

(由本局填寫)

承辦人代碼：
大 類：
I P C 分類：

A6
B6

本案已向：

國 (地區)	申請專利，申請日期：	案號：	， ☐ 有 ☐ 無主張優先權
美國	1997 年 4 月 28 日	60/045,255	☒ 有 ☐ 無主張優先權
美國	1998 年 4 月 24 日	P-11408	☒有 ☐無主張優先權

~~本案優先權之主張應不予受理~~

有關微生物已寄存於：，寄存日期：，寄存號碼：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝
訂
線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明(1)

本申請案聲明美國臨時申請案編號60/045,255(1997年4月28日提出申請)之好處。

本發明廣泛地針對降低活化C蛋白質於製備及純化中自動降解之方法。

C蛋白質為絲胺酸蛋白酶且為天然產之抗凝血劑，其藉由使凝血級聯中之 V_a 及 $VIII_a$ 因子失活而於止血作用之調節中負有任務。人類C蛋白質主於肝中活體內製造，為單一之461個胺基酸之多肽。此前驅體分子進行多次轉譯後修飾作用，包括1)42個胺基酸信號序列之裂解；2)自離胺酸殘基於156位及精胺酸殘基於157位之單鏈酶原蛋白質分解除去，製造該分子之2-鏈形式(亦即155個胺基酸殘基之輕鏈經由二硫橋鍵連接於含絲胺酸蛋白酶之262個胺基酸殘基之重鏈)；3)群聚於輕鏈之前42個胺基酸之9個胺基酸之維生素K依賴性羧化作用，得9個 γ -羧基麩胺酸(GLA)殘基；及4)碳水化合物黏附於4個部位(1個於輕鏈及3個於重鏈)。重鏈含已確立之Asp 257, His 211及Ser 360之絲胺酸蛋白酶三分體。最後，循環之2-鏈酶原於活體內於 Ca^{++} 存在下由凝血酶於磷脂表面上活化。活化得自於重鏈之N-末端除去十二肽，產生具酵素活性之活化C蛋白質(aPC)，與其他蛋白質一致，經活化C蛋白質作為或許是最重要之血液凝固作用之向下調整劑造成血栓形成。

不幸地，aPC可自動降解，導致降低作為抗凝血劑之功能。辨認活化C蛋白質之降解途徑之技藝為該重鏈於308位之離胺酸殘基之C蛋白質分解之夾，得111胺基酸斷片。此

五、發明說明 (2)

降解產物於技藝中識別為EAK斷片。

以前對降低自動降解之嘗試集中於減少EAK斷片之形成。最值得注意的，Prouty等，EP 0 662 513, (1995, 7, 12)教示減少aPC之自動降解作用，藉由控制pH至約6.3至7.0；於3M脲中培養aPC；或暴露aPC於最高之鹽條件下，其定義為高於0.4M或低於0.05M。

申請者等已發現第二重要之降解途徑-輕鏈之N-末端之自動降解造成於10位之組織胺酸殘基兩端之夾。以降解途徑得2個無活性之產物輕鏈之前9個殘基之N-末端夾，得脫(1-9)活化C蛋白質，及輕鏈之前10個殘基之N-末端夾，得脫(1-10)活化C蛋白質。此降解途徑，其以前未報告，造成失去抗凝血劑活性，由於除去於6與7位之重要的GLA殘基。因此，減少脫(1-9)及脫(1-10)活化C蛋白質自動降解產物之含量，於達到有效之高純度活化C蛋白質醫藥製劑上為重要的。此等變化產物為以前未知之降解產物，且若非不可能亦極難以藉習用之純化技術除去。減少彼等之形成之條件，以前並不知道。

由申請者等鑑定之此對活化C蛋白質之重要之自動降解途徑，使能發現促進活化C蛋白質之純度及效力之製備及調配條件。申請者等已證明於低之pH(例如少於6.3)，自動降解途徑比308-309自動降解途徑有利於脫(1-9)aPC或脫(1-10)aPC優先的，然而，於少於6.3之pH下，使用提高之NaCl濃度(高於150mM)，實質上降低脫(1-9)aPC及/或脫(1-10)aPC自動降解反應之程度。

五、發明說明 (3)

於是，本發明提供於離子強度高於150mM及pH於約5.5至少於6.3之下製造活化C蛋白質。於此等條件下，脫(1-9)aPC及脫(1-10)aPC之形成，顯著地降低。本發明因此提供製備活化C蛋白質水性溶液而無不要之降解作用之改良方法。

