



(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 201625675 A

(43)公開日：中華民國 105 (2016) 年 07 月 16 日

(21)申請案號：104119310

(22)申請日：中華民國 104 (2015) 年 06 月 15 日

(51)Int. Cl.：

C07K14/71 (2006.01)

C07K16/22 (2006.01)

A61K38/17 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

A61P3/04 (2006.01)

(30)優先權：2014/06/13 美國

61/012,104

2014/09/09 美國

62/047,995

2014/10/02 美國

62/058,789

2015/04/03 美國

62/142,812

(71)申請人：聖塔瑪麗亞生物治療公司 (美國) SANTA MARIA BIOTHERAPEUTICS, INC. (US)

美國

安美基公司 (美國) AMGEN INC. (US)

美國

(72)發明人：海克 克里斯多福 麥克 HAQQ, CHRISTOPHER MICHAEL (US)；拉第珀夫 拉米爾 LATYPOV, RAMIL (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：85 項 圖式數：7 共 218 頁

(54)名稱

經調配之受體多肽及相關方法

FORMULATED RECEPTOR POLYPEPTIDES AND RELATED METHODS

(57)摘要

本文揭示一種基於活化素受體 IIB 的組合物及相關使用方法，例如用於治療實體腫瘤。亦揭示製造化合物及調配物的方法。

Disclosed herein is an activin receptor IIB-based composition and related methods of use, e.g., to treat solid tumors. Also disclosed are methods of manufacturing the compound and formulation.

指定代表圖：



圖 1

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

經調配之受體多肽及相關方法

FORMULATED RECEPTOR POLYPEPTIDES AND RELATED
METHODS

相關申請案之交叉參考

本申請案主張2014年6月13日申請之美國臨時申請案第61/012,104號、2014年9月9日申請之美國臨時申請案第62/047,995號、2014年10月2日申請之美國臨時申請案第62/058,789號及2015年4月3日申請之美國臨時申請案第62/142,812號的權益；該等案中之每一者的整個揭示內容均以全文引用的方式併入本文中用於所有目的。

序列表

本申請案含有序列表，該序列表已以ASCII格式以電子方式提交且其全部內容以引用的方式併入本文中。該ASCII複本於2015年6月10日產生，命名為29502PCT_CRF_sequencelisting.txt且大小為83,907個位元組。

【先前技術】

轉型生長因子 β (TGF- β)蛋白質家族包括轉型生長因子- β (TGF- β)、活化素、促骨骼形態形成的蛋白質(BMP)、神經生長因子(NGF)、大腦源神經營養因子(BDNF)及生長/分化因子(GDF)。此等家族成員涉及廣泛範圍之生物過程(包括細胞增殖、分化及其他功能)的調節。

生長/分化因子8(GDF-8)(亦稱為肌肉生長抑制素)為大多數情況下在正發育及成熟之骨骼肌組織之細胞中受到表現的TGF- β 家族成

員。肌肉生長抑制素似乎起著不利地控制骨骼肌生長的主要作用 (McPherron等人, *Nature (London)* 387, 83-90 (1997) ; Zimmers等人, *Science* 296:1486-1488 (2002))。拮抗肌肉生長抑制素已顯示可使動物的瘦肌肉質量增加。

TGF- β 蛋白質家族中的另一成員為相關生長/分化因子：生長/分化因子11(GDF-11)。GDF-11與肌肉生長抑制素的胺基酸序列具有約90%的序列一致性。GDF-11在正發育之動物中具有軸向模式化的作用 (Oh等人, *Genes Dev* 11:1812-26 (1997))，且亦似乎在骨骼肌發育及生長中起作用。

活化素A、B及AB分別為兩種多肽鏈 β A及 β B的均二聚體及雜二聚體 (Vale等人, *Nature* 321, 776-779 (1986) ; Ling等人, *Nature* 321, 779-782 (1986))。最初發現活化素為涉及調節濾泡刺激性激素合成的性腺肽，且現咸信涉及多種生物活性的調節。活化素A為活化素的主要形式。

活化素、肌肉生長抑制素、GDF-11及TGF- β 超家族中的其他成員經由活化素II型與活化素IIB型受體之組合來進行結合及傳導信號，活化素II型與活化素IIB型受體均為跨膜絲胺酸/蘇胺酸激酶 (Harrison等人, *J. Biol. Chem.* 279, 28036-28044 (2004))。交聯研究已確定，肌肉生長抑制素能夠活體外結合活化素II型受體ActRIIA及ActRIIB (Lee等人, *PNAS USA* 98:9306-11 (2001))。亦有證據表明，GDF-11結合至ActRIIA與ActRIIB (Oh等人, *Genes Dev* 16:2749-54 (2002))。

TGF- β 蛋白質表現已知與多種疾病及病症有關。因此，能夠同時拮抗若干種TGF- β 蛋白質的治療性分子可特別有效地治療此等疾病及病症。

相關申請案包括：2009年11月25日申請的美國申請案第12/626,375號；2008年3月5日申請的美國申請案第12/074,877號；

2011年12月19申請的美國申請案第13/329,897號；2006年10月31日申請的美國申請案第11/590,962號；2014年2月3日申請的PCT/US2014/014490；及2015年1月14日申請的PCT/US2015/011396；該等申請案各以全文引用的方式併入本文中用於所有目的。

【發明內容】

本文揭示一種包含蛋白質、賦形劑、緩衝劑及界面活性劑之溶液的組合物，其中該組合物包含4-12之pH，其中該蛋白質包含能夠結合肌肉生長抑制素、活化素或GDF-11中之至少一者的多肽，視情況其中該多肽係選自由以下組成之群：(a)由列舉於由SEQ ID NO: 4、6、12及14組成之群中的胺基酸序列組成的多肽；(b)與(a)具有至少90%序列一致性的多肽，且該多肽在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置28的位置具有W或Y且在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置44的位置具有T；(c)與(a)具有至少95%序列一致性的多肽，其中該多肽在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置28的位置具有W或Y且在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置44的位置具有T；及(d)序列與SEQ ID NO: 2之胺基酸19-25、19、20、21、22、23、24或25直至130-134、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134中所示序列至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致的多肽；且其中相對於時間段開始時(0月)的該組合物中之蛋白質或相對於相同蛋白質在-20℃或-70℃、在其他相同條件下保持大於1個月，該組合物中之蛋白質在溶液中在2-8℃或5℃保存時保持至少80%穩定性大於1個月之時間段；且視情況其中該組合物進一步包含化學治療劑或第二治療劑。

本文亦揭示一種抑制個體之實體腫瘤生長或治療個體之實體腫瘤的方法，其包含向該個體投與至少0.1 mg/kg至20 mg/kg範圍內之固定劑量的蛋白質，其中該蛋白質包含能夠結合肌肉生長抑制素、活化

素或GDF-11中之至少一者的多肽，視情況其中該多肽係選自由以下組成之群：(a)由列舉於由SEQ ID NO: 4、6、12及14組成之群中的胺基酸序列組成的多肽；(b)與(a)具有至少90%序列一致性的多肽，且該多肽在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置28的位置具有W或Y且在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置44的位置具有T；(c)與(a)具有至少95%序列一致性的多肽，其中該多肽在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置28的位置具有W或Y且在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置44的位置具有T；及(d)序列與SEQ ID NO: 2之胺基酸19-25、19、20、21、22、23、24或25直至130-134、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134中所示序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性的多肽。

本文亦揭示一種抑制、減輕或治療個體之惡病質的方法，其包含向該個體投與至少0.1 mg/kg至20 mg/kg範圍內之固定劑量的蛋白質，其中該蛋白質包含能夠結合肌肉生長抑制素、活化素或GDF-11中之至少一者的多肽，視情況其中該多肽係選自由以下組成之群：(a)由列舉於中由SEQ ID NO: 4、6、12及14組成之群的胺基酸序列組成的多肽；(b)與(a)具有至少90%序列一致性的多肽，且該多肽在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置28的位置具有W或Y且在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置44的位置具有T；(c)與(a)具有至少95%序列一致性的多肽，其中該多肽在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置28的位置具有W或Y且在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置44的位置具有T，及(d)序列與SEQ ID NO: 2之胺基酸19-25、19、20、21、22、23、24或25直至130-134、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134中所示序列至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性的多肽。

本文亦揭示一種治療個體之肥胖或肥胖相關性疾病、增加或維

持個體之肌肉質量或減少個體之脂肪質量的方法，其包含：向該個體投與有效劑量的抑制活化素、肌肉生長抑制素及GDF-11中之至少一者的蛋白質，視情況其中肥胖相關性疾病為遺傳性肥胖症候群、普拉德威利症候群(Prader willi syndrome)、下丘腦病症、家族性高膽固醇血症、巴德-畢德氏症候群(Bardet-Biedl syndrome)、普拉德-威利症候群(Prader-willi syndrome)、15q11-13上之印記基因缺失所致的症候群、艾爾斯通症候群(Alstrom syndrome)、柯亨症候群(Cohen syndrome)、艾爾伯拉特遺傳性骨營養不良(Albright's hereditary osteodystrophy)(假副甲狀腺低能症)、卡本特症候群(Carpenter syndrome)、MOMO症候群、魯賓斯坦-泰必症候群(Rubinstein-Taybi syndrome)；6q16、1p36、2q37及9q34中之至少一者缺失所致的症候群；染色體14之母源單親雙染色體症、脆弱X染色體症候群、動脈粥樣硬化、非酒精性脂肪肝、其中內臟脂肪沈積導致一或多種有害結果的疾病、腦血管疾病、脂肪肝及伯吉森-佛斯曼-萊曼症候群(Börjeson-Forssman-Lehman syndrome)，且視情況其中該多肽係選自由以下組成之群：(a)由列舉於由SEQ ID NO: 4、6、12及14組成之群中的胺基酸序列組成的多肽；(b)與(a)具有至少90%序列一致性的多肽，且該多肽在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置28的位置具有W或Y且在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置44的位置具有T；(c)與(a)具有至少95%序列一致性的多肽，其中該多肽在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置28具有W或Y且在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置44的位置具有T；及(d)序列與SEQ ID NO: 2之胺基酸19-25、19、20、21、22、23、24或25直至130-134、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134中所示序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性的多肽。

本文亦揭示一種製備蛋白質的方法，該蛋白質包含能夠肌肉生

長抑制素、活化素或GDF-11中之至少一者的多肽，視情況其中該多肽係選自由以下組成之群：(a)由列舉於中由SEQ ID NO: 4、6、12及14組成之群的胺基酸序列組成的多肽；(b)與(a)具有至少90%序列一致性的多肽，且該多肽在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置28的位置具有W或Y且在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置44的位置具有T；(c)與(a)具有至少95%序列一致性的多肽，其中該多肽在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置28的位置具有W或Y且在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置44的位置具有T，及(d)序列與SEQ ID NO: 2之胺基酸19-25、19、20、21、22、23、24或25直至130-134、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134中所示序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性的多肽，其中該方法包含：在細胞培養液中培養經工程改造可表現該蛋白質的CS9中國倉鼠卵巢細胞株；自培養物中收穫該蛋白質；及純化該蛋白質。

【圖式簡單說明】

此等及其他特徵、態樣及優點結合以下實施方式及附圖將變得更好理解，其中：

圖1顯示用於製備STM 434之細胞培養方法的概述。

圖2顯示STM 434之純化方法的概述。

圖3顯示製備及封裝STM 434的流程圖。

圖4顯示在投與以0.25 mg/kg給予之STM 434之後，3位個體中有2者中的FSH含量降低。

圖5顯示人體中之STM 434的期中PK分析。

圖6顯示基線掃描，其中腫瘤以圓形指示。

圖7顯示第4循環開始時獲得的後續掃描，其中腫瘤再次以圓形指示。

【實施方式】

組合物

本文描述一種包含穩定化人類活化素IIB受體(svActRIIB)多肽的經分離之蛋白質及相關調配物。蛋白質及多肽的特徵可為其能夠結合至三種TGF- β 蛋白質(肌肉生長抑制素(GDF-8)、活化素A或GDF-11)中之至少一者以抑制此等蛋白質中之至少一者的活性且與其他ActRIIB可溶性受體相比視情況具有改良之可製造性特性。穩定化人類活化素IIB受體多肽的特徵可為相對於ActRIIB之胞外域，位置E28與S44均存在胺基酸取代，如SEQ ID NO: 2中所示。在一個實施例中，穩定化人類活化素IIB受體多肽在相對於SEQ ID NO: 2的位置64可具有丙胺酸之進一步取代。在一些態樣中，蛋白質為抗體、基於ActRIIB的蛋白質，及/或Fc融合蛋白。在一些態樣中，Fc融合蛋白為ActRIIB Fc融合蛋白。在一些態樣中，ActRIIB蛋白質包含與SEQ ID NO: 2之胺基酸19-25、19、20、21、22、23、24或25直至130-134、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134中所示序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性的序列，視情況其中Fc為IgG，視情況其中IgG為人類IgG。在一些態樣中，ActRIIB蛋白質包含或其組成為SEQ ID NO: 6或SEQ ID NO: 10中所示序列。在一些態樣中，ActRIIB蛋白質包含與SEQ ID NO: 6中所示序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性的序列。在一些態樣中，ActRIIB蛋白質包含與SEQ ID NO: 6中所示序列不同之處少於1-2、1、2、3、4或5個胺基酸的序列。在一些態樣中，蛋白質抑制活化素、肌肉生長抑制素及GDF-11中的至少兩者。在一些態樣中，蛋白質抑制活化素、肌肉生長抑制素及GDF-11。在一些態樣中，蛋白質抑制活化素。

如本文所用，術語「TGF- β 家族成員」或「TGF- β 蛋白質」係指

包括活化素之轉型生長因子家族的結構相關生長因子，以及生長及分化因子(GDF)蛋白質(Kingsley等人, *Genes Dev.* 8: 133-146 (1994)；McPherron等人, *Growth factors and cytokines in health and disease*, 第1B卷, D. LeRoith及C. Bondy.編, JAI Press Inc., Greenwich, Conn, USA: pp 357-393)。

GDF-8，亦稱為肌肉生長抑制素，為骨骼肌組織之負調節劑(McPherron等人, *PNAS USA* 94:12457-12461 (1997))。肌肉生長抑制素經合成為長度約375個胺基酸的非活性蛋白質，人類之肌肉生長抑制素具有基因庫寄存編號：AAB86694。前驅蛋白藉由蛋白水解分裂而在四鹼基加工位點活化，產生N末端非活性前域與約109個胺基酸的C末端蛋白質，其二聚合而形成約25 kDa之均二聚體。此均二聚體為成熟的生物活性蛋白質(Zimmers等人, *Science* 296, 1486 (2002))。

如本文所使用，術語「前域」或「前肽」係指經裂解而釋放活性C末端蛋白質的非活性N末端蛋白質。如本文所用，術語「肌肉生長抑制素」或「成熟肌肉生長抑制素」係指呈單體、二聚物或其他形式的成熟、生物活性C末端多肽，以及生物活性片段或相關多肽，包括對偶基因變異體、剪接變異體以及融合肽及多肽。已報導成熟肌肉生長抑制素在多種物種(包括人類、小鼠、雞、豬、火雞及大鼠)中具有100%序列一致性(Lee等人, *PNAS* 98, 9306 (2001))。

如本文所用，GDF-11係指具有Swissprot寄存編號O95390的BMP(促骨骼形態形成的蛋白質)，以及該蛋白質之變異體及物種同源物。GDF-11涉及軸向骨架之前/後模式化的調節(McPherron等人, *Nature Genet.* 22 (93): 260-264 (1999)；Gamer等人, *Dev. Biol.* 208 (1), 222-232 (1999))，但出生後功能未知。

活化素A為多肽鏈 β A之均二聚體。如本文所用，術語「活化素A」係指具有基因庫寄存編號：NM_002192的活化素蛋白質。活化素

A、B及AB分別為兩種多肽鏈 β A及 β B的均二聚體及雜二聚體。如本文所用，「活化素」係指活化素A、B及AB，以及該蛋白質之變異體及物種同源物。

受體多肽

如本文所用，術語活化素IIB型受體(ActRIIB)係指具有寄存編號NP_001097的人類活化素受體或其變異體，諸如位置64之精胺酸經丙胺酸取代的彼等受體。術語可溶性ActRIIB(野生型)係指ActRIIB之胞外域，例如SEQ ID NO: 2之胺基酸1至134(具有信號序列)，或胺基酸19直至134(無信號序列)，或SEQ ID NO: 2之胺基酸20、21、22、23、24或25直至134(無信號序列)。

穩定化受體多肽

本文亦提供一種經分離之蛋白質，其包含穩定化ActIIB受體多肽(在本文中稱為「svActRIIB多肽」)。如本文所用，術語「svActRIIB蛋白質」係指包含穩定化ActRIIB多肽的蛋白質。此等多肽及蛋白質的特徵為，除可製造性特徵改良之外，亦能夠結合及抑制活化素A、肌肉生長抑制素或GDF-11中任一者之活性。

穩定化ActRIIB多肽的特徵可為相對於SEQ ID NO: 2的位置28與44均具有胺基酸取代。出於一致性，穩定化ActRIIB多肽及蛋白質上的胺基酸位置均相對於SEQ ID NO: 2中的位置提及，不論多肽是否為成熟的或截短的。如本文所使用，術語「成熟」係指多肽或肽不具有其信號序列。如本文所使用，術語「截短」係指N末端胺基酸或C末端胺基酸已移除的多肽。

在一個實施例中，經分離之穩定化活化素IIB受體多肽(svActRIIB)具有SEQ ID NO: 2中所示之多肽序列。在另一個實施例中，多肽具有SEQ ID NO: 2之胺基酸19直至134中所示序列。在另一個實施例中，多肽具有SEQ ID NO: 2之胺基酸23直至134中所示序

列。在另一個實施例中，多肽具有SEQ ID NO: 2之胺基酸25直至134中所示序列。在另一個實施例中，多肽與上述多肽中之任一者具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性的胺基酸序列。在一個實施例中，多肽能夠結合肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11。在一個實施例中，經分離之穩定化活化素IIB受體多肽(svActRIIB)包含與SEQ ID NO: 2之胺基酸19-24、19、20、21、22、23、24或25直至130-134、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134中所示序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性的序列。

在一個實施例中，經分離之穩定化活化素IIB受體多肽(svActRIIB)具有SEQ ID NO: 2中所示之多肽序列，但位置28具有胺基酸取代且位置44具有胺基酸取代，其中位置28之取代係選自W或Y，且位置44之取代為T。在另一個實施例中，多肽具有SEQ ID NO: 2之胺基酸19直至134中所示序列，但位置28具有胺基酸取代，且位置44具有胺基酸取代，其中位置28之取代係選自W或Y，且位置44之取代為T。在另一個實施例中，多肽具有SEQ ID NO: 2之胺基酸23直至134中所示序列，但位置28具有胺基酸取代，且位置44具有胺基酸取代，其中位置28之取代係選自W或Y，且位置44之取代為T。在另一個實施例中，多肽具有SEQ ID NO: 2之胺基酸25直至134中所示序列，但位置28具有胺基酸取代，且位置44具有胺基酸取代，其中位置28之取代係選自W或Y，且位置44之取代為T。在另一個實施例中，多肽具有與上述多肽中之任一者具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性的胺基酸序列，其中多肽具有位置28之胺基酸取代及位置44之胺基酸取代，視情況其中位置28之取代係選自W或Y，且位置44之取代為T，且其中多肽能夠結合肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11。在一個實施例中，上述多肽之位置28之取代為W，

且位置44之取代為T，其中多肽能夠結合肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11。

在一個實施例中，svActRIIB多肽包括信號序列，例如SEQ ID NO: 4、8、12及16中所示的序列。然而，可使用各種信號肽製備本申請案之多肽。信號肽可具有例如SEQ ID NO: 4之胺基酸1至19中所示序列。可使用適用於表現svActRIIB多肽的任何其他信號肽。在其他實施例中，移除信號序列，得到成熟肽。缺乏信號序列之svActRIIB多肽之實例包括例如SEQ ID NO: 6、10、14及18中所示的序列。

在一個實施例中，蛋白質包含穩定化活化素IIB受體多肽，其中多肽係選自由以下組成之群：具有由SEQ ID NO: 4、6、12及14組成之群中所示序列的多肽。此等多肽代表SEQ ID NO: 2之胺基酸25至134，其中多肽具有位置28之胺基酸取代及位置44之胺基酸取代，其中位置28之取代係選自W或Y，且位置44之取代為T，且其中多肽能夠結合肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11，具有及不具有不同於SEQ ID NO: 2中所示的信號序列。在另一個實施例中，蛋白質包含與SEQ ID NO: 4、6、12或14具有至少80-100%、90-100%、85-95%、90-95%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性的多肽，視情況其中多肽在位置28具有W或Y且在位置44具有T，且其中多肽能夠結合肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11。在一個實施例中，位置28之取代為W且位置44之取代為T，其中多肽能夠結合肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11。

在另一實施例中，svActRIIB蛋白質進一步包含異質蛋白質。在一個實施例中，異質蛋白質為Fc域。在另一實施例中，Fc域為人類IgG Fc域。在一個實施例中，蛋白質包含具有由SEQ ID NO: 8、10、16及18組成之群中所示序列的多肽。在另一個實施例中，蛋白質包含與SEQ ID NO: 8、10、16或18中所示之序列具有至少80-100%、90-

100%、85-95%、90-95%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性的多肽，視情況其中多肽在位置28具有W或Y且在位置44具有T，且其中多肽能夠結合肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11。在一個實施例中，位置28之取代為W且位置44之取代為T，其中多肽能夠結合肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11。在某些態樣中，蛋白質包含或其組成為SEQ ID NO: 10中所示的序列。在某些態樣中，序列發生糖基化。

在另一實施例中，svActRIIB蛋白質為實例中所述之STM 434。

在另一實施例中，蛋白質包含上述多肽中之任一者，其中位置64之胺基酸殘基為丙胺酸。

在另一個實施例中，術語svActRIIB多肽及蛋白質涵蓋包含SEQ ID NO: 2、4、6、12及14之片段(包括N及C末端截短)的蛋白質，其中位置28為W或Y，且位置44為T，且其中多肽能夠結合肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11。

如本文所用，術語svActRIIB多肽之「衍生物」係指連接至少一種其他化學部分或至少一種其他多肽而形成共價或聚集體結合物，諸如糖基、脂質、乙醯基，或C末端或N末端融合多肽；與PEG分子結合；及下文更充分描述的其他修飾。穩定化ActRIIB受體多肽亦可包括其他修飾及衍生物，包括由於在不同類型細胞(諸如哺乳動物細胞、大腸桿菌、酵母及其他重組宿主細胞)表現而由加工產生的C及N末端修飾。

svActRIIB蛋白質可進一步包含直接或經由連接子連接至svActRIIB多肽的異質多肽以形成融合蛋白。如本文所用，術語「融合蛋白」係指異質多肽與另一多肽(諸如svActRIIB)連接的蛋白質。異質多肽包括(但不限於)Fc多肽、his標記及白胺酸拉鏈域以促進穩定化ActRIIB多肽之寡聚及進一步穩定化，如例如WO 00/29581中所述，

該文獻以引用的方式併入本文中。在一個實施例中，異質多肽為Fc多肽或域。在一個實施例中，Fc域係選自人類IgG1 Fc(SEQ ID NO: 23)、經修飾的IgG1 Fc、IgG2 Fc(SEQ ID NO: 22)及IgG4 Fc(SEQ ID NO: 24)域。SvActRIIB蛋白質可進一步包含IgG1、IgG2或IgG4之鉸鏈序列的全部或一部分。例示性svActRIIB多肽係選自由如SEQ ID NO: 8、10、16及18中所示序列組成的多肽，以及與此等序列具有實質性相似度的彼等多肽，其中位置28及44之取代予以保留。如本文所用，「實質性相似度」係指與SEQ ID NO: 8、10、16及18中之任一者至少80-100%、90-100%、85-95%、90-95%、80%一致、85%一致、90%一致、95%一致、96%一致、97%一致、98%一致、99%一致的序列，其中多肽保留位置28之W或Y及位置44之T，且其中多肽能夠結合肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11。在一個實施例中，位置28之取代為W且位置44之取代為T，其中多肽能夠結合肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11。

svActRIIB多肽可視情況進一步包含「連接子」。連接子主要用作多肽與第二異質多肽或其他類型融合物之間或兩種或超過兩種穩定化ActRIIB多肽之間的間隔子。在一個實施例中，連接子係由經肽鍵連接在一起的胺基酸組成，較佳由經肽鍵連接的1至20個胺基酸組成，其中胺基酸係選自20種天然存在之胺基酸。此等胺基酸中之一或多者可經糖基化，如熟習此項技術者所瞭解。在一個實施例中，1至20種胺基酸可選自甘胺酸、丙胺酸、脯胺酸、天冬醯胺、麩醯胺酸及離胺酸。在一個實施例中，連接子由大部分無空間位阻之胺基酸(諸如甘胺酸及丙胺酸)組成。例示性連接子為聚甘胺酸，特定言之，(Gly)₅ (SEQ ID NO: 51)、(Gly)₈ (SEQ ID NO: 52)、聚(Gly-Ala)及聚丙胺酸。一種例示性適合連接子為(Gly)₄Ser (SEQ ID NO: 25)。在另一實施例中，svActRIIB可包含「鉸鏈連接子」，其為鄰近於IgG之鉸鏈區或部

分鉸鏈區提供的連接子序列，如SEQ ID NO: 27中所說明。鉸鏈序列包括IgG2Fc、IgG1Fc及IgG4Fc。

鉸鏈連接子序列亦可經設計以改良svActRIIB-Fc蛋白質的可製造性及穩定性。在一個實施例中，SEQ ID NO: 27、38、40、42、44、45及46之鉸鏈連接子經設計以改良IgG2 Fc(SEQ ID NO: 22)當連接至svActRIIB多肽時之可製造性。在一個實施例中，鉸鏈連接子序列經設計以便在svActRIIB多肽連接至人類IgG1 Fc(SEQ ID NO: 23)或經修飾之人類IgG1 Fc時改良可製造性。

連接子亦可為非肽連接子。舉例而言，可使用烷基連接子，諸如-NH-(CH₂)_s-C(O)-，其中s=2-20。此等烷基連接子可進一步經任何無空間位阻的基團取代，諸如低碳數烷基(例如C₁-C₆)、低碳數醯基、鹵素(例如Cl、Br)、CN、NH₂、苯基等。

本文揭示的svActRIIB多肽亦可連接至非多肽分子，用於賦予svActRIIB多肽所要特性之目的，諸如減少降解及/或延長半衰期、降低毒性、降低免疫原性及/或增強生物活性。例示性分子包括(但不限於)線性聚合物，諸如聚乙二醇(PEG)、聚離胺酸、聚葡萄糖、脂質、膽固醇族群(諸如類固醇)；碳水化合物，或寡醣分子。

svActRIIB蛋白質及多肽相較於其他ActRIIB可溶性多肽可具有改良的可製造性特性。如本文所使用，術語「可製造性」係指特定蛋白質在該蛋白質之重組表現及純化期間的穩定性。可製造性感信歸因於分子在表現及純化之條件下的固有特性。改良之可製造性特徵之實例包括蛋白質之均一糖基化、增加之細胞效價、在蛋白質之重組產生期間的生長及蛋白質表現、改良之純化特性，及在低pH下改良的穩定性。相較於其他可溶性ActRIIB多肽，svActRIIB蛋白質及多肽展現改良的可製造性，以及活體外及活體內活性之保持。另外，其他鉸鏈連接子序列可帶來其他可製造性益處。

如本文所用，術語「svActRIIB多肽活性」或「可溶性ActRIIB多肽之生物活性」係指svActRIIB多肽的一或多種活體外或活體內活性。svActRIIB多肽活性包括(但不限於)結合至肌肉生長抑制素或活化素A或GDF-11的能力，及抑制或中和肌肉生長抑制素或活化素A或GDF-11之活性的能力。如本文所使用，術語「能夠結合」至肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11係指如藉由此項技術中已知之方法量測的結合，諸如KinExA™方法。肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11之活體外抑制可使用例如基於pMARE C2C12細胞的分析進行量測。活體內活性係依據小鼠模型之瘦肌肉質量增加來證明。svActRIIB多肽及蛋白質之活體內活性包括(但不限於)體重增加、瘦肌肉質量增加，及瘦肌肉相對於脂肪質量之比率增加。治療活性進一步包括減輕或預防因某些腫瘤類型所致的惡病質、預防某些腫瘤類型的生長，及提高某些動物模型之存活率。下文提供svActRIIB蛋白質及多肽活性之進一步論述。

在另一態樣中，提供包含編碼svActRIIB多肽之聚核苷酸的經分離核酸分子。

在一個實施例中，聚核苷酸編碼具有SEQ ID NO: 2中所示序列的多肽，但在位置28具有胺基酸取代且在位置44具有胺基酸取代，其中位置28之取代係選自W或Y，且位置44之取代為T。在另一個實施例中，聚核苷酸編碼具有SEQ ID NO: 2之胺基酸19直至134中所示序列的多肽，但在位置28具有胺基酸取代且在位置44具有胺基酸取代，其中位置28之取代係選自W或Y，且位置44之取代為T。在另一個實施例中，聚核苷酸編碼具有SEQ ID NO: 2之胺基酸23直至134中所示序列的多肽，但在位置28具有胺基酸取代且在位置44具有胺基酸取代，其中位置28之取代係選自W或Y，且位置44之取代為T。在另一個實施例中，聚核苷酸編碼具有SEQ ID NO: 2之胺基酸25直至134中所示

序列的多肽，但在位置28具有胺基酸取代且在位置44具有胺基酸取代，其中位置28之取代係選自W或Y，且位置44之取代為T。在另一個實施例中，聚核苷酸編碼具有與上述多肽中之任一者至少80-100%、90-100%、85-95%、90-95%、80%、85%、90%、95%、98%或99%一致之胺基酸序列的多肽，其中多肽具有位置28之單一胺基酸取代及位置44之胺基酸取代，視情況其中位置28之取代係選自W或Y，且位置44之取代為T，且其中多肽能夠結合肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11。在一個實施例中，上述實施例之聚核苷酸編碼其中位置28之取代為W且位置44之取代為T的多肽。

在一個實施例中，經分離核酸分子包含編碼多肽的聚核苷酸，該多肽具有由SEQ ID NO: 4、6、12及14組成之群中所示序列。在另一個實施例中，核酸包含編碼多肽的聚核苷酸，該多肽與SEQ ID NO: 4、6、12或14具有至少80-100%、90-100%、85-95%、90-95%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性，視情況其中該多肽具有位置28之W或Y及位置44之T，且其中多肽能夠結合活化素A、GDF-11或肌肉生長抑制素。在一個實施例中，上述實施例之聚核苷酸編碼其中位置28之取代為W且位置44之取代為T的多肽，其中多肽能夠結合活化素A、GDF-11或肌肉生長抑制素。

在另一個實施例中，經分離核酸分子進一步包含編碼至少一種異質蛋白質的聚核苷酸。在一個實施例中，異質蛋白質為Fc域；在另一實施例中，Fc域為人類IgG Fc域。在另一個實施例中，核酸分子進一步包含編碼例如SEQ ID NO: 25、27中所示之連接子及鉸鏈連接子的聚核苷酸。

在一個實施例中，核酸分子包含編碼多肽的聚核苷酸，該多肽由列舉於由SEQ ID NO: 8、10、16及18組成之群的序列組成。在另一個實施例中，核酸包含編碼多肽的聚核苷酸，該多肽與由SEQ ID

NO: 8、10、16及18組成之群具有至少80-100%、90-100%、85-95%、90-95%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%序列一致性，視情況其中多肽具有位置28之W或Y及位置44之T，且其中多肽能夠結合活化素A、GDF-11或肌肉生長抑制素。在一個實施例中，上述實施例之聚核苷酸編碼其中位置28之取代為W且位置44之取代為T的多肽，其中多肽能夠結合肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11。

在一個實施例中，經分離核酸分子包含具有選自由SEQ ID NO: 3、5、11或13組成之群之序列的聚核苷酸，或其補體。在另一個實施例中，經分離核酸分子包含具有選自由序列SEQ ID NO: 7、9、15及17組成之群之序列的聚核苷酸，或其補體。在另一實施例中，經分離核酸分子在嚴格或中等條件下與SEQ ID NO: 3、5、7、9、11、13、15或17雜交，其中經編碼之多肽與SEQ ID NO: 4、6、8、10、12、14、16或18實質上相似，視情況其中多肽包含具有位置28之W或Y及位置44之T的胺基酸序列，且其中經編碼之多肽能夠結合或抑制活化素A、肌肉生長抑制素或GDF-11。

核酸分子包括DNA的單股形式與雙股形式，以及其RNA互補序列。DNA包括例如cDNA、基因組DNA、合成DNA、藉由PCR擴增的DNA，及其組合。基因組DNA可藉由習知技術分離，諸如使用SEQ ID NO: 3、5、11或13之DNA或其適合片段作為探針。編碼ActRIIB多肽的基因組DNA獲自可用於多種物種的基因組文庫。合成DNA如下獲得：化學合成重疊寡核苷酸片段，隨後組裝片段以重建編碼區及側接序列的一部分或全部。RNA可獲自導引mRNA高量合成的原核生物表現載體，諸如使用T7啟動子及RNA聚合酶的載體。cDNA獲自利用自表現ActRIIB之各種組織分離之mRNA所製備的文庫。DNA分子包括全長基因以及聚核苷酸及其片段。全長基因亦可包括編碼N末端信號序列的序列。

亦提供上述核酸分子，其中聚核苷酸可操作地連接至轉錄或轉譯調節序列。

在另一態樣中，亦提供含有核酸分子及聚核苷酸的表現載體，且亦提供經此等載體轉型的宿主細胞，及產生svActRIIB多肽的方法。術語「表現載體」係指用於表現來自聚核苷酸序列之多肽的質體、噬菌體、病毒或載體。用於表現svActRIIB多肽的載體至少含有為載體擴增及表現所選殖插入所必需的序列。表現載體包含轉錄單元，該轉錄單元包含(1)對基因表現具有調節作用的基因元件，例如啟動子或增強子；(2)編碼svActRIIB多肽及蛋白質的序列，以轉錄成mRNA且轉譯成蛋白質；及(3)適當的轉錄起始及終止序列。此等序列可進一步包括選擇標記。適於宿主細胞中表現的載體容易獲得且核酸分子係使用標準重組DNA技術插入載體中。此等載體可包括在特定組織中發揮作用的啟動子，及用於在所靶向人類或動物細胞中表現svActRIIB多肽的病毒載體。適於表現svActRIIB的例示性表現載體為含有svActRIIB聚核苷酸的pDSRa(描述於WO 90/14363中，該文獻以引用的方式併入本文中)及其衍生物，以及此項技術中已知或下文描述的任何其他適合載體。

多肽

在一些實施例中，本文揭示的組合物包括與本文所揭示之胺基酸序列的一致性小於100%的多肽。在一些實施例中，多肽與本文所揭示之序列的一致性為80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或在99%與100%之間相同。

在兩個或超過兩個胺基酸或核酸序列之情形下，術語「一致性百分比」係指當根據最大一致性進行比較且比對時，兩個或超過兩個序列或子序列具有指定百分比之相同核苷酸或胺基酸殘基，如使用下述序列比較算法之一(例如BLASTP及BLASTN或熟悉此項技術者可獲

得之其他算法)或藉由目測所量測。視應用而定，一致性百分比可存在於所比較之序列區域，例如功能域，或者可替代地存在於待比較之兩個序列的全長上。

序列比較時，典型地，一個序列充當待與測試序列比較之參考序列。使用序列比較算法時，將測試及參考序列輸入電腦，必要時指定子序列座標，且指定序列算法程式參數。接著，序列比較算法根據所指定之程式參數來計算測試序列相對於參考序列之序列一致性百分比。

比較序列之最佳比對可例如藉由以下進行：Smith及Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482 (1981)之局部同源性算法；Needleman及Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970)之同源性比對算法；Pearson及Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988)之相似性搜尋方法；此等算法之電腦化實施方式(Wisconsin Genetics套裝軟體中的GAP、BESTFIT、FASTA及TFASTA，Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.)；或目視檢查(一般參見Ausubel等人，見下文)。

適於測定序列一致性百分比及序列相似性之算法之一個實例為BLAST演算法，其描述於Altschul等人，J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990)中。用於進行BLAST分析之軟體可經由國家生物技術資訊中心(National Center for Biotechnology Information) (www.ncbi.nlm.nih.gov/)公開獲得。

變異體

本文所述之組合物亦包含本文所述之多肽的變異體。如本文所使用，術語「變異體」係指一或多個胺基酸殘基插入、缺失或取代至原始胺基酸序列中且保留本文所述之多肽功能之至少一部分的多肽。如本文所用，「變異體」之定義內包括多肽片段。應瞭解，任何指定

的肽或肽體可含有一種或兩種或全部三種類型的變異體。插入型及取代型變異體可含有天然胺基酸以及含有非天然存在之胺基酸或兩者。變異體可包括例如含有前導序列或信號序列之多肽；具有其他胺基末端殘基(例如Met¹或Lys²)的多肽；具有表現標記(例如組胺酸標記)的多肽；及以融合蛋白形式表現之多肽。

本文所述之多肽變異體可包括胺基酸取代。20種習知(天然存在)之胺基酸之立體異構體(例如D-胺基酸)、非天然存在之胺基酸(諸如 α -, α -二取代胺基酸)、N-烷基胺基酸、乳酸及其他非習知胺基酸亦可為本發明之多肽的適合組分。非天然存在之胺基酸之實例包括例如：胺基己二酸、 β -丙胺酸、 β -胺基丙酸、胺基丁酸、哌啶酸、胺基己酸、胺基庚酸、胺基異丁酸、胺基庚二酸、二胺基丁酸、鎖鏈素(desmosine)、二胺基庚二酸、二胺基丙酸、N-乙基甘胺酸、N-乙基天冬醯胺、羥基離胺酸、別羥基離胺酸、羥基脯胺酸、異鎖鏈素、別異白胺酸、N-甲基甘胺酸、肌胺酸、N-甲基異白胺酸、N-甲基纈胺酸、正纈胺酸、正白胺酸、鳥胺酸、4-羥基脯胺酸、 γ -羧基麩胺酸、 ϵ -N,N,N-三甲基離胺酸、 ϵ -N-乙醯基離胺酸、O-磷絲胺酸、N-乙醯基絲胺酸、N-甲醯甲硫胺酸、3-甲基組胺酸、5-羥基離胺酸、 σ -N-甲基精胺酸，及其他類似胺基酸及胺基酸(例如4-羥基脯胺酸)。

天然存在之殘基可根據共同的側鏈特性分類(重疊)：

- 1) 中性疏水性：Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Trp、Met、Phe；
- 2) 中性極性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln、Tyr、Gly；
- 3) 酸性：Asp、Glu；
- 4) 鹼性：His、Lys、Arg；
- 5) 影響鏈取向之殘基：Gly、Pro；及
- 6) 芳族：Trp、Tyr、Phe。

經天然存在之胺基酸取代可為保守的或非保守的。保守性胺基酸取代包括用上述類別之一的一員交換同類別之其他成員。保守性變化可涵蓋非習知胺基酸殘基，其典型地藉由化學肽合成而非藉由在生物系統中合成來併入。此等非習知胺基酸殘基包括肽模擬物及胺基酸部分之其他逆轉或反轉形式。

製備方法

亦提供製備svActRIIB多肽的方法。可使用多種其他表現/宿主系統。此等系統包括(但不限於)微生物，諸如經重組噬菌體、質體或黏質體DNA表現載體轉型的細菌；經酵母表現載體轉型的酵母；感染有病毒表現載體(例如桿狀病毒)的昆蟲細胞；經病毒表現載體(例如花椰菜花葉病毒，CaMV；菸草花葉病毒，TMV)轉染或經細菌表現載體(例如Ti或pBR322質體)轉型的植物細胞系統；或動物細胞系統。適用於產生重組蛋白質的哺乳動物細胞包括(但不限於)VERO細胞、海拉細胞(HeLa cells)；中國倉鼠卵巢(CHO)細胞株，或其衍生物，諸如生長於無血清培養基中的Veggie CHO及相關細胞株(參見Rasmussen等人，1998, Cytotechnology 28: 31)或缺乏DHFR的CHO株系DX-B11(參見Urlaub等人，1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216-20)；COS細胞，諸如猴腎細胞之COS-7細胞株(ATCC CRL 1651)(參見Gluzman等人，1981, Cell 23:175)、W138、BHK、HepG2、3T3(ATCC CCL 163)、RIN、MDCK、A549、PC12、K562、L細胞、C127細胞、BHK(ATCC CRL 10)細胞株、衍生自非洲綠猴腎細胞株CV1的CV1/EBNA細胞株(ATCC CCL 70)(參見McMahan等人，1991, EMBO J. 10:2821)；人類胚腎細胞，諸如293、293 EBNA或MSR 293；人類表皮A431細胞；人類Colo205細胞；其他經轉型之靈長類動物細胞株；正常二倍體細胞；初始組織、初始外植體之活體外培養所產生的細胞株；HL-60、U937、HaK或傑卡特細胞(Jurkat cells)。哺乳動物表現允

許產生可自生長培養基中回收的分泌性或可溶性多肽。

使用適當的宿主載體系統，藉由在允許產生的條件下培養經含有核酸分子之表現載體轉型的宿主細胞來重組產生svActRIIB多肽。可使用經轉型的細胞進行長期高產量多肽製備。一旦此等細胞經含有可選標記以及所要表現卡匣的載體轉型，則可允許細胞在所富集培養基中生長，隨後將所富集培養基交換為例如選擇性培養基。可選標記經設計以允許成功表現所引入序列之細胞生長及回收。穩定轉型之細胞的抗凝塊可使用適於所用細胞株之組織培養技術增殖。重組蛋白質表現之概述見於Methods of Enzymology, 185版, Goeddel, D.V., 編, Academic Press (1990)。

在一些情況下，諸如在使用原核生物系統表現時，所表現的多肽可能需要「再摺疊」及氧化成適當的三級結構及產生二硫鍵以便具生物活性。再摺疊可使用此項技術中熟知的多種程序完成。此等方法包括例如使所溶解多肽在離液劑存在下暴露於通常高於7的pH。離液劑之選擇類似於包涵體增溶所用之選擇，然而離液劑典型地在較低濃度下使用。例示性離液劑為胍及尿素。在大多數情況下，再摺疊/氧化溶液亦將含有特定比率的還原劑及其氧化形式以產生特定氧化還原電位，從而允許發生二硫鍵改組以便形成半胱胺酸橋。一些常用氧化還原對包括半胱胺酸/胱胺、麩胱甘肽/二硫基雙GSH、氯化銅、二硫蘇糖醇DTT/二噻烷DTT，及2-巯基乙醇(bME)/二硫基-bME。在許多情況下，可使用共溶劑提高再摺疊效率。常用的共溶劑包括丙三醇、各種分子量之聚乙二醇，及精胺酸。

另外，多肽可根據習知技術、在溶液中或在固體載體上合成。多種自動合成器可市購且可根據已知方案使用。參見例如Stewart及Young, Solid Phase Peptide Synthesis, 第2版, Pierce Chemical Co. (1984)；Tam等人, J Am Chem Soc, 105:6442, (1983)；Merrifield,

Science 232:341-347 (1986)；Barany及Merrifield, **The Peptides**, Gross及Meienhofer編, Academic Press, New York, 1-284；Barany等人, Int J Pep Protein Res, 30:705-739 (1987)。

多肽及蛋白質可根據熟習此項技術者熟知的蛋白質純化技術加以純化。此等技術包括在一種層面下對蛋白質及非蛋白質溶離份進行大致的分離。在肽、多肽與其他蛋白質已分離的情況下，可使用層析及電泳技術進一步純化所關注之肽或多肽以達成部分或完全純化(或純化至均質)。如本文所用，術語「分離多肽」或「純化多肽」意指可與其他組分分離的組合物，其中多肽相對於其天然可獲得狀態而言純化至任何程度。因此純化多肽亦指脫離其可天然存在於其中之環境的多肽。一般而言，「純化」係指已進行分離以移除多種其他組分的多肽組合物，該組合物實質上保持其所表現的生物活性。在使用術語「實質上純化」的情況下，此命名係指一種肽或多肽組合物，其中多肽或肽形成組合物之主要組分，諸如蛋白質在組合物中佔約50%、約60%、約70%、約80%、約85%或約90%或超過90%。術語分離可包括合成組分，諸如多肽。

適用於純化的多種技術將為熟習此項技術者所熟知。此等技術包括例如用硫酸銨進行沈澱、PEG、抗體(免疫沈澱)等；或進行熱變性、隨後離心；層析，諸如親和層析(蛋白質A管柱)、離子交換、凝膠過濾、逆相、羧基灰石、疏水性相互作用層析；等電聚焦；凝膠電泳；及此等技術之組合。如此項技術中通常所知，咸信執行多個純化步驟之次序可改變，或可省略某些步驟，且仍不失為適用於製備實質上經純化之多肽的方法。例示性純化步驟提供於下文實例中。

熟習此項技術者根據本發明將獲知用於量化多肽之純化程度的多種方法。此等方法包括例如測定活性溶離份的特異性結合活性，或藉由SDS/PAGE分析來評估溶離份內的肽或多肽量。用於評估多肽溶

離份之純度的較佳方法為計算溶離份之結合活性，將其與初始萃取物之結合活性進行比較且由此計算純化程度，如本文中藉由「純化倍數」所評估。用於表示結合活性之量的實際單位當然取決於為追蹤純化所選擇的特定分析技術及多肽或肽是否展現可偵測的結合活性。

治療方法

亦提供用於活體內及活體外降低或中和肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11中之至少一者之量或活性的方法、蛋白質及組合物。svActRIIB多肽對於肌肉生長抑制素、活化素A及GDF-11具有高結合親和力，且能夠降低且抑制肌肉生長抑制素、活化素A及GDF-11中之至少一者的生物活性。在一些態樣中，蛋白質為抗體或Fc融合蛋白。在一些態樣中，Fc融合蛋白為ActRIIB Fc融合蛋白。在一些態樣中，ActRIIB Fc融合蛋白包含與SEQ ID NO: 2之胺基酸19-25、19、20、21、22、23、24或25直至130-134、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134中所示序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性的序列，視情況其中Fc為IgG，視情況其中IgG為人類IgG。在一些態樣中，ActRIIB Fc融合蛋白包含或其組成為SEQ ID NO: 6或SEQ ID NO: 10中所示序列。在一些態樣中，蛋白質抑制活化素、肌肉生長抑制素及GDF-11中之至少兩者。在一些態樣中，蛋白質抑制活化素、肌肉生長抑制素及GDF-11。在一些態樣中，蛋白質抑制活化素。

在一個態樣中，提供用於治療需要此治療之個體之肌肉生長抑制素相關病症及/或活化素A相關病症的方法及試劑，其係藉由向該個體投與有效劑量的svActRIIB組合物。如本文所用，術語「個體」係指任何動物，諸如哺乳動物，包括人類。

該等組合物適用於增加個體之瘦肌肉質量。該等組合物亦可適用於增加瘦肌肉質量相對於脂肪質量的比例，且因此降低脂肪質量佔

個體體重之百分比。

可藉由svActRIIB治療的病症包括(但不限於)多種形式的肌肉萎縮，以及代謝障礙，諸如糖尿病及相關病症，以及骨骼退化性疾病，諸如骨質疏鬆。

肌肉萎縮病症亦包括營養不良，諸如杜興氏肌肉萎縮症(Duchenne's muscular dystrophy)、進行性肌肉萎縮症、貝克型肌肉萎縮症(Becker's type muscular dystrophy)、德傑林-郎都茲肌肉萎縮症(Dejerine-Landouzy muscular dystrophy)、厄伯氏肌肉萎縮症(Erb's muscular dystrophy)以及嬰兒神經軸索性肌肉萎縮症。其他肌肉萎縮病症來源於慢性疾病或病症，諸如肌肉萎縮性側索硬化、充血阻塞性肺病、癌症、AIDS、腎衰竭、器官萎縮、雄性激素去除及類風濕性關節炎。

肌肉生長抑制素及/或活化素之過度表現可導致惡病質(一種重度肌肉萎縮症候群)。惡病質由癌症產生且亦因類風濕性關節炎、糖尿病性腎病變、腎衰竭、化學療法、燒傷所致損傷以及其他原因而產生。在另一實例中，發現血清及肌肉內之肌肉生長抑制素免疫反應性蛋白質濃度在呈現AIDS相關性肌肉萎縮的男性中增加且與無脂肪質量逆相關(Gonzalez-Cadavid等人，PNAS USA 95:14938-14943(1998))。亦已顯示作為對燒傷損傷的反應，肌肉生長抑制素含量增加，導致分解代謝型肌肉作用(Lang等人，FASEB J 15, 1807-1809(2001))。導致肌肉萎縮的其他病狀可起因於因失能所致的不活動(諸如輪椅限制)；因中風、疾病、脊索損傷、骨折或外傷所致之臥床休養延長；及微重力環境(太空飛行)下之肌肉萎縮。舉例而言，在臥床休養延長之後發現血漿肌肉生長抑制素免疫反應性蛋白質增加(Zachwieja等人，J Gravit Physiol. 6(2):11(1999))。亦發現，相較於未暴露之大鼠肌肉，在太空船飛行期間暴露於微重力環境之大鼠的肌肉顯

示肌肉生長抑制素量增加(Lalani等人, J. Endocrin 167(3):417-28 (2000))。

另外，脂肪與肌肉比率的年齡相關性增加，及年齡相關性肌肉萎縮似乎與肌肉生長抑制素相關。舉例而言，在年輕(19至35歲)、中年(36至75歲)及老年(76至92歲)男性及女性族群中，平均的血清肌肉生長抑制素免疫反應性蛋白質隨著年齡增長而增加，而此等族群中的平均肌肉質量及無脂肪質量隨著年齡增長而下降(Yarasheski等人, J Nutr Aging 6(5):343-8 (2002))。另外，現已發現肌肉生長抑制素在心肌中表現量較低且在梗塞之後，心肌細胞中的表現上調(Sharma等人, J Cell Physiol. 180(1):1-9 (1999))。因此，降低心肌中的肌肉生長抑制素含量可使梗塞之後的心肌恢復改善。

肌肉生長抑制素似乎亦影響代謝障礙，包括2型糖尿病、非胰島素依賴性糖尿病、高血糖症及肥胖。舉例而言，缺乏肌肉生長抑制素已顯示可改善兩個小鼠模型之肥胖及糖尿病表現型(Yen等人, FASEB J. 8:479 (1994))。本發明之svActRIIB多肽適用於治療此等代謝障礙。因此，投與組合物將改善適合個體之糖尿病\肥胖及高血糖病狀。另外，含有svActRIIB多肽的組合物可降低肥胖個體的攝食量。

投與穩定化ActRIIB多肽可提高骨骼強度且減少骨質疏鬆及其他退化性骨骼疾病。舉例而言，已發現，缺乏肌肉生長抑制素的小鼠顯示，在肌肉附著之區域處，小鼠肱骨之礦物質含量及密度增加及小樑骨與皮層骨之礦物質含量均增加，且肌肉質量增加(Hamrick等人, Calcif Tissue Int 71(1):63-8 (2002))。另外，在諸如用於治療例如前列腺癌之雄性激素去除療法的情況下，svActRIIBs可用於治療雄性激素去除的影響。

亦提供用於增加食用動物之肌肉質量的方法及組合物，其係藉由向該動物投與有效劑量的svActRIIB蛋白質來達成。由於成熟C末端

肌肉生長抑制素多肽在所測試的全部物種中類似或相同，因此預期 svActRIIB 多肽將會有效地增加任何農業上重要之物種(包括牛、雞、火雞及豬)的瘦肌肉質量及減少其脂肪。

在一些態樣中，本文揭示治療個體之肥胖或肥胖相關性疾病、增加其肌肉質量或減少其脂肪質量的方法，包含：向該個體投與有效劑量的抑制活化素、肌肉生長抑制素及 GDF-11 中之至少一者的蛋白質。

