

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2025-503483

(P2025-503483A)

(43)公表日 令和7年2月4日(2025.2.4)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 38/48 (2006.01)	A 6 1 K 38/48	Z N A 4 C 0 7 6
A 6 1 K 47/14 (2017.01)	A 6 1 K 47/14	4 C 0 8 4
A 6 1 K 47/18 (2017.01)	A 6 1 K 47/18	4 H 0 4 5
A 6 1 K 47/26 (2006.01)	A 6 1 K 47/26	
A 6 1 K 47/02 (2006.01)	A 6 1 K 47/02	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全49頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-537890(P2024-537890)	(71)出願人	598032106
(86)(22)出願日	令和4年12月21日(2022.12.21)		バーテックス ファーマシューティカルズ
(85)翻訳文提出日	令和6年7月11日(2024.7.11)		インコーポレイテッド
(86)国際出願番号	PCT/US2022/082179		VERTEX PHARMACEUTI
(87)国際公開番号	WO2023/122691		CALS INCORPORATED
(87)国際公開日	令和5年6月29日(2023.6.29)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2
(31)優先権主張番号	63/293,013		2 1 0 , ポストン , ノーザン アペニ
(32)優先日	令和3年12月22日(2021.12.22)		ユー 5 0
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100106518
			弁理士 松谷 道子
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV	(74)代理人	100122301
	最終頁に続く		弁理士 富田 憲史
		(72)発明者	シャン, ピン
			アメリカ合衆国 9 5 1 2 9 カリフォルニ
			ア州サン・ホセ、ドイル・ロード 5 1 3
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 補体因子 - I 製剤

(57)【要約】

本明細書では、野生型補体因子 I (C F I) 及びその変異体を含む薬学的に許容される製剤が提供され、いくつかの実施形態では、野生型 C F I 及びその変異体は、融合構築物、例えばヒト血清アルブミンを含む融合構築物の部分である。製剤は、液体又は凍結乾燥状態のいずれかで保存中の急性ストレスに対して C F I を安定化させる。また、製剤を作製する方法、及び疾患の治療において製剤を使用する方法も提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

野生型補体因子 I (CFI) 又はその変異体 (CFI 変異体) を含む製剤であって、前記製剤が、緩衝剤、界面活性剤、及び張度改変剤を含む、製剤。

【請求項 2】

前記製剤が、増量剤、凍結保護剤、及び凍結乾燥保護剤のうちの 1 つ以上を含む、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 3】

前記 CFI 又はその変異体の濃度が、約 10 mg/ml ~ 約 300 mg/ml で存在する、請求項 1 又は 2 に記載の製剤。

10

【請求項 4】

前記 CFI 又はその変異体の濃度が、約 150 mg/ml で存在する、請求項 1 又は 2 に記載の製剤。

【請求項 5】

前記緩衝剤が、アセタート、ヒスチジン、又はスクシナートを含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項 6】

緩衝液剤が、酢酸ナトリウム、ヒスチジン塩酸塩、又はコハク酸ナトリウムである、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項 7】

前記緩衝剤が、約 1 mM ~ 約 50 mM で存在する、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の製剤。

20

【請求項 8】

前記界面活性剤が、ポリソルベート 80、ポリソルベート 20、ポリソルベート 80 / 20、又はポロキサマー F 68 である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項 9】

前記界面活性剤が、約 0.001% ~ 約 0.1% v/v で存在する、請求項 8 に記載の製剤。

【請求項 10】

前記界面活性剤が、約 0.01% ~ 約 0.03% v/v で存在する、請求項 9 に記載の製剤。

30

【請求項 11】

前記界面活性剤が、約 0.02% v/v で存在する、請求項 10 に記載の製剤。

【請求項 12】

前記張度改変剤が、ソルビトール、トレハロース、塩化ナトリウム、又はアルギニン塩酸塩である、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項 13】

前記増量剤が、トレハロース又はグリシンである、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項 14】

前記ソルビトールが、約 1% ~ 約 10% v/v で存在する、請求項 12 に記載の製剤。

40

【請求項 15】

前記ソルビトールが、約 5% v/v で存在する、請求項 14 に記載の製剤。

【請求項 16】

前記トレハロースが、約 1% ~ 約 15% v/v で存在する、請求項 12 に記載の製剤。

【請求項 17】

前記トレハロースが、約 10% v/v で存在する、請求項 16 に記載の製剤。

【請求項 18】

前記塩化ナトリウムが、約 1 mM ~ 約 500 mM で存在する、請求項 12 に記載の製剤

50

- 【請求項 19】
前記塩化ナトリウムが、約 150 mM で存在する、請求項 18 に記載の製剤。
- 【請求項 20】
前記アルギニン塩酸塩が、約 10 mM ~ 約 200 mM で存在する、請求項 12 に記載の製剤。
- 【請求項 21】
前記アルギニン塩酸塩が、約 70 mM で存在する、請求項 20 に記載の製剤。
- 【請求項 22】
前記アルギニン塩酸塩が、約 135 mM で存在する、請求項 20 に記載の製剤。
- 【請求項 23】 10
前記グリシンが、約 1% ~ 約 5% v/v で存在する、請求項 13 に記載の製剤。
- 【請求項 24】
前記グリシンが、約 2% で存在する、請求項 23 に記載の製剤。
- 【請求項 25】
前記グリシンが、約 1 mM ~ 約 100 mM で存在する、請求項 13 に記載の製剤。
- 【請求項 26】
前記グリシンが、60 mM で存在する、請求項 25 に記載の製剤。
- 【請求項 27】
前記凍結保護剤又は凍結乾燥保護剤が、グルコース、スクロース、グリシン、ソルビトール、トレハロース、スクロース、又はマンニトールから選択される、請求項 2 ~ 26 のいずれか一項に記載の製剤。 20
- 【請求項 28】
前記グルコースが、約 1% ~ 約 10% v/v で存在する、請求項 27 に記載の製剤。
- 【請求項 29】
前記グルコースが、約 4% v/v で存在する、請求項 28 に記載の製剤。
- 【請求項 30】
前記スクロースが、約 1% ~ 約 10% v/v で存在する、請求項 27 に記載の製剤。
- 【請求項 31】
前記スクロースが、約 4% v/v で存在する、請求項 28 に記載の製剤。
- 【請求項 32】 30
前記スクロースが、約 5% v/v で存在する、請求項 28 に記載の製剤。
- 【請求項 33】
前記スクロースが、約 8% v/v で存在する、請求項 28 に記載の製剤。
- 【請求項 34】
前記グリシンが、約 50 mM ~ 約 150 mM で存在する、請求項 27 に記載の製剤。
- 【請求項 35】
前記グリシンが、約 120 mM で存在する、請求項 34 に記載の製剤。
- 【請求項 36】
前記トレハロースが、約 1% ~ 約 10% v/v で存在する、請求項 27 に記載の製剤。
- 【請求項 37】 40
前記トレハロースが、約 4% v/v で存在する、請求項 36 に記載の製剤。
- 【請求項 38】
前記マンニトールが、約 1 mM ~ 約 100 mM で存在する、請求項 27 に記載の製剤。
- 【請求項 39】
前記マンニトールが、約 60 mM で存在する、請求項 38 に記載の製剤。
- 【請求項 40】
前記ソルビトールが、約 1% ~ 約 5% v/v で存在する、請求項 27 に記載の製剤。
- 【請求項 41】
前記ソルビトールが、約 2.5% v/v で存在する、請求項 40 に記載の製剤。
- 【請求項 42】 50

前記製剤が、表 2 . 2 又は表 3 . 3 に提示される前記製剤から選択される、請求項 1 ~ 4 1 のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項 4 3】

前記製剤が、固体形態にある、請求項 1 ~ 4 2 のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項 4 4】

前記製剤が、凍結乾燥形態にある、請求項 1 ~ 4 2 のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項 4 5】

前記製剤が、液体形態にある、請求項 1 ~ 4 2 のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項 4 6】

前記製剤が、 -80 + / - 2 、 -20 + / - 2 、 0 + / - 2 、 4 + / - 2 、 25 + / - 2 、 37 + / - 2 、 45 + / - 2 、又は 60 + / - 2 でのうちのいずれか 1 つ以上で安定である、請求項 1 ~ 4 5 のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項 4 7】

前記製剤が、少なくとも 1 週間、少なくとも 1 か月間、又は少なくとも 1 年間安定である、請求項 1 ~ 4 6 のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項 4 8】

前記製剤が、野生型 C F I を含む、請求項 1 ~ 4 7 のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項 4 9】

前記製剤が、野生型 C F I に関して少なくとも 1 つの改変を含む C F I 変異体を含み、前記 C F I 変異体が、補体系を調節することができ、前記 C F I 変異体が、前記野生型 C F I と比較して少なくとも 1 つの改善された特徴を有する、請求項 1 ~ 4 7 のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項 5 0】

前記改善された特徴が、半減期若しくは生物学的利用能の増加、又は活性、基質特異性、効力、基質親和性、補因子親和性、及び触媒能のうちのいずれか 1 つ以上の増加若しくは減少から選択される、請求項 4 9 に記載の製剤。

【請求項 5 1】

前記改善された特徴が、活性の増加である、請求項 5 0 に記載の製剤。

【請求項 5 2】

前記活性の増加が、野生型 C F I と比較して、C 3 b 及び / 又は C 4 b の切断の増加を含む、請求項 5 1 に記載の製剤。

【請求項 5 3】

前記 C F I 変異体が、配列番号 1 又は配列番号 5 に記載のアミノ酸配列を有する野生型 C F I に対応する少なくとも 1 つの改変を含む、請求項 4 9 に記載の製剤。

【請求項 5 4】

前記 C F I 変異体が、表 2 に提示されるものから選択される、請求項 4 9 に記載の製剤。

【請求項 5 5】

前記野生型 C F I 又は C F I 変異体が、第 1 の構成要素及び少なくとも第 2 の構成要素を含む融合構築物の第 1 の構成要素であり、前記野生型 C F I 又は C F I 変異体が、前記第 2 の構成要素に融合されている、請求項 1 ~ 5 4 のいずれか一項に記載の製剤。

【請求項 5 6】

前記融合構築物の前記第 2 の構成要素が、タンパク質である、請求項 5 5 に記載の製剤。

【請求項 5 7】

前記融合構築物の前記第 2 の構成要素が、半減期延長剤である、請求項 5 5 又は 5 6 に記載の製剤。

【請求項 5 8】

前記半減期延長剤が、改変アルブミン又はアルブミン誘導体である、請求項 5 7 に記載

の製剤。

【請求項 59】

前記半減期延長剤が、野生型アルブミンである、請求項 57 に記載の製剤。

【請求項 60】

前記半減期延長剤が、ヒト血清アルブミン又はその変異体である、請求項 57 に記載の製剤。

【請求項 61】

前記融合構築物が、配列番号 21 のアミノ酸配列を含む、請求項 60 に記載の製剤。

【請求項 62】

野生型 C F I 又はその変異体 (C F I 変異体) を含む融合構築物を含む製剤であって、
前記野生型 C F I 又は前記 C F I 変異体が、ヒト血清アルブミンに融合されており、前記
製剤が、表 2 . 2 又は表 3 . 3 に提示されているものから選択される、製剤。

10

【請求項 63】

前記融合構築物が、配列番号 21 のアミノ酸配列を含む、請求項 62 に記載の製剤。

【請求項 64】

状態の治療を必要とする対象において状態を治療する方法であって、前記方法が、治療
有効量の請求項 1 ~ 63 のいずれか一項に記載の製剤のうちのいずれか 1 つを前記対象に
投与することを含む、方法。

【請求項 65】

前記状態が、眼状態である、請求項 64 に記載の方法。

20

【請求項 66】

前記状態が、非眼状態である、請求項 64 に記載の方法。

【請求項 67】

前記対象が、ヒトである、請求項 64 ~ 66 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 68】

投与経路が、皮下である、請求項 64 ~ 67 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 69】

投与経路が、静脈内である、請求項 64 ~ 67 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

30

【0001】

関連出願に対する相互参照

本出願は、2021年12月22日に出願された米国仮出願第 63 / 293 , 013 号
の優先権を主張し、その内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

電子配列表の参照

電子配列表 (V T E X _ 7 0 7 _ 0 1 W O _ S e q L i s t _ S T 2 6 . x m l ; サイ
ズ : 3 1 , 7 5 7 バイト ; 及び作成日 : 2 0 2 2 年 1 2 月 1 7 日) の内容は、その全体が
参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

40

【0003】

補体因子 I (Complement Factor I、C F I) は、細胞結合又は流体相 C 3 b 及び
C 4 b を切断することによって補体活性化を調節する補体系の可溶性タンパク質である。
それは、ヒト血液中を循環し、補体系の古典経路、レクチン経路、及び代替経路の間のバ
ランスを維持するように作用する可溶性糖タンパク質である。調節不全の C F I、変異及
び機能不全の C F I、並びに C F I 欠損は、補体系が関与する疾患に関係している。補体
系を調節するのに有用な薬学的に許容される C F I 製剤が必要とされている。本明細書で
は、この必要性に対処する製剤が提供される。

【発明の概要】

【0004】

50

本開示は、野生型補体因子 I (CFI) 又は CFI 変異体、及びそれらの融合タンパク質を含む製剤を提供する。提供される製剤は、急性ストレスに対して活性成分を安定化させ、液体及び凍結乾燥状態の両方での保存を可能にする。また、製剤を作製する方法、及び疾患の治療において製剤を使用する方法も提供される。

【発明を実施するための形態】

【0005】

本開示は、野生型 CFI 又は CFI 変異体、及びそれらの融合タンパク質を含む製剤を提供する。提供される製剤は、急性ストレスに対して活性成分を安定化させ、液体及び凍結乾燥状態の両方での保存を可能にする。また、製剤を作製する方法、及び疾患の治療において製剤を使用する方法も提供される。

10

【0006】

I. 薬学的に許容される製剤

本明細書に記載の薬学的に許容される製剤は、薬学的に許容される保存条件を可能にする濃度範囲で、本開示の野生型 CFI 又は CFI 変異体、及びそれらの融合構築物（本明細書では互換的に「活性成分」又は「活性医薬品成分」と称される）に安定化特性を提供する。安定化特性は、例えば、分解の防止、濃度の維持、凝集の防止、及び / 又は生物活性の維持であり得る。

【0007】

本開示の製剤は、野生型 CFI、CFI 変異体、野生型 CFI（例えば、CFI - HSA）を含む融合構築物、又は CFI 変異体（例えば、表 2 の任意の CFI 変異体 - HSA 融合物）を含む融合構築物、緩衝剤、張度改変剤、界面活性剤、並びに更に任意選択で、増量剤、凍結保護剤、凍結乾燥保護剤 (lyoprotectant)、及び / 又は安定剤を含む。

20

【0008】

製剤は、固体（乾燥）形態（例えば、凍結乾燥ケーキ又は凍結保存された）としての活性成分の保存を支持するように設計され得る。いくつかの実施形態では、製剤は、凍結乾燥物である。いくつかの実施形態では、製剤は、液体製剤である。

【0009】

製剤は、ある範囲の濃度で液体として溶液中の活性成分の保存（例えば、安定性、活性を維持しながら）を支持するように設計され得る。濃度は、異なるタイプの投与（例えば、皮下又は静脈内）における使用のために製剤中で調整され得る。例えば、活性成分は、約 10 mg / mL ~ 約 300 mg / mL で、例えば、約 10 mg / mL、約 15 mg / mL、20 mg / mL、約 25 mg / mL、30 mg / mL、約 35 mg / mL、40 mg / mL、約 45 mg / mL、約 50 mg / mL、約 55 mg / mL、約 60 mg / mL、約 65 mg / mL、約 70 mg / mL、約 75 mg / mL、約 80 mg / mL、約 85 mg / mL、約 90 mg / mL、約 95 mg / mL、約 100 mg / mL、約 105 mg / mL、約 110 mg / mL、約 115 mg / mL、約 120 mg / mL、約 125 mg / mL、約 130 mg / mL、約 135 mg / mL、約 140 mg / mL、約 145 mg / mL、約 150 mg / mL、約 155 mg / mL、約 160 mg / mL、約 165 mg / mL、約 175 mg / mL、約 180 mg / mL、約 185 mg / mL、約 190 mg / mL、約 195 mg / mL、約 200 mg / mL、約 205 mg / mL、約 210 mg / mL、約 215 mg / mL、約 220 mg / mL、約 225 mg / mL、約 230 mg / mL、約 235 mg / mL、約 245 mg / mL、約 250 mg / mL で、約 255 mg / mL で、約 260 mg / mL で、約 260 mg / mL で、約 265 mg / mL で、約 270 mg / mL で、約 275 mg / mL で、約 280 mg / mL で、約 285 mg / mL で、約 290 mg / mL で、約 295 mg / mL で、又は約 300 mg / mL で溶液として製剤中に保存され得る。いくつかの実施形態では、製剤は、約 50 mg / mL の濃度で活性成分を含む。いくつかの実施形態では、製剤は、約 100 mg / mL の濃度で活性成分を含む。いくつかの実施形態では、製剤は、150 mg / mL 超の濃度で活性成分を含む。いくつかの実施形態では、製剤は、約 170 mg / mL の濃度で活性成分を含む。いくつかの実施形態では、製剤は、約 190 mg / mL の濃度で活性成分を含む。

30

40

50

【0010】

本開示の製剤により、以下の温度のうちのいずれか1つ以上で活性成分は安定性（例えば、活性）を維持することができる：-80 + / - 2、-20 + / - 2、0 + / - 2、4 + / - 2、25 + / - 2、37 + / - 2、45 + / - 2、又は60 + / - 2で。

【0011】

本開示の製剤により、活性成分は、少なくとも1週間、少なくとも2週間、少なくとも3週間、少なくとも1か月間、少なくとも2か月間、少なくとも3か月間、少なくとも4か月間、少なくとも5か月間、少なくとも6か月間、少なくとも7か月間、少なくとも8か月間、少なくとも9か月間、少なくとも10か月間、少なくとも11か月間、少なくとも1年間、少なくとも2年間以上、安定性（例えば、活性）を維持することができる。

