(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0088446
(43) 공개일자 2022년06월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/10 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 31/16 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/1018 (2013.01)
A61P 31/16 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2022-7016672
(22) 출원일자(국제) 2020년10월28일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년05월18일
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/057635
(87) 국제공개번호 WO 2021/086899
국제공개일자 2021년05월06일
(30) 우선권주장
62/926,914 2019년10월28일 미국(US)
63/094,170 2020년10월20일 미국(US)

(71) 출원인
리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드
미합중국 뉴욕주 10591 타리타운 올드 소우 밀 리버 로드 777
(72) 발명자
바움 알리나
미국 뉴욕 10591 테리타운 올드 소우 밀 리버 로드 777 리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드 내
키랏수스 크리스토스
미국 뉴욕 10591 테리타운 올드 소우 밀 리버 로드 777 리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드 내
(74) 대리인
특허법인와이에스장

전체 청구항 수 : 총 64 항

(54) 발명의 명칭 **항-헤마글루티닌 항체 및 이의 사용 방법**

(57) 요 약

인플루엔자 헤마글루티닌(HA) 단백질에 결합하는 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 항체를 포함하는 약학적 조성물 및 사용 방법이 본원에 제공된다. 상기 항체는 인플루엔자 B 바이러스 활성을 억제하거나 중화하는 데 유용하므로, 인간에서 인플루엔자 감염증을 치료하거나 예방하는 수단을 제공한다. 또한, 바이러스가 숙주 세포에 부착되고/되거나 숙주 세포 내로 진입하는 것을 방지하기 위한 상기 인플루엔자 B HA에 결합하는 하나 이상의 항체의 용도가 제공된다. 항체는 예방적으로 또는 치료적으로 사용될 수 있고, 단독으로 사용되거나 하나 이상의 다른 항바이러스제 또는 백신과 조합하여 사용될 수 있다.

(52) CPC특허분류
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/21 (2013.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

인플루엔자 B 헤마글루티닌(HA)에 특이적으로 결합하는 단리된 재조합 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 상기 항체는 다음의 특징 중 하나 이상을 갖는, 단리된 항체 재조합 항체 또는 이의 항원 결합 단편:

(a) 약 10^{-9} M 미만의 EC_{50}으로 인플루엔자 B HA에 결합함;

(b) 투여하지 않은 비교 가능한 인플루엔자 B-감염 동물과 비교하여, 인플루엔자 B-감염 동물에게 투여한 후 상기 인플루엔자 B-감염 동물에서 생존율 증가를 입증함; 및/또는

(c) (i) 서열번호 2에 제시된 HCVR에 대해 적어도 약 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR)(HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3); 및 (ii) 서열번호 10에 제시된 LCVR에 대해 적어도 약 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 함유된 3개의 경쇄 CDR(LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3)을 포함함.

청구항 2

제1항에 있어서, 포유동물의 체중에 대해 약 5 mg/kg, 또는 0.5 mg/kg의 단일 정맥내 투여량으로 상기 포유동물에게 예방적으로 투여될 때, 인플루엔자 B 바이러스에 대한 후속 노출에 의한 감염으로부터 상기 포유동물을 보호하는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 인플루엔자 B 바이러스에 노출되기 전 포유동물에게 예방적으로 투여될 때, 상기 포유동물에서 인플루엔자 감염의 위험을 감소시키는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 포유동물에게 투여될 때, 상기 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 상기 포유동물에서 인플루엔자 감염의 적어도 하나의 증상의 중증도, 지속 시간 또는 발생 빈도를 개선하거나, 완화시키거나, 감소시키는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 5

제4항에 있어서, 적어도 하나의 증상은 두통, 발열, 통증, 콧물(코막힘), 오한, 피로, 무력감, 인후염, 기침, 호흡 곤란, 구토, 설사, 폐렴, 기관지염 및 사망으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 약 0.5 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 상기 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 적어도 약 80%의 생존율을 갖는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 약 0.5 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 상기 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 적어도 약 90%의 생존율을 갖는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 약 0.5 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 상기 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 약 100%의 생존율을 갖는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 9

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 약 5.0 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 상기 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 약 80%의 생존율을 갖는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 10

제1항 내지 제5항 및 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 약 5.0 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 상기 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 약 90%의 생존율을 갖는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 11

제1항 내지 제5항, 제9항, 및 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 약 5.0 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 상기 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 약 100%의 생존율을 갖는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 12

제6항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 생존율은 투여 후 13일차에 명백해지는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 HCVR을 포함하는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 10의 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함하는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 15

단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서,

(a) 서열번호 4의 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 도메인;

(b) 서열번호 6의 아미노산 서열을 갖는 HCDR2 도메인;

(c) 서열번호 8의 아미노산 서열을 갖는 HCDR3 도메인;

(d) 서열번호 12의 아미노산 서열을 갖는 LCDR1 도메인;

(e) 서열번호 14의 아미노산 서열을 갖는 LCDR2 도메인; 및

(f) 서열번호 16의 아미노산 서열을 갖는 LCDR3 도메인을 포함하는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인플루엔자 B 헤마글루티닌(HA)에 특이적으로 결합하는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 17

제15항 또는 제16항에 있어서, 포유동물의 체중에 대해 약 5 mg/kg, 또는 0.5 mg/kg의 단일 정맥내 투여량으로 상기 포유동물에게 예방적으로 투여될 때, 인플루엔자 B 바이러스에 대한 후속 노출에 의한 감염으로부터 상기 포유동물을 보호하는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 18

제15항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 인플루엔자 B 바이러스에 노출되기 전 포유동물에게 예방적으로 투여될 때, 상기 포유동물에서 인플루엔자 감염의 위험을 감소시키는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 19

제15항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 포유동물에게 투여될 때, 상기 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 상기 포유동물에서 인플루엔자 감염의 적어도 하나의 증상의 중증도, 지속 시간 또는 발생 빈도를 개선하거나, 완화시키거나, 감소시키는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 20

제19항에 있어서, 적어도 하나의 증상은 두통, 발열, 통증, 콧물(코막힘), 오한, 피로, 무력감, 인후염, 기침, 호흡 곤란, 구토, 설사, 폐렴, 기관지염 및 사망으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 21

제14항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 약 0.5 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 상기 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 적어도 약 80%의 생존율을 갖는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 22

제14항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 약 0.5 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 상기 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 적어도 약 90%의 생존율을 갖는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 23

제14항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 약 0.5 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 상기 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 약 100%의 생존율을 갖는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 24

제14항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 약 5.0 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 상기 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 약 80%의 생존율을 갖는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 25

제14항 내지 제20항, 및 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 약 5.0 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 상기 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 약 90%의 생존율을 갖는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 26

제14항 내지 제20항, 제24항, 및 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 약 5.0 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수

의 포유동물 각각에 투여될 때, 상기 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 약 100%의 생존율을 갖는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 27

제21항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 생존율은 투여 후 13일차에 명백해지는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 28

제14항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 HCVR을 포함하는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 29

제14항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 10의 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함하는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 2/10의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, IgG1 항체인, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 32

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, IgG4 항체인, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 33

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 이중특이적 항체인, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 34

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항의 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 제2 치료제를 추가로 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 36

제35항에 있어서, 상기 제2 치료제는 항바이러스제, 항염증제, 인플루엔자 HA에 특이적으로 결합하는 상이한 항체, 인플루엔자용 백신, 식이보충제 및 인플루엔자 감염증을 치료하기 위한 다른 완화요법으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 약학적 조성물.

청구항 37

제36항에 있어서, 상기 항염증제는 코르티코스테로이드 및 비스테로이드성 항염증제로 이루어진 군으로부터 선택되는, 약학적 조성물.

청구항 38

제36항에 있어서, 상기 식이보충제는 항산화제인, 약학적 조성물.

청구항 39

제36항에 있어서, 상기 항바이러스제는 오셀타미비르인, 약학적 조성물.

청구항 40

제36항에 있어서, 상기 항바이러스제는 항-인플루엔자 A 약물인, 약학적 조성물.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 항-인플루엔자 A 약물은 항체인, 약학적 조성물.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 항체는 인플루엔자 A HA에 특이적으로 결합하는, 약학적 조성물.

청구항 43

제1항 내지 제33항 중 어느 한 항에 제시된 바와 같은 항체의 HCVR 또는 LCVR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는, 폴리뉴클레오티드 분자.

청구항 44

제43항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는, 벡터.

청구항 45

제28항의 벡터를 포함하는, 세포.

청구항 46

대상체에서 인플루엔자 감염증의 적어도 하나의 증상을 예방, 치료 또는 개선하는 방법으로서, 상기 방법은 제1항 내지 제33항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원 결합 단편, 또는 제34항 내지 제42항 중 어느 한 항의 약학적 조성물을 상기 대상체에서 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 적어도 하나의 증상은 발열, 기침, 몸살, 콧물, 숨가쁨, 폐렴 및 기관지염으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 48

제46항 또는 제47항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 상기 대상체에게 예방적으로 투여되는, 방법.

청구항 49

제46항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 면역체계가 손상된 개인, 65세 이상의 성인, 의료 종사자, 및 병력이 있거나 기저 질환이 있는 사람으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 50

제49항에 있어서, 상기 기저 질환은 심장 문제 및 당뇨병으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 51

제46항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 제2 치료제와 조합하여 투여되는, 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 제2 치료제는 항바이러스제, 항염증제, 인플루엔자 HA에 특이적으로 결합하는 상이한 항체, 인플루엔자용 백신, 식이보충제 및 인플루엔자 감염증을 치료하기 위한 다른 완화요법으로 이루어진 군으로

부터 선택되는, 방법.

청구항 53

제52항에 있어서, 상기 항염증제는 코르티코스테로이드 및 비스테로이드성 항염증제로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 54

제53항에 있어서, 상기 식이보충제는 항산화제인, 방법.

청구항 55

제51항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 치료제는 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편과는 다른 투여 경로를 통해 투여되는, 방법.

청구항 56

제51항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제2 치료제는 경구 투여되는, 방법.

청구항 57

제52항에 있어서, 상기 항바이러스제는 오셀타미비르인, 방법.

청구항 58

제57항에 있어서, 상기 오셀타미비르는 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 전에 투여되는, 방법.

청구항 59

제57항에 있어서, 상기 오셀타미비르는 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여와 동시에 투여되는, 방법.

청구항 60

제57항에 있어서, 상기 오셀타미비르는 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 후에 투여되는, 방법.

청구항 61

제52항에 있어서, 상기 항바이러스제는 항-인플루엔자 A 약물인, 방법.

청구항 62

제61항에 있어서, 상기 항-인플루엔자 A 약물은 항체인, 방법.

청구항 63

제62항에 있어서, 상기 항체는 인플루엔자 A HA에 특이적으로 결합하는, 방법.

청구항 64

제46항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약학적 조성물은 피하, 정맥내, 피내, 근육내, 비강내, 또는 경구로 투여되는, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **정부 라이선스 권리**

[0002] 본 발명은 미국 보건복지부(U.S. Department of Health and Human Services)에서 수여한 계약 HHSO100201700020C 하의 정부 지원을 통해 이루어졌다. 미국 정부는 본 발명에서 소정의 권리를 갖는다.

[0003] **서열 목록**

[0004] 서열 목록의 공식 사본은, 2020년 10월 28일자로 생성되고 "10625WO01_SEQ_LIST_ST25.txt"의 파일명을 가진 약 36 KB 크기의 ASCII 형식의 서열 목록으로서, EFS-Web을 통해 전자 방식으로 명세서와 함께 동시에 제출된다. 본 ASCII 형식의 문헌에 포함된 서열 목록은 본 명세서의 일부이며 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

배 경 기 술

[0005] 인플루엔자는 집단적인 대유행(pandemics), 유행(epidemics), 재유행(resurgences) 및 발발(outbreaks)을 특징으로 하는 오랜 역사를 가진 고도의 전염성 질환이다. 매년 백신접종에 애쓰고 있음에도 불구하고, 인플루엔자 감염으로 인한 이환율과 사망율은 상당하다.

[0006] 인플루엔자 바이러스는 4가지 유형으로 구성된다: A, B, C, 및 D. 인플루엔자 B는 상당한 수의 계절성 인플루엔자 감염을 유발하며, 중증 인플루엔자와 관련이 있을 수 있으며, 입원이 필요할 수 있다.

[0007] 헤마글루티닌은 3량체 당단백질로서 2개의 구조적 도메인, 즉 (빈번한 항원 소변이(antigenic drift)의 대상이 되는) 수용체-결합 부위로 이루어진 구형 헤드 도메인 및 (인플루엔자 바이러스의 다양한 균주 중에서 더 보존되는) 줄기 영역을 함유한다. HA 단백질은 전구체(HA0)로서 합성되고, 이는 단백질 분해 과정을 거쳐 2개의 아단위(HA1 및 HA2)를 생성하는데, 이들은 서로 결합하여 줄기/구형 헤드 구조를 형성한다. HA1 펩티드는 세포 표면에 대한 바이러스의 부착을 담당하며, (뉴라미니다아제와 함께) 바이러스 부착 및 숙주 세포 내로의 진입에 필요하다. HA2 펩티드는, 엔도솜에서 바이러스와 세포막의 융합을 매개하여 리보핵산단백질 복합체를 세포질 내로 방출시키는 줄기와 같은 구조를 형성한다.

[0008] 인플루엔자 바이러스의 새로운 균주가 항원 소변이라 불리는 현상, 또는 새롭고 상이한 에피토프를 생성하는 헤마글루티닌 또는 뉴라미니다아제 분자의 돌연변이의 결과로서 생겨날 수 있다. 그 결과는 출현이 예상되는 바이러스에 대항해 새로운 백신이 매년 생산되어야 한다는 것인데, 이는 비용이 많이 들 뿐만 아니라 매우 비효율적이기도 한 과정이다. 기술적 발전이 백신 조성물용 개선된 인플루엔자 항원을 생산하는 능력을 개선하였지만, 인플루엔자에 대한 추가적인 보호원을 제공할 필요가 있다.

발명의 내용

[0009] 본 개시는 인플루엔자 B HA에 결합하는 항체 및 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 항체는 인플루엔자 B HA의 활성을 억제하거나 중화시키는 데 특히 유용하다.

[0010] 제1 양태에서, 본 개시는 인플루엔자 B 헤마글루티닌(HA)에 특이적으로 결합하는 단리된 재조합 단클론 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0011] 일부 구현예에서, 본 개시는 인플루엔자 B HA에 특이적으로 결합하는 단리된 재조합 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공하며, 여기에서 항체는 다음의 특징 중 하나 이상을 갖는다:

[0012] (a) 완전한 인간 단클론 항체임;

[0013] (b) 약 10^{-10} M 미만의 EC_{50}으로 인플루엔자 B HA에 결합함;

[0014] (c) 인플루엔자에 감염된 동물에서 생존율의 증가를 입증함; 및/또는

[0015] (d) (i) 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR)(HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3); 및 (ii) 서열번호 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 함유된 3개의 경쇄 CDR(LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3)을 포함함.

[0016] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 항체, 또는 이의 항원 결합 단편은 피하 또는 정맥내 투여될 때 및/또는 인플루엔자 B 바이러스 감염 전 또는 감염 후에 투여될 때, 동물(예를 들어, 포유동물)에서 인플루엔자 B 바이러스로부터의 보호를 증가시킨다.

[0017] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 항체, 또는 이의 항원 결합 단편은 피하 또는 정맥내 투여될 때 및/또는 인플루엔자 B 바이러스 감염 전 또는 감염 후에 투여될 때, 인플루엔자 B 바이러스에 감염된 동물(예를 들어, 포유동물)에서 인플루엔자 B 감염의 중증도를 완화시킬 수 있다.

[0018] 특정 구현예에서, 본 개시의 항체, 또는 이의 항원 결합 단편은 인플루엔자 B 바이러스에 노출된 동물(예를 들

어, 포유동물)에게 감염 전 1일 또는 2일 또는 3일 또는 4일 또는 5일 또는 6일 또는 7일에 전술한 포유동물의 체중에 대해 약 0.5 mg/kg, 약 1.0 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 10 mg/kg, 또는 약 15 mg/kg의 단일 정맥내 투여량으로 투여할 경우, 예를 들어, 발록사비르 마르복실, 오셀타미비르, 자나미비르, 또는 피모디비르과 같은 항바이러스제의 경구 투여와 비교하여, 인플루엔자 B 바이러스로부터의 보호를 증가시킨다.

[0019] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 비교 가능한 동물(예를 들어, 포유동물)에게 전술한 동물의 체중에 대해 0.5 mg/kg 내지 약 15 mg/kg 범위, 예를 들어, 전술한 동물의 체중에 대해 약 1 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 7 mg/kg, 또는 약 10 mg/kg, 또는 약 12 mg/kg의 단일 피하 또는 정맥내 투여량으로 투여할 경우, 이소형(음성) 대조군 항체와 비교하여, 동물(예를 들어, 포유동물)에서 인플루엔자 B 바이러스로부터의 보호를 증가시킨다.

[0020] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 항체, 또는 이의 항원 결합 단편은 동물(예를 들어, 포유동물)에게 전술한 포유동물의 체중에 대해 약 0.5 mg/kg, 약 1.0 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 10 mg/kg, 또는 약 15 mg/kg의 단일 정맥내 투여량으로 투여할 경우, 발록사비르, 마르복실, 오셀타미비르, 자나미비르, 또는 피모디비르과 같은 항바이러스제의 경구 투여와 비교하여, 인플루엔자 B 바이러스로부터의 보호를 증가시킨다. 예를 들어, 항바이러스제는 약 2 mg/kg의 투여량으로 5일 동안 1일 2회 투여되는 오셀타미비르일 수 있다.

[0021] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인플루엔자 B 노출 및 감염 24시간 전에 체중에 대해 약 0.5 mg/kg, 약 1.0 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 10 mg/kg, 또는 약 15 mg/kg의 단일 투여량으로 투여할 경우, 인플루엔자 B 바이러스에 노출되고 감염된 동물(예를 들어, 포유동물)의 집단에서 약 100%의 생존율을 나타낸다.

[0022] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인플루엔자 B 노출 및/또는 감염 전 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일 또는 7일에 약 0.5 mg/kg, 약 1.0 mg/kg, 약 5 mg/kg, 또는 약 10 mg/kg, 또는 약 15 mg/kg의 단일 정맥내 투여량으로 투여할 경우, 인플루엔자 바이러스에 감염된 동물(예를 들어, 포유동물)에서 100%의 생존율을 나타낸다.

[0023] 특정 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은, 감염 후 1일 또는 2일 또는 3일에 시작하여 약 5 mg/kg 내지 약 15 mg/kg의 단일 정맥내 투여량으로 인플루엔자 바이러스 감염 포유동물에게 투여할 경우, 예를 들어, 발록사비르, 마르복실, 오셀타미비르, 자나미비르, 또는 피모디비르과 같은 항바이러스제의 경구 투여와 비교하여, 보호를 증가시킨다. 예를 들어, 항바이러스제는 감염 후 1일 또는 2일 또는 3일에 시작하는, 약 2 mg/kg의 투여량으로 5일 동안 1일 2회 투여되는 오셀타미비르일 수 있다.

[0024] 관련된 구현예에서, 본원에 제공된 항체, 또는 이의 항원 결합 단편은 피하 또는 정맥내 투여될 때 및/또는 인플루엔자 바이러스 감염 전 또는 감염 후에 투여될 때, 인플루엔자 바이러스에 감염된 동물(예를 들어, 포유동물)에서의 보호를 증가시킨다.

[0025] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 0.5 mg/kg 내지 약 15 mg/kg 범위, 예를 들어, 약 1 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 7 mg/kg, 또는 약 10 mg/kg, 또는 약 12 mg/kg의 단일 피하 또는 정맥내 투여량으로 감염된 포유동물에게 투여할 경우, 이소형(음성) 대조군 항체가 투여된 동물과 비교하여, 보호의 증가를 입증한다.

[0026] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 항체, 또는 이의 항원 결합 단편은 약 0.5 mg/kg, 약 1.0 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 10 mg/kg, 또는 약 15 mg/kg의 단일 정맥내 투여량으로 인플루엔자 바이러스 감염 포유동물에게 투여할 경우, 발록사비르, 마르복실, 오셀타미비르, 자나미비르, 또는 피모디비르과 같은 항바이러스제의 경구 투여와 비교하여, 보호의 증가를 입증한다. 예를 들어, 항바이러스제는 약 2 mg/kg의 투여량으로 5일 동안 1일 2회 투여되는 오셀타미비르일 수 있다.

[0027] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 감염 후 24시간 또는 그 이후 동물 체중에 대해 약 0.5 mg/kg, 약 1.0 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 10 mg/kg, 또는 약 15 mg/kg의 단일 투여량으로 투여할 경우, 인플루엔자 바이러스에 감염된 동물(예를 들어, 포유동물)의 집단에서 약 100%의 생존율을 입증한다.

[0028] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 감염 후 24, 48, 72, 또는 96시간에 동물 체중에 대해 약 5 mg/kg, 또는 약 10 mg/kg, 또는 약 15 mg/kg의 단일 정맥내 투여량으로 투여할 경우, 인플루엔자 바이러스에 감염된 동물(예를 들어, 포유동물)의 집단에서 100%의 생존율을 입증한다.

[0029] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은, 동물 체중에 대해 약 0.5 mg/kg, 약 1.0

mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 10 mg/kg, 또는 약 15 mg/kg의 단일 정맥내 투여량으로 투여할 경우, 발록사비르, 마르복실, 오셀타미비르, 자나미비르, 또는 피모디비르과 같은 항바이러스제로 치료된 비교 가능한 동물 집단에서 관찰되는 80%의 생존율과 비교하여, 인플루엔자 바이러스에 감염된 동물(예를 들어, 포유동물)의 집단에서 약 100%의 생존율을 입증한다. 예를 들어, 항바이러스제는 약 2 mg/kg의 투여량으로 5일 동안 1일 2회 경구 투여되는 오셀타미비르일 수 있다. 본원에서 기술된 바와 같은 생존은, 본 개시의 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 후 고정된 시점(예를 들어, 투여 후 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 11일, 12일, 13일, 14일, 15일, 16일, 17일, 18일, 19일, 20일, 21일, 22일, 23일, 24일, 25일, 26일, 27일, 28일, 29일, 30일, 31일, 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 7주, 8주 또는 그 이후)에서 측정될 수 있다.

[0030] 일부 구현예에서, 본 개시의 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 발록사비르, 마르복실, 오셀타미비르, 자나미비르, 또는 피모디비르와 같은 항바이러스제와 함께 투여될 경우, 인플루엔자 바이러스에 감염된 동물(예를 들어, 포유동물)에서 부가적 보호 효과를 제공한다. 예를 들어, 항바이러스제는 감염 후 48시간을 초과하는 시점에 투여되는 오셀타미비르일 수 있다.

[0031] 일부 구현예에서, 본 개시의 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 발록사비르, 마르복실, 오셀타미비르, 자나미비르, 또는 피모디비르와 같은 항바이러스제와 함께 투여될 경우, 인플루엔자 바이러스에 감염된 동물(예를 들어, 포유동물)에서 부가적 보호 효과를 제공한다. 예를 들어, 항바이러스제는 감염 후 72시간에 투여되는 오셀타미비르일 수 있다.

[0032] 일부 구현예에서, 본 개시의 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 항바이러스제와 조합하여 사용할 경우, 즉 동물 체중에 대해 약 7 mg/kg 내지 약 15 mg/kg 범위의 단일 정맥내 투여량으로 인플루엔자 바이러스 감염 동물(예를 들어, 포유 동물)에 투여하고, 발록사비르, 마르복실, 오셀타미비르, 자나미비르, 또는 피모디비르과 같은 항바이러스제는 동물 체중에 대해 약 2 mg/kg의 투여량으로 5일 동안 1일 2회 경구 투여할 경우, 부가적 보호 효과를 제공한다.

[0033] 일부 구현예에서, 본 개시의 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인플루엔자 바이러스 감염 후 96시간에 발록사비르, 마르복실, 오셀타미비르, 자나미비르, 또는 피모디비르과 같은 항바이러스제와 조합하여 사용할 경우, 부가적 보호 효과를 제공하며, 여기에서 항체는 동물 체중에 대해 약 7 mg/kg 내지 약 15 mg/kg 범위의 단일 정맥내 투여량으로 동물에 투여하고, 항바이러스제, 예를 들어, 오셀타미비르, 자나미비르, 또는 피모디비르는 동물 체중에 대해 약 2 mg/kg의 투여량으로 5일 동안 1일 2회 경구 투여한다.

[0034] 일부 구현예에서, 본원에 제공된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 정맥내, 비강내, 피하, 피부내, 또는 근육내 투여될 수 있고, 항바이러스제는 경구 또는 정맥내 투여될 수 있다.

[0035] 일부 구현예에서, 항바이러스제는 본원에 제공된 항체의 투여 전에, 동시에, 또는 후에 투여된다.

[0036] 일부 구현예에서, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 및/또는 발록사비르, 마르복실, 오셀타미비르, 자나미비르, 또는 피모디비르와 같은 항바이러스제는 단일 투여 또는 다중 투여로 투여될 수 있다.

[0037] 예시적인 항-인플루엔자 B HA 항체가 본원의 표 1 및 표 2에 제공된다. 표 1은 예시적인 항-인플루엔자 B HA 항체의 중쇄 가변 영역(HCVR), 경쇄 가변 영역(LCVR), 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3), 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR1, LCDR2 및 LCDR3), 중쇄(HC), 및 경쇄(LC)의 아미노산 서열 식별자를 제시한다. 표 2는 예시적인 항-인플루엔자 B HA 항체의 HCVR, LCVR, HCDR1, HCDR2 HCDR3, LCDR1, LCDR2, LCDR3, HC, 및 LC의 핵산 서열 식별자를 제시한다.