在一些態樣中，肥胖相關性疾病為以下中之至少一者：遺傳性肥胖症候群、普拉德威利症候群、下丘腦病症、家族性高膽固醇血症、巴德-畢德氏症候群、普拉德-威利症候群、15q11-13 上之印記基因缺失所致的症候群、艾爾斯通症候群、柯亨症候群、艾爾伯拉特遺傳性骨營養不良(假副甲狀腺低能症)、卡本特症候群、MOMO 症候群、魯賓斯坦-泰必症候群；6q16、1p36、2q37 及 9q34 中之至少一者缺失所致的症候群；染色體 14 之母源單親雙染色體症、脆弱 X 染色體症候群、動脈粥樣硬化、非酒精性脂肪肝、內臟脂肪沈積導致一或多種有害結果的疾病、腦血管疾病、脂肪肝及伯吉森-佛斯曼-萊曼症候群。

在一些態樣中，個體為需要治療或投藥的人類個體。在一些態樣中，個體患有以下中之至少一者：遺傳性肥胖症候群、普拉德威利症候群、下丘腦病症、家族性高膽固醇血症、巴德-畢德氏症候群、普拉德-威利症候群、15q11-13 上之印記基因缺失所致的症候群、艾爾斯通症候群、柯亨症候群、艾爾伯拉特遺傳性骨營養不良(假副甲狀腺低能症)、卡本特症候群、MOMO 症候群、魯賓斯坦-泰必症候群；6q16、1p36、2q37 及 9q34 中之至少一者缺失所致的症候群；染色體 14 之母源單親雙染色體症、脆弱 X 染色體症候群、動脈粥樣硬化、非酒精性脂肪肝、內臟脂肪沈積導致一或多種有害結果的疾病、腦血

管疾病、脂肪肝及伯吉森-佛斯曼-萊曼症候群。在一些態樣中，個體患有胰島素抗性、慢性腎病、癌症及分解代謝病狀中之至少一者。

在一些態樣中，蛋白質為抗體或Fc融合蛋白。在一些態樣中，Fc融合蛋白為ActRIIB Fc融合蛋白。在一些態樣中，ActRIIB Fc融合蛋白包含與SEQ ID NO: 2之胺基酸19-25、19、20、21、22、23、24或25直至130-134、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134中所示序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性的序列，視情況其中Fc為IgG，視情況其中IgG為人類IgG。在一些態樣中，ActRIIB Fc融合蛋白包含或其組成為SEQ ID NO: 6或SEQ ID NO:10中所示序列。在一些態樣中，蛋白質抑制活化素、肌肉生長抑制素及GDF-11中之至少兩者。在一些態樣中，蛋白質抑制活化素、肌肉生長抑制素及GDF-11。在一些態樣中，蛋白質抑制活化素。

在一些態樣中，本文揭示的方法降低總脂肪質量、皮下脂肪質量及內臟脂肪質量中之至少一者。在一些態樣中，本文揭示的方法使得內臟脂肪質量之降低百分比大於總脂肪質量之降低百分比。在一些態樣中，本文揭示的方法增加瘦體質量及四肢瘦體質量中之至少一者。在一些態樣中，本文揭示的方法使得瘦體質量及四肢瘦體質量中之至少一者增加至少1-50%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%或超過50%。在一些態樣中，本文揭示的方法使得總脂肪質量、皮下脂肪質量及內臟脂肪質量中之至少一者降低至少1-99%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或超過99%。

svActRIIB多肽及組合物亦拮抗活化素A之活性，如下文活體外

分析中所示。活化素A已知表現於某些類型的癌症中，特定言之，性腺腫瘤，諸如卵巢癌，且導致重度惡病質。(Ciprano等人, *Endocrinol* 141 (7):2319-27 (2000)；Shou等人, *Endocrinol* 138 (11):5000-5 (1997)；Coerver等人, *Mol Endocrinol* 10(5):534-43 (1996)；Ito等人, *British J Cancer* 82(8):1415-20 (2000)；Lambert-Messerlian等人, *Gynecologic Oncology* 74:93-7 (1999)。因此，本發明之組合物可用於治療與活化素A過度表現以及肌肉生長抑制素表現相關的病狀，諸如某些癌症所致的惡病質，及治療某些性腺型腫瘤。

另外，svActRIIB多肽適用於在多種分析中偵測及定量肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11。一般而言，穩定化ActRIIB多肽在多種分析中作為捕捉劑用於結合及固定肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11，類似於例如以下文獻中所述之彼等內容：Asai編, *Methods in Cell Biology*, 37, **Antibodies in Cell Biology**, Academic Press, Inc., New York (1993)。多肽可以一些方式標記或可與第三種分子反應，諸如經標記以使得肌肉生長抑制素能夠被偵測及定量的抗體。舉例而言，多肽或第三種分子可經修飾而具有可偵測部分，諸如生物素，其接著可被第四種分子(諸如酶標記的抗生蛋白鏈菌素，或其他蛋白質)結合。(Akerstrom, *J Immunol* 135:2589 (1985)；Chaubert, *Mod Pathol* 10:585 (1997))。

在一些態樣中，本發明之組合物可用於治療諸如實體腫瘤之癌症。術語「癌症」及「癌性」係指或描述哺乳動物中典型地以不受調節之細胞生長為特徵的生理病狀。癌症之實例包括(但不限於)癌瘤、淋巴瘤、母細胞瘤(包括神經管胚細胞瘤及視網膜母細胞瘤)、肉瘤(包括脂肪肉瘤及滑膜細胞肉瘤)、神經內分泌腫瘤(包括類癌瘤、胃泌素瘤及胰島細胞癌)、間皮瘤、神經鞘瘤(包括聽神經瘤)、腦膜瘤、腺癌、黑色素瘤，及白血病或淋巴惡性疾病。此等癌症之更特定實例包

括鱗狀細胞癌(例如上皮鱗狀細胞癌)；肺癌，包括小細胞肺癌(SCLC)、非小細胞肺癌(NSCLC)、肺腺癌及肺鱗狀癌；腹膜癌、肝細胞癌、胃癌，包括胃腸癌；胰臟癌、神經膠母細胞瘤、子宮頸癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝癌、乳癌(包括轉移性乳癌)、結腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、子宮內膜或子宮癌、唾液腺癌、腎臟或腎癌、前列腺癌、外陰癌、甲狀腺癌、肝癌、肛門癌、陰莖、睪丸癌、食道癌、膽道腫瘤以及頭頸癌。在一些態樣中，本發明之組合物可用於治療癌症，諸如此等癌症或卵巢癌(顆粒層細胞、透明細胞、漿液性、子宮內膜樣、生殖細胞腫瘤)、頭頸癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、胰臟癌、前列腺癌、小腸腫瘤、結腸癌、腎細胞癌、腺樣囊性癌症、胃癌、食道癌、鱗狀細胞癌(皮膚)、黑色素瘤、乳癌、膀胱癌、肝細胞癌及/或子宮癌(子宮內膜、子宮頸、平滑肌瘤、外陰、陰道癌症)。

本文所述之蛋白質及多肽的使用劑量可為0.1-10、0.25-5、1-3、0.1、0.2、0.25、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.75、0.8、0.9、1、2、3、4、5或大於5 mg/kg(包括此等值)。在一些態樣中，各劑量可每小於1-10、2-9、3-8、4-7、5-6、1、1、2、3、4、5、6、7、8或大於8週(包括此等值)投與。在一些態樣中，各劑量可每小於1-10、2-9、3-8、4-7、5-6、1、1、2、3、4、5、6、7天(包括此等值)投與。在一些態樣中，各劑量係靜脈內投與。在一些態樣中，向個體投與至少1-30、5-20、5-10、10-20、15-20、1-5、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20次劑量(包括此等值)。在一些態樣中，複數個劑量中之至少一者的量為至少0.3、0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20 mg/kg(包括此等值)。在一些態樣中，複數個劑量中之每一者的量為至少0.1-30、0.25-20、0.25-10、1-5、1-3、0.1-1、0.3、0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、

17、18、19或20 mg/kg(包括此等值)。在一些態樣中，各劑量至少每日、每週或每月投與。在一些態樣中，各劑量至少每1-30、5-20、5-10、10-20、15-20、1-5、1、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或31天(包括此等值)投與。在一些態樣中，治療持續至少1-30、5-20、5-10、10-20、15-20、1-5、1、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或31天；至少1-30、5-20、5-10、10-20、15-20、1-5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20週；或至少1-30、5-20、5-10、10-20、15-20、1-5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20個月(包括此等值)。

在一些態樣中，可使用某些準則(諸如包含準則或排除準則)來選擇治療癌症的個體。

在一些態樣中，準則為包含準則。在一些態樣中，包含準則可包括： ≥ 18 歲的男性及停經後女性，存在組織學確診癌症的晚期實體腫瘤，至少一線先前標準療法(若可利用)失敗之後存在復發性轉移性或局部晚期疾病，使用實體腫瘤之反應評估標準(RECIST 1.1)可量測的疾病，東部腫瘤學合作組織(Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG)效能狀態0或1，在無其他人協助的情況下能夠行走至少30公尺(可允許使用輔助裝置，諸如手杖或助行架)，停經後女性自發性停經12個月，停經後女性自發性停經(FSH >40 IU/L)6個月，停經後女性之手術後雙側卵巢切除伴隨或不伴隨子宮切除術，先前使用基於鉑之化學療法治療，及/或有不能接受基於鉑之化學療法的記錄。

在一些態樣中，準則為排除準則。在一些態樣中，排除準則可包括：嚴重不受控制或未消退醫學病狀(諸如感染)限制方案順應性或

使個體暴露於極端風險；先前抗癌療法的毒性未消退，諸如運動或感覺神經病變，CTCAE(4.03版)級 ≥ 2 ，禿髮症除外；在開始治療6個月內胃腸出血的病史；存在QTcF >470 msec；遺傳性延長QT間隔的病史，或妨礙評估QT間隔的任何心律不整(諸如束支傳導阻滯)、心肌梗塞、第1循環之6個月第1天內出現之不穩定絞痛，或紐約心臟協會充血性心臟衰竭 $\geq$ II級；肝功能測試升高，包括總膽紅素 $>1.5\times$ 正常值上限(ULN；除非個體有文件證明吉伯氏疾病(Gilbert's disease))、天冬胺酸轉胺酶(AST)或丙胺酸轉胺酶(ALT) $>3.0\times$ ULN(對於已知有肝轉移的個體而言，AST或ALT $>5\times$ ULN)、肌酐 $>1.5\times$ ULN及估計之肌酐清除率 <60 mL/min(使用科克羅夫特-高爾特方程式(Cockcroft-Gault equation))、血紅素 <9 g/dL；血小板 $<100\times 10^9/L$ ；絕對嗜中性白血球計數(ANC) $<1.5\times 10^9/L$ (在開始治療2週內無粒細胞群落刺激因子支持)，在開始治療8週內有大手術或在開始治療4週內有小手術，當前腸阻塞，腦轉移，存在需要頻繁(每週超過1次)醫學介入的腹水或胸膜積水；存在門靜脈分流裝置或廣泛肝切除(超過一個區段)病史，已知人類免疫缺乏病毒(HIV)感染，活動性B型或C型肝炎感染，開始治療4週內先用任何研究性產品治療，生育潛力之女性，或具有生育潛力之女性伴侶之男性，不願意使用非常有效的避孕方法(亦即造成每年懷孕機率小於1%的方法)(一貫地且正確地使用時，諸如植入物、可注射劑、組合的口服避孕藥、一些子宮內避孕裝置、禁慾或伴侶輸精管結紮)；對阿黴素鹽酸鹽(doxorubicin HCl)之習知調配物或脂質體阿黴素之組分有過敏反應；先前阿黴素鹽酸鹽之累積劑量 >300 mg/m²，或先前表柔比星(epirubicin)之累積劑量 >500 mg/m²，在開始治療28天內的減小的心臟射血分數小於正常值下限(根據MUGA掃描或超音波心電圖(ECHO))，及/或正哺乳的女性。

醫藥組合物及調配物

亦提供含有本文所揭示之蛋白質及多肽的醫藥組合物。在一些態樣中，蛋白質為抗體或Fc融合蛋白。在一些態樣中，Fc融合蛋白為ActRIIB Fc融合蛋白。在一些態樣中，ActRIIB Fc融合蛋白包含與SEQ ID NO: 2之胺基酸19-25、19、20、21、22、23、24或25直至130-134、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134中所示序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性的序列，視情況其中Fc為IgG，視情況其中IgG為人類IgG。在一些態樣中，ActRIIB Fc融合蛋白包含或其組成為SEQ ID NO: 6或SEQ ID NO: 10中所示序列。在一些態樣中，蛋白質抑制活化素、肌肉生長抑制素及GDF-11中的至少兩者。在一些態樣中，蛋白質抑制活化素、肌肉生長抑制素及GDF-11。在一些態樣中，蛋白質抑制活化素。

此等組合物包含治療或預防有效量之多肽或蛋白質與醫藥學上可接受之物質及生理學上可接受之調配物質的混合物。醫藥組合物可含有用於調節、維持或保持例如組合物之pH、容積滲透濃度、黏度、透明度、顏色、等張性、氣味、無菌性、穩定性、溶解或釋放速率、吸附或滲透的調配物質。適合的調配物質包括(但不限於)胺基酸(諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、精胺酸或離胺酸)；抗菌劑；抗氧化劑(諸如抗壞血酸、亞硫酸鈉或亞硫酸氫鈉)；緩衝劑(硼酸鹽、碳酸氫鹽、Tris-HCl、檸檬酸鹽、磷酸鹽、其他有機酸)；增積劑(諸如甘露糖醇或甘胺酸)；螯合劑(諸如乙二胺四乙酸(EDTA))；錯合劑(諸如咖啡鹼(caffeine)、聚乙烯吡咯啶酮、 β -環糊精或羥基丙基- β -環糊精)；填充劑；單醣；雙醣及其他碳水化合物(諸如葡萄糖、甘露糖或糊精)；蛋白質(諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白)；著色劑；調味及稀釋劑；乳化劑；親水性聚合物(諸如聚乙烯吡咯啶酮)；低分子量多肽；成鹽相對離子(諸如鈉)；防腐劑(諸如苯紮氯銨、苯甲酸、水楊

酸、硫柳汞、苯乙醇、對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯、氯己定(chlorhexidine)、山梨酸或過氧化氫)；溶劑(諸如甘油、丙二醇或聚乙二醇)；糖醇(諸如甘露糖醇或山梨糖醇)；懸浮劑；界面活性劑或濕潤劑(諸如普朗尼克(pluronic)、PEG、脫水山梨糖醇酯、聚山梨醇酯，諸如聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80、曲拉通(triton)、緩血酸胺、卵磷脂、膽固醇、泰洛沙泊(tyloxapal))；穩定性增強劑(蔗糖或山梨糖醇)；張力增強劑(諸如鹼金屬鹵化物(較佳為氯化鈉或氯化鉀)、甘露糖醇、山梨糖醇)；遞送媒劑；稀釋劑；賦形劑及/或醫藥佐劑。(Remington's Pharmaceutical Sciences, 第18版, A.R. Gennaro編, Mack Publishing Company, 1990)。

如本文所用，術語“緩衝劑”欲意謂使液體pH(其酸性或鹼性)穩定的物質。該術語如其在本文中所用，意指具有緩衝物質(諸如酸)與其共軛鹼處於平衡狀態的溶液。適用於本文所揭示之調配物中的例示性緩衝劑包括磷酸鉀緩衝劑。本發明之緩衝劑可包括之緩衝劑的例示性鹽形式包括例如鈉、鉀、鈣、有機胺基或鎂鹽。術語「緩衝劑」如其在本文中所用，亦意欲包括除磷酸鉀緩衝劑外的所有緩衝劑，其已為熟習此項技術者所熟知且適於聯合生物藥劑(諸如治療性多肽)使用。鑒於本文提供的教示及指導，熟習此項技術者應理解，除磷酸鉀緩衝劑外的緩衝劑同樣可在本發明之調配物中經取代以維持或增強治療性多肽的穩定性。此項技術中熟知的多種緩衝組分中之任一者可用於本發明之調配物中。此等緩衝組分包括例如乙酸、麩胺酸、丁二酸、丙酸、順丁烯二酸、葡糖酸鹽、組胺酸或其他胺基酸、檸檬酸鹽、磷酸鹽，或其鹽形式。多種其他緩衝劑(包括例如其他有機酸)在此項技術中已熟知且可類似地用作本發明之調配物中的緩衝組分。鑒於本文提供的教示及指導，熟習此項技術者將瞭解到，在指定調配物之所要pH及調配物中所包括之賦形劑(若存在)的情況下，可選擇上述

緩衝組分或此項技術中熟知之其他組分中之任一者且用於本發明之調配物中。緩衝組分可以多種不同形式供應至緩衝系統。在一些態樣中，調配物可包括1-30、5-20、5-10、10-20、15-20、1-5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、19、20或大於20 mM緩衝劑(包括此等值)。

如本文所用，術語「賦形劑」欲意謂治療上的非活性物質。賦形劑可包括於調配物中用於多種目的，包括例如用作稀釋劑、媒劑、緩衝劑、穩定劑、張力劑、增積劑、界面活性劑、低溫保護劑、凍乾保護劑、抗氧化劑、金屬離子源、螯合劑及/或防腐劑。賦形劑包括例如多元醇，諸如山梨糖醇或甘露糖醇；糖，諸如蔗糖、乳糖或右旋糖；聚合物，諸如聚乙二醇；鹽，諸如NaCl、KCl或磷酸鈣；胺基酸，諸如甘胺酸、甲硫胺酸或麩胺酸；界面活性劑、金屬離子；緩衝鹽，諸如丙酸鹽、乙酸鹽或丁二酸鹽；防腐劑及多肽，諸如人類血清白蛋白；以及生理鹽水及水。本發明之特別適用賦形劑包括糖，包括糖醇、還原糖、非還原糖及糖酸。賦形劑在此項技術中已熟知且可發現描述於例如Wang W., *Int. J. Pharm.* 185:129-88 (1999)及Wang W., *Int. J. Pharm.* 203:1-60 (2000)。非還原糖含有變旋異構碳，其為縮醛且實質上不與胺基酸或多肽發生起始梅納反應(Maillard reaction)的反應。使斐林氏溶液(Fehling's solution)或托倫氏試劑(Tollen's reagent)還原的糖亦稱為還原糖。非還原糖之特定實例包括蔗糖、海藻糖、山梨糖、蔗糖素(sucralose)、松三糖(melezitose)及棉子糖(raffinose)。緩衝賦形劑例如維持液體調配物之pH直至產品儲存期限且維持凍乾調配物在凍乾過程中及復原時之pH。一般而言，賦形劑可基於其使蛋白質穩定抵抗多種化學及物理應力的機制來選擇。

如本文所述，包括某些賦形劑為有益的，以便緩解特定應力的影響或調節特異性多肽的特定敏感性。包括其他賦形劑有益的原因在

於，其對蛋白質的物理及共價穩定性具有更普遍的作用。特別適用之賦形劑包括在化學上及功能上無害或與水性緩衝劑溶液及多肽相容的彼等物以便使調配物之穩定性特性最佳化。多種此等賦形劑在本文中描述為例示性賦形劑，其展現與本發明之水性調配物的化學相容性及與此等調配物中所包括之多肽的功能相容性。熟習此項技術者將瞭解，本文中關於所說明之賦形劑提供的教示及指導同樣適用於此項技術中熟知之廣泛範圍之其他賦形劑的使用。舉例而言，為增強或賦予調配物內之多肽之穩定性所選擇的最佳賦形劑包括實質上不與多肽上之官能基反應的彼等物。就此而言，還原糖與非還原糖均可用作本發明之調配物中的賦形劑。然而，由於還原糖含有半縮醛基團，因此其可與多肽之胺基酸側鏈上的胺基發生反應且形成加成物或其他修飾(亦即糖基化)。類似地，諸如檸檬酸鹽、丁二酸鹽或組胺酸之賦形劑亦可與胺基酸側鏈形成加合物。鑒於本文所提供之教示及指導，熟習此項技術者將瞭解，增大所指定多肽之穩定性的保持力可藉由選擇非還原糖而不是還原糖或其他胺基酸反應性賦形劑(諸如上文舉例說明的彼等物)來達成。亦根據本發明之水性調配物的投藥方式來選擇可增強或提供穩定作用的最佳賦形劑。舉例而言，當調配物之所有組分在製造、儲存及投藥期間時維持物理及化學穩定性時，靜脈內(IV)、皮下(SC)或肌內(IM)非經腸投藥途徑可更安全且有效。熟習此項技術者將瞭解，在，例如特定製造或儲存條件或特定投藥方式指定的情況下，使用一或多種賦形劑維持多肽活性形式的最大穩定性。本文中舉例說明用於調配物的賦形劑展現此等及其他特徵。

用於本發明之調配物中的賦形劑之量或濃度將根據例如以下而改變：調配物中所包括之多肽的量、所需調配物中所包括之其他賦形劑的量、是否需要或必需稀釋劑、調配物中之其他組分的量或體積、調配物內之各組分的總量、多肽之特異活性及所需張力或欲達成的重

量莫耳滲透濃度。賦形劑濃度之特定實例進一步舉例說明於下文中。此外，不同類型之賦形劑可組合於調配物中。因此，本發明之調配物可含有賦形劑(兩種、三種或四種或超過四種不同類型之賦形劑)。就含有兩種或超過兩種不同多肽的調配物而言，賦形劑尤其可組合使用。賦形劑可展現類似或不同的化學特性。鑒於本文所提供之教示及指導，熟習此項技術者將瞭解到，任何特定調配物中可包括使得本發明調配物有助於多肽保持穩定性之量或範圍的賦形劑。舉例而言，本發明之調配物中所包括的鹽之量及類型可根據最終溶液之重量莫耳滲透濃度(亦即等張性、低張性 or 高張性)以及調配物中所包括之其他組分的量及重量莫耳滲透濃度來選擇。類似地，根據參照調配物中所包括之多元醇或糖的類型的舉例說明，此賦形劑之量將視其重量莫耳滲透濃度而定。包括約5%山梨糖醇可達成等張性，而達成等張性需要約9%蔗糖賦形劑。可包括於本發明之調配物內的一或多種賦形劑之量或濃度範圍的選擇已參照鹽、多元醇及糖舉例說明如上。然而，熟習此項技術者應理解，本文所述及進一步參照特定賦形劑舉例說明之考慮因素同樣適用於賦形劑之所有類型及組合，包括例如鹽、胺基酸、其他張力劑、界面活性劑、穩定劑、增積劑、低溫保護劑、凍乾保護劑、抗氧化劑、金屬離子、螯合劑及/或防腐劑。

本發明之調配物中可包括濃度範圍通常為約1-40% (w/v)、約5-35% (w/v)、約8-30% (w/v)、約8-25% (w/v)或濃度為約8% (w/v)的賦形劑。在某些情況下，本發明之調配物中亦可使用高達約45% (w/v)、50% (w/v)或大於50% (w/v)的濃度。舉例而言，在一些情況下，為了製備本發明之高張性調配物可能需要包括高達60% (w/v)或75% (w/v)的濃度。必要時，此等高張性溶液可在使用前稀釋以製備等張性調配物。其他適用的濃度範圍包括約1-20%，特定而言，約2-18% (w/v)，更特定而言，約4-16% (w/v)，甚至更特定而言，約6-14%

(w/v)或約8-12% (w/v)，或約10% (w/v)。小於、大於或介於此等範圍之間的賦形劑濃度及/或量亦可用於本發明之調配物中。舉例而言，調配物中可包括佔小於約1% (w/v)的一或多種賦形劑。類似地，調配物可含有濃度大於約40% (w/v)的一或多種賦形劑。從而可製得含有實質上任何所需濃度或量之一或多種賦形劑的本發明調配物，此濃度或量包括例如1-30、5-20、5-10、10-20、15-20、1-5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20% (w/v)或大於20% (w/v)(包括此等值)。

本發明之調配物中的緩衝組分可包括一或多種賦形劑。如先前所述，所包括之賦形劑的一個作用為提供多肽抵抗應力的穩定作用，應力可在製造、裝運及儲存期間發生。為了實現此作用，至少一種賦形劑可充當緩衝劑、穩定劑、張力劑、增積劑、界面活性劑、冷凍保護劑、凍乾保護劑抗氧化劑、金屬離子源、螯合劑及/或防腐劑。此外，至少一種賦形劑亦可充當稀釋劑及/或媒劑或用於減小高濃度調配物的黏度以便達成其遞送及/或增強患者便利性。類似地，至少一種賦形劑另外可向本發明之調配物賦予超過一種上述功能。或者，本發明之調配物中可包括兩種或超過兩種賦形劑以執行超過一種上述或其他功能。舉例而言，賦形劑作為改變、調節或最佳化調配物之重量莫耳滲透濃度的組分包括於本發明之調配物中，從而充當張力劑。類似地，張力劑與界面活性劑均可包括於本發明之調配物中以調節重量莫耳滲透濃度與控制聚集。賦形劑、其用途、調配物及特徵在此項技術中已熟知且可發現描述於例如Wang W., *Int. J. Pharm.* 185:129-88 (1999)及Wang W., *Int. J. Pharm.* 203:1-60 (2000)。

液體調配物中所包括的張力劑及/或穩定劑可用於例如向調配物提供等張性、低張性或高張性，以使得其適於投藥。此等賦形劑亦可用於例如促進多肽結構之維持及/或最小化靜電性、溶液蛋白質-蛋白

質相互作用。張力劑及/或穩定劑之特定實例包括多元醇、鹽及/或胺基酸。凍乾調配物中所包括的張力劑及/或穩定劑可用作例如冷凍保護劑以保護多肽免受冷凍應力的影響或用作凍乾保護劑以使多肽在冷凍乾燥狀態下穩定化。此等冷凍保護劑及凍乾保護劑之特定實例包括多元醇、糖及聚合物。

如本文所使用，術語「界面活性劑」欲意謂作用為減小其溶解於其中之液體之表面張力的物質。調配物中可包括界面活性劑用於多種目的，包括例如防止或控制液體調配物中之聚集、顆粒形成及/或表面吸附，或防止或控制凍乾調配物在凍乾及/或復原過程中出現此等現象。界面活性劑包括例如部分溶解於有機溶劑與水溶液中的兩性有機化合物。界面活性劑之一般特徵包括其能夠減小水之表面張力、減小油與水之間的界面張力以及形成微胞。本發明之界面活性劑包括非離子及離子界面活性劑。界面活性劑在此項技術中已熟知且可發現描述於例如 Randolph T. W. 及 Jones L. S., *Surfactant-protein interactions*. *Pharm Biotechnol.* 13:159-75 (2002)。簡言之，非離子界面活性劑包括例如烷基聚(氧化乙烯)、烷基聚葡萄糖苷(諸如辛基葡萄糖苷及癸基麥芽糖苷)、脂肪醇(諸如鯨蠟基醇及油醇)、椰油醯胺MEA、椰油醯胺DEA及椰油醯胺TEA。非離子界面活性劑之特定實例包括聚山梨醇酯，包括例如聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯28、聚山梨醇酯40、聚山梨醇酯60、聚山梨醇酯65、聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯81、聚山梨醇酯85及其類似物；泊洛沙姆，包括例如泊洛沙姆188(亦稱為聚羥亞烴(poloxalkol)或聚(氧化乙烯)-聚(氧化丙烯))、泊洛沙姆407或聚乙烯-聚丙二醇及其類似物，及聚乙二醇(PEG)。聚山梨醇酯20與吐溫20(TWEEN 20)、脫水山梨糖醇單月桂酸酯及聚氧乙烯脫水山梨糖醇單月桂酸酯同義。

可選擇本發明調配物中所包括的最佳界面活性劑，例如藉由防

止或減少聚集及/或吸附來增強或促進多肽保持穩定性。舉例而言，脫水山梨糖醇脂肪酸酯(諸如聚山梨醇酯)為展現廣泛範圍之親水性及乳化特徵的界面活性劑。其可個別地使用或與其他界面活性劑組合使用以滿足廣泛範圍之穩定化需要。此等特徵由於其可經定製以涵蓋多肽之廣泛範圍之疏水性及親水性特徵而特別適用於多肽。用於選擇界面活性劑的考慮因素包括先前參照賦形劑一般性所述的彼等因素以及界面活性劑之疏水性特徵及臨界微胞濃度。本文中舉例說明的界面活性劑以及此項技術中熟知的多種其他物可用於本發明之調配物中。

本發明調配物中的界面活性劑濃度範圍包括先前參照賦形劑一般性所述的彼等範圍，其中特別適用之濃度小於約1% (w/v)。就此而言，可使用之界面活性劑濃度的範圍通常為約0.0001-0.10% (w/v)，特定而言，約0.002-0.05% (w/v)，更特定而言，約0.003-0.01% (w/v)，甚至更特定而言，約0.004-0.008% (w/v)或約0.005-0.006% (w/v)。本發明之調配物亦可使用小於、大於或介於此等範圍之間的界面活性劑濃度及/或量。舉例而言，調配物中可包括佔小於約0.001% (w/v)的一或多種界面活性劑。類似地，調配物可含有濃度大於約0.10% (w/v)的一或多種界面活性劑。從而可製得含有基本上任何所要濃度或量之一或多種界面活性劑的本發明調配物，此濃度或量包括例如0.001、0.002、0.003、0.004、0.005、0.006、0.007、0.008、0.009、0.010、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09或0.10% (w/v)或超過0.10% (w/v)(包括此等值)。適用作本發明調配物中之賦形劑的多種界面活性劑先前已描述。適用於本發明之液體或凍乾調配物中的其他界面活性劑包括例如糖酯，諸如月桂酸酯(C12)、棕櫚酸酯(C16)、硬脂酸酯(C18)、聚乙二醇十六烷基十八烷基醚、聚乙二醇月桂基醚、聚乙二醇油基醚、聚乙二醇油酸酯、聚乙二醇硬脂酸酯、聚乙二醇甘油蓖麻油酸酯、聚乙二醇甘油羥基硬脂酸酯；烷基聚

葡萄糖苷，諸如辛基葡萄糖苷及癸基麥芽糖苷；脂肪醇，諸如鯨蠟基醇及油醇；及椰油醯胺，諸如椰油醯胺MEA、DEA、TEA；其他非離子界面活性劑及其他離子界面活性劑。

本發明之調配物(包括本發明之液體調配物)的穩定性係指調配物內之多肽之結構及/或功能的保持力。本發明之調配物中的多肽將展現影響穩定性或功能的特性，諸如對變化或變質的抗性，且因此隨時間之流逝維持一致的功能特徵。

本發明調配物中的緩衝組分亦可包括一或多種界面活性劑作為賦形劑。如先前所描述，本發明調配物中之界面活性劑的一種作用為防止或最小化聚集及/或吸附，諸如表面誘發性降解。在足夠的濃度下(通常約為界面活性劑的臨界微胞濃度)，界面活性劑分子之表層用以防止蛋白質分子在界面吸附。從而最小化表面誘發性降解。界面活性劑、其用途、調配物及調配物特徵在此項技術中已熟知且可發現描述於例如Randolph及Jones，同上(2002)中。

在另一個實施例中，本發明調配物內之多肽的穩定性包括例如物理及/或化學穩定性之保持。多肽穩定性可如下評估：例如測定多肽是否已經歷物理降解及/或化學降解路徑，諸如先前所述的彼等降解路徑，包括其結構之化學修飾。本發明調配物中之多肽穩定性的保持包括例如相較於多肽在初始時間點的穩定性，或相對於在低溫(例如-70攝氏度)下所保存的相同對照物，物理或化學穩定性保持約80-100%、85-99%、90-98%、92-96%或94-95%。因此，本發明之調配物內之多肽的穩定性包括相較於多肽在初始時間點的穩定性，相對於在低溫(例如-70攝氏度)下所保存的相同對照物，穩定性保持大於99.5%、至少約99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%或80%(包括此等值)。

在另一實施例中，本發明調配物內之多肽的穩定性包括例如保持活性。多肽活性可使用例如指示多肽功能的活體外、活體內及/或原位分析來評估。本發明調配物內之多肽穩定性保持包括例如活性保持約50-100%或超過100%，此視分析之可變性而定。舉例而言，穩定性保持可包括相較於多肽在初始時間點的活性，活性保持約60-90%或70-80%。因此，本發明調配物內之多肽穩定性包括相較於多肽在初始時間點的活性，活性保持至少約50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%且可包括活性量測值大於100%，諸如105%、110%、115%、120%、125%或150%或超過150%(包括此等值)。一般而言，初始時間點選為本發明調配物中之多肽最初製備之時間或最初檢查品質(亦即滿足合格規格)的時間。初始時間點亦可包括將本發明調配物中之多肽再調配的時間。再調配可在例如濃度高於、低於或同於初始製劑的情況下進行。

本發明之調配物可經製備而與參考溶液或流體(亦即血清)具等張性。等張性溶液中所溶解之溶質的量實質上類似於其周圍物質以使得其具有滲透穩定性。除非明確與特定溶液或流體比較，否則本文中例示性參照人類血清使用等張或等張性(例如300 mOsmol/kg)。因此，本發明之等張性調配物含有濃度與人類血液實質上類似的溶質或展現與人類血液實質上類似的滲透壓。一般而言，等張性溶液含有濃度與用於人類及多種其他哺乳動物之標準生理鹽水大約相同的溶質，標準生理鹽水為含有約0.9 wt% (0.009 g/ml)鹽的水溶液(例如0.009 g/ml NaCl)。本發明之調配物亦可包括低張性或高張性溶液製劑。

最佳醫藥組合物將由熟習此項技術者根據例如預定投藥途徑、遞送形式及所要劑量而確定。參見例如Remington's Pharmaceutical Sciences, 同上。該等組合物可影響多肽之物理狀態、穩定性、活體內釋放速率及活體內清除速率。舉例而言，適合組合物可為非經腸投

與的注射用水(生理鹽水溶液)。離子界面活性劑包括例如陰離子、陽離子及兩性離子界面活性劑。陰離子界面活性劑包括例如基於磺酸鹽或基於羧酸鹽的界面活性劑，諸如肥皂、脂肪酸鹽、十二烷基硫酸鈉(SDS)、月桂基硫酸銨及其他烷基硫酸鹽。陽離子界面活性劑包括例如基於四級銨的界面活性劑，諸如溴化十六烷基三甲基銨(CTAB)、其他烷基三甲基銨鹽、氯化十六烷基吡啶、聚乙氧基化動物脂胺(POEA)及苯紮氯銨(benzalkonium chloride)。兩性離子或兩性界面活性劑包括例如十二烷基甜菜鹼、十二烷基二甲胺氧化物、椰油醯胺基丙基甜菜鹼及椰油基兩性甘胺酸鹽。

醫藥組合物中之主要媒劑或載劑可實質上具有水性或非水性。舉例而言，適合的媒劑或載劑可為注射用水、生理鹽水溶液或人工腦脊髓液，其中可能補充有供非經腸投與之組合物中所常見之其他物質。中性緩衝生理鹽水或與血清白蛋白混合之生理鹽水為另外的例示性媒劑。其他例示性醫藥組合物包含Tris緩衝劑或乙酸鹽緩衝劑，其可進一步包括山梨糖醇或其適合的替代物。在一個實施例中，可藉由將具有所要純度的所選組合物與視情況選用之調配劑(Remington's Pharmaceutical Sciences, 同上)混合而製得呈凍乾餅或水溶液形式的組合物。另外，治療性組合物可使用適當賦形劑(諸如蔗糖)調配為凍乾物。

調配物可以多種方法遞送，例如吸入療法、經口或注射。當涵蓋非經腸投藥時，治療組合物可呈無熱原質、非經腸可接受之水溶液形式，其包含所要多肽於醫藥學上可接受之媒劑中。尤其適用於非經腸注射之媒劑為無菌蒸餾水，多肽於其中調配成經適當防腐之無菌等張性溶液。又一種製備可包括用諸如以下媒介物調配所要分子：可注射微球、生物可侵蝕顆粒、聚合物化合物(聚乳酸、聚乙醇酸)、珠粒或脂質體，從而得到控制或持續釋放的產物，其接著可經由儲槽式注

射劑遞送。亦可使用玻糖醛酸，且其可具有在循環中促進持續作用的作用。用於引入所要分子的其他適合方式包括可植入的藥物遞送裝置。

在另一態樣中，適用於可注射投藥的醫藥調配物可調配於水溶液中，較佳調配於生理上相容的緩衝液中，諸如漢克氏溶液(Hanks' solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)或生理性緩衝生理鹽水。水性注射懸浮液可含有增加懸浮液黏度之物質，諸如羧甲基纖維素鈉、山梨糖醇或聚葡萄糖。另外，適當時可將活性化合物之懸浮液製備成油性注射懸浮液。適合親脂性溶劑或媒劑包括脂肪油，諸如芝麻油；或合成脂肪酸酯，諸如油酸乙酯或三酸甘油酯；或脂質體。亦可使用非脂質聚陽離子胺基聚合物遞送。視情況而言，懸浮液亦可含有適合穩定劑或提高化合物溶解性之試劑且允許製備高濃度溶液。在另一個實施例中，醫藥組合物可經調配用於吸入。亦可用推進劑調配吸入溶液以供氣溶膠遞送。在又另一個實施例中，溶液可霧化。肺部投藥進一步描述於PCT申請案第PCT/US94/001875號中，其描述經化學修飾之蛋白質之肺部遞送。

在一些態樣中，蛋白質可調配為無菌水溶液，其含有50-100、60-80、65-75、60-70、70-80、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79或80 mg/mL蛋白質；1-30、5-20、5-10、10-20、15-20、1-5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、19、20或大於20 mM磷酸鉀緩衝劑；小於1-10、5-10、5、5、6、7、8、8.8、9、10或大於10%(w/v)蔗糖及/或小於0.006、0.006或大於0.006% (w/v)聚山梨醇酯20，pH 4-12、5-6、5-7、6-7、5、6、6.7、7或8(包括此等值)。在一些態樣中，蛋白質可調配為含有蛋白質、磷酸鉀緩衝劑、蔗糖及/或聚山梨醇酯20的無菌水溶液。在一些態樣中，蛋白質可用磷酸鉀緩衝

劑、蔗糖及/或聚山梨醇酯20調配。在一些態樣中，蛋白質可經調配用於靜脈內投藥。在一些態樣中，蛋白質可在中性pH下調配。在一些態樣中，蛋白質可在約pH 4-12、5-6、5-7、6-7、5、6、6.7、7或8(包括此等值)下調配。在一些態樣中，本文所述之蛋白質可用非天然存在之組分(諸如非天然存在之賦形劑)調配。

亦預期某些調配物可經口投與。在一個實施例中，以此方式投與之分子可用或不用混配固體劑型(諸如錠劑及膠囊)所常用之彼等載劑來調配。舉例而言，膠囊可經設計以使調配物之活性部分在胃腸道之某處釋放，此時生物可用性最大化且到達全身前的降解最小化。可包括促進治療性分子吸收的其他藥劑。亦可使用稀釋劑、調味劑、低熔點蠟、植物油、潤滑劑、懸浮劑、錠劑崩解劑及黏合劑。經口投與的醫藥組合物亦可使用此項技術中熟知之醫藥學上可接受之載劑調配成適於經口投與的劑型。此等載劑使得醫藥組合物能夠調配成錠劑、丸劑、糖衣藥丸、膠囊、液體、凝膠、糖漿、漿液、懸浮液以及其類似物，以便患者攝入。

經口使用的醫藥製劑可如下獲得：合併活性化合物與固體賦形劑且加工所得顆粒混合物(視情況在研磨之後)以獲得錠劑或糖衣藥丸核心。必要時可添加適合助劑。適合賦形劑包括碳水化合物或蛋白質填充劑，諸如糖，包括乳糖、蔗糖、甘露糖醇及山梨糖醇；玉米、小麥、稻穀、馬鈴薯或其他植物之澱粉；纖維素，諸如甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素或羧甲基纖維素鈉；樹膠，包括阿拉伯膠及黃蓍膠；及蛋白質，諸如明膠及膠原蛋白。必要時，可添加崩解劑或增溶劑，諸如交聯聚乙炔吡咯啉酮、瓊脂及海藻酸或其鹽，諸如海藻酸鈉。

糖衣藥丸核心可結合適合包衣一起使用，諸如濃縮的糖溶液，其亦可含有阿拉伯膠、滑石、聚乙炔吡咯啉酮、卡波莫凝膠(carbopol gel)、聚乙二醇，及/或二氧化鈦、漆溶液及適合有機溶劑或溶劑混合

物。可將染料或顏料添加至錠劑或糖衣藥丸包衣中以鑑別或表徵活性劑之量，亦即劑量。

可經口使用之醫藥製劑亦包括由明膠製成之配合插入式膠囊以及由明膠及包衣(諸如甘油或山梨糖醇)製成之密封軟膠囊。配合插入式膠囊可含有活性成分與填充劑或黏合劑(諸如乳糖或澱粉)、潤滑劑(諸如滑石或硬脂酸鎂)及視情況存在之穩定劑的混合物。在軟膠囊中，活性化合物在穩定劑存在或不存在下可溶解或懸浮於適合液體中，諸如脂肪油、液體或液體聚乙二醇。

對於熟習此項技術者而言，其他醫藥組合物將為顯而易見的，包括在持續或控制遞送型調配物中包含多肽的調配物。用於調配多種其他持續或控制遞送工具(諸如脂質體載劑)、生物可侵蝕微粒或多孔珠粒及儲槽式注射劑的技術亦為熟習此項技術者所知。參見例如 PCT/US93/00829，其描述用於遞送醫藥組合物之多孔聚合物微粒之控制釋放。持續釋放型製劑之其他實例包括半滲透聚合物基質的成形物件形式，例如薄膜，或微膠囊。持續釋放型基質可包括聚酯、水凝膠、聚乳酸交酯(U.S. 3,773,919、EP 58,481)、L-麩胺酸與L-麩胺酸 γ 乙基酯(Sidman等人, Biopolymers, 22: 547-556 (1983)、聚(甲基丙烯酸2-羥基乙基酯)(Langer等人, J. Biomed. Mater. Res., 15:167-277, (1981); Langer等人, Chem. Tech., 12:98-105 (1982))、乙烯乙酸乙烯酯(Langer等人, 同上)或聚-D(-)-3-羥基丁酸(EP 133,988)。持續釋放型組合物亦包括可藉由此項技術中已知之若干方法中之任一者製備的脂質體。參見例如 Eppstein等人, PNAS (USA), 82:3688 (1985); EP 36,676; EP 88,046; EP 143,949。

待用於活體內投與之醫藥組合物典型地必須為無菌的。此可藉由無菌過濾膜過濾來完成。在凍乾組合物的情況下，可在凍乾及復原之前或之後使用此方法進行滅菌。非經腸投與之組合物可以凍乾形式

儲存或儲存於溶液中。另外，非經腸組合物通常置放於具有無菌接取孔之容器中，例如具有可由皮下注射針刺穿之塞子的靜脈內溶液袋或小瓶。

一旦醫藥組合物已調配，即可將其以溶液、懸浮液、凝膠、乳液、固體或脫水或凍乾粉末形式儲存於無菌小瓶中。此等調配物可以即用形式或需要在投與前復原之形式(例如凍乾形式)儲存。

在一個特定實施例中，提供用於產生依劑量投藥單元的套組。套組可各含有具有乾燥蛋白質之第一容器及具有含水調配物之第二容器。本發明之範疇內亦包括含有單室及多室預填充注射器(例如液體注射器及冷凍乾燥物注射器)之套組。

治療上使用的醫藥組合物之有效量將根據例如治療情形及目標而定。熟習此項技術者應瞭解，適用於治療之劑量水準將部分地根據以下而變化：所遞送之分子、所用多肽所針對之適應症、投藥途徑及患者之體型(體重、體表面或器官大小)及狀況(年齡及總體健康狀況)。因此，臨床醫師可滴定劑量且修改投藥途徑以獲得最佳治療作用。典型劑量可在約0.1 mg/kg至高達約100 mg/kg或超過100 mg/kg之範圍內，此視上述因素而定。多肽組合物較佳可靜脈內(IV)注射或投與。視特定調配物之半衰期及清除速率而定，長效醫藥組合物可每三至四天、每週或每兩週投與。給藥頻率將視所用調配物中之多肽的藥物動力學參數而定。典型地，投與組合物直至達到達成所需作用之劑量。組合物因此可隨時間以單次劑量或以多次劑量(濃度/劑量相同或不同)投與，或以連續輸注形式投與。通常對適當劑量作出進一步改進。適當劑量可經由使用適當的劑量反應資料來確定。

本文所述之蛋白質及多肽的使用劑量可為0.1-10、0.1-5、0.25-5、0.25-3、1-3、0.1、0.2、0.25、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.75、0.8、0.9、1、2、3、4、5或大於5 mg/kg(包括此等值)。在一些態樣

中，各劑量可每小於1-10、2-8、2-5、1-4、1、1、2、3、4、5、6、7、8或大於8週(包括此等值)投與。在一些態樣中，各劑量可每小於1-10、2-8、2-5、1-4、1、1、2、3、4、5、6、7天(包括此等值)投與。在一些態樣中，各劑量係靜脈內投與。

醫藥組合物之投藥途徑係根據已知方法，例如經口；經由靜脈內、腹膜內、腦內(實質內)、腦室內、肌肉內、眼內、動脈內、門靜脈內、病灶內途徑注射；髓內、鞘內、室內、經皮、皮下或腹膜內；以及鼻內、腸內、局部、舌下、尿道、陰道或直腸方式；藉由持續釋放系統或藉由植入裝置。需要時，可藉由快速注射或連續輸注或藉由植入裝置投與組合物。或者或另外，組合物可經由已吸收或囊封所需分子之膜、海綿或另一種適當材料的植入來局部投與。在使用植入裝置的情況下，可將裝置植入任何適合的組織或器官內，且所需分子可經由擴散、定時釋放型藥團或連續投藥來遞送。

在一些情況下，svActRIIB多肽可藉由使用諸如本文所述之彼等方法之方法植入已經基因工程改造之某些細胞來遞送，以表現及分泌多肽。此等細胞可為動物或人類細胞，且可為自體、異質或異種細胞。視情況，細胞可為不朽化細胞。為了減小免疫反應的機率，可將細胞囊封以避免浸潤周圍組織。囊封材料典型地為生物相容性、半滲透性聚合物外殼或膜，其容許多肽產物釋放，但防止患者免疫系統或來自周圍組織之其他有害因子摧毀該等細胞。

亦設想活體內svActRIIB基因療法，其中將編碼svActRIIB或svActRIIB衍生物的核酸分子直接引入個體中。舉例而言，編碼svActRIIB的核酸序列使用或不使用適當遞送載體(諸如腺相關病毒載體)、經由核酸構築體之局部注射而引入靶細胞中。替代病毒載體包括(但不限於)逆轉錄病毒、腺病毒、單純性疱疹病毒及乳頭狀瘤病毒載體。病毒載體之身體內傳遞可藉由局部注射所需核酸構築體或含有

所需核酸序列的其他適當遞送載體、脂質體介導之傳遞、直接注射(裸DNA)或微粒轟擊(基因槍)來活體內達成。

本發明之組合物可單獨或與其他治療劑組合使用，例如以增強其治療作用或減少潛在副作用。在一些態樣中，阿黴素可組合投與。在一些態樣中，阿黴素為脂質體阿黴素。在一些態樣中，阿黴素係以40 mg/m²給予。在一些態樣中，阿黴素係以5-200、10-150、25-100、30-50、35-45、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140或150 mg/m²(包括此等值)給予。

本發明之調配物亦可包括調配物中之多肽組合。舉例而言，本發明之調配物可包括用於治療一或多種病狀的多肽。本發明之調配物亦可包括兩種或超過兩種不同多肽。本發明調配物中之多種多肽的用途可針對例如相同或不同的適應症。類似地，多種多肽在本發明之調配物中可用於治療例如病理性病狀與初始療法所致的一或多種副作用。多種多肽亦可包括於本發明之調配物中以實現不同的醫學目的，包括例如同時治療及監測病理性病狀之進展。多種並行療法(諸如上文舉例說明的彼等療法)以及此項技術中熟知的其他組合由於調配物對於一些或全部所提療法及/或診斷可為足夠的而特別適用於患者順應性。熟習此項技術者將瞭解可根據廣泛範圍之組合療法混合的彼等多肽。類似地，本發明之調配物亦可聯合小分子醫藥劑及一或多種多肽與一或多種小分子醫藥劑之組合使用。因此，本發明提供含有1-10、2-5、1、2、3、4、5或6種或超過6種不同多肽的本發明調配物且提供一或多種多肽與一或多種小分子醫藥劑之組合。

本發明之調配物亦可包括此項技術中熟知的一或多種防腐劑及/或添加劑。類似地，本發明之調配物可進一步調配成多種已知遞送調配物中之任一者。舉例而言，本發明之調配物可包括潤滑劑、乳化劑、懸浮劑、防腐劑(諸如甲基苯甲酸鹽及丙基羥基苯甲酸鹽)、甜味

劑及調味劑。此等視情況存在之組分、其化學及功能特徵在此項技術中已熟知。類似地，在投藥之後促進多肽快速、持續或延遲釋放的調配物在此項技術中已熟知。本發明之調配物可經製備而包括此項技術中熟知的此等或其他調配物組分。

本發明之調配物亦可製備成例如除含水液體外的狀態。舉例而言，製備成凍乾調配物。凍乾調配物通常含有例如增積劑或結塊劑及非晶形穩定劑。

一旦本發明之調配物如本文所述製備，則調配物內所含之一或多種多肽的穩定性可使用此項技術中熟知之方法評估。若干此等方法在下文實例中進一步舉例說明且包括尺寸排阻層析及顆粒計數。多種功能分析(包括例如結合活性、其他生物化學活性及/或生理學活性)中之任一者可在兩個或超過兩個不同的時間點評估以測定本發明之緩衝調配物中之多肽的穩定性。

本發明之調配物通常根據醫藥標準且使用醫藥級試劑製備。類似地，本發明之調配物通常使用無菌試劑在無菌製造環境下製備或在製備之後滅菌。無菌可注射溶液可使用此項技術中熟知的程序製備，包括例如將所需量之一或多種多肽與本文所述之調配物組分之一或組合合併於本發明之乙酸、麩胺酸或丁二酸緩衝劑或賦形劑中，隨後進行滅菌微過濾。在用於製備無菌可注射溶液之無菌粉末的特定實施例中，特別適用之製備方法包括例如真空乾燥及冷凍乾燥(凍乾)，如先前所描述。此等乾燥方法將由先前無菌過濾的溶液產生一或多種多肽與任何其他所需組分之粉末。

套組

本文中亦描述套組，其包含含有本文所揭示之蛋白質之小瓶及使用說明書。蛋白質可於如本文所述之任何適合醫藥組合物中，例如適於靜脈內輸注之液體懸浮液。或者，蛋白質可呈適於在使用前再懸

接種擴增及細胞培養製備係使用不具有動物源原材料的化學成分確定之培養基。細胞培養方法之細節(包括過程控制)描述如下，其中方法以圖形描繪於圖1中。某些參數包括藉由蛋白質A HPLC、Q-PCR測定的產物濃度，以便偵測污染物MMV DNA、細菌內毒素、黴漿菌、外來病毒，及總好氧性微生物計數。另外，預先製造兩批(批次0010039909及0010039910)，由CMC Biologics進一步處理為經調配的批量原料藥(批次13-0066及13-0067)。

解凍及初始擴增(階段N-7至N-4)

將一個小瓶的AMG 434 MCB解凍，且將內容物轉移至含有 59 ± 1 mL生長培養基IMX 5.0、含有300 nM甲胺喋呤(MTX)及100 μ g/L胰島素樣生長因子1(IGF-1)的250 mL振盪燒瓶中，預溫熱至 $36.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ 。所接種的振盪燒瓶接著在 $36.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ 、在5% CO_2 氛圍中、使用通氣帽及攪拌、在 155 ± 5 轉數/分鐘(rpm)下培育 72 ± 12 小時。分析細胞培養物之後，如圖1中所定義，將細胞培養物的一部分接種至500 mL振盪燒瓶中之預溫熱生長培養基中直至目標體積為120 mL及目標密度為 4×10^5 個細胞/毫升。振盪燒瓶在如上所述的相同條件下培育 72 ± 12 小時。分析細胞培養物之後，將細胞培養物的一部分接種至1 L振盪燒瓶中之預溫熱生長培養基中直至目標體積為240 mL及目標密度為 4×10^5 個細胞/毫升，且振盪燒瓶在如上所述的相同條件下培育 72 ± 12 小時。