10

【0012】

本明細書に記載の製剤のpHは、本明細書に記載のCFI変異体及び融合構築物に安定化特性を提供する任意のpHである。いくつかの実施形態では、製剤は、約5～約7.5のpHを含む。pHは、例えば、約pH5.0、約pH5.1、約pH5.2、約pH5.3、約pH5.4、約pH5.5、約pH5.6、約pH5.7、約pH5.8、約pH5.9、約pH6.0、約pH6.1、約pH6.2、約pH6.2、約pH6.3、約pH6.4、約pH6.5、約pH6.6、約pH6.7、約pH6.8、約pH6.9、約pH7、約pH7.1、約pH7.2、約pH7.3、約pH7.4、又は約pH7.5であり得る。

20

【0013】

製剤は、薬学的に許容される緩衝剤を含む。緩衝液剤は、製剤のpHを所望の範囲に維持するために使用され得る。任意の好適な緩衝液が、本開示の製剤において使用され得る。薬学的に許容される緩衝液の例は、ヒスチジン、アセタート、シトラート、スクシナート、タルトラート、グルタマート、グリシン、ピカルボナート、スルファート、ニトラート、ホスファート、及びヒドロキシメチルアミノメタン（トリス）緩衝液を含む。いくつかの実施形態では、緩衝剤は、約1mM～約50mMで存在する。いくつかの実施形態では、緩衝剤は、約20nMで存在する。いくつかの実施形態では、緩衝液は、ヒスチジン、例えば、ヒスチジン塩酸塩を含む。いくつかの実施形態では、緩衝液は、アセタート、例えば、酢酸ナトリウムを含む。いくつかの実施形態では、緩衝液は、スクシナート、例えば、コハク酸ナトリウムを含む。

30

【0014】

製剤は、時として湿潤剤及び/又は可溶化剤と称される、界面活性剤を含む。限定するものではないが、界面活性剤賦形剤は、生物学的分子の溶解度及び生物学的利用能を調節し、剤形中の生物学的分子の安定性を増加させ、好ましい多形形態を維持するために使用され得る。界面活性剤の例としては、ポリソルベート20（PS20、Tween20）、ポリソルベート80（PS80、Tween80）、PS80/20、ポロキサマー（PluronicF68及びF127）、TritonX-100、Brij30、及びBrij35が挙げられる。いくつかの実施形態では、本開示の製剤は、界面活性剤を含む。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート20又はポリソルベート80である。いくつかの実施形態では、製剤は、ポリソルベート20を含む。いくつかの実施形態では、ポリソルベート20は、約0.01%～約0.05%である。いくつかの実施形態では、ポリソルベートは、約0.02%である。いくつかの実施形態では、製剤は、ポリソルベート80を含む。いくつかの実施形態では、ポリソルベート80は、約0.01%～約0.05%である。いくつかの実施形態では、ポリソルベート80は、約0.02%である。

40

【0015】

製剤は、時として、等張化剤（tonicity agent）、等張化剤（tonicifier）、又は等張化剤（tonicifying agent）とも称され得る、張度改変剤を含む。張度改変剤は、対象に投与された場合、製剤の浸透圧が、望ましくない細胞溶解などの有害な影響を引き

50

起こさないように、製剤のオスモル濃度を調整するために使用される。本開示の活性成分と適合性である任意の薬学的に許容される張度改变剤は、本明細書に記載の製剤における使用に好適であり得る。薬学的に許容される張度改变剤としては、例えば、マンニトール、ソルビトール、ラクトース、デキストロース、トレハロース、塩化ナトリウム、塩化カリウム、グリセロール、グリセリン、又はアルギニン塩酸塩が挙げられ得る。いくつかの実施形態では、製剤は、張度改变剤を含む。いくつかの実施形態では、張度改变剤は、アルギニン塩酸塩である。いくつかの実施形態では、製剤は、アルギニン塩酸塩を含む。いくつかの実施形態では、アルギニン塩酸塩は、約10 mM ~ 約200 mMである。いくつかの実施形態では、アルギニン塩酸塩は、約70 mMである。いくつかの実施形態では、アルギニン塩酸塩は、約135 mMである。いくつかの実施形態では、ソルビトールは、張度改变剤であり、ソルビトールは、約1% ~ 約10% v/vで、例えば、約5% v/vで存在する。いくつかの実施形態は、張度改变剤は、トレハロースであり、トレハロースは、約1% ~ 約15% v/vで、例えば、約10% v/vで存在する。いくつかの実施形態では、張度改变剤は、塩化ナトリウムであり、約1 mM ~ 約500 mMで、例えば、約150 mMで存在する。いくつかの実施形態では、張度改变剤は、非イオン性緩衝剤の場合はソルビトール又はトレハロースであり、イオン性緩衝剤の場合は塩化ナトリウムである。

10

【0016】

製剤は、増量剤、例えばトレハロース又はグリシンを含み得る。いくつかの実施形態では、増量剤は、グリシンであり、製剤中に約1% ~ 約5% v/vで、例えば約2% v/vで存在する。いくつかの実施形態では、増量剤は、グリシンであり、製剤中に約1 mM ~ 約100 nMで、例えば約60 mMで存在する。

20

【0017】

製剤は、凍結保護剤及び/又は凍結乾燥保護剤を含み得る。凍結保護剤及び凍結乾燥保護剤は、凍結及び解凍のサイクル中の変性から生物学的分子を保護するために製剤中に含まれる。それらはまた、生物学的完全性の保存、例えば、凍結乾燥 (lyophilization) (すなわち、凍結乾燥 (freeze drying)) 及び再構成中に生物活性を維持することを助けることができる。いくつかの例では、凍結保護剤及び凍結乾燥保護剤は、互換的に言及され得る。本開示のCFI変異体及び融合構築物を含む製剤に安定化特性を提供することができる任意の薬学的に許容される凍結保護剤及び/又は凍結乾燥保護剤が使用され得る。凍結保護剤及び凍結乾燥保護剤の非限定的な例としては、ポリオール、二糖類、多糖類、グルコース、グリシン、マンニトール、ソルビトール、スクロース、トレハロース、及びデキストラン40が挙げられる。いくつかの実施形態では、製剤は、凍結保護剤を含む。いくつかの実施形態では、凍結保護剤は、スクロース、グリシン、ソルビトール、トレハロース、及びマンニトールのうちの少なくとも1つである。いくつかの実施形態では、凍結保護剤は、スクロースである。いくつかの実施形態では、スクロースは、約2% ~ 約10%である。いくつかの実施形態では、スクロースは、約4% ~ 約5%である。いくつかの実施形態では、スクロースは、約8.5%である。いくつかの実施形態では、凍結保護剤は、グリシンである。いくつかの実施形態では、グリシンは、約50 mM ~ 約150 mM、例えば、約120 mMである。いくつかの実施形態では、グリシンは、約120 mMである。いくつかの実施形態では、凍結保護剤、ソルビトールである。いくつかの実施形態では、グルコースは、製剤中に約1% ~ 約10% v/vで、例えば、約4% v/vで存在する。いくつかの実施形態では、ソルビトールは、約1% ~ 約5%で存在する。いくつかの実施形態では、ソルビトールは、約2.5% v/vである。いくつかの実施形態では、トレハロースは、約1% ~ 約10% v/v、例えば、約4% v/vで存在する。いくつかの実施形態では、ソルビトールは、約2.5%である。いくつかの実施形態では、凍結保護剤は、マンニトールである。いくつかの実施形態では、マンニトールは、約1 mM ~ 約100 mMである。いくつかの実施形態では、マンニトールは、約60 mMである。

30

40

【0018】

50

製剤は、時として安定剤として称される安定化剤を含み得る。安定化剤は、本明細書に記載のCFI変異体及び融合構築物を含む製剤に安定化特性を提供する任意の賦形剤である。例えば、安定化剤は、塩化カルシウム(CaCl₂)、ヒスタミン、メチオニン、アスコルビン酸、グルタチオン、ビタミンE、ポリ(エチレンイミン)、キレート剤、抗菌保存剤、抗酸化保存剤、又は任意の他の薬学的に許容される安定化剤であり得る。いくつかの実施形態では、製剤は、安定剤を含む。いくつかの実施形態では、安定剤は、塩化カルシウムである。いくつかの実施形態では、製剤は、塩化カルシウムを含む。いくつかの実施形態では、塩化カルシウムは、約20mM~約50mMである。いくつかの実施形態では、塩化カルシウムは、約35mMである。

【0019】

10

例示的な製剤を表2.2及び表3.3に提供する。

【0020】

いくつかの実施形態では、製剤は、20mMの酢酸ナトリウム、5%のソルビトール、0.02%のPS80を含み、pH約5である。

【0021】

いくつかの実施形態では、製剤は、20mMの酢酸ナトリウム、5%のソルビトール、0.02%のPS80を含み、pH約5.5である。

【0022】

いくつかの実施形態では、製剤は、20mMの酢酸ナトリウム、150mMの塩化ナトリウム、0.02%のPS80を含み、pH約5.5である。

20

【0023】

いくつかの実施形態では、製剤は、20mMの酢酸ナトリウム、70mMのアルギニン塩酸塩、2%のスクロース、60mMのグリシン、0.02%のPS80を含み、pH約5.5である。

【0024】

いくつかの実施形態では、製剤は、20mMのヒスチジン塩酸塩、70mMのアルギニン塩酸塩、2%のスクロース、60mMのグリシン、0.02%のPS80を含み、pH約6である。

【0025】

いくつかの実施形態では、製剤は、20mMのヒスチジン塩酸塩、150mMの塩化ナトリウム、0.02%のPS80を含み、pH約6である。

30

【0026】

いくつかの実施形態では、製剤は、20mMのコハク酸ナトリウム、10%のトレハロース、0.02%のPS80を含み、pH約5である。

【0027】

いくつかの実施形態では、製剤は、20mMのコハク酸ナトリウム、5%のトレハロース、2%のグリシン、0.02%のPS80を含み、pH約5である。

【0028】

いくつかの実施形態では、製剤は、20mMの塩酸ヒスチジン、10%のトレハロース、0.02%のPS80を含み、pH約6である。

40

【0029】

いくつかの実施形態では、製剤は、20mMのヒスチジン塩酸塩、5%のトレハロース、2%のグリシン、0.02%のPS80を含み、pH約6である。

【0030】

いくつかの実施形態では、製剤は、20mMの塩酸ヒスチジン、10%のトレハロース、0.02%のPS80を含み、pH約7である。

【0031】

いくつかの実施形態では、製剤は、20mMの塩酸ヒスチジン、5%のトレハロース、2%のグリシン、0.02%のPS80を含み、pH約7である。

【0032】

50

いくつかの実施形態では、製剤は、20 mMのヒスチジン、135 mMのアルギニン塩酸塩、0.02%のポリソルベート20を含み、pH約5.8を有する。

【0033】

いくつかの実施形態では、製剤は、20 mMのヒスチジン、70 mMのアルギニン塩酸塩、4%のスクロース、0.02%のポリソルベート20を含み、pH約5.8を有する。

【0034】

いくつかの実施形態では、製剤は、20 mMのヒスチジン、8.5%のスクロース、0.02%のポリソルベート20を含み、pH約5.8を有する。

【0035】

いくつかの実施形態では、製剤は、20 mMのヒスチジン、70 mMのアルギニン塩酸塩、120 mMのグリシン、0.02%のポリソルベート20を含み、pH約5.8を有する。

【0036】

いくつかの実施形態では、製剤は、20 mMのヒスチジン、70 mMのアルギニン塩酸塩、2.5%のソルビトール、0.02%のポリソルベート20を含み、pH約5.8を有する。

【0037】

いくつかの実施形態では、製剤は、20 mMのヒスチジン、70 mMのアルギニン塩酸塩、4%のトレハロース、0.02%のポリソルベート20を含み、pH約5.8を有する。

【0038】

いくつかの実施形態では、製剤は、20 mMのヒスチジン、5%のスクロース、35 mMの塩化カルシウム、0.02%のポリソルベート20を含み、pH約5.8を有する。

【0039】

II. 製剤化のための補体因子I変異体及び融合構築物

A. 補体因子I変異体

本明細書では、「CFI変異体」と称される野生型CFIに関して1つ以上の改変を含む変異体を含む製剤が本明細書で提供される。本明細書で使用される場合、野生型CFIに対する「改変」には、1つ以上のアミノ酸残基の欠失、1つ以上のドメインの欠失、1つ以上のアミノ酸残基の置換、1つ以上のアミノ酸残基の挿入（すなわち、付加）、1つ以上のドメインの挿入（すなわち、付加）、1つ以上のドメインの逆位、及び1つ以上のドメインの置換が含まれる。

【0040】

本開示のCFI変異体は、C3に直接作用せず、例えば、本開示の変異体は、C3を直接切断せず、C3を直接阻害せず、C3の活性化を直接阻害せず、C3の活性化を直接低減させない。

【0041】

本明細書で使用される場合、「野生型CFI」は、シグナル配列の有無にかかわらず、任意の種のものであり得る、疾患を引き起こすCFIではない任意の天然に存在する全長CFIを指す。

【0042】

いくつかの実施形態では、野生型CFIは、血漿由来である。いくつかの実施形態では、野生型CFIは、ヒト野生型CFIである。いくつかの実施形態では、シグナル配列を有する野生型ヒトCFIは、配列番号1に記載のアミノ酸配列（以下の表1に示す）を含む。いくつかの実施形態では、野生型CFIは、ヒトCFIである。いくつかの実施形態では、野生型ヒトCFIは、シグナル配列を含まない。いくつかの実施形態では、シグナル配列を有さない野生型CFIは、配列番号5に記載のアミノ酸配列（以下の表1に示す）を含む。

【0043】

10

20

30

40

50

野生型 C F I は、重鎖及び軽鎖を含み、これらは、それぞれ、A 鎖及び B 鎖とも称される。重鎖 (A 鎖) は、4 つのドメインを有する： F I 膜侵襲複合体 (F I membrane attack complex、 F I M A C) ドメイン (配列番号 5 の残基 3 6 ~ 9 0)、 S R C R ドメインは、複数のスカベンジャ受容体システインリッチ (scavenger receptor cysteine-rich、 S R C R) ドメイン、低密度リポタンパク質 1 ドメイン (low density lipoprotein 1、 L D L r 1)、及び低密度リポタンパク質 2 ドメイン (low density lipoprotein 2、 L D L r 2) から更に構成される。軽鎖 (B 鎖) は、セリンプロテアーゼドメイン (serine protease domain、 S P D) からなる。これらの鎖の間の界面は、A : B 鎖界面と称される。

【 0 0 4 4 】

本開示の C F I 変異体は、野生型 C F I の 1 つ以上のアミノ酸残基の欠失、野生型 C F I の 1 つ以上の C F I ドメインの欠失、野生型 C F I の 1 つ以上のアミノ酸残基の置換、野生型 C F I への 1 つ以上のアミノ酸残基の挿入、野生型 C F I の 1 つ以上の C F I ドメインの逆位、及び野生型 C F I への 1 つ以上のドメインの挿入のうち 1 つ以上を含む。

【 0 0 4 5 】

本開示の C F I 変異体は、C F I 基本分子に 1 つ以上の改変を導入することによって生成され得、C F I 基本分子のドメインは、野生型 C F I において見出されるそれらのドメインに対応する。したがって、C F I 基本分子は、任意の種の野生型 C F I であり得るか、又は C F I 基本分子は、任意の種の野生型 C F I のドメインのうちいくつかのみを有する野生型 C F I の部分のみを含み得る (例えば、すでに C F I 変異体)。いくつかの実施形態では、C F I 基本分子は、野生型マウス C F I である。いくつかの実施形態では、C F I 基本分子は、野生型ヒト C F I である。いくつかの実施形態では、C F I 基本分子は、野生型の非ヒト霊長類 C F I である。いくつかの実施形態では、C F I 基本分子は、野生型ヒト C F I のいくつかのドメインのみを含む。

【 0 0 4 6 】

いくつかの実施形態では、本明細書で提供される C F I 変異体は、補体系の活性を調節し、野生型 C F I と比較して少なくとも 1 つの改善された特徴を有する。そのような改善された特徴としては、生物学的利用能、半減期、活性、効力、触媒能、補因子親和性 (例えば、H 因子及び / 又は C R 1 に対する親和性)、基質特異性及び基質親和性 (例えば、C 3 b 及び / 又は C 4 b に対する親和性) のうちのいずれか 1 つ以上における増加又は減少が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、改善された特徴は、半減期の増加である。いくつかの実施形態では、改善された特徴は、以下の後続のセクションで更に詳細に考察される活性の増加である。他の実施形態では、改善された特徴は、C 3 b 及び / 又は C 4 b に対する基質特異性の変化であり、C F I 変異体の同調性を可能にする。

【 0 0 4 7 】

表 1 に提供されるのは、C F I 変異体の生成に使用され得る例示的な基本分子である。本明細書で提供される基本分子は、更なる改変を伴わずに補体系の調節に有用であり得るか、又は更なる改変を伴って補体系の調節に有用であり得る。例えば、表 1 に提供される基本分子のうちいずれか 1 つは、1 つ以上のアミノ酸残基の欠失、1 つ以上の C F I ドメインの欠失、1 つ以上のアミノ酸残基の置換、又は 1 つ以上のアミノ酸残基若しくは C F I ドメインの付加などの 1 つ以上の改変を含むように更に改変され得る。表 1 の基本分子は、以下に更に記載される融合構築物の更なる部分であり得る。

