包括Glu(谷氨酸或E)、Asp(天冬氨酸或D)、Asn(天冬酰胺或N)、Gln(谷氨酰胺或Q)、Lys(赖氨酸或K)、Arg(精氨酸或R)和His(组氨酸或H);“芳族组”,包括Phe(苯丙氨酸或F)、Tyr(酪氨酸或Y)、Trp(色氨酸或W)和(组氨酸或H);以及“脂族组”,包括Gly(甘氨酸或G)、Ala(丙氨酸或A)、Val(缬氨酸或V)、Leu(亮氨酸或L)、Ile(异亮氨酸或I)、Met(甲硫氨酸或M)、Ser(丝氨酸或S)、Thr(苏氨酸或T)和Cys(半胱氨酸或C)。在每个组内,还可以鉴定亚组。例如,带电或极性氨基酸的组可细分为亚组,包括:包括Lys、Arg和His的“带正电的亚组”;包括Glu和Asp的“带负电的亚组”;以及包括Asn和Gln的“极性亚组”。在另一个实例中,芳族或环状组可细分为亚组,包括:包括Pro、His和Trp的“氮环亚组”;以及包括Phe和Tyr的“苯基亚组”。在另一个实例中,脂族组可细分为亚组,例如,包括Val、Leu、Gly和Ala的“脂族非极性亚组”;以及包括Met、Ser、Thr和Cys的“脂族弱极性亚组”。保守突变的类别的实例包括以上亚组内的氨基酸的氨基酸取代,诸如但不限于:Lys取代Arg或反之亦然,使得可以保持正电荷;Glu取代Asp或反之亦然,使得可以保持负电荷;Ser取代Thr或反之亦然,使得可以保持游离-OH;以及Gln取代Asn或反之亦然,使得可以保持游离-NH_2。在一些实施方案中,用疏水氨基酸取代例如活性位点中的天然存在的疏水氨基酸,以保持疏水性。

[0593] 在两个或更多个多肽序列的上下文中,术语“同一性”或“同一性”百分比是指当如使用序列比较算法或通过人工比对和目视检查所测量比较和比对在比较窗口或指定区域上的最大对应性时,两个或更多个序列或子序列在特定区域上是相同的或具有特定百分比

的相同氨基酸残基(例如,至少60%同一性,至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%或更大)。

[0594] 对于多肽的序列比较,通常一个氨基酸序列充当参考序列,将其与候选序列比较。可以使用本领域技术人员可获得的各种方法进行比对,例如,目视比对或使用利用已知算法的公开可获得的软件,以实现最大比对。此类程序包括BLAST程序、ALIGN、ALIGN-2(Genentech,South San Francisco,Calif.)或Megalign(DNASTAR)。用于比对以实现最大比对的参数可由本领域技术人员确定。出于本申请目的,为了多肽序列的序列比较,使用BLASTP算法标准蛋白质BLAST,其用于使用默认参数比对两个蛋白质序列。

[0595] 当在多肽序列中的给定氨基酸残基的鉴定的上下文中使用时,术语"对应于"、"参考...确定"或"参考...编号"是指在将给定氨基酸序列与参考序列进行最大程度的比对和比较时指定参考序列的残基的位置。因此,例如,当在与SEQ ID NO:8最佳比对时残基与SEQ ID NO:8中的氨基酸对齐时,经修饰的Fc多肽中的氨基酸残基"对应于"SEQ ID NO:8中的氨基酸。与参考序列比对的多肽不必与参考序列的长度相同。

[0596] 如本文所用的"结合亲和力"是指两个分子之间的非共价相互作用的强度,例如多肽上的单个结合位点和与其结合的靶标,例如转铁蛋白受体。因此,例如,该术语可以指多肽与其靶标之间的1:1相互作用,除非另有说明或从上下文中清楚可见。结合亲和力可通过测量平衡解离常数(K_D)进行定量,所述平衡解离常数(K_D)是指解离速率常数(k_d,时间$^{-1}$)除以缔合速率常数(k_a,时间$^{-1}M^{-1}$)。K_D可以通过测量复合物形成和解离的动力学进行确定,例如使用表面等离子体共振(SPR)方法,例如BiacoreTM系统;动力学排除测定诸如KinExA®;以及BioLayer干涉法(例如,使用ForteBio® Octet®平台)。如本文所用,"结合亲和力"不仅包括正式(formal)结合亲和力,诸如反映多肽与其靶标之间的1:1相互作用的那些,而且还包括计算出的其K_D可反映亲合结合(avid binding)的表观亲和力。

[0597] 如本文所用,术语"特异性结合"或"选择性结合"靶标,例如TfR,当涉及如本文所述的工程改造的TfR结合多肽或TfR结合肽时,是指这样的结合反应,其中工程改造的TfR结合多肽或TfR结合肽以比其结合结构不同的靶标更大的亲和力、更大的亲合力和/或更长的持续时间结合靶标。在典型的实施方案中,当在相同的亲和力测定条件下测定时,工程改造的TfR结合多肽或TfR结合肽对特定靶标(例如TfR)的亲和力是对不相关靶标的至少5倍、10倍、50倍、100倍、1,000倍、10,000倍或更大。如本文所用,术语"特异性结合"、"特异性结合于"或"特异于"特定靶标(例如,TfR)可例如通过分子表现出来,所述分子对于其所结合的靶标具有例如10^{-4}M或更小,例如10^{-5}M、10^{-6}M、10^{-7}M、10^{-8}M、10^{-9}M、10^{-10}M、10^{-11}M或10^{-12}M的平衡解离常数K_D。在一些实施方案中,工程改造的TfR结合多肽或TfR结合肽特异性地结合TfR上的表位,所述表位在物种之间是保守的(例如,在物种之间在结构上是保守的),例如,在非人灵长类动物和人类物种之间是保守的(例如,在非人灵长类动物和人类物种之间在结构上是保守的)。在一些实施方案中,工程改造的TfR结合多肽或TfR结合肽可以仅与人TfR结合。

[0598] 术语"可变区"或"可变结构域"是指抗体重链或轻链中来源于生殖系可变(V)基因、多样性(D)基因或连接(J)基因(而不是来源于恒定(Cμ和Cδ)基因区段)并且赋予抗体与抗原结合的特异性的结构域。通常,抗体可变区包含四个保守的"框架"区,其间散布着三个高变的"互补决定区"。

[0599] 术语“抗原结合部分”和“抗原结合片段”在本文可互换使用，并且是指抗体的一个或多个片段，其保留通过其可变区与抗原特异性结合的能力。抗原结合片段的实例包括但不限于Fab片段(由VL、VH、CL和CH1结构域组成的一价片段)、$F(ab')_2$片段(包含通过铰链区的二硫键连接的两个Fab片段的二价片段)、单链Fv(scFv)、二硫键连接的Fv(dsFv)、互补决定区(CDR)、VL(轻链可变区)和VH(重链可变区)。

[0600] 如本文所使用，术语“稀释剂”是指用于制备复原制剂的药学上可接受的(例如，针对向人施用而言安全的且非毒性的)稀释性物质。示例性的稀释剂包括无菌水、注射用抑菌水(BWFI)、pH缓冲溶液(例如磷酸盐缓冲盐水)、无菌盐水溶液、林格氏溶液(Ringer's solution)或葡萄糖溶液。

[0601] 如本文所用，术语“冻干保护剂”是指在冻干和随后储存时防止或减少蛋白质或其它物质的化学和/或物理不稳定性的分子。示例性的冻干保护剂包括糖如蔗糖或海藻糖；氨基酸如谷氨酸一钠或组氨酸；甲胺如甜菜碱；易溶盐如硫酸镁：多元醇，例如三元或更高级糖醇，例如甘油、赤藓糖醇、甘油、阿拉伯糖醇、木糖醇、山梨糖醇和甘露糖醇；丙二醇；聚乙二醇；普朗尼克；及其组合。在一些实施方案中，冻干保护剂是非还原糖，例如海藻糖或蔗糖。

[0602] 如本文所用，术语“可溶的”是指治疗剂形成均质溶液的能力。在一些实施方案中，治疗剂在其所施用的溶液中的溶解度和通过其将其转运至作用靶位点(例如脑细胞和组织)的溶解度足以允许将治疗有效量的治疗剂递送至作用靶位点。若干因素可影响治疗剂的溶解度。例如，可能影响蛋白质溶解度的相关因素包括离子强度、氨基酸序列和其它共增溶剂或盐(例如钙盐)的存在。在一些实施方案中，药物组合物被配制成使得钙盐被排除在此类组合物之外。在一些实施方案中，治疗剂可溶于其相应的药物组合物中。