對1 L燒瓶中之細胞培養物進行分析之後，使用此細胞培養物接種兩個含有預溫熱生長培養基的2 L振盪燒瓶，各燒瓶的目標體積為600 mL及目標密度為 4×10^5 個細胞/毫升。兩個振盪燒瓶均使用通氣帽及150-160 rpm攪拌、在 $36.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ 、在5% CO_2 氛圍中培育 72 ± 12 小時。2 L燒瓶培育完成時，分析各燒瓶中的樣品(圖1)，隨後將兩個燒瓶的內容物合併。量測合併池之細胞密度，且接著將合併池接種至10

L玻璃轉移容器中之預溫熱生長培養基中直至5 L之目標及 4×10^5 個細胞/毫升之目標密度。此培養物在方法之下一步驟之前在 90 ± 5 rpm下持續混合，下一步驟的起始時間相距合併時間小於90分鐘。

中間接種系列(階段N-3至N-1)

N-3中間接種系列階段係在50 L Wave生物反應袋(GE Healthcare)中進行。使Wave袋膨脹之後，將合併的5 L細胞培養物轉移至袋中。在表1中所列的條件下起始培育。每天牽拉樣品且如圖1中所述分析。第3天，在評估活細胞密度及存活率百分比(最小值分別為 1.6×10^6 個細胞/毫升及90%)之後，經由Opticap XL03無菌過濾器(Millipore)將含有300 nM MTX及100 μ g/L IGF-1的生長培養基IMX 5.0轉移至Wave袋中以達成 4×10^5 個細胞/毫升之細胞密度。此塊團饋入之後的總細胞培養物體積通常為20-25 L。培育在相同條件(表1)下持續超過3天，每天取樣用於分析，如圖1中所述。收穫之前，預期活細胞密度及存活率分別滿足不小於 1.6×10^6 個細胞/毫升及90%之準則。

表1. 50 L Wave生物反應器方法參數

參數	設定點
Wave袋容量	50 L
細胞培養物體積	5 L
溫度	36.0°C
搖盪速度	22 rpm
搖盪角度	7°
CO ₂ 覆層	5% @ 0.3公升/分鐘(LPM)

第二及第三中間接種系列階段(N-2及N-1)分別在60 L及300 L生物反應器中進行。轉移 45.0 ± 1.0 L擴增培養基(含有100 μ g/L IGF-1且不含有MTX的IMX 5.0)之後，依據表2中所述之參數設定生物反應器。生物反應器接著接種達成 4×10^5 個細胞/毫升之起始細胞密度所需之體積(在 $\pm 3\%$ 範圍內)的最終Wave袋細胞培養物。60 L生物反應器之內容物根據表2中所述之條件培育3天。每天取樣用於分析，如圖1中

所述。在培育期間，自動添加1.0 M碳酸鈉以控制pH。收穫之前，預期活細胞密度及存活率分別滿足不小於 2.0×10^6 個細胞/毫升及90%之準則。

表2. 60 L生物反應器方法參數

參數	設定點	範圍
溫度	36.0°C	35.0-37.0°C
攪拌	83 rpm	78-88 rpm
壓力	2.0 psig	1.0-3.0 psig
pH	7.00	6.90-7.10
溶解氧(DO)	48.0 mmHg	28.0-220.0 mmHg

一旦60 L生物反應器培育完成，則藉由轉移 245.0 ± 2.0 L擴增培養基至生物反應器中且依據表3中所述之參數對其進行設定來製備用於接種的300 L生物反應器。生物反應器接著接種達成 4×10^5 個細胞/毫升之起始細胞密度所需之體積(在 $\pm 3\%$ 範圍內)的最終60 L生物反應器培養物。300 L生物反應器內容物根據表3中所述之條件培育3天。每天取樣用於分析，如圖1中所述。在培育期間，自動添加1.0 M碳酸鈉以控制pH。收穫之前，預期活細胞密度及存活率分別滿足不小於 2.3×10^6 個細胞/毫升及90%之準則。

表3. 300 L生物反應器方法參數

參數	設定點	範圍
溫度	36.0°C	35.0-37.0°C
攪拌	80 rpm	75-85 rpm
壓力	2.0 psig	1.0-3.0 psig
pH	7.00	6.90-7.10
DO	48.0 mmHg	28.0-220.0 mmHg

製備型生物反應器

STM 434之上游處理中的最終製備型生物反應器具有2000 L之標稱容量。為了起始此製備階段，將 1100.0 ± 5.0 L製備型培養基ABM025-004(一種化學上限定的培養基，其包括定製的組分及表4中所發現的配方)裝入生物反應器中。接著依據表5中所定義的參數來設定生物反應器以準備用於接種。生物反應器接著接種達成 5×10^5 個細

胞/毫升之起始細胞密度所需之體積(在±3%範圍內)的最終300 L生物反應器培養物。2000 L生物反應器內容物根據表5中所述之條件培育11天。在培育期間，自動添加1.0 M碳酸鈉以控制pH。在製備型生物反應器運作之第3、6及8天，利用8%之初始培養物製得產生培養基AFM028-001之塊團饋料(表4)。每天將1%聚二甲矽氧烷(100公克之量)溶液作為消泡劑添加至生物反應器中。如圖1中所述，每天取樣用於分析，包括塊團饋入AFM028-001之前及之後的樣品。若葡萄糖濃度下降低於4.0 g/L，則添加50%葡萄糖溶液以使得生物反應器中的濃度達成8 g/L。此方法步驟之製程內測試描述於表13中。

表4. 製備型生物反應器培養基配方

製備型培養基	組分	濃度
ABM0025-004 (目標pH: 6.9 ± 0.1)	WFI	QS
	ABM025 (定製培養基)	11.04 g/L
	ASM003 (定製培養基)	7.68 g/L
	二水合L-酪胺酸二鈉	1.15 g/L
	L-麩醯胺酸	1.25 g/L
	碳酸氫鈉	1.2 g/L
	氯化鈉	1.0 N/A
	氯化鉀	1.0 g/L
	右旋糖	5.5 g/L
	精胺四鹽酸鹽(100 mM)	100.0 µL/L
	10 N氫氧化鈉	550.0 µL/L
	6 N鹽酸	依需要
	IGF-1 (1 mg/mL) [所添加的預過濾}	100.0 µL/L
AFM028-001 (目標pH: 6.8 ± 0.1)	WFI	QS
	AFM023 (定製培養基)	11.1 g/L
	AFM028 (定製培養基)	74.0 g/L
	二水合L-酪胺酸二鈉	0.8 g/L
	碳酸氫鈉	1.2 g/L
	L-麩醯胺酸	3.0 g/L
	10 N氫氧化鈉	4.0 mL/L
	6 N鹽酸	依需要

表5. 2000 L製備型生物反應器方法參數

參數	設定點	範圍
溫度	36.5°C	36.0-37.0°C
攪拌	74 rpm	69-79 rpm

參數	設定點	範圍
壓力	2.0 psig	1.0-3.0 psig
pH	7.05	7.0-7.1
DO	48.0 mmHg	28.0-220.0 mmHg

細胞培養收穫物澄清及過濾

在製備型生物反應器運作結束時，在已取樣之後，將生物反應器冷卻至10-15℃，壓力調節至8.0-12.0 psig。輸送管線置放於2000 L生物反應器與CSC-20盤式堆疊離心機(Westfalia)之間，且輸出管線自離心機至離心分離液收集槽。量測生物反應器內容物之血球容積比，且此值用於測定發射間距值，發射間距值以及如圖1中所示的其他參數包括於離心機之程式設計中。開啟生物反應器與離心機之間的管線，且起始離心。一旦完成離心，則沖洗離心機筒，且將產物排放至具有25 mM Tris、100 mM氯化鈉pH 7.4(經Tris緩衝的生理鹽水；TBS)的離心分離液收集槽中。離心操作參數概述於表6中。

表6. 收穫物離心操作參數

參數	設定點
饋入速率	12 LPM
背壓	75 psig
目標發射質量	4.0 ±1.0 kg
速度	8400 rpm

離心操作之後，經由並聯的2個過濾器對收穫池進行深度過濾。各系列中的第一過濾器為Sartopore 2 0.2 μm Maxicap濾芯(Sartorius；1.2 m²膜面積)用於滅菌式深度過濾。第二過濾器為Zeta Plus Maximizer 120ZA膜盒(Cuno；1.84 m²膜面積)用於降低核酸含量之目的。過濾器用TBS沖洗之後，離心分離液收集槽之內容物根據表7中所示的條件、經由過濾器系列抽吸至濾液收集槽中。一旦離心分離液完全轉移，則添加220 L TBS至離心分離液收集槽中，隨後經由各過濾器系列推入濾液收集槽中。過濾方法係藉由推動空氣通過各過濾器系列、將液體收集於濾液收集槽中來完成。過濾結束時，以避免發泡

的方式使濾液池混合。濾液池在2-8℃ 保持不超過72小時，取樣以便根據表13分析。

表7. 深度過濾操作參數

參數	設定點
流速	≤ 12.3 LPM
入口壓力	≤ 30 psig
Sartopore過濾器壓力差	≤ 20 psig
Zeta Plus過濾器壓力差	≤ 20 psig
濾液槽攪拌	緩和；收集300 L之後開始
空氣推送期間的壓力差	≤ 20 psig
濾液池混合	緩和；≥20分鐘

純化方法

STM 434下游純化方法包括三個管柱層析步驟：低pH病毒不活化步驟、病毒過濾步驟及使用切向流過濾的最終調配步驟。此方法中的所有步驟均在環境溫度下進行，除特別指明者之外。圖2描繪STM 434純化方法。各細胞培養運作時，進行純化方法之運作。STM 434原料藥之最終配方為10 mM磷酸鉀、8.8% (w/v)蔗糖、0.006% (w/v)聚山梨醇酯20 (pH 6.7)，靶蛋白濃度為70 mg/mL。純化方法包括使用兩種模型病毒(xMuLV及MMV)的兩種穩定正交方法用於病毒清除。

蛋白質A層析

蛋白質A層析經由蛋白質A對Fc域的親和力而用於捕捉抗體及Fc融合蛋白，諸如STM 434。STM 434純化方法係使用MabSelect SuRe蛋白質A樹脂(GE Healthcare)。除潛在病毒之外，蛋白質A親和純化步驟使宿主細胞蛋白質及DNA大幅度減少。蛋白質A層析步驟之操作參數描述於表8中。在兩次cGMP純化運作中，使用樹脂體積為39.3 L的管柱。根據20 g/L負載密度，蛋白質A步驟循環運作，循環數目及各循環中所負載之澄清細胞培養收穫物的體積係依據兩個生物反應器運作中之每一者之最終澄清收穫物中之STM 434之總質量來測定。

藉由平衡緩衝液(TBS)沖洗來製備用於處理的蛋白質A管柱。澄

清細胞培養收穫物之第一塊團加載至管柱上，隨後用最少80 L之平衡緩衝液洗滌管柱。管柱接著用最少160 L 25 mM Tris、500 mM氯化鈣 pH 7.5洗滌。引入此步驟，以使得宿主細胞DNA得到額外的清除。管柱接著用最少120 L平衡緩衝液洗滌以移除任何殘餘氯化鈣。接著使用100 mM乙酸鈉pH 3.6自管柱溶離STM 434。基於管柱排出物之吸光度的收集標準提供於表8中。溶離合併物保存於在2-8℃維持的儲槽中。溶離步驟之後，用最少120 L的100 mM磷酸將管柱洗淨。重複此循環直至所有的澄清細胞培養收穫物耗盡。完成最後循環之後，管柱用最少40 L的平衡緩衝液沖洗，隨後用最少120 L的300 mM氫氧化鈉沖洗以使樹脂再生。運作之間期，管柱於2%苯甲醇、50 mM檸檬酸鹽pH 5.0中儲存。經由此單元操作收集多個樣品，如表13中所述。

表8. 蛋白質A層析操作參數

參數	設定點
床層高度	25 ± 2 cm
最大負載密度	20.0 g STM 434/L樹脂
流速	≤ 6.6 LPM (目標: 250 cm/hr)

低pH病毒不活化

經由使用低pH對合併的蛋白質A合併物進行病毒不活化。使合併物達成20±2℃之溫度，隨後藉由緩慢添加10% (v/v)乙酸來將其調節至pH 3.6±0.1。經滴定的合併物在低pH下保持60-90分鐘。不活化期之後，藉由緩慢添加2.0 M Tris鹼而將合併物調節至pH 5.0±0.1。

接著使病毒不活化合併物通過包括三種不同類型之過濾器的過濾器系列。第一過濾器為Millistak + HC Pod (Millipore；1.1 m²薄膜面積)，其移除可在酸處理期間形成的顆粒。系列中之第二過濾器為Sartobind Q (Sartorius；1.98 m²薄膜面積)，其中並聯排列有三個30吋膜盒。此離子交換器用以進一步減少核酸及其他帶負電的雜質。最後過濾器為Express SHC Opticap XL 10 0.5 μm/0.2 μm膜盒(Millipore；

049 m²薄膜面積)。過濾係在不超過6.6公升/分鐘的流速下進行。經過過濾的病毒不活化合併物(FVIP)收集於儲槽中。當預過濾病毒不活化合併物靠近其保存容器之底部時，用最少40 L的50 mM乙酸鈉、70 mM氯化鈉pH 5.0將剩餘部分溶離至FVIP收集槽中。經由此單元操作收集多個FVIP樣品，如表13中所述。

在最初的兩次cGMP運作中，FVIP(稱為原料藥中間物(DSI))儲存於無菌的20 L Flexboy袋(Sartorius)中，且在-30℃將其保存。將第一批DSI(批號0010039909)的一部分儲存於聚碳酸酯瓶中且在-30℃儲存，充當評估長期儲存對產物品質之潛在影響的穩定性樣品。24個月及35個月穩定性研究的結果指示，在-30℃儲存35個月之DSI的品質在整個儲存期得以保持，且DSI可用於評價經由Demo DS批次製造之cGMP原料藥的適用性。

陽離子交換層析

使用陽離子交換層析(CEX)進一步處理STM 434 DSI；此步驟係使用EMD Fractogel SO3樹脂(Merck)、以流過方式進行。除其他潛在雜質之外，開發此步驟係用於減少宿主細胞DNA及蛋白質，且亦顯示能夠增加STM 434之較高度唾液酸化形式之量。CEX步驟之操作參數描述於表9中。在兩次cGMP純化運作中，使用堆積樹脂高度為21.5 cm、對應管柱體積為33.6 L的管柱。根據75-125 g/L之負載密度範圍，循環運作CEX步驟。

起始層析操作之前，冷凍的STM 434 DSI在2-8℃靜態地解凍4-6天，隨後在環境溫度下儲存隔夜。如下製備供使用的CEX管柱：首先使最少三個管柱體積(CV)之50 mM乙酸鈉、500 mM氯化鈉pH 5.0流過，隨後使最少三個CV的50 mM乙酸鈉、70 mM氯化鈉pH 5.0流過。接著將解凍的STM 434 DSI加載至管柱上。在兩次cGMP純化運作中，將總體積不同的STM 434 DSI加載至CEX管柱上，各批次來自不

同的上游程序運作。第一次運作中之STM 434 DSI批次0010039909的總體積為260.6 L(22 Flexboys)，STM 434總質量為2907公克。第二次運作中之STM 434 DSI批次0010039910的總體積為294 L(25 Flexboys)，STM 434總質量為3376公克。

當UV吸光度在280 nm達到 0.50 ± 0.1 OD時，藉由切換通過無菌過濾器流向無菌收集袋的溶離液流速來開始收集含有產物的溶離液。將所有DSI加載至管柱上之後，接著用50 mM乙酸鈉pH 5.0洗滌CEX管柱。持續收集含有產物的溶離液(CEX合併物)直至280 nm下的UV吸光度達到 0.50 ± 0.1 OD。切換回至50 mM乙酸鈉、500 mM氯化鈉pH 5.0之前，使最少三個CV的洗滌緩衝液流過管柱以洗淨管柱，隨後使用最少三個CV的0.5 N氫氧化鈉對管柱進行衛生處理，隨後使用最少三個CV的0.1 N氫氧化鈉用於儲存管柱。對CEX合併物進行無菌取樣用於製程內測試，如表13中所述，且在環境溫度下保存隔夜。

表9. 陽離子交換層析操作參數

參數	目標範圍
床層高度	20 ± 2 cm
負載密度	75-125 g STM 434/L樹脂
流速	≤ 4.7 LPM (目標: 250 cm/hr)
加載前pH	pH 4.8-5.2，17-25°C
加載前電導率	9-11 mS/cm

疏水性相互作用層析

對STM 434 CEX合併物進行疏水性相互作用層析(HIC)；此步驟係使用苯基瓊脂糖FF High Sub樹脂(GE Healthcare)、以流過方式進行。開發此步驟用於減少產物聚集物及其他潛在的製程雜質。HIC步驟之操作參數描述於表10中。在兩次cGMP純化運作中，使用堆積樹脂高度為27.0 cm、對應管柱體積為42.2 L的管柱。根據50 g/L之最大負荷密度，HIC步驟係以每批兩個循環進行。

藉由用由750 mM硫酸鈉、250 mM乙酸鈉、69.5 mM Tris鹼pH

10.5組成的稀釋緩衝液調節合併物來製備用於HIC步驟的CEX合併物。調節比率為每四份CEX合併物一份稀釋緩衝液。將經調節之CEX合併物混合的同時，藉由使最少三個CV的150 mM硫酸鈉、50 mM乙酸鈉pH 5.5流過來使HIC管柱平衡。一旦滿足管柱排出物之初始pH及電導率(如表10中所註明)，則將經調節之CEX合併物(HIC負載)的一半加載至管柱上。當280 nm下的UV吸光度達到 0.2 ± 0.1 OD時，藉由切換流向收集袋的溶離液流速來開始收集含有產物的溶離液(HIC合併物)。將全部HIC負載加載至管柱上之後，接著用150 mM硫酸鈉、50 mM乙酸鈉pH 5.5洗滌HIC管柱。繼續收集HIC合併物直至280 nm下的UV吸光度達到 1.50 ± 0.1 OD，此時將排出模式切換回為廢棄物收集。抽吸最少三個CV的洗滌緩衝液通過管柱，隨後抽吸最少三個CV的0.5 N氫氧化鈉以洗淨管柱。接著用最少三個CV的WFI洗滌管柱以完成第一循環。在再生步驟期間，將第一循環HIC合併物混合以確保均一性且接著經由無菌過濾器轉移至無菌生物處理袋中。

WFI管柱洗滌一經完成，則重複HIC平衡程序，隨後對HIC負載之剩餘一半進行HIC加工，如上文所述。將第二循環HIC合併物混合且接著經由無菌過濾器轉移至容納第一循環HIC合併物的生物處理袋中。合併之HIC合併物在環境溫度下保持以便儲存隔夜。0.5 N氫氧化鈉洗淨管柱之後，藉由抽吸最少三個CV通過管柱而將HIC管柱儲存於0.1 N氫氧化鈉中。如表13中所述，收集多個樣品用於製程內測試。

表10. 疏水性相互作用層析操作參數

參數	目標範圍
床層高度	25 ± 2 cm
最大負載密度	50 g STM 434/L樹脂
流速	≤ 4.7 LPM
加載前pH	pH 5.4-5.6，17-25°C
加載前電導率	23-27 mS/cm

病毒過濾

合併之 HIC 合併物經由 Planova 20 N 過濾器 (Asahi Kasei Bioprocess ; 4.0 m²薄膜面積)、以正交病毒減少步驟過濾。在處理含有產物的合併物之前，使用13.5-14.0 psig之入口壓力對過濾器進行洩漏測試。通過洩漏測試後，將0.2 µm Sartopore 2膜盒(Sartorius ; 0.2 m²薄膜面積)安裝於病毒過濾器上游，且此系統根據表11中所列的參數、藉由用40 kg±2 kg 150 mM硫酸鈉、50 mM乙酸鈉pH 5.5沖洗來平衡。混合且取樣之後，以12±2 psig之目標壓力抽吸合併之HIC合併物通過病毒過濾器。經由使過濾器系列直接連接至無菌生物處理袋來收集病毒濾液。一旦合併之HIC合併物過濾完成，則使用不少於16 kg的150 mM硫酸鈉、50 mM乙酸鈉pH 5.5自過濾器及輸送管線中溶離殘餘產物。運作完成之後，對0.2 µm過濾器進行完整性測試(使用泡點測試)，且病毒過濾器用最少16 L的0.25 N氫氧化鈉、0.5%(v/v) Triton X-100、隨後用最少32 L的WFI來沖洗。此等沖洗之後，對病毒過濾器進行金粒子測試，以確保孔徑分佈，隨後進行使用後洩漏測試。將病毒濾液轉移至在無再循環空氣的設備以及專用空氣操縱單元中具有最高正壓力的後病毒套件中，且在環境溫度下保持。如表13中所述，收集用於製程內測試的樣品。

表11. 病毒過濾操作參數

參數	設定點
使用前洩漏測試(病毒過濾器)	13.5-14.0 psig
操作壓力	12 ± 2 psig
過濾器負載極限	≤ 325 L/m ²
平衡pH	pH 5.4-5.6 , 17-25°C
平衡電導率	23-27 mS/cm
使用後完整性測試(0.2 µm過濾器)	WFI泡點 ≥ 46 psig
使用後洩漏測試(病毒過濾器)	13.5-14.0 psig

藉由切向流過濾進行的超濾/透濾

經由使用切向流過濾(TFF)而對STM 434病毒濾液進行超濾(UF)及透濾(DF)以相對於原料藥的最終調配物來達成原料藥的緩衝-交換

及濃縮。使用兩種關鍵溶液來獲得經調配的批量原料藥。此等溶液為：(1) 10 mM磷酸鉀、8.8%(w/v)蔗糖，pH 6.7，及(2) 1%(w/v) Tween-20(聚山梨醇酯20)。此等溶液係依需製備。

在TFF步驟中，根據 $400 \pm 50 \text{ g/m}^2$ 之目標負載，使用四個Pellicon 3 Ultracel TFF薄膜(Millipore；10 kDa標稱分子量限值；各 1.14 m^2 薄膜面積)處理循環中之全部病毒濾液。新薄膜用WFI沖洗直至滯留物電導率低於其設定點，如表12中所述，隨後用0.5 N氫氧化鈉沖洗，直至滲透物沖洗體積達到40 L之最小值。初始薄膜沖洗之後，且在經由所用薄膜之TFF處理開始時，用WFI自系統沖洗掉鹼直至滯留物及滲透物電導率低於其設定點(表12)。執行過濾器完整性測試(使用標準化水滲透性測試)之後，藉由抽吸最少40 L之0.5 N氫氧化鈉通過系統來進行消毒，其中消毒溶液在系統中保持1-24小時。消毒之後，TFF系統再次用WFI沖洗，直至滯留物及滲透物電導率低於其設定點(表12)，且滯留物沖洗體積達到40 L之最小值。

為了起始STM 434病毒濾液處理，系統用10 mM磷酸鉀、8.8%(w/v)蔗糖pH 6.7平衡。一旦滯留物及滲透物pH達到pH 6.5-6.9之目標範圍(其中滲透物沖洗體積不小於20 L)，則平衡完成。混合病毒濾液且自滯留物容器之上部及下部取樣以量測蛋白質濃度，確保完全混合且蛋白質/表面積比率滿足其目標(表12)。接著藉由UF起始蛋白質濃縮，其中調節饋料流速以達成 $20 \pm 5 \text{ psig}$ 之跨膜壓力。當達到對應於60 g/L蛋白質濃度的滯留物體積時，自滯留物容器之上部及下部獲取滯留物樣品以確認蛋白質濃度。滯留物接著相對於10個透濾體積之10 mM磷酸鉀、8.8%(w/v)蔗糖(pH 6.7)進行透濾。透濾完成之後，恢復超濾以使滯留物濃度達成105 g/L之目標值(根據達成此濃度的滯留物體積)。將TFF系統之滯留物一側排入滯留物容器中之後，系統用5 L 10 mM磷酸鉀、8.8%(w/v)蔗糖(pH 6.7)沖洗，且添加沖洗液至滯留

物容器中。混合10-15分鐘之後，自滯留物之上部及下部取樣用於量測蛋白質濃度，確保充分混合及產物在透濾步驟期間的濃縮。滯留物視需要進一步用10 mM磷酸鉀、8.8%(w/v)蔗糖(pH 6.7)稀釋，以使最終濃度達成 70.0 ± 3.5 g/L。最終TFF合併物在最後調配且批量填充之前，無菌過濾至生物處理袋中儲存。如表13中所述，收集滯留物樣品用於製程內測試。

表12. 切向流過濾操作參數

參數	設定點
蛋白質/表面積比率	$\leq 600 \text{ g/m}^2$ (目標: $400 \pm 50 \text{ g/m}^2$)
跨膜壓力	15-25 psig
饋料流速	每小時 270 L/m^2 (LMH)
滯留物電導率(初始WFI沖洗)	$\leq 1000 \text{ }\mu\text{S/cm}$
滯留物及滲透物電導率 (後NaOH沖洗液)	$\leq 1000 \text{ }\mu\text{S/cm}$
平衡後的滲透物pH	pH 6.5-6.9
超濾之第一階段的濃度目標值	60 g/L
透濾體積	≥ 10 個透濾體積
超濾之第二階段的濃度目標值	105 g/L
濃度目標(最終)	$70.0 \pm 3.5 \text{ g/L}$

原料藥之最終調配及填充

製備最終調配的STM 434原料藥且在TFF步驟之後填充。向TFF合併物中添加足夠體積的1%(w/v)聚山梨醇酯20溶液，以使得最終聚山梨醇酯20濃度為 $0.006\% \pm 0.003\%$ (w/v)。添加界面活性劑之後，將批量原料藥混合10-15分鐘。將填充套件中的層狀氣流罩，且配置填充設備，包括Opticap XL5 0.22 μm 過濾器膜盒(Millipore；0.35 m^2 薄膜面積)。將最終調配的原料藥過濾之前，過濾器用 30 ± 1 L之STM 434調配緩衝液(10 mM磷酸鉀、8.8% [w/v]蔗糖、0.006% [w/v]聚山梨醇酯20，pH 6.7)沖洗，以使聚山梨醇酯20浸透薄膜且避免其自所調配的原料藥中移除。用調配緩衝液沖洗之後，用340-360 g所調配的原料藥沖洗過濾器，丟棄沖洗液。剩餘的所調配原料藥接著過濾至10 L聚碳酸酯壇中，直至每個壇 5500 ± 500 mL之目標體積。過濾之後，對過濾

器進行完整性測試(使用泡點測試)。最後的壇可用超過目標體積、但通常不超過8 L的所調配原料藥填充。取樣用於製程內測試(僅供參考)及批次釋放測試，隨後在80 in-lb之扭力設定下確保壇封閉。對壇作出標記，且接著在-70℃儲存。

在STM 434純化過程中的製程內監測

如表13中所述，在純化過程中收集且評估樣品。

表13. 在STM 434純化過程中的製程內監測

測試方法	所報導之參數	步驟/所測試之樣品						
		收穫物	蛋白質A層析	病毒不活化	CEX	HIC	病毒過濾	TFF
蛋白質A HPLC	STM 434濃度	深度濾液	—	—	—	—	—	—
根據UV吸光度進行的蛋白質濃縮	STM 434濃度	—	所有循環組合的合併物	FVIP	負載，合併物	兩個循環，合併物	濾液	滯留物
CHO HCP ELISA	HCP含量	深度濾液	組合的合併物	FVIP	負載，合併物	合併物	—	—
針對CHO DNA的Q-PCR	CHO DNA含量	深度濾液	組合的合併物	FVIP	負載，合併物	合併物	—	—
殘餘蛋白質A ELISA	殘餘蛋白質A含量	—	第一及最後循環組合的合併物	FVIP	負載，合併物	合併物	—	—
藉由薄膜過濾進行的TAMC	生物負荷	深度濾液	組合的合併物	FVIP	負載，合併物	—	—	滯留物
藉由薄膜過濾進行的TYMC	生物負荷	—	—	—	負載，合併物	—	—	滯留物
細菌性內毒素含量(動力學LAL)	生物負荷	深度濾液	組合的合併物	FVIP	負載，合併物	—	—	滯留物
尺寸排阻HPLC	純度	—	組合的合併物	FVIP	負載，合併物	兩個循環，合併物	濾液	滯留物
CE-SDS，還原型	純度	—	組合的合併物	FVIP	負載，合併物	—	—	滯留物
CE-SDS，非還原型	純度	—	—	FVIP	負載，合併物	—	—	—

icIEF	純度	—	—	—	負 載 ， 合併物	兩個循環，合 併物	—	滯留物
唾液酸含量	純度	—	—	—	負 載 ， 合併物	兩個循環，合 併物	—	—

CE-SDS=十二烷基硫酸鈉毛細電泳法；CEX=陽離子交換層析；
CFU=群落形成單位；CHO=中國倉鼠卵巢；ELISA=酶聯免疫吸附分
析；FVIP=經過濾的病毒不活化合併物；HCP=宿主細胞蛋白質；
HIC=疏水性相互作用層析；icIEF=成像毛細管等電聚焦；LAL=蠟變
形細胞溶菌液；Q-PCR=定量聚合酶鏈反應；TAMC=總好氧性微生物
計數；TFF=切向流過濾；TYMC=總酵母及黴菌計數

方法步驟及總產量

STM 434 cGMP原料藥製造運作的個別步驟產率提供於表14中。
總體而言，該方法可再現且為1期臨床試驗提供足夠的材料。

表14. STM 434步驟及總產率計算

	DSI批次0010039909			
由Amgen執行之單元操作	體積(L)	濃 度 (g/L)	總蛋白 質(g)	步驟產率 (%)*
收穫物培養基	1653	2.35	3884.6	--
收穫物深度濾液	1730	2.06	3562.8	92%
蛋白質A層析負載*	216.2	15.2	3286.2	92%
蛋白質A層析合併物	216.2	15.2	3286.2	100%
經過濾之病毒不活化合併物 (DSI)	289.8	11.2	3245.8	99%
總產率*				84%

	DSI批次0010039910			
體積(L)	濃 度 (g/L)	總蛋白 質(g)	步驟產率 (%)*	
1790	2.64	4725.6	--	
1820	2.36	4295.2	91%	
1615	2.36	3811.4	89%*	
225.9	15.7	3546.6	83%	
296.9	11.6	3444.0	97%	
總產率*			73%	

	DS 批次 13-0066 (得自 DSI 批次 0010039909)			
由CMC Biologics執行之單元操作	體積(L)	濃 度 (g/L)	總蛋白 質(g)	步驟產率 (%)**
CEX負載(相當於DSI)	259.9	11.256	2925.4	--
CEX合併物	269.3	8.844	2381.7	81%

	DS 批次 13-0067 (得自 DSI 批次 0010039910)			
體積(L)	濃 度 (g/L)	總蛋白 質(g)	步驟產率 (%)**	
294.2	11.472	3375.1	--	
302.8	9.405	2847.8	84%	

HIC 負載(經調節之CEX合併物)	338.8	7.038	2384.5	100%	377.5	7.107	2682.9	94%	
HIC合併物	442.7	4.882	2161.3	91%	491.7	5.067	2491.4	93%	
病毒濾液/TFF負載	457.3	4.535	2073.9	96%	504.3	4.906	2474.1	99%	
TFF合併物	28.0	67.416	1887.6	91%	36.7	67.788	2487.8	101%	
批量原料藥	28.060	68.800	1930.5	102%	36.640	70.300	2575.8	104%	
CMC Biologics所得之總產率**				66%	CMC Biologics所得之總產率**				76%

* Amgen所報導之產率百分比係基於各製造運作中之細胞培養收穫物之初始輸入量。兩次運作之不同歸因於不同生物反應器的產率，及Amgen將蛋白質A層析步驟限於五個循環、同時維持靶蛋白負載參數的決定。

** CMC Biologics所報導之產率百分比係基於DSI之初始輸入量，各製造運作的可用體積不同。此章節之表中所報導的DSI濃度值為CMC Biologics所測定之彼等值。

實例2：製造方法及製程控制之描述

經調配之批量原料藥經冷凍裝運用於無菌加工成未標記藥品，接著裝運用於標記、封裝及分配至臨床地點。各STM 434注射批次包括可供臨床試驗中使用之最少7000個填充小瓶。最終藥品處理之方法流程圖顯示於圖3中。

組分製備及設備

自玻璃製造商封裝中移出小瓶且用熱注射用水(WFI)洗滌。經洗滌的小瓶接著置放於經覆蓋的不鏽鋼盤中且在乾燥的熱滅菌烘箱中去熱源。滅菌烘箱空氣係經HEPA過濾。塞子用熱WFI洗滌及沖洗，隨後在高壓釜中滅菌及乾燥。所有無菌/去熱源組分在使用之前儲存於受控制的環境中。

使用過度殺傷方法來產生及驗證蒸汽滅菌循環。所用循環提供至少 1×10^{-6} 之滅菌保證水準(SAL)。所用的乾熱式去熱源循環使內毒

素減少最少3個對數。

製造方法

來料控制包括身分測試及所調配之批量原料藥分析證書之可接受性確認。STM 434原料藥在2-8℃靜態解凍(不少於7天)且在此溫度下保存供進一步處理。將材料移至操作區域且允許平衡至室溫(30-60分鐘)。對於典型的批料而言，將各含有5.5 L的2個壇彙集於13 L玻璃壇中且以300 rpm混合不少於10分鐘。收集樣品用於生物負荷測試。彙集及混合操作在根據ISO第7類(先前為FS209E第10,000類)控制的環境區域中進行。接著將含有經合併之所調配本體溶液的容器轉移，準備進行產物過濾滅菌。此彙集的容器連接至經熱壓處理之過濾器總成。過濾器總成[管道]亦連接至填充緩衝容器。溶液藉由膜過濾、經由串聯使用的兩個滅菌級過濾器來滅菌，其中孔徑等級為0.22 μm。將薄膜過濾器滅菌且在使用之前及之後進行完整性測試(使用泡點測試)。根據書面規格測試樣品。

含有經合併之所調配無菌本體溶液的填充緩衝容器接著無菌連接至填充器。經合併之所調配無菌本體溶液無菌填充於無菌去熱源小瓶中。接著將無菌塞子及密封件置放於RABS單元內的各小瓶上。填充操作由穿適合實驗長衣且經培訓之操作員執行。此等操作經設計、配備及操作，以提供適於無菌產物處理的環境條件。

在填充操作期間進行填充重量檢查。將小瓶填充、塞緊且密封之後，對其進行所有檢驗以確保無外來可見顆粒、沈澱物、可見污染、溢出跡象、小瓶破裂，或不可接受的塞子或密封件。另外，由品質部門對整批小瓶進行統計學取樣且檢驗。

此時收集樣品小瓶用於QC測試。所有可接受之小瓶在-20±5℃至-70±10℃隔離儲存置放。

受控制的環境區域維持於經HEPA過濾之空氣的正壓力下以降低

經空氣傳播之污染的可能性。定期監測過濾器之效能。接近填充室限於與填充操作有關的人員，其已完成無菌操作方面的必要培訓。

在無菌操作(諸如填充及塞緊)期間，監測ISO第5類環境中的微生物含量及非生命微粒含量。確立有生命污染物與非生命微粒的適當作用及報警級別，以確保填充環境空氣及重要表面的適當品質。

培養基填充驗證

依常規間隔時間(6個月)進行模擬填充操作的培養基填充，以另外保證人員、設施及設備之無菌處理能力。根據核准之方案進行培養基填充。

用來驗證藥品製造中所用之特定過濾、填充、塞緊及加蓋程序的製程模擬(培養基填充)資料包括(但不限於)填充室標記符號、容器封閉件類型及尺寸、培養基體積、培養基類型、所填充之單元數目、填充持續時間及容納時間段、所培育之單元數目、陽性單元數目、培育參數、培養基填充日期、製程干預、微生物監測及製程參數。

初始將培養基填充樣品小瓶渦旋/倒置以確保TSB已與所有內部表面接觸，容器在20°C -25°C 豎直培育7天(不少於168個小時)，隨後在30-35°C 倒置培育另外7天(不少於168小時)。培育之後，對培養基小瓶之代表性樣品進行藥典(USP)生長促進測試。培育後生長促進測試失敗的結果為培養基填充運作無效。失敗或無效的所有培養基填充運作之後進行研究。設計合併最壞情形及/或挑戰條件的製程模擬。托承概念適用於最壞情形容器封閉件組合之定義。最壞情形格式之定義係基於小瓶體積、尺寸、孔口及製程複雜性(亦即液體或冷凍乾燥)。由於凍乾方法之複雜性較高，因此冷凍乾燥方法可為液體方法之代表。每次培養基填充時進行常規干預。

標記及封裝(主要容器)

填充/修整操作之後，將STM 434注射小瓶置放於紙板箱中用於

中間儲存。紙箱經標記而含有產品特定資訊及批次特定資訊且接著冷凍儲存置放。此等小瓶紙箱在-70±10℃裝運，且紙箱中之小瓶在-20±5℃儲存。標記操作係在室溫套房中進行。將小批量小瓶置於套房中且在12小時內標記，接著恢復至-20±5℃。藉由將外部的殘餘凝聚物擦掉且接著貼附標記來備妥用於標記的各小瓶。

檢驗所印刷的組件以確保內容根據主標記為適當的。檢驗完成時，釋放標記用於初始容器上。標記及封裝方法使用核准的書面程序。

實例3：STM 434之分批配方

STM 434注射劑係以70 mg/mL STM 434、10 mM磷酸鉀、8.8%(w/v)蔗糖、0.006%(w/v)聚山梨醇酯20 (pH 6.7)調配。各5 mL小瓶標稱地填充有不少於1.0 mL的STM 434原料藥。對於cGMP頭兩批STM 434注射劑中之每一者而言，自執行藥品製造的CMC Biologics接收11 L STM 434原料藥。此體積在表15中用於定義每批料中各組分量。

表15. STM 434注射劑之組分及典型分批量

成分	等級	每毫升之含量	每批料(11 L)之含量
STM 434	S-SPEC-QA-002	70 mg	770公克
磷酸二氫鉀	NF, Ph. Eur.	0.714 mg	7.854公克
磷酸氫二鉀	USP, Ph. Eur.	0.827 mg	9.097公克
蔗糖	NF, Ph. Eur., BP, JP	88.0 mg	968公克
聚山梨醇酯20	NF, Ph. Eur., BP	0.06 mg	0.66公克
鹽酸	NF, Ph. Eur., BP	依需	依需
注射用水	USP, Ph. Eur.	補足至目標重量	補足至目標重量

實例4：STM 434研究方案。

研究目標

研究的第一目標為定義患有卵巢癌或其他晚期實體腫瘤之個體

對於STM 434作為單一療法或與脂質體阿黴素化學療法組合投與的最大耐受劑量(MTD)。

第二目標如下：

- 在無MTD的情況下定義2期建議劑量(RP2D)
- 在用STM 434治療期間，利用實驗室測試、心電圖(ECG)及生命體征評估不良事件(AE)及臨床顯著變化的發生率
- 評估抗STM 434抗體形成的發生率
- 收集用STM 434治療期間的藥物動力學(PK)資料
- 收集用STM 434治療期間的ECG資料
- 收集用STM 434治療期間的初步抗腫瘤功效資料
- 評估抗腫瘤功效資料與以下中之每一者之間的關係：血清活化素A、腫瘤INHBA/ACVR2B mRNA含量，及透明細胞/子宮內膜/顆粒層腫瘤突變狀態
- 收集瘦體質量、脂肪質量、骨礦物質密度(無骨轉移的個體)、脂質分佈、空腹葡萄糖、空腹胰島素、恆穩模型評估(HOMA)、血紅素A1c(HbA1c)，及用STM 434治療期間的6分鐘行走距離
- 收集生物標記(諸如癌症抗原-125 [CA-125]、前列腺特異性抗原[PSA]、碳水化合物抗原19-9 [CA 19-9]、癌胚抗原[CEA])、活化素A、卵泡刺激激素(FSH)、雌二醇及睪固酮之基線及治療時資料

研究之探索性目標為評估PK參數與PD參數之間的關係、體重、身體表面積、瘦體質量、脂肪質量、四肢瘦肉質量、骨礦物質密度(無骨轉移的個體)、脂質分佈、空腹葡萄糖、空腹胰島素、6分鐘行走距離、抗藥物抗體形成、生物標記及ECG資料。

研究設計

此為患有卵巢癌或晚期實體腫瘤之成人個體的多中心、開放標記、單一組別研究。研究分三個部分進行，如下所述。研究程序之概

述顯示於表16中。

研究之第1部分

第1部分為患有晚期實體腫瘤之個體的開放標記、劑量遞增研究，其併有3+3設計。5個按計劃依序給藥組中募集總共15-30位個體，以評價IV STM 434在5種劑量(0.25 mg/kg IV、0.5 mg/kg IV、1 mg/kg IV、2 mg/kg IV及4 mg/kg IV)下的安全、耐受性及PK概況。在劑量限制毒性(DLT)評估窗期間，在缺乏安全信號的情況下，依計劃的100%劑量增量增加STM 434。若觀測到安全信號(≥ 2 個臨床上顯著的STM 434相關2級AE或1個STM 434相關3級毒性)，各群組之間的所有進一步劑量遞增均以 $\leq 50\%$ 的劑量增量進行且可研究另一種適當的劑量水準以避免過度毒性。依序評估各劑量水準，且各劑量組由3-6位個體組成(數目將視是否觀測DLT而定)。

一個群組相對於下一個群組的劑量遞增將由主持者聯合研究者確定，且將基於治療引發的AE、臨床實驗資料、身體檢查結果(包括生命體征)、ECG，及群組內之所有3位個體已完成28天治療之後的可用PK資料。若個體在研究治療之最初28天期間之DLT或STM 434相關性重度AE(SAE)發生率為 $< 33\%$ ，則將進行劑量遞增。

在指定群組中，若3位個體在距離STM 434初始投與的28天期間均未經歷DLT，則將進行劑量遞增，且募集3位個體加入下一個劑量水準的群組。然而，若觀測到 ≥ 2 個臨床上顯著的2級STM 434相關性AE或1個STM 434相關性3級AE，則所有進一步劑量遞增將降低至 $\leq 50\%$ 劑量增量。若一個群組之3位個體中有1位經歷DLT，則在相同的劑量水準下募集3位其他個體。若一個群組內之6位個體僅有1位在治療的最初28天期間經歷DLT或STM 434相關性SAE，則可開始募集下一個群組。若觀測到DLT，則所有的進一步劑量遞增將降低至 $\leq 50\%$ 劑量增量。若一個群組內之6位個體中有2位或超過2位在治療的

最初28天期間經歷DLT或STM 434相關性SAE，則此劑量將視為毒性劑量。劑量遞增可根據出現的毒性、PK或PD資料、依較低劑量或不太頻繁的時程進行，直至MTD確定。若PK資料觀測值低於預測水準，則可探索每4週高於4 mg/kg的劑量。

研究之第2部分

第2部分為開放標記式研究，其經設計以獲得患有晚期卵巢/子宮內膜透明細胞、顆粒層及卵巢/輸卵管/原發性腹膜漿液性腫瘤之個體的其他安全及探索性功效資料。在研究之此部分中，募集總共24位個體，分成2組。一組將包括6位患有透明細胞腺癌的個體及6位患有顆粒層細胞腫瘤的個體；第二組將包括12位患有漿液性腫瘤的個體。所有個體將靜脈內接受RP2D的STM 434。第1部分中之RP2D一經確立，則第2部分中之募集可發生。

研究之第3部分

第3部分為STM 434與脂質體阿黴素化學療法組合用於患有卵巢癌、輸卵管癌或原發性腹膜癌之個體的開放標記式劑量遞增研究，該研究併有3+3設計，該等個體已接受基於鉑之化學療法療程的先前治療或不能接受基於鉑之化學療法。第1部分完成且RP2D確立之後，募集6至12位個體加入第3部分。第2部分及第3部分將同時募集個體。第3部分中的個體將分成2個劑量組(各3-6位個體)評估(每組個體數目視是否觀測DLT而定)。一組將接受低於RP2D的一種劑量水準的STM 434且第二組將接受RP2D之STM 434；兩組將接受40 mg/m²之脂質體阿黴素。

兩組個體在接受STM 434之前將接受脂質體阿黴素之輸注。每次投與脂質體阿黴素之前，將評估實驗室研究，包括多閘控式擷取(MUGA)掃描。需要時，可根據毒性管理準則實現40 mg/m²至30 mg/m²之劑量降低。

評估STM 434伴隨脂質體阿黴素投與時的安全、耐受性及PK概況。首先評估STM 434的較低劑量(亦即低於RP2D的一種劑量水準)；劑量遞增將由主持者聯合研究者一起確定且將基於治療引發的AE、臨床實驗室資料、身體檢查結果(包括生命體征)、ECG，及群組內之所有3位個體使用針對第1部分概述的3+3設計已完成28天治療之後的可用PK資料。

劑量限制毒性

DLT定義為任何相關的 ≥ 3 級(根據不良事件之常見術語標準[Common Terminology Criteria for Adverse Events；CTCAE]4.03版)非血液學毒性(排除無關毒性)，或任何 ≥ 4 級的血液學毒性持續7天、發熱性嗜中性球減少症，或3級血小板減少症伴主動性出血。

當毒性已消退至CTCAE級 ≤ 1 或基線值時，且若個體尚未經歷疾病進展，則希望恢復STM 434療法之正經歷DLT的個體可在研究者的判斷下恢復STM 434療法。

最大耐受劑量

MTD定義為群組個體之DLT發生率 $< 33\%$ 的最高劑量水準。

2期建議劑量

考慮MTD、PK、藥效學生物標記及抗腫瘤反應資料來定義RP2D。

隨機分組及不知情

此為開放標記、非隨機、非盲研究。個體以其在研究中合格的次序分配至劑量組。

個體選擇標準

包含標準

若滿足所有以下包含標準，則個體參與此研究視為合格的：

1. ≥ 18 歲的男性及停經後女性

2. 組織學確診為癌症的晚期實體腫瘤

3. 患有復發性轉移性或局部晚期疾病的個體視為可用於其腫瘤之所有標準療法難治癒或不耐受可用於其腫瘤之所有標準療法，或患有無標準療法可供使用之腫瘤的個體

4. 患有視為鉑難治癒/耐藥之漿液性卵巢/輸卵管/原發性腹膜顆粒層細胞腫瘤或透明細胞腫瘤、定義為先前已經歷至少一種基於鉑之化學治療方案(隨後無鉑間隔期<12個月)、在基於鉑之治療期間已進展或在基於鉑治療之後患有持久性疾病的個體為合格的。定義為因毒性而不能進一步接受鉑的不耐受個體為合格的。

5. 使用實體腫瘤(RECIST 1.1)標準中之反應評估標準可度量的疾病

6. 東部腫瘤學合作組織(ECOG)效能狀態為0或1

7. 在無需另一人協助的情況下能夠行走至少30公尺(允許使用輔助裝置，諸如手杖或助行架)

8. 願意且能夠提供書面知情同意書

9. 停經後女性必須滿足以下中之一或多者：

a. 自發性停經12個月

b. 自發性停經6個月，其中FSH>40 IU/L

c. 手術後雙側卵巢切除，伴隨或不伴隨子宮切除

在研究之第2部分中，必須滿足以下額外包含標準：

10. 第6組個體必須患有鉑難治癒/耐藥性/不耐受(如包含標準#4中所定義)的卵巢/子宮內膜透明細胞癌及卵巢顆粒層細胞腫瘤

11. 第7組個體必須患有鉑難治癒/耐藥性/不耐受(如包含標準#4中所定義)的漿液性卵巢/輸卵管/原發性腹膜癌

在研究之第3部分中，必須滿足以下額外包含標準：

12. 第8組及第9組個體必須患有鉑難治癒/耐藥性/不耐受(如包

含標準#4中所定義)的晚期卵巢/輸卵管/原發性腹膜癌

排除標準

若滿足任一以下標準，則個體參與研究將為不合格的：

1. 同時發生的嚴重不受控制或未消退醫學病狀，諸如感染、限制方案順應性或使個體暴露於極端風險
2. 先前抗癌療法的毒性未消退，諸如運動或感覺神經病變，其中CTCAE(4.03版)級 ≥ 2 ，禿髮症除外
3. 第1循環之6個月內第1天發生胃腸出血的病史
4. 存在QTcF >470 msec、遺傳性延長QT間隔的病史，或妨礙評估QT間隔的任何心律不整(諸如束支傳導阻滯)
5. 第1循環之6個月內第1天發生的心肌梗塞、不穩定絞痛，或充血性心臟衰竭(紐約心臟協會) $\geq$ II級
6. 升高的肝功能測試，包括總膽紅素 $>1.5 \times$ 正常值上限(ULN；除非個體已有文件證明吉伯氏疾病)、天冬胺酸轉胺酶(AST)或丙胺酸轉胺酶(ALT) $>3.0 \times$ ULN(對於已知有肝轉移的個體而言，AST或ALT $>5 \times$ ULN)
7. 肌酐 $>1.5 \times$ ULN且估計之肌酐清除率 <60 mL/min(科克羅夫特-高爾特方程式)
8. 血紅素 <9 g/dL；血小板 $<100 \times 10^9$ /L(在第1循環之4週內第1天不必接受輸注)；絕對嗜中性白血球計數(ANC) $<1.5 \times 10^9$ /L(在第1循環之2週內第1天無粒細胞群落刺激因子支持)
9. 在第1循環之3週內第1天進行的化學療法、激素療法或輻射療法(注意：經歷促性腺素釋放激素療法的個體為合格的)
10. 第1循環之5個半衰期或4週(以較長者為準)內第1天進行的抗體/生物療法
11. 第1循環之8週內第1天進行的大手術或第1循環之4週內第1

天進行的小手術

12. 當前腸阻塞(有腸阻塞病史者為合格的)
13. 腦轉移
14. 存在腹水或胸膜積水，需要頻繁(每週超過1次)的醫學介入
15. 存在門靜脈分流裝置或廣泛肝切除(超過一個區段)的病史
16. 已知的人類免疫缺乏病毒(HIV)感染
17. 活動性B型或C型肝炎感染
18. 第1循環之4週內第1天使用任何研究性產品的先前療法
19. 有生育潛力的女性，或具有生育潛力之女性伴侶的男性，不願意使用高度有效的避孕方法(亦即導致每年懷孕率小於1%者)(一致地且正確地使用時)，諸如植入物、可注射劑、組合之口服避孕藥、一些子宮內避孕裝置、禁慾，或伴侶輸精管結紮。男性在其與女性伴侶參與此研究期間不願意使用高度有效的避孕措施及/或在經歷STM 434治療的同時及最後劑量投與之後的3個月期間不願意節制供精。
20. 正哺乳的女性
21. 流鼻血病史，需要在第1循環之6個月內第1天進行醫學或手術介入(諸如鼻填塞術)
22. 中樞神經系統出血病史
23. 出血素因或已知血小板品質缺陷(包括馮威里氏病(von Willebrand disease))之病史
24. 遺傳出血性毛細血管擴張症(HHT，奧斯勒-韋伯-任都症候群(Osler-Weber-Rendu syndrome))之病史
25. 持續需要長期使用阿司匹林(aspirin)或抗血小板藥劑(噻氯匹啉(ticlopidine)或克羅匹多(clopidogrel))；若在篩選期間中斷阿司匹林/抗血小板藥劑，則清除期必須為 ≥ 2 週

在研究之第3部分中，個體若其滿足以下其他排除標準中之任一者，則將為不合格的：

26. 對阿黴素鹽酸鹽之習知調配物或脂質體阿黴素之組分的過敏反應

27. 先前阿黴素鹽酸鹽之累積劑量 $>300 \text{ mg/m}^2$ ，或先前表柔比星之累積劑量 $>500 \text{ mg/m}^2$

28. 在第1循環之30天內的第1天，根據MUGA掃描或超音波心電圖(ECHO)，減小的心臟射血分數小於正常值下限

個體停藥標準

個體在完成研究之前可因任一以下原因而停藥：

- 個體同意停藥
- 出現妨礙進一步參與的DLT或其他AE
- 在30天內經由適當醫學管理不能恢復至CTCAE 1級或小於1級的與STM 434及/或脂質體阿黴素相關的持續副作用(僅對於第3部分而言)。若臨床上重要的個別毒性(因STM 434或脂質體阿黴素)持續超過30天而未恢復至CTCAE 1級或小於1級，則個體可中斷研究。