圖式簡單說明

圖1提供活化之人類C蛋白質之主要結構，有助於說明本文所述之自動降解途徑。

本文所採之命名係基於人類活化C蛋白質之主要序列之編號。精於此道者會了解活化C蛋白質之其他物種可於主要序列中稍變化，因此造成本文所定義之命名之變換。

本發明提供活化C蛋白質水性溶液，及製備此等溶液之改良方法，其包括於高於150mM之離子強度及約5.5至少於6.3之pH下進行此製備。

本發明另提供純化活化C蛋白質之方法，藉由層析法分離，包括於該層析法分離中，使用具離子強度高於150mM及約5.5至少於6.3之pH之溶離水性溶將該活化C蛋白質溶離。

本發明另提供藉由過濾濃縮活化C蛋白質溶液之方法，其包括將該活化C蛋白質作為具離子強度高於150mM及pH約5.5至少於6.3之水溶液，進料至濾膜。

本發明亦提供藉由本文所述之方法製備之活化C蛋白質。

本發明最後提供具少於10%重量比之脫(1-9)aPC及/或脫(1-10)aPC之活化蛋白質C醫藥製劑。

用於本揭示內容中之所有胺基酸縮寫為那些由美國專利及商標局述於37 C.F.R. § 1.822 (B)(2)中所接受的。

五、發明說明 (4)

爲了本發明之目的，當本文揭示及提出專利申請，下列用詞如下所定義。

aPC或活化蛋白質C-係指不論重組體或自血漿衍生之C蛋白質 aPC包括且較好是人類C蛋白質，雖然aPC亦可包含其他具C蛋白質蛋白分解、酰胺分解、酯分解及生物學(抗凝血劑或血纖維蛋白溶解)活性之物種或衍生物。C蛋白質衍生物之實例由Gerlitz等，美國專利第5,453,373號及Foster等，美國專利第5,516,650號所述，其全部之教示併入本文供參考。

APTT-經活化之部分組織促凝血酶原激酶時間。

水性-包括潛溶劑系統及只使用水爲溶媒。較佳地，水性只以水爲溶媒。

層析法分離-包括技藝中所認可及重視之層析法技術，包括大小排斥法、陰離子性、陽離子性、疏水性、逆相之類。

叉流過濾-係指藉切線流過濾膜之分配，其中產物由膜保留(如於濃縮或透析濾過法)或通過濾膜(如於病毒清除過濾)。

PC-蛋白質C酶原。

製備-係指用於製造活化C蛋白質之單元操作，如管柱層析法、過濾(切線、叉流、終端式)、冷凍乾燥、泵抽或貯存。

γ -aPC-重組體活化C蛋白質，其製造藉由活體外活化PC或藉由原核細胞、真核細胞或轉殖基因動物之直接分泌C蛋白質之經活化形式，包括例如自人類腎臟293細胞分泌爲

五、發明說明 (5)

- 酶原，再藉熟知於精於此道者且於Yan，美國專利第4,981,952及Cottingham, WO 97/20043 中證明之技術純化及活化。

本發明係有關製備活化C蛋白質之改良方法。本發明特別地有關經由蛋白質濃化或濃縮及蛋白質純化操作，同時降低自動降解製備活化C蛋白質。本發明以具此製備且尤其是此修飾作用、濃化及純化操作，使用蛋白質水性溶液於本文所述條件下進行為特徵。

本文所聲明之條件之組合減少脫(1-9)aPC及脫(1-10)aPC之形成。脫(1-9)aPC及脫(1-10)aPC極難以藉已知之純化技術學除去，所以希望於製造aPC之醫療製劑中減少其形成。於所聲明之條件下製備之活化C蛋白質，實質上無脫(1-9)aPC及脫(1-10)aPC變化物。一般，於此等條件下製備之aPC之醫療製劑，實質上無脫(1-9)aPC及脫(1-10)aPC，一般具少於10%，較好少於8%，更佳少於5%，最佳少於3%重量百分比之此等變化物，個別地或混合地，使用如本文所述及聲明製備之aPC製備之冷凍乾燥醫療調配物，證明於溶液狀態(冷凍乾燥以前)有改進之穩定性及經重新組成後有24至48小時穩定性。於2至8°C下高達5天，於15°C下高達50天及於25°C下高達40小時，觀察到效力之流失不多於5%。於本發明之前，此穩定性以前無法達到。