[0603] 如本文所用，术语“稳定的”是指治疗剂(例如，包含IDS-Fc融合多肽的ETV:IDS蛋白分子)在延长的时间段内维持其治疗功效(例如，其全部或大部分预期生物活性和/或生理化学完整性)的能力。治疗剂的稳定性和药物组合物维持这种治疗剂的稳定性的能力可以在延长的时间段(例如，至少1、2、3或4周；或1、3、6、12、18、24、30、36个月或更长时间)内进行评估。通常，本文所述的药物组合物已经被配制成使得它们能够稳定，或者替代地减缓或防止与其一起配制的一种或多种治疗剂(例如重组蛋白)的降解。在制剂的上下文中，稳定的制剂是其中的治疗剂在储存时和某些过程(例如冷冻/解冻、机械混合和冻干)期间基本上保持其物理和/或化学完整性和生物活性的制剂。对于蛋白质稳定性，其可通过例如高分子量(HMW)聚集体的形成、低分子量颗粒的形成(指示剪切)、酶活性的丧失、肽片段的产生、电荷分布的变化或实施例中所述的其它因素来测量。

[0604] 以下实施例旨在是非限制性的。

[0605] 实施例1：构建包含IDS的融合蛋白。

[0606] 设计和克隆

[0607] 设计IDS-Fc融合蛋白，其含有(i)融合多肽，其中成熟的人IDS酶与包括Fc区的人IgG1片段融合(“IDS-Fc融合多肽”)，和(ii)经修饰的人IgG1片段，其含有在Fc区中的赋予转铁蛋白受体(TfR)结合的突变(“经修饰的Fc多肽”)。特别地，产生IDS-Fc融合多肽，其中IDS片段与人IgG1 Fc区的N或C端融合。在一些情况下，在IDS和IgG1片段之间放置接头以减轻两个片段之间的任何空间位阻。在所有构建体中，来自κ链V-III的信号肽，氨基酸1-20

(UniProtKB ID-P01661)被插入融合体的上游以促进分泌,并且IDS被截短以由氨基酸S26-P550(UniProtKB ID-P22304)组成。所使用的人IgG1 Fc区的片段对应于UniProtKB ID P01857中序列的氨基酸D104-K330(位置221-447,EU编号,其包括铰链的10个氨基酸(位置221-230))。在一些实施方案中,将来源于人IgG1残基D104-K330但缺乏IDS融合的另一个Fc多肽与IDS-Fc融合多肽共转染以产生具有一种IDS酶("单酶")的异二聚体融合蛋白。在一些构建体中,IgG1片段含有另外的突变以促进两个Fc区的异二聚化。类似地设计和构建了缺乏赋予TfR结合的突变的对照IDS-Fc融合蛋白,不同之处在于这些蛋白缺乏赋予TfR结合的突变。作为另外的对照,产生具有C端六组氨酸标签(SEQ ID NO:38)的IDS多肽(氨基酸S26-P550)以促进检测和纯化。

[0608] TfR结合蛋白分子是由IDS-Fc融合多肽和结合TfR的经修饰的Fc多肽形成的二聚体。对于其中IDS酶与Fc区的N端连接的二聚体,IDS-Fc融合多肽可具有SEQ ID NO:4、5和24中的任一个的序列。在这些序列中,将IDS序列加下划线,并且含有在第59位的被修饰为甲酰甘氨酸的半胱氨酸(加双下划线)。将IDS通过GGGGS接头(SEQ ID NO:36)与Fc多肽连接。将IgG1铰链区的一部分(DKTHTCPPCP;SEQ ID NO:22)包括在Fc多肽的N端。CH2结构域序列开始于SEQ ID NO:4、5和24的第541位。

[0609] IDS-Fc融合蛋白ETV:IDS 35.21是由具有SEQ ID NO:4、5和24中任一个的序列的IDS-Fc融合多肽和具有SEQ ID NO:25的序列的结合TfR的经修饰的Fc多肽形成的二聚体。还可以将IDS-Fc融合蛋白ETV:IDS 35.21在细胞培养生产过程中进一步加工,使得IDS-Fc融合多肽具有SEQ ID NO:39、40和43中任一个的序列和/或结合TfR的经修饰的Fc多肽具有SEQ ID NO:44的序列。因此,如本文所用,术语ETV:IDS 35.21可用于指具有未加工序列(即,SEQ ID NO:4、5、24和25)的蛋白质分子;包含一个或多个加工序列(即,选自SEQ ID NO:39、40、43和44)的蛋白质分子;或包含加工和未加工的蛋白质分子的混合物。前10个氨基酸是IgG1铰链区的一部分。CH2结构域序列分别开始于SEQ ID NO:25和44的第11位。

[0610] IDS-Fc融合蛋白ETV:IDS 35.21.17.2是由具有SEQ ID NO:4、5和24中任一个的序列的IDS-Fc融合多肽和具有SEQ ID NO:30的序列的结合TfR的经修饰的Fc多肽形成的二聚体。还可以将IDS-Fc融合蛋白ETV:IDS 35.21.17.2在细胞培养生产过程中进一步加工,使得IDS-Fc融合多肽具有SEQ ID NO:39、40和43中任一个的序列和/或结合TfR的经修饰的Fc多肽具有SEQ ID NO:49的序列。因此,如本文所用,术语ETV:IDS 35.21.17.2可用于指具有未加工序列(即,SEQ ID NO:4、5、24和30)的蛋白质分子;包含一个或多个加工序列(即,选自SEQ ID NO:39、40、43和49)的蛋白质分子;或包含加工和未加工的蛋白质分子的混合物。前10个氨基酸是IgG1铰链区的一部分。CH2结构域序列分别开始于SEQ ID NO:30和49的第11位。

[0611] IDS-Fc融合蛋白ETV:IDS 35.23.2是由具有SEQ ID NO:4、5和24中任一个的序列的IDS-Fc融合多肽和具有SEQ ID NO:7的序列的结合TfR的经修饰的Fc多肽形成的二聚体。IDS-Fc融合蛋白ETV:IDS 35.23.2还可以在细胞培养生产过程中进一步加工,使得IDS-Fc融合多肽具有SEQ ID NO:39、40和43中任一个的序列和/或结合TfR的经修饰的Fc多肽具有SEQ ID NO:42的序列。因此,如本文所用,术语ETV:IDS 35.23.2可用于指具有未加工序列(即,SEQ ID NO:4、5、24和7)的蛋白质分子;包含一个或多个加工序列(即,选自SEQ ID NO:39、40、43和42)的蛋白质分子;或包含加工和未加工的蛋白质分子的混合物。前10个氨基酸

是IgG1铰链区的一部分。CH2结构域序列分别开始于SEQ ID NO:7和42的第11位。

[0612] IDS-Fc融合蛋白ETV:IDS 35.21.17是由具有SEQ ID NO:4、5和24中任一个的序列的IDS-Fc融合多肽和具有SEQ ID NO:6的序列的结合TfR的经修饰的Fc多肽形成的二聚体。IDS-Fc融合蛋白ETV:IDS 35.21.17还可以在细胞培养生产过程中进一步加工,使得IDS-Fc融合多肽具有SEQ ID NO:39、40和43中任一个的序列和/或结合TfR的经修饰的Fc多肽具有SEQ ID NO:41的序列。因此,如本文所用,术语ETV:IDS 35.21.17可用于指具有未加工序列(即,SEQ ID NO:4、5、24和6)的蛋白质分子;包含一个或多个加工序列(即,选自SEQ ID NO:39、40、43和41)的蛋白质分子;或包含加工和未加工的蛋白质分子的混合物。经修饰的Fc多肽的N端可以包括IgG1铰链区的一部分(例如,SEQ ID NO:22)。

[0613] 蛋白质纯化

[0614] 为了表达与Fc区融合的重组IDS酶,根据制造商的说明书(Thermo Fisher Scientific),使用ExpifectamineTMCHO转染试剂盒,用相关的DNA构建体转染ExpiCHO细胞(Thermo Fisher Scientific)。使细胞在定轨振荡器(Infors HT Multitron)中在37℃,6%CO_2和120rpm下在ExpiCHOTM表达培养基中生长。简言之,以6x10^6细胞/ml的密度用0.8μg DNA质粒/mL培养体积转染对数生长的ExpiCHOTM细胞。转染后,将细胞恢复至37℃,并如转染后18-22小时所示,用原料(feed)补充转染的培养物。转染后120小时通过以3,500rpm离心20分钟收获转染的细胞培养物上清液。将澄清的上清液过滤(0.22μM膜)并储存在4℃。表位标记的IDS酶(用作对照)的表达如上所述进行,稍加修改。简而言之,在ExpiCHO细胞中表达携带C端六组氨酸标签(SEQ ID NO:38)的IDS酶。

[0615] 使用蛋白A亲和色谱法从细胞培养物上清液中纯化具有(或不具有)赋予TfR结合的工程改造的Fc区的IDS-Fc融合蛋白。将上清液加载到HiTrap MabSelect SuRe Protein A亲和柱(使用Akta Pure System的GE Healthcare Life Sciences)上。然后用>20柱体积(CV)的PBS洗涤该柱。使用含有150mM NaCl的100mM柠檬酸盐/NaOH缓冲剂(pH 3.0)洗脱结合的蛋白质。洗脱后立即使用1M精氨酸-670mM琥珀酸盐缓冲剂(pH 5.0)(1:5稀释)中和级分。通过还原和非还原SDS-PAGE评估洗脱级分中IDS-Fc融合蛋白的均匀性。