【 0 0 4 8 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1】

表 1 : C F I 変異体の生成のための基本分子

CFI基本分子の説明	基本分子の命名	アミノ酸配列
血漿由来の野生型ヒトCFI (wt hCFI) (シグナル配列に下線を引く)	CFI-PD	MKLLHVFLFLFLGFLHFRFCKVITYTSQEDLVEKKCLAKKYTHLSCDKVFCQPWQRCIEGTCVCKLPYQC PKNGTAVCATNRRSFPTYCQQKSLECLHPGTFKFLNNGTCTAEGKFSVSLKHGNTDSEGIVEVKLVD QDKTMFICKSSWSMREANVACL DLGFQQGADTQRRFKLS DLSINSTECLHVHCRGLETSLAECTFTKRRTMGYQDFADVVCYTQKADSPMDDFFQCVN GKYISQMKACDGINDCGDQSDDELCCACQGGKGFHCKSGVCIPSQYQCNGEVD CITGEDEVGCAGFASVTQEETEILTADMDAERRRIK SLLPKLSCGVKNRMHIRRKRIVGGKRAQLGDLPWQVAIKDASGITCGGIYIGGCWIL TAAHCLRASKTHRYQIWTTVVVDWIHPDLKRIVIEYVDRIIFHENYNAGTYQNDIALIEMK KDGNKKDCELPR SIPACVPWSPYLFQPNDCIVSGWGREKDN ERVFSLQWGEVKLISNCSKIFYGNRFYEKEMECAGTYDGSIDACKGDSGGPLV CMDANNVTYVWGVVSWGENC GKPEFPGVYTKVANYFDWISYHVGRPFISQYNV (配列番号1)
wt hCFI、シグナル配列なし	hCFI	KVITYTSQEDLVEKKCLAKKYTHLSCDKVFCQPWQRCIEGTCVCKLPYQC PKNGTAVCATNRRSFPTYCQQKSLECLHPGTFKFLNNGTCTAEGKFSVSLKH GNTDSEGIVEVKLVDQDKTMFICKSSWSMREANVACL DLGFQQGADTQRRFKLS DLSINSTECLHVHCRGLETSLAECTFTKRRTMGYQDFADVVCYTQKADSPMDDFFQCVN GKYISQMKACDGINDCGDQSDDELCCACQGGKGFHCKSGVCIPSQYQCNGEVD CITGEDEVGCAGFASVTQEETEILTADMDAERRRIK SLLPKLSCGVKNRMHIRRKRIVGGKRAQLGDL PWQVAIKDASGITCGGIYIGGCWIL TAAHCLRASKTHRYQIWTTVVVDWIHPDLKRIVIEYVDRIIFHENYN AGTYQNDIALIEMK KDGNKKDCELPR SIPACVPWSPYLFQPNDCIVSGWGREKDN ERVFSLQWGEVKLISNCSKIFYGNRFYEKEMECAGTYDGSIDACKGDSGGPLV CMDANNVTYVWGVVSWGENC GKPEFPGVYTKVANYFDWISYHVGRPFISQYNV (配列番号5)
Δ (K1-P305)、wt hCFIのA鎖の欠失	Δ A鎖 (CFI-S PD)	KLSCGVKNRMHIRRKRIVGGKRAQLGDLPWQVAIKDASGITCGGIYIGGCWIL TAAHCLRASKTHRYQIWTTVVVDWIHPDLKRIVIEYVDRIIFHENYNAGTYQNDIALIEMK KDGNKKDCELPR SIPACVPWSPYLFQPNDCIVSGWGREKDNERVFSLQWGEVKLISNCSKIFYGNRFYEKEMECAGTYDGSIDACKGDSGGPLV CMDANNVTYVWGVVSWGENC GKPEFPGVYTKVANYFDWISYHVGRPFISQYNV (配列番号12)

10

20

30

【 0 0 4 9 】

40

50

【表 1 - 2】

(表 1 の続き)

CFI基本分子の説明	基本分子の命名	アミノ酸配列
野生型マウスCFI(https://www.uniprot.org/uniprot/Q61129)	マウスCFI(mCFI)	MKLAHLSLFLALHLSSSRSPSASDLPQEELVD QKCLLQKYTHRSCNKVFCQPWQRCIEGTCKL PYQCPRAGTPVCAMNGRSYPTYCHQKSFECLHP EIKFSHNGTCAAEGKFNVSLIYGRKTEGLVQVK LVDQDERMFICKNSWSMAEANVACVDLGFPLGV RDIQGSFNISGNLHINDTECLHVHCRGVETSLAE CAFTKRRETELSNLAGVVCYKQDADFPTSLSFQ CVNGKHIPQEKACNGVNDCCGDSDELCKGCR GNASLCKSGVCIPDQYKCNGEVDCITGEDESRC EEDRQQNIPKGLARSAQGEAEIETEEMLTGP MDNERKRIKSLLPKLSCGVKRNTHTRRKRVI KPNVGDYPWQVAIKDGGRRITCGGIYIGGCWIL TAHCVRPSRAHSYQVWTALLDWLKPNSQLGIQ TVKRVIVHEKYNGATFQNDIALIEMKMHTGK KECEL PNSVPACVPWSPYLFQPNDRCIISGW GRGKDNQ KVVSLRWGEVDLIGNCSQFY PDRYYEKEMQCAG TRDGSIDACKGDSGG PLVCE DINNVTYVWGVSW GENCGKPEF PGVYTRVANYFDWISYHVGRSLVS QHNV (配列番号 23)
wt hCFI+GSSGG(リンカー)+wt hCFI	hCFI-hCFI融合	KVYTSQEDLVEKKCLAKKYTHLSCDKVFCQP WQRCIEGTVCCKLPYQCPKNGTAVCATNRRS FPTY CQQKSLECLHPGKFLNNGTCTAEGK FVS LKH GNTDSEGIVEVKLVDDQKTMFICK SSWSMREAN VACL DLGFQGGADTQRRFKL SDLSINSTECLHVH CRGLETSLAECTFTK RRTMGYQDFADVVCYTQK ADSPMDDFFQ CVNGKYISQMKACDGINDCGDS DELCKAC QGGKGFHCKSGVCIPSQYQCNGEVDC ITGEDEVGCAGFASVTQEETEILTADMDA ERRRI KSLLPKLSCGVKNRMHIRRKRI VGGKRAQLGDL PWQVAIKDASGITCGGI YIGGCWILTAACHLRASK THRYQIWTT VVDWIHPDLKRIVIEYVDRIFHENYN AGTYQNDIALIEMKKGDNKKDCELP RSIPACVPW SPYLFQPNDT CIVSGWGRE KDNERVFSLQWGEV KLISNCSKFGNRF YEKEME CAGTYDGSIDACKG DSGG PLVCM DANNVTYVWGVVSWGENCGKPEF PGVYTKVANYFDWISYHVGRPFISQY NVGSSGGK VYTSQEDLVEKKCLAKKY THLSCDKVFCQPWQRCIEGTVCCKLPY QCPKNGTAVCATNRRSFPTYC QQKS LECLHPGKFLNNGTCTAEGKFSVSLKH G NTDSEGIVEVKLVDDQKTMFICKSS WSMREANV ACLDLGFQGGADTQRRFK LSDLSINSTECLHVH CRGLETSLAECT FTKRRTMGYQDFADVVCYTQK ADSP MDDFFQCVNGKYISQMKACDGINDCG DS DELCKACQGGKGFHCKSGVCIPSQ YQCNGEVDC ITGEDEVGCAGFASVT QEETEILTADMDAERRRI KSLLPKL SCGVKNRMHIRRKRIVGGKRAQLGDL PWQVAIKDASGITCGGIYIGGCWIL TAACHLRASK THRYQIWTTVVDWI HPDLKRIVIEYVDRIFHENYN AGTY QNDIALIEMKKGDNKKDCELP RSIPACVPW SPYLFQPNDT CIVSGW GREKDNERVFSLQWGEV KLISNCS KFGNRFYEKEME CAGTYDGSIDACK G DSGGPLVCM DANNVTYVWGVVSW GENCGKPEF PGVYTKVANYFDWISY HVGRPFISQYNV(配列番号 16)

10

20

30

40

【0050】

いくつかの実施形態では、基本分子自体が、CFI変異体であり得、例えば、いくつかの実施形態では、セリンプロテアーゼドメインのみを含むCFI変異体(CFI-SPD)自体が、CFI変異体である。いくつかの実施形態では、CFI変異体は、表1の任意の基本分子に由来し、非改変CFIのループに対応するループへの改変を含む。いくつかの実施形態では、CFI変異体は、表1の任意の基本分子に由来し、置換変異を含む。いくつかの実施形態では、CFI変異体は、表1の任意の基本分子に由来し、CFIの1つ以上のドメインの欠失を含む。いくつかの実施形態では、CFI変異体は、表1の任意の基本分子に由来し、CFIのA鎖及びB鎖の逆位を含む。

50

【0051】

いくつかの実施形態では、少なくとも1つのCFIDメインを含むCFI変異体の本明細書で提供され、少なくとも1つのCFIDメインは、任意の種の野生型CFIのCFIDメインに対応する。例えば、少なくとも1つのCFIDメインのアミノ酸配列は、配列番号5に記載の野生型ヒトCFIに由来するアミノ酸配列を含み得る。配列番号5に由来するアミノ酸配列を含む本明細書で提供されるCFI変異体は、配列番号5に記載の配列に関して1つ以上の改変を含み得る。例えば、1つ以上の改変は、1つ以上のアミノ酸残基の欠失、1つ以上のアミノ酸残基の置換変異、1つ以上のアミノ酸残基の付加、CFIの1つ以上のドメインの欠失、CFIの1つ以上のドメインの置換、又はCFIの1つ以上のドメインの付加を含み得る。

10

【0052】

いくつかの実施形態では、任意の種の少なくとも1つのCFIDメインを含むCFI変異体本明細書において提供され、少なくとも1つのCFIDメインは、セリンプロテアーゼドメイン(SPD)、因子I膜侵襲複合体(FIMAC)ドメイン、スカベンジャ受容体システインリッチドメイン(SRCR)、低密度リポタンパク質受容体1(LDLr1)、及び低密度リポタンパク質受容体2(LDLr2)ドメインから選択されるいずれか1つ以上のCFIDメインを含む。いくつかの実施形態では、いずれか1つ以上のCFIDメインは、ヒトCFIのCFIDメインである。いくつかの実施形態では、いずれか1つ以上のCFIDメインは、配列番号5に記載の配列に由来するアミノ酸配列を含む。

【0053】

いくつかの実施形態では、CFI変異体は、野生型CFIの全てのドメイン、すなわち、SPD、FIMACドメイン、SRCRドメイン、LDLr1ドメイン、及びLDLr2ドメインのうちの各1つを含み、野生型CFIに関してこれらのドメインのうちのいずれか1つ以上に改変を含む。

20

【0054】

いくつかの実施形態では、CFI変異体は、野生型CFIのドメインに対応するドメインの全てを含まない。いくつかの実施形態では、CFI変異体は、SPDを含む。いくつかの実施形態では、CFI変異体は、SPDのみを含み、CFIのA鎖が欠失しており、本明細書では「CFI-SPD」と称される。いくつかの実施形態では、CFI-SPDは、ヒトCFIのSPDである配列番号12(表1に示す)に記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、CFI-SPDは、野生型CFI SPDの改変に関して更なる改変を含まない。いくつかの実施形態では、CFI-SPDは、野生型CFI SPDの改変に関して1つ以上の改変を含む。いくつかの実施形態では、CFI-SPDは、配列番号12に記載のアミノ酸配列に関して少なくとも1つの改変を含む。

30

【0055】

CFIの例示的な変異体を以下に更に詳細に記載する。例示的なCFI変異体は、配列番号5に記載のアミノ酸配列を有するCFIに関してアミノ酸残基の1つ以上の置換を含む。例えば、S499位及びI500位に置換を含むCFI変異体は、配列番号5に記載のアミノ酸配列中のS499位及びI500位に置換を有する。

【0056】

活性及び特異性の調整

本明細書で提供されるCFI変異体の活性及び特異性は、特定の用途及び治療適応症のために調整(tuned)(調整(adjusted))され得る。例えば、活性及び特異性は、C3b分解剤若しくはC4b分解剤、又はC3b及びC4bの両方の分解剤の選択によって調整され得る。本明細書で言及される場合、基質に対するプロテアーゼ活性とは、本開示のCFI変異体はその基質C4b及びC3bを切断する能力を指す。これは、いくつかの方式で、例えば、C4b分解剤活性、C4bに対するプロテアーゼ活性、C3b分解剤活性、C3bに対するプロテアーゼ活性、切断産物の収率などの増加として表され得る。

40

【0057】

本明細書で使用される場合、C3b分解剤は、C3bを切断することができるCFI変

50

異体である。同様に、C 4 b分解剤は、C 4 bを切断することができるC F I変異体である。C 3 b分解剤の使用は、それがC 4 bを分解しないことを意味するものではない。C F I変異体は、C 3 b分解剤及びC 4 b分解剤の両方であってもよく、必ずしもではないが、一方について他方に対して特異性を示してもよい。

【0058】

本明細書で提供されるC F I変異体は、基質に対するプロテアーゼ活性の増加又は減少並びに基質特異性の増加又は減少を含む改変された特徴を有する。

【0059】

いくつかの実施形態では、特異的C 3 b分解剤である本開示のC F I変異体は、疾患の治療に有用である。

【0060】

いくつかの実施形態では、特異的C 4 b分解剤である本開示のC F I変異体は、疾患の治療に有用である。

【0061】

いくつかの実施形態では、C 4 b及びC 3 b分解剤の両方であり、野生型C F Iと比較して改善された特徴（例えば、C 4 b及びC 3 bの両方に対する増加した活性）を示す本開示のC F I変異体は、疾患の医療に有用である。

【0062】

例示的なC F I変異体

野生型C F Iに関して少なくとも1つの改変を含むか、又はそれからなるC F I変異体が本明細書で提供される。

【0063】

限定されないが、本開示は、表2に記載される例示的なC F I変異体を企図する。表2の変異体は、本明細書に記載の改変C F Iを含む。誤解を避けるために、別段指示されない限り、残基番号が示されている場合、それは配列番号5（野生型ヒトC F I）又はそれに対応する配列を指す。誤解を避けるために、例として、その記載がP 4 3 3 Aである変異体は、P 4 3 3 A置換を含むC F I変異体、例えば、配列番号5（又はそれに対応する配列）にP 4 3 3 A置換を含むC F I変異体であり、本開示はまた、P 4 3 3 A置換からなるC F I変異体、例えば、配列番号5がP 4 3 3 A置換を有するC F I変異体を提供する。

【0064】

本開示のC F I変異体は、少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ以上の改変、例えば、置換、欠失、挿入、及び融合を有し得る。所与の変異体についての改変、例えば置換は、当業者によって認識される多くの方式のうちの一つで表され得る。例えば、D 3 9 5 A及びE 4 1 6 Aに置換を有するh C F I変異体は、置換：「D 3 9 5 A及びE 4 1 6 A」、「D 3 9 5 A - E 4 1 6 A」、「D 3 9 5 A + E 4 1 6 A」、「D 3 9 5 A / E 4 1 6 A」、又は「D 3 9 5 A ; E 4 1 6 A」を有すると称され得、本明細書で互換的に使用され得る。いくつかの例では、D 3 9 5 A及びE 4 1 6 Aに置換を有するC F I変異体は、「h C F I ; D 3 9 5 A ; E 4 1 6 A」又はC F I変異体（D 3 9 5 A ; E 4 1 6 A）」と称され得る。本明細書に記載の場合、欠失などの他の改変、又は欠失、融合、及び置換などの改変の組み合わせを有する変異体は、同様の命名法に従い得る。

【0065】

表2は、本開示の例示的なC F I変異体を提供する。変異体を開示するこの表及び他の表は、以下の記号及び略語並びに関連する意味を含み得る：H S A = ヒト血清アルブミン（human serum albumin）、C F I = 補体因子I、 = 記載されたアミノ酸範囲の欠失、 > = 記載された配列の欠失及び記載されたアミノ酸での置換

【0066】

10

20

30

40

50

【表 2 - 1】

表 2 : 例示的な C F I 変異体及び C F I 変異体の組み合わせ

変異体の説明	変異体の説明	変異体の説明
K14A	E461Q	K504G
Y20A	R462K	K504L
Y20F	F464Y	K504P
D26A	I317D;R318D;R319D;K320D;R321K	K504H
F29A	Δ(K1-P305);N531G	A361G
R35A	Δ(K1-P305);Y408L;N531G	T495F;Y496L;D497E;S499G;I500K
E38A	Δ(K1-P305);N531G;P535A	T495F;Y496L;D497E;S499G;I500K;G533A;K534Q;P535K;E536N;F537K
M220A;K221Q	P535G	F537K
S507A	Y408L;N531G;E457G	F537R
S250A	Y408L;N531G;E457G;E461Q	Q467K
S250L	Δ(K1-P305);Y408L;N531G;E457G;E461Q;R462K;F464Y	Q467R
Δ(K1-P305)	Y408L;N531G;P535A	Q467K;F537K
D425A	Δ(K1-P305);I317D;R318D;R319D;K320D;R321K	E530G
D425K	K14A;D425R	E530G;N531G
D425R	Y408G	E530F
514-MDANNVT-520(配列番号24)→NG	Y408P	E530Y
ΔC末端(Δ558-PFISQYNV-565(配列番号25))	Y408D	E530D;F537K
R557A	Y408A	R557K
K326A;R327A	Y408N	P558L
Y408L;N531G	Y408T	E457G;E461Q
L307G	Y408K	R462A
N531G;P535A	Y408R	R462D
Y408L	Y408H	E457G;E461G
456-REKDNERVFS-465(配列番号26)→NTASSGADYPDE(配列番号27)	Y408I	N531G;E457G;E461Q
E457G;E461Q;R462K;F464Y	P535K	W381K
E38A;D425R	K534Q	N404G
Y20F;D425R	E530D;N531G;G533A;K534Q;P535K;E536N	D506A
S250A;D425R	R321A	D506V
N531G	N402E	D506E
N531A	N422K	D506G
P535A	A502S;K504Q;F537K	I322V
Y408F	A502S	I322V;V323I
Y408F;N531G	K504Q	R327P
Y408L;N531G;E457G;E461Q;R462K;F464Y	K504E	I322V;V323I;R327P
E530D	K504R	V323A
E457G	K504A	A328C;W468C

10

20

30

40

【 0 0 6 7 】

50

【表 2 - 2】

(表 2 の続き)