- 個體對方案的非順應性明顯
- 個體選用受禁止的療法，諸如使用研究性藥劑或裝置
- 臨床病狀惡化，就研究者之觀點而言，需要立即進行特定的醫學療法

- 主持者較早關閉研究

用研究性產物治療

研究藥物之描述及操縱

調配物

STM 434調配為意欲靜脈內投藥的無菌水溶液，其含有70 mg/mL STM 434、10 mM磷酸鉀緩衝液、8.8%(w/v)蔗糖及0.006%(w/v)聚山

梨醇酯20，pH 6.7。

包裝及標記

使用13 mm氟聚合物塞子及13 mm密封件，將經調配的STM 434溶液封裝於5 mL玻璃瓶中(遞送1.0 mL使用1.2 mL之目標填充體積)。各小瓶意欲用於單一用途。

儲存及操縱

STM 434小瓶在非自由結霜冷凍機中、在-20°C (±5°C)之溫度下儲存。產物應根據標記上所提供的資訊來儲存。

使用之前，產物應在冷凍機中、在2°C至8°C解凍隔夜；產物可在此溫度下保持長達7天。應避免使小瓶暴露於較高溫度及劇烈振盪，因為此等狀況可導致STM 434效能及結構完整性降低。一經解凍，產物不應再冷凍。

關於研究藥物供應之任何其他儲存、操縱或更新的穩定性資料，參考藥學手冊(Pharmacy Manual)。

投與研究藥物

STM 434

STM 434將以各組計劃劑量投與，如下文所特定說明。

在第1部分中，計劃劑量組如下：

- 第1組：每4週0.25 mg/kg STM 434 IV
- 第2組：每4週0.5 mg/kg STM 434 IV
- 第3組：每4週1 mg/kg STM 434 IV
- 第4組：每4週2 mg/kg STM 434 IV
- 第5組：每4週4 mg/kg STM 434 IV

在第2部分中，計劃劑量組如下：

- 第6組：每4週向6位患有透明細胞腺癌個體及6位患有顆粒層

細胞腫瘤的個體靜脈內投與RP2D的STM 434

- 第7組：每4週向12位患有漿液性卵巢瘤的個體靜脈內投與RP2D的STM 434

在第3部分中，個體將接受STM 434與脂質體阿黴素。個體首先接受阿黴素輸注；此輸注完成後，個體接著將靜脈內接受STM 434。第3部分中的計劃劑量組如下：

- 第8組：低於RP2D IV之一種劑量水準的STM 434 + 脂質體阿黴素(40 mg/m² IV)，每4週

- 第9組：RP2D IV之STM 434 + 脂質體阿黴素(40 mg/m² IV)，每4週

第1、2及3部分中的個體將用STM 434治療直至疾病進展，除非觀測到不可接受的毒性。疾病進展將基於根據RECIST 1.1標準或腫瘤標記量測值的放射照相量測結果。

若脂質體阿黴素因任何原因(除組合療法之最初28天期間所觀測到的DLT之外)停藥或中斷，則第3部分中的個體可繼續接受STM 434。脂質體阿黴素之劑量修改及調節將遵循此產物的處方資訊。所投與之脂質體阿黴素循環的最大數目為6。

脂質體阿黴素

第3部分中的個體(第8組及第9組)將首先接受脂質體阿黴素(40 mg/m²)輸注；當此輸注完成時，個體接著將接受其靜脈內劑量之STM 434。

高達90 mg之脂質體阿黴素劑量在250 mL 5%右旋糖溶液(D5W)中稀釋。劑量≥90 mg應在500 mL D5W中稀釋。脂質體阿黴素之首次輸注應以每分鐘1 mg之速率投與。若未觀測到輸注反應，則隨後輸注可投與1小時。

用於具有中度致吐性之化學療法的止吐藥應根據機構準則開具處方。

治療持續時間

篩選將始於給藥(第1循環之第1天)之前的長達14天，但放射照相掃描可在研究藥物之第一次劑量開始之前的30天內收集。第1、2及3部分中的個體將用STM 434治療直至疾病進展，除非觀測到不可接受的毒性。疾病進展將基於根據RECIST 1.1標準或腫瘤標記量測值的放射照相量測結果。若使用CA-125作為腫瘤標記量測手段，則根據婦科癌症協作組織(Gynecologic Cancer Intergroup；GCIG)共同準則評價結果。若使用PSA作為腫瘤標記量測手段，則根據前列腺癌工作組織(Prostate Cancer Working Group；PCWG)共同準則評價結果。

若脂質體阿黴素因任何原因(除組合療法之最初28天期間所觀測到的DLT之外)停藥或中斷，則第3部分中的個體可繼續接受STM 434。

功效及安全評估

各功效及安全變數描述如下。

藥物動力學

血液樣品中之STM 434含量將由中央實驗室測定。使用標準非隔室藥物動力學方法，利用血液含量估算以下STM 434 PK參數：

- 終末半衰期($t_{1/2}$)
- 清除率(CL)
- 平均滯留時間(MRT)
- 分佈體積(V_d)
- 穩態體積(V_{ss})

另外，對於除STM 434之外亦將接受脂質體阿黴素的第3部分中之個體(第8組及第9組)而言，收集血液樣品且送至中央實驗室用於測定阿黴素/阿黴素醇含量。估算如上所述的PK參數。

功效評估

放射照相術腫瘤進展

使用基於CT(或MRI)及骨骼掃描(僅有骨轉移的個體)的RECIST 1.1標準，根據研究者的評估來測定放射照相術腫瘤進展。CT或MRI模式之選擇將依據研究者。在基線量測目標病變(若存在，每位個體至多5個)且在整個研究中追蹤。放射照相反應之持續時間將以初始觀測到目標放射照相反應直至疾病進展或死亡之日期的時間來記錄。放射照相無進展存活期將以第1循環之第1天直至放射照相疾病進展或死亡之日期的時間來記錄。

身體組成

瘦體質量、四肢瘦肌肉質量及脂肪質量以及脂肪分佈(內臟及皮下)將藉由DXA測定，如放射學手冊(Radiology Manual)中所詳述。DXA掃描將由中央放射學實驗室分析。

肌肉功能測試：6分鐘行走測試

描述

6MWT係量測個體當在平坦表面上行走6分鐘時間段時所涵蓋的距離。在此研究中，6MWT將根據美國胸科學會(American Thoracic Society；ATS)進行。此等準則係針對可能同時患有心臟或肺病且身體活力程度總體降低的患者(類似於晚期腫瘤患者)而開發。因此，當前研究中之6MWT程序已根據ATS準則作出計劃。

人員培訓

惟由主持者/主持者代表培訓的現場人員才可執行6MWT。在主持者/主持者代表評價所用面積之前，現場可不開始執行6MWT，且培訓將執行測試的現場人員。在研究期間，針對每位個別個體的所有評估必須使用相同面積。

實驗室功效參數

生物標記

腫瘤生物標記

在基線及在整個研究中將監測血清腫瘤生物標記(諸如CA-125(用於患有卵巢癌之個體、PSA(用於患有前列腺癌之個體)、CA 19-9(用於患有胰臟癌之個體)、及CEA(用於患有結腸癌之個體))。評估腫瘤標記反應及腫瘤標記進展(TTMP)。若使用CA-125作為腫瘤標記量測手段，則根據婦科癌症協作組織(GCIG)共同準則評價結果。若使用PSA作為腫瘤標記量測手段，則根據前列腺癌工作組織(PCWG)共同準則評價結果。

血清腫瘤生物標記(活化素A、FSH、雌二醇、睪固酮)

由於STM 434抑制活化素信號傳導，因此將確定血清活化素含量是否為反映STM 434抑制標靶之程度的藥效學生物標記。由於活化素為刺激FSH及性激素(雌二醇、睪固酮)釋放之內分泌反饋機制的一部分，因此此等內分泌生物標記亦作為潛在的藥效學功效生物標記加以評估。

活化素A將由中央實驗室測定以確保個體之間的可比性。FSH、雌二醇及睪固酮將由本地實驗室評估。樣品操縱說明書提供於實驗室手冊(Laboratory Manual)中。

組織腫瘤生物標記

藉由在篩選時及第4循環之第1天訪視時使用經驗證之RNAScope®分析量測受體ACVR2B及配位體INHBA之mRNA(所有個體)來檢查經福馬林(Formalin)固定、經石蠟嵌埋之腫瘤切片中的自分泌/旁分泌信號傳導。在篩選時藉由DNA測序來測定FOXL2基因突變狀態(針對患有顆粒層細胞腫瘤的個體)。ARID1A基因突變狀態將藉由下一代測序、比較腫瘤DNA與得自全血的體細胞DNA(針對患有透明細胞/子宮內膜腫瘤的個體)來測定；此分析亦可測定存在於微晶片上之其他癌症基因的序列。由於此等資料之臨床相關性尚未確立，因此個體將不

被告知突變分析結果。樣品(組織切片或腫瘤包埋檢體)將根據實驗室手冊中的說明書裝運至中央實驗室。

循環腫瘤細胞

活化素信號傳導為維持一些腫瘤類型中之癌症幹細胞群所必需的。因此，CTC含量減少可反映STM 434之藥效學活性。在此研究中，將在篩選時及第2循環之第1天使用經驗證之CellSearch®平台對CTC進行計數。樣品將根據實驗室手冊中的說明書裝運至中央實驗室。

血清脂質

由於STM 434之抗活化素及抗肌肉生長抑制素藥理學可引起肌肉質量增加，因此將確定所治療個體中之血清脂質含量是否會受到影響。

藉由恆穩模型評估空腹血清葡萄糖及胰島素

胰島素抗性(IR)及高血糖症為心血管併發症發展的風險因素。在臨床前研究中，STM 434替代物STM 217使IR改良。儘管高胰島素-正常血液葡萄糖鉗夾技術為量測IR的黃金標準，但此方法的複雜性限制了其使用。已利用透析個體研究更實用的方法HOMA，其使用葡萄糖及胰島素之空腹含量。使用HOMA所得的量測值與使用高胰島素-正常血液葡萄糖鉗夾技術所得的量測值良好相關。

HbA1c由美國糖尿病協會(American Diabetes Association)推薦，用於評價血糖控制。在此研究中評價HbA1c補充空腹葡萄糖及空腹胰島素測試且將提供葡萄糖隨時間控制的整合式量測手段。

統計分析

端點

初始端點

初始端點如下：

- 第1部分：患有卵巢癌或其他晚期實體腫瘤之個體之STM 434
單一療法的MTD

- 第2部分：患有卵巢/輸卵管/原發性腹膜/子宮內膜腫瘤之個體
之AE在實驗室測試中之發生及臨床顯著變化、ECG，及生命體征

- 第3部分：STM 434與脂質體阿黴素化學療法組合投與患有卵
巢/輸卵管/原發性腹膜癌症之個體的MTD

第二端點

第二端點(第1部分、第2部分及第3部分，除非另外指明)包括以下：

- 在不存在MTD情況下的RP2D(第1部分及第3部分)
- AE在實驗室測試中之發生及臨床顯著變化、ECG及生命體征
(第1部分及第3部分)

- STM 434抗體形成之發生

- STM 434之PK概況

- 阿黴素/阿黴素醇之PK概況(第3部分)

- 個體對FACT-NTX神經病變問卷的反應

- 放射照相反應率(rRR)

- 放射照相反應(dRR)之持續時間

- 放射照相無進展存活率(rPFS)

- 腫瘤標記反應率(TMRR)

- 達成腫瘤標記進展的時間(TTTMP)

- 基線及治療時活化素A血清濃度、腫瘤INHBA/ACVR2B mRNA
含量及腫瘤突變狀態(患有透明細胞/子宮內膜/顆粒層細胞腫瘤之個
體)與抗腫瘤功效量測值的相關性

- 瘦體質量、四肢瘦肉質量、脂肪質量(內臟及皮下)、脂質概
況、空腹葡萄糖、空腹胰島素、HOMA、HbA1c及6分鐘行走距離相

對於基線的變化

探索性端點

探索性端點(第1部分、第2部分及第3部分)如下：

- PK參數與抗腫瘤功效、骨礦物質密度(未發生骨轉移的個體)、脂質概況、空腹葡萄糖、空腹胰島素、HbA1c、6分鐘行走距離、抗藥物抗體形成、生物標記或ECG資料之間的相關性

分析群

針對功效、安全及PK的分析群分別描述如下。

- 功效分析群將包括接受STM 434投與至少4週的所有個體。功效端點之二次分析將針對接受STM 434投與至少12週的所有個體進行。

- 安全分析群將包括接受至少1次劑量之STM 434的所有個體。

- PK分析群將包括接受至少1次劑量之STM 434且提供至少1個PK樣品的所有個體。

功效分析

rRR、dRR及rPFS將根據RECIST 1.1定義且使用描述性統計學及卡普蘭-邁耶方法(Kaplan-Meier methods)分析。對於rPFS而言，未經歷疾病進展或死亡的個體在其最後成像掃描之日檢查用於疾病評估。

TMRR及TTTMP將依據適當的共同準則定義，且使用描述性統計學及卡普蘭-邁耶方法分析。

藥物動力學分析

使用標準非隔室PK方法估算單獨及與脂質體阿黴素組合之STM 434的PK參數且使用描述性統計學(平均值、標準差、中值、最小值及最大值)概述。

使暴露量與抗腫瘤功效、瘦體重量、脂肪質量、脂質概況、空腹葡萄糖、空腹胰島素、HOMA、HbA1c、6MWT、抗藥物抗體形

成、生物標記或ECG資料相關的探索性分析可臨時或事後進行。

安全性分析

安全性評估將包括AE、伴隨藥物、實驗室結果及生命體征。所報導之所有AE將使用醫學監管活動辭典(Medical Dictionary for Regulatory Activities)編碼，利用患有AE之個體的數目及百分比以及歸因(嚴重相對於不嚴重及研究者所報導的關係[無關、可能有關、有關])概述。表中僅包括治療之第一次劑量起始之後直至最後治療之後30天發生的AE。抗STM 434抗體形成之發生將使用描述性統計學概述。

樣品大小確定

研究計劃募集多達總共66位個體(組成為第1部分中多達30位個體、第2部分中24位個體及第3部分中多達12位個體)。此樣品大小不基於冪計算，而是基於臨床判斷及計劃樣品大小滿足研究目標的預期。

在研究之第2部分中，在罕見的卵巢癌亞型透明細胞及顆粒層細胞腫瘤之群組中，由於預期臨床試驗地點之個體數目少，因此各亞型僅募集6位個體，而較常見漿液性卵巢瘤群組將募集12位個體。

結論

作為單一療法或與脂質體阿黴素化學療法組合投與的STM 434調配物治療所選個體的卵巢癌及其他晚期實體腫瘤，副作用相對有限。

表16：研究程序							
評價	篩選		治療期				研究結束 ²
			第1循環		第2、3、5、6循環.	第4、7、10循環.	
	第-14天至第1天	第-1天	第1天	第15天	第1天	第1天及在治療中斷時 ¹	
簽署知情同意書	X						
病史，人口統計資料，先前癌症療法	X						

表16：研究程序

評價	篩選		治療期				研究結束 ²
			第1循環		第2、3、5、6循環.	第4、7、10循環.	
	第-14天至第1天	第-1天	第1天	第15天	第1天	第1天及在治療中斷時 ¹	
身體檢查，身高及體重 ³	X	X ⁴		X	X	X	X
大便隱血檢查	X ⁵						
生命體征 ⁶	X	X ⁴		X	X	X	X
ECOG	X	X ⁴		X	X	X	X
ECG ⁷	X	X			X	X	X
FACT/GOG-NTX ⁸	X			X	X	X	X
MUGA or ECHO	X ⁹					X ⁹	X ⁹
STM 434投與			X		X	X	
脂質體阿黴素給藥投與 ¹⁰			X		X	X	
伴隨藥物	X		X	X	X	X	X
不良事件	X ¹¹		X	X	X	X	X ¹²
血液學	X	X ⁴		X	X	X	X
凝血組(PT、PTT、INR、TT ¹³ 、D-二聚體 ¹³)	X	X ⁴		X	X	X	X
血清化學	X	X ⁴		X	X	X	X
空腹葡萄糖及空腹胰島素	X					X	
HbA1c ¹⁴	X					X ¹⁴	X
血清脂質	X					X	X
血清腫瘤生物標記 ¹⁵	X	X ⁴			X	X	X
組織腫瘤生物標記 ¹⁶	X						
尿分析(量桿)	X						
血清驗孕	X						
活化素A(游離及總計)	X	X ⁴		X	X	X	X
CTCs	X ¹⁷				X ¹⁷		
FSH、雌二醇(女性個體)、睪固酮(男性個體)	X	X ⁴		X	X	X	X
中央實驗室DXA	X ¹⁸					X ¹⁹	
6分鐘行走測試	X				X ²⁰	X	
CT/MRI	X ¹⁸					X ¹⁹	
骨掃描 ²¹	X ¹⁸					X ¹⁹	
疾病進展評估						X	
抗STM 434抗體	X	X ⁴			X	X	X

表16：研究程序							
評價	篩選		第1循環		治療期		研究結束 ²
					第2、3、5、6循環.	第4、7、10循環.	
	第-14天至第1天	第-1天	第1天	第15天	第1天	第1天及在治療中斷時 ¹	
給藥前PK			X ²²		X ²²	X ²²	
給藥後PK			X ²²	X	X ²²		

¹ 適當時，治療中斷訪視可在任何預定或非預定的訪視時進行。在此訪視時，確定可確認進行性疾病或不可接受之毒性的文件。

² EOS訪視預定於最後投與STM 434之後的第28天。

³ 每次訪視時記錄個體體重；篩選訪視時記錄身高。

⁴ 第-1天預定程序(除ECG Holter監測器之外)可在第1循環之第1天給藥之前進行。

⁵ 大便隱血係在篩選時進行且可在研究者的判斷下在基線後重複進行。

⁶ 生命體征：聽覺、經皮或口腔溫度、坐姿血壓、心率及呼吸速率

⁷ 篩選訪視之後，必須使用中央實驗室的設備收集ECG。第-1天開始，個體連續穿戴Holter監測器直至第2天訪視。隨後，使用中央實驗室機器獲得12引線ECG。

⁸ 若需要評估神經病變之AE，則可在非預定的訪視時收集FACT/GOG-NTX。

⁹ 惟第3部分中的個體使用MUGA或ECHO記錄心臟射血分數用於脂質體阿黴素投與。MUGA或ECHO之選擇由研究者決定，但模式一經選擇，則個體在整個研究期間應使用相同方法。在篩選時及第4循環之第1天時進行MUGA/ECHO。在第3部分中之經阿黴素治療個體在第4循環之第1天之前中斷的情況下，在EOS訪視時進行MUGA/ECHO。

¹⁰ 研究之第3部分中的個體投與脂質體阿黴素。

¹¹ 報導自簽署知情同意文件直至第1循環之第1天投與研究藥物時的治療前SAE。

¹² 最後投與STM 434之後的30天進行AE隨訪，以確定是否存在任何新的或進行中的AE或SAE，不論因果歸因。隨訪可經由電話進行且記錄於註釋出處。

¹³ 篩選及第2循環之第1天。

¹⁴ HbA1c僅在篩選、第4循環之第1天、治療中斷及EOS時收集且分析。

¹⁵ 血清腫瘤生物標記可包括CA-125、PSA、CA 19-9、CEA，或適當時基於個體的其他生物標記。

¹⁶ 組織腫瘤生物標記包括腫瘤切片/腫瘤包埋檢體用於ACVR2B及INHBA基因表現(所有個體)以及基因突變狀態(患有透明細胞/子宮內膜/顆粒層細胞腫瘤的個體)。

¹⁷ CTC將在篩選時及第2循環之第1天時收集。

¹⁸ 第1循環之第1天之前長達30天執行的掃描(DXA、CT、MRI、骨)可用於基線評估。大腦MRI用於排除任何腦轉移。

¹⁹ 研究的DXA、CT/MRI及骨掃描可在第1天訪視之±8天內完成。

²⁰ 6分鐘行走測試將在第2循環之第1天訪視時完成。

²¹ 對腫瘤轉移至骨的個體而言，進行骨掃描評估。

²² 詳細的PK評估時程呈現於本文中

實例5：STM 434研究之中期結果。

使用上述方案選擇三位人類個體以便使用STM 434治療。各個體患有晚期形式的癌症：漿液性卵巢癌、顆粒層卵巢癌或結腸癌。個體1

患有漿液性卵巢癌，個體2患有顆粒層細胞卵巢癌，且個體3患有結腸癌。個體1在2014年1月診斷患有IV期卵巢癌。其先前在2014年接受卡鉑(carboplatin)及太平洋紫杉醇(paclitaxel)之後，其漿液性腺癌腫瘤有進展。個體2在1998年診斷患有卵巢癌且先前在2010年接受順鉑(cisplatin)、依託泊苷(etoposide)、博萊黴素化學療法(bleomycin chemotherapy)、在2012年接受卡鉑及太平洋紫杉醇、在2013年接受貝伐單抗(bevacizumab)、甲羥孕酮(medroxyprogesterone)、阿那曲唑(anastrozole)且在2014年接受RX-3117(研究性胞苷類似物)之後，其顆粒層細胞腫瘤有進展。個體3在2012年6月診斷患有IV期結腸癌。其先前在2012年接受5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)、甲醯四氫葉酸(leucovorin)、奧沙利鉑化學療法(oxaliplatin chemotherapy)、在2013年接受伊立替康(irinotecan)、5-氟尿嘧啶、甲醯四氫葉酸、貝伐單抗且在2014年接受帕尼單抗(panitumumab)之後，其結腸腫瘤有進展。

STM 434調配物、包裝及儲存

STM 434調配為意欲靜脈內投與的無菌水溶液，其含有70 mg/mL STM 434、10 mM磷酸鉀緩衝液、8.8%(w/v)蔗糖及0.006%(w/v)聚山梨醇酯20，pH 6.7。使用13 mm氟聚合物塞子及13 mm密封件將所調配的STM 434溶液封裝於5 mL玻璃瓶中。STM 434小瓶在非自由結霜冷凍機中、在-20°C(±5°C)之溫度下儲存。使用之前，STM 434在冷凍機中、在2°C至8°C解凍隔夜。

STM 434投與

約每4週向各個體靜脈內投與0.25 mg/kg STM 434。個體1在2014年10月17日開始治療，且在2014年11月14日及2014年12月15日接受兩次額外劑量，隨後在2014年12月30日中斷進一步研究治療。個體2在2014年10月29日開始治療，且在2014年11月24日、2014年12月24日及2015年1月21日接受三次額外劑量，此個體繼續接受STM 434直至

2015年2月17日；個體3在2014年11月6日開始治療，且在2014年12月4日接受一次額外劑量，隨後在2015年1月05日中斷進一步研究治療。

STM 434人類安全性及功效

在任何個體中均未觀測到視為與STM 434投與相關的不良事件。在任何個體中均未觀測到與神經病變、出血事件或內分泌症狀相關的不良事件。在任何個體中均未觀測到抗STM 434抗體。個體1報導食慾改善、有精力及效能狀態增強。研究者認為STM 434安全且耐受性良好。研究者建議遞增至下一個劑量水準。

活體內STM 434抑制活化素

由於活化素為刺激FSH釋放之內分泌反饋機制的一部分，因此FSH以潛在的藥效學功效生物標記加以評估。FSH之減少預期可表示STM 434抑制活化素。

使用ELISA定量免疫分析來評估FSH。已測定在投與0.25 mg/kg劑量之STM 434之後，3位個體中有2者中的FSH含量降低。圖4. 相對於基線的變化百分比標繪於y軸上，時間標繪於x軸上；C1D1指示第1循環之第1天(治療之前的基線)，C1D15指示初始投與STM 434之後的第1循環之第15、14天，且C2D1指示第2循環之第1天(給藥前，第一次投與之後第4週投與STM 434第二次劑量之前)。在C1D15觀測到的FSH減少指示STM 434抑制人類中的活化素信號傳導。FSH含量恢復至約基線，表明再抑止人類中的活化素信號傳導必需新劑量的STM 434。此等結果表明STM 434可抑制人類中的活化素。

STM 434 PK結果

藉由ELISA定量免疫分析來測定PK。相較於在猴中顯示163-259小時(7-11天)的先前資料，中期PK分析顯示2倍高的清除率及111、114或147小時(4-5天)之 $T_{1/2}$ 。圖5. 此表明個體可受益於更頻繁的STM 434劑量方案，例如每2週或每3週靜脈內給藥。

STM 434誘發性腫瘤梗塞

患有顆粒層腫瘤的一位個體(個體2)在基線及在第4循環開始時(第1天)再次接受CT掃描。兩次掃描之間存在12週及三次劑量。圖6顯示基線掃描，其中腫瘤以圓形指示。圖7顯示第4循環開始時獲得的後續掃描，其中腫瘤再次以圓形指示。如藉由比較掃描所見，腫瘤已經歷實質性梗塞。此表明低劑量的STM 434有效治療患有顆粒層腫瘤的個體。

實例6：修改之STM 434方案。

至少部分地根據實例5之結果來修改實例4之STM 434方案。修改的方案闡述於下表17、其子表及相關附錄中。

表17	
章節	變化之描述(刪除=缺失文字；紅色=新文字)
大綱	研究設計： 第1部分為患有晚期實體腫瘤之個體的開放標記式劑量遞增研究，其併有3+3設計。募集總共多達39位個體，以評價靜脈內(IV) STM 434在5種計劃劑量(0.25 mg/kg IV、0.5 mg/kg IV、1 mg/kg IV、2 mg/kg IV及4 mg/kg IV)下的安全性、耐受性及PK概況。在劑量限制毒性(DLT)評估窗期間，在安全信號不存在下，STM 434將以所計劃的100%劑量增量遞增，如下表中所列。若觀測到安全信號(≥2個臨床上顯著的STM 434相關性2級AE或一個STM 434相關性3級毒性)，則群組之間的所有進一步劑量遞增將以≤50%劑量增量進行且可研究其他適當的劑量水準以避免過度毒性。依序評價各劑量水準，且各劑量組將包括3-6位個體(數目將視是否觀測到DLT而定)。為了確保足夠的可評價個體數目，每組可募集多達4位個體，即使缺乏DLT。 儘管針對停止自然增長之較高劑量組評價安全性，但若在研究執行期間存在STM 434可提供針對其腫瘤類型(例如顆粒層細胞腫瘤)之抗腫瘤活性的初步證據，則安全委員會事先已聲明安全及良好耐受的最低劑量組中可募集其他個體。 根據第1組資料(相較於基於臨床前研究之PK資料的預測值，其顯示更短的半衰期及增大的清除率)，每2週投與一次(Q2W)或每3週投與一次(Q4W)而非每4週投與一次(Q4W)的STM 434可使暴露量最佳化。在第1部分期間，若第2組(0.5 mg/kg IV Q4W) PK資料證實第1組(0.25 mg/kg IV Q4W)的半衰期觀測值，且若STM 434在第2組中安全且良好耐受，則STM 434 Q4W給藥(時程A)將改變為Q2W(時程B)。 若時程發生任何變化，則下一組將重複相同的劑量水準。舉例而言，若決定在第2組(0.5 mg/kg Q4W)之後增加給藥頻率，則待評價的下一組將為第3組(0.5 mg/kg Q2W)。隨後依照新的Q2W時程募集後續群組，除非安全審查委員會建議解除遞增，減少頻繁給藥，作為對安全資料的反應。對於解除遞增而

言，在相同劑量水準下評價Q3W(時程C)及Q4W(時程A)的群組可同時募集，除非安全委員會建議僅評價Q4W(時程A)。

第1部分中的計劃劑量組如下：

	時程A	時程B	時程C
第1組	0.25 mg/kg STM 434 IV Q4W	0.25 mg/kg STM 434 IV Q2W	0.25 mg/kg STM 434 IV Q3W
第2組	0.5 mg/kg STM 434 IV Q4W	0.5 mg/kg STM 434 IV Q2W	0.5 mg/kg STM 434 IV Q3W
第3組	1 mg/kg STM 434 IV Q4W	1 mg/kg STM 434 IV Q2W	1 mg/kg STM 434 IV Q3W
第4組	2 mg/kg STM 434 IV Q4W	2 mg/kg STM 434 IV Q2W	2 mg/kg STM 434 IV Q3W
第5組	4 mg/kg STM 434 IV Q4W	4 mg/kg STM 434 IV Q2W	4 mg/kg STM 434 IV Q3W

一組劑量遞增至下一組將由主持者聯合研究者一起確定且將基於治療引發的AE、臨床實驗室資料、身體檢查結果(包括生命體征)、ECG，及群組內之所有個體已完成28天治療(或若依循時程C[Q3W]，則為21天)之後的可利用PK資料。若個體在研究治療之最初28天(或若依循時程C [Q3W]，則為21天)期間的DLT或STM 434相關性嚴重AE(SAE)發生率為<33%，則將進行劑量遞增。

在指定群組中，若個體在初始投與STM 434之後的最初28天(或若評價時程C [Q3W]，則為最初21天)期間均未經歷DLT，則將進行劑量遞增，且下一個劑量水準的群組中將募集3位個體。然而，若觀測到≥2個臨床上顯著的2級STM 434相關性AE或一個STM 434相關性3級AE(安全信號)，則所有進一步的劑量遞增將減少至≤50%劑量增量。在觀測到安全信號的情況下，向所有現場及IRB提供傳達修正之劑量水準與時程的研究備忘錄，指定此資訊用於各後續群組。若群組之3或4位初始個體中有1位經歷DLT，則在相同劑量水準下募集另外3位(或若最初募集4位，則為2位)個體。若群組內之6位個體中僅1位在治療之最初28天(或若評價時程C [Q3W]，則為最初21天)期間經歷DLT或STM 434相關性SAE，則可開始募集下一組。若觀測到DLT，則所有進一步的劑量遞增將減少至≤50%劑量增量。若群組內之6位個體中有2位或超過2位在治療之最初28天(或若評價時程C [Q3W]，則為21天)期間經歷DLT或STM 434相關性SAE，則此劑量將視為毒性劑量。劑量遞增可基於出現的毒性、PK或PD資料，以較小劑量或不太頻繁的時程進行，直至MTD確定。若所觀測的PK資料低於預測水準，則可探索劑量>4 mg/kg。

第2部分為開放標記研究，其經設計以獲得患有晚期卵巢/子宮內膜透明細胞、顆粒層及卵巢/輸卵管/原發性腹膜漿液性腫瘤之個體的其他安全及探索性功效資料。研究之此部分中將募集總共24位個體；6位個體患有卵巢/子宮內膜透明細胞腺癌，6位個體患有顆粒層細胞腫瘤，且12位個體患有漿液性腫瘤。審查研究之第1部分中之劑量遞增資料之後，所有個體將使用建議時程靜脈內接受RP2D的STM 434。向第2部分擴增組之所有現場及IRB提供傳達此資訊的研究備忘錄。第1部分中之RP2D一經確立，則可能進行第2部分中之募集。第2部分中的計劃組如下：

- 第6組：將RP2D的STM 434靜脈內投與患有透明細胞腺癌的6位個體及患有顆粒層細胞腫瘤的6位個體
- 第7組：將RP2D的STM 434靜脈內投與患有漿液性腫瘤的12位個體

第3部分為STM 434與脂質體阿黴素化學療法組合用於患有卵巢/輸卵管/原發性腹膜癌之個體的開放標記式劑量遞增研究(併有3+3設計)，該等個體先前已接受基於鉑之化學治療方案治療或不能接受基於鉑的化學療法。第1部分完成且RP2D及給藥頻率確立之後，募集6至12位個體加入第3部分。向第3部分化學治療組合組的所有現場及IRB提供傳達STM 434劑量與時程資訊的研究備忘錄。由於脂質體阿黴素在此方案中以Q4W投與，因此在第1部分中確立之STM 434建議給藥頻率為Q3W之情況下，在第3部分中可使用為產生類似PK暴露量所預測的Q4W劑量。第2部分與第3部分將同時募集個體。第3部分中的計劃組如下：

- 第8組：低於RP2D IV之一種劑量水準的STM 434 + 脂質體阿黴素 (40 mg/m² IV)，Q4W)
- 第9組：RP2D IV之STM 434 + 脂質體阿黴素(40 mg/m² IV)，Q4W)

第8組劑量遞增至第9組將由主持者聯合研究者確定且將基於治療引發的AE、臨床實驗室資料、身體檢查結果(包括生命體征)、ECG，及群組內之所有3位個體使用第1部分中概述之3+3設計已完成28天治療之後的可利用PK資料。在第8組之初始劑量組合不安全且耐受性不良之情況下，安全委員會可建議在另一組中評價較低STM 434劑量與化學療法之組合。

個體置換：在第1部分中，若群組中之個體在完成28天STM 434治療之前(或若評價時程C[Q3W]，則在完成21天之前)因除DLT外的任何原因而中斷，則將置換個體添加至群組中直至每組3位個體完成28天的STM 434治療(或若評價時程C [Q3W]，則為21天)。在第2部分中，一旦個體募集至研究中，則其將不因任何原因而被置換。在第3部分中，若個體在完成28天的STM 434與脂質體阿黴素治療之前因任何原因(除DLT外)而中斷，則將置換個體添加至群組中直至每組3位個體完成28天的STM 434治療。

DLT定義： DLT定義為任何相關的≥3級(根據不良事件之常見術語標準[CTCAE]4.03版)非血液學毒性(排除無關毒性)，或任何≥4級的血液學毒性持續7天，發熱性嗜中性球減少症，或3級血小板減少症伴活動性出血。當毒性已消退至CTCAE級≤1或基線值時，且若個體尚未經歷疾病進展，則希望恢復以降低之STM 434劑量治療的正經歷DLT之個體可在研究者之判斷下如此行事。

MTD定義： MTD定義為DLT發生率<群組個體之33%的最高劑量水準。

RP2D定義： RP2D將在考慮MTD、PK、藥效學生物標記及抗腫瘤反應資料的情況下定義。

個體內劑量遞增： 若個體不具有放射照相進行性疾病之證據且不具有DLT，則個體內劑量遞增允許在研究者之判斷下進行至安全委員會事先已聲明安全且良好耐受之最高劑量組中所評價的程度。個體內劑量遞增的任何計劃需要個體已完成28天DLT評價期(或若依照Q3W給藥時程，則為21天時期)且已完成基線後的放射照相術腫瘤再分期。個體內劑量遞增必須結合醫學監測器論述。

研究群體： 在3-6個研究地點募集多達總共75位患有晚期卵巢癌及其他實體腫瘤的個體。在75位個體中，募集多達39位個體加入第1部分，24位個體加入第2部分，且多達12位個體加入第3部分。

包含標準：

3. a. 視為可用於其腫瘤之所有標準療法難治的或不耐受可用於其腫瘤之所有標準療法的患有復發轉移性或局部晚期疾病的個體，或患有無標準療法可利用之腫瘤的個體

	或者 b. 患有視為鉑難治性/耐藥性之漿液性卵巢/輸卵管/原發性腹膜、顆粒層細胞腫瘤或透明細胞腫瘤、定義為先前已經歷至少一種基於鉑之化學治療方案(隨後無鉑間隔時間<12個月)、在基於鉑之治療期間有進展或在基於鉑之治療之後患有持久性疾病的個體為合格的。定義為因毒性而不能進一步接受鉑的不耐受個體為合格的。 9. 第6組個體必須患有鉑難治性/耐藥性/不耐受(如包含標準#3b中所定義)的卵巢/子宮內膜透明細胞癌或卵巢顆粒層細胞腫瘤 10. 第7組個體必須患有鉑難治性/耐藥性/不耐受(如包含標準#3b中所定義)的漿液性卵巢/輸卵管/原發性腹膜癌 11. 第8組及第9組個體必須患有晚期鉑難治性/耐藥性/不耐受(如包含標準#3b中所定義)的卵巢/輸卵管/原發性腹膜癌 排除標準： 12. 肌酐>1.5×ULN且肌酐清除率估算值<60 mL/min(使用科克羅夫特-高爾特方程式)的個體 15. 在第1循環5個半衰期或4週(以較長者為準)內第1天進行的抗體/生物療法(注意：6週清除期為先前接受貝伐單抗的個體可接受的) 20. 存在門靜脈分流裝置或廣泛肝切除的病史 測試產物、劑量及投藥方式： 在第1部分中，計劃的STM 434注射劑量及投藥途徑如下：0.25 mg/kg IV、0.5 mg/kg IV、1 mg/kg IV、2 mg/kg IV及4 mg/kg IV。STM 434將Q2W、Q3W或Q4W投與，此視第1部分期間的PK及安全觀測結果而定。 在第2部分及第3部分中，個體將接受RP2D(在第1部分中確立)的STM 434或低於RP2D的一種劑量水準。STM 434將Q2W、Q3W或Q4W投與，此視第1部分期間的PK及安全觀測結果而定。另外，第3部分中的個體將接受多達6個循環的脂質體阿黴素(40 mg/m² Q4W)；脂質體阿黴素的劑量修改及調節將依循此產物的處方資訊。 治療持續時間： 給藥(第1循環之第1天)前之長達28天，開始篩選。第1、2及3部分中的個體將用STM 434治療直至疾病進展，除非觀測到不可接受的毒性。疾病進展將基於根據RECIST 1.1標準的放射照相量測結果
1.1.2.3 臨床藥物動力學	對STM 434在當前研究之第1組之3位患有晚期實體腫瘤之個體中的PK進行表徵，其中個體靜脈內接受每4週(Q4W)0.25 mg/kg。STM 434在第1組3位個體中隨時間之血漿濃度論述於上述實例中。此等個體的中期PK結果顯示，STM 434之清除率在約0.29至0.36 mL/h/kg範圍內，比根據臨床前物質之PK結果所預期的清除率高2.5倍。第1組之所有3位個體的半衰期相似，其值在111至114至147小時範圍內，比在小鼠(242至338個小時)及猴(163至259個小時)中所觀測到的範圍實質上更短。若第2組(0.5 mg/kg IV Q4W [時程A])的中期PK結果證實半衰期與第1組(0.25 mg/kg IV Q4W [時程A])所觀測到的相似，則預期給藥改變為每2週(Q2W；章節5.2.1之表2中的時程B；亦參見章節3.1.1)。後續群組將使用Q2W評價，除非觀測到毒性。
1.2 選擇起始劑量之基本原理	此FIH研究中之最高計劃劑量為4.0 mg/kg，Q2W靜脈內投與。在此劑量下，所預測的人類C_{max}及AUC₀₋₃₆分別為121.3 µg/mL及12395 µg•h/mL，其依據為：在對猴的4週毒理學研究中，暴露餘量為在NOAEL劑量下之C_{max}及AUC₀₋₃₆的1.8倍及4.9倍，且在對CD-1小鼠的4週毒理學研究中，暴露餘量為在STD10劑量下之C_{max}及AUC的0.7倍及1.1倍(表1)。

表1. 相較於重複劑量(QW)皮下投與小鼠(15 mg/kg)及食蟹獼猴(10 mg/kg)之暴露量(AUC₀₋₃₃₆)，STM 434重複劑量(Q2W)靜脈內投與人類之後的暴露餘量估算值

臨床劑量 (mg/kg， Q2W)	人類藥物動力學		基於小鼠之餘量(15 mg/kg) ^a		基於猴之餘量(10 mg/kg) ^b	
	AUC ₀₋₃₃₆ (µg·h/mL)	C _{max} (ng/mL)	AUC ₀₋₃₃₆ (µg·h/mL)	C _{max} (ng/mL)	AUC ₀₋₃₃₆ (µg·h/mL)	C _{max} (ng/mL)
0.25	774.71	7580	18.1	10.4	78.7	28.8
0.5	1549.42	15160	9.1	5.2	39.4	14.4
1	3098.83	30321	4.5	2.6	19.7	7.2
2	6197.66	60642	2.3	1.3	9.8	3.6
4	12395.32	121285	1.1	0.7	4.9	1.8

^a為了參考起見，給予15 mg/kg STM 434之小鼠具有AUC₀₋₁₆₈=7030 µg·h/mL及C_{max}=79.1 µg/mL

^b給予15 mg/kg之猴具有以下值：AUC₀₋₁₆₈=30500 µg·h/mL及C_{max}=218 µg/mL

3.1.1 研究之第1部分

第1部分為患有晚期實體腫瘤之個體的開放標記式劑量遞增研究，其併有3+3設計。募集總共多達39位個體加入5個計劃依序劑量組(第1組至第5組；定義於表2中)，以評價IV STM 434在5種劑量水準(0.25 mg/kg IV、0.5 mg/kg IV、1 mg/kg IV、2 mg/kg IV及4 mg/kg IV)下的安全性、耐受性及PK概況。在DLT評估窗期間，在安全信號不存在下，STM 434將以計劃的100%劑量增量遞增。若觀測到安全信號(≥2個臨床上顯著的STM 434相關性2級AE或一個STM 434相關性3級毒性)，則群組之間的所有進一步劑量遞增將以≤50%劑量增量進行且可研究其他適當的劑量水準以避免過度毒性。依序評價各劑量水準，且各劑量組將由3-6位個體組成(數目將視是否觀測到DLT而定)。為了確保足夠的可評價個體數目，每組可募集多達4位個體，即使缺乏DLT。

儘管針對停止自然增長之較高劑量組評價安全性，但若在研究執行期間存在STM 434可提供針對其腫瘤類型(例如顆粒層細胞腫瘤)之抗腫瘤活性的初步證據，則安全委員會事先已聲明安全及良好耐受的最低劑量組中可募集其他個體。

根據得自第1組的PK資料(章節1.1.2.3)(其顯示的半衰期短於且清除率大於根據臨床前研究之PK資料的預測值)，Q2W或每3週(Q3W)而非Q4W投與的STM 434可使暴露量最佳化。若第2組(0.5 mg/kg IV Q4W [時程A])的中期PK結果證實第1組(0.25 mg/kg IV Q4W [時程A])中所觀測的半衰期，則第3組的劑量將為0.5 mg/kg IV Q2W (時程B)，除非更頻繁的給藥時程觀測到毒性。

若時程發生任何變化，則下一組將重複相同的劑量水準。舉例而言，若決定在第2組(0.5 mg/kg Q4W)之後增加給藥頻率，則待評價的下一組將為第3組(0.5 mg/kg Q2W)。隨後依照新的Q2W時程募集後續群組，除非安全審查委員會建議解除遞增，減少頻繁給藥，作為對安全資料的反應。對於解除遞增而言，在相同劑量水準下評價Q3W(時程C)及Q4W(時程A)的群組可同時募集，除非安全委員會建議僅評價Q4W(時程A)。將傳達任何時程變化決定的研究備忘錄提供給所有現場及機構審查委員會(IRB)，其指定各方案組中所研究之STM 434的劑量及頻率。

Q4W(時程A)、Q2W(時程B)及Q3W(時程C)之給藥時程定義於表2(章節5.2.1)中。

	一組劑量遞增至下一組將由主持者聯合研究者一起確定且將基於治療引發的AE、臨床實驗室資料、身體檢查結果(包括生命體征)、ECG，及群組內之所有3位個體已完成28天治療(或若依循時程C[Q3W]，則為21天)之後的可利用PK資料。若個體在研究治療之最初28天(或若依循時程C [Q3W]，則為21天)期間的DLT或STM 434相關性嚴重AE(SAE)發生率為<33%，則將進行劑量遞增。 在指定群組中，若個體在初始投與STM 434之後的28天(或若評價時程C [Q3W]，則為最初21天)期間均未經歷DLT，則將進行劑量遞增，且下一個劑量水準的群組中將募集3位個體。然而，若觀測到≥2個臨床上顯著的2級STM 434相關性AE或一個STM 434相關性3級AE(安全信號)，則所有進一步的劑量遞增將減少至≤50%劑量增量。在觀測到安全信號的情況下，向所有現場及IRB提供傳達修正之劑量水準與時程的研究備忘錄，指定此資訊用於各後續群組。若群組之3或4位初始個體中有1位經歷DLT，則在相同劑量水準下募集另外3位(或若最初募集4位，則為2位)個體。若群組內之6位個體中僅1位在治療之最初28天(或若評價時程C [Q3W]，則為最初21天)期間經歷DLT或STM 434相關性SAE，則可開始募集下一組。若觀測到DLT，則所有進一步的劑量遞增將減少至≤50%劑量增量。若群組內之6位個體中有2位或超過2位在治療之最初28天(或若評價時程C [Q3W]，則為最初21天)期間經歷DLT或STM 434相關性SAE，則此劑量將視為毒性劑量。劑量遞增可基於出現的毒性、PK或PD資料，以較小劑量或不太頻繁的時程進行，直至MTD確定。若所觀測的PK資料低於預測水準，則可探索高於4 mg/kg的劑量。
3.1.2 研究之第3部分	第2部分為開放標記研究，其經設計以獲得患有晚期卵巢/子宮內膜透明細胞、顆粒層及卵巢/輸卵管/原發性腹膜漿液性腫瘤之個體的其他安全及探索性功效資料。在研究之此部分中，募集總共24位個體加入2個群組。一個群組(稱為第6組)將包括6位患有透明細胞腺癌的個體及6位患有顆粒層細胞腫瘤的個體；第二個群組(第7組)將包括12位患有漿液性腫瘤的個體。所有個體使用在審查第1部分之劑量遞增資料之後所建議的時程靜脈內接受RP2D的STM。向第2部分擴增組的所有現場及IRB提供傳達此資訊的研究備忘錄。第1部分中之RP2D一經確立，則可能進行第2部分中之募集。
3.1.3 研究之第3部分	第3部分為STM 434與脂質體阿黴素化學療法組合用於患有卵巢、輸卵管或原發性腹膜癌之個體的開放標記式劑量遞增研究(併有3+3設計)，該等個體先前已接受基於鉑之化學治療方案治療或不能接受基於鉑的化學療法。第1部分完成且RP2D及給藥頻率確立之後，募集6至12位個體加入第3部分；第2部分與第3部分同時募集個體。將傳達STM 434劑量及時程資訊的研究備忘錄提供給第3部分化學療法組合群組的所有現場及IRB。由於脂質體阿黴素在此方案中以Q4W投與，因此在第1部分中確立之STM 434建議給藥頻率為Q3W之情況下，在第3部分中可使用為產生類似PK暴露量所預測的Q4W劑量。 第3部分中的個體將分成2個劑量組各3-6位個體加以評價(每組個體數目視是否觀測DLT而定)。一個群組(稱為第8組)將接受低於RP2D之一種劑量水準的STM 434且第二個群組(第9組)將接受RP2D的STM 434；兩個群組均接受40 mg/m²之脂質體阿黴素。 兩個群組中的個體均在接受STM 434之前接受脂質體阿黴素輸注。實驗室研究(包括多閘控式攝取(MUGA)掃描或超音波心電圖(ECHO))將在基線及在投與脂質體阿黴素期間評價(參見附錄1)。需要時，應根據毒性管理準則(參見章節5.3.2)實現40 mg/m²至30 mg/m²之劑量降低。評價STM 434當伴隨脂質體阿黴素投與時的安全性、耐受性及PK概況。

	首先評價STM 434的較低劑量(亦即，低於RP2D的一種劑量水準[第8組])。劑量遞增將由主持者聯合研究者一起確定且將基於治療引發的AE、臨床實驗室資料、身體檢查結果(包括生命體征)、ECG，及群組內之所有3位個體已使用第1部分中所概述之3+3設計完成28天治療之後的可利用PK資料。在第8組之初始劑量組合不安全且耐受不良的情況下，安全委員會可建議在另一群組中評價較低STM 434劑量與化學療法之組合(參見章節3.1.1及5.2.1)。
3.2 劑量限制毒性	當毒性已消退至CTCAE級≤1或基線值時，且若個體尚未經歷疾病進展，則希望恢復以降低之STM 434劑量治療的正經歷DLT之個體可在研究者之判斷下如此行事。
4.1 包含標準	3. a. 視為可用於其腫瘤之所有標準療法難治的或不耐受可用於其腫瘤之所有標準療法的患有復發轉移性或局部晚期疾病的個體，或患有無標準療法可利用之腫瘤的個體 或者 b. 患有視為鉑難治性/耐藥性之漿液性卵巢/輸卵管/原發性腹膜、顆粒層細胞腫瘤或透明細胞腫瘤、定義為先前已經歷至少一種基於鉑之化學治療方案(隨後無鉑間隔時間<12個月)、在基於鉑之治療期間有進展或在基於鉑之治療之後患有持久性疾病的個體為合格的。定義為因毒性而不能進一步接受鉑的不耐受個體為合格的。 9. 第6組個體必須患有鉑難治性/耐藥性/不耐受(如包含準則#3b中所定義)的卵巢/子宮內膜透明細胞癌或卵巢顆粒層細胞腫瘤 10. 第7組個體必須患有鉑難治性/耐藥性/不耐受(如包含標準#3b中所定義)的漿液性卵巢/輸卵管/原發性腹膜癌 11. 第8組及第9組個體必須患有晚期鉑難治性/耐藥性/不耐受(如包含標準#3b中所定義)的卵巢/輸卵管/原發性腹膜癌
4.2 排除標準	12. 肌酐>1.5×ULN且肌酐清除率估算值<60 mL/min(使用科克羅夫特-高爾特方程式)的個體 15. 在第1循環5個半衰期或4週(以較長者為準)內第1天進行的抗體/生物療法(注意：6週清除期為先前接受貝伐單抗的個體可接受的) 20. 存在門靜脈分流裝置或廣泛肝切除的病史
4.4 個體置換	在研究之第1部分中，若群組中之個體在完成28天STM 434治療之前(或若評價時程C[Q3W]，則在完成21天之前)因除DLT外的任何原因而中斷，則根據需要將置換個體添加至群組中直至每組3位個體完成28天的STM 434治療(或若評價時程C [Q3W]，則為21天)。
5.2.1 STM 434	在第1部分中，計劃劑量組描述於表1中。得自第1組的PK資料表明比Q4W更頻繁的給藥(諸如Q2W或Q3W)可使暴露量最佳化(參見章節1.1.2.3)。在第1部分期間，若得自第2組(0.5 mg/kg IV Q4W)的PK資料證實第1組(0.25 mg/kg IV Q4W)中所得的半衰期觀測結果，且若STM 434在第2組中安全且良好耐受，則將STM 434 Q4W給藥(時程A)改變為Q2W(時程B)(表2)。 若時程發生任何變化，則下一組將重複相同的劑量水準。舉例而言，若決定在第2組(0.5 mg/kg Q4W)之後增加給藥頻率，則待評價的下一組將為第3組(0.5 mg/kg Q2W)。隨後依照新的Q2W時程募集後續群組，除非安全審查委員會建議解除遞增，減少頻繁給藥，作為對安全資料的反應。對於解除遞增而言，在相同劑量水準下評價Q3W(時程C)及Q4W(時程A)的群組可同時募集，除非安全委員會建議僅評價Q4W(時程A)。將傳達任何時程變化決定的研究備忘錄提供給所有現場及IRB，指定各方案組中待研究之STM 434的劑量及頻率。