[0038] 표 1에 따른 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR을 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0039] 일부 구현예에서, 인플루엔자 B HA에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 2의 HCVR 아미노산 서열을 포함한다.

[0040] 표 1에 따른 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0041] 일부 구현예에서, 인플루엔자 B HA에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 10의 LCVR 아미노산 서열을 포함한다.

[0042] 일부 구현예에서, 인플루엔자 B HA에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 또는 항원 결합 단편은 서열번호 2/10의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

[0043] 일 구현예에서, 단리된 항체 또는 항원 결합 단편은 다음을 포함한다:

[0044] (a) 서열번호 4의 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 도메인;

[0045] (b) 서열번호 6의 아미노산 서열을 갖는 HCDR2 도메인;

[0046] (c) 서열번호 8의 아미노산 서열을 갖는 HCDR3 도메인;

[0047] (d) 서열번호 12의 아미노산 서열을 갖는 LCDR1 도메인;

[0048] (e) 서열번호 14의 아미노산 서열을 갖는 LCDR2 도메인; 및

[0049] (f) 서열번호 16의 아미노산 서열을 갖는 LCDR3 도메인.

[0050] 일부 구현예에서, 인플루엔자 B HA에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 또는 항원 결합 단편은, (a) 서열번호 4의 HCDR1, (b) 서열번호 6의 HCDR2; (c) 서열번호 8의 HCDR3; (d) 서열번호 12의 LCDR1; (e) 서열번호 14의 LCDR2 및 (f) 서열번호 16의 LCDR3을 포함한다.

[0051] 일부 구현예에서, 인플루엔자 B HA에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 또는 항원 결합 단편은, (a) 서열번호 8의 HCDR3 및 (b) 서열번호 16의 LCDR3을 포함한다.

[0052] 본 개시는 또한, 서열번호 4의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1)을 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0053] 본 개시는 또한, 서열번호 6의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2)을 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0054] 본 개시는 또한, 서열번호 8의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0055] 본 개시는 또한, 서열번호 12의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1)을 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0056] 본 개시는 또한, 서열번호 14의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2)을 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0057] 본 개시는 또한, 서열번호 16의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서

열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0058] 본 개시는 또한, 서열번호 8/16의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCDR3 및 LCDR3 아미노산 서열 쌍(HCDR3/LCDR3)을 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0059] 본 개시는 또한, 표 1에 제시된 예시적인 항-인플루엔자 B HA 항체의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 내에 함유된 6개의 CDR(즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 아미노산 서열 세트는 서열번호 4-6-8-12-14-16을 포함한다.

[0060] HCVR 및 LCVR 아미노산 서열 내의 CDR을 확인하기 위한 방법 및 기술은 당업계에 잘 알려져 있고, 본원에 개시된 특정 HCVR 및/또는 LCVR 아미노산 서열 내의 CDR을 확인하는 데 사용될 수 있다. CDR의 경계를 식별하는 데 사용될 수 있는 예시적인 규정은, 예를 들어, Kabat 정의, Chothia 정의, 및 AbM 정의를 포함한다. 일반적인 조건에서, Kabat 정의는 서열 변동성에 기초하고, Chothia 정의는 구조적 루프 영역의 위치에 기초하며, AbM 정의는 Kabat 및 Chothia 접근법을 절충한 것이다. 예를 들어, Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani 등, *J. Mol.* Biol. 273:927-948(1997); 및 Martin 등, *Proc.* Natl. Acad. Sci. USA 86:9268-9272(1989)를 참조한다. 공공 데이터베이스 또한 항체 내에서 CDR 서열을 확인하는 데 이용할 수 있다.

[0061] 또한, 인플루엔자 B HA에 특이적으로 결합하기 위해 기준 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 경쟁하고 HCVR의 CDR 및 LCVR의 CDR을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공되며, 여기에서 HCVR 및 LCVR은 각각 표 1에 열거된 HCVR 및 LCVR 서열에 따른 아미노산 서열을 갖는다.

[0062] 본 개시는 또한, 인플루엔자 B HA에 특이적으로 결합하기 위해 HCVR의 CDR 및 LCVR의 CDR을 포함하는 기준 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 교차 경쟁하거나, 인플루엔자 B HA 상에서 기준 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 동일한 에피토프에 결합하는 항체 및 이의 항원 결합 단편을 제공하며, 여기에서 HCVR 및 LCVR은 각각 표 1에 열거된 HCVR 및 LCVR 서열에 따른 아미노산 서열을 갖는다.

[0063] 본 개시는 또한, 인플루엔자 B HA가 숙주 세포에 부착되는 것 및/또는 숙주 세포 내로 진입하는 것을 차단하는 단리된 항체 및 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0064] 특정 구현예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 이중특이적이며, 인플루엔자 B HA 내의 제1 에피토프에 대한 제1 결합 특이성 및 또 다른 항원에 대한 제2 결합 특이성을 포함한다.

[0065] 제2 양태에서, 항-인플루엔자 B HA 항체 또는 이의 일부분을 암호화하는 핵산 분자(예를 들어, DNA 또는 RNA 분자)가 본원에 제공된다. 예를 들어, HCVR 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 분자는 표 2에 열거되어 있고; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 서열번호 1의 HCVR 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함한다. LCVR 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 분자는 또한 표 2에 열거되어 있고; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 서열번호 9의 LCVR 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0066] 또한, 표 1에 열거된 HCDR1 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 분자가 본원에 제공되며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 HCDR1 핵산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0067] 또한, 표 1에 열거된 HCDR2 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 분자가 본원에 제공되며; 특정 구현예에서, 핵산

분자는 표 2에 열거된 HCDR2 핵산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0068] 또한, 표 1에 열거된 HCDR3 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 분자가 본원에 제공되며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 HCDR3 핵산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0069] 또한, 표 1에 열거된 LCDR1 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 분자가 본원에 제공되며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 LCDR1 핵산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0070] 또한, 표 1에 열거된 LCDR2 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 분자가 본원에 제공되며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 LCDR2 핵산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0071] 또한, 표 1에 열거된 LCDR3 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 분자가 본원에 제공되며; 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 LCDR3 핵산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함한다.

[0072] 또한, HCVR을 암호화하는 핵산 분자가 본원에 제공되며, 여기에서 HCVR은 3개의 CDR 세트(즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3)를 포함하고, HCDR1-HCDR2-HCDR3 아미노산 서열 세트는 표 1에 열거된 예시적인 항-인플루엔자 HA 항체에 의해 정의된 바와 같다.

[0073] 또한, LCVR을 암호화하는 핵산 분자가 본원에 제공되며, 여기에서 LCVR은 3개의 CDR 세트(즉, LCDR1-LCDR2-LCDR3)를 포함하고, LCDR1-LCDR2-LCDR3 아미노산 서열 세트는 표 1에 열거된 예시적인 항-인플루엔자 HA 항체에 의해 정의된 바와 같다.

[0074] 또한, HCVR 및 LCVR 둘 모두를 암호화하는 핵산 분자가 본원에 제공되며, 여기에서 HCVR은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하고, LCVR은 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 핵산 분자는 표 2에 열거된 HCVR 또는 LCVR 폴리뉴클레오티드 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 핵산 분자는 HCVR 및 LCVR을 암호화하며, 여기에서 HCVR 및 LCVR 둘 모두는 표 1에 열거된 동일한 항-인플루엔자 B HA 항체로부터 유래된다.

[0075] 또한, 표 1에 열거된 중쇄 아미노산 서열 중 어느 하나 및/또는 경쇄 아미노산 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자가 본원에 제공된다.

[0076] 관련 양태에서, 항-인플루엔자 B HA 항체의 중쇄 또는 경쇄 가변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 발현할 수 있는 재조합 발현 벡터가 본원에 제공된다. 예를 들어, 벡터는 전술한 핵산 분자 중 어느 하나, 즉 표 1에 제시된 바와 같은 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 서열 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자를 포함하는 재조합 발현 벡터를 포함할 수 있다. 본 개시의 범주에는, 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포뿐만 아니라, 항체 또는 항체 단편의 생산을 가능하게 하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양하고 그렇게 생산된 항체 및 항체 단편을 회수함으로써 항체 또는 이의 일부분을 생산하는 방법 또한 포함된다.

[0077] 제3 양태에서, 인플루엔자 B HA에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 재조합 단클론 항체 또는 이의 단편의 치료적 유효량, 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물이 본원에 제공된다. 관련 양태에서,

조성물은 항-인플루엔자 B HA 항체 및 제2 치료제의 조합일 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 항-인플루엔자 B HA 항체와 유리하게 조합되는 임의의 제제이다. 항-인플루엔자 B HA 항체와 유리하게 조합될 수 있는 예시적인 제제는, 인플루엔자 HA에 결합하고/하거나 인플루엔자 HA 활성을 억제하는 다른 제제(인플루엔자 A HA 등에 결합하거니 이를 억제하는 항체와 같은 다른 항체 또는 이의 항원 결합 단편 등을 포함함) 및/또는 인플루엔자 HA에 직접 결합하지는 않지만 숙주 세포 감염성을 포함하여 바이러스 활성을 억제하는 제제를 제한없이 포함한다. 특정 구현예에서, 약학적 조성물은, (a) 제1 항-인플루엔자 B HA 항체 또는 이의 항원 결합 단편; (b) 제2 항-인플루엔자 B HA 항체 또는 이의 항원 결합 단편; 및 (c) 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함하며, 여기에서, 제1 항체는 인플루엔자 B HA 상의 제1 에피토프에 결합하고, 제2 항체는 인플루엔자 B HA 상의 제2 에피토프에 결합하고, 제1 및 제2 에피토프는 구별되며 중첩되지 않는다. 특정 구현예에서, 약학적 조성물은, (a) 제1 항-인플루엔자 B HA 항체 또는 이의 항원 결합 단편; (b) 제2 항-인플루엔자 B HA 항체 또는 이의 항원 결합 단편; 및 (c) 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함하며, 여기에서, 제1 항체는 인플루엔자 B HA에 결합하기 위해 제2 항체와 교차 경쟁하지 않는다. 특정 구현예에서, 약학적 조성물은, (a) 제1 항-인플루엔자 B HA 항체 또는 이의 항원 결합 단편; (b) 상이한 인플루엔자 항원과 상호작용하는 제2 항-인플루엔자 항체 또는 이의 항원 결합 단편; 및 (c) 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함하며, 여기에서, 제1 항체는 인플루엔자 B HA 상의 에피토프에 결합하고, 제2 항체는 상이한 인플루엔자 항원 상의 에피토프에 결합한다. 특정 구현예에서, 약학적 조성물은, (a) 제1 항-인플루엔자 B HA 항체 또는 이의 항원 결합 단편; (b) 상이한 바이러스 (비-인플루엔자) 항원과 상호작용하는 제2 항체 또는 이의 항원 결합 단편; 및 (c) 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함하며, 여기에서, 제1 항체는 인플루엔자 B HA 상의 에피토프에 결합하고, 제2 항체는 상이한 바이러스 (비-인플루엔자) 항원 상의 에피토프에 결합한다. 본원에 제공된 항-인플루엔자 B HA 항체를 포함하는 추가적인 병용 요법 및 복합-제형은 본원의 다른 곳에서 개시된다. 특정 구현예에서, 약학적 조성물은, (a) 항-인플루엔자 B HA 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 (b) 항-인플루엔자 A HA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0078] 제4 양태에서, 본원에 제공된 항-인플루엔자 B HA 항체 또는 항체의 항원 결합 부분을 사용하여 인플루엔자 B HA와 연관된 질환 또는 장애(예컨대, 대상체에서의 바이러스 감염증) 또는 바이러스 감염증과 연관된 적어도 하나의 증상을 치료하기 위한 치료 방법이 본원에 제공되며, 치료 방법은 항체 또는 항체의 항원 결합 단편을 포함하는 약학적 조성물의 치료적 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 치료되는 장애는 인플루엔자 HA 활성에 의해 개선, 경감, 억제 또는 예방되는 임의의 질환 또는 병태이다. 특정 구현예에서, 본 개시는 인플루엔자 B 감염의 적어도 하나의 증상을 예방, 치료 또는 개선하는 방법을 제공하며, 방법은 항-인플루엔자 HA 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 치료적 유효량을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0079] 일부 구현예에서, 본 개시는 본원에 제공된 항-인플루엔자 B HA 항체를 투여함으로써 대상체에서 인플루엔자 감염증의 적어도 하나의 증상의 중증도, 지속 기간 또는 발생 빈도를 완화시키거나 개선하거나 감소시키는 방법을 제공하며, 여기에서 적어도 하나의 증상은 두통, 발열, 통증, 콧물(코막힘), 오한, 피로, 무력감, 인후염, 기침, 호흡 곤란, 구토, 설사, 폐렴, 기관지염 및 사망으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0080] 특정 구현예에서, 대상체에서 바이러스 양(viral load)을 감소시키는 방법이 본원에 제공되며, 방법은 인플루엔자 B HA에 결합하고 인플루엔자 바이러스가 숙주 세포에 결합하고/하거나 숙주 세포 내로 진입하는 것을 차단하는 항체 또는 이의 단편의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0081] 특정 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인플루엔자 감염증에 걸렸거나, 걸릴 위험이 있거나, 걸리기 쉬운 대상체에게 예방적으로 또는 치료적으로 투여될 수 있다. 위험이 있는 대상체는 면역체계가 손상된 사람, 예를 들어, 자가면역 질환 때문에 면역체계가 손상된 사람, 또는 (예를 들어, 장기 이식 후) 면역억제 요법을 투여받고 있는 사람들, 또는 인간 면역 결핍 증후군(HIV) 또는 후천성 면역 결핍증후군(AIDS)에 걸렸거나 백혈구를 고갈시키거나 파괴하는 특정 형태의 빈혈증에 걸린 사람들, 방사선 또는 화학요법으로 치료 중인 사람들, 또는 염증성 장애에 걸린 사람들을 포함하지만, 이들로 한정되지는 않는다. 인플루엔자 감염증에 걸릴 위험이 있는 대상체는 노인(65세 이상), 2세 미만의 유아, 의료 종사자, 및 폐렴 감염증, 심장 질환 또는 당뇨병과 같은 기저 병태가 있는 사람들을 포함한다. 또한, 감염된 개인과 신체적으로 접촉하거나 신체적으로 근접한 모든 사람에게서 인플루엔자 바이러스 감염증의 발생 위험이 증가한다. 또한, 대상체가 질환의 발발 상황에 직면함으로 인해, 예를 들어, 대상체가 인구 밀집 도시에 거주하거나, 인플루엔자 바이러스 감염증이 확진되었거나 의심되는 대상체와 밀접한 근위에 있거나, 직업 선택으로 인해, 예를 들어, 병원 근무자, 제약 연구원이거나, 감염된 지역으로 출장을 가야 하거나, 이동이 잦은 직업인 경우 인플루엔자 감염증에 걸릴 위험이 있다.

[0082] 특정 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 제2 치료제와 조합되어 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 제2 치료제는 항-염증제(예컨대, 코르티코스테로이드, 비-스테로이드성 항-염증 약물), 항-감염성 약물, 상이한 인플루엔자 HA에 대한 항체(예를 들어, 인플루엔자 A HA에 대한 항체), 상이한 인플루엔자 항원에 대한 항체(예를 들어, 뉴라미니다아제), 항-바이러스제, 충혈완화제, 항-히스타민제, 인플루엔자용 백신, 항산화제와 같은 식이 보조제 및 인플루엔자 감염증의 적어도 하나의 증상을 개선하거나 환자에게서 바이러스 양을 감소시키는 데 유용한 당업계에 알려진 임의의 다른 약물 또는 요법제로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 특정 구현예에서, 제2 치료제는 본원에 제공된 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 연관된 임의의 가능한 부작용(들)이 발생하는 경우 이에 대항하거나 이를 감소시키는 데 도움이 되는 제제일 수 있다. 항체 또는 이의 단편은 피하, 정맥내, 피내, 복강내, 경구, 비강내, 근육내 또는 두개내 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 항체는 대상체의 혈청 내 항체 농도가 최대가 되도록 1회 정맥 내 주입으로 투여될 수 있다. 항체 또는 이의 단편은 체중 1 kg당 약 0.01 mg 내지 체중 1 kg당 약 100 mg의 투여량으로 대상체에게 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 본원에 개시된 항체는 50 mg 내지 5000 mg을 포함하는 하나 이상의 투여량으로 투여될 수 있다.

[0083] 제5 양태에서, 인플루엔자 B 헤마글루티닌(HA)에 특이적으로 결합하는 단리된 재조합 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공되며, 여기에서, 항체는 다음 특성 중 하나 이상을 갖는다: (a) 약 10^{-9} M 미만의 EC_{50}으로 인플루엔자 B HA에 결합함; (b) 전술한 투여 없는 유사한 인플루엔자 B-감염 동물과 비교했을 때, 인플루엔자 B 감염 동물에게 투여한 후 투여한 인플루엔자 B 감염 동물에서 생존율 증가를 입증함; 및/또는 (c) (i) 서열번호 2에 제시된 HCVR에 대해 적어도 약 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내에 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR)(HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3) 및 (ii) 서열번호 10에 제시된 LCVR에 대해 적어도 약 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 함유된 3개의 경쇄 CDR(LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3)을 포함함.

[0084] 일부 구현예에서, 포유동물의 체중에 대해 약 5 mg/kg, 또는 0.5 mg/kg의 단일 정맥내 투여량으로 포유동물에게 예방적으로 투여될 때, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인플루엔자 B 바이러스에 대한 후속 노출에 의한 감염으로부터 포유동물을 보호한다. 일부 구현예에서, 인플루엔자 B 바이러스에 노출되기 전에 포유동물에게 예방적으로 투여될 때, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 포유동물에서 인플루엔자 감염의 위험을 감소시킨다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 포유동물에게 투여될 때, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 전술한 포유동물에서 인플루엔자 감염의 적어도 하나의 증상의 중증도, 지속 시간 또는 발생 빈도를 개선하거나, 완화시키거나, 감소시킨다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 증상은 두통, 발열, 통증, 콧물(코막힘), 오한, 피로, 무력감, 인후염, 기침, 호흡 곤란, 구토, 설사, 폐렴, 기관지염 및 사망으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0085] 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 0.5 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 전술한 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 적어도 약 80%의 생존율을 갖는다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 0.5 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 전술한 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 적어도 약 90%의 생존율을 갖는다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 0.5 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 전술한 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 약 100%의 생존율을 갖는다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 5.0 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 전술한 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 약 80%의 생존율을 갖는다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 5.0 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 전술한 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 약 90%의 생존율을 갖는다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 5.0 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 전술한 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 약 100%의 생존율을 갖는다. 일부 구현예에서, 생존율은 투여 후 13일차에 명백해진다.

[0086] 일부 구현예에서, 본 개시는 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 HCVR을 포함하는, 전술한 바와 같은 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 10의 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함한다.

[0087] 제6 양태에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공되며, 이는, (a) 서열번호 4의 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 도메인; (b) 서열번호 6의 아미노산 서열을 갖는 HCDR2 도메인; (c) 서열번호 8의 아미노산 서열을 갖는 HCDR3 도메인; (d) 서열번호 12의 아미노산 서열을 갖는 LCDR1 도메인; (e) 서열번호 14의 아미노산 서열을 갖는 LCDR2 도메인; 및 (f) 서열번호 16의 아미노산 서열을 갖는 LCDR3 도메인을 포함한다.

[0088] 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인플루엔자 B 헤마글루티닌(HA)에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 포유동물의 체중에 대해 약 5 mg/kg, 또는 0.5 mg/kg의 단일 정맥내 투여량으로 포유동물에게 예방적으로 투여될 때, 이는 인플루엔자 B 바이러스에 대한 후속 노출에 의한 감염으로부터 포유동물을 보호한다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 인플루엔자 B 바이러스에 노출되기 전에 포유동물에게 예방적으로 투여될 때, 이는 포유동물에서 인플루엔자 감염의 위험을 감소시킨다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 포유동물에게 투여될 때, 전술한 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 전술한 포유동물에서 인플루엔자 감염의 적어도 하나의 증상의 중증도, 지속 시간 또는 발생 빈도를 개선하거나, 완화시키거나, 감소시킨다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 증상은 두통, 발열, 통증, 콧물(코막힘), 오한, 피로, 무력감, 인후염, 기침, 호흡 곤란, 구토, 설사, 폐렴, 기관지염 및 사망으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0089] 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 0.5 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 전술한 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 적어도 약 80%의 생존율을 갖는다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 0.5 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 전술한 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 적어도 약 90%의 생존율을 갖는다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 0.5 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 전술한 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 약 100%의 생존율을 갖는다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 5.0 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 전술한 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 약 80%의 생존율을 갖는다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 5.0 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 전술한 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 약 90%의 생존율을 갖는다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 5.0 mg/kg의 단일 예방적 투여량으로 복수의 포유동물 각각에 투여될 때, 전술한 복수의 포유동물은 투여 후 19일차에 약 100%의 생존율을 갖는다. 일부 구현예에서, 생존율은 투여 후 13일차에 명백해진다.

[0090] 일부 구현예에서, 전술한 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 HCVR을 포함한다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 10의 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함한다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 2/10의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG1 항체이다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IgG4 항체이다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이중특이적 항체이다.

[0091] 제7 양태에서, 전술한 단리된 항체 또는 이의 항원 결합, 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물이 본원에 제공된다.

[0092] 일부 구현예에서, 약학적 조성물은 제2 치료제를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 항바이러스제, 항염증제, 인플루엔자 HA에 특이적으로 결합하는 상이한 항체, 인플루엔자용 백신, 식이 보충제 및 인플루엔자 감염증을 치료하기 위한 또 다른 완화요법으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 항염증제는 코르티코스테로이드 및 비스테로이드성 항염증제로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 식이 보충제는 항산화제이다. 일부 구현예에서, 항바이러스제는 오셀타미비르이다. 일부 구현예에서, 항바이러스제는 항-인플루엔자 A 약물이다. 일부 구현예에서, 항-인플루엔자 A 약물은 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 인플루엔자 A HA에 특이적으로 결합한다.

[0093] 일부 구현예에서, 본 개시는 전술한 바와 같은 항체의 HCVR 또는 LCVR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드 분자를 제공한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 전술한 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 제공한다. 일부 구현예에서, 본 개시는 전술한 벡터를 포함하는 세포를 제공한다.

[0094] 제8 양태에서, 인플루엔자에 감염된 대상체에서 인플루엔자 감염의 적어도 하나의 증상을 예방, 치료 또는 완화하는 방법이 본원에 제공되며, 방법은 전술한 바와 같은 항체 또는 항원 결합 단편, 또는 전술한 바와 같은 약학적 조성물을 전술한 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0095] 일부 구현예에서, 적어도 하나의 증상은 발열, 기침, 몸살, 콧물, 숨가쁨, 폐렴 및 기관지염으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 약학적 조성물은 전술한 대상체에게 예방적으로 투여된다. 일부 구현예에서, 대상체는 면역체계가 손상된 개인, 65세 이상의 성인, 의료 종사자, 및 병력이 있거나 기저 질환이 있는 사람으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 기저 질환은 심장 문제 및 당뇨병으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 약학적 조성물은 제2 치료제와 조합하여 투여된다. 일부

구현예에서, 제2 치료제는 항바이러스제, 항염증제, 인플루엔자 HA에 특이적으로 결합하는 상이한 항체, 인플루엔자용 백신, 식이 보충제 및 인플루엔자 감염증을 치료하기 위한 또 다른 완화요법으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 항염증제는 코르티코스테로이드 및 비스테로이드성 항염증제로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 식이 보충제는 항산화제이다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 전술한 항체 또는 이의 항원 결합 단편과는 상이한 투여 경로를 통해 투여된다. 일부 구현예에서, 제2 치료제는 경구 투여된다. 일부 구현예에서, 항바이러스제는 오셀타미비르이다. 일부 구현예에서, 오셀타미비르는 전술한 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 전에 투여된다. 일부 구현예에서, 오셀타미비르는 전술한 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여와 동시에 투여된다. 일부 구현예에서, 오셀타미비르는 전술한 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 후에 투여된다. 일부 구현예에서, 항바이러스제는 항-인플루엔자 A 약물이다. 일부 구현예에서, 항-인플루엔자 A 약물은 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 인플루엔자 A HA에 특이적으로 결합한다. 일부 구현예에서, 약학적 조성물은 피하, 정맥내, 피내, 근육내, 비강내, 또는 경구 투여된다.

[0096] 본 개시는 또한, 인플루엔자 HA 결합 및/또는 활성을 차단하는 것이 이로운 질환 또는 장애를 치료하기 위한, 본 발명의 항-인플루엔자 B HA 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 용도를 포함한다. 본 개시는 또한, 인플루엔자 HA 결합 및/또는 활성을 차단하는 것이 이로운 질환 또는 장애를 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서, 본 발명의 항-인플루엔자 B HA 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 용도를 포함한다.

[0097] 다른 구현예는 다음의 상세한 설명을 검토함으로써 명백해질 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0098] 본 발명의 방법을 설명하기 전에, 방법과 실험 조건이 다양할 수 있으므로, 본 발명은 기술된 특정 방법 및 실험 조건에 제한되지 않는 것으로 이해해야 한다. 또한 본 개시의 범위는 첨부된 청구항에 의해서만 한정되므로 본원에서 사용된 용어는 단지 특정 구현예를 기술하기 위한 목적이며, 한정하는 것으로 의도되지 않음을 이해해야 한다.