小心地控制pH離子強度及較好地溫度，則活化蛋白質C於製備中之水性溶液中及於調配物中之自動降解可降低至以前無法可得之程度-特別是於無脛或其他變性劑；組織胺

五、發明說明 (6)

酸、離胺酸鹽或白蛋白存在下。

於本發明之廣大實務，其涵蓋製備C蛋白質方法包括各種單元操作，物理分離及純化操作，包括層析法處理及又流過濾如供純化蛋白質組合物，濃縮蛋白質溶液或供溶媒交換及可能地化學及酵素處理。由本發明涵蓋之蛋白質製備方法尤其包括藉由標準層析方法如離子交換層析法、疏水性層析法之類及藉超濾與類似方法之蛋白質濃縮而純化蛋白質製備法亦包括於貯存槽中蛋白質溶液之保留及類似此等純化及濃縮步驟之製備。為降低不穩定性，活化C蛋白質溶液之所有製備法，包括各種蛋白質純化及蛋白質濃縮步驟，於本文所述之條件下進行。此製備步驟係針對蛋白質之最後分離，通常為供醫藥製劑中調配用之冷凍乾燥粉末。

水性製備溶液之pH為約5.5至少於6.3。更佳地，5.7至少於6.3，更佳地，pH於約5.6至約6.2之間。更佳者為約5.8至約6.2之間，仍更佳者為pH於約5.9至約6.1之間。最佳者為約pH6.0。維持有效之pH控制之代表性緩衝系統包括Tris-乙酸鹽、檸檬酸鈉、檸檬酸鉀、檸檬酸鹽-甘胺酸及磷酸鈉。更佳之緩衝系統包括檸檬酸鈉及磷酸鈉。最佳之緩衝劑為檸檬酸鈉。緩衝系統之較佳莫耳濃度為10mM至50mM。最佳之莫耳濃度為20至40mM。精於此道者會了解的是，許多其他緩衝系統為可得的，其亦可用來維持pH於所聲明之範圍內。

製備溶液之離子強度為本發明之第二重要要素。離子強

五、發明說明 (7)

度一般得自添加醫藥上可接受之鹽-較好為NaCl或KCl。離子強度較好高於或等於150mM，得自於緩衝溶液中高於150mM之鹽濃度。較好地，鹽濃度不多於1000mM以促進下游製備。最佳地，鹽濃度由約200mM至1000mM高於50mM及低於400 mM之濃度，以前咸信為不可接受的。

確保最小之自動降解之另外條件為溫度。較佳地，於溶液製備中之製備溫度於0°C與10°C之間，更佳地於此等溫度外2°C至8°C活化之蛋白質C發生顯著地發生自動降解。然而超過10°C歷一短期間可耐受而無包含活化C蛋白質之完整性。

活化C蛋白質之濃度對本發明並不重要。顯著地，以高濃度製備C蛋白質之能力，於本文所述之條件下顯著地增進。較佳之C蛋白質濃度由約1毫克/毫升至約50毫克/毫升，更佳地1至30毫克/毫升，更佳地1至20毫克/毫升，最佳地1至10毫克/毫升，雖然較高或較低之濃度被認為可實行的。

如本文所述製備之活化C蛋白質，有用於廣大之各種涉及血管內凝血之所須疾病狀態包括血栓性休克，濃度靜脈血栓形成、肺插塞、周圍動脈血栓形成、源自心臟或周圍動脈之插塞、急性心肌梗塞、散佈性血管內凝血及急性或微血管前或後之閉塞，包括移植或視網膜血栓形成之治療。

活化C蛋白質，理想地以冷凍乾燥狀態以填充劑調配。填充劑理想地加以選擇致使改進分子之固態穩定性，此賦形劑之實例為蔗糖、海藻糖、棉子糖。精於此道者會了解許多其他填充劑為可得的，其亦可用於活化C蛋白質。調

五、發明說明 (8)

配物之填充劑為冷凍乾燥製程之重要之調配變數。較佳之填充劑為蔗糖，以待冷凍乾燥之溶液中為15至30毫克/毫升之濃度。於2.5毫克/毫升之aPC之調配物中，於待冷凍乾燥之溶液中之蔗糖之最佳濃度為15毫克/毫升。於5.0毫克/毫升之aPC之調配物中，待冷凍乾燥之溶液中之蔗糖之最佳濃度為30毫克/毫升。

