



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202508635 A

(43)公開日：中華民國 114 (2025) 年 03 月 01 日

(21)申請案號：113125379 (22)申請日：中華民國 113 (2024) 年 07 月 05 日

(51)Int. Cl. : *A61K47/36 (2006.01)* *A61K47/26 (2006.01)*
 A61K47/16 (2006.01) *C07K16/18 (2006.01)*
 A61K39/395 (2006.01) *C07K14/435 (2006.01)*
 A61K38/16 (2006.01)

(30)優先權：2023/07/07 日本 2023-112438

(71)申請人：日商長瀨微態生物科技股份有限公司 (日本) NAGASE VIITA CO., LTD. (JP)
 日本

(72)發明人：河野惠三 KONO, KEIZO (JP)；草野創 KUSANO, HAJIME (JP)；光川侑輝
 MITSUKAWA, YUKI (JP)；橋本孝太郎 HASHIMOTO, KOTARO (JP)；北條由紀
 子 HOJO, YUKIKO (JP)

(74)代理人：劉法正；尹重君

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：17 項 圖式數：0 共 44 頁

(54)名稱
蛋白質之變性抑制用組成物

(57)摘要

本發明提供一種可抑制廣範圍的蛋白質之變性的蛋白質之變性抑制用組成物。本發明係有關於一種蛋白質之變性抑制用組成物，包含：糖質，其選自於由海藻糖、蔗糖、麥芽糖醇及異麥芽糖醇所構成的群組之 1 者以上；及胺化合物，其選自於由麩胺酸、天門冬胺酸、精胺酸、脯胺酸、絲胺酸、膽鹼及其等之鹽所構成的群組之 1 者以上。



【發明摘要】

【中文發明名稱】

蛋白質之變性抑制用組成物

【中文】

本發明提供一種可抑制廣範圍的蛋白質之變性的蛋白質之變性抑制用組成物。本發明係有關於一種蛋白質之變性抑制用組成物，包含：糖質，其選自於由海藻糖、蔗糖、麥芽糖醇及異麥芽糖醇所構成的群組之1者以上；及胺化合物，其選自於由麩胺酸、天門冬胺酸、精胺酸、脯胺酸、絲胺酸、膽鹼及其等之鹽所構成的群組之1者以上。

【指定代表圖】 無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

蛋白質之變性抑制用組成物

【技術領域】

【0001】 本發明係有關於一種蛋白質之變性抑制用組成物。

【先前技術】

背景技術

【0002】 蛋白質在治療藥物、診斷藥物、疫苗、食品等領域中被廣範圍地利用。另一方面，蛋白質單獨存在會容易變性，且若經加熱、長期保存、複數次的凍結融解等會變性而損及功能。為了抑制蛋白質之變性，已有嘗試包含蛋白質之組成物之改良。

【0003】 以往已知碳水化合物、胺基酸等可抑制蛋白質之變性。舉例而言，專利文獻1揭示一種藉由碳水化合物、陽離子性胺基酸、陰離子及聚山梨糖醇酯來使Fc突變蛋白質穩定化之方法。專利文獻2則揭示一種藉由多元醇、界面活性劑及精胺酸來使抗TNF α 抗體穩定化之方法。以此等方法可穩定化的蛋白質之種類係受到限定。

習知技術文獻

專利文獻

【0004】 [專利文獻1]日本特表2009-525986號公報

[專利文獻2]日本特開2022-097600號公報

【發明內容】

發明概要

發明欲解決之課題

【0005】 本發明之課題係提供一種可抑制廣範圍的蛋白質之變性的蛋白質

之變性抑制用組成物。

用以解決課題之手段

【0006】 本發明人發現到，藉由組合特定的糖質及胺化合物可抑制蛋白質之變性，而完成了本發明。

【0007】 亦即，本發明係有關於一種蛋白質之變性抑制用組成物，包含：糖質，其選自於由海藻糖、蔗糖、麥芽糖醇及異麥芽糖醇所構成的群組之1者以上；及胺化合物，其選自於由麩胺酸、天門冬胺酸、精胺酸、脯胺酸、絲胺酸、膽鹼及其等之鹽所構成的群組之1者以上。

【0008】 蛋白質變性抑制用組成物較佳會抑制加熱或凍結融解所造成的蛋白質之變性。

【0009】 蛋白質變性抑制用組成物較佳會抑制蛋白質之凝聚。

【0010】 前述蛋白質較佳係選自於由抗體、細胞介素、過敏原及酵素所構成的群組之1者以上。

【0011】 前述蛋白質較佳係選自於由抗IFN α 抗體、抗IFN γ 抗體、抗TNF α 抗體、抗IL-17A抗體及抗IL-18所構成的群組之1者以上。

【0012】 前述蛋白質較佳係選自於由IFN α 、IFN γ 、IL-18及TNF α 所構成的群組之1者以上。

【0013】 前述蛋白質較佳係柳杉花粉過敏原。

【0014】 前述蛋白質較佳係選自於由乳酸去氫酶、醣基轉移酶、醣解酶、蘋果酸去氫酶及蛋白分解酶所構成的群組之1者以上。

【0015】 前述蛋白質較佳係來自於病毒之蛋白質或來自於細菌之蛋白質。

【0016】 前述蛋白質較佳係凝血因子或白蛋白。

【0017】 蛋白質變性抑制用組成物之糖質：胺化合物之摻合莫耳比較佳係40:1~1:40。

【0018】較佳係液體形態，且其中蛋白質變性抑制用組成物之糖質及胺化合物之濃度之合計較佳係0.20莫耳/L~3.50莫耳/L。

【0019】相對於前述糖質所造成的蛋白質之變性抑制效果及前述胺化合物所造成的蛋白質之變性抑制效果，蛋白質變性抑制用組成物較佳會協同地抑制蛋白質之變性。

【0020】又，本發明係有關於一種蛋白質之變性抑制方法，其特徵在於使蛋白質與前述蛋白質變性抑制用組成物共存。

【0021】又，本發明係有關於一種蛋白質製劑，包含蛋白質及前述蛋白質變性抑制用組成物。

【0022】又，本發明係有關於一種蛋白質之變性抑制方法，其特徵在於使糖質及胺化合物與蛋白質共存，其中該糖質係選自於由海藻糖、蔗糖、麥芽糖醇及異麥芽糖醇所構成的群組之1者以上，且該胺化合物係選自於由麩胺酸、天門冬胺酸、精胺酸、脯胺酸、絲胺酸、膽鹼及其等之鹽所構成的群組之1者以上。

【0023】又，本發明係有關於一種蛋白質製劑，包含：

糖質，其選自於由海藻糖、蔗糖、麥芽糖醇及異麥芽糖醇所構成的群組之1者以上；

胺化合物，其選自於由麩胺酸、天門冬胺酸、精胺酸、脯胺酸、絲胺酸、膽鹼及其等之鹽所構成的群組之1者以上；及

蛋白質。

發明效果

【0024】本發明之蛋白質之變性抑制用組成物可抑制廣範圍的蛋白質之變性。

【實施方式】

用以實施發明之形態

【0025】 <<蛋白質變性抑制用組成物>>

本發明係有關於一種蛋白質之變性抑制用組成物，包含：糖質，其選自於由海藻糖、蔗糖、麥芽糖醇及異麥芽糖醇所構成的群組之1者以上；及胺化合物，其選自於由麩胺酸、天門冬胺酸、精胺酸、脯胺酸、絲胺酸、膽鹼及其等之鹽所構成的群組之1者以上。藉由前述糖質與胺化合物之組合，可抑制廣範圍的蛋白質之變性。

【0026】 <糖質>

本發明中的糖質係選自於由海藻糖、蔗糖、麥芽糖醇及異麥芽糖醇所構成的群組。此等糖質可單獨使用，亦可併用2以上。於此等之中，較佳為海藻糖、蔗糖、麥芽糖醇，且更佳為海藻糖。又，此等糖質亦可為在一部分的羥基之氫原子導入有取代基之衍生物。作為取代基，可列舉：乙酸酯、苯甲酸等之羧酸酯；硫酸酯；月桂酸酯、肉豆蔻酸酯、棕櫚酸酯、硬脂酸酯、油酸酯、亞麻油酸酯、次亞麻油酸酯等之脂肪酸酯；甲基醚、苯甲基醚、三苯甲基醚、甲基矽基醚、十二烷基醚等之醚。

【0027】 蛋白質之變性抑制用組成物中的糖質之濃度較佳為0.10~3.00莫耳/L，且更佳為0.40~1.60莫耳/L，又更佳為0.60~1.20莫耳/L。

【0028】 又，在混合蛋白質變性抑制用組成物及蛋白質而得到蛋白質製劑時，蛋白質製劑中的糖質之濃度較佳為0.10~3.00莫耳/L，且更佳為0.40~1.60莫耳/L，又更佳為0.60~1.20莫耳/L。

【0029】 於本發明中，雖有糖質作為氫鍵供予體，與作為氫鍵接受體之胺化合物形成NADES(Natural Deep Eutectic Solvent，天然深共晶溶劑)來抑制蛋白質之變性而進行穩定化之可能性，但本發明並不受此機制所限定。

【0030】 <胺化合物>

本發明中的胺化合物係選自於由麩胺酸、天門冬胺酸、精胺酸、脯胺酸、絲

胺酸、膽鹼及其等之鹽所構成的群組。作為構成胺化合物之鹽，可列舉鈉鹽、鉀鹽、鹽酸鹽、氯化物等。

【0031】 此等胺化合物可單獨使用，亦可併用2以上。於此等之中，較佳為麩胺酸、天門冬胺酸、精胺酸、脯胺酸、絲胺酸及其等之鹽，且更佳為麩胺酸、天門冬胺酸、精胺酸及其等之鹽。於本發明中，胺化合物雖有作為在形成NADES時之氫鍵接受體發揮功能的可能性，但本發明並不受此機制所限定。

【0032】 糖質與胺化合物之組合雖未特別受限定，但較佳為：海藻糖，與選自於由精胺酸、天門冬胺酸、絲胺酸及麩胺酸所構成的群組之胺化合物或其等之鹽之組合；蔗糖，與選自於由膽鹼、精胺酸及麩胺酸所構成的群組之胺化合物或其等之鹽之組合；麥芽糖醇，與選自於由精胺酸、脯胺酸及麩胺酸所構成的群組之胺化合物或其等之鹽之組合；異麥芽糖醇與精胺酸或其鹽之組合，且更佳為麥芽糖醇與麩胺酸鉀或麩胺酸鈉之組合、海藻糖與麩胺酸鉀或麩胺酸鈉之組合、海藻糖與天門冬胺酸鉀或天門冬胺酸鈉之組合、麥芽糖醇與精胺酸鹽酸鹽之組合，又更佳為麥芽糖醇與麩胺酸鈉之組合、海藻糖與麩胺酸鈉之組合、海藻糖與天門冬胺酸鈉之組合。藉由此等組合可輕易得到蛋白質之變性抑制效果。

【0033】 蛋白質之變性抑制用組成物中的胺化合物之濃度較佳為0.06~3.30莫耳/L，更佳為0.13~2.60莫耳/L，且特佳為0.21~1.90莫耳/L。

【0034】 又，在混合蛋白質變性抑制用組成物及蛋白質而得到蛋白質製劑時，蛋白質製劑中的胺化合物之濃度較佳為0.06莫耳/L~3.30莫耳/L重量%，更佳為0.13~2.60莫耳/L，且特佳為0.21~1.90莫耳/L。

【0035】 於蛋白質變性抑制用組成物中，糖質：胺化合物之摻合莫耳比較佳為40:1~1:40，且更佳為20:1~1:20，又更佳為10:1~1:10。再者，糖質之量，在將糖質：胺化合物之摻合莫耳比在比設成40:1~1:40時更多的情況中或更少的情況中，會因糖質之莫耳濃度過高或過低，而有無法確認到蛋白質之變性抑制效果的

傾向。

【0036】 在蛋白質變性抑制用組成物為液體形態時，糖質及胺化合物之濃度之合計較佳為0.20~3.50莫耳/L，且更佳為0.80~3.00莫耳/L，又更佳為1.00~2.50莫耳/L。在蛋白質變性抑制用組成物為固體形態時，糖質及胺化合物之濃度之合計較佳為0.05~3.50莫耳/kg，且更佳為0.10~2.00莫耳/kg，又更佳為0.20~1.50莫耳/kg。

【0037】 <變性抑制用組成物之形態>

蛋白質之變性抑制用組成物之形態並未特別受限定，可為液體或固體之任一者。作為液體形態可列舉水溶液、懸浮液、漿體等。固體形態可列舉粉末、顆粒、錠劑等。在此之中，從製造容易性、保存穩定性之觀點來看較佳為液體形態。

【0038】 在蛋白質之變性抑制用組成物為液體形態時，其pH較佳為4~9，且更佳為5~8。於此等pH條件下，產生析出物的可能性低，又，對蛋白質活性之影響亦少。蛋白質之變性抑制用組成物之pH可藉由鹽酸、硫酸等酸、氫氧化鈉、氫氧化鉀等鹼來調整。