[0099] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속한 당해 기술분야의 통상의 기술을 가진 자에 의해 널리 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 본 개시에 기재된 방법 및 물질과 유사 또는 동등한 어떠한 방법 및 물질 또한 본 개시의 실시 또는 검사에 사용될 수 있으나, 바람직한 방법 및 물질을 지금부터 설명한다. 본 발명에 언급된 모든 문헌은 그 전체가 본 발명에 참조로 인용되어 있다.

[0100] 본 개시는 인플루엔자 B HA에 결합하는 항체 및 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 항체는 인플루엔자 B HA의 활성을 억제하거나 중화시키는 데 특히 유용하다.

[0101] 본원에서 제공된 항체는 전장 항체(예를 들어, IgG1 또는 IgG4 전장 항체)일 수 있거나 항원 결합 부분(예를 들어, Fab, $F(ab')_2$, 또는 scFv 단편)만을 포함할 수 있고, 변형되지 않은 항체와 비교하여, 기능에 영향을 미치도록, 예를 들어 숙주에서 지속성을 증가시키거나 효과기 기능을 증가시키도록 또는 잔류 효과기 기능을 제거하도록 변형될 수 있다(Reddy 등, 2000, J. Immunol. 164:1925-1933). 특정 구현예에서, 항체는 이중특이적일 수 있다.

[0102] 일부 구현예에서, 항체는 인플루엔자 바이러스가 숙주 세포에 부착하는 것을 차단하고/하거나 인플루엔자 바이러스가 숙주 세포 내로 진입하는 것을 방지하는 데 유용하다. 일부 구현예에서, 항체는 바이러스의 세포-대-세포 전파를 억제함으로써 기능한다. 특정 구현예에서, 항체는 대상체에서 인플루엔자 바이러스 감염증의 적어도 하나의 증상을 예방, 치료 또는 개선하는데 유용하다. 특정 구현예에서, 항체는 인플루엔자 바이러스 감염증을 앓고 있거나 이에 걸릴 위험이 있는 대상체에게 예방적으로 또는 치료적으로 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 적어도 하나의 항체를 함유하는 조성물은 백신의 사용이 금지된 대상체 또는 백신의 효능이 덜한 대상체, 예를 들어, 노인 환자, 유아 환자, 백신의 하나 이상의 성분에 대해 알레르기를 가질 수 있는 환자 또는 백신의 면역원에 반응하지 않을 수 있는 면역체계가 손상된 환자에게 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 적어도 하나의 항체를 함유하는 조성물은 인플루엔자가 발발하는 동안 의료 종사자, 입원 환자나 요양원 입원자 또는 다른 고위험 환자에게 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 본원에 제공된 적어도 하나의 항체를 함유하는 조성물은 당해의 예측 백신이 비효과적인 경우, 또는 주요 항원 대변이(antigen shift)를 거친 균주가 대유행하는 경우 1선 치료로서 투여될 수 있다.

[0103] **정의**

[0104] "인플루엔자 HA"로도 불리는 "인플루엔자 헤마글루티닌"이라는 용어는 인플루엔자 비리온의 표면에서 발견되는

3량체 당단백질로서, (α-2,3- 또는 α-2,6-시알산에 대한 HA1 결합을 통한) 바이러스의 부착 및 (입체 구조 변화를 통한) 숙주 세포 내로의 진입을 매개한다. HA는 다음 2개의 구조적 도메인을 포함한다: (고빈도의 항원성 돌연변이를 거치는) 수용체 결합 부위를 함유하는 구형 헤드 도메인; 및 (인플루엔자 바이러스의 다양한 균주 중에서 더 보존되는) 줄기 영역. 인플루엔자 HA는 전구체(HA0)로서 합성되고, 이는 단백질 분해 과 정을 거쳐 2개의 아단위(HA1 및 HA2)를 생성하는데, 이들은 서로 결합하여 줄기/구형 헤드 구조를 형성한다. 바이러스 HA는 바이러스 상에서 가장 가변적인 항원이지만(18개의 아형을 2개의 군으로 분류할 수 있음), 줄기(HA2)는 각각의 군 내에서 고도로 보존된다. 전장 인플루엔자 B HA의 아미노산 서열은, B/Victoria/2/87, 서열번호 21(GenBank 수탁번호 AAA43697.1) 유래 HA, B/Nanchang/3451/93, 서열번호 22(부분 서열; GenBank 수탁번호 AAD02807.1) 유래 HA, B/Singapore/11/1994, 서열번호 23(GenBank 수탁번호 ABN50712.1) 유래 HA, 및 B/Florida/4/2006, 서열번호 24(GenBank 수탁번호 ACA33493.1) 유래 HA로 예시된다. 용어 "인플루엔자-HA"는 또한 다른 인플루엔자 B 단리체뿐만 아니라 인플루엔자 A 단리체로부터 단리된 인플루엔자 HA의 단백질 변이체를 포함한다. 용어 "인플루엔자-HA"는 또한 재조합 인플루엔자 HA 또는 이의 단편을 포함한다. 이 용어는 또한, 예를 들어, 히스티딘 태그, 마우스 또는 인간 Fc, 또는 신호 서열에 결합된 인플루엔자 HA 또는 이의 단편을 포함한다.

[0105] 본원에서 사용되는, "플루(flu)"로도 특징지어지는 용어 "인플루엔자 감염증"이란 용어는 인플루엔자 바이러스에 의해 야기되는 중증 급성 호흡기 질환을 지칭한다. 이 용어는 호흡기 감염증 및 고열, 몸살, 피로와 무력감 등의 증상을 포함하고, 일부 경우에는 극도의 탈진, 코막힘, 재채기, 인후염, 흉통, 기침, 호흡 곤란, 기관지염, 폐렴 및 심한 경우는 사망을 포함한다.

[0106] 용어 "표면 플라스몬 공명"은, 예를 들어, BIACORE™ 시스템(Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden 및 Piscataway, N.J.)을 사용해 바이오센서 매트릭스 내의 단백질 농도 변경을 검출함으로써 생체 분자의 상호 작용을 실시간으로 분석할 수 있게 하는 광학 현상을 지칭한다.

[0107] 바이오-층 간섭계는 생체분자 상호작용을 측정하기 위한 비표지 기술이다. 이는, 2개의 표면(바이오센서 팁에 고정된 단백질층 및 내부 기준층)으로부터 반사된 백색 광의 간섭 패턴을 분석하는 광학 분석 기술이다. 바이오센서 팁에 결합된 분자 수의 임의의 변화는 간섭 패턴을 변위시키고, 이는 실시간으로 측정될 수 있다(Abdiche, Y.N. 등, Analytical Biochemistry, (2008), 377(2), 209-217). 특정 구현예에서, "실시간 바이오-층 간섭계 기반 바이오 센서(Octet HTX 분석)"가 특정 항-인플루엔자 HA 항체의 결합 특성을 평가하는 데 사용되었다.

[0108] 용어 "에피토프"는 파라토프로서 알려진 항체 분자의 가변 영역에서 특이적 항원 결합 부위와 상호 작용하는 항원 결정자를 지칭한다. 단일 항원은 하나 이상의 에피토프를 가질 수 있다. 따라서, 상이한 항체는 항원 상의 상이한 영역에 결합할 수 있고 상이한 생물학적 효능을 가질 수 있다. 용어 "에피토프"는 또한 B 및/또는 T 세포가 반응하는 항원 상의 부위를 지칭한다. 이는 또한 항체에 의해 결합되는 항원의 영역을 지칭한다. 에피토프는 구조적 또는 기능적으로 정의될 수도 있다. 기능적 에피토프는 일반적으로 구조적 에피토프의 서브세트이며, 상호 작용의 친화도에 직접 기여하는 잔기들을 갖는다. 에피토프는 (비선형 아미노산으로 이루어진) 입체 구조일 수도 있다. 특정 구현예에서, 에피토프는 아미노산, 당 측쇄, 포스포릴 기 또는 설포닐 기와 같은, 분자들의 화학적으로 활성 표면군인 결정기를 포함할 수 있으며, 소정의 실시예들에서, 특이적인 3차원 구조적 특성, 및/또는 특이적인 전하 특성을 가질 수도 있다.

[0109] 본원에서 사용되는 용어 "교차-경쟁"은, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 항원에 결합하여 또 다른 항원 또는 이의 항원 결합 단편의 결합을 억제하거나 차단하는 것을 의미한다. 이 용어는 두 항체 간의 양방향 경쟁, 즉, 제1 항체가 결합하여 제2 항체의 결합을 차단하는 것 및 그 반대의 경우도 포함한다. 특정 구현예에서, 제1 항체 및 제2 항체는 동일한 에피토프에 결합할 수 있다. 대안적으로, 한 항체의 결합이, 예를 들어, 입체 장애(steric hindrance)를 통해 제2 항체의 결합을 억제하거나 차단하도록, 제1 및 제2 항체는 상이하지만 중첩하는 에피토프에 결합할 수 있다. 항체 간의 교차 경쟁은 당업계에 알려진 방법, 예를 들어, 실시간 비표지 바이오-층 간섭계 검정에 의해 측정될 수 있다. 시험 항체가 기준 항-인플루엔자 B 항체와 교차 경쟁하는지를 결정하기 위해, 포화 조건 하에서 기준 항체를 인플루엔자 바이러스 HA 또는 펩티드에 결합시킨다. 다음으로, 인플루엔자 바이러스 HA에 결합하는 시험 항체의 능력을 평가한다. 시험 항체가 기준 항-인플루엔자 바이러스 HA 항체와의 포화 결합 후에 인플루엔자 바이러스 HA에 결합할 수 있는 경우, 시험 항체는 기준 항-인플루엔자 바이러스 HA 항체와 다른 에피토프에 결합한다고 결론을 내릴 수 있다. 반면, 시험 항체가 기준 항-인플루엔자 바이러스 HA 항체와의 포화 결합 후에 인플루엔자 바이러스 HA에 결합할 수 없는 경우, 시험 항체는 기준 항-인플루엔자 바이러스 HA 항체가 결합한 에피토프와 동일한 에피토프에 결합할 수 있다.

[0110] "치료적 유효량"이라는 구절은 투여에 의해 원하는 효과를 생산하는 양을 의미한다. 정확한 양은 치료의 목적에 따라 달라질 것이고, 공지된 기술을 사용하여 당업자에 의해 확인될 수 있을 것이다(예를 들어, Lloyd (1999) The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding 참조).

[0111] 본원에서 사용되는 용어 "대상체"는 바이러스 감염증과 같은 질환 또는 장애의 개선, 예방 및/또는 치료를 필요로 하는 동물, 예를 들어, 인간과 같은 포유동물을 지칭한다. 대상체는 인플루엔자 감염증을 가질 수 있거나 인플루엔자 바이러스 감염증이 발생하기 쉽다. "인플루엔자 바이러스 감염증에 걸리기 쉬운" 대상체 또는 "인플루엔자 바이러스 감염증에 걸릴 위험이 증가한" 대상체는 자가면역 질환때문에 면역체계가 손상된 대상체, (예를 들어, 장기 이식 후) 면역억제 요법을 투여받고 있는 사람들, 또는 인간 면역 결핍 증후군(HIV) 또는 후천성 면역 결핍증후군(AIDS)에 걸렸거나, 백혈구를 고갈시키거나 파괴하는 특정 형태의 빈혈증에 걸린 사람들, 방사선 또는 화학요법으로 치료 중인 사람들, 또는 염증성 장애에 걸린 사람들이다. 또한, 극단적으로 어리거나 나이가 많은 대상체는 위험성이 높다. 감염된 개인과 신체적으로 접촉하거나 신체적으로 근접한 모든 사람에게서 인플루엔자 바이러스 감염증의 발생 위험이 증가한다. 또한, 대상체가 질환의 발발 상황에 직면함으로 인해, 예를 들어, 대상체가 인구 밀집 도시에 거주하거나, 인플루엔자 바이러스 감염증이 확진되었거나 의심되는 대상체와 밀접한 근위에 있거나, 직업 선택으로 인해, 예를 들어, 병원 근무자, 제약 연구원이거나, 감염된 지역으로 출장을 가야 하거나, 이동이 잦은 직업인 경우 인플루엔자 감염증에 걸릴 위험이 있다.

[0112] 본원에서 사용되는 용어 "치료하다", "치료하는", 또는 "치료"는 인플루엔자 감염증의 적어도 하나의 증상 또는 징후의 중증도가 본원에 개시된 항체와 같은 치료제를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여함으로써 감소 또는 개선되는 것을 지칭한다. 이 용어는 질환 진행 또는 감염증 악화를 억제하는 것을 포함한다. 이 용어는 질환의 긍정적 예후를 또한 포함한다, 즉, 본원에 개시된 항체와 같은 치료제의 투여 시 대상체에게 감염증이 없어질 수 있거나, 바이러스 역가가 감소하거나 없어질 수 있다. 치료제는 치료적 투여량으로 대상에게 투여될 수 있다.

[0113] 용어 "예방하다", "예방하는" 또는 "예방"은 본원에 개시된 항체의 투여로 인플루엔자 감염증의 발현 또는 인플루엔자 감염증의 증상 또는 징후를 억제하는 것을 지칭한다. 이 용어는 바이러스에 노출되었거나 인플루엔자 감염증에 걸릴 위험이 있는 대상체에서의 감염증의 확산을 방지하는 것을 포함한다.

[0114] 본원에서 사용되는 "보호 효과"는 항-바이러스제와 같은 제제, 또는 본원에 개시된 항-인플루엔자-HA 항체와 같은 항체가 다음 중 임의의 하나 이상을 보여줄 수 있는지의 여부를 결정하는 당업계에 공지된 임의의 표준 절차에 의해 입증될 수 있다: 예를 들어, (치료를 받지 않았고 감염원에도 노출된 비교 가능한 대상체의 집단에 비해) 감염원에 노출된 후 대상체 집단의 생존율 증가, (치료 전 대상체에 비해) 바이러스 양의 감소, 또는 (치료 전 대상체에 비해) 감염원과 연관된 적어도 하나의 증상의 개선.

[0115] 본원에서 사용되는 용어 "항바이러스제"는 대상체에서 바이러스 감염증을 치료, 예방 또는 개선하는데 사용되는 임의의 항감염 약물 또는 요법을 의미한다. 용어 "항바이러스제"는 TAMIFLU®(오셀타미비르), RELENZA®(자나미비르), 발록사비르, 마르복실, 리바비린, 또는 인터페론-알파2b를 포함하나 이에 한정되지 않는다. "항바이러스제"는 또한 항바이러스 항체를 포함한다. 예를 들어, 항바이러스제는 인플루엔자 감염(예를 들어, 인플루엔자 A, 인플루엔자 B, 또는 둘 모두)을 치료, 예방 또는 개선하는 데 사용되는 항체일 수 있다. 이러한 항체는 인플루엔자 A, 인플루엔자 B, 또는 둘 모두로부터의 헤마글루티닌을 표적화할 수 있다. 본 개시에서, 치료 대상 감염증은 인플루엔자 바이러스에 의해 야기된다.

[0116] **일반적인 설명**

[0117] 인플루엔자는 (인플루엔자 바이러스인) 오르토믹소바이러스과(Orthomyxoviridae family)의 RNA 바이러스에 의해 야기되는 감염성 질환이다. 인플루엔자 바이러스는 코어 단백질을 기준으로 4개의 속 A, B, C 및 D로 분류되고, 이는 추가로 바이러스 외피 당단백질인 헤마글루티닌(HA)과 뉴라미니다아제(NA)에 의해 결정된 아형으로 나누어진다. 인플루엔자 B 바이러스는 1970년대에 2개의 항원적으로 구별 가능한 계통, 현재 빅토리아(Victoria) 및 야마가타(Yamagata) 계통으로 알려져 있는 B/Victoria/2/87 및 B/Yamagata/16/88으로 분기되기 시작한 균질한 군을 형성한다. 인플루엔자 A 바이러스는 다양한 포유동물과 조류 종을 감염시키는 반면, B형 및 C형 감염증은 주로 인간에게 제한된다. 인플루엔자 D는 주로 소를 감염시키지만 인간을 감염시키지는 않는다. A형과 B형만 문제의 인간 질환을 야기한다.

[0118] 인플루엔자 바이러스의 높은 돌연변이 속도와 빈번한 유전자 재편은 HA 및 NA 항원의 큰 가변성에 기여한다. 작은 변화("항원 소변이")를 일으키는 경미한 점 돌연변이는 비교적 자주 발생한다. 항원 소변이는 바이러스가 면역 인식을 회피할 수 있게 하여, 대유행 간에 인플루엔자가 반복적으로 발발하게 한다. HA 항원의 주요 변화("

항원 대변이")는 상이한 인플루엔자 아형에서 유래된 유전 물질의 재편에 의해 야기된다. 새로운 대유행 균주를 생성하는 항원 대변이는 드문 사건이며, 예를 들어 공-감염 돼지에서의 동물 및 인간 아형간의 재편을 통해 발생한다.

[0119] HA는 동종-3량체 전구체 폴리펩티드 HA0으로서 합성된다. 각각의 단량체는 번역 후 독립적으로 절단되어, 단일 이황화 결합에 의해 연결된 2개의 폴리펩티드, HA1 및 HA2를 형성한다. 더 큰 N-말단 단편(HAL 320 내지 330 아미노산)은 바이러스 중화 항체에 의해 인식되는 수용체-결합 부위 및 대부분의 결정기를 함유하는 막원위 구형 도메인을 형성한다. HA의 HA1 폴리펩티드는 세포 표면에 대한 바이러스를 부착시키는 역할을 한다. 더 작은 C-말단 부분(HA2, 대략 180 아미노산)은 구형 도메인을 세포막 또는 바이러스막에 고정시키는 줄기 유사 구조를 형성한다. HA2 폴리펩티드는 엔도솜에서 바이러스막과 세포막의 융합을 매개하여 리보핵산단백질 복합체를 세포질 내로 방출시킨다.

[0120] 수십 년간의 연구에도 불구하고, 인플루엔자 B 감염증을 광범위하게 중화 또는 억제하거나, 인플루엔자 B 바이러스에 의해 유발된 질환을 역독화하는 항체는 아직 시판되지 않고 있다. 따라서, 인플루엔자 B 바이러스의 다수의 아형을 중화하고, 인플루엔자 B 감염증을 예방하거나 치료하는 데 위약으로서 사용될 수 있는 약물로서 사용될 수 있는 새로운 항체를 식별할 필요가 있다.

[0121] 감염성 질환의 예방 또는 치료를 위한 수동 면역 요법은 일반적으로 높은 역가의 중화 항체를 함유하는 회복기 인간 혈청(convalescent human sera)의 형태로 1세기 이상 사용되어 왔다(Good 등, 1991; Cancer 68: 1415-1421). 오늘날, 다수의 정제된 단클론 항체가 현재 항균제로서 사용하기 위한 전임상 및 임상 개발 단계에 있다(Marasco 등, 2007; Nature Biotechnology 25: 1421-1434).

[0122] 본 발명자들은, 인플루엔자 헤마글루티닌에 특이적으로 결합하여 인플루엔자 바이러스와 숙주 세포와의 상호 작용을 조절하는 완전한 인간 항체 및 이의 항원 결합 단편을 본원에 기술하였다. 항-인플루엔자 B HA 항체는 높은 친화도로 인플루엔자 B 바이러스 HA에 결합할 수 있다. 특정 구현예에서, 본원에 개시된 항체는 차단 항체로서, 이 항체는 인플루엔자 HA에 결합하여, 바이러스 세포가 숙주 세포에 부착되고/되거나 숙주 세포 내로 진입하는 것을 차단할 수 있다. 일부 구현예에서, 차단 항체는 세포에 대한 인플루엔자 바이러스의 결합을 차단할 수 있고, 이와 같이 숙주 세포의 바이러스 감염성을 억제하거나 중화시킬 수 있다. 일부 구현예에서, 차단 항체는 인플루엔자 바이러스 감염증을 앓고 있는 대상체를 치료하는 데 유용할 수 있다. 항체는, 이를 필요로 하는 대상체에게 투여될 때, 대상체에서 인플루엔자와 같은 바이러스에 의한 감염을 감소시킬 수 있다. 이들은 치료되지 않은 대상체에 비해 대상체에서 바이러스 양을 줄이는 데 사용될 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나, 바이러스 감염증을 치료하기 위한 당업계에 공지된 다른 치료적 모이어티 또는 방법과 함께 보조 요법으로서 사용될 수 있다. 특정 구현예에서, 이들 항체는 바이러스 HA의 줄기 영역에 있는 에피토프에 결합할 수 있다. 또한, 식별된 항체는 감염증으로부터 동물(예를 들어, 포유동물)를 보호하기 위해 (감염 전에) 예방적으로 사용되거나, 이전에 확립된 감염증을 완화시키거나 감염증과 관련된 적어도 하나의 증상을 완화시키기 위해 (감염증이 확립된 후에) 치료적으로 사용될 수 있다.

[0123] 예시적인 인플루엔자 B HA의 전장 아미노산 서열은, 수탁번호 AAA43697.1(B/Victoria/2/87 유래, 또한 서열번호 21 참조), 수탁번호 AAD02807.1(B/Nanchanang/3451/93 유래 부분 서열, 또한 서열번호 22 참조), 수탁번호 ABN50712.1(B/Singapore/11/1994 유래, 또한 서열번호 23 참조), 및 수탁번호 ACA33493.1(B/Florida/4/2006 유래, 또한 서열번호 24 참조)와 같이 GenBank에 제시된다.

[0124] 특정 구현예에서, 항체는 전장 인플루엔자 B HA와 같은 1차 면역원 또는 재조합 형태의 인플루엔자 B HA 또는 이의 단편으로 면역화되고, 이어서 2차 면역원으로 또는 면역력이 부여된 인플루엔자 B HA의 활성 단편으로 면역화된 마우스로부터 수득된다. 특정 구현예에서, 항체는 인플루엔자 백신 조성물로 면역화되고, 이어서 하나 이상의 재조합적으로 생산된 HA 펩티드로 추가 면역화된 마우스로부터 수득된다. 예를 들어, B/Victoria/2/87로 마우스를 면역화한 후, B/Yamagata/16/88로 이어서 면역화한 다음, 다시 B/Victoria/2/87로 면역화하거나, B/Yamagata/16/88로 마우스를 면역화한 후, B/Victoria/2/87로 면역화한 다음, 다시 B/Yamagata/16/88로 면역화함으로써 항체를 수득할 수 있다. 일부 양태에서, B/Yamagata 균주는 B/Maryland/03/2008 또는 B/Florida/4/2006 또는 B/Nanchang/3451/93 또는 B/Singapore/11/1994로 대체될 수 있다. 마우스는 B/Victoria/2/87, B/Yamagata/16/88, B/Maryland/03/2008, B/Nanchang/3451/93, B/Singapore/11/1994, 및/또는 B/Florida/4/2006 유래의 HA를 암호화하는 DNA의 혼합물, 예를 들어 B/Victoria/2/87 및 B/Yamagata/16/88 유래의 HA를 암호화하는 DAN의 1:1 혼합물로 부스팅될 수 있다.

[0125] 면역원은 인플루엔자 B HA의 생물학적 활성 단편 및/또는 면역원성 단편이거나, 이의 활성 단편을 암호화하는

DNA일 수 있다. 단편은 HA 단백질의 줄기 영역으로부터 유래될 수 있다.

[0126] 펩티드는 태그 부착을 위해 특정 잔기의 추가 또는 치환을 포함하도록 변형되거나, KLH와 같은 담체 분자에 접합시키기 위해 변형될 수 있다. 예를 들어, 시스테인이 펩티드의 N 말단 또는 C 말단 단부 중 하나에 추가되거나, 예를 들어, 면역화를 위해 KLH에 접합하기 위한 펩티드를 제조하기 위해 링커 서열이 추가될 수 있다.

[0127] 시험관 내 또는 생체 내 분석으로 결정했을 때, 본원에 개시된 특정 항-인플루엔자 B HA 항체는 인플루엔자 B HA에 결합하여 이의 활성을 중화시킬 수 있다. 인플루엔자 B HA에 결합하여 이의 활성을 중화시킴으로써, 바이러스가 숙주 세포에 부착되고/되거나 숙주 세포 내로 진입한 다음 바이러스 감염을 일으키는 것을 중화시키는 항체의 능력은, 본원에 기술된 바와 같은 결합 분석 또는 활성 분석을 포함하는 당업자에게 공지된 임의의 표준 방법을 사용해 측정될 수 있다.

[0128] 결합 활성을 측정하기 위한 비제한적인 예시적 시험관 내 분석은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 인플루엔자 B HA에 대한 항-인플루엔자 B HA 항체의 결합 친화도 및 해리 상수는 Biacore 기기를 사용하여 표면 플라스몬 공명에 의해 결정될 수 있다. 중화 분석을 사용하여 인플루엔자 B 바이러스의 다양한 균주의 감염성을 결정할 수 있다. 인플루엔자 B HA에 대한 항체는 보체 의존성 세포독성(CDC)을 매개할 수 있거나, 시험관 내에서 바이러스 감염 세포의 항체 의존성 세포 매개 세포독성(ADCC)을 매개할 수 있다. 예시적인 항체는 생체 내에서 인플루엔자 B 감염을 중화시킬 수 있다.

[0129] 인플루엔자 B HA에 특이적인 항체는 추가의 표지 또는 모이어티를 함유하지 않거나, N-말단 또는 C-말단 표지 또는 모이어티를 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 표지 또는 모이어티는 비오틴이다. 결합 분석에서, 표지의 위치(있는 경우)를 통해 펩티드가 결합되는 표면에 대한 펩티드의 상대적인 배향을 결정할 수 있다. 예를 들어, 표면이 아비딘으로 코팅된 경우, N-말단 비오틴을 함유하는 펩티드는 펩티드의 C-말단 부분이 표면에 대해 원위에 있도록 배향될 것이다. 일부 구현예에서, 표지는 방사성핵종, 형광 염료 또는 MRI-검출형 표지일 수 있다. 특정 구현예에서, 이러한 표지된 항체는 영상 분석을 포함하는 진단 분석에 사용될 수 있다.

