(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0166103
(43) 공개일자 2023년12월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 47/02 (2006.01) *A61K 47/18* (2017.01)
A61K 47/22 (2017.01) *A61K 47/26* (2017.01)
A61K 9/08 (2006.01) *A61P 17/00* (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01) *C07K 16/42* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 39/39591 (2013.01)
A61K 47/02 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7036831
(22) 출원일자(국제) 2022년04월01일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년10월25일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2022/084711
(87) 국제공개번호 WO 2022/206938
국제공개일자 2022년10월06일
(30) 우선권주장
63/170,042 2021년04월02일 미국(US)

(71) 출원인
원니스 바이오테크 컴퍼니 리미티드
대만 타이페이 시티 106, 다안 디스트릭트, 신이 로드, 섹션 4, 넘버 236, 11층
(72) 발명자
첸, 니엔-이
대만 106 타이페이 시티 다안 디스트릭트 신이 로드 섹션 4 넘버 236 11층
카오, 웨이-팅
대만 106 타이페이 시티 다안 디스트릭트 신이 로드 섹션 4 넘버 236 11층
(74) 대리인
박영우

전체 청구항 수 : 총 22 항

(54) 발명의 명칭 **고농도 항체 제형**

(57) 요 약

고농도 항체 제형은 약 120-200mg/ml의 농도의 항체, 약 5-15mM의 농도의 히스티딘 버퍼, 약 1-1.5%(w/v) 의 농도의 아미노산, 약 50-100mM의 농도의 염화나트륨과 같은 등장성 조절제; 및 약 0.005-0.02%의 농도의 폴리소르베이트 80 (w/v)와 같은 비-이온성 계면활성제를 포함한다. 일부 경우에, 고농도 항체 제형의 pH는 약 5.5 내지 6.5일 수 있다.

(52) CPC특허분류
A61K 47/183 (2013.01)
A61K 47/22 (2013.01)
A61K 47/26 (2013.01)
A61K 9/08 (2013.01)
A61P 17/00 (2018.01)
A61P 37/00 (2018.01)
C07K 16/4291 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
A61K 2039/545 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

항체 제형으로서,

(a) 약 120-200mg/ml의 농도의 멤브레인-결합 IgE의 CεmX 도메인에 결합하는 항체,

(b) 약 5-15mM의 농도의 히스티딘,

(c) 약 1-3.0%(w/v)의 농도의, 아르기닌 또는 트레오닌인 아미노산;

(d) 약 50-100mM의 농도의 염화나트륨; 및

(e) 약 0.005-0.02%의 농도의 폴리소르베이트 80을 포함하고;

상기 항체 제형의 pH는 약 5.5 내지 6.5인 것을 특징으로 하는 항체 제형.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 제형은 약 150mg/ml의 항체, 약 10mM의 히스티딘, 약 1.25%의 아미노산, 약 75mM의 염화나트륨, 및 약 0.01%의 폴리소르베이트 80을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 제형.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 아미노산은 아르기닌이고, 상기 항체 제형의 pH는 약 6.0 내지 6.5인 것을 특징으로 하는 항체 제형.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 아미노산은 트레오닌이고, 상기 항체 제형의 pH는 약 6.0인 것을 특징으로 하는 항체 제형.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 제형은 본질적으로 (a)-(e)로 구성되는 것을 특징으로 하는 항체 제형.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 제형에는 당계 또는 당-알코올계 안정제가 없는 것을 특징으로 하는 항체 제형.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 당계 또는 당-알코올계 안정제는 수크로스, 소르비톨, 또는 트레할로스인 것을 특징으로 하는 항체 제형.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 멤브레인-결합 IgE의 CεmX 도메인에 결합하는 항체는 항체 FB825와 동일한 중쇄 상보성 결정 영역(CDR); 및/또는 항체 FB825와 동일한 경쇄 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 제형.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 항체는 인간 항체 또는 인간화 항체인 것을 특징으로 하는 항체 제형.

청구항 10

제8항 또는 제9항에 있어서, 상기 항체는 전장 항체인 것을 특징으로 하는 항체 제형.

청구항 11

제8항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 서열번호:2, 서열번호:8, 또는 서열번호:9의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(VH), 및 서열번호:3 또는 서열번호:10의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 제형.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 항체는 서열번호:9의 VH 및 서열번호:10의 VL을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 제형.

청구항 13

제8항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 IgG1 분자인 것을 특징으로 하는 항체 제형.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 항체는 서열번호:4 또는 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호:5 또는 서열번호:12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 것을 특징으로 하는 항체 제형.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 제시된 항체 제형을 포함하는 사전-충전 실린지.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 사전-충전 실린지 내 항체 제형의 부피는 약 1-2ml인 것을 특징으로 하는 사전-충전 실린지.

청구항 17

면역글로불린 E(IgE)와 관련된 장애를 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 항체 제형의 유효량을 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 대상체는 상기 항체 제형의 1회 용량을 투여받는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 19

제17항에 있어서, 상기 대상체는 상기 항체 제형의 적어도 2회 용량을 투여받고, 여기서 2회 연속 용량은 적어도 3개월 간격을 두는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 20

제17항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 제형은 피하로 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 21

제17항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 알레르기성 천식, 알레르기성 비염, 아토피성 피부염 또는 IgE 과다 증후군을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 인간 환자인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 인간 환자는 아토피성 피부염을 갖고, 임의로 상기 인간 환자는 낮은 혈청 IgG4 수준을 갖는 것을 특징으로 하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2021년 4월 2일에 출원된 미국 임시 특허 출원 제63/170,042호를 우선권으로 수반하며, 이러한 문헌의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

배 경 기 술

[0003] 재조합 단백질 및 모노클로날 항체와 같은 고농도의 생물학적 분자를 갖는 제형은 통상적으로 특정 약물 전달 경로, 예를 들어 피하 주사에 필요하다. 고농도 항체 제형이 특정 항체 약물에 대해 개발되었지만, 비가역적 응집, 비가역적 침전 및/또는 고점도를 포함하는 고농축 항체 제형(예를 들어, >100mg/ml)을 생산하는 것은 여전히 도전 과제로 남아 있다.

발명의 내용

[0004] 요약

[0005] 본 개시 내용은 적어도 부분적으로, 다양한 조건하에서 우수한 안정성 뿐만 아니라 2년 저장 기간 및 우수한 주사성을 나타내는 고농도 항체 제형을 개발하는 것에 기초한다.

[0006] 따라서, 본 개시 내용의 일 측면은 (a) 약 120-200mg/ml의 농도의 멤브레인-결합 IgE의 CεmX 도메인에 결합하는 항체, (b) 약 5-15mM의 농도의 히스티딘, (c) 약 1-3.0%(w/v)의 농도의, 아르기닌 또는 트레오닌인 아미노산; (d) 약 50-100mM의 농도의 염화나트륨; 및 (e) 약 0.005-0.02%의 농도의 폴리소르베이트 80을 포함하는 항체 제형을 특징으로 한다. 이러한 항체 제형의 pH는 약 5.5 내지 6.5일 수 있다. 일부 실시 양태에서, 항체 제형은 본질적으로 (a)-(e)의 성분으로 구성된다. 선택적으로 또는 추가적으로, 항체 제형에는 당계 또는 당-알코올계 안정제가 없다. 그 예에는 수크로스, 소르비톨, 또는 트레할로스가 포함된다.

[0007] 일부 실시 양태에서, 항체 제형은 약 150mg/ml의 항체, 약 10mM의 히스티딘, 약 1.25%의 아미노산, 약 75mM의 염화나트륨, 및 약 0.01%의 폴리소르베이트 80을 포함할 수 있다. 일부 예에서, 항체 제형 내 아미노산은 아르기닌일 수 있고, 항체 제형의 pH는 약 6.0 내지 6.5일 수 있다. 다른 예에서, 항체 제형 내 아미노산은 트레오닌일 수 있고, 항체 제형의 pH는 약 6.0이다.

[0008] 본원에 개시된 임의의 항체 제형에서, 멤브레인-결합 IgE의 CεmX 도메인에 결합하는 그 안에 함유된 항체는 항체 FB825와 동일한 중쇄 상보성 결정 영역(CDR); 및/또는 항체 FB825와 동일한 경쇄 상보성 결정 영역(CDR)을 포함할 수 있다. 일부 실시 양태에서, 항체는 인간 항체 또는 인간화 항체이다. 일부 실시 양태에서, 항체는 전장 항체이다.

[0009] 일부 실시 양태에서, 항체는 서열번호:2, 서열번호:8, 또는 서열번호:9의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(VH), 및 서열번호:3 또는 서열번호:10의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함한다. 일부 예에서, 항체는 서열번호:9의 VH 및 서열번호:10의 VL을 포함한다. 일부 예에서, 항체는 IgG1 분자이다. 특정 예에서, 항체는 서열번호:4 또는 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호:5 또는 서열번호:12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0010] 다른 측면에서, 본원에 개시된 임의의 고농도 항체 제형을 포함하는 사전-충전 실린지가 본원에 제공된다. 일부 실시 양태에서, 사전-충전 실린지 내 항체 제형의 부피는 약 1-2ml이다.

[0011] 다른 측면에서, 본 개시 내용 면역글로불린 E(IgE)와 관련된 장애를 치료하는 방법을 특징으로 하며, 상기 방법은 본원에 개시된 임의의 항체 제형의 유효량을 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 대상체는 항체 제형의 1회 용량을 투여받는다. 다른 실시 양태에서, 대상체는 항체 제형의 적어도 2회 용량을 투여받는다. 일부 경우에, 2회 연속 용량은 적어도 3개월의 간격을 두고 대상체에게 투여된다. 본원에 개시된 임의의 방법에서, 항체 제형은 피하로 투여된다.

[0012] 일부 실시 양태에서, 대상체는 알레르기성 천식, 알레르기성 비염, 아토피성 피부염, 또는 과다 IgE 증후군을 갖거나 갖는 것으로 의심되는 인간 환자이다. 일부 예에서, 인간 환자는 아토피성 피부염을 갖는다.

[0013] 또한, 본원에 개시된 것과 같은 면역글로불린 E(IgE)와 관련된 장애를 치료하는데 사용하기 위한 본원에 개시된 임의의 항체 제형 및 표적 장애를 치료하는 데 사용하기 위한 약제를 제조하기 위한 항체 제형의 용도 또한 본

개시내용의 범위 내에 있다.

[0014] 본 발명의 하나 이상의 실시 양태의 세부 사항은 하기 설명에 제시된다. 본 발명의 다른 특징 또는 이점은 다음의 도면 및 여러 실시 양태의 상세한 설명 및 또한 첨부된 청구범위로부터 명백해질 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015] 알레르기 발달 위험이 높은 아토피 개체에서, 순환계의 IgE 농도는 예를 들어 정상 수준보다 적어도 10배 높은 수준으로 높아질 수 있다. 알레르겐-특이적 IgE 항체의 농도는 임상 증상과 밀접하게 관련되어 있으며, 건강한 사람보다 알레르기 질환을 갖는 환자에서 1000배 초과로 높을 수 있다. 면역글로불린 E는 발현되는 고친화도 IgE 수용체인 FcεRI를 점유함으로써 호염구, 비만 세포 및 활성화된 호산구와 같은 이펙터 세포를 감응화시킨다. I형 과민증에서, 알레르겐은 FcεRI에 의해 결합된 IgE 분자를 교차 연결한 다음 이펙터 세포의 탈과립을 유발하여 히스타민 및 류코트리엔과 같은 전염증성 매개체를 방출한다. 매개체-관련 알레르기 증상을 일으키는 IgE-매개 알레르기 경로는 국소적으로 또는 전신적으로 면역 활동을 개시한다. 호염구 및 비만 세포는 또한 광범위한 염증성 사이토카인 및 케모카인을 방출하여 임상 증상을 직접적으로 유발할 뿐만 아니라 다양한 세포 유형을 활성화 및 모집하여 염증 상태를 증가시킨다. 따라서, 항 IgE 요법은 IgE 매개 경로 및 염증 상태 모두를 악화시킬 수 있다.

[0016] IgE-관련 알레르기 장애의 치료를 위해 여러 항-IgE 항체가 개발되었다. 그러나, 비-정맥 주입 경로, 예를 들어 피하 주사를 통해 이러한 항체를 전달하기 위한 고농도 항체 제형을 개발하는 것은 여전히 도전 과제로 남아 있다.

[0017] 본 개시 내용은, 적어도 부분적으로 다양한 조건하에서 우수한 안정성 뿐만 아니라 2년 저장 기간 및 우수한 주사성을 나타내는 예시적인 항-IgE 항체(FB825)를 포함하는 고농도 항체 제형을 개발하는 것에 기초한다. 따라서, IgE-관련 알레르기 장애를 치료하기 위한 고농도 항체 제형 및 이의 용도가 본원에 제공된다.

[0018] **I. 고농도 항체 제형**

[0019] 일부 측면에서, 본원에 개시된 임의의 항-IgE 항체를 포함하는 고농도 항체 제형이 본원에 제공된다. 본원에서 사용되는 "고농도 제형"은 적어도 100mg/ml의 농도의 항체와 같은 생물학적 분자를 포함하는 제형을 지칭한다. 고농도 항체 제형은 항-IgE 항체 이외에, 적합한 완충제, 적합한 아미노산 부형제, 적합한 등장성 조절제, 및 적합한 비-이온성 계면활성제를 포함할 수 있다. 이러한 고농도 항체 제형의 pH는 약 5.5-6.5일 수 있다.

[0020] 본원에 개시된 고농도 항체 제형은 다음의 우수한 특징들 중 하나 이상을 가질 수 있다: (a) 교반(예를 들어, 실온에서 4시간), 동결/해동(예를 들어, 적어도 5회 연속 사이클), UV 광 노출과 같은 조건하에서 안정함, (b) 단기 저장(예를 들어, 40℃에서 8주, 45℃에서 2주 및/또는 55℃에서 1주) 및/또는 장기 저장(예를 들어, 다양한 온도 조건하에서 2년) 시 안정함, (c) 탁도(예를 들어, A_{650} <0.01, 예컨대 약 0.006-0.008), 오스몰 농도(예를 들어, 등장성; 약 300mOsm)), 점도 및/또는 주사성(예를 들어, 5-10초 내에 제형 1ml를 배출하는 데 2 lb_f 미만이 필요하거나, 또는 3-5 lb_f를 사용하여 제형 1ml를 전달하는 데 5초 미만이 필요함)과 같은 적합한 물리적 특징. 일부 경우에, 안정성은 하기 실시예에 제공된 일상적인 실시 및/또는 개시내용에 따라 SEC-HPLC로 분석한 주요 피크, 저분자량 피크 및/또는 고분자량 피크 및 SCX-HPLC로 분석한 주요 피크, 산성 피크, 염기성 피크의 백분율 변화로 나타낼 수 있다.

[0021] *A. 멤브레인-결합 IgE의 CεmX 도메인에 결합할 수 있는 항체*

[0022] 일부 경우에, 본원에 개시된 고농도 항체 제형 내 항-IgE 항체는 멤브레인-결합 IgE 분자의 CεmX 도메인에 결합하는 항체일 수 있다. CεmX는 CH4 도메인과 인간 멤브레인-결합 ε 사슬(mε)의 C-말단 멤브레인-고정 세그먼트 사이에 위치한 52개-아미노산 세그먼트이다. 인간 mIgE의 예시적인 CεmX 단편의 아미노산 서열은 하기에 제공된다(서열번호:6):

[0023] GLAGGSAQSQ RAPDRVLCHS GQQQGLPRAA GGSVPHPRCH CGAGRADWPG PP

[0024] 본원에 기술된 항체는 mIgE, 예를 들어, B 세포의 표면에서 발현되는 mIgE의 CεmX 도메인에 결합할 수 있다. 이러한 항체는 예를 들어 항체-의존성 세포 세포독성 및/또는 세포 아폽토시스를 통해 mIgE를 발현하는 B 세포의 세포 사멸을 유도하여 B 세포를 제거하여 유리 IgE 의 생산 감소로 이어질 수 있다. 따라서, 본원에 기술된 항-CεmX 항체는 항체로 치료받는 대상체 (예를 들어, 인간 환자)에서 총 IgE의 수준을 감소시킬 수 있다.

