



(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 202440159 A

(43)公開日：中華民國 113 (2024) 年 10 月 16 日

(21)申請案號：112151403 (22)申請日：中華民國 112 (2023) 年 12 月 28 日

(51)Int. Cl. : *A61K39/395 (2006.01)* *A61K47/18 (2006.01)*
 A61K47/12 (2006.01) *A61K47/26 (2006.01)*
 A61K47/36 (2006.01) *A61K9/08 (2006.01)*
 A61P37/00 (2006.01) *A61P9/00 (2006.01)*
 A61P29/00 (2006.01)

(30)優先權：2022/12/29 中國大陸 2022117105503

(71)申請人：大陸商蘇州創勝醫藥集團有限公司 (中國大陸) SUZHOU TRANSCENTA
 THERAPEUTICS CO., LTD. (CN)
 中國大陸

(72)發明人：張 凡 ZHANG, FAN (US) ；胡裕迪 HU, YUDI (CN) ；邵琦 SHAO, QI (CN) ；錢
 雪明 QIAN, XUEMING (US) ；李紅俊 LI, HONGJUN (CN) ；顧 怡 GU, YI
 (US) ；滕菲 TENG, FEI (CN) ；孫迪 SUN, DI (CN)

(74)代理人：洪武雄；陳昭誠

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：68 項 圖式數：44 共 232 頁

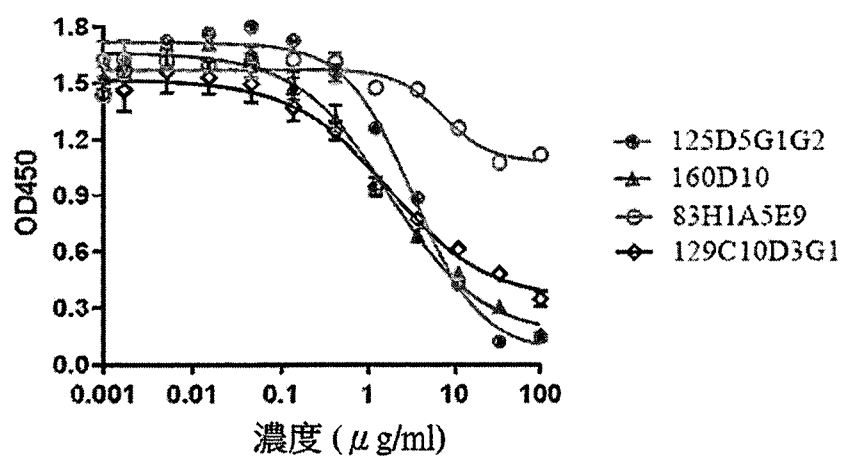
(54)名稱
含有治療性抗體的藥物製劑及其用途

(57)摘要

本發明提供了包含以高濃度和低濃度存在的特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體的穩定的藥物製劑，以及包含該製劑的試劑盒、醫藥組成物、單位劑型，和使用該製劑和試劑盒、醫藥組成物、單位劑型用於抑制 MASP-2 依賴性補體活化、治療相關疾病的治療方法，以及製備相應藥劑的用途。本發明還提供了新的特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體。

The present invention provides stable pharmaceutical formulations comprising monoclonal antibodies present at high concentrations and low concentrations, which specifically binds to human MASP-2, and kits, pharmaceutical compositions, unit dosage forms comprising said formulations, as well as the methods of using said formulations, kits, pharmaceutical compositions, unit dosage forms for the inhibition of MASP-2-dependent complement activation and the treatment of relevant diseases, and the use in the manufacture of the corresponding medicaments. Also provided is a novel monoclonal antibody specifically binding to human MASP-2.

指定代表圖：



【圖1】

【發明摘要】

【中文發明名稱】 含有治療性抗體的藥物製劑及其用途

【英文發明名稱】 PHARMACEUTICAL FORMULATION COMPRISING
THERAPEUTIC ANTIBODY AND USE THEREOF

【中文】

本發明提供了包含以高濃度和低濃度存在的特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體的穩定的藥物製劑，以及包含該製劑的試劑盒、醫藥組成物、單位劑型，和使用該製劑和試劑盒、醫藥組成物、單位劑型用於抑制 MASP-2 依賴性補體活化、治療相關疾病的治療方法，以及製備相應藥劑的用途。本發明還提供了新的特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體。

【英文】

The present invention provides stable pharmaceutical formulations comprising monoclonal antibodies present at high concentrations and low concentrations, which specifically binds to human MASP-2, and kits, pharmaceutical compositions, unit dosage forms comprising said formulations, as well as the methods of using said formulations, kits, pharmaceutical compositions, unit dosage forms for the inhibition of MASP-2-dependent complement activation and the treatment of relevant diseases, and the use in the manufacture of the corresponding medicaments. Also provided is a novel monoclonal antibody specifically binding to human MASP-2.

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】 無

【特徵化學式】 無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 含有治療性抗體的藥物製劑及其用途

【英文發明名稱】 PHARMACEUTICAL FORMULATION COMPRISING
THERAPEUTIC ANTIBODY AND USE THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明屬於藥物製劑領域，具體涉及治療性抗體製劑的領域。更具體來說，本發明涉及包含特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體的藥物製劑，及其用途。

【先前技術】

【0002】 MASP-2(MBL相關的絲胺酸蛋白酶2)參與補體系統，它與 MASP-1 和兩個 C1q 相關的絲胺酸蛋白酶 C1r 和 C1s 顯示出顯著的同源性。一旦凝集素識別並與病原體結合，MASP-2 的酶原形式就會在 CCP2 和 SP 結構域之間裂解(在保守的 R444 和 I445 之間裂解)，變成由兩條多肽鏈(重鏈/A 鏈和輕鏈/B 鏈)組成的活性形式，藉由二硫鍵(C434-C552)連接(A.B.W.Boldt et al., Human Immunology, 72(9): 753-760 (2011))。當 MBL 與病原體結合時，MASP-2 被激活，將補體成分 C4 和 C2 裂解為 C4a、C4b、C2a 和 C2b，生成 C3 轉化酶 C4bC2b，隨後 C3 被 C4bC2b 轉化為 C3b，最後在 C5 被 C3b 轉化為 C5b 後形成膜攻擊複合物(MAC)。C3 的激活最終導致 MAC 的形成，然後啟動下游補體系統的一系列級聯激活過程，刺激先天免疫反應。事實上 C4b 可以激活 C4d 的生成。C4d 的沉積可能是補體激活的一個標誌。有研究表明，C4d 陽性染色是 IgAN 患者發生

ESRD 的獨立風險因素(見, Clin J Am Soc Nephrol 9: 897-904, 2014), 在 IgAN 患者中, 有 C4d 染色的腎臟比沒有 C4d 染色的腎臟生存時間明顯短。在狼瘡性腎炎和膜性腎小球腎炎患者的腎臟中也檢測到 C4d 染色。MASP-2 已被確定為治療自身免疫性疾病的一個非常有希望的靶點。

【0003】除了在免疫防禦中的重要作用外, 補體系統在許多臨床情況下也會造成組織損傷。目前, 仍然需要治療上有效的補體抑制劑, 如新的 MASP-2 抗體, 特別是那些具有有利的高結合親和力和特異性的抗體, 以防止不良反應。

【0004】治療性抗體需要配製為適用於向患者給藥的製劑, 並且該製劑還能夠維持其在儲存和後續使用期間的穩定性。例如, 如果該製劑溶液配置不當, 其中的治療性抗體可能更容易發生降解、聚集和/或非所需甚至有害的化學修飾。液體製劑中的抗體的穩定性不僅視製劑中所使用的賦形劑的種類而定, 並且還視賦形劑相對於彼此的量和比例而定。此外, 當製備液體抗體製劑時, 除穩定性之外, 還必須考慮其它因素, 例如給定製劑可容納的抗體濃度和製劑的視覺質量或外觀, 等等。因此, 當配製治療性抗體製劑時, 必須格外謹慎以獲得保持穩定、含有足夠濃度的抗體且具有使得製劑能夠方便地施用至患者的其它特性的製劑。

【0005】對於抗 MASP-2 抗體, 例如, Omeros 公司的單抗 Narsoplimab (OMS721)進入了 III 期臨床, 其在中國專利申請號 CN201780051640.7 中揭露了 MASP-2 抗體製劑, 含 185mg/mL 的蛋白, 20mM L-組胺酸, 200mM L-精胺酸 HCl, 0.01%(w/v)的聚山梨酯 80, pH5.5-6.5。然而, 上述製劑處方不能使本發明抗 MASP-2 單抗達到符合要求的穩定性, 因此對於本發明提供的新型抗 MASP-

2 單株抗體，仍有開發穩定的針對本發明抗 MASP-2 抗體的穩定的液體製劑需要。

【發明內容】

發明簡述

【0006】 MASP-2 是重要和有利的治療靶標。本發明提供了本發明抗 MASP-2 抗體製劑處方，可以使得本發明抗 MASP-2 單抗在較高濃度和低濃度情況下的液體狀態時維持較好的穩定性，滿足生產工藝和臨床給藥的需求，可以支持將本發明抗 MASP-2 單抗開發為靜脈注射液和皮下注射液。本發明還提供了針對 MASP-2 的抗體。

【0007】 一、本發明的抗體製劑

一方面，本發明提供了一種穩定液體藥物製劑，其特徵在於，該藥物是特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體或其抗原結合片段，並且該製劑還包含緩衝液、表面活性劑、和輔料。

【0008】 在本發明的一些實施方案中，該穩定液體藥物製劑中該緩衝液包含組胺酸和/或醋酸緩衝體系；該表面活性劑包含聚山梨酯；該輔料包含蔗糖、海藻糖和/或脯胺酸；該穩定液體藥物製劑的 pH 值為 4.7-6.1。

【0009】 因此，在本發明的一些實施方案中，提供了一種穩定液體藥物製劑，其包含：(a)特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體或其抗原結合片段；(b)包含組胺酸和/或醋酸緩衝體系的緩衝液；(c)包含聚山梨酯的表面活性劑；和(d)包含蔗糖、海藻糖和/或脯胺酸的輔料；其中該製劑的 pH 為 4.7-6.1。

【0010】 在一些實施方案中，抗體濃度為 $10\text{ mg/ml} \pm 1\text{ mg/ml}$ 至 $200\text{ mg/ml} \pm 20\text{ mg/ml}$ 。在一些實施方案中，抗體濃度為 $20\text{ mg/ml} \pm 2\text{ mg/ml}$ 。在一些實施方案中，抗體濃度為 $60\text{ mg/ml} \pm 6\text{ mg/ml}$ 。在一些實施方案中，抗體濃度為 $100\text{ mg/ml} \pm 10\text{ mg/ml}$ 。在一些實施方案中，抗體濃度為 $150\text{ mg/ml} \pm 15\text{ mg/ml}$ 。在一些實施方案中，抗體濃度為約 20 mg/ml 至約 100 mg/ml 。

【0011】 在一些實施方案中，該緩衝液包含組胺酸，並且其濃度為 $5\text{ mM} \pm 1\text{ mM}$ 至 $20\text{ mM} \pm 4\text{ mM}$ 。在一些情況下，組胺酸緩衝液濃度為 $10\text{ mM} \pm 2\text{ mM}$ 。在一些實施方案中，組胺酸緩衝液包含 L-組胺酸和一水合 L-組胺酸鹽酸鹽。在一些情況下，該緩衝液包含 0.175 mg/ml 的 L-組胺酸和 1.86 mg/ml 的一水合 L-組胺酸鹽酸鹽。

【0012】 在一些實施方案中，該緩衝液包含醋酸，並且其濃度為 $5\text{ mM} \pm 1\text{ mM}$ 至 $20\text{ mM} \pm 4\text{ mM}$ 。在一些情況下，醋酸緩衝液濃度為 $10\text{ mM} \pm 1\text{ mM}$ 。在一些實施方案中，醋酸緩衝液包含醋酸和三水合醋酸鈉。

【0013】 在一些實施方案中，聚山梨酯濃度為 $0.025\% \pm 0.01\%$ 至 $0.1\% \pm 0.01\%$ (w/v)。在一些情況下，聚山梨酯濃度為 $0.05\% \pm 0.01\%$ (w/v)。在一些實施方案中，聚山梨酯為聚山梨酯 20。在一些實施方案中，聚山梨酯為聚山梨酯 80。

【0014】 在一些實施方案中，該輔料是蔗糖。在一些實施方案中，蔗糖濃度為 $5.5\% \pm 0.5\%$ 至 $9\% \pm 0.5\%$ (w/v)。在某些實施方案中，蔗糖濃度為 $5.8\% \pm 0.5\%$ 至 $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v)。在一些實施方案中，蔗糖濃度為 $5.8\% \pm 0.5\%$ (w/v)。在一些實施方案中，蔗糖濃度為 $6.0\% \pm 0.5\%$ (w/v)。在一些實施方案中，蔗糖濃度為 $6.5\% \pm 0.5\%$ (w/v)。在一些實施方案中，蔗糖濃度為 $7.0\% \pm 0.5\%$ (w/v)。在一些實施方案中，蔗糖濃度為 $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v)。

【0015】 在一些實施方案中，該輔料是海藻糖。在一些實施方案中，海藻糖濃度為 $5.5\% \pm 0.5\%$ 至 $9\% \pm 0.5\%$ (w/v)。在某些實施方案中，海藻糖濃度為 $7.0\% \pm 0.5\%$ 至 $9.0\% \pm 0.5\%$ (w/v)。在一些實施方案中，海藻糖濃度為 $7.0\% \pm 0.5\%$ (w/v)。在一些實施方案中，海藻糖濃度為 $8.0\% \pm 0.5\%$ (w/v)。在一些實施方案中，海藻糖濃度為 $9.0\% \pm 0.5\%$ (w/v)。

【0016】 在一些實施方案中，該輔料是脯胺酸。在一些實施方案中，脯胺酸濃度為 200mM 至 300mM。在某些實施方案中，脯胺酸濃度為 200mM 至 250mM。在一些實施方案中，脯胺酸濃度為 230mM。

【0017】 在一些實施方案中，用於本發明的製劑中的緩衝液可以將本發明的製劑的 pH 控制在大約 4.7-6.1 的範圍，較佳大約 5.0-6.0，更佳約 5.0-5.5，最佳為 5.3 ± 0.1 。在一些具體的實施方案中，本發明的抗體製劑具有約 4.7、5.0、5.2、5.3、5.4、5.5、6.0、6.1、6.2、6.5 的 pH 值。

【0018】 在本發明較佳的實施方案中，本發明的液體製劑中的表面活性劑是聚山梨酯，諸如聚山梨酯-20、聚山梨酯-80、聚山梨酯-60、或聚山梨酯-40；普洛尼克等。在一個較佳實施方案中，本發明的液體製劑中包含聚山梨酯-80 作為表面活性劑。在另一個較佳實施方案中，本發明的液體製劑中包含聚山梨酯-20 作為表面活性劑。

【0019】 在一個實施方案中，該液體製劑是胃腸外給藥製劑，較佳為注射劑，更佳為皮下注射劑或靜脈內注射劑。在一個實施方案中，該液體製劑為靜脈輸注劑。

【0020】 在一個實施方案中，本發明的液體抗體製劑包含：

(a) $20 \text{ mg/ml} \pm 2 \text{ mg/ml}$ 至 $200 \text{ mg/ml} \pm 20 \text{ mg/ml}$ 抗體，

(b)包含 $5\text{ mM} \pm 1\text{ mM}$ 至 $20\text{ mM} \pm 4\text{ mM}$ 組胺酸或醋酸的緩衝液，
 (c) $0.025\% \pm 0.01\%$ 至 $0.1\% \pm 0.01\%$ (w/v)聚山梨酯，和
 (d) $6.5\% \pm 0.5\%$ 至 $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖或海藻糖，或 200mM 至 300mM 脯
 胺酸，
 pH 為 4.7 至 6.0 。

【0021】 在一個實施方案中，本發明的液體抗體製劑包含：

(a) $20\text{ mg/ml} \pm 2\text{ mg/ml}$ 抗體，
 (b)包含 $5\text{ mM} \pm 1\text{ mM}$ 至 $20\text{ mM} \pm 4\text{ mM}$ 組胺酸或醋酸的緩衝液，
 (c) $0.025\% \pm 0.01\%$ 至 $0.1\% \pm 0.01\%$ (w/v)聚山梨酯，和
 (d) $6.5\% \pm 0.5\%$ 至 $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖或海藻糖，
 pH 為 5.3 ± 0.5 。

【0022】 在一個實施方案中，本發明的液體抗體製劑包含：

(a) $60\text{ mg/ml} \pm 6\text{ mg/ml}$ 抗體，
 (b)包含 $5\text{ mM} \pm 1\text{ mM}$ 至 $20\text{ mM} \pm 4\text{ mM}$ 組胺酸或醋酸的緩衝液，
 (c) $0.025\% \pm 0.01\%$ 至 $0.1\% \pm 0.01\%$ (w/v)聚山梨酯，和
 (d) $6.5\% \pm 0.5\%$ 至 $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖或海藻糖，
 pH 為 5.3 ± 0.5 。

【0023】 在一個實施方案中，本發明的液體抗體製劑包含：

(a) $100\text{ mg/ml} \pm 10\text{ mg/ml}$ 抗體，
 (b)包含 $5\text{ mM} \pm 1\text{ mM}$ 至 $20\text{ mM} \pm 4\text{ mM}$ 組胺酸或醋酸的緩衝液，
 (c) $0.025\% \pm 0.01\%$ 至 $0.1\% \pm 0.01\%$ (w/v)聚山梨酯，和
 (d) $6.5\% \pm 0.5\%$ 至 $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖或海藻糖，

pH 為 5.3 ± 0.5 。

【0024】 在一個實施方案中，本發明的液體抗體製劑包含：

(a) $150 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$ 抗體，

(b) 包含 $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ 至 $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$ 組胺酸或醋酸的緩衝液，

(c) $0.025\% \pm 0.01\%$ 至 $0.1\% \pm 0.01\%$ (w/v) 聚山梨酯，和

(d) $6.5\% \pm 0.5\%$ 至 $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖或海藻糖，

pH 為 5.3 ± 0.5 。

【0025】 本發明的液體製劑可以長期穩定儲存，例如至少 24 個月或更長時間。在一個實施方案中，本發明的液體製劑可以在約 -80°C 至約 45°C ，例如 -80°C 、約 -30°C 、約 -20°C 、約 0°C 、約 5°C 、約 25°C 、約 35°C 、約 38°C 、約 40°C 、約 42°C 或約 45°C 的條件下，儲存至少 10 天、至少 20 天、至少 1 個月、至少 2 個月、至少 3 個月、至少 4 個月、至少 5 個月、至少 6 個月、至少 7 個月、至少 8 個月、至少 9 個月、至少 10 個月、至少 11 個月、至少 12 個月、至少 18 個月、至少 24 個月，至少 36 個月，或更長時間，且是穩定的。

【0026】 在一些實施方案中，本發明的液體製劑具有 $2\text{-}10 \mu\text{m}$ 的平均粒徑，如藉由微流成像系統(MFI)所測定的。

【0027】 在一些實施方案中，本發明的液體製劑具有 $250\text{--}350 \text{ mOsm/kg}$ H_2O 之間的質量滲透壓莫耳濃度。

【0028】 在一些實施方案中，本發明的液體製劑具有約 1.0 厘泊-30 厘泊的黏度，例如約 1.0 厘泊-10 厘泊的黏度。在一個實施方案中，該液體製劑在 25°C 的黏度為約 1.0 厘泊-20 厘泊。在一個實施方案中，該液體製劑在 25°C 的黏度為約 1.0 厘泊-10 厘泊。在一個實施方案中，該液體製劑在 25°C 的黏度為約 1.0、

2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0 或 10.0 厘泊。在一個實施方案中，該液體製劑在 4-40°C 的黏度為約 5.0 厘泊-7.0 厘泊。在一個實施方案中，該液體製劑在 4-40°C 的黏度為約 6.8 厘泊。在一個實施方案中，該液體製劑在 25°C 的黏度為約 6.8 厘泊。

【0029】 在一個實施方案中，本發明的液體製劑可以穩定儲存至少 24 個月。在再一實施方案中，本發明的液體製劑在 -80°C 至 45°C 之間的任何溫度下是穩定的。在再一實施方案中，本發明的液體製劑在約 2°C-8°C 保持穩定至少 3 個月，較佳至少 12 個月，更佳至少 24 個月，最佳至少 36 個月。在一個實施方案中，本發明的液體製劑在室溫或例如約 25°C 保持穩定至少 2 個月，較佳至少 3 個月，更佳至少 6 個月，最佳至少 12 個月。在再一實施方案中，本發明的液體製劑在約 40°C 保持穩定至少 2 週、較佳至少 1 個月、更佳至少 6 週、最佳至少 8 週。該穩定例如表現為例如溶解狀態下的抗體單體純度超過 95%，較佳 98%，更佳 99%。

【0030】 在一個實施方案中，可以藉由檢測製劑的外觀、可見異物、蛋白含量、單體純度、和/或電荷變異體的變化，來指示儲存後製劑的穩定性。在一個實施方案中，可以在高溫脅迫的強制實驗中，例如在 40°C±2°C 儲存至少 1 週、2 週或較佳地 1 個月後，或在加速實驗中，例如在 25°C±2°C 儲存至少 1 個月或 2 個月後，或在長期實驗中，例如在 5°C±3°C 儲存至少 6 個月或 12 個月後，檢測本發明液體製劑的穩定性。該穩定例如表現為溶解狀態下的抗體單體純度超過 95%，較佳 98%，更佳 99%。

【0031】 在一個實施方案中，在儲存後，藉由目視檢查本發明液體製劑的穩定性，其中本發明液體製劑在外觀上保持為澄清至微乳光，為無色至淡黃色液

體，且無異物。在一個實施方案中，在澄明度檢測儀下目視檢查，製劑中無可見異物存在。在一個實施方案中，檢測製劑在約 405 nm 或約 350 nm 處的吸光度以測定溶液混濁度。在一個實施方案中，藉由測定蛋白在升溫過程中發生構型變化或聚集而使得粒徑發生變化時的轉變溫度 T_{onset} ，檢查本發明液體製劑的穩定性，較佳 T_{onset} 高於 60°C、63°C、65°C、68°C 或 70°C。在一個實施方案中，在儲存後，藉由測定蛋白含量變化，檢查本發明液體製劑的穩定性，相對於儲存第 0 天的初始值，蛋白含量變化率不超過 10%，較佳不超過 5%。在一個實施方案中，在儲存後，藉由測定本發明液體製劑中抗體的單體純度變化，檢查本發明液體製劑的穩定性，其中藉由體積排阻高效液相色譜法(SEC-HPLC)，相對於儲存第 0 天的初始值，單體純度的變化值不超過 10%，例如不超過 5%、4%、3%、例如變化值不超過 1-2%，較佳不超過 1%。在另一個實施方案中，在儲存後，藉由非還原型和/或還原型十二烷基硫酸鈉毛細管電泳(CE-SDS)法，單體純度的變化值下降不超過 10%，例如不超過 5%、4%、3%。在一個實施方案中，在儲存後，藉由全柱成像毛細管等電聚焦電泳法(icIEF)或陽離子交換高效液相色譜法(CEX-HPLC)檢測本發明液體製劑的穩定性，其中相對於儲存第 0 天的初始值，抗體的電荷變異體(主成分、酸性組分和鹼性組分)的變化值總和不超過 50%，例如不超過 40%、30%、20%、10%、5%。

【0032】 在一些實施方案中，製劑在儲存後，例如在 2-8°C 儲存至少 24 個月後，或在室溫儲存至少 3 個月後，或在 40°C±2°C 儲存 1 個月後，是穩定的，較佳地具有如下特徵之一或多項：

(i) 藉由 SEC-HPLC 法測量，製劑具有大於 90% 的抗體單體純度，較佳大於 95%、96%、97%、98%、99% 的純度；

(ii)藉由還原型或非還原型 CE-SDS 法(例如，非還原型 CE-SDS)測量，製劑具有大於 90%的抗體單體純度，較佳大於 92%、94%、96%、98%的純度；

(iii)藉由 iCIEF 或 CEX 法測量，相對於儲存第 0 天的初始值，製劑中抗體蛋白的各組分(主成分、酸性組分和鹼性組分)的變化值總和不超過 50%，例如不超過 40%、30%、20%、10%、5%。

【0033】 在一些實施方案中，製劑在振搖後(例如，振搖 14 天後)，攪拌後(例如，攪拌 6 小時後)，光照後(例如，光照 3 天後)，和/或凍融後(例如，經 5 輪凍融後)，是穩定的，較佳地具有如下特徵之一或多項：

(i)藉由 SEC-HPLC 法測量，製劑具有大於 90%的抗體單體純度，較佳大於 95%、96%、97%、98%、99%的純度；

(ii)藉由還原型或非還原型 CE-SDS 法(例如，非還原型 CE-SDS)測量，製劑具有大於 90%的抗體單體純度，較佳大於 92%、94%、96%、98%的純度；

(iii)藉由 iCIEF 或 CEX 法測量，相對於儲存第 0 天的初始值，製劑中抗體蛋白的各組分(主成分、酸性組分和鹼性組分)的變化值總和不超過 50%，例如不超過 40%、30%、20%、10%、5%。

【0034】 在本發明的較佳實施方案中，本發明的製劑具有高的抗體濃度，同時其具有適合給藥尤其皮下給藥的低黏度，具有高的物理和化學穩定性，存放時不易產生聚集體和顆粒並且較不易發生電荷異質性變化。這些優點對於生產完全、有效、高一致性的臨床藥品是十分有益的。

【0035】 在一個方面，本發明提供了一種遞送裝置，其包含本發明的液體抗體製劑。在一個實施方案中，本發明的遞送裝置以包含本發明的液體抗體製劑

或固體抗體製劑的預填充注射器形式提供，例如用於靜脈內、皮下、皮內或者肌肉內注射、靜脈內輸注。

【0036】在又一方面，本發明提供向受試者，例如哺乳動物，例如人，施用抗體的方法，包括給予該受試者本發明的液體抗體製劑或固體抗體製劑的步驟，該遞送是例如藉由使用預填充注射器的遞送裝置實施的。

【0037】在又一方面，本發明提供本發明的液體抗體製劑或固體抗體製劑用於製備在受試者中治療、預防或延緩與.....相關的病症的遞送裝置(如，預填充注射器)或藥物的用途，該病症例如.....。

【0038】在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)20 mg/ml $\pm$ 2 mg/ml 抗體，(b)包含 5 mM $\pm$ 1 mM 至 20 mM $\pm$ 4 mM 組胺酸或醋酸的緩衝液，(c)0.025% $\pm$ 0.01% 至 0.1% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(d)6.5% $\pm$ 0.5% 至 8.6% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖或海藻糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.5。

【0039】在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)20 mg/ml $\pm$ 2 mg/ml 抗體，(b)包含 10 mM $\pm$ 2 mM 組胺酸的緩衝液，(c)0.05% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(d)8.6% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.1。

【0040】在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)20 mg/ml $\pm$ 2 mg/ml 抗體，(b)0.175mg/ml L-組胺酸，(c)1.86 mg/ml L-組胺酸一鹽酸鹽一水合物，(d)0.05% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(e)8.6% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.1。

【0041】在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)60 mg/ml $\pm$ 6 mg/ml 抗體，(b)包含 5 mM $\pm$ 1 mM 至 20 mM $\pm$ 4 mM 組胺酸或醋酸的緩衝液，(c)0.025% $\pm$ 0.01% 至 0.1% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(d)6.5% $\pm$ 0.5% 至 8.6% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖或海藻糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.5。

【0042】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)60 mg/ml $\pm$ 6 mg/ml 抗體，(b)包含 10 mM $\pm$ 2 mM 組胺酸緩衝體系的緩衝液，(c)0.05% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(d)8.6% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.1。

【0043】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)60 mg/ml $\pm$ 6 mg/ml 抗體，(b)0.175 mg/ml L-組胺酸，(c)1.86 mg/ml L-組胺酸一鹽酸鹽一水合物，(d)0.05% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(e)8.6% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.1。

【0044】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)100 mg/ml $\pm$ 10 mg/ml 抗體，(b)包含 5 mM $\pm$ 1 mM 至 20 mM $\pm$ 4 mM 組胺酸或醋酸的緩衝液，(c)0.025% $\pm$ 0.01% 至 0.1% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(d)6.5% $\pm$ 0.5% 至 8.6% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖或海藻糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.5。

【0045】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)100 mg/ml $\pm$ 10 mg/ml 抗體，(b)包含 10 mM $\pm$ 1 mM 組胺酸緩衝體系的緩衝液，(c)0.05% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(d)7.0% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.1。

【0046】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)100 mg/ml $\pm$ 10 mg/ml 抗體，(b)0.175 mg/ml L-組胺酸，(c)1.86 mg/ml L-組胺酸一鹽酸鹽一水合物，(d)0.05% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(e)7.0% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.1。

【0047】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)150 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml 抗體，(b)包含 5 mM $\pm$ 1 mM 至 20 mM $\pm$ 4 mM 組胺酸或醋酸的緩衝液，(c)0.025% $\pm$ 0.01% 至 0.1% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(d)6.5% $\pm$ 0.5% 至 8.6% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖或海藻糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.5。

【0048】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)150 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml 抗體，(b)包含 10 mM $\pm$ 1 mM 組胺酸緩衝體系的緩衝液，(c)0.05% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(d)7.0% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.1。

【0049】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)150 mg/ml $\pm$ 15mg/ml 抗體，(b)0.175 mg/ml L-組胺酸，(c)1.86 mg/ml L-組胺酸一鹽酸鹽一水合物，(d)0.05% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(e)7.0% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.1。

【0050】 在這些實施例中的任一者中，聚山梨酯可為聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20，較佳聚山梨酯 80。

【0051】 在一個方面中，本發明提供了一種醫藥組成物，其中該組成物包含如上文或本文所論述的藥物製劑，且該組成物容納於容器中。在一些實施方案中，容器為小瓶。在一些情況下，小瓶為 2 ml、5 ml、10 ml 或 20 ml 的 I 型透明玻璃小瓶。在一些實施方案中，容器為注射器。在一些情況下，注射器為低錫玻璃。在一些實施方案中，容器為預填充注射器。在一些實施方案中，組成物容納於自動注射器中。

【0052】 在一個方面中，本發明提供了一種試劑盒，其包含(i)含有包含如上文或本文所論述的藥物製劑的組成物的容器，和使用該組成物的說明書。在一些實施方案中，容器為玻璃小瓶。在一些實施方案中，容器為預填充注射器。在一些實施方案中，容器為自動注射器。

【0053】 在一個方面中，本發明提供了包含如上文或本文所論述的藥物製劑的單位劑型，其中抗體以 0.1 mg 至 500 mg 的量存在。在一些情況下，抗體以 200-400mg 的量存在。在一些實施方案中，單位劑型為玻璃小瓶，例如西林瓶。

在一些實施方案中，單位劑型為預填充注射器。在一些實施方案中，單位劑型為自動注射器。

【0054】 在上文或本文所論述的醫藥組成物、試劑盒或單位劑型中的任一者中，含有藥物製劑的容器可包含頂隙，該頂隙包含氣體，其中該氣體包含小於 5 體積%的氧氣。在一些情況下，氣體包含小於 1 體積%的氧氣。在一些情況下，氣體包含不超過 0.1 體積%的氧氣。

【0055】 在一個方面中，本發明提供含有醫藥組成物的容器，其中該組成物包含如上文或本文中所論述的藥物製劑。在一些情況下，容器為注射器。在一些情況下，容器為預填充注射器。在一些情況下，容器為自動注射器。在一些情況下，容器為玻璃小瓶。

【0056】 在各種實施例中，上文或本文所論述的實施例的特徵或組分中的任一者可組合，且此類組合涵蓋於本發明案的範圍內。上文或本文所論述的任何具體值可與上文或本文所論述的另一相關值組合以敘述範圍，其中該值表示該範圍的上端和下端，且此類範圍和屬此類範圍內的所有值涵蓋於本發明案的範圍內。上文或本文所論述的值中的每一者可表示為具有 1%、5%、10%或 20%的變化。舉例來說，10 mM 濃度可表示為 $10\text{ mM} \pm 0.1\text{ mM}$ (1%變化)、 $10\text{ mM} \pm 0.5\text{ mM}$ (5%變化)、 $10\text{ mM} \pm 1\text{ mM}$ (10%變化)或 $10\text{ mM} \pm 2\text{ mM}$ (20%變化)。

【0057】 二、本發明的抗 MASP-2 抗體

在一個方面中，本發明提供結合 MASP-2 或其片段(較佳人 MASP-2 蛋白)的抗 MASP-2 抗體或抗體片段(較佳抗原結合片段)。

【0058】 在一些實施方案中，本發明提供了新型單株抗 MASP-2 抗體及其片段。

【0059】 在一個方面，本發明提供了特異性結合 MASP-2 的分離的抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段表現出以下一個或多個特徵：a) 與小鼠或大鼠沒有交叉反應；b) 與 OMS721 相比，在猴體內具有更長的血清半衰期；c) 與 C1s、C1r、MASP1 或 MASP3 沒有交叉反應；d) 能夠選擇性地阻斷 MBL 途徑的補體激活；e) 能夠與人 MASP-2 特異性結合，其 K_D 值不超過 27.8 nM(或不超過 25 nM、20 nM、15 nM、10 nM、9 nM、8 nM、7 nM、6 nM、5 nM、4 nM、3 nM、2 nM、1 nM、0.9 nM、0.8 nM、0.7 nM、0.6 nM、0.5 nM、0.4 nM、0.3 nM、0.2 nM、0.1 nM、0.09 nM、0.08 nM、0.07 nM、0.06 nM、0.05 nM、0.04 nM、0.03 nM、0.02 nM、0.01 nM、0.009 nM、0.008 nM、0.007 nM、0.006 nM、0.005 nM、0.004 nM、0.003 nM、0.002 nM，或 0.001 nM)，如由 Bio-Layer Interferometry 所測量的；f) 能夠阻斷補體 C3 的激活，在 1% 的人血清中藉由 ELISA 測定其 IC_{50} 不超過 0.08 $\mu\text{g/mL}$ (或不超過 0.07 $\mu\text{g/mL}$ 、0.06 $\mu\text{g/mL}$ 、0.05 $\mu\text{g/mL}$ 、0.04 $\mu\text{g/mL}$ 、0.03 $\mu\text{g/mL}$ 、0.02 $\mu\text{g/mL}$ 或 0.01 $\mu\text{g/mL}$)，或在 10% 的人血清中藉由 ELISA 測定其 IC_{50} 不超過 0.20 $\mu\text{g/mL}$ (或不超過 0.15 $\mu\text{g/mL}$ 、0.10 $\mu\text{g/mL}$ 、0.09 $\mu\text{g/mL}$ 、0.08 $\mu\text{g/mL}$ 、0.07 $\mu\text{g/mL}$ 、0.06 $\mu\text{g/mL}$ 、0.05 $\mu\text{g/mL}$ 、0.04 $\mu\text{g/mL}$ 、0.03 $\mu\text{g/mL}$ 、0.02 $\mu\text{g/mL}$ 、或 0.01 $\mu\text{g/mL}$)；g) 能夠在 50% 人血清中阻斷補體 C3 的激活；h) 能夠阻斷補體 C4 的激活，在 2% 的人血清中藉由 ELISA 測定其 IC_{50} 不超過 0.11 $\mu\text{g/mL}$ (或不超過 0.10 $\mu\text{g/mL}$ 、0.09 $\mu\text{g/mL}$ 、0.08 $\mu\text{g/mL}$ 、0.07 $\mu\text{g/mL}$ 、0.06 $\mu\text{g/mL}$ 、0.05 $\mu\text{g/mL}$ 、0.04 $\mu\text{g/mL}$ 、0.03 $\mu\text{g/mL}$ 、0.02 $\mu\text{g/mL}$ ，或 0.01 $\mu\text{g/mL}$)，或在 10% 的人血清中藉由 ELISA 測定其 IC_{50} 不超過 0.69 $\mu\text{g/mL}$ (或不超過 0.65 $\mu\text{g/mL}$ 、0.6 $\mu\text{g/mL}$ 、0.55 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、0.45 $\mu\text{g/mL}$ 、0.4 $\mu\text{g/mL}$ 、0.35 $\mu\text{g/mL}$ 、0.3 $\mu\text{g/mL}$ 、0.25 $\mu\text{g/mL}$ 、或 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 、0.15 $\mu\text{g/mL}$ 、0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.09 $\mu\text{g/mL}$ 、0.08

$\mu\text{g/mL}$ 、 $0.07 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.06 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.05 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.04 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.03 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.02 \mu\text{g/mL}$ 、或 $0.01 \mu\text{g/mL}$)；i)能夠阻斷 MAC 的形成，在 2% 的人血清中藉由 ELISA 測定其 IC_{50} 不超過 $0.27 \mu\text{g/mL}$ (或不超過 $0.25 \mu\text{g/mL}$ ，或 $0.2 \mu\text{g/mL}$ ， $0.15 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.1 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.09 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.08 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.07 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.06 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.05 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.04 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.03 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.02 \mu\text{g/mL}$ 、或 $0.01 \mu\text{g/mL}$)。

【0060】 在一個方面，本發明提供了分離的抗體或其抗原結合片段，包含：

包含 DYYIN(SEQ ID NO: 1)的胺基酸序列的重鏈 CDR1，

包含 WIFPGSX₁ SX₂ YX₃ X₄ X₅ X₆ FX₇ X₈ (SEQ ID NO: 2)的胺基酸序列的重鏈 CDR2，和

包含 GDRSGPFX₉ Y(SEQ ID NO: 3)的胺基酸序列的重鏈 CDR3；和/或

包含 KSSQSLLYSNGKTYLN(SEQ ID NO: 4)的胺基酸序列的輕鏈 CDR1，

包含 LVSKLDS(SEQ ID NO: 5)胺基酸序列的輕鏈 CDR2，和

包含 VQX₁₀ THFPFT(SEQ ID NO: 6)的胺基酸序列的輕鏈 CDR3。

【0061】 其中 X₁ 是 E、D 或 G，X₂ 是 A 或 P，X₃ 是 H 或 Y，X₄ 是 S 或 N，X₅ 是 E 或 Q，X₆ 是 K 或 N，X₇ 是 K 或 Q，X₈ 是 A 或 G，X₉ 是 A 或 P，和 X₁₀ 是 V 或 G。

【0062】 在某些實施方案中，該抗體或其抗原結合片段包含：

包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的重鏈 CDR1，和/或

包含選自 SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9 和 SEQ ID NO: 10 的胺基酸序列的重鏈 CDR2，和/或

包含選自 SEQ ID NO: 11 和 SEQ ID NO: 12 的胺基酸序列的重鏈 CDR3；和/或

含 SEQ ID NO: 4 的胺基酸序列的輕鏈 CDR1，和/或

包含 SEQ ID NO: 6 的胺基酸序列的輕鏈 CDR2，和/或

包含選自 SEQ ID NO: 13 和 SEQ ID NO: 14 的胺基酸序列的輕鏈 CDR3。

【0063】 在一個方面，本發明提供了分離的抗體或其抗原結合片段，其包含：

包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的重鏈 CDR1，包含 SEQ ID NO: 7 的胺基酸序列的重鏈 CDR2，以及包含 SEQ ID NO: 11 的胺基酸序列的重鏈 CDR3；或

包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的重鏈 CDR1，包含 SEQ ID NO: 9 的胺基酸序列的重鏈 CDR2，以及包含 SEQ ID NO: 12 的胺基酸序列的重鏈 CDR3；或

包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的重鏈 CDR1，包含 SEQ ID NO: 10 的胺基酸序列的重鏈 CDR2，以及包含 SEQ ID NO: 11 的胺基酸序列的重鏈 CDR3；
或

包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的重鏈 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 的胺基酸序列的重鏈 CDR2，以及包含 SEQ ID NO: 11 的胺基酸序列的重鏈 CDR3。

【0064】 在某些實施方案中，該抗體或其抗原結合片段進一步包含：

包含 SEQ ID NO: 4 的胺基酸序列的輕鏈 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 的胺基酸序列的輕鏈 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 13 的胺基酸序列的輕鏈 CDR3；或

包含 SEQ ID NO: 4 的胺基酸序列的輕鏈 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 的胺基酸序列的輕鏈 CDR2，以及包含 SEQ ID NO: 14 的胺基酸序列的輕鏈 CDR3。

【0065】 在某些實施方案中，該抗體或其抗原結合片段包含：

包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的重鏈 CDR1，包含 SEQ ID NO: 7 的胺基酸序列的重鏈 CDR2，以及包含 SEQ ID NO: 11 的胺基酸序列的重鏈 CDR3，包

含 SEQ ID NO: 4 的胺基酸序列的輕鏈 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 的胺基酸序列的輕鏈 CDR2，以及包含 SEQ ID NO: 13 的胺基酸序列的輕鏈 CDR3；或。

包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的重鏈 CDR1，包含 SEQ ID NO: 9 的胺基酸序列的重鏈 CDR2，以及包含 SEQ ID NO: 12 的胺基酸序列的重鏈 CDR3，包含 SEQ ID NO: 4 的胺基酸序列的輕鏈 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 的胺基酸序列的輕鏈 CDR2，以及包含 SEQ ID NO: 13 的胺基酸序列的輕鏈 CDR3；或

包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的重鏈 CDR1，包含 SEQ ID NO: 10 的胺基酸序列的重鏈 CDR2，以及包含 SEQ ID NO: 11 的胺基酸序列的重鏈 CDR3，包含 SEQ ID NO: 4 的胺基酸序列的輕鏈 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 的胺基酸序列的輕鏈 CDR2，以及包含 SEQ ID NO: 14 的胺基酸序列的輕鏈 CDR3；或

包含 SEQ ID NO: 1 的胺基酸序列的重鏈 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 的胺基酸序列的重鏈 CDR2，以及包含 SEQ ID NO: 11 的胺基酸序列的重鏈 CDR3，包含 SEQ ID NO: 4 的胺基酸序列的輕鏈 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 的胺基酸序列的輕鏈 CDR2，以及包含 SEQ ID NO: 13 的胺基酸序列的輕鏈 CDR3。

【0066】 在某些實施方案中，該抗體或其抗原結合片段包含：

包含 SEQ ID NO: 15 的胺基酸序列或與其具有至少 80% 同一性的序列的重鏈可變區；

包含 SEQ ID NO: 17 的胺基酸序列或與其具有至少 80% 同一性的序列的重鏈可變區；

包含 SEQ ID NO: 18 的胺基酸序列或與其具有至少 80% 同一性的序列的重鏈可變區；

包含 SEQ ID NO: 20 的胺基酸序列或與其具有至少 80%同一性的序列的重鏈可變區；

包含 SEQ ID NO: 22 的胺基酸序列或與其具有至少 80%同一性的序列的重鏈可變區；

包含 SEQ ID NO: 24 的胺基酸序列或與其具有至少 80%同一性的序列的重鏈可變區；或

包含 SEQ ID NO: 26 的胺基酸序列或與其具有至少 80%同一性的序列的重鏈可變區。

【0067】 在某些實施方案中，該抗體或其抗原結合片段包含：

包含 SEQ ID NO: 16 的胺基酸序列，或具有至少 80%同一性的序列的輕鏈可變區；

包含 SEQ ID NO: 19 的胺基酸序列，或具有至少 80%同一性的序列的輕鏈可變區；

包含 SEQ ID NO: 28 的胺基酸序列，或具有至少 80%同一性的序列的輕鏈可變區；或

包含 SEQ ID NO: 30 的胺基酸序列，或具有至少 80%同一性的序列的輕鏈可變區。

【0068】 在某些實施方案中，抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，該重鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO：20、SEQ ID NO：22、SEQ ID NO：24 或 SEQ ID NO：26 具有至少 80%序列同一性的胺基酸序列和/或輕鏈可變區包含與 SEQ ID NO：16、SEQ ID NO：19、SEQ ID NO：28 或 SEQ ID NO：30 具有至少 80%序列同一性的胺基酸序列。

【0069】 在某些實施方案中，該抗體或其抗原結合片段包含：

包含 SEQ ID NO: 15 的胺基酸序列的重鏈可變區，以及包含 SEQ ID NO: 16 的胺基酸序列的輕鏈可變區；

包含 SEQ ID NO: 17 的胺基酸序列的重鏈可變區，和包含 SEQ ID NO: 16 的胺基酸序列的輕鏈可變區；

包含 SEQ ID NO: 18 的胺基酸序列的重鏈可變區，和包含 SEQ ID NO: 19 的胺基酸序列的輕鏈可變區；

包含 SEQ ID NO: 20 的胺基酸序列的重鏈可變區，和包含 SEQ ID NO: 28 的胺基酸序列的輕鏈可變區；

包含 SEQ ID NO: 20 的胺基酸序列的重鏈可變區，和包含 SEQ ID NO: 30 的胺基酸序列的輕鏈可變區；

包含 SEQ ID NO: 22 的胺基酸序列的重鏈可變區，和包含 SEQ ID NO: 28 的胺基酸序列的輕鏈可變區；

包含 SEQ ID NO: 22 的胺基酸序列的重鏈可變區，和包含 SEQ ID NO: 30 的胺基酸序列的輕鏈可變區；

包含 SEQ ID NO: 24 的胺基酸序列的重鏈可變區，以及包含 SEQ ID NO: 28 的胺基酸序列的輕鏈可變區；

包含 SEQ ID NO: 24 的胺基酸序列的重鏈可變區，以及包含 SEQ ID NO: 30 的胺基酸序列的輕鏈可變區；

包含 SEQ ID NO: 26 的胺基酸序列的重鏈可變區，和包含 SEQ ID NO: 28 的胺基酸序列的輕鏈可變區；或

包含 SEQ ID NO: 26 的胺基酸序列的重鏈可變區，以及包含 SEQ ID NO: 30 的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0070】 在某些實施方案中，抗體或其抗原結合片段進一步包含一個或多個胺基酸殘基突變，但仍保留對 MASP-2 的特定結合親和力。在某些實施方案中，至少有一個突變是保守取代，或所有的突變都是保守取代。在某些實施方案中，至少一個突變是發生在 CDR 序列中的一個或多個位置，和/或在重鏈可變區或輕鏈可變區的非 CDR 序列中的一個或多個位置。

【0071】 在某些實施方案中，抗體或其抗原結合片段進一步包含免疫球蛋白恆定區，可選地包含 IgG 的重鏈恆定區，和/或輕鏈恆定區。在某些實施方案中，恆定區包括小鼠恆定區、兔恆定區或人恆定區，視需要地恆定區包括人 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 的恆定區。在某些實施方案中，重鏈恆定區包含相對於野生型人 IgG 恆定區在胺基酸殘基 252、254 或 256 處的一個或多個胺基酸取代，視需要地，胺基酸殘基 252 處的胺基酸取代是被酪胺酸取代，胺基酸殘基 254 處的胺基酸取代是被蘇胺酸取代，胺基酸殘基 256 處的胺基酸取代是被谷胺酸取代。在某些實施方案中，重鏈恆定區包含與野生型人 IgG 恆定區胺基酸序列具有至少 80% 同一性的序列，並且相對於野生型人 IgG 恆定區具有胺基酸殘基 252 處被酪胺酸取代，胺基酸殘基 254 處被蘇胺酸取代，和胺基酸殘基 256 處被谷胺酸取代。

【0072】 在某些實施方案中，該抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段是單株抗體、雙特異性抗體、多特異性抗體、重組抗體、嵌合抗體、人源化抗體、標記抗體、二價抗體、抗獨特型抗體、融合蛋白、二聚或多聚抗體、或修飾的抗體(例如糖基化修飾的抗體)。

【0073】 在某些實施方案中，該抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段是雙體抗體(diabody)、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、Fv 片段、二硫鍵穩定的 Fv 片段(dsFv)、(dsFv)₂、雙特異性 dsFv(dsFv-dsFv')。二硫鍵穩定的雙體抗體(ds diabody)，單鏈抗體分子(scFv)，scFv 二聚體(二價雙體抗體)，多特異性抗體，駱駝單域抗體，奈米抗體，域抗體，或二價域抗體。

【0074】 在某些實施方案中，抗體或其抗原結合片段特異性地與 MASP-2 結合，與 C1s、C1r、MASP1 或 MASP3 沒有交叉反應。

【0075】 在本發明的較佳的實施方案中，該抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段具有如下表所示的序列：

【0076】 表 1 小鼠抗 MASP-2 抗體和人源化 129C10 抗體的 CDR 序列

株		CDR1	CDR2	CDR3
129C10 小鼠/嵌合抗體，以及 129C10 HaLa/HaLb/HbLa/HbLb	VH	SEQ ID NO: 1 DYVIN	SEQ ID NO: 7 WIFPGSESAYHSE KFKA	SEQ ID NO: 11 GDRSGPFAY
129C10 小鼠/嵌合抗體，以及 129C10 HaLa/HaLb/HbLa/HbLb	VL	SEQ ID NO: 4 KSSQSLLYSNG KTYLN	SEQ ID NO: 5 LVSKLDS	SEQ ID NO: 13 VQVTHFPFT
160D10 小鼠/嵌合抗體	VH	SEQ ID NO: 1 DYVIN	SEQ ID NO: 9 WIFPGSDSAYYNE KFKG	SEQ ID NO: 12 GDRSGPFY
160D10 小鼠/嵌合抗體	VL	SEQ ID NO: 4 KSSQSLLYSNG KTYLN	SEQ ID NO: 5 LVSKLDS	SEQ ID NO: 13 VQVTHFPFT
125D5 小鼠/嵌合抗體	VH	SEQ ID NO: 1 DYVIN	SEQ ID NO: 10 WIFPGSGSPYYNE NFKG	SEQ ID NO: 11 GDRSGPFAY
125D5 小鼠/嵌合抗體	VL	SEQ ID NO: 4 KSSQSLLYSNG KTYLN	SEQ ID NO: 5 LVSKLDS	SEQ ID NO: 14 VQGTHFPFT
129C10 HcLa, HcLb, HdLa, HdLb 抗體	VH	SEQ ID NO: 1 DYVIN	SEQ ID NO: 8 WIFPGSESAYHSQ KFQG	SEQ ID NO: 11 GDRSGPFAY
129C10 HcLa, HcLb, HdLa, HdLb 抗體	VL	SEQ ID NO: 4 KSSQSLLYSNG KTYLN	SEQ ID NO: 5 LVSKLDS	SEQ ID NO: 13 VQVTHFPFT

【0077】 表 2 本發明的抗體序列

2-1 鼠抗體/嵌合抗體的可變區序列		
129C10 鼠抗體/嵌合抗體	HC	胺基酸序列 (SEQ ID NO: 15): QVQLQQSGPELEKPGTSVKISCEASGYTFTDYYINWVQQR PGQGLEWIGWIFPGSESAYHSEKFKAKATLTVDTSSTTAY MLLTSLTSEDSAVYFCTRGRSGPFAYWGQGLTVTVSA
129C10 鼠抗體/嵌合抗體	LC	胺基酸序列 (SEQ ID NO: 16): DVVMTQTPLTSLTIGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWL LQRPQGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGSGADFTLKISR VEAEDLGVIYCVQVTHFPFTFGTGKLEIK
160D10 鼠抗體/嵌合抗體	HC	胺基酸序列 (SEQ ID NO: 17): QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKQ RPGQGLEWVGWIFPGSDSAYYNEKFKGKATLTVDTSSTA YMLLSSLTSEDSAVYFCARGDRSGPFYWGQGLTVTVSA
160D10 鼠抗體/嵌合抗體	LC	胺基酸序列 (SEQ ID NO: 16): DVVMTQTPLTSLTIGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWL LQRPQGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGSGADFTLKISR VEAEDLGVIYCVQVTHFPFTFGTGKLEIK
125D5 鼠抗體/嵌合抗體	HC	胺基酸序列 (SEQ ID NO: 18): QVQLQQSGPDLVKPGTSVKISCTASGYTFTDYYINWVKQR PGQGLEWIGWIFPGSGSPYYNENFKGRAMFTVDYSSSSAY MLLSSLTSEDSAVYFCTRGRSGPFAYWGQGLTVTVSA
125D5 鼠抗體/嵌合抗體	LC	胺基酸序列 (SEQ ID NO: 19): DVVMTQTPLTSLTIGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWL LQRPQGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGSGADFTLKISR VEAEDLGVIYCVQVTHFPFTFGTGKLEIK
2-2 人源化 129C10 的可變區序列		
重鏈可變區 129C10	Ha	胺基酸序列 (SEQ ID NO: 20): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQ APGQGLEWMGWIFPGSESAYHSEKFKARVTMTVDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCTRGRSGPFAYWGQGLTVTVSS
重鏈可變區 人源化 129C10	Hb	胺基酸序列 (SEQ ID NO: 22): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQ APGQGLEWMGWIFPGSESAYHSEKFKARATLTVDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCTRGRSGPFAYWGQGLTVTVSS
重鏈可變區 人源化 129C10	Hc	胺基酸序列 (SEQ ID NO: 24): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQ APGQGLEWMGWIFPGSESAYHSQKFQGRVTMTVDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCTRGRSGPFAYWGQGLTVTVSS
重鏈可變區 人源化 129C10	Hd	胺基酸序列 (SEQ ID NO: 26): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQ APGQGLEWMGWIFPGSESAYHSQKFQGRATLTVDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCTRGRSGPFAYWGQGLTVTVSS
輕鏈可變區 人源化 129C10	La	胺基酸序列 (SEQ ID NO: 28):

		DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNW LQQRPGQSPRRLIYLVSKLD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCVQVTHFPFTFGQGGTKLEIK
輕鏈可變區 人源化 129C10	Lb	胺基酸序列 (SEQ ID NO: 30): DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNW LQQRPGQSPRRLIYLVSKLD SGVPDRFSGSGSGADFTLKIS RVEAEDVGVYYCVQVTHFPFTFGQGGTKLEIK
2-3 129C10-hu-YTE 抗體的序列		
重鏈恆定區 IgG4 YTE		胺基酸序列 (SEQ ID NO: 35): ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYT CNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFL FPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNGKLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
輕鏈恆定區 IgG4		胺基酸序列 (SEQ ID NO: 34): RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
Hu129C10 抗體重 鏈 (hIgG4_YTE kappa)	HC	胺基酸序列 (SEQ ID NO: 36): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYINWVR QAPGQGLEWMGWIFPGSESAIHSEKFKARVTMTVDTSIST AYMELSRRLSDDTAVYYCTR GDRSGPFAYWGQGLTVTS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKY TCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVF LFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLGK
Hu129C10 抗體輕 鏈 (hIgG4_YTE kappa)	LC	胺基酸序列 (SEQ ID NO: 29): DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNW LQQRPGQSPRRLIYLVSKLD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGVYYCVQVTHFPFTFGQGGTKLEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSPVTKSFNRGEC

【0078】 在某些實施方案中，本發明提供的抗體及其抗原結合片段是人源化的。人源化抗體或抗原結合片段在降低針對人的免疫原性方面具有優勢。人源

化抗體在其可變區是嵌合的，以非人的 CDR 序列嫁接到人 FR 序列(或基本上是人的 FR 序列)。抗體或抗原結合片段的人源化基本上可以藉由在人免疫球蛋白基因中用非人(如鼠)CDR 基因替換相應的人 CDR 基因來實現(例如，參見 Jones et al. (1986) Nature 321:522-525; Riechmann et al. (1988) Nature 332:323-327; Verhoeyen et al. (1988) Science 239:1534-1536)。在一些實施方案中，本文提供的人源化抗體或抗原結合片段基本全部由人序列組成，除了 CDR 序列是非人的。在某些實施方案中，可變區 FR 和恆定區(如果有)完全或基本上完全來自人免疫球蛋白序列。人 FR 序列和人恆定區序列可以來自不同的人免疫球蛋白基因，例如，FR 序列來自一個人的抗體，恆定區來自另一個人的抗體。在一些實施方案中，人源化抗體或抗原結合片段包括人重/輕鏈 FR1-4。

【0079】 在某些實施方案中，本發明提供的人源化抗體及其抗原結合片段包含人胚系框架序列 VH/1-2 的一個或多個重鏈 FR 序列，和/或人胚系框架序列 VK/2-30 的一個或多個輕鏈 FR 序列，有或沒有回復突變。可以根據需要在人胚系框架序列中引入回復突變。在某些實施方案中，本發明的人源化抗體 129C10 可以包含一個或多個選自下組的突變：在重鏈框架序列 VH/1-2 中的 R71V、A93T、V67A 和 M69L(基於 Kabat 編號)，和/或重鏈 CDR2 中的 A65G、K64Q、E61Q(基於 Kabat 編號)。人源化抗體 129C10 可以包含一個或多個選自下組的回復突變：輕鏈框架序列 VK/2-30 中的 F36L 和 T69A(基於 Kabat 編號)。

【0080】 在某些實施方案中，本文提供的抗體及其抗原結合片段的人源化重鏈和輕鏈在人體內基本上沒有免疫原性，並保持與 MASP-2 的母體抗體基本相同或甚至更高的親和力。

【0081】 在一些實施方案中，本文所述的抗 MASP-2 抗體是人抗體。可使用本領域中已知的各種技術來製備人抗體。人抗體一般描述於 van Dijk 和 van de Winkel, Curr.Opin.Pharmacol 5:368-74(2001) 以及 Lonberg, Curr.Opin.Immunol 20 : 450-459(2008)。

【0082】 在一些實施方案中，本文所述的抗 MASP-2 抗體是嵌合抗體。

【0083】 三、本發明抗體或其製劑的治療方法和用途

本發明還提供了治療方法，包括將治療有效量的本發明的抗體或抗原結合片段，或本發明的抗體藥物製劑，或本發明的醫藥組成物、試劑盒或單位劑型施用於需要的受試者，從而治療或預防 MASP-2 依賴性補體激活相關疾病或病症。

【0084】 本發明提供了在需要的受試者中藉由抑制 MASP-2 而抑制 MASP-2 依賴性補體激活的方法，或治療或預防與 MASP-2 依賴性補體激活相關的病症或疾病的方法，這些方法包括向受試者施用治療有效量的本文提供的抗體或抗原結合片段，或本發明的抗體藥物製劑，或本發明的醫藥組成物、試劑盒或單位劑型。

【0085】 在另一個方面，本發明提供了治療受試者中受益於抑制 MASP-2 依賴性補體激活的病症的方法，包括將治療有效量的本文提供的抗體或抗原結合片段，或本發明的抗體藥物製劑，或本發明的醫藥組成物、試劑盒或單位劑型施用於需要的受試者。

【0086】 在另一個方面，本發明進一步提供了降低受試者血清 C4 水平的方法，包括向受試者施用治療有效量的本文提供的抗體或其抗原結合片段，或本發明的抗體藥物製劑，或本發明的醫藥組成物、試劑盒或單位劑型，從而降低受試者的血清 C4 的水平。

【0087】在另一個方面，本發明進一步提供了一種治療受試者的病症的方法，其中該病症將受益於受試者血清 C4 水平的降低，包括向受試者施用治療有效量的本文提供的抗體或其抗原結合片段，或本發明的抗體藥物製劑，或本發明的醫藥組成物、試劑盒或單位劑型，從而治療該病症。

【0088】在另一個方面，本發明進一步提供了治療或預防與血清 C4 水平異常(例如升高)相關的病症或疾病的方法，包括向受試者施用治療有效量的本文提供的抗體或其抗原結合片段，或本發明的抗體藥物製劑，或本發明的醫藥組成物、試劑盒或單位劑型，從而治療該病症或疾病。

【0089】在某些實施方案中，該方法進一步包括施用第二種治療劑。

【0090】在某些實施方案中，受試者是人。在某些實施方案中，給藥是藉由口服、鼻飼、靜脈注射、皮下注射、舌下注射或肌肉注射。

【0091】在一個方面，本發明進一步提供了本發明提供的抗體或其抗原結合片段，或本發明的抗體藥物製劑，或本發明的醫藥組成物、試劑盒或單位劑型在製造藥劑中的用途，其中該藥劑用於以下中的一者或多者：

- (1) 用於抑制 MASP-2 依賴性補體激活；
- (2) 用於治療或預防 MASP-2 依賴性補體激活相關疾病或病症；
- (3) 用於治療受試者中受益於抑制 MASP-2 依賴性補體激活的病症；
- (4) 用於降低受試者血清 C4 水平；
- (5) 用於治療受試者中受益於受試者血清 C4 水平的降低的病症；
- (6) 用於治療或預防與血清 C4 水平異常(例如升高)相關的病症或疾病。

【0092】在一些實施方案中，前述任何疾病或病症包括自身免疫性疾病、血管病症、缺血再灌注損傷、動脈硬化、炎症、肺部病症、體外再灌注過程、肌

肉骨骼病症、腎臟病症、皮膚病症、器官或組織移植過程、神經系統疾病或損傷、血液疾病、泌尿生殖系統疾病、非肥胖型糖尿病或與 1 型或 2 型糖尿病相關併發症、癌症、內分泌疾病、眼科疾病或 COVID-19(新冠肺炎)。

【0093】 在一些具體的實施方案中，該自身免疫性疾病包括血栓性微血管病(TMA)、非典型溶血性尿毒癥綜合症(aHUS)、造血移植相關的血栓性微血管病(TA-TMA)、狼瘡腎炎、系統性紅斑狼瘡(SLE)和 IgA 腎病。

【0094】 在一些具體的實施方案中，該血管病症血管病症包括心血管病症、腦血管病症、外周(如肌肉骨骼)血管病症、腎血管病症、腸系膜/腸道血管病症、移植物和/或再移植物的血管再生、血管炎、亨-舍二氏紫癜性腎炎、系統性紅斑狼瘡相關的血管炎、與類風濕性關節炎相關的血管炎、免疫複合物血管炎、大動脈炎、擴張型心肌病、糖尿病血管病、川崎病(動脈炎)、靜脈氣體栓塞(VGE)，以及支架置入術、旋轉動脈瘤切除術和經皮腔內冠狀動脈成形術(PTCA)後的再狹窄。

【0095】 在一些具體的實施方案中，該缺血再灌注損傷包括與主動脈瘤修復、心肺轉流、與器官移植和/或肢體/手指再植有關的血管再吻合、中風、心肌梗死和休克和/或外科手術後的血液動力學復蘇有關的缺血再灌注損傷。

【0096】 在一些具體的實施方案中，該炎症包括炎症性胃腸道疾病，其包括胰腺炎、克羅恩病、潰瘍性結腸炎、腸易激綜合症和憩室炎。

【0097】 在一些具體的實施方案中，該肺部病症包括急性呼吸窘迫綜合症、輸血相關性急性肺損傷、缺血/再灌注急性肺損傷、慢性阻塞性肺病、哮喘、韋格納肉芽腫病、抗腎小球基底膜病(Goodpasture 病)；胎糞吸入綜合症、閉塞性細支氣管炎綜合症、特發性肺纖維化、繼發於燒傷的急性肺損傷、非心源性肺水

腫、輸血相關呼吸困難、肺氣腫、囊性纖維化、SARS-CoV、MERS-CoV 和 SARS-CoV-2(Covid-19)相關疾病。

【0098】 在一些具體的實施方案中，該體外循環再灌注過程包括血液透析、血漿去除術、白細胞去除術、體外膜氧合(ECMO)、肝素誘導體外膜氧合低密度脂蛋白沉澱(heparin-induced exfracorporeal membrane oxygenation LDL precipitation, HELP)和心肺轉流術(CPB)。

【0099】 在一些具體的實施方案中，該肌肉骨骼病症包括骨關節炎、類風濕性關節炎、青少年類風濕性關節炎、痛風、神經性關節病、銀屑病性關節炎、脊椎關節病、結晶性關節病和系統性紅斑狼瘡(SLE)。

【0100】 在一些具體的實施方案中，該腎臟病症包括系膜增生型腎小球腎炎、膜性腎小球腎炎、膜性增生性腎小球腎炎(系膜毛細血管性腎小球腎炎)、急性感染後腎小球腎炎(鏈球菌感染後腎小球腎炎)、冷球蛋白血症性腎小球腎炎、狼瘡性腎炎、亨-舍二氏紫癜性腎炎和 IgA 腎病。

【0101】 在一些具體的實施方案中，該皮膚病症包括銀屑病、自身免疫性大疱性皮膚病、嗜酸性海綿形成、大疱性類天皰瘡、獲得性大疱性表皮松解、妊娠皰疹、熱燒傷和化學燒傷。

【0102】 在一些具體的實施方案中，該器官或組織移植過程包括器官異體移植、器官異種移植器官和組織移植。

【0103】 在一些具體的實施方案中，該神經系統疾病或損傷包括多發性硬化症、重症肌無力、亨廷頓氏病、肌萎縮性脊髓側索硬化、格林巴利綜合症、中風後再灌注(reperfusion following stroke)、退變性椎間盤、腦外傷、帕金森氏病、阿爾茨海默病、Miller-Fisher 綜合症、腦外傷和/或出血、脫髓鞘和腦膜炎。

【0104】 在一些具體的實施方案中，該血液病包括敗血症、嚴重敗血症、敗血症休克、敗血症引起的急性呼吸窘迫綜合症、全身炎症反應綜合症、失血性休克、溶血性貧血、自身免疫性血栓性血小板減少性紫癰和溶血性尿毒綜合症。

【0105】 在一些具體的實施方案中，該泌尿生殖系統病症包括疼痛性膀胱病、感覺性膀胱病、慢性非細菌性膀胱炎、間質性膀胱炎、不孕症、胎盤功能障礙和流產和子癰前症。

【0106】 在一些具體的實施方案中，該內分泌疾病包括橋本氏甲狀腺炎、壓力、焦慮和激素性疾病，涉及垂體的催乳素、生長素或其他胰島素樣生長因子和促腎上腺皮質激素的調節性釋放。

【0107】 在一些具體的實施方案中，該眼科疾病包括年齡相關性黃斑變性。

【0108】 本發明的治療方法包含向個體施用包含如本發明的特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體或其抗原結合片段的任何製劑、醫藥組成物或單位劑型。施用藥物製劑的個體可為例如需要此類治療的任何人類或非人類動物。

【0109】 四、其它

在一方面，本發明提供了編碼以上任何抗 MASP-2 抗體或其片段的核酸。在一個實施方案中，提供包含該核酸的載體。在一個實施方案中，載體是表達載體。在一個實施方案中，提供包含該載體的宿主細胞。在一個實施方案中，宿主細胞是真核的。在另一個實施方案中，宿主細胞選自酵母細胞、哺乳動物細胞或適用於製備抗體或其抗原結合片段的其它細胞。在另一個實施方案中，宿主細胞是原核的。

【0110】 在一個實施方案中，本發明提供製備抗 MASP-2 抗體或其片段(較佳的抗原結合片段)的方法，其中該方法包含在適於表達編碼該抗體或其片段(較佳的抗原結合片段)的核酸的條件下培養該宿主細胞，以及視需要地分離該抗體或其片段(較佳地抗原結合片段)。在某個實施方案中，該方法還包括從宿主細胞回收抗 MASP-2 抗體或其片段(較佳地抗原結合片段)。

【0111】 在一方面中，本發明涉及檢測樣品中 MASP-2 蛋白的方法，該方法包括(a)將樣品與本發明所述的任何抗 MASP-2 抗體製劑或本發明的抗體接觸；和(b)檢測抗 MASP-2 抗體或其片段和 MASP-2 蛋白間的複合物的形成。在一個實施方案中，抗 MASP-2 抗體是被可檢測地標記的。

【0112】 本發明還涵蓋本文所述的任何實施方案的任意組合。本文所述的任何實施方案或其任何組合適用於本文所述的發明的任何和所有製劑或抗 MASP-2 抗體或其片段、方法和用途。

【圖式簡單說明】

【0113】 圖 1 顯示 MASP-2 抗體阻斷補體 C3 的激活。

【0114】 圖 2 顯示 MASP-2 抗體阻斷補體 C4 的激活。

【0115】 圖 3 顯示 MASP-2 抗體阻斷 MAC 的形成。

【0116】 圖 4 顯示嵌合型和人源化 MASP-2 抗體阻斷補體 C3 的激活。

【0117】 圖 5 顯示 MASP-2 抗體 129C10-hu 和 OMS721-analog 在 2% 的人血清中阻斷補體 C4 的激活。

【0118】 圖 6 顯示 MASP-2 抗體 129C10-hu 和 OMS721-analog 在 2% 的人血清中阻斷 MAC 的形成。

【0119】圖 7 顯示 MASP-2 抗體在 1%人血清中阻斷 C3 激活。

【0120】圖 8 顯示 MASP-2 抗體在 10%人血清中阻斷 C3 激活。

【0121】圖 9 顯示 MASP-2 抗體在 50%的人血清中阻斷 C3 的激活。

【0122】圖 10 顯示 MASP-2 抗體在 10%的人血清中阻斷 C4 的激活。

【0123】圖 11 顯示了 MASP-2 抗體 129C10-hu 與 hMASP-2 的親和力動力學。

【0124】圖 12A 至圖 12E 顯示藉由 ELISA 檢測 MASP-2 抗體 129C10-Hu 與人 C1s(12A)、C1r(12B)、MASP1(12C)、MASP3(12D)和 MASP2(12E)的結合。

【0125】圖 13A 及圖 13B 顯示藉由 ELISA 檢測 MASP-2 抗體 129C10-hu(13A)和 OMS721-analog(13B)與人、食蟹猴、大鼠和小鼠 MASP2 的結合。

【0126】圖 14 顯示 MASP-2 抗體 129C10-hu 與食蟹猴 MASP-2 的交叉反應性。

【0127】圖 15 顯示 MASP-2 抗體 129C10-hu 中和三種補體激活途徑的選擇性。

【0128】圖 16A 及圖 16B 顯示 MASP-2 抗體 129C10-hu-WT(16A)和 129C10-hu-YTE(16B)與人 FcRn 的結合動力學曲線。

【0129】圖 17 顯示了 MASP-2 抗體 129C10-hu-WT 和 129C10-hu-YTE 在食蟹猴血清中的藥代動力學(PK)結果。

【0130】圖 18A 至圖 18C 顯示了 MASP-2 抗體 129C10-hu-WT 和 129C10-hu-YTE 在食蟹猴血清中的 PK 和藥效學(PD)結果。

【0131】圖 19 顯示了 129C10-hu 在第一次用藥後對猴血清 C4c 的降低作用。

【0132】圖 20 顯示了 129C10-hu 在第四個劑量後對猴血清 C4c 的降低作用。

【0133】圖 21 至圖 23 涉及用於篩選製劑最適 pH 值的 F12-F20 處方於高溫 40°C 條件下放置 14 天後的相關實驗結果。圖 21 所示為九個處方藉由 SEC 檢測 HMW% 的結果。圖 22 所示為九個處方藉由 NR CE-SDS 檢測 LMW% 的結果。圖 23 所示為九個處方藉由 CEX 檢測主峰、酸性峰和鹼性峰的百分比的結果。

【0134】圖 24 至圖 29 涉及用於篩選最適輔料的 F1-F5 處方的相關實驗結果。圖 24-圖 26 分別為五個處方於高溫 40°C 條件下放置 14 天後的 SEC、NR CE-SDS 和 CEX 結果。圖 27 所示為各處方在振搖 14 天條件下的 CEX 結果。圖 28 及圖 29 所示分別為各處方在攪拌 6 小時條件下的 CEX、NR CE-SDS 結果。

【0135】圖 30 至圖 32 涉及用於篩選最適表面活性劑的 F6-F11 處方的相關實驗結果。圖 30 所示為六個處方於高溫 40°C 條件下放置 14 天後的 SEC 結果。圖 31 及圖 32 所示分別為各處方在 100 rpm 攪拌 6 小時條件下藉由 NR CE-SDS 和 CEX 檢測穩定性結果。

【0136】圖 33 至圖 44 涉及用於篩選最適處方的 F31-F37 處方的相關實驗結果。圖 33 至圖 35 分別為七個處方於高溫 40°C 條件下放置 4-6 週後的 SEC、NR CE-SDS 和 CEX 結果。圖 36 至圖 38 分別為七個處方於 25°C 條件下放置 4-6 週後的 SEC、NR CE-SDS 和 CEX 結果。圖 39 至圖 41 分別為七個處方於光照 3 天條件下的 SEC、NR CE-SDS 和 CEX 結果。圖 42 至圖 44 分別為七個處方於 200 rpm 振搖條件下處理 10 天的 SEC、NR CE-SDS 和 CEX 結果。

發明詳述

定義

【0137】 除非另外規定，否則本文所使用的所有技術和科學術語具有與本發明所屬領域具有通常知識者通常所理解相同的含義。如本文所使用，當關於特定敘述數值或值範圍使用時，本文所用的術語“約”將與其聯用的數值浮動 $\pm 10\%$ 。舉例而言，如本文所使用，表述“約 100”包括 90 和 110 和其間的所有值(例如 90.5、95、101、105、109.95.....等)。對於比例而言，術語“約”用於限定所給出的比例的每個數字。例如，比例約 1:1 是指比例為 $0.9 \sim 1.1:0.9 \sim 1.1$ 。。

【0138】 儘管類似或等效於本文所描述的方法和材料的任何方法和材料可以用於本發明的實踐或測試中，但現描述示例性方法和材料。本說明書中所提及的所有專利、申請和非專利出版物均以全文引用的方式併入本文中。

【0139】 本文所用的術語“患者”是指可受益於本發明的難溶性抗腫瘤活性劑的哺乳動物和非哺乳動物個體。哺乳動物是指哺乳類的任何成員，其包括但不限於：人；非人靈長類動物，如黑猩猩及其它猿類和猴類物種；農場動物，如牛、馬、綿羊、山羊和豬；家畜，如兔、狗和貓；實驗室動物，包括齧齒類動物，如大鼠、小鼠和豚鼠；等等。非哺乳動物的例子包括但不限於鳥等。術語“患者”並不限定特定的年齡或性別。在一些實施方案中，該“患者”是人。

【0140】 如無特別說明，本文中“施用”和“給藥”可互換使用。

【0141】 如本文所用，術語“按體積計的重量百分比”或“%w/v”表示單一組分相對於含有該組分的混合物的總體積的百分比重量(以克計)。例如，總體積 8ml 中的 500mg 組分為 6.25%w/v，總體積 5ml 中的 500mg 組分為 10%w/v。

【0142】 本文所用的術語“抗體”包括任何與特定抗原結合的免疫球蛋白、單株抗體、多株抗體、多價抗體、二價抗體、單價抗體、多特異性抗體、或雙特異性抗體。天然的完整抗體包含兩條重鏈(H)和兩條輕鏈(L)。哺乳動物的重鏈分

為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ ，每個重鏈由一個可變區(V_H)和第一、第二和第三恆定區(分別為 C_{H1} 、 C_{H2} 、 C_{H3})組成。哺乳動物的輕鏈分為 λ 和 κ ，而每條輕鏈由一個可變區(V_L 代表 λ 輕鏈，或 V_K 代表 κ 輕鏈)和一個恆定區(C_L 代表 λ 輕鏈或 C_K 代表 κ 輕鏈)組成。抗體呈 "Y" 形，Y 的莖部由兩條重鏈的第二和第三恆定區組成，藉由二硫鍵結合在一起。Y 的每個臂包括一個重鏈的可變區和第一恆定區與一個輕鏈的可變區和恆定區結合。輕鏈和重鏈的可變區負責抗原結合。兩條鏈的可變區通常包含三個高度可變的環，稱為互補性決定區(CDR)(輕鏈 CDR 包括 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，重鏈 CDR 包括 HCDR1、HCDR2、HCDR3)。本文所揭露的抗體和抗原結合片段的 CDR 邊界可以按照 Kabat、IMGT、Chothia 或 Al-Lazikani 的慣例來定義或識別(Al-Lazikani, B., Chothia, C., Lesk, A. M., J. Mol. Biol., 273(4), 927 (1997); Chothia, C. *et al.*, J Mol Biol. Dec 5;186(3):651-63 (1985); Chothia, C. and Lesk, A.M., J.Mol.Biol., 196,901 (1987); Chothia, C. *et al.*, Nature. Dec 21-28;342(6252):877-83 (1989); Kabat E.A. *et al.*, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))。三個 CDR 散佈在四個被稱為框架區(FR)的側翼之間，後者比 CDR 更高度保守，形成一個支架來支持高變異環。重鏈和輕鏈的恆定區域不參與抗原結合，但表現出各種效應子功能。根據其重鏈恆定區的胺基酸序列，抗體分為不同的類別。抗體的五個主要類別或同型是 IgA、IgD、IgE、IgG 和 IgM，它們的特點是分別包含 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 重鏈。幾個主要的抗體類別又分為幾個亞類，如 IgG1 ($\gamma 1$ 重鏈)，IgG2($\gamma 2$ 重鏈)，IgG3($\gamma 3$ 重鏈)，IgG4($\gamma 4$ 重鏈)，IgA1($\alpha 1$ 重鏈)，或 IgA2($\alpha 2$ 重鏈)。

【0143】 本文所用的術語 "二價"是指具有兩個抗原結合位點的抗體或抗原結合片段；術語 "單價"是指僅具有一個單一抗原結合位點的抗體或抗原結合

片段；而術語 "多價"是指具有多個抗原結合位點的抗體或抗原結合片段。在一些實施方案中，本發明的抗體或其抗原結合片段是二價的。

【0144】 在本文中，"雙特異性"抗體指的是一種人工抗體，它有來自兩個不同的單株抗體的片段，能夠與兩個不同的表位結合。這兩個表位可以出現在同一個抗原上，或者它們可以出現在兩個不同的抗原上。

【0145】 本文所用的術語 "抗原結合片段"是指由抗體的包含 1、2 或 3 個 CDR 的一部分形成的抗體片段，或任何其他能夠與抗原結合但不包含完整天然抗體結構的抗體片段。抗原結合片段的例子包括但不限於雙體抗體 diabody、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv 片段、二硫鍵穩定的 Fv 片段(dsFv)、(dsFv)₂、雙特異性 dsFv(dsFv-dsFv')、二硫鍵穩定的雙體抗體(ds Diabody)。單鏈抗體分子(scFv)，scFv 二聚體(二價雙體抗體)，雙特異性抗體，多特異性抗體，駱駝單域抗體，奈米抗體，域抗體和二價域抗體。抗原結合片段能夠與母體抗體所結合的相同抗原結合。

【0146】 "Fab"對於抗體而言，是指由一條輕鏈(包括可變區和恆定區)藉由二硫鍵與一條重鏈的可變區和第一恆定區結合而成的抗體部分。

【0147】 "Fab'"是指包括部分鉸鏈區的 Fab 片段。

【0148】 "F(ab')₂"是指 Fab'的二聚體。"Fv"對於一個抗體來說指的是抗體的具有完整的抗原結合部位的最小片段。一個 Fv 片段由單個輕鏈的可變區和單個重鏈的可變區結合組成。

【0149】 "dsFv"是指一個二硫鍵穩定的 Fv 片段，其單一輕鏈的可變區和單一重鏈的可變區之間的連接是二硫鍵。在一些實施方案中，"(dsFv)₂"或"(dsFv-dsFv')"包括三個肽鏈：兩個 V_H 部分藉由肽接頭(例如長的柔性接頭)連接並分別

藉由二硫橋與兩個 V_L 部分結合。在一些實施方案中，dsFv-dsFv'是雙特異性的，其中每個二硫鍵配對的重鏈和輕鏈具有不同的抗原特異性。

【0150】 "單鏈 Fv 抗體 "或 "scFv"是指由一個輕鏈可變區和一個重鏈可變區直接或經由肽接頭序列相互連接的工程抗體(Huston JS 等，Proc Natl Acad Sci USA, 85:5879(1988))。

【0151】 "Fc"對於抗體來說是指由第一重鏈的第二和第三恆定區藉由二硫鍵與第二重鏈的第二和第三恆定區結合而成的抗體部分。抗體的 Fc 部分負責各種效應子功能，如抗體依賴性細胞介導的細胞毒性(ADCC)和補體依賴性細胞毒性(CDC)，但不具有抗原結合功能。

【0152】 "單鏈 Fv-Fc 抗體 "或 "scFv-Fc "是指由連接到抗體 Fc 區的 scFv 組成的工程化抗體。

【0153】 “駱駝單域抗體”、“重鏈抗體”或“HCAb”是指包含兩個 V_H 結構域而沒有輕鏈的抗體(Riechmann L. and Muyldermans S., J Immunol Methods. Dec 10;231(1-2):25-38 (1999); Muyldermans S., J Biotechnol. Jun;74(4):277-302 (2001); WO94/04678; WO94/25591; U.S. Patent No. 6,005,079)。重鏈抗體最初源自駱駝科(駱駝、單峰駝和美洲駝)。雖然沒有輕鏈，但駱駝化的抗體有可靠的抗原結合區(Hamers-Casterman C. *et al.*, Nature. Jun 3;363(6428):446-8 (1993); Nguyen VK. *et al.* “Heavy-chain antibodies in Camelidae; a case of evolutionary innovation,” Immunogenetics. Apr;54(1):39-47 (2002); Nguyen VK. *et al.* Immunology. May;109(1):93-101 (2003))。重鏈抗體的可變結構域(VHH 結構域)代表了由適應性免疫反應產生的最小的已知抗原結合單元(Koch-Nolte F. *et al.*, FASEB J. Nov;21(13):3490-8. Epub 2007 Jun 15 (2007))。

【0154】“奈米抗體”是指由一個重鏈抗體的 VHH 結構域和兩個恆定結構域(CH2 和 CH3)組成的抗體片段。

【0155】“雙體抗體”或 "dAb "包括具有兩個抗原結合位點的小抗體片段，其中該片段包含一個 V_H 結構域與同一多肽鏈上的 V_L 結構域相連(V_H-V_L 或 V_L-V_H)(例如，見 Holliger P. *et al.*, Proc Natl Acad Sci U S A. Jul 15;90(14):6444-8 (1993); EP404097; WO93/11161)。藉由使用太短的連接子，使同一鏈上的兩個結構域之間配對，結構域被迫與另一鏈的互補結構域配對，從而產生兩個抗原結合位點。這些抗原結合位點可以針對相同或不同的抗原(或表位)。在某些實施方案中，“雙特異性 ds 雙體抗體”是針對兩種不同抗原(或表位)的雙體抗體。在某些實施方案中，“scFv 二聚體”是一種二價雙體抗體或二價 ScFv(BsFv)，其包含 V_H-V_L (由肽接頭連接)與另一個 V_H-V_L 分子二聚化，從而一個部分的 V_H與另一個部分的 V_L配合並形成兩個結合位點，其可針對相同抗原(或表位)或不同抗原(或表位)。在其他實施方案中，“scFv 二聚體”是一種雙特異性雙體抗體，包括與 V_{L1}-V_{H2}(由肽接頭連接)相締合的 V_{H1}-V_{L2}(由肽接頭連接)，這樣 V_{H1} 和 V_{L1} 配合，V_{H2} 和 V_{L2} 配合，每個配合配對具有不同抗原特異性。

【0156】“域抗體”是指只包含重鏈可變區或輕鏈可變區的抗體片段。在某些情況下，兩個或更多的 V_H 結構域與肽接頭共價連接，形成一個二價或多價結構域抗體。一個二價域抗體的兩個 V_H 域可以針對相同或不同的抗原。

【0157】本文所用的術語 "嵌合"是指一種抗體或抗原結合片段，其重鏈和/或輕鏈的一部分來自一個物種，重鏈和/或輕鏈的其餘部分來自另一個物種。在一個說明性的例子中，一個嵌合抗體可以包含來自人的恆定區，和來自非人動物

的可變區，如來自小鼠或大鼠。在一些實施方案中，非人動物是哺乳動物，例如，小鼠、大鼠、兔子、山羊、綿羊、豚鼠或倉鼠。

【0158】 本文所用的術語"人源化"是指該抗體或抗原結合片段包含來自非人動物的 CDR，來自人的 FR 區域，以及在適用時，來自人的恆定區。

【0159】 如本文所用，術語"MASP-2"是指與甘露聚糖結合凝集素相關的絲胺酸蛋白酶 2，它是補體系統 MBL 途徑中的一個重要成員。人、小鼠和食蟹猴 MASP-2 的胺基酸和核酸序列可以在公共數據庫諸如 GenBank、UniProt 和 Swiss-Prot 中找到。如本文所用，術語 MASP-2 包括包含突變的蛋白質，例如，全長野生型 MASP-2 的點突變、片段、插入、缺失和剪接變體。在某些實施方案中，人 MASP-2 蛋白包含 SEQ ID NO: 39 的胺基酸序列。在某些實施方案中，小鼠 MASP-2 蛋白包含 SEQ ID NO: 40 的胺基酸序列。在某些實施方案中，食蟹猴 MASP-2 蛋白包含 SEQ ID NO: 43 的胺基酸序列。在某些實施方案中，合成了包括小鼠 MASP-2 CUB1-EGF-CUB2 結構域(殘基 20-297)和人 MASP-2 CCP1-CCP2-SP 結構域(殘基 298-686)的嵌合 MASP-2 蛋白，其胺基酸序列為 SEQ ID NO: 42。

【0160】 本文所用的術語"特異性結合"或"特異地結合"是指兩個分子之間的非隨機性結合反應，諸如在抗體和抗原之間。在某些實施方案中，本文提供的抗體或抗原結合片段與人 MASP-2 特異性地結合，其結合親和力(K_D)為 $\leq 10^{-6}$ M(例如 $\leq 5 \times 10^{-8}$ M, $\leq 2 \times 10^{-8}$ M, $\leq 10^{-8}$ M, $\leq 5 \times 10^{-9}$ M, $\leq 2 \times 10^{-9}$ M, $\leq 10^{-9}$ M, $\leq 5 \times 10^{-10}$ M, $\leq 2 \times 10^{-10}$ M, $\leq 10^{-10}$ M, $\leq 5 \times 10^{-11}$ M, $\leq 2 \times 10^{-11}$ M, $\leq 10^{-11}$ M, $\leq 5 \times 10^{-12}$ M, $\leq 4 \times 10^{-12}$ M, $\leq 3 \times 10^{-12}$ M, $\leq 2 \times 10^{-12}$ M, or $\leq 10^{-12}$ M)。此處使用的 K_D 是指解離速率與締合速率的比值(k_{off}/k_{on})，可藉由使用本領域已知的任何常規方法確定，包括但不限於表面

電漿共振法、微尺度熱泳法、HPLC-MS 法、生物層干涉法和流式細胞儀(如 FACS)法。在某些實施方案中， K_D 值可以藉由使用 ForteBio 方法適當地確定。

【0161】 本文所用的"阻斷結合"或"競爭同一表位"的能力是指抗體或抗原結合片段對兩個分子(例如，MASP-2 蛋白和抗 MASP-2 抗體)之間的結合作用的抑制達到任何可檢測的程度。在某些實施方案中，阻斷兩個分子之間結合的抗體或抗原結合片段對兩個分子之間的結合作用的抑制程度為至少 50%，至少 60%，至少 70%，至少 75%，至少 80%，至少 85%，或至少 90%。在某些實施方案中，這種抑制可以大於 60%，大於 70%，大於 75%，大於 80%，大於 85%，或大於 90%。

【0162】 本文所用的術語"表位"是指抗體所結合的抗原上的特定原子或胺基酸組。如果兩個抗體表現出對抗原的競爭性結合，則它們可能結合相同或緊密相關的抗原表位。例如，如果一個抗體或抗原結合片段阻止參考抗體與抗原(如人/猴 MASP-2)的結合至少 50%，至少 60%，至少 70%，至少 75%，至少 80%，至少 85%，或至少 90%，那麼該抗體或抗原結合片段可被認為與參考抗體結合相同/緊密相關的表位。

【0163】 所屬技術領域中具有通常知識者將認識到，無需進行不必要的實驗就可能確定一種人單株抗體是否與本發明的抗體結合同一表位，只要藉由弄清前者是否阻止後者與 MASP-2 抗原多肽的結合。如果測試抗體與本發明的抗體競爭，如同表現為本發明的抗體與 MASP-2 抗原多肽的結合減少，那麼這兩種抗體結合到相同或緊密相關的表位。或者，如果測試抗體與 MASP-2 抗原多肽的結合被本發明的抗體所抑制，那麼這兩種抗體與相同或緊密相關的表位結合。

【0164】 本文中所用的術語“OMS721”是指 Omeros 公司的單抗 Narsoplimab (OMS721)，其完整結構記載於美國專利 US9011860B2 中，在中國專利申請號 CN201780051640.7 中揭露了 OMS721 抗體製劑，該專利藉由引用以其全文併入本文。OMS721 具有人 IgG4 的恆定區。OMS721 的重鏈序列如 SEQ ID NO: 32 所示，輕鏈序列如 SEQ ID NO: 33 所示。

【0165】 OMS721 的重鏈(hIgG4 kappa)(SEQ ID NO: 32)：

QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSGFSLSRGKMGVSWIRQPPGKALEWLAHI
FSSDEKSYRTSLKSRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYYCARIRRGID
YWGQGTlTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
 NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKV
 DKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQ
 EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
 YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG
 FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS
 CSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

【0166】 OMS721 的輕鏈(hIgG4 kappa)(SEQ ID NO: 33)：

QPVLTPPPSLSVSPGQTASITCSGKELGDKYAYWYQQKPGQSPVLVMYQDKQ
RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTAVFGGGTKLTV
 LRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
 SQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
 GEC

【0167】 關於胺基酸序列的"保守取代"是指將一個胺基酸殘基用具有類似理化性質的側鏈的不同胺基酸殘基來替代。例如，可以在具有疏水側鏈的胺基酸

殘基(如 Met、Ala、Val、Leu 和 Ile)之間，在具有中性親水側鏈的殘基(如 Cys、Ser、Thr、Asn 和 Gln)之間，具有酸性側鏈的殘基(如 Asp、Glu)，具有鹼性側鏈的胺基酸(如 His、Lys 和 Arg)，或具有芳香族側鏈的殘基(如 Trp、Tyr 和 Phe)之間進行保守取代。如本領域所知，保守取代通常不會引起蛋白質構象結構的顯著變化，因此可以保留蛋白質的生物活性。

【0168】 本文所用的術語 "同源物"和 "同源的"是可以互換的，指的是在最適比對時，與另一序列具有至少 80%(例如，至少 85%、88%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%)的核酸序列(或它的互補鏈)或胺基酸序列。

【0169】 關於胺基酸序列(或核酸序列)的 "序列同一性百分比(%)"是指在比對序列並在必要時引入空位以達到相同胺基酸(或核酸)的最大數量後，候選序列中與參考序列中的胺基酸(或核酸)殘基相同的胺基酸(或核酸)殘基的百分比。胺基酸殘基的保守取代可以被也可以不被視為相同的殘基。為了確定胺基酸(或核酸)序列同一性的百分比，可以使用公開的工具，例如 BLASTN、BLASTp(可在美國國家生物技術信息中心(NCBI)的網站上找到，另見 Altschul S.F. et al, J. Mol. Biol., 215:403–410 (1990); Stephen F. et al, Nucleic Acids Res., 25:3389–3402 (1997))，ClustalW2(可在歐洲生物信息學研究所的網站上找到，另見 Higgins D.G. et al, Methods in Enzymology, 266:383-402 (1996); Larkin M.A. et al, Bioinformatics (Oxford, England), 23(21): 2947-8 (2007))，以及 ALIGN 或 Megalign(DNASTAR)軟體來實現比對。所屬技術領域中具有通常知識者可以使用該工具提供的默認參數，也可以根據比對的情況訂製參數，例如，藉由選擇合適的算法。

【0170】 本文所用的 "治療"或"處理"病症包括預防或緩解一種病症，減緩一種病症的發病或發展速度，減少一種疾病的風險，預防或推遲與一種病症相關的症狀的發展，減少或結束與一種疾病相關的症狀，產生一種病症的完全或部分消退，治癒一種病症，或其一些組合。

【0171】 一種“分離的”物質已經被人力從其自然狀態中改變了。如果一種“分離的”成分或物質出現在自然界中，那麼它已經被改變或從其原來的環境中移除，或者兩種情況都是。例如，自然存在於活體動物中的多核苷酸或多肽不是“分離的”，但如果同一多核苷酸或多肽已經與自然狀態下的共存物質充分分開，從而以基本純淨的狀態存在，則是“分離的”。分離的“核酸”或“多核苷酸”可互換使用，指的是分離的核酸分子的序列。在某些實施方案中，“分離的抗體或其抗原結合片段”是指抗體或抗原結合片段的純度至少為 60%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%，如藉由電泳方法(如 SDS-PAGE、等電聚焦、毛細管電泳)或色譜方法(如離子交換色譜或反相 HPLC)所確定的。

【0172】 本文所用的術語 "載體"是指一種載體，編碼蛋白質的多核苷酸可以可操作地插入其中，以實現該蛋白質的表達。載體可用於轉化、轉導或轉染宿主細胞，以使其攜帶的遺傳元件在宿主細胞內得到表達。載體的實例包括質粒、噬菌體、黏粒、人工染色體，如酵母人工染色體(YAC)、細菌人工染色體(BAC)或 P1 衍生的人工染色體(PAC)，噬菌體，如 λ 噬菌體或 M13 噬菌體，以及動物病毒。用作載體的動物病毒類別包括逆轉錄病毒(包括慢病毒)、腺病毒、腺相關病毒、疱疹病毒(如單純疱疹病毒)、痘病毒、杆狀病毒、乳頭瘤病毒和乳頭多瘤空泡病毒(如 SV40)。載體可以包含各種控制表達的元件，包括啟動子序列、轉

錄起始序列、增強子序列、可選擇元件和報告基因。此外，載體還可以包含一個複製起點。載體還可以包含幫助其進入細胞的材料，包括但不限於病毒顆粒、脂質體或蛋白質包衣。載體可以是表達載體或選殖載體。本發明提供的載體(例如表達載體)含有本文提供的編碼抗體或其抗原結合片段的核酸序列、至少一個與核酸序列可操作連接的啟動子(例如 SV40、CMV、EF-1 α)以及至少一個選擇標記。載體的實例包括但不限於逆轉錄病毒(包括慢病毒)、腺病毒、腺相關病毒、疱疹病毒(如單純疱疹病毒)、痘病毒、杆狀病毒、乳頭瘤病毒、乳頭多瘤空泡病毒(如 SV40)、 λ 噬菌體和 M13 噬菌體、質粒 pcDNA3.3、pMD18-T、pOptivec、pCMV、pEGFP、pIRES、pQD-Hyg-GSeu、pALTER、pBAD、pcDNA、pCal、pL、pET、pGEMEX、pGEX、pCI、pEGFT、pSV2、pFUSE、pVITRO、pVIVO、pMAL、pMONO、pSELECT、pUNO、pDUO、Psg5L、pBABE、pWPXL、pBI、p15TV-L、pPro18、pTD、pRS10、pLexA、pACT2.2、pCMV-SCRIPT.RTM、pCDM8、pCDNA1.1/amp、pcDNA3.1、pRc/RSV、PCR 2.1、pEF-1、pFB、pSG5、pXT1、pCDEF3、pSVSPORT、pEF-Bos 等等。

【0173】 本文所用的 "宿主細胞 "是指引入了外源性多核苷酸和/或載體的細胞。

【0174】 補體系統與許多急性和慢性疾病或病症的發病機制有關，包括：心肌梗塞、中風、急性呼吸窘迫綜合症(ARDS)、再灌注損傷、敗血症休克、熱燒傷後的毛細血管滲漏、心肺旁路術後炎症、移植排斥、類風濕性關節炎、多發性硬化症、重症肌無力症和阿爾茨海默病。在幾乎所有這些疾病或病症中，補體不是病因，但是是參與發病機制的幾個因素之一。補體激活可能是一個主要的病理機制，代表了許多這些疾病狀態中臨床控制的有效點。MASP-2 參與 MBL 途

徑，即三大補體激活途徑之一，也可能參與許多疾病或狀態的發病機制。在一些實施方案中，與 MASP-2 依賴性補體激活有關的疾病或病症是自身免疫性疾病、血管病症、缺血再灌注損傷、動脈硬化、炎症、肺部病症、體外再灌注手術、肌肉骨骼病症、腎臟病症、皮膚病症、器官或組織移植手術、神經系統疾病或損傷、血液疾病、泌尿生殖系統病症、非肥胖型糖尿病或與 1 型或 2 型糖尿病相關的併發症、癌症、內分泌疾病或眼科病症。

【0175】 本文所用的術語"甘露聚糖結合凝集素"("MBL")等同於甘露聚糖結合蛋白("MBP")。術語 "膜攻擊複合物"("MAC"，也被稱為 C5b-9)是指由五種終末補體成分(C5-C9)組成的複合物，它插入並破壞細胞膜。

【0176】 本文所用的術語"自身免疫性疾病"是指一種病理生理狀態，其中免疫反應是針對人體自身組織的，並對其造成損害(自身免疫性)。自身免疫性疾病的實例，包括但不限於血栓性微血管病(TMA)、非典型溶血性尿毒癥(aHUS)、造血移植相關的血栓性微血管病(TA-TMA)、狼瘡腎炎、系統性紅斑狼瘡(SLE)和 IgA 腎病。

【0177】 本文所用的術語"腫瘤"是指是指機體在各種致瘤因子作用下，局部組織細胞增生所形成的新生物。

【0178】 術語 "藥學上可接受的 "表示指定的載體、稀釋劑、賦形劑和/或鹽通常與構成製劑的其他成分在化學上和/或物理上相容，並與接受者在生理上相容。

藥物製劑

【0179】 如本文所使用，術語"藥物製劑"意指至少一種活性成分(例如特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體或其抗原結合片段)與至少一種非活性成分的組

合，該非活性成分在與活性成分和/或一種或多種額外非活性成分組合時適用於治療性施用至人類或非人類動物。除非另外具體說明，否則如本文所使用的術語“製劑”意指“藥物製劑”。本發明提供包含至少一種治療性抗體的藥物製劑。根據本發明的某些實施方案，治療性抗體為特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體或其抗原結合片段。更具體地，本發明包括藥物製劑，其包含：(i)特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體或其抗原結合片段；(ii)包含組胺酸和/或醋酸緩衝體系的緩衝液；(iii)包含聚山梨酯的表面活性劑；和(iv)包含蔗糖、海藻糖和/或脯胺酸的輔料。如果額外組分不會顯著地干擾製劑的穩定性，則該組分可包括於本發明的製劑中。下文詳細描述本發明內所包括的具體示例性組分和製劑。

【0180】 在某些實施例中，本發明的藥物製劑為液體製劑。如本文所使用，表述“液體製劑”意指在約 2°C至約 40°C下主要以液體狀態存在的至少兩種組分的混合物。液體製劑可視其特定成分而具有低黏度、中等黏度或高黏度。

【0181】 如本文所用，術語“緩衝液”是指弱酸及其共軛鹼或弱鹼及其共軛酸的混合物。例如，如本文所用，“醋酸緩衝液”是指包含醋酸鈉以及其共軛酸醋酸的混合物。由於在弱酸與其共軛鹼之間建立了化學平衡，當向溶液中加入少量酸或鹼時，含有緩衝液的溶液抵抗 pH 值的突然變化。

【0182】 如本文所用，術語“質量滲透壓莫耳濃度”是指溶解的溶質顆粒在水溶液中的滲透壓的量度。溶質顆粒包括兩種離子以及非離子化分子。滲透壓表示為溶解在 1kg 溶劑(即水)中的滲透活性顆粒的濃度(即滲透壓莫耳)。本文以毫滲透壓莫耳/千克水(mOsm/kg)為單位表示質量滲透壓莫耳濃度。

【0183】本文中術語“輔料”意指添加至製劑中以提供期望稠度、黏度和/或穩定作用的任何非治療劑，本發明較佳的輔料包括但不限於海藻糖、蔗糖、和脯胺酸。

【0184】“粒徑(Diameter)”和“平均粒徑(Mean Diameter)”是指微粒製劑對應的強度體積徑，可以採用動態光散射儀例如激光粒度儀測得。

本發明的抗體

【0185】本發明的藥物製劑內所含有的抗體或其抗原結合片段的量可視製劑所期望的具體特性以及意圖使用製劑的特定情況和目的而變化。在某些實施例中，藥物製劑可含有約 0.1 mg/mL 至約 500 mg/mL 的抗體；約 0.5 mg/mL 至約 400 mg/mL 的抗體；約 1 mg/mL 至約 200 mg/mL 的抗體；約 2 mg/mL 至約 100 mg/mL；約 1 mg/mL 至約 5 mg/mL 的抗體；約 10 mg/mL 至約 30 mg/mL 的抗體；約 75 mg/mL 至約 125 mg/mL；約 5 mg/mL 至約 50 mg/mL；或約 2 mg/mL 至約 150 mg/mL 的抗體。舉例來說，本發明的製劑可為液體製劑，其包含約 0.5 mg/mL；約 1 mg/mL；約 2 mg/mL；約 3 mg/mL；約 4 mg/mL；約 5 mg/mL；約 6 mg/mL；約 7 mg/mL；約 8 mg/mL；約 9 mg/mL；約 10 mg/mL；約 11 mg/mL；約 12 mg/mL；約 13 mg/mL；約 14 mg/mL；約 15 mg/mL；約 16 mg/mL；約 17 mg/mL；約 18 mg/mL；約 19 mg/mL；約 20 mg/mL；約 21 mg/mL；約 22 mg/mL；約 23 mg/mL；約 24 mg/mL；約 25 mg/mL；約 26 mg/mL；約 27 mg/mL；約 28 mg/mL；約 29 mg/mL；約 30 mg/mL；約 35 mg/mL；約 40 mg/mL；約 45 mg/mL；約 50 mg/mL；約 55 mg/mL；約 60 mg/mL；約 65 mg/mL；約 70 mg/mL；約 75 mg/mL；約 80 mg/mL；約 85 mg/mL；約 90 mg/mL；約 95 mg/mL；約 96 mg/mL；約 97 mg/mL；約 98 mg/mL；約 99 mg/mL；約 100 mg/mL；約 101 mg/mL；約

102 mg/mL；約 103 mg/mL；約 104 mg/mL；約 105 mg/mL；約 110 mg/mL；約 115 mg/mL；約 120 mg/mL；約 125 mg/mL；約 130 mg/mL；約 135 mg/mL；約 140 mg/mL；約 145 mg/mL；約 150 mg/mL；約 155 mg/mL；約 160 mg/mL；約 165 mg/mL；約 170 mg/mL；約 175 mg/mL；約 180 mg/mL；約 185 mg/mL；約 190 mg/mL；約 195 mg/mL；或約 200 mg/mL 的特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體或其抗原結合片段。在某些實施例中，藥物製劑為液體製劑，其可含有 1 ± 0.1 mg/mL 至 200 ± 20 mg/mL 的抗體； 2 ± 0.2 mg/mL 至 100 ± 10 mg/mL 的抗體； 1 ± 0.5 mg/mL 至 30 ± 5 mg/mL 的抗體； 10 ± 1 mg/mL 至 30 ± 3 mg/mL 的抗體； 1 ± 0.1 mg/mL 至 3 ± 0.3 mg/mL 的抗體； 15 ± 1.5 mg/mL 至 25 ± 2.5 mg/mL 的抗體； 90 ± 5 mg/mL 至 110 ± 5 mg/mL 的抗體；或 150 ± 7.5 mg/mL 至 170 ± 7.5 mg/mL 的抗體。在一些實施方案中，藥物製劑含有 20 ± 2 mg/mL 的抗體。在一些實施方案中，藥物製劑含有 60 ± 6 mg/mL 的抗體。在一些實施方案中，藥物製劑含有 100 ± 10 mg/mL 的抗體。在一些實施方案中，藥物製劑含有 150 ± 15 mg/mL 的抗體。

生物等效物 11

【0186】本發明涵蓋具有與本文所揭露的示例性分子的胺基酸序列不同的胺基酸序列但保留人 MASP-2 特異性結合能力的抗體或其抗原結合片段。當相比於親本序列時，此類變異分子可包含胺基酸的一個或多個添加、缺失或取代，但仍展現與本文所論述的抗體的生物活性基本上等效的生物活性。

【0187】本發明包括與本文所闡述的示例性抗體中的任一者生物等效的抗原結合分子。舉例來說，如果兩種抗體為當在類似實驗條件下以相同劑量(單次劑量或多次劑量)施用時，吸收速率和吸收程度未顯示顯著差異的醫藥等效物

或醫藥替代物，則將其視為生物等效的。如果一些抗體在其吸收程度方面等效但在其吸收速率方面並不等效，則將其視為等效物或醫藥替代物，且仍可將其視為生物等效的，這是因為此類吸收速率方面的差異為既定的且反映在標籤中，對於在例如長期使用時達到有效體內藥物濃度並非必需的，且對於所研究的特定藥品在醫療上無關緊要。

【0188】 在一個實施例中，如果兩種抗體的安全性、純度和效力不存在臨床上有意義的差異，則該兩種抗體是生物等效的。

【0189】 在一個實施例中，如果患者可以在參考產品與生物學產品之間轉換一或多次且相比於不具有該轉換的持續療法，預期副作用風險沒有增加，則兩種抗體為生物等效的，該副作用包括臨床上顯著的免疫原性變化或經減弱的有效性。

【0190】 生物等效性可藉由體內和體外方法證明。生物等效性測量包括例如(a)人類或其它哺乳動物中的體內測試，其中測量血液、血漿、血清或其它生物流體中的抗體或其代謝物隨時間變化的濃度；(b)與人類體內生物可用性資料相關且合理地預測人類體內生物可用性資料的體外測試；(c)人類或其它哺乳動物中的體內測試，其中測量抗體(或其目標)隨時間變化的適當急性藥理學作用；和(d)建立抗原結合蛋白的安全性、功效或生物可用性或生物等效性的良好受控的臨床試驗。

製劑輔料和 pH

【0191】 本發明的藥物製劑包含一種或多種輔料。如本文所使用，術語“輔料”意指添加至製劑中以提供期望稠度、黏度和/或穩定作用的任何非治療劑。

【0192】 在某些實施例中，本發明的藥物配藥物製劑具有小於 30 cP 的黏度，這有利於從預填充注射器或自動注射器遞送組成物。在一些實施方案中，本發明的穩定的液體製劑具有約 1.0 cP-30cP 的黏度。在一些情況下，當使用動態光散射儀(DLS)測量時，藥物製劑在 25°C 下的黏度為小於 28 cP、小於 25 cP、小於 23 cP、小於 20 cP、小於 18 cP、小於 15 cP、小於 13 cP、小於 10 cP、小於 7 cP 或小於 5 cP，例如約 1.0 cP-10cP。在一個實施方案中，該液體製劑在 25°C 的黏度為約 1.0 cP-20cP。在一些實施方案中，當使用 DLS 測量時，藥物製劑在 25°C 下在至多 150 mg/ml 的抗體濃度下的黏度為小於 15 cP。在一個實施方案中，該液體製劑在 25°C 的黏度為約 1.0 cP-10cP。在一個實施方案中，該液體製劑在 25°C 的黏度為約 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0 或 10.0cP。在一些實施方案中，當使用 DLS 測量時，藥物製劑在 25°C 下在至多 150 mg/ml 的抗體濃度下的黏度為小於 7cP。在一個實施方案中，該液體製劑在 4-40°C 的黏度為約 5.0 cP-7.0cP。在一個實施方案中，該液體製劑在 4-40°C 的黏度為約 6.8cP。在一個實施方案中，該液體製劑在 25°C 的黏度為約 6.8cP。