[0130] **항체 및 항체의 항원 결합 단편**

[0131] *항체*

[0132] 본원에서 사용되는 용어 "항체"는 4개의 폴리펩티드 사슬, 이황화 결합에 의해 상호 연결된 2개의 중쇄(H) 및 2개의 경쇄(L) (즉, "완전한 항체(full antibody) 분자")를 포함하는 면역글로불린 분자뿐만 아니라, 이의 다량체(예를 들어, IgM) 또는 이의 항원 결합 단편을 지칭하도록 의도된다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역("HCVR" 또는 "V_H") 및 중쇄 불변 영역(도메인 C_H1, C_H2 및 C_H3을 포함함)을 포함한다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역("LCVR" 또는 "V_L") 및 경쇄 불변 영역(C_L)을 포함한다. V_H와 V_L 영역은, 프레임워크 영역(FR)으로 지칭되는 보다 보존적인 영역이 중간에 끼어 있는 상보성 결정 영역(CDR)으로 명명된 초가변 영역으로 추가로 세분화될 수 있다. 각각의 V_H 및 V_L은 아미노 말단에서 카르복시 말단의 방향으로 다음 순서로 배열된 3개의 CDR과 4개의 FR을 포함한다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 아미노산 공통 서열은 둘 이상의 CDR의 병렬 분석에 기초하여 정의될 수 있다.

[0133] 본원에서 사용되는 용어 "인간 항체"는 인간 생식선 면역글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 갖는 항체를 포함하도록 의도된다. 인간 단클론 항체는 인간 생식선 면역글로불린 서열에 의해 암호화되지 않은 아미노산 잔기(예를 들어, 시험관 내 무작위 또는 부위 특이적 돌연변이 유발에 의하거나 생체 내 체세포성 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를, 예를 들어 CDR에, 구체적으로는 CDR3에 포함할 수 있다. 그러나, 본원에서 사용되는 용어 "인간 항체"는 또 다른 포유동물 종(예를 들어, 마우스)의 생식선으로부터 유도된 CDR 서열이 인간 FR 서열 상에 이식된 단클론 항체를 포함하도록 의도되지는 않는다. 전술한 용어는 비인간 포유동물 또는 비인간 포유동물의 세포에서 재조합적으로 생성되는 항체를 포함한다. 전술한 용어는 인간 대상체로부터 단리되었거나 인간 대상체에서 생성된 항체를 포함하도록 의도되지 않는다.

[0134] 본원에서 사용되는, 용어 "재조합"은 예를 들어, 스플라이싱 및 이식유전자 발현을 포함하는 재조합 DNA 기술로서 당업계에 알려진 기술 또는 방법에 의해 생성, 발현, 단리, 또는 수득된 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 지칭한다. 이 용어는 비인간 포유동물(예를 들어, 유전자이식 마우스와 같은 유전자이식 비인간 포유동물 포함) 또는 세포(예를 들어, CHO 세포) 발현 시스템에서 발현되거나, 재조합 조합 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체를 지칭한다.

[0135] 용어 "특이적으로 결합하는" 또는 "~에 특이적으로 결합하는" 등은 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 생리학적

조건 하에서 비교적 안정한 항원과 복합체를 형성하는 것을 의미한다. 특이적 결합은 적어도 약 1 x 10^{-8} M 미만의 평형 해리 상수를 특징으로 할 수 있다(예를 들어, K_D가 작을수록 결합이 더 밀접함). 2개의 분자가 특이적으로 상호 간에 결합하는지 여부를 결정하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있고, 예를 들어, 평형 투석, 표면 플라스몬 공명 등을 포함한다. 본원에 기술된 바와 같이, 항체는 인플루엔자-HA에 특이적으로 결합하는 Octet® HTX 바이오센서를 이용한 실시간, 비표지 바이오층 간섭계 분석에 의해 식별되었다. 또한, 인플루엔자-HA 내의 하나의 도메인 및 하나 이상의 추가 항원에 결합하는 다중 특이적 항체 및 인플루엔자-HA의 2개의 상이한 영역에 결합하는 이중특이적 항체는, 그럼에도 불구하고 본원에서 사용되는 바와 같이 "특이적으로 결합하는"항체로 간주된다.

[0136] 용어 "고 친화도" 항체는, Octet® HTX 바이오센서와 같은 실시간 비표지 바이오층 간섭계 검정 또는 BIACORE™과 같은 표면 플라스몬 공명 또는 용액-친화도 ELISA에 의해 측정했을 때 적어도 약 10^{-8} M; 적어도 약 10^{-9} M; 적어도 약 10^{-10} M; 또는 적어도 약 10^{-11} M의 K_D로 표현되는, 인플루엔자-HA에 대한 결합 친화도를 갖는 단클론 항체를 지칭한다.

[0137] 용어 "느린 해리 속도", "K_{off}" 또는 "k_d"는 Octet® HTX 바이오센서와 같은 실시간 비표지 바이오층 간섭계 검정 또는 BIACORE™과 같은 표면 플라스몬 공명에 의해 측정했을 때, 항체가 1 x 10^{-3}초$^{-1}$ 이하, 또는 1 x 10^{-4}초$^{-1}$ 이하의 속도 상수로 인플루엔자-HA로부터 해리되는 것을 의미한다.

[0138] 본원에서 사용되는 용어 "K_D"는 특정 항체-항원 상호 작용의 평형 해리 상수를 지칭하도록 의도된다.

[0139] 본원에서 사용되는 용어, 항체의 "항원 결합 부분", 항체의 "항원 결합 단편" 등은 항원에 특이적으로 결합하여 복합체를 형성하는 임의의 자연적인, 또는 효소에 의해 수득할 수 있는, 또는 합성, 또는 유전자 조작된 폴리펩티드 또는 당단백질을 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 항체의 "항원 결합 단편" 또는 "항체 단편"은 인플루엔자 HA에 결합하는 능력을 보유하는 항체의 하나 이상의 단편을 지칭한다.

[0140] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 항체 또는 항체 단편은 리간드와 같은 모이어티 또는 항바이러스제, 제2 항-인플루엔자 항체 또는 인플루엔자 바이러스에 의해 야기되는 감염증 치료에 유용한 임의의 다른 치료 모이어티와 같은 치료 모이어티("면역접합체")에 접합될 수 있다.

[0141] 본원에서 사용되는 "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체(Ab)가 실질적으로 없는 항체를 지칭하도록 의도된다(예를 들어, 인플루엔자-HA에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 또는 이의 단편은 인플루엔자-HA 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 Ab가 실질적으로 없음).

[0142] 본원에서 사용되는 "차단 항체" 또는 "중화 항체"(또는 "인플루엔자-HA 활성을 중화시키는 항체" 또는 "길항제 항체")는 인플루엔자-HA에 대한 결합으로 인해 인플루엔자-HA의 적어도 하나의 생물학적 활성의 억제하는 항체를 지칭하도록 의도된다. 예를 들어, 본원에 제공된 항체는 인플루엔자가 숙주 세포에 부착되거나 숙주 세포 내로 진입하는 것을 예방하거나 차단할 수 있다. 또한, "중화 항체"는 숙주에서 감염증을 개시하고/하거나 영속시키는 병원균의 능력을 중화시킬 수 있는 것, 즉, 방지, 억제, 감소, 방해 또는 간섭할 수 있는 것이다. 용어 "중화 항체" 및 "중화시키는 항체" 또는 "중화시키는 항체들"은 본원에서 상호 교환적으로 사용된다. 이러한 항체는 예방제 또는 치료제로서 단독으로 사용되거나 다른 항-바이러스제와 조합하여 적절한 제형으로 사용되거나, 활성 백신접종과 결합하여 사용되거나, 진단 도구로서 사용될 수 있다.

[0143] *항원 결합 단편*

[0144] 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, 본원에서 사용되는 용어 "항체"는 2개의 면역글로불린 중쇄 및 2개의 면역글로불린 경쇄(즉, "전체 항체 분자")를 비롯하여 이들의 항원 결합 단편을 포함하는 항체 분자를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본원에서 사용되는 용어, 항체의 "항원 결합 부분", 항체의 "항원 결합 단편" 등은 항원에 특이적으로 결합하여 복합체를 형성하는 임의의 자연적인, 또는 효소에 의해 수득할 수 있는, 또는 합성, 또는 유전자 조작된 폴리펩티드 또는 당단백질을 포함한다. 본원에서 사용되는 용어, 항체의 "항원 결합 단편" 또는 "항체 단편"은 인플루엔자 B HA에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체의 하나 이상의 단편을 지칭한다. 항체 단편은 Fab 단편, $F(ab')_2$ 단편, Fv 단편, dAb 단편, CDR 함유 단편, 또는 단리된 CDR을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 용어 "항원 결합 단편"은 다중특이적 항원 결합 분자의 폴리펩티드 단편을 지칭한다. 항체의 항원 결합 단편은 임의의 적합한 표준 기법, 예를 들어, 단백질 가수분해성 소화 또는 항체 가변 도메인

및 (선택적으로) 불변 도메인을 암호화하는 DNA의 조작 및 발현을 포함하는 재조합 유전자 조작 기법을 사용하여 전체 항체 분자로부터 유도될 수 있다. 이러한 DNA는 공지되어 있고/있거나, 예를 들어 상업적인 공급원, (예를 들어, 파지-항체 라이브러리 포함하는) DNA 라이브러리로부터 용이하게 이용할 수 있거나, 합성될 수 있다. 이러한 DNA는 서열화될 수 있고, 예를 들어 하나 이상의 가변 및/또는 불변 도메인을 적절한 구성으로 배열하기 위해, 또는 코돈을 도입하고, 시스테인 잔기를 생성하며, 아미노산을 변형, 첨가 또는 결실시키기 위해서 등, 화학적으로 또는 분자 생물학 기법을 사용하여 조작될 수 있다

[0145] 항원 결합 단편의 비제한적 예는: (i) Fab 단편; (ii) F(ab')2 단편; (iii) Fd 단편; (iv) Fv 단편; (v) 단쇄 Fv(scFv) 분자; (vi) dAb 단편; 및 (vii) 항체의 초가변 영역(예를 들어, CDR3 펩티드와 같은 단리된 상보성 결정 영역(CDR))을 모방하는 아미노산 잔기, 또는 제한된 FR3-CDR3-FR4 펩티드로 이루어진 최소 인지 단위를 포함한다. 다른 조작된 분자, 예를 들어, 도메인 특이적 항체, 단일 도메인 항체, 도메인-결실 항체, 키메라 항체, CDR-이식 항체, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, 미니바디, 나노바디(예를 들어, 1가 나노바디, 2가 나노바디 등), 작은 모듈형 면역치료제(SMIP), 및 상어 가변 IgNAR 도메인 등도 본원에서 사용되는 "항원 결합 단편"이란 표현에 포함된다.

[0146] 항체의 항원 결합 단편은 일반적으로 적어도 하나의 가변 도메인을 포함하게 된다. 이러한 가변 도메인은 임의의 크기 또는 아미노산 조성을 가질 수 있고, 하나 이상의 프레임워크 서열에 인접하거나 이들과 프레임 내에 있는 적어도 하나의 CDR을 일반적으로 포함하게 된다. V_L 도메인과 결합된 V_H 도메인을 갖는 항원 결합 단편에서, V_H 및 V_L 도메인은 임의의 적절한 배열로 서로에 대해 위치할 수 있다. 예를 들어, 가변 영역은 이량체로서, $V_H - V_H$, $V_H - V_L$ 또는 $V_L - V_L$ 이량체를 포함할 수 있다. 대안적으로, 항체의 항원 결합 단편은 단량체 V_H 또는 V_L 도메인을 포함할 수 있다.

[0147] 특정 구현예에서, 항체의 항원 결합 단편은 적어도 하나의 불변 도메인에 공유 결합된 적어도 하나의 가변 도메인을 포함할 수 있다. 본원에서 유용한 항체의 항원 결합 단편 내에서 발견될 수 있는 가변 및 불변 도메인의 비제한적인 예시적 구성은 다음을 포함한다: (i) V_H -C_H1; (ii) V_H -C_H2; (iii) V_H -C_H3; (iv) V_H -C_H1-C_H2; (v) V_H -C_H1-C_H2-C_H3; (vi) V_H -C_H2-C_H3; (vii) V_H -C_L; (viii) V_L -C_H1; (ix) V_L -C_H2; (x) V_L -C_H3; (xi) V_L -C_H1-C_H2; (xii) V_L -C_H1-C_H2-C_H3; (xiii) V_L -C_H2-C_H3; 및 (xiv) V_L -C_L. 위에서 열거된 임의의 예시적인 구성을 포함하는 가변 및 불변 도메인의 임의의 구성에서, 이러한 가변 및 불변 도메인은 직접적으로 상호간에 연결되거나 또는 전체 또는 부분적인 힌지 또는 링커 영역에 의해 연결될 수 있다. 힌지 영역은 단일 폴리펩티드 분자의 인접한 가변 및/또는 불변 도메인 사이에 가요성 또는 반 가요성 연결을 초래하는 적어도 2개(예를 들어, 5, 10, 15, 20, 40, 60개 또는 그 이상)의 아미노산으로 구성될 수 있다. 또한, 본원에 개시된 항체의 항원 결합 단편은 위에서 열거된 가변 및 불변 도메인 구성 중 어느 하나의 동종-이량체 또는 이종-이량체(또는 다른 다량체)를 포함할 수 있으며, 이들은 (예를 들어, 이황화 결합(들)에 의해) 서로 비공유 결합되고/되거나, 하나 이상의 단량체 V_H 또는 V_L 도메인과 비공유 결합된다.

[0148] 완전 항체 분자와 마찬가지로, 항원 결합 단편은 단일특이적이거나 다중특이적(예를 들어, 이중특이적)일 수 있다. 항체의 다중특이적 항원 결합 단편은 일반적으로 적어도 2개의 상이한 가변 도메인을 포함하게 되며, 여기에서 각각의 가변 도메인은 별도의 항원에 특이적으로 결합할 수 있거나 동일한 항원 상의 상이한 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있다. 본원에 개시된 예시적인 이중특이적 항체 포맷을 포함하여, 임의의 다중특이적 항체 포맷은 당업계에서 이용할 수 있는 일상적인 기술을 사용하여 본원에 개시된 항체의 항원 결합 단편의 맥락에서 사용하기에 적합할 수 있다.

[0149] *항체 및 이의 항원 결합 단편에 대한 변형*

[0150] 특정 구현예에서, 항체(또는 이의 항원 결합 단편)의 프레임워크 영역은 인간 생식선 서열과 동일하거나, 예를 들어, 본원에 제공된 항체의 서열과 동일할 수 있거나, 또는 자연적으로 또는 인공적으로 변형될 수 있다. 주어진 프레임워크 영역(또는 하나 이상의 프레임워크 영역)에서 하나 이상의 아미노산이 치환될 수 있고, 치환(들)은 보존적 또는 비보존적 치환일 수 있다. 하나 이상의 CDR 잔기의 치환 또는 하나 이상의 CDR의 생략도 가능하다. 결합을 위해 1개 또는 2개의 CDR이 분배될 수 있는 항체가 과학 문헌에 기술되어 왔다. Padlan 등(1995 FASEB J. 9:133-139)은 항체와 이들의 항원 간의 접촉 영역을 공개된 결정 구조에 기초하여 분석하였고, CDR 잔기의 약 1/5 내지 1/3만이 항원과 실제로 접촉한다고 결론지었다. Padlan은 또한 항원과 접촉하는 아미노산이 없는 1개 또는 2개의 CDR을 가진 많은 항체를 발견하였다(또한, Vajdos 등, 2002 J Mol Biol 320:415-428

참조). 따라서, 본원에 제공된 항체는, 변형된 항체가 하나 이상의 바람직한 특성, 예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 10^{-10} M 미만의 EC_{50}으로 인플루엔자 B HA에 결합하고/하거나; 전술한 투여가 없는 비교 가능한 인플루엔자 감염 동물과 비교하여 전술한 인플루엔자 감염 동물에 대한 투여 후 인플루엔자 감염 동물의 생존율 증가를 나타내는 한, CDR 영역 및/또는 프레임워크 영역에서 효과적으로 변형될 수 있다.

[0151] 주어진 CDR에 대한 변형은 본원에 제공된 항체로부터의 CDR 서열에 대해 이루어질 수 있고, 변형은 보존적 또는 비보존적 치환을 포함할 수 있다. 바람직한 치환은 분자 모델링 및/또는 경험적으로 결정될 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 CDR 잔기들이 또 다른 인간 항체 서열에서 상응하는 위치를 차지하는 아미노산 또는 이러한 서열의 공통 서열로 치환될 수 있다.

[0152] 또한, 변형된 항체(항원 결합 단편이라고도 함)가 인플루엔자 B HA에 대한 결합을 유지하는 한, 이의 항원 결합 단편은 본원에 개시된 항체일 수 있지만, 하나 이상의 CDR 및/또는 하나 이상의 프레임워크 영역을 생략하도록 변형될 수 있다.

[0153] 항원과 접촉하지 않는 CDR 잔기는 분자 모델링에 의해/의하거나 경험적으로 Chotia CDR의 외부에 위치하는 Kabat CDR의 영역으로부터 이전 연구(예를 들어, HCDR2에서의 잔기 H60-H65는 종종 필요하지 않음)에 기초하여 식별될 수 있다. 본원에 제공된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 주어진 CDR, 특히 항원과 접촉하지 않는 CDR을 제거 또는 대체하도록 변형될 수 있다. 경쇄 CDR은, 예를 들어, 범용 경쇄 CDR로 대체될 수 있다.

[0154] 본원에 제공된 완전한 인간 항-인플루엔자-HA 단클론 항체는 이에 상응하는 생식계열 서열 또는 본원에 제공된 서열에 비해 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 프레임워크에 포함할 수 있고/있거나 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 CDR 영역을 포함할 수 있다. 이러한 변형 또는 돌연변이는, 본원에 개시된 아미노산 서열을, 예를 들어, 공공 항체 서열 데이터베이스로부터 이용 가능한 생식선 서열과 비교함으로써, 또는 아미노산 서열을 본원에 제공된 항체의 서열, 예를 들어, 표 1에 제공된 항체 서열 중 어느 하나와 비교함으로써 용이하게 확인할 수 있다.

[0155] 본 개시는 본원에 개시된 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 유래된 항체 및 이의 항원 결합 단편을 포함하며, 여기에서, 변형된 항체가 하나 이상의 바람직한 특성, 예를 들어, 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 약 10^{-10} M 미만의 EC_{50}으로 인플루엔자 B HA에 결합하고/하거나; 전술한 투여가 없는 비교 가능한 인플루엔자 감염 동물과 비교하여 전술한 인플루엔자 감염 동물에 대한 투여 후 인플루엔자 감염 동물의 생존율 증가를 나타내는 한, 하나 이상의 프레임워크 영역 및/또는 CDR 영역 내의 하나 이상의 아미노산은 변형될 수 있다. 일단 수득되면, 프레임워크 영역 및/또는 CDR 영역에 대한 하나 이상의 변형을 포함하는 항체 및 항원 결합 단편은, 개선된 결합 특이성, 증가된 결합 친화도, 개선되거나 강화된 길항성 또는 작동성 생물학적 특성(경우에 따라), 감소된 면역원성 등과 같은 하나 이상의 원하는 특성에 대해 용이하게 시험될 수 있다.

[0156] 본 개시는 또한, 본원에 개시된 아미노산 서열 중 어느 하나로부터 유래된 항체 및 이의 항원 결합 단편을 포함하되, 하나 이상의 프레임워크 영역 및/또는 CDR 영역 내의 하나 이상의 아미노산은 항체가 유래된 생식계열 서열의 상응하는 잔기(들)로 돌연변이되거나, 또 다른 인간 생식계열 서열의 상응하는 잔기(들)로 돌연변이되거나, 상응하는 생식계열 잔기(들)의 보존적 아미노산 치환으로 돌연변이될 수 있다(이러한 서열 변화는 본원에서 "생식계열 돌연변이"로서 통칭한다). 당업자는, 본원에 개시된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열에서 출발하여, 하나 이상의 개별 변형 또는 생식선 돌연변이 또는 이들의 조합을 포함하는 다수의 항체 및 항원 결합 단편을 용이하게 생산할 수 있다. 특정 구현예에서, V_H 및/또는 V_L 도메인 내의 프레임워크 및/또는 CDR 잔기의 전부는, 항체가 유래된 원래의 생식선 서열에서 발견되는 잔기로 다시 돌연변이된다. 다른 구현예에서, 특정한 잔기만이, 예를 들어, FR1의 처음 8개의 아미노산 또는 FR4의 마지막 8개의 아미노산 내에서 발견되는 돌연변이된 잔기, 또는 CDR1, CDR2 또는 CDR3에서 발견되는 돌연변이된 잔기만이 원래의 생식선 서열로 다시 돌연변이된다. 다른 구현예에서, 프레임워크 및/또는 CDR 잔기(들) 중 하나 이상은 상이한 생식선 서열(즉, 항체가 유래된 원래의 생식선 서열과 상이한 생식선 서열)의 상응하는 잔기(들)로 돌연변이된다. 또한, 본원에 개시된 항체는 프레임워크 및/또는 CDR 영역 내의 2개 이상의 생식선 돌연변이의 임의의 조합을 함유할 수 있는데, 예를 들어, 특정 개별 잔기는 특정 생식선 서열의 상응하는 잔기로 돌연변이 되는 반면, 원래의 생식선 서열과 상이한 특정한 다른 잔기는 유지되거나, 상이한 생식선 서열의 상응하는 잔기로 돌연변이 된다. 일단 수득되면, 하나 이상의 생식계열 돌연변이를 포함하는 항체 및 항원 결합 단편은, 개선된 결합 특이성, 증가된 결합 친화도, 개선되거나 강화된 길항성 또는 작동성 생물학적 특성(경우에 따라), 감소된 면역원성 등과 같은 하나 이상의 원하는 특성에 대해 용이하게 시험될 수 있다. 이러한 일반적인 방식으로 수득된 항체 및 항원 결합 단편은 본

개시에 포함된다.

[0157] 본 개시는 CDR 또는 프레임워크 영역에서 본원에 제공된 서열에 "실질적 동일성" 또는 "실질적 유사성"을 갖는 항체를 제공한다. 서열 간의 상이성, 예를 들어, 표 1 또는 표 2에 제공된 서열과 이에 기초하는 변형된 서열 간의 상이성은 "실질적 동일성" 또는 "실질적 유사성"으로 언급된다.

[0158] 핵산 또는 이의 단편을 지칭할 경우, 용어 "실질적 동일성" 또는 "실질적으로 동일한"은, 다른 핵산(또는 다른 핵산의 상보적 가닥)과 최적으로 정렬될 경우, 이하에서 논의되는 바와 같이, 서열 동일성의 임의의 잘 알려진 알고리즘, 예컨대 FASTA, BLAST 또는 GAP에 의해 측정될 경우, 예를 들어 뉴클레오티드 염기의 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5%, 또는 100%인, 뉴클레오티드 서열 동일성 %이 존재한다는 것을 의미한다. 기준 핵산 분자에 대한 실질적 동일성을 갖는 핵산 분자는, 특정 경우에, 기준 핵산 분자에 의해 암호화된 폴리펩티드와 동일하거나 실질적으로 유사한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 암호화할 수 있다.

[0159] 폴리펩티드에 적용된 바와 같이, 용어 "실질적 유사성" 또는 "실질적으로 유사한"은 2개의 펩티드 서열이, 예컨대 디폴트 갭 가중치를 사용하는 GAP 또는 BESTFIT 프로그램에 의해, 최적으로 정렬될 때, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5%, 또는 100% 서열 동일성을 공유하는 것을 의미한다. 일부 양태에서, 동일하지 않은 잔기 위치는 보존적 아미노산 치환만큼 상이하다. "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 화학적 성질(예를 들어, 전하 또는 소수성)을 갖는 측쇄(R기)를 갖는 또 다른 아미노산 잔기에 의해 치환되는 것이다. 일반적으로, 보존적 아미노산 치환은 단백질의 기능적 성질을 실질적으로 변화시키지 않을 것이다. 2개 이상의 아미노산 서열이 보존적 치환만큼 서로 상이한 경우, 유사성의 백분율 또는 정도는 상향으로 조정되어 치환의 보존적 성질을 보정할 수 있다. 이러한 조정을 만드는 수단은 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, Pearson (1994) Methods Mol. Biol. 24: 307-331 참조(이는 참조로서 본원에 통합됨). 유사한 화학적 성질을 갖는 측쇄를 갖는 아미노산의 군의 예는 다음을 포함한다: 1) 지방족 측쇄: 글리신, 알라닌, 발린, 류신, 및 이소류신; 2) 지방족-히드록실 측쇄: 세린 및 트레오닌; 3) 아미드 함유 측쇄: 아스파라긴 및 글루타민; 4) 방향족 측쇄: 페닐알라닌, 티로신, 및 트립토판; 5) 염기성 측쇄: 리신, 아르기닌, 및 히스티딘; 6) 산성 측쇄: 아스파르트산염 및 글루탐산염; 및 7) 황 함유 측쇄: 시스테인 및 메티오닌. 바람직한 보존적 아미노산 치환기는: 발린-류신-이소류신, 페닐알라닌-티로신, 리신-아르기닌, 알라닌-발린, 글루탐산염-아스파르트산염, 및 아스파라긴-글루타민이다. 대안적으로, 보존적 치환은 Gonnet 등의 문헌에 개시된 PAM250 로그 우도 매트릭스에서 양의 값을 갖는 임의의 변화이다(Gonnet 등, (1992) Science 256: 1443 45(이는 참조로서 본원에 통합됨)). "적당한 보존적" 치환은 PAM250 로그 우도 매트릭스에서 음의 값을 갖는 임의의 변화이다.