[0025] 항체(복수형으로 상호교환적으로 사용됨)는 면역글로불린 분자의 가변 영역에 위치한 적어도 하나의 항원 인식 부위를 통해, 탄수화물, 폴리뉴클레오타이드, 지질, 폴리펩타이드 등과 같은 표적에 특이적으로 결합할 수 있는 면역글로불린 분자이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항체"는 온전한(즉, 전장) 폴리클로날 또는 모노클로날 항체뿐만 아니라, 이의 항원-결합 단편(예컨대 Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv), 단일 사슬 (scFv), 이의 돌연변이체, 항체 부분을 포함하는 융합 단백질, 인간화 항체, 키메라 항체, 디아바디, 선형 항체, 단일 사슬 항체, 다중특이적 항체(예를 들어, 이중 특이적 항체) 및 항체의 글리코실화 변이체, 항체의 아미노산 서열 변이체 및 공유결합으로 변형된 항체를 포함하여 필요한 특이성의 항원 인식 부위를 포함하는 면역글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 구성을 포괄한다. 항체는 IgD, IgE, IgG, IgA, 또는 IgM(또는 이의 하위 부류)과 같은 임의의 부류의 항체를 포함하며, 항체는 임의의 특정 부류일 필요는 없다. 중쇄의 불변 도메인의 항체 아미노산 서열에 따라, 면역글로불린은 다른 부류로 지정될 수 있다. 면역글로불린에는 IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM의 다섯 가지 주요 부류가 있으며, 이들 중 몇몇은 하위 부류(이소형), 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2로 추가로 나뉠 수 있다. 면역글로불린의 다른 부류에 해당하는 중쇄 불변 도메인은 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤라고 한다. 상이한 부류의 면역글로불린의 서브유닛 구조 및 3차원 구성은 잘 알려져 있다.

[0026] 본원에 기술된 방법에 사용되는 항체는 뮤린, 래트, 인간 또는 임의의 다른 기원(키메라 또는 인간화 항체 포함)일 수 있다.

[0027] 본원에 기술된 임의의 항체는 모노클로날 또는 폴리클로날일 수 있다. "모노클로날 항체"는 동종 항체 집단을 지칭하고, "폴리클로날 항체"는 이종 항체 집단을 지칭한다. 이러한 두 용어는 항체의 공급원 또는 항체가 만들어지는 방식을 제한하지 않는다.

[0028] 일 예에서, 본원에 기술된 방법에 사용되는 항체는 인간화 항체이다. 인간화 항체는 비-인간 면역글로불린에서 유래된 최소 서열을 함유하는 특정 키메라 면역글로불린, 면역글로불린 사슬, 또는 이의 항원-결합 단편인 비-인간(예를 들어, 뮤린) 항체의 형태를 지칭한다. 대부분의 경우, 인간화 항체는 인간 면역글로불린(수용자 항체)이며, 여기서 수용자의 상보성 결정 영역(CDR)으로부터의 잔기가 원하는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 마우스, 래트 또는 토끼와 같은 비-인간 종(공여자 항체)의 CDR로부터의 잔기로 대체된다. 일부 경우에, 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 영역(FR) 잔기는 상응하는 비-인간 잔기로 대체된다. 또한, 인간화 항체는 수용자 항체 또는 이입된 CDR 또는 프레임워크 서열에서 발견되지 않지만 항체 성능을 추가로 개선하고 최적화하기 위해 포함되는 잔기를 포함할 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 실질적으로 모든 적어도 하나, 및 전형적으로 2개의 가변 도메인을 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역은 비-인간 면역글로불린의 것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 면역글로불린 컨센서스 서열의 것이다. 인간화 항체는 또한 최적으로 면역글로불린 불변 영역 또는 도메인(Fc), 전형적으로 인간 면역글로불린의 것의 적어도 일부를 포함할 것이다. 항체는 WO 99/58572호에 기술된 바와 같이 변형된 Fc 영역을 가질 수 있다. 다른 형태의 인간화 항체는 원래 항체와 관련하여 변경된 하나 이상의 CDR(1, 2, 3, 4, 5, 6개)을 가지며, 이는 또한 원래 항체로부터의 하나 이상의 CDR "에서 유래된" 하나 이상의 CDR이라고도 한다. 인간화 항체는 또한 친화도 성숙을 수반할 수 있다.

[0029] 또 다른 예에서, 본원에 기술된 항체는 인간 항체로부터의 중쇄 불변 영역 및 경쇄 불변 영역을 포함할 수 있는 키메라 항체이다. 키메라 항체는 제1 종의 가변 영역 또는 가변 영역의 일부 및 제2 종의 불변 영역을 갖는 항체를 지칭한다. 전형적으로, 이들 키메라 항체에서, 경쇄 및 중쇄 둘 다의 가변 영역은 한 종의 포유동물(예를 들어, 마우스, 토끼 및 래트와 같은 비-인간 포유동물)에서 유래된 항체의 가변 영역을 모방하는 반면, 불변 부분은 인간과 같은 또 다른 포유동물에서 유래된 항체의 서열과 상동이다. 일부 실시 양태에서, 아미노산 변형이 가변 영역 및/또는 불변 영역에서 이루어질 수 있다.

[0030] 일부 예에서, 본원에 개시된 항체는 B 세포의 표면에서 발현될 수 있는 멤브레인-결합 IgE의 CεmX 도메인에 특이적으로 결합한다. 표적 또는 에피토프에 "특이적으로 결합하는"(본원에서 상호교환적으로 사용됨) 항체는 당업계에서 잘 이해되는 용어이고, 이러한 특이적 결합을 결정하는 방법 또한 당업계에 잘 알려져있다. 분자가 대안적인 표적보다 특정 표적 항원과 더 자주, 더 빠르게, 더 긴 기간 및/또는 더 큰 친화도로 반응하거나 결합하는 경우, 분자는 "특이적 결합"을 나타낸다고 한다. 항체가 다른 물질에 결합하는 것보다 더 큰 친화도, 결합력, 더 쉽게 및/또는 더 긴 기간으로 결합하는 경우, 항체는 표적 항원에 "특이적으로 결합한다". 예를 들어, CεmX 도메인 에피토프에 특이적으로(또는 우선적으로) 결합하는 항체는 이 CεmX 도메인 에피토프에 다른 CεmX 도메인 에피토프 또는 비-CεmX 도메인 에피토프에 결합하는 것 보다 우수한 친화도, 결합력, 더 쉽게 및/또는 더 긴 기간으로 결합하는 항체이다. 또한, 예를 들어, 제1 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항체는 제2

표적 항원에 특이적으로 또는 우선적으로 결합할 수 있거나 결합할 수 없다는 것이 본 정의를 읽음으로써 이해된다. 따라서, "특이적 결합" 또는 "우선적 결합"은 배타적 결합을 반드시 필요로 하지 않는다(그러나 포함할 수 있음). 일반적으로, 반드시 그런 것은 아니지만, 결합에 대한 언급은 우선적 결합을 의미한다.

[0031] 본원에 기술된 항- CεmX 항체의 결합 친화도는 약 100nM 미만, 예를 들어, 약 50nM, 약 10nM, 약 1nM, 약 500pM, 약 100pM, 또는 약 50pM 미만 내지 약 2pM일 수 있다. 결합 친화도는 K_D 또는 해리 상수로 표현될 수 있으며, 결합 친화도의 증가는 K_D의 감소에 해당한다. CεmX에 대한 항체의 결합 친화도를 결정하는 한 가지 방법은 항체의 단일 작용성 Fab 단편의 결합 친화도를 측정하는 것이다. 단일 작용성 Fab 단편을 얻기 위해, 항체(예를 들어, IgG)를 파파인으로 절단하거나 재조합적으로 발현할 수 있다. 항체의 항-CεmX Fab 단편의 친화도는 표면 플라즈몬 공명(BIAcore3000TM 표면 플라즈몬 공명(SPR) 시스템, BIAcore, INC, Piscaway N.J.)에 의해 결정될 수 있다. 동역학 결합 속도(k_{on}) 및 해리 속도(k_{off})(일반적으로 25℃에서 측정)가 얻어지며; 평형 해리 상수(K_D) 값은 koff/kon로 계산된다.

[0032] 일부 실시 양태에서, 항체는 인간 IgE의 CεmX 도메인에 결합하고, 또 다른 포유동물 종으로부터의 IgE에는 유의하게 결합하지 않는다. 일부 실시 양태에서, 항체는 인간 IgE뿐만 아니라 또 다른 포유동물 종으로부터의 하나 이상의 IgE에 결합한다. 항체에 의해 결합된 에피토프(들)는 연속적이거나 불연속적일 수 있다.

[0033] 일부 실시 양태에서, 본원에 기술된 항- CεmX 항체는 CεmX 도메인의 N-말단 부분, 예를 들어, GLAGGSAQSQRAPDRVL(서열번호:1) 또는 GLAGGSAQSQRA(서열번호:7)에 결합한다. 이러한 항체는 항체 FB825와 동일한 중쇄 및/또는 경쇄 CDR을 가질 수 있다. 또한, 관련 개시내용이 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 제8,460,664호 참조. 항-CεmX 항체는 인간화 항체일 수 있다. 일부 예에서, 본원에 기술된 방법에 사용하기 위한 항-CεmX 항체는 FB825, 또는 이의 기능적 변이체이다. 또한, 관련 개시내용이 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 제8,460,664호 및 미국 특허 출원 공개 제2020/0297815호 참조.

[0034] 동일한 V_H 및/또는 V_L CDR을 갖는 2개의 항체는 동일한 접근법(예를 들어, 당업계에 공지된 바와 같은 카바트(Kabat) 접근법, 코티아(Chothia) 접근법, AbM 접근법, 접촉 접근법, 또는 IMGT 접근법, 예를 들어 bioinf.org.uk/abs/ 참조)에 의해 결정되는 경우 이들의 CDR이 동일하다는 것을 의미한다.

[0035] FB825의 기능적 변이체(등가물)는 본질적으로 FB825와 동일한 에피토프-결합 특이성을 가지며, mIgE를 발현하는 B 세포를 제거하고 대상체에서 총 IgE의 수준을 감소시키는 활성을 포함하여 FB825와 실질적으로 유사한 생체활성을 나타낸다. 일부 실시 양태에서, FB825의 기능적 변이체는 FB825와 같은 항원-결합을 담당하는 동일한 영역/잔기, 예컨대 CDR 또는 전체 CDR 내의 동일한 특이성-결정 잔기를 함유한다. 다른 실시 양태에서, FB825의 기능적 변이체는 FB825의 상응하는 V_H CDR과 적어도 75%(예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 98%) 동일한 V_H CDR1, V_H CDR2, 및 V_H CDR3을 포함하는 V_H 사슬, 및 FB825의 상응하는 V_H CDR과 적어도 75%(예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 98%) 동일한 V_L CDR1, V_L CDR2, 및 V_L CDR3을 포함하는 V_L 사슬을 포함한다. 예를 들어, FB825의 기능적 변이체는 FB825의 V_H CDR과 비교하여 V_H CDR 영역(총 V_H CDR1, CDR2, 및/또는 CDR3)에서 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 또는 5개)의 아미노산 잔기 변이를 포함하는 V_H 사슬, 및/또는 FB825의 V_H CDR과 비교하여 V_L CDR 영역(총 V_L CDR1, CDR2, 및/또는 CDR3)에서 최대 5개(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 또는 5개)의 아미노산 잔기 변이를 포함하는 V_L 사슬을 포함할 수 있다.

[0036] 대안적으로, FB825의 기능적 변이체는 FB825의 V_H 사슬과 적어도 75%(예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 98%) 동일한 V_H 사슬 및 FB825의 V_L 사슬과 적어도 75%(예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 98%) 동일한 V_L 사슬을 포함한다. 아미노산 서열 변이는 V_H 및/또는 V_L 프레임워크 영역 중 하나 이상에서만 발생할 수 있다.

[0037] 2개의 아미노산 서열의 "퍼센트 동일성"은 문헌[Karlin and Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-77, 1993]에서와 같이 수정된 문헌 [Karlin and Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-68, 1990]의 알고리즘을 사용하여 결정된다. 이러한 알고리즘은 문헌[Altschul, 등 J. Mol. Biol. 215:403-10, 1990]의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램(버전 2.0)에 포함되어 있다. BLAST 단백질 검색은 XBLAST 프로그램, 점수=50, 단어 길이=3로 수행되어 관심 단백질 분자와 상동인 아미노산 서열을 얻을 수 있다. 2개의 서열 사이에 갭이 존재하는 경우, 문헌[Altschul 등, Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402, 1997]에 기술된 바와 같은 Gapped BLAST가 활용될 수 있다. BLAST 및 Gapped BLAST 프로그램을 활용할 때, 각 프로그램(예를 들어, XBLAST 및 NBLAST)의 기본 매

개변수가 사용될 수 있다.

[0038] 선택적으로 또는 추가적으로, 아미노산 잔기 변이는 보존적 아미노산 잔기 치환일 수 있다. 본원에서 사용되는 "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 치환이 이루어진 단백질의 상대적 전하 또는 크기 특징을 변경하지 않는 아미노산 치환을 지칭한다. 변이체는 이러한 방법을 편집한 참고문헌, 예를 들어 문헌[Molecular Cloning: A Laboratory Manual, J. Sambrook, 등, eds., Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989] 또는 문헌 [Current Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel, 등, eds., John Wiley & Sons, Inc., New York]에서 발견되는 바와 같이, 당업자에게 공지된 폴리펩타이드 서열을 변경하는 방법에 따라 제조될 수 있다. 아미노산의 보존적 치환은 하기 그룹 내의 아미노산 사이에서 이루어진 치환을 포함한다: (a) M, I, L, V; (b) F, Y, W; (c) K, R, H; (d) A, G; (e) S, T; (f) Q, N; 및 (g) E, D.

[0039] 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 치료 방법에 사용하기 위한 항- CεmX 항체는 하기 중쇄 가변 영역 중 하나를 가질 수 있다(카바트 정의에 따르는 CDR은 굵은 글씨체로 밑줄이 그어져 있음. 각각 중쇄 CDR 1-3에 대한 서열번호: 13-15):

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS**GYSITSDYAWN**WIRQPPGKGLEWIG**SISYSGITGYNPSLK**
SRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA**RMGYDGLAY**WGQGTLVTVSS (서열번호:2)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS**GYSITSDYAWN**WIRQPPGKGLEWMI**SISYSGITGYNPSL**
KSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA**RMGYDGLAY**WGQGTLVTVSS (서열번호:8)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS**GYSITSDYAWN**WIRQPPGKGLEWIG**SISYSGITGYNPSLK**
SRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA**RMGYDGLAY**WGQGTLVTVSS (서열번호:9)

[0040]

[0041] 선택적으로 또는 추가적으로, 본원에 개시된 치료 방법에 사용하기 위한 항- CεmX 항체는 하기 경쇄 가변 영역 중 하나를 가질 수 있다(카바트 정의를 따르는 CDR은 굵은 글씨체로 밑줄이 그어져 있음. 각각 경쇄 CDR 1-3에 대한 서열번호: 16-19):

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISC**RSSQSIVHSNGNTYLE**WYLQKPGQSPQLLIY**KVSNRFS**GVPD
RFSGSGSGTEFTLKISRVEAEDVGVYYC**FQGSHVPPT**FGGGTKVEIKR (서열번호:3)

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISC**RSSQSIVHSNGNTYLE**WYLQKPGQSPQLLIY**KVSNRFS**GVPD
RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**FQGSHVPPT**FGGGTKVEIKR (서열번호:10)

[0042]

[0043] 일부 실시 양태에서, 본원에 기술된 바와 같은 임의의 항-IgE 항체의 중쇄는 중쇄 불변 영역(CH) 또는 그의 부분(예를 들어, CH1, CH2, CH3, 또는 이들의 조합)을 추가로 포함할 수 있다. 중쇄 불변 영역은 임의의 적합한 기원, 예를 들어, 인간, 마우스, 래트, 또는 토끼일 수 있다. 일부 예에서, 중쇄 불변 영역은 인간 기원이다. 대안적으로 또는 추가적으로, 항-IgE 항체의 경쇄는 당업계에 공지된 임의의 경쇄 불변 영역(CL), 예를 들어 인간 경쇄 불변 영역일 수 있는 CL을 추가로 포함할 수 있다. 일부 예에서, CL은 카파 경쇄이다. 다른 예에서, CL은 람다 경쇄이다. 항체 중쇄 및 경쇄 불변 영역은 당업계에 잘 알려져 있으며, 예를 들어 본원에 참조로 포함되어 있는 IMGT 데이터베이스(www.imgt.org) 또는 www.vbase2.org/vbstat.php에 제공된 것이다.