【0193】 本發明的藥物製劑內所含有的輔料的量視使用製劑的具體情況和預期目的而變化。在某些實施例中，製劑可含有約 0.1% 至約 20% 輔料；約 0.5% 至約 20% 輔料；約 1% 至約 20% 輔料；約 2% 至約 15% 輔料；約 5% 至約 15% 輔料；約 7.5% 至約 12.5% 輔料；或約 9% 至約 11% 輔料。舉例而言，本發明的藥物製劑可包含約 0.5%、約 1.0%、約 1.5%、約 2.0%、約 2.5%、約 3.0%、約 3.5%、約 4.0%、約 4.5%、約 5.0%、約 5.5%、約 6.0%、約 6.5%、約 7.0%、約 7.5%、約 8.0%、約 8.5%、約 9.0%、約 9.5%、約 10.0%、約 10.5%、約 11.0%、約 11.5%、約 12.0%、約 12.5%、約 13.0%、約 13.5%、約 14.0%、約 14.5%、約 15% 或約

20%輔料(例如蔗糖)。在一些實施方案中，製劑含有約 $5.8\% \pm 0.5\%$ 輔料(例如蔗糖)。在一些實施方案中，製劑含有約 $6.0\% \pm 0.5\%$ 輔料(例如蔗糖)。在一些實施方案中，製劑含有約 $6.5\% \pm 0.5\%$ 輔料(例如蔗糖)。在一些實施方案中，製劑含有約 $7.0\% \pm 0.5\%$ 輔料(例如蔗糖)。在一些實施方案中，製劑含有約 $8.6\% \pm 0.5\%$ 輔料(例如蔗糖)。上述百分比中的每一者對應於重量/體積百分比(w/v)。在一些情況下，製劑含有 $5.5\% \pm 0.5\%$ 至 $9\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖。在一些情況下，製劑含有 $5.5\% \pm 0.5\%$ 至 $9\% \pm 0.5\%$ (w/v) 海藻糖。在一些情況下，製劑含有 200mM 至 300mM 脯胺酸。

製劑中的表面活性劑

【0194】 本發明的藥物製劑還可包含一種或多種表面活性劑，其類型和量應在如回轉式振盪的粗糙處置或攪動條件下特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體或其抗原結合片段穩定。如本文所使用，術語“表面活性劑”意指降低物質所溶解的流體的表面張力和/或降低油與水之間的界面張力的物質。表面活性劑可以是離子或非離子的。可包括於本發明的製劑中的示例性非離子表面活性劑包括例如烷基聚(環氧乙烷)、烷基多葡糖苷(例如辛基葡糖苷和癸基麥芽糖苷)、如鯨蠟醇和油醇的脂肪醇、椰油醯胺 MEA、椰油醯胺 DEA 和椰油醯胺 TEA。可包括於本發明的製劑中的具體非離子表面活性劑包括例如聚山梨酯，如聚山梨酯 20、聚山梨酯 28、聚山梨酯 40、聚山梨酯 60、聚山梨酯 65、聚山梨酯 80、聚山梨酯 81 和聚山梨酯 85；泊洛沙姆(poloxamer)，如泊洛沙姆 188(也稱為 Pluronic F68)、泊洛沙姆 407；聚乙烯-聚丙二醇；或聚乙二醇(PEG)。聚山梨酯 20 也稱為 TWEEN 20、脫水山梨糖醇單月桂酸酯和聚氧乙烯脫水山梨糖醇單月桂酸酯。在一些實施方案中，表面活性劑為聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20，較佳聚山梨酯 80。

【0195】 本發明的藥物製劑內所含有的表面活性劑的量可視製劑所期望的具體特性以及意圖使用製劑的特定情況和目的而變化。在某些實施例中，製劑可含有約 0.01% 至約 1% 表面活性劑；約 0.01% 至約 0.5% 表面活性劑；約 0.05% 至約 0.15%；約 0.08% 至約 0.12%；或約 0.09% 至約 0.11% 表面活性劑。舉例來說，本發明的製劑可包含約 0.01%；約 0.02%；約 0.03%；約 0.04%；約 0.05%；約 0.06%；約 0.07%；約 0.08%；約 0.09%；約 0.10%；約 0.11%；約 0.12%；約 0.13%；約 0.14%；約 0.15%；約 0.16%；約 0.17%；約 0.18%；約 0.19%；約 0.20%；約 0.21%；約 0.22%；約 0.23%；約 0.24%；約 0.25%；約 0.26%；約 0.27%；約 0.28%；約 0.29%；或約 0.30% 表面活性劑(例如聚山梨酯 80)。在一些實施方案中，製劑含有約 0.1% 表面活性劑(例如聚山梨酯 80)。上述百分比中的每一者對應於重量/體積百分比(w/v)。在一些情況下，製劑含有 $0.025\% \pm 0.01\%$ 至 $0.1\% \pm 0.01\%$ w/v 聚山梨酯 80。在一些情況下，製劑含有 $0.05\% \pm 0.01\%$ w/v 聚山梨酯 80。

製劑的緩衝體系和 pH

【0196】 本發明的藥物製劑還可包含用於維持穩定 pH 且用於幫助穩定特异性結合至人 MASP-2 的單株抗體或其抗原結合片段的緩衝液或緩衝液系統。在一些實施方案中，緩衝液或緩衝液系統包含緩衝範圍完全或部分覆蓋 pH 4.7 至 6.1 的範圍的至少一種緩衝液。在某些實施例中，緩衝液包含組胺酸緩衝液和/或醋酸緩衝液。在某些實施例中，緩衝液(例如組胺酸)以約 1 mM 至約 40 mM、約 1 mM 至約 30 mM、約 1 mM 至約 20 mM；約 3 mM 至約 18 mM、約 5 mM 至約 15 mM；或約 8 mM 至約 12 mM 的濃度存在。在一些實施方案中，緩衝液(例如組胺酸)以約 1 mM；約 2 mM；約 3 mM；約 4 mM；約 5 mM；約 6 mM；約 7

mM；約 8 mM；約 9 mM；約 10 mM；約 11 mM；約 12 mM；約 13 mM；約 14 mM；約 15 mM；約 16 mM；約 17 mM；約 18 mM；約 19 mM；或約 20 mM 的濃度存在。在一些情況下，製劑含有濃度為 $5\text{ mM} \pm 1\text{ mM}$ 至 $20\text{ mM} \pm 4\text{ mM}$ 的組胺酸緩衝液。在一些情況下，製劑含有濃度為 $10\text{ mM} \pm 2\text{ mM}$ 的組胺酸緩衝液。在一些實施方案中，組胺酸緩衝液包含 L-組胺酸和一水合 L-組胺酸鹽酸鹽。在一些情況下，組胺酸緩衝液包含濃度為 0.175 mg/mL 的 L-組胺酸和濃度為 1.86 mg/mL 的一水合 L-組胺酸鹽酸鹽。

【0197】 在一些實施方案中，製劑含有醋酸緩衝液。在一些實施方案中，緩衝液(例如醋酸)以約 1 mM 至約 40 mM、約 1 mM 至約 30 mM、約 1 mM 至約 20 mM；約 3 mM 至約 18 mM、約 5 mM 至約 15 mM；或約 8 mM 至約 12 mM 的濃度存在。在一些實施方案中，緩衝液(例如醋酸)以約 1 mM；約 2 mM；約 3 mM；約 4 mM；約 5 mM；約 6 mM；約 7 mM；約 8 mM；約 9 mM；約 10 mM；約 11 mM；約 12 mM；約 13 mM；約 14 mM；約 15 mM；約 16 mM；約 17 mM；約 18 mM；約 19 mM；或約 20 mM 的濃度存在。在一些情況下，製劑含有濃度為 $5\text{ mM} \pm 1\text{ mM}$ 至 $20\text{ mM} \pm 4\text{ mM}$ 的醋酸緩衝液。在一些情況下，製劑含有濃度為 $10\text{ mM} \pm 2\text{ mM}$ 的醋酸緩衝液。在一些實施方案中，醋酸緩衝液包含醋酸和三水合醋酸鈉。在一些情況下，組胺酸緩衝液包含濃度為 10 mM 的組胺酸鹽。

【0198】 在抗體純化過程中，可能期望或有必要將一種緩衝液交換為另一種，以達成合適的賦形劑濃度、抗體濃度、pH 等。可以例如藉由使用例如半透切向流過濾膜的超過濾/透濾作用(UF/DF)來完成緩衝液交換。然而，使用此類技術有可能引起吉布斯-唐南效應(Gibbs-Donnan effect)(Bolton 等人, 2011, 《生物技術進展(Biotechnol. Prog.)》 27(1):140-152)。在蛋白質濃縮過程中，膜的產品側上

正電荷的積累藉由正離子優先向膜的對側移動而在電學上得到配衡。此現象的潛在後果是，由於在 UF/DF 步驟期間帶正電荷的透濾緩衝賦形劑對帶正電荷的抗體蛋白的靜電排斥，因此某些組分(例如組胺酸)的最終濃度可能低於這些組分的預期目標濃度。因此，本發明包括以下製劑，其中由於吉布斯-唐南效應，例如組胺酸/醋酸的濃度在本文所敘述的量或範圍內變化。

【0199】 體積排阻描述了高濃度樣品的特性，其中溶液總體積中的很大一部分被溶質佔據，尤其是大分子(如蛋白質)，使溶劑排除在此空間之外。隨後，此減少了可用於溶解其它溶質的溶劑的總體積，其可能會導致超過濾膜分配不均。因此，本發明包括製劑，其中由於體積排阻效應，例如組胺酸的濃度可在本文所敘述的量或範圍內變化。

【0200】 在製造本發明製劑期間，製劑的組成可能發生變化。這些變化可包括活性成分的濃度、賦形劑的濃度和/或製劑的 pH。本發明包括包含特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體或其抗原結合片段的製劑，該特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體或其抗原結合片段是穩定的且在賦形劑濃度變化高達至少 10%的情況下保留效力。舉例來說，本文包括特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體或其抗原結合片段製劑，其中該製劑的穩定性和效力不受抗體、輔料、緩衝液和/或表面活性劑的濃度的 $\pm 10\%$ 或 $\pm 20\%$ 變化影響。

藥物製劑的穩定性

【0201】 本發明的藥物製劑展現高水準的穩定性。如本文所使用的關於藥物製劑的術語“穩定”意指藥物製劑內的抗體在儲存限定時間量之後保留可接受程度的結構和/或功能和/或生物活性。即使製劑中所含有的抗體在儲存限定時間量之後無法維持 100%的其結構和/或功能和/或生物活性，該製劑仍可為穩定的。

在某些情況下，約 90%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%或約 99%的抗體在儲存限定時間量之後的結構和/或功能和/或生物活性的維持可視為“穩定的”。

【0202】 在一些實施方案中，本發明的穩定的液體製劑具有 2-10 μm 的平均粒徑，如藉由微流成像系統(MFI)所測定的。

【0203】 在一些實施方案中，本發明的穩定的液體製劑具有 250~350 mOsm/kg H_2O 之間的質量滲透壓莫耳濃度。

【0204】 在一些實施方案中，穩定性可尤其藉由測定在給定溫度下儲存限定時間量之後製劑中抗體的蛋白含量(濃度)來測量。當本文使用“可接受的穩定度”時，該短語意指可在給定溫度下儲存限定時間量之後在製劑中檢測到抗體的蛋白含量變化不超過 10%。在某些實施例中，可在給定溫度下儲存限定時間量之後在製劑中檢測到抗體的蛋白含量變化不超過 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更少。測量穩定性之前的限定時間量可為至少 3 天、至少 5 天、至少 1 週、至少 10 天、至少 2 週、至少 3 週、至少 4 週、至少 5 週、至少 6 週、至少 3 個月、至少 4 個月、至少 5 個月、至少 6 個月、至少 7 個月、至少 8 個月、至少 9 個月、至少 10 個月、至少 11 個月、至少 12 個月、至少 24 個月、至少 36 個月或更長時間。當評定穩定性時藥物製劑可儲存的溫度可為約-80°C至約 45°C的任何溫度，例如儲存在約-80°C、約-30°C、約-20°C、約 0°C、約 4°C-8°C、約 5°C、約 25°C、約 35°C、約 37°C、約 40°C或約 45°C下。舉例來說，如果在 4°C下儲存 3 個月後，在製劑中檢測到抗體的蛋白含量變化不超過 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更少，則藥物製劑可視為穩定的。如果在 4°C下儲存 6 個月後，在製劑中檢測到抗體的蛋白含量變化不超過 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更少，則藥物製劑也可視為穩定

的。如果在 4°C 下儲存 9 個月後，在製劑中檢測到抗體的蛋白含量變化不超過 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1% 或更少，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在 4°C 下儲存 12 個月後，在製劑中檢測到抗體的蛋白含量變化不超過 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1% 或更少，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在 4°C 下儲存 24 個月後，在製劑中檢測到抗體的蛋白含量變化不超過 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1% 或更少，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在 4°C 下儲存 36 個月後，在製劑中檢測到抗體的蛋白含量變化不超過 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1% 或更少，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在 25°C 下儲存 2 週後，在製劑中檢測到抗體的蛋白含量變化不超過 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1% 或更少，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在 25°C 下儲存 1 個月後，在製劑中檢測到抗體的蛋白含量變化不超過 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1% 或更少，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在 25°C 下儲存 4 週後，在製劑中檢測到抗體的蛋白含量變化不超過 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1% 或更少，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在 25°C 下儲存 6 週後，在製劑中檢測到抗體的蛋白含量變化不超過 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1% 或更少，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在 40°C 下儲存 2 週後，在製劑中檢測到抗體的蛋白含量變化不超過 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1% 或更少，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在 40°C 下儲存 4 週後，在製劑中檢測到抗體的蛋白含量變化不超過 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1% 或更少，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在 40°C 下儲存 6 週後，在製

劑中檢測到抗體的蛋白含量變化不超過 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更少，則藥物製劑也可視為穩定的。

【0205】 在一些實施方案中，穩定性可尤其藉由測定在給定溫度下儲存限定時間量之後製劑中抗體的單體純度百分比來測量。抗體的單體純度尤其可以藉由尺寸排阻色譜法(例如尺寸排阻高效液相色譜法(SEC-HPLC))來測定。當本文使用“可接受的穩定度”時，該短語意指可在給定溫度下儲存限定時間量之後在製劑中檢測到抗體的單體純度至少 90%。在某些實施例中，可在給定溫度下儲存限定時間量之後在製劑中檢測到抗體的單體純度至少約 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%。測量穩定性之前的限定時間量可為至少 3 天、至少 5 天、至少 1 週、至少 10 天、至少 2 週、至少 3 週、至少 4 週、至少 5 週、至少 6 週、至少 3 個月、至少 4 個月、至少 5 個月、至少 6 個月、至少 7 個月、至少 8 個月、至少 9 個月、至少 10 個月、至少 11 個月、至少 12 個月、至少 24 個月、至少 36 個月或更長時間。當評定穩定性時藥物製劑可儲存的溫度可為約-80°C至約 45°C的任何溫度，例如儲存在約-80°C、約-30°C、約-20°C、約 0°C、約 4°C-8°C、約 5°C、約 25°C、約 35°C、約 37°C、約 40°C或約 45°C下。舉例來說，如果在 4°C下儲存 3 個月後，藉由 SEC-HPLC 檢測到抗體的單體純度大於約 90%、95%、96%或 97%，則藥物製劑可視為穩定的。如果在 4°C下儲存 6 個月後，藉由 SEC-HPLC 檢測到抗體的單體純度大於約 90%、95%、96%或 97%，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在 4°C下儲存 9 個月後，藉由 SEC-HPLC 檢測到抗體的單體純度大於約 90%、95%、96%、96.5%、97%、97.5%、98%、98.5%、99%或 99.5%，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在 4°C下儲存 12 個月後，藉由 SEC-HPLC 檢測到抗體的單體純度大於約 90%、95%、

96%、96.5%、97%、97.5%、98%、98.5%、99%或99.5%，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在4°C下儲存24個月後，藉由SEC-HPLC檢測到抗體的單體純度大於約90%、95%、96%、96.5%、97%、97.5%、98%、98.5%、99%或99.5%，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在4°C下儲存36個月後，藉由SEC-HPLC檢測到抗體的單體純度大於約90%、95%、96%、96.5%、97%、97.5%、98%、98.5%、99%或99.5%，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在25°C下儲存2週後，藉由SEC-HPLC檢測到抗體的單體純度大於約90%、95%、96%、96.5%、97%、97.5%、98%、98.5%、99%或99.5%，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在25°C下儲存1個月後，藉由SEC-HPLC檢測到抗體的單體純度大於約90%、95%、96%、96.5%、97%、97.5%、98%、98.5%、99%或99.5%，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在25°C下儲存4週後，藉由SEC-HPLC檢測到抗體的單體純度大於約90%、95%、96%、96.5%、97%、97.5%、98%、98.5%、99%或99.5%，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在25°C下儲存6週後，藉由SEC-HPLC檢測到抗體的單體純度大於約90%、95%、96%、96.5%、97%、97.5%、98%、98.5%、99%或99.5%，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在40°C下儲存2週後，藉由SEC-HPLC檢測到抗體的單體純度大於約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%或98%，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在40°C下儲存4週後，藉由SEC-HPLC檢測到抗體的單體純度大於約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%或98%，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在40°C下儲存6週後，藉由SEC-HPLC檢測到抗體的單體純度大於約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%或98%，則藥物製劑也可視為穩定的。

【0206】 在其他的實施方案中，使用其它方法以評定本發明的製劑的穩定性，如用以測定溶液混濁度的在約 405 nm 或約 350 nm 處的吸光度、用以測定熱穩定性的差示掃描熱量測定(DSC)和用以測定機械穩定性的受控攪動。舉例來說，如果在約 4°C至約 25°C下儲存 6 週或更長時間後，本發明的製劑的 OD405 相對於 t=0 時製劑的 OD405 的變化小於約 0.05(例如 0.04、0.03、0.02、0.01 或更小)，則製劑可視為穩定的。

【0207】 在一些實施方案中，可以藉由檢測製劑的外觀、可見異物，來指示儲存後製劑的穩定性。在一個具體的實施方案中，在儲存後，藉由目視檢查本發明液體製劑的穩定性，其中本發明液體製劑在外觀上保持為澄清至微乳光，為無色至淡黃色液體，且無異物。在一個實施方案中，在澄明度檢測儀下目視檢查，製劑中無可見異物存在。

【0208】 在其他的實施方案中，藉由測量抗體與其目標的結合親和力評定穩定性。舉例來說，如果在例如-80°C、-30°C、-20°C、5°C、25°C、37°C、40°C 或 45°C等溫度下儲存限定時間量(例如 7 天至 12 個月、24 個月或 36 個月)後，本發明的製劑內所含有的特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體或其抗原結合片段以抗體在該儲存之前的結合親和力的至少 80%、85%、90%、95%或更多親和力結合至人 MASP-2，則製劑可視為穩定的。結合親和力可藉由如 ELISA 或電漿共振的任何方法來測定。生物活性可藉由 MASP-2 活性分析來測定，例如藉由使表達 MASP-2 的細胞與包含特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體或其抗原結合片段的製劑接觸。抗體與此類細胞的結合可如經由 FACS 分析來直接測量。

【0209】 在一些實施方案中，穩定性可以藉由測定在限定條件下儲存限定時間量之後在製劑內形成聚集物(高分子量(HMW))的抗體的百分比來測量，其中

穩定性與所形成的聚集物百分比成反比。經聚集的抗體的百分比可尤其藉由尺寸排阻色譜法(例如尺寸排阻高效液相色譜法(SEC-HPLC))來測定。當本文使用“可接受的穩定度”時，該短語意指至多 6%的抗體呈在給定溫度下儲存限定時間量之後在製劑中檢測到的聚集形式。在某些實施例中，可接受的穩定度意指可在給定溫度下儲存限定時間量之後在製劑中的聚集物中檢測到至多約 6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或 0.1%的抗體。測量穩定性之前的限定時間量可為至少 3 天、至少 5 天、至少 1 週、至少 10 天、至少 2 週、至少 3 週、至少 4 週、至少 5 週、至少 6 週或更長時間。當評定穩定性時藥物製劑可儲存的溫度可為約 -80°C至約 45°C的任何溫度，例如儲存在約-80°C、約-30°C、約-20°C、約 0°C、約 4°C-8°C、約 5°C、約 25°C、約 35°C、約 37°C、約 40°C或約 45°C下。舉例來說，如果在 40°C下儲存 6 週後，檢測到小於約 10%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1.75%、1.5%、1.25%、1%、0.75%、0.5%、0.25%或 0.1%呈聚集形式的抗體，則藥物製劑可視為穩定的。如果在 25°C度下儲存 6 週後，檢測到小於約 10%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1.75%、1.5%、1.25%、1%、0.75%、0.5%、0.25%或 0.1%呈聚集形式的抗體，則藥物製劑也可視為穩定的。

【0210】 在一些實施方案中，穩定性可尤其藉由測定在離子交換期間在比抗體的主要沖提份(“主要電荷形式”)更具酸性的沖提份(“酸性形式”)中遷移的抗體的百分比來測量，其中穩定性與呈酸性形式的抗體的分數成反比。“酸化”抗體的百分比可藉由離子交換色譜法(例如陽離子交換高效液相色譜法(CEX-HPLC))或全柱成像毛細管等電聚焦電泳法(icIEF)來測定。當本文使用“可接受的穩定度”時，該短語意指至多 52%的抗體呈在限定溫度下儲存限定時間量之後在製劑中檢測到的較具酸性形式。在某些實施例中，可接受的穩定度意指可在給定溫度下

儲存限定時間量之後在製劑中檢測到至多約 52%、50%、45%、40%、35%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或 0.1%呈酸性形式的抗體。測量穩定性之前的限定時間量可為至少 2 週、至少 28 天、至少 1 個月、至少 2 個月、至少 3 個月、至少 4 個月、至少 5 個月、至少 6 個月、至少 7 個月、至少 8 個月、至少 9 個月、至少 10 個月、至少 11 個月、至少 12 個月、至少 18 個月、至少 24 個月、至少 30 個月、至少 36 個月或更長時間。當評定穩定性時藥物製劑可儲存的溫度可為約-80°C至約 45°C的任何溫度，例如儲存在約-80°C、約-30°C、約-20°C、約 0°C、約 4°C-8°C、約 5°C、約 25°C、約 35°C、約 37°C、約 40°C或約 45°C下。舉例來說，如果在-80°C、-30°C或-20°C下儲存 36 個月後，小於約 29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或 0.1%的抗體呈較具酸性形式，則藥物製劑可視為穩定的。如果在 4°C下儲存 12 個月、24 個月甚至 36 個月後，小於約 28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或 0.1%的抗體呈較具酸性形式，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在 25°C下儲存 4 週或 6 週後，小於約 30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或 0.1%的抗體呈較具酸性形式，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在 37°C下儲存 4 週或 6 週後，小於約 37%、36%、35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、

12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或0.1%的抗體呈較具酸性形式，則藥物製劑也可視為穩定的。如果在 40°C 下儲存 4 週或 6 週後，可檢測到小於約 52%、51%、50%、49%、48%、47%、46%、45%、44%、43%、42%、41%、40%、39%、38%、37%、36%、35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或0.1%呈較具酸性形式的抗體，則藥物製劑也可視為穩定的。

【0211】在一個實施方案中，藉由測定蛋白在升溫過程中發生構型變化或聚集而使得粒徑發生變化時的轉變溫度 T_{onset} ，檢查本發明液體製劑的穩定性，例如，本發明的液體製劑具有高於約 60°C、高於約 63°C、高於約 65°C、高於約 68°C 或高於約 70°C 的 T_{onset} 。

【0212】提及“指定時間段之後”藥物製劑的穩定性意指在指定時間段結束時或指定時間段快結束時進行穩定性參數測量，且意指對於其後所測量的參數，藥物製劑不一定維持相同穩定度。舉例來說，提及 6 週之後的特定穩定性意指在研究開始之後 6 週時或約 6 週時進行穩定性測量。用於評定製劑中的抗體的穩定性的額外方法展示於下文所呈現的實例中。

【0213】在本發明的一些較佳的實施方案中，製劑在振搖後(例如，振搖 14 天後)，按照如上文所述的評估方式是穩定的。

【0214】在本發明的一些較佳的實施方案中，製劑在攪拌後(例如，攪拌 6 小時後)，按照如上文所述的評估方式是穩定的。

【0215】在本發明的一些較佳的實施方案中，製劑在光照後(例如，光照 3 天後)，按照如上文所述的評估方式是穩定的。

【0216】 在本發明的一些較佳的實施方案中，製劑在凍融後(例如，經 5 輪凍融後)，按照如上文所述的評估方式是穩定的。

示例性製劑

【0217】 在一個實施方案中，本發明的液體抗體製劑包含：

- (a) $20 \text{ mg/ml} \pm 2 \text{ mg/ml}$ 至 $200 \text{ mg/ml} \pm 20 \text{ mg/ml}$ 抗體，
- (b) 包含 $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ 至 $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$ 組胺酸或醋酸的緩衝液，
- (c) $0.025\% \pm 0.01\%$ 至 $0.1\% \pm 0.01\%$ (w/v) 聚山梨酯，和
- (d) $6.5\% \pm 0.5\%$ 至 $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖或海藻糖，或 200 mM 至 300 mM 脯胺酸，

pH 為 4.7 至 6.0。

【0218】 在一個實施方案中，本發明的液體抗體製劑包含：

- (a) $20 \text{ mg/ml} \pm 2 \text{ mg/ml}$ 抗體，
- (b) 包含 $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ 至 $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$ 組胺酸或醋酸的緩衝液，
- (c) $0.025\% \pm 0.01\%$ 至 $0.1\% \pm 0.01\%$ (w/v) 聚山梨酯，和
- (d) $6.5\% \pm 0.5\%$ 至 $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖或海藻糖，

pH 為 5.3 ± 0.5 。

【0219】 在一個實施方案中，本發明的液體抗體製劑包含：

- (a) $60 \text{ mg/ml} \pm 6 \text{ mg/ml}$ 抗體，
- (b) 包含 $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ 至 $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$ 組胺酸或醋酸的緩衝液，
- (c) $0.025\% \pm 0.01\%$ 至 $0.1\% \pm 0.01\%$ (w/v) 聚山梨酯，和
- (d) $6.5\% \pm 0.5\%$ 至 $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖或海藻糖，

pH 為 5.3 ± 0.5 。

【0220】 在一個實施方案中，本發明的液體抗體製劑包含：

- (a) 100 mg/ml $\pm$ 10 mg/ml 抗體，
 - (b) 包含 5 mM $\pm$ 1 mM 至 20 mM $\pm$ 4 mM 組胺酸或醋酸的緩衝液，
 - (c) 0.025% $\pm$ 0.01% 至 0.1% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和
 - (d) 6.5% $\pm$ 0.5% 至 8.6% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖或海藻糖，
- pH 為 5.3 $\pm$ 0.5。

【0221】 在一個實施方案中，本發明的液體抗體製劑包含：

- (a) 150 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml 抗體，
 - (b) 包含 5 mM $\pm$ 1 mM 至 20 mM $\pm$ 4 mM 組胺酸或醋酸的緩衝液，
 - (c) 0.025% $\pm$ 0.01% 至 0.1% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和
 - (d) 6.5% $\pm$ 0.5% 至 8.6% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖或海藻糖，
- pH 為 5.3 $\pm$ 0.5。

【0222】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a) 20 mg/ml $\pm$ 2 mg/ml 抗體，
(b) 包含 5 mM $\pm$ 1 mM 至 20 mM $\pm$ 4 mM 組胺酸或醋酸的緩衝液，(c) 0.025% $\pm$ 0.01% 至 0.1% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(d) 6.5% $\pm$ 0.5% 至 8.6% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖或海藻糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.5。

【0223】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a) 20 mg/ml $\pm$ 2 mg/ml 抗體，
(b) 包含 10 mM $\pm$ 2 mM 組胺酸的緩衝液，(c) 0.05% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和
(d) 8.6% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.1。

【0224】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a) 20 mg/ml $\pm$ 2 mg/ml 抗體，
(b) 0.175 mg/ml L-組胺酸，(c) 1.86 mg/ml L-組胺酸一鹽酸鹽一水合物，(d) 0.05% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(e) 8.6% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.1。

【0225】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)60 mg/ml $\pm$ 6 mg/ml 抗體，(b)包含 5 mM $\pm$ 1 mM 至 20 mM $\pm$ 4 mM 組胺酸或醋酸的緩衝液，(c)0.025% $\pm$ 0.01% 至 0.1% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(d)6.5% $\pm$ 0.5% 至 8.6% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖或海藻糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.5。

【0226】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)60 mg/ml $\pm$ 6 mg/ml 抗體，(b)包含 10 mM $\pm$ 2 mM 組胺酸緩衝體系的緩衝液，(c)0.05% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(d)8.6% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.1。

【0227】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)60 mg/ml $\pm$ 6 mg/ml 抗體，(b)0.175 mg/ml L-組胺酸，(c)1.86 mg/ml L-組胺酸一鹽酸鹽一水合物，(d)0.05% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(e)8.6% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.1。

【0228】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)100 mg/ml $\pm$ 10 mg/ml 抗體，(b)包含 5 mM $\pm$ 1 mM 至 20 mM $\pm$ 4 mM 組胺酸或醋酸的緩衝液，(c)0.025% $\pm$ 0.01% 至 0.1% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(d)6.5% $\pm$ 0.5% 至 8.6% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖或海藻糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.5。

【0229】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)100 mg/ml $\pm$ 10 mg/ml 抗體，(b)包含 10 mM $\pm$ 1 mM 組胺酸緩衝體系的緩衝液，(c)0.05% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(d)7.0% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.1。

【0230】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)100 mg/ml $\pm$ 10 mg/ml 抗體，(b)0.175 mg/ml L-組胺酸，(c)1.86 mg/ml L-組胺酸一鹽酸鹽一水合物，(d)0.05% $\pm$ 0.01% (w/v) 聚山梨酯，和(e)7.0% $\pm$ 0.5% (w/v) 蔗糖，pH 為 5.3 $\pm$ 0.1。

【0231】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a)150 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml 抗體，(b)包含 5 mM $\pm$ 1 mM 至 20 mM $\pm$ 4 mM 組胺酸或醋酸的緩衝液，(c)0.025%

$\pm 0.01\%$ 至 $0.1\% \pm 0.01\%$ (w/v)聚山梨酯，和(d) $6.5\% \pm 0.5\%$ 至 $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v)蔗糖或海藻糖，pH 為 5.3 ± 0.5 。

【0232】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a) $150 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$ 抗體，(b)包含 $10 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ 組胺酸緩衝體系的緩衝液，(c) $0.05\% \pm 0.01\%$ (w/v)聚山梨酯，和(d) $7.0\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖，pH 為 5.3 ± 0.1 。

【0233】 在一些實施方案中，藥物製劑包含：(a) $150 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$ 抗體，(b) 0.175 mg/ml L-組胺酸，(c) 1.86 mg/ml L-組胺酸一鹽酸鹽一水合物，(d) $0.05\% \pm 0.01\%$ (w/v)聚山梨酯，和(e) $7.0\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖，pH 為 5.3 ± 0.1 。

【0234】 在這些實施例中的任一者中，聚山梨酯可為聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20，較佳聚山梨酯 80。

【0235】 在一些實施方案中，該藥物製劑不包含其他緩衝體系/緩衝液。

【0236】 在一些實施方案中，該藥物製劑不包含其他表面活性劑。

【0237】 在一些實施方案中，該藥物製劑不包含其他輔料。

【0238】 本發明的包含抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段的藥物製劑處方，可以使該抗體在較高濃度(例如，約 100 mg/mL ，約 150 mg/mL)和低濃度(例如，約 20 mg/mL ，約 50 mg/mL)情況下的液體狀態時維持較好的穩定性，符合生產工藝的要求和臨床應用的需要，可以支持將該抗體開發為靜脈注射液和皮下注射液。

【0239】 本發明所涵蓋的藥物製劑的額外非限制性實例在本文其它地方闡述，包括下文所呈現的工作實例。

容器和施用方法

【0240】 本發明的藥物製劑可含於適用於儲存藥品和其它治療性組成物的任何容器內。舉例來說，藥物製劑可含於如小瓶、西林瓶、安瓿、注射器、藥筒、瓶或 IV 袋的具有限定體積的經密封且經滅菌的塑料或玻璃容器內。可使用包括例如澄清且不透明(例如琥珀色)玻璃或塑料小瓶的不同類型的小瓶以含有本發明的製劑。同樣，可使用任何類型的注射器以含有和/或施用本發明的藥物製劑。在一些實施方案中，藥物製劑含於預填充注射器中。在一些實施方案中，藥物製劑含於預填充立樁針注射器中。

【0241】 本發明的藥物製劑可含於“正常鎢”注射器或“低鎢”注射器內。如所屬技術領域中具有通常知識者將瞭解，製造玻璃注射器的方法一般涉及使用以刺穿玻璃，由此產生可自其中抽吸液體且自注射器排出的洞的熱鎢棒。此過程導致痕量鎢沉積於注射器的內表面上。後續洗滌和其它處理步驟可用於減少注射器中的鎢的量。如本文所使用，術語“正常鎢”意指注射器含有大於 500 十億分率(ppb)的鎢。術語“低鎢”意指注射器含有小於 500 ppb 的鎢。舉例來說，根據本發明，低鎢注射器可含有小於約 490、480、470、460、450、440、430、420、410、390、350、300、250、200、150、100、90、80、70、60、50、40、30、20、10 ppb 或更少的鎢。

【0242】 藥物製劑可以藉由如注射(例如皮下、靜脈內、肌內、腹膜內等)或經皮、經黏膜、經鼻、經肺和/或經口施用的非經腸途徑施用至患者。在一些實施方案中，本發明的藥物製劑利用可重複使用的筆式和/或自動注射器式遞送裝置進行皮下遞送。在一些情況下，藥物製劑含於特別適於與自動注射器一起使用的注射器中。

【0243】 本文還考慮使用微輸注器來遞送本發明的藥物製劑。如本文所使用，術語“微輸注器”意指皮下遞送裝置，其經設計以在延長的時間段內(例如，約 10、15、20、25、30 或更長時間)緩慢地施用較大體積(例如，至多約 2.5 mL、約 3.0 mL 或更多)的治療性製劑。

【0244】 在某些實施例中，藥物製劑經由 I.V.滴注施用，使得製劑在含有生理學可接受的溶液的 IV 袋中稀釋。在一個實施方案中，醫藥組成物是處於靜脈輸液袋中的複合無菌製劑，使得單劑量的藥品稀釋至 100 mL、250 mL(或其它適合於靜脈內滴注遞送的類似量)的生理緩衝液(例如 0.9%的鹽水)。

【0245】 本發明的藥物製劑還可含於單位劑型中。如本文所使用，術語“單位劑型”是指適用作待治療的患者的單位劑量的物理離散單位，各單位含有經計算以與所需醫藥載劑、稀釋劑或賦形劑結合產生所期望治療效果的預定量的活性化合物。在各種實施例中，單位劑型含於如本文所論述的容器內。本發明的製劑中的活性成分(例如特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體或其抗原結合片段)的實際劑量水準可變化以便獲得可有效達成特定患者、組成物和施用模式所期望的治療反應且對患者不具有副作用的量的活性成分。所選劑量水準將視各種藥物動力學因素而定，該因素包括所採用的本發明的特定組成物的活性、施用途徑、施用時間、所採用的特定化合物的排泄速率、治療持續時間、與所採用的特定組成物組合使用的其它藥物、化合物和/或物種、所治療患者的年齡、性別、體重、病況、一般健康狀況和先前病史；和醫學領域中熟知的類似因素。如本文所使用的術語“稀釋劑”是指適合於改變或達成如本文所描述的示例性或適當濃度或濃度的溶液。

【0246】 在各種實施例中，單位劑型含有意圖單次使用的量的活性成分(例如特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體或其抗原結合片段)。在各種實施例中，單位劑型中的活性成分的量為約 0.1 mg 至約 5000 mg、約 100 mg 至約 1000 mg、和約 100 mg 至約 500 mg、約 100 mg 至約 400 mg、約 100 mg 至約 200 mg、約 200 mg 至約 400 mg、約 250 mg 至約 350 mg、約 125 mg 至約 175 mg、約 275 mg 至約 325 mg、約 1 mg 至約 250 mg、約 1 mg 至約 100 mg、約 1 mg 至約 50 mg、約 1 mg 至約 25 mg、約 1 mg 至約 10 mg、約 1 mg 至約 5 mg 或其範圍或區間。例如約 2 mg 至約 100 mg 或 2 mg 至 20 mg 的上文所敘述量的中間範圍也意圖成為本發明的一部分。舉例來說，意圖包括使用上文所敘述值(或含於上文所敘述範圍內的值)中的任一個的組合作為上限值和/或下限值的值範圍。在特定實施例中，製劑常常以呈單位劑型的液體形式供應。在一些實施方案中，單位劑型含有 2 至 2.5 mg 或 10 至 11 mg、20 至 25 mg、80 至 90 mg、100 至 125 mg、160 至 180 mg、200 至 225 或 320 至 360 mg、200 至 400mg。在一些實施方案中，根據本發明的單位劑型適合於皮下施用至患者(例如，含有濃度為約 100 mg/ml 或約 150 mg/ml 的抗體的單位劑型)。

【0247】 在一個實施方案中，本發明提供了在穩定製劑中包含約 20 mg、約 80 mg、約 160 mg、約 200mg、約 320 mg 或約 400mg 的抗體的單位劑型，其中該製劑包含 200mg 或 400mg 的抗體單位劑型。

【0248】 本發明還包括製備單位劑型的方法。在示例性實施例中，用於製備醫藥單位劑型的方法包括在合適容器(例如本文所論述的那些容器)中合併前述實施例中的任一個的製劑。

【0249】 在各種實施例中，藥物製劑含於容器(例如，小瓶或預填充注射器)中，該容器可含有小於 5 體積%的氧化氣體(例如氧氣)的頂隙氣體。在各個實施例中，容器的頂隙中的氧化氣體(例如氧氣)的濃度可小於 4.5%、小於 4%、小於 3.5%、小於 3%、小於 2.5%、小於 2%或小於 1.5%。在一個實施例中，頂隙中的氧化氣體(例如氧氣)的濃度小於約 1%。在一個實施例中，頂隙中的氧化氣體(例如氧氣)的濃度不超過約 0.5%。在一個實施例中，頂隙中的氧化氣體(例如氧氣)的濃度不超過約 0.1%。在各種實施例中，藥品容器的頂隙中的氧化氣體(例如氧氣)的濃度小於 0.9%、小於 0.8%、小於 0.7%、小於 0.6%、小於 0.5%、小於 0.4%、小於 0.3%、小於 0.2%或小於 0.1%。在一些情況下，頂隙氣體中的氧氣濃度為約 0.01%至約 1.5%。在一些情況下，頂隙氣體中的氧氣濃度為約 0.75%至約 1.25%。在一些情況下，頂隙氣體中的氧氣濃度為約 0.05%至約 0.15%。在各種實施例中，頂隙中的氧化氣體(例如氧氣)被惰性氣體如氮氣、氬氣、氦氣、氙氣、氖氣、氫氣或氫氣替代或基本上被替代。在一個實施例中，非氧化氣體為氮氣。在一個實施例中，非氧化氣體為氬氣。

藥物製劑的治療性用途

【0250】 本發明的藥物製劑尤其適用於治療、預防和/或改善與表達人 MASP-2 的細胞相關的任何疾病或病症。可以藉由施用本發明的藥物製劑來治療的示例性、非限制性疾病和病症包括將受益於抑制 MASP-2 依賴性補體激活的疾病或病症。

【0251】 在一些實施方案中，該將受益於抑制 MASP-2 依賴性補體激活的疾病或病症包括自身免疫性疾病、血管病症、缺血再灌注損傷、動脈硬化、炎症、肺部病症、體外再灌注過程、肌肉骨骼病症、腎臟病症、皮膚病症、器官或組織

移植過程、神經系統疾病或損傷、血液疾病、泌尿生殖系統疾病、非肥胖型糖尿病或與 1 型或 2 型糖尿病相關併發症、癌症、內分泌疾病、眼科疾病或 COVID-19(新冠肺炎)。

【0252】 在一些具體的實施方案中，該自身免疫性疾病包括血栓性微血管病(TMA)、非典型溶血性尿毒癥綜合症(aHUS)、造血移植相關的血栓性微血管病(TA-TMA)、狼瘡腎炎、系統性紅斑狼瘡(SLE)和 IgA 腎病。

【0253】 在一些具體的實施方案中，該血管病症血管病症包括心血管病症、腦血管病症、外週(如肌肉骨骼)血管病症、腎血管病症、腸系膜/腸道血管病症、移植物和/或再移植物的血管再生、血管炎、亨-舍二氏紫癜性腎炎、系統性紅斑狼瘡相關的血管炎、與類風濕性關節炎相關的血管炎、免疫複合物血管炎、大動脈炎、擴張型心肌病、糖尿病血管病、川崎病(動脈炎)、靜脈氣體栓塞(VGE)，以及支架置入術、旋轉動脈瘤切除術和經皮腔內冠狀動脈成形術(PTCA)後的再狹窄。

【0254】 在一些具體的實施方案中，該缺血再灌注損傷包括與主動脈瘤修復、心肺轉流、與器官移植和/或肢體/手指再植有關的血管再吻合、中風、心肌梗死和休克和/或外科手術後的血液動力學復蘇有關的缺血再灌注損傷。

【0255】 在一些具體的實施方案中，該炎症包括炎症性胃腸道疾病，其包括胰腺炎、克羅恩病、潰瘍性結腸炎、腸易激綜合症和憩室炎。

【0256】 在一些具體的實施方案中，該肺部病症包括急性呼吸窘迫綜合症、輸血相關性急性肺損傷、缺血/再灌注急性肺損傷、慢性阻塞性肺病、哮喘、韋格納肉芽腫病、抗腎小球基底膜病(Goodpasture 病)；胎糞吸入綜合症、閉塞性細支氣管炎綜合症、特發性肺纖維化、繼發於燒傷的急性肺損傷、非心源性肺水

腫、輸血相關呼吸困難、肺氣腫、囊性纖維化、SARS-CoV、MERS-CoV 和 SARS-CoV-2(Covid-19)相關疾病。

【0257】 在一些具體的實施方案中，該體外循環再灌注過程包括血液透析、血漿去除術、白細胞去除術、體外膜氧合(ECMO)、肝素誘導體外膜氧合低密度脂蛋白沉澱(heparin-induced extracorporeal membrane oxygenation LDL precipitation, HELP)和心肺轉流術(CPB)。

【0258】 在一些具體的實施方案中，該肌肉骨骼病症包括骨關節炎、類風濕性關節炎、青少年類風濕性關節炎、痛風、神經性關節病、銀屑病性關節炎、脊椎關節病、結晶性關節病和系統性紅斑狼瘡(SLE)。

【0259】 在一些具體的實施方案中，該腎臟病症包括系膜增生型腎小球腎炎、膜性腎小球腎炎、膜性增生性腎小球腎炎(系膜毛細血管性腎小球腎炎)、急性感染後腎小球腎炎(鏈球菌感染後腎小球腎炎)、冷球蛋白血症性腎小球腎炎、狼瘡性腎炎、亨-舍二氏紫癜性腎炎和 IgA 腎病。

【0260】 在一些具體的實施方案中，該皮膚病症包括銀屑病、自身免疫性大疱性皮膚病、嗜酸性海綿形成、大疱性類天皰瘡、獲得性大疱性表皮松解、妊娠皰疹、熱燒傷和化學燒傷。

【0261】 在一些具體的實施方案中，該器官或組織移植過程包括器官異體移植、器官異種移植器官和組織移植。

【0262】 在一些具體的實施方案中，該神經系統疾病或損傷包括多發性硬化症、重症肌無力、亨廷頓氏病、肌萎縮性脊髓側索硬化、格林巴利綜合症、中風後再灌注(reperfusion following stroke)、退變性椎間盤、腦外傷、帕金森氏病、阿爾茨海默病、Miller-Fisher 綜合症、腦外傷和/或出血、脫髓鞘和腦膜炎。

【0263】 在一些具體的實施方案中，該血液病包括敗血症、嚴重敗血症、敗血症休克、敗血症引起的急性呼吸窘迫綜合症、全身炎症反應綜合症、失血性休克、溶血性貧血、自身免疫性血栓性血小板減少性紫癜和溶血性尿毒綜合症。

【0264】 在一些具體的實施方案中，該泌尿生殖系統病症包括疼痛性膀胱病、感覺性膀胱病、慢性非細菌性膀胱炎、間質性膀胱炎、不孕症、胎盤功能障礙和流產和子癰前症。

【0265】 在一些具體的實施方案中，該內分泌疾病包括橋本氏甲狀腺炎、壓力、焦慮和激素性疾病，涉及垂體的催乳素、生長素或其他胰島素樣生長因子和促腎上腺皮質激素的調節性釋放。

【0266】 在一些具體的實施方案中，該眼科疾病包括年齡相關性黃斑變性。

【0267】 在本文提供的方法的一些實施方案中，受試者被確定為具有升高的 C4 血清水平，或在有關樣品中具有 C4d 沉積或 C4d 陽性染色。在一些實施方案中，該條件或疾病是 IgA 腎病。據報導，C4d 陽性染色是 IgAN 發生 ESRD 的一個獨立風險因素。C4d 可以用本領域已知的任何合適的方法進行檢測，例如，藉由使用 ELISA，或免疫熒光顯微鏡。

【0268】 本文提供的抗體或抗原結合片段的治療有效量將取決於本領域已知的各種因素，例如體重、年齡、過去的病史、目前的藥物、受試者的健康狀況和潛在的交叉反應、過敏、敏感和不良副作用，以及給藥途徑和疾病發展程度。所屬技術領域中具有通常知識者(如醫生或獸醫)可根據這些和其他情況或要求按比例減少或增加劑量。

【0269】在某些實施方案中，本文提供的抗 MASP-2 抗體或抗原結合片段的治療有效劑量為約 0.01mg/kg 至約 100mg/kg(例如。約 0.01 毫克/千克，約 0.5 mg/kg、約 1 mg/kg、約 2 mg/kg、約 3 mg/kg、約 5 mg/kg、約 10 mg/kg、約 15 mg/kg、約 20 mg/kg、約 25 mg/kg、約 30 mg/kg、約 35 mg/kg、約 40 mg/kg、約 45 mg/kg、約 50 mg/kg、約 55 mg/kg、約 60 mg/kg、約 65 mg/kg、約 70 mg/kg、約 75 mg/kg、約 80 mg/kg、約 85 mg/kg、約 90 mg/kg、約 95 mg/kg、或約 100 mg/kg)。在其中某些實施方案中，抗體或抗原結合片段的給藥劑量為約 50mg/kg 或更少，在其中某些實施方案中，劑量為 10mg/kg 或更少，5mg/kg 或更少，3mg/kg 或更少，1mg/kg 或更少，或 0.1mg/kg 或更少。在某些實施方案中，給藥劑量可在治療過程中改變。例如，在某些實施方案中，初始給藥劑量可高於後續給藥劑量。在某些實施方案中，給藥劑量可根據受試者的反應在治療過程中變化。

【0270】可以調整劑量方案以提供最佳的預期反應(例如，治療反應)。例如，可以施用單一劑量，或在一段時間內施用幾個分割的劑量。

【0271】本文揭露的抗 MASP-2 抗體和抗原結合片段可藉由本領域已知的任何途徑給藥，例如腸外(如皮下、腹膜內、靜脈內，包括靜脈輸液、肌肉內或皮內注射)或非腸外(如口服、鼻內、眼內、舌下、直腸或局部)途徑。

【0272】在一些實施方案中，本文所揭露的抗 MASP-2 抗體或抗原結合片段可單獨或與一種或多種額外的治療手段或藥劑聯合施用。例如，本文所揭露的抗體或抗原結合片段可與另一種治療劑，如抗自體免疫藥物結合使用。

【0273】在某些實施方案中，本文所揭露的與一種或多種附加治療劑聯合施用的抗 MASP-2 抗體或抗原結合片段可與一種或多種附加治療劑同時施用，在某些實施方案中，抗體或抗原結合片段和附加治療劑可作為同一醫藥組成物

的一部分施用。然而，抗 MASP-2 抗體或抗原結合片段與另一種治療劑 "結合 " 使用，不一定要與該治療劑同時或在同一組成物中使用。在另一藥劑之前或之後施用的抗 MASP-2 抗體或抗原結合片段被認為是與該藥劑 "聯合 "施用，因為該短語在此使用，即使該抗體或抗原結合片段和第二藥劑是藉由不同途徑施用。在可能的情況下，與本文揭露的抗體或抗原結合片段聯合施用的額外治療劑是根據額外治療劑的產品信息表中列出的時間表，或根據 Physicians' Desk Reference 2003(Physicians' Desk Reference, 57th Ed; Medical Economics Company; ISBN: 1563634457; 57th edition (November 2002))或本領域中眾所周知的方案施用。

【0274】 本發明的治療方法包含向個體施用包含如本文所揭露的特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體或其抗原結合片段的任何製劑。施用藥物製劑的個體可為例如需要此類治療的任何人類或非人類動物。舉例來說，個體可為診斷患有前述疾病或病症中的任一者或視為處於罹患前述疾病或病症中的任一者的風險下的個體。本發明進一步包括本文所揭露的藥物製劑中的任一種在製造用於治療與表達人 MASP-2 的細胞相關的任何疾病或病症的藥劑中的用途，該任何疾病或病症包括上文所提及的示例性疾病、病症和病況中的任一者。

【0275】 在一些實施方案中，本發明提供包含如本文所論述的藥物製劑(例如具有製劑或單位劑型的容器)和包裝或標籤(例如藥品說明書)以及藥物製劑使用說明書的試劑盒以治療如上文所論述的疾病或病症。在一些情況下，說明書提供如本文所論述的單位劑型用於治療疾病或病症的用途。

【實施方式】

【0276】 以下實施例的目的是便於向所屬技術領域中具有通常知識者提供如何製造和使用本發明的方法和組成物的完整揭露內容和描述，且並不意在限制本發明所要求保護的範圍。已努力確保關於所用數字(例如量、溫度等)的準確性，但還應考慮一些實驗誤差和偏差。除非另有指示，否則份數為重量份，分子量為平均分子量，溫度以攝氏度計，且壓力為大氣壓或接近大氣壓。

註：本發明表格中的 NT 若無特別說明，表示未檢測；ND 若無特別說明，表示未檢出。

【0277】 實施例 1: 人、小鼠、食蟹猴 MASP-2 抗原的產生

【0278】 1.表達用抗原的構建

為了將抗體的表位限制在人 MASP-2 的補體結合和激活結構域上，我們設計了一種用於動物免疫的嵌合抗原。合成了表達小鼠 MASP-2 CUB1-EGF-CUB2 結構域(SEQ ID NO: 40 的殘基 20-297)和人 MASP-2 CCP1-CCP2-SP 結構域(SEQ ID NO: 39 的殘基 298-686)的編碼序列。此外，在 N 端添加 IL-2 分泌信號肽序列 (SEQ ID NO:41)，在 C 端加入 FLAG 標籤序列。上述元件被組合成一個開放閱讀框(ORF)，製成一個嵌合抗原表達構建體(SEQ ID NO:42)。其他表達全長人 MASP-2(SEQ ID NO:39)、小鼠 MASP-2(SEQ ID NO:40)和食蟹猴 MASP-2(SEQ ID NO:43)的構建體，在 C 端加入 HIS 標籤，藉由合成製成。另外，藉由 PCR 方法製作了另一個表達全長的人 MASP-2(SEQ ID NO:39)並在 C 端帶有 FLAG 標記的構建體。

【0279】 人 MASP-2 蛋白(SEQ ID NO:39)

MRLLTLLGLLCGSVATPLGPKWPEPVFGRLASPGFPGEYANDQERRWTLTAPP
GYRLRLYFTHFDLELSHLCEYDFVKLSSGAKVLATLCGQESTDTERAPGKDTF

YSLGSSLDITFRSDYSNEKPFTGFEAFYAAEDIDECQVAPGEAPTCDHHCHNH
LGGFYCSCRAGYVLHRNKRTCSALCSGQVFTQRSSELSSPEYPRPYPKLSSCT
YSISLEEGFSVILDFVESFDVETHPETLCPYDFLKIQTDRREEHGPFCGKTLPHRI
ETKSNTVTITFVTDES GDHTGWKIHYTSTAQPCPYPMAPPNGHVSPVQAKYIL
KDSFSIFCETGYELLQGHLPLKSFTAVCQKDGSWDRPMPACSI VDCGPPDDL
SGRVEYITGPGVTTYKAVIQYSCEETFYTMKVNDGKYVCEADGFWTSSKGEK
SLPVCEPVCGLSARTTGGRIYGGQKAKPGDFPWQVLILGGTTAAGALLYDNW
VLTA AHAVYE QKHDASALDIRMGTLKRLSPHYTQAWSEAVFIHEGYTHDAGF
DNDIALIKLNNKVVINSNITPICLPRKEAESFMRTDDIGTASGWGLTQRGFLAR
NLMYVDIPIVDHQKCTAAYEKPPYPRGSVTANMLCAGLES GGKDSCRGD SG
GALVFLDSETERW FVGGIVSWGSMNCGEAGQYGVYTKVINYIPWIENIISDF

【0280】 小鼠 MASP-2 蛋白(SEQ ID NO:40)

MRLLI FLGLLWSLVATLLGSKWPEPVFGRLVSPGFPEKYADHQDRSWTLTAPP
GYRLRLYFTHFDLELSYRCEYDFVKLSSG TKVLATLCGQESTDTEQAPGNDTF
YSLGPSLKVTFHSDYSNEKPFTGFEAFYAAEDVDECRVSLGDSVPCDHYCHN
YLGGYYCSCRAGYVLHQNKHTCSALCSGQVFTGRSGYLSSPEYPQPYPKLSS
CTYSIRLEDGFSVILDFVESFDVETHPEAQCPYDSLKIQTDKGEHGPFCGKTL
PRIETDSHKVTITFATDESGNHTGWKIHYTSTARPCPDPTAPPNGSISPVQAIYV
LKDRFSVFCKTGFELLQGSVPLKSFTAVCQKDGSWDRPMPECSIIDCGPPDDL
PNGHV DYITGPEVTTYKAVIQYSCEETFYTMSSNGKYVCEADGFWTSSKGEK
LPPVCEPVCGLSTHTIGGRIVGGQPAKPGDFPWQVLLLGQTAAAGALHDN
WVLTA AHAVYEKRMAASSLNIRMGILKRLSPHYTQAWPEEIFIHEGYTHGAG
FDNDIALIKLKNKVTINGSIMPVCLPRKEAASLMRTDFTGT VAGWGLTQKGLL