【0039】 蛋白質之變性抑制用組成物可藉由以任意順序混合各成分來製造。混合各成分之後，亦可藉由與多孔質材料接觸、通過過濾器來進行過濾、除菌等。

【0040】 <任意成分>

蛋白質之變性抑制用組成物，除了前述糖質及前述胺化合物之外，亦可任意地包含pH調整劑、界面活性劑、增黏劑、乳化劑、無機鹽類、保存劑、溶劑、賦形劑、金屬類、助濾劑等成分。此等成分之含量並未特別受限定，可依習於此藝者來選擇任意量，但例如可在蛋白質之變性抑制用組成物中設成0.001~90重量%，較佳為0.01~50重量%，且更佳為0.1~30重量%。

【0041】 作為pH調整劑，可列舉：抗壞血酸、乙酸、脫氫乙酸、乳酸、檸

檸檬酸、葡萄糖酸、琥珀酸、酒石酸、反丁烯二酸、蘋果酸及己二酸，以及此等有機酸之鈉(Na)鹽、鈣(Ca)鹽及鉀(K)鹽；以及碳酸、磷酸及焦磷酸，以及此等無機酸之Na鹽及K鹽等。

【0042】 作為界面活性劑，可列舉：非離子系界面活性劑、陰離子系界面活性劑、陽離子系界面活性劑。作為非離子系界面活性劑之具體例，可列舉：聚山梨糖醇酯20、聚山梨糖醇酯80、聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯、山梨糖醇酐單月桂酸酯、山梨糖醇酐單油酸酯、聚氧乙烯聚氧丙二醇、聚氧乙烯山梨糖醇酐單油酸酯等。作為陰離子系界面活性劑之具體例，可列舉硫酸二辛基基鈉、硫酸月桂酯鈉等。於此等之中，較佳為非離子系界面活性劑，且更佳為聚山梨糖醇酯20、聚山梨糖醇酯80。界面活性劑在蛋白質之變性抑制用組成物中的濃度較佳為0.005~5(w/v)%，且更佳為0.01~3(w/v)%，又更佳為0.05~1(w/v)%。

【0043】 作為增黏/賦形劑，可列舉：樹膠類、海藻酸、海藻酸衍生物、果膠、鹿角菜膠、卡特蘭多醣、支鏈澱粉、明膠、纖維素衍生物、洋菜、羅望子膠、車前子、聚葡甘露糖、聚乙二醇、礦油、矽酮油等。

【0044】 作為乳化劑，可列舉：甘油脂肪酸酯、聚甘油脂肪酸酯、蔗糖脂肪酸酯、丙二醇脂肪酸酯、山梨糖醇酐脂肪酸酯、卵磷脂、酵素分解卵磷脂、皂苷等。

【0045】 作為無機鹽類，可列舉：氯化鈉、硫酸銨、硫酸鈉、氯化鈣、聚合磷酸鹽等。

【0046】 作為保存劑，可列舉：丙酸、丙酸鹽、亞硫酸鹽、苯甲酸鹽、山梨酸、山梨酸鹽、聚離胺酸、甘胺酸、乙酸鹽等。作為鹽，可列舉鈉(Na)鹽、鈣(Ca)鹽及鉀(K)鹽等。

【0047】 作為溶劑，可列舉水、乙醇、甲醇、異丙醇等。溶劑亦可包含磷酸、檸檬酸、甘胺酸、三羥甲基胺基甲烷等之緩衝液成分。

【0048】 作為賦形劑，可列舉：玻尿酸、甲基纖維素、羧基甲基纖維素、羥基丙機甲基纖維素、聚乙烯醇、聚乙二醇、三酸甘油酯、甘油酯、丙二醇、聚乙烯吡咯啉酮等。

【0049】 <蛋白質之變性抑制之評定>

蛋白質之變性抑制係以接下來的方法來評定。亦即，將包含本發明之蛋白質之變性抑制用組成物的蛋白質製劑進行變性處理，並測量蛋白質活性(A)。又，對比較對照組進行相同的變性處理，並測量蛋白質活性(B)。然後，當A超過B時，判斷為蛋白質之變性被抑制。作為比較對照組可舉包含與試驗樣品相同的蛋白質，且不含變性抑制用組成物的製劑。

【0050】 作為評定蛋白質之變性抑制時的蛋白質製劑之變性處理，可列舉加熱、凍結融解等。作為加熱條件，較佳為30~100℃，且更佳為35~75℃，又更佳為37℃、40℃、70℃或73℃。加熱時間較佳為1小時~3日，且更佳為1~24小時，又更佳為1~6小時，又再更佳為2小時，或5小時。作為凍結融解條件，例如，可舉重複下述者10次之條件：於-80℃之1.5~2小時的凍結及於室溫(約20℃)之融解。

【0051】 作為蛋白質之活性之測量法，可列舉：EIA、ELISA等之利用抗原-抗體反應的方法、蛋白質凝聚分析法、蛋白質之酵素活性之測量等。在進行競爭型EIA、競爭型ELISA等作為蛋白質之活性之測量法時，蛋白質之活性係作為競爭性阻害率(%)來被測量。

【0052】 在以EIA、ELISA等利用抗原-抗體反應之方法測量蛋白質活性時，蛋白質活性(A)對蛋白質活性(B)之比A/B較佳為比1大、1.05以上，且更佳為1.1以上，又更佳為1.2以上，又再更佳為1.5以上，且特佳為2以上、5以上、10以上、100以上。

【0053】 在藉由蛋白質凝聚分析法測量蛋白質活性時，蛋白質活性(A)對蛋白質活性(B)之比A/B較佳為比1小，且更佳為0.5以下，又更佳為0.3以下，又再更

佳為0.1以下。

【0054】 在以酵素活性評定蛋白質活性時，蛋白質活性(A)對蛋白質活性(B)之比 A/B 較佳為比1大、1.05以上，且更佳為1.1以上，又更佳為1.2以上，又再更佳為1.5以上，且特佳為2以上、5以上、10以上、100以上。

【0055】 蛋白質變性抑制用組成物，相對於糖質所造成的蛋白質之變性抑制效果及胺化合物所造成的蛋白質之變性抑制效果，較佳會協同地抑制蛋白質之變性。

【0056】 蛋白質之變性抑制是否為協同性的，可藉由接下來的方法來評定。亦即，將包含本發明之蛋白質之變性抑制用組成物的蛋白質製劑進行變性處理，並測量蛋白質活性(A)。又，作為比較對照組1，對雖包含與試驗樣品相同的蛋白質及糖質但不含胺化合物之製劑進行相同的變性處理，並測量蛋白質活性(B_1)。作為比較對照組2，對雖包含與試驗樣品相同的蛋白質及胺化合物但不含糖質之製劑進行相同的變性處理，並測量蛋白質活性(B_2)。然後，當 $A > B_1$ 且 $A > B_2$ 時，判斷為蛋白質之變性抑制為協同性的。較佳為 $A \geq B_1 \times 1.5$ 且 $A \geq B_2 \times 1.5$ ，且更佳為 $A \geq B_1 \times 2$ 且 $A \geq B_2 \times 2$ ，又更佳為 $A \geq B_1 + B_2$ ，又再更佳為 $A \geq (B_1 + B_2) \times 2$ ，且特佳為 $A \geq (B_1 + B_2) \times 10$ 。

【0057】 蛋白質變性抑制用組成物經前述變性處理仍可抑制蛋白質之變性，因此在難以產生變性的溫和條件下，可歷經長期穩定地保存蛋白質。本發明之包含蛋白質變性抑制用組成物之蛋白質製劑之保存溫度較佳為4~40°C。蛋白質製劑之保存時之相對溫度較佳為0~75%。又，蛋白質製劑之保存期間較佳為於4°C下1年以上，且更佳為2年以上。

【0058】 <<蛋白質製劑>>

本發明之蛋白質製劑之特徵在於包含蛋白質及前述蛋白質變性抑制用組成物。

【0059】 <蛋白質>

本發明中擬抑制變性的蛋白質並未特別受限定，例如可抑制一般被作為抗體、細胞介素、過敏原、酵素、血液凝固纖維蛋白溶解因子、激素等使用的蛋白質之變性。

【0060】 抗體只要是可與抗原專一性地結合之抗體即未特別受限定，可為IgG、IgA、IgM、IgD、IgE之任一者。又，抗體之來源動物並未特別受限定，除了人類之外，還可列舉：小鼠、大鼠、兔、羊、山羊、雞等人類以外的動物。抗體可為組合來自於人類以外的動物之序列及來自於人類之序列而成的嵌合抗體、人源化抗體，亦可為完全人類抗體。又，作為抗體，除了包含完全的恆定區及完全的可變區之抗體之外，還可列舉：微型抗體(Minibody)、Fab、二鏈抗體(Diabody)、Fab'、三鏈抗體(Triabody)、scFv-Fc、scFv、F(ab')₂、Fv等。抗體亦可為綴合有核酸、標定化合物、低分子醫藥等抗體以外的化合物之物。抗體所專一性地結合的抗原並未特別受限定，可列舉：核酸、蛋白質、糖等。作為抗原之具體例可列舉：IFN α 、IFN γ 、TNF α 、IL-18、IL-17、白血球表面抗原蛋白質等。

【0061】 作為細胞介素，可列舉：IFN α 、IFN β 、IFN γ 、IFN δ 、IFN ω 、IFN λ 、IFN ϵ 、IFN κ 等之IFN；TNF α 、TNF β 等之TNF；IL1、IL2、IL3、IL4、IL5、IL6、IL7、IL8、IL9、IL10、IL11、IL12、IL13、IL14、IL15、IL16、IL17、IL18等之介白素(IL)；CSF、EPO、EGF、FGF、PDGF等。

【0062】 過敏原只要是會在人類、人類以外的動物等之中成為過敏源之物質即未受限定，例如可列舉：蝦、蟹、核桃仁、小麥、蕎麥、蛋、乳、花生、杏仁、鮑魚、魷魚、鮭魚卵、柳橙、腰果、奇異果、牛肉、芝麻、鮭魚、鯖魚、大豆、雞肉、香蕉、豬肉、松茸、桃、日本薯蕷、蘋果、明膠等之食物性過敏原；柳杉、豬草、芒、赤松等之花粉過敏原。

【0063】 酵素只要是持有可催化化學反應之活性的蛋白質即未特別受限

定，例如可列舉： α -澱粉酶、 β -澱粉酶、葡萄糖澱粉酶、異澱粉酶、產麥芽糖澱粉酶、支鏈澱粉酶、麥芽三糖形成酶(maltotriohydrolase)、聚葡萄糖酶、葡萄糖異構酶、纖維素酶、木聚糖酶、半纖維素酶、聚甘露糖酶、果膠酶、果膠甲酯酶、轉化酶(invertase)、乳糖酶、菊糖酶、 α -半乳糖苷酶、幾丁質酶、幾丁聚糖酶、海藻酸鹽裂解酶、葡萄糖氧化酶、葡萄糖去氫酶等之醣解酶、環糊精葡聚糖轉移酶、轉葡萄糖苷酶、6- α -葡聚糖轉移酶、葡萄糖基轉移酶、半乳糖基轉移酶、唾液酸轉移酶、N-乙酰葡糖胺基轉移酶、甘露糖基轉移酶等之醣基轉移酶、蛋白酶、胜肽酶、膠原蛋白酶等之蛋白分解酶、麩氨酰胺酶等之胺基酸分解酶、脂酶、磷脂酶、酯酶等之脂質相關酵素，其他還有過氧化氫酶、脲酶、單寧酶、去胺酶、醇去氫酶、乳酸去氫酶(LDH)、蘋果酸去氫酶、溶酶體、鹼性磷酸酯酶、DNA分解酶、尿酸氧化酶等。

【0064】 蛋白質製劑中的蛋白質之濃度較佳為0.0001~100mg/mL，且更佳為0.001~50mg/mL，又更佳為0.01~30mg/mL。蛋白質之濃度例如亦可設成可謂1~100mg/mL、10~100mg/mL之相對高的濃度。又，例如亦可設成可謂0.0001~1mg/mL、0.0001~0.1mg/mL之相對低的濃度。

【0065】 蛋白質製劑之pH較佳為4~9，且更佳為5~8。藉由此等pH條件，產生析出物的可能性低，又，對蛋白質之活性之影響亦少。蛋白質製劑之pH可藉由鹽酸、硫酸等酸、氫氧化鈉、氫氧化鉀等鹼來調整。

【0066】 蛋白質製劑，除了蛋白質及蛋白質變性抑制用組成物之外，亦可任意地包含pH調整劑、增黏劑、乳化劑、無機鹽類、保存劑、溶劑、賦形劑、金屬類、助濾劑等成分。其等之具體例係如前所述。此等任意成分之含量並未特別受限定，而可依習於此藝者來選擇任意量，但例如可在蛋白質製劑中設成0.001~90重量%，較佳為0.01~50重量%，且更佳為0.1~30重量%。