[0160] 폴리펩티드에 대한 서열 동일성 및/또는 유사성은 일반적으로 서열 분석 소프트웨어를 사용해 측정된다. 단백질 분석 소프트웨어는 보존적 아미노산 치환을 포함하는 다양한 치환, 결실 및 기타 변형에 배정된 유사성 측정치를 사용하여 유사한 서열들을 대조한다. 예를 들어, GCG 소프트웨어는, 상이한 종의 유기체 유래의 상동성 폴리펩티드와 같은 밀접하게 연관된 폴리펩티드 간의 서열 상동성이나 서열 동일성, 또는 야생형 단백질과 이의 뮤테인 사이의 서열 상동성이나 서열 동일성을 결정하기 위한 디폴트 파라미터와 함께 사용될 수 있는 GAP 및 BESTFIT과 같은 프로그램을 포함한다. 예를 들어, GCG 버전 6.1 참조. 폴리펩티드 서열은 FASTA를 디폴트 파라미터 또는 권장 파라미터와 함께 사용해 비교할 수도 있다(GCG 버전 6.1의 프로그램). FASTA(예를 들어, FASTA2 및 FASTA3)는 쿼리 및 검색 서열 사이의 가장 중첩된 영역의 정렬 및 서열 동일성 백분율을 제공한다(Pearson (2000), 전술함). 서열은 또한, 12의 갭 개방 페널티 및 2개의 갭 연장 페널티를 갖는 아핀 갭 검색, 62개의 BLOSUM 매트릭스를 사용하는 Smith-Waterman 상동성 검색 알고리즘을 사용하여 비교될 수 있다. 상이한 유기체 유래의 다수의 서열이 포함된 데이터베이스와 본원에 개시된 서열을 비교할 때 바람직한 또 다른 알고리즘은 디폴트 파라미터를 사용하는 컴퓨터 프로그램인 BLAST, 구체적으로는 BLASTP 또는 TBLASTN이다. 예를 들어, Altschul 등, (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410 및 (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 참조(이들 각각은 참조로서 본원에 통합됨).

[0161] 또한, 하나 이상의 치환(예를 들어, 보존적 치환)을 갖는 본원에 개시된 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 아미노산 서열 중 어느 하나의 변이체를 포함하는 완전한 인간 항-인플루엔자-HA 단클론 항체가 본원에 제공된다. 예를 들어, 본 개시는, 본원에 개시된 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR(예를 들어, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 또는 LCDR3) 아미노산 서열 중 어느 하나에 대해, 20개 이하, 19개 이하, 18개 이하, 17개 이하, 16개 이하, 15개 이

하, 14개 이하, 13개 이하, 12개 이하, 11개 이하, 10개 이하, 9개 이하, 8개 이하, 7개 이하, 6개 이하, 5개 이하, 4개 이하, 3개 이하, 2개 이하, 또는 1개의 아미노산 치환을 갖는 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR을 갖는 항-인플루엔자 B-HA 항체를 포함한다. 예를 들어, 항-인플루엔자 B-HA 항체는, HCVR, LCVR, 및/또는 CDR(예를 들어, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 또는 LCDR3) 아미노산 서열 중 어느 하나에 대해, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1개의 아미노산 치환(예를 들어, 보존적 아미노산 치환)을 포함할 수 있다.

[0162] 예시적으로, 인플루엔자 B HA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공되며, 이는 적어도 1개 내지 최대 50개의 보존적 아미노산 치환, 예를 들어, 적어도 10개 내지 최대 40개의 보존적 아미노산 치환, 또는 적어도 20개 내지 최대 50개의 보존적 아미노산 치환, 또는 적어도 20개 내지 최대 40개의 보존적 아미노산 치환으로 서열번호 2와 상이한 HCVR 아미노산 서열을 포함한다. 또한, 인플루엔자 B HA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공되며, 이는 적어도 1개 내지 최대 50개의 보존적 아미노산 치환, 예를 들어, 적어도 10개 내지 최대 40개의 보존적 아미노산 치환, 또는 적어도 20개 내지 최대 50개의 보존적 아미노산 치환, 또는 적어도 20개 내지 최대 40개의 보존적 아미노산 치환으로 서열번호 10과 상이한 LCVR 아미노산 서열을 포함한다. 이러한 치환은 프레임워크 영역 또는 CDR에 있을 수 있고, 인플루엔자 B HA에 결합하기 위한 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 특이성을 유지할 수 있다.

[0163] 또한, 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산 치환(예를 들어, 보존적 아미노산 치환)으로 서열번호 4와 상이한 아미노산 서열을 갖는 HCDR1을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다. 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산 치환(예를 들어, 보존적 아미노산 치환)으로 서열번호 6과 상이한 아미노산 서열을 갖는 HCDR2를 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다. 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산 치환(예를 들어, 보존적 아미노산 치환)으로 서열번호 8과 상이한 아미노산 서열을 갖는 HCDR3를 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다. 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산 치환(예를 들어, 보존적 아미노산 치환)으로 서열번호 12와 상이한 아미노산 서열을 갖는 LCDR1을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다. 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산 치환(예를 들어, 보존적 아미노산 치환)으로 서열번호 14와 상이한 아미노산 서열을 갖는 LCDR2를 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다. 1개 또는 2개 또는 3개의 아미노산 치환(예를 들어, 보존적 아미노산 치환)으로 서열번호 16과 상이한 아미노산 서열을 갖는 LCDR3을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0164] 본 개시는 또한, 적어도 1개, 또는 적어도 2개, 또는 적어도 3개, 또는 적어도 4개, 또는 적어도 5개, 또는 적어도 6개의 아미노산 치환(예를 들어, 보존적 아미노산 치환)으로 서열번호 8/16과 상이한 HCDR3 및 LCDR3 아미노산 서열 쌍(HCDR3/LCDR3)을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0165] 본 개시는 또한, 표 1에 제시된 예시적인 항-인플루엔자 B HA 항체의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 내에 함유된 6개의 CDR(즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 아미노산 서열 세트는, 최대 20개의 보존적 아미노산 치환, 예를 들어, 최대 1개, 또는 최대 2개, 또는 최대 3개, 또는 최대 3개, 또는 최대 4개, 또는 최대 5개, 또는 최대 6개, 또는 최대 7개, 또는 최대 8개, 또는 최대 9개, 또는 최대 10개, 또는 최대 11개, 또는 최대 12개, 또는 최대 13개, 또는 최대 14개, 또는 최대 15개, 또는 최대 16개, 또는 최대 17개, 또는 최대 18개, 또는 최대 19개의 아미노산 보존적 아미노산 치환으로 서열번호 4-6-8-12-14-16과 상이하다.

[0166] 표 1에 따른 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR을 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0167] 표 1에 따른 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0168] 서열번호 2/10, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도

94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편이 본원에 제공된다.

[0169] 본 개시는 또한, 서열번호 4의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1(HCDR1)을 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0170] 본 개시는 또한, 서열번호 6의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2(HCDR2)를 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0171] 본 개시는 또한, 서열번호 8의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3(HCDR3)을 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0172] 본 개시는 또한, 서열번호 12의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1(LCDR1)을 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0173] 본 개시는 또한, 서열번호 14의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2(LCDR2)를 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0174] 본 개시는 또한, 서열번호 16의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3(LCDR3)을 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0175] 본 개시는 또한, 서열번호 8/16의 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCDR3 및 LCDR3 아미노산 서열 쌍(HCDR3/LCDR3)을 포함하는 항원 또는 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0176] **인간 항체의 제조**

[0177] 유전자 이식 마우스에서 인간 항체를 생성하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 이러한 임의의 공지된 방법을 본원에 개시된 맥락에서 사용하여 인플루엔자 B HA에 특이적으로 결합하는 인간 항체를 제조할 수 있다. 다음 중 어느 하나를 포함하는 면역원이 인플루엔자 B HA에 대한 항체를 생성하는 데 사용될 수 있다. 특정 구현예에서, 항체는 전장 천연 인플루엔자 B HA(예를 들어, GenBank 수탁번호 AAA43697.1 또는 ACA33493.1), 또는 약독화되거나 불활성화된 바이러스, 또는 이의 단백질 또는 단편을 암호화하는 DNA로 면역화된 마우스로부터 수득된다. 대안적으로, 인플루엔자 B HA 단백질 또는 이의 단편은 표준 생화학 기술을 사용하여 생산되고 변형되어 면역원으로서 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 면역원은 재조합적으로 생성된 인플루엔자 B HA 단백질 또는 이의 단편일 수 있다. 특정 구현예에서, 면역원은 인플루엔자 바이러스 백신일 수 있다. 특정 구현예에서, 하나

이상의 부스터 주사가 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 부스터 주사는 하나 이상의 인플루엔자 바이러스 균주, 또는 이들 균주로부터 유래된 혈구응집소(예를 들어, B/Victoria/2/87 이후 B/Yamagata/16/88, 이어서 다시 B/Victoria/2/87; 또는 B/Yamagata/16/88 이후 B/Victoria/2/87, 이어서 다시 B/Yamagata/16/88)를 포함할 수 있다. 일부 양태에서, B/Yamagata 균주는 B/Maryland/03/2008 또는 B/Nanchang/3451/93 또는 B/Florida/4/2006로 대체될 수 있다. 모든 마우스는 B/Victoria/2/87, B/Yamagata/16/88, B/Maryland/03/2008, 및/또는 B/Florida/4/2006 유래의 HA를 암호화하는 DNA의 혼합물로 부스팅될 수 있다. 특정 구현예에서, 추가접종 주사는 인플루엔자 균주의 혼합물, 또는 균주로부터 유래된 헤마글루티닌의 혼합물, 또는 HA를 암호화하는 DNA를 함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 면역원은 대장균에서 발현되거나 중국 햄스터 난소(CHO) 세포와 같은 임의의 다른 진핵생물 세포 또는 포유동물 세포에서 발현되는 재조합 인플루엔자 HA 펩티드이거나, 인플루엔자 바이러스 그 자체일 수 있다.

[0178] 단클론 항체를 생성하기 위한 VELOCIMMUNE™ 기술(예를 들어, 미국 특허 제6,596,541호, Regeneron Pharmaceuticals, VELOCIMMUNE® 참조) 또는 기타 알려진 방법을 사용해, 인간 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 갖는, 인플루엔자 B HA에 대한 고 친화도 키메라 항체를 먼저 단리한다. VELOCIMMUNE® 기술은 내인성 마우스 불변 영역 유전자좌에 작동 가능하게 연결된 인간 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 게놈을 갖는 유전자이식 마우스를 생성하는 것을 포함하며, 이 마우스는 항원 자극에 반응하여 인간 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 포함하는 항체를 생산한다. 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 암호화하는 DNA는 단리되어 인간 중쇄 및 경쇄 불변 영역을 암호화하는 DNA에 작동 가능하게 연결된다. 그런 다음, DNA는 완전한 인간 항체를 발현할 수 있는 세포에서 발현된다.

[0179] 일반적으로, VELOCIMMUNE® 마우스에게 관심 항원을 접종하고, 림프 세포(예컨대 B 세포)는 항체를 발현하는 마우스로부터 회수된다. 림프 세포를 골수종 세포주와 융합하여 불멸성 하이브리도마 세포주를 제조할 수 있고, 이러한 하이브리도마 세포주를 스크리닝하고 선택하여 관심 항원에 대해 특이적인 항체를 생산하는 하이브리도마 세포주를 식별한다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 암호화하는 DNA를 단리하여, 중쇄 및 경쇄의 바람직한 이소형 불변 영역에 연결할 수 있다. 이러한 항체 단백질은 CHO 세포와 같은 세포에서 생산될 수 있다. 대안적으로, 항원 특이적 키메라 항체 또는 경쇄 및 중쇄의 가변 도메인을 암호화하는 DNA를 항원 특이적 림프구로부터 직접 단리할 수 있다.

[0180] 먼저, 고 친화도 키메라 항체를 인간 가변 영역과 마우스 불변 영역을 갖도록 단리한다. 아래의 실험 섹션에서와 같이, 항체의 특성을 분석하여 친화도, 선택도, 에피토프 등을 포함하는 바람직한 특성에 맞게 선택한다. 마우스 불변 영역을 원하는 인간 불변 영역과 교체하여 완전한 인간 항체, 예를 들어 야생형 또는 변형된 IgG1 또는 IgG4를 생성한다. 선택된 불변 영역은 특이적 용도에 따라 매우 다양할 수 있지만, 고친화도 항원 결합 특성 및 표적 특이성 특성은 가변 영역에 존재한다.

[0181] **생물학적 동등물**

[0182] 본원에 개시된 항-인플루엔자 B HA 항체 및 항체 단편은 기술된 항체의 아미노산 서열과는 다르지만 인플루엔자 HA에 결합하는 능력을 보유하는 아미노산 서열을 갖는 단백질을 포함한다. 이러한 변이체 항체 및 항체 단편은 부모 서열과 비교했을 때 아미노산의 하나 이상의 추가, 결실 또는 치환을 포함하지만, 기술된 항체와 본질적으로 동등한 생물학적 활성을 나타낸다. 마찬가지로, 본원에 기술된 항체-암호화 DNA 서열은 개시된 서열과 비교했을 경우, 뉴클레오티드의 하나 이상의 추가, 결실 또는 치환을 포함하지만 본원에 개시된 항체 또는 항체 단편과 본질적으로 생물학적으로 동등한 항체 또는 항체 단편을 암호화하는 서열을 포함한다.

[0183] 2개의 항원 결합 단백질 또는 항체가, 예를 들어, 유사한 실험 조건 하에 동일한 몰 투여량(1회 투여량 또는 다회 투여량)으로 투여되었을 때 흡수 속도 및 정도에 있어서 유의한 차이를 보이지 않는 약학적 등가물 또는 약학적 대안인 경우, 이들은 생물학적으로 동등한 것으로 간주된다. 일부 항체가 흡수 정도에 있어서는 동등하지만 흡수 속도가 다른 경우, 이들은 등가물 또는 약학적 대안으로서 간주될 것이고, 여전히 생물학적으로 동등한 것으로 간주될 수 있는데, 그 이유는, 흡수 속도에 있어서의 이러한 차이는 의도적이고 표지에 반영되어 있으며, 예를 들어, 만성적으로 사용될 때 효과적인 신체 약물 농도를 달성하는 데 반드시 필요하지 않으며, 특정한 연구 의약품에 대해 의학적으로 유의하지 않은 것으로 간주되기 때문이다.

[0184] 일부 구현예에서, 2개의 항원 결합 단백질이 안전성, 순도 또는 효능에 있어서 임상적으로 의미있는 차이가 없는 경우, 이들은 생물학적으로 동등하다.

[0185] 일부 구현예에서, 환자가 기준 생성물을 사용하는 치료와 생물학적 생성물을 사용하는 치료 사이에서 1회 이상

전환할 수 있고, 이러한 전환이 없는 연속 요법과 비교했을 때 면역원성에 있어서의 임상적으로 유의한 변화를 포함하여 예상되는 이상 반응의 위험 증가 또는 효과의 감소가 없는 경우, 2개의 항원 결합 단백질은 생물학적으로 동등하다.

[0186] 일부 구현예에서, 2개의 항원 결합 단백질 둘 모두가 사용 조건(들)에 대한 공통의 메커니즘 또는 공통의 작용 메커니즘(들)에 의해 이러한 메커니즘이 알려진 정도까지 작용하는 경우, 이들은 생물학적으로 동등하다.

[0187] 생물학적 동등성은 생체 내 방법 및/또는 시험관 내 방법에 의해 입증될 수 있다. 생물학적 동등성 측정은, 예를 들어: (a) 항체의 농도 또는 이의 대사가 혈액, 혈장, 혈청, 또는 기타 생물학적 유체에서 시간의 함수로서 측정되는, 인간 또는 다른 포유동물의 생체 내 시험; (b) 인간의 생체 내 생체이용율 데이터와 연관되었거나 이를 합리적으로 예측할 수 있게 하는 시험관 내 시험; (c) 항체(또는 이의 표적)의 적절한 급성 약리학적 효과가 시간의 함수로서 측정되는, 인간 또는 다른 포유동물의 생체 내 시험; 및 (d) 항체의 안전성, 효능, 또는 생체이용률이나 생물학적 동등성을 확립하는 잘 조절된 임상 시험을 포함한다.

[0188] 항체의 생물학적으로 동등한 변이체는, 예를 들어, 잔기 또는 서열의 다양한 치환을 만들거나 생물학적 활성에 필요하지 않은 말단 또는 내부 잔기 또는 서열을 결실함으로써 작제할 수 있다. 예를 들어, 생물학적 활성에 필수적인 시스테인 잔기를 결실시키거나 다른 아미노산과 치환하여, 변성 시에 불필요하거나 부정확한 분자내 이황화 브리지가 형성되는 것을 방지할 수 있다. 다른 맥락에서, 생물학적으로 등등한 항체는 항체의 당화 특성을 바꾸는 아미노산 변화를 포함하는 항체 변이체, 예를 들어, 당화를 제거하거나 없애는 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0189] **Fc 변이체를 포함하는 항-인플루엔자-HA 항체**

[0190] 본원에 개시된 특정 구현예에 따르면, 예를 들어, 중성 pH에 비해 산성 pH에서, FcRn 수용체에 대한 항체 결합을 강화시키거나 감쇠시키는 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 항-인플루엔자 B HA 항체가 제공된다. 예를 들어, 본 개시는, Fc 도메인의 C_H2 또는 C_H3 영역에서 돌연변이를 포함하는 항-인플루엔자 HA 항체를 포함하며, 여기에서 돌연변이(들)는 동일하지만 변형되지 않은 항체에 비해, 산성 환경에서(예를 들어, pH가 약 5.5 내지 약 6.0 범위인 엔도솜에서) FcRn에 대한 Fc 도메인의 친화도를 증가시킨다. 이러한 돌연변이는, 동물에게 투여되는 경우, 동일하지만 변형되지 않은 항체에 비해, 항체의 혈청 반감기를 증가시킬 수 있다. 이러한 Fc 변형의 비제한적인 예는, 예를 들어, 위치 250(예컨대, E 또는 Q)에서의 변형; 위치 250 및 428(예컨대, L 또는 F)에서의 변형; 위치 252(예컨대, L/Y/F/W 또는 T), 위치 254(예컨대, S 또는 T), 및 위치 256(예컨대, S/R/Q/E/D 또는 T)에서의 변형; 또는 위치 428 및/또는 433(예컨대, H/L/R/S/P/Q 또는 K) 및/또는 위치 434(예컨대, A, W, H, F 또는 Y[N434A, N434W, N434H, N434F 또는 N434Y])에서의 변형; 또는 위치 250 및/또는 428에서의 변형; 또는 위치 307 또는 308(예컨대, 308F, V308F) 및 위치 434에서의 변형을 포함한다. 일부 구현예에서, 변형은 428L(예컨대, M428L) 및 434S(예컨대, N434S) 변형; 428L, 259I(예컨대, V259I), 및 308F(예컨대, V308F) 변형; 433K(예컨대, H433K) 및 434(예컨대, 434Y) 변형; 252, 254, 및 256(예컨대, 252Y, 254T, 및 256E) 변형; 250Q 및 428L 변형(예컨대, T250Q 및 M428L); 및 307 및/또는 308 변형(예컨대, 308F 또는 308P)을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 변형은 265A(예컨대, D265A) 및/또는 297A(예컨대, N297A) 변형을 포함한다.

[0191] 예를 들어, 본 개시는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 돌연변이의 하나 이상의 쌍 또는 군을 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 항-인플루엔자 B HA 항체를 포함한다: 250Q 및 248L(예컨대, T250Q 및 M248L); 252Y, 254T 및 256E(예컨대, M252Y, S254T 및 T256E); 428L 및 434S(예컨대, M428L 및 N434S); 257I 및 311I(예컨대, P257I 및 Q311I); 257I 및 434H(예컨대, P257I 및 N434H); 376V 및 434H(예컨대, D376V 및 N434H); 307A, 380A 및 434A(예컨대, T307A, E380A 및 N434A); 및 433K 및 434F(예컨대, H433K 및 N434F). 전술한 Fc 도메인 돌연변이 및 본원에 개시된 항체 가변 도메인 내의 다른 돌연변이의 모든 가능한 조합은 본원에 개시된 범위 내에 있는 것으로 고려된다.

[0192] 키메라 중쇄 불변(C_H) 영역을 포함하는 항-인플루엔자 B HA 항체가 본원에 개시되며, 여기에서 키메라 C_H 영역은 둘 이상의 면역글로불린 이소형 C_H 영역 유래의 분절을 포함한다. 예를 들어, 항체는, 인간 IgG1, 인간 IgG2 또는 인간 IgG4 분자 유래의 C_H3 도메인의 일부 또는 전부와 조합된, 인간 IgG1, 인간 IgG2 또는 인간 IgG4 분자 유래의 C_H2 도메인의 일부 또는 전부를 포함하는 키메라 C_H 영역을 포함할 수 있다. 특정 구현예에 따르면, 항체는 키메라 힌지 영역을 갖는 키메라 C_H 영역을 포함한다. 예를 들어, 키메라 힌지는 인간 IgG1, 인간 IgG2 또는 인간 IgG4 힌지 영역 유래의 "하부 힌지" 서열(EU 넘버링에 따른 위치 228 내지 236에서의 아미노산 잔기)과 조

합된, 인간 IgG1, 인간 IgG2 또는 인간 IgG4 힌지 영역 유래의 "상부 힌지" 아미노산 서열(EU 넘버링에 따른 위치 216 내지 227에서의 아미노산 잔기)을 포함할 수 있다. 특정 구현예에 따르면, 키메라 힌지 영역은 인간 IgG1 또는 인간 IgG4 상부 힌지 유래의 아미노산 잔기, 및 인간 IgG2 하부 힌지 유래의 아미노산 잔기를 포함한다. 본원에 기술된 바와 같은 키메라 C_H 영역을 포함하는 항체는, 특정 구현예에서, 항체의 치료 특성 또는 약동학적 특성에 나쁜 영향을 미치지 않으면서 변형된 Fc 효과기 기능을 나타낼 수 있다(예를 들어, 2013년 2월 1일에 출원된 미국 특허 가출원 제61/759,578호를 참조하고, 그 개시 내용은 전체가 참조로서 본원에 통합된다).

[0193] **항체의 생물학적 특성**

[0194] 대체적으로, 본원에 개시된 항체는 인플루엔자 B HA에 결합함으로써 기능한다. 예를 들어, 본 개시는 (예를 들어, 25℃ 또는 37℃에서) Biacore 기기에서의 표면 플라스몬 공명에 의해 또는 실시간 바이오-층 간섭계 기반의 바이오센서(Octet HTX 분석)에 의해 측정했을 때, 10 nM 미만의 K_D로 인플루엔자 B HA에 결합하는 항체 및 항체의 항원 결합 단편을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은, 예를 들어 본원에 기술된 것과 같은 분석 포맷을 사용해 표면 플라스몬 공명에 의해 또는 실질적으로 유사한 분석에 의해 측정했을 때, 약 5 nM 미만, 약 2 nM 미만, 약 1 nM 미만, 500 pM 미만, 250 pM 미만, 또는 100 pM 미만의 K_D로 인플루엔자 B HA에 결합한다.

[0195] 본 개시는 또한, 본원에 기술된 것과 같은 분석 포맷을 사용해 37ºC에서 표면 플라스몬 공명 또는 실질적으로 유사한 분석에 의해 측정했을 때, 약 75분을 초과하는 해리 반감기(t½)로 인플루엔자 B HA에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 특정 구현예에서, 본원에 개시된 항체 또는 항원 결합 단편은, 본원에 기술된 것과 같은 검정 분석(예를 들어, mAb-포획 또는 항원-포획 포맷)을 사용해 25℃에서 표면 플라스몬 공명 또는 실질적으로 유사한 분석에 의해 측정했을 때, 약 200분 초과, 약 300분 초과, 약 400분 초과, 약 500분 초과, 약 600분 초과, 약 700분 초과, 약 800분 초과, 약 900분 초과, 또는 약 1000분 초과의 t½로 인플루엔자 HA에 결합한다.

[0196] 본 개시는 또한 숙주 세포에 대한 인플루엔자 바이러스의 감염성을 중화시키는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 일부 구현예에서, 항체는, 미세중화 분석, 또는 이와 실질적으로 유사한 분석에서, 다양한 대표적인 인플루엔자 바이러스, 예를 들어, B/Victoria/2/87, B/Yamagata/16/88, B/Maryland/03/2008, B/Nanchang/3451/93, 및/또는 B/Florida/4/2006에 대해, 약 1 pM 내지 약 800 nM 범위의 IC_{50}, 예를 들어, 약 1 pM 내지 약 800 pM 범위의 IC_{50}, 약 1 pM 내지 약 10 pM 범위의 IC_{50}, 약 10 pM 내지 약 50 pM 범위의 IC_{50}, 약 1 pM 내지 약 100 pM 범위의 IC_{50}, 약 10 pM 내지 약 100 pM 범위의 IC_{50}, 약 100 pM 내지 약 800 pM 범위의 IC_{50}, 약 500 pM 내지 약 800 pM 범위의 IC_{50}, 약 1 nM 내지 약 10 nM 범위의 IC_{50}, 약 10 nM 내지 약 50 nM 범위의 IC_{50}, 약 1 nM 내지 약 100 nM 범위의 IC_{50}, 약 10 nM 내지 약 100 nM 범위의 IC_{50}, 약 100 nM 내지 약 800 nM 범위의 IC_{50}, 또는 약 500 nM 내지 약 800 nM 범위의 IC_{50}으로 중화 효능을 나타낸다.