[0044] 일부 경우에, 항-IgE 항체는 각각 서열번호:2의 V_H 및 서열번호:3의 V_L을 포함하는, 하기 제공된 중쇄 및 경쇄를 갖는 IgG1 분자인 FB825이다. 전장 형태의 FB825의 중쇄(상단) 및 경쇄(하단) 아미노산 서열은 하기에 제공되어 있다(이탤릭체로 표시된 N-말단 신호 펩타이드 서열 포함).

*MEFGLSWLFLVAILKGVQC*QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIRQPPGKGLEWIGS
ISYSGITGYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMGYDGLAYWGQGTLVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP
IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 11)

*MRVPAQLLGLLLLWLPGARC*DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPQ
LLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHVPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD
YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호:12)

[0045]

[0046] 서열번호:4는 FB825의 성숙한 중쇄의 아미노산 서열(N-말단 신호 펩타이드 서열이 없음)을 나타내고, 서열번호:5는 FB825의 성숙한 경쇄의 아미노산 서열(N-말단 신호 펩타이드 서열이 없음)을 나타낸다.

[0047] 일부 예에서, FB825 항체는 서열번호:4의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함할 수 있다. 대안적으로, FB825의 중쇄 및/또는 경쇄는 N-말단 신호 펩타이드, 예를 들어 상기 기술된 것을 함유할 수 있다. 일부 경우에, FB825 항체는 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호:12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함할 수 있다.

[0048] *B. 항체 제조*

[0049] 본원에 기술된 바와 같이 멤브레인-결합 IgE의 CεmX 도메인에 결합할 수 있는 항체는 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Harlow and Lane, (1988) Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York] 참조.

[0050] 일부 실시 양태에서, 표적 항원(예를 들어, 인간 mIgE와 같은 mIgE의 CεmX 도메인)에 특이적인 항체는 통상적인 하이브리도마 기술에 의해 제조될 수 있다. 원하는 경우, (예를 들어, 하이브리도마에 의해 생산된)관심 항체(모노클로날 또는 폴리클로날)는 시퀀싱될 수 있고, 폴리뉴클레오타이드 서열은 발현 또는 증식을 위한 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 관심 항체를 인코딩하는 서열은 숙주 세포의 벡터에서 유지될 수 있으며, 숙주 세포는 추후 사용을 위해 확장되고 동결될 수 있다. 대안적으로, 폴리뉴클레오타이드 서열은 항체를 "인간화"하거나 친화도(친화도 성숙) 또는 항체의 다른 특징을 개선하기 위한 유전자 조작에 사용될 수 있다. 예를 들어, 불변 영역은, 항체가 인간의 임상 시험 및 치료에 사용되는 경우 면역 반응을 피하기 위해 인간 불변 영역과 더 유사하도록 조작될 수 있다. 표적 항원에 대한 더 큰 친화도 및 총 IgE를 감소시키는 더 큰 효능을 얻기 위해 항체 서열을 유전적으로 조작하는 것이 바람직할 수 있다. 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 변화가 항체에 만들어질 수 있고 여전히 표적 항원에 대한 결합 특이성을 유지할 수 있다는 것이 당업자에게 자명할 것이다.

[0051] 다른 실시 양태에서, 완전 인간 항체는 특정 인간 면역글로불린 단백질을 발현하도록 조작된 상업적으로 입수 가능한 마우스를 사용하여 얻을 수 있다. 보다 바람직한(예를 들어, 완전 인간 항체) 또는 보다 강력한 면역 반응을 생성하도록 설계된 형질전환 동물은 또한 인간화 또는 인간 항체의 생성을 위해 사용될 수 있다. 이러한 기술의 예에는 Amgen, Inc.(Fremont, Calif.)의 XenomouseRTM 및 Medarex, Inc.(Princeton, N.J.)의 HuMAb-마우스RTM 및 TC 마우스TM이 있다. 또 다른 대안에서, 항체는 파지 디스플레이 기술에 의해 재조합적으로 만들어질 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제5,565,332호; 미국 특허 제5,580,717호; 미국 특허 제5,733,743호; 및 미국 특허 제6,265,150호; 및 문헌[Winter 등, (1994) Annu. Rev. Immunol. 12:433-455] 참조. 대안적으로, 파지 디스플레이 기술(문헌[McCafferty 등, (1990) Nature 348:552-553])은 면역화되지 않은 공여자로부터의 면역글로불린 가변(V) 도메인 유전자 레퍼토리로부터 시험관내에서 인간 항체 및 항체 단편을 생산하는데 사용될 수 있다.

[0052] 온전한 항체(전장 항체)의 항원-결합 단편은 일상적인 방법을 통해 제조될 수 있다. 예를 들어, F(ab')2 단편은 항체 분자의 펩신 분해에 의해 생성될 수 있고, Fab 단편은 F(ab')2 단편의 디설파이드 브릿지를 환원시킴으로써 생성될 수 있다.

[0053] 인간화 항체, 키메라 항체, 단일-사슬 항체, 및 이중특이적 항체와 같은 유전적으로 조작된 항체는 예를 들어 통상적인 재조합 기술을 통해 생산될 수 있다. 일 예에서, 표적 항원에 특이적인 모노클로날 항체를 인코딩하는 DNA는 통상적인 절차를 사용하여(예를 들어, 모노클로날 항체의 중쇄 및 경쇄를 인코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용함으로써) 용이하게 단리되고 시퀀싱될 수 있다. 하이브리도마 세포는 이러한 DNA의 바람직한 공급원 역할을 한다. 일단 단리되면, DNA는 하나 이상의 발현 벡터에 배치될 수 있으며, 그 다음 E. coli 세포, 유인원 COS 세포, 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포 또는 그렇지 않으면 면역글로불린 단백질을 생산하지 않는 골수종 세포와 같은 숙주 세포로 형질감염되어, 재조합 숙주 세포에서 모노클로날 항체의 합성을 얻을 수 있다. 예를 들어, PCT 공개 특허 WO 87/04462호 참조. 그런 다음 DNA는 예를 들어 상동 뮤린 서열 대신 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인에 대한 코딩 서열을 치환함으로써(문헌[Morrison 등, (1984) Proc. Nat. Acad. Sci. 81:6851]), 또는 비-면역글로불린 폴리펩타이드에 대한 코딩 서열의 전부 또는 일부를 면역글로불린 코딩 서열에 공유 결합함으로써 변형될 수 있다. 그러한 방식으로, "키메라" 또는 "하이브리드" 항체와 같은 유전적으로 조작된 항체는; 표적 항원의 결합 특이성을 갖는 것을 제조할 수 있다.

[0054] "키메라 항체"의 생산을 위해 개발된 기술은 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 문헌[Morrison 등 (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81, 6851; Neuberger 등 (1984) Nature 312, 604; 및 Takeda 등 (1984) Nature 314:452] 참조.

[0055] 인간화 항체를 작제하는 방법 또한 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 문헌[Queen 등, Proc. Natl. Acad.

Sci. USA, 86:10029-10033 (1989)] 참조. 일 예에서, 모체 비-인간 항체의 V_H 및 V_L의 가변 영역은 당업계에 공지된 방법에 따라 3차원 분자 모델링 분석을 받는다. 다음으로, 동일한 분자 모델링 분석을 사용하여 올바른 CDR 구조의 형성에 중요할 것으로 예상되는 프레임워크 아미노산 잔기가 식별된다. 동시에, 모체 비-인간 항체의 것과 상동인 아미노산 서열을 갖는 인간 V_H 및 V_L 사슬은 검색 쿼리로서 모체 V_H 및 V_L 서열을 사용하여 임의의 항체 유전자 데이터베이스로부터 식별된다. 그런 다음, 인간 V_H 및 V_L 수용체 유전자가 선택된다.

[0056] 선택된 인간 수용체 유전자 내의 CDR 영역은 모체 비-인간 항체 또는 이의 기능적 변이체로부터의 CDR 영역으로 대체될 수 있다. 필요한 경우, CDR 영역과 상호작용하는 데 중요하다고 예측되는 모체 사슬의 프레임워크 영역 내의 잔기 (상기 설명 참조)를 사용하여 인간 수용체 유전자의 해당 잔기를 치환하는 데 사용될 수 있다.

[0057] 선택적으로, 본원에 기술된 바와 같은 표적 항원(IgE 분자 또는 이의 단편)에 결합할 수 있는 항체는 일상적인 실시를 통해 적합한 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 항체 라이브러리는 일상적인 스크리닝 프로세스를 통해 표적 항원 (예를 들어, 인간 IgE, 예컨대 이의 Cεm4 단편)에 결합하는 단백질을 식별하는 데 사용될 수 있다. 선택 프로세스에서, 폴리펩타이드 성분은 표적 항원 또는 이의 단편으로 탐침되고, 폴리펩타이드 성분이 표적에 결합하는 경우, 항체 라이브러리 구성원은 전형적으로 지지체 상의 보유에 의해 식별된다. 보유된 디스플레이 라이브러리 구성원은 지지체로부터 회수되어 분석된다. 분석은 유사하거나 유사하지 않은 조건에서 증폭 및 후속 선택을 포함할 수 있다. 예를 들어, 양성 및 음성 선택이 번갈아 선택될 수 있다. 분석은 또한 상세한 특징화를 위한 폴리펩타이드 성분의 아미노산 서열 결정 및 폴리펩타이드 성분의 정제를 포함할 수 있다.

[0058] 파지 디스플레이, 효모 디스플레이, 리보솜 디스플레이 또는 포유동물 디스플레이 기술을 포함하여 본원에 기술된 표적 항원에 결합할 수 있는 항체를 식별하고 단리시키기 위한 당업계에 공지된 다수의 일상적인 방법이 있다.

[0059] 당업계에 공지되어 있고 본원에 기술된 방법에 따라 얻어진 항체는 당업계에 잘 알려진 방법을 사용하여 특징화될 수 있다. 예를 들어, 한 가지 방법은 항원이 결합하는 에피토프를 식별하는 것, 즉 "에피토프 매핑"이다. 예를 들어, 문헌[Chapter 11 of Harlow and Lane, Using Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1999]에 기술된 바와 같이, 항체-항원 복합체의 결정 구조 해결, 경쟁 검정, 유전자 단편 발현 검정, 합성 펩타이드-기반 검정을 포함하여 단백질 상의 에피토프 위치를 매핑하고 특징화하기 위한 많은 방법이 당업계에 알려져 있다. 추가적인 예에서, 에피토프 매핑을 사용하여 항체가 결합하는 서열을 결정할 수 있다. 에피토프는 즉 아미노산의 단일 스트레치에 함유된 선형 에피토프이거나, 또는 반드시 단일 스트레치에 함유될 필요가 없는 아미노산의 3차원 상호작용에 의해 형성된 구조적 에피토프(1차 구조 선형 서열)일 수 있다. 다양한 길이(예를 들어, 적어도 4-6개의 아미노산 길이)의 펩타이드는 단리되거나 합성(예를 들어, 재조합적으로)될 수 있으며, 항체와의 결합 검정에 사용될 수 있다. 또 다른 예에서, 항체가 결합하는 에피토프는 표적 항원 서열에서 유래된 중첩 펩타이드를 사용하고 항체에 의한 결합을 결정함으로써 체계적인 스크리닝에서 결정될 수 있다. 유전자 단편 발현 검정에 따르면, 표적 항원을 인코딩하는 오픈 리딩 프레임은 무작위로 또는 특정 유전적 구성에 의해 단편화되고, 테스트할 항체와 항원의 발현된 단편의 반응성이 결정된다. 예를 들어, 유전자 단편은 PCR에 의해 생산된 다음, 방사성 아미노산의 존재하에 시험관 내에서 전사되고 단백질로 번역될 수 있다. 그런 다음 방사성 표지된 항원 단편에 대한 항원의 결합은 면역침전 및 겔 전기영동에 의해 결정된다. 특정 에피토프는 또한 파지 입자의 표면 상에 디스플레이된 무작위 펩타이드 서열의 대규모 라이브러리(파지 라이브러리)를 사용하여 확인될 수 있다. 대안적으로, 단순 결합 검정에서 테스트 항체에 대한 결합에 대해 중첩되는 펩타이드 단편의 정의된 라이브러리를 테스트할 수 있다. 추가적인 예에서, 항원 결합 도메인의 돌연변이유발, 도메인 교환 실험 및 알라닌 스캐닝 돌연변이유발을 수행하여 에피토프 결합에 필요하고, 충분하고/하거나 필요한 잔기를 식별할 수 있다. 예를 들어, 도메인 교환 실험은 IgE 폴리펩타이드의 다양한 단편이 밀접하게 관련되어 있지만 항원적으로 구별되는 단백질(예를 들어, 면역글로불린 단백질 계열의 다른 구성원)의 서열로 대체(교환)된 표적 항원의 돌연변이를 사용하여 수행될 수 있다. 돌연변이 면역글로불린에 대한 항체의 결합을 평가함으로써, 항체 결합에 대한 특정 항원 단편의 중요성이 평가될 수 있다.

[0060] 선택적으로, 항체가 다른 항체와 동일한 에피토프에 결합하는지 여부를 결정하기 위해 동일한 항원에 결합하는 것으로 알려진 다른 항체를 사용하여 경쟁 검정을 수행할 수 있다. 경쟁 검정은 당업자에게 잘 알려져 있다.

[0061] 일부 예에서, 본원에 개시된 항-IgE 항체, 예컨대 FB825는 하기 예시된 바와 같이 재조합 기술에 의해 제조될 수 있다.

[0062] 본원에 기술된 바와 같은 항-CεmX 항체의 중쇄 및 경쇄를 인코딩하는 핵산은 하나의 발현 벡터 내로 클로닝될 수 있으며, 각 뉴클레오타이드 서열은 적합한 프로모터에 작동 가능하게 연결되어 있다. 한 예에서, 중쇄 및 경쇄를 인코딩하는 각각의 뉴클레오티드 서열은 별개의 프로모터에 작동 가능하게 연결되어 있다. 대안적으로, 중쇄 및 경쇄를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 단일 프로모터에 작동 가능하게 연결되어 있어 중쇄 및 경쇄 둘 다 동일한 프로모터로부터 발현될 수 있다. 필요한 경우, 내부 리보솜 진입 부위(internal ribosomal entry site; IRES)가 중쇄와 경쇄 인코딩 서열 사이에 삽입될 수 있다.

[0063] 일부 예에서, 항체의 2개의 사슬을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열은 2개의 벡터 내로 클로닝되며, 이는 동일하거나 상이한 세포에 도입될 수 있다. 2개의 사슬이 상이한 세포에서 발현되는 경우, 이들 각각은 이를 발현하는 숙주 세포로부터 단리될 수 있고, 단리된 중쇄 및 경쇄는 혼합되어 항체의 형성을 허용하는 적합한 조건하에서 인큐베이션될 수 있다.

[0064] 일반적으로, 항체의 하나 또는 모든 사슬을 인코딩하는 핵산 서열은 당업계에 공지된 방법을 사용하여 적합한 프로모터와 작동 가능하게 연결되어 적합한 발현 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 예를 들어, 뉴클레오타이드 서열 및 벡터는 적합한 조건하에서 제한 효소와 접촉하여 서로 쌍을 이루고 리가아제와 함께 연결될 수 있는 각 분자에 상보성 말단을 생성할 수 있다. 대안적으로, 합성 핵산 링커는 유전자의 말단에 결찰될 수 있다. 이러한 합성 링커는 벡터의 특정 제한 부위에 해당하는 핵산 서열을 함유한다. 발현 벡터/프로모터의 선택은 항체를 생산하는데 사용하기 위한 숙주 세포의 유형에 따라 달라진다.

[0065] 거대세포바이러스(CMV) 중간 초기 프로모터, 바이러스 LTR, 예컨대 *라우스 육종* 바이러스 LTR, HIV-LTR, HTLV-1 LTR, 유인원 바이러스 40(SV40) 초기 프로모터, *E. coli* lac UV5 프로모터, 및 단순 포진 tk 바이러스 프로모터를 포함하지만 이에 제한되지 않는 본원에 기술된 항체의 발현을 위해 다양한 프로모터가 사용될 수 있다.

