


| | | |
|--|--|--|
|  | (19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A) | (11) 공개번호 10-2012-0093229 (43) 공개일자 2012년08월22일 |
| (51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 39/395 (2006.01) A61P 19/02 (2006.01) | | (71) 출원인 엑스바이오테크, 인크. 캐나다, 비씨 브이6이 2이9, 밴쿠버, 스윗 300, 1055 웨스트 해스팅스 스트리트 |
| (21) 출원번호 10-2012-7010414 | (22) 출원일자(국제) 2010년09월23일 심사청구일자 없음 | (72) 발명자 시마드, 존 미국, 텍사스 78744, 오스틴, 수트 100, 8201 이 스트 리버사이드 드라이브 빌딩 #4 |
| (85) 번역문제출일자 2012년04월23일 | (86) 국제출원번호 PCT/US2010/049924 | (74) 대리인 허용록 |
| (87) 국제공개번호 WO 2011/038069 국제공개일자 2011년03월31일 | (30) 우선권주장 61/245,305 2009년09월24일 미국(US) | |

전체 청구항 수 : 총 36 항

(54) 발명의 명칭 **항 항체 반응을 감소시키기 위한 방법, 조성물 및 키트**

(57) 요약

본 발명은 항체를 투여한 피험체 내에서 항 항체 반응을 유도하거나 악화시킬 가능성이 더 적은 예방용 또는 치료용 항체를 선택하는 것과 관련된 방법, 조성물 및 키트에 관한 것이다. 피험체 투여용 항체는 피험체의 내인성 항체의 알로타이프 표현형과 일치하거나 적어도 이 내인성 항체의 알로타이프 표현형과 더 유사한 것으로 선택될 수 있다.

특허청구의 범위

청구항 1

적어도 (a) 제1 인간 또는 인간화 단일클론 항체와 약학적으로 허용 가능한 담체, 및 (b) 제2 인간 또는 인간화 단일클론 항체와 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 제1 약학 조성물을 포함하는데, 여기서 상기 제1 단일클론 항체는 제1 이소타입을 가지는 것으로서 제1 가변부를 포함하고, 상기 제2 단일클론 항체는 제1 이소타입을 가지는 것으로서 제1 가변부를 포함하며, 상기 제1 단일클론 항체는 제1 중쇄 알로타입 표현형을 포함하고, 상기 제2 단일클론 항체는 상기 제1 중쇄 알로타입 표현형과는 상이한 제2 중쇄 알로타입 표현형을 포함하는 것을 특징으로 하는 단일클론 항체 함유 약학 조성물의 패넬.

청구항 2

제1항에 있어서, 패넬은 (c) 제3 인간 또는 인간화 단일클론 항체와 약학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함하는데, 여기서 상기 제3 단일클론 항체는 제1 이소타입을 가지는 것으로서 제1 가변부를 포함하며, 상기 제1 및 제2 중쇄 알로타입 표현형과는 상이한 제3 중쇄 알로타입 표현형을 포함하는 것을 특징으로 하는 단일클론 항체 함유 약학 조성물의 패넬.

청구항 3

제2항에 있어서, 패넬은 (d) 제4 인간 또는 인간화 단일클론 항체와 약학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함하는데, 여기서 상기 제4 단일클론 항체는 제1 이소타입을 가지는 것으로서 제1 가변부를 포함하고, 상기 제1, 제2 및 제3 중쇄 알로타입 표현형과는 상이한 제4 중쇄 알로타입 표현형을 포함하는 것을 특징으로 하는 단일클론 항체 함유 약학 조성물의 패넬.

청구항 4

제1항에 있어서, 제1 이소타입은 감마 1인 것을 특징으로 하는 단일클론 항체의 패넬.

청구항 5

제4항에 있어서, 제1 중쇄 알로타입 표현형은 인간 G1m3 알로타입을 포함하고, 제2 중쇄 알로타입 표현형은 인간 G1m17 알로타입을 포함하는 것을 특징으로 하는 단일클론 항체의 패넬.

청구항 6

제1항에 있어서, 제1 이소타입은 감마 3인 것을 특징으로 하는 단일클론 항체의 패넬.

청구항 7

제6항에 있어서, 제1 중쇄 알로타입 표현형은 인간 G3m5 알로타입을 포함하고, 제2 중쇄 알로타입 표현형은 인간 G3m21 알로타입을 포함하는 것을 특징으로 하는 단일클론 항체의 패넬.

청구항 8

제6항에 있어서, 제1 중쇄 알로타입 표현형과 제2 중쇄는 G3m5, 10, 11, 13, 14, 26, 27; G3m21, 26, 27, 28; G3m10, 11, 13, 15, 27; G3m10, 11, 13, 15, 16, 27; G3m5, 6, 10, 11, 14, 26, 27; 및 G3m5, 6, 11, 24, 26;으로 이루어진 군으로부터 선택되는 상이한 알로타입 표현형을 포함하는 것을 특징으로 하는 단일클론 항체의 패넬.