下列實例提供來例示及說明本發明。本發明之範圍不應被解釋為受限於此等實例。除非另外指示所有有關部分比及百分比係基於重量比及所有溫度以攝氏度數表示。

製備 1

人類C蛋白質之製備

於人類腎臟293細胞中藉熟知於精於此道者之技術，如述於Yan，美國專利第4,981,952號中者製造重組體人類C蛋白質(酶原)，該專利中之教示全部併入本文供參考。於Bang等，美國專利第4,775,624號中，揭示及提出專利申請基因編碼之人類蛋白質C，其全部教示併入本文供參考。用來於293細胞中表現人類蛋白質C之質體為質體pLPC，其揭示於Bang等，美國專利第4,992,373號，其全部教示併入本文供參考。質體pLPC之構組亦述於歐洲專利公告第0 445 939號，及於Grinnell等，1987, Bio/Technology.5:1189-1192, 其教示亦併入本文供參考。簡言之，將質體轉染於293細胞中，再鑑別穩定之轉化體，於無血清之培養基中繼代培養並使生長。發酵後，藉由微量過濾得無細胞之培養基。

自培養液藉採用Yan，美國專利第4,981,952號之技術(其

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (9)

全部教示併入本文供參考)分離人類C蛋白質酶原。在將經淨化之培養基吸收於陰離子交換樹脂 (Fast-Flow Q, Pharmacia)之前，使其於EDTA中，為4 mM。以4個管柱體積之20 mM Tris, 200 mM NaCl, pH 7.4及2個管柱體積之20 mM Tris, 150 mM NaCl, pH 7.4洗滌後，以20 mM Tris, 150 mM NaCl, 10 mM CaCl_2 , pH 7.4將結合之重組體人類C蛋白質酶原溶離。溶離後，藉由SDS-聚丙烯酰胺凝膠電源判斷，溶離之蛋白質純度高於95%。

蛋白質之進一步純化，藉由使蛋白質於NaCl中成3M，接著吸附於20 mM Tris, 3M NaCl, 10 mM CaCl_2 , pH 7.4中平衡之疏水性相互作用之樹脂 (Toyopearl Phenyl 650M, TosoHaas)。以2個管柱體積之平衡緩衝液(無 CaCl_2)洗後，重組體人類C蛋白質酶原以20 mM Tris, pH 7.4溶離。藉由除去殘餘之鈣，製備溶離之蛋白質供活化。將酶原通過金屬親和性管柱 (Chelex-100, Bio-Rad)除去鈣，並再結合於陰離子交換樹脂 (Fast Flow Q, Pharmacia)。此兩管柱串聯排列並以20 mM Tris, 150 mM NaCl, 5 mM EDTA, pH 7.4平衡。在負載蛋白質後，Chelex-100管柱以一管柱體積之同一緩衝液洗，再將其自串聯移除。陰離子交換管柱以3體積之平衡緩衝液洗，再以0.4M NaCl, 20 mM Tris-乙酸鹽，pH 6.5將蛋白質溶離，重組體人類C蛋白質之蛋白質濃度藉由UV 280 nm測定消光 $E^{0.1\%}=1.81$ 。

製備 2

重組體人類蛋白質C之活化

五、發明說明 (10)

將牛凝血酶於 50 mM HEPES, pH7.5 存在下，於 4°C 下偶聯於活化之 CH 瓊脂糖 4B (Pharmacia)。於已充填於管柱內 (使用約 5000 單位凝血酶 / 毫升樹脂) 之樹脂上做偶聯反應。將凝血酶溶液通過管柱循環約 3 小時，再加 2-胺基乙醇 (MEA) 至濃度為 0.6 毫升 / 升之循環溶液。將含 MEA 之溶液循環另 0-12 小時，以確保樹脂上未反應之胺之完全封阻。封阻後，以 10 個管柱體積之 1M NaCl, 20 mM Tris, pH6.5 洗，除去所有非特異性結合之蛋白質，且於活化緩衝液中平衡後，用於活化反應中。