[0066] 조절 가능한 프로모터 또한 사용될 수 있다. 이러한 조절 가능한 프로모터는 lac 오퍼레이터-보유 포유동물 세포 프로모터로부터의 전사를 조절하기 위해 전사 조절자로서 *E. coli*로부터의 lac 억제인자를 사용하는 것(문헌[Brown, M. 등, *Cell*, 49:603-612 (1987)]), 테트라사이클린 억제인자(tetR)를 사용하는 것 문헌([Gossen, M., and Bujard, H., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:5547-5551 (1992); Yao, F. 등, *Human Gene Therapy*, 9:1939-1950(1998); Shockelt, P., 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92:6522-6526(1995)])을 포함한다. 다른 시스템은 아스트라디올, RU486, 디페놀 무리슬레론 또는 라파마이신을 사용하는 FK506 이량체, VP16 또는 p65를 포함한다. 유도성 시스템은 Invitrogen, Clontech 및 Ariad에서 입수 가능하다.

[0067] 오페론이 있는 억제인자를 포함하는 조절 가능한 프로모터가 사용될 수 있다. 일 실시 양태에서, *E. coli*로부터의 lac 억제 인자는 테트라사이클린 억제 인자(tetR)와 전사 활성화 인자(VP 16)를 조합하여 lac 오퍼레이터-보유 포유동물 세포 프로모터로부터의 전사를 조절하는 전사 조절 인자로서 기능할 수 있어(문헌[M. Brown 등, *Cell*, 49:603-612(1987); Gossen and Bujard(1992); M. Gossen 등, *Natl. Acad. Sci. USA*, 89:5547-5551(1992)]), tetR-포유동물 세포 전사 활성화 인자 융합 단백질인 tTa(tetR-VP 16)를 생성하고, 인간 거대세포 바이러스(hCMV) 주요 즉시-초기 프로모터에서 유래된 tetO-보유 최소 프로모터를 사용하여 포유동물 세포에서 유전자 발현을 조절하는 tetR-tet 오퍼레이터 시스템을 생성할 수 있다. 일 실시 양태에서, 테트라사이클린 유도성 스위치가 사용된다. tetR-포유동물 세포 전사 인자 융합 유도체보다는 테트라사이클린 억제 인자(tetR)만이 테트라 사이클린 오퍼레이터가 CMVIE 프로모터의 TATA 요소에 대해 하류에 적절하게 위치할 때 포유동물 세포에서 유전자 발현을 조절하는 강력한 트랜스-조절자로서 기능할 수 있다(문헌[Yao 등, *Human Gene Therapy*, 10(16):1392-1399(2003)]). 이러한 테트라사이클린 유도성 스위치의 한 가지 특별한 장점은 조절 가능한 효과를 달성하기 위해 일부 경우에 세포에 독성이 될 수 있는 억제인자 융합 단백질 또는 테트라사이클린 억제 인자-포유동물 세포 트랜스활성인자의 사용을 필요로 하지 않는다는 점이다(문헌[Gossen 등, *Natl. Acad. Sci. USA*, 89:5547-5551(1992); Shockett 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92:6522-6526(1995)]).

[0068] 추가적으로, 벡터는 예를 들어 다음 중 일부 또는 전부를 함유할 수 있다: 포유동물 세포에서 안정하거나 일시적인 형질 감염체를 선택하기 위한 네오마이신 유전자와 같은 선택 가능한 마커 유전자; 높은 수준의 전사를 위한 인간 CMV의 직전 초기 유전자로부터의 인핸서/프로모터 서열; mRNA 안정성을 위한 SV40으로부터 전사 종료 및 RNA 프로세싱 신호; SV 40 폴리오마 복제 원점 및 적절한 에피솜 복제를 위한 ColE1; 내부 리보솜 결합 부위(IRES), 다목적 다중 클로닝 부위; 및 센스 및 안티센스 RNA의 시험관내 전사를 위한 T7 및 SP6 RNA 프로모터. 이식 유전자를 함유하는 벡터를 생산하기 위한 적합한 벡터 및 방법은 당업계에 잘 알려져있고 이용 가능하다.

[0069] 본원에 기술된 방법을 실시하는데 유용한 폴리아데닐화 신호의 예에는 인간 콜라겐 I 폴리아데닐화 신호, 인간

콜라겐 II 폴리아데닐화 신호 및 SV40 폴리아데닐화 신호가 포함되지만 이에 제한되지 않는다.

[0070] 임의의 항체를 인코딩하는 핵산을 포함하는 하나 이상의 벡터(예를 들어, 발현 벡터)는 항체를 생산하기 위해 적합한 숙주 세포 내로 도입될 수 있다. 숙주 세포는 항체 또는 이의 임의의 폴리펩타이드 사슬의 발현에 적합한 조건하에서 배양될 수 있다. 이러한 항체 또는 이의 폴리펩타이드 사슬은 통상적인 방법, 예를 들어 친화도 정제를 통해 배양된 세포에 의해(예를 들어, 세포 또는 배양 상층액으로부터) 회수될 수 있다. 필요한 경우, 항체의 폴리펩타이드 사슬은 항체의 생산을 허용하는 적합한 기간 동안 적합한 조건하에서 인큐베이션될 수 있다.

[0071] 일부 실시 양태에서, 본원에 기술된 항체를 제조하는 방법은 본원에도 기술된 바와 같이 항-CεmX 항체의 중쇄 및 경쇄 둘 다를 인코딩하는 재조합 발현 벡터를 포함한다. 재조합 발현 벡터는 통상적인 방법, 예를 들어 인산칼슘-매개 형질감염에 의해 적합한 숙주 세포(예를 들어, dhfr- CHO 세포) 내로 도입될 수 있다. 양성 형질전환 숙주 세포는 세포 또는 배양 배지로부터 회수될 수 있는 항체를 형성하는 2개의 폴리펩타이드 사슬의 발현을 허용하는 적합한 조건하에서 선택되고 배양될 수 있다. 필요한 경우, 숙주 세포로부터 회수된 2개의 사슬은 항체의 형성을 허용하는 적합한 조건하에서 인큐베이션될 수 있다.

[0072] 일 예에서, 2개의 재조합 발현 벡터가 제공되는데, 그 중 하나는 항-IgE 항체의 중쇄를 인코딩하고, 다른 하나는 항-IgE 항체의 경쇄를 인코딩한다. 2개의 재조합 발현 벡터 둘 다는 통상적인 방법, 예를 들어 인산칼슘-매개 형질감염에 의해 적합한 숙주 세포(dhfr- CHO 세포) 내로 도입될 수 있다. 선택적으로, 각각의 발현 벡터는 적합한 숙주 세포 내로 도입될 수 있다. 양성 형질전환체는 항체의 폴리펩타이드 사슬의 발현을 허용하는 적합한 조건하에서 선택되고 배양될 수 있다. 2개의 발현 벡터가 동일한 숙주 세포 내로 도입될 때, 그 안에서 생산된 항체는 숙주 세포 또는 배양 배지로부터 회수될 수 있다. 필요한 경우, 폴리펩타이드 사슬은 숙주 세포 또는 배양 배지로부터 회수된 다음, 항체의 형성을 허용하는 적합한 조건하에서 인큐베이션될 수 있다. 2개의 발현 벡터가 상이한 숙주 세포 내로 도입될 때, 이들 각각은 상응하는 숙주 세포 또는 상응하는 배양 배지로부터 회수될 수 있다. 그런 다음, 2개의 폴리펩타이드 사슬은 항체의 형성에 적합한 조건하에서 인큐베이션될 수 있다.

[0073] 표준 분자 생물학 기술은 재조합 발현 벡터를 제조하고, 숙주 세포를 형질 감염시키고, 형질 감염체를 선택하고, 숙주 세포를 배양하고, 배양 배지로부터 항체를 회수하기 위해 사용된다. 예를 들어, 일부 항체는 단백질 A 또는 단백질 G 커플링 매트릭스를 사용한 친화도 크로마토그래피에 의해 단리될 수 있다.

[0074] 본원에 기술된 바와 같은 항-CεmX 항체의 중쇄, 경쇄 또는 둘 다를 인코딩하는 임의의 핵산, 이를 함유하는 벡터(예를 들어, 발현 벡터); 및 상기 벡터를 포함하는 숙주 세포는 본 개시내용의 범위 내에 있다.

[0075] *C. 고농도 항체 제형*

[0076] 본원에 개시된 임의의 항-IgE 항체, 예를 들어, FB825는 고농도 항체 제형을 제조하는 데 사용될 수 있다. 항-IgE 항체 이외에, 본원에 개시된 고농도 항체 제형은 적합한 완충제(예를 들어, 약 5-15 mM의 농도의 히스티딘), 아미노산 부형제(예를 들어, 약 1-3%, w/v의 농도의 아르기닌 또는 트레오닌), 등장성 조절제(예를 들어, 약 50-100mM의 농도의 염화나트륨), 그리고 비-이온성 계면활성제(예를 들어, 약 0.005-0.02%의 농도의 폴리소르베이트 80)를 추가로 포함할 수 있다. 항체 제형의 pH는 약 5.5 내지 6.5일 수 있다. 일부 예에서, 항체 제형의 pH 값은 약 6.0 내지 약 6.5일 수 있다. 특정 예에서, 항체 제형의 pH 값은 약 6.0일 수 있다.

[0077] 용어 "약" 또는 "대략"은 당업자에 의해 결정된 특정 값에 대해 허용가능한 오차 범위 내에 있음을 의미하며, 이는 부분적으로 값이 측정되거나 결정되는 방식, 즉 측정 시스템의 한계에 따라 달라진다. 예를 들어, "약"은 해당 기술분야의 실시에 따라 허용 가능한 표준 편차 내에 있음을 의미할 수 있다. 대안적으로, "약"은 주어진 값의 최대 ±20%, 바람직하게는 최대 ±10%, 보다 바람직하게는 최대 ±5%, 및 더욱 바람직하게는 최대 ±1%의 범위를 의미할 수 있다. 대안적으로, 특히 생물학적 시스템 또는 프로세스와 관련하여, 상기 용어는 값의 10배 이내, 바람직하게는 2배 이내를 의미할 수 있다. 출원 및 청구범위에서 특정 값이 기술된 경우, 달리 명시하지 않는 한, 용어 "약"은 암시적이며, 이러한 맥락에서 특정 값에 대해 허용가능한 오차 범위 내에 있음을 의미한다.

[0078] 고농도 제형 내 항-IgE 항체는 적어도 100mg/ml의 농도일 수 있다. 일부 실시 양태에서, 고농도 제형은 약 100mg/ml 내지 약 250mg/ml, 예를 들어, 약 100mg/ml 내지 약 150mg/ml, 약 125mg/ml 내지 약 150mg/ml, 약 150mg/ml 내지 약 180mg/ml, 약 150mg/ml 내지 약 200mg/ml, 약 180mg/ml 내지 약 200mg/ml 또는 약 200mg/ml 내지 약 250mg/ml의 농도의 항체를 함유한다. 일부 예에서, 고농도 항체 제형은 약 130-165mg/ml, 예를 들어, 약 150mg/ml의 농도의 항체(예를 들어, FB825)를 포함할 수 있다.

[0079] 본원에 개시된 고농도 항체 제형은 완충제를 추가로 포함한다. 완충제는 수용액의 pH를 유지하는데 도움이 되는

약산 또는 약염기를 지칭한다. 일부 경우에, 고농도 항체 제형에 사용되는 완충제는 농도가 약 5-15mM일 수 있는 히스티딘이다. 일부 예에서, 히스티딘은 약 5-8mM, 5-10mM, 10-15mM, 또는 12-15mM의 농도로 존재한다. 특정 예에서, 히스티딘의 농도는 약 10mM이다.

[0080] 추가로, 고농도 항체 제형은 농도가 약 1-3%(w/v)일 수 있는 아미노산 부형제를 포함할 수 있다. 일부 실시 양태에서, 아미노산 부형제는 아르기닌이다. 일부 예에서, 아르기닌의 농도는 약 1-1.3%(w/v), 예를 들어, 약 1.25%(w/v)이다. 다른 예에서, 아르기닌의 농도는 약 2-3%(w/v), 예를 들어, 약 2.5%(w/v)일 수 있다. 일부 실시 양태에서, 아미노산 부형제는 트레오닌이다. 일부 예에서, 트레오닌의 농도는 약 1-1.3%(w/v), 예를 들어, 약 1.25%(w/v)일 수 있다. 다른 예에서, 트레오닌의 농도는 약 2-3%(w/v), 예를 들어, 약 2.5%(w/v)일 수 있다.

[0081] 또한, 본원에 개시된 고농도 항체 제형은 등장성 조절제를 추가로 포함한다. 용액과 관련하여, 등장성은 특정 멤브레인(예를 들어, 세포 멤브레인)과 관련된 특성이며, 멤브레인을 가로질러 삼투력을 발휘할 수 있는 능력을 갖는 용액(예를 들어 수성 제형) 내 용질 농도의 합과 같다. 등장성 조절제는 제형의 등장성을 조정한다. 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 고농도 항체 제형에 함유된 등장성 조절제는 농도가 약 50-100mM일 수 있는 염화나트륨이다. 일부 예에서, 등장성 조절제(예를 들어, 염화나트륨)의 농도는 약 50-80mM, 약 60-80mM, 또는 약 70-80mM이다. 특정 예에서, 등장성 조절제는 약 75mM 농도의 염화나트륨이다.

[0082] 더욱이, 본원에 개시된 고농도 항체 제형은 비-이온성 계면활성제를 추가로 포함한다. 비-이온성 계면활성제는 친수성 헤드 그룹에 전하를 전달하지 않으므로 제형에 순 전하가 없는 일종의 계면활성제이다. 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 고농도 항체 제형 내 비-이온성 계면활성제는 농도가 약 0.005-0.02%(w/v)일 수 있는 폴리소르베이트 80이다. 일부 예에서, 폴리소르베이트 80와 같은 비-이온성 계면활성제의 농도는 0.008-0.015% 범위일 수 있다. 특정 예에서, 비-이온성 계면활성제는 약 0.01% 농도의 폴리소르베이트 80이다.

[0083] 일부 예에서, 본원에 개시된 고농도 항체 제형은 약 150mg/ml의 항-IgE 항체(예를 들어, FB825), 약 10mM의 히스티딘, 약 1.25%의 아미노산, 약 75mM의 염화나트륨 및 약 0.01%의 폴리소르베이트 80을 포함할 수 있다.

[0084] 일부 예에서, 본원에 개시된 고농도 항체 제형은 본질적으로 항-IgE 항체, 완충제, 아미노산 부형제, 등장성 조절제 및 비-이온성 계면활성제로 구성된다. 이러한 제형은 제형의 기본적이고 새로운 특징에 실질적으로 영향을 미치는 성분을 함유하지 않는다.

[0085] 일부 예에서, 고농도 항체 제형에는 당계 또는 당 알코올계 안정제가 실질적으로 없다(예를 들어, 전혀 없다). 예를 들어, 상기 제형에는 수크로스가 실질적으로 없다(예를 들어, 전혀 없다). 선택적으로 상기 제형에는 소르비톨이 실질적으로 없다(예를 들어, 전혀 없다). 또 다른 예에서, 상기 제형에는 트레할로스가 실질적으로 없다(예를 들어, 전혀 없다).

[0086] *D. 고농도 항체 제형을 포함하는 전달 장치*

[0087] 본원에 개시된 임의의 고농도 항체 제형은 전달 장치, 예를 들어, 유리 바이알, 실린지, 전-충전 실린지, 펜 전달 장치, 또는 자동주사기에 배치될 수 있다. 일부 실시 양태에서, 고농도 항체 제형(예를 들어, 약 150mg/ml의 항-IgE 항체, 예컨대 FB825, 약 10mM의 히스티딘, 약 1.25%의 아미노산, 약 75mM의 염화나트륨, 및 약 0.01%의 폴리소르베이트 80을 포함하거나 이들로 본질적으로 구성됨)은 사전-충전 실린지에 함유될 수 있다. 일부 예에서, 사전-충전 실린지는 단일-용량 사전-충전 실린지이다. 다른 예에서, 고농도 항체 제형은 자동주사기에 함유될 수 있다. 또 다른 예에서, 고농도 항체 제형은 펜 전달 장치(예를 들어, 사전-충전 펜)에 함유된다.