[0616] 为了纯化六组氨酸标记的(SEQ ID NO:38)IDS酶,将转染的上清液用含有100mM NaCl的15L 20mM HEPES(pH 7.4)彻底透析过夜。将透析的上清液结合到HisTrap柱(使用Akta Pure System的GE Healthcare Life Sciences)。结合后,用20CV PBS洗涤柱。用含有500mM咪唑的PBS洗脱结合的蛋白质。通过还原和非还原SDS-PAGE评估洗脱级分中IDS酶的均匀性。将含有IDS酶的合并级分在50mM Tris(pH 7.5)中以1:10稀释,并使用Q Sepharose High Performance(GE Healthcare)进一步纯化。结合后,用10CV 50mM Tris(pH 7.5)洗涤柱。使用线性梯度至50mM Tris(pH 7.5)和0.5M NaCl洗脱结合的蛋白质,并收集在1CV级分中。通过非还原SDS-PAGE评估级分纯度。纯化产生均质IDS-Fc融合蛋白和六组氨酸标记的(SEQ ID NO:38)IDS酶。

[0617] 重组IDS-Fc融合蛋白也由稳定的细胞系集合产生。简言之,将通过用相关DNA构建体转染CHOK1SV GS-KOTM细胞(Lonza Biologics PLC)产生的稳定细胞系在搅拌罐10-L生物反应器中的生长培养基中培养。接种后两周收获细胞培养基,并在2-8℃下储存前以三步法纯化,所述三步法包括蛋白A色谱法、离子交换色谱法和超滤/渗滤。

[0618] 实施例2:制剂开发和评估。

[0619] 如下所述评估以下制剂和条件。如表2.1所示，测试了各种缓冲剂组分，包括商业比较物Elaprase的缓冲剂(测试缓冲剂#1)。除非另有说明，10mg/mL的代表性ETV:IDS蛋白质(ETV:IDS 35.23.2，实施例1)用于评估每种测试缓冲剂。

[0620] 表2.1.测试缓冲剂配方。

[0621]

测试缓冲剂#	缓冲剂	pH	NaCl (mM)	Arg-HCl (mM)	kD 排名
1	20 mM 磷酸钠	6.0	137		3
2	20 mM 磷酸钠	6.0		100	5
3	20 mM 磷酸钾	7.0	137		1
4	20 mM 精氨酸琥珀酸盐	6.0	137		4
5	20 mM His-HCl	5.0	137		6
6	20 mM His-HCl	6.5	137	75	2

[0622] 如下所述，评估以下性质:1)如通过动态光散射(DLS)测量的扩散相互作用参数kD所指示的胶体稳定性;和2)如通过差示扫描荧光测定法(DSF)和静态光散射(SLS)测量的T_{on}和T_{agg}所示的构象稳定性。

[0623] 测试缓冲剂的评估

[0624] 胶体稳定性(DLS)的测量

[0625] 从10mg/mL(10、8、6、5、4、3、2mg/mL)开始制备ETV:IDS蛋白质分子的稀释系列。使用Wyatt DynaPro Plate Reader II测量DLS信号。在线性回归后计算kD值和标准偏差。正kD值表示蛋白质分子之间的排斥力(即，增加的溶解度)，而负kD表示吸引力(即，增加的聚集)。排斥力与增加的胶体稳定性相关并且是有利的。如表2.2所示，测试缓冲剂#3和6具有最高的kD值，表明这些缓冲剂有利于胶体稳定性。

[0626] 表2.2.胶体稳定性(DLS)

[0627]

测试缓冲剂#	kD(mL/g)	标准偏差kD(mL/g)
1	0.05	0.73
2	-2.78	0.60
3	3.08	0.66
4	-2.15	0.77
5	-7.38	0.62
6	3.02	0.75

[0628] 构象稳定性的测量(DSF/SLS)

[0629] 在5mg/mL，9μl样品体积下测试ETV:IDS蛋白质分子。升温速率为15-95℃，加热速率为0.33℃/min。通过DSF测定Tm，通过SLS测定T_{agg}。

[0630] 如下表2.3所示，测试缓冲剂5(His-HCl，pH 5.0)表现出比其它缓冲剂显著更低的Tm1。其它缓冲剂显示相当的构象稳定性行为。

[0631] 表2.3.构象稳定性(DSF/SLS)

[0632]

测试缓冲剂#	Tm1 (℃)	Tm2 (℃)	Tagg (℃)
1	68.1	74.1	65.1

[0633]

2	66.9	74.1	65.4
3	66.6	n.t.	60.8
4	67.5	73.1	65.4
5	56.4	72.1	66.7
6	66.5	73.3	65.9

[0634] ETV:IDS蛋白质分子和TfR之间的结合动力学也在各种测试缓冲剂中进行了评估。在缓冲剂条件之间没有观察到显著变化。

[0635] 总之，如表2.2所示，发现较高pH缓冲剂6.5和7.0使ETV:IDS蛋白分子的胶体稳定性得到改善(kD值略微为正)。尽管蛋白质分子通常显示良好的构象稳定性，但发现其在较低pH(约pH 5.0)下显著受损(表2.3)。另外，在pH 6.0-7.0的低范围内，构象稳定性不受缓冲剂类型的显著影响。基于胶体和构象稳定性行为，6.0-7.0的pH范围似乎有利于蛋白质分子。

[0636] 低和高pH条件的评估

[0637] 为进一步了解配方开发，在强制降解条件下，在具有低和高pH值的各种测试缓冲剂中对ETV:IDS蛋白质分子进行了评估。用于各评估的样品描述和技术总结在下表2.4中。

[0638] 表2.4.测试缓冲剂的评估

[0639]

样品说明	**SEC**	**RP-HPLC (还原/非还原)**	**卡尺(还原/非还原)**
50mM Tris pH 8，2 天，40℃	**X**		
50mM Tris pH 8，2 天，40℃对照			
50mM Tris pH 8，5 天，40℃			
50mM Tris pH 8，5 天，40℃对照			
50mM 醋酸盐 pH 4，2 天，40℃		**X**	**X**
50mM 醋酸盐 pH 4，2 天，40℃对照			
50mM 醋酸盐 pH 4，5 天，40℃			
50mM 醋酸盐 pH 4，5 天，40℃对照			
0.81mM AAPH，24 小时，25℃		**X**	
24H，25C 对照			
0.81mM AAPH，24 小时，40℃			
24H，40C 对照			
0.2% H2O2，24 小时，25℃			

[0640]

0.2% H2O2，24 小时，40℃			
T0 对照		**T0 对照**	

[0641] SEC测定

[0642] 在时间0、2天和5天在各种pH条件下通过SEC评估蛋白质分子(参见表2.5)。对照是指在20mM磷酸钠(pH 6)中的蛋白质。

[0643] 如表2.5所示，在所有受压样品中聚集物以pH依赖性方式增加，在pH 4和pH 8下观察到最高聚集物水平。然而，在pH 7下也观察到聚集物有轻微增加。在下表中，HMW表示高分子量含量，LMW表示低分子量含量。

[0644] 表2.5.强制降解条件的SEC结果

[0645]

		相对峰面积百分比		
	样品名称	总 HMW	主峰	LMW
对照 pH 6	T0	1.3	97.8	0.9
在 50 mM Tris(pH 8)中脱酰胺	T0	1.2	97.8	1.0
	2d	10.0	89.0	1.0
	2d 对照	1.3	97.7	1.1
	5d	21.1	77.7	1.2
	5d 对照	1.5	97.3	1.2
在 50 mM 醋酸盐(pH 4)中剪切	T0	15.1	80.3	4.6
	2d	56.9	33.6	9.5
	2d 对照	1.3	97.6	1.1
	5d	-	-	-
	5d 对照	1.5	97.3	1.2
AAPH 氧化 pH 6	24h 25℃	1.6	97.5	1.0
	24h 25℃对照	1.3	97.8	1.0
	24h 40℃	6.7	92.1	1.2
	24h 40℃对照	1.3	97.7	1.0
H2O2 氧化 pH 6	24h 25℃	1.4	96.9	1.7
	24h 40℃	21.4	76.6	2.1
对照 pH 6	T0	1.2	97.87	0.95

[0646] RP-HPLC测定

[0647] RP-HPLC用于评估非还原样品中ETV:IDS蛋白分子的强制剪切和氧化。如下表2.6中所概述,观察到受压样品中的显著片段化,而对照(20mM磷酸钠(pH 6)中的蛋白质)保持稳定。在非还原受压样品中也观察到剪切,这可能与氧化有关。特别地,在pH 4下剪切的应力条件导致主峰的显著减少,并且对于氧化应力条件观察到主峰的温度依赖性减少。减少的样品证实了在低pH下显著片段化的发现(数据未显示)。

[0648] 表2.6.RP-HPLC样品的强制剪切和氧化测定结果

[0649]