	表2. 第1部分計劃劑量組			
		時程A	時程B	時程C
	第1組	0.25 mg/kg STM 434 IV Q4W	0.25 mg/kg STM 434 IV Q2W	0.25 mg/kg STM 434 IV Q3W
	第2組	0.5 mg/kg STM 434 IV Q4W	0.5 mg/kg STM 434 IV Q2W	0.5 mg/kg STM 434 IV Q3W
	第3組	1 mg/kg STM 434 IV Q4W	1 mg/kg STM 434 IV Q2W	1 mg/kg STM 434 IV Q3W
	第4組	2 mg/kg STM 434 IV Q4W	2 mg/kg STM 434 IV Q2W	2 mg/kg STM 434 IV Q3W
	第5組	4 mg/kg STM 434 IV Q4W	4 mg/kg STM 434 IV Q2W	4 mg/kg STM 434 IV Q3W
	在第2部分中，計劃劑量組如下： 第6組：將RP2D的STM 434靜脈內投與患有透明細胞腺癌的6位個體及患有顆粒層細胞腫瘤的6位個體 第7組：將RP2D的STM 434靜脈內投與12位患有漿液性卵巢瘤的個體			
5.2.1.1 個體內劑量遞增	若個體不具有放射照相進行性疾病之證據且不具有DLT，則個體內劑量遞增允許在研究者之判斷下進行至安全委員會事先已聲明安全且良好耐受之最高劑量組中所評價的程度。個體內劑量遞增的任何計劃需要個體已完成28天DLT評價期(或若依照Q3W給藥時程，則為21天時期)且已完成基線後的放射照相術腫瘤再分期。個體內劑量遞增必須結合醫學監測器論述。			
5.2.2 脂質體阿黴素	在將脂質體阿黴素與STM 434均投與第3部分時的治療日，首先給予脂質體阿黴素。指定用於第3部分各組之STM 434劑量及時程的資訊於研究備忘錄中提供給所有現場及IRB。 脂質體阿黴素應依循製造商的處方資訊且根據機構準則來投與。			
5.3.1.5 因相關毒性而允許STM 434劑量減少	表5. STM 434劑量減少			
	劑量水準		劑量減少說明	
	0.25 mg/kg STM 434 IV		第1次出現：中斷治療	
	0.5 mg/kg STM 434 IV		中斷STM 434直至≤1級，接著： 第1次出現：恢復低於初始劑量的一種劑量水準(例如0.25 mg/kg STM 434 IV) ^a 第2次出現：中斷治療	
	1 mg/kg STM 434 IV		中斷STM 434直至≤1級，接著： 第1次出現：恢復低於初始劑量的一種劑量水準(例如0.5 mg/kg STM 434 IV) ^a 第2次出現：恢復低於初始劑量的兩種劑量水準(例如0.25 mg/kg STM 434 IV) ^a 第3次出現：中斷治療	
	2 mg/kg STM 434 IV		中斷STM 434直至≤1級，接著： 第1次出現：恢復低於初始劑量的一種劑量水準(例如1 mg/kg STM 434 IV) ^a 第2次出現：恢復低於初始劑量的兩種劑量水準(例如0.5 mg/kg STM 434 IV) ^a 第3次出現：中斷治療	
	4 mg/kg STM 434 IV		中斷STM 434直至≤1級，接著：	

	第1次出現：恢復低於初始劑量的一種劑量水準(例如2 mg/kg STM 434 IV)^a 第2次出現：恢復低於初始劑量的兩種劑量水準(例如1 mg/kg STM 434 IV)^a 第3次出現：中斷治療 ^a 個體恢復治療時的劑量應使用醫學監測器證實。 ^b 若不存在較低劑量水準，則中斷治療。
5.4.1 准許之藥物/ 療法	具有腹水、需要醫學介入之個體應在第1循環之第1天及第3循環之第1天給予STM 434之前經歷放液穿刺術，以使對PK取樣的可能影響最小化。
6. 研究程序	程序/評估之描述提供於章節7中。研究程序中基於STM 434給藥頻率的時程提供於附錄1(Q4W給藥)、附錄2(Q2W給藥)及附錄3(Q3W給藥)中。
6.1 針 對 接 受 STM 434 Q4W 之 個 體 的 程 序	• 以下時程用於接受STM 434 Q4W之個體。 6.1.1 篩選 實驗室研究(本地實驗室)：血清化學、血液組、凝血組、血清脂質、尿分析、血清驗孕(僅具生育潛力之女性)、隱性血液之隱血大便測試、FSH、性激素(女性個體為雌二醇、男性個體為睪固酮)、空腹血清葡萄糖及血清胰島素用於HOMA計算、HbA1c、適當時用於腫瘤類型的血清腫瘤生物標記(例如CA-125用於患有卵巢癌之個體；PSA用於患有前列腺癌之個體；CEA用於患有結腸癌之個體；繆勒潤抑制物質[Müllerian Inhibiting Substance, MIS；中央實驗室]用於患有顆粒層細胞腫瘤之個體) 癌症、心臟及身體組成放射學評估(在起始研究藥物之第一次劑量之前的30天內)： 較佳為可排除CNS轉移的大腦MRI。若個體不能/不願意經歷MRI，則使用造影劑的開放MRI/CT為可接受的。 6.1.2第-1天 ECG(置放中央實驗室的Holter裝置且穿戴直至第1循環之第2天研究訪視) 6.1.3治療期 6.1.3.1 第1循環/第1天 • 除非下文另有說明，否則在預定訪視之前的3天內進行以下評估(實驗室研究應在給藥前完成)： ECG(個體繼續穿戴中央實驗室的Holter裝置，該裝置在第-1天置放直至第1循環之第2天研究訪視) 實驗室研究(本地實驗室)：血清化學、血液組、凝血組、FSH、性激素(女性個體為雌二醇、男性個體為睪固酮)、適當時用於腫瘤類型的血清腫瘤生物標記(例如CA-125用於患有卵巢癌的個體；PSA用於患有前列腺癌的個體；CEA用於患有結腸癌的個體；MIS [中央實驗室]用於患有顆粒層細胞腫瘤之個體) 在所列取樣時間(參見附錄4)之±30分鐘內進行給藥後PK取樣；PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間 6.1.3.2 第1循環/第2、3、8天 在所列取樣時間(參見附錄4)之±4小時內進行PK取樣；PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間 6.1.3.3 第1循環/第15天 在所列取樣時間(參見附錄4)之±1天內進行PK取樣；PK訪視及取樣時間應基

	於實際給藥時間 6.1.3.4 第2、4、6循環.../第1天 除非下文另有說明，否則以下評估應在預定訪視之± 3天內進行： 實驗室研究(本地實驗室)：血清化學、血液組、凝血組、FSH、性激素(女性個體為雌二醇、男性個體為睪固酮)、適當時用於腫瘤類型的血清腫瘤生物標記(例如CA-125用於患有卵巢癌的個體；PSA用於患有前列腺癌的個體；CEA用於患有結腸癌的個體；MIS [中央實驗室]用於患有顆粒層細胞腫瘤之個體) 專門實驗室研究(中央實驗室)：血清活化素A、CTC(僅第2循環之第1天) 針對抗STM 434抗體進行的臨床免疫學取樣 在所列取樣時間(參見附錄4)之± 30分鐘內進行給藥後PK取樣；PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間 6.1.3.5 第3、5、7循環.../第1天(及在治療中斷時) 實驗室研究(本地實驗室)：血清化學、血液組、凝血組、脂質組、FSH、性激素(女性個體為雌二醇、男性個體為睪固酮)、空腹血清葡萄糖，及空腹血清胰島素用於HOMA計算、HbA1c(僅在第3循環之第1天及治療中斷時)、適當時用於腫瘤類型的血清腫瘤生物標記(例如CA-125用於患有卵巢癌的個體、PSA用於患有前列腺癌的個體；CEA用於患有結腸癌的個體；MIS [中央實驗室]用於患有顆粒層細胞腫瘤的個體) 專門實驗室研究(中央實驗室)：活化素A 針對抗STM 434抗體進行的臨床免疫學取樣 在所列取樣時間(參見附錄4)之± 30分鐘內進行給藥後PK取樣。在治療中斷時，PK取樣窗為± 3天。PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間 癌症、心臟及身體組成放射學評估 本地實驗室在第1天之前的14天內對胸部/腹部/骨盆進行CT/MRI以便進行腫瘤分期(直至C7D1；隨後，若研究者認為疾病進展可能性低，則研究者可將腫瘤分期掃描頻率降低至每四個循環一次，亦即C11、C15.) 本地實驗室骨掃描用於腫瘤分期(僅針對骨轉移的個體；在C7D1之後，若研究者認為疾病進展可能性低，則研究者可降低腫瘤分期掃描頻率至每四個循環一次，亦即C11、C15...) 中央實驗室在第1天之前的14天內針對身體組成進行的DXA(直至C7D1；隨後每四個循環收集其他DXA掃描，亦即在C11、C15.) 本地實驗室針對心臟功能進行的MUGA或ECHO(僅針對第3部分中將接受脂質體阿黴素的個體，僅在第3循環進行) 肌肉功能測試：6MWT(每項努力應使得進行此測試的當日時間及檢查員與篩選時所進行的相同；在C7D1之後，每四個循環收集6MWT，亦即在C11、C15...) 6.1.3.6 第3循環/第2、3、8天 在所列取樣時間(參見附錄4)之± 4小時內進行PK取樣；PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間 6.1.4研究結束 研究結束時訪視應預定在向完成研究之個體最後投與STM 434之後的第28± 3天。完成研究之前中斷的個體應在中斷時經歷EOS評估。EOS訪視時進行的評估如下： 專門實驗室研究(中央實驗室)：血清活化素A
--	---

6.2 針 對 接 受 STM 434 Q2W 之 個 體 的 程 序	以下時程用於接受STM 434 Q2W之個體。依照此時程，個體將在每個循環28天之第1天及第15天接受STM 434。 6.2.1篩選 除非指明，否則應在起始研究藥物之第一次劑量之前的14天內記錄/進行以下評估/程序： - 個體出具的書面知情同意書(必須在執行任何研究特定程序之前獲得) - 個體滿足所有包含及排除標準的核驗 - 人口統計資料及完整病史，包括BRCA1狀態(卵巢癌及乳癌個體) - 身體檢查 - 身高及體重 - 身體質量指數(BMI，基於最近的身高及體重)之eCRF計算 - 生命體征(聽覺、經皮或口腔溫度、坐姿血壓，及心率及呼吸速率) - ECOG效能狀態 - 伴隨藥物 - 報導自簽署知情同意文件直至第1天投與研究藥物時的治療前SAE - PRO：FACT/GOG-NTX子量表 12引線ECG(本地執行及讀取) - 實驗室研究(本地實驗室)：血清化學、血液組、凝血組、血清脂質、尿分析、血清驗孕(僅具生育潛力之女性)、隱性血液之隱血大便測試、FSH、性激素(女性個體為雌二醇、男性個體為睪固酮)、空腹血清葡萄糖及血清胰島素用於HOMA計算、HbA1c、適當時用於腫瘤類型的血清腫瘤生物標記(例如CA-125用於患有卵巢癌之個體；PSA用於患有前列腺癌之個體；CEA用於患有結腸癌之個體；MIS [中央實驗室]用於患有顆粒層細胞腫瘤之個體) - 專門實驗室研究(中央實驗室)：血清活化素A、CTC、腫瘤切片/腫瘤包埋檢體用於ACVR2B及INHBA基因表現(所有個體)、基因突變狀態(針對患有透明細胞/子宮內膜/顆粒層細胞腫瘤的個體) - 針對抗STM 434抗體進行的臨床免疫學取樣 - 癌症、心臟及身體組成放射學評估(在起始研究藥物之第一次劑量之前的30天內)： - 本地實驗室對胸部/腹部/骨盆進行之CT/MRI用於腫瘤分期 - 較佳為可排除CNS轉移的大腦MRI。若個體不能/不願意經歷MRI，則使用造影劑的開放MRI/CT為可接受的。 - 本地實驗室進行的骨掃描用於腫瘤分期(針對僅有骨轉移的個體) - 中央實驗室針對身體組成進行的DXA - 本地實驗室MUGA或ECHO(僅針對第3部分中之將接受脂質體阿黴素的個體) - 肌肉功能測試：6MWT 6MWT應執行兩次，最佳的2次測試將記錄於eCRF 2次測試之間，個體應休息至少1小時 - 每項努力應使得後續6MWT在當日相同時間由相同檢查員進行 6.2.2第-1天 ECG(置放中央實驗室的Holter裝置且穿戴直至第1循環之第2天研究訪視) 6.2.3治療期 6.2.3.1 第1循環/第1天 除非下文另有說明，否則在預定訪視之前的3天內進行以下評估(實驗室研究
--	---

	應在給藥前完成)： 身體檢查 體重 BMI(基於最近體重及身高)之eCRF計算 生命體征(聽覺、經皮或口腔溫度、坐姿血壓，及心率及呼吸速率) ECOG效能狀態 ECG(個體繼續穿戴中央實驗室的Holter裝置，該裝置在第-1天置放直至第1循環之第2天研究訪視) 實驗室研究(本地實驗室)：血清化學、血液組、凝血組、FSH、性激素(女性個體為雌二醇、男性個體為睪固酮)、適當時用於腫瘤類型的血清腫瘤生物標記(例如CA-125用於患有卵巢癌的個體；PSA用於患有前列腺癌的個體；CEA用於患有結腸癌的個體；MIS [中央實驗室]用於患有顆粒層細胞腫瘤之個體) 專門實驗室研究(中央實驗室)：血清活化素A 臨床免疫學取樣(中央實驗室)用於抗STM 434抗體 STM 434投與 脂質體阿黴素投與(僅第3部分) 伴隨藥物 不良事件 在所列取樣時間(參見附錄5)之±30分鐘內進行給藥後PK取樣；PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間 6.2.3.2 第1循環/第2、3、8天 移除Holter監測器(僅第2天) 在所列取樣時間(參見附錄5)之±4小時內進行PK取樣；PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間 6.2.3.3 第1循環/第15天 以下評估應在第15±1天進行： 身體檢查 體重 BMI(基於最近體重及身高)之eCRF計算 生命體征(聽覺、經皮或口腔溫度、坐姿血壓，及心率及呼吸速率) ECOG效能狀態 STM 434投與 伴隨藥物 不良事件 PRO：FACT/GOG-NTX子量表 實驗室研究(本地實驗室)：血清化學、血液組、凝血組、FSH、性激素(女性個體為雌二醇、男性個體為睪固酮) 專門實驗室研究(中央實驗室)：血清活化素A 在所列取樣時間(參見附錄5)前之1天內進行PK取樣；PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間 6.2.3.4 第2、4、6循環.../第1天 除非下文另有說明，否則以下評估應在預定訪視之±3天內進行： 身體檢查 體重 BMI(基於最近體重及身高)之eCRF計算
--	---

	生命體征(聽覺、經皮或口腔溫度、坐姿血壓，及心率及呼吸速率) ECOG效能狀態 STM 434投與 脂質體阿黴素投與(僅第3部分) 伴隨藥物 不良事件 PRO：FACT/GOG-NTX子量表 12引線ECG(使用中央實驗室設備) 實驗室研究(本地實驗室)：血清化學、血液組、凝血組、FSH、性激素(女性個體為雌二醇、男性個體為睪固酮)、適當時用於腫瘤類型的血清腫瘤生物標記(例如CA-125用於患有卵巢癌的個體；PSA用於患有前列腺癌的個體；CEA用於患有結腸癌的個體；MIS [中央實驗室]用於患有顆粒層細胞腫瘤之個體) 專門實驗室研究(中央實驗室)：血清活化素A、CTC(僅第2循環之第1天)針對抗STM 434抗體進行的臨床免疫學取樣 在所列取樣時間(參見附錄5)之±4小時內進行PK取樣；PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間 肌肉功能測試(僅第2循環)：6MWT(每項努力應使得此測試進行的當日時間及檢查員與在篩選時進行的相同) 6.2.3.5 第2、4、6循環.../第15天 除非下文另有說明，否則以下評估應在預定訪視之±3天內進行： 身體檢查 體重 BMI(基於最近體重及身高)之eCRF計算 生命體征(聽覺、經皮或口腔溫度、坐姿血壓，及心率及呼吸速率) STM 434投與 伴隨藥物 不良事件 在所列取樣時間(參見附錄5)前之1天內進行PK取樣；PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間 6.2.3.6 第3、5、7循環.../第1天(及在治療中斷時) 以下評估應在預定訪視之±3天內進行： 身體檢查 體重 BMI(基於最近體重及身高)之eCRF計算 生命體征(聽覺、經皮或口腔溫度、坐姿血壓，及心率及呼吸速率) ECOG效能狀態 STM 434投與 脂質體阿黴素投與(僅第3部分) 伴隨藥物 不良事件 PRO：FACT/GOG-NTX子量表 ECG(12引線，使用中央實驗室設備) 實驗室研究(本地實驗室)：血清化學、血液組、凝血組、脂質組、FSH、性激素(女性個體為雌二醇、男性個體為睪固酮)、空腹血清葡萄糖，及空腹血清胰島素用於HOMA計算、HbA1c(僅在第3循環之第1天
--	---

	及治療中斷時)、適當時用於腫瘤類型的血清腫瘤生物標記(例如CA-125用於患有卵巢癌的個體、PSA用於患有前列腺癌的個體；CEA用於患有結腸癌的個體；MIS [中央實驗室]用於患有顆粒層細胞腫瘤的個體) 專門實驗室研究(中央實驗室)：活化素A 針對抗STM 434抗體進行的臨床免疫學取樣 在所列取樣時間(參見附錄5)之±30分鐘內進行給藥後PK取樣。在治療中斷時，PK取樣窗為±3天。PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間 癌症、心臟及身體組成放射學評估 本地實驗室在第1天之前的14天內對胸部/腹部/骨盆進行CT/MRI以便進行腫瘤分期(直至C7D1；隨後，若研究者認為疾病進展可能性低，則研究者可將腫瘤分期掃描頻率降低至每四個循環一次，亦即C11、C15...) 本地實驗室骨掃描用於腫瘤分期(僅針對骨轉移的個體；在C7D1之後，若研究者認為疾病進展可能性低，則研究者可降低腫瘤分期掃描頻率至每四個循環一次，亦即C11、C15...) 中央實驗室在第1天之前的14天內針對身體組成進行的DXA(直至C7D1；隨後每四個循環收集其他DXA掃描，亦即在C11、C15...) 本地實驗室針對心臟功能進行的MUGA或ECHO(僅針對第3部分中將接受脂質體阿黴素的個體，僅在第3個循環進行) 肌肉功能測試：6MWT(每項努力應使得進行此測試的當日時間及檢查員與篩選時所進行的相同；在C7D1之後，每四個循環收集6MWT，亦即在C11、C15...) 6.2.3.7 第3循環/第2、3、8天 在所列取樣時間(參見附錄5)之±4小時內進行PK取樣；PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間 6.2.3.8 第3、5、7循環.../第15天 除非下文另有說明，否則以下評估應在預定訪視之±3天內進行： - 身體檢查 - 體重 - BMI(基於最近體重及身高)之eCRF計算 - 生命體征(聽覺、經皮或口腔溫度、坐姿血壓，及心率及呼吸速率) - STM 434投與 - 伴隨藥物 - 不良事件 在所列取樣時間(參見附錄5)前之1天內進行PK取樣；PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間 6.2.4研究結束 EOS訪視應預定於向完成研究之個體最後投與STM 434之後的28±3天。完成研究之前中斷的個體應在中斷時經歷EOS評估。EOS訪視時進行的評估如下： - 身體檢查 - 體重 - BMI(基於最近體重及身高)之eCRF計算 - 生命體征(聽覺、經皮或口腔溫度、坐姿血壓，及心率及呼吸速率) - ECOG效能狀態 - 不良事件
--	---

	PRO：FACT/GOG-NTX子量表 12引線ECG(使用中央實驗室設備) 實驗室研究(本地實驗室)：血清化學、血液組、凝血組、脂質組、FSH、性激素(女性個體為雌二醇，男性個體為睪固酮)、HbA1c、適當時用於腫瘤類型的血清腫瘤生物標記(例如CA-125用於患有卵巢癌的個體，PSA用於患有前列腺癌的個體，CEA用於患有結腸癌的個體) 專門實驗室研究(中央實驗室)：血清活化素A 針對抗STM 434抗體進行的臨床免疫學取樣
6.3 針 對 接 受 STM 434 Q3W 之 個 體 的 程 序	以下時程用於接受STM 434 Q3W之個體。依照此時程，個體將在每個循環21天之第1天接受STM 434。 6.3.1 篩選 除非指明，否則應在起始研究藥物之第一次劑量之前的14天內記錄/進行以下評估/程序： 個體出具的書面知情同意書(必須在執行任何研究特定程序之前獲得) 個體滿足所有包含及排除標準的核驗 人口統計資料及完整病史，包括BRCA1狀態(卵巢癌及乳癌個體) 身體檢查 身高及體重 身體質量指數(BMI，基於最近的身高及體重)之eCRF計算 生命體征(聽覺、經皮或口腔溫度、坐姿血壓，及心率及呼吸速率) ECOG效能狀態 伴隨藥物 報導自簽署知情同意文件直至第1天投與研究藥物時的治療前SAE PRO：FACT/GOG-NTX子量表 12引線ECG(本地執行及讀取) 實驗室研究(本地實驗室)：血清化學、血液組、凝血組、血清脂質、尿分析、血清驗孕(僅具生育潛力之女性)、隱性血液之隱血大便測試、FSH、性激素(女性個體為雌二醇、男性個體為睪固酮)、空腹血清葡萄糖及血清胰島素用於HOMA計算、HbA1c、適當時用於腫瘤類型的血清腫瘤生物標記(例如CA-125用於患有卵巢癌之個體；PSA用於患有前列腺癌之個體；CEA用於患有結腸癌之個體；MIS [中央實驗室]用於患有顆粒層細胞腫瘤之個體) 專門實驗室研究(中央實驗室)：血清活化素A、CTC、腫瘤切片/腫瘤包埋檢體用於ACVR2B及INHBA基因表現(所有個體)、基因突變狀態(針對患有透明細胞/子宮內膜/顆粒層細胞腫瘤的個體) 針對抗STM 434抗體進行的臨床免疫學取樣 癌症、心臟及身體組成放射學評估(在起始研究藥物之第一次劑量之前的30天內)： 本地實驗室對胸部/腹部/骨盆進行之CT/MRI用於腫瘤分期 較佳為可排除CNS轉移的大腦MRI。若個體不能/不願意經歷MRI，則使用造影劑的開放MRI/CT為可接受的。 本地實驗室進行的骨掃描用於腫瘤分期(針對僅有骨轉移的個體) 中央實驗室針對身體組成進行的DXA 肌肉功能測試：6MWT 6MWT應執行兩次，最佳的2次測試將記錄於eCRF 2次測試之間，個體應休息至少1小時

	每項努力應使得後續6MWT在當日相同時間由相同檢查員進行 6.3.2第-1天 ECG(置放中央實驗室的Holter裝置且穿戴直至第1循環之第2天研究訪視) 6.3.3治療期 6.3.3.1 第1循環/第1天 除非下文另有說明，否則應在預定訪視之前的3天內進行以下評估(實驗室研究應在給藥前完成)： - 身體檢查 - 體重 - BMI(基於最近體重及身高)之eCRF計算 - 生命體征(聽覺、經皮或口腔溫度、坐姿血壓，及心率及呼吸速率) - ECOG效能狀態 - ECG(個體繼續穿戴中央實驗室的Holter裝置，該裝置在第-1天置放直至第1循環之第2天研究訪視) - 實驗室研究(本地實驗室)：血清化學、血液組、凝血組、FSH、性激素(女性個體為雌二醇、男性個體為睪固酮)、適當時用於腫瘤類型的血清腫瘤生物標記(例如CA-125用於患有卵巢癌的個體；PSA用於患有前列腺癌的個體；CEA用於患有結腸癌的個體；MIS [中央實驗室]用於患有顆粒層細胞腫瘤之個體) - 專門實驗室研究(中央實驗室)：血清活化素A - 臨床免疫學取樣(中央實驗室)用於抗STM 434抗體 - STM 434投與 - 伴隨藥物 - 不良事件 在所列取樣時間(參見附錄6)之±30分鐘內進行給藥後PK取樣；PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間 6.3.3.2 第1循環/第2、3、8天 移除Holter監測器(僅第2天) 在所列取樣時間(參見附錄6)之±4小時內進行PK取樣；PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間 6.3.3.3 第1循環/第15天 在所列取樣時間(參見附錄6)之±1天內進行PK取樣；PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間 6.3.3.4 第2、4、6循環.../第1天 除非下文另有說明，否則以下評估應在預定訪視之±3天內進行： - 身體檢查 - 體重 - BMI(基於最近體重及身高)之eCRF計算 - 生命體征(聽覺、經皮或口腔溫度、坐姿血壓，及心率及呼吸速率) - ECOG效能狀態 - STM 434投與 - 伴隨藥物 - 不良事件 - PRO：FACT/GOG-NTX子量表 12引線ECG(使用中央實驗室設備)
--	--

實驗室研究(本地實驗室)：血清化學、血液組、凝血組、FSH、性激素(女性個體為雌二醇、男性個體為睪固酮)、適當時用於腫瘤類型的血清腫瘤生物標記(例如CA-125用於患有卵巢癌的個體；PSA用於患有前列腺癌的個體；CEA用於患有結腸癌的個體；MIS [中央實驗室]用於患有顆粒層細胞腫瘤之個體)

專門實驗室研究(中央實驗室)：血清活化素A、CTC(僅第2循環之第1天)針對抗STM 434抗體進行的臨床免疫學取樣

在所列取樣時間(參見附錄6)之±4小時內進行PK取樣；PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間

肌肉功能測試(僅第2循環)：6MWT(每項努力應使得此測試進行的當日時間及檢查員與在篩選時進行的相同)

6.3.3.5 第3、5、7循環.../第1天(及在治療中斷時)

以下評估應在預定訪視之±3天內進行：

- 身體檢查
- 體重
- BMI(基於最近體重及身高)之eCRF計算
- 生命體征(聽覺、經皮或口腔溫度、坐姿血壓，及心率及呼吸速率)
- ECOG效能狀態
- STM 434投與
- 伴隨藥物
- 不良事件
- PRO：FACT/GOG-NTX子量表
- ECG(12引線，使用中央實驗室設備)

實驗室研究(本地實驗室)：血清化學、血液組、凝血組、脂質組、FSH、性激素(女性個體為雌二醇、男性個體為睪固酮)、空腹血清葡萄糖，及空腹血清胰島素用於HOMA計算、HbA1c(僅在第3循環之第1天及治療中斷時)、適當時用於腫瘤類型的血清腫瘤生物標記(例如CA-125用於患有卵巢癌的個體、PSA用於患有前列腺癌的個體；CEA用於患有結腸癌的個體；MIS [中央實驗室]用於患有顆粒層細胞腫瘤的個體)

專門實驗室研究(中央實驗室)：活化素A

針對抗STM 434抗體進行的臨床免疫學取樣

在所列取樣時間(參見附錄6)之±30分鐘內進行給藥後PK取樣。在治療中斷時，PK取樣窗為±3天。PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間

癌症、心臟及身體組成放射學評估

本地實驗室在第1天之前的14天內對胸部/腹部/骨盆進行CT/MRI以便進行腫瘤分期(直至C7D1；隨後，若研究者認為疾病進展可能性低，則研究者可將腫瘤分期掃描頻率降低至每四個循環一次，亦即C11、C15...)

本地實驗室骨掃描用於腫瘤分期(僅針對骨轉移的個體；在C7D1之後，若研究者認為疾病進展可能性低，則研究者可降低腫瘤分期掃描頻率至每四個循環一次，亦即C11、C15...)

中央實驗室在第1天之前的14天內針對身體組成進行的DXA(直至C7D1；隨後每四個循環收集其他DXA掃描，亦即在C11、C15...)

肌肉功能測試：6MWT(每項努力應使得進行此測試的當日時間及檢查員與篩選時所進行的相同；在C7D1之後，每四個循環收集6MWT，亦即在C11、C15...)

	6.3.3.6 第3循環/第2、3、8天 在所列取樣時間(參見附錄6)之±4小時內進行PK取樣；PK訪視及取樣時間應基於實際給藥時間 6.3.4研究結束 EOS訪視應預定於向完成研究之個體最後投與STM 434之後的28±3天。完成研究之前中斷的個體應在中斷時經歷EOS評估。EOS訪視時進行的評估如下： 身體檢查 體重 BMI(基於最近體重及身高)之eCRF計算 生命體征(聽覺、經皮或口腔溫度、坐姿血壓，及心率及呼吸速率) ECOG效能狀態 不良事件 PRO：FACT/GOG-NTX子量表 12引線ECG(使用中央實驗室設備) 實驗室研究(本地實驗室)：血清化學、血液組、凝血組、脂質組、FSH、性激素(女性個體為雌二醇，男性個體為睪固酮)、HbA1c、適當時用於腫瘤類型的血清腫瘤生物標記(例如CA-125用於患有卵巢癌的個體，PSA用於患有前列腺癌的個體，CEA用於患有結腸癌的個體) 專門實驗室研究(中央實驗室)：血清活化素A 針對抗STM 434抗體進行的臨床免疫學取樣
7. 功效及安全評估	各功效及安全變數描述如下。用於所有評估之時程列舉於章節6中且以表格形式提供於附錄1(Q4W給藥[時程A])、附錄2(Q2W給藥[時程B])及附錄3(Q3W給藥[時程C])。
7.1 藥物動力學	STM 434血漿濃度將由中央實驗室測定(STM 434之Q4W、Q2W及Q3W給藥之血液取樣時間分別描述於附錄4、附錄5及附錄6中)。
7.2.4.1 生物標記	所有生物標記實驗室樣品應在給藥之前收集。
7.2.4.1.1 腫瘤生物標記	在RECIST 1.1放射照相術進展不存在下，腫瘤標記不應用作疾病進展之唯一證據。
7.2.4.1.2 血清腫瘤生物標記(活化素A、FSH、雌二醇、睪固酮)	由於顆粒層細胞腫瘤患者之抑制生物標記量測結果在STM 434存在下可能混淆，因此可進行中央實驗室MIS分析。
7.2.4.1.3 組織腫瘤生物標記	藉由在篩選時使用經驗證之RNA Scope [®] 分析量測受體ACVR2B及配位體INHBA之mRNA(所有個體)來檢查經福馬林固定、經石蠟嵌埋之腫瘤切片中的自分泌/旁分泌信號傳導。
7.2.4.2 血清脂質	所有脂質樣品應在給藥之前收集。
7.2.4.3 依據恆穩模型評估的空腹血清葡萄糖	所有空腹胰島素及葡萄糖及HbA1c樣品應在給藥之前收集。

糖 及 胰 島 素 ， 及 HbA1c	
7.3 安全性	所有安全實驗室樣品應在給藥之前收集。
9.6 樣品大小確定	研究計劃募集多達總共75位個體(組成為第1部分中多達39位個體、第2部分中24位個體及第3部分中多達12位個體)。
附錄	附錄1經修改以與特定針對Q4W給予STM 434的研究程序對應。 附錄2概述特定針對Q2W給予STM 434的研究程序 附錄3概述特定針對Q3W給予STM 434的研究程序 附錄4經修改以指明Q4W給予STM 434期間的PK取樣時程 附錄5概述Q2W給予STM 434期間的PK取樣時程 附錄6概述Q3W給予STM 434期間的PK取樣時程

附錄1：針對Q4W投與STM 434之研究程序											
評價	篩選		治療期								研究結束 ²
			第1循環			第2、 4、6循 環…	第3、5、7循環…				
	第-14 天至 第1天	第-1 天	第1天 (-3天)	第2、 3、8 天	第15天 (± 1天)	第1天 (± 3天)	第1天 (± 3天)	第2、 3、8 天	第15天 (± 1天)	治療 中斷 ¹	
簽署知情同意書	X										
病史，人口統計資料，先前癌症療法	X										
身體檢查，身高及體重 ³	X		X		X	X	X			X	X
大便隱血檢查	X ⁴										
生命體征 ⁵	X		X		X	X	X			X	X
ECOG	X		X		X	X	X			X	X
ECG ⁶	X	X		X ⁶		X	X			X	X
FACT/GOG-NTX ⁷	X				X	X	X			X	X
MUGA 或 ECHO	X ⁸						X ⁸			X ⁸	
STM 434 投與			X			X	X			X	
脂質體阿黴素給藥投與 ⁹			X			X	X			X	
伴隨藥物	X		X		X	X	X			X	X

附錄1：針對Q4W投與STM 434之研究程序

評價	篩選		治療期								研究結束 ²
			第1循環			第2、4、6循環…	第3、5、7循環…				
	第-14天至第1天	第-1天	第1天(-3天)	第2、3、8天	第15天(±1天)	第1天(±3天)	第1天(±3天)	第2、3、8天	第15天(±1天)	治療中斷 ¹	
不良事件	X ¹⁰		X		X	X	X			X	X ¹¹
血液學	X		X		X	X	X			X	X
凝血組(PT、PTT、INR、TT ¹² 、D-二聚體 ¹²)	X		X		X	X	X			X	X
血清化學	X		X		X	X	X			X	X
空腹葡萄糖及空腹胰島素	X						X			X	
HbA1c ¹³	X						X ¹³			X ¹³	X
血清脂質	X						X			X	X
血清腫瘤生物標記 ¹⁴	X		X			X	X			X	X
組織腫瘤生物標記 ¹⁵	X										
尿分析(量桿)	X										
血清驗孕 ¹⁶	X										
活化素A(游離及總計)	X		X		X	X	X			X	X
CTCs	X ¹⁷					X ¹⁷					
FSH、雌二醇(女性個體)、睪固酮(男性個體)	X		X		X	X	X			X	X
中央實驗室DXA	X ¹⁸						X ¹⁹			X ¹⁹	
6分鐘行走測試	X					X ²⁰	X			X	
大腦CT/MRI篩選	X										
胸部/腹部/骨盆CT/MRI	X ¹⁸						X ¹⁹			X ¹⁹	
骨掃描 ²¹	X ¹⁸						X ¹⁹			X ¹⁹	
疾病進展評估 ²²							X			X	

附錄1：針對Q4W投與STM 434之研究程序											
評價	篩選		治療期								研究結束 ²
			第1循環			第2、4、6循環…	第3、5、7循環…				
	第-14天至第1天	第-1天	第1天(-3天)	第2、3、8天	第15天(±1天)	第1天(±3天)	第1天(±3天)	第2、3、8天	第15天(±1天)	治療中斷 ¹	
	抗 STM 434 抗體	X		X			X	X			
給藥前PK			X ²³			X ²³	X ²³			X ²³	
給藥後PK			X ²³	X ²³	X ²³	X ²³		X ²³	X ²³		

研究程序之腳註

- ¹ 適當時，治療中斷訪視可在任何預定或非預定的訪視時進行。在此訪視時，需要可確認進行性疾病或不可接受之毒性的文件。
- ² EOS訪視應預定於最後投與STM 434之後的第28天±3天。
- ³ 每次訪視時記錄個體體重；篩選訪視時僅記錄身高。
- ⁴ 大便隱血必需在篩選時進行且可在研究者的判斷下在基線後重複進行。
- ⁵ 生命體征：聽覺、經皮或口腔溫度、坐血壓、心率及呼吸速率
- ⁶ 篩選訪視之後，必須使用中央實驗室的設備收集ECG。個體在第-1天開始連續穿戴Holter監測器直至第1循環/第2天訪視，此時移除Holter監測器。在後續各循環之第1天時及在EOS訪視時，利用中央實驗室設備獲得12引線ECG。
- ⁷ 若需要評估神經病變之AE，則可在非預定的訪視時收集FACT/GOG-NTX。
- ⁸ 惟第3部分中的個體需要MUGA或ECHO記錄心臟射血分數用於脂質體阿黴素投與。MUGA或ECHO之選擇由研究者決定，但模式一經選擇，則個體在整個研究期間應使用相同方法。MUGA/ECHO僅

在篩選時及第3循環第1天時進行。在第3部分中之阿黴素治療個體在第3循環第1天之前中斷的情況下，MUGA/ECHO應在治療中斷訪視時進行。

⁹ 脂質體阿黴素投與限於研究之第3部分中的個體。

¹⁰ 報導自簽署知情同意文件直至第1循環第1天投與研究藥物時的治療前SAE。

¹¹ 最後投與STM 434之後的30天需要進行AE隨訪，以確定是否存在任何新的或進行中的AE或SAE，不論因果歸因。隨訪可經由電話進行且必須記錄於註釋出處。

¹² 僅在篩選及第2循環第1天時。

¹³ HbA1c僅在篩選、第3循環第1天、治療中斷及EOS時收集且分析。

¹⁴ 血清腫瘤生物標記可包括CA-125、PSA、CA 19-9、CEA，或適當時基於個體腫瘤類型的其他生物標記。對於患有顆粒層細胞腫瘤的患者而言，在每一循環之第1天進行中央實驗室MIS。

¹⁵ 組織腫瘤生物標記包括腫瘤切片/腫瘤包埋檢體用於ACVR2B及INHBA基因表現(所有個體)以及基因突變狀態(患有透明細胞/子宮內膜/顆粒層細胞腫瘤的個體)。

¹⁶ 僅具有生育潛力的女性。

¹⁷ CTC僅在篩選及第2循環第1天時收集。

¹⁸ 第1循環第1天之前長達30天執行的掃描(DXA、CT、MRI、骨)可用於基線評估。

¹⁹ 研究的DXA、CT/MRI及骨掃描可在第1天訪視之前的14天內完成。在第7循環第1天訪視時進行掃描之後，若研究者認為疾病進展可能性低，則後續掃描可每四個循環進行。

²⁰ 6分鐘行走測試僅在第2循環第1天訪視時完成。

21 骨掃描評估應在研究者判斷下進行，例如若個體腫瘤轉移至骨。

22 研究者應根據RECIST 1.1(附錄7)評估放射照相術掃描

23 用於PK評估之詳細時程呈現於此方案之附錄4中。注意：第2、3及8天的PK評估僅在第1循環及第3循環進行。

附錄2. 針對Q2W投與STM 434(每個循環28天在第1天及第15天給予STM 434)的研究程序												
評價	篩選		治療期									研究結束 ²
			第1循環			第2、4、6 循環…		第3、5、7循環…				
	第-14 天至 第1天	第-1 天	第1天 (-3天)	第 2、 3、8 天	第15 天 (±1 天)	第1天 (±3 天)	第15 天 (±3 天)	第1 天 (±3 天)	第 2、 3、8 天	第15 天 (±3 天)	治療 中斷 ¹	
簽署知情同意書	X											
病史，人口統計 資料，先前癌症 療法	X											
身體檢查，身高 及體重 ³	X		X		X	X	X	X		X	X	X
大便隱血檢查	X ⁴											
生命體征 ⁵	X		X		X	X	X	X		X	X	X
ECOG	X		X		X	X		X			X	X
ECG ⁷	X	X		X ⁶		X		X			X	X
FACT/GOG- NTX ⁷	X				X	X		X			X	X
MUGA或ECHO	X ⁸							X ⁸			X ⁸	
STM 434投與			X		X	X	X	X		X	X	
脂質體阿黴素給 藥投與 ⁹			X			X		X			X	
伴隨藥物	X		X		X	X	X	X		X	X	X
不良事件	X ¹⁰		X		X	X	X	X		X	X	X ¹¹
血液學	X		X		X	X		X			X	X
凝 血 組 (PT、 PTT、INR、 TT ¹² 、D二聚體 ¹²)	X		X		X	X		X			X	X
血清化學	X		X		X	X		X			X	X
空腹葡萄糖及空 腹胰島素	X							X			X	
HbA1c ¹³	X							X ¹³			X ¹³	X
血清脂質	X							X			X	X
血清腫瘤生物標	X		X			X		X			X	X

附錄2. 針對Q2W投與STM 434(每個循環28天在第1天及第15天給予STM 434)的研究程序												
評價 記 ¹⁴	篩選		治療期									研究 結束 ²
			第1循環			第2、4、6 循環…		第3、5、7循環…				
	第-14 天至 第1天	第-1 天	第1天 (-3天)	第 2、 3、8 天	第15 天 (±1 天)	第1天 (±3 天)	第15 天 (±3 天)	第1 天 (±3 天)	第 2、 3、8 天	第15 天 (±3 天)	治療 中斷 ¹	
組織腫瘤生物標 記 ¹⁵	X											
尿分析(量桿)	X											
血清驗孕 ¹⁶	X											
活化素A(游離及 總計)	X		X		X	X		X			X	X
CTCs	X ¹⁷					X ¹⁷						
FSH、雌二醇(女 性個體)、睪固 酮(男性個體)	X		X		X	X		X			X	X
中央實驗室DXA	X ¹⁸							X ¹⁹			X ¹⁹	
6分鐘行走測試	X					X ²⁰		X			X	
大 腦 CT/MRI 篩 選	X											
胸部/腹部/骨盆 CT/MRI	X ¹⁸							X ¹⁹			X ¹⁹	
骨掃描 ²¹	X ¹⁸							X ¹⁹			X ¹⁹	
疾病進展評估 ²²								X			X	
抗STM 434抗體	X		X			X		X			X	X
給藥前PK			X ²³			X ²³	X ²³	X ²³		X ²³	X ²³	
給藥後PK			X ²³	X ²³	X ²³	X ²³			X ²³			

研究程序之腳註

- ¹ 適當時，治療中斷訪視可在任何預定或非預定的訪視時進行。在此訪視時，需要可確認進行性疾病或不可接受之毒性的文件。
- ² EOS訪視應預定於最後投與STM 434之後的第28天±3天。
- ³ 每次訪視時記錄個體體重；篩選訪視時僅記錄身高。
- ⁴ 大便隱血必需在篩選時進行且可在研究者的判斷下在基線後重複進行。
- ⁵ 生命體征：聽覺、經皮或口腔溫度、坐血壓、心率及呼吸速

率

⁶ 篩選訪視之後，必須使用中央實驗室的設備收集ECG。個體在第-1天開始連續穿戴Holter監測器直至第1循環/第2天訪視，此時移除Holter監測器。在後續各循環之第1天時及在EOS訪視時，利用中央實驗室設備獲得12引線ECG。

⁷ 若需要評估神經病變之AE，則可在非預定的訪視時收集FACT/GOG-NTX。

⁸ 惟第3部分中的個體需要MUGA或ECHO記錄心臟射血分數用於脂質體阿黴素投與。MUGA或ECHO之選擇由研究者決定，但模式一經選擇，則個體在整個研究期間應使用相同方法。MUGA/ECHO僅在篩選時及第3循環第1天時進行。在第3部分中之阿黴素治療個體在第3循環第1天之前中斷的情況下，MUGA/ECHO應在治療中斷訪視時進行。

⁹ 脂質體阿黴素投與限於研究之第3部分中的個體。

¹⁰ 報導自簽署知情同意文件直至第1循環第1天投與研究藥物時的治療前SAE。

¹¹ 最後投與STM 434之後的30天需要進行AE隨訪，以確定是否存在任何新的或進行中的AE或SAE，不論因果歸因。隨訪可經由電話進行且必須記錄於註釋出處。

¹² 僅在篩選及第2循環第1天時。

¹³ HbA1c僅在篩選、第3循環第1天、治療中斷及EOS時收集且分析。

¹⁴ 血清腫瘤生物標記可包括CA-125、PSA、CA 19-9、CEA，或適當時基於個體腫瘤類型的其他生物標記。對於患有顆粒層細胞腫瘤的患者而言，在每一循環之第1天進行中央實驗室MIS。

¹⁵ 組織腫瘤生物標記包括腫瘤切片/腫瘤包埋檢體用於ACVR2B

及INHBA基因表現(所有個體)以及基因突變狀態(患有透明細胞/子宮內膜/顆粒層細胞腫瘤的個體)。

- ¹⁶ 僅具有生育潛力的女性。
- ¹⁷ CTC僅在篩選及第2循環第1天時收集。
- ¹⁸ 第1循環第1天之前長達30天執行的掃描(DXA、CT、MRI、骨)可用於基線評估。
- ¹⁹ 研究的DXA、CT/MRI及骨掃描可在第1天訪視之前的14天內完成。在第7循環第1天訪視時進行掃描之後，若研究者認為疾病進展可能性低，則後續掃描可每四個循環進行。
- ²⁰ 6分鐘行走測試僅在第2循環第1天訪視時完成。
- ²¹ 骨掃描評估應在研究者判斷下進行，例如若個體腫瘤轉移至骨。
- ²² 研究者應根據RECIST 1.1(附錄7)評估放射照相術掃描
- ²³ 用於PK評估之詳細時程呈現於此方案之附錄5中。注意：第2、3及8天的PK評估僅在第1循環及第3循環進行。

附錄3. 針對Q3W投與STM 434之研究程序										
評價	篩選		治療期							研究結束 ²
			第1循環			第2、4、6循環…	第3、5、7循環…			
	第-14天至第1天	第-1天	第1天(-3天)	第2、3、8天	第15天(±1天)	第1天(±3天)	第1天(±3天)	第2、3、8天	治療中斷 ¹	
簽署知情同意書	X									
病史，人口統計資料，先前癌症療法	X									
身體檢查，身高及體重 ³	X		X			X	X		X	X
大便隱血檢查	X ⁴									
生命體征 ⁵	X		X			X	X		X	X
ECOG	X		X			X	X		X	X
ECG ⁶	X	X		X ⁶		X	X		X	X
FACT/GOG-NTX ⁷	X					X	X		X	X
STM 434投與			X			X	X		X	
伴隨藥物	X		X			X	X		X	X

附錄3. 針對Q3W投與STM 434之研究程序

評價	篩選		治療期							研究結束 ²
			第1循環			第2、4、6循環…	第3、5、7循環…			
	第-14天至第1天	第-1天	第1天(-3天)	第2、3、8天	第15天(±1天)	第1天(±3天)	第1天(±3天)	第2、3、8天	治療中斷 ¹	
不良事件	X ⁸		X			X	X		X	X ⁹
血液學	X		X			X	X		X	X
凝 血 組 (PT 、 PTT 、 INR 、 TT ¹⁰ 、D-二聚體 ¹⁰)	X		X			X	X		X	X
血清化學	X		X			X	X		X	X
空腹葡萄糖及空腹胰島素	X						X		X	
HbA1c ¹¹	X						X ¹¹		X ¹¹	X
血清脂質	X						X		X	X
血清腫瘤生物標記 ¹²	X		X			X	X		X	X
組織腫瘤生物標記 ¹³	X									
尿分析(量桿)	X									
血清驗孕 ¹⁴	X									
活化素A(游離及總計)	X		X			X	X		X	X
CTCs	X ¹⁵					X ¹⁵				
FSH、雌二醇(女性個體)、睪固酮(男性個體)	X		X			X	X		X	X
中央實驗室DXA	X ¹⁶						X ¹⁷		X ¹⁷	
6分鐘行走測試	X					X ¹⁸	X		X	
大腦CT/MRI篩選	X									
胸 部 / 腹 部 / 骨 盆 CT/MRI	X ¹⁶						X ¹⁷		X ¹⁷	
骨掃描 ¹⁹	X ¹⁶						X ¹⁷		X ¹⁷	
疾病進展評估 ²⁰							X		X	
抗STM 434抗體	X		X			X	X		X	X
給藥前PK			X ²¹			X ²¹	X ²¹		X ²¹	
給藥後PK			X ²¹	X ²¹	X ²¹	X ²¹		X ²¹		

研究程序之腳註

¹ 適當時，治療中斷訪視可在任何預定或非預定的訪視時進行。在此訪視時，需要可確認進行性疾病或不可接受之毒性的文件。

² EOS訪視應預定於最後投與STM 434之後的第28天±3天。

³ 每次訪視時記錄個體體重；篩選訪視時僅記錄身高。

⁴ 大便隱血必需在篩選時進行且可在研究者的判斷下在基線後重複進行。

⁵ 生命體征：聽覺、經皮或口腔溫度、坐血壓、心率及呼吸速率

⁶ 篩選訪視之後，必須使用中央實驗室的設備收集ECG。個體在第-1天開始連續穿戴Holter監測器直至第1循環/第2天訪視，此時移除Holter監測器。在後續各循環之第1天時及在EOS訪視時，利用中央實驗室設備獲得12引線ECG。

⁷ 若需要評估神經病變之AE，則可在非預定的訪視時收集FACT/GOG-NTX。

⁸ 報導自簽署知情同意文件直至第1循環第1天投與研究藥物時的治療前SAE。

⁹ 最後投與STM 434之後的30天需要進行AE隨訪，以確定是否存在任何新的或進行中的AE或SAE，不論因果歸因。隨訪可經由電話進行且必須記錄於註釋出處。

¹⁰ 僅在篩選及第2循環第1天時。

¹¹ HbA1c僅在篩選、第3循環第1天、治療中斷及EOS時收集且分析。

¹² 血清腫瘤生物標記可包括CA-125、PSA、CA 19-9、CEA，或適當時基於個體腫瘤類型的其他生物標記。對於患有顆粒層細胞腫瘤的患者而言，在每一循環之第1天進行中央實驗室MIS。

¹³ 組織腫瘤生物標記包括腫瘤切片/腫瘤包埋檢體用於ACVR2B及INHBA基因表現(所有個體)以及基因突變狀態(患有透明細胞/子宮內膜/顆粒層細胞腫瘤的個體)。

¹⁴ 僅具有生育潛力的女性。

¹⁵ CTC僅在篩選及第2循環第1天時收集。

¹⁶ 第1循環第1天之前長達30天執行的掃描(DXA、CT、MRI、骨)可用於基線評估。

¹⁷ 研究的DXA、CT/MRI及骨掃描可在第1天訪視之前的14天內完成。在第7循環第1天訪視時進行掃描之後，若研究者認為疾病進展可能性低，則後續掃描可每四個循環進行。

¹⁸ 6分鐘行走測試僅在第2循環第1天訪視時完成。

¹⁹ 骨掃描評估應在研究者判斷下進行，例如若個體腫瘤轉移至骨。

²⁰ 研究者應根據RECIST 1.1(附錄7)評估放射照相術掃描

²¹ 用於PK評估之詳細時程呈現於此方案之附錄6中。注意：第2、3及8天的PK評估僅在第1循環及第3循環進行。

附錄4. Q4W投與STM 434之藥物動力學評價時程

循環及天數	第1部分(劑量遞增)	第2部分(單一療法劑量遞增)	第3部分(STM 434 + 脂質體阿黴素)	
	STM 434取樣 ^a	STM 434取樣 ^a	STM 434取樣 ^a	阿黴素/阿黴素醇取樣 ^b
第1循環之第1天	給藥前 輸注結束 輸注後1、2、6 小時	給藥前 輸注結束 輸注後1、2、6 小時	給藥前 輸注結束 輸注後1、2、6 小時	給藥前 輸注結束 輸注後1、2、3、4、6小時
第1循環之第2天	輸注後24小時	—	輸注後24小時	輸注後24小時
第1循環之第3天	輸注後48小時	—	輸注後48小時	輸注後48小時
第1循環之第8天	輸注後168小時	—	輸注後168小時	輸注後168小時
第1循環之第15天	輸注後336小時	輸注後336小時	輸注後336小時	輸注後336小時
第2循環之第1天	第1循環之後672小時 第2循環輸注結束	第1循環後672小時 第2循環輸注結束	第1循環後672小時 第2循環輸注結束	第1循環結束/第2循環給藥前 第2循環輸注結束
第3循環之第1天	第2循環後672小時 第3循環輸注結束	第2循環後672小時	第2循環後672小時 第3循環輸注結束	第2循環結束/第3循環給藥前

	輸注後1、2、6小時	第3循環輸注結束 輸注後1、2、6 小時	輸注後1、2、6小時	第3循環輸注結束 輸注後1、2、3、 4、6小時
第3循環之第 2天	輸注後24小時	—	輸注後24小時	輸注後24小時
第3循環之第 3天	輸注後48小時	—	輸注後48小時	輸注後48小時
第3循環之第 8天	輸注後168小時	—	輸注後168小時	輸注後168小時
第3循環之第 15天	輸注後336小時	輸注後336小時	輸注後336小時	輸注後336小時
第4循環之第 1天	第3循環後672小時 第4循環輸注結束	第3循環後672小 時 第4循環輸注結束	第3循環後672小時 第4循環輸注結束	第3循環結束/第4 循環給藥前 第4循環輸注結束
第5循環之第 1天	第4循環672小時 第5循環輸注結束	第4循環後672小 時 第5循環輸注結 束	第4循環後672小時 第5循環輸注結束	第4循環後672小 時 第5循環輸注結束
治療中斷	最後輸注後672小時	—	最後輸注後672小時	最後輸注後672小時

^a 所有STM 434取樣時間係相對於STM 434給藥而言。

^b 所有阿黴素/阿黴素醇取樣時間係相對於脂質體阿黴素給藥而言。

對於Q4W給藥而言，給藥後PK取樣窗如下：

第1循環	第1天：± 30分鐘	第2、3、8天：
± 4小時	第15天：± 1天	
第2循環	第1天：± 30分鐘	
第3循環	第1天：± 30分鐘	第2、3、8天：
± 4小時	第15天：± 1天	
第4循環	第1天：± 30分鐘	
第5循環	第1天：± 30分鐘	