【0067】 蛋白質製劑可藉由以任意順序混合各成分來製造。混合各成分之

後，亦可藉由與多孔質材料之接觸、通過過濾器來進行過濾、除菌。又，藉由將液狀的蛋白質製劑進行凍結乾燥，可得到粉末之蛋白質製劑。

【0068】 <<蛋白質之變性抑制方法>>

本發明之蛋白質之變性抑制方法之特徵在於使蛋白質與前述蛋白質變性抑制用組成物共存。藉由在前述蛋白質變性抑制用組成物中由糖質及胺化合物形成的NADES之作用，而有抑制蛋白質之變性的可能性，但本發明並不受此機制所限定。

【0069】 使蛋白質與蛋白質變性抑制用組成物共存的方法，只要是蛋白質與糖質及胺化合物可共存即未特別受限定。較佳係混合液體形態的蛋白質變性抑制用組成物及包含蛋白質之溶液而得到蛋白質製劑，且於該製劑中使蛋白質與蛋白質變性抑制用組成物共存。

【0070】 蛋白質與蛋白質變性抑制用組成物之共存時間，雖只要是以蛋白質之用途、保存期間等為準來決定即可，但較佳為30分以上，且更佳為1小時以上。共存時間之上限並未特別受限定，雖可歷經長期抑制蛋白質之變性，但一般而言係在2年以下。藉由放置成使蛋白質與蛋白質變性抑制用組成物共存的狀態，即便在長期間的保存中仍可抑制蛋白質之變性。

【0071】 蛋白質與蛋白質變性抑制用組成物之共存時的溫度雖未特別受限定，但較佳為0~40℃，且更佳為4~30℃。一般而言，即便在可產生蛋白質變性之相對高的溫度下，仍可抑制蛋白質之變性。在使蛋白質與蛋白質變性抑制用組成物共存之後，可任意地進行蛋白質之純化、稀釋等。

【0072】 本發明之蛋白質製劑可因應所含蛋白質之種類而適用於廣範圍的用途中。作為適用用途，可列舉：抗體醫藥、疫苗、診斷藥物、激素製劑、酵素製劑、體外診斷藥物等之醫療/醫藥品；營養補助食品、調味料等之飲食品；工業用酵素、洗劑、化妝品、準醫藥品、動物飼料、植物成長調整劑、植物用生物

製劑。

實施例

【0073】 以下雖舉出實施例來說明本發明，但本發明並未受以下實施例所限定。以下，「份」或「%」只要未特別記載，即分別意指「重量份」或「重量%」。

【0074】 (1)抗人類IFN γ 單株抗體之變性抑制試驗

以成為表1~13所記載的濃度之方式混合糖質及胺化合物，而製作蛋白質之變性抑制用組成物。將此蛋白質之變性抑制用組成物，及包含對IFN γ 小鼠單株抗體(MAb-IFN γ -15，本公司製備品，LOT No.010)之磷酸緩衝液，以9:1之體積比於0.5mL Eppendorf微量離心管(Eppendorf公司製，商品編號3810X)中混合，而製作蛋白質製劑。蛋白質製劑中的抗體之濃度係70 μ g/mL。接著，於73°C加熱蛋白質製劑5小時加熱。

【0075】 於96孔微量盤(Corning公司製，Costar3513)之孔中分別注入加熱後的蛋白質製劑15 μ L，再分別注入作為抗原的人類IFN γ (400pg/mL)135 μ L。以12ch多通道吸量管(Thermo Electron公司製，Finnpipette)混合後，取100 μ L添加至經MAb-IFN γ -15固相化的免疫模組盤(Thermo Scientific公司製，U16 maxisorp Loose Nunc-Immuno Module 469264)之孔，於室溫使抗原-抗體反應發生1.5小時。其後，遵循一般方法洗淨，進行標定抗體之添加及於波長450nm之吸光度之測量。

【0076】 又，作為參照試驗，於添加有磷酸緩衝液15 μ L之96孔微量盤中添加人類IFN γ (400pg/mL)135 μ L，混合後，測量將100 μ L添加至經MAb-IFN γ -15固相化的免疫模組盤之孔後的吸光度。

【0077】 藉由下述式求得競爭性阻害率。將結果示於表1~13。

競爭性阻害率(%)=(1-(於各實施例、比較例之吸光度/參照試驗中的吸光度)) $\times$ 100

[(0078)] [表1]

	糖質		胺化合物		糖質+胺化合物 之比例	糖質及胺化合物 之濃度的合計	競爭性 阻害率
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例1-1-1 對照(非加熱)	---	---	---	---	---	---	87%
比較例1-1-2 對照(D-PBS)	---	---	---	---	---	---	-6%
比較例1-1-3	海藻糖	1.17M	---	---	---	---	72%
比較例1-1-4	蔗糖	1.17M	---	---	---	---	73%
比較例1-1-5	麥芽糊精	1.17M	---	---	---	---	75%
比較例1-1-6	低聚異糊精	1.17M	---	---	---	---	71%
比較例1-1-7	---	---	賴氨酸	1.17M	---	---	-33%
比較例1-1-8	---	---	精氨酸/脯氨酸	1.17M	---	---	-14%
比較例1-1-9	---	---	尿素	1.17M	---	---	-3%
比較例1-1-10	---	---	絲氨酸	1.17M	---	---	-5%
比較例1-1-11	蔗糖	1.17M	尿素	1.17M	1:1	2.34M	7%
比較例1-1-12	麥芽糊精	1.17M	尿素	1.17M	1:1	2.34M	-1%
實施例1-1-1	海藻糖	1.17M	精氨酸/脯氨酸	1.17M	1:1	2.34M	89%
實施例1-1-2	海藻糖	1.17M	銀胺酸	1.17M	1:1	2.34M	80%
實施例1-1-3	蔗糖	1.17M	賴氨酸	1.17M	1:1	2.34M	75%
實施例1-1-4	蔗糖	1.17M	精氨酸/脯氨酸	1.17M	1:1	2.34M	82%
實施例1-1-5	麥芽糊精	1.17M	精氨酸/脯氨酸	1.17M	1:1	2.34M	88%
實施例1-1-6	低聚異糊精	1.17M	精氨酸/脯氨酸	1.17M	1:1	2.34M	90%

[(0079)] 於比較例1-1-1中在不含糖質及胺化合物的狀態下，以不進行蛋白質製劑加熱之方式測量競爭性阻害率後，競爭性阻害率為87%。於比較例1-1-2中在不含糖質及胺化合物的狀態下進行蛋白質製劑之加熱。其結果，競爭性阻害率為-5%。於實施例1-1-1~實施例1-1-6中，競爭性阻害率比分別單獨使用有相同濃度的糖質或胺化合物之比較例更高。於使用有尿素來作為胺化合物之比較例1-1-11~比較例1-1-12中，儘管與糖質組合，競爭性阻害率仍低。

[(0080)] [表2]

	糖質		胺化合物		糖質：胺化合物 之莫耳比	糖質及胺化合物 之濃度的合計	競爭性 阻害率
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例1-2-1 對照(非加糖)	---	---	---	---	---	---	87%
比較例1-2-2 對照(D-PBS)	---	---	---	---	---	---	-4%
比較例1-2-3	海藻糖	0.91M	---	---	---	---	19%
比較例1-2-4	海藻糖	1.04M	---	---	---	---	47%
比較例1-2-5	海藻糖	1.17M	---	---	---	---	72%
比較例1-2-6	---	---	精胺鹽酸鹽	0.91M	---	---	-13%
比較例1-2-7	---	---	精胺鹽酸鹽	1.04M	---	---	-10%
比較例1-2-8	---	---	精胺鹽酸鹽	1.17M	---	---	-12%
實施例1-2-1	海藻糖	0.91M	精胺鹽酸鹽	0.91M	1:1	1.82M	92%
實施例1-2-2	海藻糖	1.04M	精胺鹽酸鹽	1.04M	1:1	2.08M	74%
實施例1-2-3	海藻糖	1.17M	精胺鹽酸鹽	1.17M	1:1	2.34M	88%

〔0081〕 於實施例1.2.1~實施例1.2.3中，競爭性阻害率比分別單獨使用有相同濃度的糖質或胺化合物之比較例更高。

〔0082〕 〔表3〕

	糖質		胺化合物		糖質：胺化合物 之莫耳比	糖質及胺化合物 之濃度的合計	競爭性 阻害率
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例1-3-1 對照(非加糖)	---	---	---	---	---	---	91%
比較例1-3-2 對照(D-PBS)	---	---	---	---	---	---	-3%
實施例1-3-1	麥芽糖醇	1.46M	精胺鹽酸鹽	0.37M	4:1	1.83M	95%
實施例1-3-2	麥芽糖醇	1.22M	精胺鹽酸鹽	0.61M	2:1	1.83M	88%
實施例1-3-3	麥芽糖醇	0.91M	精胺鹽酸鹽	0.91M	1:1	1.82M	50%
實施例1-3-4	麥芽糖醇	1.87M	精胺鹽酸鹽	0.47M	4:1	2.34M	92%
實施例1-3-5	麥芽糖醇	1.57M	精胺鹽酸鹽	0.79M	2:1	2.36M	94%
實施例1-3-6	麥芽糖醇	1.17M	精胺鹽酸鹽	1.17M	1:1	2.34M	89%
實施例1-3-7	麥芽糖醇	0.77M	精胺鹽酸鹽	1.54M	1:2	2.31M	92%
實施例1-3-8	麥芽糖醇	1.06M	精胺鹽酸鹽	1.06M	1:1	2.10M	81%
實施例1-3-9	麥芽糖醇	1.19M	精胺鹽酸鹽	1.19M	1:1	2.38M	90%
實施例1-3-10	麥芽糖醇	1.35M	精胺鹽酸鹽	1.35M	1:1	2.70M	92%
實施例1-3-11	麥芽糖醇	1.53M	精胺鹽酸鹽	1.53M	1:1	3.06M	98%

〔0083〕 於實施例1.3.1~實施例1.3.11中，係在表1之實施例1.1.1~實施例1.1.6之結果之基礎上，調查使麥芽糖醇及精胺酸鹽酸鹽之莫耳比變化後的競爭性阻害率。其結果，如表3所示，即便當麥芽糖醇及精胺酸鹽酸鹽之莫耳比為1:1以外時，莫耳比仍與在1:1時相同地有確認到高競爭性阻害率。

〔0084〕 〔表4〕

	糖質		胺化合物		糖質：胺化合物 之比例	糖質及胺化合物 之濃度之合計	競爭性 阻害率
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例1-4-1 對照(未加熱)	---	---	---	---	---	---	92%
比較例1-4-2 對照(D-PBS)	---	---	---	---	---	---	-2%
比較例1-4-3	蔗糖	1.17M	---	---	---	---	69%
比較例1-4-4	海藻糖	1.17M	---	---	---	---	76%
比較例1-4-5	麥芽糊精	1.17M	---	---	---	---	70%
比較例1-4-6	---	---	胺酸鹽鈣	1.17M	---	---	7%
比較例1-4-7	---	---	胺酸鹽	1.17M	---	---	-4%
實施例1-4-1	蔗糖	1.17M	胺酸鹽鈣	1.17M	1:1	2.34M	87%
實施例1-4-2	海藻糖	1.17M	胺酸鹽鈣	1.17M	1:1	2.34M	88%
實施例1-4-3	麥芽糊精	1.17M	胺酸鹽鈣	1.17M	1:1	2.34M	86%
實施例1-4-4	麥芽糊精	1.17M	胺酸鹽	1.17M	1:1	2.34M	90%

〔0085〕 於實施例1-4-1~實施例1-4-4中，競爭性阻害率比分別單獨使用有相同濃度的糖質或胺化合物之比較例更高。

〔0086〕 〔表5〕

	糖質		胺化合物		糖質：胺化合物 之比例	糖質及胺化合物 之濃度之合計	競爭性 阻害率
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例1-5-1 對照(未加熱)	---	---	---	---	---	---	93%
比較例1-5-2 對照(D-PBS)	---	---	---	---	---	---	6%
比較例1-5-3	海藻糖	0.13M	---	---	---	---	11%
比較例1-5-4	海藻糖	0.39M	---	---	---	---	12%
比較例1-5-5	海藻糖	0.65M	---	---	---	---	21%
比較例1-5-6	海藻糖	0.91M	---	---	---	---	67%
比較例1-5-7	---	---	胺酸鹽鈣	0.13M	---	---	10%
比較例1-5-8	---	---	胺酸鹽鈣	0.39M	---	---	7%
比較例1-5-9	---	---	胺酸鹽鈣	0.65M	---	---	6%
比較例1-5-10	---	---	胺酸鹽鈣	0.91M	---	---	16%
實施例1-5-1	海藻糖	0.13M	胺酸鹽鈣	0.13M	1:1	0.26M	10%
實施例1-5-2	海藻糖	0.39M	胺酸鹽鈣	0.39M	1:1	0.78M	60%
實施例1-5-3	海藻糖	0.65M	胺酸鹽鈣	0.65M	1:1	1.30M	98%
實施例1-5-4	海藻糖	0.91M	胺酸鹽鈣	0.91M	1:1	1.82M	96%