使 γ HPC 於 EDTA 中 (以螯合任何殘之鈣) 5 mM, 再以 20 mM Tris, pH 7.4 或 20 mM Tris-乙酸鹽, pH 6.5 稀釋至濃度為 2 毫克 / 毫升。將此物質通過於 37°C 下以 50 mM NaCl 及 20 mM Tris, pH 7.4 或 20 mM Tris-乙酸鹽 pH6.5 平衡之凝血酶管柱。調流速使容許 rHPC 與凝血酶樹脂之間之接觸時間約 20 分。收集溶出液，並立刻測定酰胺分解活性。若此物質不具有與確立之 aPC 之標準品可比較之特異性活性 (酰胺分解)，將其於凝血酶管柱上再循環以活化該 rHPC 至完全。此接著以如上之 20 mM 緩衝液將該物質以 1:1 稀釋。

活化 C 蛋白質之抗凝血劑活性，藉由測量於活化之部分組織促凝血酶原激酶時間 (APTT) 凝血測定中之凝血時間之延長而決定。於稀釋緩衝液 (1 毫克 / 毫升放射性免疫測定級 BSA, 20 mM Tris, pH 7.4, 150 mM NaCl, 0.02% NaN_3) C 蛋白質之濃度範圍 125-1000 毫微克 / 毫升製備標準曲線，而樣品之製備以此濃度範圍之數倍稀釋。於各樣品測定地，加 50

五、發明說明 (11)

微升冷的馬血漿及50微升重新構成之活化之部分組織促凝血酶原激酶時間試劑(APTT試劑, Sigma), 於37°C培養5分培養後, 加50微升之適當樣品或標準品至各測定小池。用稀釋緩衝液代替樣品或標準品以決定基本凝血時間。加50微升37°C 30 mM CaCl至各樣品或標準品後立刻開始纖維計(fibrometer)(CoA Screener止血分析儀, American Labor)之計時器。自標準曲線之線性迴歸式計算樣品中之活化C蛋白質濃度, 凝血時間為3次重複測量之最小值之平均, 包括標準曲線樣品, 重組體活化C蛋白質之蛋白質濃度藉UV 280 nm 消光 $E^{0.1\%}=1.85$ 測定。

實例 1

aPC之層析法分離

將具導電度約14 mMho及pH 5.7之aPC溶液施加於與Q Sepharose Fast Flow陰離子交換樹脂之25公分×14公分(h×d)管柱縱列連接之S-Sepharose Fast Flow陽離子交換樹脂之9.5公分×9公分(h×d)管柱。兩管柱已於20 mM檸檬酸鈉, pH6.0, 150 mM NaCl中預先平衡。管柱充填每升陰離子交換樹脂10克之aPC。管柱以72管柱體積之平衡緩衝液洗, 並以20 mM檸檬酸鈉pH6.0, 400 mM NaCl階式溶離。所有操作於2-8°C及60公分/小時之線性流速下進行。

雖然aPC具高活性(以APTT測定539單位/毫克), 且於層析法中(於波峰720克/升)及於聚集主流中(10克/升)很濃, 但產物維持穩定。此等觀察由還原及非還原之胰酶消化輕鏈質譜法證實, 其指示無可檢測(<2%)之含308-309蛋白質內分

五、發明說明 (12)

解夾之異形式，亦以脫(1-9)aPC及脫(1-10)存在(<5%)。

實例 2

病毒過濾

於 20 mM Tris, 150 mM NaCl, 及 20 mM EDTA 緩衝液中之活化 C 蛋白質 (4 毫克 / 毫升), 用切線流動過濾 (Millipore Virusolve™ 180 膜) 過濾。aPC 之通過濾膜藉使用透析過濾緩衝液促進。透析過濾緩衝液為 20 mM 檸檬酸鈉及 150 mM NaCl。將於 20 mM Tris, 150 mM NaCl 及 20 mM EDTA 緩衝液中之 4 毫克 / 毫升 aPC 溶液 (10 升)。用檸檬酸鈉及 NaCl 緩衝液為透析過濾緩衝液得 aPC 溶液之最後體積為 21.5 升。

實例 3

冷凍乾燥

於小瓶中藉加適當量之蔗糖、NaCl 及檸檬酸鈉至預定體積之 r-aPC 製備溶液，得 2.5 毫克 / 毫升 aPC，15 毫克 / 毫升蔗糖，325 mM NaCl 及 20 mM 檸檬酸鈉，pH6.0。溶液用習用之冷凍乾燥機冷凍乾燥，得適宜重新組成之冷凍乾燥之 aPC 小瓶，再投予患者。冷凍乾燥調配物具少於 10% 脫(1-9)aPC 及 脫(1-10)aPC。