[0088] 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 바와 같은 고농도 항체 제형은 표준 바늘 및 실린지를 사용하여, 예를 들어 피하로 전달될 수 있다. 일부 실시 양태에서, 실린지는 사전-충전 실린지이다. 일부 실시 양태에서, 펜 전달 장치 또는 자동주사기는 고농도 항체 제형을 전달하기 위해(예를 들어, 피하 전달을 위해) 사용된다. 펜 전달 장치는 재사용이 가능하거나 일회용일 수 있다. 전형적으로, 재사용 가능한 펜 전달 장치는 고농도 항체 제형을 함유하는 교체 가능한 카트리지를 활용한다. 카트리지 내의 항체 제형이 투여되고 카트리지가 비워지면, 빈 카트리지는 쉽게 폐기되고 항체 제형이 함유된 새로운 카트리지로 교체될 수 있다. 그런 다음 펜 전달 장치를 재사용할 수 있다. 일회용 펜 전달 장치에는 교체 가능한 카트리지가 없다. 오히려, 일회용 펜 전달 장치에는 장치 내의 저장소에 보유된 항체 제형으로 미리 채워져 있다. 저장소에서 항체 제형이 비워지면 전체 장치가 폐기된다.

[0089] 적합한 펜 및 자동주사기 전달 장치의 예에는 AUTOPEN™(Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), DISETRONIC™ 펜(Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland), HUMALOG MIX 75/25™ 펜, HUMALOG™ 펜, HUMALIN

70/30™ 펜(Eli Lilly and Co., Indianapolis, Ind.), NOVOPEN™ I, II 및 III(Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIOR™(Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), BDM 펜(Becton Dickinson, Franklin Lakes, N.J.), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™, 그리고 OPTICLIK™(Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany)가 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 본원에 개시된 고농도 항체 제형의 피하 전달에 적용되는 일회용 펜 전달 장치의 예에는 SOLOSTAR™ 펜(Sanofi-Aventis), FLEXPEN™(Novo Nordisk) 및 KWiKPEN™(Eli Lilly), SURECLICK™ 자동주사기(Amgen, Thousand Oaks, Calif.), PENLET™(Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN™(Dey, L.P.), 그리고 HUMIRA™ 펜(Abbott Labs, Abbott Park Ill.)이 포함되지만 이에 제한되지 않는다.

[0090] 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 바와 같은 고농도 항체 제형은 조절 방출 시스템을 사용하여 전달된다. 일부 실시 양태에서, 펌프가 사용될 수 있다(문헌[Langer, supra; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201] 참조). 또 다른 실시 양태에서, 중합체 물질이 사용될 수 있다; 문헌[Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise(eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Fla] 참조. 또 다른 실시 양태에서, 조절 방출 시스템은 조성물의 표적 근처에 배치될 수 있으므로 전신 투여량의 일부만을 필요로 한다(예를 들어, 문헌[Goodson, 1984, in Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138] 참조). 다른 조절 방출 시스템은 문헌[Langer, 1990, Science 249:1527-1533]의 검토에서 논의된다.

[0091] 본원에 개시된 바와 같은 고농도 항체 제형을 함유하는 임의의 전달 장치도 또한 본 개시내용의 범위 내에 있다.

[0092] **II. 고농도 항체 제형의 치료적 적용**

[0093] 본원에 개시된 방법을 실시하기 위해, 본원에 개시된 임의의 고농도 항-IgE 항체 제형의 유효량을 적합한 경로, 예컨대 피하 주사 또는 근육 주사를 통해 치료를 필요로 하는 대상체(예를 들어, 인간)에게 투여할 수 있다.

[0094] 본원에 기술된 방법에 의해 치료될 대상체는 포유동물, 보다 바람직하게는 인간일 수 있다. 포유동물에는 농장 동물, 스포츠 동물, 애완동물, 영장류, 말, 개, 고양이, 마우스 및 래트가 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 치료를 필요로 하는 인간 대상체는 IgE와 관련된 장애(예를 들어, 알레르기성 천식뿐만 아니라 당업계에 알려져 있고/있거나 본원에 개시된 다른 장애)를 갖거나, 상기 장애에 대한 위험이 있거나, 상기 장애를 갖는 것으로 의심되는 인간 환자일 수 있다. 알레르기성 천식과 같은 IgE-관련 장애를 갖는 대상체는 일상적인 의료 검사, 예를 들어 실험실 테스트에 의해 식별될 수 있다. IgE-관련 장애를 갖는 것으로 의심되는 대상체는 장애의 하나 이상의 증상, 예를 들어 IgE 수준의 상승 및/또는 알레르겐 및/또는 항원에 대한 과민 반응을 보일 수 있다. 장애에 대한 위험이 있는 대상체는 해당 장애에 대한 위험 인자 중 하나 이상을 갖는 대상체일 수 있다.

[0095] 예시적인 IgE-관련 장애에는 천식, 알레르기성 비염, 과다 IgE 증후군, 아토피성 피부염, 한랭-유발 두드러기, 만성 두드러기, 콜린성 두드러기, 만성 비부비동염, 전신 비만세포증, 피부 비만세포증, 알레르기성 기관지폐 아스페르길루스증, 재발성 특발성 혈관부종, 간실성 방광염, 호산구-관련 위장 장애, 음식 알레르기 또는 약물 알레르기가 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 일부 예에서, 표적 IgE-관련 장애는 아토피성 피부염이다.

[0096] 본원에 사용된 바와 같은 "유효량"은 단독으로 또는 하나 이상의 다른 활성제와 조합하여 대상체에 치료 효과를 부여하는 데 필요한 각 활성제의 양을 지칭한다. 유효량은, 당업자가 인식하는 바와 같이, 치료할 특정 병태, 병태의 중증도, 연령, 신체 상태, 크기, 성별 및 체중을 포함한 개별 환자 매개변수, 치료 기간, 동시 치료의 성질(존재하는 경우), 특정 투여 경로 및 보건 의료인의 지식 및 전문성 내에서 유사한 인자에 따라 다양하다. 이러한 인자들은 당업계에 잘 알려져 있으며 일상적인 실험만으로 해결될 수 있다. 개별 성분 또는 이들의 조합의 최대 용량, 즉 건전한 의학적 판단에 따라 가장 안전한 용량을 사용하는 것이 일반적으로 바람직하다. 그러나 당업자는 환자가 의학적 이유, 심리적 이유 또는 사실상 임의의 다른 이유로 인해 더 낮은 용량 또는 허용가능한 용량을 주장할 수 있음을 이해할 것이다.

[0097] 반감기와 같은 경험적 고려사항은 일반적으로 투여량을 결정하는 데 영향을 미친다. 예를 들어, 인간화 항체 또는 완전 인간 항체와 같은 인간 면역계와 호환 가능한 항체를 사용하여 항체의 반감기를 연장하고 숙주 면역계의 공격을 받는 것을 방지할 수 있다. 투여 빈도는 치료 과정에 걸쳐 결정되고 조정될 수 있으며, 일반적으로 IgE와 관련된 장애의 치료 및/또는 억제 및/또는 개선 및/또는 지연을 기반으로 하지만 반드시 그럴 필요는 없다. 대안적으로, 항-CεmX 항체의 지속적인 연속 방출 제형이 적절할 수 있다. 지속적인 방출을 달성하기 위한 다양한 제형 및 장치가 당업계에 알려져 있다.

[0098] 일 예에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CεmX 항체의 투여량은 항-CεmX 항체를 1회 이상 투여받은 개체에서

경험적으로 결정될 수 있다. 개체에게는 항-CεmX 항체가 점증 투여량(incremental dosages)이 제공된다. 항-CεmX 항체의 효능을 평가하기 위해, IgE(예컨대 IgE의 수준)와 관련된 장애의 지표를 따를 수 있다.

[0099] 본 개시내용의 목적을 위해, 항-CεmX 항체의 적절한 투여량은 이용되는 특정 항-CεmX 항체(들)(또는 이의 조성물), IgE와 관련된 장애의 유형 및 중증도, 항체가 예방 또는 치료 목적으로 투여되는지 여부, 이전 요법, 환자의 임상 병력 및 항체에 대한 반응 및 주치의의 재량에 따라 달라질 것이다. 전형적으로 임상의는 원하는 결과를 얻을 수 있는 투여량에 도달할 때까지 FB825와 같은 항-CεmX 항체를 투여할 것이다. 항-CεmX 항체의 투여는 예를 들어 수용자의 생리적 상태, 투여 목적이 치료인지 예방인지 여부 및 숙련된 의사에게 알려진 다른 인자에 따라 연속적이거나 간헐적일 수 있다.

[0100] 일부 실시 양태에서, 본원에 기술된 항-CεmX 항체(예를 들어, FB825)는 총 IgE 수준을 적어도 20%(예를 들어, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 그 초과)만큼 감소시키기에 충분한 양으로 치료가 필요한 대상체에게 투여된다.

[0101] 본원에 사용되는 바와 같은 용어 "치료하는"은 장애, 질환의 증상 또는 질환에 대한 소인을 관리, 치유, 완화, 경감, 변경, 보완, 호전, 개선 또는 영향을 미칠 목적으로, IgE와 관련된 질환, IgE와 관련된 질환의 증상, 또는 질환에 대한 소인을 갖는 대상체에게 하나 이상의 활성제를 포함하는 조성물을 적용 또는 투여하는 것을 지칭한다.

[0102] IgE와 관련된 질환을 완화시키는 것은 질환의 발달 또는 진행을 지연시키거나, 질환의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 질환을 완화시키는 것은 반드시 치료 결과를 필요로 하지 않는다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 질환(예컨대 IgE와 관련된 질환)의 발달을 "지연"시키는 것은 질환의 진행을 지연, 방해, 둔화, 지체, 안정화 및/또는 연기하는 것을 의미한다. 이러한 지연은 질환의 병력 및/또는 치료받는 개체에 따라 기간이 다양할 수 있다. 질환의 발달을 "지연" 또는 완화시키는 방법은 해당 방법을 사용하지 않는 것과 비교했을 때 주어진 시간 프레임 내에 질환의 하나 이상의 증상이 나타날 확률을 감소시키고/시키거나 주어진 시간 프레임 내에 증상의 정도를 감소시키는 방법이다. 이러한 비교는 전형적으로 통계적으로 유의미한 결과를 제공하기에 충분한 수의 대상체를 사용하는 임상 연구에 기초한다.

[0103] 질환의 "발달" 또는 "진행"은 질환의 초기 징후 및/또는 뒤따르는 진행을 의미한다. 질환의 발달은 당업계에 잘 알려진 표준 임상 기술을 사용하여 검출 가능하고 평가될 수 있다. 그러나 발달은 또한 검출할 수 없는 진행을 지칭하기도 한다. 본 개시내용의 목적상, 발달 또는 진행은 증상의 생물학적 과정을 지칭한다. "발달"은 발생, 재발 및 발병을 포함한다. 본원에 사용되는 바와 같이 IgE와 관련된 질환의 "발병" 또는 "발생"은 초기 발병 및/또는 재발을 포함한다.

[0104] 본원에 기술된 바와 같은 방법을 수행하기 위해, 임의의 항-CεmX 항체, 예컨대 FB825는 치료를 필요로 하는 대상체(예를 들어, 인간 환자)에게 적합한 경로, 예를 들어 정맥 주사 또는 피하 주사를 통해 단일 용량으로 또는 다중 용량으로 제공될 수 있다. 각 투여에 대한 항-CεmX 항체의 투여량은 본원에 기술된 것을 포함하는 다양한 인자에 따라 약 0.5mg/kg 내지 약 25mg/kg(예를 들어, 약 1mg/kg 내지 약 20mg/kg, 약 5mg/kg 내지 약 15mg/kg, 또는 약 10mg/kg 내지 약 20mg/kg) 범위일 수 있다. 병태에 따라 며칠 이상 반복 투여하는 경우, 원하는 증상 억제가 나타날 때까지 또는 IgE와 관련된 장애 또는 이의 증상을 완화시키기에 충분한 치료 수준이 달성될 때까지 치료가 지속된다.

[0105] 항-CεmX 항체(예를 들어, FB825)의 투여는 미리 선택된 기간에 걸쳐 본질적으로 연속적일 수 있거나, 예를 들어 IgE와 관련된 장애가 발달하기 전, 도중 또는 후에 일련의 간격을 둘 수 있다. 예시적인 투여 양생법은 항-CεmX 항체의 제1 용량(예를 들어, 3mg/kg, 5mg/kg, 10mg/kg, 15mg/kg, 20mg/kg, 또는 25mg/kg)을 투여한 다음, 제1 용량 이후 적어도 3개월(예를 들어, 4개월, 5개월, 또는 6개월) 후에 제2 용량을 치료를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 제2 투여의 투여량은 제1 투여보다 높거나, 동일하거나 낮을 수 있다. 의사가 달성하고자 하는 약동학적 붕괴 패턴에 따라 다른 투여 양생법이 유용할 수 있다.

[0106] 일부 실시 양태에서, 치료를 필요로 하는 대상체(예를 들어, 아토피성 피부염과 같은 IgE-관련 알레르기 장애를 갖는 인간 환자)에게는 적합한 양, 예를 들어, 3mg/kg, 5mg/kg, 10mg/kg, 15mg/kg, 20mg/kg, 또는 25mg/kg)의 항체의 제1 용량이 제공될 수 있다. 그런 다음 대상체는 IgE-관련 장애를 나타내는 증상, 예를 들어 알레르기 반응 및/또는 총 IgE 수준 상승에 대해 주기적으로 모니터링된다. 그러한 증상이 관찰되면, 항체의 제2 용량이 대상체에게 제공될 수 있다. 제1 용량 및 제2 용량은 적어도 3개월 간격으로, 예를 들어 3개월 간격, 4개월 간격, 5개월 간격, 6개월 간격, 9개월 간격, 또는 12개월 간격을 두고 대상체에게 투여될 수 있다.

[0107] 일부 실시 양태에서, 치료를 필요로 하는 대상체(예를 들어, 아토피성 피부염와 같은 IgE-관련 알레르기 장애를 갖는 인간 환자)에게는 단 1회 용량의 고농도 항체 제형이 제공된다. 항체 제형은 FB825의 항-IgE 항체를 포함할 수 있다.

[0108] 또한, 본 개시 내용의 범위 내에는 IgE-관련 장애의 발생 위험을 감소시키기 위한 임의의 항-CεmX 항체를 사용한 IgE-관련 장애의 예방적 치료가 포함된다. 이러한 예방적 치료에 적합한 대상체는 IgE-관련 장애의 병력 및/또는 IgE-관련 장애의 가족력을 갖는 인간 환자일 수 있다.

[0109] 의학 분야의 당업자에게 공지된 통상적인 방법을 사용하여 치료할 질환의 유형 또는 질환의 부위에 따라 대상체에게 약제학적 조성물을 투여할 수 있다. 이 조성물은 또한 다른 통상적인 경로, 예를 들어 경구로, 비경구로, 흡입 스프레이에 의해, 국소로, 비강으로, 구강으로, 질로 또는 이식된 저장소를 통해 투여될 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "비경구"는 피하, 피내, 정맥내, 근육내, 관절내, 동맥내, 윤활막내, 흉골내, 척수강내, 병변내 및 두개내 주사 또는 주입 기술을 포함한다. 또한, 이는 주사 가능한 데포 경로를 통해, 예컨대 1개월, 3개월 또는 6개월 데포 주사 가능하거나 생분해성 물질 및 방법을 사용하여 대상체에게 투여될 수 있다.

[0110] 본원에 기술된 방법에 사용되는 특정 투여 양생법, 즉 용량, 시기 및 반복은 특정 대상체 및 해당 대상체의 병력에 따라 달라질 것이다. 본원에 기술된 임의의 항-CεmX 항체는 제제의 효과를 강화 및/또는 보완하는 역할을 하는 다른 제제(예를 들어, IgE-관련 장애를 치료하기 위한 다른 제제)와 함께 사용될 수 있다.