〔0087〕 於實施例1-5-1~實施例1-5-4中，海藻糖及麩胺酸鈣之濃度之合計值雖比實施例1-4-2更低，但與實施例1-4-2相比地，競爭性阻害率比分別單獨使用有相同濃度的糖質或胺化合物之比較例更高。

〔0088〕 〔表6〕

	糖質		胺化合物		糖質：胺化合物 之莫耳比	糖質及胺化合物 之濃度的合計	競爭性 阻害率
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例1-6-1 對照(非加糖)	---	---	---	---	---	---	90%
比較例1-6-2 對照(D-PTS)	---	---	---	---	---	---	2%
比較例1-6-3	蔗糖	0.13M	---	---	---	---	0%
比較例1-6-4	蔗糖	0.39M	---	---	---	---	2%
比較例1-6-5	蔗糖	0.65M	---	---	---	---	4%
比較例1-6-6	蔗糖	0.91M	---	---	---	---	43%
比較例1-6-7	---	---	胺(殼胺酸鈣)	0.13M	---	---	-2%
比較例1-6-8	---	---	胺(殼胺酸鈣)	0.65M	---	---	-3%
實施例1-6-1	蔗糖	0.13M	胺(殼胺酸鈣)	0.13M	1:1	0.26M	6%
實施例1-6-2	蔗糖	0.39M	胺(殼胺酸鈣)	0.39M	1:1	0.78M	37%
實施例1-6-3	蔗糖	0.65M	胺(殼胺酸鈣)	0.65M	1:1	1.30M	84%
實施例1-6-4	蔗糖	0.91M	胺(殼胺酸鈣)	0.91M	1:1	1.82M	94%

〔0089〕 於實施例1-6-1~實施例1-6-4中，蔗糖及殼胺酸鈣之濃度之合計值雖比實施例1-4-1更低，但與實施例1-4-1相同地，競爭性阻害率比分別單獨使用有相同濃度的糖質或胺化合物之比較例更高。又，於實施例中，觀察到糖質及胺化合物之合計濃度高者有競爭性阻害率高的傾向。

〔0090〕 〔表7〕

	糖質		胺化合物		糖質：胺化合物 之莫耳比	糖質及胺化合物 之濃度的合計	競爭性 阻害率
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例1-7-1 對照(非加糖)	---	---	---	---	---	---	91%
比較例1-7-2 對照(D-PTS)	---	---	---	---	---	---	-2%
實施例1-7-1	麥芽糖醇	0.83M	胺(殼胺酸鈣)	0.21M	4:1	1.04M	84%
實施例1-7-2	麥芽糖醇	0.69M	胺(殼胺酸鈣)	0.35M	2:1	1.04M	84%
實施例1-7-3	麥芽糖醇	0.52M	胺(殼胺酸鈣)	0.52M	1:1	1.04M	72%
實施例1-7-4	麥芽糖醇	0.35M	胺(殼胺酸鈣)	0.7M	1:2	1.05M	39%
實施例1-7-5	麥芽糖醇	0.21M	胺(殼胺酸鈣)	0.84M	1:4	1.05M	18%
實施例1-7-6	麥芽糖醇	1.87M	胺(殼胺酸鈣)	0.47M	4:1	2.34M	91%
實施例1-7-7	麥芽糖醇	1.56M	胺(殼胺酸鈣)	0.78M	2:1	2.34M	92%
實施例1-7-8	麥芽糖醇	1.17M	胺(殼胺酸鈣)	1.17M	1:1	2.34M	86%
實施例1-7-9	麥芽糖醇	0.78M	胺(殼胺酸鈣)	1.56M	1:2	2.34M	85%
實施例1-7-10	麥芽糖醇	0.47M	胺(殼胺酸鈣)	1.87M	1:4	2.34M	86%

〔0091〕 於實施例1-7-1~實施例1-7-10中，係在表4之實施例1-4-1~實施例1-4-3之結果的基礎上，調查使麥芽糖醇及殼胺酸鈣之莫耳比變化後的競爭性阻害率。其結果，如表7所示，即便當麥芽糖醇及殼胺酸鈣之莫耳比為4:1~1:4時，莫

其比仍與在1:1時相同地有確認到較比較例1.7.2更高的競爭性阻害率。於糖質及胺化合物之合計濃度為一定之實施例1.7.1~實施例1.7.5，及實施例1.7.6~實施例1.7.10之中，觀察到糖質之濃度高者有競爭性阻害率高的傾向。

[(0092)] [表8]

	糖質		胺化合物		糖質：胺化合物 之莫耳比	糖質及胺化合物 之濃度的合計	競爭性 阻害率
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例1-8-1 對照(非加糖)	---	---	---	---	---	---	83%
比較例1-8-2 對照(D-PBS)	---	---	---	---	---	---	-10%
實施例1-8-1	麥芽糖醇	0.45M	胺基酸鈣	0.45M	1:1	0.90M	27%
實施例1-8-2	麥芽糖醇	0.45M	胺基酸鈣	0.90M	1:2	1.35M	41%
實施例1-8-3	麥芽糖醇	0.45M	胺基酸鈣	1.80M	1:4	2.25M	80%

[(0093)] 與實施例1.7.1~實施例1.7.10相同地，於實施例1.8.1~實施例1.8.3中，在麥芽糖醇及麩胺酸鈣之莫耳比為1:2~1:4時，與在莫耳比為1:1時相同地，確認到較比較例1.8.2更高的競爭性阻害率。於實施例之中，觀察到胺化合物之濃度高者有競爭性阻害率高的傾向。

[(0094)] [表9]

	糖質		胺化合物		糖質：胺化合物 之莫耳比	糖質及胺化合物 之濃度的合計	競爭性 阻害率
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例1-9-1 對照(非加糖)	---	---	---	---	---	---	89%
比較例1-9-2 對照(D-PBS)	---	---	---	---	---	---	-1%
比較例1-9-3	麥芽糖醇	1.00 M	---	---	---	---	15%
比較例1-9-4	---	---	胺基酸鈣	0.06 M	---	---	2%
比較例1-9-5	---	---	胺基酸鈣	0.13 M	---	---	-5%
比較例1-9-6	---	---	胺基酸鈣	0.25 M	---	---	-2%
比較例1-9-7	---	---	胺基酸鈣	0.50 M	---	---	4%
比較例1-9-8	---	---	胺基酸鈣	1.00 M	---	---	9%
實施例1-9-1	麥芽糖醇	1.00 M	胺基酸鈣	0.06M	16:1	1.06M	51%
實施例1-9-2	麥芽糖醇	1.00 M	胺基酸鈣	0.13 M	8:1	1.13M	78%
實施例1-9-3	麥芽糖醇	1.00 M	胺基酸鈣	0.25 M	4:1	1.25M	86%
實施例1-9-4	麥芽糖醇	1.00 M	胺基酸鈣	0.50 M	2:1	1.50M	87%
實施例1-9-5	麥芽糖醇	1.00 M	胺基酸鈣	1.00 M	1:1	2.00M	84%

[(0095)] 於實施例1.9.1~實施例1.9.5中，競爭性阻害率比分別單獨使用有相同濃度的糖質或胺化合物之比較例更高。於實施例之中，觀察到胺化合物之濃度高者有競爭性阻害率高的傾向。

[(0096)] [表10]

	糖質		胺化合物		糖質：胺化合物 之莫耳比	糖質及胺化合物 之濃度的合計	競爭性 阻害率
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例1-10-1 對照(非加糖)	---	---	---	---	---	---	91%
比較例1-10-2 對照(D-PBS)	---	---	---	---	---	---	1%
比較例1-10-3	麥芽糊精	0.80 M	---	---	---	---	7%
比較例1-10-4	---	---	胺(聚胺鹽)	0.06 M	---	---	5%
比較例1-10-5	---	---	胺(聚胺鹽)	0.13 M	---	---	-4%
比較例1-10-6	---	---	胺(聚胺鹽)	0.25 M	---	---	0%
比較例1-10-7	---	---	胺(聚胺鹽)	0.50 M	---	---	0%
比較例1-10-8	---	---	胺(聚胺鹽)	1.00 M	---	---	12%
實施例1-10-1	麥芽糊精	0.80 M	胺(聚胺鹽)	0.06 M	12.8:1	0.83M	23%
實施例1-10-2	麥芽糊精	0.80 M	胺(聚胺鹽)	0.13 M	6.4:1	0.93M	44%
實施例1-10-3	麥芽糊精	0.80 M	胺(聚胺鹽)	0.25 M	3.2:1	1.05M	57%
實施例1-10-4	麥芽糊精	0.80 M	胺(聚胺鹽)	0.50 M	1.6:1	1.30M	67%
實施例1-10-5	麥芽糊精	0.80 M	胺(聚胺鹽)	1.00 M	0.8:1	1.80M	81%

[(0097)] 於實施例1-10-1~實施例1-10-5中，競爭性阻害率比分別單獨使用有相同濃度的糖質或胺化合物之比較例更高。於實施例之中，觀察到胺化合物之濃度高者有競爭性阻害率高的傾向。

[(0098)] [表11]

	糖質		胺化合物		糖質：胺化合物 之莫耳比	糖質及胺化合物 之濃度的合計	競爭性 阻害率
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例1-11-1 對照(非加糖)	---	---	---	---	---	---	91%
比較例1-11-2 對照(D-PBS)	---	---	---	---	---	---	1%
比較例1-11-3	麥芽糊精	0.30 M	---	---	---	---	-2%
比較例1-11-4	---	---	胺(聚胺鹽)	0.50 M	---	---	0%
比較例1-11-5	---	---	胺(聚胺鹽)	1.00 M	---	---	12%
實施例1-11-1	麥芽糊精	0.30 M	胺(聚胺鹽)	0.50 M	1:1.57	0.90M	14%
實施例1-11-2	麥芽糊精	0.30 M	胺(聚胺鹽)	1.00 M	1:3.3	1.30M	20%

[(0099)] 於實施例1-11-1~實施例1-11-2中，競爭性阻害率比分別單獨使用有相同濃度的糖質或胺化合物之比較例更高。

[(0100)] [表12]

	糖質		胺化合物		糖質：胺化合物 之莫耳比	糖質及胺化合物 之濃度之合計	競爭性 阻害率
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例1-12-1 對照(非加熱)	---	---	---	---	---	---	83%
比較例1-12-2 對照(D-PBS)	---	---	---	---	---	---	-2%
比較例1-12-3	海藻糖	0.26M	---	---	---	---	2%
比較例1-12-4	海藻糖	0.52M	---	---	---	---	-3%
比較例1-12-5	海藻糖	0.78M	---	---	---	---	19%
比較例1-12-6	海藻糖	1.04M	---	---	---	---	65%
實施例1-12-1	海藻糖	0.26M	胺酸酐鈉	0.26M	1:1	0.52M	6%
實施例1-12-2	海藻糖	0.52M	胺酸酐鈉	0.52M	1:1	1.04M	52%
實施例1-12-3	海藻糖	0.78M	胺酸酐鈉	0.78M	1:1	1.58M	67%
實施例1-12-4	海藻糖	1.04M	胺酸酐鈉	1.04M	1:1	2.08M	75%
實施例1-12-5	海藻糖	0.26M	胺酸酐鈉	0.26M	1:1	0.52M	16%
實施例1-12-6	海藻糖	0.52M	胺酸酐鈉	0.52M	1:1	1.04M	52%
實施例1-12-7	海藻糖	0.78M	胺酸酐鈉	0.78M	1:1	1.58M	75%
實施例1-12-8	海藻糖	1.04M	胺酸酐鈉	1.04M	1:1	2.08M	78%

〔0101〕 於實施例1-12-1~實施例1-12-8中，競爭性阻害率比單獨使用有相同濃度之糖質之比較例更高。又，除了將實施例1-12-1至實施例1-12-4之中的羧胺酸鈉改變成羧胺酸鈉之外以相同的條件來實施實施例1-12-5至實施例1-12-8之後，顯示與實施例1-12-1至實施例1-12-4相同的傾向。於實施例之中，觀察到糖質及胺化合物之合計濃度高者有競爭性阻害率高的傾向。

〔0102〕 [表13]

	供體供子體		供體接受體		供體供子體： 供體接受體 之莫耳比	供體供子體 及供體接受體 之合計濃度	競爭性 阻害率
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例1-13-1 對照(非加熱)	---	---	---	---	---	---	90%
比較例1-13-2 對照(D-PBS)	---	---	---	---	---	---	-2%
比較例1-13-3	尿素	1.80 M	氯化膽鹼	0.80 M	2:1	2.40 M	-11%
比較例1-13-4	尿素	1.80 M	氯化膽鹼	0.90 M	2:1	2.70 M	-20%
實施例1-13-1	海藻糖	0.89 M	精氨酸鹽酸鹽	0.89 M	1:1	1.78 M	26%
實施例1-13-2	海藻糖	1.02 M	精氨酸鹽酸鹽	1.02 M	1:1	2.04 M	75%
實施例1-13-3	海藻糖	1.14 M	精氨酸鹽酸鹽	1.14 M	1:1	2.28 M	91%