實例 4

冷凍乾燥

於小瓶中藉加適當量之蔗糖，NaCl 及檸檬酸鈉至預定體積之 r-aPC 中製備溶液，得 5 毫克 / 毫升 aPC，30 毫克 / 毫升蔗糖，650 mM NaCl 及 40 mM 檸檬酸鈉，pH6.0。溶液用習用之冷凍乾燥機冷凍乾燥，得適宜重新組成之冷凍乾燥之

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (13)

aPC小瓶。冷凍乾燥調配物具少於10%脫(1-9)aPC及脫(1-10)aPC。

本發明之原理，較佳實施例及操作方式已述於前面說明書中，然而本文欲保護之本發明，並不限於所揭示之特別形式，因為彼等被視為例示說明而非限制性。精於此道者可做變化而無偏離本發明之主旨。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

四、中文發明摘要 (發明之名稱：製備經活化C蛋白質之改良方法)

本發明係廣泛地針對降低活化C蛋白質於製備及純化中自動降解之方法。本發明提供活化C蛋白質水性溶液及製備此溶液之改良方法，包括於高於150 mM之離子強度及約5.5至少於6.3之pH下進行此製備。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

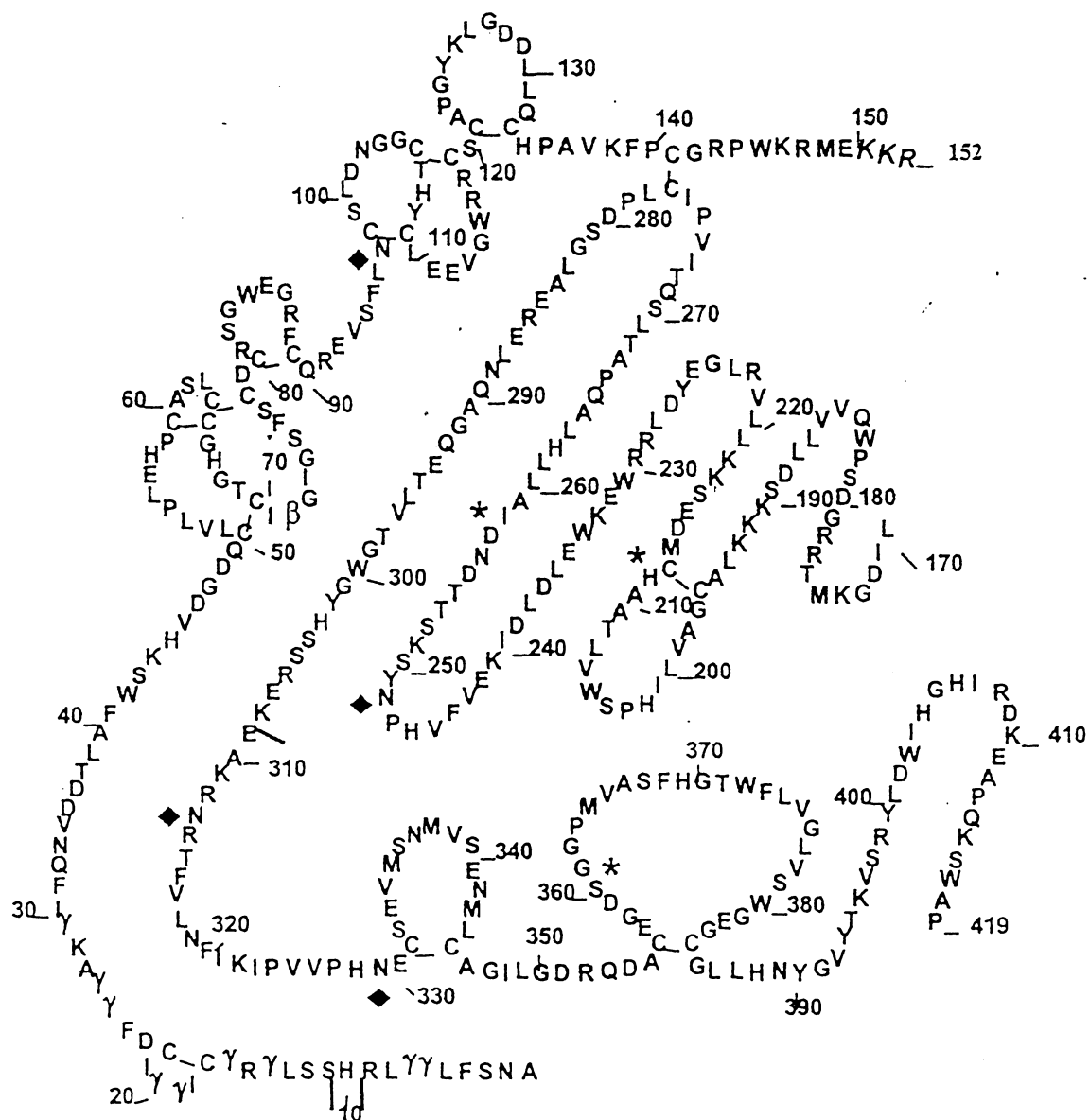
英文發明摘要 (發明之名稱：

IMPROVED METHODS FOR PROCESSING
ACTIVATED PROTEIN C)

The present invention is broadly directed to a method for reducing autodegradation of activated protein C during processing and purification. The present invention provides aqueous activated protein C solutions and an improved method of processing of such solutions, comprising conducting such processing at an ionic strength of greater than 150 mM and at a pH of about 5.5 to less than 6.3.

訂

線



申請日期	87.4.28