[0111] 일부 실시 양태에서, 본원에 기술된 바와 같은 항-CεmX 항체, 예를 들어, FB825는 다음와 같은 아토피성 피부염을 치료하기 위해 사용된다. 습진으로도 알려진 아토피성 피부염은 붉어짐 및/또는 가려움증을 특징으로 하는 만성 피부 상태이다. 어린이에게 흔히 발생하지만 모든 연령에서 발생할 수 있다. 치료가 필요한 환자는 건조한 피부, 가려움증, 붉은색에서 갈회색 반점, 긁으면 체액이 새어나오고 딱지가 생길 수 있는 작고 융기된 돌기, 두꺼워지고, 갈라지고, 비늘로 덮인 피부 및/또는 긁어서 피부가 거칠어지고, 민감해지고, 부어오른 피부를 포함한 아토피성 피부염의 하나 이상의 증상을 갖는 것으로 일상적인 의료 행위로 식별될 수 있다. 일부 경우에, 후보 대상체의 총 IgE 수준 및 알레르겐-특이적 IgE 수준은 일상적인 실시를 통해 검사될 수 있다. 후보 대상체의 IgE 수준(예를 들어, 총 IgE, 알레르겐-특이적 IgE 또는 둘 다)이 정상 수준보다 높은 경우(예를 들어, 아토피성 피부염 또는 IgE와 관련된 기타 알레르기 질환이 없는 동일한 종의 대상체, 예를 들어 인간에서 평균 IgE 수준을 나타냄).

[0112] 치료가 필요한 인간 환자에게는 본원에 기술된 바와 같은 통상적인 경로를 통해 3mg/kg 내지 8mg/kg 범위일 수 있는 항체의 제1 용량이 제공될 수 있다. 일부 경우에, 제1 용량은 5mg/kg이다. 제1 용량 투여 후, 환자의 총 IgE 수준을 모니터링할 수 있다. 제1 용량 투여 후 3-4주 후에 IgE 수준의 감소가 50% 미만인 경우, 제1 용량 투여 후 3-4주 후에 항체의 제2 용량을 환자에게 제공할 수 있다. 제2 용량은 제1 용량과 동일하거나 제1 용량보다 낮을 수 있다. 일부 경우에, 제1 용량과 제2 용량 둘 다 5mg/kg이고, 1-2시간 내에 IV 주입을 통해 투여된다. 효능 및/또는 안정성을 나타내는 다른 바이오마커 또한 치료 과정 동안 모니터링될 수 있다. 이러한 바이오마커에는 흉선 및 활성화 조절 케모카인(TARC), 에오탁신-3, 흉선 간질 림프포이에틴(TSLP), 페리오스틴, IL-1a, IL-4, IL-5, IL-13, IL-16, IL-31, M-CSF, 또는 이들의 조합이 포함되지만 이에 제한되지 않는다.

[0113] 상기 언급된 치료를 받는 인간 환자는 예를 들어 Hannifin 및 Rajka의 Eishenfield 개정된 기준에 의해 정의되고 양성 알레르겐-특이적 IgE에 의해 뒷받침되는 일상적인 의료 행위에 의해 진단된 바와 같이 적어도 3년 동안 만성 아토피성 피부염을 가질 수 있다. 환자는 다음 특징들 중 하나 이상을 가질 수 있다: (i) 습진 부위 및 중증도 지수(EASI) 점수가 14보다 높음, (ii) 조사자의 종합 평가(IGA) 점수가 3보다 높음(5점 척도), (iii) 10% 초과의 체표면적(BSA), (iv) 치료 전 적어도 1개월 또는 적어도 3개월 동안 국소 코르티코스테로이드 또는 칼시뉴린 억제제의 안정적 양생법에 부적절한 반응을 보인 이력. 또한, 인간 환자에게는 치료 전 적어도 7일 동안 하루 2회 안정한 용량의 완화제가 제공될 수 있다.

[0114] 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 치료를 위한 대상체는 낮은 IgG4 수준(예를 들어, 낮은 혈청 IgG4 수준)을 갖는 인간 환자이다. 원하는 경우, IgE 수준은 IgG4 수준과 함께 측정된다. 인간 환자는 아토피성 피부염과 같은 IgE-관련 알레르기 장애를 갖거나 갖는 것으로 의심될 수 있다.

[0115] 혈청과 같은 채액 내 IgG4는 효소-결합 면역 흡착 검정(ELISA); 알칼리성 포스파타제 면역 검정 자동-분석기, 예컨대 EVEVIULITE® 시스템(Siemens Healthcare Diagnostics, Erlangen, Germany); 방사성 알레르기 흡착 테스트(RAST), 또는 불소효소 면역 검정 자동-분석기, 예컨대 ImmunoCAP® 시스템(Thermo Fisher Scientific/Phadia, Uppsala, Sweden)을 포함하는, 당업계에 알려진 방법, 예를 들어 국게 공개 특허

WO2019/089978호에 개시된 정량 검정을 사용하여 검출할 수 있다. 추가적인 적합한 방법에는 형광 효소 면역 검정(FEIA) 자동-분석기(예를 들어, ImmunoCAP® 시스템)가 포함된다. 해당 기술에 의해 결정된 항체(예를 들어, IgE 또는 IgG4)의 수준이 형광 효소 면역검정 자동-분석기에 의한 측정으로 정규화될 수 있으므로 또 다른 기술이 사용될 수 있다. 즉, 항체(예를 들어, IgE 또는 IgG4)의 수준은 기술에 의해 결정될 수 있고, 형광 효소 면역검정 자동-분석기에 의해 측정된 바와 같은 수준에 해당할 수 있다. 바이오마커의 수준은 바람직하게는 시험관 내에서 결정된다.

[0116] 환자 후보로부터 얻은 IgG4 수준은 항-IgE 요법에 반응하는 환자와 상기 요법에 대한 반응성이 낮은 환자를 구별하는 IgG4 수준을 나타내는 미리 결정된 값과 비교될 수 있다. 이러한 미리 결정된 값은 항-IgE 요법 반응자 대 항-IgE 요법 비-비반응자에서의 대표적인 IgG4 수준의 분석을 기초로 제시될 수 있다. 미리 결정된 값은 대상체와 일치하는 생리적 특징, 예를 들어 연령, 성별, 인종적 배경 등을 고려할 수 있다.

[0117] 일부 경우에, 본원에 기술된 바와 같은 항-CεmX 항체(예를 들어, FB825)는 보습제(예를 들어, 적어도 하루 2회와 같은 안정적인 용량) 및/또는 국소 코르티코스테로이드(TCS)와 함께 공동-사용될 수 있다. 중간 효능의 TCS는 활성 병변이 있는 영역에 적용될 수 있으며, 병변이 통제된 후에는 저효능의 TCS로 전환될 수 있다. 병변이 재발하는 경우, 중간 효능의 TCS 치료를 단계적으로 낮추어 재개할 수 있다. 중간 효능의 TCS로 매일 치료한 후에도 병변이 지속되거나 악화되는 경우, 안전하지 않다고 간주되지 않는 한 고효능 또는 초고효능의 TCS가 사용될 수 있다. 저효능의 TCS는 피부가 얇은 영역(예를 들어, 얼굴, 목, 간찰, 음부 또는 피부 위축 영역) 또는 중간 효능의 TCS를 계속 사용하는 것이 안전하지 않은 것으로 간주되는 영역에 사용될 수 있다.

[0118] 저효능, 중간 효능 및 고효능 또는 초고효능을 갖는 TCS는 당업계에 잘 알려져 있다. 예시적인 중간 효능 TCS는 0.05% 플루티카손 프로피오네이트 크림, 0.1% 모메타손 푸로에이트 크림, 또는 0.06% 베타메타손 발레레이트 크림을 포함한다. 예시적인 저효능 TCS는 1% 하이드로코르티손 연고를 포함한다. 예시적인 고효능 TCS는 0.05% 플루오시노나이드 크림 또는 0.25% 데소메타손 연고일 수 있다. 예시적인 초고효능 TCS는 0.05% 클로베타솔 프로피오네이트 연고일 수 있다.

[0119] 일부 경우에, 본원에 기술된 치료 대상 환자는 다음 요법 중 하나 이상을 받지 않는다: (i) 국소 타크로리무스 및 피메크로리무스, (ii) 코르티코스테로이드의 전신 치료, (iii) 류코트리엔 억제제, (iv) 알레르겐 면역요법, (v) 면역억제제 또는 면역조절제(예를 들어, 사이클로스포린, 마이코페놀레이트-모페틸, IFN-γ, 아자티오프린, 메토트렉세이트 또는 생물제제)의 전신 치료, (vi) 생(예를 들어, 약독화) 백신 및/또는 (vii) 중국 전통 약제. 환자는 또한 임의의 수술 절차 및/또는 UV 절차를 받지 않을 수 있다.

[0120] 본원에 기술된 임의의 방법은 1차 용량 투여 후 대상체에서 감소된 헤모글로빈, 상기도 감염, 요로 감염 또는 이들의 조합의 발생을 평가하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 1회 이상 발생하는 경우, 제2 용량의 항-CεmX 항체(예를 들어, FB825)의 양을 감소시킬 수 있다. 대안적으로, 치료를 중단할 수 있다.

[0121] **III. IgE-관련 장애를 치료하는데 사용하기 위한 키트**

[0122] 본 개시 내용은 또한 임의의 본원에 개시된 고농도 항체 제형을 사용하여 IgE-관련 장애를 치료하는데 사용하기 위한 키트를 제공한다. 이러한 키트는 고농도 항체 제형(예를 들어, 약 150mg/ml의 항체, 예컨대 FB825, 약 10mM의 히스티딘, 약 1.25%의 아미노산, 약 75mM의 염화나트륨, 및 약 0.01%의 폴리소르베이트 80을 포함하는 제형)을 포함하는 하나 이상의 용기를 포함할 수 있다.

[0123] 일부 실시 양태에서, 키트는 본원에 기술된 임의의 방법에 따라 사용하기 위한 지침을 포함할 수 있다. 포함되어 있는 지침에는 본원에 기술된 임의의 방법에 따라 IgE-관련 장애를 치료하거나, 발병을 지연시키거나, 또는 완화시키기 위한 고농도 항체 제형을 투여하는 설명을 포함할 수 있다. 키트는 개체가 장애를 갖고 있는지, 갖는 것으로 의심되는지 또는 장애에 대한 위험이 있는지를 식별하는 것에 기초하여 치료에 적합한 개체를 선택하는 설명을 추가로 포함할 수 있다. 또 다른 실시 양태에서, 지침에는 IgE-관련 장애가 발달할 위험을 감소시키기 위해 치료를 필요로 하는 대상체에게 고농도 항체 제형을 투여하는 것에 대한 설명이 포함된다.

[0124] 고농도 항체 제형의 사용과 관련된 지침은 일반적으로 의도된 치료를 위한 투여량, 투여 스케쥴, 및 투여 경로가 포함된다. 용기는 단위 용량, 벌크 패키지(예를 들어, 다중-용량 패키지) 또는 하위-단위 용량일 수 있다. 본 발명의 키트에 공급되는 지침은 전형적으로 라벨 또는 패키지 삽입물(예를 들어, 키트에 포함된 종이 시트)에 작성된 지침이지만, 기계 판독 가능한 지침(예를 들어, 자기 또는 광학 저장 디스크에 담긴 지침) 또한 허용가능하다.

[0125] 라벨 또는 패키지 삽입물은 조성물이 IgE-관련 장애를 치료, 발병을 지연시키고/시키거나 완화시키기 위해 사용된다. 지침은 본원에 기술된 임의의 방법을 실시하기 위해 제공될 수 있다.

[0126] 본 개시내용의 키트는 적합한 패키징 내에 존재한다. 적합한 패키징에는 바이알, 병, 단지, 신축성 패키징(예를 들어, 실링된 Mylar 또는 플라스틱 백) 등이 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 흡입기, 비강 투여 장치(예를 들어, 분무기) 또는 주입 장치, 예컨대 미니 펌프와 같은 특정 장치와 조합하여 사용하기 위한 패키지도 고려된다.

[0127] 키트는 선택적으로 버퍼 및 해석 정보와 같은 추가 성분을 제공할 수 있다. 일반적으로, 키트는 용기 및 용기 상의 또는 용기와 관련된 라벨 또는 패키지 삽입물(들)을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 본 개시내용은 상기 기술된 키트의 내용물을 포함하는 제조 물품을 제공한다.

[0128] ***일반 기술***

[0129] 본 개시내용의 실시는 달리 명시되지 않는 한 당업계의 기술 내에 있는 분자 생물학(재조합 기술 포함), 미생물학, 세포 생물학, 생화학 및 면역학의 통상적인 기술을 사용할 것이다. 이러한 기술은 하기와 같은 문헌에 완전히 설명되어 있다: *Molecular Cloning: A Laboratory Manual,* second edition(Sambrook, 등, 1989) Cold Spring Harbor Press; *Oligonucleotide Synthesis*(M. J. Gait, ed. 1984); *Methods in Molecular Biology*, Humana Press; *Cell Biology: A Laboratory Notebook*(J. E. Cellis, ed., 1989) Academic Press; Animal Cell Culture(R. I. Freshney, ed. 1987); Introuction to Cell and Tissue Culture(J. P. Mather and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures(A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell, eds. 1993-8) J. Wiley and Sons; Methods in Enzymology(Academic Press, Inc.); Handbook of Experimental Immunology(D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds.): Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells(J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987); Current Protocols in Molecular Biology(F. M. Ausubel, 등 eds. 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction(Mullis, 등, eds. 1994); Current Protocols in Immunology(J. E. Coligan 등, eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology(Wiley and Sons, 1999); Immunobiology(C. A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies(P. Finch, 1997); Antibodies: a practice approach(D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal antibodies: a practical approach(P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using antibodies: a laboratory manual(E. Harlow and D. Lane(Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies(M. Zanetti and J. D. Capra, eds. Harwood Academic Publishers, 1995); *DNA Cloning: A practical Approach,* Volumes I and II(D.N. Glover ed. 1985); *Nucleic Acid Hybridization*(B.D. Hames & S.J. Higgins eds.(1985≫; *Transcription and Translation*(B.D. Hames & S.J. Higgins, eds.(1984≫; *Animal Cell Culture*(R.I. Freshney, ed.(1986≫; *Immobilized Cells and Enzymes*(IRL Press, (1986≫; 그리고 B. Perbal, *A practical Guide To Molecular Cloning*(1984); F.M. Ausubel 등 (eds.).

[0130] 추가 정교화 없이도, 당업자는 상기 설명에 기초하여 본 발명을 최대한 활용할 수 있다고 믿어진다. 따라서 다음의 특정 실시 양태는 단지 예시적인 것으로 해석되어야 하며 어떤 방식으로든 본 개시내용의 나머지 부분을 제한하지 않는 것으로 해석되어야 한다. 본원에 인용된 모든 간행물은 본원에 언급된 목적이나 주제에 대해 참조로 포함된다.

[0131] **실시예 1: 적합한 계면활성제에 대한 스크리닝**

[0132] FB825를 10kDa MWCO 원심 농축기를 사용하여 10mg/ml로 농축시킨 다음, 다양한 후보 계면활성제를 원하는 최종 농도까지 첨가하였다. 생성된 제형을 실온에서 4시간 동안 교반한 다음, SEC-HPLC 및 MFI(Micro-Flow Imaging)으로 분석하였다. 눈에 보이지 않는 입자의 크기 측정 및 계수를 Brightwell Technologies의 MFI 장비를 사용하여 수집하였다. MFI 데이터에 디지털 필터를 적용하여 기포 또는 정적 입자를 제외시켰다.

[0133] 본 연구에서는 세 가지 계면활성제인 폴리소르베이트 80(P80, 0.01%), 폴리소르베이트 20(P20, 0.01%) 및 Pluronic F68(F68, 0.1%)을 조사하였다. MFI 분석은 계면활성제가 없는 교반된 샘플에서는 입자의 축적을 보인 반면, 계면활성제를 첨가하면 입자의 축적이 감소한 것을 보여주었다. 0.01%의 폴리소르베이트 80은 가장 낮은 입자 수를 보였다.

[0134] **실시예 2: 적합한 버퍼 및 등장성 조절제에 대한 스크리닝**

[0135] 다중 완충제(아세테이트, 히스티딘 및 인산염), pH 조건(pH 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 및 8.0) 및 등장성 조절제(염화

나트륨 및 소르비톨)를 본 실시예에서 조사하여 안정적인 FB825 제형을 생산하기 위한 선택 성분 및 농도를 식별하였다. 하기 표 1에는 본 실시예에서 테스트된 다양한 F825 제형의 성분이 나열되어 있다.