	样品名称	峰前总和	主峰	峰后总和
对照	T0	2.62	92.63	4.75
在 50 mM 醋酸盐(pH 4)中剪切	T0	3.64	92.16	4.20
	2d	22.00	42.74	34.43
	2d 对照	3.39	92.15	4.41
	5d	24.66	25.59	48.75
	5d 对照	3.02	92.14	4.84
AAPH 氧化 pH 6	24h 25℃	2.54	93.10	4.36
	24h 25℃对照	3.13	92.54	4.33
	24h 40℃	2.60	90.18	7.22
	24h 40℃对照	2.59	93.68	3.73
H2O2 氧化 pH 6	24h 25℃	2.93	91.98	5.09
	24h 40℃	3.74	89.71	6.54

[0650] 卡尺测定

[0651] 使用卡尺样品评估ETV:IDS蛋白分子的强制剪切。非还原样品的结果表明蛋白质

分子在应力条件(40℃)下对剪切敏感,并且蛋白质在50mM乙酸盐(pH 4)中5天后完全降解(表2.7)。对照由20mM磷酸钠(pH 6)中的ETV:IDS蛋白组成。样品减少的结果表明发生了分子的片段化。

[0652] 表2.7.卡尺样品的强制剪切测定结果

[0653]

样品	完整%
T0	96.7
2d对照	97.3
2d	48.7
5d对照	97.0
5d	2.3

[0654] 总之,对蛋白质分子的强制降解应力组表明1)在低pH下有强烈剪切风险;2)显著的pH依赖性聚集;和3)可能的氧化倾向。

[0655] 实施例3:储存条件的评估

[0656] 对pH范围5.5-6.5的三种缓冲系统进行pH/缓冲剂筛选。以10mg/mL测试代表性ETV:IDS蛋白质(ETV:IDS 35.23.2,实施例1)的浓度。测试的缓冲剂的基质和具体配方分别示于表3.1和3.2中。相关储存条件如表3.3所示。如下评估样品:1)透明度/乳白;2)pH;3)尺寸排阻(SE)-HPLC;4)CE-SDS(卡尺);和5)RP-HPLC。

[0657] 表3.1.测试的缓冲剂的基质

[0658]

20 mM 磷酸钠		20 mM 组氨酸-HCl		20 mM 醋酸钠	
pH	NaCl (mM)	pH	NaCl (mM)	pH	NaCl (mM)
		5.5	50	5.5	50
6.0	137/ 50	6.0	50	6.0	50
6.5	50	6.5	50		

[0659] 表3.2.特定配方

[0660]

配方号	样品说明
F1	20mM磷酸钠pH 6.0,137mM NaCl
F2	20mM磷酸钠pH 6.0,50mM NaCl
F3	20mM磷酸钠pH 6.5,50mM NaCl
F4	20mM组氨酸-HCl pH 5.5,50mM NaCl
F5	20mM组氨酸-HCl pH 6.0,50mM NaCl
F6	20mM组氨酸-HCl pH 6.5,50mM NaCl
F7	20mM醋酸钠pH 5.5,50mM NaCl
F8	20mM醋酸钠pH 6.0,50mM NaCl

[0661] 表3.3.储存条件

[0662]

温度	时间点(周)	
	0	2
+2-8℃	X	X
+25℃ / 60% RH	N/A	X
+40℃ / 75% RH	N/A	X

[0663] X＝取样分析

[0664] pH评估

[0665] 评估了储存条件对各种制剂的pH的影响。如表3.4和3.5所示，在测试条件下没有观察到显著的pH偏差。

[0666] 表3.4.蛋白质含量和渗透压

[0667]

	配方	T0
蛋白质含量 (mg/ml)	F1	10.8
	F2	10.3
	F3	10.2
	F4	10.5
	F5	10.1
	F6	10.0
	F7	9.6
	F8	9.9

渗透压 (mOsm/kg)	配方	T0
	F1	307
	F2	138
	F3	141
	F4	132
	F5	128
	F6	123
	F7	135
	F8	136

[0668] 表3.5.储存条件对pH的影响

[0669]

	配方	T0	2-8℃	25℃	40℃
pH	F1	6.0	6.0	6.0	6.1
	F2	6.0	6.1	6.1	6.1
	F3	6.5	6.5	6.5	6.6
	F4	5.5	5.5	5.5	5.6
	F5	6.0	5.9	6.0	6.0
	F6	6.5	6.4	6.5	6.5
	F7	5.5	5.5	5.6	5.6
	F8	6.0	6.0	6.1	6.1

[0670] 浊度分析

[0671] 对于每种制剂评估了各种储存条件对浊度的影响。对于大多数测试系统浊度低且稳定；然而，对于40℃储存条件，pH 5.5的缓冲系统中的浊度增加(表3.6)。

[0672] 表3.6.储存条件对浊度的影响

[0673]

缓冲剂	pH	NaCl (mM)		配方	T0	2-8℃	25℃	40℃
20 mM 磷酸钠	6	137		F1	5	5	5	5
20 mM 磷酸钠	6	50		F2	5	4	5	4
20 mM 磷酸钠	6.5	50	浊度 (NTU)	F3	4	4	4	5
20 mM His-HCl	5.5	50		F4	5	5	5	7
20 mM His-HCl	6	50		F5	5	5	4	5
20 mM His-HCl	6.5	50		F6	4	4	4	4
20 mM 醋酸钠	5.5	50		F7	5	5	5	8
20 mM 醋酸钠	6	50		F8	5	5	5	5

[0674] SE-HPLC分析

[0675] SE-HPLC用于评估ETV:IDS蛋白分子的强制剪切(表3.7)。ETV:IDS蛋白分子本身用作基线,用于在2-8℃下与配方F1-F8进行比较。

[0676] 如通过比较F1和F2缓冲系统所示,没有观察到来自升高的NaCl浓度的影响。在25℃和40℃下,在磷酸盐缓冲系统(例如F2和F3缓冲系统)中,相对于pH 6.5,在pH 6观察到更高的LMW(剪切)。另外,在F4、F5和F6的His-HCl缓冲系统中观察到pH依赖性剪切作用(在测试的较高pH值下观察到较少的剪切)。类似地,将F7与F8相比,在较低pH下在醋酸钠缓冲系统中观察到高LMW水平。在40C下在2周内观察到对HMW物质的轻微pH依赖性,但在2-8℃和25℃下在2周内未观察到。总之,较高的pH(6.5)为蛋白质分子提供了更有利的条件,而F6和F3缓冲系统似乎产生最有利的结果。

[0677] 表3.7.SE-HPLC分析

[0678]

T0					在 2-8℃下 2 周			
	相对峰面积百分比					相对峰面积百分比		

[0679]

样品名称	总 HMW	主峰	LMW Skim		样品名称	总 HMW	主峰	LMW Skim
					ETV:IDS (对照)	1.66	97.37	0.97
F1	1.50	97.54	0.97		F1	1.63	97.37	1.01
F2	1.46	97.59	0.95		F2	1.58	97.41	1.01
F3	1.50	97.54	0.96		F3	1.59	97.46	0.96
F4	1.49	97.48	1.03		F4	1.58	97.35	1.08
F5	1.50	97.52	0.98		F5	1.59	97.46	0.95
F6	1.50	97.53	0.97		F6	1.58	97.48	0.94
F7	1.50	97.49	1.00		F7	1.63	97.20	1.17
F8	1.53	97.51	0.96		F8	1.66	97.37	0.97

[0680]

在25℃下2周				在40℃下2周			
	相对峰面积百分比				相对峰面积百分比		
样品名称	总HMW	主峰	LMW Skim	样品名称	总HMW	主峰	LMW Skim
F1	1.69	96.75	1.56	F1	2.27	94.23	3.52
F2	1.67	96.75	1.57	F2	2.32	94.07	3.61
F3	1.66	97.31	1.03	F3	2.95	95.81	1.23
F4	1.63	94.83	3.53	F4	2.62	72.77	22.79
F5	1.61	97.01	1.38	F5	2.44	92.29	5.26
F6	1.62	97.36	1.02	F6	2.53	96.11	1.36
F7	1.72	95.13	3.15	F7	2.74	86.49	10.77
F8	1.73	96.99	1.28	F8	2.35	95.26	2.39

[0681] CE-SDS(卡尺)分析

[0682] CE-SDS(卡尺)用于评估ETV:IDS蛋白分子在还原和非还原样品中的稳定性。

[0683] 对于非还原样品,蛋白质分子在较高pH下表现得更稳定,F3和F6缓冲系统产生最有利的结果(表3.8)。对于还原样品,观察到物种IDS-Fc融合多肽的pH依赖性降解(由A1%表示)(表3.8)。

[0684] 表3.8.CE-SDS(卡尺)分析

[0685]

	TO				在2-8℃下2周			
	非还原	还原			非还原	还原		

[0686]