変異体の説明	変異体の説明	変異体の説明
A328C;W468C;K326Y;R327N	E457H	E461T
Y408L;N531G;E461Q	E457I	E461W
D425R;Y408L;N531G;E457G;E461Q;R462K;F464Y	E457K	E461Y
Y20F;E38A;S250A;D425A	E457L	E461Y
Y20F;E38A;S250A;D425A;Y408L;N531G;E457G;E461Q;R462K;F464Y	E457M	E461V
V311-V565	E457N	R456A
K1-G310	E457P	I317D-R318D-R319D-K320D-R321K;Y408L;N531G;E457G;E461Q;R462K;F464Y
V311-V565-G(13)(配列番号29)-K1-G310	E457Q	K312A
C309S	E457R	R314A
C435S	E457S	K312A;R314A
Y408L;N531G;E457G;E461Q;R462K	E457T	P558S
Y408L;N531G;E457G;E461Q;F464Y	E457W	F559L
Y408L;N531G;E457G;R462K;F464Y	E457Y	I560V
Y408L;N531G;E461Q;R462K;F464Y	E457V	Y563H
Y408L;E457G;E461Q;R462K;F464Y	Y408E	P558S;F559L;I560V;Y563H
E457G;N531G;E461Q;R462K;F464Y	K14A;Y20F;D26A;R35A;E38A	P558G
Y408L;E457G;E461Q;R462K	K14A;Y20F;D26A;R35A;E38A;L304G;P305G;K306G;L307G;S308G	L304G;P305G;K306G;L307G;S308G
N531G;E457G;E461Q;F464Y	Y408M	N531D
E416A	Y408Q	N531E
Y408L;N531G;E457G;E461Q;R462K;F464Y;S507A	Y408S	N531F
H370A	Y408W	N531H
P384A	D341A	N531I
P384G	Y408V	N531K
420-DGNK-424(配列番号30)→GG	E461A	N531L
E536A	E461D	N531M
N85Q	E461F	I322T
N159Q	E461G	N531P
N476Q	E461H	N531Q
N518Q	E461I	N531R
N52Q;N85Q;N159Q	E461L	N531S
N446Q;N476Q;N518Q	E461M	N531T
E457A	E461N	N531V
E457D	E461P	N531W
E457F	E461S	E461Y

10

20

30

40

【 0 0 6 8 】

【表 2 - 3】

(表 2 の続き)

変異体の説明	変異体の説明	変異体の説明
E461V	T377G	G406D;Y408L;N531G
R456A	W381A	G406D;Y408L;P535A
I317D-R318D-R319D-K320D-R321K;Y408L;N531G;E457G;E461Q;R462K;F464Y	W381A;P384A	G406D;N531G;P535A
K312A	W381A; ΔP384	G406D;Y408L;N531G;P535A
R314A	G469L	K340G
K312A;R314A	R456N	I345G
P558S	K458A	K340G;I345G
F559L	G469L;R456N;E457T;K458A	Y372G
I560V	G469L;R456N;K458A	P384A
Y563H	G469L;R456N;K458A;E461G	P384G
P558S;F559L;I560V;Y563H	G469L;R456N;K458A;E461G;F537K	W381G
P558G	K504D	V390G
L304G;P305G;K306G;L307G;S308G	K504F	W381G;V390G
N531D	K504I	W381G;P384A;V390G
N531E	K504M	W381G;P384G;V390G
N531F	K504N	N404G
N531H	K504S	Q409G
N531I	K504T	K418G
N531K	K504V	D425G
N531L	K504W	K418G;D425G
N531M	K504Y	S465G
I322T	G406D	G344R
N531P	G406E	G344K
N531Q	G406F	G344Y
N531R	G406H	T346R
N531S	G406I	T346K
N531T	G406K	T346H
N531V	G406L	K504E
N531W	G406M	K504D
N531Y	G406N	E530R
Y403F	G406P	E530K
A405S	G406Q	T346R;K504E;E530R
G406R	G406S	T346K;K504D;E530K
Q409D	G406T	G344R;Y408L;N531G
A405S;G406R;Y408L;Q409D	G406V	G344K;Y408L;N531G
A405S;G406A;Y408L;Q409D	G406W	T346R;Y408L;N531G
Q409Y	G406Y	T346K;Y408L;N531G
Q409H	G406D;Y408L	K504D;Y408L;N531G
G406A	G406D;N531G	K504E;Y408L;N531G
G406A;Y408L	G406D;P535A	Y408L;E530R;N531G

【 0 0 6 9 】

【表 2 - 4】

(表 2 の続き)

変異体の説明	変異体の説明	変異体の説明
Y408L; E530K; N531G	N531G; E457G; E461Q; R462K	Y408L; N422K
T346R; Y408L; K504E; E530R; N531G	N531G; E457G; R462K; F464Y	E457G; N422K
T346K; Y408L; K504D; E530K; N531G	N531G; E461Q; R462K; F464Y	N531G; N422K
Y408L; S507A; N531G	Y408L; N531G; R462K	P535G; N422K
Y408L; N531G; E457G; E461Q; R462K; F464Y; S507A	Y408L; N531G; F464Y	Y408L; P535G; N422K
E457G; S507A	Y408L; E457G; E461Q	E457G; P535G; N422K
N531G; P535A; S507A	Y408L; E457G; R462K	N531G; P535G; N422K
F208Y	Y408L; E457G; F464Y	Y408L; E457G; N422K
F246Y	Y408L; E461Q; R462K	Y408L; N531G; N422K
F480Y	Y408L; E461Q; F464Y	E457G; N531G; N422K
F537Y	Y408L; R462K; F464Y	Y408L; E457G; N531G; N422K
F208Y; F246Y; F480Y; F537Y	N531G; E457G; R462K	Y408L; E457G; P535G; N422K
H362T; V463S; R456I; D459W; S343R	N531G; E457G; F464Y	E457G; N531G; P535G; N422K
H362T; V463S; R456I; D459W; S343K	N531G; E461Q; R462K	Y408L; E457G; N531G; P535G; N422K
H362T; V463S; R456F; D459W; S343R	N531G; E461Q; F464Y	Y408L; E416A
H362T; V463S; R456I; S343R	N531G; R462K; F464Y	E457G; E416A
H362T; R456I; D459W; S343R	E457G; E461Q; R462K	N531G; E416A
H362T; R456I; S343R	E457G; E461Q; F464Y	P535G; E416A
H362T; R456I; S343K	E457G; R462K; F464Y	Y408L; D425R; E416A
K14A; D425R; Y408L - N531G	E461Q; R462K; F464Y	E457G; D425R; E416A
Y408L; E457G; S507A; N531G	Y408L; N531G	N531G; D425R; E416A
E457G; N531G	Y408L; E461Q	Y408L; E457G; E416A
E457G; Y408L	Y408L; R462K	Y408L; N531G; E416A
Y408L; N531G; E457G; R462K	Y408L; F464Y	E457G; N531G; E416A
Y408L; N531G; E457G; F464Y	N531G; E461Q	Y408L; E457G; N531G; E416A
Y408L; N531G; E461Q; R462K	N531G; R462K	Y408L; E457G; D425R; E416A
Y408L; N531G; E461Q; F464Y	N531G; F464Y	Y408L; N531G; D425R; E416A
Y408L; N531G; R462K; F464Y	E457G; R462K	E457G; N531G; D425R; E416A
Y408L; E457G; E461Q; F464Y	E457G; F464Y	D425R; Y408L; N531G; E457G; E461Q; R462K; F464Y; E416A
Y408L; E457G; R462K; F464Y	E461Q; R462K	E457G; N531G; E461Q; R462K; F464Y; E416A
Y408L; E461Q; R462K; F464Y	E461Q; F464Y	Y408L; E530Y
N531G; E457G; E461Q; R462K	R462K; F464Y	E457G; E530Y

10

20

30

40

【 0 0 7 0 】

【表 2 - 5】

(表 2 の続き)

変異体の説明	変異体の説明	変異体の説明
N531G;E530Y	K424I	Y553L
P535G;E530Y	K424L	Y553S
Y408L;D425R;E530Y	K424M	Y553N
E457G;D425R;E530Y	K424F	Y553Q
N531G;D425R;E530Y	K424Y	Y553R
Y408L;E457G;E530Y	K424W	Y553H
Y408L;N531G;E530Y	K424G	Y553K
E457G;N531G;E530Y	K424P	Y553E
Y408L;E457G;N531G;E530Y	K424S	R557V
Y408L;E457G;D425R;E530Y	K424T	R557I
Y408L;N531G;D425R;E530Y	K424N	R557L
E457G;N531G;D425R;E530Y	K424Q	R557M
Y408L;E457G;N531G;D425R;E530Y	K424R	R557F
D425R;Y408L;N531G;E457G;E461Q;R462K;F464Y;E530Y	K424H	R557Y
E457G;N531G;E461Q;R462K;F464Y;E530Y	K424D	R557W
R365A	K424E	R557S
R365V	K423G	R557T
R365I	K423A	R557N
R365L	K423E	R557Q
R365M	K423D	R557G
R365F	D549A	R557P
R365Y	D549V	R557H
R365W	D549L	R557D
R365G	D549M	R557E
R365P	D549F	T377G;N531G
R365S	D549Y	T377G;E457G
R365T	D549W	T377G;E461Q
R365N	D549T	T377G;E457G;E461Q
R365Q	D549N	T377G;E457G;E461Q;N531G
R365H	D549Q	Y408L;N531G;R557A
R365K	D549G	N531G;P535A;R557A
R365D	D549P	E457G;E461Q;R557A
R365E	D549R	N531G;E457G;E461Q;R557A
A366G	D549H	Y408L;E457G;E461Q;R462K;N531G;R557A
K368G	D549K	N531G;P535A;R557K
K368E	Y553A	E457G;E461Q;R557K
K424A	Y553V	N531G;E457G;E461Q;R557K
K424V	Y553I	Y408L;E457G;E461Q;R462K;N531G;R557K

10

20

30

40

【 0 0 7 1 】

【表 2 - 6】

(表 2 の続き)

変異体の説明	変異体の説明	変異体の説明	
Y408L; N531G; ΔC末端(Δ558-PFISQYNV-565(配列番号25))	R371G	E530F; P558S	
N531G; P535A; ΔC末端(Δ558-PFISQYNV-565(配列番号25))	R327G	E530Y; P558S	
N531G; E457G; E461Q; ΔC末端(Δ558-PFISQYNV-565(配列番号25))	S343G	E457G; E461Q; E530F; N531G; P558S	
Y408L; E457G; E461Q; R462K; N531G; ΔC末端(Δ558-PFISQYNV-565(配列番号25))	Q373G	E457G; E461Q; R462K; F464Y; E530F; N531G; P558S	10
ΔC末端(Δ557-RPFISQYNV-565(配列番号28))	W375G	Y408L; E457G; E461Q; R462K; E530F; N531G; P558S	
Q69G	I382G	E457G; E461Q; F464Y; E530F; N531G; P558S	
L73G	H383G	E457G; E461Q; E530Y; N531G; P558S	
L76G	L386G	E457G; E461Q; R462K; F464Y; E530Y; N531G; P558S	
H362G	K387G	Y408L; E457G; E461Q; R462K; E530Y; N531G; P558S	
H370G	R388G	Y408F; E457G; E461Q; R462K; E530Y; N531G; P558S	
F399G	I389G	E457G; E461Q; F464Y; E530Y; N531G; P558S	20
E401G	I391G	E457G; E461Q; K504H; N531G	
A405G	E392G	E457G; E461Q; R462K; F464Y; K504H; N531G	
R456G	Y393G	Y408L; E457G; E461Q; R462K; K504H; N531G	
D459G	K419G	E457G; E461Q; F464Y; K504H; N531G	
R484G	D420G	E416A; E457G; E461Q; N531G	
D501G	N422G	Y408L; E416A; E457G; E461Q; R462K; N531G	
A502G	N460G	Y408F; E416A; E457G; E461Q; R462K; N531G	
V526G	R462G	E416A; E457G; E461Q; F464Y; N531G	30
S527G	V463G	T377G; E457G; E461Q; R462K; F464Y; N531G	
W528G	Y408F; E457G; E461Q; N531G	T377G; Y408L; E457G; E461Q; R462K; N531G	
F537G	Y408F; E457G; E461Q; R462K; F464Y; N531G	T377G; E457G; E461Q; F464Y; N531G	
P538G	Y408F; E457G; E461Q; R462K; N531G	T377G; E416A; K504H	
V540G	Y408F; E457G; E461Q; F464Y; N531G	E416A; K504H	
Y553G	E457G; E461Q; R462K; F464Y; N531G; R557K	T377G; K504H	
A342G	E457G; E461Q; F464Y; N531G; R557K	N422K; E457G; E461Q; N531G	40

【 0 0 7 2 】

【表 2 - 7】

(表 2 の続き)

変異体の説明	変異体の説明	変異体の説明
N422K;E457G;E461Q;Q467K;N531G	R557A;N531M;Y403F;K504Y;E457G;E461Q	D425K;P558S
E416A;N422K;E457G;E461Q;Q467K;N531G	R557A;N531G;Y403F;K504Y;E457G;E461Q	Y408M;E530F
K504R;E530F;D425K;P558S	R557A;N531D;Y403F;K504Y;E457G;E461Q	Y408M;K504R
K504R;E530F;D425R;P558S	R557A;N531M;Y403F;K504Y;E457G;E461L	Y408M;P558S
K504R;E530F;D425R;P558G	R557A;N531M;Y403F;K504Y;E457G;E461T	E530F;F537K
K504R;E530F;D425K;P558G	R557A;N531M;Y403F;K504Y;E457G;E461V	E530F;K504R
K504R;E530F;D425K;P558S;E457G;E461Q;N531G	R557A;N531M;Y403F;K504Y;E457N;E461Q	E530F;P558S
K504R;E457G;E461Q;N531G	R557A;N531M;Y403F;K504Y;E457N;E461L	F537K;K504R
E530F;E457G;E461Q;N531G	R557A;N531M;Y403F;K504Y;E457N;E461T	F537K;P558S
D425R;E457G;E461Q;N531G	R557A;N531M;Y403F;K504Y;E457N;E461V	K504R;P558S
D425K;E457G;E461Q;N531G	N531M;Y403F;K504Y;E457G;E461Q	D425K;Y408M;F537K
P558S;E457G;E461Q;N531G	N422K;E461Q	D425K;Y408M;K504R
P558G;E457G;E461Q;N531G	T377G;N422K	D425K;Y408M;E530F;F537K
K504R;E530F;E457G;E461Q;N531G	N531G;E457G;T377G	D425K;Y408M;E530F;P558S
K504R;D425R;E457G;E461Q;N531G	N531G;E461Q;N422K	D425K;E530F;F537K;K504R
K504R;P558S;E457G;E461Q;N531G	N531G;E461Q;T377G	Y408M;E530F;F537K;K504R
E530F;P558S;E457G;E461Q;N531G	N531G;N422K;T377G	Y408M;F537K;K504R;P558S
D425R;P558S;E457G;E461Q;N531G	E457G;E461Q;N422K	D425K;Y408M;E530F;F537K;K504R
D425R;E530F;E457G;E461Q;N531G	E457G;N422K;T377G	D425K;Y408M;E530F;F537K;P558S
D425K;E530F;E457G;E461Q;N531G	E461Q;N422K;T377G	D425K;Y408M;E530F;K504R;P558S
D425R;E530F;P558G;E457G;E461Q;N531G	N531G;E457G;N422K;T377G	D425K;Y408M;F537K;K504R;P558S
K504R;E530F;P558G;E457G;E461Q;N531G	N531G;E461Q;N422K;T377G	D425K;E530F;F537K;K504R;P558S
K504R;D425R;P558G;E457G;E461Q;N531G	E457G;E461Q;N422K;T377G	D425K;Y408M;E530F;F537K;K504R;P558S
K504R;D425R;E530F;E457G;E461Q;N531G	T377G;N422K;E457G;E461Q;N531G	D425K;E457G;E461Q;K504R;N531G
R557A;N531M	D425K;Y408M	D425K;E457G;E461Q;N531G;P558S
R557K;N531M	D425K;E530F	T377G;Y408M;N422K;E457G;E461Q;E530F;N531G
R557A;N531M;Y403F;K504Y	D425K;F537K	T377G;N422K;D425K;E457G;E461Q;E530F;N531G
R557A;N531D;Y403F;K504Y	D425K;K504R	E457G;E461Q;N531G;S507A

10

20

30

40

【 0 0 7 3 】

【表 2 - 8】

(表 2 の続き)

変異体の説明	変異体の説明	変異体の説明
N531G;S507A	L307F	A342R
E457G;S507A	L307H	K51R;N52A;A55P;T59M;R61G;F64Y
E461Q;S507A	L307W	N52A
N422K;S507A	L307Y	A55P
T377G;S507A	P433A	T59E
D425K;S507A	P433G	L73F
Y408M;S507A	P433F	L73D
P558S;S507A	Δ(Y496)	Δ(275-CAGFASVAQE-284(配列番号31))>CEEDRQQNIPKGLARSAGGEAEIETE(配列番号32)
E530F;S507A	Δ(D497)	R484A
F537K;S507A	Δ(Y496;D497)	R484K
K504R;S507A	S499G	R484E
Y408F;S507A	S499A	Δ(V565)>VG
R557A;S507A	S499K	Δ(V565)>VY
E416A;E457G;E461Q;R462K;F464Y;N531G	S499V	E416K
N52Q;N159Q	Y496L	E416R
N476Q;N518Q	S499G;I500K	D395A
Y408F;N531M	S499A;I500K	D395G
Y408F;K504Y	T495F;Y496L;S499G;I500K	D395K
G406A;Y403F	K423R	D395R
D425K	R62A	D395A;D425A
Y403F;D425K;E457G;N531G	R62E	D395A;E416A
G406A;D425K;E457G;E461Q;N531G	R62L	D395A;E416A;D425A
Y403F;G406A;D425K;E457G;E461Q;N531G	R62H	N402D
Y403F;D425K;E457G;E461Q;K504Y;N531G	E401K	K368D
Y403F;G406A;D425K;E457G;E461Q;K504Y;N531G	E401R	K1103A
D425K;E457G;E461Q;N531G	E401A	E1106A
D425K;E457G;E461Q;N531G;R557A	E401F	I1134G
R557A	N402G	I208G
Δ(V565)	N402K	H383K;D385N;K387S;R388Q;E392Q;Y393T;D395K;K419M;D420H;G421T;N422G;D425E
F559Y	N402R	H383K;R388Q;E392Q;Y393T;K419M
Δ(S308)	H554F	K51D;T59E;R61D
F559W	H554K	Q69H;L73F;G79E;T80I;L83S;N84H
F559H	R371E	Δ(1-KVTYTS-6(配列番号33))>RSPSASDLP(配列番号34)