[0136] **표 1. 테스트된 FB825 제형**

제형	버퍼	pH	등장성 조절제	계면활성제 PS80 (%)
A4N	10 mM 아세트산나트륨	4.0	150 mM NaCl	0.01
A4S	10 mM 아세트산나트륨	4.0	5% 소르비톨	0.01
A5N	10 mM 아세트산나트륨	5.0	150 mM NaCl	0.01
A5S	10 mM 아세트산나트륨	5.0	5% 소르비톨	0.01
H6N	10 mM 히스티딘	6.0	150 mM NaCl	0.01
H6S	10 mM 히스티딘	6.0	5% 소르비톨	0.01
P6N	10 mM 인산나트륨	6.0	150 mM NaCl	0.01
P6S	10 mM 인산나트륨	6.0	5% 소르비톨	0.01
P7N	10 mM 인산나트륨	7.0	150 mM NaCl	0.01
P7S	10 mM 인산나트륨	7.0	5% 소르비톨	0.01
P8N	10 mM 인산나트륨	8.0	150 mM NaCl	0.01
P8S	10 mM 인산나트륨	8.0	5% 소르비톨	0.01

[0137]

[0138] 상기 표 1에 나열된 제형을 SEC-HPLC 분석을 사용하여 하기 표 2에 제공된 교반, 동결/해동, 감광성, 온도 조건 하에서의 안정성에 대해 검사하였다.

[0139] **표 2. 안정성 테스트 조건**

스트레스 조건 및 분석 시점		
스트레스	조건	시점 (s)
교반	와류	4 시간
동결/해동	-70℃ 내지 주변 온도	5 회 연속 사이클
감광성	광범위한 스펙트럼의 UV 광 노출	24 시간
온도	-20℃; 5℃; 25℃; 40℃	0, 1, 2, 4, 8 주

[0140]

[0141] 상기 결과는 pH 6.0의 10mM 히스티딘, 150mM NaCl, 0.01% PS80을 함유하는 제형(H6N)이 상기 언급된 테스트 조건하에서 최고의 안정성을 나타냄을 보여준다. 예를 들어, 제형 H6N은 8주 동안 40℃에서 유지된 후 최고의 안정성을 보여주었다. 표 3.

[0142] **표 3. 안정성 테스트 - 온도(8주 동안 40℃)**

스트레스	제형	SEC-HPLC 분석			SCX-HPLC 분석		
		HMW (%)	주요 피크 (%)	LMW (%)	산성 피크 (%)	주요 피크 (%)	염기성 피크 (%)
8주 동안 40℃	DS 대조군	0.3	98.9	0.8	27.2	61.1	11.6
	A4N	0.0	19.2	80.7	60.1	13.4	24.1
	A4S	0.1	76.3	19.5	58.4	19.4	21.7
	A5N	0.6	86.8	12.2	51.4	27.8	20.8
	A5S	0.5	93.6	5.3	57.9	27.7	14.3
	H6N	0.6	**96.2**	3.3	50.1	**37.5**	12.4
	H6S	0.5	96.0	3.5	57.3	30.5	12.2
	P6N	0.6	95.1	4.3	54.4	33.6	11.9
	P6S	0.6	96.1	3.4	61.6	28.0	10.4
	P7N	0.9	94.9	4.1	76.3	15.3	8.2
	P7S	0.9	95.2	3.8	76.0	15.2	8.8
	P8N	1.3	93.9	4.8	88.9	6.0	4.7
	P8S	1.1	94.5	4.4	82.6	11.8	5.6

[0143]

[0144] **실시예 3: 아미노산 부형제, 안정화제, 및 pH 조건에 대한 스크리닝**

[0145] FB825를 10kDa MWCO 원심 농축기(pH 6.5의 20mM 히스티딘 및 140mM NaCl, 0.02% PS80 중 스톡 FB825 20mg/ml)를 사용하여 약 200mg/ml로 농축시켰다. 안정화제 및 pH 효과에 대한 스크리닝에서 농축된 FB825 제형을 10mM 히스티딘, 75mM NaCl(pH 6.0), 그리고 0.01% PS80 또는 10mM 히스티딘(pH 6.0) 및 0.01% PS80에 대해 투석하였다. 투석된 샘플을 약 200mg/ml FB825로 농축시키고, 선택적 아미노산 부형제, 안정화제 및 pH 조건을 식별하는데 사용하였다.

[0146] *(i) 아미노산 부형제에 대한 스크리닝*

[0147] 하기 표 5에 나열된 19개의 아미노산 중 하나를 각각 포함하는 FB825 제형을 48시간 동안 50℃에서 보관한 후 표 4에도 나열된 물리적 특징에 대해 조사하였다.

[0148] **표 4. 아미노산 부형제 스크리닝을 위한 조건**

19개의 다양한 아미노산 부형제	
시간 & 온도	분석 방법
50℃, 48시간	탁도 (A_{650})
	오스몰 농도
	SEC-HPLC
	DLS

[0149]

[0150] 결과는 하기 표 5에 나타나있다.

[0151] **표 5. 아미노산 부형제 스크리닝**

아미노산 (w/v)	pH	버퍼	등장성 조절제	계면활성제	FB825 (mg/ml)	탁도 (A_{650})	HMW (%)	주요 피크 (%)	LMW (%)
없음	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	10	NA	0.5	99.5	0.0
없음	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	10	NA	0.5	99.5	0.0
없음	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	NA	0.9	99.1	0.0
없음	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.001	1.8	98.1	0.1
1.25% L-Ala	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.004	1.7	98.2	0.1
1.25% L-Arg	**6.0**	**10 mM 히스티딘**	**75 mM NaCl**	**0.01% PS80**	**150**	**0.003**	**1.4**	**98.5**	**0.1**
0.75% L-Asn	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.006	1.5	98.4	0.1
0.2% L-Asp	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.003	2.0	97.9	0.1
0.5% L-Gln	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.003	1.9	98.0	0.1
0.225% L-Glu	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.004	1.8	98.1	0.2
1.25% L-Gly	**6.0**	**10 mM 히스티딘**	**75 mM NaCl**	**0.01% PS80**	**150**	**0.003**	**1.4**	**98.5**	**0.1**
1.0% L-His	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.003	1.7	98.1	0.3
0.75% L-Ile	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.002	1.6	98.3	0.1
0.5% L-Leu	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.002	1.7	98.2	0.2
1.25% L-Lys	**6.0**	**10 mM 히스티딘**	**75 mM NaCl**	**0.01% PS80**	**150**	**0.002**	**1.4**	**98.5**	**0.1**
0.75% L-Met	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.002	1.5	98.3	0.1
0.625% L-Phe	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.003	1.6	98.3	0.1
1.25% L-Pro	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.003	1.7	98.2	0.1
1.25% L-Ser	**6.0**	**10 mM 히스티딘**	**75 mM NaCl**	**0.01% PS80**	**150**	**0.002**	**1.4**	**98.4**	**0.1**
1.25% L-Thr	**6.0**	**10 mM 히스티딘**	**75 mM NaCl**	**0.01% PS80**	**150**	**0.002**	**1.4**	**98.5**	**0.1**
0.25% L-Trp	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.003	1.6	98.3	0.1
0.0125% L-Tyr	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.002	1.7	98.1	0.1
1.25% L-Val	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	0.002	1.5	98.3	0.1

[0152]

[0153] 상기 표 4에 나타난 바와 같이, 아르기닌, 글리신, 라이신, 세린 및 트레오닌은 본 검정에서 우수한 안정성을 입증하였다.

[0154] *(b) 안정화제 및 pH 조건에 대한 스크리닝*

[0155] 다양한 안정화제 및 pH 조건을 포함하는 하기 표 7에 나열된 제형을 하기 표 6에 나열된 물리적 안정성 특징에 대해 조사하였다. 그 결과는 표 7 및 표 8에 나타나있다.

[0156] **표 6. 안정화제 및 pH 조건 스크리닝을 위한 조건**

안정화제 및 pH 효과	
시간 & 온도	분석 방법
55℃, 48 시간	탁도 (A_{650})
	오스몰 농도
	SEC-HPLC

[0157]

[0158] 표 7. 안정화제 및 pH 조건 스크리닝-SEC-HPLC

제형 코드	아미노산 (w/v)	안정화제 (w/v)	pH	버퍼	등장성 조절제	계면활성제	PS80 (mg/ml)	SEC-HPLC 주요 피크 (%)
C20	없음	없음	6	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	20	95.5
C150	없음	없음	6	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	**97.6**
R5.5	**1.25% L-Arg**	**없음**	**5.5**	**10 mM 히스티딘**	**75 mM NaCl**	**0.01% PS80**	**150**	**98.1**
G5.5	1.25% L-Gly	없음	5.5	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.8
K5.5	1.25% L-Lys	없음	5.5	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.8
S5.5	1.25% L-Ser	없음	5.5	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.8
T5.5	1.25% L-Thr	없음	5.5	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.8
R6.0	**1.25% L-Arg**	**없음**	**6.0**	**10 mM 히스티딘**	**75 mM NaCl**	**0.01% PS80**	**150**	**97.9**
G6.0	1.25% L-Gly	없음	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.8
K6.0	1.25% L-Lys	없음	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.8
S6.0	1.25% L-Ser	없음	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.8
T6.0	**1.25% L-Thr**	**없음**	**6.0**	**10 mM 히스티딘**	**75 mM NaCl**	**0.01% PS80**	**150**	**98.0**
R6.5	**1.25% L-Arg**	**없음**	**6.5**	**10 mM 히스티딘**	**75 mM NaCl**	**0.01% PS80**	**150**	**97.9**
G6.5	1.25% L-Gly	없음	6.5	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.7
K6.5	1.25% L-Lys	없음	6.5	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.7
S6.5	1.25% L-Ser	없음	6.5	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.7
T6.5	1.25% L-Thr	없음	6.5	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150	97.7
TT6.0	2.5% L-Thr	없음	6.0	10 mM 히스티딘	없음	0.01% PS80	150	97.8
Suc5.5	없음	5% 수크로스	5.5	10 mM 히스티딘	없음	0.01% PS80	150	97.3
Sor5.5	없음	2.5% 소르비톨	5.5	10 mM 히스티딘	없음	0.01% PS80	150	97.3
Tre5.5	없음	5% 트레할로스	5.5	10 mM 히스티딘	없음	0.01% PS80	150	97.0
Suc6.0	없음	5% 수크로스	6.0	10 mM 히스티딘	없음	0.01% PS80	150	97.1
Sor6.0	없음	2.5% 소르비톨	6.0	10 mM 히스티딘	없음	0.01% PS80	150	97.0
Tre6.0	없음	5% 트레할로스	6.0	10 mM 히스티딘	없음	0.01% PS80	150	97.1
Suc6.5	없음	5% 수크로스	6.5	10 mM 히스티딘	없음	0.01% PS80	150	96.9
Sor6.5	없음	2.5% 소르비톨	6.5	10 mM 히스티딘	없음	0.01% PS80	150	96.8
Tre6.5	없음	5% 트레할로스	6.5	10 mM 히스티딘	없음	0.01% PS80	150	96.7

[0159]

[0160] 본 연구에서, 테스트된 안정화제(수크로스, 소르비톨, 또는 트레할로스)를 함유하는 제형은 상응하는 비-안정화제 제형과 비교하여 상대적으로 낮은 주요 피크 백분율을 나타내었다. 제형 R5.5, T6.0, 및 R6.5는 가장 높은 주요 피크 백분율을 나타냈는데, 이는 48시간 동안 55℃에서 인큐베이션 한 후 안정성이 높은 것을 나타낸다. 모든 아르기닌-함유 제형은 높은 주요 피크 백분율과 낮은 HMW 피크 백분율을 모두 나타냈는데, 이는 이들 제형의 안정성(예를 들어, 분해 및 응집이 거의 없음)을 나타낸다

[0161] **표 8. 안정화제 및 pH 조건 스크리닝-오스몰 농도**

제형 코드	이론적 mOsm	측정된 mOsm	제형 코드	이론적 mOsm	측정된 mOsm
C20	180	155	K6.5	378	348
C150	310	311	S6.5	405	365
R5.5	367	364	T6.5	394	354
G5.5	443	404	TT6.0	369	335
K5.5	378	356	Suc5.5	306	279
S5.5	405	362	Sor5.5	297	240
T5.5	394	353	Tre5.5	292	255
R6.0	367	377	Suc6.0	306	253
G6.0	443	392	Sor6.0	297	270
K6.0	378	351	Tre6.0	292	265
S6.0	405	353	Suc6.5	306	274
T6.0	394	337	Sor6.5	297	243
R6.5	367	364	Tre6.5	292	254
G6.5	443	414			

[0162]

[0163] 모든 제형은 이론적 값과 비슷한 오스몰 농도 값을 나타내었다.

[0164] 대부분의 제형은 거의 등장성이었고, 약간의 차이가 있었다.

[0165] *(c) 스트레스 최적화 스크리닝*

[0166] 고농도 FB825 제형(~150mg/ml)을 45℃에서 최대 2주 동안 보관하거나 55℃에서 1주 동안 보관하였다. 그런 다음 이러한 샘플을 SEC-HPLC로 분석하였다. 하기 표 9에 나타낸 바와 같이, 45℃에서 최대 2주까지 보관한 제형에서는 주요 피크 값에 유의미한 변화가 나타나지 않았던 반면, 55℃에서 1주 동안 보관한 제형에서는 주요 피크 백분율(~4%)이 더 크게 감소한 것으로 나타났다.

[0167] **표 9. 스트레스 최적화 스크리닝**

샘플	인큐베이션 (℃)	HMW (%)	주요 피크 (%)	LMW (%)
C150 T=0	NA	2.1	95.4	2.4
C150 T=1 주, 45℃	45℃	3.1	93.3	3.6
C150 T=2 주, 45℃	45℃	3.6	93.4	3.0
C150 T=1 주, 55℃	55℃	4.8	91.5	3.8

[0168]

[0169] 또한, 표 10에 나열된 제형을 55℃에서 1주 동안 보관한 후 동일한 안정성 분석을 실시하였고 그 결과는 표 11에 나타나있다.

[0170] **표 10. 스트레스 최적화 스크리닝을 위한 제형**

제형 코드	아미노산 (w/v)	pH	버퍼	등장성 조절제	계면활성제	FB825 (mg/ml)
C20	없음	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	20
C150	없음	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
R5.5	1.25% L-Arg	5.5	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
G5.5	1.25% L-Gly	5.5	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
K5.5	1.25% L-Lys	5.5	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
S5.5	1.25% L-Ser	5.5	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
T5.5	1.25% L-Thr	5.5	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
R6.0	1.25% L-Arg	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
G6.0	1.25% L-Gly	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
K6.0	1.25% L-Lys	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
S6.0	1.25% L-Ser	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
T6.0	1.25% L-Thr	6.0	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
R6.5	1.25% L-Arg	6.5	10 mM 히스티딘	75 mM NaCl	0.01% PS80	150
TT6.0	2.50% L-Thr	6.0	10 mM 히스티딘	없음	0.01% PS80	150
RR6.0	2.50% L-Arg	6.0	10 mM 히스티딘	없음	0.01% PS80	150

[0171]

[0172] **표 11. 스트레스 최적화 스크리닝 결과**

제형 코드	인큐베이션 (55℃)	탁도 (A_{650})	HMW (%)	주요 피크 (%)	LMW (%)
C20 T=0, 55℃	NA	NA	0.8	99.2	0.0
C20 T=1 주, 55℃	55℃	0.001	1.4	97.6	1.0
C150 T=0, 55℃	NA	NA	0.8	99.2	0.0
C150 T=1 주, 55℃	55℃	0.004	4.7	94.4	0.9
R5.5 T=1 주, 55℃	**55℃**	**0.008**	**3.0**	**96.2**	**0.9**
RR6.0 T=1 주, 55℃	**55℃**	**0.003**	**3.3**	**95.7**	**1.0**
R6.0 T=1 주, 55℃	**55℃**	**0.004**	**3.4**	**95.6**	**1.0**
K5.5 T=1 주, 55℃	55℃	0.004	3.6	95.5	1.0
R6.5 T=1 주, 55℃	55℃	0.004	3.7	95.3	1.0
K6.0 T=1 주, 55℃	55℃	0.003	3.8	95.3	0.9
T5.5 T=1 주, 55℃	55℃	0.004	3.9	95.1	1.0
G5.5 T=1 주, 55℃	55℃	0.003	4.0	95.1	1.0
G6.0 T=1 주, 55℃	55℃	0.004	4.0	95.0	1.0
S5.5 T=1 주, 55℃	55℃	0.004	4.4	94.5	1.0
T6.0 T=1 주, 55℃	55℃	0.003	4.5	94.5	1.0
S6.0 T=1 주, 55℃	55℃	0.004	4.7	94.4	1.0
TT6.0 T=1 주, 55℃	55℃	0.004	5.0	94.0	1.1

[0173]

[0174] 표 11에 나타난 바와 같이, 아르기닌-함유 제형은 스트레스 최적화 스크리닝 검정에서 가장 높은 안정성을 나타내었다. 아르기닌-함유 제형(R5.5, R6.0 및 RR6.0)은 투명하고, 낮은 탁도 값과 등장성을 나타내었다. 이러한 제형은 또한 주사성 연구에서 우수한 주사 가능 특징을 보여주었다.