	完整%	A1 %	A2 %	总和 A1+A2	完整%	A1 %	A2 %	总和 A1+A2
F1	98.00	44.98	54.64	99.62	97.25	65.68	33.86	99.54
F2	98.06	45.25	54.37	99.62	97.20	65.26	34.22	99.48
F3	97.95	44.09	55.53	99.62	97.04	66.18	33.34	99.52
F4	97.97	44.64	54.78	99.42	97.07	66.08	33.43	99.51
F5	98.18	43.51	56.03	99.53	97.26	67.45	32.07	99.52
F6	97.95	47.38	52.22	99.60	97.19	67.34	32.16	99.50
F7	98.14	42.60	56.82	99.43	97.31	67.58	31.96	99.54
F8	98.20	43.79	55.80	99.60	96.92	67.03	32.49	99.53

[0687]

	在25℃下2周				在40℃下2周			
	非还原	还原			非还原	还原		
	完整%	A1 %	A2 %	总和 A1+A2	完整%	A1 %	A2 %	总和 A1+A2
F1	99.26	66.42	32.97	99.38	91.32	53.37	45.68	99.05
F2	96.12	65.36	34.12	99.47	91.03	52.31	46.40	98.71
F3	96.45	64.58	34.86	99.44	93.81	55.61	43.36	98.97
F4	94.27	55.56	43.85	99.40	51.19	27.49	61.54	89.03
F5	95.57	58.69	40.73	99.41	88.64	49.50	49.60	99.09
F6	95.89	58.74	40.59	99.33	93.67	54.48	44.81	99.29
F7	94.76	56.56	42.81	99.38	77.74	41.53	54.51	96.04
F8	95.26	57.54	41.82	99.36	92.60	51.83	47.20	99.04

[0688] RP-HPLC测定

[0689] RP-HPLC用于评估非还原和还原样品中的ETV:IDS蛋白质分子(表3.9)。物种A1是指IDS-Fc融合多肽,并且A2是指经修饰的Fc多肽。

[0690] 如下表3.9所示,蛋白质在2-8℃下在所有缓冲系统中是稳定的。主峰的pH依赖性降低和峰前的增加表明发生了剪切。在较低pH下观察到IDS-Fc融合多肽(A1)的减少。F3和F6缓冲系统似乎显示出保持分子稳定性的最佳环境。

[0691] 表3.9.RP-HPLC分析

[0692]

标记	缓冲剂	pH	NaCl mM	T0					
				非还原			还原		
				总峰后	总峰前	主峰	A1%	A2%	总和 A1+A2

[0693]

F1	20 mM 磷酸钠	6	137	5.6	2.3	92.2	70.3	22.1	92.5
F2	20 mM 磷酸钠	6	50	5.5	2.6	91.9	70.4	22.2	92.7
F3	20 mM 磷酸钠	6.5	50	5.4	2.5	92.1	70.5	22.2	92.7
F4	20 mM His-HCL	5.5	50	5.6	2.6	91.9	70.5	22.2	92.7
F5	20 mM His-HCL	6	50	5.9	3.1	91.0	70.1	22.3	92.4
F6	20 mM His-HCL	6.5	50	5.9	3.3	90.8	70.4	22.3	92.7
F7	20 mM 醋酸钠	5.5	50	5.8	2.7	91.5	70.4	22.2	92.6
F8	20 mM 醋酸钠	6	50	6.0	2.8	91.1	70.1	22.2	92.3

[0694]

标记	缓冲剂	pH	NaCl mM	在 2-8℃下 2 周					
				非还原			还原		
				总峰后	总峰前	主峰	A1%	A2%	总和 A1+A2
F1	20 mM 磷酸钠	6	137	3.8	5.0	91.2	71.5	21.6	93.1
F2	20 mM 磷酸钠	6	50	3.7	4.6	91.8	71.7	21.5	93.2
F3	20 mM 磷酸钠	6.5	50	3.7	4.3	91.7	71.6	21.7	93.3
F4	20 mM His-HCL	5.5	50	3.8	4.1	92.2	71.6	21.7	93.2
F5	20 mM His-HCL	6	50	3.8	4.1	92.0	71.7	21.5	93.2
F6	20 mM His-HCL	6.5	50	3.8	4.1	92.1	71.6	21.6	93.1
F7	20 mM 醋酸钠	5.5	50	4.1	5.3	90.5	71.2	21.4	92.7
F8	20 mM 醋酸钠	6	50	4.0	3.8	92.3	71.6	21.5	93.1

[0695]

标记	缓冲剂	pH	NaCl mM	在25℃下2周					
				非还原			还原		
				总峰后	总峰前	主峰	A1%	A2%	总和A1+A2
F1	20 mM 磷酸钠	6	137	4.6	6.1	89.3	71.0	21.6	92.6
F2	20 mM 磷酸钠	6	50	4.3	5.9	89.7	71.2	21.5	92.7
F3	20 mM 磷酸钠	6.5	50	4.0	5.2	90.8	71.5	21.6	93.1
F4	20 mM His-HCL	5.5	50	6.5	7.0	86.5	70.2	21.7	91.9
F5	20 mM His-HCL	6	50	4.1	5.5	90.4	71.5	21.7	93.2
F6	20 mM His-HCL	6.5	50	3.8	5.4	90.8	71.4	21.5	93.0
F7	20 mM 醋酸钠	5.5	50	5.9	6.7	87.3	70.5	21.6	92.1
F8	20 mM 醋酸钠	6	50	4.3	5.7	90.0	71.2	21.5	92.7

[0696]

标记	缓冲剂	pH	NaCl mM	在40℃下2周					
				非还原			还原		
				总峰后	总峰前	主峰	A1 %	A2%	总和A1+A2
F1	20 mM 磷酸钠	6	137	6.7	10.0	83.3	69.5	21.3	90.8
F2	20 mM 磷酸钠	6	50	7.0	8.3	84.7	62.9	21.4	84.3
F3	20 mM 磷酸钠	6.5	50	4.6	6.9	88.4	70.6	21.2	91.8
F4	20 mM His-HCL	5.5	50	26.6	27.4	46.1	60.4	21.8	82.2
F5	20 mM His-HCL	6	50	8.7	9.2	82.0	68.4	21.5	89.9
F6	20 mM His-HCL	6.5	50	4.6	6.6	88.8	70.6	21.5	92.0
F7	20 mM 醋酸钠	5.5	50	14.1	14.9	71.0	65.7	21.4	87.1
F8	20 mM 醋酸钠	6	50	5.8	7.4	86.8	67.0	21.7	88.7

[0697] 实施例4:表面活性剂筛选

[0698] 使用具有20mM磷酸钠,50mM NaCl和pH 6.5的缓冲系统进行表面活性剂筛选。以30mg/mL测试代表性ETV:IDS蛋白(ETV:IDS 35.23.2,实施例1)的浓度。如表4.1所示,测试的表面活性剂是不同浓度的聚山梨酸酯20(PS-20)和聚山梨酸酯80(PS-80)。

[0699] 表4.1.特定配方

[0700]

配方号	样品说明
F1	0.5mg/mL的PS-20
F2	0.2mg/mL的PS-20
F3	0.5mg/mL的PS-80
F4	0.2mg/mL的PS-80

[0701] 使这些制剂经受振荡应力(2-8℃和环境温度,5天,200RPM水平振荡)和冷冻/解冻(在25℃和≤65℃之间波动的5次连续循环)(分别为表4.2和4.3)。如下评估样品:1)透明度/乳白;2)可见颗粒;3)微可见颗粒;4)SE-HPLC;5)CE-SDS(卡尺);和6)表面活性剂含量。

[0702] 表4.2.振荡应力

[0703]

温度	时间点	
	0	搅拌应力后
+2-8℃	X	X
环境		X

[0704] X＝取样分析

[0705] 表4.3.冻融

[0706]

温度	时间点	
	0	F/T 应力后
5 次循环(+25℃ /≤-65℃)	X	X

[0707] X＝取样分析

[0708] 可见颗粒和浊度

[0709] 评估了配方F1-F4的颗粒形成(可见和亚可见)和应力后的浊度。如表4.4所示,在应力板中没有观察到可见的颗粒形成。此外,如表4.5所示,在振荡试验或冻融试验中,没有观察到亚可见颗粒的显著差异。最后,应力后样品的浊度保持不变(表4.6)。

[0710] 表4.4.可见颗粒形成

[0711]

		T0	振荡 2-8℃	振荡 RT	5x F/T
可见颗粒	F1	2	0	0	0
	F2	1	0	0	0
	F3	2	0	0	0
	F4	0	0	0	0

[0712] 表4.5.亚可见颗粒形成

[0713]

		T0				5 d 振荡 2-8℃				
累计计数/ml		≥2 μm	≥5 μm	≥10 μm	≥25 μm		≥2 μm	≥5 μm	≥10 μm	≥25 μm
亚可见颗粒	F1	291	53	8	2	F1	38	13	2	0
	F2	193	27	14	1	F2	27	10	1	0
	F3	699	113	6	1	F3	69	13	2	0
	F4	241	48	9	0	F4	28	8	1	0
		5 d 振荡 RT				5x F/T				
累计计数/ml		≥2 μm	≥5 μm	≥10 μm	≥25 μm		≥2 μm	≥5 μm	≥10 μm	≥25 μm
亚可见颗粒	F1	52	26	8	0	F1	24	13	3	0
	F2	17	8	0	0	F2	34	3	0	0
	F3	33	13	3	1	F3	19	14	3	0
	F4	14	5	4	1	F4	53	29	3	0