10

20

30

40

【0074】

【表 2 - 9】

(表 2 の続き)

変異体の説明	変異体の説明	変異体の説明
M186E;G187L;Y188S;Q189N;D190G;F191L;D193G	L990S	I1133S
H948N	V1108N	N422A
L950S	E1110S	T377A
D988N	Q1131N	

50

【 0 0 7 5 】

B . 補体因子 I を含む融合構築物

本明細書では、補体因子 I の少なくとも 1 つのドメインを含む第 1 の構成要素 (C F I 部分) と、少なくとも第 2 の構成要素と、を含む融合構築物のための製剤であって、第 1 の構成要素と第 2 及び後続の構成要素とが融合されている (例えば、隣接しているか、又は任意選択のリンカーによって分離されている)、製剤が提供される。これらの融合構築物は、本明細書中で「 C F I 融合構築物」又は単に「融合構築物」と称される。いくつかの実施形態では、融合構築物は、更なる構成要素、例えば、第 3 の構成要素、第 4 の構成要素などを含む。

【 0 0 7 6 】

いくつかの実施形態では、融合構築物の第 2 及び後続の構成要素は、タンパク質である。いくつかの実施形態は、第 2 及び / 又は後続の構成要素は、タンパク質ではない。

【 0 0 7 7 】

本開示の融合構築物の構成要素は、任意選択のリンカーによって一緒に保持され得る。それらは、少なくとも 1 つのアミノ酸の任意の好適な長さのものであり得る。リンカーは、柔軟なリンカーであり得、約 1 ~ 約 2 0 アミノ酸残基長のペプチドであり得、アミノ酸残基は、グリシン残基を含み得る。リンカーはまた、任意選択でセリン残基を含み得る。例示的な柔軟なリンカーとしては、グリシンポリマー、グリシン - セリンポリマー、グリシン - アラニンポリマー、アラニン - セリンポリマー、又は当該技術分野で既知の任意の他の好適な柔軟なリンカーが挙げられ得るが、これらに限定されない。例示的なリンカーは、 $(G G S S) ^ n$ であり、式中、 n が約 1 ~ 約 2 0 の任意の数である (配列番号 3 5)。例示的なリンカーは、 $(G G S S) ^ n G G$ (配列番号 3 6) であり、式中、 n が約 1 ~ 約 2 0 の任意の数である。例示的なリンカーは、 $(G G S S G G) ^ n$ であり、式中、 n が約 1 ~ 約 2 0 の任意の数である (配列番号 3 7)。いくつかの実施形態では、リンカーは、プロテアーゼ感受性切断可能リンカーである。融合構築物を連結する例示的なリンカーは、1 ~ 5 0、5 ~ 5 0、1 0 ~ 5 0、1 5 ~ 5 0、2 0 ~ 5 0、2 5 ~ 5 0、1 ~ 2 0、2 ~ 2 0、3 ~ 2 0、4 ~ 2 0、5 ~ 2 0、6 ~ 2 0、7 ~ 2 0、8 ~ 2 0、9 ~ 2 0、1 0 ~ 2 0、3 ~ 1 5、3 ~ 1 0、3 ~ 9、3 ~ 8、3 ~ 7、3 ~ 6、3 ~ 5、4 ~ 1 5、4 ~ 1 0、4 ~ 9、4 ~ 8、4 ~ 7、4 ~ 6、4 ~ 5、5 ~ 1 5、5 ~ 1 0、5 ~ 9、5 ~ 8、5 ~ 7、5 ~ 6、6 ~ 1 5、6 ~ 1 0、6 ~ 9、6 ~ 8、又は 6 ~ 7 アミノ酸長であり得る。

【 0 0 7 8 】

C F I + 半減期延長融合構築物

いくつかの実施形態では、融合構築物は、野生型 C F I 又は C F I 変異体 (第 1 の構成要素) と、少なくとも第 2 の構成要素と、を含み、第 2 の構成要素は、半減期延長剤である。天然に存在する C F I は比較的短い半減期を有するため、いくつかの実施形態では、C F I 又はその変異体の半減期を増加させることが有利であり得る。半減期延長剤である第 2 の構成要素を使用することによって、野生型 C F I と比較して、活性が増加し得るか、又は別の特徴を改善し得る。例えば、野生型 C F I 又は C F I 変異体は、C F I を半減期延長剤に融合させることによってそれらの半減期を延長させ得る。

【 0 0 7 9 】

例示的な半減期延長剤としては、ヒト血清アルブミンなどのアルブミン、P E G、非生分解性ポリマー、生分解性ポリマー、及び F c が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、第 2 の構成要素は、タンパク質であり、アルブミン又は F c などの半減期延長剤である。いくつかの実施形態では、第 2 の構成要素は、タンパク質ではなく、P E G などの半減期延長剤である。いくつかの実施形態では、半減期延長剤は、ペプチド反復である。

【 0 0 8 0 】

いくつかの実施形態では、第 2 の構成要素は、半減期延長剤であり、アルブミンである。本明細書で使用される場合、アルブミンは、任意の血清アルブミンなどの任意のアルブ

10

20

30

40

50

ミン、又はアルブミン変異体、又はアルブミン誘導体を指すことに留意されたい。例として、アルブミンの変異体は、配列番号7（野生型ヒト血清アルブミン（Human serum albumin、HSA））に記載のアミノ酸配列に対応する少なくとも1つの改変、又は任意の非ヒト種のアルブミンのアミノ酸配列に対応する少なくとも1つの改変を含む任意のアルブミンを含む。例示的な実施形態では、アルブミンは、ヒト血清アルブミン（HSA）であり、配列番号7に提供される。

【0081】

野生型CFI及びHSAを含む例示的な融合構築物は、本明細書では「CFI-HSA」と称され、以下で更に詳細に考察される。本開示の例示的な融合構築物は、配列番号21のアミノ酸配列を含む。

10

【0082】

いくつかの実施形態では、本開示の融合構築物は、アルブミン及び本開示のCFI変異体を含む。例示的なCFI変異体を、以下の表2に提供する。

【0083】

融合構築物の構造的配置

いくつかの実施形態では、少なくとも第1の構成要素であって、第1の構成要素が本明細書で提供される野生型CFI又はCFI変異体（CFI部分）のいずれかである、少なくとも第1の構成要素と、第2の構成要素であって、第1の構成要素及び第2の構成要素が、融合されており、第2の構成要素が、CFI部分のN末端に融合されている、第2の構成要素と、を含む融合構築物が本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、第2の構成要素は、CFI部分のC末端に融合されている。いくつかの実施形態では、第2の構成要素は、CFI部分のC末端に融合されており、第3の構成要素は、CFI部分のN末端に更に融合されている。いくつかの実施形態では、第2の構成要素は、CFI部分のN末端に融合されており、第3の構成要素は、CFI部分のC末端に更に融合されている。

20

【0084】

表3を参照すると、配列番号1は、「CFI-PD」と称される野生型血漿由来ヒトCFIのアミノ酸配列であり、リーダー配列を有する。第2の構成要素との融合に使用される野生型CFIは、配列番号1に存在するリーダー配列を含まない配列番号5のアミノ酸配列を含んでもよい。代わりに、マウスIgカッパ鎖V-IIII領域MOPC63リーダー配列（配列番号2）は、本明細書で提供されるCFI融合構築物のうちのいずれかの組換え産生に使用され得る。いくつかの実施形態では、少なくとも1つのCFIドメインを含むCFI融合構築物が本明細書で提供され、少なくとも1つのCFIドメインは、配列番号5に記載のアミノ酸配列を含む。

30

【0085】

本開示の例示的な融合構築物は、配列番号21のアミノ酸配列を含む。

【0086】

40

50

【表 3 - 1】

表 3：例示的な C F I 融合構築物の構成要素

説明	配列
野生型血漿由来ヒトCFI(CFI-PD)	MKLLHVFLFLCFHLRFCKVYTYTSQEDLVEKKCLAKKYTHLSCDKVFCQP WQRCIEGTCVCKLPYQCPKNGTAVCATNRRSFPTYCQQKSLECLHPGTK FLNNGTCTAEGKFSVSLKHGNTDSEGIVEVKLVDDQDKTMFICKSSWSMR EANVACLDLGFQQGADTQRRFKLSDLSINSTECLHVHCRGLETSLAECTF TKRRTMGYQDFADVVCYTQKADSPMDDFFQCVNGKYISQMKACDGINDC GDQSDELCKACQGGKGFHCKSGVCIPSQYQCNGEVDCITGEDEVGCAGF ASVTQEETEILTADMDAERRRIKSLLPKLSCGVKNRMHIRRKRIVGGKRA QLGDLPWQVAIKDASGITCGGIYIGGCWILTAHCLRASKTHRYQIWTTVV DWIHPDLKRIVIEYVDRIIFHENYNAGTYQNDIALIEMKKDGNKKDCELPRSI PACVPWSPYLFQPNDCIVSGWGREKDNERVFSLQWGEVKLISNCSKIFY GNRFYEKEMECAGTYDGSIDACKGDSGGPLVCM DANNVTYVWGVVSWG ENCGKPEFPVYTKVANYFDWISYHVGRPFISQYNV(配列番号1)
リーダー配列(CFI-HSAのマウスリーダー)	METDTLLLWVLLLWVPGSTG(配列番号2)
ヒトCFIリーダー配列	MKLLHVFLFLCFHLRF(配列番号3)
シグナル配列を含まない配列番号1の野生型CFI	KVYTYTSQEDLVEKKCLAKKYTHLSCDKVFCQPWQRCIEGTCVCKLPYQCP KNGTAVCATNRRSFPTYCQQKSLECLHPGTKFLNNGTCTAEGKFSVSLK HGNTDSEGIVEVKLVDDQDKTMFICKSSWSMREANVACLDLGFQQGADTQ RRFKLSDLSINSTECLHVHCRGLETSLAECTFTKRRTMGYQDFADVVCYT QKADSPMDDFFQCVNGKYISQMKACDGINDCGDQSDELCKACQGGKGFH CKSGVCIPSQYQCNGEVDCITGEDEVGCAGFASVTQEETEILTADMAER RRIKSLLPKLSCGVKNRMHIRRKRIVGGKRAQLGDLPWQVAIKDASGITCG GIYIGGCWILTAHCLRASKTHRYQIWTTVVVDWIHPDLKRIVIEYVDRIIFHE NYNAGTYQNDIALIEMKKDGNKKDCELPRSIACVPWSPYLFQPNDCIVS GWGREKDNERVFSLQWGEVKLISNCSKIFYGNRFYEKEMECAGTYDGSID ACKGDSGGPLVCM DANNVTYVWGVVSWG ENCGKPEFPVYTKVANYFD WISYHVGRPFISQYNV(配列番号5)
リンカー	GGSSGG(配列番号6)
ヒト血清アルブミン(HSA)	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFA KTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERN ECFLQHKDDNPNL PRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYF YAPELLFFAKRYKAAFTGCCQAADKAAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHG DLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVNDEM PADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVL L L R LAKTYETTLEKCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC ELF EQL GEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMP CAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVD ETY VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAV MDDFAAFVEKCKADDKETCF AEEGKKLVAASQAALGL(配列番号7)

10

20

30

【 0 0 8 7 】

40

50

【表 3 - 2】
(表 3 の続き)

説明	配列
CFIと連結されたHSA (CFI-HSA)	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFA KTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERN ECFLQHKDDNP NLPRLVLRPEVDVMCTAFHDNEETFLLK KYLYEIARRHPYF YAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECGHG DLLECADDRADLAKYIGENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEM PADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVLLLR LAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL IKQNC ELF EQL GEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMP CAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVD ETY VPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAV MDDFAAFVEKCKKADDKETCF AEFGKLLVAASQAALGLGGSSGGKVTYT SQEDLVEKKCLAKKYTHLSCDKVFCQPWQRCIEGTCVCKLPYQCPKNGT AVCATNRRSFPTYCQQKSLECLHPGTFKFLNNGTCTAEGKFSVSLKHGNT DSEGIVEVKLV DQDKTMFICKSSWSMREANVA CLDLGFQGGADTQRRFK LSDLSINSTEGLHVHCRGLETSLAECTFTKRRRTMGYQDFADVV CYTKAD SPMDDFFQCVNGKYISQMKACDGINDCGDSDELCKACQGGKGFHCKSG VCIPSQYQCNGEVD CITGEDEVGCAGFASVTQEETEILTADMDAERRRIKS LLPKLSCGVKNRMHIRRK RIVGGKRAQLGDLPWQVAIKDASGITCGGIYIG GCWILTA AHCLRASKTHRYQIWTTVVDWIHPDLKRIVIEYVDR IIFHENYNA GTYQNDIALIEMKKDGNKKDC ELPR SIPACVPWSPYLFQPN DTCIVSGWG REKDNERV FSLQWGEVKLISNCSK FYNRFYEKEMECAGTYDGSIDACK GDSGGPLVCMDANNVTYVWGVVSWG ENCGKPEFFGVYTKVANYFDWIS YHVGRPFISQYNV (配列番号21)

10

20

【0088】

III. CFI含有製剤の使用

本開示の製剤は、対象における治療法のために使用され得る。本明細書で使用される場合、対象は、任意の哺乳動物対象を含み、霊長類、げっ歯類、家畜、動物園の動物、及びペットを含む。いくつかの実施形態では、哺乳動物対象は、ヒト対象である。いくつかの実施形態では、哺乳動物対象は、非ヒト霊長類である。

30

【0089】

A. 非眼状態の治療

いくつかの実施形態では、本明細書で提供される製剤は、対象における非眼状態を治療するのに有用である。いくつかの実施形態では、本明細書では、眼状態の治療を必要とする対象における眼状態を治療する方法が提供され、方法は、治療有効量の本明細書に提供される製剤のうちのいずれか1つを対象に投与することを含む。

【0090】

いくつかの実施形態では、非眼状態は、CFIの欠損によって特徴付けられる。いくつかの実施形態では、非眼状態は、補体系の調節不全によって特徴付けられる。

【0091】

いくつかの実施形態では、非眼状態は、全身性急性適応症である。いくつかの実施形態では、非眼状態は、急性糸球体腎炎、急性腎損傷、急性呼吸窮迫症候群、細菌性髄膜炎、脳出血、火傷、コロナウイルス感染症、エプスタインバーウイルス感染、造血幹細胞移植、虚血再灌流損傷、ライム病、心筋梗塞、臓器移植、歯周炎、肺炎、子癇前症、住血吸虫症、敗血症、脳卒中、血栓塞栓症、及び外傷性脳損傷からなる群から選択される全身性急性適応症である。

40

【0092】

いくつかの実施形態では、非眼状態は、全身性慢性適応症である。いくつかの実施形態では、非眼状態は、アルツハイマー病、抗好中球細胞質抗体 (anti-neutrophil cytoplasmic antibody, ANCA) 関連血管炎、抗リン脂質抗体症候群、喘息、アテローム性動脈硬化症、非定型溶血性尿毒症症候群 (atypical hemolytic uremic syndrome

50

、 a H U S)、自己免疫性溶血性貧血、水疱性類天疱瘡 (bullous pemphigoid、 B P)、 C 3 系球体症、慢性腎不全、慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease、 C O P D)、寒冷凝集素症 (Cold agglutinin disease、 C A D)、クローン病、糖尿病性ニューロパチー、全身性重症筋無力症 (generalized myasthenia gravis、 g M g)、多発性血管炎を伴う肉芽腫症 (Granulomatosis with Polyangiitis、 G P A)、ギランバレー症候群 (Guillain-Barre Syndrome、 G B S)、遺伝性血管浮腫 (hereditary angioedema、 H A E)、化膿性汗腺炎 (hidradenitis suppurativa、 H S)、 I g A 腎症 (IgA nephropathy、 I g A N)、ループス腎炎 (lupus nephritis、 L N)、膜性腎症 (membranous glomerulonephritis、 M N)、顕微鏡的多発性血管炎 (microscopic polyangiitis、 M P A)、運動ニューロン病 10
、多巣性運動ニューロパチー (multifocal motor neuropathy、 M M N)、多発性硬化病 (multiple sclerosis、 M S)、インスリン非依存性糖尿病、変形性関節症、膝炎、パーキンソン病、発作性夜間血色素尿症 (paroxysmal nocturnal hemoglobinuria、 P N H)、移植後リンパ増殖性疾患、タンパク質漏出性腸症、乾癬、壊疽性膿皮症、関節リウマチ、統合失調症 (schizophrenia、 S Z)、全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus、 S L E)、免疫性血小板減少症 (immune thrombocytopenia、 I T P)、及び潰瘍性大腸炎、ランパートイトン筋無力症症候群 (Lampert-Eaton myasthenic syndrome、 L E M S)、 C H A P L E 症候群 (C D 5 5 欠乏症)、血栓性微小血管造影 (thrombotic microangiopathy、 T M A) 及び慢性炎症性脱髄性多発神経炎 (chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy、 C I D P)、ハンチントン病、並びに虚血再灌流損傷からなる群から選択される 20
全身性慢性適応症である。