ARNLMFVDIPIADHQKCTAVYEKLYPGVRVSANMLCAGLETGGKDSCRGDS
GGALVFLDNETQRWFVGGIVSWGSGAADQYGVYTKVINYIPWIENIISNF

【0281】 IL-2 分泌信號肽序列(SEQ ID NO:41)

MYRMQLLSCI ALSLALVTNS

【0282】 嵌合 MASP-2 蛋白(SEQ ID NO: 4)

MYRMQLLSCIALSLALVTNSSKWPEPVFGRLVSPGFPEKYADHQDRSWTLTA
PPGYRLRLYFTHFDLELSYRCEYDFVKLSSGTKVLATLCGQESTDTEQAPGND
TFYSLGPSLKVTFHSDYSNEKPFTGFEAFYAAEDVDECRVSLGDSVPCDHYC
HNYLGGYYCSCRAGYVLHQNKHTCSALCSGQVFTGRSGYLSSPEYPQPYPK
LSSCTYSIRLEDGFSVILDFVESFDVETHPEAQCPYDSLKIQTDKGEHGPFCEGK
TLPPRIETDSHKVTITFATDESGNHTGWKIHYTSTAQPCPYPMAPPNGHVSPV
QAKYILKDSFSIFCETGYELLQGHLPLKSFTAVCQKDGSWDRPMPACSI VDCG
PPDDLPSGRVEYITGPGVTTYKAVIQYSCEETFYTMKVNDGKYVCEADGFWT
SSKGEKSLPVCEPVCGLSARTTGGRYGGQKAKPGDFPWQVLILGGTTAAGA
LLYDNWVLTAAHAVYEQKHDA S ALDIRMGTLKRLSPHYTQAWSEAVFIHEG
YTHDAGFDNDIALIKLNNKVVINSNITPICLPRKEAESFMRTDDIGTASGWGLT
QRGFLARNLMYVDIPIVDHQKCTAAYEKPPYPRGSVTANMLCAGLES GGKDS
CRGDSGGALVFLDSETERWFVGGIVSWGSMNCGEAGQYGVYTKVINYIPWIE
NIISDFDYKDDDDK

【0283】 食蟹猴 MASP-2 蛋白(SEQ ID NO: 43)

MRLLTLLGLLCGSVATPLGPKWPEPVFGRLASPGFPGEYANDQERRWTLTAPP
GYRLRLYFTHFDLELSHLCEYDFVKLSSGAKVLATLCGHESDTERAPGNDTF
YSLGSSLDITFRSDYSNEKPFTGFEAFYAAEDIDECQVAPGEAPACDHHCHNH

LGGFYCSRVGYILHRNKRTCSALCSGQVFTQRSGELSSPEYPQYPKLSST
YSIRLEEGFSVILDFVESFDVETHPETLCPYDFLKIQIDSEEHGPF CGKTLPRRIE
TKSNTVTITFVTDESGDHTGWKIHYTSTAQPCPYPMAPPNGHLSPVQAKYILK
DSFSIFCEPGYELLQGHLPLKSFAAVCQKDGSWDQPMPCSI VDCGPPDDLPS
GRVEYITGPEVTTYKAVIQYSCEETFYTMKVNDGKYVCEADGFWTSSK GERS
PPVCEPVCGLSARTTGGRIYGGQKAKPGDFPWQVLILGGSTAAGALLYDNW
VLTAAHAIYEQKHDASSLDIRLGALKRLSPHYTQAWAEAVFIHEGYTHDAGF
DNDIALIKLNNKVVINSNITPICLPRKEAESFMRTDDIGTASGWGLTQRGLLAR
NLMYVDIPIVDHQKCTAAYEKPPYSGGSVTANMLCAGLESGGKDSCRGD SG
GALVFLDNETQRWFGGIVSWGSMNCGEAGQYGVYTKVINYIPWIKNIISNF

【0284】 2.MASP-2 抗原的表達和純化

用 ExpiFectamine CHO 轉染試劑盒將上述的 MASP-2 表達構建體分別轉染到 ExpiCHO-s 細胞。ExpiCHO-s 細胞在無血清的 ExpiCHO 表達培養基中培養。轉染後 14 天，收集上清液。離心和過濾後，上清液被加載到抗 FLAG 或抗 HIS 管柱上，然後用 GE AKTA 純化系統進行純化。清洗後，MASP-2 蛋白用檸檬酸 (pH3.5)沖提，用於動物免疫。

【0285】 實施例 2：MASP-2 抗體的產生

【0286】 1.免疫接種和融合瘤融合

經由 Helios 基因槍系統(Bio-Rad)用表達上述嵌合 MASP-2 抗原的 DNA 對不同品系的小鼠或大鼠進行免疫。每兩週用重組 MASP-2 蛋白對免疫的動物進行加強。在最後一次加強免疫的 4 天後，處死動物進行融合瘤融合。分離脾臟細胞並經由電融合方法與 SP2-0 細胞融合。得到的融合瘤細胞在含有次黃嘌呤-胺蝶呤-胸苷的 DMEM 培養基中培養。

【0287】 2. 融合瘤篩選

培養 10 天後，收集融合瘤上清液進行抗原結合篩選。全長的人 MASP-2 蛋白以 0.5 μ g/ml 的濃度包被在 ELISA 板中，每孔 100 μ l。用含有 1%BSA+1%正常山羊血清+0.05%Tween20 的 PBS 封閉後，將融合瘤上清液加入板中 1 小時。用辣根過氧化物酶(HRP)連接的抗鼠抗體檢測融合瘤抗體與人 MASP-2 的特異性結合。挑選出 ELISA 結合的陽性株，進行進一步的活性篩選。

【0288】 3. 活性篩選

ELISA 板用 10 μ g/ml 甘露聚糖包被，每孔 100 μ l，4°C 過夜。用 PBS+0.1% Tween20 洗滌 3 次後，用封閉緩衝液(10mM Tris-HCl+0.1%人血清白蛋白+140mM NaCl)封閉平板 1 小時。將 50 μ l 融合瘤上清液與 50 μ l 用檢測緩衝液(0.1%人血清白蛋白+20 mM Tris-HCl + 2 mM CaCl₂ + 140 mM NaCl + 1 mM MgCl₂ + 0.05% Tween20)稀釋的 1%人血清(Quidel, A113)混合，然後在冰上孵育 45 分鐘。將封閉緩衝液從甘露聚糖包被平板上棄去，並加入上清液-血清混合物。將平板在 37°C 下孵育 1.5 小時。用洗滌緩衝液洗滌 3 次後，藉由測量 C4b 的沉積來監測 C4 的激活。沉積的 C4b 藉由 HRP 連接的抗 C4c 抗體(Quidel-A211)檢測。如果 MASP-2 的活性被抗體所抑制，則沉積在平板底部的 C4b 就會減少。藉由使用這種方法，選擇具有 MASP-2 抑制活性的融合瘤抗體。

【0289】 然後對陽性抗體進行亞選殖，並藉由 ELISA 結合和 C4 激活試驗進行重新篩選。

【0290】 實施例 3：抗人 MASP-2 抗體的抑制活性的表徵。

【0291】 1.融合瘤抗體的純化

亞選殖後，將具有中和活性的陽性融合瘤株在 10cm 皿中擴增。離心過濾後，將含抗體的上清液裝入蛋白 A 管柱，用 GE AKTA 純化系統進行純化。清洗後，用檸檬酸(pH3.5)沖提抗體。

【0292】 2.純化抗體的活性評估

MASP-2 是凝集素途徑的一個關鍵成分，它可以裂解補體因子 C4 和 C2，生成 C3 轉化酶 C4bC2a。C3 的激活最終導致了膜攻擊複合物(MAC)的形成。為了測試抑制 MASP-2 的抗體是否能減少凝集素途徑的激活，在純化的 MASP-2 抗體存在的情況下，對 C4、C3 和 MAC 的激活進行了評估。

【0293】 ELISA 板用 10 μ g/ml 甘露聚糖包被，每孔 100 μ l，4 $^{\circ}$ C 過夜。用 PBS + 0.1% Tween20 洗滌 3 次後，用封閉緩衝液(10 mM Tris-HCl + 0.1%人血清白蛋白 + 140 mM NaCl)封閉平板 1 小時。用含有 1%人血清(Quidel，A113)的檢測緩衝液(0.1%人血清白蛋白+20mM Tris-HCl+2mM CaCl₂ +140mM NaCl+1mM MgCl₂ +0.05% Tween20)連續稀釋抗體並在冰上孵育 45 分鐘。將封閉緩衝液從甘露聚糖包被平板上棄去，加入抗體-血清混合物。將平板在 37 $^{\circ}$ C 下孵育 1.5 小時。激活的補體成分應沉積在板的底面，而未激活的成分仍可溶於緩衝液。用洗滌緩衝液洗滌 3 次後，用 HRP 連接的補體抗體，包括抗 C3c 抗體(Quidel-A205)、抗 C4c 抗體(Quidel-A211)和抗 MAC(SC5b-9)抗體(Quidel-A239)監測補體成分的激活。檢測抗體是在內部用 HRP 連接的。從融合瘤細胞中純化的 MASP-2 抗體以劑量依賴的方式阻止了補體 C3(見圖 1)、補體 C4(見圖 2)和 MAC(見圖 3)的激活。

【0294】 實施例 4:V 型基因的選殖和嵌合抗體的生成

【0295】 1.融合瘤抗體的 V 型基因選殖和測序

挑選出具有理想特徵的主導抗體進行 V 型基因選殖。藉由聚合酶鏈反應 (PCR) 擴增技術獲得鼠抗人 MASP-2 輕鏈和重鏈可變區的序列。用 MiniBest Universal RNA Extraction Kit(TaKaRa)分離出陽性融合瘤細胞的總 RNA，用 1st Strand cDNA Synthesis Kit(TaKaRa)與 Oligo(dT)引子合成 cDNA。藉由 PCR 擴增小鼠 IgG 基因的可變區域，重鏈可變區域使用不同同型的引子，輕鏈可變區域使用 Kappa 鏈引子。PCR 產物被亞選殖到一個 TA 選殖載體中。對於每個可變基因構建體，將 10 個以上的單株用於由 Synbio Technologies(中國蘇州)進行 DNA 測序。VH 和 Vκ 的胺基酸序列由 DNA 測序結果得出。

【0296】 2.嵌合抗體的構建

三個不同序列的抗體，包括 129C10、160D10 和 125D5，被選為產生嵌合抗體的先導抗體，其 SEQ 列於表 1 和表 2。經過測序分析和確認，合成了重鏈和輕鏈可變區的 cDNA，並與人 IgG4 和人 kappa 的恆定區序列相融合。為了提高抗體的分泌，在重鏈和輕鏈的 N 端分別加入了信號肽序列。得到的嵌合抗體基因被選殖到表達載體中。藉由使用 Qiagen 公司的 Plasmid Maxi-prep System 製備大規模的 DNA。

【0297】 3.嵌合抗體的表達和純化

根據製造商的協議，使用 Invitrogen 公司的 ExpiFectamine™ CHO 試劑進行重鏈和輕鏈的共轉染。使用 ExpiFectamine™ CHO 試劑將 ExpiCHO-S 細胞在 ExpiCHO 表達培養基中以 $5-6 \times 10^6$ 細胞/ml 的濃度轉染等量的最終濃度為 0.8μg/ml 的重鏈載體和輕鏈載體 DNA。將質粒 DNA 或 ExpiFectamine™ CHO 試劑用冷的 OptiPRO™培養基稀釋，然後藉由旋轉試管和/或倒置混合。將 ExpiFectamine™ CHO/質粒 DNA 混合物在室溫下孵育 1-5 分鐘，然後慢慢轉移

到裝有細胞的搖瓶中。轉染的細胞在 37°C，5%CO₂的濕潤氣氛下，在軌道搖床(125rpm 的搖動速度)上培養。轉染後 18 至 22 小時，加入 ExpiCHO™ Feed，並在第 10 天收穫條件培養基。將上清液以 4,000rpm 的速度離心 20 分鐘，然後藉由 0.22μm 的過濾囊過濾以去除細胞碎片。過濾後的上清液被裝入預平衡的 Protein-A 親和管柱。用平衡緩衝液(PBS)清洗 Protein-A 樹脂，然後用 25mM 檸檬酸鹽(pH3.5)來沖提抗體。用 1M Tris-base(pH9.0)將純化的抗體溶液調節到 pH6.0-7.0。內毒素被控制在 1 EU/mg 以下。最後，純化的抗體藉由 SDS-PAGE 進行鑑定。

【0298】 實施例 5:人源化抗體的產生和特性化

【0299】 1.人源化抗體的產生、表達和純化

小鼠抗體 129C10 的可變區結構域的序列被用來確定與各自小鼠框架具有最高同源性的胚系序列。使用計算機建模設計帶有 CDR 嫁接和回復突變的人源化變體。

【0300】 129C10

人胚系框架序列 VH/1-2 用於重鏈，VK/2-30 用於輕鏈，分別用於 CDR 嫁接。

【0301】 重鏈(HC)變體 1、2、3 和 4 是藉由將三個 CDR 直接嫁接到胚系序列(SEQ ID NO: 37)，此外，分別對於 HC 變體 1 有 R71V、A93T 突變(SEQ ID NO:20)，對於 HC 變體 2 有 R71V，A93T，V67A，M69L 突變(SEQ ID NO: 22)，對於 HC 變體 3 有 R71V，A93T，A65G，K64Q，E61Q 突變(SEQ ID NO: 24)和對於 HC 變體 4 有 R71V，A93T，V67A，M69L，A65G，K64Q，E61Q 突變(SEQ

ID NO: 26)而得到的。應該注意的是，HC 變體 3 和 4 有 3 個突變(A65G，K64Q，E61Q)被引入 HC CDR2 中，以進一步提高抗體的人源化。

【0302】 129C10 HC 的胚系序列：

【0303】 VH/1-2(129C10-HC 胚系，SEQ ID NO: 37)。

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMG
WINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAR

【0304】 VH/1-2 變體 1(Hu129C10_Ha，SEQ ID NO: 20)。

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGQGLEWMG
WIFPGSESAYHSEKFKARVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTRGDRS
GPFAYWGQGTLVTVSS

【0305】 VH/1-2 變體 2(Hu129C10_Hb，SEQ ID NO: 22)。

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGQGLEWMG
WIFPGSESAYHSEKFKARATLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTRGDRS
GPFAYWGQGTLVTVSS

【0306】 VH/1-2 變體 3(Hu129C10_Hc，SEQ ID NO: 24)。

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGQGLEWMG
WIFPGSESAYHSQKFQGRVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTRGDRS
GPFAYWGQGTLVTVSS

【0307】 VH/1-2 變體 4(Hu129C10_Hd，SEQ ID NO: 26)。

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGQGLEWMG
WIFPGSESAYHSQKFQGRATLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTRGDRS
GPFAYWGQGTLVTVSS

【0308】輕鏈(LC)變體 1 和 2 是藉由將三個 CDR 直接嫁接到胚系序列(SEQ ID NO: 38)，另外，分別對於 LC 變體 1 有 F36L 回復突變(SEQ ID NO: 28)和對於 LC 變體 2 有 F36L、T69A 回復突變(SEQ ID NO: 30)而得到的。

【0309】129C10 LC 的胚系序列

【0310】VK/2-30 (129C10-LC-胚系, SEQ ID NO: 38)

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYLNWFQQRPGQSPRRLI
YKVSNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWP

【0311】VK/2-30 變體 1(Hu129C10_La，SEQ ID NO: 28)。

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWLQQRPGQSPRRLI
YLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQVTHFPFTFGQG
TKLEIK

【0312】VK/2-30 變體 2(Hu129C10_Lb，SEQ ID NO: 30)。

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWLQQRPGQSPRRLI
YLVSKLDSGVPDRFSGSGSGADFTLKISRVEAEDVGVYYCVQVTHFPFTFGQ
GTKLEIK

【0313】合成了上述重鏈和輕鏈的可變區的 cDNA，然後與人 IgG4 和人 kappa 的恆定區的序列相融合。得到的抗體基因序列被選殖到一個表達載體中。使用 Qiagen 公司的 Plasmid Maxiprep 系統製備大規模的 DNA，並根據製造商的協議使用 Invitrogen 公司的 ExpiFectamine™ CHO 試劑進行細胞轉染。當細胞活力超過 60%時收穫上清液，並藉由 0.22 微米的過濾囊過濾以去除細胞碎片。過濾後的上清液隨後被加載到一個預平衡的 Protein-A 親和管柱上。用平衡緩衝液 (PBS)清洗蛋白 A 樹脂，然後用 25 mM 檸檬酸鹽(pH3.5)沖提抗體。用 1M Tris-

base(pH9.0)將純化的抗體溶液調節到 pH6.0-7.0。內毒素被控制在 1 EU/mg 以下。最後，純化的抗體藉由 SDS-PAGE 進行鑑定。

【0314】還構建了基準抗體 OMS721-analog 和 129C10-hu-YTE (Hu129C10_HaLa-hIgG4 並具有胺基酸取代 M252Y/S254T/T256E[YTE]，見表 2-3)，表達和純化過程與上述相同。

【0315】實施例 6：嵌合型和人源化 MASP-2 抗體的阻斷活性

將純化的抗體從 100µg/ml 開始連續稀釋，得到一個梯度濃度。補體 C3 激活試驗用於評估 MASP-2 抗體的阻斷活性，如實施例 3 所述。將每孔 100µl 的 10µg/ml 甘露聚糖包被在 ELISA 板上，在 4°C 下過夜。將抗體與 1% 人血清(Quidel, A113)在冰上孵育 45 分鐘。洗滌和封閉板後，加入抗體-血清混合物並在 37°C 下孵育 90 分鐘。清洗後，用 HRP 連接的抗 C3c 抗體(Quidel-A205)檢測沉積的活化 C3。圖 4 顯示了嵌合抗體和人源化抗體對補體 C3 激活的阻斷活性。由於人源化的 129C10 變體 129C10HaLa 顯示出最好的親和力和 C3 阻斷活性，129C10HaLa 被選為進一步的體外和體內研究的主導抗體，並被命名為 129C10-hu。

【0316】實施例 7:先導抗體 129C10-hu 與基準抗體 OMS721-analog 之間阻斷補體 C4 和 MAC 的活性比較

【0317】1.阻斷補體 C4 和 MAC 激活的活性比較

使用實施例 3 中描述的檢測方法，對先導 MASP-2 抗體 129C10-hu 和 OMS721-analog 在 2% 人血清中對補體 C4 和 MAC 激活的阻斷活性進行了比較。將每孔 100µl 的 10µg/ml 甘露聚糖包被在 ELISA 板上，在 4°C 下過夜。將抗體與 2% 人血清(Quidel, A113)在冰上孵育 45 分鐘。洗滌和封閉板後，加入抗體-血清混合物，在 37°C 下孵育 90 分鐘。清洗後，用 HRP 連接的抗 C4c 抗體(Quidel-

A211)檢測沉積的活化 C4。對於 MAC 的激活，用 HRP 連接的抗 MAC(SC5b-9) 抗體(Quidel-A239)檢測。如圖 5 和圖 6 所示，結果表明，相比於 OMS721-analog，129C10-hu 在阻斷補體 C4(IC₅₀ : 0.11μg/mL vs. 1.70μg/mL)和 MAC(IC₅₀ : 0.27μg/mL vs. 1.97μg/mL)的激活方面更強效約 10 倍。

【0318】 2.不同濃度血清中的活性比較

不同濃度(1%、10%和 50%)的人血清被用於補體 C3 激活試驗。對於 1%和 10%的人血清，檢測方法與實施例 3 中所述相同。對於 50%的人血清，以 1μg/ml 的濃度包被甘露聚糖，每孔 100μl，4°C過夜。用 PBS+0.1% Tween20 洗滌 3 次後，用封閉緩衝液(10mM Tris-HCl+0.1%人血清白蛋白+140mM NaCl)封閉平板 1 小時。用含有 50%人血清 (Quidel, A113)的測定緩衝液(0.1%人血清白蛋白+20 mM Tris-HCl + 2 mM CaCl₂ + 140mM NaCl + 1 mM MgCl₂ + 0.05% Tween20)連續稀釋抗體，然後在冰上孵育 45 分鐘。將封閉緩衝液從甘露聚糖包被的平板上移走，加入抗體-血清混合物。平板在 37°C下孵育 30 分鐘。清洗 3 次後，用 HRP 連接的抗 C3c 抗體(Quidel-A205)檢測活化的 C3。如圖 7 所示，129C10-hu 和 OMS721-analog 對 1%血清中的 C3 激活有類似的抑制功效(IC₅₀ : 0.08μg/mL vs. 0.10μg/mL)。有趣的是 129C10-hu 在 10%血清的高濃度下表現出比 OMS721-analog 高 3 倍的效力(IC₅₀ : 0.20 μg/mL vs. 0.69 μg/mL)(見圖 8)。更重要的是，在 50%的血清濃度下，129C10-hu 仍然具有阻斷 C3 激活的活性，IC₅₀ 為 0.05μg/mL，而 OMS721-analog 則失去活性(見圖 9)。對於阻斷 C4 的激活，129C10-hu 在 10%的人血清中也顯示出比 OMS721-analog 高 2 倍的效力(IC₅₀ : 0.69μg/mL vs. 1.59μg/mL)(見圖 10)。

【0319】 實施例 8:藉由生物層干涉儀(ForteBio)檢測 MASP-2 抗體與人 MASP-2 的結合親和力

用 ForteBio 動力學緩衝液(PBS pH 7.4，0.1% BSA + 0.002% Tween-20)將待測抗體稀釋到 100 nM 的濃度。用動力學緩衝液稀釋人 MASP-2 蛋白，得到 100 nM、50 nM 和 25 nM 三個濃度的梯度。0 nM 被用來作為參考對照。抗體被固定在 Protein A 生物傳感器上。檢測基線 60 秒，然後檢測抗體與 MASP-2 的締合 180 秒，得到 K_{on} 因子數據。隨後在動力學緩衝液中解離 180 秒，得到 K_{off} 因子數據。生物傳感器的再生是在 10mM 甘胺酸，pH2.0 的緩衝液中。所有的動力學數據都是在 30°C 下收集的。數據是藉由使用 ForteBio Octet RED96 獲取，並藉由 Octet Data Analysis 軟體進行分析。如表 3 所示，所有測試的 MASP-2 融合瘤抗體與人 MASP-2 有很高的結合親和力， K_D 值從 10^{-10} M 到 10^{-8} M。人源化後，主導抗體 129C10-hu(129C10-HaLa)與 hMASP-2 保持最高的結合親和力， K_D 值 $<10^{-12}$ M(達到 ForteBio 的檢測極限)(表 4)， K_{on} 值為 $3.53E+4$ ， K_{off} 值為 $<1.0E-7$ (見圖 11)。

【0320】 表 3 MASP-2 融合瘤抗體的結合親和力

樣品	親和力		
	K_D (M)	k_{on} (1/Ms)	k_{dis} (1/s)
129C10H2C1	7.46E-10	6.40E+04	4.78E-05
160D10	2.78E-08	3.61E+04	1.00E-03
77C1H1E1	1.18E-09	6.96E+04	8.20E-05
128D5G3H2	1.05E-09	8.39E+04	8.81E-05
125D5G1G2	1.64E-09	5.94E+04	9.73E-05
160F3E1G5	1.41E-09	7.09E+04	1.00E-04

：

：

：

80C12G2F10	4.49E-09	9.25E+04	4.15E-04
115H10B3E4	7.20E-10	7.29E+04	5.24E-05

【0321】 表 4 MASP-2 人源化或嵌合抗體的結合親和力

樣品	K _D (M)	k _{on} (1/Ms)	k _{dis} (1/s)
129C10HaLa	<1.0E-12	3.53E+04	<1.0E-07
129C10HbLa	<1.0E-12	3.29E+04	<1.0E-07
129C10HbLb	<1.0E-12	3.29E+04	<1.0E-07
129C10HcLb	1.36E-09	3.37E+04	4.56E-05
129C10HaLb	1.14E-08	2.55E+04	2.91E-04
129C10HdLb	<1.0E-12	3.60E+04	<1.0E-07
129C10HdLa	1.71E-08	2.49E+04	4.25E-04
129C10HcLa	<1.0E-12	3.52E+04	<1.0E-07
129C10chiIgG4	8.02E-09	2.57E+04	2.06E-04
160D10chiIgG4	9.84E-10	3.40E+04	3.34E-05
125D5chilgG4	1.95E-08	2.56E+04	4.99E-04
OMS721-analog	7.40E-09	4.16E+04	3.08E-04

【0322】 實施例 9:藉由 ELISA 檢測 129C10-hu 的結合特異性

人 C1s /C1r、MASP-1/3 均購自 R&D、Cusbio 等。將重組人補體成分 C1s /C1r、MASP-1 或 MASP-3(1mg/ml)在 4°C下包被過夜；用洗滌緩衝液洗滌三次；在 4°C下加入封閉緩衝液(200μL/孔)1h；洗滌三次；在 RT 下加入連續稀釋的 Ab 1h；洗滌三次；加入小鼠抗人 IgG4 HRP(1:20000)，在 RT 下 1 小時；洗滌三次；

用四甲基聯苯胺(TMB)在 OD450nm 下檢測 40 分鐘。129C10-Hu 和 OMS721-analog 與 C1s、C1r、MASP1、MASP2 或 MASP3 結合的 EC50 分別顯示在圖 12A-12E。結果顯示，129C10-Hu 只與人 MASP2 結合，而不與人 C1s、C1r、MASP1 或 MASP3 結合。

【0323】 實施例 10:藉由 ELISA 對 129C10-hu 進行交叉反應

大鼠/小鼠 MASP-2 是向 Cusbio 公司訂購的。人/食蟹猴 MASP-2 是在內部生成的。ELISA 測定按以下程序進行。將不同物種的 MASP2(1μg/ml)在 4°C下包被過夜；用洗滌緩衝液洗滌三次；在 RT 下加入封閉緩衝液(200μL/孔)2 小時；洗滌三次；在 RT 下加入連續稀釋的 129C10-hu 或作為對照的 OMS721-analog 1 小時；洗滌三次；在 RT 下加入小鼠抗人 IgG4 Fc HRP(1：20000)1 小時；洗滌三次；用 TMB 在 OD450 nm 下檢測 2 分鐘。129C10-Hu 和 OMS721-analog 與不同物種的 MASP-2 的結合 EC50 分別見圖 13A 和圖 13B。

【0324】 實施例 11:129C10-hu 與食蟹猴 MASP-2 的交叉反應性，藉由使用食蟹猴血清中的 C4 激活測定

除了使用食蟹猴的血清外，測定方法與實施例 3 中描述的相同。每孔 100μl，10μg/ml 甘露聚糖包被在 ELISA 板上，4°C過夜。將抗體與 1%食蟹猴的血清在冰上孵育 45 分鐘。洗滌和封閉板後，加入抗體-血清混合物，然後在 37°C下孵育 90 分鐘。清洗後，用 HRP 連接的抗 C4c 抗體(Quidel-A211)檢測沉積的活化 C4。如圖 14 所示，129C10 阻斷了食蟹猴的 C4 激活，其 IC₅₀ 為 0.4973 μg/ml，表明 129C10 可以與食蟹猴 MASP-2 結合，阻斷其活性。

【0325】 實施例 12:129C10 在阻斷 MB-Lectin 補體途徑的激活方面的選擇性

有 3 條途徑可以啟動補體激活：經典途徑、MB-Lectin(MBL)途徑和替代途徑。這些途徑的啟動依賴於不同的分子，而它們彙聚在一起產生同一套效應分子，如膜攻擊複合物(MAC)。這三種途徑都是先天免疫的重要組成部分，在防禦不同的感染中發揮不同的作用(Noris M, et. Al. 2013. JM.)。接下來，測試了 129C10-hu 阻斷 MBL 途徑的選擇性。

【0326】 Wieslab 補體系統篩選試劑盒(IBL America, Cat# COMPL 300 RUO)被用來確定主導抗體 129C10-hu 的選擇性。板上預包被有甘露聚糖作為 MBL 途徑的啟動劑，IgM 作為經典途徑的啟動劑，LPS 作為替代途徑的啟動劑。用含有人類血清(Quidel, A113)的測定緩衝液連續稀釋 129C10-hu，然後在冰上孵育 45 分鐘。將抗體-血清混合物加入平板中，在 37°C 下孵育 60 分鐘。清洗後，用 AP 連接的抗 C5b-9 抗體檢測沉積的 MAC。EDTA 被用來作為阻斷補體激活的陽性對照。如圖 15a-15C 所示的結果，129C10-hu 只阻斷了從 MBL 途徑啟動的補體激活，而不是其他兩條補體途徑，這表明 129C10-hu 抗體選擇性地阻斷了 MBL 途徑的補體激活。

【0327】 實施例 13：藉由在 Fc 處引入 YTE 突變來延長 129C10-hu 的半衰期。

Dall'Acqua WF 等人報告說，在 IgG 的 Fc 部分引入三重突變 M252Y/S254T/T256E(YTE)可以增強其與 FcRn 的結合親和力並延長其在體內的半衰期(Dall'Acqua WF, et.al. 2006. JBC)。Motavizumab-YTE 是人類第一個 YTE 突變的 IgG，在 I 期臨床試驗中顯示出良好的耐受性和延長的半衰期(Robbie, G. J., et. al. 2013. AAC)。

【0328】我們將這種 M252Y/S254T/T256E(YTE)突變引入 129C10-hu，生成 129C10-hu-YTE。用生物層干涉儀(ForteBio)評估了它與 FcRn 的結合親和力。129C10-hu 或 129C10-hu-YTE 用 ForteBio 動力學緩衝液(PBS pH 7.4, 0.1% BSA + 0.002% Tween-20)稀釋到 500 nM、167 nM、56 nM、19 nM 和 0 nM 的系列濃度。帶 His 標籤的人 FcRn(FCGRT&B2M)蛋白用動力學緩衝液稀釋到 100 nM 的濃度梯度。FcRn 蛋白被固定在 Ni-NTA 生物傳感器上。記錄和分析了締合和解離的動力學過程。如圖 16A、圖 16B 和表 5 所示，YTE 突變使 129C10-hu 與人 FcRn 的結合親和力增加了 3 倍。

【0329】表 5 129C10-hu 和 129C10-hu-YTE 與人 FcRn 的結合親和力

樣品 ID	KD (M)	kon(1/Ms)	kdis(1/s)
129C10-hu	6.10E-09	5.20E+05	3.17E-03
129C10-hu-YTE	1.88E-09	5.36E+05	1.01E-03

【0330】實施例 14：MASP-2 抗體 129C10-hu 和 129C10-hu-YTE 在食蟹猴中的藥代動力學(PK)/藥效動力學(PD)研究

每組 2 隻食蟹猴靜脈注射 10 mg/kg 129C10-hu、129C10-hu-YTE 或 OMS721-analog。在輸液後 0、0.5、2、8、24、48、72、96、168、336、504、672、840 小時收集血清樣品。測試了血清中的抗體濃度和凝集素途徑激活的效力。

【0331】血清濃度用開發的 ELISA 方法測定，檢測範圍為 0.625-40 ng/mL。微孔板上預包被有人 IgG 特異性抗 IgG 抗體[R10z8e6]。封閉後，加入標準(STD)、質控(QC)樣品、基質空白樣品和測試樣品。洗滌後，將生物素小鼠抗人 IgG4 加入微孔板孔中，隨後加入用 HRP 標記的鏈黴親和素。在微孔板孔中加入 TMB。

藉由與同時分析的標準曲線進行比較，將質控和測試樣品的 OD 值轉換為濃度，根據四參數的邏輯模型進行回歸。

【0332】對於凝集素途徑的激活效力測試，將 10μg/ml 甘露聚糖包被在 ELISA 板上。用 C4 激活緩衝液將食蟹猴血清樣品稀釋到 2%。洗滌和封閉平板後，加入稀釋的血清並在 37°C 下孵育 90 分鐘。清洗後，用 HRP 連接的抗 C4c 抗體(Quidel-A211)檢測沉積的活化 C4。

【0333】如圖 17 和表 6 所示的 PK 結果，129C10-hu 在食蟹猴中的半衰期 164.77 小時比 OMS721-analog(130.152 小時)長。YTE 突變使 129C10-hu 的半衰期增加到 274.404 小時。如圖 18 所示的 PD 結果，抗體給藥 0.5 小時後，凝集素途徑的激活效力被抑制到基礎水平。抑制效果在 OMS721-模擬組持續 2 週，在 129C10-hu 組持續 3 週，在 129C10-hu-YTE 組持續約 4 週。

【0334】表 6 食蟹猴 PK 試驗的數據匯總

PK 參數	單位	129C10-hu 10mpk	129C10-hu-YTE 10mpk	OMS721-analog 10mpk
t1/2	h	164.777	274.404	130.152
Cmax	ng/ml	277231.420	278092.525	102730.925
AUC 0-t	ng/ml*h	39897468.881	56133410.517	17892207.152
Cl_obs	ml/day/kg	5.894	3.725	13.270

【0335】在另一項單獨的研究中，雄性和雌性食蟹猴被分配到五組，每組 2 雄性和 2 雌性，藉由皮下注射 0(溶媒對照)、15、20 和 295.8 mg/kg 129C10-hu，

或藉由靜脈注射 15 mg/kg 129C10-hu，注射量為 3 mL/kg，持續 4 週(多達五次)。
溶媒對照文章使用藥物配方緩衝液。

【0336】 在用藥前並分別在第一劑(見圖 19)和第四劑(見圖 20)後約 0.083、2、6、24、48、96 和 168 小時採集血樣。血清中的補體 4c(C4c)用酶聯免疫吸附試驗(ELISA)進行分析。簡而言之，甘露聚糖(Sigma)用包被緩衝液稀釋到 10 μ g/ml。在 96 孔板的每個孔中加入 100 μ l 的甘露聚糖工作溶液。將平板在 4°C 下孵育過夜。洗滌平板三次，然後加入 200 μ l 封閉緩衝液，在室溫下孵育 1h。用 C4 激活緩衝液將猴血清稀釋至 2%。在 96 孔板中加入 100 μ l 稀釋後的血清，在 37°C 下孵育 70 分鐘。用洗滌緩衝液清洗平板三次。加入 100 μ l HRP 連接的抗 C4c 抗體(用封閉緩衝液稀釋為 1:5000)，在室溫下孵育 1 小時。用洗滌緩衝液清洗平板三次。在 96 孔板的每個孔中加入 100 μ l TMB 受質溶液，在室溫下孵育 5-10 分鐘。向每孔板中加入 50 μ l 終止液。在 450 奈米處讀取平板。在 450 奈米處的光密度(OD450)值表示為單個值，並計算每個動物每個時間點的平均值。

【0337】 在第一次和第四次用藥後，血清 C4c 在 ≥ 15 mg/kg 時出現劑量依賴性降低，在皮下用藥的動物中給藥後 2 小時開始出現，在經由 I.V.用藥的動物中給藥後 0.083 小時開始出現，藉由 S.C 或 I.V.給藥的 3 個劑量水平在整個用藥期間，效果持續存在，在第一劑量後 24-96 小時具有最大效果，注意到藉由 S.C.給藥的劑量為 295.8mg/kg 時，與基線值相比，最大平均降幅在雄性動物中高達 88.4%，在雌性動物中高達 92.8%。總之，在每週一次以劑量為 15、60 或 295.8mg/kg 藉由 S.C.或 I.V.給藥 5 個劑量後，129C10-hu 對猴血清 C4c 有明顯的劑量依賴性降低作用，表明血清 C4c 可能是一個潛在的藥效學標誌物。

【0338】 實施例 15：抗體製劑研究的材料與方法

：

：

本發明製劑研究中選用的蛋白即抗體分子以 129C10-hu-YTE 為示例進行考察。

【0339】 本發明所用的儀器設備參見如下表 7，耗材參見如下表 8，試劑參見如下表 9。

【0340】 表 7 儀器設備

設備名稱	品牌	型號
純化水機	Millipore	Milli-Q Advantage A10
分析天平	Mettler Toledo	ML204T/ 02
磁力攪拌器	WIGGENS	MIX 6
滲透壓儀	Advanced	OsmoPRO
pH 計	Mettler Toledo	S220
紫外分光光度計	Thermo Scientific	Nano Drop 2000
超淨台	AIRTECH	VS-1300L-U
-80℃ 冰箱	Haier	DW-86L490J
40℃ 穩定箱	Memmert	HPP400
25℃ 穩定箱	Memmert	ICH110L
2~8℃ 冰箱	Haier	HYC-1378
澄明度檢測儀	Tianda Tianfa	YB-2
微流成像系統	Protein Simple	368-WPR2
酶標儀	PerkinElmer	2105 Model
動態光散射儀	WYATT	NanoPro
差示掃描量熱儀	TA	Nano DSC
離心機	Eppendorf	5804R

【0341】 表 8 耗材

耗材名稱	廠家	貨號
0.22 μm PVDF 膜	Millipore	SLGVR33RS
13 mm 橡膠塞	West Pharma Packaging	7002-0664
13 mm 鋁蓋	West Pharma Packaging	54133001
20 mm 橡膠塞	West Pharma Packaging	1970-0022
20 mm 鋁蓋	West Pharma Packaging	5420-3603
2R 西林瓶	Schott Glass Technologies	1542306
6R 西林瓶	Schott Glass Technologies	1546216
5 mL PC 瓶	Fisher	3500-05

【0342】 表 9 試劑

試劑名稱	廠家	級別	貨號
醋酸	J.T Baker	Multi-Compendial, GMP Manufactured Product, B.P., E.P., J.P., U.S.P	9526-03
三水合醋酸鈉	Merck	EMPROVE®bio, PhEur, BP, JP, USP	1.37012.1000
L-組胺酸	Merck	EMPROVE®exp, PhEur, USP, JP	1.04352.1000
一水合 L-組胺酸鹽 酸鹽	Merck	EMPROVE®exp, PhEur, BP, JP	1.04354.0500
一水合檸檬酸	Merck	EMPROVE®exp, Ph Eur, BP, JP, USP.	1.00242.5000

檸檬酸鈉	Merck	EMPROVE®exp, Ph Eur, BP, JP, USP.	1.06446.1000
6N 鹽酸	J.T Baker	GMP manufactured Product	0327-02
聚山梨酯 80	NOF	USP, NF, EP, JP	HX2
聚山梨酯 20	Croda	Super Refined™ USP, NF, PhEur, JP	SR40606
蔗糖	Pfanstiehl	high purity, low endotoxin, NF,EP,JP,ChP	36583A
氯化鈉	Merck	EMPROVE®exp, Ph Eur, BP, JP, USP. low in endotoxins suitable for use as excipient	1.16224
海藻糖	Pfanstiehl	high purity, low endotoxin, NF,EP,JP,ChP	T-104-4
山梨醇	Merck	EMPROVE®exp, Ph Eur, BP, JP, NF	1.11597.9028
甘露醇	Merck	EMPROVE®APIPh Eur, BP, JP, USP	1.05303.5000
L-脯胺酸	Merck	EMPROVE®exp, Ph Eur, USP	1.07430.1000
L-精胺酸鹽酸鹽	Merck	EMPROVE®exp, Ph Eur, BP, JP	1.01544.1000

【0343】 本發明中涉及的方法步驟如下：

【0344】 1.通用緩衝液製備方法：所有緩衝液的製備均使用特定的酸性和鹼性離子對。準確稱取酸性，鹼性離子對的輔料，加入約為目標緩衝液體積的 60% 的 Milli-Q 水，混合均勻後，測定溶液的 pH。如果 pH 值偏離目標值，需使用相應的離子對調節 pH。然後將溶液用 Milli-Q 水稀釋至目標重量或目標體積。最後測定溶液的電導率，滲透壓和 pH 以進行驗證。

【0345】 2.樣品製備方法：用透析法將 DS 緩衝液置換到目標製劑處方中，或者直接將高濃度輔料、表面活性劑加入高濃度 DS 中，然後將 DS 稀釋至目標濃度。透析方法根據使用的耗材可以分為以下兩種：(1)如果目標製劑的處方與 DS 中的緩衝液不同，則使用透析方法將 DS 緩衝液置換為目標製劑處方(表面活性劑不可藉由透析方法加入)。將樣品裝入 SnakeSkin® 透析袋，密封後，放入體積大約是樣品量 100 到 200 倍的緩衝液中。透析進行 3 次，持續時間分別為 4 小時，4 小時和過夜，攪拌速度為 200 rpm。然後移取適量的表面活性劑和其他輔料儲備液加入樣品溶液中，並將樣品溶液稀釋至目標濃度。(2)還可使用 Slide-A-Lyzer 透析卡進行透析。使用帶針注射器將 3- 12ml 樣品裝入透析卡內，浸入 100 到 200 倍的目標緩衝液中，在室溫下，以 300 轉/分攪拌將透析卡持續透析三次，時間分別為 4 小時，4 小時和過夜。

【0346】 3.外觀：藉由 YB-2 澄明度檢測儀檢查黑色和白色背景的外觀。報告澄清晰度，顏色和可見顆粒。

【0347】 4.pH：樣品 pH 藉由安裝有 Inlab® Micro-Pro-ISM 電極的 Seven Compact pH 計測量樣品 pH。在使用前校準 pH 計。

【0348】 5.蛋白濃度：藉由 Nano Drop 2000 分光光度計在 280nm 處的吸光度測定蛋白質濃度。在整個研究中使用的消光係數(E1%)為 1.422 L/g/cm。每個樣品在 2.0 μ L 的加載體積下測量兩次，報告平均濃度。

【0349】 6.動態光散射儀(DLS)：藉由 DLS 使用以下測量條件測定蛋白質大小分佈：採集時間：5s，每次測量採集：20 次，溫度：25°C。

【0350】 6.1 利用 DLS 測定 k_D 值：將樣品用相應的緩衝液稀釋至濃度為 1、2、4、8、12、16、20 mg/mL，利用 DLS 對其 k_D 值進行分析，採集時間：5s，每次測量採集：20 次，溫度：25°C。

【0351】 6.2 利用 DLS 測定黏度：將待測樣品與直徑為 100nm 的標準粒子混合，標準粒子的終濃度為 1%，利用 DLS 測得標準粒子的表觀粒徑，採集時間：5s，每次測量採集：20 次，溫度：25°C，並採集的數據經 DYNAMICS 軟體進行分析計算出體系的黏度。

【0352】 6.3 利用 DLS 測定 T_{onset} 值： T_{onset} 測定的是蛋白在升溫過程中發生構型變化或聚集而使得粒徑發生變化時的轉變溫度。將樣品用相應緩衝液稀釋至 4 mg/mL，取 100 μ L 加入 96 孔板，3000 rpm 離心 5 min，加入 10 μ L 矽油覆蓋在樣品上，3000 rpm 離心 5 min。儀器在 25~80°C 範圍內按照 1°C/min 進行線性升溫，同時單個樣品測定 8 次，每次採集 3 s。收集粒徑和溫度數據，繪製曲線，用儀器官方軟體提供的線性相交功能可計算得到樣品的 T_{onset} 。

【0353】 7.體積排阻色譜(SEC)：蛋白聚集情況使用 Waters H Class 超高效液相色譜儀和 Waters BEH Protein SEC 管柱(150 $\times$ 4.6 mm，1.7 μ m)藉由 SEC 方法測定。流動相為 50 mM 磷酸鈉緩衝液，300 mM NaCl，pH 6.8 $\pm$ 0.1。流速為 0.4 mL/min。將樣品稀釋至 2 mg/mL，檢測體積 10 μ L，檢測波長為 280nm。

：

：

：

【0354】 8.陽離子交換色譜(CEX)：蛋白的電荷異質性藉由 CEX-HPLC 方法進行測定。液相系統為 Agilent 1260 Infinity II，色譜管柱為 Thermo Propac WCX-10 BioLC column (4 × 250 mm, 10 μm)。樣品混合均勻後，離心並轉移上清液，然後用流動相 A 稀釋至 2.0 mg/mL。色譜條件如下表 10 所示。

【0355】 表 10 陽離子色譜運行條件

類別	參數		
波長	280 nm		
管柱溫	30 ± 1°C		
流速	0.6 mL/min		
進樣量	20 μL		
流動相 A	0.5×CX-1 pH 梯度溶液 A pH 5.5±0.2		
流動相 B	1×CX-1 pH 梯度溶液 B, 20 mM NaCl pH 10.1±0.2		
梯度	Time (min)	A (%)	B (%)
	0.00	90	10
	40.00	50	50
	40.10	0	100
	45.00	0	100
	45.10	90	10
	55.00	90	10

【0356】 9.非還原毛細管電泳(NR-CE-SDS)：蛋白碎片情況藉由 NR-CE-SDS 方法進行測定。將標準品或供試樣品用磷酸-檸檬酸緩衝液稀釋至 4 mg/mL，然後取 25 μL 與 75 μL SDS 樣品緩衝液和 5 μL NEM(100 mM N-乙基馬來醯亞胺)渦旋混合進行變性處理。變性的樣品經離心後，在 70±2°C下孵育 10±2 min，在室溫下

：

：

：

冷卻，然後再次離心。使用 SDS 分離凝膠試劑盒和未塗層的熔融石英毛細管在 PA800 plus 上進行分離。使用高速分離模式，毛細管的有效分離長度 10 cm。

【0357】 10.蛋白溶液濁度測試(OD405)：藉由 Envision 多功能微孔板檢測儀對樣品濁度進行檢測。以緩衝液為空白對照，測得樣品與空白對照的差值為樣品 405nm 的 OD 值。

【0358】 11.微流成像系統(MFI)：樣品中的亞可見微粒數量是藉由 Protein Simple 的 MFI 5200 進行測定。樣品無需稀釋，直接用移液槍取 1 mL 進樣。報告每毫升樣品中粒徑分別在 $\geq 2\text{ }\mu\text{m}$ ， $\geq 10\text{ }\mu\text{m}$ 和 $\geq 25\text{ }\mu\text{m}$ 範圍內的顆粒數。

【0359】 12.全柱成像毛細管等電聚焦電泳法(icIEF)：樣品藉由和適當的包含有 pI 標記物和兩性電解質混合物混勻後藉由自動進樣器進入到 iCE3 系統的 FC-coated 毛細管中。經過高電壓分離步驟後，蛋白的不同電荷異構體遷移到各自的等電點位置，然後該分離後確定位置經 UV 檢測器捕獲(藉由全柱檢測的 CCD 相機在 UV280nm 處採集的 UV 吸收圖譜)。使用 iCE 系統軟體，藉由樣品出峰和相應的 pI 標記物的聚焦位置校準樣品出峰的等電點，後續數據分析在 Empower 軟體中執行。色譜條件如下表 11 所示。

【0360】 表 11 色譜運行條件

類別	參數
自動進樣器溫度	15°C
聚焦電壓及時間	聚焦第一階段：1500 伏，1 分鐘
聚焦電壓及時間	聚焦第二階段：3000 伏，8 分鐘
進樣時間	進樣時間可根據 TTM 的測試結果更改

【0361】 13.結合活性：本方法使用抗 MASP-2 抗體 C4 活化抑制測定法，實驗中包被物為甘露聚糖，檢測抗體為 Complement C4c Antibody (HRP)，酶反應的受質為 TMB。將甘露聚糖包被吸附在 ELISA 固相載體吸附板上，洗滌封閉後加入供試品和人血清補體混合物與之結合，其中樣品濃度越高其抑制血清中 MASP-2 裂解 C4 的效應越強，C4b 含量就越低，則剪切得到的 C4c 越少。待孵育後洗滌，加入檢測抗體，再進行孵育後洗滌除去未結合的檢測抗體，加入受質顯色，最後加入反應終止液，在酶標儀上讀取吸光值，其檢測波長為 450nm/650nm。以抗 MASP-2 抗體蛋白濃度的 log 值為橫坐標，OD_{450nm-650nm} 值為縱坐標進行四參數擬合，獲得樣品與標準品的 IC₅₀ 值。最終結果以標準品 IC₅₀ 值除以樣品 IC₅₀ 值的相對活性進行彙報。

【0362】 實施例 16：輔料篩選實驗

【0363】 1.實驗設計

樣品處方信息，穩定性實驗放置條件和檢測方法如表格 12 所示。UFDF 樣品藉由透析置換為目標處方的緩衝液中，然後用相應的輔料儲備液稀釋至 30 mg/mL，最後用 0.22 μm PVDF 膜過濾製備得到。

【0364】 表 12 輔料篩選實驗設計方案

處方	蛋白含量	輔料	緩衝體系	穩定性條件和檢測項
F1(Arg)	30 mg/mL	150mM 精胺酸 (Arg)	20 mM 醋酸 鹽, pH 5.5, 0.05% PS 80	T0: 外觀, 蛋白含量, pH; OD405, DLS; SEC, NR CE-SDS, CEX; MFI
F2 (NaCl)		150mM 氯化鈉 (NaCl)		40°C (3,7,14 天): 蛋白含量, OD405, pH; DLS; SEC, NR CE-SDS, CEX
F3 (Sor)		5% 山梨醇(Sor)		凍融 (1,3,5 次): 蛋白含量, OD405, pH, DLS; MFI
F4 (Suc)		9% 蔗糖(Suc)		攪拌 (100 rpm 2,6 小時): 外觀, 蛋白含量, pH; OD405, DLS; CEX
F5 (Tre)		9% 海藻糖(Tre)		振搖 (1,3,5 天): 外觀, 蛋白含量, OD405, CEX, NR CE-SDS

【0365】 2.實驗

【0366】 2.1.高溫 40°C實驗結果

在 40°C 下放置 14 天後，5 個處方的粒徑、濃度、pH 沒有明顯差異；純度方面，所有處方的純度均發生下降，其中 F2 (NaCl)和 F3 (Sor)的 SEC 主峰最多，F3 (Sor)的 CEX 主峰下降最多，具體降解趨勢如圖 24，圖 25，圖 26 所示。

【0367】 2.2.振搖實驗結果

輔料篩選中各處方在振搖條件下的 CEX 結果如圖 27 所示，振搖 1 天，3 天，5 天後，5 個處方的外觀、濃度、OD405 和純度都沒有發生明顯變化。

【0368】 2.3.攪拌實驗結果

5 個處方的樣品外觀均由乳光變為渾濁，但 F4 (Suc)在攪拌 2 小時後依然保持乳光狀態，而其他處方在攪拌 2 小時後已變渾濁。除 F1(Arg)外，其餘處方的 OD405 均增加。所有處方的濃度和 pH 無明顯變化。攪拌 2 小時，6 小時後，5 個處方的 SEC 純度都沒有發生明顯變化。輔料篩選中各處方在攪拌條件下的 CEX、NR CE-SDS 結果如圖 28、圖 29 所示。

【0369】 2.4.凍融實驗結果

經 5 輪凍融後，5 個處方的樣品濃度，粒徑，OD405 和 pH 均沒有明顯變化。不溶性微粒方面，F2 (NaCl)不溶性微粒濃度呈明顯增加趨勢。輔料篩選中各處方在凍融條件下的 MFI 結果如表格 13 所示。

【0370】 表 13 MFI 結果_凍融

處方	2-10 μm				10-25 μm				≥25 μm			
	T0	1 次	3 次	5 次	T0	1 次	3 次	5 次	T0	1 次	3 次	5 次
F1(Arg)	4.5	11.3	15.9	19.3	46	4433	3157	3092	8	11	8	8
F2 (NaCl)	293.1	218.9	364.5	440.1	3516	61588	37187	32303	0	344	42	15
F3 (Sor)	3.4	0.5	0.9	1.5	250	4	23	665	127	0	4	31
F4 (Suc)	2.8	0.5	2.0	187.3	8	0	69	37196	0	0	0	425 2
F5 (Tre)	1.1	0.2	0.5	1.7	27	0	8	76	4	0	0	8

【0371】 總結

對於 F2 (NaCl)和 F3 (Sor)來說，40°C 條件下 SEC、CEX 主峰下降程度較其他處方更大，明顯劣於其他處方，因此排除上述兩種作為輔料。總體來看，精胺

酸、蔗糖和海藻糖之間無明顯差異，均可滿足試驗要求，綜合成本和輔料在生物製劑上應用的廣泛性考慮，因此選擇蔗糖 F4 (Suc)進入下一步實驗。

【0372】 實施例 17：表面活性劑篩選實驗

【0373】 1.實驗設計

樣品處方信息，穩定性實驗放置條件和檢測方法如表格 14 所示。UFDF 樣品用相應的輔料儲備液稀釋至 50 mg/mL，最後用 0.22 μm PVDF 膜過濾製備得到。分別取 1 mL 樣品至 2R 西林瓶以進行 40°C 試驗，取 2 mL 樣品至 6R 西林瓶中以進行攪拌試驗，2 mL 樣品至 2R 西林瓶中進行振搖試驗。

【0374】 表 14 表面活性劑篩選實驗方案設計

製劑處方	蛋白含量	表面活性劑	緩衝體系	穩定性條件和檢測項
F6 (T2)	30 mg/mL	0.025%聚山梨酯 80(PS80)	20 mM 醋酸 鹽 pH 5.5, 9%蔗糖	T0: 外觀, 蛋白含量, pH; OD405, DLS; SEC, NR CE-SDS, CEX 40°C (3,7,14 天):外觀，蛋白含量, pH, OD405 DLS; SEC, NR CE-SDS, CEX 攪拌 (100 rpm 2,6 小時): 外觀, 蛋白含量, pH; OD405, DLS; NR CE-SDS,CEX 振搖 (200rpm 1,3,5 天): 外觀, 蛋白含量, OD405, CEX, NR CE-SDS
F7 (T5)		0.05%聚山梨酯 80(PS80)		
F8 (T10)		0.1%聚山梨酯 80(PS80)		
F9(W2)		0.025%聚山梨酯 20(PS20)		
F10(W5)		0.05%聚山梨酯 20(PS20)		
F11(W10)		0.1%聚山梨酯 20(PS20)		