附錄5. Q2W投與STM 434之藥物動力學評價時程 (每個循環28天之第1天及第15天給予STM 434)				
循環及天數	第1部分(劑量 遞增)	第2部分(單一療 法劑量擴增)	第3部分(STM 434 + 脂質體阿黴素)	
	STM 434取樣 ^a	STM 434取樣 ^a	STM 434取樣 ^a	阿黴素/阿黴素醇取樣 ^b
第1循環之第1 天	給藥前 輸注結束	給藥前 輸注結束	給藥前 輸注結束	給藥前 輸注結束

	輸注後1、2、6 小時	輸注後1、2、6 小時	輸注後1、2、6 小時	輸注後1、2、3、4、6 小時
第1循環之第2天	輸注後24小時	—	輸注後24小時	輸注後24小時
第1循環之第3天	輸注後48小時	—	輸注後48小時	輸注後48小時
第1循環之第8天	輸注後168小時	—	輸注後168小時	輸注後168小時
第1循環之第15天	給藥前	給藥前	給藥前	給藥前
第2循環之第1天	第2循環給藥前	第2循環給藥前	第2循環給藥前	第2循環給藥前
第2循環之第15天	給藥前	給藥前	給藥前	—
第3循環之第1天	第3循環給藥前 第3循環輸注結束輸注循環後1、2、6小時	第3循環給藥前 第3循環輸注結束輸注循環後1、2、6小時	第3循環給藥前 第3循環輸注結束輸注循環後1、2、6小時	第3循環給藥前 第3循環輸注結束輸注後1、2、3、4、6小時
第3循環之第2天	輸注後24小時	—	輸注後24小時	輸注後24小時
第3循環之第3天	輸注後48小時	—	輸注後48小時	輸注後48小時
第3循環之第8天	輸注後168小時	—	輸注後168小時	輸注後168小時
第3循環之第15天	給藥前	給藥前	給藥前	給藥前
第4循環之第1天	第4循環給藥前	第4循環給藥前	第4循環給藥前	第4循環給藥前
第4循環之第15天	給藥前	給藥前	給藥前	給藥前
第5循環之第1天	第5循環給藥前 第5循環輸注結束	第5循環給藥前 第5循環輸注結束	第5循環給藥前 第5循環輸注結束	第5循環給藥前 第5循環輸注結束
治療中斷	最後輸注後672小時	—	最後輸注後672小時	最後輸注後672小時

^a 所有STM 434取樣時間係相對於STM 434給藥而言。

^b 所有阿黴素/阿黴素醇取樣時間係相對於脂質體阿黴素給藥而言。

對於Q2W給藥而言，給藥後PK取樣窗如下：

第1循環 第1天：± 30分鐘 第2、3、8天：± 4小時

第15天：給藥前1天內

第2、4循環 第1天：± 4小時 第15天：給藥前1天內

第3循環 第1天：± 30分鐘 第2、3、8天：± 4小

時 第15天：給藥前1天內

第5循環 第1天：± 30分鐘

附錄6. Q3W投與STM 434之藥物動力學評價時程
(每個循環21天第1天給予STM 434)

循環及天數	第1部分(劑量遞增)	第2部分(單一療法劑量擴增)
	STM 434取樣 ^a	STM 434取樣 ^a
第1循環之第1天	給藥前 輸注結束 輸注後1、2、6小時	給藥前 輸注結束 輸注後1、2、6小時
第1循環之第2天	輸注後24小時	—
第1循環之第3天	輸注後48小時	—
第1循環之第8天	輸注後168小時	—
第1循環之第15天	輸注後336小時	輸注後336小時
第2循環之第1天	第2循環給藥前	第2循環給藥前
第3循環之第1天	第3循環給藥前 第3循環輸注結束 第3循環輸注後1、2、6小時	第3循環給藥前 第3循環輸注結束 第3循環輸注後1、2、6小時
第3循環之第2天	輸注後24小時	—
第3循環之第3天	輸注後48小時	—
第3循環之第8天	輸注後168小時	—
第4循環之第1天	第4循環給藥前	第4循環給藥前
第5循環之第1天	第5循環給藥前 第5循環輸注結束	第5循環給藥前 第5循環輸注結束
治療中斷	最後輸注後672小時	—

^a 所有STM 434取樣時間係相對於STM 434給藥而言。

對於Q3W給藥而言，給藥後PK取樣窗如下：

第1循環 第1天：± 30分鐘 第2、3、8天：± 4小時 第15天：± 1天

第2循環 第1天：± 4小時

第3循環 第1天：± 30分鐘 第2、3、8天：± 4小時

第4循環 第1天：± 4小時

第5循環 第1天：± 30分鐘

實例7：STM 434穩定性。

經調配之STM 434之穩定性係使用多種方法、在多個時間點、在多種條件下測定。STM 434如上文所示調配(STM 434注射液係用70 mg/mL STM 434、10 mM磷酸鉀、8.8%(w/v)蔗糖、0.006%(w/v)聚山梨醇酯20(pH 6.7)調配)。

方法

用於評估穩定性的分析方法如下：

利用紫外(UV)吸光度所得的濃度

藥品中STM 434之濃度係使用UV分光光度計量測。使用280 nm光(A280)之吸光度及280 nm (ϵ_{280})下之 $1.7 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 之消光係數來測定基於比爾定律(Beer's law)之濃度。

當濃度為 $70.0 \pm 7.0 \text{ mg/mL}$ 時，一種蛋白質在指定時間點及溫度下視為與該蛋白質零時(T0)或相同蛋白質在其他相同條件下、在-70℃具有相等穩定性。指定蛋白質在指定時間點的穩定性百分比亦可相對於此數值計算。

目測外觀

此方法提供STM 434注射液之目測評估。在環境光下觀測小瓶，且根據可見顆粒、著色程度及清晰性來報導一般外觀。

當外觀為透明、無色至淺黃色液體且基本上不含顆粒時，一種蛋白質在指定時間點及溫度下視為與該蛋白質在零時(T0)或相同蛋白質在其他相同條件下、在-70℃具有相等穩定性。

重量莫耳滲透濃度

STM 434注射液之重量莫耳滲透濃度係使用冷凍點下降滲透壓計量測，該滲透壓計相對於290 mOsm/kg之重量莫耳滲透濃度標準校準。

當重量莫耳滲透濃度為 330.0 ± 50.0 mOsm/kg時，一種蛋白質在指定時間點及溫度下視為與該蛋白質在零時(T0)或相同蛋白質在其他相同條件下、在-70℃具有相等穩定性。指定蛋白質在指定時間點的穩定性百分比亦可相對於此數值計算。

pH

STM 434注射液之pH係使用經國家科學及技術研究所(NIST)可追蹤的標準校準的pH計量測。

在25℃下pH為 6.7 ± 0.3 時，一種蛋白質在指定時間點及溫度視為與該蛋白質在零時(T0)或相同蛋白質在其他相同條件下在-70℃具有相等穩定性。指定蛋白質在指定時間點的穩定性百分比亦可相對於此數值計算。

容器體積

量測小瓶中之STM 434注射溶液體積。

當容器體積不小於1.0 mL時，一種蛋白質在指定時間點及溫度視為與該蛋白質在零時(T0)或相同蛋白質在其他相同條件下在-70℃具有相等穩定性。指定蛋白質在指定時間點的穩定性百分比亦可相對於此數值計算。

尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)

SE-HPLC為一種藉由蛋白質之流體動力學尺寸來分離蛋白質的方法，其流體動力學尺寸約與分子量(MW)相關。SE-HPLC可分析藥品中之STM 434分子尺寸分佈，尤其在聚集、片段化及其他雜質方面。藉由SE-HPLC解析單體STM 434與其他物質係在TSKgel G3000SWxl

HPLC管柱上、使用100 mM磷酸鈉、250 mM氯化鈉(pH 6.8)之等度(isocratic)移動相、以0.5 mL/min之流速進行。蛋白質係由A280 nm經35分鐘的分析運作時間偵測。蛋白質之溶離時間與其MW之對數成反比。分析結果係以A280峰面積相對於總A280峰面積的百分比報導。

當SE-HPLC主峰為 $\geq 95.0\%$ 時，一種蛋白質在指定時間點及溫度視為與該蛋白質在零時(T0)或相同蛋白質在其他相同條件下在 -70°C 具有相等穩定性。指定蛋白質在指定時間點的穩定性百分比亦可相對於此數值計算。

成像毛細管等電聚焦(icIEF)

cIEF為基於蛋白質之等電點(pI)差異的高解析蛋白質分離技術。Protein Simple(先前為Convergent Bioscience)iCE280 IEF分析儀系統係使用完整毛細管區域成像偵測器，其能夠不用習知cIEF儀器所需之移動步驟進行分析。對於STM 434注射液，使用icIEF作純度測試。

在此icIEF方法中，STM 434樣品用唾液酸酶處理以降低因產物中之唾液酸含量不同所賦予的實質性複雜度。去唾液酸化之後，將樣品與載劑兩性電解質混合以產生pH梯度的甲基纖維素，從而減少電滲透流動，及吸收280 nm光之已知pI之標記。將混合物引入內部經塗佈的熔融二氧化矽毛細管中，該毛細管之濾芯中組裝有位於入口與出口儲集器之間的UV可透射區段。當向毛細管區段施加電壓時，溶液形成pH梯度，其中樣品中之兩性電解質、pI標記及蛋白質物質聚焦於其相應pI。利用電荷耦合裝置攝像機獲得完整毛細管吸收影像，從而可監測毛細管在280 nm下之聚焦區域，此等聚焦區域對應於各種蛋白質物質及pI標記。包含pI標記允許對毛細管中之pI梯度進行校準，從而對樣品中之各種物質的pI值提供可再現性測定。類似於HPLC，icIEF結果係以與毛細管中之遷移距離有關的A280峰值形式提供。分析結果係以蛋白質物質之A280峰面積相對於總A280峰面積的百分比

報導。

當icIEF主峰為 $65.0 \pm 10.0\%$ 時，一種蛋白質在指定時間點及溫度下視為與該蛋白質在零時(T0)或相同蛋白質在其他相同條件下、在 -70°C 具有相等穩定性。指定蛋白質在指定時間點的穩定性百分比亦可相對於此數值計算。

十二烷基硫酸鈉毛細管電泳(CE-SDS)(非還原性CE-SDS(nrCE-SDS))

使用非還原性十二烷基硫酸鈉毛細管電泳(CE-SDS)(非還原性CE-SDS(nrCE-SDS))作為STM 434注射液的純度測試。方法包括使蛋白質在清潔劑SDS存在下發生熱變性，從而使其以相對恆定的SDS:多肽比率結合至多肽。結合至蛋白質的帶負電SDS促使其根據MW而在電場中遷移。

在此方法中，將STM 434樣品與SDS、游離硫氫基阻斷劑及內部MW標準物一起、在 70°C 、在非還原條件下培育10分鐘。培育之後，將經處理之樣品裝載至自動取樣器中，該自動取樣器亦承載沖洗溶液及專業化SDS凝膠。CE系統經程式化以便依序沖洗、凝膠裝載，及以電動方式將樣品注射至熔融二氧化矽空毛細管中。對於各樣品而言，使所注射的蛋白質經受電場以便進行基於MW的分離，包括移動通過偵測窗(其中毛細管塗層已移除)及光穿過毛細管至光電二極體陣列偵測器，在此方法中，該偵測器經設定可收集220 nm吸光度(A220)。分析結果係以蛋白質物質之A220峰面積相對於總A280峰面積的百分比報導。

當nrCE-SDS主峰為 $\geq 88.0\%$ 時，一種蛋白質在指定時間點及溫度下視為與該蛋白質在零時(T0)或相同蛋白質在其他相同條件下、在 -70°C 具有相等穩定性。指定蛋白質在指定時間點的穩定性百分比亦可相對於此數值計算。

還原性CE-SDS(rCE-SDS)

還原性CE-SDS用作STM 434注射液之純度測試。方法包括使指定濃度的蛋白質在清潔劑SDS及使二硫鍵裂解成硫氫基的還原劑存在下發生熱變性，在此情況下，STM 434促使均二聚體之兩個多肽鏈分離。以相對恆定的SDS:多肽比率結合至多肽鏈的帶負電SDS促使多肽根據MW而在電場中遷移。

在此方法中，將STM 434樣品與SDS、還原劑 β -巰基乙醇及內部MW標準物一起、在70℃、在非還原條件下培育10分鐘。培育之後，將經處理之樣品裝載至自動取樣器中，該自動取樣器亦承載沖洗溶液及專業化SDS凝膠。CE系統經程式化以便依序沖洗、凝膠裝載，及以電動方式將樣品注射至熔融二氧化矽空毛細管中。對於各樣品而言，使所注射的蛋白質經受電場以便進行基於MW的分離，包括移動通過偵測窗(其中毛細管塗層已移除)及光穿過毛細管至光電二極體陣列偵測器，在此方法中，該偵測器經設定可收集220 nm吸光度(A220)。分析結果係以蛋白質物質之A220峰面積相對於總A280峰面積的百分比報導。

當rCE-SDS主峰為 $\geq 90.0\%$ 時，一種蛋白質在指定時間點及溫度下視為與該蛋白質在零時(T0)或相同蛋白質在其他相同條件下、在-70℃具有相等穩定性。指定蛋白質在指定時間點的穩定性百分比亦可相對於此數值計算。

產物特異性ELISA

STM 434注射液身分測試中所用的方法為固相夾心式ELISA。微量滴定條用對STM 434具有高親和性的抗STM 217單株抗體塗佈，原因在於此等蛋白質不同之處為單一胺基酸(STM 217中之絲胺酸-20，STM 434中之蘇胺酸-20)。依序向各孔中添加樣品或對照物，隨後為針對人類ActR2B產生的生物素化單株抗體，隨後為中性鏈親和素-辣根過氧化酶(HRP)結合物。存在於樣品中的STM 434結合至經固定的

捕捉抗體及生物素化二次抗體，且中性鏈親和素-HRP經由抗生素蛋白對生物素的高親和性而結合此複合物。複合物之HRP部分催化發色受質四甲基聯苯胺(TMB)轉化為吸收450 nm光的產物。確認樣品的身分，其信雜比(等於樣品之背景校正A450除以空白孔之背景校正A450)不小於10.0。

當ELISA確認蛋白質身分(例如相對於陽性對照物而言)時，一種蛋白質在指定時間點及溫度下視為與該蛋白質在零時(T0)或相同蛋白質在其他相同條件下、在-70℃具有相等穩定性。指定蛋白質在指定時間點時的穩定性百分比亦可相對於藉由ELISA所測定的450 nm數值來計算。

基於細胞的生物分析(生物分析)

STM 434注射液之效能係使用C2C12 pMARE純系#44骨骼肌細胞株、在報導基因表現分析中量測。鼠類C2C12細胞經人類肌肉生長抑制素/活化素反應螢光素酶構築體穩定轉染。當經工程改造之細胞株與配位體肌肉生長抑制素一起培育時，肌肉生長抑制素結合至活化素受體之後發生信號轉導。此引起螢光素酶報導基因活化及螢光素酶之隨後產生。螢光素酶與螢光素之反應產生發光，用光度計量測。STM 434以劑量依賴性方式抑制此信號轉導。使用4參數曲線擬合模型分析資料。一旦與參考曲線的平行性/相似性確立，則根據曲線內推生物濃度且計算樣品相對於參考標準物的相對效能。

當生物分析顯示60至140%之相對效能時，一種蛋白質在指定時間點及溫度下視為與該蛋白質在零時(T0)或相同蛋白質在其他相同條件下、在-70℃具有相等穩定性或活性。指定蛋白質在指定時間點的穩定性或活性百分比亦可相對於此數值計算。

內毒素

用於量化STM 434注射液中之細菌內毒素的方法係使用動力學發

色內毒素偵測系統。製備適於系統之內毒素標準物、STM 434樣品及外加有內毒素標準物之STM 434樣品的系列稀釋液，且與適於系統的水(作為空白參照物)一起裝載至96孔盤中。在37℃培育盤10分鐘之後，向孔中添加含有經對硝基苯胺(pNA)標記之肽的蟹變形細胞溶菌液(LAL)試劑。存在於樣品及標準物中的內毒素使LAL中之前酶轉化為活性酶，該活性酶使pNA與無色肽分裂而在405 nm吸光度(A405)下產生信號。對內毒素標準物所產生的A405作圖以產生標準曲線，且根據標準曲線，利用其A405讀數確定STM 434樣品中的內毒素含量。測定各樣品之EU/mL且除以樣品中之蛋白質濃度(mg/mL)之後，依據每毫克的內毒素單位(EU/mg)來報導結果。

當內毒素含量為 ≤ 0.5 個內毒素單位(EU)/毫克時，一種蛋白質在指定時間點及溫度下視為與該蛋白質在零時(T0)或相同蛋白質在其他相同條件下、在-70℃具有相等穩定性。指定蛋白質在指定時間點的穩定性百分比亦可相對於此數值計算。

無菌性

測定STM 434注射液之無菌性的方法係使用膜過濾技術滯留測試物件中的任何微生物。

當產物無菌性滿足美國藥典之要求時，一種蛋白質在指定時間點及溫度下視為與該蛋白質在零時(T0)或相同蛋白質在其他相同條件下、在-70℃具有相等穩定性。指定蛋白質在指定時間點的穩定性百分比亦可相對於美國藥典所提供之數值計算。

顯微(Subvisible)顆粒

存在於STM 434注射液中之顯微顆粒的量係使用遮光法測定。結果係以直徑為10 μm 或大於10 μm 及直徑為25 μm 或大於25 μm 之顆粒數目報導。

當每個容器中存在不超過6,000個 ≥ 10 μm 顆粒且每個容器中存在

不超過600個 $\geq 25 \mu\text{m}$ 顆粒時，一種蛋白質在指定時間點及溫度下視為與該蛋白質在零時(T_0)或相同蛋白質在其他相同條件下、在 -70°C 具有相等穩定性。指定蛋白質在指定時間點的穩定性百分比亦可相對於此等數值計算。

聚山梨醇酯20濃度

STM 434注射液中之聚山梨醇酯20(PS20)濃度係藉由一種使用混合模式HPLC管柱運作的方法測定，該管柱以逆相模式運作以將PS20與蛋白質分離，定量偵測係由電霧式偵測器(charged aerosol detection; CAD)進行。PS20標準物之依序注射得到基於基線校正CAD反應與PS20濃度之關係的校準曲線，將其擬合二階多項式。STM 434樣品之PS20濃度報導值係藉由將其基線校正CAD反應輸入多項式方程式且對PS20濃度求解來測定。

當聚山梨醇酯20濃度為 $0.006 \pm 0.003\%$ (w/v)時，一種蛋白質在指定時間點及溫度下視為與該蛋白質在零時(T_0)或相同蛋白質在其他相同條件下、在 -70°C 具有相等穩定性。指定蛋白質在指定時間點的穩定性百分比亦可相對於此數值計算。

結果

下表(表18-39)顯示使用上文方法所產生的經調配STM 434穩定性相關性資料，此等資料至少部分地在指定時間點及指定條件下產生。

表18顯示在 5°C 保存長達54月之經調配434之所測試特徵類似於在 -70°C 保存長達54個月的經調配434。表22顯示在 5°C 保存長達6個月之經調配434之所測試特徵類似於在 5°C 保存0個月之經調配434之所測試特徵。表25及表30顯示在 $2-8^\circ\text{C}$ 保存長達12個月之經調配434之所測試特徵類似於在 $2-8^\circ\text{C}$ 保存0個月之經調配434之所測試特徵。表36顯示經調配434以直立位置在 $2-8^\circ\text{C}$ 保存長達6個月的所測試特徵類似於以直立位置在 $2-8^\circ\text{C}$ 保存0個月的所測試特徵。表37顯示經調配434以

倒置位置在2-8℃保存長達6個月的所測試特徵類似於經調配434以倒置位置在2-8℃保存0個月的所測試特徵。

此資料表明經調配STM 434在冷藏溫度(例如2-8℃ (2、3、4、5、6、7、8℃)；5℃)下且甚至在高濃度(諸如70 mg/mL)下保持長達54個月的高度穩定。此穩定性程度遠大於蛋白質在4℃保存之預期穩定性，預期穩定性典型地在1個月範圍內。參見Pierce Technical Resource TR0043.1, *Protein Stability and Storage*, 表 1 (http://sites.bio.indiana.edu/~chenlab/protocol_files/protein_storage.pdf)；及 Webster 等人, *Predicting Long-Term Storage Stability of Therapeutic Proteins*, *Pharmaceutical Technology*, 第37卷, 第11期 (2013年11月2日)。因此，經調配STM 434為高度穩定的組合物，其在冷藏溫度(例如2-8℃)下可儲存大於1個月的延長時間段，例如長達3、6、12、18、24、36、48或54個月或超過54個月。

表18：434 DP/DS穩定性樣品測試結果

	樣品	DP, 5°C	DP, -20°C	DP, -70°C	DS, 5°C	DS, -70°C
	批號	0010036965	0010036965	0010036965	0010035106	0010035106
方法	時間點	54個月	54個月	54個月	54個月	54個月
目測外觀		無色，透明，無可見顆粒	無色，透明，無可見顆粒	無色，透明，無可見顆粒	無色，透明，無可見顆粒	無色，透明，無可見顆粒
pH		6.7	6.7	6.7	6.8	6.7
蛋白質濃度 (A280)		71.6 mg/mL	71.3 mg/mL	71.8 mg/mL	76.0 mg/mL	71.5 mg/mL
SE-HPLC		98.2%主峰 1.5% HMW 0.3% LMW	98.6%主峰 1.4% HMW 0.0% LMW	98.8%主峰 1.2% HMW 0.0% LMW	98.2%主峰 1.5% HMW 0.3% LMW	98.8%主峰 1.2% HMW 0.0% LMW
icIEF		60.8%主峰 22.9% APG 16.4% BPG	69.9%主峰 14.8% APG 15.3% BPG	72.4%主峰 15.5% APG 12.2% BPG	65.6%主峰 24.7% APG 9.8% BPG	65.8%主峰 20.6% APG 13.7% BPG

nrCE-SDS		94.1%主峰 5.9%峰前	94.2%主峰 5.8%峰前	94.7%主峰 5.3%峰前	94.5%主峰 5.5%峰前	94.4%主峰 5.6%峰前
rCE-SDS		98.0%主峰	98.0%主峰	97.8%主峰	97.7%主峰	97.8%主峰
基於細胞之生 物分析		87% 相 對 效能	99% 相 對 效能	111% 相 對 效能	101% 相 對 效能	99%相對效 能
DP為藥品；DS為原料藥						

表 19：STM 434注射液批次0010036965穩定性資料概述：-70℃

條件：-70℃，直立 起始日期：2009年9月9日		月數		
方法	參數	0	12	24
外觀	顏色	CL	CL至SY	CL至SY
	顆粒	無	無	無
pH	pH	6.72	6.70	6.72
還原性CE-SDS	%主峰	98.972	98.905	98.404
	% LMW	1.028	1.095	1.096
	% HMW	0.0	0.0	0.498
SE-HPLC	%主峰	98.795	98.843	98.815
	% HMW	1.205	1.156	1.184
	% LMW	0.0	0.0	0.0
cIEF	%主峰	68.445	72.046	70.181
	%酸峰	16.282	15.191	16.026
	%鹼峰	15.273	12.762	13.791
生物分析	%相對效能	100	100	100
顯微微粒	每個容器中≥ 10 μm	< 10	< 10	< 10
	每個容器中≥ 25 μm	< 10	< 10	< 10

CL=無色；SY=微黃色；HMW=高分子量；LMW=低分子量

表 20：STM 434注射液批次0010036965穩定性資料概述：-20℃

條件：-20℃，直立 起始日期：2009年9月9日		月數								
方法	參數	0	1	3	6	9	12	18	24	30
外觀	顏色	CL	CL至SY	CL至SY	CL至SY	CL至SY	CL至SY	CL至SY	CL至SY	CL至SY
	顆粒	無	無	無	無	無	無	無	無	無
pH	pH	6.72	6.69	6.70	6.67	6.64	6.73	6.72	6.70	6.68
還 原 性 CE-SDS	%主峰	98.972	98.761	98.889	98.964	99.094	98.919	98.968	99.002	98.903
	% LMW	1.028	1.239	1.111	1.036	0.906	1.081	1.031	0.997	1.096
	% HMW	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
SE-HPLC	%主峰	98.795	98.777	98.787	98.770	98.744	98.775	98.734	98.742	98.607
	% HMW	1.205	1.223	1.213	1.230	1.255	1.224	1.265	1.254	1.392
	% LMW	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

cIEF	%主峰	68.445	68.390	68.516	67.255	71.142	69.844	68.774	70.214	69.094
	%酸峰	16.282	17.454	16.285	17.599	16.522	14.354	17.089	15.963	16.242
	%鹼峰	15.273	14.156	15.199	15.146	12.337	15.800	14.135	13.822	14.663
生物分析	%相對效能	100	100	102	95	103	102	102	99	102
顯微微粒	每個容器中 ≥ 10 μm	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
	每個容器中 ≥ 25 μm	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
無菌性	無菌性	通過	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	通過	N.S.	通過	N.S.

CL=無色；SY=微黃色；HMW=高分子量；LMW=低分子量；
N.S.=未預定

表21：STM 434注射液批次0010036965穩定性資料概述：5次冷凍/解凍

條件：5× F/T 起始日期：2009年9月9日		條件	
方法	參數	T = 0	5× F/T
外觀	顏色	CL	CL至SY
	顆粒	無	無
pH	pH	6.72	6.68
還原性CE-SDS	%主峰	98.972	98.544
	% LMW	1.028	1.455
	% HMW	0.0	0.0
SE-HPLC	%主峰	98.795	98.787
	% HMW	1.205	1.213
	% LMW	0.0	0.0
cIEF	%主峰	68.445	68.255
	%酸峰	16.282	18.293
	%鹼峰	15.273	13.452
生物分析	%相對效能	100	100
顯微微粒	每個容器中≥ 10 μm	< 10	< 10
	每個容器中≥ 25 μm	< 10	< 10

CL=無色；SY=微黃色；HMW=高分子量；LMW=低分子量

表22：STM 434注射液批次0010036965穩定性資料概述：5℃

條件：5℃，直立 起始日期：2009年9月9日		月數				
方法	參數	0	0.5	1	3	6
外觀	顏色	CL	CL至SY	CL至SY	CL至SY	CL至SY
	顆粒	無	無	無	無	無
pH	pH	6.72	6.70	6.69	6.71	6.67
還原性CE-SDS	%主峰	98.972	98.856	98.313	98.945	99.048
	% LMW	1.028	1.144	1.687	1.055	0.952
	% HMW	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

SE-HPLC	%主峰	98.795	98.831	98.793	98.824	98.792
	% HMW	1.205	1.169	1.207	1.176	1.208
	% LMW	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
cIEF	%主峰	68.445	67.703	67.012	67.239	69.441
	%酸峰	16.282	16.196	18.094	17.907	15.290
	%鹼峰	15.273	16.101	14.894	14.855	15.269
生物分析	%相對效能	100	99	100	104	94
顯微微粒	每個容器中≥ 10 μm	< 10	11	< 10	< 10	< 10
	每個容器中≥ 25 μm	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10

CL=無色；SY=微黃色；HMW=高分子量；LMW=低分子量；

N.S.=未預定

表 23：STM 434注射液批次0010036965穩定性資料概述：25℃

條件：25℃，直立 起始日期：2009年9月9日		月數	
方法	參數	0	0.25
外觀	顏色	CL	CL至SY
	顆粒	無	無
pH	pH	6.72	6.71
還原性CE-SDS	%主峰	98.972	98.851
	% LMW	1.028	1.150
	% HMW	0.0	0.0
SE-HPLC	%主峰	98.795	98.901
	% HMW	1.205	1.099
	% LMW	0.0	0.0
cIEF	%主峰	68.445	68.002
	%酸峰	16.282	16.670
	%鹼峰	15.273	15.328
生物分析	%相對效能	100	97
顯微微粒	每個容器中≥ 10 μm	< 10	< 10
	每個容器中≥ 25 μm	< 10	< 10

CL=無色；SY=微黃色；HMW=高分子量；LMW=低分子量；

N.S.=未預定

表 24：STM 434注射液批次EG-13-0150穩定性資料概述：-20℃ (SPN-643)

條件：-20℃，直立 起始日期：2013年12月17日			月數					
方法	參數	外觀標準	0	1	3	6	9	12
外觀	清晰性	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L
	顏色	CL至LY	LY	CL	CL	CL	CL	CL
	顆粒	EFOP	EFOP	NVP	NVP	NVP	NVP	NVP

pH	pH	6.4-7.0	6.7	6.7	6.6	6.7	6.6	6.6
依據UV所得之濃度	mg/mL	63-77	71.8	68.9	69.6	69.5	68.9	69.2
還原性CE-SDS	%主峰	≥ 90.0%	98.7	98.8	99.2	99.4 99.3 99.2*	99.1	99.2
非還原性CE-SDS	%主峰	≥ 88.0%	93.8	93.7	92.7	94.0	93.8	94.0
	%峰前	--	6.2	6.3	6.7	6.0	6.2	6.0
	%其他	--	N.D.	N.D.	0.6	N.D.	N.D.	0.0
SE-HPLC	%主峰	≥ 95.0%	98.7	98.7	98.7	98.7	98.6	98.6
	% HMW	--	1.3	1.3	1.3	1.3	1.4	1.4
	% LMW	--	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5	0.0
icIEF	%主峰	65.0±10.0	64.8	67.1	61.6	65.1	64.7	66.8
	% APG	--	21.5	22.0	18.5	21.6	19.0	17.9
	% BPG	--	13.9	10.9	20.0	13.3	16.3	15.4
生物分析	%相對效能	60-140	99	93.2	94.4	110	99.3	105.0
顯微微粒	≥ 10 μm	每個容器中≤ 6000個	2	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	10
	≥ 25 μm	每個容器中≤ 600個	0	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	0
容器封閉完整性	染料滲入	無可偵測的染料滲入	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	NDDI

CLR L=透明液體；CL=無色；LY=淡黃色；EFOP=基本上不含顆粒；NVP=無可見顆粒；HMW=高分子量；LMW=低分子量；APG=酸性峰組；BPG=鹼性峰組；N.D.=未偵測到；N.S.=未預定；NDDI=無可偵測的染料滲入

*三個因偏差所致的報導值(分析者執行三次注射；方法需要一次)

表25：STM 434注射液批次EG-13-0150穩定性資料概述：2-8°C (SPN-644)

條件：2-8°C，直立 起始日期：2013年12月17日			月數					
方法	參數	接受標準	0	1	3	6	9	12
外觀	清晰性	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L
	顏色	CL至LY	LY	CL	CL	CL	CL	CL
	顆粒	EFOP	EFOP	NVP	NVP	NVP	NVP	NVP
pH	pH	6.4-7.0	6.7	6.7	6.6	6.7	6.6	6.6
依據UV所得之濃度	mg/mL	63-77	71.8	68.9	68.7	69.3	68.5	69.9
還原性CE-SDS	%主峰	≥ 90.0%	98.7	98.8	99.1	99.1 98.9*	99.0	99.1

非還原性CE-SDS	%主峰	≥ 88.0%	93.8	93.7	93.0	94.0	94.3	93.6
	%峰前	--	6.2	6.3	6.8	6.0	5.7	6.4
	%其他	--	N.D.	N.D.	0.2	N.D.	N.D.	0.0
SE-HPLC	%主峰	≥ 95.0%	98.7	98.7	98.7	98.6	98.6	98.5
	% HMW	--	1.3	1.3	1.3	1.4	1.4	1.4
	% LMW	--	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5	0.1
icIEF	%主峰	65.0±10.0	64.8	67.1	57.7	64.4	65.2	66.9
	% APG	--	21.5	22.0	18.5	23.0	19.6	19.3
	% BPG	--	13.9	10.9	23.8	12.7	15.2	13.9
生物分析	%相對效能	60-140	99	93.2	99.7	114	102.6	106.5
顯微微粒	≥ 10 μm	每個容器中≤ 6000個	2	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	236
	≥ 25 μm	每個容器中≤ 600個	0	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	5
容器封閉完整性	染料滲入	無可偵測的染料滲入	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	NDDI

CLR L=透明液體；CL=無色；LY=淡黃色；EFOP=基本上不含顆粒；NVP=無可見顆粒；HMW=高分子量；LMW=低分子量；APG=酸性峰組；BPG=鹼性峰組；N.D.=未偵測到；N.S.=未預定；NDDI=無可偵測的染料滲入

*三個因偏差所致的報導值(分析者執行三次注射；方法需要一次)

表 26：STM 434注射液批次EG-13-0150穩定性資料概述：25°C

條件：25℃，直立			月數	
起始日期：2013年12月17日				
方法	參數	外觀標準	0	1
外觀	清晰性	CLR L	CLR L	CLR L
	顏色	CL至LY	LY	CL
	顆粒	EFOP	EFOP	NVP
pH	pH	6.4-7.0	6.7	6.6
依據UV所得之濃度	mg/mL	63-77	71.8	69.4
還原性CE-SDS	%主峰	≥ 90.0%	98.7	98.7
非還原性CE-SDS	%主峰	≥ 88.0%	93.8	94.0
	%峰前	--	6.2	6.0
SE-HPLC	%主峰	≥ 95.0%	98.7	98.5
	% HMW	--	1.3	1.3
	% LMW	--	≤ 0.5	≤ 0.5
icIEF	%主峰	65.0±10.0	64.8	66.7
	% APG	--	21.5	22.3
	% BPG	--	13.9	11.1
生物分析	%相對效能	60-140	99	86.9

CLR L=透明液體；CL=無色；LY=淡黃色；EFOP=基本上不含顆粒；NVP=無可見顆粒；HMW=高分子量；LMW=低分子量；APG=酸性峰組；BPG=鹼性峰組；N.D.=未偵測到

表27：STM 434注射液批次EG-13-0150穩定性資料概述：5次冷凍/解凍

條件：5次冷凍/解凍 起始日期：2014年2月13日		接受標準	T = 0	5× F/T
方法	參數			
外觀	清晰性	CLR L	CLR L	CLR L
	顏色	CL to LY	LY	CL
	顆粒	EFOP	EFOP	NVP
pH	pH	6.4-7.0	6.7	6.7
依據UV所得之濃度	mg/mL	63-77	71.8	70.5
還原性CE-SDS	%主峰	≥ 90.0%	98.7	98.9
非還原性CE-SDS	%主峰	≥ 88.0%	93.8	94.4
	%峰前	--	6.2	5.6
SE-HPLC	%主峰	≥ 95.0%	98.7	98.8
	% HMW	--	1.3	1.2
	% LMW	--	≤ 0.5	≤ 0.5
icIEF	%主峰	65.0±10.0	64.8	69.4
	% APG	--	21.5	17.0
	% BPG	--	13.9	13.7
生物分析	%相對效能	60-140	99	96

CLR L=透明液體；CL=無色；LY=淡黃色；EFOP=基本上不含顆粒；NVP=無可見顆粒；HMW=高分子量；LMW=低分子量；APG=酸性峰組；BPG=鹼性峰組；N.D.=未偵測到

表28：STM 434注射液批次FG-13-0230穩定性資料概述：-70℃ (SPN-657)

條件：-70℃，直立 起始日期：2014年1月31日			月份		
方法	參數	接受標準	0	1	3
外觀	清晰性	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L
	顏色	CL至LY	LY	CL	CL
	顆粒	EFOP	EFOP	NVP	NVP
pH	pH	6.4-7.0	6.7	6.5	6.5
依據UV所得之濃度	mg/mL	63-77	67.7	67.5	68.4
還原性CE-SDS	%主峰	≥ 90.0%	98.7	99.0	98.9
非還原性CE-SDS	%主峰	≥ 88.0%	94.4	94.6	94.4
	%峰前	--	5.6	5.4	5.6
SE-HPLC	%主峰	≥ 95.0%	98.9	98.9	98.8

	% HMW	--	1.1	1.1	1.2
	% LMW	--	N.D.	≤ 0.5	≤ 0.5
icIEF	%主峰	65.0±10.0	68.7	70.4	71.3
	% APG	--	17.5	17.8	17.9
	% BPG	--	13.9	11.9	11.0
生物分析	%相對效能	60-140	99	115	107
顯微微粒	≥ 10 μm	每個容器中≤ 6000個	2	N.S.	N.S.
	≥ 25 μm	每個容器中≤ 600個	0	N.S.	N.S.
容器封閉完整性	染料滲入	無可偵測的染料滲入	N.S.	N.S.	N.S.

CLR L=透明液體；CL=無色；LY=淡黃色；EFOP=基本上不含顆粒；NVP=無可見顆粒；HMW=高分子量；LMW=低分子量；APG=酸性峰組；BPG=鹼性峰組；N.D.=未偵測到；N.S.=未預定

表29：STM 434注射液批次FG-13-0230穩定性資料概述：-20℃ (SPN-648)

條件：-20℃，直立 起始日期：2014年1月31日			月數					
方法	參數	接受標準	0	1	3	6	9	12
外觀	清晰性	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L
	顏色	CL至LY	LY	CL	CL	CL	CL	CL
	顆粒	EFOP	EFOP	NVP	NVP	NVP	NVP	NVP
pH	pH	6.4-7.0	6.7	6.5	6.5	6.5	6.5	6.4
依據UV所得之濃度	mg/mL	63-77	67.7	66.8	68.4	67.5	69.2	70.9
還原性CE-SDS	%主峰	≥ 90.0%	98.7	99.1	99.1	99.2	99.2	99.5
非還原性CE-SDS	%主峰	≥ 88.0%	94.4	93.9	94.0	93.2	93.8	94.1
	%峰前	--	5.6	6.1	6.0	6.8	6.2	5.9
SE-HPLC	%主峰	≥ 95.0%	98.9	98.9	98.8	98.6	98.8	98.8
	% HMW	--	1.1	1.1	1.2	1.2	1.2	1.2
	% LMW	--	N.D.	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5	0.0
icIEF	%主峰	65.0±10.0	68.7	67.7	69.6	66.0	64.7	70.2
	% APG	--	17.5	19.0	19.2	19.3	16.6	17.7
	% BPG	--	13.9	13.4	11.3	14.8	18.8	12.1
生物分析	%相對效能	60-140	99	100	115	96	94	106
顯微微粒	≥ 10 μm	每個容器中≤ 6000個	2	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	≥ 25 μm	每個容器中≤ 600個	0	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
容器封閉完整性	染料滲入	無可偵測的染料滲入	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

CLR L=透明液體；CL=無色；LY=淡黃色；EFOP=基本上不含顆粒；NVP=無可見顆粒；HMW=高分子量；LMW=低分子量；APG=酸

性峰組；BPG=鹼性峰組；N.D.=未偵測到；N.S.=未預定

表30：STM 434注射液批次FG-13-0230穩定性資料概述：2-8℃ (SPN-649)

條件：2-8℃，直立 起始日期：2014年1月31日			月數					
方法	參數	接受標準	0	1	3	6	9	12
外觀	清晰性	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L
	顏色	CL至LY	LY	CL	CL	CL	CL	CL
	顆粒	EFOP	EFOP	NVP	NVP	NVP	NVP	NVP
pH	pH	6.4-7.0	6.7	6.5	6.5	6.5	6.4	6.5
依據UV所得之濃度	mg/mL	63-77	67.7	68.1	68.3	67.5	68.1	72.5
還原性CE-SDS	%主峰	≥ 90.0%	98.7	99.1	99.1	99.2	99.2	99.5
非還原性CE-SDS	%主峰	≥ 88.0%	94.4	94.4	94.3	93.8	95.1	93.6
	%峰前	--	5.6	5.6	5.7	6.2	4.9	6.4
SE-HPLC	%主峰	≥ 95.0%	98.9	98.9	98.8	98.8	98.8	98.8
	% HMW	--	1.1	1.1	1.1	1.2	1.2	1.2
	% LMW	--	N.D.	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5	≤ 0.5	0.0
icIEF	%主峰	65.0±10.0	68.7	68.5	68.8	65.3	64.2	67.5
	% APG	--	17.5	18.9	19.5	21.2	17.8	18.0
	% BPG	--	13.9	12.6	11.7	13.6	18.2	14.5
生物分析	%相對效能	60-140	99	116	108	93	116	121
顯微微粒	≥ 10 μm	每個容器中≤ 6000個	2	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	≥ 25 μm	每個容器中≤ 600個	0	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
容器封閉完整性	染料滲入	無可偵測的染料滲入	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

CLR L=透明液體；CL=無色；LY=淡黃色；EFOP=基本上不含顆粒；NVP=無可見顆粒；HMW=高分子量；LMW=低分子量；APG=酸性峰組；BPG=鹼性峰組；N.D.=未偵測到；N.S.=未預定

表31：STM 434注射液批次FG-13-0230穩定性資料概述：25℃ (SPN-650)

條件：25℃，直立 起始日期：2014年1月31日			月數	
方法	參數	接受標準	0	1
外觀	清晰性	CLR L	CLR L	CLR L
	顏色	CL至LY	LY	CL
	顆粒	EFOP	EFOP	NVP
pH	pH	6.4-7.0	6.7	6.5
依據UV所得之濃度	mg/mL	63-77	67.7	67.3

還原性CE-SDS	%主峰	≥ 90.0%	98.7	99.0
非還原性CE-SDS	%主峰	≥ 88.0%	94.4	94.4
	%峰前	--	5.6	5.6
SE-HPLC	%主峰	≥ 95.0%	98.9	98.9
	% HMW	--	1.1	1.1
	% LMW	--	N.D.	≤ 0.5
icIEF	%主峰	65.0±10.0	68.7	68.6
	% APG	--	17.5	19.8
	% BPG	--	13.9	11.7
生物分析	%相對效能	60-140	99	116
顯微微粒	≥ 10 μm	每個容器中≤ 6000個	2	10
	≥ 25 μm	每個容器中≤ 600個	0	3
容器封閉完整性	染料滲入	無可偵測的染料滲入	N.S.	無可偵測的染料滲入

CLR L=透明液體；CL=無色；LY=淡黃色；EFOP=基本上不含顆粒；NVP=無可見顆粒；HMW=高分子量；LMW=低分子量；APG=酸性峰組；BPG=鹼性峰組；N.D.=未偵測到；N.S.=未預定

表32：STM 434注射液批次FG-14-0056穩定性資料概述：-20℃ (SPN-654)

條件：2-8℃，直立 起始日期：2014年2月20日			月數	
方法	參數	接受標準	0	1
外觀	清晰性	CLR L	CLR L	CLR L
	顏色	CL至LY	LY	CL
	顆粒	EFOP	EFOP	NVP
pH	pH	6.4-7.0	6.7	6.5
依據UV所得之濃度	mg/mL	63-77	67.7	68.2
還原性CE-SDS	%主峰	≥ 90.0%	98.7	98.9
非還原性CE-SDS	%主峰	≥ 88.0%	94.4	93.8
	%峰前	--	5.6	5.2
SE-HPLC	%主峰	≥ 95.0%	98.9	98.7
	% HMW	--	1.1	1.3
	% LMW	--	N.D.	≤ 0.5
icIEF	%主峰	65.0±10.0	68.7	70.9
	% APG	--	17.5	17.6
	% BPG	--	13.9	11.6
生物分析	%相對效能	60-140	99	117
顯微微粒	≥ 10 μm	每個容器中≤ 6000個	2	N.S.
	≥ 25 μm	每個容器中≤ 600個	0	N.S.
容器封閉完整性	染料滲入	無可偵測的染料滲入	N.S.	N.S.

CLR L=透明液體；CL=無色；LY=淡黃色；EFOP=基本上不含顆粒；NVP=無可見顆粒；HMW=高分子量；LMW=低分子量；APG=酸

性峰組；BPG=鹼性峰組；N.D.=未偵測到；N.S.=未預定

表33：STM 434注射液批次FG-14-0056穩定性資料概述：2-8℃ (SPN-655)

條件：2-8℃，直立 起始日期：2014年2月20日			月數	
方法	參數	接受標準	0	1
外觀	清晰性	CLR L	CLR L	CLR L
	顏色	CL至LY	LY	CL
	顆粒	EFOP	EFOP	NVP
pH	pH	6.4-7.0	6.7	6.5
依據UV所得之濃度	mg/mL	63-77	67.7	68.4
還原性CE-SDS	%主峰	≥ 90.0%	98.7	98.8
非還原性CE-SDS	%主峰	≥ 88.0%	94.4	93.4
	%峰前	--	5.6	6.6
SE-HPLC	%主峰	≥ 95.0%	98.9	98.8
	% HMW	--	1.1	1.2
	% LMW	--	N.D.	≤ 0.5
icIEF	%主峰	65.0±10.0	68.7	67.6
	% APG	--	17.5	19.2
	% BPG	--	13.9	13.3
生物分析	%相對效能	60-140	99	102
顯微微粒	≥ 10 μm	每個容器中≤ 6000個	2	N.S.
	≥ 25 μm	每個容器中≤ 600個	0	N.S.
容器封閉完整性	染料滲入	無可偵測的染料滲入	N.S.	N.S.

CLR L=透明液體；CL=無色；LY=淡黃色；EFOP=基本上不含顆粒；NVP=無可見顆粒；HMW=高分子量；LMW=低分子量；APG=酸性峰組；BPG=鹼性峰組；N.D.=未偵測到；N.S.=未預定

表34：STM 434注射液批次FG-14-0056穩定性資料概述：25℃ (SPN-656)

條件：25℃，直立 起始日期：2014年2月20日			月數	
方法	參數	接受標準	0	1
外觀	清晰性	CLR L	CLR L	CLR L
	顏色	CL至LY	LY	CL
	顆粒	EFOP	EFOP	NVP
pH	pH	6.4-7.0	6.7	6.5
依據UV所得之濃度	mg/mL	63-77	67.7	68.5
還原性CE-SDS	%主峰	≥ 90.0%	98.7	98.7
非還原性CE-SDS	%主峰	≥ 88.0%	94.4	93.7

	%峰前	--	5.6	6.3
SE-HPLC	%主峰	≥ 95.0%	98.9	98.5
	% HMW	--	1.1	1.3
	% LMW	--	N.D.	0.3
	% APG	--	17.5	17.1
icIEF	%主峰	65.0±10.0	68.7	70.8
	% BPG	--	13.9	12.2
生物分析	%相對效能	60-140	99	122
顯微微粒	≥ 10 μm	每個容器中≤ 6000個	2	N.S.
	≥ 25 μm	每個容器中≤ 600個	0	N.S.
容器封閉完整性	染料滲入	無可偵測的染料滲入	N.S.	N.S.

CLR L=透明液體；CL=無色；LY=淡黃色；EFOP=基本上不含顆粒；NVP=無可見顆粒；HMW=高分子量；LMW=低分子量；APG=酸性峰組；BPG=鹼性峰組；N.D.=未偵測到；N.S.=未預定

表35：STM 434注射液批次FG-14-0109穩定性資料概述：-20℃ 直立 (SPN-676)

條件：-20℃，直立 起始日期：2014年6月25日			月數		
方法	參數	接受標準	0	3	6
外觀	清晰性	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L
	顏色	CL至LY	CL	CL	CL
	顆粒	EFOP	FOP	NVP	NVP
pH	pH	6.4-7.0	6.6	6.5	6.5
依據UV所得之濃度	mg/mL	63-77	67.8	67.5	67.2
還原性CE-SDS	%主峰	≥ 90.0%	98.5	98.6	99.2
非還原性CE-SDS	%主峰	≥ 88.0%	94.4	94.2	93.8
	%峰前	--	5.6	5.8	6.4
SE-HPLC	%主峰	≥ 95.0%	98.8	98.9	98.8
	% HMW	--	1.2	1.1	1.2
	% LMW	--	N.D.	≤ 0.5	0.0
icIEF	%主峰	65.0±10.0	65.4	65.7	69.1
	% APG	--	23.0	18.7	17.9
	% BPG	--	11.6	15.6	13.1
生物分析	%相對效能	60-140	98	96	101
顯微微粒	≥ 10 μm	每個容器中≤ 6000個	2	N.S.	N.S.
	≥ 25 μm	每個容器中≤ 600個	0	N.S.	N.S.
容器封閉完整性	染料滲入	無可偵測的染料滲入	N.S.	N.S.	N.S.

CLR L=透明液體；CL=無色；LY=淡黃色；EFOP=基本上不含顆粒；NVP=無可見顆粒；HMW=高分子量；LMW=低分子量；APG=酸性峰組；BPG=鹼性峰組；N.D.=未偵測到；N.S.=未預定

表36：STM 434注射液批次FG--14-0109穩定性資料概述：2-8℃ 直立 (SPN-677)

條件：2-8℃，直立 起始日期：2014年6月25日			月數		
方法	參數	接受標準	0	3	6
外觀	清晰性	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L
	顏色	CL至LY	CL	CL	CL
	顆粒	EFOP	FOP	NVP	NVP
pH	pH	6.4-7.0	6.6	6.5	6.5
依據UV所得之濃度	mg/mL	63-77	67.8	67.3	67.5
還原性CE-SDS	%主峰	≥ 90.0%	98.5	98.7	99.0
非還原性CE-SDS	%主峰	≥ 88.0%	94.4	94.1	94.0
	%峰前	--	5.6	5.9	6.0
SE-HPLC	%主峰	≥ 95.0%	98.8	98.9	98.8
	% HMW	--	1.2	1.1	1.2
	% LMW	--	N.D.	≤ 0.5	0.1
icIEF	%主峰	65.0±10.0	65.4	65.7	67.3
	% APG	--	23.0	18.9	19.2
	% BPG	--	11.6	15.5	13.8
生物分析	%相對效能	60-140	98	92	107
顯微微粒	≥ 10 μm	每個容器中≤ 6000個	2	N.S.	N.S.
	≥ 25 μm	每個容器中≤ 600個	0	N.S.	N.S.
容器封閉完整性	染料滲入	無可偵測的染料滲入	N.S.	N.S.	N.S.

CLR L=透明液體；CL=無色；LY=淡黃色；EFOP=基本上不含顆粒；NVP=無可見顆粒；HMW=高分子量；LMW=低分子量；APG=酸性峰組；BPG=鹼性峰組；N.D.=未偵測到；N.S.=未預定

表37：STM 434注射液批次FG--14-0109穩定性資料概述：2-8℃ 倒置 (SPN-678)

條件：2-8℃，倒置 起始日期：2014年6月25日			月數		
方法	參數	接受標準	0	3	6
外觀	清晰性	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L
	顏色	CL至LY	CL	CL	CL
	顆粒	EFOP	FOP	NVP	NVP
pH	pH	6.4-7.0	6.6	6.5	6.5
依據UV所得之濃度	mg/mL	63-77	67.8	67.7	67.7
還原性CE-SDS	%主峰	≥ 90.0%	98.5	98.8	99.1
非還原性CE-SDS	%主峰	≥ 88.0%	94.4	94.3	94.0
	%峰前	--	5.6	5.7	6.0
SE-HPLC	%主峰	≥ 95.0%	98.8	98.9	98.8

icIEF	% HMW	--	1.2	1.1	1.2
	% LMW	--	N.D.	≤ 0.5	0.1
	%主峰	65.0±10.0	65.4	65.5	68.5
	% APG	--	23.0	19.5	18.9
	% BPG	--	11.6	15.1	12.8
生物分析	%相對效能	60-140	98	96	112
顯微微粒	≥ 10 μm	每個容器中≤ 6000個	2	N.S.	N.S.
	≥ 25 μm	每個容器中≤ 600個	0	N.S.	N.S.
容器封閉完整性	染料滲入	無可偵測的染料滲入	N.S.	N.S.	N.S.