[0175] **실시예 4. 고농도 제형의 가속 안정성 평가**

[0176] 제형 C150, R5.5, R6.0 및 RR6.0을 표 12에 나타낸 조건하에서 가속 안정성 검정에서 추가로 조사하였다.

[0177] **표 12. 가속 안정성 분석을 위한 조건**

[0178]

스트레스	조건	시점(들)
온도	-20℃; 5℃; 25℃; 40℃	0, 2, 4, 8주
교반	와류	4시간
동결/해동	-70℃ 내지 주변 온도	5회 연속 사이클
감광성	UV 광 노출 (광범위한 스펙트럼)	8 와트 시/제곱미터

[0179] SEC-HPLC 분석은 제형을 교반 및 동결/해동으로 처리한 후에 유의미한 변화가 관찰되지 않았음을 나타낸다. 또한, US 광 노출 후 4개의 제형 간에 유의미한 차이가 관찰되지 않았다. 또한, 제형 R5.5, R6.0 및 RR6.0은 우수한 물리적 안정성을 나타냈으며, 이들 3개의 제형 간에 순도에는 유의미한 차이가 관찰되지 않았다.

[0180] **실시예 5. 장기 안정성 평가**

[0181] 제형 C10, R6.0, 및 RR6.0은 육안 검사, 단백질 농도(A_{280}), pH, 오스몰 농도, SEC-HPLC, SCX-HPLC 및 SDS-PAGE에 의해 표 13에 나타낸 바와 같이 장기 안정성 분석을 거쳤다.

[0182] **표 13. 장기 안정성 평가**

[0183]

스트레스	조건	시점 (들)
온도	-70℃	1,3,6,9,12,18 및 24개월
	5℃	0,1,3,6,9,12,18 및 24개월
	25℃	1,3 및 6개월
	40℃	1 및 3개월

[0184] SEC-HPLC 방법은 다음 조건에서 수행되었다:

[0185] · 컬럼: Tosoh TSK-Gel G3000W_{XL}, 7.8mm ID X 30cm, 5㎛

[0186] P/N 08541

[0187] · 이동상: 4X Dulbecco의 PBS(pH 7.3)

[0188] · 장비: Agilent 1100 HPLC 시스템

[0189] · 유속: 0.4ml/분

[0190] · 컬럼 온도: 주변 온도

[0191] · 검출: 280nm

[0192] · 샘플 로드: 20㎍(이동상으로 희석)

[0193] · 총 실행 시간: 30분

[0194] SCX-HPLC 방법은 하기 조건하에서 수행되었다:

[0195] · 컬럼: Dinoex MabPac SCX-10, 4 X 250mm, 10㎛ P/N 074625

[0196] · 이동상 A: 20mM Tris(pH 7.2)

[0197] · 이동상 A: 20mM Tris 및 0.2M NaCl(pH 7.2)

[0198] · 장비: Agilent 1100 HPLC 시스템

[0199] · 유속: 0.5ml/분

[0200] · 컬럼 온도: 40

[0201] · 자동 샘플러: 4

[0202] · 검출: 215nm

[0203] · 샘플 로드: 50μg(이동상 A로 희석)

[0204] · 총 실행 시간: 90분

[0205] 하기 **표 14** 는 2년의 기간 동안 제형 C10, R6.0, 및 RR6.0의 SEC-HPLC 및 SCX-HPLC 결화를 나타낸다. 고농도 제형 R6.0, 및 RR6.0은 2년의 보관 기간 동안 우수한 안정성을 보였다.

[0206] **표 14. 2년 동안 FB825 제형에 대한 SEC-HPLC 및 SCX-HPLC 결과**

시점	제형 코드	SEC-HPLC 분석 (주요 피크 %)								SCX-HPLC 분석 (주요 피크 %)							
		T=0	T=1 M	T=3 M	T=6 M	T=9 M	T=12 M	T=18 M	T=24 M	T=0	T=1 M	T=3 M	T=6 M	T=9 M	T=12 M	T=18 M	T=24 M
-70℃	C10	99.0	98.9	99.1	99.0	99.0	98.9	98.8	**98.8**	53.5	52.4	53.8	54.5	55.3	54.7	55.4	**54.3**
	R6.0	99.3	99.2	99.3	99.2	99.3	99.3	99.2	**99.2**	54.7	53.5	54.0	54.9	55.5	54.8	54.8	**54.1**
	RR6.0	99.3	99.3	99.3	99.1	99.3	99.3	99.4	**99.3**	53.7	53.3	53.6	54.5	54.8	54.7	55.2	**54.2**
5℃	C10	99.0	99.0	99.1	98.9	99.0	99.0	98.4	**97.5**	53.5	53.8	53.9	54.1	54.9	54.3	54.0	**53.9**
	R6.0	99.3	99.0	98.9	98.5	98.7	98.6	97.5	**97.0**	54.7	53.0	53.7	53.8	54.3	53.6	52.5	**51.0**
	RR6.0	99.3	99.1	99.0	98.7	98.8	98.6	97.5	**96.9**	53.7	53.6	53.6	53.6	54.4	53.4	52.6	**51.6**
25℃	C10	99.0	99.0	98.8	95.3	-	-	-	-	53.5	54.7	50.2	45.7	-	-	-	-
	R6.0	99.3	98.5	97.9	93.7	-	-	-	-	54.7	52.4	47.2	41.3	-	-	-	-
	RR6.0	99.3	98.5	98.0	93.9	-	-	-	-	53.7	52.8	47.6	41.2	-	-	-	-
40℃	C10	99.0	97.8	93.4	-	-	-	-	-	53.5	47.7	24.3	-	-	-	-	-
	R6.0	99.3	95.0	90.2	-	-	-	-	-	54.7	37.8	17.3	-	-	-	-	-
	RR6.0	99.3	95.1	90.9	-	-	-	-	-	53.7	37.6	19.5	-	-	-	-	-

[0207]

[0208] 다른 실시 양태

[0209] 본 명세서에 개시된 모든 특징들은 임의의 조합으로 함께 조합될 수 있다. 본 명세서에 개시된 각 특징들은 동일하거나 균등하거나 유사한 목적을 제공하는 대안적인 특징으로 대체될 수 있다. 이에 따라, 달리 명시적으로 언급되지 않는 한, 개시된 각 특징은 단지 일반적인 시리즈의 균등한 또는 유사한 기능의 예일 뿐이다.

[0210] 상기 설명으로부터, 당업자는 본 발명의 본질적인 특징을 용이하게 확인할 수 있으며, 이의 사상 및 범위를 벗어나지 않으면서, 본 발명을 다양한 용도와 조건에 적응시키기 위해 다양한 변경 및 수정을 가할 수 있다. 이에 따라, 다른 실시 양태들 또한 청구범위 내에 속한다.

[0211] 등가물

[0212] 몇몇 본 발명의 실시 양태들이 본원에 기술되고 예시되었지만, 당업자는 기능을 수행하고/하거나 본원에 기술된 결과 및/또는 하나 이상의 이점을 얻기 위한 다양한 다른 수단 및/또는 구조를 용이하게 구상할 것이며, 이러한 변형 및/또는 수정 각각은 본원에 기술된 본 발명의 실시 양태의 범위 내에 있는 것으로 간주된다. 보다 일반적으로, 당업자는 본원에 기술된 모든 매개변수, 치수, 물질 및 구성이 예시적인 것으로 의미되며 실제 매개변수, 치수, 물질 및/또는 구성이 특정 적용분야 또는 본 발명의 교시가 사용되는 적용분야에 따라 달라질 것임을 용이하게 인식할 것이다. 당업자는 일상적인 실험만을 사용하여 본원에 기술된 특정 발명의 실시 양태에 대한 많은 등가물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 따라서, 전술한 실시 양태는 단지 예로서 제시된 것이며, 첨부된 청구범위 및 그 등가물의 범위 내에서, 본 발명의 실시 양태들은 구체적으로 기술되고 청구된 것과 다르게 실시될 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 본 개시 내용의 실시 양태들은 본원에 기술된 각각의 개별 특징, 시스템, 물품, 물질, 키트 및/또는 방법에 관한 것이다. 또한, 두 가지 이상의 그러한 특징, 시스템, 물품, 물질, 미트 및/또는 방법의 조합은, 그러한 특징, 시스템, 물품, 물질, 키트 및/또는 방법이 상호 모순되지 않는 경우, 본 개시 내용의 발명의 범위 내에 포함된다.

[0213] 본원에 정의되고 사용되는 모든 정의는 사전적 정의, 참조로 포함된 문서의 정의 및/또는 정의된 용어의 일반적인 의미를 제어하는 것으로 이해되어야 한다.

[0214] 본원에 개시된 모든 참조 문헌, 특허 및 특허 출원은 각각 인용된 주제와 관련하여 참조로 포함되며, 일부 경우에는 문서 전체를 포괄할 수 있다.

[0215] 본 명세서 및 청구범위에서 사용된 바와 같은 부정관사 "일" 및 "하나"는 달리 명확하게 나타내지 않는 한 "적어도 하나"를 의미하는 것으로 이해되어야 한다.

[0216] 본 명세서 및 청구범위에서 사용된 바와 같은 문구 "및/또는"은 결합된 요소 중 "둘 중 하나 또는 둘 다", 즉

일부 경우에는 결합적으로 존재하고 다른 경우에는 분리적으로 존재하는 요소를 의미하는 것으로 이해되어야 한다. "및/또는"으로 나열된 여러 요소는 동일한 방식, 즉 결합된 요소 중 "하나 이상"으로 해석되어야 한다. "및/또는" 절에 의해 구체적으로 식별되는 요소 이외에 구체적으로 식별되는 요소와 관련이 있든 없든 다른 요소가 선택적으로 존재할 수 있다. 따라서, 비제한적인 예로서, "포함하는"과 같은 개방형 언어와 함께 사용되는 경우, "A 및/또는 B"에 대한 참조는 일 실시 양태에서 A만을(선택적으로 B 이외의 요소를 포함함) 지칭할 수 있고; 다른 실시 양태에서는 B만을(선택적으로 A 이외의 요소를 포함함) 지칭할 수 있고; 또 다른 실시 양태에서는 A 및 B 둘 다(선택적으로 다른 요소를 포함함)를 지칭할 수 있다.

[0217] 본 명세서 및 청구범위에서 사용된 바와 같은 "또는"은 상기 정의한 바와 같은 "및/또는"과 동일한 의미를 가지는 것으로 이해되어야 한다. 예를 들어, 목록에서 항목을 분리할 경우, "또는" 또는 "및/또는"은 요소의 수 또는 목록 중 적어도 하나 이상을 포함하고 선택적으로 추가 미나열된 항목을 포함하는 포괄적인 것으로 해석되어야 한다. "~중 단지 하나" 또는 "~의 정확히 하나", 또는 청구 범위에서 사용되는 경우 "~로 구성되는"과 같이 대조적으로 명확하게 표시된 용어만이 요소의 숫자 또는 목록의 정확히 하나의 요소를 포함하는 것을 의미할 것이다. 일반적으로, 본원에 사용된 바와 같은 용어 "또는"은 "둘 중 하나", "~중 하나", "~중 단지 하나" 또는 "~중 정확히 하나"와 같이 배타성 용어가 선행하는 경우 배타적인 대안(즉, "둘 중 하나지만 둘 다는 아님")을 나타내는 것으로만 해석되어야 한다. 청구범위에서 사용된 "본질적으로 구성되는"은 특허법 분야에서 사용되는 일반적인 의미를 가질 것이다.

[0218] 본 명세서 및 청구범위에서 사용된 바와 같이, 하나 이상의 요소의 목록과 관련하여 문구 "적어도 하나"는 요소 목록의 요소 중 임의의 하나 이상으로부터 선택된 적어도 하나의 요소를 의미하지만, 반드시 요소 목록 내에 구체적으로 나열된 각 요소 중 적어도 하나를 포함하고 요소 목록 중 요소의 임의의 조합을 제외하지 않는 것으로 이해되어야 한다. 상기 정의는 또한 구체적으로 식별된 요소와 관련이 있든 없든 문구 "적어도 하나"가 지칭하는 요소 목록 내에서 특별히 식별된 요소 이외의 요소가 선택적으로 존재할 수 있다는 것을 허용한다. 따라서, 비제한적인 예로서, "A와 B 중 적어도 하나"(또는, 동등하게는 "A 또는 B 중 적어도 하나", 또는 동등하게는 "A 및/또는 B 중 적어도 하나")는 일 실시 양태에서는 B가 존재하지 않는 하나 이상의 A를 선택적으로 포함(B 이외의 요소를 선택적으로 포함)하는 적어도 하나를 지칭할 수 있고; 다른 실시 양태에서는 A가 존재하지 않는 하나 이상의 B를 선택적으로 포함(및 A 이외의 요소를 선택적으로 포함)하는 적어도 하나를 지칭할 수 있고; 또 다른 실시 양태에서는 하나 이상의 A를 선택적으로 포함하는 적어도 하나 및 하나 이상의 B를 선택적으로 포함(및 선택적으로 다른 요소를 포함)하는 적어도 하나를 지칭할 수 있다.

[0219] 달리 명확하게 나타내지 않는 한, 하나 이상의 단계 또는 행위를 포함하는 본원에 청구된 임의의 방법에서, 방법의 단계 또는 행위의 순서는 반드시 방법의 단계 또는 행위가 언급되는 순서로 제한되지 않는다는 것 또한 이해해야 한다.

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Oneness Biotech Co., Ltd.

<120> HIGH CONCENTRATION ANTIBODY FORMULATIONS

<130> 22C50893

<140> Not Yet Assigned

<141> Concurrently Herewith

<150> US 63/170,042

<151> 2021-04-02

<160> 18

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 1

Gly Leu Ala Gly Gly Ser Ala Gln Ser Gln Arg Ala Pro Asp Arg Val

1 5 10 15

Leu

<210> 2

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 2

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp

20 25 30

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

35 40 45

Ile Gly Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Asn Pro Ser Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Met Gly Tyr Asp Gly Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210

> 3

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 3

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 4

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 4

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

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

Ile Gly Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Asn Pro Ser Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Met Gly Tyr Asp Gly Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

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> 5

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 5

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser

20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

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

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 6

<211> 52

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 6

Gly Leu Ala Gly Gly Ser Ala Gln Ser Gln Arg Ala Pro Asp Arg Val

1 5 10 15

Leu Cys His Ser Gly Gln Gln Gln Gly Leu Pro Arg Ala Ala Gly Gly
20 25 30

Ser Val Pro His Pro Arg Cys His Cys Gly Ala Gly Arg Ala Asp Trp
35 40 45
Pro Gly Pro Pro
50
<210> 7
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 7
Gly Leu Ala Gly Gly Ser Ala Gln Ser Gln Arg Ala
1 5 10
<210> 8
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 8
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30
Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Met Ile Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Met Gly Tyr Asp Gly Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 9

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 9

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

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

Ile Gly Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Met Gly Tyr Asp Gly Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 10

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 10

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser

20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

85 90 95

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

100 105 110

Arg

<210> 11

<211> 466

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 11

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys

20 25 30

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile

35 40 45

Thr Ser Asp Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly

50 55 60

Leu Glu Trp Ile Gly Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Asn

65 70 75 80

Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn

85 90 95

Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val

100 105 110

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

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

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

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
305 310 315 320
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455 460
Gly Lys
465

<210> 12
<211> 239
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic
<400> 12

Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

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

65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr
100 105 110

Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
115 120 125

Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
130 135 140

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
145 150 155 160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
165 170 175

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
180 185 190

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
195 200 205

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
210 215 220

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 13

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp Tyr Ala Trp Asn
1 5 10

<210> 14

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 14

Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Gly Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 15

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 15

Arg Met Gly Tyr Asp Gly Leu Ala Tyr

1 5

<210> 16

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 16

Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu

1 5 10 15

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 17

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 18

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Pro Thr

1 5