【0375】 2.實驗

【0376】 2.1.高溫 40°C實驗結果

【0377】 (1)外觀、粒徑、Conc.，pH 和 OD405

如表格 15 所示，6 個處方在經 40°C 處理後外觀、粒徑、Conc.，pH 和 OD405 均無變化。

【0378】 表 15 表面活性劑篩選實驗的外觀，粒徑，濃度和 OD405_高溫實驗結果

處方	外觀		濃度(mg/ml)		OD405		PH		粒徑(nm)	
	T0	14 天	T0	14 天	T0	14 天	T0	14 天	T0	14 天
F6 (T2)	SOC	SOC	31.5	31.6	0.07	0.07	5.7	5.6	7.7	8.0
F7(T5)	SOC	SOC	31.4	31.6	0.07	0.07	5.7	5.6	7.8	8.1
F8 (T10)	SOC	SOC	31.6	31.8	0.07	0.07	5.7	5.6	7.7	8.1
F9 (W2)	SOC	SOC	31.5	31.8	0.07	0.08	5.7	5.6	7.8	8.8
F10 (W5)	SOC	SOC	31.5	31.6	0.07	0.08	5.7	5.6	7.7	8.0
F11(W10)	SOC	SOC	31.7	31.6	0.07	0.08	5.7	5.6	7.7	8.2

SOC=輕微乳光

【0379】 (2)SEC

如表 16 和圖 30 所示，經 40°C 處理後所有樣品的 SEC 主峰略微下降，但 6 組處方之間無明顯區別。

【0380】 表 16 表面活性劑篩選實驗 SEC 結果_高溫實驗

處方	HMW%				MP%				LMW%			
	T0	3 天	7 天	14 天	T0	3 天	7 天	14 天	T0	3 天	7 天	14 天
F6 (T2)	1.0	1.6	1.9	2.2	98.6	98.3	97.9	97.6	0.4	0.2	0.2	0.2
F7(T5)	1.0	1.6	1.9	2.3	98.6	98.2	97.9	97.5	0.5	0.2	0.1	0.2
F8(T10)	0.9	1.6	1.9	2.2	98.5	98.2	97.9	97.6	0.6	0.1	0.1	0.2
F9 (W2)	1.0	1.6	1.9	2.2	98.7	98.3	98.0	97.7	0.4	0.1	0.1	0.2
F10(W5)	1.0	1.6	1.9	2.2	98.6	98.2	97.9	97.5	0.4	0.2	0.2	0.2
F11(W10)	1.0	1.6	1.9	2.3	98.6	98.2	98.0	97.6	0.4	0.1	0.1	0.2

【0381】 (3)NR CE-SDS

如表格 17 所示，經 40°C 處理後所有處方的 NR CE-SDS MP%均發生下降，但變化幅度不大，均在可接受範圍。

【0382】 表 17 表面活性劑篩選實驗 NR CE-SDS 結果_高溫實驗

處方	LMW%				MP%			
	T0	3D	7D	14D	T0	3D	7D	14D
F6 (T2)	1.7	1.8	2.1	2.5	98.0	97.4	97.1	96.4
F7(T5)	1.5	1.8	2.0	2.5	98.3	97.6	97.2	96.3
F8 (T10)	1.7	1.9	2.0	2.4	98.1	97.3	97.2	96.5
F9 (W2)	1.6	1.9	2.0	2.5	98.1	97.3	97.2	96.3
F10 (W5)	1.7	1.9	2.0	2.4	98.0	97.4	97.2	96.3
F11(W10)	1.6	1.9	2.1	2.4	98.0	97.4	97.1	96.5

【0383】 (4)CEX

如表格 18 所示，經 40°C 處理後，所有處方的主峰 MP%均發生了中等程度的下降，但均在可接受範圍，各處方的 CEX 無顯著差異。

【0384】 表 18 CEX 結果_高溫實驗

處方	酸性峰%				MP%				鹼性峰%			
	T0	3D	7D	14D	T0	3D	7D	14D	T0	3D	7D	14D
F6 (T2)	23.7	21.7	24.0	28.5	62.7	63.4	60.7	56.2	13.6	14.9	15.3	15.3
F7(T5)	23.6	22.2	24.0	29.1	62.8	63.0	60.7	55.5	13.6	14.9	15.2	15.4
F8 (T10)	23.9	21.9	24.1	29.0	62.5	63.1	60.7	55.7	13.6	15.0	15.2	15.3
F9 (W2)	23.7	21.9	24.1	28.7	62.7	63.2	60.8	56.0	13.7	14.9	15.1	15.3
F10 (W5)	23.7	22.0	24.2	29.1	62.7	63.1	60.5	55.7	13.6	14.9	15.3	15.2
F11(W10)	23.7	24.8	24.1	28.6	62.7	60.6	60.8	56.0	13.6	14.6	15.2	15.4

【0385】 2.2.攪拌實驗結果

表面活性劑篩選中各處方在 100 rpm 攪拌條件下的穩定性結果如表格 19、圖 31、圖 32 所示。經 100 rpm 攪拌 6 小時後，F6(T2)、F7 (T5)、F9 (W2)和 F10 (W5)的外觀由乳光變為渾濁，所有處方的 OD405 均升高，濃度和 pH 無明顯變化。攪拌 2 小時，6 小時後，6 個處方的純度都沒有發生明顯變化。

【0386】 表 19 外觀、濃度、OD405、PH、粒徑結果_攪拌實驗

處方	外觀			濃度(mg/ml)			OD405			PH			粒徑(nm)		
	T0	2H	6H	T0	2H	6H	T0	2H	6H	T0	2H	6H	T0	2H	6H
F6 (T2)	SOC	SOC	Turbid	31.5	31.6	31.7	0.07	0.09	0.09	5.7	NT	5.6	7.7	8.2	8.1
F7 (T5)	SOC	SOC	Turbid	31.4	31.6	31.6	0.07	0.09	0.15	5.7	NT	5.6	7.8	7.8	6.0

F8 (T10)	SOC	SOC	SOC	31.6	31.6	31.7	0.07	0.11	0.08	5.7	NT	5.6	7.7	8.9	7.7
F9 (W2)	SOC	SOC	Turbid	31.5	31.6	31.5	0.07	0.08	0.12	5.7	NT	5.6	7.8	7.9	8.0
F10 (W5)	SOC	SOC	Turbid	31.5	31.6	31.9	0.07	0.08	0.13	5.7	NT	5.6	7.7	8.7	8.1
F11 (W10)	SOC	SOC	SOC	31.7	31.7	31.5	0.07	0.08	0.09	5.7	NT	5.6	7.7	7.9	8.1

SOC=輕微乳光、Turbid=渾濁

【0387】 2.3.振搖實驗結果

【0388】 (1)外觀、濃度、OD405

如表格 20 所示，經 200 rpm 振搖 5 天後，各處方的外觀、濃度和 OD405 無明顯變化。

【0389】 表 20 外觀、濃度、OD405 結果_振搖實驗

處方	外觀				濃度(mg/ml)				OD405			
	T0	1D	3D	5D	T0	1D	3D	5D	T0	1D	3D	5D
F6 (T2)	SOC	SOC	SOC	SOC	31.5	31.6	31.5	31.7	0.07	0.08	0.07	0.07
F7(T5)	SOC	SOC	SOC	SOC	31.4	31.7	31.5	31.6	0.07	0.08	0.07	0.07
F8 (T10)	SOC	SOC	SOC	SOC	31.6	31.7	31.6	31.7	0.07	0.08	0.07	0.07
F9 (W2)	SOC	SOC	SOC	SOC	31.5	31.8	31.7	31.6	0.07	0.07	0.07	0.08
F10 (W5)	SOC	SOC	SOC	SOC	31.5	31.6	31.5	31.6	0.07	0.08	0.08	0.07
F11	SOC	SOC	SOC	SOC	31.7	31.5	31.6	31.5	0.07	0.08	0.07	0.07

：

：

(W10)												
-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

SOC=輕微乳光

【0390】 (2)NR CE-SDS

如表格 21 所示，經振搖處理後，所有處方的 NR CE-SDS 主峰變化無明顯區別。

【0391】 表 21 NR CE-SDS 結果_振搖實驗

處方	LMW%				MP%			
	T0	1D	3D	5D	T0	1D	3D	5D
F6 (T2)	1.7	2.0	1.9	1.9	98.0	97.7	97.7	97.6
F7(T5)	1.5	1.9	1.8	1.8	98.3	97.8	97.9	97.7
F8 (T10)	1.7	2.1	1.8	2.1	98.1	97.6	97.8	97.4
F9 (W2)	1.6	2.0	1.8	2.0	98.1	97.7	97.9	97.5
F10 (W5)	1.7	2.1	1.8	2.1	98.0	97.6	97.8	97.5
F11(W10)	1.6	1.9	1.9	2.0	98.0	97.8	97.7	97.5

【0392】 (3)CEX

如表格 22 所示，經振搖處理後，所有處方的 CEX 主峰無明顯變化。

【0393】 表 22 CEX 結果_振搖實驗

處方	酸性峰%				MP%				鹼性峰%			
	T0	3D	7D	14D	T0	3D	7D	14D	T0	3D	7D	14D
F6 (T2)	23.7	21.0	21.1	21.3	62.7	64.6	64.5	64.2	13.6	14.4	14.4	14.5
F7(T5)	23.6	21.0	21.1	21.0	62.8	64.7	64.5	64.5	13.6	14.3	14.4	14.4
F8 (T10)	23.9	21.2	21.2	21.0	62.5	64.4	64.3	64.2	13.6	14.4	14.5	14.8

F9 (W2)	23.7	20.7	20.9	21.0	62.7	64.9	64.8	64.5	13.7	14.4	14.4	14.5
F10 (W5)	23.7	21.1	21.2	21.0	62.7	64.5	64.1	64.5	13.6	14.4	14.7	14.5
F11(W10)	23.7	21.5	20.7	21.3	62.7	64.1	64.9	64.1	13.6	14.5	14.4	14.6

【0394】 3.總結

40°C 條件下，各個處方的外觀、OD405 和 DLS 等結果均無明顯變化，所有處方的 SEC 有略微降低，NR CE-SDS 和 CEX 主峰有中等程度定的降低，處方之間的差異較小。

【0395】 攪拌條件下，各處方的濃度無明顯變化，但 F6 (T2)、F7 (T5)、F8 (W2)和 F10(W5)的外觀由乳光變為渾濁，F7 (T5)、F9 (W2)和 F10 (W5)的 OD405 上升，所有處方的 DLS 粒徑和 PDI 均有增加，純度無明顯變化。

【0396】 振搖條件下，各個處方的外觀和 DLS 等結果均無明顯變化，所有處方的純度無明顯變化，處方之間沒有差異。

【0397】 在表面活性劑篩選中，聚山梨酯 80 和聚山梨酯 20 之間無明顯差別，所有處方均對於振搖應力有一定的抗性，均滿足實驗要求。綜合成本考慮，選擇聚山梨酯 80 作為表面活性劑進行接下來的試驗。

【0398】 實施例 18：pH 篩選實驗

【0399】 1.實驗設計

樣品處方信息和檢測方法如表 23 所示。UFDF 樣品藉由透析置換為目標處方的緩衝液中，然後用相應的輔料儲備液稀釋至 30 mg/mL，最後用 0.22 μm PVDF 膜過濾製備得到。樣品製備完成後對其外觀，濃度，滲透壓，黏度， k_D ， T_{onset} 進行測定。

【0400】 表 23 pH 篩選實驗設計方案

處方	蛋白含量	緩衝體系		表面活性劑	穩定性條件和檢測項
F12	30 mg/mL	20mM 醋酸 (Ace)	4.5	0.05% 聚山 梨酯 80	T0: 蛋白含量, 外觀, OD405, pH, DLS, SEC, CEX, NR CE-SDS 凍融 (-70°C~RT 室溫, 3/5 循環): 蛋白含 量, pH, OD405, DLS, MFI
F13			5.0		
F14			5.5		
F15		20mM 組胺 酸(His)	5.0		振搖 (200 rpm, 1/3/5 天): 蛋白含 量, 外觀, pH, OD405, CEX, NR CE-SDS,
F16			5.5		
F17			6.0		
F18		20mM 檸檬 酸(Cit)	5.5		高溫 40°C (3/7/14 天): 蛋白含量, OD405, pH, DLS, SEC, CEX, NR CE-SDS
F19			6.0		
F20			6.5		

【0401】 2.實驗

【0402】 2.1.凍融實驗

【0403】 (1)濃度，pH，粒徑和 OD405 結果

如表格 24 所示，經 5 次凍融後，F18 (Cit5.5)、F19 (Cit6.0)和 F20 (Cit6.5)的 OD405 呈增加趨勢，其餘處方的 OD405 沒有明顯變化。9 個處方的樣品濃度和 pH 均沒有明顯變化。F18 (Cit5.5)、F19 (Cit6.0)和 F20 (Cit6.5)的樣品粒徑較大，凍融後樣品粒徑無明顯變化。

【0404】 表 24 外觀，濃度，pH 和 OD405 結果_凍融

處方	濃度(mg/mL)		OD405		pH		粒徑(nm)	
	T0	5 次	T0	5 次	T0	5 次	T0	5 次
F12 (Ace4.5)	29.5	29.7	0.062	0.065	4.7	4.8	2.8	2.8
F13 (Ace5.0)	30.7	31.8	0.067	0.071	5.2	5.2	4.5	4.6
F14 (Ace5.5)	30.5	31.6	0.073	0.077	5.7	5.6	6.2	4.6
F15 (His5.0)	30.1	30.5	0.071	0.076	5.1	5.1	5.8	5.8
F16 (His5.5)	30.5	31.1	0.076	0.078	5.6	5.6	6.8	7.6
F17 (His6.0)	30.2	31.0	0.072	0.077	6.1	6.1	6.7	7.5
F18 (Cit5.5)	30.4	31.1	0.063	0.090	5.6	5.5	12.0	11.3
F19 (Cit6.0)	30.7	30.5	0.079	0.086	6.0	5.9	10.0	9.9
F20 (Cit6.5)	30.2	30.6	0.075	0.080	6.5	6.3	8.9	9.0

【0405】 (2)MFI 結果

如表格 25 所示，T0 時，在 $\geq 25\text{ }\mu\text{m}$ 的不溶性微粒濃度方面，所有處方均小於 10 個/mL；在 $\geq 10\text{ }\mu\text{m}$ 的不溶性微粒方面，所有處方均小於 100 個/mL。經過凍融後，F19 (Cit6.0)中 $\geq 2\text{ }\mu\text{m}$ 和 $\geq 10\text{ }\mu\text{m}$ 的不溶性微粒有明顯增加趨勢，其餘處方之間沒有觀察到明顯的差異。

【0406】 表 25 MFI 結果_凍融

處方	2-10 μm				10-25 μm				$\geq 25\text{ }\mu\text{m}$			
	T0	1 次	3 次	5 次	T0	1 次	3 次	5 次	T0	1 次	3 次	5 次
F12 (Ace4.5)	726	1211	344	1429	19	15	4	176	4	4	0	11
F13 (Ace5.0)	1949	589	925	1429	57	19	19	76	0	0	11	8
F14 (Ace5.5)	2209	967	1143	3020	42	15	65	456	0	0	4	139
F15 (His5.0)	982	405	940	2713	4	27	38	283	0	0	4	34
F16 (His5.5)	715	822	6699	772	0	8	917	69	0	4	23	4
F17 (His6.0)	5071	428	459	482	57	8	11	15	0	0	8	0
F18 (Cit5.5)	4865	699	688	1204	19	73	15	80	0	4	8	0
F19 (Cit6.0)	3894	12951	13681	12569	54	1597	959	1536	4	8	19	19

F20 (Cit6.5)	1452	5385	2281	10937	50	46	8	696	0	8	0	19
-----------------	------	------	------	-------	----	----	---	-----	---	---	---	----

【0407】 2.2.振搖實驗

【0408】 (1)外觀、濃度，pH 和 OD405 結果

如表 26 所示，T0 時，所有樣品均呈有乳光，且均未發現可見異物，蛋白濃度和 pH 值均符合要求。經 200 rpm 振搖 5 天後，F18 (Cit5.5)外觀變為渾濁，F18 (Cit5.5)、F19 (Cit6.0)和 F20 (Cit6.5)的 OD405 呈增加趨勢，其餘處方的外觀和 OD405 沒有明顯變化。9 個處方的樣品濃度和 pH 均沒有明顯變化。

【0409】 表 26 外觀，濃度，pH 和 OD405 結果_振搖

處方	外觀		濃度(mg/mL)		OD405		pH	
	T0	5 天	T0	5 天	T0	5 天	T0	5 天
F12 (Ace4.5)	SOC	SOC	29.5	29.3	0.062	0.062	4.7	4.6
F13 (Ace5.0)	SOC	SOC	30.7	30.7	0.067	0.067	5.2	5.0
F14 (Ace5.5)	SOC	SOC	30.5	30.5	0.073	0.073	5.7	5.5
F15 (His5.0)	SOC	SOC	30.1	30.2	0.071	0.071	5.1	5.0
F16 (His5.5)	SOC	SOC	30.5	30.4	0.076	0.075	5.6	5.5
F17 (His6.0)	SOC	SOC	30.2	30.3	0.072	0.075	6.1	6.1
F18 (Cit5.5)	SOC	Turbid	30.4	30.3	0.063	0.074	5.6	5.4
F19 (Cit6.0)	SOC	SOC	30.7	30.7	0.079	0.086	6.0	5.9
F20 (Cit6.5)	SOC	SOC	30.2	30.2	0.075	0.080	6.5	6.4

SOC=輕微乳光

Turbid=渾濁

【0410】 (2)NR CE-SDS 和 CEX 結果

如表 27 和表 28 所示，所有處方的 NR CE-SDS 和 CEX 主峰無變化。

【0411】 表 27 NR CE-SDS 結果_振搖

處方	LMW%				MP%			
	T0	1 天	3 天	5 天	T0	1 天	3 天	5 天
F12 (Ace4.5)	1.6	1.8	1.6	1.8	98.1	98.0	98.1	97.8
F13 (Ace5.0)	1.6	1.7	1.6	1.8	98.1	97.9	98.0	97.7
F14 (Ace5.5)	1.6	1.9	1.6	1.8	98.1	97.7	97.8	97.7
F15 (His5.0)	1.5	1.8	1.6	1.8	98.2	98.0	98.0	97.8
F16 (His5.5)	1.5	1.9	1.6	1.8	98.2	97.7	98.0	97.8
F17 (His6.0)	1.6	1.8	1.5	1.9	98.0	97.9	98.1	97.6
F18 (Cit5.5)	2.2	1.9	1.7	1.9	97.6	97.7	98.0	97.8
F19 (Cit6.0)	1.5	1.9	1.6	1.9	98.1	97.7	97.8	97.5
F20 (Cit6.5)	1.6	2.0	1.7	1.8	98.1	97.5	97.7	97.5

【0412】 表 28 CEX 結果_振搖

處方	酸性峰				主峰				鹼性峰			
	T0	1D	3D	5D	T0	1D	3D	5D	T0	1D	3D	5D
F12 (Ace4.5)	23.8	21.1	21.4	21.6	62.4	64.2	63.4	63.5	13.9	14.8	15.2	14.9
F13 (Ace5.0)	23.7	21.0	21.2	21.2	62.4	64.4	64.1	64.1	13.9	14.6	14.7	14.7
F14 (Ace5.5)	23.3	20.8	20.9	20.7	63.0	64.6	64.6	64.6	13.7	14.6	14.5	14.7

F15 (His5.0)	21.5	20.4	20.7	20.7	64.7	65.1	64.7	64.5	13.8	14.5	14.7	14.8
F16 (His5.5)	21.9	21.1	20.8	20.8	64.4	64.5	64.6	64.5	13.7	14.4	14.5	14.7
F17 (His6.0)	22.1	21.1	20.7	21.1	64.2	64.4	65.0	64.4	13.7	14.5	14.3	14.5
F18 (Cit5.5)	23.4	20.7	20.6	21.0	62.9	64.7	64.7	64.4	13.7	14.6	14.6	14.6
F19 (Cit6.0)	23.3	20.9	21.1	21.2	63.1	64.6	64.3	64.2	13.6	14.5	14.6	14.6
F20 (Cit6.5)	23.5	21.0	20.8	21.3	62.9	64.6	64.7	64.2	13.6	14.4	14.5	14.5

【0413】 2.3.高溫 40°C實驗

【0414】 (1)濃度，pH，粒徑和 OD405 結果

如表格 29 所示，在 40°C 下放置 14 天後，9 個處方的濃度、pH 和粒徑沒有明顯差異。但 F18 (Cit5.5)的 OD405 有一定程度的上升。

【0415】 表 29 濃度，pH 和 OD405 結果_高溫

處方	濃度(mg/mL)		OD405		pH		粒徑(nm)	
	T0	14 天	T0	14 天	T0	14 天	T0	14 天
F12 (Ace4.5)	29.5	29.5	0.062	0.064	4.7	4.7	2.8	2.8
F13 (Ace5.0)	30.7	30.8	0.067	0.070	5.2	5.1	4.5	4.6
F14 (Ace5.5)	30.5	30.4	0.073	0.076	5.7	5.5	6.2	7.2
F15 (His5.0)	30.1	30.3	0.071	0.073	5.1	5.0	5.8	6.2

F16 (His5.5)	30.5	30.5	0.076	0.072	5.6	5.5	6.8	7.3
F17 (His6.0)	30.2	30.3	0.072	0.080	6.1	6.0	6.7	7.5
F18 (Cit5.5)	30.4	30.6	0.063	0.097	5.6	5.5	12.0	8.0
F19 (Cit6.0)	30.7	30.5	0.079	0.090	6.0	5.9	10.0	9.6
F20 (Cit6.5)	30.2	30.2	0.075	0.084	6.5	6.4	8.9	9.2

【0416】 (2)SEC 結果

如表格 30 和圖 21 所示，組胺酸處方中蛋白的 SEC HMW%含量總體較小，醋酸處方和檸檬酸處方中蛋白的 SEC HMW%含量隨著 pH 增加而增加，F14 (Ace5.5)的 SEC HMW%增加程度較大。

【0417】 表 30 SEC 結果_高溫

處方	HMW%				MP%				LMW%			
	T0	3 天	7 天	14 天	T0	3 天	7 天	14 天	T0	3 天	7 天	14 天
F12 (Ace4.5)	0.6	0.9	1.2	1.5	99.0	98.9	98.7	98.3	0.4	0.1	0.2	0.2
F13 (Ace5.0)	0.8	1.4	1.7	2.1	98.8	98.5	98.1	97.7	0.4	0.1	0.2	0.2
F14 (Ace5.5)	1.1	2.1	2.6	3.1	98.5	97.7	97.3	96.6	0.4	0.2	0.1	0.2
F15 (His5.0)	0.8	1.4	1.6	2.0	98.8	98.5	98.2	97.8	0.4	0.2	0.2	0.2
F16 (His5.5)	0.9	1.5	1.7	2.2	98.7	98.4	98.1	97.6	0.4	0.2	0.2	0.2

F17 (His6.0)	1.1	1.6	1.9	2.5	98.5	98.2	98.0	97.3	0.4	0.2	0.2	0.2
F18 (Cit5.5)	1.2	1.3	2.3	2.9	98.4	98.5	97.6	96.9	0.4	0.2	0.1	0.2
F19 (Cit6.0)	1.4	2.3	2.6	2.9	98.2	97.5	97.3	96.9	0.4	0.2	0.2	0.2
F20 (Cit6.5)	1.7	2.7	3.0	3.2	97.9	97.0	96.9	96.6	0.4	0.3	0.2	0.2

【0418】 (3)NR CE-SDS 結果

如表格 31 和圖 22 所示，高溫 40°C下，所有處方的 LMW%隨著時間都有所增加，但所有處方結果均在可接受範圍內。

【0419】 表 31 NR CE-SDS 結果_高溫

處方	LMW%				MP%			
	T0	3 天	7 天	14 天	T0	3 天	7 天	14 天
F12 (Ace4.5)	1.6	2.0	2.1	2.6	98.1	97.6	97.3	96.8
F13 (Ace5.0)	1.6	2.0	2.1	2.7	98.1	97.4	97.1	96.5
F14 (Ace5.5)	1.6	2.0	2.1	2.6	98.1	97.2	96.7	95.9
F15 (His5.0)	1.5	2.0	2.2	2.7	98.2	97.4	97.1	96.5

F16 (His5.5)	1.5	2.0	2.2	3.0	98.2	97.4	97.1	96.0
F17 (His6.0)	1.6	1.8	2.3	3.2	98.0	97.5	96.9	95.5
F18 (Cit5.5)	2.2	2.1	2.1	2.3	97.6	97.5	97.0	96.3
F19 (Cit6.0)	1.5	1.8	2.1	2.3	98.1	97.3	96.9	96.4
F20 (Cit6.5)	1.6	1.9	2.2	2.4	98.1	97.1	96.6	96.2

【0420】 (4)CEX 結果

如表格 32 和圖 23 所示，所有處方結果均在可接受範圍內，其中 F17 (His6.0) 主峰變化程度最大，其餘處方的變化無顯著性差異。

【0421】 表 32 CEX 結果_高溫

處方	酸性峰%				MP%				鹼性峰%			
	T0	3 天	7 天	14 天	T0	3 天	7 天	14 天	T0	3 天	7 天	14 天
F12 (Ace4.5)	23.8	21.4	21.5	26.6	62.4	62.9	62.0	55.4	13.9	15.6	16.4	17.9
F13 (Ace5.0)	23.7	21.4	22.0	27.0	62.4	63.1	62.4	56.1	13.9	15.5	15.6	16.9
F14 (Ace5.5)	23.3	21.5	22.3	28.0	63.0	62.7	61.9	55.9	13.7	15.8	15.8	16.2
F15 (His5.0)	21.5	21.0	20.7	25.5	64.7	63.2	62.6	56.0	13.8	15.7	16.7	18.5
F16 (His5.5)	21.9	21.3	21.7	27.9	64.4	63.3	61.9	53.7	13.7	15.4	16.4	18.5
F17 (His6.0)	22.1	22.7	24.1	31.7	64.2	62.2	60.0	51.1	13.7	15.1	15.9	17.2

F18 (Cit5.5)	23.4	21.8	23.8	29.9	62.9	62.9	60.8	54.4	13.7	15.3	15.4	15.7
F19 (Cit6.0)	23.3	22.4	24.0	29.8	63.1	62.8	61.0	55.3	13.6	14.8	15.0	14.9
F20 (Cit6.5)	23.5	22.5	25.4	32.0	62.9	62.9	60.1	54.1	13.6	14.6	14.5	13.9

【0422】 3.總結

pH 篩選實驗在 T0 時，F18(Cit5.5)、F19(Cit6.0)和 F20(Cit6.5)的粒徑較大，表明其結構更為鬆散；振搖實驗中 F18(Cit5.5)的外觀由乳光變為渾濁，劣於其他處方；凍融實驗中 F19(Cit6.0)和 F20(Cit6.5)的不溶性微粒數量變化較大；在 40℃ 條件下，F18(Cit5.5)的 OD405 上升，F14(Ace5.5)的 SEC 高聚體增加較多，F16 (His5.5)和 F17(His6.0)的 CEX 主峰下降較多和 NR CE-SDS 低聚體增加較多。

【0423】 總體來看，醋酸和組胺酸體系的穩定性更優，總體而言，在醋酸體系中的 pH 4.5 和 pH 5.0，組胺酸體系中的 pH 5.0 和 pH5.5 對蛋白具有較好的穩定性。考慮到醋酸緩衝液體系在 pH 5.0，組胺酸體系在 pH 5.5 時的緩衝能力和穩健性較好，在工藝中 pH 調節時具有較好的操作空間，對偏離目標值的極端情況具有較好的風險控制。此外對於皮下注射的製劑而言，選用組胺酸的刺激更小，患者的耐受度更高。因此較佳 F13 (Ace5.0)醋酸緩衝液 pH 5.0 和 F16 (His5.5) 組胺酸緩衝液 pH 5.5 為較佳緩衝體系。

【0424】 實施例 19：低濃度處方確認試驗

【0425】 1.實驗設計

樣品處方信息和檢測方法如表 33 所示。樣品藉由透析置換為目標處方的緩衝液中，然後用相應的輔料儲備液稀釋至 20 mg/mL，最後用 0.22 μm PVDF 膜過濾製備得到。樣品製備完成後對其外觀，濃度，滲透壓，黏度，kD，Tonset 進行測定。

【0426】 表 33 處方設計方案

處方	蛋白含量	處方信息	穩定性條件	檢測項
F21	20 mg/mL	10 mM 組胺酸, 8.6% 蔗糖, 0.05%, 聚山梨酯 80, pH 5.3	5°C(1/3 個月)	目檢, pH, 蛋白含量, 滲透 壓, 黏度, OD405, 粒徑, MFI, SEC, NR-CE, R-CE, CEX, 生物學活性, PS80
			25°C(2/4/6 週, 3 個月)	
			40°C(2/4/6 週)	
			-20°C(1/3 個月)	
			-30°C(1/3 個月)	
			凍融 (-70°C~室溫, 3/5 循環)	
			振搖 (200 rpm, 1/3/5 天)	
			高溫 40°C (3/7/14 天)	

【0427】 2.實驗結果

【0428】 2.1 外觀，濃度，pH，粒徑和 OD405 結果

如表格 34 所示，處方 F21 在經歷攪拌、凍融、光照、振搖以及 5°C、25°C、40°C、-20°C、-30°C 條件的孵育之後，基本屬性(外觀、濃度、pH、生物學活性)均沒有發生明顯變化。對於粒徑和 PD%結果，除 40°C 外的穩定性條件下均無明顯差異；因為 40°C 對於蛋白製劑屬較為劇烈的應力條件，因此結果變化較為明顯屬於正常現象，具體應根據 SEC、NR-CE、CEX 的結果進行判斷。

【0429】 表 34 外觀，濃度，pH 和 OD405 結果

穩定性條件		外觀	濃度 (mg/mL)	OD405	pH	粒徑 (nm)	PD%	生物學 活性
T0		SOC	20.7	0.017	5.3	5.9	23.1	111
攪拌	2H	20.6	20.6	0.020	5.3	6.4	51.9	NT
凍融 5 循環	-20C	SOC	20.7	0.018	NT	6.1	22.9	

	-30C	SOC	20.6	0.019		6.1	22.5	
	-70C	SOC	20.6	0.018		6.0	23.0	
光照	7D	SOC	20.6	0.018		5.7	15.2	102
振搖	10D	SOC	20.7	0.018		5.8	21.8	
25°C	2W	SOC	20.5	0.020		6.1	19.5	
	4W	SOC	20.8	0.019	5.3	6.3	27.9	
	6W	SOC	20.7	0.019	NT	6.2	40.1	
	3M	SOC	20.6	0.018	5.3	6.7	47.2	
40°C	2W	SOC	20.4	0.023	NT	7.1	56.0	
	4W	SOC	20.8	0.023	5.3	11.2	Multimodal	96
	4WI	SOC	20.7	0.022	5.3	12.7	Multimodal	93
	6W	SOC	20.7	0.032	NT	20.7	Multimodal	104
5°C	1M	SOC	20.6	0.018	5.3	5.7	11	
	3M	SOC	20.5	0.020	5.3	6.1	20.2	
-20°C	1M	SOC	20.6	0.019	5.3	5.6	8	
	3M	SOC	20.5	0.017	5.3	5.7	9.0	
-30°C	1M	SOC	20.6	0.017	5.3	5.6	8.7	
	3M	SOC	20.5	0.016	5.3	5.6	8.6	

SOC=輕微乳光、Multimodal=多峰、NT=未檢測

【0430】 2.2 SEC，CEX，NR CE-SDS 結果

如表格 35 所示，處方 F21 在經歷攪拌、凍融、光照、振搖以及 5°C、25°C、-20°C、-30°C 條件的孵育之後，SEC，CEX，NR CE 的結果均無明顯變化。40°C

條件下，SEC、CEX 和 NR CE 主峰均發生了一定程度的下降，但並不影響生物學活性；在 40℃ 下倒置 4 週的樣品和正置相比，各檢測項無明顯差異，說明包材與蛋白製劑相容性良好。

【0431】表 15 SEC，CEX，NR CE-SDS 結果

穩定性條件		SEC			CEX			NR CE	
		HMW%	MP%	LMW%	酸性峰%	主峰%	鹼性峰%	MP%	LMW%
T0		0.6	99.4	ND	24.0	73.1	2.9	98.0	1.7
攪拌	2H	0.6	99.4	ND	23.7	73.5	2.8	98.7	1.1
凍融 5 循環	-20C	0.8	99.2	ND	22.3	74.3	3.4	98.6	1.4
	-30C	0.8	99.2	ND	22.5	73.9	3.6	98.9	1.1
	-70C	0.8	99.2	ND	22.0	74.8	3.2	98.7	1.3
光照	7D	0.9	99.1	ND	24.2	72.3	3.6	98.6	1.3
振搖	10D	0.7	99.3	ND	24.0	71.7	4.3	98.8	1.2
25℃	2W	0.8	99.2	ND	22.2	74.0	3.7	98.8	1.0
	4W	0.7	99.3	ND	24.1	72.4	3.6	98.2	1.6
	6W	0.7	99.3	ND	26.5	69.7	3.9	98.4	1.6
	3M	0.8	99.1	0.1	31.0	64.6	4.3	98.4	1.6
	6M	1.0	98.8	0.2	41.0	54.5	4.5	97.1	2.5
40℃	2W	0.9	98.8	0.3	34.5	60.3	5.2	97.0	2.6
	4W	1.1	98.2	0.7	49.5	45.7	4.8	93.0	6.3
	4WI	1.0	98.3	0.7	49.1	46.3	4.6	93.4	6.1
	6W	1.7	95.2	1.0	54.5	39.0	6.5	91.3	8.6
5℃	1M	0.7	99.3	ND	21.4	75.4	3.2	98.4	1.4

	3M	0.7	99.3	ND	24.4	71.3	4.2	98.9	1.1
	6M	0.7	99.3	ND	23.3	72.6	4.1	97.7	1.4
-20°C	1M	0.7	99.3	ND	22.3	74.1	3.6	98.3	1.5
	3M	0.7	99.3	ND	23.7	72.3	4.0	98.9	1.1
	6M	0.7	99.3	ND	22.5	73.1	4.4	98.4	1.3
-30°C	1M	0.7	99.3	ND	22.1	74.7	3.2	98.1	1.7
	3M	0.7	99.3	ND	22.6	73.4	4.0	99.1	0.9
	6M	0.7	99.3	ND	22.7	73.2	4.1	98.4	1.3

ND 表示未檢出

【0432】 3.總結

低濃度處方確認實驗的結果表明，最終處方 F21 在 5°C、25°C、-20°C、-30°C 條件下均能保持長時間的穩定，對凍融和振搖的耐受性較好，在光照和攪拌條件下不會發生變化，在 40°C 條件下會有一定的變化，因此該樣品應該注意防止長時間高溫放置。低濃度製劑開發經過了表面活性劑篩選，輔料篩選，pH 篩選和最終處方確認研究，得到最終低濃度製劑處方選定為 20 mg/mL 蛋白，10 mM 組胺酸鹽，8.6%(w/v)蔗糖，0.05%(w/v)聚山梨酯 80，pH 為 5.3。

【0433】 實施例 20：高濃度實驗

【0434】 1.實驗設計

樣品處方信息，穩定性實驗放置條件和檢測方法如表格 36 所示。UFDF 樣品經超濾濃縮後用相應的輔料儲備液稀釋至 150 mg/mL，最後用 0.22 μm PVDF 膜過濾製備得到。取製備的樣品分別進行 k_D ， T_{onset} 和黏度測定。

【0435】 表 36 高濃度實驗設計方案

處方	緩衝體系	PH	輔料種類	檢測項
F22(A45)	10mM 醋酸(Ace)	4.5	NA	k_D T_{onset} 滲透壓
F23(A50)		5.0		
F24(A55)		5.5		
F25(H50)	10mM 組胺酸(His)	5.0		
F26(H55)		5.5		
F27(H60)		6.0		
F28(SUC)	10mM 醋酸(Ace)	5.0	5.8% 蔗糖(Suc)	
F29 (PRO)			230mM 脯胺酸(Pro)	
F30(ARG)			125mM 精胺酸(Arg)	

【0436】 2.實驗結果

【0437】 表 37 k_D 值， T_{onset} 和滲透壓結果

處方	k_D (mL/g)	$T_{onset},(^{\circ}C)$	滲透壓 Osmo. (mOsm/kg)
F22 (A45)	107.0	70.5	NT(未檢測)
F23(A50)	40.6	68.0	
F24 (A55)	13.2	68.1	
F25(H50)	21.1	61.7	
F26(H55)	9.3	63.4	
F27(H60)	6.5	64.9	
F28(SUC)	22.2	67.2	262

F29 (PRO)	22.5	63.7	316
F30(ARG)	-9.8	58.3	276

【0438】 (1) k_D 值結果

pH 為 4.5，5.0、5.5 的醋酸緩衝液和 pH 為 5.0、5.5、6.0 的組胺酸緩衝液 k_D 均為正值。在 pH 為 5.0 的 10 mM 醋酸緩衝液中，輔料為 5.8%蔗糖和 230 mM 脯胺酸的處方的 k_D 為正值，輔料為 125 mM 精胺酸時為負值。 k_D 為正，說明體系中蛋白分子之間的作用力為強淨排斥力，有利於蛋白的長期膠體穩定性，當 k_D 為負值時，說明蛋白分子之間的作用力為淨吸引力，不利於蛋白的長期膠體穩定性。

【0439】 (2) T_{onset} 結果

T_{onset} 能預測蛋白的熱穩定性。除 F29 (ARG)精胺酸處方外，各樣品的 T_{onset} 值均大於 60°C，表示在這些處方中，蛋白有較好的熱穩定性。

【0440】 (3)滲透壓

根據滲透壓結果可知，125 mM 精胺酸和 5.8%的蔗糖濃度較目標值低，需要在後續實驗中進一步調整。

【0441】 3.總結

藉由在不同緩衝液和輔料中的一般性質研究，10 mM 醋酸鹽(pH 4.5，pH 5.0，pH 5.5)和 10mM 組胺酸(pH5.0，pH5.5 和 pH6.0)的 k_D 為正值， T_{onset} 值均大於 60°C，均滿足試驗要求。對於 3 種輔料而言，精胺酸的 k_D 和 T_{onset} 均劣於蔗糖和脯胺酸。對皮下注射劑來說，選用組胺酸的緩衝體系對注射刺激性更小，且 pH 不宜過低，因此綜合來看，較佳 10 mM 醋酸鹽，pH 5.0，10 mM 組胺酸，pH 5.0，10 mM 組胺酸，pH 5.5，搭配蔗糖或者脯胺酸進入下一步研究。

【0442】 實施例 21： 6 處方研究和工藝比較實驗

【0443】 1.實驗設計

樣品處方信息，穩定性實驗放置條件和檢測方法如表格 38 所示。Fed-batch 的 UFDF 樣品先行超濾濃縮至合適濃度，然後用相應的輔料儲備液稀釋至 150 mg/mL，最後用 0.22 μm PVDF 膜過濾製備得到。分別取 1 mL 樣品至 2R 西林瓶以進行 25°C、40°C 和光照試驗，取 2 mL 樣品至 6R 西林瓶中以進行攪拌試驗，2 mL 樣品至 2R 西林瓶中進行振搖試驗。

【0444】 表 38 最佳 6 處方實驗設計方案

處方	濃度	原液工藝	處方信息	穩定性條件
F31 (Ace50Suc)	150 mg/mL	Perfusion	10 mM 醋酸鹽 pH5.0, 190 mM 蔗糖, 0.1% 聚山 梨酯 80	T0 光照 (3D) 振搖 (10D) 25°C (2/4W) 40°C (2/4/6W)
F32 (His50Suc)			10 mM 組胺酸 pH5.0, 190 mM 蔗糖, 0.1% 聚山 梨酯 80	
F33 (His55Suc)			10 mM 組胺酸 pH5.5, 190 mM 蔗糖, 0.1% 聚山 梨酯 80	
F34 (Ace50Pro)			10 mM 醋酸鹽 pH5.0, 230 mM 脯胺酸, 0.1% 聚 山梨酯 80	

F35 (His50Pro)			10 mM 組胺酸 pH5.0, 230 mM 脯胺酸, 0.1% 聚 山梨酯 80	
F36 (His55Pro)			10 mM 組胺酸 pH5.5, 230 mM 脯胺酸, 0.1% 聚 山梨酯 80	
F37 (FedBatch)		Fed-Batch	10 mM 醋酸鹽 pH5.0, 190 mM 蔗糖, 0.1% 聚山 梨酯 80	T0, 40°C (2/4/6W)
檢測項	T0: 外觀, OD405, pH, 濃度, 滲透壓, SEC, NR CE-SDS, CEX, 活性, 黏度 光照: 外觀, OD405, 濃度, DLS, SEC, NR CE-SDS, CEX 振搖: 外觀, OD405, 濃度, DLS, SEC, NR CE-SDS, CEX, MFI 25°C: 外觀, OD405, pH, 濃度, DLS, SEC, NR CE-SDS, CEX 40°C: 外觀, OD405, pH, 濃度, DLS, SEC, NR CE-SDS, CEX, 活性			

【0445】 2.實驗

【0446】 2.1.高溫 40°C 實驗

【0447】 (1)外觀，粒徑，濃度，OD405 和 pH

如表格 39 所示，所有處方的滲透壓均在預設目標內(250~350 mOsm/kg H2O)，以蔗糖作為輔料的處方(F31，F32，F33，F37)相較於脯胺酸處方(F34，F35，F36)的黏度更高，組胺酸處方與醋酸處方相比黏度更高。F34 (Ace50Pro)，F35 (His50Pro)和 F36 (Fed-Batch)的 pH 比目標值略高，需要在後續實驗中進行調整。7 個處方在經 40°C 處理 4 週後外觀、粒徑濃度和 pH 均無變化，但 F31 (Ace50Suc)，

F32 (His50Suc) , F33 (His55Suc) , F34 (Ace50Pro)和 F36 (His55Pro)的 OD405 略有上升。

【0448】 表 39 外觀，粒徑，濃度，OD405 和 pH 結果_高溫 40°C 實驗

處方	滲透壓 (mOsm/kg H2O)	黏度 cP	外觀		濃度		OD405		PH		粒徑	
			T0	4W	T0	4W	T0	4W	T0	2W	T0	4W
F31 (Ace50Suc)	262	18.7	SYC	SYC	146.2	147.1	0.22	0.27	5.1	5.2	2.9	3.3
F32 (His50Suc)	306	29.2	SYC	SYC	147.4	148.6	0.22	0.26	5.1	5.1	3.5	5.1
F33 (His55Suc)	311	28.2	SYC	SYC	145.5	148.5	0.23	0.27	5.4	5.4	3.6	6.0
F34 (Ace50Pro)	300	10.9	SYC	SYC	148.4	148.3	0.23	0.27	5.3	5.3	2.4	3.0
F35 (His50Pro)	322	14.1	SYC	SYC	148.4	148.4	0.23	0.24	5.2	5.2	2.7	4.2
F36 (His55Pro)	307	14.6	SYC	SYC	148.9	147.1	0.22	0.27	5.5	5.4	3.4	4.7
F37 (FedBatch)	300	23.3	CC	CC	150.3	150.5	0.03	0.03	5.3	5.2	5.3	2.6

SYC:微黃澄清，無可見異物

CC: 無色澄清，無可見異物

【0449】 (2)SEC

如表格 40 和圖 33 所示，經 40°C 處理 4/6 週後，所有處方的 SEC HMW%均有所上升，MP%下降，F31(Ace50Suc)和 F32(His50Suc)主峰下降更多，F33(His55Suc)和 F36(His55Pro)下降較少。同樣處方的 F31(Ace50Suc)和 F37(Fed-Batch)相比，Fed-batch 來源的原液要比 Perfusion 在 40°C 條件下 SEC 主峰下降更少。

【0450】 表 40 SEC 結果_高溫實驗

處方	HMW%				MP%				LMW%			
	T0	2W	4W	6W	T0	2W	4W	6W	T0	2W	4W	6W
F31 (Ace50Suc)	2.9	6.9	8.8	10.1	95.1	92.3	90.0	89.3	1.9	0.8	1.2	0.7
F32 (His50Suc)	2.8	6.4	8.5	NT	95.3	93.7	90.2	NT	1.9	ND	1.2	NT
F33 (His55Suc)	3.1	6.6	8.0	NT	95.0	93.5	90.9	NT	1.9	ND	1.1	NT
F34 (Ace50Pro)	2.8	6.4	8.2	NT	95.2	93.3	90.7	NT	2.0	0.2	1.2	NT
F35 (His50Pro)	2.8	6.2	8.3	NT	95.1	92.9	90.4	NT	2.1	0.9	1.3	NT
F36 (His55Pro)	2.9	6.3	7.7	NT	95.4	92.7	91.2	NT	1.6	1.1	1.1	NT
F37 (FedBatch)	0.2	1.2	1.9	2.6	99.7	98.7	98.0	96.9	0.1	0.1	0.2	0.5

【0451】 (3)NR CE-SDS

如表格 38 和圖 34 所示，經 40°C 處理 4/6 週後所有處方的 NR CE-SDS LMW%均有一定程度增加，MP%下降，其中 F34 (Ace50Pro)變化最大。同樣處方的 F31 (Ace50Suc)和 F37 (Fed-Batch)相比，Fed-batch 來源的 DS 要比 Perfusion 在 40°C 條件下 NR CE-SDS 主峰下降更少。

【0452】 表 41 NR CE-SDS 結果_高溫實驗

處方	LMW%				MP%			
	T0	2W	4W	6W	T0	2W	4W	6W
F31 (Ace50Suc)	1.6	2.8	3.3	5.1	97.3	94.1	93.2	90.3
F32 (His50Suc)	1.6	3.2	3.5	NT	97.4	94.2	93.5	NT
F33 (His55Suc)	1.5	3.0	3.5	NT	97.4	94.4	93.3	NT
F34 (Ace50Pro)	1.7	3.9	4.5	NT	97.5	93.5	92.6	NT
F35 (His50Pro)	2.2	3.4	4.6	NT	96.8	94.0	92.7	NT
F36 (His55Pro)	2.3	3.7	4.2	NT	96.8	93.8	93.0	NT
F37 (FedBatch)	1.0	1.8	2.4	3.6	99.0	97.9	97.0	95.4

【0453】 (4)CEX

如表格 42 和圖 35 所示，經 40°C 處理 4 週後所有處方的酸性峰均增加，MP%下降。相同處方的 F31(Ace50Suc)比 F37 (Fed-Batch)的 CEX 主峰下降略多。

【0454】 表 42 CEX 結果_高溫實驗

處方	酸性峰面積%				MP%				鹼性峰面積%			
	T0	2W	4W	6W	T0	2W	4W	6W	T0	2W	4W	6W
F31 (Ace50Suc)	25.5	31.4	38.7	44.7	62.8	54.3	45.9	40.1	11.7	14.3	15.4	15.2
F32 (His50Suc)	25.7	30.7	37.8	NT	62.0	54.8	46.3	NT	12.4	14.4	16.0	NT
F33 (His55Suc)	27.0	32.1	39.4	NT	61.1	54.2	45.6	NT	11.9	13.7	15.0	NT
F34 (Ace50Pro)	27.0	33.2	39.8	NT	61.4	53.0	45.7	NT	11.6	13.8	14.5	NT
F35 (His50Pro)	26.9	31.6	37.8	NT	61.6	54.1	47.0	NT	11.5	14.3	15.2	NT
F36 (His55Pro)	26.7	32.3	39.1	NT	62.1	53.7	46.5	NT	11.2	14.0	14.4	NT
F37 (FedBatch)	12.8	20.2	27.3	35.2	67.5	59.5	53.2	47.2	19.7	20.3	19.5	17.6

【0455】 (5)活性

如表格 43 所示，在 40°C 放置 4 週後，各處方的活性沒有顯著差異。

【0456】 表 43 活性結果_高溫實驗

處方	細胞活性%	
	T0	40°C4W
F31 (Ace50Suc)	NT	92

F32 (His50Suc)	NT	92
F33 (His55Suc)	NT	104
F34 (Ace50Pro)	NT	96
F35 (His50Pro)	NT	93
F36 (His55Pro)	NT	92
F37 (FedBatch)	103	95

【0457】 2.2. 25°C 實驗

經 25°C 處理 4 週後所有處方外觀、Conc.、pH 和 OD405 均無變化。所有樣品的純度(SEC，NR CE-SDS，CEX)均發生中等程度的下降，其中 F31 (Ace50Suc) 的 SEC 變化最多，F34 (Ace50Pro)的 NR CE-SDS 變化最大。總體而言組胺酸緩衝體系優於醋酸緩衝體系，具體降解趨勢如圖 36，圖 37 和圖 38 所示。

【0458】 2.3.光照

經光照處理 3 天後所有處方外觀、DLS、Conc.、pH 和 OD405 均無變化。各組處方的純度均發生下降，具體趨勢如圖 39，圖 40 和圖 41 所示。F35 (His50Pro) 的 SEC HMW%和 NR CE-SDS LMW%增加最少。F33 (His55Suc)和 F36 (His55Pro) 的 CEX 變化最小。

【0459】 2.4.振搖

經 200 rpm 振搖處理 10 天後所有處方外觀、DLS、Conc.、pH 和 OD405 均無變化。純度方面 CEX 無明顯變化，經 200 rpm 振搖 10 天後，所有處方的 SEC 和 NR CE-SDS 均發生變化，其中 F32 (His50Suc)的 LMW%增加最少，其餘處方無明顯差異，具體趨勢如圖 42、圖 43 和圖 44 所示。經過 200 rpm 振搖 10 天後，各處方的不溶性微粒數量無明顯差異。

【0460】 3.總結

25°C 4 週條件下，各個處方的外觀、DLS、OD405 等結果均無明顯變化，但 F31(Ace50Suc)的 SEC 較其他處方變化更多，F34 (Ace50Pro)的 NR CE-SDS 較其他處方變化更多。

【0461】 40°C 4 週條件下，外觀、Conc、pH、DLS 均無變化，但 F31 (Ace50Suc)，F32 (His50Suc)，F33 (His55Suc)，F34 (Ace50Pro)和 F36 (His55Pro) 的 OD405 略有上升，所有處方的 SEC、CEX 和 NR CE-SDS 的主峰有一定程度下降。F31 (Ace50Suc)和 F32 (His50Suc)SEC 變化程度大於其餘處方，而 F34 (Ace50Pro)的 NR CE-SDS 變化略微大於其餘處方。相同處方的不同工藝的灌流工藝 F31 (Ace50Suc)與批次補料的 F37 (Fed-Batch)相比，批次補料工藝的 F37 (Fed-Batch)在 40°C 條件下，所有純度變化均小於灌流工藝的 F31 (Ace50Suc)。

【0462】 光照 3 天的條件下，各個處方的濃度、外觀、pH 和 DLS 等結果均無明顯變化。SEC，NR CE-SDS 和 CEX 主峰均有下降，其中 F35 (His50Pro) 的 SEC 和 NR CE-SDS 主峰下降程度小於其餘處方，F33 (His55Suc)和 F36 (His55Pro)CEX 主峰下降程度小於其餘處方。

【0463】 振搖條件下，各個處方的濃度、外觀、pH、DLS、OD405、CEX 主峰等結果均無明顯變化。SEC 和 NR CE-SDS 主峰略有下降，可能是由於振搖實驗是在 25°C 條件下進行所導致的。其中 F35 (His50Pro)的 SEC 變化最小，F32 (His50Suc)的 NR CE-SDS 變化最小。

【0464】 本研究中選用了 pH 5.0 的醋酸緩衝液以及 pH 5.0 和 pH 5.5 組胺酸緩衝液，搭配蔗糖和脯胺酸，0.05%的聚山梨酯 80 進行試驗，考察了光照，振搖，25°C，40°C的壓力條件。此外，還比較了灌流和批次補料培養工藝生產的原

液穩定性的差異。結果顯示，在 40°C，25°C和光照下，組胺酸緩衝液純度變化小於醋酸緩衝液，且批次補料的工藝較灌流工藝生產的原液在 40°C 下更穩定，考慮到組胺酸對皮下注射更友好，蔗糖在生物製劑中使用得更為廣泛，因此選擇 10 mM 組胺酸，pH 選擇 5.0 和 5.5 中間值 5.3 搭配蔗糖進行最終處方確認實驗。

【0465】 實施例 22：高濃度蛋白中表面活性劑濃度篩選實驗

【0466】 1.實驗設計

樣品處方信息，穩定性實驗放置條件和檢測方法如表格 44 所示。UFDf 樣品用相應的輔料儲備液稀釋至 100 mg/mL，最後用 0.22 μm PVDF 膜過濾製備得到。分別取 2 mL 樣品至 6R 西林瓶中以進行攪拌試驗，2 mL 樣品至 2R 西林瓶中進行振搖試驗。

【0467】 表 44 第二次表面活性劑濃度篩選實驗設計方案

處方	濃度	原液工藝	處方信息	穩定性條件
F38 (0.025%)	100 mg/mL	Fed-batch	10 mM 組胺酸 pH5.3, 6.0% 蔗糖, 0.025% 聚山梨酯 80	T0 振搖(200 rpm, 5D) 攪拌 (200 rpm, 2H)
F39 (0.05%)			10 mM 組胺酸 pH5.3, 6.0% 蔗糖, 0.05% 聚山梨酯 80	
F40 (0.1%)			10 mM 組胺酸 pH5.3, 6.0% 蔗糖, 0.1% 聚山梨酯 80	
檢測項	T0: 外觀, OD405, pH, 濃度, 滲透壓, SEC, MFI 攪拌/振搖:外觀, OD405, SEC, MFI			

【0468】 2.結果

在本試驗中，考察了 0.025%、0.05%和 0.1%等 3 個濃度的聚山梨酯 80，並對樣品進行了振搖和攪拌等壓力測試，結果顯示各聚山梨酯 80 濃度下，樣品的外觀、不溶性微粒、粒徑、純度(SEC)等結果無明顯區別，均滿足試驗要求，選擇 0.05%的中間濃度進入最終處方確認試驗。

【0469】 表 45 第二次表面活性劑濃度篩選實驗結果

檢測項目		F38 (0.025%)			F39 (0.05%)			F40 (0.1%)		
		T0	M2H	A5D	T0	M2H	A5D	T0	M2H	A5D
滲透壓 (mOsm/kg H2O)		278	NT							
pH		5.2	NT		5.2	NT		5.2	NT	
外觀		SOC	HOC	SOC	SOC	HOC	SOC	SOC	HOC	SOC
濃度		91.1	NT	NT	91.1	NT	NT	92.8	NT	NT
OD405		0.03	0.06	0.04	0.03	0.05	0.04	0.04	0.06	0.04
MFI	≥2 μm	3202	8155	99	61	28963	42	61	9428	134
	≥ 10 μm	15	0	0	0	214	0	0	61	0
	≥ 25 μm	0	0	0	0	23	0	0	11	0
DLS	單峰粒徑 (nm)	4.0	4.1	4.4	4.0	4.4	4.2	4.1	4.3	4.1
SEC	高分子量	1.0	1.0	1.2	1.0	1.1	1.3	1.1	1.1	1.3
	主峰%	92.5	92.5	92.2	92.4	92.6	92.2	92.4	92.5	92.0
	低分子量%	6.5	6.4	6.6	6.6	6.4	6.6	6.5	6.4	6.7

NT=未檢測

【0470】 實施例 23：處方確認實驗

【0471】 1.實驗設計

樣品處方信息，穩定性實驗放置條件和檢測方法如表格 46 所示。將 UFDF 樣品用母液稀釋至目標濃度的蛋白、蔗糖和聚山梨酯 80，然後用 0.22 μm PVDF 膜過濾，分別取 2 mL 樣品至 2R 西林瓶以進行-40°C、-20°C、5°C、25°C、40°C 穩定性、-20°C/-40°C 凍融、振搖和光照試驗，取 2 mL 樣品至 6R 西林瓶中以進行攪拌試驗，2 mL 樣品至 5 mL PC 瓶中進行-80°C 凍融試驗。

【0472】 表 46 製劑處方確認研究方案

製劑 處方	濃度	處方信息	穩定性條件	檢測項
F41	100 mg/mL	10 mM 組胺酸, 7.0% 蔗糖, 0.05%, 聚山梨 酯 80, pH 5.3	T0	X, Z, U
			凍融 (-80/-40/-20°C, 5 cycles)	X, Z
			攪拌(200 rpm, 2 H)	X
			振搖 (10D)	X, Z
			光照 (7 D, 78.5% ICH intensity)	X, Y
			Stressed (40°C, 2, 4, 6 W, 4 W Invert)	X, Y (4W), T
			加速 (25°C, 2, 4, 6 W)	X, T
			長期 (5/-20/-40°C, 1, 3, 6 M)	X
X: 外觀,蛋白含量, pH, DLS, OD405, SEC, NR-CE-SDS, CEX: Y: 活性; Z: MFI; U: 滲透壓莫耳濃度, 黏度 T: PS80.				