〔0103〕 尿素由於具有結合於帶負度高的銨原子上的氮原子，因此可作為氮鍵供子體發揮功能。由尿素與氯化膽鹼構成的深共晶溶劑亦被稱為氯化膽鹼-尿素離子液體體系(Rcline)，有報告指出其具有使牛血清白蛋白等之蛋白質穩定化的作用(Phys.Chem.Chem.Phys.,2022,24,5621-5631)。於是，比較此氯化膽鹼-尿

素離子液體體系，以及由海藻糖及精胺酸鹽酸鹽所構成的蛋白質變性抑制用組成物之抗體穩定化作用。其結果，於使用有組合尿素及氯化膽鹼的組成物之比較例1-13-3、比較例1-13-4中，競爭性阻害率低。另一方面，於使用有本發明之蛋白質之變性抑制用組成物之實施例1-13-1~實施例1-13-3中則觀察到高競爭性阻害率。

【0104】 (2)抗人類TNF α 單株抗體之變性抑制試驗1

以成為表14所記載的濃度之方式混合糖質及胺化合物，而製作蛋白質之變性抑制用組成物。將此蛋白質之變性抑制用組成物，及包含對人類TNF α 小鼠單株抗體(MAb-TNF α -5，本公司製，LOT No.006)之磷酸緩衝液，以9:1之體積比於0.5mL Eppendorf微量離心管中混合，而製作蛋白質製劑。蛋白質製劑中的抗體之濃度係70 μ g/mL。接著，於73°C加熱蛋白質製劑5小時。

【0105】 於96孔之孔中分別注入加熱後的蛋白質製劑20 μ L，再分別注入作為抗原的人類TNF α (25pg/mL)130 μ L。以12ch多通道吸量管混合後，取100 μ L添加至將MAb-TNF α -5固相化而成的免疫模組盤之孔，於室溫使抗原-抗體反應發生1.5小時後，遵循一般方法洗淨，進行標定抗體之添加及於波長450nm之吸光度之測量。

【0106】 又，作為參照試驗，於添加有磷酸緩衝液20 μ L之96孔微量盤中，僅添加作為抗原的人類TNF α (25pg/mL)130 μ L，混合後，測量將100 μ L添加至以MAb-TNF α -5固相化而成的免疫模組盤之孔後的吸光度。

【0107】 藉由下述式求得競爭性阻害率。將結果示於表14。

競爭性阻害率(%)=(1-(於各實施例、比較例之吸光度/參照試驗中的吸光度)) $\times$ 100

【0108】 [表14]

	糖質		胺化合物		糖質+胺化合物 之比例	糖質及胺化合物 之濃度的合計	競爭性 阻遏率
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例2-1 對照(未加熱)	---	---	---	---	---	---	50%
比較例2-2 對照(D-PIG)	---	---	---	---	---	---	~6%
比較例2-3	海藻糖	0.65M	---	---	---	---	15%
比較例2-4	海藻糖	0.91M	---	---	---	---	32%
比較例2-5	海藻糖	1.17M	---	---	---	---	41%
比較例2-6	---	---	胺化合物	0.65M	---	---	13%
比較例2-7	---	---	胺化合物	0.91M	---	---	10%
比較例2-8	---	---	胺化合物	1.17M	---	---	14%
實施例2-1	海藻糖	0.65M	胺化合物	0.65M	1:1	1.30M	39%
實施例2-2	海藻糖	0.91M	胺化合物	0.91M	1:1	1.82M	42%
實施例2-3	海藻糖	1.17M	胺化合物	1.17M	1:1	2.34M	53%

[0109] 於實施例2.1~實施例2.3中，競爭性阻遏率比分別單獨使用有相同濃度的糖質或胺化合物之比較例更高。於實施例中，觀察到糖質及胺化合物之合計濃度高者有競爭性阻遏率高的傾向。

[0110] (3)抗人類IFN α 單株抗體之變性抑制試驗2

以成為表15所記載的濃度之方式混合糖質及胺化合物，而製作蛋白質之變性抑制用組成物。將此蛋白質之變性抑制用組成物，及包含對人類IFN α 小鼠單株抗體(MAb-IFN α 43，本公司製，LOT No.003)之磷酸緩衝液，以9:1之體積比於0.5mL Eppendorf微量離心管中混合，而製作蛋白質製劑。蛋白質製劑中的抗體之濃度係70 μ g/mL。接著，於73℃加熱蛋白質製劑5小時加熱。

[0111] 於96孔微量盤之孔中分別注入加熱後的蛋白質製劑20 μ L，再分別注入作為抗原的人類IFN α (2500pg/mL)130 μ L。以12ch多通道吸量管混合後，取100 μ L添加至將MAb-IFN α 43固相化而成的免疫模組盤之孔，於室溫使抗原-抗體反應發生1.5小時後、遵循一般方法洗淨，進行標定抗體之添加及於波長450nm之吸光度之測量。又，作為參照試驗，於添加有磷酸緩衝液20 μ L之96孔微量盤中，僅添加作為抗原的人類IFN α (2500pg/mL)130 μ L，混合後測量將100 μ L添加至固定化相同對IFN α 抗體之免疫模組盤之孔之後的吸光度。藉由下述式求得競爭性阻遏率。將結果示於表15。

競爭性阻害率(%) = (1 - (於各實施例、比較例之吸光度/參照試驗中的吸光度))×100

[0112] [表15]

	糖質		胺基化合物		糖質+胺基化合物 之莫耳比	糖質及胺基化合物 之濃度的合計	競爭性 阻害率
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例3-1 對照(不加糖)	---	---	---	---	---	---	91%
比較例3-2 對照(D-PIGS)	---	---	---	---	---	---	-4%
實施例3-3	海藻糖	0.39M	---	---	---	---	12%
實施例3-4	海藻糖	0.65M	---	---	---	---	12%
實施例3-5	海藻糖	0.91M	---	---	---	---	58%
實施例3-6	海藻糖	1.17M	---	---	---	---	81%
比較例3-7	---	---	胺基醇胺	0.39M	---	---	-9%
比較例3-8	---	---	胺基醇胺	0.65M	---	---	4%
比較例3-9	---	---	胺基醇胺	0.91M	---	---	26%
比較例3-10	---	---	胺基醇胺	1.17M	---	---	47%
實施例3-1	海藻糖	0.39M	胺基醇胺	0.39M	1:1	0.78M	37%
實施例3-2	海藻糖	0.65M	胺基醇胺	0.65M	1:1	1.30M	78%
實施例3-3	海藻糖	0.91M	胺基醇胺	0.91M	1:1	1.82M	85%
實施例3-4	海藻糖	1.17M	胺基醇胺	1.17M	1:1	2.34M	89%

[0113] 於實施例3.1~實施例3.4中，競爭性阻害率比分別單獨使用有相同濃度的糖質或胺基化合物之比較例更高。於實施例中，觀察到糖質及胺基化合物之合計濃度高者有競爭性阻害率高的傾向。

[0114] (4)ILDI之變性抑制試驗

以成為表16所記載的濃度之方式混合糖質及胺基化合物，而製作蛋白質之變性抑制用組成物。將此蛋白質之變性抑制用組成物，及包含乳酸去氫酶(ILDI)(Oriental酵母公司製，商品編號46776003)之磷酸鈣緩衝液，以9:1之體積比於0.5mL Eppendorf微量離心管中混合，而製作蛋白質製劑。蛋白質製劑中的乳酸去氫酶之濃度為50μg/mL。接著，於70℃加熱蛋白質製劑2小時。以套組(Roche公司製，商品編號11644793001)測量加熱後的蛋白質製劑中的酵素活性。將結果示於表16。

[0115] [表16]

	糖質		胺化合物		糖質：胺化合物 之比例	糖質及胺化合物 之濃度的合計	殘存酵素活性 (%)
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例4-1-1 對照(未加熱)	---	---	---	---	---	---	100
比較例4-1-2 對照(加熱)	---	---	---	---	---	---	0
比較例4-1-3	海藻糖	1.17M	---	---	---	---	5.1
比較例4-1-4	麥芽糊精	1.17M	---	---	---	---	5.1
比較例4-1-5	蔗糖	1.17M	---	---	---	---	1.5
比較例4-1-6	---	---	胺基酸鹽	1.17M	---	---	8.9
實施例4-1-1	海藻糖	0.91M	胺基酸鹽	0.91M	1:1	1.56M	70.2
實施例4-1-2	海藻糖	0.91M	胺基酸鹽	0.91M	1:1	1.82M	71.8
實施例4-1-3	海藻糖	1.04M	胺基酸鹽	1.04M	1:1	2.08M	72.9
實施例4-1-4	海藻糖	1.17M	胺基酸鹽	1.17M	1:1	2.34M	95.7
實施例4-1-5	麥芽糊精	1.17M	胺基酸鹽	1.17M	1:1	2.34M	83.5
實施例4-1-6	蔗糖	1.17M	胺基酸鹽	1.17M	1:1	2.34M	82.9

[0116] 於實施例4-1.1~實施例4-1.6中，殘存酵素活性比分別單獨使用有相同濃度之糖質或胺化合物之比較例更高。

[0117] 以成為表17所記載的濃度之方式混合糖質及胺化合物，而製作蛋白質之變性抑制用組成物。將此蛋白質之變性抑制用組成物，及包含乳酸去氫酶(LDH)(Oriental酵母公司製，商品編號46776003)之磷酸鈣緩衝液，以9:1之體積比於0.5mL Eppendorf微量離心管中混合，而製作蛋白質製劑。蛋白質製劑中的乳酸去氫酶之濃度為20mg/mL。接著，於70℃加熱蛋白質製劑2小時。以套組(Roche公司製，商品編號11644793001)測量加熱後的蛋白質製劑中的酵素活性。將結果示於表17。

[0118] [表17]

	糖質		胺化合物		糖質： 胺化合物	糖質及胺化 合物之濃度	殘存酵素活 性
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例4-2-1 對照(未加熱)	---	---	---	---	---	---	100
比較例4-2-2 對照(加熱)	---	---	---	---	---	---	2.2
比較例4-2-3	海藻糖	0.91M	---	---	---	---	2.9
比較例4-2-4	海藻糖	1.17M	---	---	---	---	4.7
比較例4-2-5	---	---	麩胺酸鈉	0.91M	---	---	2.5
比較例4-2-6	---	---	麩胺酸鈉	1.17M	---	---	3.2
實施例4-2-1	海藻糖	0.91M	麩胺酸鈉	0.91M	1:1	1.82M	89.8
實施例4-2-2	海藻糖	1.17M	麩胺酸鈉	1.17M	1:1	2.34M	108

[0119] 於實施例4.2.1~實施例4.2.2中，殘存酵素活性比分別單獨使用有相同濃度之糖質或胺化合物之比較例更高。本發明之蛋白質之變性抑制用組成物，即便相對於高濃度(20mg/mL)之乳酸去氫酶，仍可確認到有發揮抑制熱處理所造成的變性/凝聚所造成的活性減少之作用。

[0120] (5)柳杉花粉過敏原之變性抑制試驗1

以成為表18所記載的濃度之方式混合糖質及胺化合物，而製作蛋白質之變性抑制用組成物。將此蛋白質之變性抑制用組成物，及包含柳杉花粉過敏原蛋白質(Cry j1)(本公司製，LOT No.180301)之磷酸緩衝液，以9:1之體積比於0.5mL Eppendorf微量離心管中混合，而製作蛋白質製劑。蛋白質製劑中的柳杉花粉過敏原蛋白質之濃度為8μg/mL。接著，於40℃加熱蛋白質製劑23小時。以Cry j1 ELISA(本公司製)測定加熱後的蛋白質製劑中的非凝聚蛋白質之量(ng/mL)。將結果示於表18。

[0121] [表18]

	糖質		胺化合物		糖質+胺化合物之比例	糖質及胺化合物之濃度的合計	非凝聚蛋白質之量(ng/mL)
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例5-1 對照(非加熱)	---	---	---	---	---	---	2100
比較例5-2 對照(加熱)	---	---	---	---	---	---	540
比較例5-3	蔗糖等糖類	1.17M	---	---	---	---	1350
比較例5-4	---	---	氨基酸等胺類	1.17M	---	---	0
實施例5-1	蔗糖等糖類	1.17M	氨基酸等胺類	1.17M	1:1	2.34M	2800

[0122] 於實施例5.1中，非凝聚蛋白質比分別單獨使用有相同濃度之糖質或胺化合物之比較例更多。

[0123] (6)柳杉花粉過敏原之變性抑制試驗2

以成為表19所記載的濃度之方式混合糖質及胺化合物，而製作蛋白質之變性抑制用組成物。將此蛋白質之變性抑制用組成物，及包含柳杉花粉過敏原蛋白質(Cry j2)(本公司製，LOT No.180301)之磷酸緩衝液，以9:1之體積比於0.5mL

Bipendor微量離心管中混合，而製作蛋白質製劑。蛋白質製劑中的柳杉花粉過敏原蛋白質之濃度為2 μ g/mL。接著，於40℃加熱蛋白質製劑4小時。以Cry j2 ELISA(本公司製)測量加熱後的蛋白質製劑中的非凝聚蛋白質之量(ng/mL)。將結果示於表19。

[0124] [表19]