【 0 0 9 3 】

いくつかの実施形態では、 C 4 b 分解剤である C F I 変異体又は融合構築物を含む本明細書で提供される製剤の使用によって治療され得る疾患としては、非眼状態が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、非眼状態は、全身性慢性適応症である。いくつかの実施形態では、非眼状態は、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic lateral sclerosis、 A L S)、抗好中球細胞質抗体 (A N C A) 関連血管炎、抗リン脂質抗体症候群、喘息、アテローム性動脈硬化症、非定型溶血性尿毒症症候群 (a H U S)、自己免疫性溶血性貧血、水疱性類天疱瘡 (B P)、 C 3 系球体症、慢性腎不全、慢性閉塞性肺疾患 (C O P D)、寒冷凝集素症 (C A D)、クローン病、糖尿病性ニューロパチー、全身性重症筋無力症 (g M g)、多発性血管炎を伴う肉芽腫症 (G P A)、ギランバレー症候群 (G B S)、遺伝性血管浮腫 (H A E)、化膿性汗腺炎 (H S)、 I g A 腎症、ループス腎炎 (L N)、膜性腎症 (M N)、顕微鏡的多発性血管炎 (M P A)、運動ニューロン病、多巣性運動ニューロパチー (M M N)、多発性硬化病 (M S)、インスリン非依存性糖尿病、変形性関節症、膝炎、パーキンソン病、発作性夜間血色素尿症 (P N H)、移植後リンパ増殖性疾患、タンパク質漏出性腸症、乾癬、壊疽性膿皮症、関節リウマチ、統合失調症 (S Z)、全身性エリテマトーデス (S L E)、免疫性血小板減少症 (I T P)、温性自己免疫性溶血性貧血 (warm Autoimmune hemolytic anemia、 w A I H A)、免疫複合体膜性増殖性糸球体腎炎 (Immune-Complex Membranoproliferative Glomerulonephritis、 I C - M P G N)、及び潰瘍性大腸炎、ランパートイトン筋無力症症候群 (L E M S)、 C H A P L E 症候群 (C D 5 5 欠乏症)、血栓性微小血管造影 (T M A) 及び慢性炎症性脱髄性多発神経炎 (C I D P)、ハンチントン病、並びに虚血再灌流損傷からなる群から選択される全身性慢性適応症である。 30
40

【 0 0 9 4 】

いくつかの実施形態では、非眼状態は、非腫瘍学的である。

【 0 0 9 5 】

いくつかの実施形態では、非眼状態は、腫瘍学的である。いくつかの実施形態では、非眼状態は、腫瘍学的であり、固形腫瘍又は液性腫瘍によって特徴付けられる。いくつかの 50

実施形態では、非眼疾患は、固形腫瘍によって特徴付けられ、結腸直腸腫瘍、ホルモン不応性前立腺がん、黒色腫、転移性乳がん、転移性結腸直腸がん、転移性食道がん、転移性膵臓がん、転移性胃がん、上咽頭がん、非小細胞肺がん、脾腫瘍、扁平上皮細胞がん、及び胃腫瘍からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、非眼状態は、液性腫瘍によって特徴付けられ、急性骨髄性白血病、B細胞リンパ腫、及びホジキン病からなる群から選択される。

【0096】

B. 眼状態の治療

いくつかの実施形態では、本明細書で提供される製剤は、対象における眼状態を治療するのに有用である。いくつかの実施形態では、本明細書では、眼状態の治療を必要とする対象における眼状態を治療する方法が提供され、方法は、治療有効量の本明細書に提供される製剤のうちのいずれかを対象に投与することを含む。

10

【0097】

いくつかの実施形態では、眼状態は、CFIの欠損によって特徴付けられる。いくつかの実施形態では、眼状態は、補体系の調節不全によって特徴付けられる。

【0098】

いくつかの実施形態では、眼状態は、機能不全CFI遺伝子の存在によって特徴付けられる。いくつかの実施形態では、眼状態は、補体系の調節不全及び低いCFIレベルによって特徴付けられる。

【0099】

いくつかの実施形態では、眼状態は、糖尿病黄斑浮腫 (diabetic macular edema、DME)、糖尿病網膜症、乾性加齢黄斑変性症 (dry age-related macular degeneration、AMD)、緑内障、角結膜炎、視神経脊髄炎スペクトラム障害 (neuromyelitis optica spectrum disorder、NMOSD)、開放隅角緑内障、ポリープ状脈絡膜血管症、シュタルガルト病、ぶどう膜炎、及び硝子体網膜症からなる群から選択される。

20

【0100】

いくつかの実施形態では、眼状態は、非腫瘍学的である。

【0101】

C. 投与

本明細書に記載の製剤のインビボ投与は、静脈内又は皮下に実施され得る。

30

【0102】

例示的な実施形態では、本明細書に記載の製剤の投与は、皮下投与である。いくつかの実施形態では、皮下投与は、毎日、隔日、週2回、又は毎週の投与である。

【0103】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の製剤の投与は、静脈内投与である。

【0104】

本明細書で一般的に企図されるように、本明細書に記載のCFI変異体又は融合構築物は、活性化された二本鎖形態で送達される。しかしながら、いくつかの例では、不活性CFI変異体又は融合構築物が、不活性一本鎖形態で送達され得る。いくつかの実施形態では、送達されるものは、一本鎖不活性形態及び二本鎖活性形態の両方を含む。

40

【0105】

D. 投薬量

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の製剤のうちのいずれかは、それを必要とする対象に、約0.05 mg/kg ~ 約10 mg/kgの投薬量で投与され得る。いくつかの実施形態では、投薬量は、約1 mg/kgである。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の製剤中の治療用CFI、変異体、又は融合構築物の投与は、約0.05 mg/kg、約0.1 mg/kg、約0.5 mg/kg、約1 mg/kg、約1.5 mg/kg、約2 mg/kg、約2.5 mg/kg、約3 mg/kg、約3.5 mg/kg、約4 mg/kg、約4.5 mg/kg、約5 mg/kg、約5.5 mg/kg、約6 mg/kg、約6.5 mg/kg、約7 mg/kg、約7.5 mg/kg、約8 mg/kg、約8.5

50

mg/kg、約9mg/kg、約9.5mg/kg、又は約10mg/kgの投薬量での皮下投与である。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の製剤中の治療用CFI、変異体、又は融合構築物の投与は、約0.1mg/kg、約0.5mg/kg、約1mg/kg、約1.5mg/kg、約2mg/kg、約2.5mg/kg、約3mg/kg、約3.5mg/kg、約4mg/kg、約4.5mg/kg、約5mg/kg、約5.5mg/kg、約6mg/kg、約6.5mg/kg、約7mg/kg、約7.5mg/kg、約8mg/kg、約8.5mg/kg、約9mg/kg、約9.5mg/kg、又は約10mg/kgの投薬量での静脈内投与である。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の治療用CFI変異体又は融合構築物の投与は、毎日の投与、隔日の投与、毎週の投与、又は毎週2回の投与である。

10

【0106】

いくつかの実施形態では、血漿中の本明細書で提供される製剤中の治療用CFI、変異体、又は融合構築物の目標レベルは、約0.1µg/ml、約0.5µg/ml、約1µg/ml、約1.5µg/ml、約2µg/ml、約2.5µg/ml、約3µg/ml、約3.5µg/ml、約4µg/ml、約4.5µg/ml、5µg/ml、約5.5µg/ml、約6µg/ml、約6.5µg/ml、約7µg/ml、約7.5µg/ml、約8µg/ml、約8.5µg/ml、約9µg/ml、約9.5µg/ml、約10µg/ml、約10.5µg/ml、約11µg/ml、約11.5µg/ml、約12µg/ml、約12.5µg/ml、約13µg/ml、約13.5µg/ml、約14µg/ml、約14.5µg/ml、15µg/ml、約15.5µg/ml、約16µg/ml、約16.5µg/ml、約17µg/ml、約17.5µg/ml、約18µg/ml、約18.5µg/ml、約19µg/ml、約19.5µg/ml、約20µg/ml、約20.5µg/ml、約21µg/ml、約21.5µg/ml、約22µg/ml、約22.5µg/ml、約23µg/ml、約23.5µg/ml、約24µg/ml、約24.5µg/ml、25µg/ml、約25.5µg/ml、約26µg/ml、約26.5µg/ml、約27µg/ml、約27.5µg/ml、約28µg/ml、約28.5µg/ml、約29µg/ml、約29.5µg/ml、約30µg/mlであり得る。標的レベルは、約10µg/ml、約25µg/ml、約50µg/ml、約100µg/ml、約150µg/ml、約200µg/ml、約250µg/ml、又は更には約300µg/mlであり得る。

20

30

【実施例】

【0107】

実施例1：CFI、CFI変異体、及び融合タンパク質の調製

概要

以下に提供される方法は、野生型CFI、CFI変異体、並びに野生型CFI及びCFI変異体を含む融合構築物の発現、精製、活性化、及びインビトロシアリル化に適用可能である。

【0108】

実施例1の場合、CFI-HSAへの言及は、ヒト野生型CFIのN末端に融合されたヒト血清アルブミン（配列番号21）を指す。

40

【0109】

野生型CFI-HSAタンパク質をチャイニーズハムスター卵巢（Chinese hamster ovary、CHO）細胞において発現させ、抗アルブミン親和性精製で精製し、フューリンで活性化し、サイズカラムで精製する。活性化CFI-HSAタンパク質をインビトロシアリル化に供して、CFI-HSAの総シアリル化を増加させた。最後に、シアリル化タンパク質を、抗アルブミン親和性精製を使用して精製し、サイズ排除カラムクロマトグラフィによって洗練した。

【0110】

発現

CFIタンパク質のアミノ末端にヒト血清アルブミンを有するCFI-HSA遺伝子（

50

配列番号21)を合成した(ThermoFisher Scientific, Genesart, Regensburg, Germany)。タンパク質は、発現中に除去された配列番号2のシグナル配列で作製した。アミノ末端アルブミンタグを、リンカー(配列番号6)を介してCFI遺伝子に接続した。CFI-HSAの遺伝子を、標準的な分子生物学技術を利用して発現ベクター(LakePharma, Hayward, CA)に挿入した。得られたプラスミドDNAをE. coliに形質転換した。トランスフェクトされたE. coliを、プラスミドDNAの発現のために200mlのLB培地中で増殖させ、標準的な技術を利用して回収した。プラスミドDNAを品質評価のためにアガロースゲル上で泳動し、トランスフェクションに進む前に配列を確認した。

【0111】

1.0リットルの懸濁TunaCHO(商標)細胞を振盪フラスコに播種し、無血清合成培地を使用して増殖させた。トランスフェクションの日に、増殖した細胞を、新鮮な培地を含む新しいフラスコに播種した。プラスミドDNAを、Lipofectamine 2000(ThermoFisher Scientific)を使用してCHO細胞に一過性にトランスフェクトした。産生実行の終わりまでバッチ供給培養として細胞を維持した。タンパク質を、8%のCO₂濃度、125RMPで、37℃で14日間、発現させた。細胞を遠心分離し、上清を、14日間の発現の終わりに分泌されたCFI-HSAの精製のために収集した。

【0112】

精製

発現されたCFI-HSAタンパク質を含む上清を、Capture Select(商標)ヒトアルブミン親和性マトリックス(ThermoFisher Scientific)の10ml重力流カラムに通した。カラムに結合したタンパク質を10カラム体積の20mMのリン酸ナトリウム緩衝液で洗浄した。結合したCFI-HSAタンパク質を2ステップで溶出した:第一に、2MのMgCl₂を含む3カラム体積の20mMのトリス-HCl、pH7.0緩衝液を用い、第二に、3カラム体積の20mMのクエン酸、pH3.0を用いた。ステップ1及び2の両方からの溶出物を5ml画分に収集した。ステップ2の溶出の各画分を、10%の中和緩衝液(1.5Mのトリス-HCl pH7.4)で中和した。全ての画分を還元及び非還元SDS-PAGE電気泳動によって分析し、バンドをSimply Blue(商標)SafeStain(ThermoFisher Scientific)によって可視化した。CFI-HSAは、非還元ゲル上で130kDaのバンドとして泳動し、還元ゲル上で102kDa及び28kDaのバンドとして泳動する。最大のCFI-HSA濃度及び純度を有する画分を更なる処理のためにプールした。

【0113】

フューリン活性化

CFI-HSAは、不活性な単鎖前駆体タンパク質として発現され、別のセリンプロテアーゼであるフューリンによって活性化される。フューリンは、その保存されたRRKR配列(フューリン認識配列とも称される)でCFIを切断し、ジスルフィド結合によって接続された重鎖及び軽鎖をもたらすエンドプロテアーゼである。フューリン処理された成熟二本鎖タンパク質は、CFIタンパク質の活性化形態である。

【0114】

タンパク質をその活性化形態で産生するためのCFI-HSAの切断は、Tris-NaCl(トリス緩衝生理食塩水)、2.5mMのCaCl₂、及び0.5%のCHAPS中、精製CFI-HSAのmg当たり4µgの組換えフューリンを、30℃で18時間インキュベートすることによって実施された。CFI-HSAタンパク質濃度を1.4mg/mlに維持した。これは、タンパク質の90%超の活性化をもたらす。サイズ排除クロマトグラフィによって、活性化タンパク質を不活性化CFI-HSA及び他のタンパク質から分離した。サイズ排除クロマトグラフィ(size exclusion chromatography、SEC)は、HiLoad 16/600 Superdex 200カラム(GE He

10

20

30

40

50

althcare Life Sciences)及び移動相としてリン酸緩衝液生理食塩水(phosphate buffer saline、PBS、137mMのNaCl、2.7mMのKCl、10mMのNa₂HPO₄、2mMのKH₂PO₄、pH7.4)を使用して実施された。収集した画分をCE-SDS(LabChip GXII、PerkinElmer)によって分析した。標的タンパク質を含有する画分をプールし、SE-UPLCによって分析した。

【0115】

インビトロシアリル化

活性化されたCFI-HSAタンパク質をインビトロシアリル化に供した。簡単に説明すると、シアリル化を2ステップ酵素反応で実施した。第一に、CFI-HSAのガラクトシル化反応を、10mMのUDP-ガラクトース、5mMのMnCl₂、及び100mMのMES、pH6.5緩衝液中、1:200モル比のガラクトシルトランスフェラーゼ(GalT1)酵素及びCFI-HSAを利用して200µl体積で実施した。ガラクトシル化CFI-HSAを、前述のように、Capture Select(商標)ヒトアルブミン親和性クロマトグラフィによって反応混合物から精製した。次いで、80µMのアルカリホスファターゼ、6.1mMのCMP-NANA、10mMのZnCl₂、及び200mMのMES緩衝液、pH6.5中、1:50モル比の酵素アルファ2,6-シアリルトランスフェラーゼ及び精製CFI-HSAを利用して、37℃で1時間、250µl体積でシアリル化反応を実施した。シアリル化CFI-HSAタンパク質を、Capture Select(商標)ヒトアルブミン親和性クロマトグラフィによって反応混合物から精製した。CFI-HSA上のシアル酸鎖の程度及び特徴を、以下に更に詳細に記載のAgilent/Prozyme分析サービス、総シアル酸定量化用のGS-SAP法(Agilent GS48)、及び質量分光光度(mass spectrophotometric、MS)分析(Lake Pharma分析サービス)を利用することによって決定した。

10

20

30

40

50

【0116】

簡潔には、総シアル酸定量化を、96ウェルプレート中で20µlの各試料を10µlの放出試薬と混合することによって実施した。反応混合物を80℃で2時間インキュベートした。試料を室温に冷却し、10µlの標識試薬を50℃で3時間の更なるインキュベーションのために各試料に添加した。試料を再び室温まで冷却し、160µlの脱イオン(de-ionized、dI)水を添加して総体積を200µlにした。10µlの試料をAgilent UHPLC Poroshell C18カラムに注入して、水中4%のメタノール、8%のアセトニトリル(ラインA1)及び100%のACN(ラインB1)中、30℃で0.4ml/分の流速で流した。ピークを373/448nm波長で記録した。総ピーク面積対シアル酸のピコモル(picomole、pmol)の標準曲線を、キットとともに供給される1~2000pmolのNANA(N-acetylneuraminic acid、N-アセチルノイラミン酸、Neu5Ac)を同じカラムに流すことによって生成した。試料のピーク面積を標準曲線と比較することによって、各試料の総シアル酸を定量化した。

【0117】

質量分析は、標準トリプシンQ-TOF質量分析計によって実施した。簡潔に述べると、全ての試料を、DTT及びヨードアセトアミドによって処理し、還元し、アルキル化し、続いてトリプシン消化した。消化された試料を、タンパク質BEH C18カラムを使用して、Xevo G2-XS-QTOF質量分析計に結合されたWaters ACQUITY UPLCによって分析した。

【0118】

洗練

精製したCFI-HSAタンパク質を、HiLoad 16/600 Superdex 200カラム(GE Healthcare Life Sciences)及び移動相としてホスファート緩衝液生理食塩水を使用するサイズ排除クロマトグラフィ(SEC)に供した。収集した画分をCE-SDS(LabChip GXII、Perkin

Elmer)によって分析した。標的タンパク質を含有する画分をプールし、濃度を5 mg/mlにし、試料を-80で保存するために急速冷凍した。

【0119】

CFI-HSA変異体の発現及び精製

CFI-HSA変異体のDNAを、合成又は標準的な技術を利用した部位特異的変異誘発のいずれかによって生成した。発現を14日間の代わりに7日間行ったことを除いて、野生型CFI-HSAタンパク質に関して本明細書に記載したように、タンパク質をTunaCHO(商標)細胞の250mlの懸濁液中で発現させた。7日後、細胞を遠心分離し、馴化培地をCapture Select(商標)ヒトアルブミン親和性マトリックス(ThermoFisher Scientific)の重力流カラムに通した。カラムに結合したタンパク質を10カラム体積の20mMのリン酸ナトリウム緩衝液で洗浄した。結合したCFI-HSAタンパク質を、2MのMgCl2を含む3カラム体積の20mMのTris-HCl、pH7.0緩衝液で5ml画分に溶出した。CFI-HSA又はその変異体を、30mMのHEPES、150mMのNaCl、2.5mMのCaCl2、pH7.4に緩衝液交換した(透析又はスピン濃縮器のいずれかによって)。1:25のモル比(フューリン:CFI-HSA)で組換えヒトフューリンをCFI-HSAに添加し、反応混合物を30で16時間インキュベートした。2マイクログラムの活性化混合物を9%のSDS-PAGEゲル上で泳動して、活性化効率を評価した。概して、80%超の活性化が達成された。

10

20

【0120】

実施例2:製剤開発研究I

実施例2の場合、CFI-HSAへの言及は、野生型CFIのN末端に融合されたヒト血清アルブミン(配列番号21)を指す。CFI-HSAを約150mg/mLの濃度で製剤化した。

【0121】

研究は、安定性について最適な選択肢を提供する条件を評価するために、液体及び凍結乾燥製剤の範囲で、CFI-HSAの物理的及び化学的特性を調査するように設計された。例えば、皮下投与を可能にするために、CFI含有組成物の高い濃度及び安定性が望まれる。