【0473】 2.結果

在處方確認實驗中，對選定的處方進行了不同溫度下的凍融、攪拌、振搖、光照、強制降解(40°C)，加速(25°C)，長期(5/-20/-40°C)等條件的考察，結果顯示凍融、攪拌、振搖、長期條件下，樣品的純度均無明顯變化，25°C 和光照條件下，純度有所下降，40°C 條件下 6 週後，樣品的純度發生顯著下降，但不影響結合活性，且處方中的 PS80 濃度沒有發生下降。

【0474】 最終處方確認實驗的結果如表格 47、48、49 和表格 50 所示。

【0475】 在 5°C，-20°C 和 -40°C 長期穩定性考察實驗中，樣品外觀、DLS、SEC、CEX 和 NR-CE-SDS 等結果均無明顯變化。

【0476】 25°C 條件下，6 週時各個處方無明顯變化，3 個月和 6 個月後 CEX 主峰略有下降。聚山梨酯 80 的含量無明顯下降。

【0477】 40°C 條件下放置 6 週，樣品 SEC、CEX 和 NR-CE-SDS 主峰均發生顯著下降，但聚山梨酯 80 的含量並無明顯下降。

【0478】 光照 7 天的條件下，樣品的外觀和 DLS 等結果均無明顯變化。純度有輕微下降，但不影響結合活性。

【0479】 凍融條件下，樣品的外觀、DLS、SEC、CEX、NR-CE-SDS 等結果均無明顯變化。且不溶性微粒的濃度沒有明顯增加。不同溫度的冷凍條件對樣品的凍融穩定性無明顯影響。

【0480】 在 200 rpm 攪拌 2 小時後，樣品的外觀由輕微乳光變為渾濁，因此未對不溶性微粒進行檢測，其餘結果無明顯變化。

【0481】 在 25°C 下以 200 rpm 轉速振搖兩週後，樣品的外觀、DLS、OD405、MFI、SEC、NR-CE-SDS 和 CEX 主峰等結果均無明顯變化。

【0482】 在 40℃ 下倒置 4 週的樣品和正置相比，各檢測項無明顯差異，說明包材與蛋白製劑相容

【0483】 表 47 最終處方確認高溫 40℃實驗結果

取樣點		SEC			NR CE-SDS		icIEF			
		HMW%	MP%	LMW %	MP %	LMW %	酸性峰%	主峰%	鹼性峰%	
T0		1	99	ND	98.2	1.5	24.9	68.1	7	
40℃	2W	1.5	98.2	0.2	97.4	2.3	31	61.6	7.5	
	4W	2.5	97	0.4	94	4.8	43	49.4	7.5	
	4WI	2.6	96.9	0.5	94.1	4.7	42.8	49.7	7.5	
	6W	3	96.3	0.7	90.5	7.6	52.4	40.9	6.7	
取樣點		外觀	粒徑 (nm)	OD405	蛋白質含量 (mg/mL)	PH 值	滲透壓 (mOsmol/kg)	黏度 cP	活性 %	PS80 %
T0		SOC	4.5	0.05	104.3	5.4	293	6.8	90	NT
40℃	2W	SOC	4.4	0.05	105.2	NT	NT	NT	NT	0.044
	4W	SOC	4.6	0.06	105.6	5.3	NT	NT	NT	0.043
	4WI	SOC	4.4	0.07	105.7	5.3	NT	NT	NT	NT
	6W	SOC	3.9	0.06	103.3	5.5	NT	NT	NT	0.040

【0484】 表 48 最終處方確認加速(25°C)穩定性實驗結果

取樣點		SEC			NR CE-SDS		icIEF				
		HMW %	MP%	LMW %	MP %	LMW%	酸性 峰%	主峰%		鹼性峰%	
T0		1	99	ND	98.2	1.5	24.9	68.1		7	
25℃	2W	1	99	ND	98.6	1.3	23.1	70		6.9	
	4W	1.2	98.7	0.1	98.1	1.5	23.8	69.7		6.5	
	6W	1.3	98.6	0.1	98	1.6	25.2	68.3		6.5	
	3M	1.2	98.7	0.1	98.7	1.2	29	65		6	
	6M	1.4	98.4	0.2	98.7	1.3	32.2	61.3		6.5	
	取樣點		外觀	粒徑(nm)	OD405	蛋白質含量 (mg/mL)		PH 值	滲透壓 (mOsmo l/kg)	黏 度 cP	活 性 %
T0		SOC	4.5	0.05	104.3		5.4	293	6.8	90	NT
25℃	2W	SOC	3.8	0.04	106.1		NT	NT	NT	NT	NT
	4W	SOC	4	0.04	106.6		5.4	NT	NT	NT	0.044
	6W	SOC	4.1	0.04	103		5.3	NT	NT	NT	0.044
	3M	SOC	4.7	0.04	104.6		5.3	NT	NT	NT	0.046
	6M	SOC	4.2	0.04	106.8		5.4	NT	NT	NT	0.04

【0485】 表 49 最終處方確認長期(5°C/-20°C/-40°C)穩定性實驗結果

取樣點		SEC			NR CE-SDS		icIEF				
		HMW	MP%	LMW	MP	LMW	酸性	主峰%	鹼性峰%		
		%		%	%	%	峰%				
T0		1	99	ND	98.2	1.5	24.9	68.1	7		
5℃	1M	1	99	ND	98.3	1.2	22.5	70.9	6.6		
	3M	1	99	0	98.8	1.1	25.8	68.1	6.1		
	6M	1.1	98.9	ND	98.8	1.2	25	68.2	6.8		
-20℃	1M	1	99.1	ND	98.5	1.3	22.7	70.3	7		
	3M	0.9	99.1	ND	98.7	1.2	25.6	68.1	6.3		
	6M	1	99	ND	98.6	1.4	24.7	68.4	6.9		
-40℃	1M	1	99	ND	98.4	1.3	22.8	70.3	7		
	3M	0.9	99.1	ND	98.4	1.4	25	68.5	6.5		
	6M	1	99	ND	98.6	1.4	24.1	69.2	6.7		
取樣點		外觀	粒徑(nm)	OD405	蛋白質含量 (mg/mL)		PH 值	滲透壓 (mOsmol/kg)	黏度 cP	活性 %	PS80 %
T0		SOC	4.5	0.05	104.3		5.4	293	6.8	90	NT
5℃	1M	SOC	4	0.05	105.9		5.3	NT	NT	NT	NT
	3M	SOC	4.4	0.04	104.4		5.3	NT	NT	NT	NT
	6M	SOC	4.2	0.04	106.6		5.4	NT	NT	NT	NT
-20℃	1M	SOC	4.5	0.05	106.2		5.3	NT	NT	NT	0.043
	3M	SOC	4.5	0.04	104.8		5.3	NT	NT	NT	NT

	6M	SOC	4.1	0.04	105.1	5.4	NT	NT	NT	NT
-40°C	1M	SOC	4	0.04	105.8	5.3	NT	NT	NT	0.043
	3M	SOC	4.4	0.04	104.3	5.3	NT	NT	NT	NT
	6M	SOC	3.9	0.04	105.2	5.4	NT	NT	NT	NT

【0486】 表 50 最終處方確認攪拌、凍融、光照、振搖實驗結果

取樣點		SEC			NR CE-SDS		icIEF			MFI		
		HMW %	MP%	LMW%	MP%	LMW %	酸性峰%	主峰%	鹼性峰%	≥ 2µm	≥ 10µm	≥ 25µm
T0		1	99	ND	98.2	1.5	24.9	68.1	7.0	61	0	0
攪拌	2H	1	99	ND	98.3	1.3	22.9	70.2	6.9	NT	NT	NT
凍融	-80°C	1	98.9	0.1	98.4	1.3	23.4	70.3	6.3	31	42	23
	-40°C	1.1	98.8	0.1	98.3	1.4	22.5	70.8	6.7	260	4	0
	-20°C	1	98.8	0.1	98.4	1.3	22.7	70.4	6.9	92	0	0
光照	7D	2.8	97.1	0.1	96.7	2	28	65.3	6.7	NT	NT	NT
振搖	10D	1	99	ND	98.1	1.6	22.7	70.6	6.8	149	0	0
取樣點		外觀	粒徑 (nm)	OD405	蛋白質含量 (mg/mL)		PH 值	滲透壓 (mOsmol/kg)		黏度 cP	活性 %	PS80 %
T0		SOC	4.5	0.05	104.3		5.4	293		6.8	90	NT
攪拌	2H	Turbid	4.4	0.06	103.7		5.4	NT		NT	NT	NT
凍融	-80°C	SOC	4.0	0.04	103.5		5.4	NT		NT	NT	NT
	-40°C	SOC	4.2	0.04	104		5.4	NT		NT	NT	NT

	-20°C	SOC	4.1	0.04	103.9	5.4	NT	NT	NT	NT
光照	7D	SOC	4.5	0.04	102.7	5.3	NT	NT	96	NT
振搖	10D	SOC	4	0.04	103.2	5.3	NT	NT	NT	NT

SOC=輕微乳光、Turbid=渾濁、NT=未檢測

【0487】 3.總結

高濃度最終處方在-40°C，-20°C，5°C 和 25°C 條件下均能保持長時間的穩定，對凍融和振搖的耐受性較好。在光照和攪拌條件下會發生變化，在 40°C 條件下變化較大，因此該樣品應該注意防止長時間光照，高溫 and 劇烈攪拌。

【0488】 本發明的範圍不受本文所述的具體實施方案限制。實際上，除所描述的那些以外，根據前述描述和附圖，本文提供的多種修改對於所屬技術領域中具有通常知識者來說將變得顯而易見。此類修改意圖屬於所附申請專利範圍的範圍之內。

【符號說明】 無

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3"
fileName="910193中文序列表.xml" softwareName="WIPO Sequence"
softwareVersion="2.3.0" productionDate="2024-02-06">
  <ApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>112151403</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2023-12-28</FilingDate>
  </ApplicationIdentification>
  <ApplicantFileReference>PF 230978TWI</ApplicantFileReference>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>CN</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>202211710550.3</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2022-12-29</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">大陸商蘇州創勝醫藥集團有限公司</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>Suzhou Transcenta therapeutics
Co., Ltd.</ApplicantNameLatin>
  <InventorName languageCode="zh">張，凡</InventorName>
  <InventorNameLatin>ZHANG, FAN</InventorNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">含有治療性抗體的藥物製劑及其用途
</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>43</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier id="q1">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>
      </INSDSeq>
    </SequenceData>
  </ST26SequenceListing>
```

```
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q2">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DYYIN</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q3">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>7</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier id="q4">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>misc_feature - Xaa can be Glu, Asp or
Gly.</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>9</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q5">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>misc_feature - Xaa can be Ala or
Pro.</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>11..14</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q6">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>misc_feature - Xaa at position 11 can be His or Tyr,
Xaa at position 12 can be Ser or Asn, Xaa at position 13 can be Glu or Gln, and
Xaa at position 14 can be Lys or Asn.</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>16..17</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q7">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>misc_feature - Xaa at position 16 can be Lys or Gln,
and Xaa at position 17 can be Ala or Gly.</INSDQualifier_value>
```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q8">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>WIFPGSXSYXXXXFXX</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q9">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>8</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier id="q10">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>misc_feature - Xaa can be Ala or
Pro. </INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q11">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GDRSGPFXY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q12">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="ql3">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>KSSQSLLYSNGKTYLN</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="ql4">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
</INSDSeq>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="ql5">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>LVSKLDS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="6">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="ql6">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>3</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="ql7">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>misc_feature - Xaa can be Val or
Gly.</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q18">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>VQXTHFPFT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q19">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q20">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>WIFPGSESAYHSEKFKA</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q21">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
```

```

    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q22">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>WIFPGSESAYHSQKFQG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q23">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q24">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>WIFPGSDSAYYNEKFKG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q25">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q26">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
<INSDSeq_sequence>WIFPGSGSPYYNENFKG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q27">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q28">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GDRSGPFAY</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
  <INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q29">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q30">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GDRSGPFPY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier id="q31">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q32">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>VQVTHFPFT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q33">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q34">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>VQGTHTFPFT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q35">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
</INSDSeq>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q36">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQQSGPELEKPGTSVKISCEASGYTFTDYYINWVQQRPGGLEWIGWIFPGSESAYHSE
KFKAKATLTVDTSSTTAYMLLTSLTSEDSAVYFCTRGRSGPFAYWGQGLTVTVSA</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="16">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q37">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
```

```

    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q38">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DVVMTQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWLLQRPQGSPKRLIYLVSKLD SG
VPDRFTGSGSGADFTLKISRVEADLGVIYCVQVTHFPFTFGTGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q39">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q40">
```

```

    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKQRPGQGLEWVGWIFPGSDSAYYNE
KFKGKATLTVDTSSSTAYMLLSSLTSEDSAVYFCARGDRSGFPYPYWGQGLTVTVSA</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q41">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q42">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQQSGPDLVKPGTSVKISCTASGYTFTDYYINWVKQRPQGQLEWIGWIFPGSGSPYYNE
NFKGRAMFTVDYSSSSAYMLLSSLTSEDSAVYFCTRGRSGPFAYWGQGTLLTVSA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q43">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q44">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>DVVMTQTPLTSLVITIGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWLLQRPQGQSPKRLIYLVSKLDG
VPDRFTGSGSGADFTLKISRVEAEDLGVYYCVQGTHFPFTFGTGTKLEIK</INSDSeq_sequence>

```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 20" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q45">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q46">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIFPGSESAYHSE
    KFKARVTMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTRGRSGPFAYWGQGLTVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 21" >
  <INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length/>
<INSDSeq_moltype/>
<INSDSeq_division/>
<INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 22" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q47">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q48">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIFPGSESAYHSE
  KFKARATLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTRGRSGPFAYWGQGTLLTVSS</INSDSeq_sequence>
```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 23" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 24" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q49">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q50">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIFPGSESAYHSQ
KFQGRVTMTVDTSISTAYMELSRLSDDTAVYYCTRGRSGPFAYWGQGTLLTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 25" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 26" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q51">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q52">
```

```

    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIFPGSESAYHSQ
KFQGRATLTVDTSISTAYMELSRLSDDTAVYYCTRGRSGPFAYWGQGTLLTVSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 27" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 28" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q53">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
```

```

    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q54">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLD SG
VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQVTHFPFTFGQGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="29">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>219</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..219</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q55">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..219</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q56">
```

```

    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLDG
VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQVTHFPFTFGGQTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL
NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</I
NSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="30">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q57">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q58">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

        </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLDSG
VPDRFSGSGSGADFTLKISRVEAEDVGVYYCVQVTHFPFTFGQGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="31">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length/>
        <INSDSeq_moltype/>
        <INSDSeq_division/>
        <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="32">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier id="q59">
                        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>
    </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q60">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSGFSLSRGKMGSWIRQPPGKALEWLAHIFSSDEKSYR
TSLKSRLTISKDTSKNQVLTMTNMDPVDATYYCARIRRGIDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGP
PCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK</INSDSeq_sequenc
e>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="33">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>213</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..213</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q61">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..213</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q62">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QPVLTPPPSLSVSPGQTASITCSGEKLGDKYAYWYQQKPGQSPVLMYQDKQRPSGIPERFS
GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTAVFGGGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE
AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq
_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="34">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q63">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>

```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 35" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>327</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..327</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q64">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..327</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q65">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCV
VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV
FSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber=" 36" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q66">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q67">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIFPGSESAYHSE
    KFKARVTMTVDTSISTAYMELSRLSDDTAVYYCTRGRSGPFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA
    LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGP
    PCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS
    VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
    GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK</INSDSeq_sequenc
e>
  </INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 37">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>98</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..98</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q68">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQ
    KFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAR</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 38">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>100</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..100</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q69">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNRDSG
VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCMQGTHWP</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="39">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>686</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..686</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q70">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>MRLLTLLGLLCGSVATPLGPKWPEPVFGRLASPGFPGEYANDQERRWTLTAPPGYRLRLYFT
HFDLELSHLCEYDFVKLSSGAKVLATLCGQESTDTERAPGKDTFYSLGSSLDITFRSDYSNEKPFTGFEAFYAAEDIDEC
QVAPGEAPTCDHHCHNHLGGFYCSCRAGYVLHRNKRTCSALCSGQVFTQRSSELSSPEYPRYPKLSSCTYSISLEEFGS
VILDFVESFDVETHPETLCPYDFLKIQTDREEHGPFCKTLPRIETKSNTVTITFVTDESGDHTGWKIHYTSTAQPCPY
PMAPPNGHVSPVQAKYILKDSFSIFCETGYELLQGHLPKSFATAVCQKDGSDRPMACSIIVDCGPPDDLPSGRVEYITG
PGVTTYKAVIQYSCEETFYTMKVNKGKYVCEADGFWTSSKGEKSLPVCEPVCGLSARTTGRIYGGQKAKPGDFPWQVLI
LGGTTAAGALLYDNWVLTAAHAVYEQKHDAALDIRMGTLRKLSPHYTQAWSEAVFIHEGYTHDAGFDNDIALIKLNKV
```

```
VINSNITPICLPKEAESFMRTDDIGTASGWGLTQRGFLARNLMYVDIPIVDHQKCTAAYEKPPYPRGSVTANMLCAGLE
SGGKDSCRGDSSGALVFLDSETERWVFGGIVSWGSMNCGEAGQYGVYTKVINYIPWIENIISDF</INSDSeq_sequen
ce>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 40">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>685</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..685</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q71">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Mus musculus</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>MRLLI FLG LLWSLVATLLGSKWPEPVFGRLVSPGFPEKYADHQDRSWTLTAPPGYRLRLYFT
HFDLELSYRCEYDFVKLSSGTKVLATLCGQESTDTEQAPGNDTFYSLGPSLKVTFHSDYSNEKPFTGFEAFYAAEDVDEC
RVSLGDSVPCDHYCHNYLGGYYCSCRAGYVLHQNKHTCSALCSGQVFTGRSGYLSSPEYPQYPYKLSSCTYSIRLEDGFS
VILDFVESFDVETHPEAQCPYDSLKIQTDKGEHGPFCGKTLPPRIETDSHKVTITFATDESGNHTGWKIHYTSTARPCPD
PTAPPNGSISPVQAIYVLKDRFSVFCCKTGFE LLQGSVPLKSFTAVCQKDGSDRPMPECSIIDCGPPDDL PNGHVDYITG
PEVTTYKAVIQYSCEETFYTMSSNGKYVCEADGFWTSSKGEKLPPVCEPVCGLSTHTIGGRIVGGQPAKPGDFPWQVLLL
GQTAAAGAL IHDNWVLTAAHAVYEKMAASSLNIRMGILKRLSPHYTQAWPEE IFIHEGYTHGAGFDNDIALIKLKNKV
TINGSIMPVCLPRKEAASLMRTDFTGTVAGWGLTQKGLLARNLMFVDIPIADHQKCTAVYEKLYPGVRV SANMLCAGLET
GGKDSCRGDSSGALVFLDNETQRWVFGGIVSWG SINCGAADQYGVYTKVINYIPWIENIISNF</INSDSeq_sequenc
e>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 41">
```

```
<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q72">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>MYRMQLLSICIALSLALVTNS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="42">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>695</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..695</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q73">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Synthetic</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..695</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q74">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MYRMQLLSCIALSLALVTNSSKWPEPVFGRLVSPGFPEKYADHQDRSWLTAPPGYRLRLYF
THFDLELSYRCEYDFVKLSSGTKVLATLCGQESTDTEQAPGNDTFYSLGPSLKVTFHSDYSNEKPFTGFEAFYAAEDVDE
CRVSLGDSVPCDHYCHNYLGGYYCSCRAGYVLHQNKHTCSALCSGQVFTGRSGYLSSPEYPQYPKLSSTYSIRLEDGF
SVILDFVESFDVETHPEAQCPYDSLKIQTDKGEHGPF CGKTLPPRIETDSHKVTITFATDESGNHTGWKIHYTSTAQPCP
YPMAPPNGHVSPVQAKYILKDSFSIFCETGYELLQGHLPKLSFTAVCQKDGSDWRPMPACSI VDCGPPDDLPSGRVEYIT
GPGVTTYKAVIQYSCEETFYTMKVNDGKYVCEADGFWTSSKGEKSLPVCEPVCGLSARTTGRIYGGQKAKPGDFPWQVL
ILGGTTAAGALLYDNWVLTAAHAVYEQKHDASALDIRMGLTKRLSPHYTQAWSEAVFIHEGYTHDAGFDNDIALIKLNNK
VVINSNITPICLPRKEAESFMRTDDIGTASGWGLTQRGFLARNLMYVDIPIVDHQKCTAAYEKPPYPRGSVTANMLCAGL
ESGGKDSGRGDSGGALVFLDSETERWVGGIVSWGSMNCGEAGQYGVYTKVINYIPWIENIISDFDYKDDDDK</INSDS
eq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="43">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>686</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..686</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q75">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Macaca fascicularis</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MRLLTLLGLLCGSVATPLGPKWPEPVFGRLASPGFPGEYANDQERRWTLTAPPGYRLRLYFT
HFDLELSHLCEYDFVKLSSGAKVLATLCGHESTDTTERAPGNDTFYSLGSSLDITFRSDYSNEKPFTGFEAFYAAEDIDEC
QVAPGEAPACDHHCHNHLGGFYCSCRVGYLHRNKRTCSALCSGQVFTQRSSELSSPEYPQYPYKLSSCTYSIRLEEGFS
VILDFVESFDVETHPETLCPYDFLKIQIDSEEHGPF CGKTLPRRIETKSNTVTITFVTDESGDHTGWKIHYTSTAQPCPY
PMAPPNGHLSPVQAKYILKDSFSIFCEPGYELLQGHLPLKSFAAVCQKDGSDQPMPPSCSIVDCGPPDDLPSGRVEYITG
PEVTTYKAVIQYSCEETFYTMK VNDGKYVCEADGFWTSSK GERSPPVCEPVCGLSARTTGGR IYGGQKAKPGDFPWQVLI
LGGSTAAGALLYDNWVLTAAHAIYEQKHDASSLDIRLGALKRLSPHYTQAWAEAVFIHEGYTHDAGFDNDIALIKLNNKV
VINSNITPICLPRKEAESFMRTDDIGTASGWGLTQRGLLARNLMYVDIPIVDHQKCTAAYEKKPPYSGGSVTANMLCAGLE
SGGKDSCRGDSSGALVFLDNETQRWFVGGIVSWGSMNCGEAGQYGVYTKVINYIPWIKNIISNF</INSDSeq_sequen
ce>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種穩定液體藥物製劑，其包含：

- (a)特異性結合至人 MASP-2 的單株抗體或其抗原結合片段；
- (b)包含組胺酸和/或醋酸緩衝體系的緩衝液；
- (c)包含聚山梨酯的表面活性劑；和
- (d)包含蔗糖、海藻糖和/或脯胺酸的輔料；

其中該製劑的 pH 為 4.7-6.1，較佳 5.0-6.0，更佳 5.0-5.5，最佳 5.3。

【請求項2】 如請求項 1 所述的藥物製劑，其中該製劑具有以下特性中的一項或多項：

- (i)平均粒徑為 2-10 μm ；
- (ii)質量滲透壓莫耳濃度為 250~350 mOsm/kg H_2O 之間；
- (iii)黏度為約 1.0 厘泊- 30 厘泊，例如約 1.0 厘泊- 10 厘泊；
- (iv)在 40°C 或 25°C 下放置 6 週或振搖 14 天後，外觀保持或基本保持輕微乳光或澄清狀態，平均粒徑不變或基本不變，且溶解狀態下的抗體單體純度超過 95%，較佳 98%，更佳 99%；
- (v)在 4°C 下放置 1 年-3 年後，外觀保持或基本保持輕微乳光或澄清狀態，平均粒徑不變或基本不變，且溶解狀態下的抗體單體純度超過 95%，較佳 98%，更佳 99%；
- (vi)光照 3 天後，外觀保持或基本保持輕微乳光或澄清狀態，平均粒徑不變或基本不變，且溶解狀態下的抗體單體純度超過 95%，較佳 98%，更佳 99%；

(vii)攪拌 6 小時後，外觀保持或基本保持輕微乳光或澄清狀態，平均粒徑不變或基本不變，且溶解狀態下的抗體單體純度超過 95%，較佳 98%，更佳 99%；和

(viii)經 5 輪凍融後，外觀保持或基本保持輕微乳光或澄清狀態，平均粒徑不變或基本不變，且溶解狀態下的抗體單體純度超過 95%，較佳 98%，更佳 99%。

【請求項3】 如請求項 1 或 2 所述的藥物製劑，其中該抗體濃度為 10 mg/ml $\pm$ 1 mg/ml 至 200 mg/ml $\pm$ 20 mg/mL。

【請求項4】 如請求項 3 所述的藥物製劑，其中該抗體濃度為 20 mg/ml $\pm$ 2 mg/mL。

【請求項5】 如請求項 3 所述的藥物製劑，其中該抗體濃度為 60 mg/ml $\pm$ 6 mg/ml。

【請求項6】 如請求項 3 所述的藥物製劑，其中該抗體濃度為 100 mg/ml $\pm$ 10 mg/ml。

【請求項7】 如請求項 3 所述的藥物製劑，其中該抗體濃度為 150 mg/ml $\pm$ 15 mg/ml。

【請求項8】 如請求項 3 所述的藥物製劑，其中該抗體濃度為約 20 mg/ml 至約 100 mg/ml。

【請求項9】 如請求項 1 至 8 中任一項所述的藥物製劑，其中該緩衝液包含組胺酸，並且組胺酸濃度為 5 mM $\pm$ 1 mM 至 20 mM $\pm$ 4 mM。

【請求項10】 如請求項 9 所述的藥物製劑，其中該緩衝液濃度為 10 mM $\pm$ 2 mM。

【請求項11】 如請求項 10 所述的藥物製劑，其中該緩衝液包含 L-組胺酸和一水合 L-組胺酸鹽酸鹽。

【請求項12】 如請求項 11 所述的藥物製劑，其中該緩衝液包含約 0.175 mg/ml 的 L-組胺酸和約 1.86 mg/ml 的一水合 L-組胺酸鹽酸鹽。

【請求項13】 如請求項 1 至 12 中任一項所述的藥物製劑，其中該聚山梨醇酯濃度為 $0.025\% \pm 0.01\%$ 至 $0.1\% \pm 0.01\%$ (w/v)。

【請求項14】 如請求項 13 所述的藥物製劑，其中該聚山梨醇酯濃度為 $0.05\% \pm 0.01\%$ (w/v)。

【請求項15】 如請求項 1 至 14 中任一項所述的藥物製劑，其中該聚山梨醇酯為聚山梨醇酯 80 或聚山梨醇酯 20，較佳為聚山梨醇酯 80。

【請求項16】 如請求項 1 至 15 中任一項所述的藥物製劑，其中該輔料包含蔗糖。

【請求項17】 如請求項 16 所述的藥物製劑，其中該蔗糖濃度為 $5.5\% \pm 0.5\%$ 至 $9\% \pm 0.5\%$ (w/v)。

【請求項18】 如請求項 17 所述的藥物製劑，其中該蔗糖濃度為 $5.8\% \pm 0.5\%$ 至 $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v)。

【請求項19】 如請求項 18 所述的藥物製劑，其中該蔗糖濃度為 $5.8\% \pm 0.5\%$ (w/v)。

【請求項20】 如請求項 18 所述的藥物製劑，其中該蔗糖濃度為 $6.0\% \pm 0.5\%$ (w/v)。

【請求項21】 如請求項 18 所述的藥物製劑，其中該蔗糖濃度為 $6.5\% \pm 0.5\%$ (w/v)。

【請求項22】 如請求項 18 所述的藥物製劑，其中該蔗糖濃度為 $7.0\% \pm 0.5\%$ (w/v)。

【請求項23】 如請求項 18 所述的藥物製劑，其中該蔗糖濃度為 $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v)。

【請求項24】 如請求項 1 所述的藥物製劑，其包含：

- (a) $20 \text{ mg/ml} \pm 2 \text{ mg/ml}$ 抗體，
 - (b) 包含 $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ 至 $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$ 組胺酸或醋酸的緩衝液，
 - (c) $0.025\% \pm 0.01\%$ 至 $0.1\% \pm 0.01\%$ (w/v) 聚山梨醇酯 80，和
 - (d) $6.5\% \pm 0.5\%$ 至 $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖或海藻糖，
- pH 為 5.3 ± 0.5 。

【請求項25】 如請求項 24 所述的藥物製劑，其包含：

- (a) $20 \text{ mg/ml} \pm 2 \text{ mg/ml}$ 抗體，
 - (b) 包含 $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ 組胺酸的緩衝液，
 - (c) $0.05\% \pm 0.01\%$ (w/v) 聚山梨醇酯，和
 - (d) $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖，
- pH 為 5.3 ± 0.1 。

【請求項26】 如請求項 25 所述的藥物製劑，其包含：

- (a) $20 \text{ mg/ml} \pm 2 \text{ mg/ml}$ 抗體，
- (b) 約 0.175 mg/ml L-組胺酸，
- (c) 約 1.86 mg/ml L-組胺酸一鹽酸鹽一水合物，
- (d) $0.05\% \pm 0.01\%$ (w/v) 聚山梨醇酯，和
- (e) $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖，

pH 為 5.3 ± 0.1 。

【請求項27】 如請求項 1 所述的藥物製劑，其包含：

- (a) $60 \text{ mg/ml} \pm 6 \text{ mg/ml}$ 抗體，
 - (b) 包含 $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ 至 $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$ 組胺酸或醋酸的緩衝液，
 - (c) $0.025\% \pm 0.01\%$ 至 $0.1\% \pm 0.01\%$ (w/v) 聚山梨醇酯，和
 - (d) $6.5\% \pm 0.5\%$ 至 $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖或海藻糖，
- pH 為 5.3 ± 0.5 。

【請求項28】 如請求項 27 所述的藥物製劑，其包含：

- (a) $60 \text{ mg/ml} \pm 6 \text{ mg/ml}$ 抗體，
 - (b) 包含 $10 \text{ mM} \pm 2 \text{ mM}$ 組胺酸緩衝體系的緩衝液，
 - (c) $0.05\% \pm 0.01\%$ (w/v) 聚山梨醇酯，和
 - (d) $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖，
- pH 為 5.3 ± 0.1 。

【請求項29】 如請求項 28 所述的藥物製劑，其包含：

- (a) $60 \text{ mg/ml} \pm 6 \text{ mg/ml}$ 抗體，
 - (b) 約 0.175 mg/ml L-組胺酸，
 - (c) 約 1.86 mg/ml L-組胺酸一鹽酸鹽一水合物，
 - (d) $0.05\% \pm 0.01\%$ (w/v) 聚山梨醇酯，和
 - (e) $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖，
- pH 為 5.3 ± 0.1 。

【請求項30】 如請求項 1 所述的藥物製劑，其包含：

- (a) $100 \text{ mg/ml} \pm 10 \text{ mg/ml}$ 抗體，

- (b)包含 $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ 至 $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$ 組胺酸或醋酸的緩衝液，
 - (c) $0.025\% \pm 0.01\%$ 至 $0.1\% \pm 0.01\%$ (w/v)聚山梨醇酯，和
 - (d) $6.5\% \pm 0.5\%$ 至 $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖或海藻糖，
- pH 為 5.3 ± 0.5 。

【請求項31】 如請求項 30 所述的藥物製劑，其包含：

- (a) $100 \text{ mg/ml} \pm 10 \text{ mg/ml}$ 抗體，
 - (b)包含 $10 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ 組胺酸緩衝體系的緩衝液，
 - (c) $0.05\% \pm 0.01\%$ (w/v)聚山梨醇酯，和
 - (d) $7.0\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖，
- pH 為 5.3 ± 0.1 。

【請求項32】 如請求項 31 所述的藥物製劑，其包含：

- (a) $100 \text{ mg/ml} \pm 10 \text{ mg/ml}$ 抗體，
 - (b)約 0.175 mg/ml L-組胺酸，
 - (c)約 1.86 mg/ml L-組胺酸一鹽酸鹽一水合物，
 - (d) $0.05\% \pm 0.01\%$ (w/v)聚山梨醇酯，和
 - (e) $7.0\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖，
- pH 為 5.3 ± 0.1 。

【請求項33】 如請求項 1 所述的藥物製劑，其包含：

- (a) $150 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$ 抗體，
- (b)包含 $5 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ 至 $20 \text{ mM} \pm 4 \text{ mM}$ 組胺酸或醋酸的緩衝液，
- (c) $0.025\% \pm 0.01\%$ 至 $0.1\% \pm 0.01\%$ (w/v)聚山梨醇酯，和
- (d) $6.5\% \pm 0.5\%$ 至 $8.6\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖或海藻糖，

pH 為 5.3 ± 0.5 。

【請求項34】 如請求項 33 所述的藥物製劑，其包含：

- (a) $150 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$ 抗體，
- (b) 包含 $10 \text{ mM} \pm 1 \text{ mM}$ 組胺酸緩衝體系的緩衝液，
- (c) $0.05\% \pm 0.01\%$ (w/v) 聚山梨醇酯，和
- (d) $7.0\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖，

pH 為 5.3 ± 0.1 。

【請求項35】 如請求項 34 所述的藥物製劑，其包含：

- (a) $150 \text{ mg/ml} \pm 15 \text{ mg/ml}$ 抗體，
- (b) 約 0.175 mg/ml L-組胺酸，
- (c) 約 1.86 mg/ml L-組胺酸一鹽酸鹽一水合物，
- (d) $0.05\% \pm 0.01\%$ (w/v) 聚山梨醇酯，和
- (e) $7.0\% \pm 0.5\%$ (w/v) 蔗糖，

pH 為 5.3 ± 0.1 。

【請求項36】 如請求項 21 至 35 中任一項所述的藥物製劑，其中該聚山梨醇酯為聚山梨醇酯 20 或聚山梨醇酯 80，較佳聚山梨醇酯 80。

【請求項37】 如請求項 1 至 36 中任一項所述的藥物製劑，其中該抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區和/或輕鏈可變區，其中該重鏈可變區包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，其中，HCDR1 的胺基酸序列如 **DYYIN**(SEQ ID NO: 1)所示，HCDR2 的胺基酸序列如 **WIFPGSX₁ SX₂ YX₃ X₄ X₅ X₆ FX₇ X₈**(SEQ ID NO: 2)所示，並且 HCDR3 的胺基酸序列如 **GDRSGPFX₉ Y**(SEQ ID NO: 3)所示；

和/或

該輕鏈可變區包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，LCDR1 的胺基酸序列如 **KSSQSLLYSNGKTYLN**(SEQ ID NO: 4)所示，LCDR2 的胺基酸序列如 **LVSKLDS**(SEQ ID NO: 5)所示，並且 LCDR3 的胺基酸序列如 **VQX₁₀THFPFT**(SEQ ID NO: 6)所示，

其中 X₁是 E、D 或 G，X₂是 A 或 P，X₃是 H 或 Y，X₄是 S 或 N，X₅是 E 或 Q，X₆是 K 或 N，X₇是 K 或 Q，X₈是 A 或 G，X₉是 A 或 P，並且 X₁₀是 V 或 G。

【請求項38】 如請求項 37 所述的藥物製劑，其中 HCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 1 所示，HCDR2 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9 或 SEQ ID NO: 10** 所示，並且 HCDR3 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 11 或 SEQ ID NO: 12** 所示；和/或 LCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 4 所示，LCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 5 所示，並且 LCDR3 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 13 或 SEQ ID NO: 14** 所示。

【請求項39】 如請求項 1 至 36 中任一項所述的藥物製劑，其中該抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區，其中該重鏈可變區包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，其中，

HCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 1 所示，HCDR2 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 7** 所示，並且 HCDR3 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 11** 所示；或

HCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 1 所示，HCDR2 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 9** 所示，並且 HCDR3 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 12** 所示；或

HCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 1 所示，HCDR2 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 10** 所示，並且 HCDR3 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 11** 所示；或

HCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 1 所示，HCDR2 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 8** 所示，並且 HCDR3 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 11** 所示。

【請求項40】 如請求項 39 所述的藥物製劑，其中該抗體或其抗原結合片段進一步包含輕鏈可變區，其中輕鏈可變區包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，

LCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 4 所示，LCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 5 所示，並且 LCDR3 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 13** 所示；或

LCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 4 所示，LCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 5 所示，並且 LCDR3 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 14** 所示。

【請求項41】 如請求項 37 至 40 中任一項所述的藥物製劑，其中，

HCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 1 所示，HCDR2 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 7** 所示，HCDR3 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 11** 所示，LCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 4 所示，LCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 5 所示，並且 LCDR3 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 13** 所示；或

HCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 1 所示，HCDR2 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 9** 所示，HCDR3 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 12** 所示，LCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 4 所示，LCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 5 所示，並且 LCDR3 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 13** 所示；或

HCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 1 所示，HCDR2 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 10** 所示，HCDR3 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 11** 所示，LCDR1 的胺基

酸序列如 SEQ ID NO: 4 所示，LCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 5 所示，並且 LCDR3 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 14** 所示；或

HCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 1 所示，HCDR2 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 8** 所示，HCDR3 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 11** 所示，LCDR1 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 4 所示，LCDR2 的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 5 所示，並且 LCDR3 的胺基酸序列如 **SEQ ID NO: 13** 所示。

【請求項42】 如請求項 37 至 41 中任一項所述的藥物製劑，其中該重鏈可變區包含選自 SEQ ID NO: 15、17、18、20、22、24 和 26 中任一者的序列或與其具有至少 80% 序列同一性的序列。

【請求項43】 如請求項 42 所述的藥物製劑，其中該輕鏈可變區包含選自 SEQ ID NO: 16、19、28 和 30 中任一者的序列或與其具有至少 80% 序列同一性的序列。

【請求項44】 如請求項 37 至 41 中任一項所述的藥物製劑，其中該抗體或其抗原結合片段包含：

包含如 SEQ ID NO: 15 所示的胺基酸序列的重鏈可變區，和包含如 SEQ ID NO: 16 所示的胺基酸序列的輕鏈可變區；或

包含如 SEQ ID NO: 17 所示的胺基酸序列的重鏈可變區，和包含如 SEQ ID NO: 16 所示的胺基酸序列的輕鏈可變區；或

包含如 SEQ ID NO: 18 所示的胺基酸序列的重鏈可變區，和包含如 SEQ ID NO: 19 所示的胺基酸序列的輕鏈可變區；或

包含如 SEQ ID NO: 20 所示的胺基酸序列的重鏈可變區，和包含如 SEQ ID NO: 28 所示的胺基酸序列的輕鏈可變區；或

包含如 SEQ ID NO: 20 所示的胺基酸序列的重鏈可變區，和包含如 SEQ ID NO: 30 所示的胺基酸序列的輕鏈可變區；或

包含如 SEQ ID NO: 22 所示的胺基酸序列的重鏈可變區，和包含如 SEQ ID NO: 28 所示的胺基酸序列的輕鏈可變區；或

包含如 SEQ ID NO: 22 所示的胺基酸序列的重鏈可變區，和包含如 SEQ ID NO: 30 所示的胺基酸序列的輕鏈可變區；或

包含如 SEQ ID NO: 24 所示的胺基酸序列的重鏈可變區，和包含如 SEQ ID NO: 28 所示的胺基酸序列的輕鏈可變區；或

包含如 SEQ ID NO: 24 所示的胺基酸序列的重鏈可變區，和包含如 SEQ ID NO: 30 所示的胺基酸序列的輕鏈可變區；或

包含如 SEQ ID NO: 26 所示的胺基酸序列的重鏈可變區，和包含如 SEQ ID NO: 28 所示的胺基酸序列的輕鏈可變區；或

包含如 SEQ ID NO: 26 所示的胺基酸序列的重鏈可變區，和包含如 SEQ ID NO: 30 所示的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【請求項45】 如請求項 37 至 44 中任一項所述的藥物製劑，其中該抗體或其抗原結合片段包含免疫球蛋白恆定區，視需要地包含 IgG 的重鏈恆定區，和/或輕鏈恆定區。

【請求項46】 如請求項 45 所述的藥物製劑，其中該恆定區包含小鼠恆定區、兔恆定區或人恆定區，視需要地，該恆定區包含人 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 的恆定區。

【請求項47】 如請求項 45 所述的藥物製劑，其中該重鏈恆定區包含相對於野生型人 IgG 恆定區在胺基酸殘基 252、254 或 256 處的一個或多個胺基酸取代，

視需要地，胺基酸殘基 252 處的胺基酸取代是被酪胺酸取代，胺基酸殘基 254 處的胺基酸取代是被蘇胺酸取代，胺基酸殘基 256 處的胺基酸取代是被谷胺酸取代。

【請求項48】 如請求項 47 所述的藥物製劑，其中該重鏈恆定區包含與野生型人 IgG 恆定區胺基酸序列具有至少 80%同一性的序列，並且相對於野生型人 IgG 恆定區具有胺基酸殘基 252 處被酪胺酸取代，胺基酸殘基 254 處被蘇胺酸取代，和胺基酸殘基 256 處被谷胺酸取代。

【請求項49】 一種醫藥組成物，其中該組成物包含如請求項 1 至 48 中任一項所述的藥物製劑，且該組成物容納於容器中。

【請求項50】 如請求項 49 所述的醫藥組成物，其中該容器為小瓶，例如西林瓶。

【請求項51】 如請求項 49 所述的醫藥組成物，其中該容器為注射器。

【請求項52】 如請求項 49 所述的醫藥組成物，其中該容器為預填充注射器。

【請求項53】 如請求項 49 所述的醫藥組成物，其容納於自動注射器中。

【請求項54】 如請求項 49 至 53 中任一項所述的醫藥組成物，其中該容器包含包括氣體的頂隙，其中該氣體包含小於 5 體積%的氧氣，較佳包含小於 1 體積%的氧氣，更佳包含不超過 0.1 體積%的氧氣。

【請求項55】 一種試劑盒，其包含：

(i)含有包含如請求項 1 至 48 中任一項所述的藥物製劑的組成物的容器，和使用該組成物的說明書；或

(ii)含有包含如請求項 49 至 54 中任一項所述的醫藥組成物的容器，和使用該組成物的說明書。

【請求項56】 一種包含如請求項 1 至 48 中任一項所述的藥物製劑的單位劑型，其中該抗體以 0.1 mg 至 500 mg 的量存在。

【請求項57】 如請求項 56 所述的單位劑型，其中該抗體以 200mg 的量存在或該抗體以 400mg 的量存在。

【請求項58】 如請求項 56 或 57 所述的單位劑型，其為玻璃小瓶，例如西林瓶。

【請求項59】 如請求項 56 或 57 所述的單位劑型，其為預填充注射器。

【請求項60】 如請求項 56 或 57 所述的單位劑型，其為自動注射器。

【請求項61】 如請求項 56 或 57 所述的單位劑型，其中該玻璃小瓶包含包括氣體的頂隙，其中該氣體包含小於 5 體積%的氧氣，較佳包含小於 1 體積%的氧氣，更佳包含不超過 0.1 體積%的氧氣。

【請求項62】 一種抑制 MASP-2 依賴性補體激活的方法，該方法包括向有需要的受試者施用治療有效量的如請求項 1 至 48 中任一項所述的藥物製劑，或如請求項 49 至 54 中任一項所述的醫藥組成物，或如請求項 55 所述的試劑盒，或如請求項 56 至 61 中任一項所述的單位劑型。

【請求項63】 一種降低受試者血清 C4 水平的方法，該方法包括向有需要的受試者施用治療有效量的如請求項 1 至 48 中任一項所述的藥物製劑，或如請求項 49 至 54 中任一項所述的醫藥組成物，或如請求項 55 所述的試劑盒，或如請求項 56 至 61 中任一項所述的單位劑型。

【請求項64】 一種治療受試者中疾病或病症的方法，該疾病或病症(1) 將受益於受試者血清 C4 水平的降低；(2) 與血清 C4 水平異常(例如升高)相關；(3) 將

受益於抑制 MASP-2 依賴性補體激活；和/或(4) 與 MASP-2 依賴性補體激活相關，

該方法包括向有需要的受試者施用治療有效量的如請求項 1 至 48 中任一項所述的藥物製劑，或如請求項 49 至 54 中任一項所述的醫藥組成物，或如請求項 55 所述的試劑盒，或如請求項 56 至 61 中任一項所述的單位劑型。

【請求項65】 一種如請求項 1 至 48 中任一項所述的藥物製劑、或如請求項 49 至 54 中任一項所述的醫藥組成物、或如請求項 55 所述的試劑盒、或如請求項 56 至 61 中任一項所述的單位劑型在製備藥劑中的用途，該藥劑用於用於以下中的一者或多者：

- (1) 用於抑制 MASP-2 依賴性補體激活；
- (2) 用於治療或預防 MASP-2 依賴性補體激活相關疾病或病症；
- (3) 用於治療受試者中受益於抑制 MASP-2 依賴性補體激活的病症；
- (4) 用於降低受試者血清 C4 水平；
- (5) 用於治療受試者中受益於受試者血清 C4 水平的降低的病症；
- (6) 用於治療或預防與血清 C4 水平異常(例如升高)相關的病症或疾病。

【請求項66】 如請求項 65 所述的用途，其中該疾病或病症為自身免疫性疾病、血管病症、缺血再灌注損傷、動脈硬化、炎症、肺部病症、體外再灌注過程、肌肉骨骼病症、腎臟病症、皮膚病症、器官或組織移植過程、神經系統疾病或損傷、血液疾病、泌尿生殖系統疾病、非肥胖型糖尿病或與 1 型或 2 型糖尿病相關併發症、癌症、內分泌疾病、眼科疾病或 COVID-19。

【請求項67】 如請求項 66 所述的用途，其中，

該自身免疫性疾病包括血栓性微血管病(TMA)、非典型溶血性尿毒癥綜合症(aHUS)、造血移植相關的血栓性微血管病(TA-TMA)、狼瘡腎炎、系統性紅斑狼瘡(SLE)和 IgA 腎病；

該血管病症包括心血管病症、腦血管病症、外周(如肌肉骨骼)血管病症、腎血管病症、腸系膜/腸道血管病症、移植物和/或再移植物的血管再生、血管炎、亨-舍二氏紫癥性腎炎、系統性紅斑狼瘡相關的血管炎、與類風濕性關節炎相關的血管炎、免疫複合物血管炎、大動脈炎、擴張型心肌病、糖尿病血管病、川崎病(動脈炎)、靜脈氣體栓塞(VGE)，以及支架置入術、旋轉動脈瘤切除術和經皮腔內冠狀動脈成形術(PTCA)後的再狹窄，

該缺血再灌注損傷包括與主動脈瘤修復、心肺轉流、與器官移植和/或肢體/手指再植有關的血管再吻合、中風、心肌梗死和休克和/或外科手術後的血液動力學復蘇有關的缺血再灌注損傷；

該炎症包括炎症性胃腸道疾病，其包括胰腺炎、克羅恩病、潰瘍性結腸炎、腸易激綜合症和憩室炎；

該肺部病症包括急性呼吸窘迫綜合症、輸血相關性急性肺損傷、缺血/再灌注急性肺損傷、慢性阻塞性肺病、哮喘、韋格納肉芽腫病、抗腎小球基底膜病(Goodpasture 病)；胎糞吸入綜合症、閉塞性細支氣管炎綜合症、特發性肺纖維化、繼發於燒傷的急性肺損傷、非心源性肺水腫、輸血相關呼吸困難、肺氣腫、囊性纖維化、SARS-CoV、MERS-CoV 和 SARS-CoV-2(Covid-19)相關疾病；

該體外循環再灌注過程包括血液透析、血漿去除術、白細胞去除術、體外膜氧合(ECMO)、肝素誘導體外膜氧合低密度脂蛋白沉澱(heparin-induced

extracorporeal membrane oxygenation LDL precipitation, HELP)和心肺轉流術(CPB)；

該肌肉骨骼病症包括骨關節炎、類風濕性關節炎、青少年類風濕性關節炎、痛風、神經性關節病、銀屑病性關節炎、脊椎關節病、結晶性關節病和系統性紅斑狼瘡(SLE)；

該腎臟病症包括系膜增生型腎小球腎炎、膜性腎小球腎炎、膜性增生性腎小球腎炎(系膜毛細血管性腎小球腎炎)、急性感染後腎小球腎炎(鏈球菌感染後腎小球腎炎)、冷球蛋白血症性腎小球腎炎、狼瘡性腎炎、亨-舍二氏紫癜性腎炎和IgA 腎病；

該皮膚病症包括銀屑病、自身免疫性大疱性皮膚病、嗜酸性海綿形成、大疱性類天皰瘡、獲得性大疱性表皮松解、妊娠皰疹、熱燒傷和化學燒傷；

該器官或組織移植過程包括器官異體移植、器官異種移植器官和組織移植；

該神經系統疾病或損傷包括多發性硬化症、重症肌無力、亨廷頓氏病、肌萎縮性脊髓側索硬化、格林巴利綜合症、中風後再灌注(reperfusion following stroke)、退變性椎間盤、腦外傷、帕金森氏病、阿爾茨海默病、Miller-Fisher 綜合症、腦外傷和/或出血、脫髓鞘和腦膜炎；

該血液病包括敗血症、嚴重敗血症、敗血症休克、敗血症引起的急性呼吸窘迫綜合症、全身炎症反應綜合症、失血性休克、溶血性貧血、自身免疫性血栓性血小板減少性紫癜和溶血性尿毒綜合症；

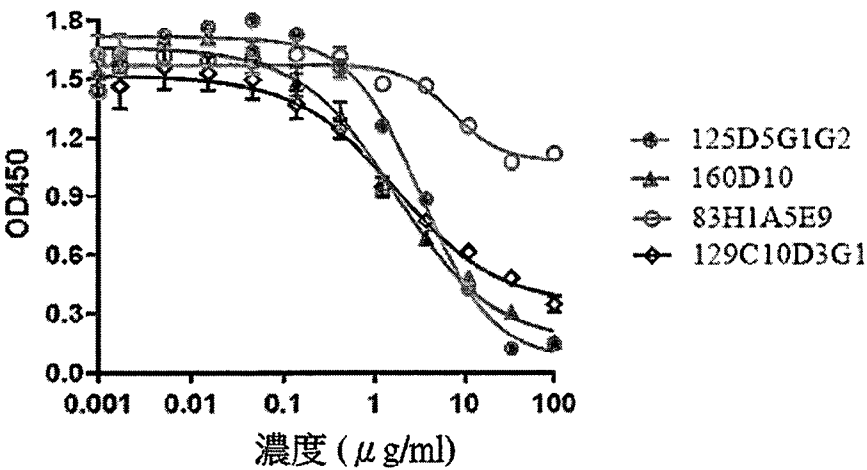
該泌尿生殖系統病症包括疼痛性膀胱病、感覺性膀胱病、慢性非細菌性膀胱炎、間質性膀胱炎、不孕症、胎盤功能障礙和流產和子癰前症；