CLR L=透明液體；CL=無色；LY=淡黃色；EFOP=基本上不含顆粒；NVP=無可見顆粒；HMW=高分子量；LMW=低分子量；APG=酸性峰組；BPG=鹼性峰組；N.D.=未偵測到；N.S.=未預定

表 38：STM 434注射液批次FG-14-0109穩定性資料概述：25℃ 直立 (SPN-679)

條件：25℃，直立 起始日期：2014年6月25日			月數		
方法	參數	接受標準	0	3	6
外觀	清晰性	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L
	顏色	CL至LY	CL	CL	CL
	顆粒	EFOP	FOP	NVP	NVP
pH	pH	6.4-7.0	6.6	6.5	6.5
依據UV所得之濃度	mg/mL	63-77	67.8	68.3	67.7
還原性CE-SDS	%主峰	≥ 90.0%	98.5	98.7	98.8
非還原性CE-SDS	%主峰	≥ 88.0%	94.4	94.3	93.6
	%峰前	--	5.6	5.7	6.4
SE-HPLC	%主峰	≥ 95.0%	98.8	98.5	98.3
	% HMW	--	1.2	1.2	1.4
	% LMW	--	N.D.	≤ 0.5	0.3
icIEF	%主峰	65.0±10.0	65.4	61.5	62.5
	% APG	--	23.0	22.6	25.1
	% BPG	--	11.6	16.0	12.5
生物分析	%相對效能	60-140	98	91	105
顯微微粒	≥ 10 μm	每個容器中≤ 6000個	2	N.S.	36
	≥ 25 μm	每個容器中≤ 600個	0	N.S.	2
容器封閉完整性	染料滲入	無可偵測的染料滲入	N.S.	N.S.	NDDI

CLR L=透明液體；CL=無色；LY=淡黃色；EFOP=基本上不含顆粒；NVP=無可見顆粒；HMW=高分子量；LMW=低分子量；APG=酸性峰組；BPG=鹼性峰組；N.D.=未偵測到；N.S.=未預定；NDDI=無

可偵測的染料滲入

表 39：STM 434注射液批次FG-14-0109穩定性資料概述：25℃ 倒置 (SPN-680)

條件：25℃，倒置 起始日期：2014年6月25日			月數		
方法	參數	接受標準	0	3	6
外觀	清晰性	CLR L	CLR L	CLR L	CLR L
	顏色	CL至LY	CL	CL	CL
	顆粒	EFOP	FOP	NVP	NVP
pH	pH	6.4-7.0	6.6	6.5	6.5
依據UV所得之濃度	mg/mL	63-77	67.8	67.7	67.2
還原性CE-SDS	%主峰	≥ 90.0%	98.5	98.7	98.6
非還原性CE-SDS	%主峰	≥ 88.0%	94.4	94.2	93.9
	%峰前	--	5.6	5.8	6.1
SE-HPLC	%主峰	≥ 95.0%	98.8	98.5	98.3
	% HMW	--	1.2	1.2	1.4
	% LMW	--	N.D.	≤ 0.5	0.3
icIEF	%主峰	65.0±10.0	65.4	62.3	61.5
	% APG	--	23.0	22.5	26.8
	% BPG	--	11.6	15.4	11.8
生物分析	%相對效能	60-140	98	94	98
顯微微粒	≥ 10 μm	每個容器中≤ 6000個	2	N.S.	7
	≥ 25 μm	每個容器中≤ 600個	0	N.S.	2
容器封閉完整性	染料滲入	無可偵測的染料滲入	N.S.	N.S.	NDDI

CLR L=透明液體；CL=無色；LY=淡黃色；EFOP=基本上不含顆粒；NVP=無可見顆粒；HMW=高分子量；LMW=低分子量；APG=酸性峰組；BPG=鹼性峰組；N.D.=未偵測到；N.S.=未預定；NDDI=無可偵測的染料滲入

實例8：STM 434投與改變人體組成

使用實例4中的上述方案選擇用STM 434治療的人類個體。個體為62歲非裔美國男性，其復發性乳頭狀腎細胞癌轉移至對側腎臟及骨盆淋巴結。其先前已接受使用托瑞索(Torisel)、帕唑帕尼(Pazopanib)及研究性藥劑(包括B7-H3 mAb、cMet抑制劑、CHK1抑制劑、奧洛拉激酶抑制劑(Aurora kinase inhibitor)及重組人類介白素10)之8線抗腫瘤療法。

STM 434調配物、包裝及儲存

STM 434調配為意欲靜脈內投與的無菌水溶液，其含有70 mg/mL STM 434、10 mM磷酸鉀緩衝液、8.8%(w/v)蔗糖及0.006%(w/v)聚山梨醇酯20，pH 6.7。使用13 mm氟聚合物塞子及13 mm密封件將所調配的STM 434溶液封裝於5 mL玻璃瓶中。STM 434小瓶在非自由結霜冷凍機中、在-20°C (±5°C)之溫度下儲存。使用之前，STM 434在冷凍機中、在2°C至8°C解凍隔夜。

STM 434投與及監測

約每4週向個體靜脈內投與0.25 mg/kg STM 434(第2組)。

2014年12月30日進行首次DXA掃描；2015年1月6日、2015年2月3日及2015年3月3日給藥；2015年3月31日進行追蹤DXA掃描。

瘦體質量、四肢瘦肉質量及脂肪質量(內臟及皮下)相對於基線的變化

約隔三個月獲得多個身體組成量測結果，以評估STM 434對身體組成(例如肌肉及脂肪)的影響。瘦體質量、四肢瘦肉質量及脂肪質量及脂肪分佈(內臟及皮下)係藉由DXA掃描來測定。DXA掃描由現場放射醫師進行分析且由中央放射學實驗室使用IBIS(成像生物標記資訊系統)軟體確認以確保精確的個體定位及機器校準。

表40顯示個體之量測結果。結果展現，STM 434在相對較低的劑量下治療僅約3個月之後，瘦體質量發生實質性增加且脂肪質量發生實質性降低。

表40										
日期	TLBM	ALM	TFM	VFM	SFM	TFDIS	VFDIS	SFDIS	TBMD	RDCOM
2014年12月30日	57398	22492	15793	657	353	20.7	65	35	1.383	N/A
2015年3月31日	64460	24389	8204	4	321	10.8	1.4	98.6	1.365	N/A
% Δ	12.30%	8.40%	-48%	-99%	9.1%	47.8%	97.8%	282%	-1.3%	N/A

TLBM=總瘦體質量；
ALM=四肢瘦肉質量；
TFM=總脂肪質量；
VFM=內臟脂肪質量；
SFM=皮下脂肪質量；
TBMD=總骨礦物質密度；
TFDIS=總脂肪分佈；
VFDIS=內臟脂肪分佈；
SFDIS=皮下脂肪分佈；

儘管本發明已參照較佳實施例及多個替代實施例進行特定顯示且描述，但應理解，在不背離本發明之精神及範疇之情況下，熟習相關技術者可對其中的形式及細節進行各種變更。

本說明書正文內引用之所有參考文獻、所頒予專利及專利申請案均以全文引用的方式併入本文中用於所有目的。

序列

SEQ ID NO	描述
1	ActRIIB胞外域，聚核苷酸
2	ActRIIB胞外域，多肽
3	具有信號序列的svActRIIB(E28W、S44T)聚核苷酸
4	具有信號序列的svActRIIB(E28W、S44T)多肽
5	不具有信號序列的svActRIIB(E28W、S44T)聚核苷酸
6	不具有信號序列的svActRIIB(E28W、S44T)多肽
7	具有信號序列的svActRIIB-Fc(E28W、S44T)聚核苷酸
8	具有信號序列的svActRIIB-Fc(E28W、S44T)多肽
9	不具有信號序列的svActRIIB-Fc(E28W、S44T)聚核苷酸
10	不具有信號序列(STM 434)的svActRIIB-Fc(E28W、S44T)多肽
11	具有信號序列的svActRIIB(E28Y、S44T)聚核苷酸
12	具有信號序列的svActRIIB(E28Y、S44T)多肽
13	不具有信號序列的svActRIIB(E28Y、S44T)聚核苷酸
14	不具有信號序列的svActRIIB(E28Y、S44T)多肽
15	具有信號序列的svActRIIB-Fc(E28Y、S44T)聚核苷酸
16	具有信號序列的svActRIIB-Fc(E28Y、S44T)多肽
17	不具有信號序列的svActRIIB-Fc(E28Y、S44T)聚核苷酸
18	不具有信號序列的svActRIIB-Fc(E28Y、S44T)多肽
19	不具有信號序列的ActRIIB(E28W)多肽
20	不具有信號序列的ActRIIB-Fc(E28W)聚核苷酸
21	不具有信號序列的ActRIIB-Fc(E28W)多肽
22	IgG2Fc多肽序列
23	IgG1Fc多肽序列
24	IgG4 Fc多肽序列

25	連接子胺基酸序列
26	鉸鏈連接子#1聚核苷酸序列
27	鉸鏈連接子#1肽序列

SEQ ID NO	序列				
1	ATGACGGCGC	CCTGGGTGGC	CCTCGCCCTC	CTCTGGGGAT	CGCTGTGCGC
	CGGCTCTGGG	CGTGGGGAGG	CTGAGACACG	GGAGTGCATC	TACTACAACG
	CCAACTGGGA	GCTGGAGCGC	ACCAACCAGA	GCGGCCTGGA	GCGCTGCGAA
	GGCGAGCAGG	ACAAGCGGCT	GCACTGCTAC	GCCTCCTGGC	GCAACAGCTC
	TGGCACCATC	GAGCTCGTGA	AGAAGGGCTG	CTGGCTAGAT	GACTTCAACT
	GCTACGATAG	GCAGGAGTGT	GTGGCCACTG	AGGAGAACCC	CCAGGTGTAC
	TTCTGCTGCT	GTGAAGGCAA	CTTCTGCAAC	GAGCGCTTCA	CTCATTTGCC
	AGAGGCTGGG	GGCCCGGAAG	TCACGTACGA	GCCACCCCCG	ACAGCCCCCA
	CC				
2	MTAPWVALAL	LWGSLCAGSG	RGEAETRECI	YYNANWELER	TNQSGLERCE
	GEQDKRLHCY	ASWRNSSGTI	ELVKKG CWLD	DFNCYDRQEC	VATEENPQVY
	FCCCEGNFCN	ERFTHLPEAG	GPEVTYEPPP	TAPT	
3	ATGGAGTTTG	GGCTGAGCTG	GGTTTTCTC	GTTGCTCTTT	TAAGAGGTGT
	CCAGTGTGAG	ACACGGTGGT	GCATCTACTA	CAACGCCAAC	TGGGAGCTGG
	AGCGCACCAA	CCAGACCGGC	CTGGAGCGCT	GCGAAGGCGA	GCAGGACAAG
	CGGCTGCACT	GCTACGCCTC	CTGGCGCAAC	AGCTCTGGCA	CCATCGAGCT
	CGTGAAGAAG	GGCTGCTGGC	TAGATGACTT	CAACTGCTAC	GATAGGCAGG
	AGTGTGTGGC	CACTGAGGAG	AACCCCCAGG	TGTACTTCTG	CTGCTGTGAG
	GGCAACTTCT	GCAACGAGCG	CTTCACTCAT	TTGCCAGAGG	CTGGGGGCCC
	GGAAGTCACG	TACGAGCCAC	CCCCGACAGC	CCCCACC	
4	MEFGLSWVFL	VALLRGVQCE	TRWCIYYNAN	WELERTNQTG	LERCEGEQDK
	RLHCYASWRN	SSGTIELVKK	GCWLDDFN CY	DRQECVATEE	NPQVYFCCCE
	GNFCNERFTH	LPEAGGPEVT	YEPPPTAPT		
53	GAGACACGGT	GGTGCATCTA	CTACAACGCC	AACTGGGAGC	TGGAGCGCAC
	CAACCAGACC	GGCCTGGAGC	GCTGCGAAGG	CGAGCAGGAC	AAGCGGCTGC
	ACTGCTACGC	CTCCTGGCGC	AACAGCTCTG	GCACCATCGA	GCTCGTGAAG
	AAGGGCTGCT	GGCTAGATGA	CTTCAACTGC	TACGATAGGC	AGGAGTGTGT
	GGCCACTGAG	GAGAACCCCC	AGGTGTACTT	CTGCTGCTGT	GAGGGCAACT
	TCTGCAACGA	GCGCTTCACT	CATTTGCCAG	AGGCTGGGGG	CCCGGAAGTC
6	ETRWCIYYNA	NWELERTNQ T	GLERCEGEQD	KRLHCYASWR	NSSGTIELVK
	KGCWLDDFNC	YDRQECVATE	ENPQVYFCCC	EGNFCNERFT	HLPEAGGPEV
	TYEPPPTAPT				
7	ATGGAGTTTG	GGCTGAGCTG	GGTTTTCTC	GTTGCTCTTT	TAAGAGGTGT
	CCAGTGTGAG	ACACGGTGGT	GCATCTACTA	CAACGCCAAC	TGGGAGCTGG
	AGCGCACCAA	CCAGACCGGC	CTGGAGCGCT	GCGAAGGCGA	GCAGGACAAG
	CGGCTGCACT	GCTACGCCTC	CTGGCGCAAC	AGCTCTGGCA	CCATCGAGCT
	CGTGAAGAAG	GGCTGCTGGC	TAGATGACTT	CAACTGCTAC	GATAGGCAGG
	AGTGTGTGGC	CACTGAGGAG	AACCCCCAGG	TGTACTTCTG	CTGCTGTGAG
	GGCAACTTCT	GCAACGAGCG	CTTCACTCAT	TTGCCAGAGG	CTGGGGGCCC
	GGAAGTCACG	TACGAGCCAC	CCCCGACAGC	CCCCACCGGA	GGGGGAGGAT
	CTGTGAGTG	CCCACCGTGC	CCAGCACCAC	CTGTGGCAGG	ACCGTCAGTC
	TTCTCTTCC	CCCCAAAACC	CAAGGACACC	CTCATGATCT	CCCGGACCCC
	TGAGGTCACG	TGCGTGGTGG	TGGACGTGAG	CCACGAAGAC	CCCGAGGTCC
	AGTTCAACTG	GTACGTGGAC	GGCGTGGAGG	TGCATAATGC	CAAGACAAAG
	CCACGGGAGG	AGCAGTTCAA	CAGCACGTTC	CGTGTGGTCA	GCGTCCTCAC

	CGTTGTGCAC CAGGACTGGC TGAACGGCAA GGAGTACAAG TGCAAGGTCT CCAACAAAGG CCTCCCAGCC CCCATCGAGA AAACCATCTC CAAAACCAAA GGGCAGCCCC GAGAACCACA GGTGTACACC CTGCCCCCAT CCCGGGAGGA GATGACCAAG AACCAGGTCA GCCTGACCTG CCTGGTCAAA GGCTTCTATC CCAGCGACAT CGCCGTGGAG TGGGAGAGCA ATGGGCAGCC GGAGAACAAC TACAAGACCA CACCTCCCAT GCTGGACTCC GACGGCTCCT TCTTCCTCTA CAGCAAGCTC ACCGTGGACA AGAGCAGGTG GCAGCAGGGG AACGTCTTCT CATGCTCCGT GATGCATGAG GCTCTGCACA ACCACTACAC GCAGAAGAGC CTCTCCCTGT CTCCGGGTAA A
8	MEFGLSWVFL VALLRGVQCE TRWCIYYNAN WELERTNQTG LERCEGEQDK RLHCYASWRN SSGTIELVKK GCWLDDFNCY DRQECVATEE NPQVYFCCCE GNFCNERFTH LPEAGGPEVT YEPPPTAPTG GGSVECPPC PAPPVAGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTF RVVSVLTVVH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPA PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPGK
9	GAGACACGGT GGTGCATCTA CTACAACGCC AACTGGGAGC TGGAGCGCAC CAACCAGACC GGCCTGGAGC GCTGCGAAGG CGAGCAGGAC AAGCGGCTGC ACTGCTACGC CTCCTGGCGC AACAGCTCTG GCACCATCGA GCTCGTGAAG AAGGGCTGCT GGCTAGATGA CTTCAACTGC TACGATAGGC AGGAGTGTGT GGCCACTGAG GAGAACCCCC AGGTGTA CTT CTGCTGCTGT GAGGGCAACT TCTGCAACGA GCGCTTCACT CATTGTCAG AGGCTGGGGG CCCGGAAGTC ACGTACGAGC CACCCCCGAC AGCCCCCACC GGAGGGGGAG GATCTGTCGA GTGCCCACCG TGCCCAGCAC CACCTGTGGC AGGACCGTCA GTCTTCCTCT TCCCCC AAA ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACGTGCGTGG TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCCGAGG TCCAGTTCAA CTGGTACGTG GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCACGGG AGGAGCAGTT CAACAGCACG TTCCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTTGTG CACCAGGACT GGCTGAACGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGGCCTCCCA GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAACC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC AAGAACCAGG TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA CCACACCTCC CATGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCT CTACAGCAAG CTCACC GTGG ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG TAAA
10	ETRWCIYYNA NWELERTNQ TGLERCEGEQD KRLHCYASWR NSSGTIELVK KGCWLDDFNC YDRQECVATE ENPQVYFCCC EGNFCNERFT HLPEAGGPEV TYEPPPTAPT GGGGSVECPP CPAPPVAGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST FRVSVLTVV HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP APIEKTISK TKGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPMLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
11	ATGGAGTTTG GGCTGAGCTG GGTTTTCTC GTTGCTCTTT TAAGAGGTGT CCAGTGTGAG ACACGGTACT GCATCTACTA CAACGCCAAC TGGGAGCTGG AGCGCACCAA CCAGACCGGC CTGGAGCGCT GCGAAGGCGA GCAGGACAAG CGGCTGCACT GCTACGCCTC CTGGCGCAAC AGCTCTGGCA CCATCGAGCT CGTGAAGAAG GGCTGCTGGC TAGATGACTT CAACTGCTAC GATAGGCAGG AGTGTGTGGC CACTGAGGAG AACCCCCAGG TGTACTTCTG CTGCTGTGAG GGCAACTTCT GCAACGAGCG CTTCATCAT TTGCCAGAGG CTGGGGGGCCC GGAAGTCACG TACGAGCCAC CCCCAGACAGC CCCCACC

12	MEFGLSWVFL RLHCYASWRN GNFCNERFTH	VALLRGVQCE SSGTIELVKK LPEAGGPEVT	TRYCIYYNAN GCWLDDFNCY YEPPPTAPT	WELERTNQTG DRQECVATEE NPQVYFCCCE	LERCEGEQDK NPQVYFCCCE
13	GAGACACGGT CAACCAGACC ACTGCTACGC AAGGGCTGCT GGCCACTGAG TCTGCAACGA ACGTACGAGC	ACTGCATCTA GGCCTGGAGC CTCCTGGCGC GGCTAGATGA GAGAACCCCC GCGCTTCACT CACCCCCGAC	CTACAACGCC GCTGCGAAGG AACAGCTCTG CTTCAACTGC AGGTGTACTT CATTTGCCAG AGCCCCCACC	AACTGGGAGC CGAGCAGGAC GCACCATCGA TACGATAGGC CTGCTGCTGT AGGCTGGGGG AGCCCCCACC	TGGAGCGCAC AAGCGGCTGC GCTCGTGAAG AGGAGTGTGT GAGGGCAACT CCCGGAAGTC AGCCCCCACC
14	ETRYCIYYNA KGCWLDDFNC TYEPPPTAPT	NWELERTNQ YDRQECVATE ENPQVYFCCC	GLERCEGEQD ENPQVYFCCC ENPQVYFCCC	KRLHCYASWR EGNFCNERFT EGNFCNERFT	NSSGTIELVK HLPEAGGPEV HLPEAGGPEV
15	ATGGAGTTTG CCAGTGTGAG AGCGCACCAA CGGCTGCACT CGTGAAGAAG AGTGTGTGGC GGCAACTTCT GGAAGTCACG CTGTGAGTGC TTCCTCTTCC TGAGGTCACG AGTTCAACTG CCACGGGAGG CGTTGTGCAC CCAACAAAGG GGGCAGCCCC GATGACCAAG CCAGCGACAT TACAAGACCA CAGCAAGCTC CATGCTCCGT CTCTCCCTGT	GGCTGAGCTG ACACGGTACT CCAGACCGGC GCTACGCCTC GGCTGCTGGC CACTGAGGAG GCAACGAGCG TACGAGCCAC CCCACCGTGC CCCCAAAACC TGCGTGGTGG GTACGTGGAC AGCAGTTCAA CAGGACTGGC CCTCCCAGCC GAGAACCACA AACCAGGTCA CGCCGTGGAG CACCTCCCAT ACCGTGGACA GATGCATGAG CTCCGGGTAA	GGTTTTCTC GCATCTACTA CTGGAGCGCT CTGGCGCAAC TAGATGACTT AACCCCCAGG CTTCACTCAT CCCCGACAGC CCAGCACCAC CAAGGACACC TGGACGTGAG GGCGTGGAGG CAGCACGTTC TGAACGGCAA CCCATCGAGA GGTGTACACC GCCTGACCTG TGGGAGAGCA GCTGGACTCC AGAGCAGGTG GCTCTGCACA A	GTTGCTCTTT CAACGCCAAC GCGAAGGCGA AGCTCTGGCA CAACTGCTAC TGTAATTCTG TTGCCAGAGG CCCCACCGGA CTGTGGCAGG CTCATGATCT CCACGAAGAC TGCATAATGC CGTGTGGTCA GGAGTACAAG AAACCATCTC CTGCCCCCAT CCTGGTCAAA ATGGGCAGCC GACGGCTCCT GCAGCAGGGG ACCACTACAC	TAAGAGGTGT TGGGAGCTGG GCAGGACAAG CCATCGAGCT GATAGGCAGG CTGCTGTGAG CTGGGGGCCC GGGGGAGGAT ACCGTCAGTC CCCGGACCCC CCCAGGTCC CAAGACAAAG GCGTCTCTAC TGCAAGGTCT CAAACCAAA CCCGGGAGGA GGCTTCTATC GGAGAACAAC TCTTCCTCTA AACGTCTTCT GCAGAAGAGC
16	MEFGLSWVFL RLHCYASWRN GNFCNERFTH FLFPPKPKDT PREEQFNSTF GQPREPQVYT YKTTTPMLDS LSLSPGK	VALLRGVQCE SSGTIELVKK LPEAGGPEVT LMISRTPEVT RVSVLTVVH LPPSREEMTK DGSFFLYSKL	TRYCIYYNAN GCWLDDFNCY YEPPPTAPT CVVVDVSHED QDWLNGKEYK NQVSLTCLVK TVDKSRWQQG	WELERTNQTG DRQECVATEE GGGSVECPC PEVQFNWYVD CKVSNKGLPA GFYPSDIAVE NVFSCSVMHE	LERCEGEQDK NPQVYFCCCE PAPPVAGPSV GVEVHNAKTK PIEKTISKTK WESNGQPENN ALHNHYTQKS
17	GAGACACGGT CAACCAGACC ACTGCTACGC AAGGGCTGCT GGCCACTGAG TCTGCAACGA ACGTACGAGC GTGCCCACCG TCCCCCAA ACGTGCGTGG	ACTGCATCTA GGCCTGGAGC CTCCTGGCGC GGCTAGATGA GAGAACCCCC GCGCTTCACT CACCCCCGAC TGCCCAGCAC ACCCAAGGAC	CTACAACGCC GCTGCGAAGG AACAGCTCTG CTTCAACTGC AGGTGTACTT CATTTGCCAG AGCCCCCACC CACCTGTGGC ACCCTCATGA	AACTGGGAGC CGAGCAGGAC GCACCATCGA TACGATAGGC CTGCTGCTGT AGGCTGGGGG GGAGGGGGGAG AGGACCGTCA TCTCCCGGAC	TGGAGCGCAC AAGCGGCTGC GCTCGTGAAG AGGAGTGTGT GAGGGCAACT CCCGGAAGTC GATCTGTCGA GTCTTCCTCT CCCTGAGGTC

	CTGGTACGTG AGGAGCAGTT CACCAGGACT AGGCCTCCCA CCCGAGAACC AAGAACCAGG CATCGCCGTG CCACACCTCC CTCACCGTGG CGTGATGCAT TGTCTCCGGG	GACGGCGTGG CAACAGCACG GGCTGAACGG GCCCCCATCG ACAGGTGTAC TCAGCCTGAC GAGTGGGAGA CATGCTGGAC ACAAGAGCAG GAGGCTCTGC TAAA	AGGTGCATAA TTCCGTGTGG CAAGGAGTAC AGAAAACCAT ACCCTGCCCC CTGCCTGGTC GCAATGGGCA TCCGACGGCT GTGGCAGCAG ACAACCACTA	TGCCAAGACA TCAGCGTCCT AAGTGCAAGG CTCCAAAACC CATCCCGGGA AAAGGCTTCT GCCGAGAAAC CCTTCTTCCT GGGAACGTCT CACGCAGAAG	AAGCCACGGG CACCGTTGTG TCTCCAACAA AAAGGGCAGC GGAGATGACC ATCCCAGCGA AACTACAAGA CTACAGCAAG TCTCATGCTC AGCCTCTCCC
18	ETRYCIYYNA KGCWLDDFNC TYEPPPTAPT TCVVVDVSHE HQDWLNGKEY KNQVSLTCLV LTVDKSRWQQ	NWELERTNQT YDRQECVATE GGGGSVECPP DPEVQFNWYV KCKVSNKGLP KGFYPSDIAV GNVFSCSVMH	GLERCEGEQD ENPQVYFCCC CPAPPVAGPS DGVEVHNAKT APIEKTISKI EWESNGQPEN EALHNHYTQK	KRLHCYASWR EGNFCNERFT VFLFPPKPKD KPREEQFNST KGQPREPQVY NYKTTPPMLD SLSLSPGK	NSSGTIELVK HLPEAGGPEV TLMISRTPEV FRVVSULTVV TLPPSREEMT SDGSFFLYSK
19	ETRWCIYYNA KGCWLDDFNC TYEPPPTAPT	NWELERTNQS YDRQECVATE	GLERCEGEQD ENPQVYFCCC	KRLHCYASWR EGNFCNERFT	NSSGTIELVK HLPEAGGPEV
20	GAGACACGGT CAACCAGAGC ACTGCTACGC AAGGGCTGCT GGCCACTGAG TCTGCAACGA ACGTACGAGC GTGCCCACCG TCCCCCAA ACGTGCGTGG CTGGTACGTG AGGAGCAGTT CACCAGGACT AGGCCTCCCA CCCGAGAACC AAGAACCAGG CATCGCCGTG CCACACCTCC CTCACCGTGG CGTGATGCAT TGTCTCCGGG	GGTGCATCTA GGCCTGGAGC CTCCTGGCGC GGCTAGATGA GAGAACCCCC GCGCTTCACT CACCCCCGAC TGCCCAGCAC ACCCAAGGAC TGGTGGACGT GACGGCGTGG GGCTGAACGG GCCCCCATCG ACAGGTGTAC TCAGCCTGAC GAGTGGGAGA CATGCTGGAC ACAAGAGCAG GAGGCTCTGC TAAA	CTACAACGCC GCTGCGAAGG AACAGCTCTG CTTCAACTGC AGGTGTACTT CATTTGCCAG AGCCCCCACC CACCTGTGGC ACCTCATGA GAGCCACGAA AGGTGCATAA TTCCGTGTGG CAAGGAGTAC AGAAAACCAT ACCCTGCCCC CTGCCTGGTC GCAATGGGCA TCCGACGGCT ACAACCACTA	AACTGGGAGC CGAGCAGGAC GCACCATCGA TACGATAGGC CTGCTGCTGT AGGCTGGGGG GGAGGAGGAG AGGACCGTCA TCTCCCGGAC GACCCCGAGG TGCCAAGACA AAGTGCAAGG CTCCAAAACC CATCCCGGGA AAAGGCTTCT GCCGAGAAAC AAAGGCTTCT GGGAACGTCT CACGCAGAAG	TGGAGCGCAC AAGCGGCTGC GCTCGTGAAG AGGAGTGTGT GAGGGCAACT CCCGGAAGTC GATCTGTCTGA GTCTTCCTCT CCCTGAGGTC TCCAGTTCAA AAGCCACGGG CACCGTTGTG TCTCCAACAA AAAGGGCAGC GGAGATGACC ATCCCAGCGA AACTACAAGA CTACAGCAAG TCTCATGCTC AGCCTCTCCC
21	ETRWCIYYNA KGCWLDDFNC TYEPPPTAPT TCVVVDVSHE HQDWLNGKEY KNQVSLTCLV LTVDKSRWQQ	NWELERTNQS YDRQECVATE GGGGSVECPP DPEVQFNWYV KCKVSNKGLP KGFYPSDIAV GNVFSCSVMH	GLERCEGEQD ENPQVYFCCC CPAPPVAGPS DGVEVHNAKT APIEKTISKI EWESNGQPEN EALHNHYTQK	KRLHCYASWR EGNFCNERFT VFLFPPKPKD KPREEQFNST KGQPREPQVY NYKTTPPMLD SLSLSPGK	NSSGTIELVK HLPEAGGPEV TLMISRTPEV FRVVSULTVV TLPPSREEMT SDGSFFLYSK
22	APPVAGPSVF VEVHNAKTKP IEKTISKTKG ESNGQPENNY	LFPPKPKDTL REEQFNSTFR QPREPQVYTL KTPPMLDSD	MISRTPEVTC VVSULTVVHQ PPSREEMTKN GSFFLYSKLT	VVVDVSHEDP DWLNGKEYKC QVSLTCLVKG VDKSRWQQGN	EVQFNWYVDG KVSNGKLPAP FYPSDIAVEW VFSCSVMHEA

	LHNHYTQKSL	SLSPGK			
23	APELLGGPSV GVEVHNAKTK PIEKTISKAK WESNGQPENN ALHNHYTQKS	FLFPPKPKDI PREEQYNSTY GQPREPQVYT YKTTTPVLDS LSLSPGK	LMISRTPEVT RVVSVLTVLH LPPSRDELTK DGSFFLYSKL	CVVVDVSHED QDWLNGKEYK NQVSLTCLVK TVDKSRWQQG	PEVKFNWYVG CKVSNKALPA GFYPSDIAVE NVFSCSVMHE
24	APEFLGGPSV GVEVHNAKTK SIEKTISKAK WESNGQPENN ALHNHYTQKS	FLFPPKPKDT PREEQFNSTY GQPREPQVYT YKTTTPVLDS LSLSLGK	LMISRTPEVT RVVSVLTVLH LPPSQEEMTK DGSFFLYSRL	CVVVDVSQED QDWLNGKEYK NQVSLTCLVK TVDKSRWQEG	PEVQFNWYVD CKVSNKGLPS GFYPSDIAVE NVFSCSVMHE
25	GGGGS				
26	GGAGGGGGAG	GATCTGTCGA	GTGCCCACCG	TGCCCA	
27	GGGGSVECPP	CP			

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 美商安美基公司
美商聖塔瑪麗亞生物治療公司

<120> 經調配之受體多肽及相關方法

<130> 29957-29502 PCT

<140>
<141>

:
:
<150> 62/142,812
<151> 2015-04-03

:
:
<150> 62/058,789
<151> 2014-10-02

<150> 62/047,995
<151> 2014-09-09

<150> 61/012,104
<151> 2014-06-13

<160> 53

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 402
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(402)

<400> 1																
atg	acg	gcg	ccc	tgg	gtg	gcc	ctc	gcc	ctc	ctc	tgg	gga	tcg	ctg	tgc	48
Met	Thr	Ala	Pro	Trp	Val	Ala	Leu	Ala	Leu	Leu	Trp	Gly	Ser	Leu	Cys	
1				5					10					15		
gcc	ggc	tct	ggg	cgt	ggg	gag	gct	gag	aca	cgg	gag	tgc	atc	tac	tac	96
Ala	Gly	Ser	Gly	Arg	Gly	Glu	Ala	Glu	Thr	Arg	Glu	Cys	Ile	Tyr	Tyr	
			20					25					30			
aac	gcc	aac	tgg	gag	ctg	gag	cgc	acc	aac	cag	agc	ggc	ctg	gag	cgc	144
Asn	Ala	Asn	Trp	Glu	Leu	Glu	Arg	Thr	Asn	Gln	Ser	Gly	Leu	Glu	Arg	
		35					40					45				
tgc	gaa	ggc	gag	cag	gac	aag	cgg	ctg	cac	tgc	tac	gcc	tcc	tgg	cgc	192
Cys	Glu	Gly	Glu	Gln	Asp	Lys	Arg	Leu	His	Cys	Tyr	Ala	Ser	Trp	Arg	
	50					55					60					

aac agc tct ggc acc atc gag ctc gtg aag aag ggc tgc tgg cta gat 240
Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp
65 70 75 80

gac ttc aac tgc tac gat agg cag gag tgt gtg gcc act gag gag aac 288
Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn
85 90 95

ccc cag gtg tac ttc tgc tgc tgt gaa ggc aac ttc tgc aac gag cgc 336
Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg
100 105 110

ttc act cat ttg cca gag gct ggg ggc ccg gaa gtc acg tac gag cca 384
Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro
115 120 125

ccc ccg aca gcc ccc acc 402
Pro Pro Thr Ala Pro Thr
130

<210> 2
<211> 134
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2
Met Thr Ala Pro Trp Val Ala Leu Ala Leu Leu Trp Gly Ser Leu Cys
1 5 10 15

Ala Gly Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr
20 25 30

Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg
35 40 45

Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg
50 55 60

Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp
65 70 75 80

Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn
85 90 95

Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg
100 105 110

Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro
115 120 125

Pro Pro Thr Ala Pro Thr
130

<210> 3
<211> 387
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(387)

<400> 3
atg gag ttt ggg ctg agc tgg gtt ttc ctc gtt gct ctt tta aga ggt 48

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

gtc cag tgt gag aca cgg tgg tgc atc tac tac aac gcc aac tgg gag 96
Val Gln Cys Glu Thr Arg Trp Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu
20 25 30

ctg gag cgc acc aac cag acc ggc ctg gag cgc tgc gaa ggc gag cag 144
Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln
35 40 45

gac aag cgg ctg cac tgc tac gcc tcc tgg cgc aac agc tct ggc acc 192
Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr
50 55 60

atc gag ctc gtg aag aag ggc tgc tgg cta gat gac ttc aac tgc tac 240
Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr
65 70 75 80

gat agg cag gag tgt gtg gcc act gag gag aac ccc cag gtg tac ttc 288
Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe
85 90 95

tgc tgc tgt gag ggc aac ttc tgc aac gag cgc ttc act cat ttg cca 336
Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro
100 105 110

gag gct ggg ggc ccg gaa gtc acg tac gag cca ccc ccg aca gcc ccc 384
Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro
115 120 125

acc 387
Thr

<210> 4
<211> 129
<212> PRT
<213> 智人

<400> 4
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly

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

Thr

<210> 5
<211> 330
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(330)

<400> 5
gag aca cgg tgg tgc atc tac tac aac gcc aac tgg gag ctg gag cgc 48
Glu Thr Arg Trp Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15

acc aac cag acc ggc ctg gag cgc tgc gaa ggc gag cag gac aag cgg 96
Thr Asn Gln Thr Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
20 25 30

ctg cac tgc tac gcc tcc tgg cgc aac agc tct ggc acc atc gag ctc 144
Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

gtg aag aag ggc tgc tgg cta gat gac ttc aac tgc tac gat agg cag 192
Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60

gag tgt gtg gcc act gag gag aac ccc cag gtg tac ttc tgc tgc tgt 240
Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys

20							25					30					
ctg	gag	cgc	acc	aac	cag	acc	ggc	ctg	gag	cgc	tgc	gaa	ggc	gag	cag	144	
Leu	Glu	Arg	Thr	Asn	Gln	Thr	Gly	Leu	Glu	Arg	Cys	Glu	Gly	Glu	Gln		
		35					40				45						
gac	aag	cgg	ctg	cac	tgc	tac	gcc	tcc	tgg	cgc	aac	agc	tct	ggc	acc	192	
Asp	Lys	Arg	Leu	His	Cys	Tyr	Ala	Ser	Trp	Arg	Asn	Ser	Ser	Gly	Thr		
	50					55					60						
atc	gag	ctc	gtg	aag	aag	ggc	tgc	tgg	cta	gat	gac	ttc	aac	tgc	tac	240	
Ile	Glu	Leu	Val	Lys	Lys	Gly	Cys	Trp	Leu	Asp	Asp	Phe	Asn	Cys	Tyr		
65					70					75					80		
gat	agg	cag	gag	tgt	gtg	gcc	act	gag	gag	aac	ccc	cag	gtg	tac	ttc	288	
Asp	Arg	Gln	Glu	Cys	Val	Ala	Thr	Glu	Glu	Asn	Pro	Gln	Val	Tyr	Phe		
				85				90						95			
tgc	tgc	tgt	gag	ggc	aac	ttc	tgc	aac	gag	cgc	ttc	act	cat	ttg	cca	336	
Cys	Cys	Cys	Glu	Gly	Asn	Phe	Cys	Asn	Glu	Arg	Phe	Thr	His	Leu	Pro		
			100					105					110				
gag	gct	ggg	ggc	ccg	gaa	gtc	acg	tac	gag	cca	ccc	ccg	aca	gcc	ccc	384	
Glu	Ala	Gly	Gly	Pro	Glu	Val	Thr	Tyr	Glu	Pro	Pro	Pro	Thr	Ala	Pro		
		115					120					125					
acc	gga	ggg	gga	gga	tct	gtc	gag	tgc	cca	ccg	tgc	cca	gca	cca	cct	432	
Thr	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro		
	130					135					140						
gtg	gca	gga	ccg	tca	gtc	ttc	ctc	ttc	ccc	cca	aaa	ccc	aag	gac	acc	480	
Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr		
145					150					155					160		
ctc	atg	atc	tcc	cgg	acc	cct	gag	gtc	acg	tgc	gtg	gtg	gtg	gac	gtg	528	
Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val		
				165					170					175			
agc	cac	gaa	gac	ccc	gag	gtc	cag	ttc	aac	tgg	tac	gtg	gac	ggc	gtg	576	
Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val		
			180					185					190				
gag	gtg	cat	aat	gcc	aag	aca	aag	cca	cgg	gag	gag	cag	ttc	aac	agc	624	
Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser		
		195					200					205					
acg	ttc	cgt	gtg	gtc	agc	gtc	ctc	acc	gtt	gtg	cac	cag	gac	tgg	ctg	672	
Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu		
	210					215					220						
aac	ggc	aag	gag	tac	aag	tgc	aag	gtc	tcc	aac	aaa	ggc	ctc	cca	gcc	720	
Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala		
225					230					235					240		

ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa acc aaa ggg cag ccc cga gaa cca 768
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
245 250 255

cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag atg acc aag aac cag 816
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
260 265 270

gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc 864
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
275 280 285

gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc aca 912
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
290 295 300

cct ccc atg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc 960
Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
305 310 315 320

acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc 1008
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
325 330 335

gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc 1056
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
340 345 350

ctg tct ccg ggt aaa 1071
Leu Ser Pro Gly Lys
355

<210> 8
<211> 357
<212> PRT
<213> 智人

<400> 8
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Thr Arg Trp Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu
20 25 30

Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln
35 40 45

Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr
50 55 60

Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr
65 70 75 80

Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe

[illegible]

<210> 9
<211> 1014
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1014)

<400> 9																	
gag	aca	cgg	tgg	tgc	atc	tac	tac	aac	gcc	aac	tgg	gag	ctg	gag	cgc		48
Glu	Thr	Arg	Trp	Cys	Ile	Tyr	Tyr	Asn	Ala	Asn	Trp	Glu	Leu	Glu	Arg		
1				5					10					15			
.																	
acc	aac	cag	acc	ggc	ctg	gag	cgc	tgc	gaa	ggc	gag	cag	gac	aag	cgg		96
Thr	Asn	Gln	Thr	Gly	Leu	Glu	Arg	Cys	Glu	Gly	Glu	Gln	Asp	Lys	Arg		
			20					25					30				
.																	
ctg	cac	tgc	tac	gcc	tcc	tgg	cgc	aac	agc	tct	ggc	acc	atc	gag	ctc		144
Leu	His	Cys	Tyr	Ala	Ser	Trp	Arg	Asn	Ser	Ser	Gly	Thr	Ile	Glu	Leu		
		35				40					45						
.																	
gtg	aag	aag	ggc	tgc	tgg	cta	gat	gac	ttc	aac	tgc	tac	gat	agg	cag		192
Val	Lys	Lys	Gly	Cys	Trp	Leu	Asp	Asp	Phe	Asn	Cys	Tyr	Asp	Arg	Gln		
	50				55						60						
.																	
gag	tgt	gtg	gcc	act	gag	gag	aac	ccc	cag	gtg	tac	ttc	tgc	tgc	tgt		240
Glu	Cys	Val	Ala	Thr	Glu	Glu	Asn	Pro	Gln	Val	Tyr	Phe	Cys	Cys	Cys		
65					70				75						80		
.																	
gag	ggc	aac	ttc	tgc	aac	gag	cgc	ttc	act	cat	ttg	cca	gag	gct	ggg		288
Glu	Gly	Asn	Phe	Cys	Asn	Glu	Arg	Phe	Thr	His	Leu	Pro	Glu	Ala	Gly		
				85					90					95			
.																	
ggc	ccg	gaa	gtc	acg	tac	gag	cca	ccc	ccg	aca	gcc	ccc	acc	gga	ggg		336
Gly	Pro	Glu	Val	Thr	Tyr	Glu	Pro	Pro	Pro	Thr	Ala	Pro	Thr	Gly	Gly		
			100					105					110				
.																	
gga	gga	tct	gtc	gag	tgc	cca	ccg	tgc	cca	gca	cca	cct	gtg	gca	gga		384
Gly	Gly	Ser	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly		
		115				120						125					
.																	
ccg	tca	gtc	ttc	ctc	ttc	ccc	cca	aaa	ccc	aag	gac	acc	ctc	atg	atc		432
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile		
		130				135					140						
.																	
tcc	cgg	acc	cct	gag	gtc	acg	tgc	gtg	gtg	gtg	gac	gtg	agc	cac	gaa		480
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu		
145					150					155					160		
.																	
gac	ccc	gag	gtc	cag	ttc	aac	tgg	tac	gtg	gac	ggc	gtg	gag	gtg	cat		528
Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His		
				165					170					175			
.																	
aat	gcc	aag	aca	aag	cca	cgg	gag	gag	cag	ttc	aac	agc	acg	ttc	cgt		576

Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	
			180					185					190			
gtg	gtc	agc	gtc	ctc	acc	gtt	gtg	cac	cag	gac	tgg	ctg	aac	ggc	aag	624
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	
		195					200					205				
gag	tac	aag	tgc	aag	gtc	tcc	aac	aaa	ggc	ctc	cca	gcc	ccc	atc	gag	672
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	
	210					215					220					
aaa	acc	atc	tcc	aaa	acc	aaa	ggg	cag	ccc	cga	gaa	cca	cag	gtg	tac	720
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	
225					230					235					240	
acc	ctg	ccc	cca	tcc	cgg	gag	gag	atg	acc	aag	aac	cag	gtc	agc	ctg	768
Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	
				245					250					255		
acc	tgc	ctg	gtc	aaa	ggc	ttc	tat	ccc	agc	gac	atc	gcc	gtg	gag	tgg	816
Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	
			260					265					270			
gag	agc	aat	ggg	cag	ccg	gag	aac	aac	tac	aag	acc	aca	cct	ccc	atg	864
Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	
		275					280					285				
ctg	gac	tcc	gac	ggc	tcc	ttc	ttc	ctc	tac	agc	aag	ctc	acc	gtg	gac	912
Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	
	290					295					300					
aag	agc	agg	tgg	cag	cag	ggg	aac	gtc	ttc	tca	tgc	tcc	gtg	atg	cat	960
Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	
305					310				315						320	
gag	gct	ctg	cac	aac	cac	tac	acg	cag	aag	agc	ctc	tcc	ctg	tct	ccg	1008
Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	
				325					330					335		
ggt	aaa															1014
Gly	Lys															

<210> 10
<211> 338
<212> PRT
<213> 智人

<400>	10															
Glu	Thr	Arg	Trp	Cys	Ile	Tyr	Tyr	Asn	Ala	Asn	Trp	Glu	Leu	Glu	Arg	
1				5					10					15		
Thr	Asn	Gln	Thr	Gly	Leu	Glu	Arg	Cys	Glu	Gly	Glu	Gln	Asp	Lys	Arg	
			20					25					30			

```

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

```

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325 330 335

Gly Lys

<210> 11
<211> 387
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(387)

<400> 11
atg gag ttt ggg ctg agc tgg gtt ttc ctc gtt gct ctt tta aga ggt 48
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1 5 10 15
gtc cag tgt gag aca cgg tac tgc atc tac tac aac gcc aac tgg gag 96
Val Gln Cys Glu Thr Arg Tyr Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu
20 25 30
ctg gag cgc acc aac cag acc ggc ctg gag cgc tgc gaa ggc gag cag 144
Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln
35 40 45
gac aag cgg ctg cac tgc tac gcc tcc tgg cgc aac agc tct ggc acc 192
Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr
50 55 60
atc gag ctc gtg aag aag ggc tgc tgg cta gat gac ttc aac tgc tac 240
Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr
65 70 75 80
gat agg cag gag tgt gtg gcc act gag gag aac ccc cag gtg tac ttc 288
Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe
85 90 95
tgc tgc tgt gag ggc aac ttc tgc aac gag cgc ttc act cat ttg cca 336
Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro
100 105 110
gag gct ggg ggc ccg gaa gtc acg tac gag cca ccc ccg aca gcc ccc 384
Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro
115 120 125
acc 387
Thr

<210> 12
<211> 129
<212> PRT
<213> 智人

<400> 12
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1 5 10 15
Val Gln Cys Glu Thr Arg Tyr Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu
20 25 30
Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln
35 40 45
Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr
50 55 60
Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr
65 70 75 80
Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe
85 90 95
Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro
100 105 110
Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro
115 120 125

Thr

<210> 13
<211> 330
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(330)

<400> 13
gag aca cgg tac tgc atc tac tac aac gcc aac tgg gag ctg gag cgc 48
Glu Thr Arg Tyr Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15
acc aac cag acc ggc ctg gag cgc tgc gaa ggc gag cag gac aag cgg 96
Thr Asn Gln Thr Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
20 25 30
ctg cac tgc tac gcc tcc tgg cgc aac agc tct ggc acc atc gag ctc 144
Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45

gtg aag aag ggc tgc tgg cta gat gac ttc aac tgc tac gat agg cag	192
Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
50 55 60	
gag tgt gtg gcc act gag gag aac ccc cag gtg tac ttc tgc tgc tgt	240
Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
65 70 75 80	
gag ggc aac ttc tgc aac gag cgc ttc act cat ttg cca gag gct ggg	288
Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly	
85 90 95	
ggc ccg gaa gtc acg tac gag cca ccc ccg aca gcc ccc acc	330
Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr	
100 105 110	

<210> 14
<211> 110
<212> PRT
<213> 智人

<400> 14
Glu Thr Arg Tyr Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15
Thr Asn Gln Thr Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
20 25 30
Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45
Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60
Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80
Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
85 90 95
Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 15
<211> 1071
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1071)

```

<400> 15
atg gag ttt ggg ctg agc tgg gtt ttc ctc gtt gct ctt tta aga ggt      48
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1          5          10          15

gtc cag tgt gag aca cgg tac tgc atc tac tac aac gcc aac tgg gag      96
Val Gln Cys Glu Thr Arg Tyr Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu
20          25          30

ctg gag cgc acc aac cag acc ggc ctg gag cgc tgc gaa ggc gag cag      144
Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln
35          40          45

gac aag cgg ctg cac tgc tac gcc tcc tgg cgc aac agc tct ggc acc      192
Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr
50          55          60

atc gag ctc gtg aag aag ggc tgc tgg cta gat gac ttc aac tgc tac      240
Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr
65          70          75          80

gat agg cag gag tgt gtg gcc act gag gag aac ccc cag gtg tac ttc      288
Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe
85          90          95

tgc tgc tgt gag ggc aac ttc tgc aac gag cgc ttc act cat ttg cca      336
Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro
100          105          110

gag gct ggg ggc ccg gaa gtc acg tac gag cca ccc ccg aca gcc ccc      384
Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro
115          120          125

acc gga ggg gga gga tct gtc gag tgc cca ccg tgc cca gca cca cct      432
Thr Gly Gly Gly Gly Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro
130          135          140

gtg gca gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc      480
Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
145          150          155          160

ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc acg tgc gtg gtg gtg gac gtg      528
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
165          170          175

agc cac gaa gac ccc gag gtc cag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg      576
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
180          185          190

gag gtg cat aat gcc aag aca aag cca cgg gag gag cag ttc aac agc      624
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
195          200          205

acg ttc cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtt gtg cac cag gac tgg ctg      672
Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu

```

210	215	220	
aac ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa ggc ctc cca gcc Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala 225 230 235 240			720
ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa acc aaa ggg cag ccc cga gaa cca Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro 245 250 255			768
cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag atg acc aag aac cag Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln 260 265 270			816
gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala 275 280 285			864
gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc aca Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr 290 295 300			912
cct ccc atg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu 305 310 315			960
acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser 325 330 335			1008
gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser 340 345 350			1056
ctg tct ccg ggt aaa Leu Ser Pro Gly Lys 355			1071

<210> 16
<211> 357
<212> PRT
<213> 智人

<400> 16
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1 5 10 15
Val Gln Cys Glu Thr Arg Tyr Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu
20 25 30
Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln
35 40 45
Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr

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

Leu Ser Pro Gly Lys
355

<210> 17
<211> 1014
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1014)

<400> 17
gag aca cgg tac tgc atc tac tac aac gcc aac tgg gag ctg gag cgc 48
Glu Thr Arg Tyr Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15
acc aac cag acc ggc ctg gag cgc tgc gaa ggc gag cag gac aag cgg 96
Thr Asn Gln Thr Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
20 25 30
ctg cac tgc tac gcc tcc tgg cgc aac agc tct ggc acc atc gag ctc 144
Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45
gtg aag aag ggc tgc tgg cta gat gac ttc aac tgc tac gat agg cag 192
Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60
gag tgt gtg gcc act gag gag aac ccc cag gtg tac ttc tgc tgc tgt 240
Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80
gag ggc aac ttc tgc aac gag cgc ttc act cat ttg cca gag gct ggg 288
Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
85 90 95
ggc ccg gaa gtc acg tac gag cca ccc ccg aca gcc ccc acc gga ggg 336
Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr Gly Gly
100 105 110
gga gga tct gtc gag tgc cca ccg tgc cca gca cca cct gtg gca gga 384
Gly Gly Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
115 120 125
ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc atg atc 432
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
130 135 140
tcc cgg acc cct gag gtc acg tgc gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa 480
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
145 150 155 160

gac ccc gag gtc cag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His 165 170 175	528
aat gcc aag aca aag cca cgg gag gag cag ttc aac agc acg ttc cgt Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg 180 185 190	576
gtg gtc agc gtc ctc acc gtt gtg cac cag gac tgg ctg aac ggc aag Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys 195 200 205	624
gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa ggc ctc cca gcc ccc atc gag Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu 210 215 220	672
aaa acc atc tcc aaa acc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg tac Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr 225 230 235 240	720
acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag atg acc aag aac cag gtc agc ctg Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu 245 250 255	768
acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp 260 265 270	816
gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc aca cct ccc atg Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met 275 280 285	864
ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc gtg gac Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp 290 295 300	912
aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His 305 310 315 320	960
gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro 325 330 335	1008
ggt aaa Gly Lys	1014

<210> 18
 <211> 338
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 18

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

290 295 300
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
305 310 315 320
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325 330 335
Gly Lys

<210> 19
<211> 110
<212> PRT
<213> 智人

<400> 19
Glu Thr Arg Trp Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15
Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
20 25 30
Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45
Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60
Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80
Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
85 90 95
Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr
100 105 110

<210> 20
<211> 1014
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1014)

<400> 20
gag aca cgg tgg tgc atc tac tac aac gcc aac tgg gag ctg gag cgc 48
Glu Thr Arg Trp Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15
acc aac cag agc ggc ctg gag cgc tgc gaa ggc gag cag gac aag cgg 96