案 號	087106549
類 別	C07K 1/4, A61K 38/46

92年7月16日
A4
C4

公告本

中文說明書替換頁(92年7月)

(以上各欄由本局填註)

發明專利說明書		585871
一、發明 名稱	中 文	製備經活化C蛋白質之改良方法
	英 文	IMPROVED METHODS FOR PROCESSING ACTIVATED PROTEIN C
二、發明 創作人	姓 名	1. 安得魯 大衛 卡爾申 3. 傑佛瑞 卡瑞頓 貝克 2. 索朵瑞 亞瑟 雪莉加 4. 黃玲華
	國 籍	1. 2. 3. 均美國 4. 中國大陸
	住、居所	1. 美國印第安那州印第安那普利市卡士頓加拂路8020號 2. 美國印第安那州印第安那普利市貝尼佃路7901號 3. 美國印第安那州印第安那普利市東44街114號 4. 美國印第安那州卡梅爾市派那哥路13138號
三、申請人	姓 名 (名 稱)	美國禮來大藥廠
	國 籍	美國
	住、居所 (事務所)	美國印第安那州印第安那普利市禮來公司中心
	代 表 人 姓 名	彼得 G. 史君格

六、申請專利範圍

93. 3. 02
年 月 日
修正
補充

公告本

1. 一種冷凍乾燥重組人類經活化C蛋白質的水性溶液之方法，其包括於150 mM至400 mM間之離子強度及5.5至6.3之pH下進行該冷凍乾燥。
2. 一種製備重組人類經活化C蛋白質調配物之方法，其係在不含變性劑、組胺酸、離胺酸鹽酸鹽或白蛋白之情況下將重組人類經活化C蛋白質之溶液予以冷凍乾燥而製得，該溶液具有150 mM至400 mM間之離子強度及5.5至6.3之pH。
3. 根據申請專利範圍第1或2項之方法，其中該pH係由5.9至6.1。
4. 根據申請專利範圍第1或2項之方法，其中該pH係以檸檬酸鈉緩衝。
5. 一種製備重組人類經活化C蛋白質調配物之方法，其包括將包括重組人類經活化C蛋白質及填充劑之溶液予以冷凍乾燥，該填充劑係選自海藻糖、棉子糖及蔗糖及其混合物。
6. 根據申請專利範圍第5項之方法，其中該調配物具少於10%重量比之脫(1-9)重組人類經活化C蛋白質及脫(1-10)重組人類經活化C蛋白質。
7. 根據申請專利範圍第6項之方法，其中該調配物具少於5%重量比之脫(1-9)重組人類經活化C蛋白質及脫(1-10)重組人類經活化C蛋白質。

六、申請專利範圍

8. 根據申請專利範圍第1, 2, 5, 6及7項中任一項之方法，
其中該溶液進一步含氯化鈉。
9. 根據申請專利範圍第5、6及7項中任一項之方法，其中
該製備方法為冷凍乾燥。

裝

訂

線