該內分泌疾病包括橋本氏甲狀腺炎、壓力、焦慮和激素性疾病，涉及垂體的催乳素、生長素或其他胰島素樣生長因子和促腎上腺皮質激素的調節性釋放；

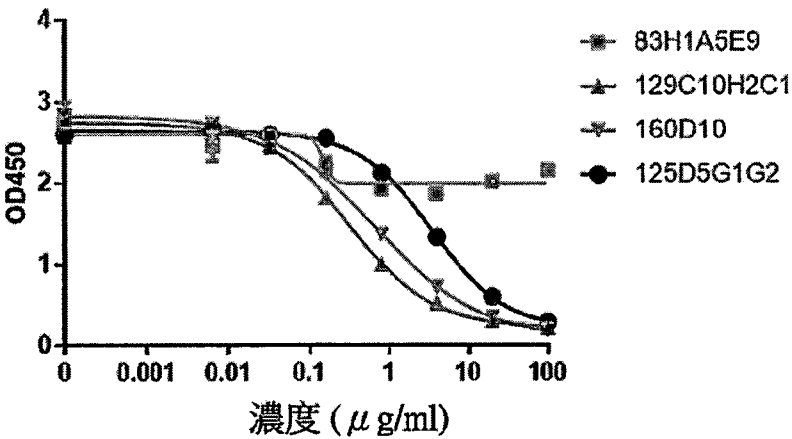
該眼科疾病包括年齡相關性黃斑變性。

【請求項68】 如請求項 65 所述的用途，其中該藥劑用於皮下給藥、胃腸外給藥和/或靜脈給藥。

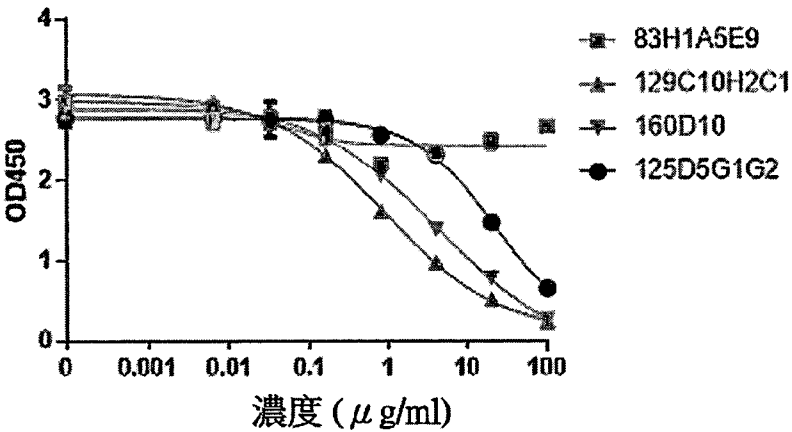
【發明圖式】



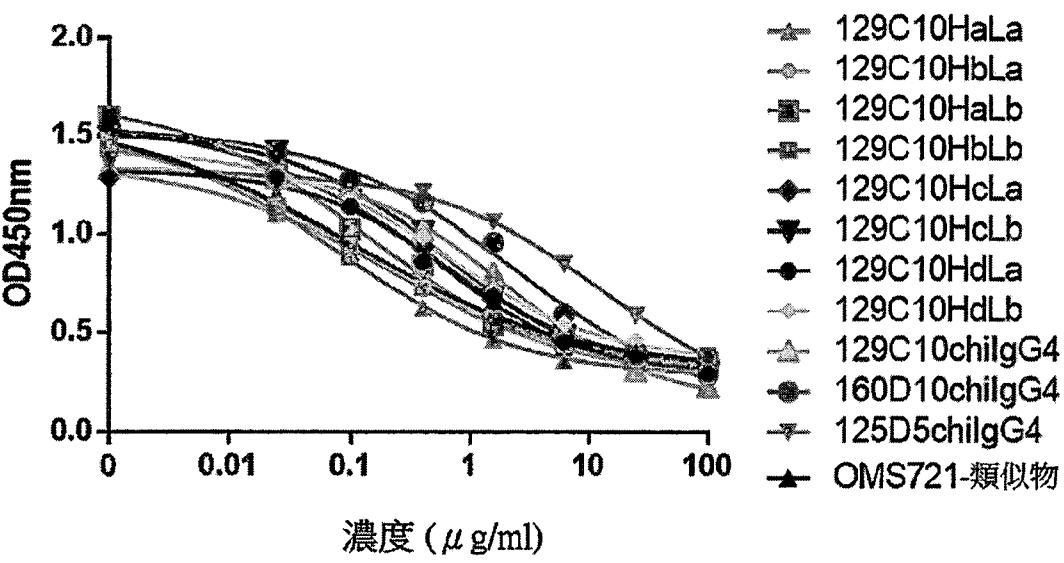
【圖1】



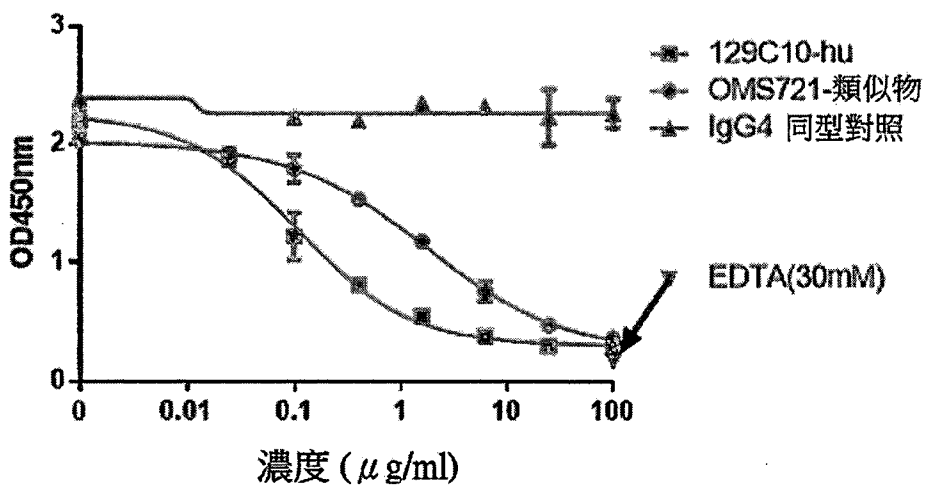
【圖2】



【圖3】

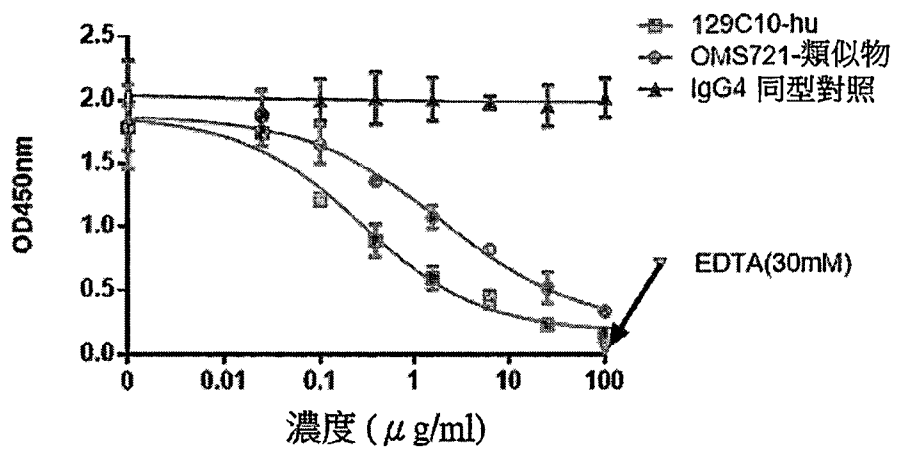


【圖4】



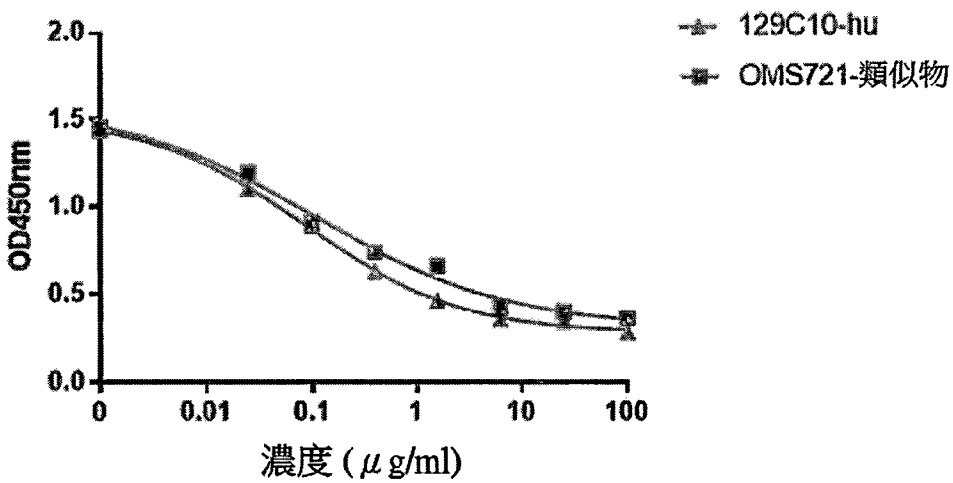
	129C10-hu	OMS721-類似物
IC50	0.1050	1.703

【圖5】



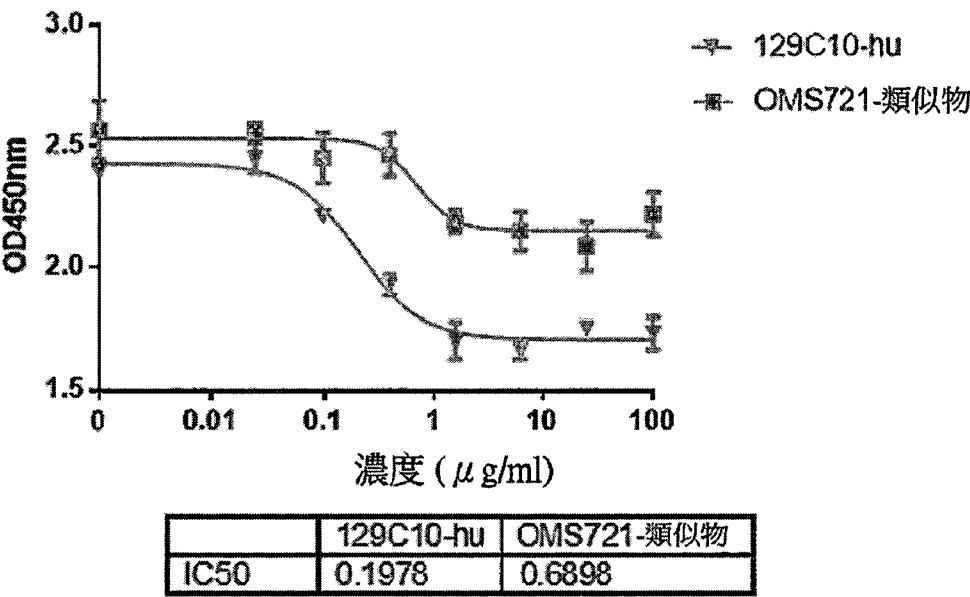
	129C10-hu	OMS721-類似物
IC50	0.2703	1.965

【圖6】

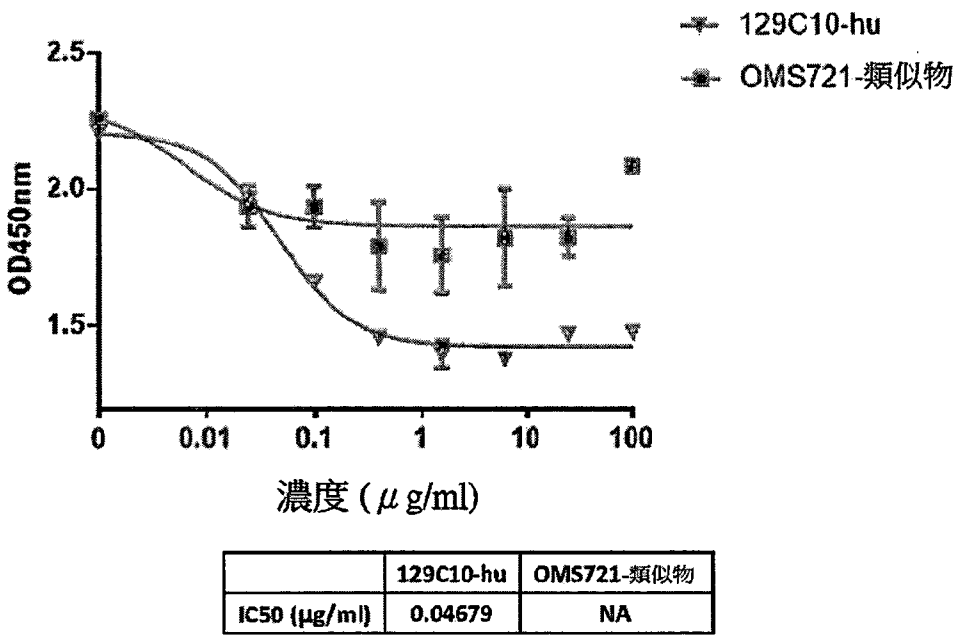


	129C10-hu	OMS721-類似物
IC50	0.08241	0.09946

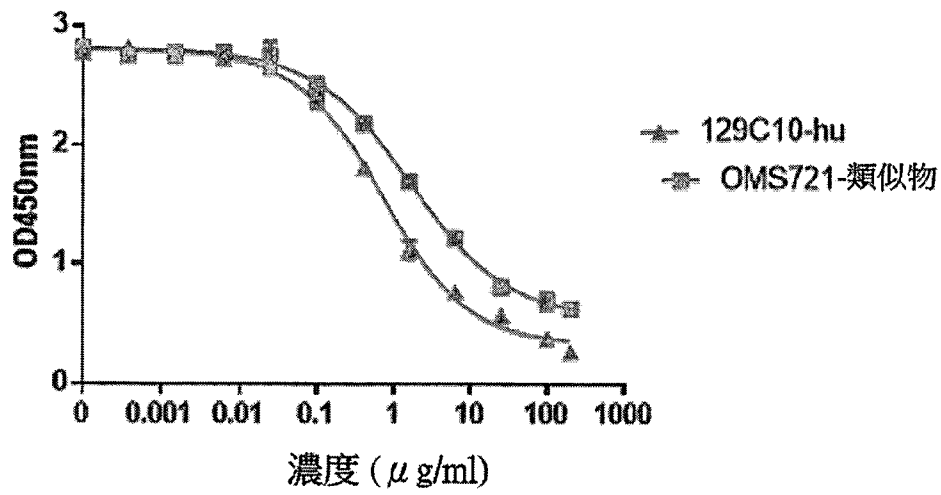
【圖7】



【圖8】

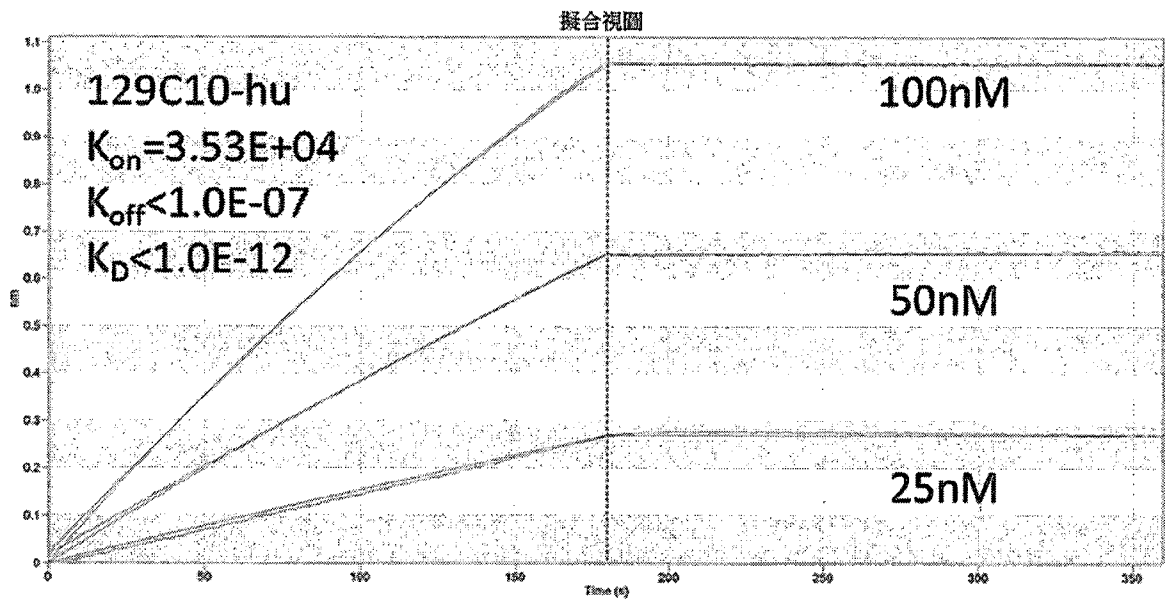


【圖9】

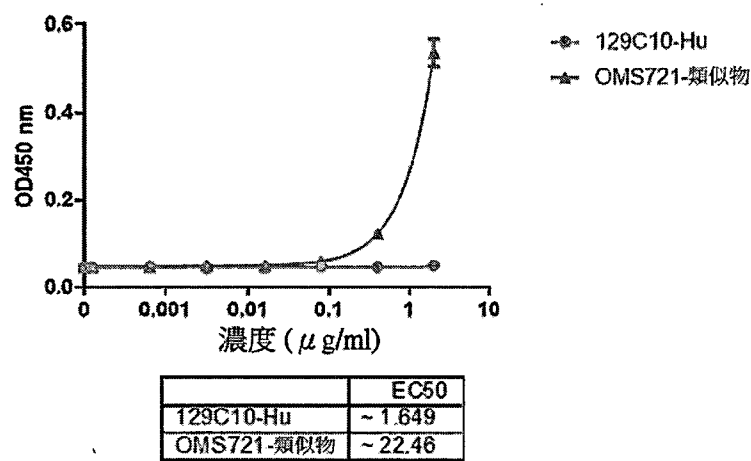


	129C10-hu	OMS721-類似物
IC50	0.6851	1.588

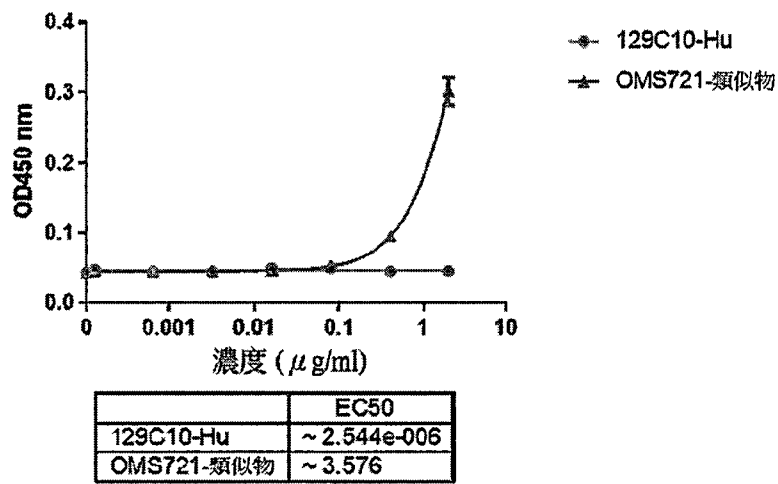
【圖10】



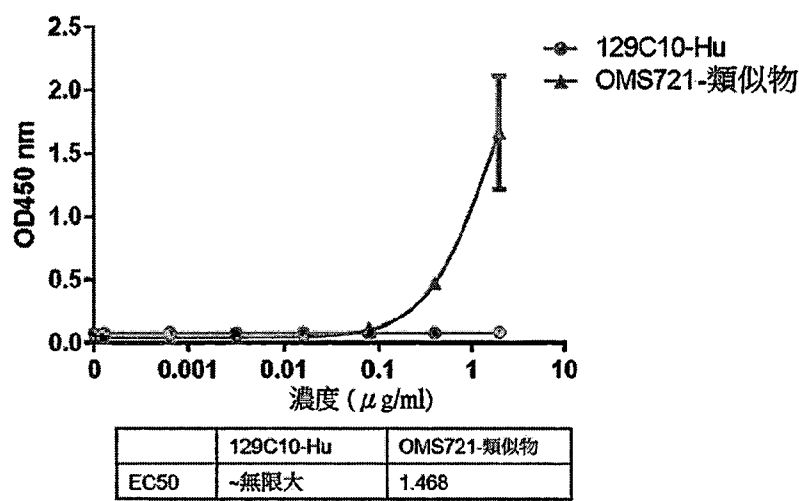
【圖11】



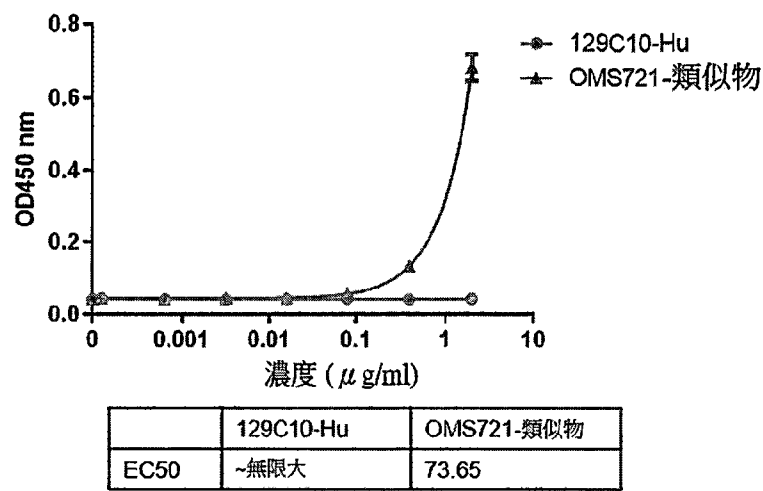
【圖12A】



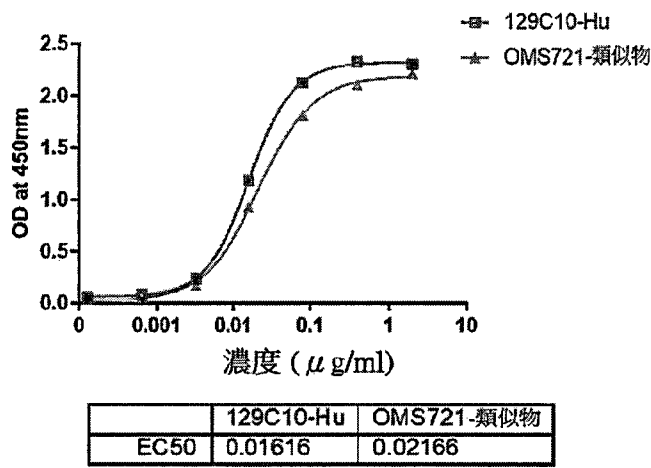
【圖12B】



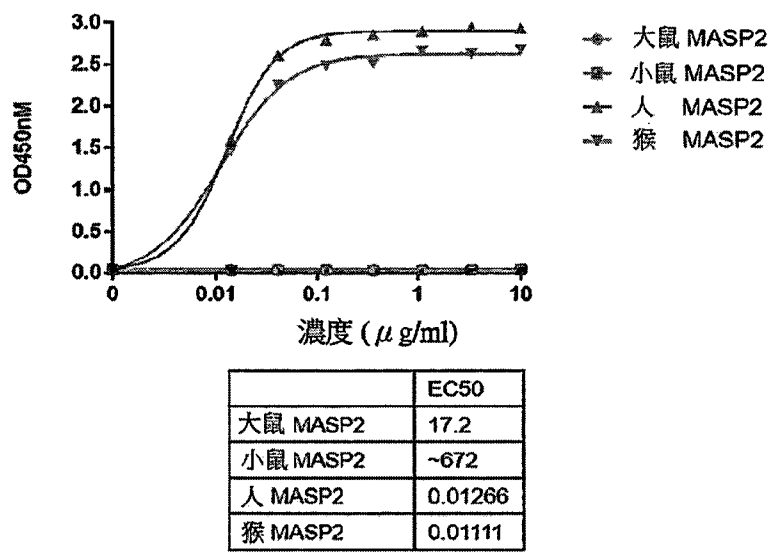
【圖12C】



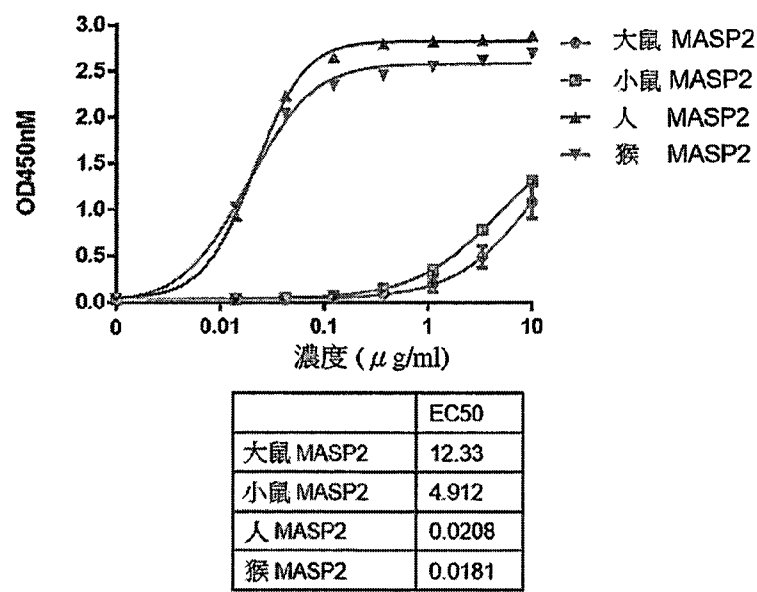
【圖12D】



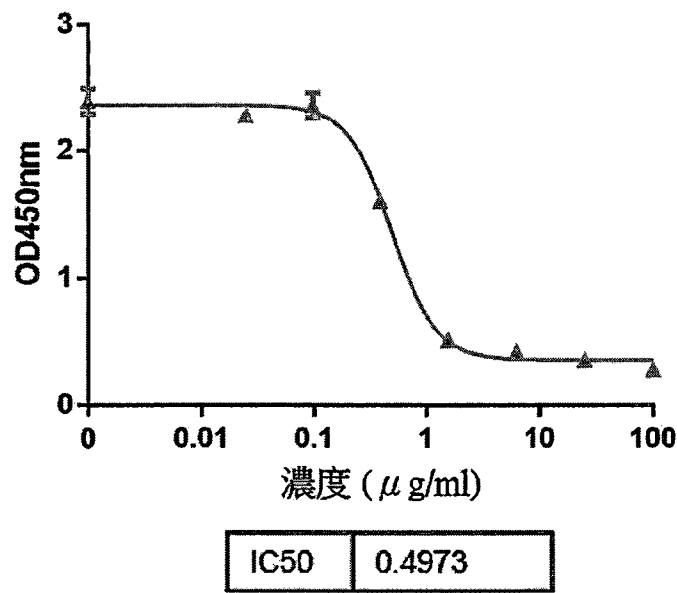
【圖12E】



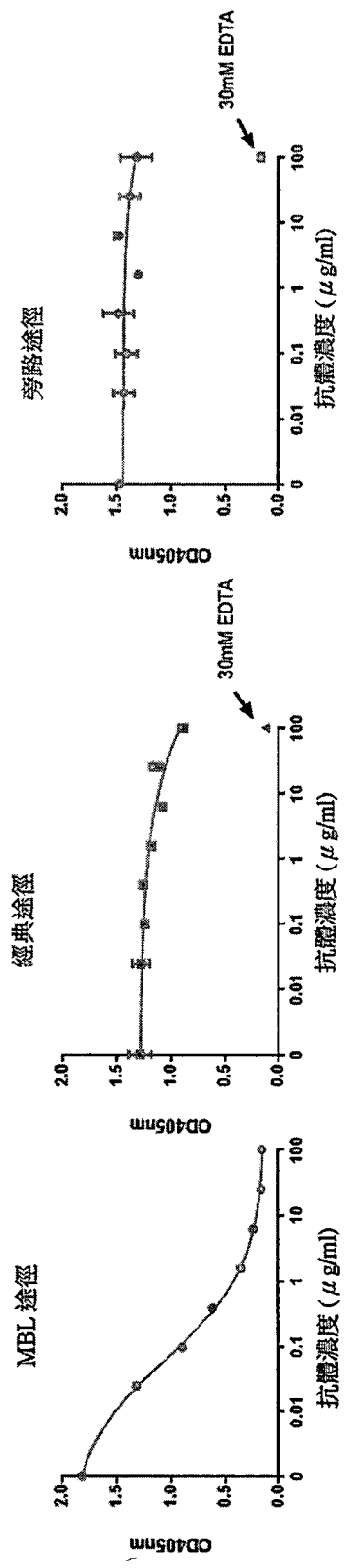
【圖13A】



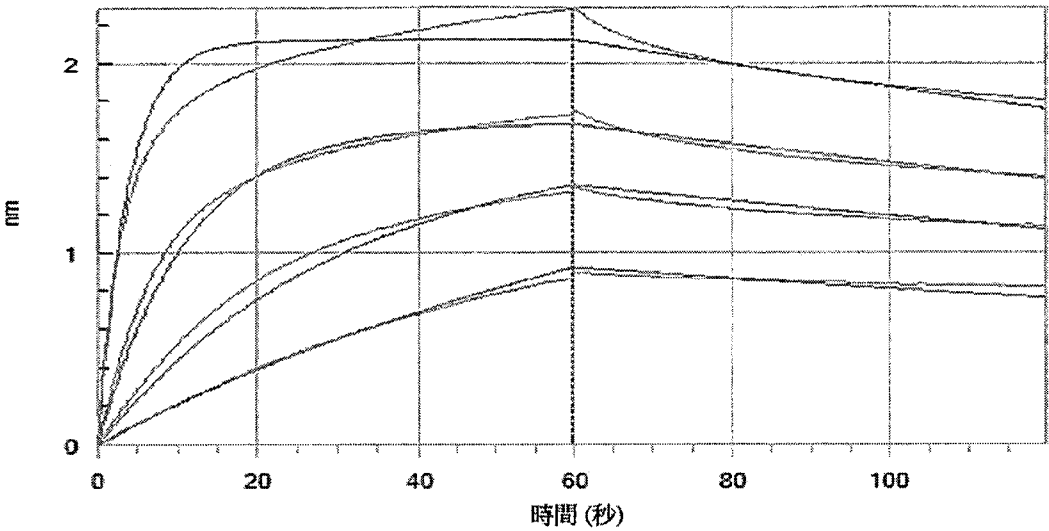
【圖13B】



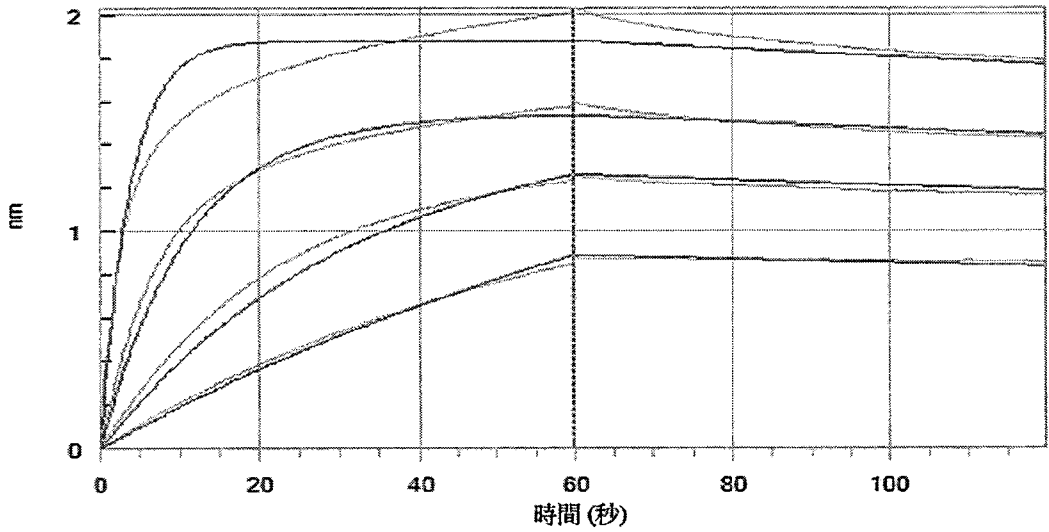
【圖14】



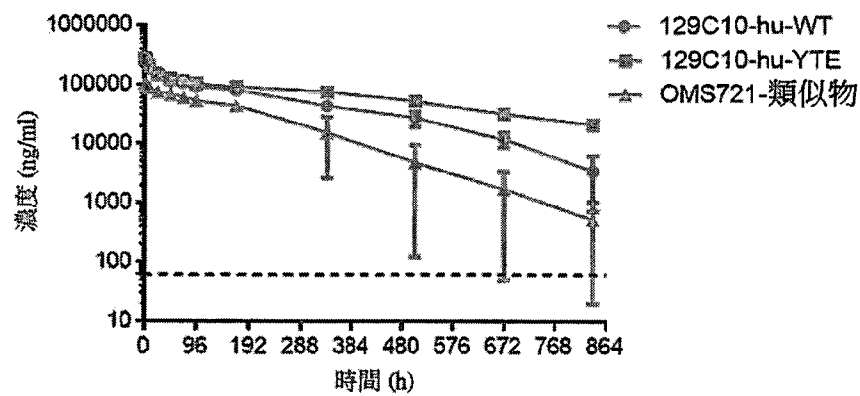
【圖15】



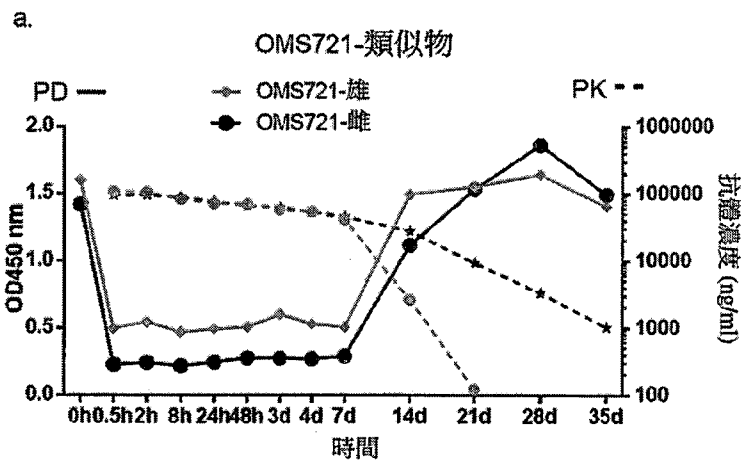
【圖16A】



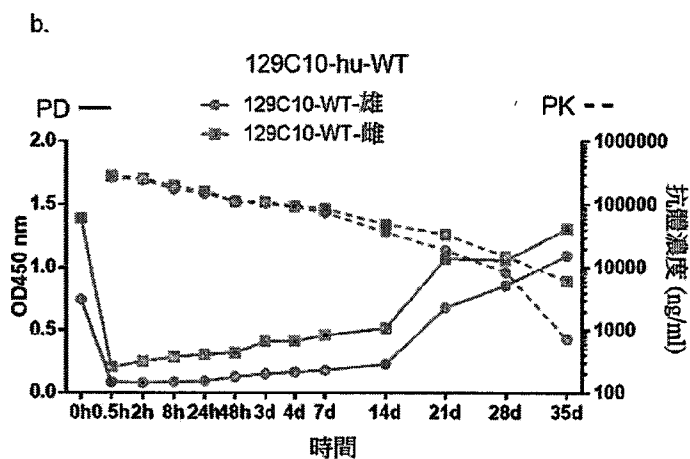
【圖16B】



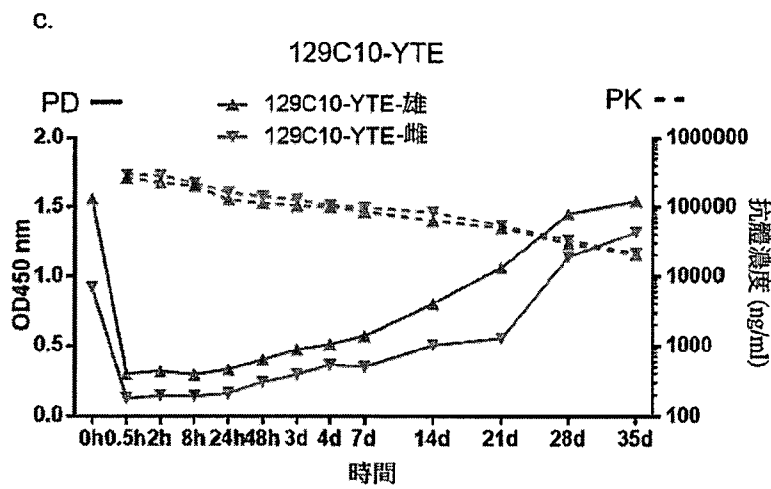
【圖17】



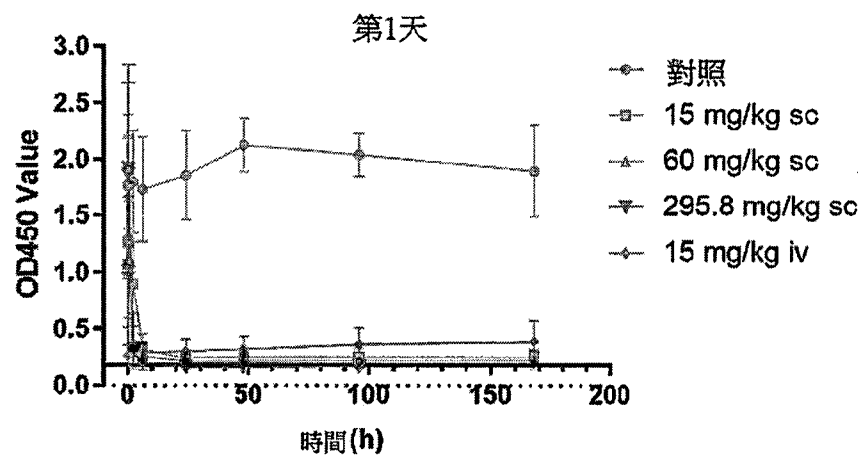
【圖18A】



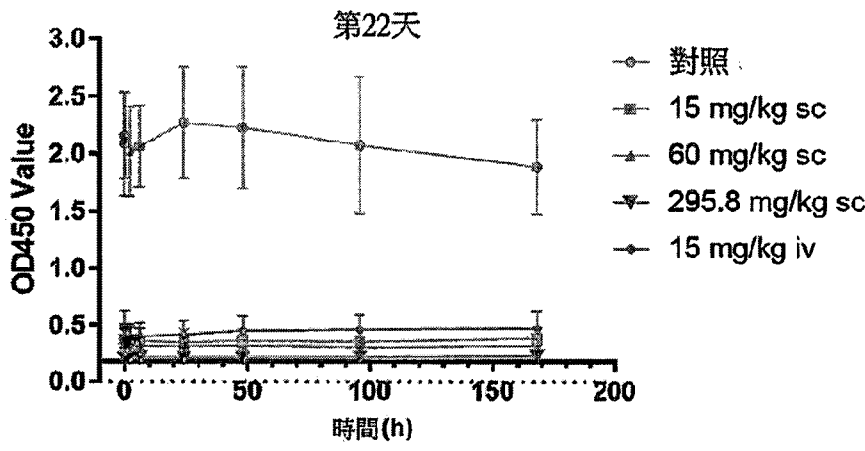
【圖18B】



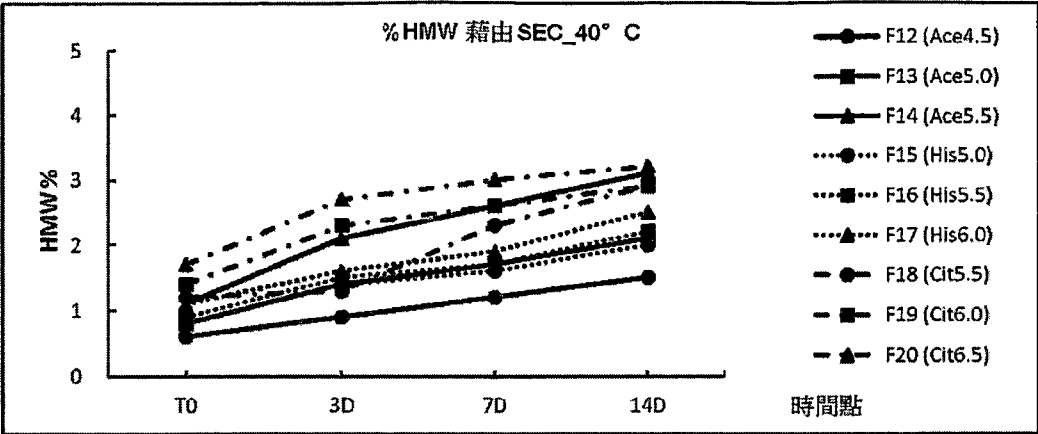
【圖18C】



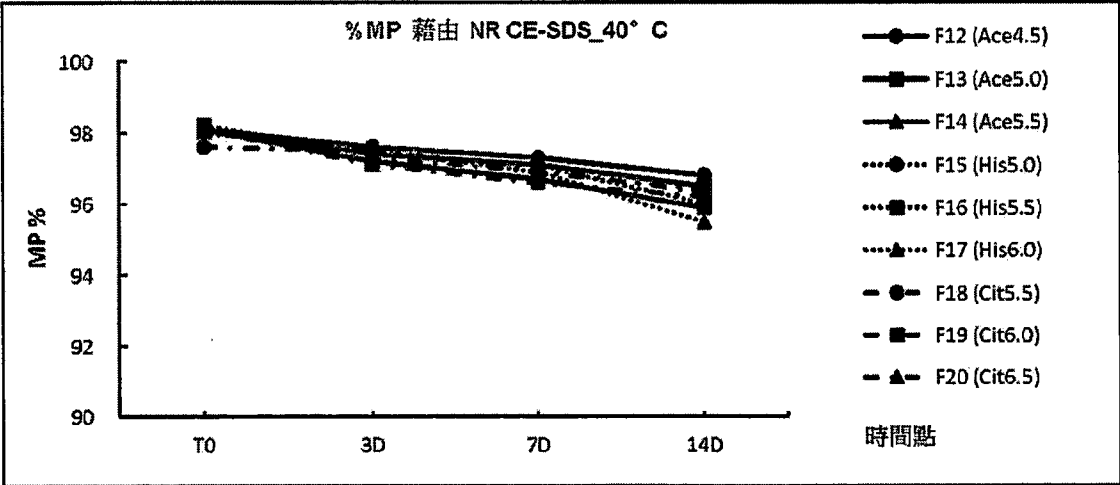
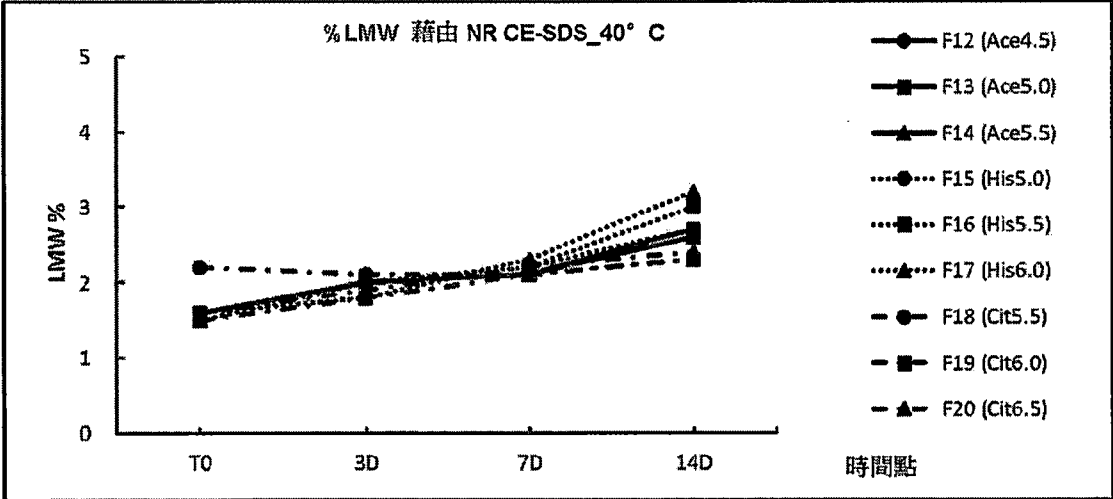
【圖19】