[0197] 본 개시는 또한, nM 미만 농도에서 인플루엔자 B 감염 세포에 결합하고 HA에 대한 특이적 결합을 나타내는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다(실시예 3 참조).

[0198] 본 개시는 또한, 생체 내에서 인플루엔자 B 감염에 대한 보호 증가(치료받지 않는 대상체 대비) 또는 강력한 중화를 나타내는 항-인플루엔자 B HA 항체를 포함한다. 특정 항체는 예방적으로 (감염 전; 실시예 4 참조) 투여될 때 보호를 나타낸다. 일부 구현예에서, 감염 5일 전에 투여된 5 mg/kg 또는 0.5 mg/kg의 항-HA 항체의 1회 투여량은, 예방적으로 투여될 때, 인간 IgG1 이소형 대조군 항체로 치료한 마우스에 비해 마우스의 100% 생존율을 초래하였다.

[0199] 항-인플루엔자 B HA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 사용한 예방적 치료는, 인플루엔자 바이러스에 대한 후속 노출에 의한 감염으로부터 포유동물을 보호하거나, 예를 들어 인플루엔자 바이러스에 대한 후속 노출에 의한 감염 가능성 또는 위험을 감소시킬 수 있다. 전술한 보호는 인플루엔자 감염의 적어도 하나의 증상의 완화, 경감, 또는 중증도, 지속 기간, 또는 발생 빈도의 감소로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 양태에서, 단리된 항체는, 인플루엔자 바이러스에 노출되기 전(예를 들어, 인플루엔자 바이러스에 노출되기 전 적어도 2일, 적어도 3일, 적어도 4일, 적어도 5일, 또는 2일 내지 5일)에 동물(예를 들어, 포유동물)에게 예방적으로 투여될 경우, 인플루엔자 감염의 위험을 감소시킨다. 적어도 하나의 증상은 두통, 발열, 통증, 콧물(코막힘), 오한, 피로, 무력감, 인후염, 기침, 호흡 곤란, 구토, 설사, 폐렴, 기관지염 및 사망으로 이루어진 군으로부터 선택될 수

있다.

[0200] 일 구현예에서, 인플루엔자 B HA에 특이적으로 결합하는 단리된 재조합 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 다음의 특징 중 하나 이상을 갖는다: (a) 완전한 인간 단클론 항체임; (b) 약 10^{-9} M 미만, 약 10^{-10} M 미만, 약 10^{-11} M 미만, 약 10^{-12} M 미만, 또는 약 10^{-13} M 미만의 EC_{50}으로 인플루엔자 B HA에 결합함; (c) 인플루엔자 B HA에 특이적으로 결합하는 단리된 재조합 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로 치료하지 않은 비교 가능한 인플루엔자-감염 동물과 비교 시, 인플루엔자-감염 동물에서 생존의 증가를 입증함; 및/또는 (d) (i) 서열번호 2에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내 함유된 3개의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR)(HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3); 및 (ii) 서열번호 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 함유된 3개의 경쇄 CDR(LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3)을 포함함.

[0201] 본원에 개시된 항체는 전술한 생물학적 특징 또는 이들의 조합 중 하나 이상을 가질 수 있다. 본원에 개시된 항체의 다른 생물학적 특징은 본원의 실제 실시예를 포함하여 본 개시를 검토함으로써 당업자에게 명백해질 것이다.

[0202] **에피토프 맵핑 및 관련 기술**

[0203] 본 개시는 인플루엔자 B HA 분자의 하나 이상의 도메인 내에서 발견되는 하나 이상의 아미노산과 상호작용하는 항-인플루엔자 B HA 항체를 포함한다. 항체가 결합하는 에피토프는 인플루엔자 HA 분자 내에 위치된 3개 이상(예를 들어, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 이상의)의 아미노산으로 이루어진 단일 인접 서열로 이루어질 수 있다(예를 들어, 도메인 내의 선형 에피토프). 대안적으로, 에피토프는 인플루엔자 B HA 분자 내에 위치된 복수의 비인접 아미노산(또는 아미노산 서열)으로 이루어질 수 있다(예를 들어, 입체 에피토프).

[0204] 당업자에게 공지된 다양한 기술들이 항체가 폴리펩티드 또는 단백질 내의 "하나 이상의 아미노산과 상호작용"하는지의 여부를 결정하기 위해 사용될 수 있다. 예시적인 기술은 예를 들어, Harlow 및 Lane, Antibodies(Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY)에 기술된 것과 같은 일상적인 교차-차단 분석을 포함한다. 다른 방법은 알라닌 스캐닝 돌연변이 분석, 펩티드 블롯 분석(Reineke (2004) Methods Mol. Biol. 248: 443-63), 펩티드 절단 분석, 결정학적 연구 및 NMR 분석을 포함한다. 또한, 에피토프 절제, 에피토프 추출 및 항원의 화학적 변형과 같은 방법이 사용될 수 있다(Tomer 2000, Prot. Sci. 9:487-496). 항체가 상호 작용하는 폴리펩티드 내의 아미노산을 식별하는데 사용될 수 있는 또 다른 방법은 질량 분석법에 의해 검출되는 수소/중수소 교환이다. 일반적으로 말하자면, 수소/중수소 교환 방법은 관심 단백질을 중수소-표지하는 단계, 이어서 항체를 중수소-표지된 단백질에 결합시키는 단계를 포함한다. 이어서, 단백질/항체 복합체는 물로 전달되고, 항체 복합체에 의해 보호되는 아미노산 내의 교환 가능한 양성자는 계면의 일부가 아닌 아미노산 내의 교환 가능한 양성자보다 느린 속도로 중수소-대-수소 역교환를 거친다. 결과적으로, 단백질/항체 계면의 일부를 형성하는 아미노산은 중수소를 보유할 수 있고, 따라서 계면에 포함되지 않은 아미노산에 비해 상대적으로 더 높은 질량을 나타낸다. 항체 해리 후, 표적 단백질을 대상으로 프로테아제 절단 및 질량 분광 분석을 수행하여, 항체가 상호 작용하는 특정 아미노산에 상응하는 중수소-표지된 잔기를 밝혀낸다. 예를 들어, Ehring (1999) Analytical Biochemistry 267: 252-259; Engen 및 Smith (2001) Anal. Chem. 73: 256A-265A.

[0205] 용어 "에피토프"는 B 및/또는 T 세포가 반응하는 항원 상의 부위를 지칭한다. B-세포 에피토프는 단백질의 3차 접힘에 의해 병치된 연속 아미노산 또는 비인접 아미노산 둘 모두로부터 형성될 수 있다. 연속하는 아미노산으로부터 형성된 에피토프는 통상적으로 변성 용매에 노출시 유지되는 반면, 3차 접힘에 의해 형성된 에피토프는 통상적으로 변성 용매로 치료 시 손실된다. 에피토프는 전형적으로, 고유한 공간적 입체 구조에서 적어도 3개의 아미노산, 또는 적어도 4개의 아미노산, 예를 들어 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 또는 적어도 10개의 아미노산을 포함한다.

[0206] 항원 구조-기반 항체 프로파일링(MAP)으로도 알려진 변형-지원 프로파일링(MAP)은, 화학적으로 또는 효소적으로 변형된 항원 표면에 대한 각 항체의 결합 프로파일의 유사성에 따라 동일한 항원에 대해 유도된 다수의 단클론 항체(mAb)를 분류하는 방법이다(US 2004/0101920 참조, 이는 구체적으로 그 전체가 참조로서 본원에 통합됨). 각각의 범주는 또 다른 범주로 표현되는 에피토프와 명백히 상이하거나 부분적으로 이와 중첩하는 고유 에피토프를 반영할 수 있다. 이러한 기술은 유전적으로 동일한 항체의 신속한 필터링을 가능하게 하여, 유전적으로 구별되는 항체 위주의 특성 분석이 이뤄질 수 있다. 하이브리도마 스크리닝에 적용될 경우, MAP는 원하는 특성을 가진 단클론 항체를 생성하는 희귀 하이브리도마 클론의 식별을 용이하게 할 수 있다. MAP는 본원에 제공된 항

체를 상이한 에피토프에 결합하는 항체의 그룹으로 분류하는 데 사용될 수 있다.

[0207] 특정 구현예에서, 인플루엔자 바이러스 A HA 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인플루엔자 HA 내에 예시된 하나 이상의 영역 내에 있는, 천연 형태이거나 재조합적으로 생산된 에피토프에 결합하거나 이의 단편에 결합한다.

[0208] 본 개시는 동일한 에피토프 또는 에피토프의 일부분에 결합하는 항-인플루엔자 B HA 항체를 포함한다. 마찬가지로, 본 개시는 또한, 인플루엔자 B HA 또는 이의 단편에 결합하기 위해 본원에 기술된 특이적 예시적인 항체 중 어느 하나와 경쟁하는 항-인플루엔자 B HA 항체를 포함한다. 예를 들어, 본 개시는 인플루엔자 B HA에 결합하기 위해 표 1에 기술된 항체로부터 수득된 하나 이상의 항체와 교차 경쟁하는 항-인플루엔자 B HA 항체를 포함한다.

[0209] 당업자는 알려진 방법을 사용하여, 항체가 기준 항-인플루엔자 B HA 항체와 동일한 에피토프에 결합하는지, 또는 결합을 위해 이와 경쟁하는지의 여부를 결정할 수 있다. 예를 들어, 시험 항체가 기준 항-인플루엔자 B HA 항체와 동일한 에피토프에 결합하는지의 여부를 결정하기 위해, 포화 조건 하에서 기준 항체를 인플루엔자 B HA 또는 펩티드에 결합시킨다. 다음으로, 인플루엔자 B HA 분자에 결합하는 시험 항체의 능력을 평가한다. 시험 항체가 기준 항-인플루엔자 B HA 항체와의 포화 결합 후에 인플루엔자 B HA에 결합할 수 있는 경우, 시험 항체는 기준 항-인플루엔자 B HA 항체와 상이한 에피토프에 결합한다고 결론을 내릴 수 있다. 반면, 시험 항체가 기준 항-인플루엔자 B HA 항체와의 포화 결합 후에 인플루엔자 B HA에 결합할 수 없는 경우, 시험 항체는 기준 항-인플루엔자 B HA 항체가 결합한 에피토프와 동일한 에피토프에 결합할 수 있다.

[0210] 항체가 결합을 위해 기준 항-인플루엔자 B HA 항체와 경쟁하는지 여부를 결정하기 위해, 전술한 결합 방법론이 2가지 방향으로 수행된다: 제1 방향에서, 포화 조건 하에서 기준 항체를 인플루엔자 B HA에 결합시키고, 이어서 인플루엔자 B HA 분자에 대한 시험 항체의 결합을 평가한다. 제2 방향에서, 포화 조건 하에서 기준 항체를 인플루엔자 B HA 분자에 결합시키고, 이어서 인플루엔자 B HA 분자에 대한 기준 항체의 결합을 평가한다. 만약, 2가지 방향 모두에서, 제1 (포화) 항체만이 인플루엔자 B HA 분자에 결합할 수 있는 경우, 시험 항체 및 기준 항체가 인플루엔자 B HA에 결합하기 위해 경쟁하는 것으로 결론을 내린다. 당업자가 이해할 수 있듯이, 결합을 위해 기준 항체와 경쟁하는 항체는 기준 항체와 동일한 에피토프에 결합할 필요는 없지만, 중첩 또는 인접한 에피토프에 결합함으로써 기준 항체의 결합을 입체적으로 차단할 수 있다.

[0211] 2개의 항체 각각이 항원에 대한 타 항체의 결합을 경쟁적으로 억제(차단)하는 경우, 이들은 동일한 에피토프 또는 중첩되는 에피토프에 결합한다. 즉, 경쟁적 결합 검정에서 측정했을 때, 1배, 5배, 10배, 20배 또는 100배 과량의 일 항체가 타 항체의 결합을 적어도 50%만큼, 예를 들어 75%, 90% 또는 심지어 99%만큼 억제한다(예를 들어, Junghans 등, Cancer Res. 1990 50:1495-1502 참조). 대안적으로, 일 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 항원 내의 본질적으로 모든 아미노산 돌연변이가 타 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 경우, 2개의 항체는 동일한 에피토프를 갖는다. 하나의 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 일부 아미노산 돌연변이가 다른 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 경우, 2개의 항체는 중첩하는 에피토프를 갖는다.

[0212] 그런 다음, 추가의 일상적인 실험(예를 들어, 펩티드 돌연변이 및 결합 분석)을 수행하여, 시험 항체의 관찰된 결합 결여가 실제로 기준 항체와 동일한 에피토프에 대한 결합으로 인한 것인지, 또는 입체적 차단(또는 다른 현상)이 관찰된 결합 결여의 원인인지의 여부를 확인할 수 있다. 이러한 종류의 실험은 ELISA, RIA, 표면 플라스몬 공명, 유세포 계측법 또는 당업계에서 이용할 수 있는 임의의 다른 정량적 또는 정성적 항체 결합 분석법을 사용하여 수행될 수 있다.

[0213] **면역접합체**

[0214] 인플루엔자 바이러스 감염증을 치료하기 위한, 독소 또는 항바이러스제와 같은 치료 모이어티("면역접합체")에 접합된 항-인플루엔자 B HA 단클론 항체가 본원에 고려된다. 본원에서 사용되는 용어, "면역접합체"는 방사성 제제, 사이토카인, 인터페론, 표적 또는 리포터 모이어티, 효소, 펩티드 또는 단백질 또는 치료제에 화학적으로 또는 생물학적으로 결합된 항체를 지칭한다. 항체는 그의 표적에 결합할 수 있도록, 분자를 따라 임의의 위치에서 방사성 제제, 사이토카인, 인터페론, 표적 또는 리포터 모이어티, 효소, 펩티드 또는 치료제에 결합될 수 있다. 면역접합체의 예는 항체 약물 접합체 및 항체-독소 융합 단백질을 포함한다. 일 구현예에서, 제제는 인플루엔자-HA에 대해 두 번째로 상이한 항체일 수 있다. 특정 구현예에서, 항체는 바이러스 감염 세포에 특이적인 제제에 접합될 수 있다. 항-인플루엔자-HA 항체에 접합될 수 있는 치료 모이어티의 유형은 치료 대상 병태 및 달성해야 할 원하는 치료 효과를 고려해야 한다. 면역접합체를 형성하기 위한 적절한 제제의 예는 당업계에 공지되어 있다; 예를 들어, WO 05/103081 참조.

[0215] **다중특이적 항체**

[0216] 본원에 개시된 항체는 단일특이적, 이중특이적, 또는 다중특이적일 수 있다. 다중특이적 항체는 하나의 표적 폴리펩티드의 상이한 에피토프에 특이적이거나 둘 이상의 표적 폴리펩티드에 특이적인 항원 결합 도메인을 함유할 수 있다. 예를 들어, Tutt 등, 1991, J. Immunol. 147:60-69; Kufer 등의 2004, Trends Biotechnol. 22:238-244 참조.

[0217] 본원에 제공된 다중특이적 항원 결합 분자 중 어느 하나 또는 이의 변이체는 당업자가 알 수 있듯이, 표준 분자 생물학적 기술(예컨대 재조합 DNA 및 단백질 발현 기술)을 이용해 작제될 수 있다.

[0218] 일부 구현예에서, 인플루엔자 B HA-특이적 항체는 이중특이적 포맷("이중-특이적" 또는 "이중특이성")으로 생성되며, 여기에서 인플루엔자 B HA의 구별되는 도메인에 결합하는 가변 영역들이 함께 결합되어 단일 결합 분자 내에 이중 도메인 특이성을 부여한다. 적절하게 설계된 이중특이성은 특이성과 결합성 둘 모두를 증가시킴으로써 전체 인플루엔자 B HA-단백질 억제 효능을 강화시킬 수 있다. 개별 도메인에 대한 특이성을 갖는 가변 영역(예를 들어, N-말단 도메인의 단편), 또는 하나의 도메인 내의 상이한 영역에 결합할 수 있는 가변 영역은, 각각의 영역을 동시에 별개 에피토프에 결합시키거나 하나의 도메인 내의 상이한 영역에 결합시키는 구조 골격 상에서 쌍을 이룬다. 이중특이성에 대한 일례에서, 하나의 도메인에 대해 특이성을 갖는 결합제에서 유래된 중쇄 가변 영역 (V_H)은 제2 도메인에 대해 특이성을 갖는 일련의 결합제에서 유래된 경쇄 가변 영역(V_L)과 재조합되어 원래 V_H에 대한 원래 특이성을 파괴하지 않고도 해당 V_H와 쌍을 이룰 수 있는 비-접합 V_L 파트너를 식별한다. 이러한 방식으로, 단일 V_L 세그먼트(예를 들어, V_L1)는 2개의 상이한 V_H 도메인(예를 들어, V_H1 및 V_H2)와 조합되어 2개의 결합 "아암"(V_H1- V_L1 및 V_H2- V_L1)을 포함하는 이중특이성을 생성할 수 있다. 단일 V_L 세그먼트를 사용하면 시스템의 복잡성이 감소하므로, 이중특이성을 생성하는 데 사용된 클로닝, 발현 및 정제 과정이 단순화되고 그 효율이 증가한다(예를 들어, USSN13/022759 및 US2010/0331527 참조).

[0219] 대안적으로, 둘 이상의 도메인 및 제2 표적(예를 들어, 두 번째 상이한 항-인플루엔자 B HA 항체를 포함하나 이에 한정되지 않음)에 결합하는 항체는 본원에 기술된 기술, 또는 당업자에게 공지된 다른 기술을 사용하여 이중특이적 포맷으로 제조될 수 있다. 구별되는 영역에 결합하는 항체 가변 영역은, 예를 들어, 인플루엔자 바이러스 상의 관련 부위에 결합하는 가변 영역과 함께 결합되어 단일 결합 분자 내에 이중-항원 특이성을 부여할 수 있다. 이러한 속성의 적절히 설계된 이중특이성은 이중으로 기능한다. 세포 외 도메인에 대한 특이성을 갖는 가변 영역은 세포 외 도메인의 외부에 대한 특이성을 갖는 가변 영역과 조합되고, 각각의 가변 영역을 별도의 항원에 결합시키는 구조 골격 상에서 쌍을 이룬다.

[0220] 본원에 기술된 맥락에서 사용될 수 있는 예시적인 이중특이적 항체 포맷은 제1 면역글로불린(Ig) C_H3 도메인 및 제2 Ig C_H3 도메인을 사용하는 것을 포함하며, 여기에서 제1 및 제2 Ig C_H3 도메인은 적어도 하나의 아미노산만큼 서로 상이하며, 적어도 하나의 아미노산 차이는 아미노산 차이가 없는 이중특이적 항체와 비교했을 때 단백질 A에 대한 이중특이적 항체의 결합을 감소시킨다. 일 구현예에서, 제1 Ig C_H3 도메인은 단백질 A에 결합하고, 제2 Ig C_H3 도메인은 H95R 변형(IMGT 엑손 넘버링에 의함; EU 넘버링에 의하면 H435R임)과 같이 단백질 A 결합을 감소시키거나 제거하는 돌연변이를 함유한다. 제2 C_H3은 Y96F 변형(IMGT 넘버링에 의함; EU 넘버링은 Y436F)을 추가로 포함할 수 있다. 제2 C_H3에서 발견할 수 있는 추가의 변형은 다음을 포함한다: IgG1 항체의 경우 D16E, L18M, N44S, K52N, V57M 및 V82I(IMGT에 의함; EU에 의하면 D356E, L358M, N384S, K392N, V397M 및 V422I); IgG2 항체의 경우 N44S, K52N 및 V82I(IMGT에 의함; EU에 의하면 N384S, K392N 및 V422I); 및 IgG4 항체의 경우 Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q 및 V82I(IMGT에 의함; EU에 의하면 Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q 및 V422I). 전술한 이중특이적 항체 포맷에 대한 변형은 본원에 개시된 범위에 포함되는 것으로 고려된다.

[0221] 본원에 개시된 맥락에서 사용될 수 있는 다른 예시적인 이중특이적 포맷으로는, 예를 들어, scFv-기반의 이중특이적 포맷 또는 디아바디 이중특이적 포맷, IgG-scFv 융합, 이중 가변 도메인(DVD)-Ig, 콰드로마, 놉-인투-홀(knobs-into-holes), 공통 경쇄(예를 들어, 놉-인투-홀을 가지는 공통 경쇄 등), CrossMab, CrossFab, (SEED)바디, 류신 지퍼, 듀오바디, IgG1/IgG2, 이중 작용 Fab (DAF)-IgG, 및 Mab^2 이중특이적 포맷을 제한없이 포함한다(전술한 포맷의 검토를 위해, 예를 들어, Klein 등, 2012, mAbs 4:6, 1-11, 및 동 문헌에 인용된 참고문헌을 참조한다). 이중특이적 항체는 또한 펩티드/핵산 접합을 사용해 작제될 수 있으며, 예를 들어, 여기에서 직교

화학 반응성을 갖는 비천연 아미노산은 부위특이적 항체-올리고뉴클레오티드 접합체를 생성하는 데 사용되고, 이는 정의된 조성, 원자가 및 기하학적 구조를 갖는 다량체 복합체로 자기 조립된다. (예를 들어, Kazane 등, *J. Am. Chem. Soc.* [*Epub: Dec. 4, 2012*] 참조).

[0222] **치료적 투여 및 제형**

[0223] 본 개시의 항-인플루엔자 B HA 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 치료 조성물이 본원에 제공된다. 본 개시에 따른 치료 조성물은 제형에 혼입되어 이송, 전달, 내성 등을 개선하는 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제, 및 기타 제제와 함께 투여될 것이다. 다수의 적절한 제형은 모든 약사들에게 이전에 공지된 다음의 문헌에서 확인할 수 있다: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. 이러한 제형은, 예를 들어, 분말, 고약, 연고, 젤리, 왁스, 오일, 지질, 지질(양이온성 또는 음이온성) 함유 소포체(예를 들어, LIPOFECTIN™), DNA 접합체, 무수 흡수 연고제, 수중유 및 유중수 유화제, 카보왁스 유화제(다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜), 반고형성 겔, 및 카보왁스를 함유하는 반고형성 혼합물을 포함한다. 또한, Powell 등, "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311 참조.

[0224] 항체의 투여량은 투여 대상체의 연령 및 크기, 표적 질환, 상태, 투여 경로 등에 따라 달라질 수 있다. 본원에 개시된 항체가 성인 환자의 질환 또는 장애를 치료하기 위해 사용되거나 이러한 질환을 예방하기 위해 사용될 경우, 본원에 개시된 항체를 약 0.1 내지 약 60 mg/kg(체중), 또는 약 5 내지 약 60, 약 10 내지 약 50, 또는 약 20 내지 약 50 mg/kg(체중)의 1회 투여량으로 투여하는 것이 유리하다. 병태의 중증도에 따라, 치료의 빈도와 기간을 조정할 수 있다. 특정 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 적어도 약 0.1 mg 내지 약 5000 mg, 약 1 내지 약 2000 mg, 약 5 내지 약 1000 mg, 또는 약 10 내지 약 500 mg, 약 100 mg, 또는 약 50 mg의 초기 투여량으로 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 초기 투여량에 이어서 항체 또는 항원 결합 단편의 제2 또는 복수의 후속 투여량이 초기 투여량과 거의 동일하거나 적은 양으로 투여되며, 여기서 후속 투여량은 적어도 1 내지 3일; 적어도 1주; 적어도 2주; 적어도 3주; 적어도 4주; 적어도 5주; 적어도 6주; 적어도 7주; 적어도 8주; 적어도 9주; 적어도 10주; 적어도 12주; 또는 적어도 14주만큼 간격을 둔다.

[0225] 리포좀을 이용한 캡슐화, 마이크로입자, 마이크로캡슐, 돌연변이체 바이러스를 발현할 수 있는 재조합 세포, 수용체 매개 엔도시토시스와 같은 다양한 전달 시스템이 공지되어 있고, 이를 사용하여 약학적 조성물을 투여할 수 있다(예를 들어, Wu 등 (1987) J. Biol. Chem. 262:4429-4432 참조). 도입 방법은 피내, 경피, 근육 내, 복강 내, 정맥 내, 피하, 비강 내, 경막 외, 및 경구 경로를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 조성물은 임의의 편리한 경로에 의해, 예를 들면 주입 또는 볼루스 주사에 의해, 상피 또는 점막피부의 내벽(예를 들어, 구강 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고, 기타 생물학적 활성제와 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신 투여이거나 국소 투여일 수 있다. 약학적 조성물은 소포체로, 특히 리포좀으로 전달될 수도 있다(예를 들어, Langer (1990) Science 249: 1527-1533 참조).

[0226] 본원에 개시된 항체를 전달하기 위해 나노입자를 사용하는 것 또한 본원에서 고려된다. 항체-접합 나노입자는 치료 및 진단 응용 분야에 모두 사용될 수 있다. 항체-접합 나노 입자 및 이의 제조 및 사용 방법은 Arruebo, M. 등 2009("Antibody-conjugated nanoparticles for biomedical applications", J. Nanomat. Volume 2009, Article ID 439389, 24 페이지, doi: 10.1155/2009/439389)에 상세하게 기술되어 있으며, 이는 참조로서 본원에 통합된다. 나노입자는 바이러스 감염 세포를 표적화하도록 개발되어 약학적 조성물에 포함된 항체에 접합될 수 있다. 약물 전달용 나노입자는, 예를 들어, US 8257740, 또는 US 8246995에도 기술되어 있으며, 이는 그 전체가 본원에 통합된다.