[0714] 表4.6.浊度

[0715]

		T0	振荡 2-8℃	振荡 RT	5x F/T
浊度	F1	12	10	10	10
	F2	10	10	10	10
	F3	10	10	10	10
	F4	10	10	10	10

[0716] SE-HPLC分析

[0717] SE-HPLC用于评估ETV:IDS蛋白分子在搅拌和冻融应力后的稳定性。

[0718] 通过SEC,所有制剂在振荡应力中显示出良好的稳定性,在PS-20中观察到比PS-80稍好的稳定性(表4.7)。

[0719] 表4.7.SE-HPLC分析

[0720]

	T0				5 d 振荡 2-8℃		
	相对峰面积百分比				相对峰面积百分比		
缓冲剂样品	总 HMW	主峰	LMW Skim		总 HMW	主峰	LMW Skim
0.5 mg/mL PS20 (F1)	1.8	97.3	1.0		1.8	97.3	0.9
0.2 mg/mL PS20 (F2)	1.8	97.3	0.9		1.8	97.3	0.9
0.5 mg/mL PS80 (F3)	1.8	97.3	0.9		1.8	97.3	0.9
0.2 mg/mL PS80 (F4)	1.8	97.2	0.9		1.9	97.2	0.9

[0721]

	5 d 振荡 RT				5x FT		
	相对峰面积百分比				相对峰面积百分比		
缓冲剂样品	总 HMW	主峰	LMW Skim		总 HMW	主峰	LMW Skim
0.5 mg/mL PS20 (F1)	1.8	97.2	1.0		2.1	97.0	1.0
0.2 mg/mL PS20 (F2)	1.8	97.2	1.0		2.2	96.9	1.0
0.5 mg/mL PS80 (F3)	1.9	97.2	1.0		2.1	97.0	1.0
0.2 mg/mL PS80 (F4)	1.9	97.1	1.0		2.2	96.9	1.0

[0722] CE-SDS(卡尺)分析

[0723] CE-SDS(卡尺)用于评估ETV:IDS蛋白分子在还原和非还原样品中的稳定性。

[0724] 如表4.8所示,蛋白质分子在所有应力试验中似乎是稳定的。观察到完整(非还原)样品以及片段总和(A1＝IDS-Fc融合多肽,A2＝经修饰的Fc多肽)的稳定值。

[0725] 表4.8.CE-SDS(卡尺)分析

[0726]

T0						5 d 振荡 2-8℃				
	非还原	还原				非还原	还原			
	完整%	A1 %	A2 %	总和 A1+A2		完整%	A1 %	A2 %	总和 A1+A2
F1	98.1	46.4	52.9	99.3	F1	97.8	46.9	52.4	99.3
F2	98.1	52.1	47.3	99.4	F2	98.0	50.3	49.1	99.4
F3	98.0	49.1	50.3	99.3	F3	98.3	47.0	52.3	99.3
F4	97.8	51.0	48.6	99.5	F4	98.2	50.2	49.2	99.4

[0727]

	5 d 振荡 RT					5x FT			
	非还原	还原				非还原	还原		
	完整%	A1 %	A2 %	总和 A1+A2		完整%	A1 %	A2 %	总和 A1+A2
F1	98.0	49.2	50.2	99.3	F1	98.2	47.8	51.5	99.3
F2	98.0	46.3	53.0	99.3	F2	98.1	48.0	51.4	99.3
F3	98.2	48.4	50.5	98.9	F3	98.1	48.7	50.8	99.4
F4	98.0	50.7	48.7	99.4	F4	97.9	50.0	49.3	99.3

[0728] 在某些实施方案中，表面活性剂量可增加至例如1mg/mL(例如约0.6mg/mL、0.7mg/mL、0.8mg/mL、0.9mg/mL、1.0mg/mL)而不影响制剂中蛋白质的稳定性。

[0729] 实施例5:冻干制剂的制剂开发和评价

[0730] 对于进一步的制剂评估，测试表5.1中列出的缓冲系统。还测试了冻干形式。以20mg/mL测试代表性ETV:IDS蛋白(ETV:IDS 35.23.2，实施例1)的浓度。使这些制剂经受振荡应力(室温，5天，200RPM水平振荡)和冷冻/解冻应力(在25℃和≤65℃之间波动的5次连续循环)。如下评估样品:1)SE-HPLC;2)CE-SDS(卡尺)；和3)表面活性剂含量。

[0731] 表5.1.测试制剂

[0732]

标记	缓冲剂	pH	NaCl (mM)	PS20 (mg/mL)	甲硫氨酸 (mM)	蔗糖 (mM)	形式
F1	20 mM 磷酸钠	6.5	50	0.4	10	175	液体
F2	20 mM 磷酸钠	6.5	50	0.4	0	175	液体
F3	20 mM 磷酸钠	6.5	150	0.4	10	175	液体
F4	20 mM His-HCl	6.5	50	0.4	0	175	冻干

[0733] SE-HPLC分析

[0734] SE-HPLC用于评估ETV:IDS蛋白分子在应力条件下的稳定性。

[0735] 在升高的温度(40℃)下，在液体制剂F1-F3中观察到显著的HMW和LMW含量;然而，冻干制剂F4在所有储存温度下保持稳定(表5.2)。所有制剂在较低温度(≤25℃)下类似地进行长达1个月。

[0736] 表5.2.SE-HPLC分析

[0737]

样品说明	尺寸排阻色谱法 UKSL-4485		
	HMW (面积%)	主峰 (面积%)	LMW (面积%)
F1, T0, 5℃	1.6	97.5	0.9
F2, T0, 5℃	1.6	97.5	0.9
F3, T0, 5℃	1.6	97.5	0.9
F4, T0, 5℃	1.6	97.5	0.9
F4, T0, 冻干复原 5℃	1.6	97.5	0.9
F1, 5d, 振荡 25℃	1.7	97.4	0.9
F2, 5d, 振荡 25℃	1.7	97.4	0.9
F3, 5d, 振荡 25℃	1.6	97.4	1.0
F4, 5d, 振荡 25℃	1.7	97.4	0.9
F1, 5x, ≤ -65℃ 12h & 25℃ 12 h	1.7	97.4	0.9
F2, 5x, ≤ -65℃ 12h & 25℃ 12 h	1.6	97.5	0.9
F3, 5x, ≤ -65℃ 12h & 25℃ 12 h	1.7	97.4	0.9
F4, 5x, ≤ -65℃ 12h & 25℃ 12 h	1.7	97.4	0.9
F1, 1m, 5℃	1.7	97.4	0.9
F2, 1m, 5℃	1.7	97.4	0.9
F3, 1m, 5℃	1.7	97.4	0.9

[0738]

样品说明	尺寸排阻色谱法 UKSL-4485		
	HMW (面积%)	主峰 (面积%)	LMW (面积%)
F4, 1m, 5℃	1.6	97.5	0.9
F1, 1m, 25℃	1.7	97.3	1.1
F2, 1m, 25℃	1.7	97.2	1.1
F3, 1m, 25℃	1.7	97.2	1.1
F4, 1m, 25℃	1.7	97.4	0.9
F1, 1m, 40℃	4.4	94.0	1.6
F2, 1m, 40℃	5.1	93.2	1.7
F3, 1m, 40℃	4.8	93.6	1.6
F4, 1m, 40℃	1.6	97.5	0.9

[0739] RP-HPLC测定

[0740] RP-HPLC用于评估非还原和还原样品中的ETV:IDS蛋白质分子。A1指IDS-Fc融合多肽,A2指经修饰的Fc多肽。

[0741] 如下表5.3所示,在升高的温度下,观察到主峰的减少以及峰前和峰后的增加。

[0742] 表5.3.RP-HPLC分析

[0743]

样品说明	RP-HPLC			
	非还原			还原
	峰前 (面积%)	主峰 (面积%)	峰后 (面积%)	总和 A1+A2 (面积%)
F1, T0, 5℃	3.5	92.9	3.6	94.4
F2, T0, 5℃	3.9	92.5	3.6	94.0
F3, T0, 5℃	3.7	92.9	3.4	94.2
F4, T0, 5℃	3.7	92.7	3.5	94.1
F4, T0, 冻干复原 5℃	3.8	93.0	3.2	94.1
F1, 5d, 振荡 25℃	3.9	92.7	3.3	94.1
F2, 5d, 振荡 25℃	4.1	92.1	3.6	94.1
F3, 5d, 振荡 25℃	3.9	93.1	3.0	93.9
F4, 5d, 振荡 25℃	3.4	93.4	3.1	93.4
F1, 5x, ≤ -65℃ 12h & 25℃ 12 h	3.7	92.9	3.4	94.4
F2, 5x, ≤ -65℃ 12h & 25℃ 12 h	3.9	92.5	3.4	93.9
F3, 5x, ≤ -65℃ 12h & 25℃ 12 h	3.8	92.6	3.6	94.0
F4, 5x, ≤ -65℃ 12h & 25℃ 12 h	3.8	93.5	2.7	94.2