Thr	Asn	Gln	Ser	Gly	Leu	Glu	Arg	Cys	Glu	Gly	Glu	Gln	Asp	Lys	Arg	
			20					25					30			
ctg	cac	tgc	tac	gcc	tcc	tgg	cgc	aac	agc	tct	ggc	acc	atc	gag	ctc	144
Leu	His	Cys	Tyr	Ala	Ser	Trp	Arg	Asn	Ser	Ser	Gly	Thr	Ile	Glu	Leu	
		35					40					45				
gtg	aag	aag	ggc	tgc	tgg	cta	gat	gac	ttc	aac	tgc	tac	gat	agg	cag	192
Val	Lys	Lys	Gly	Cys	Trp	Leu	Asp	Asp	Phe	Asn	Cys	Tyr	Asp	Arg	Gln	
	50					55					60					
gag	tgt	gtg	gcc	act	gag	gag	aac	ccc	cag	gtg	tac	ttc	tgc	tgc	tgt	240
Glu	Cys	Val	Ala	Thr	Glu	Glu	Asn	Pro	Gln	Val	Tyr	Phe	Cys	Cys	Cys	
65					70					75					80	
gag	ggc	aac	ttc	tgc	aac	gag	cgc	ttc	act	cat	ttg	cca	gag	gct	ggg	288
Glu	Gly	Asn	Phe	Cys	Asn	Glu	Arg	Phe	Thr	His	Leu	Pro	Glu	Ala	Gly	
			85					90						95		
ggc	ccg	gaa	gtc	acg	tac	gag	cca	ccc	ccg	aca	gcc	ccc	acc	gga	gga	336
Gly	Pro	Glu	Val	Thr	Tyr	Glu	Pro	Pro	Pro	Thr	Ala	Pro	Thr	Gly	Gly	
			100					105					110			
gga	gga	tct	gtc	gag	tgc	cca	ccg	tgc	cca	gca	cca	cct	gtg	gca	gga	384
Gly	Gly	Ser	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	
		115					120					125				
ccg	tca	gtc	ttc	ctc	ttc	ccc	cca	aaa	ccc	aag	gac	acc	ctc	atg	atc	432
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	
	130					135					140					
tcc	cgg	acc	cct	gag	gtc	acg	tgc	gtg	gtg	gtg	gac	gtg	agc	cac	gaa	480
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	
145					150					155					160	
gac	ccc	gag	gtc	cag	ttc	aac	tgg	tac	gtg	gac	ggc	gtg	gag	gtg	cat	528
Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	
				165					170					175		
aat	gcc	aag	aca	aag	cca	cgg	gag	gag	cag	ttc	aac	agc	acg	ttc	cgt	576
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	
			180					185					190			
gtg	gtc	agc	gtc	ctc	acc	gtt	gtg	cac	cag	gac	tgg	ctg	aac	ggc	aag	624
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	
		195					200					205				
gag	tac	aag	tgc	aag	gtc	tcc	aac	aaa	ggc	ctc	cca	gcc	ccc	atc	gag	672
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	
	210					215					220					
aaa	acc	atc	tcc	aaa	acc	aaa	ggg	cag	ccc	cga	gaa	cca	cag	gtg	tac	720
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	
225					230					235					240	

acc ctg ccc cca tcc cgg gag gag atg acc aag aac cag gtc agc ctg	768
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu	
245 250 255	
acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg	816
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp	
260 265 270	
gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc aca cct ccc atg	864
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met	
275 280 285	
ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc gtg gac	912
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp	
290 295 300	
aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat	960
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His	
305 310 315 320	
gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg	1008
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro	
325 330 335	
ggt aaa	1014
Gly Lys	

<210> 21
<211> 338
<212> PRT
<213> 智人

<400> 21	
Glu Thr Arg Trp Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg	
1 5 10 15	
Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg	
20 25 30	
Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu	
35 40 45	
Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln	
50 55 60	
Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys	
65 70 75 80	
Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly	
85 90 95	
Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Thr Ala Pro Thr Gly Gly	
100 105 110	

Gly Gly Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
130 135 140

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
145 150 155 160

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
165 170 175

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
180 185 190

Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
195 200 205

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
210 215 220

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
225 230 235 240

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
245 250 255

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
260 265 270

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
275 280 285

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
290 295 300

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
305 310 315 320

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325 330 335

Gly Lys

<210> 22
<211> 216
<212> PRT
<213> 智人

<400> 22
Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
1 5 10 15

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

<210> 23
<211> 217
<212> PRT
<213> 智人

<400> 23
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15
Pro Lys Asp Ile Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

354045

Val Gly Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
505560

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65707580

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
859095

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100105110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
115120125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130135140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145150155160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165170175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180185190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195200205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210215

<210> 24
<211> 217
<212> PRT
<213> 智人

<400> 24

Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
151015

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
202530

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
354045

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
505560

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

- 27 -

<222> (1)..(36)

<400> 26
gga ggg gga gga tct gtc gag tgc cca ccg tgc cca
Gly Gly Gly Gly Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

36

<210> 27
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 鉸鏈連接子

<400> 27
Gly Gly Gly Gly Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 28
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<400> 28
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 29
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人

<400> 29
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 30
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<400> 30
Glu Ser Lys Thr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro
1 5 10

<210> 31
<211> 18
<212> PRT
<213> 智人

<400> 31
Met Thr Ala Pro Trp Val Ala Leu Ala Leu Leu Trp Gly Ser Leu Trp
1 5 10 15

Pro Gly

<210> 32
<211> 18
<212> PRT
<213> 智人

<400> 32
Met Thr Ala Pro Trp Val Ala Leu Ala Leu Leu Trp Gly Ser Leu Cys
1 5 10 15

Ala Gly

<210> 33
<211> 512
<212> PRT
<213> 智人

<400> 33
Met Thr Ala Pro Trp Val Ala Leu Ala Leu Leu Trp Gly Ser Leu Cys
1 5 10 15

Ala Gly Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr
20 25 30
Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg
35 40 45

Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg
50 55 60

Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp
65 70 75 80

Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn
85 90 95

Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg
100 105 110

Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro
115 120 125

Pro Pro Thr Ala Pro Thr Leu Leu Thr Val Leu Ala Tyr Ser Leu Leu
130 135 140

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

His Lys Lys Met Arg Pro Thr Ile Lys Asp His Trp Leu Lys His Pro
435 440 445
Gly Leu Ala Gln Leu Cys Val Thr Ile Glu Glu Cys Trp Asp His Asp
450 455 460
Ala Glu Ala Arg Leu Ser Ala Gly Cys Val Glu Glu Arg Val Ser Leu
465 470 475 480
Ile Arg Arg Ser Val Asn Gly Thr Thr Ser Asp Cys Leu Val Ser Leu
485 490 495
Val Thr Ser Val Thr Asn Val Asp Leu Pro Pro Lys Glu Ser Ser Ile
500 505 510

<210> 34
<211> 426
<212> PRT
<213> 智人

<400> 34
Met Pro Leu Leu Trp Leu Arg Gly Phe Leu Leu Ala Ser Cys Trp Ile
1 5 10 15
Ile Val Arg Ser Ser Pro Thr Pro Gly Ser Glu Gly His Ser Ala Ala
20 25 30
Pro Asp Cys Pro Ser Cys Ala Leu Ala Ala Leu Pro Lys Asp Val Pro
35 40 45
Asn Ser Gln Pro Glu Met Val Glu Ala Val Lys Lys His Ile Leu Asn
50 55 60
Met Leu His Leu Lys Lys Arg Pro Asp Val Thr Gln Pro Val Pro Lys
65 70 75 80
Ala Ala Leu Leu Asn Ala Ile Arg Lys Leu His Val Gly Lys Val Gly
85 90 95
Glu Asn Gly Tyr Val Glu Ile Glu Asp Asp Ile Gly Arg Arg Ala Glu
100 105 110
Met Asn Glu Leu Met Glu Gln Thr Ser Glu Ile Ile Thr Phe Ala Glu
115 120 125
Ser Gly Thr Ala Arg Lys Thr Leu His Phe Glu Ile Ser Lys Glu Gly
130 135 140
Ser Asp Leu Ser Val Val Glu Arg Ala Glu Val Trp Leu Phe Leu Lys
145 150 155 160
Val Pro Lys Ala Asn Arg Thr Arg Thr Lys Val Thr Ile Arg Leu Phe
165 170 175

Gln Gln Gln Lys His Pro Gln Gly Ser Leu Asp Thr Gly Glu Glu Ala
180 185 190

Glu Glu Val Gly Leu Lys Gly Glu Arg Ser Glu Leu Leu Leu Ser Glu
195 200 205

Lys Val Val Asp Ala Arg Lys Ser Thr Trp His Val Phe Pro Val Ser
210 215 220

Ser Ser Ile Gln Arg Leu Leu Asp Gln Gly Lys Ser Ser Leu Asp Val
225 230 235 240

Arg Ile Ala Cys Glu Gln Cys Gln Glu Ser Gly Ala Ser Leu Val Leu
245 250 255

Leu Gly Lys Lys Lys Lys Lys Glu Glu Gly Glu Gly Lys Lys Lys
260 265 270

Gly Gly Gly Glu Gly Gly Ala Gly Ala Asp Glu Glu Lys Glu Gln Ser
275 280 285

His Arg Pro Phe Leu Met Leu Gln Ala Arg Gln Ser Glu Asp His Pro
290 295 300

His Arg Arg Arg Arg Arg Gly Leu Glu Cys Asp Gly Lys Val Asn Ile
305 310 315 320

Cys Cys Lys Lys Gln Phe Phe Val Ser Phe Lys Asp Ile Gly Trp Asn
325 330 335

Asp Trp Ile Ile Ala Pro Ser Gly Tyr His Ala Asn Tyr Cys Glu Gly
340 345 350

Glu Cys Pro Ser His Ile Ala Gly Thr Ser Gly Ser Ser Leu Ser Phe
355 360 365

His Ser Thr Val Ile Asn His Tyr Arg Met Arg Gly His Ser Pro Phe
370 375 380

Ala Asn Leu Lys Ser Cys Cys Val Pro Thr Lys Leu Arg Pro Met Ser
385 390 395 400

Met Leu Tyr Tyr Asp Asp Gly Gln Asn Ile Ile Lys Lys Asp Ile Gln
405 410 415

Asn Met Ile Val Glu Glu Cys Gly Cys Ser
420 425

<210> 35
<211> 375
<212> PRT
<213> 智人

<400> 35

```

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

```

290	295	300
Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Glu Cys Glu Phe Val Phe Leu Gln Lys		
305	310	315 320
Tyr Pro His Thr His Leu Val His Gln Ala Asn Pro Arg Gly Ser Ala		
	325	330 335
Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser Pro Ile Asn Met Leu Tyr		
	340	345 350
Phe Asn Gly Lys Glu Gln Ile Ile Tyr Gly Lys Ile Pro Ala Met Val		
	355	360 365
Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser		
370	375	

<210> 36
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 36
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15
 Pro Lys Asp Ile Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45
 Val Gly Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 100 105 110
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 115 120 125
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 130 135 140
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 37
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 鉸鏈連接子

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(48)

<400> 37
gga ggg gga gga tct gag cgc aaa tgt tgt gtc gag tgc cca ccg tgc 48
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys
1 5 10 15

<210> 38
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 鉸鏈連接子

<400> 38
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys
1 5 10 15

<210> 39
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 鉸鏈連接子

<220>
<221> CDS

<222> (1)..(42)

<400> 39
gga ggg gga gga tct ggt gga ggt ggt tca ggt cca ccg tgc
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Pro Pro Cys
1 5 10 42

<210> 40
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 鉸鏈連接子

<400> 40
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Pro Pro Cys
1 5 10

<210> 41
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 鉸鏈連接子

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(42)

<400> 41
gga ggg gga gga tct ggt gga ggt ggt tca ggt cca ccg gga
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Pro Pro Gly
1 5 10 42

<210> 42
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 鉸鏈連接子

<400> 42
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Pro Pro Gly
1 5 10

<210> 43
<211> 54

<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 鉸鏈連接子

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(54)

<400> 43
gga ggg gga gga tct gag cgc aaa tgt cca cct tgt gtc gag tgc cca 48
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Arg Lys Cys Pro Pro Cys Val Glu Cys Pro
1 5 10 15
ccg tgc 54
Pro Cys

<210> 44
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 鉸鏈連接子

<400> 44
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Arg Lys Cys Pro Pro Cys Val Glu Cys Pro
1 5 10 15
Pro Cys

<210> 45
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 鉸鏈連接子

<400> 45
Gly Pro Ala Ser Gly Gly Pro Ala Ser Gly Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 46
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 鉸鏈連接子

<400> 46
Gly Pro Ala Ser Gly Gly Pro Ala Ser Gly Cys Pro Pro Cys Val Glu
1 5 10 15
Cys Pro Pro Cys Pro
20

<210> 47
<211> 217
<212> PRT
<213> 智人

<400> 47
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

195

200

205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

210215

<210> 48

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 鉸鏈連接子

<400> 48

Gly Gly Gly Gly Ser Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

151015

<210> 49

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 鉸鏈連接子

<400> 49

Gly Gly Gly Gly Ser Val Asp Lys Thr His Thr Gly Pro Pro Cys Pro

151015

<210> 50

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 鉸鏈連接子

<400> 50

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Val Asp Lys Thr His Thr

151015

Gly Pro Pro Cys Pro

20

<210> 51

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 51
Gly Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 52
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 52
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 53
<211> 300
<212> DNA
<213> 智人

<400> 53
gagacacggt ggtgcatcta ctacaacgcc aactgggagc tggagcgcac caaccagacc 60
~~gagcctggagc gctgcgaagg cgaggaggac aagcggctgc actgctacgc ctccctggcgc~~ 120
aacagctctg gcaccatcga gctcgtgaag aagggctgct ggctagatga cttcaactgc 180
tacgataggc aggagtgtgt ggccactgag gagaaccccc aggtgtactt ctgctgctgt 240
gagggcaact tctgcaacga gcgcttact catttgccag aggctggggg cccggaagtc 300

201625675

發明摘要

※ 申請案號：| 0 4 1 1 9 3 1 0

※ 申請日：104. 6. 15

※IPC 分類：

C07K 14/71 (2006.01)

C07K 16/52 (2006.01)

A61K 38/71 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

【發明名稱】

經調配之受體多肽及相關方法

FORMULATED RECEPTOR POLYPEPTIDES AND RELATED
METHODS

【中文】

本文揭示一種基於活化素受體IIB的組合物及相關使用方法，例如用於治療實體腫瘤。亦揭示製造化合物及調配物的方法。

【英文】

Disclosed herein is an activin receptor IIB-based composition and related methods of use, e.g., to treat solid tumors. Also disclosed are methods of manufacturing the compound and formulation.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

（無）

申請專利範圍

1. 一種包含蛋白質、賦形劑、緩衝劑及界面活性劑之溶液的組合物，其中該組合物包含4-12之pH，其中該蛋白質包含能夠結合肌肉生長抑制素(myostatin)、活化素A或GDF-11的多肽，其中該多肽係選自由以下組成之群：

(a)由SEQ ID NO: 4、6、12及14組成之群中所示的胺基酸序列組成的多肽；

(b)與(a)具有至少90%序列一致性的多肽，且該多肽在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置28的位置具有W或Y且在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置44的位置具有T，及

(c)與(a)具有至少95%序列一致性的多肽，其中該多肽在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置28的位置具有W或Y且在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置44的位置具有T；及

其中相對於該組合物中之該蛋白質在時間段開始時(0月)或相對於相同蛋白質在-20℃或-70℃在其他相同條件下保存大於1個月，該組合物中之該蛋白質在溶液中在2-8℃或5℃保存時保持至少80%穩定性的時間段大於1個月；

且視情況其中該組合物進一步包含化學治療劑或第二治療劑。

2. 如請求項1之組合物，其中該蛋白質係由SEQ ID NO: 10中所示之序列組成，濃度為70 mg/mL，該賦形劑為8.8%重量/體積(w/v)蔗糖，該緩衝劑為10 mM磷酸鉀緩衝劑，該界面活性劑為0.006% (w/v)聚山梨醇酯20，且包含6.7之pH；且其中相對於該組合物中之該蛋白質在時間段開始時(0月)或相對於相同蛋白質在-20℃或-70℃在其他相同條件下保存大於6個月，該組合物中之該蛋白質

在溶液中在2-8℃或5℃保存時保持至少90%穩定性的時間段大於6個月。

3. 如請求項1之組合物，其包含至少4、5、6、7、8或9之pH，視情況其中該pH為4-10、4-8或5-7，視情況其中該pH為至少6-7，視情況其中該pH為至少6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9或7.0。
4. 如前述請求項中除請求項2外之任一項之組合物，其中該賦形劑包含糖，視情況其中該糖為蔗糖，視情況其中該組合物中之該賦形劑濃度為至少7-11%、8-10%、8-9%、8.8%、7%、8%、9%、10%、11%、8.0%、8.1%、8.2%、8.3%、8.4%、8.5%、8.6%、8.7%、8.9%或9.0%重量/體積(w/v)。
5. 如前述請求項中除請求項2外之任一項之組合物，其中該緩衝劑包含磷酸鹽，視情況其中該磷酸鹽為磷酸鉀，視情況其中該組合物中之該緩衝劑濃度為至少7-13 mM、8-12 mM、9-11 mM、8 mM、9 mM、10 mM、11 mM或12 mM。
6. 如前述請求項中除請求項2外之任一項之組合物，其中該界面活性劑為非離子界面活性劑，視情況其中該非離子界面活性劑為聚山梨醇酯，視情況其中該聚山梨醇酯為聚山梨醇酯20，視情況其中該界面活性劑濃度為0.001-0.10%、0.05-0.10%、0.001%、0.002%、0.003%、0.004%、0.005%、0.006%、0.007%、0.008%、0.009%、0.010%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.06%、0.07%、0.08%、0.09%或0.10%(w/v)。
7. 如前述請求項中除請求項2外之任一項之組合物，其中相對於該組合物中之該蛋白質在時間段開始時(0月)，該組合物中之該蛋白質在溶液中在2-8℃或5℃保存時保持至少99.5-80%、90-85%、99.5%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、

91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%或80%穩定性的時間段大於1-54、6-48、12-36、24-36、1、2、3、6、12、18、24、36、48或54個月。

8. 如前述請求項中除請求項2外之任一項之組合物，其中相對於相同蛋白質在-20℃或-70℃在其他相同條件下保存相等時間段，該組合物中之該蛋白質在溶液中在2-8℃或5℃保存時保持至少99.5-80%、90-85%、99.5%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%或80%穩定性的時間段大於1-54、6-48、12-36、24-36、1、2、3、6、12、18、24、36、48或54個月。
9. 如前述請求項中任一項之組合物，其中相對於該組合物中之該蛋白質在時間段開始時(0月)，該組合物中之該蛋白質在溶液中在2-8℃或5℃保存時保持至少99.5-80%、90-85%、99.5%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%或80%活性的時間段大於1-54、6-48、12-36、24-36、1、2、3、6、12、18、24、36、48或54個月，視情況其中活性係使用基於細胞的生物分析測定。
10. 如前述請求項中任一項之組合物，其中相對於相同蛋白質在-20℃或-70℃在其他相同條件下保存相等時間段，該組合物中之該蛋白質在溶液中在2-8℃或5℃保存時保持至少99.5-80%、90-85%、99.5%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%或80%活性的時間段大於1-54、6-48、12-36、24-36、1、2、3、6、12、18、24、36、48或54個月，視情況其中活性係使用基於細胞的生物分析測定。

11. 如前述請求項中任一項之組合物，其中該組合物中之該蛋白質的穩定性百分比係藉由以下中之一或多者測定：目測外觀、重量莫耳滲透濃度(osmolality)、pH、體積、尺寸排阻高效液相層析(SE-HPLC)、成像毛細管等電聚焦(icIEF)、十二烷基硫酸鈉毛細管電泳(CE-SDS)、非還原性(nrCE-SDS)、還原性CE-SDS、酶聯免疫特異性分析(ELISA)、基於細胞的生物分析、內毒素含量、無菌性、顯微顆粒(subvisible particles)及聚山梨醇酯20濃度。
12. 如前述請求項中除請求項2外之任一項之組合物，其中該肽係由SEQ ID NO: 6中所示之胺基酸序列組成。
13. 如前述請求項中除請求項2外之任一項之組合物，其中該蛋白質係由SEQ ID NO: 10中所示之胺基酸序列組成。
14. 如前述請求項中除請求項2外之任一項之組合物，其中該蛋白質係由SEQ ID NO: 10中所示之胺基酸序列組成，該賦形劑為蔗糖，該緩衝劑為磷酸鉀緩衝劑，且該界面活性劑為聚山梨醇酯20。
15. 如前述請求項中除請求項2外之任一項之組合物，其中該蛋白質之濃度為至少50-90、60-80、65-70、70-75、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79或80 mg/mL。
16. 如前述請求項中除請求項2外之任一項之組合物，其中該多肽包含SEQ ID NO: 6中所示之序列，該賦形劑為8.8%(w/v)蔗糖，該緩衝劑為10 mM磷酸鉀緩衝劑，該界面活性劑為0.006%(w/v)聚山梨醇酯20，且該pH為6.7。
17. 如前述請求項中除請求項2外之任一項之組合物，其中該蛋白質係由SEQ ID NO: 10中所示之胺基酸序列組成，濃度為70

mg/mL，該賦形劑為8.8%(w/v)蔗糖，該緩衝劑為10 mM磷酸鉀緩衝劑，該界面活性劑為0.006%(w/v)聚山梨醇酯20，且該pH為6.7。

18. 如前述請求項中任一項之組合物，其包含化學治療劑阿黴素(doxorubicin)。
19. 一種抑制個體之實體腫瘤生長或治療個體之實體腫瘤或抑制、減輕或治療個體之惡病質的方法，其包含向該個體投與一劑量如上述組合物請求項中之任一項之組合物。
20. 一種抑制個體之實體腫瘤生長或治療個體之實體腫瘤的方法，其包含向該個體投與至少0.1 mg/kg至20 mg/kg範圍內之固定劑量的蛋白質，其中該蛋白質包含能夠結合肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11的多肽，該多肽選自由以下組成之群：
 - (a)由SEQ ID NO: 4、6、12及14組成之群中所示的胺基酸序列組成的多肽；
 - (b)與(a)具有至少90%序列一致性的多肽，且該多肽在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置28的位置具有W或Y且在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置44的位置具有T，及
 - (c)與(a)具有至少95%序列一致性的多肽，且該多肽在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置28的位置具有W或Y且在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置44的位置具有T。
21. 如前述方法請求項中任一項之方法，其中該劑量為至少0.1-10 mg/kg、0.25-5 mg/kg、1-4 mg/kg、0.25 mg/kg、0.5 mg/kg、1 mg/kg、2 mg/kg、3 mg/kg、4 mg/kg或5 mg/kg。
22. 如前述方法請求項中任一項之方法，其中該劑量每1-5、2-4、1、2、3或4週投與該個體至少一次。
23. 如前述方法請求項中任一項之方法，其中該劑量係靜脈內(IV)投

與該個體。

24. 如前述方法請求項中任一項之方法，其中該蛋白質係由SEQ ID NO: 10中所示之胺基酸序列組成。
25. 如前述方法請求項中任一項之方法，其中該蛋白質係根據任一前述組合物請求項調配。
26. 如前述方法請求項中任一項之方法，其進一步包含向該個體投與阿黴素。
27. 如請求項26之方法，其中該阿黴素至少以40 mg/m²輸注投與該個體。
28. 如請求項26之方法，其中該阿黴素為脂質體阿黴素。
29. 如請求項26之方法，其中該阿黴素係在該蛋白質之前、之後或同時投與。
30. 如請求項26之方法，其中該阿黴素至少每4週投與該個體，視情況6個循環或小於6個循環。
31. 如前述方法請求項中任一項之方法，其中該實體腫瘤表現肌肉生長抑制素、活化素A、活化素B及/或GDF-11。
32. 如前述方法請求項中任一項之方法，其中該實體腫瘤係選自由以下組成之群：卵巢癌，包括顆粒層細胞、透明細胞、漿液性、子宮內膜樣及生殖細胞腫瘤；輸卵管癌、子宮內膜癌、腎上腺皮質腫瘤、膽囊癌、胰腺泡癌、頭頸癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、胰臟癌、前列腺癌、小腸腫瘤、結腸癌、腎細胞癌、腺樣囊性癌、胃癌、食道癌、腺樣囊性癌(ACC)；鱗狀細胞癌，包括皮膚癌；黑色素瘤、乳癌、膀胱癌、肝細胞癌，及子宮癌，包括子宮內膜、子宮頸、平滑肌瘤、外陰及陰道癌症。
33. 如前述方法請求項中任一項之方法，其中該實體腫瘤為卵巢癌。

34. 如前述方法請求項中任一項之方法，其中該個體係根據至少一種標準選擇或排除。
35. 如請求項34之方法，其中該標準係用於選擇投藥的個體，且該標準為以下中之一或多者： ≥ 18 歲的男性及停經後女性；存在組織學確診癌症的晚期實體腫瘤；存在視為可用於腫瘤之所有標準療法難治療或不耐受之復發性轉移性或局部晚期疾病；或患有無標準療法可利用之腫瘤的個體；患有視為鉑難治性/耐藥性之漿液性卵巢/輸卵管/原發性腹膜、顆粒層細胞腫瘤或透明細胞腫瘤、定義為先前已接受至少一種基於鉑之化學治療方案、隨後無鉑間隔 <12 個月、在基於鉑之療法期間有進展或在基於鉑之療法之後患有持久性疾病的個體；定義為因毒性而不能進一步接受鉑的不耐受鉑之個體；使用實體腫瘤之反應評估標準(RECIST 1.1)可量測的疾病；東部腫瘤學合作組織(ECOG)效能狀態為0或1；在無其他人協助的情況下能夠行走至少30公尺(可允許使用輔助裝置，諸如手杖或助行架)；停經後女性自發性停經12個月；停經後女性自發性停經6個月，其中FSH >40 IU/L；及/或停經後女性之手術後雙側卵巢切除伴隨或不伴隨子宮切除術。
36. 如請求項34之方法，其中該標準用於排除投藥之個體，且該標準為以下中之一或多者：並行嚴重不受控制或未消退醫學病狀(諸如感染)限制方案順應性或使個體暴露於極端風險；先前抗癌療法的毒性未消退，諸如運動或感覺神經病變，CTCAE(4.03版)級 ≥ 2 ，禿髮症除外；在開始治療6個月內胃腸出血的病史；存在QTcF >470 msec；遺傳性延長QT間隔的病史，或妨礙評估QT間隔的任何心律不整(諸如束支傳導阻滯)、心肌梗塞、第1循環之6個月內第1天出現之不穩定絞痛，或紐約心臟協會充血性心臟衰

竭 $\geq$ II級；肝功能測試升高，包括總膽紅素 $>1.5\times$ 正常值上限(ULN；除非個體有文件證明吉伯氏疾病(Gilbert's disease))、天冬胺酸轉胺酶(AST)或丙胺酸轉胺酶(ALT) $>3.0\times$ ULN(對於已知有肝轉移的個體而言，AST或ALT $>5\times$ ULN)、肌酐 $>1.5\times$ ULN及估計之肌酐清除率 <60 mL/min(使用科克羅夫特-高爾特方程式(Cockcroft-Gault equation))、血紅素 <9 g/dL；血小板 $<100\times 10^9$ /L；絕對嗜中性白血球計數(ANC) $<1.5\times 10^9$ /L(在開始治療2週內無粒細胞群落刺激因子支持)；在開始治療3週內的化學療法、激素療法或輻射療法；在開始治療之5個半衰期或4週(以較長者為準)內的抗體/生物療法；開始治療8週內的大手術或開始治療4週內的小手術；當前腸阻塞；腦轉移；存在需要頻繁(每週超過1次)醫學介入的腹水或胸膜積水；存在門靜脈分流裝置或廣泛肝切除(超過一個區段)病史；已知人類免疫缺乏病毒(HIV)感染；活動性B型或C型肝炎感染；開始治療4週內先用任何研究性產品治療；具有生育潛力之女性；或具有生育潛力之女性伴侶的男性；不願意使用非常有效的避孕方法(亦即造成每年懷孕機率小於1%的方法)一貫地且正確地使用時，諸如植入物、注射劑、組合的口服避孕藥、一些子宮內避孕裝置、禁慾或伴侶輸精管結紮；對阿黴素鹽酸鹽(doxorubicin HCl)之習知調配物或脂質體阿黴素之組分有過敏反應；先前阿黴素鹽酸鹽之累積劑量 >300 mg/m²，或先前表柔比星(epirubicin)之累積劑量 >500 mg/m²；根據MUGA掃描或超音波心電圖(ECHO)，在開始治療28天內減小的心臟射血分數小於正常值下限，及/或正哺乳的女性。

37. 一種製備包含能夠結合肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11之多肽之蛋白質的方法，其中該多肽係選自由以下組成之群：(a)由SEQ ID NO: 4、6、12及14組成之群中所示之胺基酸序列組成的

多肽；(b)與(a)具有至少90%序列一致性的多肽，且該多肽在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置28的位置具有W或Y且在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置44的位置具有T；及(c)與(a)具有至少95%序列一致性的多肽，且該多肽在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置28的位置具有W或Y且在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置44的位置具有T，該方法包含：

在細胞培養物中培養經工程改造以表現該蛋白質的CS9中國倉鼠卵巢細胞株；

自該培養物收穫該蛋白質；及

純化該蛋白質。

38. 如請求項37之方法，其中該培養步驟至少部分發生於生物反應器中。
39. 如前述製備方法請求項中任一項之方法，其中該收穫步驟包含澄清及/或過濾。
40. 如前述製備方法請求項中任一項之方法，其中該純化步驟包含蛋白質A層析、低pH病毒不活化、陽離子交換層析、疏水性相互作用層析、病毒過濾，及/或超過濾。
41. 如前述製備方法請求項中任一項之方法，其中該純化步驟包含使用層析、微生物不活化及/或過濾。
42. 如前述製備方法請求項中任一項之方法，其進一步包含將該蛋白質調配於無菌水溶液中。
43. 如前述製備方法請求項中任一項之方法，其進一步包含根據前述組合物請求項中任一項調配該蛋白質。
44. 一種抑制、減輕或治療個體之惡病質的方法，其包含向該個體投與至少0.1 mg/kg至20 mg/kg範圍內之固定劑量的蛋白質，其中該蛋白質包含能夠結合肌肉生長抑制素、活化素A或GDF-11的多

肽，其中該多肽係選自由以下組成之群：

(a)由SEQ ID NO: 4、6、12及14組成之群中所示的胺基酸序列組成的多肽；

(b)與(a)具有至少90%序列一致性的多肽，且該多肽在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置28的位置具有W或Y且在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置44的位置具有T，及

(c)與(a)具有至少95%序列一致性的多肽，且該多肽在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置28的位置具有W或Y且在對應於SEQ ID NO: 2中所示序列之位置44的位置具有T。

45. 如請求項44之方法，其中該劑量為至少0.1-10 mg/kg、0.25-5 mg/kg、1-4 mg/kg、0.25 mg/kg、0.5 mg/kg、1 mg/kg、2 mg/kg、3 mg/kg、4 mg/kg或5 mg/kg。
46. 如前述抑制、減輕或治療惡病質之方法請求項中任一項之方法，其中該固定劑量每1-5、2-4、1、2、3或4週投與該個體至少一次。
47. 如前述抑制、減輕或治療惡病質之方法請求項中任一項之方法，其中該固定劑量係靜脈內(IV)投與該個體。
48. 如前述抑制、減輕或治療惡病質之方法請求項中任一項之方法，其中該蛋白質係由SEQ ID NO: 10中所示之胺基酸序列組成。
49. 如前述抑制、減輕或治療惡病質之方法請求項中任一項之方法，其中該蛋白質係根據前述組合物請求項中任一項調配。
50. 如前述抑制、減輕或治療惡病質之方法請求項中任一項之方法，其進一步包含向該個體投與阿黴素。
51. 如請求項50之方法，其中該阿黴素係以至少40 mg/m²輸注投與該個體。

52. 如請求項50之方法，其中該阿黴素為脂質體阿黴素。
53. 如請求項50之方法，其中該阿黴素係在該蛋白質之前、之後或同時投與。
54. 如請求項50之方法，其中該阿黴素至少每1、2、3或4週投與該個體。
55. 如前述抑制、減輕或治療惡病質之方法請求項中任一項之方法，其中該個體患有腫瘤，視情況其中該腫瘤為實體腫瘤，視情況其中該腫瘤為卵巢癌。
56. 如請求項55之方法，其中該腫瘤表現肌肉生長抑制素、活化素A、活化素B及/或GDF-11。
57. 如請求項55之方法，其中該腫瘤為選自由以下組成之群的實體腫瘤：卵巢癌，包括顆粒層細胞、透明細胞、漿液性、子宮內膜樣及生殖細胞腫瘤；輸卵管癌、子宮內膜癌、腎上腺皮質腫瘤、膽囊癌、胰腺泡癌、頭頸癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、胰臟癌、前列腺癌、小腸腫瘤、結腸癌、腎細胞癌、腺樣囊性癌、胃癌、食道癌、腺樣囊性癌(ACC)；鱗狀細胞癌，包括皮膚癌；黑色素瘤、乳癌、膀胱癌、肝細胞癌，及子宮癌，包括子宮內膜、子宮頸、平滑肌瘤、外陰及陰道癌症。
58. 如請求項55之方法，其中該腫瘤為卵巢癌。
59. 如前述抑制、減輕或治療惡病質之方法請求項中任一項之方法，其中該個體係根據至少一種標準選擇或排除。
60. 如前述抑制、減輕或治療惡病質之方法請求項中任一項之方法，其中該投藥之功效係使用至少一種量測方法分析，該量測方法包含量測瘦體質量、脂肪質量、骨礦物質密度、脂質概況(profile)、空腹葡萄糖及/或胰島素、恆穩模型評估(HOMA)、血紅素A1c(HbA1c)或六分鐘行走距離。

61. 如前述抑制、減輕或治療惡病質之方法請求項中任一項之方法，其中投藥造成以下中之至少一者改善：個體的瘦體質量、脂肪質量、骨礦物質密度、脂質概況、空腹葡萄糖及/或胰島素、恆穩模型評估(HOMA)、血紅素A1c(HbA1c)或六分鐘行走距離。
62. 如前述抑制、減輕或治療惡病質之方法請求項中任一項之方法，其進一步包含使用至少一種量測方法，該量測方法包含量測瘦體質量、脂肪質量、骨礦物質密度、脂質概況、空腹葡萄糖及/或胰島素、恆穩模型評估(HOMA)、血紅素A1c(HbA1c)或六分鐘行走距離。
63. 一種治療個體之肥胖或肥胖相關疾病、增加或維持個體之肌肉質量或減少個體之脂肪質量的方法，其包含：向該個體投與有效劑量之抑制活化素、肌肉生長抑制素及GDF-11中之至少一者的蛋白質，視情況其中該肥胖相關疾病為以下中之至少一者：遺傳性肥胖症候群、普拉德威利症候群(Prader willi syndrome)、下丘腦病症、家族性高膽固醇血症、巴德-畢德氏症候群(Bardet-Biedl syndrome)、普拉德-威利症候群(Prader-Willi syndrome)、15q11-13上之印記基因缺失所致的症候群、艾爾斯通症候群(Alstrom syndrome)、柯亨症候群(Cohen syndrome)、艾爾伯拉特遺傳性骨營養不良(Albright's hereditary osteodystrophy)(假副甲狀腺低能症)、卡本特症候群(Carpenter syndrome)、MOMO症候群、魯賓斯坦-泰必症候群(Rubinstein-Taybi syndrome)；6q16、1p36、2q37及9q34中之至少一者缺失所致的症候群；染色體14之母源單親雙染色體症、脆弱X染色體症候群、動脈粥樣硬化、非酒精性脂肪肝、內臟脂肪沈積導致一或多種有害結果的疾病、腦血管疾病、脂肪肝，及伯吉森-佛斯曼-萊曼症候群

(Börjeson-Forssman-Lehman syndrome)。

64. 如請求項63之方法，其中該個體為有需要之人類個體。
65. 如前述治療肥胖或肥胖相關疾病、增加或維持肌肉質量或減少脂肪質量的方法請求項中任一項之方法，其中該蛋白質為抗體或融合蛋白，視情況其中該融合蛋白為ActRIIB融合蛋白，視情況其中該ActRIIB融合蛋白包含與SEQ ID NO: 2之胺基酸19-25、19、20、21、22、23、24或25至130-134、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134中所示序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性的序列，視情況其中該融合蛋白包含Fc，視情況其中Fc為IgG，視情況其中IgG為人類IgG，視情況其中ActRIIB與Fc經連接子連接。
66. 如前述治療肥胖或肥胖相關疾病、增加或維持肌肉質量或減少脂肪質量的方法請求項中任一項之方法，其中該蛋白質抑制活化素、肌肉生長抑制素及GDF-11中之至少兩者，視情況其中該蛋白質抑制活化素、肌肉生長抑制素及GDF-11。
67. 如前述治療肥胖或肥胖相關疾病、增加或維持肌肉質量或減少脂肪質量的方法請求項中任一項之方法，其中該蛋白質抑制活化素。
68. 如前述治療肥胖或肥胖相關疾病、增加或維持肌肉質量或減少脂肪質量的方法請求項中任一項之方法，其中該劑量為至少0.1-10 mg/kg、0.25-5 mg/kg、1-4 mg/kg、0.25 mg/kg、0.5 mg/kg、1 mg/kg、2 mg/kg、3 mg/kg、4 mg/kg或5 mg/kg。
69. 如前述治療肥胖或肥胖相關疾病、增加或維持肌肉質量或減少脂肪質量的方法請求項中任一項之方法，其中該劑量每1-5、2-4、1、2、3或4週投與該個體至少一次。
70. 如前述治療肥胖或肥胖相關疾病、增加或維持肌肉質量或減少

脂肪質量的方法請求項中任一項之方法，其中該劑量係靜脈內(IV)投與該個體。

71. 如前述治療肥胖或肥胖相關疾病、增加或維持肌肉質量或減少脂肪質量的方法請求項中任一項之方法，其中該蛋白質包含或組成為SEQ ID NO: 10中所示之胺基酸序列。
72. 如前述治療肥胖或肥胖相關疾病、增加或維持肌肉質量或減少脂肪質量的方法請求項中任一項之方法，其中該蛋白質係根據前述組合物請求項中任一項調配。
73. 如前述治療肥胖或肥胖相關疾病、增加或維持肌肉質量或減少脂肪質量的方法請求項中任一項之方法，其中該化合物用賦形劑調配成醫藥組合物。
74. 如前述治療肥胖或肥胖相關疾病、增加或維持肌肉質量或減少脂肪質量的方法請求項中任一項之方法，其中該個體患有以下中之至少一者：遺傳性肥胖症候群、普拉德威利症候群、下丘腦病症、家族性高膽固醇血症、巴德-畢德氏症候群、普拉德-威利症候群、15q11-13上之印記基因缺失所致的症候群、艾爾斯通症候群、柯亨症候群、艾爾伯拉特遺傳性骨營養不良(假副甲狀腺低能症)、卡本特症候群、MOMO症候群、魯賓斯坦-泰必症候群；6q16、1p36、2q37及9q34中之至少一者缺失所致的症候群；染色體14之母源單親雙染色體症、脆弱X染色體症候群、動脈粥樣硬化、非酒精性脂肪肝、內臟脂肪沈積導致一或多種有害結果的疾病、腦血管疾病、脂肪肝及伯吉森-弗斯曼-萊曼症候群。
75. 如前述治療肥胖或肥胖相關疾病、增加或維持肌肉質量或減少脂肪質量的方法請求項中任一項之方法，其中該方法使總脂肪質量、皮下脂肪質量及內臟脂肪質量中之至少一者降低。

76. 如前述治療肥胖或肥胖相關疾病、增加或維持肌肉質量或減少脂肪質量的方法請求項中任一項之方法，其中該方法使得內臟脂肪質量降低百分比大於總脂肪質量降低百分比。
77. 如前述治療肥胖或肥胖相關疾病、增加或維持肌肉質量或減少脂肪質量的方法請求項中任一項之方法，其中該方法使瘦體質量及四肢瘦肉質量中之至少一者增加，或其中該方法維持瘦體質量及四肢瘦肉質量中之至少一者。
78. 如前述治療肥胖或肥胖相關疾病、增加或維持肌肉質量或減少脂肪質量的方法請求項中任一項之方法，其中該方法使得瘦體質量及四肢瘦肉質量中之至少一者增加至少1-50%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%或大於50%。
79. 如前述治療肥胖或肥胖相關疾病、增加或維持肌肉質量或減少脂肪質量的方法請求項中任一項之方法，其中該方法使得總脂肪質量、皮下脂肪質量及內臟脂肪質量中之至少一者降低至少1-99%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或大於99%。
80. 如前述治療肥胖或肥胖相關疾病、增加或維持肌肉質量或減少脂肪質量的方法請求項中任一項之方法，其中該個體患有胰島素抗性、慢性腎病、癌症及分解代謝病狀中之至少一者。
81. 一種套組，其包含如前述組合物請求項中任一項之組合物及使用說明書，視情況其中該使用說明書包含前述方法請求項中任一項之方法。
82. 如請求項81之套組，其進一步包含含有該組合物的小瓶。
83. 如請求項82之套組，其中該小瓶係針對在2-8℃儲存設計。

84. 如請求項82之套組，其中該小瓶可在2-8℃儲存。
85. 如請求項82之套組，其中該小瓶具有塞子且其中該組合物可與該塞子接觸，視情況對該蛋白質之穩定性無實質性影響。

細胞培養方法概述

描述

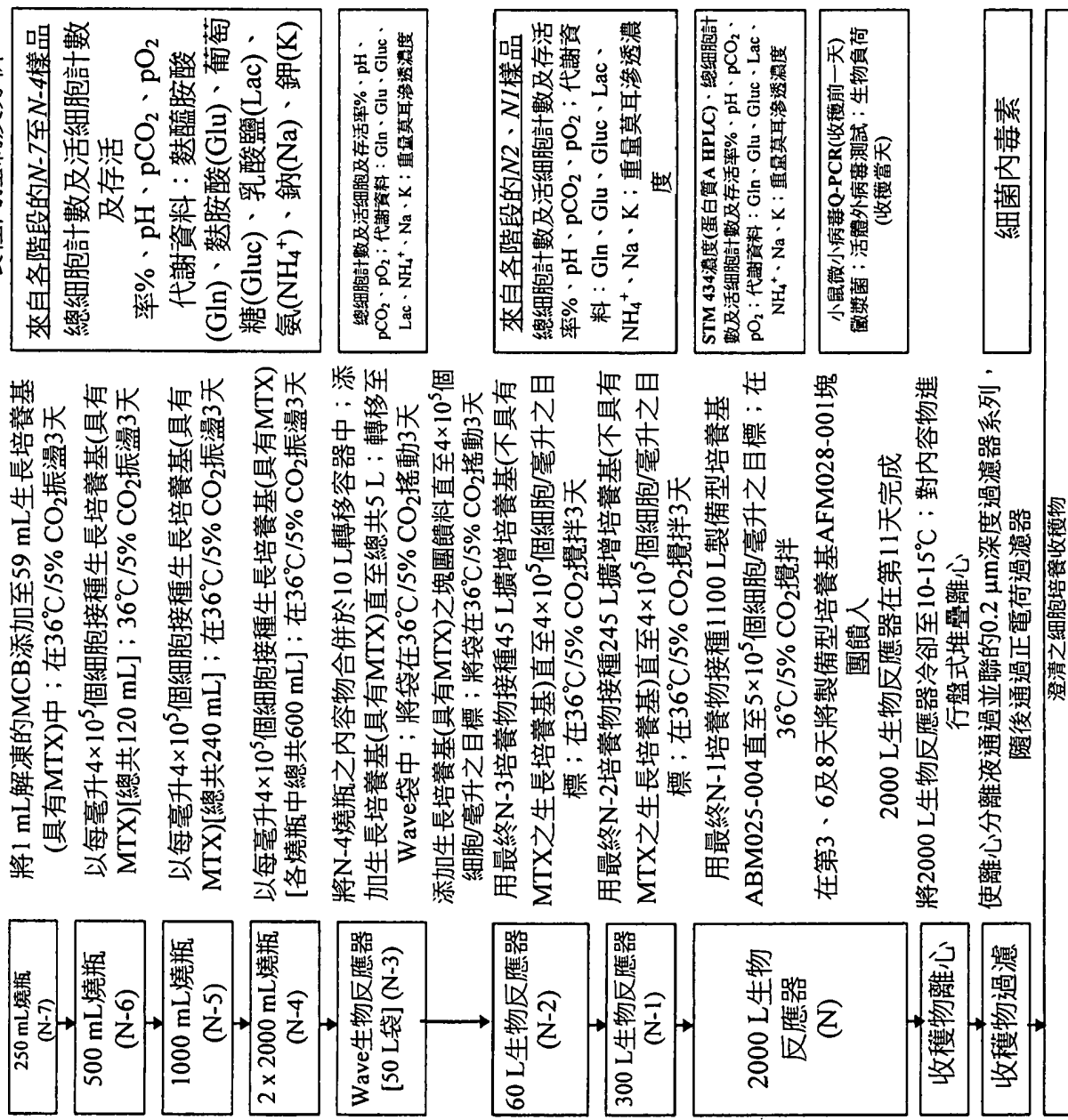


圖 1

純化方法概述

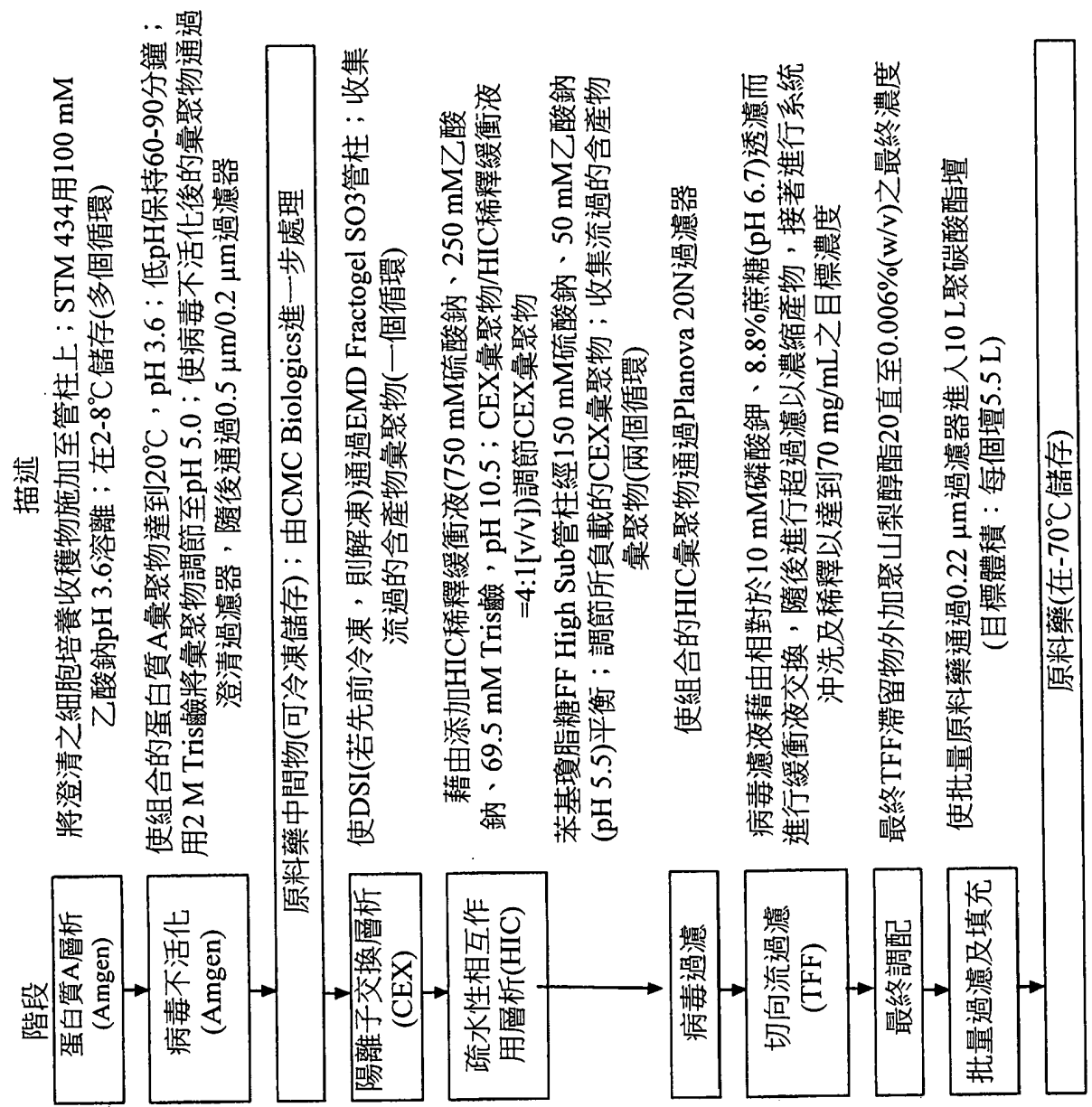


圖2

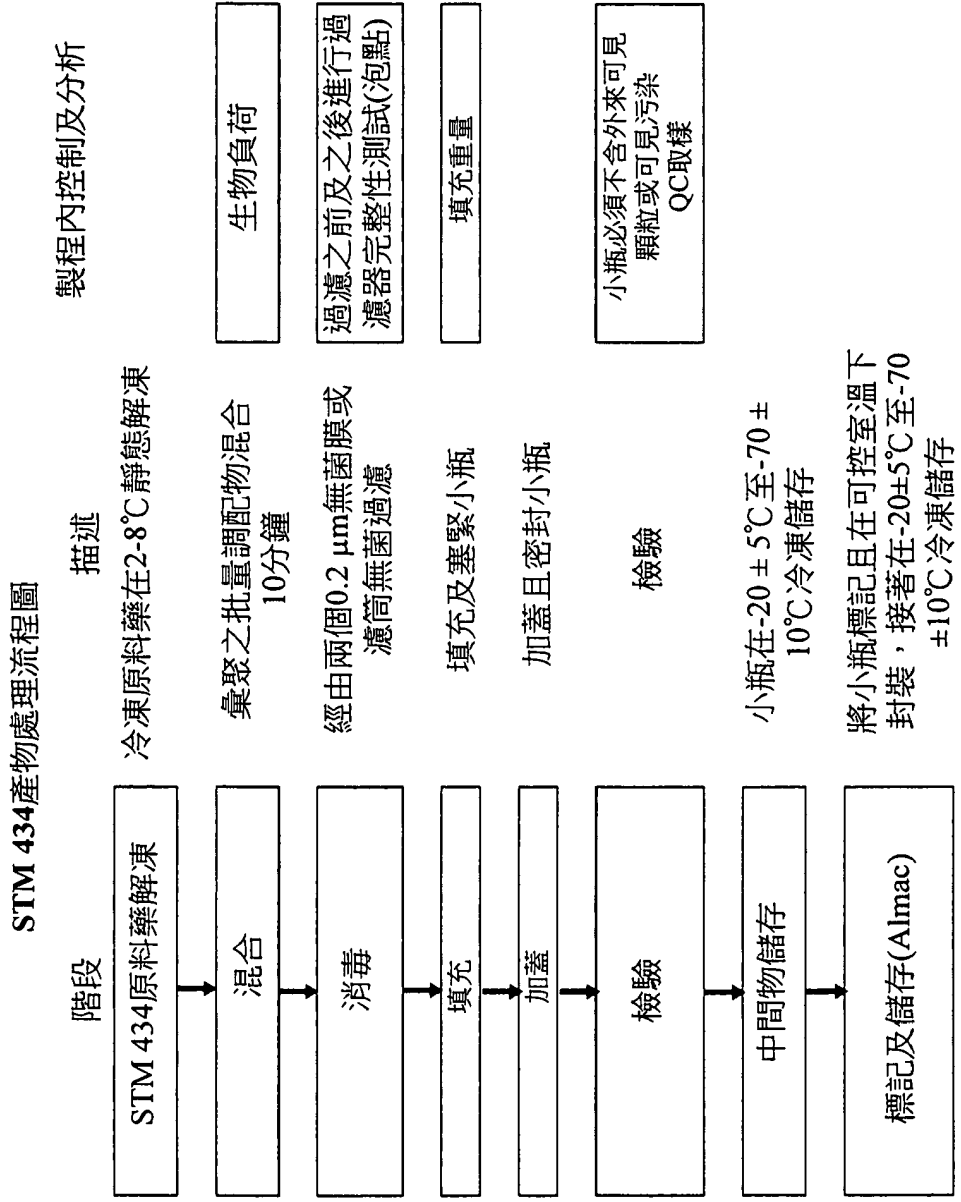


圖3