[0227] 특정 상황에서는, 약학적 조성물이 방출 조절 시스템으로 전달될 수 있다. 일 구현예에서, 펌프가 사용될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 중합체 물질이 사용될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 방출 조절 시스템은 조성물의 표적에 근접하여 배치될 수 있으므로, 전신 투여량의 일부만을 필요로 한다.

[0228] 주사식 제제는 정맥 내, 피하, 피 내, 두개 내, 복강 내 및 근육 내 주사, 적가 주입 등을 위한 투여 형태를 포함할 수 있다. 이들 주사식 제제는 공지의 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 주사식 제제는, 예를 들어, 주사용으로 종래에 사용되는 멸균 수성 매질 또는 유성 매질에 전술한 항체 또는 이의 염을 용해, 현탁 또는 유화시킴으로써 제조될 수 있다. 주사용 수성 매질로서는, 예를 들어, 생리 식염수, 알코올(예를 들어, 에탄올)과 같은 적절한 가용화제와 조합하여 사용할 수 있고 글루코오스 및 기타 보조제 등을 함유하는 등장성 용액, 다가 알코올(예를 들어, 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜), 비이온성 계면활성제[예를 들어, 폴리소르베이트 80, HCO-50(수소 첨가 피마자유의 폴리옥시에틸렌 (50 몰) 부가물)] 등이 있다. 유성 매질로서는, 예를 들어, 벤질

벤조에이트, 벤질 알코올 등과 같은 가용화제와 조합하여 사용할 수 있는 참기름, 대두유 등이 사용된다. 따라서, 제조된 주사제는 적절한 앰플에 채워진다.

[0229] 본원에 개시된 약학적 조성물은 표준 바늘 및 주사기를 사용하여 피하 전달되거나 정맥내 전달될 수 있다. 또한, 피하 전달의 경우, 펜 전달 장치가 본원에 개시된 약학적 조성물을 전달하는 데 용이하게 적용된다. 이러한 펜 전달 장치는 재사용식이거나 일회용일 수 있다. 재사용식 펜 전달 장치에는 일반적으로 약학적 조성물이 담긴 교체식 카트리지가 사용된다. 일단 카트리지 내의 모든 약학적 조성물이 투여되어 카트리지가 비면, 빈 카트리지를 쉽게 폐기하고 약학적 조성물이 담긴 새로운 카트리지로 교체할 수 있다. 그러면, 펜 전달 장치를 재사용할 수 있다. 일회용 펜 전달 장치에는 교체식 카트리지가 없다. 오히려, 일회용 펜 전달 장치는 약학적 조성물이 장치 내의 저장조에 미리 담긴 상태로 제공된다. 일단 저장조의 약학적 조성물이 소진되면, 전체 장치가 폐기된다.

[0230] 다수의 재사용식 펜 전달 장치 및 자가주입 전달 장치가 본원에 개시된 약학적 조성물을 피하 전달하는 데 적용된다. 몇 가지를 거명하자면, AUTOPEN™(Owen Mumford, Inc., 영국 우드스톡 소재), DISETRONIC™ 펜(Disetronic Medical Systems, 스위스 버그도르프 소재), HUMALOG MIX 75/25™ 펜, HUMALOG™ 펜, HUMALIN 70/30™ 펜(Eli Lilly and Co., 인디애나주 인디애나폴리스 소재), NOVOPEN™ I, II 및 III(Novo Nordisk, 덴마크 코펜하겐 소재), NOVOPEN JUNIOR™(Novo Nordisk, 덴마크 코펜하겐 소재), BD™ 펜(Becton Dickinson, 뉴저지주 프랭클린 레이크 소재), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™, 및 OPTICLIK™(Sanofi-Aventis, 독일 프랑크푸르트 소재)이 포함되지만, 분명하게는 이들로 한정되지는 않는다. 본원에 개시된 약학적 조성물을 피하 전달하는 데 적용되는 일회용 펜 전달 장치의 몇 가지만 거명하자면, SOLOSTAR™ 펜(Sanofi-Aventis), FLEXPEN™(Novo Nordisk), 및 KWIKPEN™(Eli Lilly), SURECLICK™ Autoinjector(Amgen, 캘리포니아주 싸우전 오크스 소재), PENLET™(Haselmeier, 독일 슈투트가르트 소재), EPIPEN(Dey, L.P.) 및 HUMIRA™ 펜(Abbott Labs, 일리노이주 애벗 파크)이 포함되지만, 분명하게는 이들로 한정되지는 않는다.

[0231] 유리하게는, 전술한 경구 또는 비경구적으로 사용하기 위한 약학적 조성물은 활성 성분의 투여량에 적절히 맞춰진 단위 투여량의 투약 형태로 제조된다. 이러한 투여량 형태는, 예를 들어, 정제, 알약, 캡슐, 주사제(앰플), 좌제 등을 포함한다. 함유된 항체의 양은 일반적으로 단위 투여량의 형태의 투여량 당 약 5 내지 약 5000 mg이고; 특히 주사제 형태로는, 다른 투여량 형태에 대해 항체가 약 5 내지 약 500 mg 및 약 10 내지 약 250 mg으로 함유되는 것이 바람직하다.

[0232] **항체의 치료적 용도**

[0233] 본원에 개시된 항체는 인플루엔자 B 바이러스 감염증과 연관된 질환 또는 장애 또는 병태의 치료 및/또는 예방에 유용하고/하거나 이러한 질환, 장애 또는 병태와 관련된 적어도 하나의 증상을 완화시키는데 유용하다.

[0234] 특정 구현예에서, 본원에 제공된 항체는 인플루엔자 B 바이러스로 인한 중증 급성 호흡기 감염증을 앓고 있는 대상체를 치료하는 데 유용하다. 일부 구현예에서, 항체는 숙주에서 바이러스 역가를 감소시키거나 바이러스 양을 감소시키는 데 유용하다. 일 구현예에서, 항체 또는 항원 결합 단편은 인플루엔자 B 바이러스 감염증 환자에게 치료적 투여량으로 투여될 수 있다.

[0235] 본원에 개시된 하나 이상의 항체는, 치료를 받지 않았지만 유사한 상황에 놓인 e대상체에 비해, 질환 또는 장애의 증상 또는 병태 중 하나 이상의 중증도를 완화시키거나 예방하거나 감소시키기 위해 투여될 수 있다. 항체는, 발열, 기침, 인후염, 두통, 몸살, 피로, 극도의 탈진, 호흡 곤란, 기관지염, 폐렴 및 사망을 포함하나 이에 한정되지 않는, 인플루엔자 바이러스 감염증의 적어도 하나의 증상의 중증도를 개선하거나 감소시키는데 사용될 수 있다.

[0236] 또한, 인플루엔자 바이러스 감염증의 발생 위험이 있는 대상체, 예컨대, 면역체계가 손상된 개체, 65세 이상의 성인, 2세 미만의 유아, 의료 종사자, 인플루엔자 바이러스 감염증을 앓고 있는 환자와 밀접한 근위에 있는 가족 구성원, 및 병력이 있는 환자(예를 들어, 폐 감염, 심장 질환 또는 당뇨병에 대한 위험이 높은 환자)에게 본원에 개시된 하나 이상의 항체를 사용하는 것이 본원에서 고려된다.

[0237] 추가의 구현예에서, 본 항체는 인플루엔자 바이러스 감염증을 앓고 있는 환자를 치료하기 위한 약학적 조성물의 제조에 사용된다. 또 다른 구현예에서, 항체는 인플루엔자 바이러스 감염증을 치료 또는 개선하는데 유용한 것

으로 당업자에게 알려진 임의의 다른 제제 또는 임의의 다른 요법과 함께 보조 요법으로서 사용된다.

[0238] **병용 요법**

[0239] 병용 요법은 항-인플루엔자 B HA 항체 및 항체와 유리하게 조합될 수 있는 임의의 부가적인 치료제, 또는 항체의 생물학적으로 활성인 단편을 포함할 수 있다. 본원에 개시된 항체는 인플루엔자 바이러스를 치료하는 데 사용되는 하나 이상의 약물 또는 제제(예를 들어, 항-바이러스제)와 상승적으로 조합될 수 있다.

[0240] 예를 들어, 예시적인 항-바이러스제는 예를 들어, 백신, 뉴라미니다아제 억제제 또는 뉴클레오시드 유사체를 포함한다. 본원에 개시된 항체와 조합하여 사용될 수 있는 다른 예시적인 항-바이러스제는, 예를 들어, 지도부딘(zidovudine), 갱시클로비르(gangcyclovir), 비다라빈(vidarabine), 이독수리딘(idoxuridine), 트리플루리딘(trifluridine), 포스카넷(foscarnet), 아시클로비르(acyclovir), 리바비린(ribavirin), 아만타딘(amantadine), 레만티딘(remantidine), 사퀴나비르(saquinavir), 인디나비르(indinavir), 리토나비르(ritonavir), 알파-인터페론 및 기타 인터페론, 오셀타미비르(TAMIFLU®) 라니나미비르(laninamivir), 페라미비르(peramivir), 또는 리만타딘(rimantadine)을 포함할 수 있다.

[0241] 다른 예시적인 항-바이러스제는 HA 억제제, 시알산 억제제 및 M2 이온 채널 억제제를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 일 구현예에서, M2 이온 채널 억제제는 아만타딘 또는 리만타딘이다.

[0242] 일부 구현예에서, 본원에 개시된 항체는 인플루엔자 바이러스 감염증 환자에서 바이러스 양을 감소시키거나, 감염증의 하나 이상의 증상을 완화시키기 위해 제2 치료제와 조합될 수 있다.

[0243] 본원에 개시된 항체는 항염증제(예를 들어, 코르티코스테로이드, 및 비-스테로이드성 항염증제), 충혈완화제, 항-히스타민제, 항-감염성 약물, 인플루엔자 바이러스에 대한 상이한 항체, 항바이러스제, 인플루엔자 바이러스용 백신(예를 들어, FLUMIST® 또는 FLUVIRIN®), 항-산화제와 같은 식이 보조제 및 인플루엔자 바이러스 감염증을 치료하기 위한 다른 완화요법과 조합하여 사용될 수 있다. 완화요법은 대상체를 보다 편안하게 하고/하거나 인플루엔자 B 감염 증상의 중증도를 완화시키기 위한 대상체의 치료를 포함한다.

[0244] 특정 구현예에서, 제2 치료제는 인플루엔자에 대한 또 다른 항체이다. 특정 구현예에서, 제2 치료제는 인플루엔자 헤마글루티닌(예를 들어, 인플루엔자 A 헤마글루티닌)에 대한 또 다른 항체이다. 특정 구현예에서, 제2 치료제는 상이한 인플루엔자 단백질, 예컨대 뉴라미니다아제, 또는 매트릭스 단백질 2(M2e 단백질)의 4량체 엑토도메인에 대한 또 다른 항체이다. 특정 구현예에서, 제2 치료제는 숙주 막관통 프로테아제, 세린 2(TMPRSS2)와 같은 상이한 단백질에 대한 항체이다. 제2 항체는 바이러스의 상이한 아형 또는 균주로부터 유래된 하나 이상의 상이한 인플루엔자 바이러스 단백질에 대해 특이적일 수 있다. 인플루엔자 바이러스에 대해 광범위한 중화 또는 억제 활성을 갖는 항체의 조합("칵테일")을 사용하는 것이 본원에서 고려된다. 일부 구현예에서, 비경쟁 항체는 선택 압력의 결과인 신속한 돌연변이로 인해 인플루엔자 바이러스가 탈출하는 능력을 감소시키도록 조합되어 이를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 조합을 포함하는 항체는 HA 단백질 상의 구별되는 비-중첩 에피토프에 결합한다. 조합을 포함하는 항체는 숙주 세포에 대한 바이러스의 부착 및/또는 숙주 세포 내로의 진입 및/또는 숙주 세포와의 융합을 차단할 수 있다. 항체는 인플루엔자 B 균주 중 하나 이상으로부터 선택된 헤마글루티닌과 상호작용할 수 있고, 단독으로 사용되거나 전술한 하나 이상의 제제와 조합될 경우, B/Victoria/2/87, B/Yamagata/16/88, B/Maryland/03/2008, B/Nanchang/3451/93, 및/또는 B/Florida/4/2006를 포함하는 인플루엔자 B 균주 중 어느 하나 이상을 중화시킬 수 있다.

[0245] 또한, 본원에 개시된 인플루엔자 B HA 항체에 더하여, 항-인플루엔자 HA 항체의 조합을 사용하는 것이 고려되며, 여기에서 조합은 교차-경쟁하지 않는 하나 이상의 항체를 포함하고; 일부 구현예에서, 조합은 광범위한 중화 활성을 갖는 제1 항체 및 단리체의 좁은 스펙트럼에 대한 활성을 가지고 제1 항체와 교차 경쟁하지 않는 제2 항체를 포함한다.

[0246] 본원에서 사용되는 용어, "조합하여"는 추가의 치료적 활성 성분(들)이 본원에 개시된 항-인플루엔자 B HA 항체의 투여 전에, 동시에, 또는 후에 투여될 수 있음을 의미한다. 또한, 용어 "조합하여"는 항-인플루엔자-HA 항체 및 제2 치료제의 순차적 또는 부수적 투여를 포함한다.

[0247] 추가의 치료적 활성 성분(들)은 본원에 개시된 항-인플루엔자 B HA 항체의 투여 이전에 대상체에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 제1 성분이 제2 성분을 투여하기 1주일 전, 72시간 전, 60시간 전, 48시간 전, 36시간 전, 24시간 전, 12시간 전, 6시간 전, 5시간 전, 4시간 전, 3시간 전, 2시간 전, 1시간 전, 30분 전, 15분 전, 10분 전, 5분 전, 또는 1분 미만 전에 투여되는 경우, 제1 성분은 제2 성분 "이전에" 투여되는 것으로 간주될 수 있다. 다른 구현예에서, 추가의 치료적 활성 성분(들)은 본원에 개시된 항-인플루엔자 B HA 항체의 투여 이후에

대상체에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 제1 성분이 제2 성분을 투여하고 1분 후, 5분 후, 10분 후, 15분 후, 30분 후, 1시간 후, 2시간 후, 3시간 후, 4시간 후, 5시간 후, 6시간 후, 12시간 후, 24시간 후, 36시간 후, 48시간 후, 60시간 후, 72시간 후에 투여되는 경우, 제1 성분은 제2 성분 "이후에" 투여되는 것으로 간주될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 추가의 치료적 활성 성분(들)은 본원에 개시된 항-인플루엔자 B HA 항체의 투여와 동시에 대상체에게 투여될 수 있다. 본 개시의 목적을 위해, "동시" 투여는, 예를 들어, 항-인플루엔자 B HA 항체 및 추가의 치료적 활성 성분을 단일 투여 형태로 대상체에게 투여하는 것, 또는 별도의 투여 형태로 서로 약 30분 이내의 간격을 두고 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 별도의 투여 형태로 투여되는 경우, 각 투여 형태는 동일한 경로를 통해 투여될 수 있고(예를 들어, 항-인플루엔자 B HA 항체 및 추가의 치료적 활성 성분 모두 정맥내 등으로 투여될 수 있음); 대안적으로, 각 투여 형태는 상이한 경로를 통해 투여될 수 있다(예를 들어, 항-인플루엔자 B HA 항체는 정맥내 투여되고, 추가의 치료적 활성 성분은 경구 투여될 수 있음). 어떤 경우에도, 본 발명의 목적을 위해, 조성물을 단일 투여 형태로 투여하거나, 동일한 경로에 의해 별도의 투여 형태로 투여하거나, 상이한 경로에 의해 별도의 투여 형태로 투여하는 것은 모두 "동시 투여"로서 간주된다. 본 개시의 목적을 위해, 항-인플루엔자 B HA 항체를 추가의 치료적 활성 성분의 투여 "이전", "동시" 또는 "이후"(이들 용어는 본원에 정의되어 있음)에 투여하는 것은 항-인플루엔자 B HA 항체가 추가의 치료적 활성 성분과 "조합으로" 투여되는 것으로 간주된다.

[0248] 본 개시는, 본원에 기술된 항-인플루엔자 B HA 항체가 본 개시의 다른 곳에 기술된 것과 같은 추가의 치료적 활성 성분(들) 중 하나 이상과 공동으로 제형화되는 약학적 조성물을 포함한다.

[0249] **투여 요법**

[0250] 특정 구현예에 따르면, 본원에 기술된 항-인플루엔자 B HA 항체 또는 이의 항원 결합 단편(또는 항-인플루엔자 HA 항체 또는 단편, 및 본원에서 언급된 임의의 추가적인 치료적 활성제의 조합을 포함하는 약학적 조성물)의 단일 투여량이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다. 본원에 기술된 특정 구현예에 따르면, 항-인플루엔자 B HA 항체(또는 항-인플루엔자 B HA 항체, 및 본원에서 언급된 추가의 치료적 활성제 중 어느 하나의 조합을 포함하는 약학적 조성물)의 다회 투여량이 정의된 시간 과정에 걸쳐 대상체에게 투여될 수 있다. 본 개시의 이러한 양태에 따른 방법은 항-인플루엔자 B HA 항체의 다회 투여량을 대상체에게 순차적으로 투여하는 단계를 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "순차적 투여"는 항-인플루엔자 B HA 항체의 각 투여량이 상이한 시점에, 예를 들어, 소정의 간격(예를 들어, 시간, 일, 주 또는 월)으로 분리된 상이한 날에 대상체에게 투여됨을 의미한다. 본 개시는 항-인플루엔자 B HA 항체의 1회 초기 투여량에 이어서 항-인플루엔자 B HA 항체의 하나 이상의 2차 투여량을 환자에게 순차적으로 투여하고, 이어서 항-인플루엔자 B HA 항체의 1회 이상의 3차 투여량을 선택적으로 투여하는 단계를 포함하는 방법을 포함한다.

[0251] 용어 "초기 투여량", "2차 투여량" 및 "3차 투여량"은 본 발명의 항-인플루엔자 B HA 항체의 시간적 투여 순서를 지칭한다. 따라서, "초기 투여량"은 치료 처방의 시작 시 투여되는 투여량("베이스라인 투여량"으로도 지칭됨); "2차 투여량"은 초기 투여 후 투여되는 투여량이고; "3차 투여량"은 2차 투여 후 투여되는 투여량이다. 초기, 2차 및 3차 투여량은 모두 동일한 양의 항-인플루엔자-HA 항체를 함유할 수 있지만, 일반적으로 투여 빈도에서 서로 다를 수 있다. 그러나, 특정 구현예에서, 초기, 2차 및/또는 3차 투여량에 함유된 항-인플루엔자 B HA 항체의 양은 치료 과정 동안 서로 다를 수 있다(예를 들어, 적절하게 상향 또는 하향 조절됨). 특정 구현예에서, 2가지 이상의(예를 들어, 2, 3, 4, 또는 5가지) 투여량이 치료 요법 시작 시 "로딩 투여량"으로서 투여되고, 적은 빈도수 기준으로 투여되는 후속 투여량(예를 들어, "유지 투여량")이 이어진다.

[0252] 특정 예시적인 구현예에서, 각각의 2차 및/또는 3차 투여량은 직전 투여량의 1 내지 48시간 이후에 (예를 들어, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½시간 또는 그 이상 후에) 투여된다. 본원에서 사용되는, "직전 투여량"이라는 문구는, 다회 투여의 순서에 있어서, 순서 상 바로 다음 투여량이 환자에게 투여되기 전에 투여되는 항-인플루엔자 B HA 항체의 투여량을 의미하고, 이들 사이에 개재되는 투여량이 없음을 의미한다.

[0253] 이러한 양태에 따른 방법은 항-인플루엔자 B HA 항체의 임의의 수의 제2 및/또는 제3 투여량을 환자에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 특정 구현예에서, 1회의 2차 투여량만이 환자에게 투여된다. 다른 실시예에서, 2회 이상의 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8회 또는 그 이상의) 2차 투여량이 환자에게 투여된다. 마찬가지로, 특정 구현예에서, 1회의 3차 투여량만이 환자에게 투여된다. 다른 실시예에서, 2회 이상의 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8회 또는 그 이상의) 3차 투여량이 환자에게 투여된다.

[0254] 특정 구현예에서, 2차 및/또는 3차 투여량이 환자에게 투여되는 빈도는 치료 요법의 과정에 걸쳐 달라질 수 있다. 투여 빈도는 임상 검사 후 개별 환자의 필요에 따라 의사가 치료 과정 동안 조정할 수도 있다.

[0255] **항체의 진단적 사용**

[0256] 항-인플루엔자 B HA 항체는, 예를 들어 진단을 목적으로 샘플에서 인플루엔자 B HA를 검출 및/또는 측정하는 데 사용될 수 있다. 일부 구현예는 바이러스 감염증과 같은 질환 또는 장애를 검출하기 위한 분석에서 하나 이상의 항체를 사용하는 것을 고려한다. 인플루엔자 B HA에 대한 예시적인 진단 분석은 예를 들어, 환자로부터 수득한 샘플을 항-인플루엔자 B HA 항체와 접촉시키는 단계를 포함할 수 있으며, 여기에서 항-인플루엔자 B HA 항체는 검출가능한 표지 또는 리포터 분자로 표지되거나 환자 샘플로부터 인플루엔자 B HA를 선택적으로 분리하기 위한 포획 리간드로서 사용된다. 대안적으로, 표지되지 않은 항-인플루엔자 B HA 항체가 자체적으로 검출 가능하게 표지된 보조 항체와 병용으로 진단 용도에 사용될 수 있다. 검출 가능한 표지 또는 리포터 분자는 ^{3}H, ^{14}C, ^{32}P, ^{35}S 또는 ^{125}I와 같은 방사성 동위원소; 플루오레세인 이소티오시아네이트 또는 로다민과 같은 형광 모이어티 또는 화학발광 모이어티; 또는 알칼라인 포스파타아제, β-갈락토시다아제, 서양 고추냉이 퍼옥시다아제, 또는 루시페라아제와 같은 효소일 수 있다. 샘플에서 인플루엔자 B HA를 검출하거나 측정하는 데 사용할 수 있는 특정 예시적인 분석은 효소 결합 면역흡착 분석(ELISA), 방사성 면역분석(RIA) 및 형광 활성화 세포 분류(FACS)를 포함한다.

[0257] 인플루엔자 B HA 진단 분석에 사용될 수 있는 샘플은 환자로부터 얻을 수 있는 임의의 조직 또는 체액 샘플을 포함하며, 이러한 샘플은 정상적인 또는 병리학적 조건 하에서 검출 가능한 양의 인플루엔자 B HA 또는 이의 단편을 함유한다. 일반적으로, 인플루엔자 B HA의 베이스라인 또는 표준 수준을 초기에 확립하기 위해 건강한 환자(예를 들어, 인플루엔자와 연관된 질환에 걸리지 않은 환자)로부터 수득한 특정 샘플 내 인플루엔자 B HA의 수준을 측정하게 된다. 그런 다음, 인플루엔자 B HA의 이러한 베이스라인 수준을, 인플루엔자 B HA-관련 병태, 또는 이러한 병태와 관련된 증상을 갖는 것으로 의심되는 개체로부터 수득한 샘플에서 측정된 인플루엔자 B HA의 수준과 비교할 수 있다.

[0258] 인플루엔자 B HA에 특이적인 항체는 추가의 표지 또는 모이어티를 함유하지 않거나, N-말단 또는 C-말단 표지 또는 모이어티를 함유할 수 있다. 일 구현예에서, 표지 또는 모이어티는 비오틴이다. 결합 분석에서, 표지의 위치(있는 경우)를 통해 펩티드가 결합되는 표면에 대한 펩티드의 상대적인 배향을 결정할 수 있다. 예를 들어, 표면이 아비딘으로 코팅된 경우, N-말단 비오틴을 함유하는 펩티드는 펩티드의 C-말단 부분이 표면에 대해 원위에 있도록 배향될 것이다.

[0259] **실시예**

[0260] 다음 예들은 당업자에게 본원에 개시된 방법 및 조성물을 제조하고 사용하는 방법의 완전한 개시 및 설명을 제공하기 위해 제시된 것으로, 본 발명자들이 개시로 간주하는 것의 범위를 제한하고자 하는 것이 아니다. 사용된 숫자(예를 들어, 양, 온도 등)와 관련하여 정확성을 보장하기 위한 노력을 기울였으나 약간의 실험 오차와 편차에 대해서는 설명되어야 한다. 달리 표시되지 않는 한, 부(parts)는 중량 부(parts by weight)이고, 분자량은 평균 분자량이며, 온도는 섭씨 온도이고, 실온은 약 25℃이며, 압력은 대기압이거나 거의 대기압이다.

[0261] **실시예 1: 인플루엔자 B 헤마글루티닌(HA)에 대한 인간 항체의 생성**

[0262] 인간 면역글로불린 중쇄 및 카파 경쇄 가변 영역을 암호화하는 DNA를 포함하는 VELOCIMMUNE® 마우스에서 인플루엔자 헤마글루티닌에 대한 인간 항체를 생성하였다. 마우스를 인플루엔자 A 및 B 헤마글루티닌을 발현하는 벡터의 조합으로 면역화한 다음, 인플루엔자 A 및 B 균주로 감염 및 회복시키고, 이어서 재조합 헤마글루티닌 단백질의 혼합물을 포함하는 추가 부스터 접종을 하였다. 항체 면역 반응은 인플루엔자 HA 특이적 면역 분석으로 모니터링하였다. 미국 특허 제7582298호(그 전체가 구체적으로 본원에 참조로서 통합됨)에 기술된 바와 같이, 항-인플루엔자 B HA 항체를 골수종 세포와 융합시키지 않고 항원-양성 B 세포로부터 직접 단리하였다. 이러한 방법을 사용하여, 완전한 인간 항-인플루엔자 HA 항체(즉, 인간 가변 도메인 및 인간 불변 도메인을 갖는 항체)를 수득하였다.