	糖質		胺化合物		糖質、胺化合物之比例	糖質及胺化合物之濃度之合計	非凝聚蛋白質之量(ng/mL)
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例6-1 對照(不加糖)	---	---	---	---	---	---	470
比較例6-2 對照(不加糖)	---	---	---	---	---	---	30
比較例6-3	蔗糖水溶液	1.17M	---	---	---	---	390
比較例6-4	---	---	肌醇聚糖酸鹽	1.17M	---	---	30
實施例6-1	蔗糖水溶液	1.17M	肌醇聚糖酸鹽	1.17M	1:1	2.34M	480

[0125] 於實施例6-1中，非凝聚蛋白質比分別單獨使用有相同濃度之糖質或胺化合物之比較例更多。

[0126] (C)柳杉花粉過敏原之變性抑制試驗3

以成為表20所記載的濃度之方式混合糖質及胺化合物，而製作蛋白質之變性抑制劑組成物。將此蛋白質之變性抑制劑組成物，及包含柳杉花粉過敏原蛋白質SBP(本公司製，Lot No.180301，900 μ g/mL)之磷酸緩衝液，以9:1之體積比於1.5mL Bipendor微量離心管中混合，而製作蛋白質製劑。

[0127] 於96孔黑色盤添加此蛋白質製劑98 μ L/孔，添加身為會與經凝聚的蛋白質結合而發出發光的試劑之PROTEOSTAT(R)蛋白質凝聚分析法試劑(Protein Aggregation Assay Reagent)(Pinzo公司製)2 μ L/孔，緩緩地混合。其後，以鋁箔遮光而保溫於37℃之培養箱中。經時地取出盤，測量Ex550nm/Em600nm之螢光強度。令保溫1小時後的螢光強度為100%，測量經時的螢光強度之增加。將結果作為3點之平均值 $\pm$ 標準偏差(%)示於表20。

[0128] [表20]

	糖質		胺化合物		糖質：胺化合物 之比例	糖質及胺化合物 之濃度合計	於37℃之各種時間點之螢光強度之百分比				
	種類	濃度	種類	濃度			1 hr	24 hr	48 hr	72 hr	144 hr
比較例7-1	—	—	—	—	—	—	100 ± 3 %	519 ± 25.7 %	836 ± 52 %	1023 ± 54 %	1758 ± 86 %
比較例7-2	海藻糖	0.39M	—	—	—	—	100 ± 3.3 %	184 ± 6.4 %	200 ± 6.9 %	232 ± 9.0 %	367 ± 7.0 %
比較例7-3	海藻糖	0.91M	—	—	—	—	100 ± 3.3 %	146 ± 4.9 %	166 ± 6.0 %	176 ± 6.1 %	239 ± 7.0 %
比較例7-4	—	—	肌酸酐鎂	0.39M	—	—	100 ± 0.6 %	213 ± 15.7 %	246 ± 14 %	287 ± 14 %	386 ± 20 %
比較例7-5	—	—	肌酸酐鎂	0.91M	—	—	100 ± 0.7 %	170 ± 24 %	242 ± 24 %	217 ± 28 %	254 ± 26 %
實施例7-1	海藻糖	0.39M	肌酸酐鎂	0.39M	1:1	0.39M	100 ± 1.9 %	182 ± 3.8 %	111 ± 4.0 %	113 ± 1.5 %	123 ± 1.0 %
實施例7-2	海藻糖	0.91M	肌酸酐鎂	0.91M	1:1	1.82M	100 ± 4.4 %	182 ± 7.6 %	81.3 ± 2.0 %	84.3 ± 1.5 %	111 ± 16 %

〔0129〕 於比較例7-1中，從藉由在D-PBS中於37℃保溫柳杉花粉過敏原蛋白質會經時地增加發光強度，確認到蛋白質之凝聚會慢慢地發生。於分別單獨使用糖質或胺化合物之比較例7-2~比較例7-5中，雖觀察到一定的抑制蛋白質凝聚之作用，但於實施例7-1~實施例7-2中，發光強度被抑制到比較例7-2~比較例7-5之50%左右，而確認到很強的抑制蛋白質凝聚之作用。

〔0130〕 (8)人類IFN γ 之變性抑制試驗

以成為表21所記載的濃度之方式混合糖質及胺化合物，而製作蛋白質之變性抑制用組成物。將此蛋白質之變性抑制用組成物，及包含人類IFN γ (本公司製，LOT No.109025)之磷酸緩衝液，以99:1之體積比於0.5mL Eppendorf微量離心管中混合，而製作蛋白質製劑。蛋白質製劑中的IFN γ 之濃度為80ng/mL。接著，於40℃加熱蛋白質製劑/小時。以人類IFN γ ELISA(本公司製)測量加熱後的蛋白質製劑中具有活性的IFN γ 之量(pg/mL)。將結果示於表21。

〔0131〕 〔表21〕

	糖質		胺化合物		糖質：胺化合物 之比例	糖質及胺化合物 之濃度合計	新形成IFN γ 之 量(pg/mL)
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例8-1 對照(未加熱)	—	—	—	—	—	—	2300
比較例8-2 對照(加熱)	—	—	—	—	—	—	170
比較例8-3	海藻糖	1.17M	—	—	—	—	630
比較例8-4	—	—	肌酸酐鎂	1.17M	—	—	0
實施例8-1	海藻糖	1.17M	肌酸酐鎂	1.17M	1:1	2.34M	4100

〔0132〕 於實施例8-1中，具有活性的IFN γ 比分別單獨使用有相同濃度之糖質或胺化合物之比較例更多。

[(0133)] (9)人類TNF α 之變性抑制試驗2

以成為表22所記載的濃度之方式混合糖質及胺化合物，而製作蛋白質之變性抑制用組成物。將此蛋白質之變性抑制用組成物，及包含人類TNF α (本公司製，LOT No.960506)之磷酸緩衝液，以99:1之體積於0.5mL Eppendorf微量離心管中混合，而製作蛋白質製劑。蛋白質製劑中的人類TNF α 之濃度為10 μ g/mL。接著，重複10次以下步驟：於-80℃凍結蛋白質製劑其後於室溫使其融解的凍結融解步驟。以人類TNF α ELISA(本公司製)測量加熱後的蛋白質製劑中具有活性的TNF α 之量(ng/ml)。將結果示於表22。

[(0134)] [表22]

	糖質		胺化合物		糖質：胺化合物 之比例	糖質及胺化合物 之濃度的合計	活性蛋白質之量(ng/ml)	
	種類	濃度	種類	濃度			凍結前	凍結融解後
比較例B-1 對照(D-735)	—	—	—	—	—	—	2700	14
比較例B-2	乳糖醇	1.17M	—	—	—	—	3900	1100
比較例B-3	—	—	精氨酸鹽酸鹽	1.17M	—	—	2300	0
實施例B-1	乳糖醇	1.17M	精氨酸鹽酸鹽	1.17M	1:1	2.34M	4000	3400

[(0135)] 於實施例9.1中，具有活性的TNF α 比分別單獨使用有相同濃度之糖質或胺化合物之比較例更多。

[(0136)] (10)抗人類IFN γ 單株抗體之變性抑制試驗

以成為表23~26所記載的濃度之方式混合糖質及胺化合物，製作蛋白質變性抑制用組成物。將此蛋白質變性抑制用組成物，及包含對IFN γ 小鼠單株抗體(MAb-IFN γ -15，本公司製備品，LOT No.010)之磷酸緩衝液，以9:1之體積比於0.5mL Eppendorf微量離心管(Eppendorf公司製，商品編號3810X)中混合，而製作蛋白質製劑。蛋白質製劑中的抗體之濃度係70 μ g/mL。於表23~24之試驗中係添加0.01%~0.5%(w/v)之聚山梨糖醇 γ 80，或聚山梨糖醇 γ 20(任一者皆為富士軟片利光純藥公司製)。接著，於73℃加熱蛋白質製劑5小時。

[(0137)] 於96孔微量盤(Corning公司製，Costar3513)之孔中分別注入加熱後

的蛋白質製劑15 μ L，再分別注入作為抗原的人類IFN γ (400pg/mL)135 μ L。以12ch多通道吸量管(Thermo Electron公司製，Multipipette)混合後，取100 μ L添加至經MAb-IFN γ -15固相化的免疫模組盤(Thermo Scientific公司製，U16 maxisorp Loose Nunc-Immuno Module 469264)之孔，於室溫使抗原-抗體反應發生1.5小時。其後，遵循一般方法洗淨，進行標定抗體之添加及於波長450nm之吸光度之測量。

[(0138)] 又，作為參照試驗，於添加有磷酸緩衝液15 μ L之96孔微量盤中添加人類IFN γ (400pg/mL)135 μ L，混合後，測出將100 μ L添加至經MAb-IFN γ -15固相化的免疫模組盤之孔後的吸光度。藉由下述式求得競爭性阻害率。將結果示於表23~26。

競爭性阻害率(%) = (1 - (於各實施例、比較例之吸光度 / 參照試驗中的吸光度)) $\times$ 100

[(0139)] [表23]

	糖質		胺基化合物		異丙醇溶液		糖質・胺基化合物之比例	競爭性阻害率
	種類	濃度	種類	濃度	種類	濃度		
比較例10-1 PIB(異丙醇)	---	---	---	---	---	---	---	98%
比較例10-2 PIB(D-PIBS)	---	---	---	---	---	---	---	0%
比較例10-3	海藻糖	0.5 M	---	---	---	---	---	1%
比較例10-4	---	---	： 胺基酸鈉	0.5 M	---	---	---	3%
比較例10-5	---	---	---	---	30% 聚山梨醇T80	0.05% (w/v)	---	7%
比較例10-6	---	---	---	---	30% 聚山梨醇T80	0.1% (w/v)	---	12%
比較例10-7	---	---	---	---	30% 聚山梨醇T80	0.2% (w/v)	---	1%
比較例10-8	---	---	---	---	30% 聚山梨醇T80	0.5% (w/v)	---	3%
實施例10-1	海藻糖	0.5 M	胺基酸鈉	0.5 M	---	---	1:1	39%
實施例10-2	海藻糖	0.5 M	胺基酸鈉	0.5 M	30% 聚山梨醇T80	0.05% (w/v)	1:1	68%
實施例10-3	海藻糖	0.5 M	胺基酸鈉	0.5 M	30% 聚山梨醇T80	0.1% (w/v)	1:1	66%
實施例10-4	海藻糖	0.5 M	胺基酸鈉	0.5 M	30% 聚山梨醇T80	0.2% (w/v)	1:1	61%
實施例10-5	海藻糖	0.5 M	胺基酸鈉	0.5 M	30% 聚山梨醇T80	0.5% (w/v)	1:1	56%

[(0140)] 如表23所示，0.5M海藻糖單獨(比較例10-3)及0.5M胺基酸鈉單獨(比較例10-4)中分別為1%、3%之競爭性阻害率，但在由兩者構成的0.5M蛋白質變性抑制劑組成物(實施例10-1)中競爭性阻害率高達39%，而確認到協同效果。又，相對於藉由聚山梨醇T80單獨之競爭性阻害率為1%~12%(比較例10-5~比較例10-8)，若作用0.5M蛋白質變性抑制劑組成物則競爭性阻害率(亦即抗體穩定

化作用)係協同地提升(實施例10.2~實施例10.5)。

[0141] 再者，蛋白質之變性抑制效果之協同性係使用4步驟「3xcol統計(第4版)(柳井久江，OMS出版)所附錄的軟體「Statcol 4」，藉由「有重複的二元配置分散分析法」來進行檢驗。

[0142] [表24]

	糖質		胺基化合物		界面活性劑		糖質・胺基化合物之比例	競爭性阻遏率
	種類	濃度	種類	濃度	種類	濃度		
比較例11-1								90%
對照(添加糖)								
比較例11-2								1%
對照(D-Prs)								
比較例11-3	海藻糖	0.5 M						~7%
比較例11-4			胺基酸類	0.5 M				3%
比較例11-5					30G1 聚山梨醇20	0.01% (w/v)		6%
比較例11-6					30G1 聚山梨醇20	0.02% (w/v)		7%
比較例11-7					30G1 聚山梨醇20	0.05% (w/v)		~1%
比較例11-8					30G1 聚山梨醇20	0.1% (w/v)		9%
比較例11-9					30G1 聚山梨醇20	0.2% (w/v)		10%
實施例11-1	海藻糖	0.5 M	胺基酸類	0.5 M			1:1	30%
實施例11-2	海藻糖	0.5 M	胺基酸類	0.5 M	30G1 聚山梨醇20	0.01% (w/v)	1:1	59%
實施例11-3	海藻糖	0.5 M	胺基酸類	0.5 M	30G1 聚山梨醇20	0.02% (w/v)	1:1	65%
實施例11-4	海藻糖	0.5 M	胺基酸類	0.5 M	30G1 聚山梨醇20	0.05% (w/v)	1:1	64%
實施例11-5	海藻糖	0.5 M	胺基酸類	0.5 M	30G1 聚山梨醇20	0.1% (w/v)	1:1	57%
實施例11-6	海藻糖	0.5 M	胺基酸類	0.5 M	30G1 聚山梨醇20	0.2% (w/v)	1:1	62%