[0744]

样品说明	RP-HPLC			
	非还原			还原
	峰前 (面积%)	主峰 (面积%)	峰后 (面积%)	总和 A1+A2 (面积%)
F1, 1m, 5℃	2.0	94.2	3.5	94.6
F2, 1m, 5℃	2.5	93.7	3.8	94.6
F3, 1m, 5℃	2.1	94.4	3.5	93.3
F4, 1m, 5℃				
F1, 1m, 25℃	2.2	93.8	3.7	94.7
F2, 1m, 25℃	3.3	92.6	4.1	95.2
F3, 1m, 25℃	2.7	93.2	4.1	93.5
F4, 1m, 25℃				
F1, 1m, 40℃	4.4	89.6	5.7	93.3
F2, 1m, 40℃	6.0	88.2	5.8	95.1
F3, 1m, 40℃	4.9	89.4	5.7	93.4
F4, 1m, 40℃				
F4 T0 作为参考进行测试(为了储存稳定性保持冷冻)	2.1	94.0	3.7	94.9

[0745] CE-SDS(卡尺)分析

[0746] CE-SDS(卡尺)用于评估ETV:IDS蛋白分子在还原和非还原样品中的稳定性。

[0747] 如表5.4所示,在40℃的储存条件下观察到完整分子的显著减少。A1对应于IDS-Fc融合多肽,并且A2对应于经修饰的Fc多肽。

[0748] 表5.4.CE-SDS(卡尺)分析

[0749]

样品说明	卡尺非还原	卡尺还原		
	完整蛋白质分子(面积%)	总和 A1+A2 (面积%)	A1 (面积%)	A2 (面积%)
F1, T0, 5℃	98.8	99.6	40.0	59.6
F2, T0, 5℃	98.4	99.6	40.5	59.1
F3, T0, 5℃	98.5	99.6	39.0	60.6
F4, T0, 5℃	98.6	99.6	40.6	59.0
F4, T0, 冻干复原 5℃	98.4	99.6	39.5	60.1
F1, 5d, 振荡 25℃	98.3	99.6	39.0	60.6
F2, 5d, 振荡 25℃	98.3	99.6	38.0	61.6
F3, 5d, 振荡 25℃	98.3	99.3	37.5	61.8

[0750]

样品说明	卡尺非还原	卡尺还原		
	完整蛋白质分子(面积%)	总和 A1+A2 (面积%)	A1 (面积%)	A2 (面积%)
F4, 5d, 振荡 25℃	98.2	99.6	41.3	58.3
F1, 5x, ≤ -65℃ 12h & 25℃ 12 h	95.4	99.6	39.3	60.3
F2, 5x, ≤ -65℃ 12h & 25℃ 12 h	98.4	99.6	39.9	59.8
F3, 5x, ≤ -65℃ 12h & 25℃ 12 h	98.2	99.6	40.3	59.3
F4, 5x, ≤ -65℃ 12h & 25℃ 12 h	98.2	99.6	41.8	57.8
F1, 1m, 5℃	96.1	99.3	45.1	54.2
F2, 1m, 5℃	96.6	99.3	45.2	54.2
F3, 1m, 5℃	96.2	99.2	46.5	52.8
F4, 1m, 5℃	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
F1, 1m, 25℃	95.4	99.2	45.8	53.4
F2, 1m, 25℃	95.6	99.2	46.5	52.7
F3, 1m, 25℃	97.4	99.2	47.2	52.0
F4, 1m, 25℃	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
F1, 1m, 40℃	90.3	98.8	48.4	50.4
F2, 1m, 40℃	90.0	98.9	48.9	50.0
F3, 1m, 40℃	90.7	98.8	49.7	49.1
F4, 1m, 40℃	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
F4 T0 作为参考进行测试(为了储存稳定性保持冷冻)	97.5	99.3	45.5	53.8

[0751] 实施例6:稳定性分析

[0752] 为了进一步的制剂稳定性评估,测试含有以下的制剂在5℃和40℃下的稳定性:ETV:IDS蛋白浓度＝30mg/mL;20mM磷酸钠;50mM NaCl;175mM蔗糖;0.6mg/mL聚山梨酸酯-20(PS-20);10mM L-甲硫氨酸;和pH 6.5。在该评估中测试的ETV:IDS蛋白由ETV:IDS 35.23.2表示并在实施例1中描述。在T＝0、T＝2周和T＝4周时取样。如下评价样品:1)可见颗粒;2)亚可见颗粒(例如通过遮光);3)SE-HPLC;和4)聚山梨酸酯含量(FMA、ELSD)。

[0753] 如表6.1所示，在不同的温度/时间点没有观察到可见的颗粒形成。在整个条件下以恒定的低水平观察到亚可见颗粒。对于尺寸排阻色谱法，样品在5℃下是稳定的，并且在40℃下观察到HMW含量的增加和LMW含量的稍微增加。还发现聚山梨酸酯含量在所有条件下都是稳定的。

[0754] 表6.1.稳定性分析

[0755]

样品说明	目视检查		亚可见颗粒(累积计数/mL)				尺寸排阻色谱法			表面活性剂含量
	Seidenader (#/小瓶)	B/W (#/小瓶)	≥2 μm	≥5 μm	≥10 μm	≥25 μm	HMW (面积%)	主峰 (面积%)	LMW (面积%)	FMA [PS 20] mg/mL
LSRT T0	0	0	115	72	37	0	0.7	99.3	<LOQ	0.6
LSRT 2w 5℃	0	0	115	65	37	2	0.7	99.3	<LOQ	0.6
LSRT 2w 40℃	0	0	32	5	3	2	1.8	97.9	0.3	0.6
LSRT 4w 5℃	0	0	100	65	30	5	0.7	99.3	<LOQ	0.6
LSRT 4w 40℃	0	0	142	67	33	0	2.4	97.1	0.5	0.6

[0756] 实施例7.制剂开发和评估

[0757] 包含ERT酶-Fc融合多肽和经修饰的Fc多肽的蛋白质分子可包括在如实施例2-6中任一项所述的制剂中，其中IDS氨基酸序列被替代的ERT氨基酸序列替代。可以使用如实施例2-6中所述的测定评价这样的制剂。

[0758] 表A.非正式序列表

[0759]

SEQ ID NO:	序列	描述
1	TDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSL LFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRRPDTTRLYDFNSYW RVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFHPGISSNHTD DSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGELHANLLCP VDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPFFLAV GYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPEVPDGLPPV AYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDFQRKIRQSY FASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAFTSDHGWA LGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTASLPEAGE KLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSLFPTLAGL AGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDP YLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLKDIKIMGY SIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDSDP LQDHNMYNDSQGGDLFQLLMP	成熟人艾杜糖醛酸硫酸酯酶(IDS)多肽序列

[0760]

2	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRRPDTTRL YDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFHP GISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGEL HANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMP	IDS 序列
3	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAVfGAPSRVSFLTGRRPDTTR LYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFH PGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGE LHANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMP	IDS 序列，在第 59 位被甲酰甘氨酸取代(粗体加双下划线)
4	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRRPDTTRL YDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFHP GISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGEL HANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMPGGGGSDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	IDS-Fc 融合多肽，具有在 IDS 的第 59 位的半胱氨酸(粗体加双下划线)、白突变和 LALA 突变
5	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAVfGAPSRVSFLTGRRPDTTR	IDS-Fc 融合多肽，

		LYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFH PGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGE LHANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMPGGGGSDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	具有在IDS的第59位的甲酰甘氨酸(粗体加双下划线)、白突变和LALA突变
	6	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAV LWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEE WQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	具有杵和LALA突变的克隆CH3C.35.21.17
[0761]	7	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	具有杵和LALA突变+人IgG1铰链序列的一部分的克隆CH3C.35.23.2
	8	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	野生型人Fc序列位置231-447 EU索引编号
	9	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK	CH2结构域序列位置231-340 EU索引编号
	10	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA	CH3结构

	VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	域序列位置341-447 EU索引编号
11	MPPPRTGRGLLWLGLVLSSVCVALGSETQANSTTDAL NVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQN AFAQQAVCAPSRVSFLTGRRPDTTRLYDFNSYWRVHA GNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFHPGISSNHTDDSPY SWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGELHANLLCPVDVL DVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPFFLAVGYHK PHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNP WMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDFQRKIRQSYFASV SYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAFTSDHGWALGEH GEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTASLPEAGEKLFPY LDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSLFPTLAGLAGLQ VPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPG NPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLKDIKIMGYSIRTI DYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDSDPLQD HNMYNDSQGGDLFQLLMP	全长人IDS多肽序列
12	EPKSCDKTHTCPPCP	人IgG1铰链氨基酸序列
13	MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVE MKLAVDEEENADNNTKANVTKPKRCSGSICYGTIAVI VFFLIGFMIGYLGYCKGVEPKTECERLAGTESPVREEPG EDFPAARRLYWDDLKRKLSEKLDSTDFTGTIKLLNENS YVPREAGSQKDENLALYVENQFREFKLSKVWRDQHF VKIQVKDSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSK AATVTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKI TFAEKVANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGH AHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRA AAEKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLT VSNVLKEIKILNIFGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAWGP GAAKSGVGTALLLKLAQMFSDMVLKDGFQPSRSIIFAS WSAGDFGSVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVL GTSNFKVSASPLLYTLIEKTMQNVKHPVTGQFLYQDSN WASKVEKLTLDNAAFPFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPY LGTTMDTYKELIERIPELNKVARAAAEVAGQFVIKLTH DVELNLDYERYNSQLLSFVRDLNQYRADIKEMGLSLQ WLYSARGDFFRATSRLTTDFGNAEKTDRFVMKKLNDR VMRVEYHFLSPYVSPKESPFRHVFWGSGSHTLPALLEN LKLRKQNNGAFNETLFRNQLALATWTIQGAANALSGD VWDIDNEF	人转铁蛋白受体蛋白1(TFR1)
14	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRW	具有白突变的Fc序列

[0762]

[0763]

	QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
15	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	具有白和LALA突变的Fc序列
16	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	具有白和YTE突变的Fc序列
17	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	具有白、LALA和YTE突变的Fc序列
18	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	具有杵突变的Fc序列
19	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	具有杵和LALA突变的Fc序列
20	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	具有杵和YTE突变的Fc序列
21	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	具有杵、LALA和YTE突变的Fc序列
22	DKTHTCPPCP	人IgG1铰链序列的一部分
23	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRRPDTTRL YDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFHP	IDS序列(半胱氨酸修饰为

[0764]

	GISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGEL HANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMP	甲酰甘氨酸双下划线)
24	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRRPDTTRL YDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFHP GISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGEL HANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMPGGGGSDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	IDS-Fc 融合多肽，具有加下划线的 IDS 序列(半胱氨酸修饰为甲酰甘氨酸双下划线)和白和 LALA 突变
25	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	克隆 CH3C.35.21，具有杵和 LALA 突变和人 IgG1 铰链序列的一部分
26	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRRPDTTRL YDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFHP GISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGEL HANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA	IDS-Fc 融合多肽，具有加下划线的 IDS 序列(半胱氨酸修饰为甲酰甘氨

[0765]

	SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMPGGGGSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	酸双下划线)和白突变
27	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRRPDTTRL YDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFHP GISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGEL HANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMPGGGGSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	IDS-Fc 融合多肽，具有加下划线的 IDS 序列(半胱氨酸修饰为甲酰甘氨酸双下划线)和杵突变
28	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAV EWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEE WQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	克隆 CH3C.35.23.2，具有杵和 LALA 突变
29	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAV LWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEE WQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	克隆 CH3C.35.21.17.2，具有杵和 LALA 突变
30	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP	克隆 CH3C.35.21.17.2，具有杵和 LALA 突

		GK	变和人IgG1铰链序列的一部分
	31	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRRPDTTRL YDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFHP GISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGEL HANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMPGGGGSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	IDS-Fc融合多肽，具有加下划线的IDS序列和白突变
[0766]	32	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRRPDTTRL YDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFHP GISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGEL HANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMPGGGGSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	IDS-Fc融合多肽，具有加下划线的IDS序列和杵突变
	33	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAVfGAPSRVSFLTGRRPDTTR LYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFH PGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGE LHANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS	IDS-Fc融合多肽，具有加下划线的IDS序列

[0767]

	ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMPGGGGSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	(甲酰甘氨酸残基“fG”双下划线)和臼突变
34	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAVfGAPSRVSFLTGRRPDTTR LYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFH PGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGE LHANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMPGGGGSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	IDS-Fc 融合多肽，具有加下划线的 IDS 序列(甲酰甘氨酸残基“fG”双下划线)和杵突变
35	NSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVH ANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAE SLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLGTGDPYTP GFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNME GDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLTVS	人 TfR 顶端结构域
36	GGGGS	富含甘氨酸的接头
37	GGGGSGGGGS	富含甘氨酸的接头
38	HHHHHH	六组氨酸标签
39	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRRPDTTRL YDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFHP	IDS-Fc 融合多肽，具有在

[0768]

	GISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGEL HANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMPGGGGSDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	IDS 的第 59 位的半胱氨酸(粗体加双下划线)、白突变和 LALA 突变
40	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAV**fG**APSRVSFLTGRRPDTTR LYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFH PGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGE LHANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMPGGGGSDKT HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	IDS-Fc 融合多肽，具有在 IDS 的第 59 位的甲酰甘氨酸(粗体加双下划线)、白突变和 LALA 突变
41	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAV LWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEE WQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	具有杵和 LALA 突变的克隆 CH3C.35.21.17
42	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G	具有杵和 LALA 突变+人 IgG1 铰链序列的一部分的克

			隆 CH3C.35.23.2
	43	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRRPDTTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFHPGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGELHANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDFQRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTASLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSLFPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLKDIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMPGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	IDS-Fc 融合多肽，具有加下划线的 IDS 序列(半胱氨酸修饰为甲酰甘氨酸双下划线)和白和 LALA 突变
[0769]	44	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	克隆 CH3C.35.21，具有杵和 LALA 突变和人 IgG1 铰链序列的一部分
	45	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNIDQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRRPDTTRLYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFHPGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGELHANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTSASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPEVPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDFQRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAFTSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTASLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSLFPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRFRDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLKDIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGELYFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMPGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT	IDS-Fc 融合多肽，具有加下划线的 IDS 序列(半胱氨酸修饰为甲酰甘氨酸双下划线)和白突变

[0770]

	ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
46	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRRPDTTRL YDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFHP GISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGEL HANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMPGGGGSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	IDS-Fc 融合多肽，具有加下划线的 IDS 序列(半胱氨酸修饰为甲酰甘氨酸双下划线)和杵突变
47	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAV EWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEE WQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	克隆 CH3C.35.23.2，具有杵和 LALA 突变
48	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAV LWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEE WQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	克隆 CH3C.35.21.17.2，具有杵和 LALA 突变
49	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G	克隆 CH3C.35.21.17.2，具有杵和 LALA 突变和人 IgG1 铰链序列的一部分
50	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRRPDTTRL YDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFHP GISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGEL	IDS-Fc 融合多肽，具有加下

[0771]

	HANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMPGGGGSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	划线的IDS序列和白突变
51	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAVCAPSRVSFLTGRRPDTTRL YDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFHP GISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGEL HANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMPGGGGSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	IDS-Fc融合多肽，具有加下划线的IDS序列和杵突变
52	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAVfGAPSRVSFLTGRRPDTTR LYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFH PGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGE LHANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMPGGGGSDKT	IDS-Fc融合多肽，具有加下划线的IDS序列(甲酰甘氨酸残基“fG”双下划线)和白突变

[0772]

	HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
53	SETQANSTTDALNVLLIIVDDLRPSLGCYGDKLVRSPNI DQLASHSLLFQNAFAQQAVfGAPSRVSFLTGRRPDTTR LYDFNSYWRVHAGNFSTIPQYFKENGYVTMSVGKVFH PGISSNHTDDSPYSWSFPPYHPSSEKYENTKTCRGPDGE LHANLLCPVDVLDVPEGTLPDKQSTEQAIQLLEKMKTS ASPFFLAVGYHKPHIPFRYPKEFQKLYPLENITLAPDPE VPDGLPPVAYNPWMDIRQREDVQALNISVPYGPIPVDF QRKIRQSYFASVSYLDTQVGRLLSALDDLQLANSTIIAF TSDHGWALGEHGEWAKYSNFDVATHVPLIFYVPGRTA SLPEAGEKLFPYLDPFDSASQLMEPGRQSMDLVELVSL FPTLAGLAGLQVPPRCPVPSFHVELCREGKNLLKHFRF RDLEEDPYLPGNPRELIAYSQYPRPSDIPQWNSDKPSLK DIKIMGYSIRTIDYRYTVWVGFNPDEFLANFSDIHAGEL YFVDSDPLQDHNMYNDSQGGDLFQLLMPGGGGSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	IDS-Fc 融合多肽，具有加下划线的 IDS 序列(甲酰甘氨酸残基“fG”双下划线)和杵突变
54	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	具有白突变的Fc序列
55	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	具有白和LALA 突变的Fc序列
56	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	具有白和YTE 突变的Fc序列
57	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	具有白、LALA 和YTE 突变的Fc序列

[0773]

58	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	具有杵突变的Fc序列
59	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	具有杵和LALA突变的Fc序列
60	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	具有杵和YTE突变的Fc序列
61	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	具有杵、LALA和YTE突变的Fc序列

[0774] 所有公布、专利和专利文件均以引用方式并入本文，恰如个别地以引用方式并入。本公开已参考各种具体和优选实施方案和技术加以描述。然而，应当理解，可在保持处于本发明的精神和范围内的同时作出许多变化和修改。