[0263] 본원에 기술된 예시적인 항체는 mAb 35490으로 지정된다. 본 실시예의 방법에 따라 생성된 예시적인 항체의 생물학적 특성은 아래에 제시된 실시예에서 상세히 기술된다.

[0264] **실시예 2: 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 및 핵산 서열**

[0265] 표 1은 예시적인 항-인플루엔자 B HA 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 및 CDR뿐만 아니라 중쇄 및 경쇄 서열의 아미노산 서열 식별자를 제시한다. 상응하는 핵산 서열 식별자는 표 2에 제시된다.

[표 1] 아미노산 서열 식별자

	서열번호									
항체 명칭	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HC	LC
mAb35490	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20

[표 2] 핵산 서열 식별자

	서열번호									
항체 명칭	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HC	LC
mAb35490	1	3	5	7	9	11	13	15	17	19

[0266]

[0267] 본원에 개시된 항체는 완전한 인간 가변 영역을 갖지만, 마우스 불변 영역(예를 들어, 마우스 IgG1 Fc 또는 마우스 IgG2 Fc(a 또는 b 이소형)), 또는 인간 불변 영역(예를 들어, 인간 IgG1 Fc 또는 인간 IgG4 Fc)을 가질 수 있다. 당업자가 이해할 수 있듯이, 특정 Fc 이소형을 갖는 항체는 상이한 Fc 이소형을 갖는 항체로 변환될 수 있지만(예를 들어, 마우스 IgG1 Fc를 갖는 항체는 인간 IgG4를 갖는 항체 등으로 변환될 수 있지만), 어떤 경우에도, 표 1 및 표 2에 나타낸 수치 식별자에 의해 표시되는 가변 도메인(CDR 포함)은 동일하게 유지될 것이고, 항체에 대한 결합 특성은 Fc 도메인의 성질에 상관없이 동일하거나 실질적으로 유사할 것으로 예상된다.

[0268] **실시예 3: 인플루엔자 감염 세포에 대한 항-헤마글루티닌 항체 결합**

[0269] MDCK London 세포를 96-웰 플레이트에서 50 μL의 감염 배지(1% 피루브산 나트륨, 0.21% 저 IgG BSA 용액, 및 0.5% 겐타마이신을 함유하는 DMEM)에서 40,000 세포/웰로 시딩하였다. 세포를 5% CO_2 하 37℃에서 4시간 동안 인큐베이션하였다. 그런 다음, 플레이트를 50 μL의 인플루엔자 B/Florida/4/2006 바이러스(B/Yamagata 계통의 백신 균주)로 10E-2.5의 희석으로 감염시키고, 부드럽게 두들긴 후 37℃ 5% CO_2에서 20시간 동안 다시 두었다. 그런 다음, 플레이트를 PBS로 1회 세척하고, PBS 중 4% PFA 50 μL로 고정시키고, 실온에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 PBS로 3회 세척하고, 300 μL의 StartingBlock™(PBS) 차단 완충액(Thermo Fisher Scientific)으로 실온에서 1시간 동안 차단하였다. 인플루엔자 B 항-HA 항체 mAb35490P(인간 IgG1 Fc로 포맷됨) 및 인간 IgG1 이소형 대조군 항체를 차단 완충액 중 100 μg/mL의 시작 농도로 희석하고, 6.1E-3 μg/mL의 최종 농도로 1:4로 적정하였다. 인큐베이션 후, 차단 완충액을 플레이트로부터 제거하고 희석된 항체를 75 μL/웰로 세포 상에 첨가하였다. 플레이트를 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 플레이트를 세척 완충액(Milli-Q 물 중 1X로 희석된 이미다졸-완충 식염수 및 Tween® 20)으로 3회 세척하고, 차단 완충액 중 1:2000으로 희석된 2차 항체(과산화효소 AffiniPure 당나귀 항-인간 IgG, Jackson ImmunoResearch)의 75 μL/웰로 중첩시켰다. 2차 용액을 실온에서 1시간 동안 플레이트 상에서 인큐베이션하였다. 이어서, 플레이트를 세척 완충액으로 3회 세척하고, 75 μL/웰의 개발 중인 기질 ELISA Pico 기질을 첨가하였다(1:1로 제조). 발광에 대해 Molecular Devices Spectramax i3x 플레이트 판독기 상에서 플레이트를 즉시 판독하였고, EC_{50} 데이터를 표 3에 나타냈다.

[표 3] FluB 감염 세포 항-HA 결합 ELISA

항체	EC_{50} log[M]
인간 IgG1 이소형 대조군	결합 없음
mAb35490	7.610E-10

[0270]

[0271] 표 3에서 알 수 있듯이, mAb35490은 nM 미만의 농도에서 인플루엔자 B 감염 세포에 결합하였으며, 이는 HA에 대한 특이적 결합을 입증한다.

[0272] **실시예 4: 예방적 항체 투여를 통한 인플루엔자 B 유도 사망률의 예방**

[0273] Balb/C Elite 마우스를, 감염 5일 전, 목덜미 내로 피하 주사를 통해 5 mg/kg 또는 0.5 mg/kg의 mAb35490(인간 IgG1 Fc로 포맷됨) 또는 PBS에 희석된 5 mg/kg의 인간 IgG1 이소형 대조군 항체로 치료하였다. 감염 당일, 인플루엔자 B/Florida/4/2006 바이러스 스톡을 얼음 위에서 해동하고, 20 μL PBS(2.0E05 pfu/mL) 중 4000 pfu 바이러스를 함유하도록 2.05E08 pfu/mL의 스톡으로부터 PBS에 희석하였다. 바이러스를 항상 얼음 위에 두었다. 각

마우스에게 2.4 mg/kg의 케타민 및 0.1 mg/kg의 자일라진의 칵테일을 주입하고, 완전히 잠들 때까지 약 10 내지 15분 동안 휴식시켰다. 그런 다음, 바이러스를 완전히 흡입하도록 각 마우스에게 20 μL의 바이러스(4000 pfu)를 비강내 투여하였다. 그런 다음, 감염 후 2주 동안 마우스의 체중 감소 및 이환율을 모니터링하였다. 감염 당시의 초기 체중 대비 25% 이상의 체중 감소는 안락사를 초래하였다. 결과를 표 4에 나타냈다.

[표 4] mAb35490 또는 이소형 대조군의 투여 후 마우스 생존율

항체	투여량(mg/kg)	생존 % (감염 후 2주 시점)
mAb35490	5	100
mAb35490	0.5	100
인간 IgG1 이소형 대조군	5	0 (감염 후 8일차에 안락사됨)

[0274]

[0275] 인간 IgG1 이소형 대조군 항체로 치료한 모든 동물은 감염에 굴복하였고 감염 후 8일차에 안락사될 필요가 있었다. 5 mg/kg 및 0.5 mg/kg 두 가지의 mAb35490로 치료한 모든 동물은 감염을 극복하였으며, 이는 FluB 항-HA 항체 mAb35490의 효능을 입증한다.

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.

BAUM, Alina

KYRATSOUS, Christos

<120> ANTI-HEMAGGLUTININ ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF

<130> 10625WO01

<140> TBD

<141> 2020-10-28

<150> 62/926,914

<151> 2019-10-28

<150> 63/094,170

<151> 2020-10-20

<160> 24

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 1

gaggtgcagc tggtggagtc tggaggagac ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt agcaactata tgagttgggt ccgccaggtt 120

ccagggaagg ggctggactg ggtctcagtt acttatagcg gtggtaacac atactacgca 180

gactccgtga aaggccgatt caccatttcc agacacaatt ccaagaacac gctatatctt 240

caaatgaaca gcctgagaat tgaggacacg gccgtttatt actgtgcgac cgtaccctcg 300

tttcacggta tggacgtctg gggccaaggg accacggtca ccgtctcctc a 351

<210> 2

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 2

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn

20 25 30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp Val

35 40 45

Ser Val Thr Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg His Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ile Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Thr Val Pro Ser Phe His Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 3

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 3

ggattcaccg tcagtagcaa ctat 24

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 4

Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn Tyr

1 5

<210> 5

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 5

acttatagcg gtggtaacac a 21

<210> 6

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 6

Thr Tyr Ser Gly Gly Asn Thr

1 5

<210> 7

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 7

gcgaccgtac cctcgtttca cggtatggac gtc 33

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 8

Ala Thr Val Pro Ser Phe His Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 9

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 9

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 10

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 10

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro

85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 11

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 11

cagagcatta gcagctat 18

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 12

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 13

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 13

gctgcatcc 9

<210> 14

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 14

Ala Ala Ser

1

<210> 15

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 15

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30

<210> 16

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 16

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1 5 10

<210> 17

<211> 1344

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 17

gaggtgcagc tggtggagtc tggaggagac ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt agcaactata tgagttgggt ccgccaggtt 120

ccagggaagg ggctggactg ggtctcagtt acttatagcg gtggtaacac atactacgca 180

gactccgtga aaggccgatt caccatttcc agacacaatt ccaagaacac gctatatctt 240

caaatgaaca gcctgagaat tgaggacacg gccgtttatt actgtgcgac cgtaccctcg 300

tttcacggta tggacgtctg gggccaaggg accacggtca ccgtctcctc agcctccacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 660
gacaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 720
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 900
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag 1080
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200
gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagtcc 1320
ctctccctgt ctccgggtaa atga 1344

<210> 18
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic
<400> 18

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp Val
35 40 45
Ser Val Thr Tyr Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg His Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ile Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Thr Val Pro Ser Phe His Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu

115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180 185 190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 19

<211> 648

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 19

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgttag 648

<210> 20

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic

<400> 20

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 21

<211> 585

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAA43697.1 HA from B/Victoria/2/87

<400> 21

Met Lys Ala Ile Ile Val Leu Leu Met Val Val Thr Ser Asn Ala Asp

1 5 10 15

Arg Ile Cys Thr Gly Ile Thr Ser Ser Asn Ser Pro His Val Val Lys

20 25 30

Thr Ala Thr Gln Gly Glu Val Asn Val Thr Gly Val Ile Pro Leu Thr

35 40 45

Thr Thr Pro Thr Lys Ser His Phe Ala Asn Leu Lys Gly Thr Lys Thr

50 55 60

Arg Gly Lys Leu Cys Pro Lys Cys Leu Asn Cys Thr Asp Leu Asp Val

65 70 75 80

Ala Leu Ala Arg Pro Lys Cys Met Gly Thr Ile Pro Ser Ala Lys Ala

85 90 95

Ser Ile Leu His Glu Val Lys Pro Val Thr Ser Gly Cys Phe Pro Ile

100 105 110

Met His Asp Arg Thr Lys Ile Arg Gln Leu Pro Asn Leu Leu Arg Gly

115 120 125

Tyr Glu His Ile Arg Leu Ser Thr His Asn Val Ile Asn Ala Glu Thr

130 135 140

Ala Pro Gly Gly Pro Tyr Lys Val Gly Thr Ser Gly Ser Cys Pro Asn

145 150 155 160

Val Thr Asn Gly Asn Gly Phe Phe Ala Thr Met Ala Trp Ala Val Pro

165 170 175

Lys Asn Asp Asn Asn Lys Thr Ala Thr Asn Pro Leu Thr Val Glu Val

180 185 190

Pro Tyr Ile Cys Thr Glu Gly Glu Asp Gln Ile Thr Val Trp Gly Phe

195 200 205

His Ser Asp Ser Glu Thr Gln Met Val Lys Leu Tyr Gly Asp Ser Lys

210 215 220

Pro Gln Lys Phe Thr Ser Ser Ala Asn Gly Val Thr Thr His Tyr Val

225 230 235 240

Ser Gln Ile Gly Gly Phe Pro Asn Gln Ala Glu Asp Gly Gly Leu Pro

245 250 255

Gln Ser Gly Arg Ile Val Val Asp Tyr Met Val Gln Lys Ser Gly Lys

260 265 270

Thr Gly Thr Ile Thr Tyr Gln Arg Gly Ile Leu Leu Pro Gln Lys Val

275 280 285

Trp Cys Ala Ser Gly Arg Ser Lys Val Ile Lys Gly Ser Leu Pro Leu

290 295 300

Ile Gly Glu Ala Asp Cys Leu His Glu Lys Tyr Gly Gly Leu Asn Lys

305 310 315 320

Ser Lys Pro Tyr Tyr Thr Gly Glu His Ala Lys Ala Ile Gly Asn Cys

325 330 335

Pro Ile Trp Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys Tyr

340 345 350

Arg Pro Pro Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg Gly Phe Phe Gly Ala Ile

355 360 365

Ala Gly Phe Leu Glu Gly Gly Trp Glu Gly Met Ile Ala Gly Trp His

370 375 380

Gly Tyr Thr Ser His Gly Ala His Gly Val Ala Val Ala Ala Asp Leu

385 390 395 400

Lys Ser Thr Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile Thr Lys Asn Leu Asn Ser

405 410 415

Leu Ser Glu Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Arg Leu Ser Gly Ala Met

420 425 430

Asp Glu Leu His Asn Glu Ile Leu Glu Leu Asp Glu Lys Val Asp Asp
435 440 445
Leu Arg Ala Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile Glu Leu Ala Val Leu Leu
450 455 460
Ser Asn Glu Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp Glu His Leu Leu Ala Leu

465 470 475 480
Glu Arg Lys Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro Ser Ala Val Glu Ile Gly
485 490 495
Asn Gly Cys Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu Asp
500 505 510
Arg Ile Ala Ala Gly Thr Phe Asn Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro Thr
515 520 525
Phe Asp Ser Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly Leu

530 535 540
Asp Asn His Thr Ile Leu Leu Tyr Tyr Ser Thr Ala Ala Ser Ser Leu
545 550 555 560
Ala Val Thr Leu Met Ile Ala Ile Phe Ile Val Tyr Met Val Ser Arg
565 570 575
Asp Asn Val Ser Cys Ser Ile Cys Leu
580 585

<210> 22
<211> 346
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> AAD02807.1 HA from B/Nanchang/3451/93

<400> 22
Asp Arg Ile Cys Thr Gly Ile Thr Ser Ser Asn Ser Pro His Val Val
1 5 10 15
Lys Thr Ala Thr Gln Gly Glu Val Asn Val Thr Gly Val Ile Pro Leu
20 25 30
Thr Thr Thr Pro Thr Lys Ser His Phe Ala Asn Leu Lys Gly Thr Lys
35 40 45

```
Thr Arg Gly Lys Leu Cys Pro Asn Cys Leu Asn Cys Thr Asp Leu Asp
    50                  55                  60

Val Ala Leu Gly Arg Pro Met Cys Val Gly Thr Thr Pro Ser Ala Lys
65                  70                  75                  80
Ala Ser Ile Leu His Glu Val Arg Pro Val Thr Ser Gly Cys Phe Pro
                85                  90                  95
Ile Met His Asp Arg Thr Lys Ile Arg Gln Leu Pro Asn Leu Leu Arg
            100                 105                 110
Gly Tyr Glu Asn Ile Arg Leu Ser Thr Gln Asn Val Ile Asn Ala Glu
        115                 120                 125

Lys Ala Pro Gly Gly Pro Tyr Arg Leu Gly Thr Ser Gly Ser Cys Pro
    130                 135                 140
Asn Ala Thr Ser Arg Ser Gly Phe Phe Ala Thr Met Ala Trp Ala Val
145                 150                 155                 160
Pro Gly Asp Asn Asn Lys Thr Ala Thr Gly Pro Leu Thr Val Glu Val
                165                 170                 175
Pro Tyr Ile Cys Thr Lys Gly Glu Asp Gln Ile Thr Val Trp Gly Phe
            180                 185                 190

His Ser Asp Ser Lys Thr Arg Met Arg Ser Leu Tyr Gly Asp Ser Asn
        195                 200                 205
Pro Gln Lys Phe Thr Ser Ser Ala Asn Gly Val Thr Thr His Tyr Val
    210                 215                 220
Ser Gln Ile Gly Gly Phe Pro Asp Gln Thr Glu Asp Gly Gly Leu Pro
225                 230                 235                 240
Gln Ser Gly Arg Ile Val Val Asp Tyr Met Val Gln Lys Pro Gly Lys
                245                 250                 255

Thr Gly Thr Ile Val Tyr Gln Arg Gly Val Leu Leu Pro Gln Lys Val
            260                 265                 270
Trp Cys Ala Ser Gly Arg Ser Lys Val Ile Lys Gly Ser Leu Pro Leu
        275                 280                 285
Ile Gly Glu Ala Asp Cys Leu His Glu Lys Tyr Gly Gly Leu Asn Lys
```

290 295 300

Ser Lys Pro Tyr Tyr Thr Gly Glu His Ala Lys Ala Ile Gly Asn Cys

305 310 315 320

Pro Ile Trp Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys Tyr

325 330 335

Arg Pro Pro Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg

340 345

<210> 23

<211> 584

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ABN50712.1 HA from B/Singapore/11/1994

<400> 23

Met Lys Ala Ile Ile Val Leu Leu Met Val Val Thr Ser Asn Ala Asp

1 5 10 15

Arg Ile Cys Thr Gly Ile Thr Ser Ser Asn Ser Pro His Val Val Lys

20 25 30

Thr Ala Thr Gln Gly Glu Val Asn Val Thr Gly Val Ile Pro Leu Thr

35 40 45

Thr Thr Pro Thr Lys Ser His Phe Ala Asn Leu Lys Gly Thr Lys Thr

50 55 60

Arg Gly Lys Leu Cys Pro Asn Cys Leu Asn Cys Thr Asp Leu Asp Val

65 70 75 80

Ala Leu Gly Arg Pro Met Cys Val Gly Thr Thr Pro Ser Ala Lys Ala

85 90 95

Ser Ile Leu His Glu Val Arg Pro Val Thr Ser Gly Cys Phe Pro Ile

100 105 110

Met His Asp Arg Thr Lys Ile Arg Gln Leu Pro Asn Leu Leu Arg Gly

115 120 125

Tyr Glu Asn Ile Arg Leu Ser Thr Gln Asn Val Ile Asn Ala Glu Lys

130 135 140

Ala Pro Gly Gly Pro Tyr Arg Leu Gly Thr Ser Gly Ser Cys Pro Asn

145 150 155 160

Ala Thr Ser Arg Ser Gly Phe Phe Ala Thr Met Ala Trp Ala Val Pro

165 170 175

Arg Asp Asn Asn Lys Thr Ala Thr Asn Pro Leu Thr Val Glu Val Pro

180 185 190

Tyr Val Cys Thr Glu Gly Glu Asp Gln Ile Thr Val Trp Gly Phe His

195 200 205

Ser Asp Asn Lys Thr Gln Met Lys Asn Leu Tyr Gly Asp Ser Asn Pro

210 215 220

Gln Lys Phe Thr Ser Ser Ala Asn Gly Val Thr Thr His Tyr Val Ser

225 230 235 240

Gln Ile Gly Gly Phe Pro Asp Gln Thr Glu Asp Gly Gly Leu Pro Gln

245 250 255

Ser Gly Arg Ile Val Val Asp Tyr Met Val Gln Lys Pro Gly Lys Thr

260 265 270

Gly Thr Ile Val Tyr Gln Arg Gly Val Leu Leu Pro Gln Lys Val Trp

275 280 285

Cys Ala Ser Gly Arg Ser Lys Val Ile Lys Gly Ser Leu Pro Leu Ile

290 295 300

Gly Glu Ala Asp Cys Leu His Glu Lys Tyr Gly Gly Leu Asn Lys Ser

305 310 315 320

Lys Pro Tyr Tyr Thr Gly Glu His Ala Lys Ala Ile Gly Asn Cys Pro

325 330 335

Ile Trp Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys Tyr Arg

340 345 350

Pro Pro Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg Gly Phe Phe Gly Ala Ile Ala

355 360 365

Gly Phe Leu Glu Gly Gly Trp Glu Gly Met Ile Ala Gly Trp His Gly

370 375 380

Tyr Thr Ser His Gly Ala His Gly Val Ala Val Ala Ala Asp Leu Lys

385 390 395 400

Ser Thr Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile Thr Lys Asn Leu Asn Ser Leu

405 410 415

Ser Glu Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Arg Leu Ser Gly Ala Met Asp

420 425 430

Glu Leu His Asn Glu Ile Leu Glu Leu Asp Glu Lys Val Asp Asp Leu

435 440 445

Arg Ala Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile Glu Leu Ala Val Leu Leu Ser

450 455 460

Asn Glu Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp Glu His Leu Leu Ala Leu Glu

465 470 475 480

Arg Lys Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro Ser Ala Val Asp Ile Gly Asn

485 490 495

Gly Cys Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu Asp Arg

500 505 510

Ile Ala Ala Gly Thr Phe Asn Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro Thr Phe

515 520 525

Asp Ser Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly Leu Asp

530 535 540

Asn His Thr Ile Leu Leu Tyr Tyr Ser Thr Ala Ala Ser Ser Leu Ala

545 550 555 560

Val Thr Leu Met Ile Ala Ile Phe Ile Val Tyr Met Val Ser Arg Asp

565 570 575

Asn Val Ser Cys Ser Ile Cys Leu

580

<210> 24

<211> 584

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ACA33493.1 HA from B/Florida/4/2006

<400> 24

```
Met Lys Ala Ile Ile Val Leu Leu Met Val Val Thr Ser Asn Ala Asp
1               5                  10                  15
Arg Ile Cys Thr Gly Ile Thr Ser Ser Asn Ser Pro His Val Val Lys
            20                  25                  30
Thr Ala Thr Gln Gly Glu Val Asn Val Thr Gly Val Ile Pro Leu Thr
        35                  40                  45
Thr Thr Pro Thr Lys Ser Tyr Phe Ala Asn Leu Lys Gly Thr Arg Thr
    50                  55                  60

Arg Gly Lys Leu Cys Pro Asp Cys Leu Asn Cys Thr Asp Leu Asp Val
65                  70                  75                  80
Ala Leu Gly Arg Pro Met Cys Val Gly Thr Thr Pro Ser Ala Lys Ala
                85                  90                  95
Ser Ile Leu His Glu Val Lys Pro Val Thr Ser Gly Cys Phe Pro Ile
            100                 105                 110
Met His Asp Arg Thr Lys Ile Arg Gln Leu Pro Asn Leu Leu Arg Gly
        115                 120                 125

Tyr Glu Asn Ile Arg Leu Ser Thr Gln Asn Val Ile Asp Ala Glu Lys
    130                 135                 140
Ala Pro Gly Gly Pro Tyr Arg Leu Gly Thr Ser Gly Ser Cys Pro Asn
145                 150                 155                 160
Ala Thr Ser Lys Ser Gly Phe Phe Ala Thr Met Ala Trp Ala Val Pro
                165                 170                 175
Lys Asp Asn Asn Lys Asn Ala Thr Asn Pro Leu Thr Val Glu Val Pro
            180                 185                 190

Tyr Ile Cys Thr Glu Gly Glu Asp Gln Ile Thr Val Trp Gly Phe His
        195                 200                 205
Ser Asp Asp Lys Thr Gln Met Lys Asn Leu Tyr Gly Asp Ser Asn Pro
    210                 215                 220
Gln Lys Phe Thr Ser Ser Ala Asn Gly Val Thr Thr His Tyr Val Ser
225                 230                 235                 240
Gln Ile Gly Ser Phe Pro Asp Gln Thr Glu Asp Gly Gly Leu Pro Gln
```

245 250 255

Ser Gly Arg Ile Val Val Asp Tyr Met Met Gln Lys Pro Gly Lys Thr
260 265 270
Gly Thr Ile Val Tyr Gln Arg Gly Val Leu Leu Pro Gln Lys Val Trp
275 280 285
Cys Ala Ser Gly Arg Ser Lys Val Ile Lys Gly Ser Leu Pro Leu Ile
290 295 300
Gly Glu Ala Asp Cys Leu His Glu Lys Tyr Gly Gly Leu Asn Lys Ser
305 310 315 320

Lys Pro Tyr Tyr Thr Gly Glu His Ala Lys Ala Ile Gly Asn Cys Pro
325 330 335
Ile Trp Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys Tyr Arg
340 345 350
Pro Pro Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg Gly Phe Phe Gly Ala Ile Ala
355 360 365
Gly Phe Leu Glu Gly Gly Trp Glu Gly Met Ile Ala Gly Trp His Gly
370 375 380

Tyr Thr Ser His Gly Ala His Gly Val Ala Val Ala Ala Asp Leu Lys
385 390 395 400
Ser Thr Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile Thr Lys Asn Leu Asn Ser Leu
405 410 415
Ser Glu Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Arg Leu Ser Gly Ala Met Asp
420 425 430
Glu Leu His Asn Glu Ile Leu Glu Leu Asp Glu Lys Val Asp Asp Leu
435 440 445

Arg Ala Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile Glu Leu Ala Val Leu Leu Ser
450 455 460
Asn Glu Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp Glu His Leu Leu Ala Leu Glu
465 470 475 480
Arg Lys Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro Ser Ala Val Glu Ile Gly Asn
485 490 495

Gly Cys Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu Asp Arg
500 505 510

Ile Ala Ala Gly Thr Phe Asn Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro Thr Phe
515 520 525

Asp Ser Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly Leu Asp
530 535 540

Asn His Thr Ile Leu Leu Tyr Tyr Ser Thr Ala Ala Ser Ser Leu Ala
545 550 555 560

Val Thr Leu Met Leu Ala Ile Phe Ile Val Tyr Met Val Ser Arg Asp
565 570 575

Asn Val Ser Cys Ser Ile Cys Leu
580