[0143] 如表24所示，包含聚山梨醇20之蛋白質變性抑制用組成物(實施例11.2~實施例11.6)，比不含聚山梨醇20之蛋白質變性抑制用組成物(實施例11.1)，其競爭性阻遏率(亦即抗體穩定化作用)係有提升。

[0144] [表25]

	糖質		胺基化合物		糖質：胺基化合物 之莫耳比	競爭性 阻害率
	種類	濃度	種類	濃度		
比較例12-1 對照(非加熱)	---	---	---	---	---	93%
比較例12-2 對照(D-PBS)	---	---	---	---	---	1%
比較例12-3	海藻糖	1M	---	---	---	64%
比較例12-4	---	---	羧胺酸鈉	0.0625 M	---	0%
比較例12-5	---	---	羧胺酸鈉	0.125 M	---	-10%
比較例12-6	---	---	羧胺酸鈉	0.25 M	---	-1%
比較例12-7	---	---	羧胺酸鈉	0.5 M	---	-2%
比較例12-8	---	---	羧胺酸鈉	1 M	---	7%
實施例12-1	海藻糖	1M	羧胺酸鈉	0.0625 M	16:1	81%
實施例12-2	海藻糖	1M	羧胺酸鈉	0.125 M	8:1	83%
實施例12-3	海藻糖	1M	羧胺酸鈉	0.25 M	4:1	87%
實施例12-4	海藻糖	1M	羧胺酸鈉	0.5 M	2:1	88%
實施例12-5	海藻糖	1M	羧胺酸鈉	1 M	1:1	89%

[0145] 如表25所示，相較於使用海藻糖單獨(比較例12.3)及羧胺酸鈉單獨(比較例12.4~比較例12.8)時，使用由兩者構成的蛋白質變性抑制用組成物時(實施例12.1~實施例12.5)之競爭性阻害率更高，而確認到協同效果。

[0146] [表26]

	糖質		胺基化合物		糖質：胺基化合物 之莫耳比	競爭性 阻害率
	種類	濃度	種類	濃度		
比較例13-1 對照(非加熱)	---	---	---	---	---	91%
比較例13-2 對照(D-PBS)	---	---	---	---	---	2%
比較例13-3	海藻糖	0.52M	---	---	---	10%
比較例13-4	海藻糖	0.78M	---	---	---	24%
比較例13-5	海藻糖	1.04M	---	---	---	81%
比較例13-6	---	---	天門冬胺酸鈉	0.52M	---	3%
比較例13-7	---	---	天門冬胺酸鈉	0.78M	---	-5%
比較例13-8	---	---	天門冬胺酸鈉	1.04M	---	10%
實施例13-1	海藻糖	0.52M	天門冬胺酸鈉	0.52M	1:1	53%
實施例13-2	海藻糖	0.78M	天門冬胺酸鈉	0.78M	1:1	85%
實施例13-3	海藻糖	1.04M	天門冬胺酸鈉	1.04M	1:1	87%
實施例13-4	海藻糖	0.52M	羧胺酸鈉	0.52M	1:1	38%
實施例13-5	海藻糖	0.78M	羧胺酸鈉	0.78M	1:1	86%
實施例13-6	海藻糖	1.04M	羧胺酸鈉	1.04M	1:1	87%

[(0147)] 如表26所示，相較於使用海藻糖單獨(比較例13-3~比較例13-5)，及天門冬胺酸鈉單獨(比較例13-6~比較例13-8)時，使用由兩者構成的蛋白質變性抑制用組成物時(實施例13-1~實施例13-3)之競爭性阻害率更高，而確認到協同效果。作為胺化合物，天門冬胺酸鈉顯示與麩胺酸鈉相同的效果。

[(0148)] (11)蘋果酸去氫酶之變性抑制試驗

以成為表27所記載的濃度之方式混合糖質及胺化合物，而製作蛋白質之變性抑制用組成物。將此蛋白質之變性抑制用組成物，及以50 μ g/ml之濃度包含來自於微生物的重組型蘋果酸去氫酶(rMDH，Oriental酵母公司製)之水，於90℃加熱處理2.5小時。使用MDH酵素活性測量套組(BioAssay Systems公司製)來測量加熱處理後之溶液中所含的蘋果酸去氫酶之活性。將經測量的經時的酵素反應生成物之吸光度示於表27。

[(0149)] [表27]

	糖質		胺化合物		糖質：胺化合物之比例	酵素反應生成物之吸光度			
	種類	濃度	種類	濃度		5分	10分	30分	120分
比較例13-1 對照(非加熱)	---	---	---	---	---	0.21	0.355	1.008	2.401
比較例13-2 對照(蒸餾水)	---	---	---	---	---	0.09	0.117	0.261	0.831
比較例13-3	海藻糖	0.91M	---	---	---	0.078	0.104	0.248	0.788
比較例13-4	海藻糖	1.04M	---	---	---	0.085	0.119	0.283	0.876
比較例13-5	海藻糖	1.17M	---	---	---	0.095	0.128	0.293	0.855
比較例13-6	---	---	胺酸鈉	0.91M	---	0.069	0.076	0.119	0.331
比較例13-7	---	---	胺酸鈉	1.04M	---	0.067	0.075	0.119	0.324
比較例13-8	---	---	胺酸鈉	1.17M	---	0.067	0.075	0.121	0.328
實施例13-1	海藻糖	0.91M	胺酸鈉	0.91M	1:1	0.278	0.286	0.529	1.2
實施例13-2	海藻糖	1.04M	胺酸鈉	1.04M	1:1	0.293	0.357	0.607	1.35
實施例13-3	海藻糖	1.17M	胺酸鈉	1.17M	1:1	0.4	0.486	0.832	1.899

[(0150)] 加熱後的酵素(比較例13-2)，相較於非加熱的酵素(比較例13-1)，吸光度明顯地減少。於酵素單獨添加麩胺酸鈉鹽並進行加熱處理後(比較例13-6~比較例13-8)確認到吸光度進一步減少。又，從單獨添加海藻糖時(比較例13-3~比較例13-5)與比較例13-2相比亦幾乎無法確認到差異來看，海藻糖單獨的保護作

用是不充分的。另一方面，於使用有由海藻糖及麩胺酸鈉構成的蛋白質變性抑制用組成物之實施例13.1~實施例13.3中，吸光度之經時變化係與非加熱的比較例13.1相同程度，而確認到協同的穩定化作用。

〔0151〕 (12)抗人類CDL1/A抗體之變性抑制試驗1

以成為表28所記載的濃度之方式混合糖質及胺化合物，而製作蛋白質之變性抑制用組成物。將此蛋白質之變性抑制用組成物，及以1mg/ml之濃度包含人源化抗人類CDL1/A抗體之水溶液，於73℃加熱處理5小時。以660nm之吸光度評定加熱處理後的蛋白質變性凝聚所造成的白濁之程度。將其結果示於表28。

〔0152〕 此外，以競爭型ELISA法測量加熱處理後的抗體對於抗原(人類CDL1/A)之反應性。將經測量的競爭性阻害率(%)示於表28。

〔0153〕 〔表28〕

	糖質		胺化合物		糖質，胺化合物之比例	濁度(OD660 nm)	競爭性阻害率(%)
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例14-1 對照(非加熱)	---	---	---	---	---	0.037	88
比較例14-2 對照(未加水)	---	---	---	---	---	0.122	18
比較例14-3	海藻糖	1M	---	---	---	0.243	42
比較例14-4	---	---	麩胺酸鈉	0.25 M	---	0.193	16
比較例14-5	---	---	麩胺酸鈉	0.5 M	---	0.338	5
比較例14-6	---	---	麩胺酸鈉	1 M	---	0.411	24
實施例14-1	海藻糖	1M	麩胺酸鈉	0.25 M	4:1	0.03	84
實施例14-2	海藻糖	1M	麩胺酸鈉	0.5 M	2:1	0.04	82
實施例14-3	海藻糖	1M	麩胺酸鈉	1 M	1:1	0.066	78

〔0154〕 如表28所示，相對於比較例14.1，於比較例14.2中濁度上昇約3.3倍。此係顯示因加熱處理抗體會凝聚而呈白濁。若添加海藻糖單獨(比較例14.3)，或麩胺酸鈉鹽單獨(比較例14.4~比較例14.6)，則白濁會進一步增加，吸光度變高。但，在有1M海藻糖及各種濃度之麩胺酸鈉鹽所構成的蛋白質變性抑制用組成物之存在下，因應其濃度，濁度係被抑制到與非加熱的比較例14.1相同程度至約1.8倍為止，抗體蛋白質之凝聚係被抑制(實施例14.1~實施例14.3)。

〔0155〕 如表28所示，藉由抗體之加熱處理競爭性阻害率減少至18%(比較例14-2)。在1M海藻糖之存在下，抗原結合性減少約50%(比較例14-3)，藉由麩胺酸鈉鹽單獨添加，抗原結合性係進一步減少(比較例14-4~比較例14-6)，而與自濁之增加有關。但，在由海藻糖及麩胺酸鈉鹽所構成的蛋白質變性抑制劑組成物之存在下(實施例14-1~實施例14-3)，抗原結合性係與非加熱的抗體相同程度，顯然於蛋白質變性抑制劑組成物相對於分別單獨使用有糖質或胺化合物的情況具有協同的抗體之保護作用。於此試驗中所使用的抗體係臨床上所正在使用的抗體製劑之一範例，此結果顯示蛋白質變性抑制劑組成物對於正在被臨床應用之抗體製劑亦會發抑保護作用。

〔0156〕 (13)抗人類IL-17A抗體之變性抑制試驗2

除了使用天門冬胺酸鈉鹽代替麩胺酸鈉鹽來作為胺化合物之外，進行與比較例14-1~比較例14-6、實施例14-1~實施例14-3相同的操作，並以660nm之吸光度評定加熱處理後的蛋白質變性凝聚所造成的自濁之程度。將其結果示於表29。此外，將以競爭2型ELISA法測定加熱處理後的抗體對於抗原(人類IL-17A)之反應性之結果示於表29。

〔0157〕 [表29]

	糖質		胺化合物		糖質，胺化合物之比	濁度 (OD660 nm)	競爭性阻害率(%)
	種類	濃度	種類	濃度			
比較例15-1 對照(非加熱)	---	---	---	---	---	0.04	84
比較例15-2 對照(結晶水)	---	---	---	---	---	0.171	9
比較例15-3	海藻糖	1M	---	---	---	0.185	47
比較例15-4	---	---	天門冬胺酸鈉鹽	0.25 M	---	0.211	22
比較例15-5	---	---	天門冬胺酸鈉鹽	0.5 M	---	0.252	10
比較例15-6	---	---	天門冬胺酸鈉鹽	1 M	---	0.277	23
實施例15-1	海藻糖	1M	天門冬胺酸鈉鹽	0.25 M	4:1	0.034	84
實施例15-2	海藻糖	1M	天門冬胺酸鈉鹽	0.5 M	2:1	0.041	83
實施例15-3	海藻糖	1M	天門冬胺酸鈉鹽	1 M	1:1	0.059	78

〔0158〕 如表29所示，相對於比較例15-1，於比較例15-3中濁度上升約4.3

倍。此係顯示因加熱處理抗體會凝聚而呈白濁。若添加海藻糖單獨(比較例15-3)，或天門冬胺酸鈉鹽單獨(比較例15-4~比較例15-6)，相較於比較例15-2白濁會更為增加。但，在由海藻糖及各種濃度之天門冬胺酸鈉鹽所構成的蛋白質變性抑制用組成物之存在下，因應其濃度，濁度係被抑制到與非加熱的比較例15-1相同程度至約1.5倍為止，抗體蛋白質之凝聚係被抑制(實施例15-1~實施例15-3)。

【0159】 如表29所示，藉由抗體之加熱處理，抗原結合性減少至9%(比較例15-2)。在1M海藻糖之存在下，抗原結合性減少至47%(比較例15-3)，且藉由麩胺酸鈉鹽單獨添加，抗原結合性係進一步減少(比較例15-4~比較例15-6)，而與白濁之增加有關。但，在由1M海藻糖單獨及天門冬胺酸鈉鹽所構成的蛋白質變性抑制用組成物之存在下(實施例15-1~實施例15-3)，抗原結合性係與非加熱的抗體相同程度，顯然於蛋白質變性抑制用組成物相對於分別單獨使用有糖質或胺化合物之情況具有協同的抗體之保護作用。

【0160】 (14)乳糖酶之變性抑制試驗

以成為表30所記載的濃度之方式混合糖質及胺化合物，而製作蛋白質之變性抑制用組成物。將此蛋白質之變性抑制用組成物，及以約6mg/mL之濃度包含來自於*Kluyveromyces*屬之乳糖酶之水溶液，於50°C或60°C加熱處理2小時。以660nm之吸光度評定加熱處理後的蛋白質變性凝聚所造成的白濁之程度。將其結果示於表30。