30

【0122】

この研究で調査した活性医薬品成分(active pharmaceutical ingredient、API)は、CFI-HAS(配列番号21)であった。この研究に使用された材料は、以下のものを含んだ:

(1)原薬:CFI-HSA、153.4mg/mL、F1製剤

(2)CFI-HSAを製剤化及び分析するために使用された化学物質及び材料は以下のとおりであり、表2.1に示した:

【0123】

【表4】

表2.1:材料

化学物質	供給業者	カタログ番号	CAS番号	グレード
酢酸	EMD	AX0073-9	64-19-7	
ソルビトール	EMD	111597	50-70-4	EP、BP、NF、JP
NaCl	EMD	106404	7647-14-5	EP
コハク酸	Sigma Aldrich	1623411	110-15-6	USP
アルギニン・HCl	Sigma Aldrich	A4599	1119-34-2	EP、JP、USP
スクロース	Pfanstiehl	S-124-2-MC	57-50-1	NF、EP、JP、ChP
トレハロース	Pfanstiehl	T-104-4	6138-23-4	NF、EP、JP、ChP
グリシン	JT Baker	0581-05	56-40-6	USP
ポリソルベート80	Croda	Super Refined(商標)	9005-65-6	USP、JP、EP

40

50

【0124】

この安定性研究では、CFI-HSAの安定性を、最適範囲のpHにわたって様々な張度変更剤/増量剤を含有する12個の製剤において監視した。表2.2は、試験された12個の製剤マトリックスを提供する。

(1) pH 5 ~ 7

(2) 緩衝液(本明細書では互換的に緩衝剤とも称される)

(3) 張度変更剤(非イオン性緩衝剤の場合、ソルビトール又はトレハロース、イオン性緩衝剤の場合、塩化ナトリウム)

(4) 増量剤(トレハロース又はグリシン)

(5) 界面活性剤

10

【0125】

【表5】

表2.2: 製剤マトリックス

製剤番号	製剤タイプ	緩衝液(20mM)	pH	張度変更剤/増量剤	API (mg/mL)	界面活性剤
1	液体	酢酸ナトリウム	5	5%のソルビトール	150	0.02%のPS80
2	液体	酢酸ナトリウム	5.5	5%のソルビトール	150	0.02%のPS80
3	液体	酢酸ナトリウム	5.5	150mMのNaCl	150	0.02%のPS80
4	液体	酢酸ナトリウム	5.5	70mMのアルギニン、HCl 2%のスクロース、60mM のグリシン	150	0.02%のPS80
5	液体	ヒスチジンHCl	6	70mMのアルギニン、HCl 2%のスクロース、60mM のグリシン	150	0.02%のPS80
6	液体	ヒスチジンHCl	6	150mMのNaCl	150	0.02%のPS80
7	凍結乾燥	コハク酸ナトリウム	5	10%のトレハロース	150	0.02%のPS80
8	凍結乾燥	コハク酸ナトリウム	5	5%のトレハロース 2.0%のグリシン	150	0.02%のPS80
9	凍結乾燥	ヒスチジンHCl	6	10%のトレハロース	150	0.02%のPS80
10	凍結乾燥	ヒスチジンHCl	6	5%のトレハロース、2%の グリシン	150	0.02%のPS80
11	凍結乾燥	ヒスチジンHCl	7	10%のトレハロース	150	0.02%のPS80
12	凍結乾燥	ヒスチジンHCl	7	5%のトレハロース、2%の グリシン	150	0.02%のPS80

20

30

* Form. = 製剤、API = 活性医薬品成分、CFI-HSA、Lyophil = 凍結乾燥

【0126】

凍結乾燥製剤の調製

各製剤について、CFI-HSADS溶液を透析カセット(Slide-A-Lyzer(登録商標)Dialysis Cassette, 10,000 MWCO)に充填した。製剤をそれぞれの製剤緩衝液中に透析した。

40

【0127】

製剤を、無菌BSC中で0.2µm PES膜を通して滅菌濾過し、2cc滅菌ガラスバイアルに0.2mLまで充填した。次いで、バイアルを凍結乾燥ペント栓で部分的に栓をし、表2に概説したパラメータを使用して凍結乾燥した。凍結乾燥後、チャンバを窒素で充填し戻し、バイアルに栓をした。次いで、バイアルを取り出し、栓をし、圧着し、ラベルを貼った。追加のバイアルを取っておき、時間ゼロと並行して凍結乾燥前分析のために凍結乾燥前に凍結した。

【0128】

液体製剤調製物

各製剤について、CFI-HSADS溶液を透析カセット(Slide-A-Lyzer

50

r (登録商標) Dialysis Cassette、10,000 MWCO) に充填した。製剤をそれぞれの製剤緩衝液中に透析した。製剤を、無菌 BSC 中で 0.2 μm PES 膜を通して滅菌濾過し、2 cc 滅菌ガラスバイアルに 0.2 mL まで充填した。次いで、バイアルに栓をし、圧着し、ラベルを貼った。

【0129】

分析方法

以下の分析方法を用いた。

(1) 目視検査：白色光源 (13W 蛍光管) 下で黒又は白の背景に対して目視検査を行った。全ての製剤のデジタル写真を各時点で取得した。

(2) 濃度測定：CFI-HSA の濃度を、 $1.041 \text{ mg/mL}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ の E.C. を使用して SolovPE を介して A280 によって分析した。 10

(3) SE-HPLC：サイズ排除 HPLC クロマトグラフィを、以下のパラメータで実行した。

【0130】

【表6】

・HPLC:	Agilent1260システム	
・カラム:	Agilent AdvanceBio SEC 300Å、4.6×300 mm、2.7 μm、LCカラムP/N:PL1580-5301	
・移動相:	150mMのリン酸ナトリウム、pH6.9±0.1	
・希釈剤:	DI水	
・試料濃度:	0.5mg/mL	20
・流速:	0.35mL/分	
・実行時間:	15分	
・自動試料採取器温度:	5°C	
・カラム温度:	30°C	
・吸光度検出:	280nm、215nm	
・注入体積:	20 μL	
・注入負荷:	15分	

(4) FlowCAM：FlowCAM 粒子画像化システムは、粒子の自動分析のために、光学、電子機器、及び流体力学を組み合わせる。光学システムは、粒子がフローセルを通過する際に、流体中の粒子のリアルタイム画像を捕捉するために使用される。画像化ソフトウェアは、粒径及び形態を評価する能力を提供する。全ての試料を分析し、分析前に 75 torr で 30 分間脱気した。 30

(5) 準周囲温度 DSC：インタークーラー II を備えた Pyris Diamond DSC を使用して、約 10 μL の各試料を -60 で凍結させた。10 . 分のランプ速度で、試料を解凍するまで加温し、加温プロセス中の熱流を記録した。

(6) フーリエ変換赤外分光法 (Fourier Transform Infrared Spectroscopy、FTIR)：FTIR は、気体、液体、又は固体の吸収の赤外スペクトルを得るために使用される技法である。IBI は、試料材料対波数 [cm^{-1}] による赤外放射の吸収を収集する FTIR-660 Plus 分光計を使用する。このデータから、ポリペプチドの二次構造に関する情報が得られる。 40

【0131】

界面活性剤スクリーニング

CFI-HSA 原薬を水で 15 mg/mL に希釈した。次いで、溶液を 0.2 μm シリジフィルタを通して滅菌濾過し、1.0 mL の充填体積で 3 cc バイアルに充填した。次いで、4 つのバイアルは、各々 1% の PS20、1% の PS80、又は 10% の F-68 のいずれかのストック溶液を直接スパイクして、0.015% の PS20、0.015% の PS80、又は 0.15% の F-68 の最終濃度に到達させた。充填されたバイアルのうち 4 つを、界面活性剤を含まない対照として使用した。条件ごとに合計 4 つのバイアルを調製した。条件ごとのバイアルを震盪器上に置き、周囲温度で 4 時間 1000 rpm で攪拌した。条件ごとに 1 バイアルを同時に周囲温度で 4 時間インキュベートした。

【0132】

【表 7】

表 2. 3 : 界面活性剤スクリーンマトリックス

界面活性剤	CFI-HSA (mg/mL)
なし(界面活性剤なし)	15.3
0.015%のPS20	
0.015%のPS80	
0.15%のF-68	

【0133】

界面活性剤あり及びなしのCFI-HSAの安定性を、4時間の攪拌(オービタル震盪器で1000RPM、室温)、及び室温で4時間静的状態)後に研究した。 10

【0134】

攪拌及び静的状態の後、全ての試料は、界面活性剤にかかわらず、透明、無色で、目に見える微粒子を含んでいないように見受けられた。

【0135】

4時間の攪拌又は静的インキュベーション後、同様のクロマトグラフィプロファイルが、PS80、PS20、及びF68の有無にかかわらず全ての試料について観察された。全ての試料はまた、同様の純度及び総ピーク面積を示した(表2.4)。

【0136】

【表 8】

表 2. 4 : 界面活性剤スクリーニングSE-HPLCの結果

試料	静的試料		攪拌試料1		攪拌試料2	
	総面積パーセント(%)		総面積パーセント(%)		総面積パーセント(%)	
	HMW1	メインピーク	HMW1	メインピーク	HMW1	メインピーク
界面活性剤なし	0.2	99.8	0.6	99.4	0.5	99.5
ポリソルベート80	0.2	99.8	0.5	99.5	0.5	99.5
ポリソルベート20	0.2	99.8	0.6	99.4	0.4	99.6
ポロキサマーF68	0.2	99.8	0.3	99.7	0.2	99.8

【0137】

FlowCam分析を表2.5に示す。界面活性剤を含まない試料は、粒子数の顕著な増加を示す。しかしながら、全ての界面活性剤含有試料は、界面活性剤にかかわらず、比較的低い粒子濃度を示した。 30

【0138】

【表 9】

表 2. 5 : 界面活性剤スクリーニング F I o w C a m の結果

粒子 / mL	界面活性剤															
	界面活性剤なし			PS80(0.02%)			PS20(0.01%)			プルロニックF68(0.1%)						
	静的	攪拌		静的	攪拌		静的	攪拌		静的	攪拌					
	1	2	3		1	2	3		1	2	3		1	2	3	
>2μm	498	5111	6896	1516	648	409	1904	818	259	1504	3442	1335	80	2143	988	2232
>5μm	90	1365	2173	608	279	109	509	120	110	578	978	309	30	668	265	578
>10μm	50	259	239	150	10	35	70	20	20	90	190	70	10	90	49	60
>25μm	0	10	0	0	0	7	0	0	0	10	50	0	0	20	25	0

10

20

30

40

【 0 1 3 9 】

これらの結果に基づいて、0.02%のポリソルベート80が、製剤最適化研究の次のラウンドのための1つの最適な選択であることが決定された。

【 0 1 4 0 】

製剤の最適化

加速安定性研究の目的は、150mg/mLのCFI-HSAを含有する液体製剤及び凍結乾燥製剤の両方の安定性を評価することであった。全ての製剤を0.2mLの充填体積で充填し、F7~F12を凍結乾燥した。凍結乾燥前の試料を、凍結乾燥サイクルの間-70で凍結し、分析のために時間ゼロで解凍した。

50

【 0 1 4 1 】

この研究は、冷蔵保存温度（ 5 ） 、ストレス保存温度（ 2 5 ） 、及び加速保存温度（ 4 0 ）での全ての製剤候補のインキュベーションを含んだ。研究の温度保存部分は、4週間にわたって実施された。表 2 . 6 は、製剤安定性評価のために使用された保存条件を要約する。

【 0 1 4 2 】

【表 1 0】

表 2 . 6 : 安定性研究ストレス条件の概要

ストレス	条件	時点
温度(液体)	5°C;25°C;40°C	0、1、2、4週間
温度(凍結乾燥)	5°C;25°C;40°C	
攪拌	ボルテックス	1000RPMで4時間

10

【 0 1 4 3 】

時間ゼロで、バイアルを表 2 . 6 に従って適切な温度に置いた。各時点でバイアルを抜き取り、分析した。

【 0 1 4 4 】

時間ゼロで、全ての凍結乾燥前製剤は、透明、無色で、目に見える微粒子を含んでいないように見受けられた。凍結乾燥製剤は、良好なケーキを示した。全ての液体及び再構成された凍結乾燥製剤は、透明でわずかに黄色がかった色合いで、目に見える微粒子を含んでいないように見受けられた。最大4週間の時点の研究を通して、保存温度にかかわらず、凍結乾燥ケーキにおいて顕著な変化は観察されなかった。同様に、ほとんどの液体及び再構成された凍結乾燥製剤は、全ての温度で目に見える微粒子を有さず、透明で黄色に見受けられた。

20

【 0 1 4 5 】

時間ゼロで、全ての製剤は、130mg/mL ~ 160mg/mLの範囲の目標に近い濃度を示した。最大4週間の時点の研究を通して、5 、 2 5 、及び40 でのほとんどの製剤は、実験的変動内の濃度を示した。表 2 . 7 は、安定性濃度の結果を示す。

【 0 1 4 6 】

30

40

50

【表 1 1】

表 2. 7 : 安定性濃度の結果

製剤番号	濃度 (mg/mL)											
	T=0	T=1週間		T=2週間		T=4週間						
		25°C	40°C	5°C	25°C	40°C	5°C	25°C	40°C			
1	150.49	148.81	144.89	145.86	147.50	148.1	143.0	142.8				
2	144.67	156.21	153.71	151.85	154.11	155.5	155.4	158.8				
3	143.57	149.07	117.26	116.40	109.87	117.7	118.0	110.3				
4	141.64	147.39	136.98	136.45	130.40	138.3	139.5	133.0				
5	147.23	151.12	130.47	133.93	125.85	130.3	132.3	118.1				
6	128.91	135.09	118.92	120.16	107.19	119.3	119.4	94.7				
7	156.46	180.31	170.60	174.47	174.83	168.9	174.2	185.4				
8	158.47	160.32	142.27	151.29	152.59	153.6	153.1	151.9				
9	178.19	170.42	171.15	155.01	171.56	151.3	174.2	169.4				
10	143.10	141.45	147.61	146.88	147.56	145.5	146.9	149.4				
11	147.09	154.29	146.20	143.73	143.09	146.8	143.6	151.6				
12	128.43	127.70	128.12	127.46	127.72	127.6	127.9	128.5				
13	137.87	該当なし	該当なし	該当なし	199.96	該当なし	148.8	143.9				

10

20

30

40

【0147】

CFI-HSAのFTIRスペクトルは、 $1650 \sim 1660 \text{ cm}^{-1}$ に強いヘリックスシグナルを有するアルブミンから報告されたものと類似しているように見受けられた。CFI-HSAを候補製剤中で凍結乾燥した場合、FTIRスペクトルの大きい変化は観察されなかった。

【0148】

時間ゼロで、再構成された凍結乾燥製剤を含む全ての製剤は、マイナーなHMW (high molecular weight、高分子量) 及びLMW (low molecular weight、低分子量) ピークを有する同等のクロマトグラフィプロファイルを示した。(SE-HPLCの結

50

果)

【0149】

25 ~ 40 での1週間の保存後、全ての液体製剤は、HMWS及びLMWの増加を示した。LMWの増加は、より低いpHではるかに速かった。しかしながら、全ての凍結乾燥製剤は、特にLMWの増加の徴候がなく、はるかに安定なままであった。(SE-HPLCの結果)

【0150】

5、25、及び40 での2週間の保存後、全ての液体製剤は、HMWS及びLMWの増加を示した。LMWの増加は、より低いpHではるかに速かった。しかしながら、全ての凍結乾燥製剤は、特にLMWの増加の徴候がなく、はるかに安定なままであった。(SE-HPLCの結果)

10

【0151】

一般的な分解プロセスは、5、25、及び40 で4週間の時点で一貫したままであった：全ての液体製剤は、HMWS及びLMWの増加を示した。LMWの増加は、より低いpHではるかに速かった。しかしながら、全ての凍結乾燥製剤は、特にLMWの増加の徴候がなく、より安定なままであった。(SE-HPLCの結果)

【0152】

40 で4週間の時間にわたって保存した各試験された製剤の分解速度を比較した。試験された全ての製剤の中で、本研究において、トレハロース及びグリシンの両方を増量剤として含有する凍結乾燥製剤は、pH6 ~ 7の範囲で最も良好に実施した。

20

【0153】

所見

本実施例では、様々な製剤条件における150mg/mLのCFI-HSAの安定性を調査した。調査された条件には、様々な緩衝液(20mMの酢酸ナトリウム、コハク酸ナトリウム、又はヒスチジン・HCl)、張度改変剤(塩化ナトリウム、ソルビトール、又はトレハロース)、増量剤(トレハロース又はグリシン)を含有し、5.0 ~ 7.0の範囲のpH値にわたる液体及び凍結乾燥製剤が含まれた。製剤を、冷蔵温度(5)、周囲温度(25)、及び加速温度(40)での静的保存条件下で最大4週間調査した。研究の過程にわたって、目視検査、濃度、SE-HPLC、及びFlowCAMによる分析を実施した。加えて、凍結乾燥製剤もまたDSC及びFTIRによって分析した。

30

【0154】

最初に、一般的に使用される界面活性剤安定剤を使用して小さい界面活性剤スクリーニングを実施した。この研究は、攪拌誘導性剪断応力への曝露後の分解に対するCFI-HSAの安定化における界面活性剤の利益を評価した。15mg/mLのCFI-HSA原薬を、界面活性剤0.015%のPS20、0.015%のPS80、及び0.15%のF68でスパイクした。SE-HPLCによる攪拌ストレス後の界面活性剤含有バイアルの比較は、攪拌にかかわらず全ての試料について同等のプロファイルを示した。しかしながら、MFI分析は、界面活性剤を含まない試料が、界面活性剤を含有するものと比較して実質的に増加した肉眼では見えない微粒子濃度を示すことを実証した。これは、CFI-HSAが剪断応力に対して感受性であり、更なる研究において界面活性剤の添加により安定性の改善が達成され得るという証拠を提供した。原薬中の現在の界面活性剤、0.02%のPS80を、加速安定性研究のために選択した。