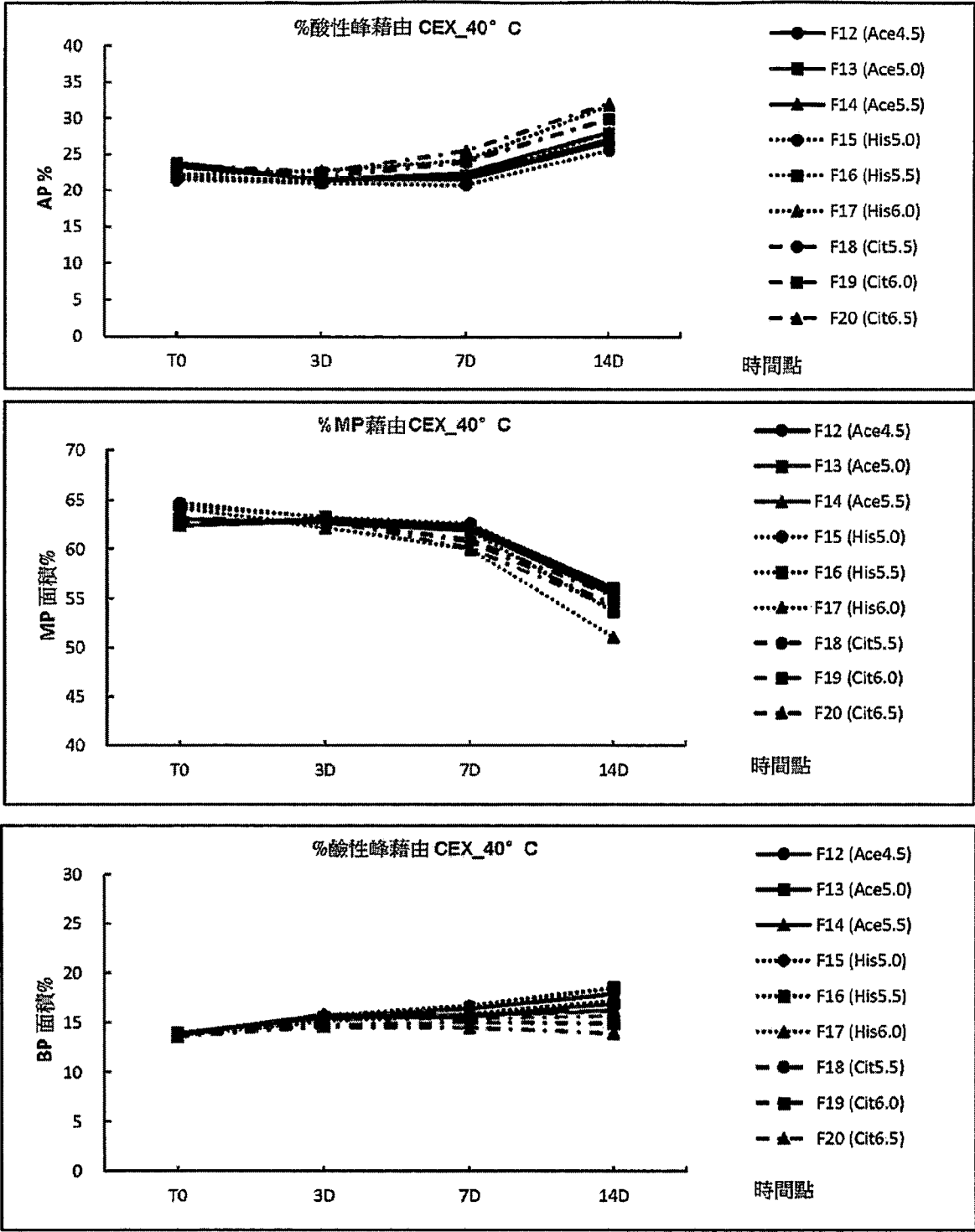
【圖20】



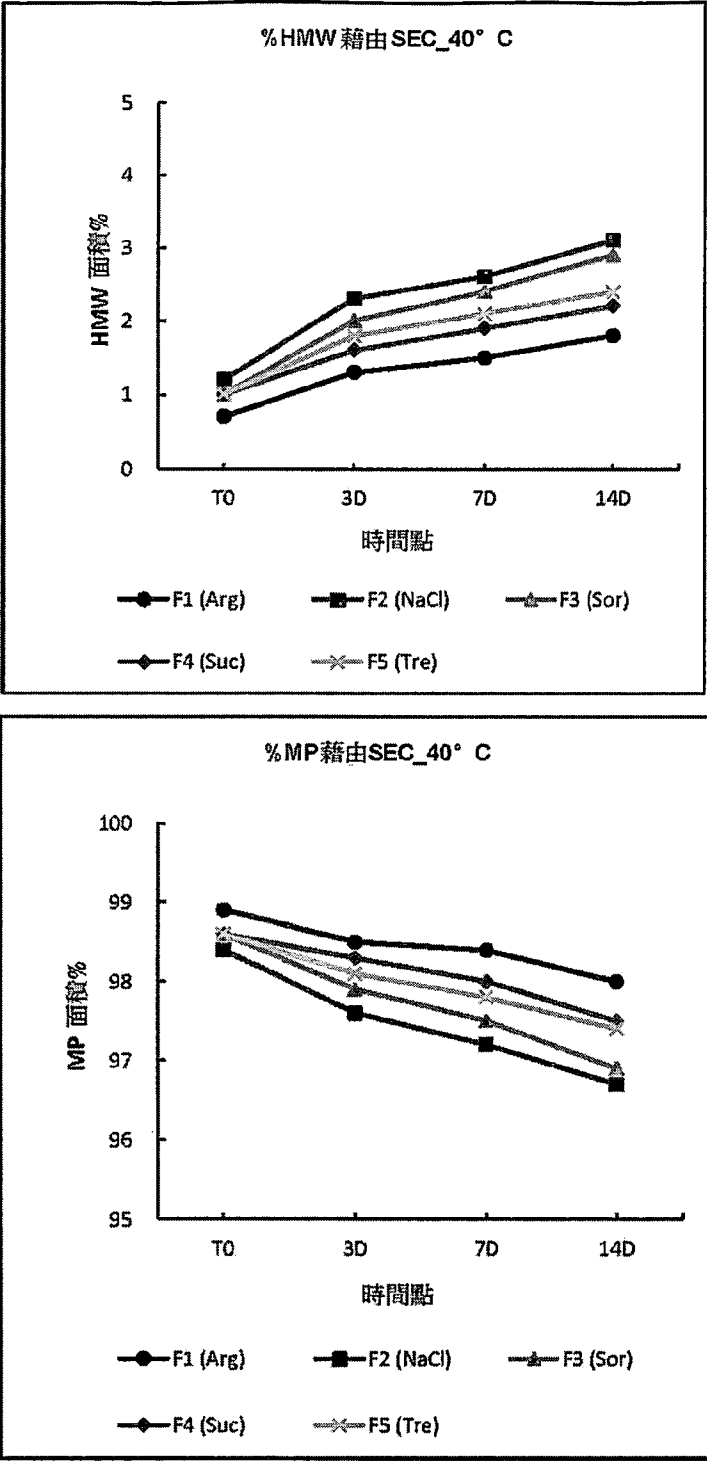
【圖21】



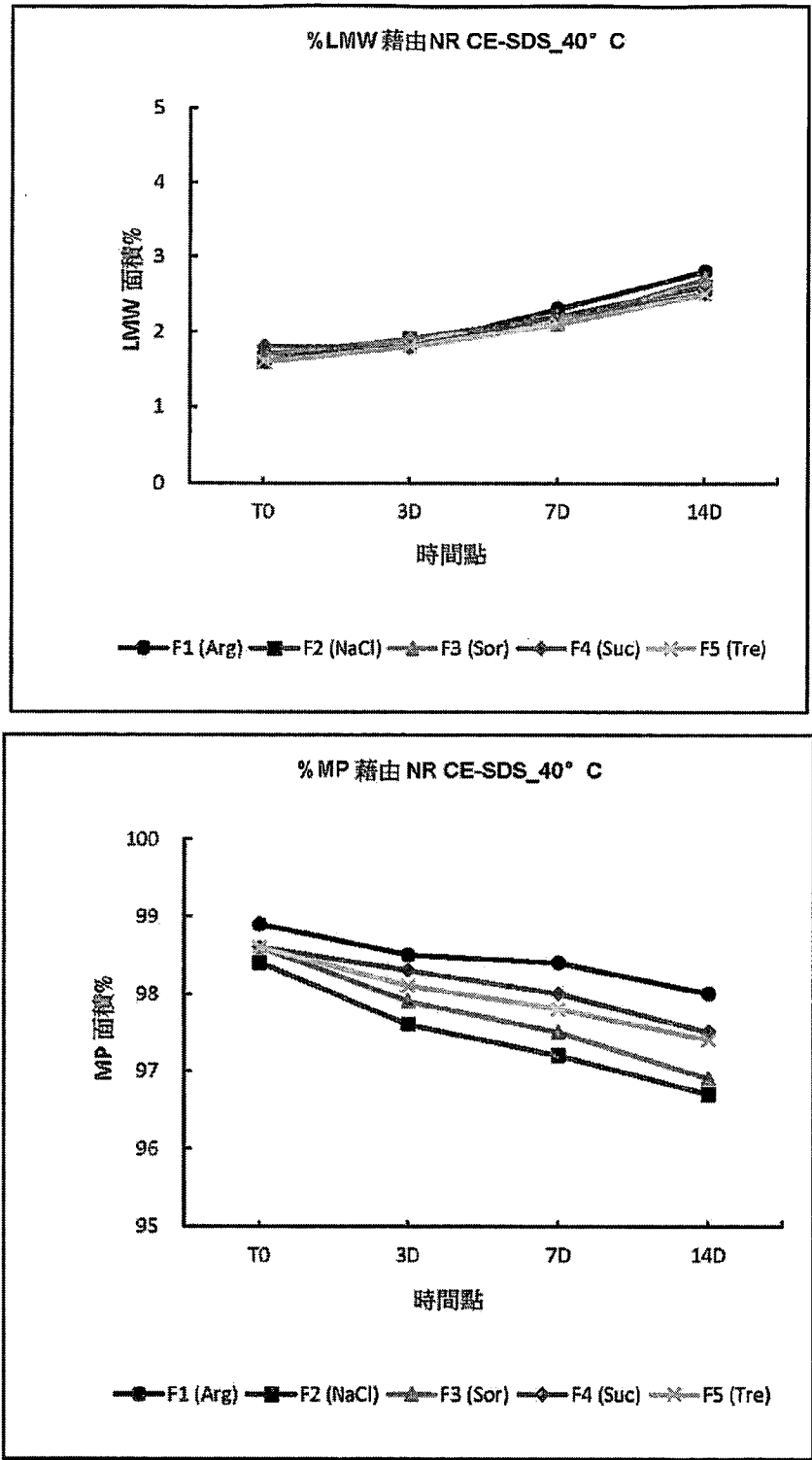
【圖22】



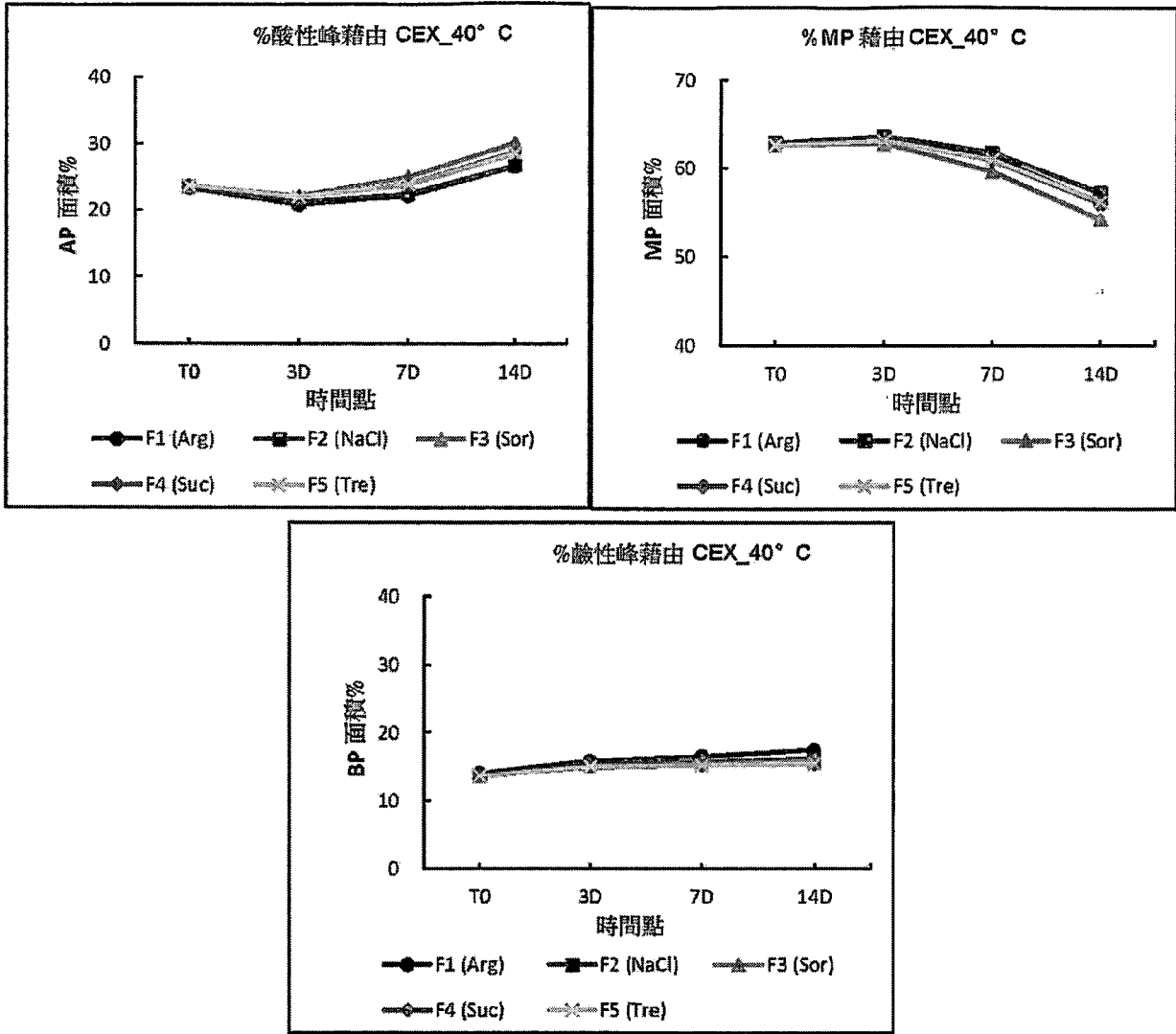
【圖23】



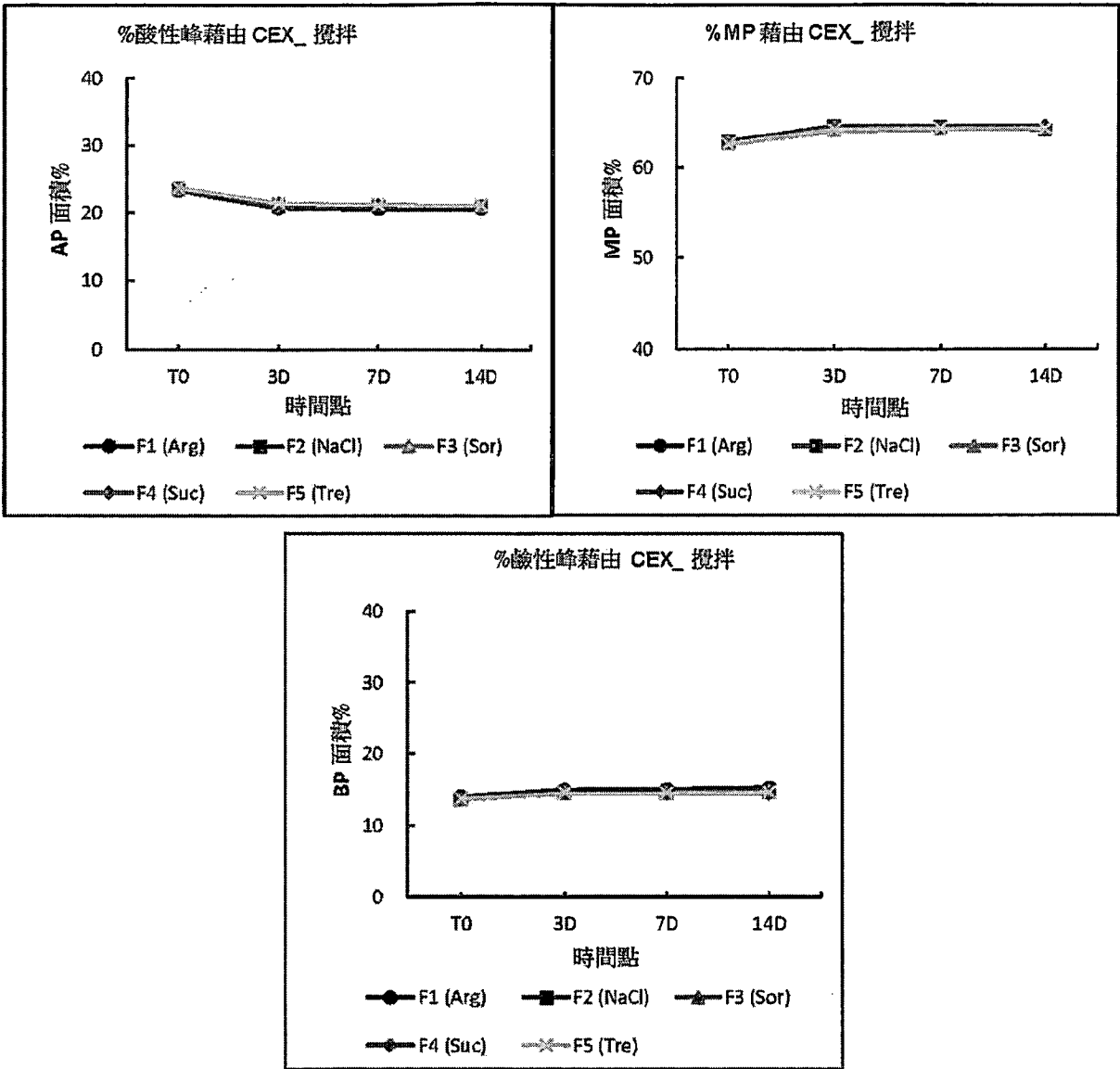
【圖24】



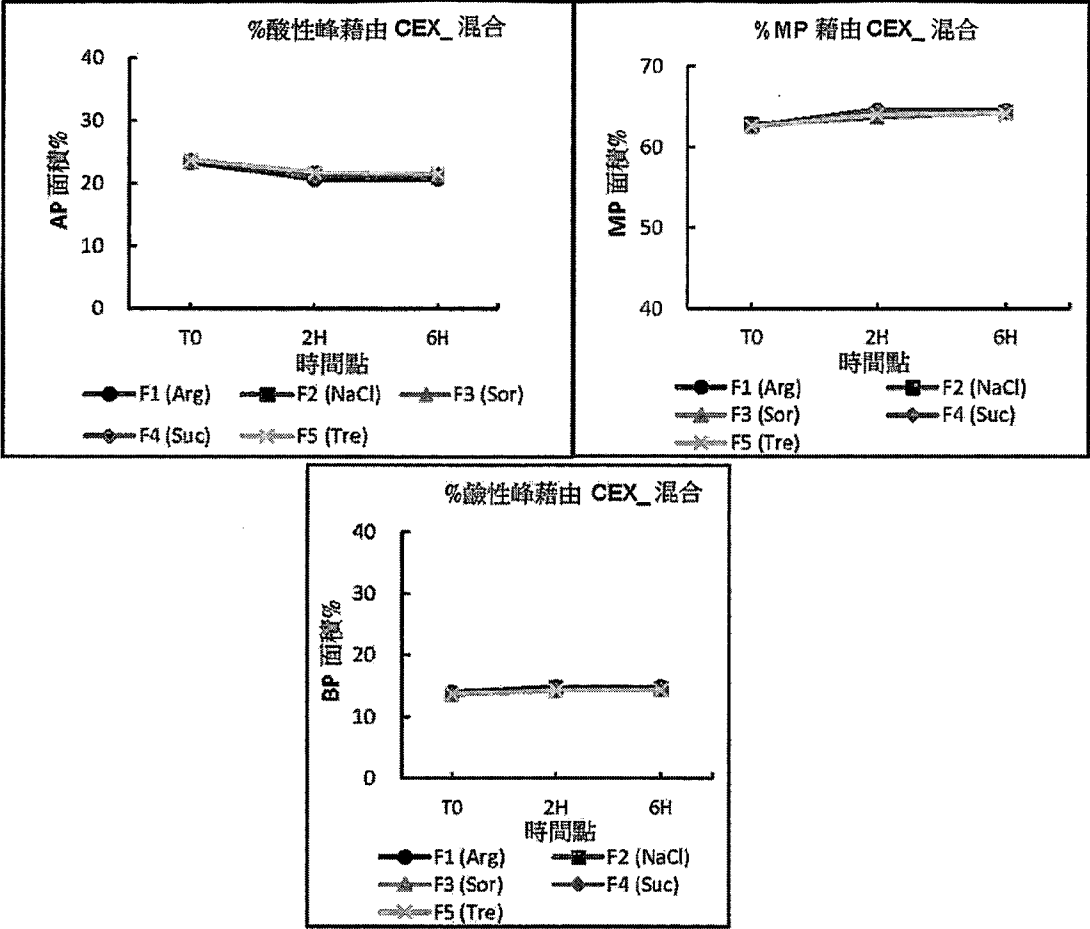
【圖25】



【圖26】

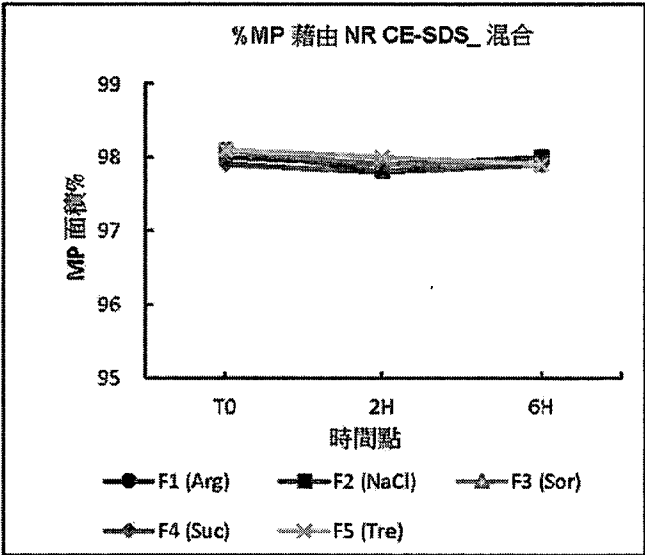
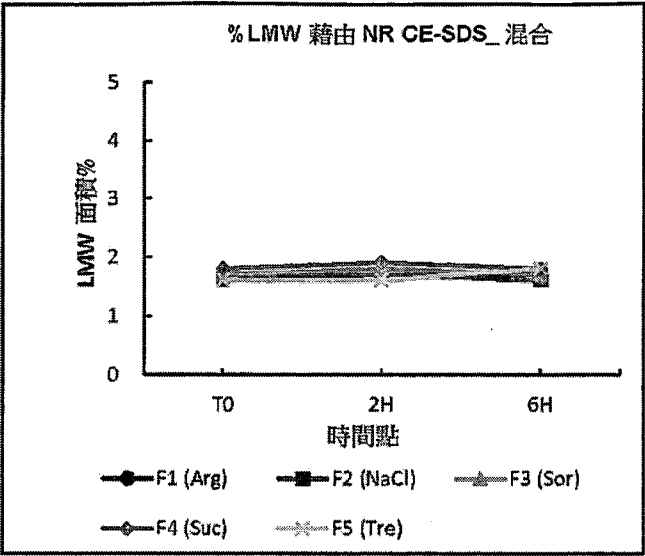


【圖27】



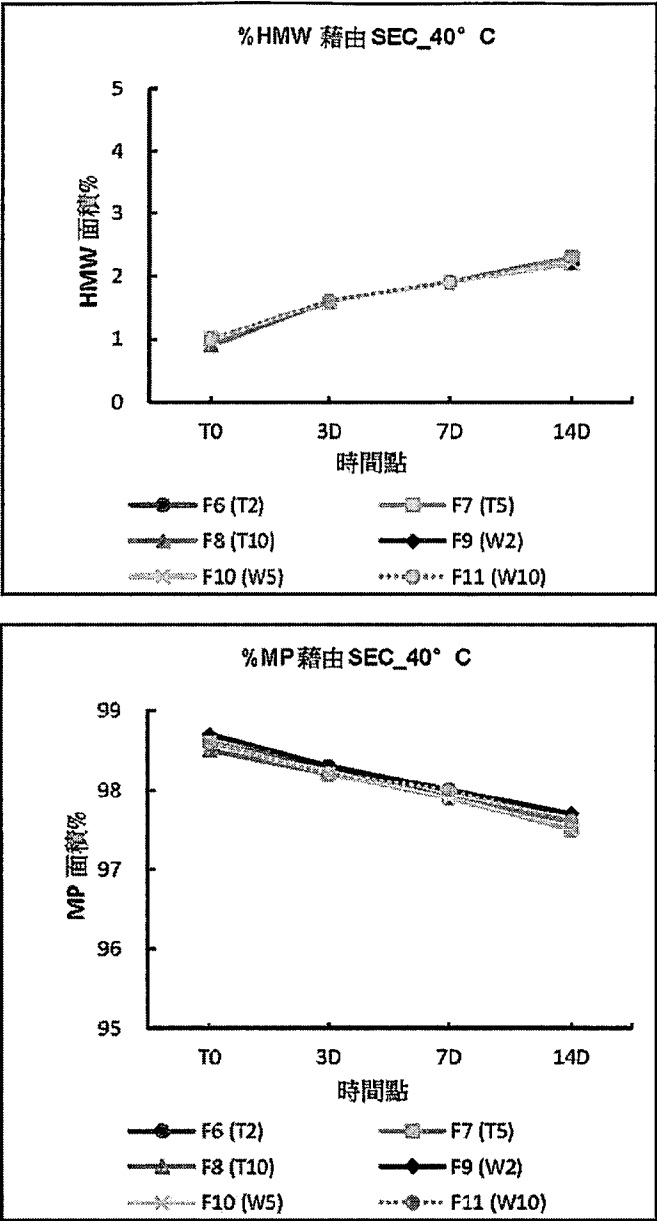
CEX 結果_攪拌實驗

【圖28】



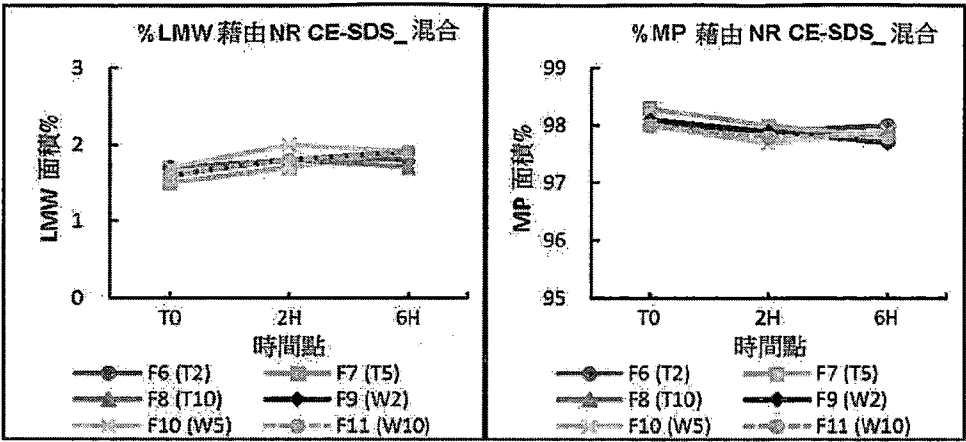
NR CE-SDS_攪拌實驗

【圖29】



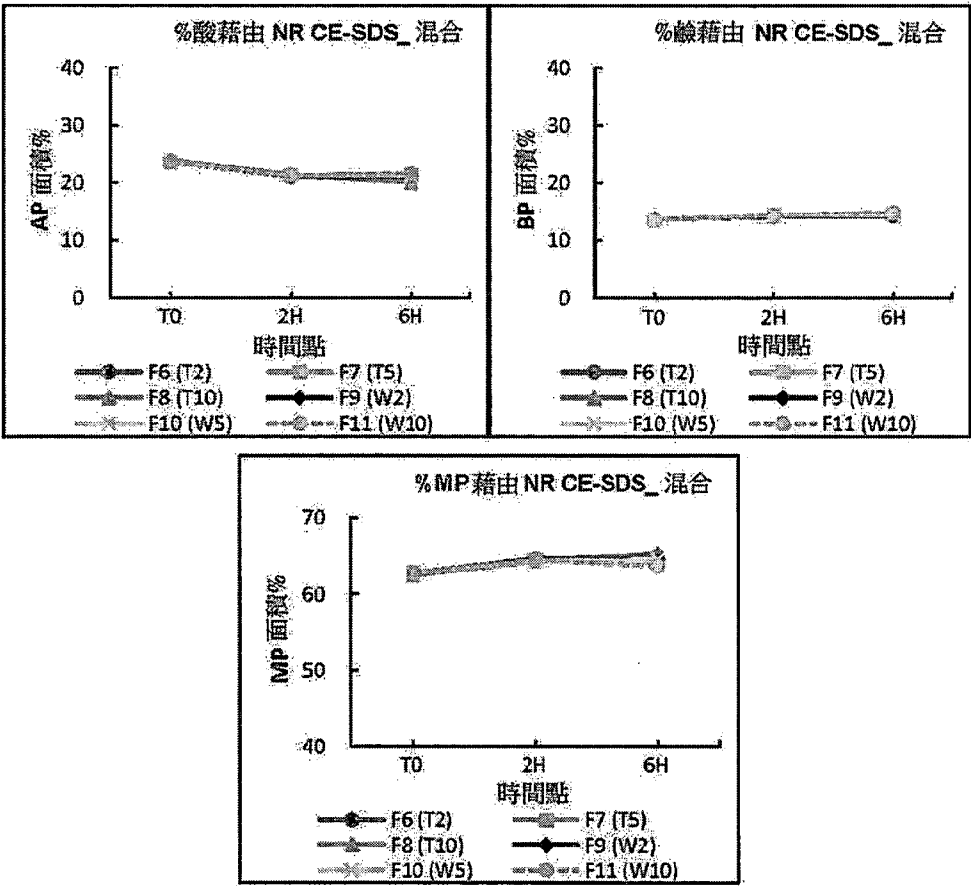
表面活性劑篩選實驗的 SEC_高溫實驗

【圖30】



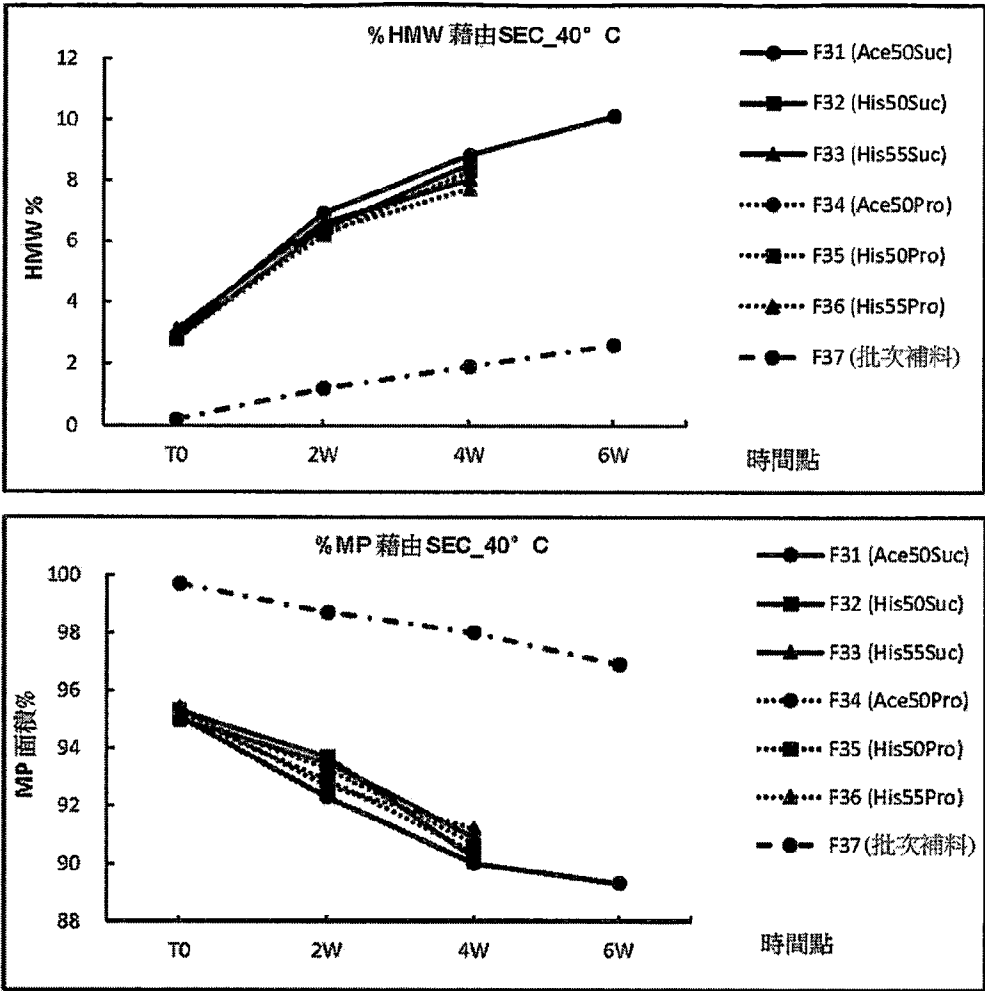
NR CE-SDS 結果_攪拌實驗

【圖31】



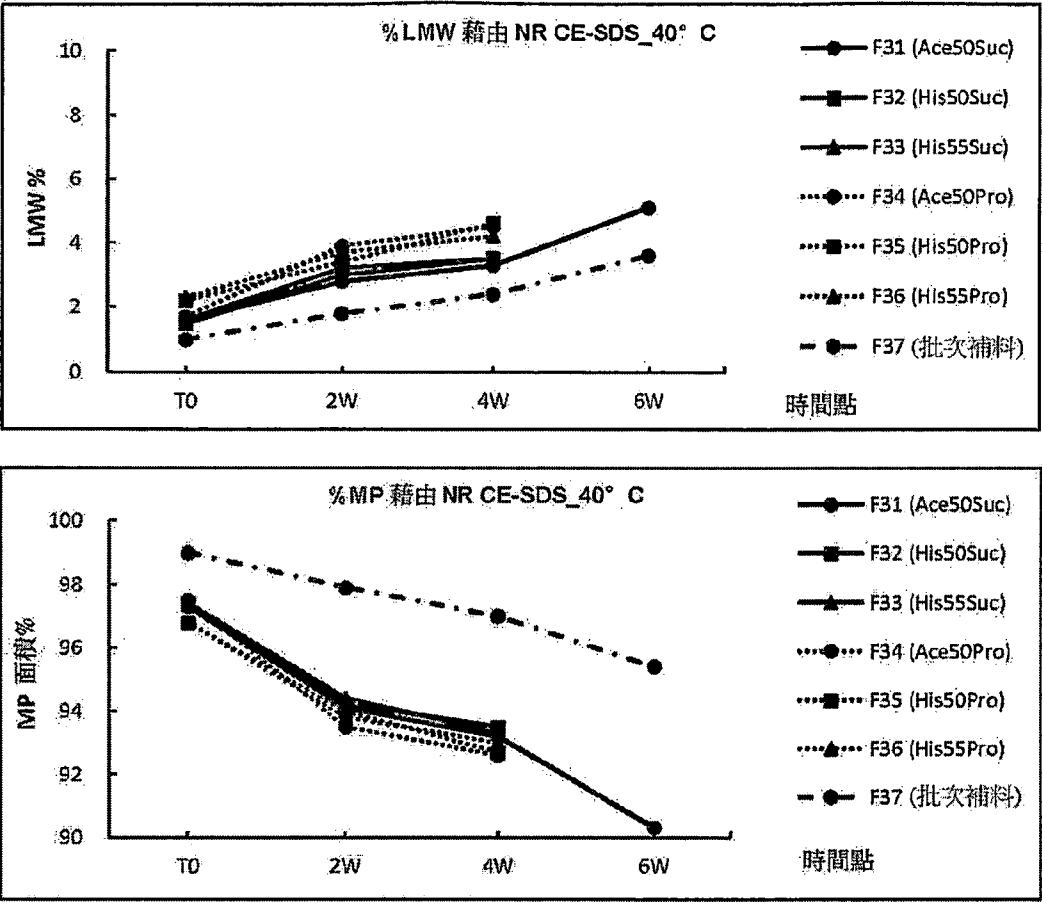
CEX 結果_攪拌實驗

【圖32】



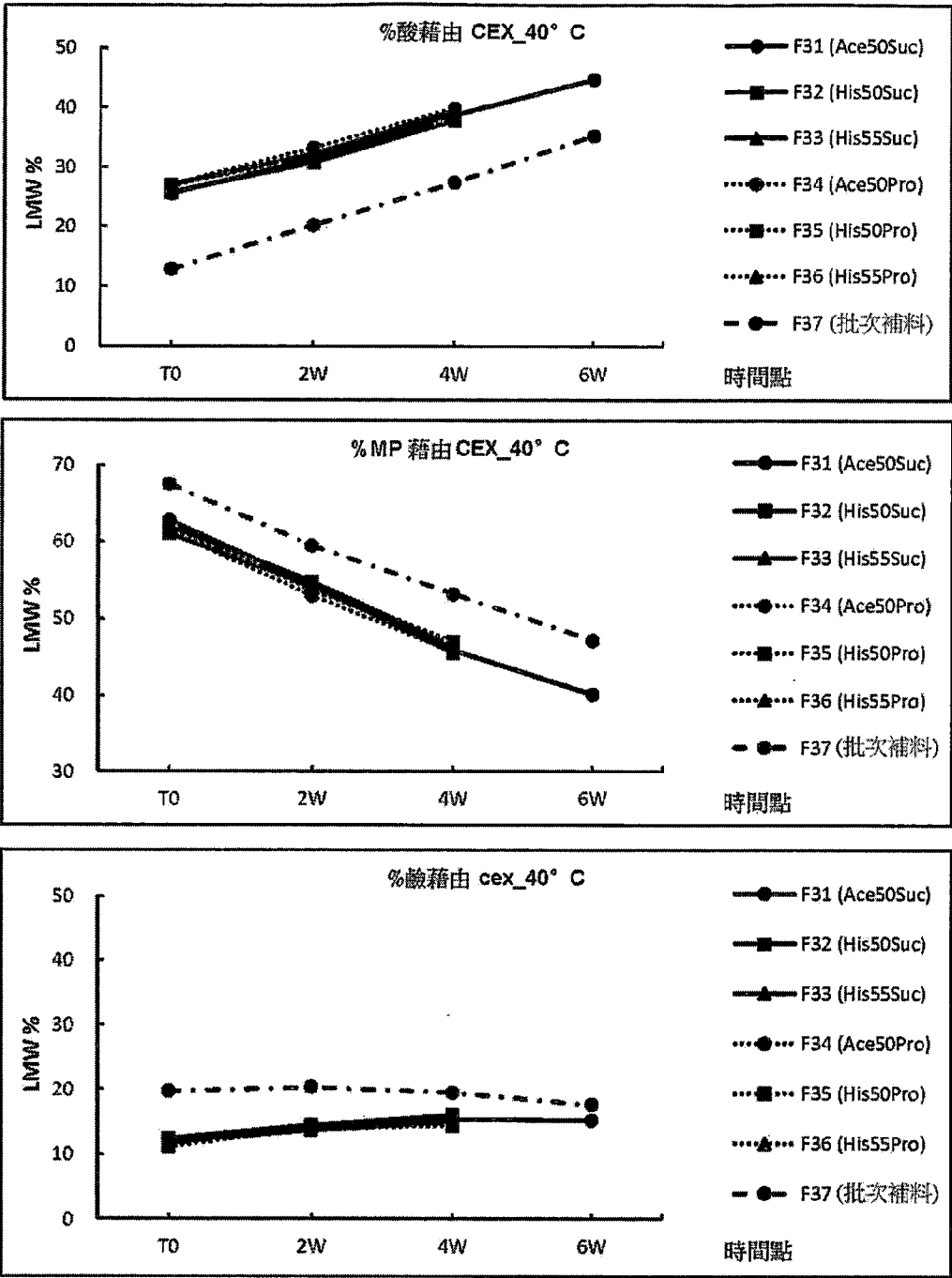
SEC 結果_高溫實驗

【圖33】



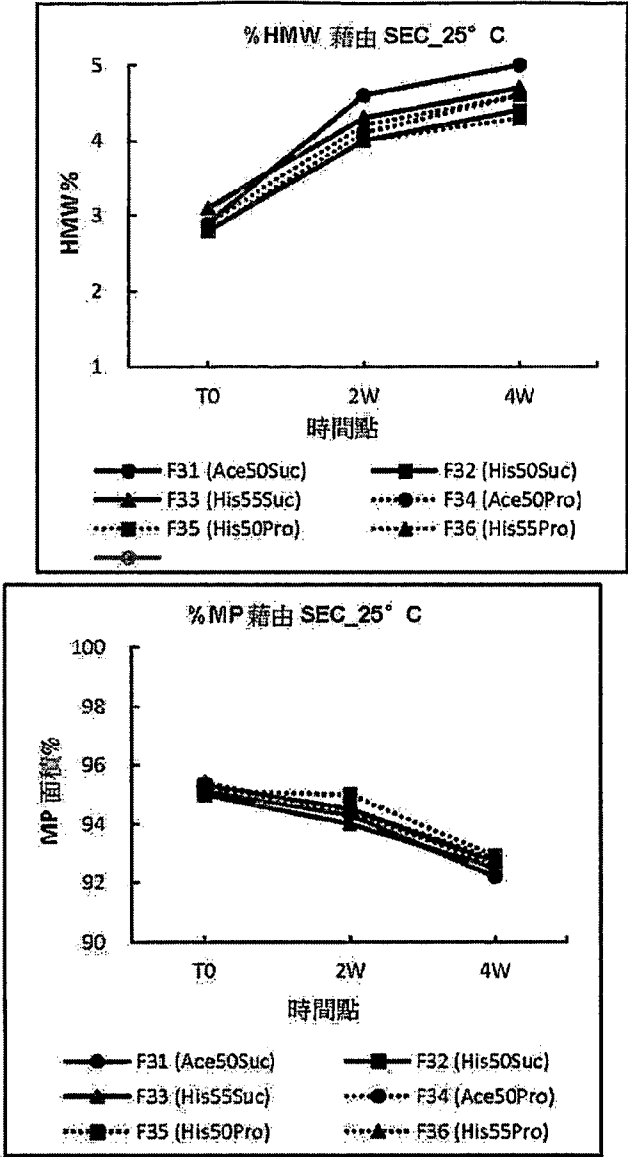
NR CE-SDS 結果_高溫實驗

【圖34】



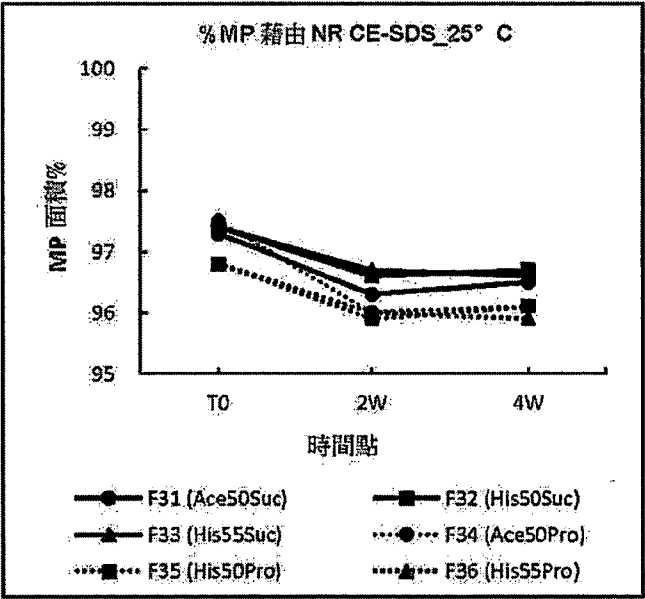
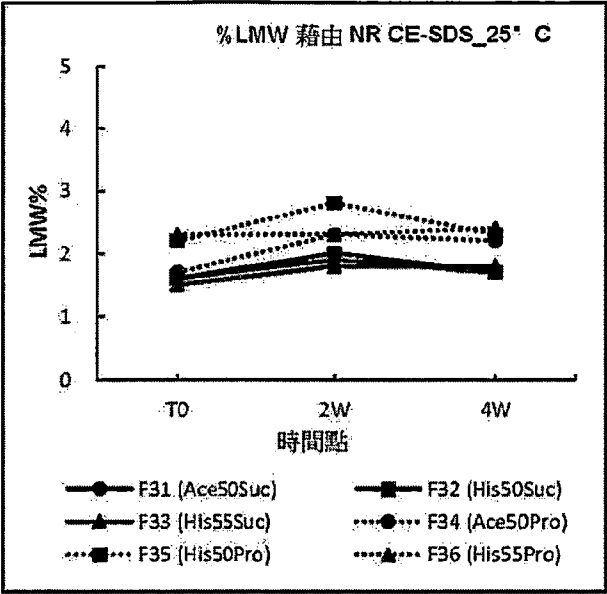
CEX 結果_高溫實驗

【圖35】



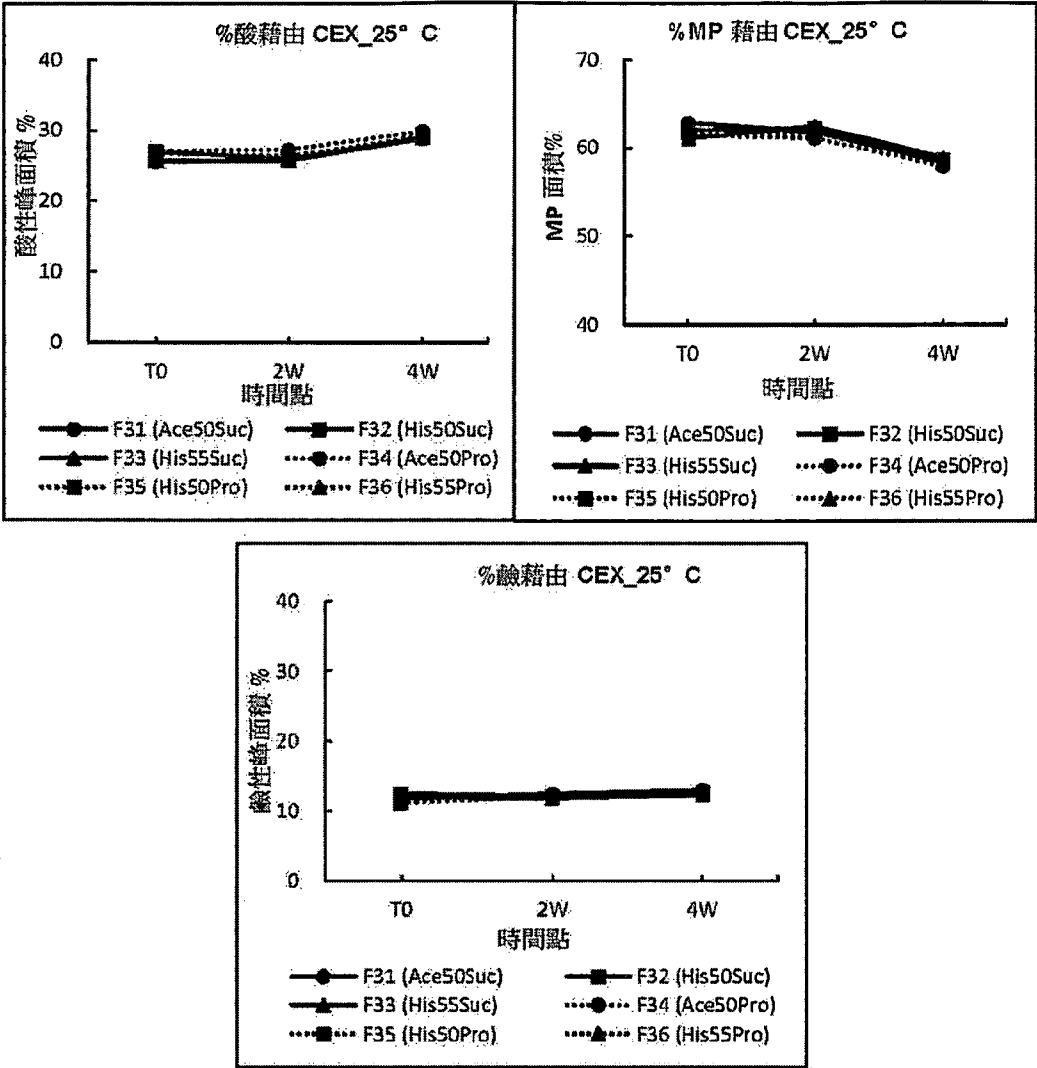
SEC 結果_25°C 實驗

【圖36】



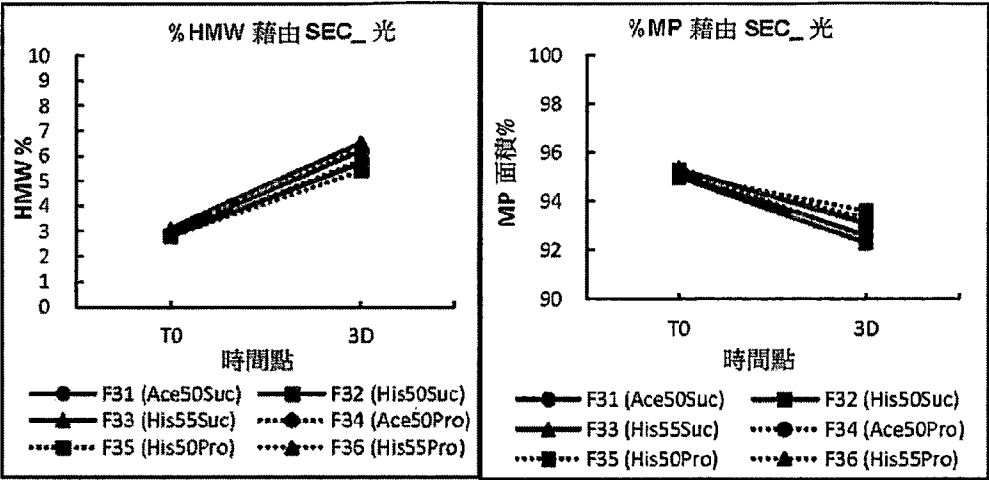
NR CE-SDS 結果_25°C 實驗

【圖37】



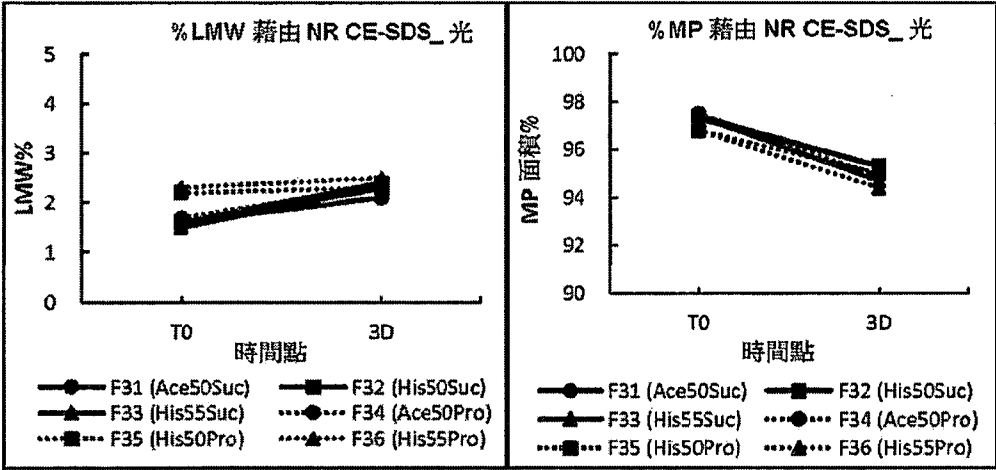
CEX 結果_25°C 實驗

【圖38】



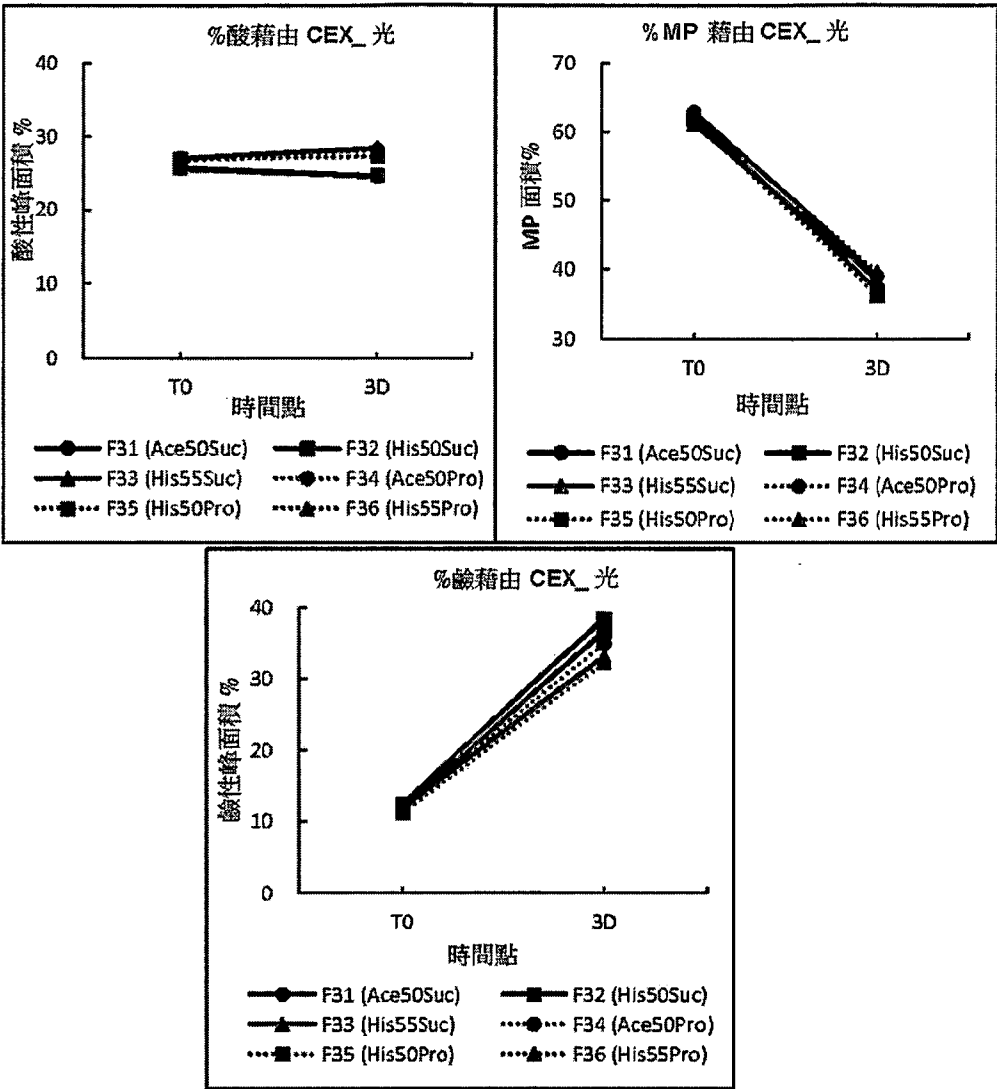
SEC 結果_光照實驗

【圖39】



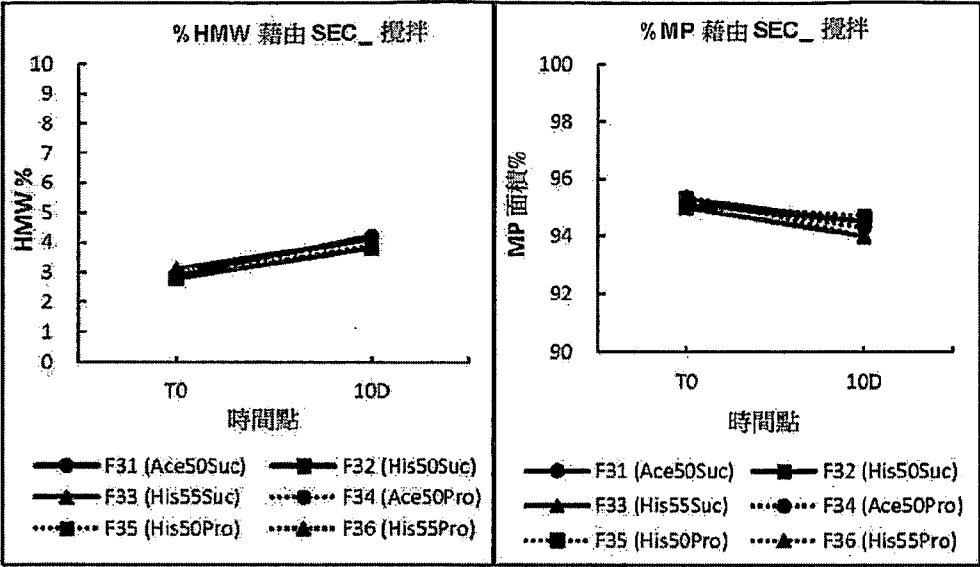
NR CE-SDS 結果_光照實驗

【圖40】



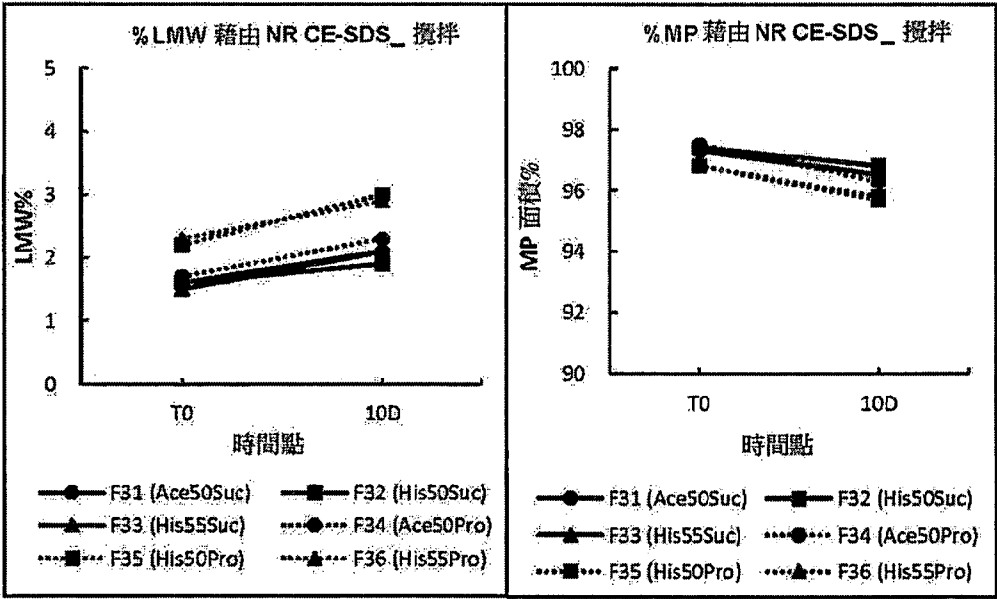
CEX 結果_光照實驗

【圖41】



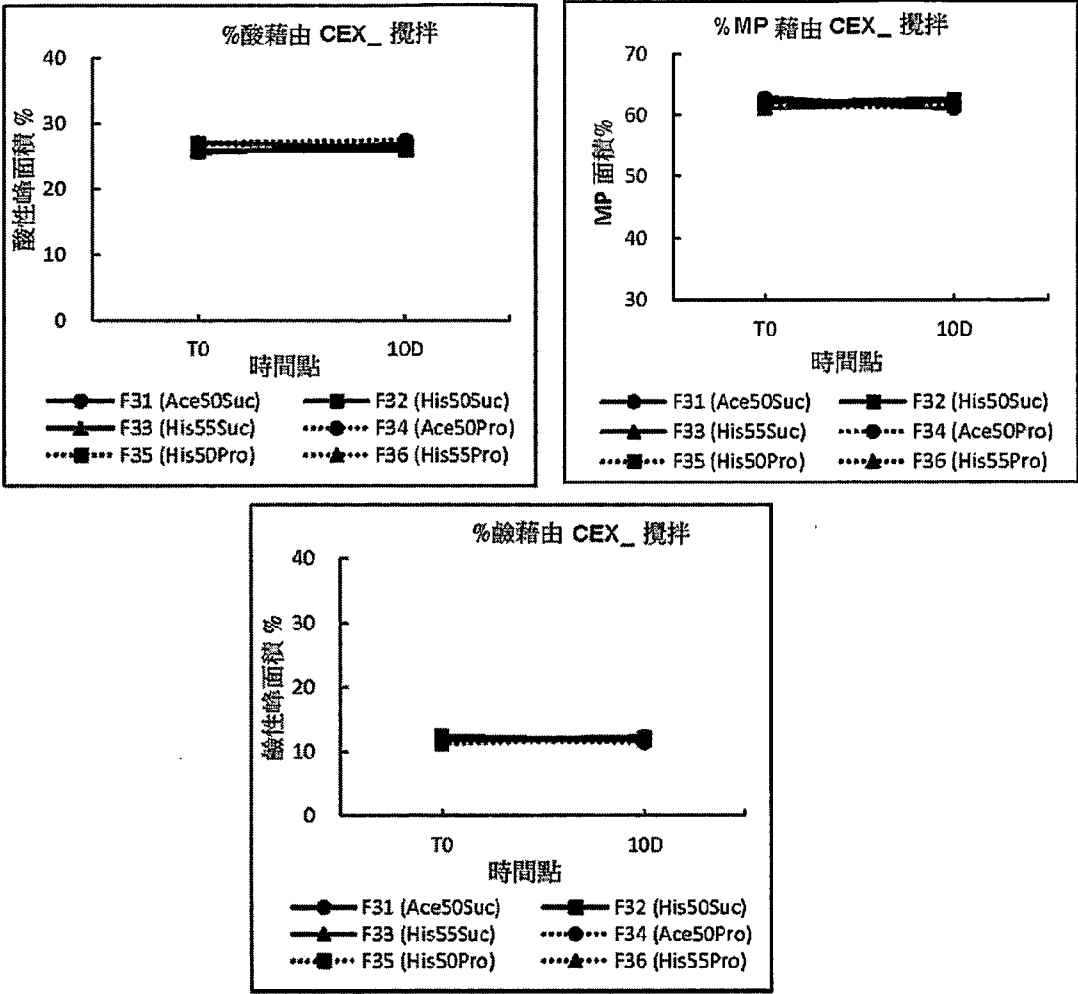
SEC 結果_振搖實驗

【圖42】



NR CE-SDS 結果_振搖實驗

【圖43】



CEX 結果_振搖實驗

【圖44】