【0161】 此外，測量相對於非加熱的乳糖酶活性之加熱處理後的乳糖酶活性(殘存活性(%))。將其結果示於表30。

【0162】 [表30]

	糖質		胺化合物		糖質，胺化合物之比例	加熱後之濁度 (OD660nm)		加熱後之殘存活性(%)	
	種類	濃度	種類	濃度		50°C	60°C	50°C	60°C
比較例16-1 對照(非加熱)						0.02	0.02	100	100
比較例16-2 對照(經加熱)						1.9	1.3	2	2
實施例16	海藻糖	1.17M	胺基噁納	1.17M	1:1	0.03	0.21	99	95

(緩衝液：0.005%β-巰基乙醇、0.02M磷酸鈉緩衝液)

[0163] 如表30所示，於比較例16中觀察到自濁，且加熱後的殘存活性相較於比較例16-1係大幅減少。相對於此，於實施例16中自濁被抑制，且殘存活性有提升。

[0164] (15)6 α-葡萄糖轉移酶之變性抑制試驗1

以成為表31所記載的濃度之方式混合糖質及胺化合物，而製作蛋白質之變性抑制用組成物。將此蛋白質之變性抑制用組成物，及以約25mg/ml濃度包含來自於地芽孢桿菌屬(*Geobacillus*屬)之6 α-葡萄糖轉移酶之水溶液，於70°C加熱處理2小時。以660nm之吸光度評定加熱處理後的蛋白質變性凝集所造成的自濁之程度。將其結果示於表31。

[0165] 此外，測量相對於非加熱的6 α-葡萄糖轉移酶活性之加熱處理後的6 α-葡萄糖轉移酶活性(殘存活性(%))。將其結果示於表31。

[0166] [表31]

	糖質		胺化合物		糖質，胺化合物之比例	加熱後之濁度 (OD660nm)	加熱後之殘存活性 (%)
	種類	濃度	種類	濃度		70°C	70°C
比較例17-1 對照(非加熱)						1.4	100
比較例17-2 對照(經加熱)						8.3	2
實施例17	海藻糖	1.17M	胺基噁納	1.17M	1:1	5.3	76

(緩衝液：0.05% Triton、0.01M磷酸鈉緩衝液)

[0167] 如表31所示，於比較例17-2中觀察到自濁，且加熱後的殘存活性相

較於比較例17-1大幅減少。相對於此，於實施例17中白濁被抑制，且殘存活性有提升。

〔0168〕 (16)6- α -葡萄糖轉移酶之變性抑制試驗2

混合糖質及胺化合物而製作蛋白質之變性抑制用組成物。將此蛋白質之變性抑制用組成物，及以約25mg/mol之濃度包含來自於地芽孢桿菌屬(*Geobacillus* 屬)之6- α -葡萄糖轉移酶之水溶液進行凍結乾燥，並以成為表32所記載的含量之方式製作粉末。在恆溫器中於70℃保溫凍結乾燥後之粉末211。於保管後亦保持粉末的狀態，而並未產生吸濕所造成的外觀變化。其後，測量相對於非加熱的6- α -葡萄糖轉移酶活性之保溫後的6- α -葡萄糖轉移酶活性(殘存活性(%))。將其結果示於表32。

〔0169〕 〔表32〕

	糖質		胺化合物		糖質+胺化合物 之比例	加熱後之 殘存活性(%)
	種類	含量 (每1kg中)	種類	含量 (每1kg中)		
比較例18-1 對照(非加熱)	---	---	---	---	---	100
比較例18-2 對照 (6- α -葡萄糖轉移酶 的單獨凍結乾燥)	---	---	---	---	---	53
實施例18-1	海藻糖	1.64mol	胺酸腺納	1.64mol	1:1	98
實施例18-2	海藻糖	1.58mol	胺酸腺納	1.58mol	1:1	83
實施例18-3	海藻糖	1.39mol	胺酸腺納	1.39mol	1:1	86

〔0170〕 如表32所示，比較例18-2之加熱後的殘存活性相較於比較例18-1係大幅地減少。相對於此，於實施例18-1~實施例18-3中殘存活性係有提升，而回復至與比較例18-1相同程度。

〔0171〕 (17)6- α -葡萄糖轉移酶之變性抑制試驗3

混合糖質及胺化合物而製作蛋白質之變性抑制用組成物。將此蛋白質之變性抑制用組成物，及以約45mg/mol之濃度包含來自於地芽孢桿菌屬(*Geobacillus* 屬)之6- α 葡聚糖轉移酶之水溶液進行凍結乾燥，並以成為表33所記載的含量之方式製作粉末。在恆溫器中於40℃、相對濕度75%之條件下保管凍結乾燥後之粉末3個月。於保管後亦保持粉末的狀態，而並未產生吸濕所造成的外觀變化。其後，測量相對於保溫前的6- α 葡聚糖轉移酶活性之保溫後的6- α 葡聚糖轉移酶活性(殘存活性(%))。將其結果示於表33。

[0172] [表33]

	糖質		胺化合物		糖質：胺化合物 之比例	3個月保溫後之 殘存活性(%)
	種類	含量 (粉體 1kg中)	種類	含量 (粉體 1kg中)		
比較例19 對照 (凍結乾燥用添加劑 添加後之濃度0)	---	---	---	---	---	45
實施例19-1	海藻糖	0.6mol	胺聚糖納	0.6mol	1:1	98
實施例19-2	海藻糖	0.31mol	胺聚糖納	0.31mol	1:1	91
實施例19-3	海藻糖	0.11mol	胺聚糖納	0.11mol	1:1	84

[0173] 如表33所示，比較例19在3個月保存後之殘存活性係大幅減少。相對於此，於實施例19-1~實施例19-3中殘存活性係有提升。

[0174] (18)絲胺酸蛋白酶之變性抑制試驗

以成為表34~35所記載的濃度之方式混合糖質及胺化合物，而製作蛋白質之變性抑制用組成物。將此蛋白質之變性抑制用組成物，及以約1mg/mol之濃度包含來自於桿菌屬(*Bacillus* 屬)之絲胺酸蛋白酶(Nagase Villa股份有限公司製「Bioplase(R)」)之水溶液，於70℃加熱處理2小時。測量相對於加熱處理後的酵素活性之加熱處理後的酵素活性(殘存活性(%))。將其結果示於表34~35。

[0175] 酵素活性係使用AAT Bioquest公司製Amplitude蛋白酶活性測量套組1

中所包含的螢光標定酪蛋白來測量。具體而言，於康寧公司製96孔黑色盤(3603)中添加以純化水將經熱處理的樣品稀釋60倍之物50 μ L/孔。接著於前述黑色盤中添加以80mM磷酸緩衝液(pH7.5)將螢光標定酪蛋白稀釋100倍之物50 μ L/孔，並於37 $^{\circ}$ C培養15分鐘後，藉由螢光強度(Ex/Em:490nm/525nm)進行測量。又，製備將非加熱蛋白酶原粉末自50 μ g/mL以純化水進行2倍階段性稀釋之物，而作為基準來添加。

[0176] [表34]

	糖質		胺化合物		糖質：胺化合物 之莫耳比	殘存酵素 活性(%)
	種類	濃度	種類	濃度		
比較例20-1 調劑(非加熱)	—	—	—	—	—	100
比較例20-2 調劑(蒸餾水)	—	—	—	—	—	4
比較例20-3	海藻糖	1M	—	—	—	14
比較例20-4	—	—	鋁胺酸鈉	0.25M	1:1	19
比較例20-5	—	—	鋁胺酸鈉	0.5M	—	39
比較例20-6	—	—	鋁胺酸鈉	1M	—	55
實施例20-1	海藻糖	1M	鋁胺酸鈉	0.25M	4:1	59
實施例20-2	海藻糖	1M	鋁胺酸鈉	0.5M	2:1	72
實施例20-3	海藻糖	1M	鋁胺酸鈉	1M	1:1	72

[0177] 如表34所示，比較例20-2之殘存活性係大幅減少。相對於此，於實施例20-1~實施例20-3中殘存活性係有提升。於實施例20-1、實施例20-2中確認到統計上顯著的協同作用。

[0178] [表35]

	糖質		胺基化合物		糖質：胺基化合物 之莫耳比	殘存酵素 活性(%)
	種類	濃度	種類	濃度		
比較例21-1 陶聚(非加熱)	—	—	—	—	—	100
比較例21-2 陶聚(蒸餾水)	—	—	—	—	—	5
比較例21-3	海藻糖	1M	—	—	—	3
比較例21-4	—	—	天門冬胺酸鈉	0.25M	1:1	13
比較例21-5	—	—	天門冬胺酸鈉	0.5M	—	6
比較例21-6	—	—	天門冬胺酸鈉	1M	—	9
實施例21-1	海藻糖	1M	天門冬胺酸鈉	0.25M	4:1	37
實施例21-2	海藻糖	1M	天門冬胺酸鈉	0.5M	2:1	49
實施例21-3	海藻糖	1M	天門冬胺酸鈉	1M	1:1	66

〔0179〕如表35所示，比較例21-2之殘存活性係大幅減少。相對於此，於實施例21-1~實施例21-3中殘存活性係有提升。於實施例21-1、實施例21-2、實施例21-3中確認到統計上顯著的協同作用。絲胺酸蛋白酶(Nagase Villa股份有限公司製「Bioplase(R)」)除了係在化妝品領域中作為用於分解/剝離老化的角質之敷劑利用之外，亦可作為工業用途利用於洗劑製造、各種洗淨劑。表34~35之結果啟示到可將蛋白質之變性抑制用組成物適用於化妝品敷劑、洗淨劑等。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種蛋白質之變性抑制用組成物，包含：

糖質，其選自於由海藻糖、蔗糖、麥芽糖醇及異麥芽糖醇所構成的群組之1者以上；及

胺化合物，其選自於由麩胺酸、天門冬胺酸、精胺酸、脯胺酸、絲胺酸、膽鹼及其等之鹽所構成的群組之1者以上。

【請求項2】 如請求項1之蛋白質變性抑制用組成物，其會抑制加熱或凍結融解所造成的蛋白質之變性。

【請求項3】 如請求項1或2之蛋白質變性抑制用組成物，其會抑制蛋白質之凝聚。

【請求項4】 如請求項1或2之蛋白質變性抑制用組成物，其中前述蛋白質係選自於由抗體、細胞介素、過敏原及酵素所構成的群組之1者以上。

【請求項5】 如請求項1或2之蛋白質變性抑制用組成物，其中前述蛋白質係選自於由抗IFN α 抗體、抗IFN γ 抗體、抗TNF α 抗體、抗IL-17A抗體及抗IL-18抗體所構成的群組之1者以上。

【請求項6】 如請求項1或2之蛋白質變性抑制用組成物，其中前述蛋白質係選自於由IFN α 、IFN γ 、IL-18及TNF α 所構成的群組之1者以上。

【請求項7】 如請求項1或2之蛋白質變性抑制用組成物，其中前述蛋白質為柳杉花粉過敏原。

【請求項8】 如請求項1或2之蛋白質變性抑制用組成物，其中前述蛋白質係選自於由乳酸去氫酶、醣基轉移酶、醣解酶、蘋果酸去氫酶及蛋白分解酶所構成的群組之1者以上。

【請求項9】 如請求項1或2之蛋白質變性抑制用組成物，其中前述蛋白質為來自於病毒之蛋白質或來自於細菌之蛋白質。

【請求項10】如請求項1或2之蛋白質變性抑制用組成物，其中前述蛋白質為凝血因子或白蛋白。

【請求項11】如請求項1或2之蛋白質變性抑制用組成物，其中糖質：胺化合物之摻合莫耳比為40:1~1:40。

【請求項12】如請求項1或2之蛋白質變性抑制用組成物，其係液體形態，且其中糖質及胺化合物之濃度之合計為0.20莫耳/L~3.50莫耳/L。

【請求項13】如請求項1或2之蛋白質變性抑制用組成物，其中，相對於前述糖質所造成的蛋白質之變性抑制效果及前述胺化合物所造成的蛋白質之變性抑制效果，該組成物會協同地抑制蛋白質之變性。

【請求項14】一種蛋白質之變性抑制方法，其特徵在於使蛋白質與如請求項1或2之蛋白質變性抑制用組成物共存。

【請求項15】一種蛋白質製劑，包含蛋白質及如請求項1或2之蛋白質變性抑制用組成物。

【請求項16】一種蛋白質之變性抑制方法，其特徵在於使糖質及胺化合物與蛋白質共存，其中該糖質係選自於由海藻糖、蔗糖、麥芽糖醇及異麥芽糖醇所構成的群組之1者以上，且該胺化合物係選自於由麩胺酸、天門冬胺酸、精胺酸、脯胺酸、絲胺酸、膽鹼及其等之鹽所構成的群組之1者以上。

【請求項17】一種蛋白質製劑，包含：

糖質，其選自於由海藻糖、蔗糖、麥芽糖醇及異麥芽糖醇所構成的群組之1者以上；

胺化合物，其選自於由麩胺酸、天門冬胺酸、精胺酸、脯胺酸、絲胺酸、膽鹼及其等之鹽所構成的群組之1者以上；及

蛋白質。