40

【0155】

12個の候補製剤の調製後、全ての試料は、時間ゼロで透明で、目に見える微粒子を含まないように見受けられた。

【0156】

全研究を通して、保存温度にかかわらず、凍結乾燥ケーキにおいて視覚的外観の顕著な変化は観察されなかった。同様に、ほとんどの液体及び再構成された凍結乾燥製剤は、全ての温度で、特徴的な黄色の色合いで透明に見受けられた。4週間後、ほとんどの製剤は、全ての保存条件でほぼ目標濃度であった。

50

【0157】

FTIRの結果は、凍結乾燥前の試料と凍結乾燥試料との間でスペクトルプロファイルに顕著な差がないことを見出した。

【0158】

FlowCAM分析から、全ての試料について比較的低い差し引かれた肉眼では見ることができない粒子濃度が見られ、沈殿又は粒子が適切に製剤化されたCFI-HSAにとって重要な因子ではないことを示唆した。

【0159】

加速研究は、極圧の条件下であり、予測的ではない場合がある。それにもかかわらず、全ての温度で4週間後のSE-HPLCによる分析は、液体製剤、特にF1、F2、F3、及びF4のような低pH製剤において顕著に高いLMWを見出した。pH6でさえも、F5及びF6は、5で4週間の保存中にLMWの約1%の増加が見られた。CFI-HSAの自己分解を阻害するのに有効な添加剤は、含めるのに有用であり得る。CFI-HSAが凍結乾燥されたときに自己分解は停止される。凍結乾燥製剤を40で4週間保存した場合、LMWの顕著な増加は見られなかった。試験した中で、非イオン性トレハロースと比較してイオン性増量剤であるグリシンを増量剤として含有する製剤F8、F10、及びF12は、凝集に対して安定性の改善を示した。加えて、凝集は、pHが5~7に増加するにつれて遅くなった。

【0160】

重要な分解産物及び安定性を示すアッセイは、SE-HPLCによるHMW及びLMWの増加として特定された。この研究において生成された全ての結果に基づいて、150mg/mLのCFI-HSAについての1つの主要な製剤は、pH6.0~7.0で、20mMのヒスチジン、5.0%のトレハロース、2.0%のグリシン、及び0.02%のポリソルベート80の凍結乾燥条件であり得る。

【0161】

実施例3：製剤開発研究II

本明細書に記載の活性成分のための更なる製剤は、independent研究において開発された。皮下投与を可能にするために、CFI含有組成物の高濃度及び安定性を達成することが望ましい。

【0162】

実施例3の場合、CFI-HSAへの言及は、野生型CFIのN末端に融合されたヒト血清アルブミン(配列番号21)を指す。CFI-HSAを30~189mg/mLの濃度で製剤化した。

【0163】

生物物理学的特徴付け及びpH安定性プロファイル

5mg/mLのCFI-HSAのストック溶液を、135mMの塩化ナトリウムを含有するpH5、5.5、6、6.5、7、又は7.5のシトレートホスファート緩衝液に対して透析した。任意の潜在的な沈殿を評価するための視覚的外観に続いて、試料を0.2ミクロン濾過し、対応する緩衝液中で2mg/mLに調整し、マイクロチューブに無菌的に移した。試料のセットを、-70、25、又は40のいずれかで保存した。7日後、セットを、外観(乳光(opalescence)及び粒子)、タンパク質濃度(OD280)、SEC、DSF、DLS、icIEF、CE-SDS、及びS2288発色活性アッセイによって分析した。

【0164】

25又は40のいずれかでの7日間の保存後、試験された両方の温度及び全てのpHレベルで、全ての試料が視覚的に透明であり、視覚的に検出可能な粒子がないことが見出された。タンパク質濃度は、全ての試料において安定していた(表3.1)。

【0165】

【表 1 2】

表 3. 1 : 25℃及び40℃での1週間保存後のCFI-HSA濃度

試料コード	pH	温度	5~2mg/mlに調整された透析直後の濃度(mg/mL)	1週間での透析後濃度(mg/mL)
試料A	5.0	25℃	2.0	1.95
試料A	5.0	40℃	2.0	1.94
試料B	5.5	25℃	2.0	2.0
試料B	5.5	40℃	2.0	2.02
試料C	6.0	25℃	2.0	1.99
試料C	6.0	40℃	2.0	2.02
試料D	6.5	25℃	2.0	1.98
試料D	6.5	40℃	2.0	1.99
試料E	7.0	25℃	2.0	1.97
試料E	7.0	40℃	2.0	1.99
試料F	7.5	25℃	2.0	2.02
試料F	7.5	40℃	2.0	2.04

10

【0166】

SEC-HPLCを使用して、保存条件下での凝集を評価した。25℃での保存において、メインピーク純度は、pHが7.5~5.0に減少するにつれて安定した増加を示した。対照的に、pH5.0及び4.0の保存条件では、メインピーク純度は急激に減少し、低分子量種はスパイクを有し、潜在的なタンパク質分解が起こったことを示した。要約すると、これらの条件下では、pH5.5~6.0がCFI-HSA安定性に最適な範囲であるように見受けられた。

20

【0167】

保存条件下での凝集を更に評価するために、粒子の集合収集物の流体力学的サイズを動的光散乱(dynamic light scattering、DLS)によって測定した。結果は、強度加重平均(Z-average)及び多分散性の両方がpH5で急激に増加したが、pH6~7.5では同等であったことを示した。一方、主要な種(>99.8%)のサイズは、pHの増加とともにわずかに増加した。まとめると、DLSによって測定された多分散性及び粒径データは、pH約6の最適保存を示し、SEC-HPLC結果を裏付けた。

30

【0168】

予備製剤を使用して純度変化を評価するためにCE-SDSを実施した。結果は、還元及び非還元CE-SDSの両方によって、pH5及び7.5での純度のわずかな減少並びにpH5.5~6.5での同等の純度を示した。同様に、5.5~7.0の最適pHレベルが、示差走査蛍光測定法(differential scanning fluorimetry、DSF)によって示唆されたが、pH5が、画像化キャピラリー等電点電気泳動(imaged capillary isoelectric focusing、icIEF)によって最も安定性が低いことが見出された。

【0169】

高濃度液体製剤

高濃度製剤の実現可能性を評価した。精製CFI-HSAを20mMのヒスチジン、150mMのArgHCl、pH5.8に対して透析し、スピンフィルタユニット中で189mg/mLに濃縮した。高濃度のアルギニンを使用して、溶解度を増加させ、濃縮CFI-HSAによって引き起こされる過剰な粘度を防止した。粘度に対するタンパク質濃度及びアルギニン濃度の影響を評価するために、189mg/mLの濃縮試料も20mMのHis、pH5.8で、169mg/mLに希釈して、135mMのArgHClに到達させた。表3.2に提示されたデータは、189mg/mLのCFI-HSAでさえ粘度がわずか10.6センチポアズ(centipoise、CP)であることを示し、試験された製剤を使用して過剰粘度のリスクが最小限であることを示した。

40

【0170】

50

【表 1 3】

表 3. 2 : 高濃度 C F I - H S A の粘度

CFI-HSA	緩衝液	粘度
189mg/mL	20mMのHis、150mMのArg. HCl、pH5.8	10.6CP
169mg/mL	20mMのHis、135mMのArg. HCl、pH5.8	8.1CP

【0 1 7 1】

濃縮試料を 0.2 ミクロン濾過し、SEC を使用して凝集について試験した。5 mg / mL に希釈され、5 の自動試料採取器中で保存された 150 mM のアルギニン中の 188.7 mg / mL の試料において、凝集体レベルの変化 (1.5%) は観察されなかった。5 mg / mL に希釈され、5 の自動試料採取器中で 1 週間保存された 169.7 mg / mL の試料は、1.72% の凝集体しか示さなかった。5 で 1 週間後、次いで 5 mg / mL に希釈された 169.7 mg / mL の試料は、2.5% の HMW 種を示した。

10

【0 1 7 2】

169.7 mg / mL に濃縮された C F I - H S A 試料の生物活性を、S 2 2 8 8 発色アッセイを使用して評価した。図 2 0 に示すように、169.7 mg / mL 試料の活性は、対照 (C t l) 試料の活性と同等である。曲線の傾きのわずかな差は、粘性溶液の顕著な希釈後のアッセイにおける最終濃度の不正確さ、又は 5 での約 1 か月の保存後の生物活性のいくらかの損失のいずれかに起因し得る。

20

【0 1 7 3】

まとめると、これらの結果は、アルギニン塩酸塩及びヒスチジン緩衝液を含有する液体製剤が、高濃度 (例えば、150 mg / mL 超) で C F I - H S A を安定化させることができることを示唆している。

20

【0 1 7 4】

製剤スクリーニング

製剤のパネル (F 1 ~ F 7) をスクリーニングして、C F I - H S A の安定性に対するイオン強度、緩衝液タイプ、凍結保護剤及び塩化カルシウム (C a C l 2) の効果を決定した。製剤は、薬学的に許容される賦形剤を含み、ある範囲の濃度の張度改変剤 (本明細書において互換的に等張化剤とも称される)、凍結保護剤、凍結乾燥保護剤、安定剤、及び界面活性剤を、先に試験されたヒスチジン及びアルギニン緩衝液に添加した。表 3. 3 は、この実施例で試験された製剤 F 1 ~ F 7 を示し、実施例 2 の F 1 ~ F 1 2 と混同すべきではない。

30

【0 1 7 5】

【表 1 4】

表 3. 3 : C F I - H S A について試験された製剤

製剤	pH	ヒスチジン緩衝液 (mM)	等張化剤アルギニン塩酸塩 (mM)	凍結保護剤 / 凍結乾燥保護剤	安定剤	界面活性剤 (PS20)	オスモル濃度
F1	5.8	20	135	—	—	0.02%	279
F2	5.8	20	70	4%のグルコース	—	0.02%	279
F3	5.8	20	—	8.5%のスクロース	—	0.02%	285
F4	5.8	20	70	120mMのグリシン	—	0.02%	282
F5	5.8	20	70	2.5%のソルビトール	—	0.02%	299
F6	5.8	20	70	4%のトレハロース	—	0.02%	279
F7	5.8	20	—	5%のスクロース	35mMのCaCl ₂	0.02%	279

40

【0 1 7 6】

ストック C F I - H S A 試料を約 40 mg / mL に濃縮し、次いで、表 3. 3 に列挙した 7 つの製剤に対して透析した。濃縮試料を 0.2 ミクロン濾過し、ガラスバイアルに無菌的に充填し、蓋をした。1 バイアルの各組成物を 3 サイクルの凍結及び解凍に供し、外観、OD 280、及び SEC によって評価した。短期熱安定性研究のために、4 バイアル

50

の各組成物を、 -70°C 、 5°C 、 25°C 、及び 40°C で各1つ、5週間の安定性研究に含めた。5週間安定性試料を、OD280、SEC、及びCE-SDSによって分析した。加えて、脱アミド化及び酸化を評価するために、ペプチドマップMS/MS及び生物活性分析を、選択された試料について行った。

【0177】

5週間後、目視検査は、沈殿の徴候を有する試料を 40°C で保存した場合のF3を除いて、全ての製剤がコロイド的に安定であることを示した。OD280でのタンパク質濃度測定は、CFI-HSA濃度が、全ての試験された温度で1週間又は5週間保存の3回の凍結/解凍サイクル後に変化しないままであることを示した。

【0178】

SEC及びCD-SDSによる純度の評価は、7つ全ての製剤について、 -70°C の試料は、純度が変化せず、 5°C の試料は、約97%の純度を有し、 25°C の試料は、約96%の純度を有し、 40°C の試料は全て、主要な種の90~92%の純度であることを示した。7つ全ての製剤における5週間の保存にわたる 40°C での純度の顕著な減少及び 25°C での純度のわずかな減少は、室温での液体高濃度製剤が実現可能でないことを示す。

【0179】

生物活性アッセイを実施して、CFI-HSAが、試験された製剤及び保存条件での保存後に活性を維持したことを検証した(表3.4)。製剤は、全体として比較的同等である。製剤F1は、 40°C で他の6つの製剤よりもわずかに安定である。 25°C 及び 40°C の両方で、製剤F3が、最も安定性が低く、 -70°C 対照と比較して20~30%低い活性を示し、F2、F4、又はF1試料よりも活性の損失が大きかった。

【0180】

【表15】

表3.4: 試験された保存条件後のCFI-HSAの生物活性

	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7
5°C	113%	94%	92%	99%	107%	112%	107%
25°C	116%	83%	72%	89%	85%	90%	—
40°C	62%	35%	26%	32%	35%	38%	—

【0181】

CFI-HSA製剤についてペプチドマッピングMS/MSを実施して、試験された保存条件後の脱アミド化及び酸化のレベルを決定した。 5°C での5週間の保存後の製剤F1、F2、F4、F5、及びF6の試料を試験した。凍結されたF4(F/T)を対照として実行した。結果は、全ての部位における脱アミド化及び酸化レベルが、異なる製剤間で同等であることを示した。

【0182】

臨床評価及び薬物製造のために開発された追加の試験及び製剤は、表3.5の製剤を含む。CFI-HSAを表3.5の3つの新しい製剤に緩衝液交換し、 100mg/mL 又は 150mg/mL に濃縮したが、任意の沈殿、重度の乳光、又は高粘度を観察した。製剤を凍結乾燥製品により好適なものにするために、それぞれ 60mM のグリシン又は 60mM のマニトールをF2及びF3に添加して、凍結乾燥ケーキの構造を保護した。次いで、試料を、濾過滅菌し、充填し、粘度、SEC、及び活性について試験した。

【0183】

10

20

30

40

50

【表 16】

表 3. 5 : 臨床製造及び試験のための製剤

	タンパク質濃度 (mg/mL)	pH	緩衝液	等張化剤/凍結/凍結乾燥保護剤			PS-80
F1	100	5.8	20mM のヒス チジン	135mMのArg HCL			0.02%
F2				70mMのArg HCL	2%のスクロース	60mMのグリシン	0.02%
F3				70mMのArg HCL	2%のスクロース	60mMのマンニトール	0.02%
F1	150			135mMのArg HCL			0.02%
F2				70mMのArg HCL	2%のスクロース	60mMのグリシン	0.02%
F3				70mMのArg HCL	2%のスクロース	60mMのマンニトール	0.02%

10

【配列表】

[2025503483000001.xml](#)

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2022/082179
--

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV.	A61K47/02	A61K47/10
	A61K47/18	A61K47/26
	A61P27/02	A61K9/00
	A61K38/00	A61K9/19
ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2021/081348 A1 (GEMINI THERAPEUTICS INC [US]) 29 April 2021 (2021-04-29) claims 1-49 page 60 - page 61 -----	1, 2, 8, 12, 18, 19, 43-49, 52, 64-69
A	WO 2020/128535 A1 (GYROSCOPE THERAPEUTICS LTD [GB]) 25 June 2020 (2020-06-25) claims 1-40 page 61 -----	1-69
X,P	WO 2021/257480 A2 (CATALYST BIOSCIENCES INC [US]; LE MOAN NATACHA [US]) 23 December 2021 (2021-12-23) claims 1-31 examples 6,7 -----	55-61
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 22 April 2023	Date of mailing of the international search report 03/05/2023	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Schifferer, Hermann	

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2022/082179

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. forming part of the international application as filed.
 - b. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).
 accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.28 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2022/082179

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2021081348 A1	29-04-2021	EP 4048401 A1	31-08-2022
		US 2022347265 A1	03-11-2022
		WO 2021081348 A1	29-04-2021

WO 2020128535 A1	25-06-2020	AU 2019411569 A1	17-06-2021
		CA 3123753 A1	25-06-2020
		CN 113286878 A	20-08-2021
		EP 3898961 A1	27-10-2021
		IL 284229 A	31-08-2021
		JP 2022514689 A	14-02-2022
		KR 20210105921 A	27-08-2021
		SG 11202106039V A	29-07-2021
		US 2022072157 A1	10-03-2022
		WO 2020128535 A1	25-06-2020

WO 2021257480 A2	23-12-2021	AU 2021293174 A1	19-01-2023
		CA 3182800 A1	23-12-2021
		EP 4165181 A2	19-04-2023
		TW 202212350 A	01-04-2022
		US 2023038638 A1	09-02-2023
WO 2021257480 A2	23-12-2021		

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 9/19 (2006.01)	A 6 1 K 9/19	
A 6 1 K 9/08 (2006.01)	A 6 1 K 9/08	
A 6 1 K 47/64 (2017.01)	A 6 1 K 47/64	
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 31/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/00	
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 17/00 (2006.01)	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
C 0 7 K 14/47 (2006.01)	C 0 7 K 14/47	
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 0 7 K 19/00	
C 0 7 K 14/765 (2006.01)	C 0 7 K 14/765	
C 1 2 N 15/12 (2006.01)	C 1 2 N 15/12	
C 1 2 N 15/14 (2006.01)	C 1 2 N 15/14	
C 1 2 N 15/62 (2006.01)	C 1 2 N 15/62	Z

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . T W E E N

2 . B R I J

9

(72)発明者 コノリー , ブライアン デイビッド

アメリカ合衆国 9 4 7 0 5 カリフォルニア州パークリー、ウエストムアランド・ドライブ 7 1 0 0

(72)発明者 バラン , シブ

アメリカ合衆国 9 4 0 6 5 カリフォルニア州レッドウッド・シティ、ビーコン・ショアーズ・ドライブ 3 1 0

(72)発明者 チャタルジ , アンジュ

アメリカ合衆国 9 4 5 5 3 カリフォルニア州マーティネズ、ダネゴル・ウェイ 2 2

F ターム (参考)

4C076 AA12 AA29 AA94 BB13 BB16 CC10 CC41 DD09F DD23D DD38D

DD38Q DD41D DD41Z DD42Z DD51 DD51Q DD51Z DD67 DD67D DD67Q EE23F

EE41 EE49F EE59 FF31 FF36 FF61 FF63 GG06

4C084 AA02 AA03 DC02 DC22 MA17 MA44 MA65 MA66 NA03 NA05

NA12

4H045 AA10 AA30 BA10 BA41 CA40 DA70 EA20 FA74 GA15 GA21

GA45