청구항 9

단일클론 항체의 중쇄 불변부의 아미노산 서열을 변형시켜 이것의 표현형을 제1 천연 생성 알로타입 표현형으로부터 제2 천연 생성 알로타입 표현형으로 바꾸는 단계를 포함하는데, 여기서 알로타입 표현형을 암호화하지 않는 단일클론 항체 내 아미노산 서열은 변형되지 않는 것을 특징으로 하는 인간 또는 인간화 단일클론 항체를 변형시키는 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 단일클론 항체는 G1m1 알로타입으로부터 nG1m1 알로타입으로 변형된 IgG₁인 것을 특징으로 하

는 방법.

청구항 11

제9항에 있어서, 단일클론 항체는 G1m3 알로타이프로부터 G1m17 알로타이프로 변형된 IgG₁인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 12

제9항에 있어서, 제2 천연 생성 알로타이프 표현형은 이소알로타이프 또는 비 마커인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 13

제9항에 있어서, 단일클론 항체는 G2m23 알로타이프로부터 nG2m23 이소알로타이프로 변형된 IgG₂인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 14

(a) 피험체 내 제1 항체 알로타이프 표현형의 존재를 측정하는 단계;

(b) 적어도, 제1 알로타이프 표현형을 포함하는 제1 단일클론 항체 및 피험체에 내인적으로 존재하지 않는 제2 알로타이프 표현형을 포함하는 제2 단일클론 항체를 포함하는 인간 또는 인간화 단일클론 항체의 세트로부터 피험체에 투여될 단일클론 항체를 선택하는 단계; 및

(c) 피험체에 상기 제1 단일클론 항체를 투여하는 단계;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 인간 피험체에 투여하기 위한 인간 또는 인간화 단일클론 항체를 선택하는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 제1 단일클론 항체는 피험체에 내인적으로 존재하지 않는 알로타이프 표현형을 포함하지 않는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 16

제14항에 있어서, 상기 제1 단일클론 항체는 제1 이소타이프를 가지는 것으로서 제1 가변부를 포함하고, 제2 단일클론 항체는 제1 이소타이프를 가지는 것으로서 제1 가변부를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 17

제14항에 있어서, 피험체는 류머티즘성 관절염이 있는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 18

제14항에 있어서, 피험체는 이전에 이종 기원의 혈액을 수혈받은 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 19

제14항에 있어서, 피험체는 임신 경험이 있는 여성인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 20

제14항에 있어서, 피험체는 1세 미만의 영아인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 21

제14항에 있어서, 피험체는 이전에 제2 알로타이프 표현형을 포함하는 항체를 투여받은 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 22

(a) 피험체를 포함하는 특정 군집을 결정하는 단계;

(b) 적어도, 특정 군집에서 더욱 일반적인 제1 알로타이프 표현형을 포함하는 제1 단일클론 항체 및 특정 군집에서 제1 알로타이프 표현형보다 덜 일반적인 제2 알로타이프 표현형을 포함하는 제2 단일클론 항체를 포함하는, 인간 또는 인간화 단일클론 항체의 세트로부터 피험체에 투여할 단일클론 항체를 선택하는 단계; 및

(c) 피험체에 상기 제1 단일클론 항체를 투여하는 단계;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 특정 군집에 속하는 인간 피험체에 투여하기 위한 단일클론 항체를 선택하는 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 제1 단일클론 항체는 특정 군집에서 더욱 일반적인 제1 단상형을 포함하고, 제2 단일클론 항체는 특정 군집에서 제1 단상형보다는 덜 일반적인 제2 단상형을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 24

제22항에 있어서, 특정 군집은 백인 군집인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 25

제22항에 있어서, 특정 군집은 흑인 군집인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 26

제22항에 있어서, 특정 군집은 아시아인 군집인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 27

제22항에 있어서, 피험체는 류머티즘성 관절염이 발병한 피험체; 이전에 이종 기원의 혈액을 수혈받은 피험체; 임신 경험이 있는 여성; 또는 1세 미만의 영아인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 28

제22항에 있어서, 피험체는 이전에 제2 알로타이프 표현형을 포함하는 항체를 투여받은 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 29

제1 단일클론 항체와 동일한 가변부를 가지지만 제1 단일클론 항체와 상이한 알로타이프 표현형을 가지는 제2 인간 또는 인간화 단일클론 항체를 피험체에 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 제1 인간 또는 인간화 단일클론 항체에 대해 항 항체 반응을 나타낸 피험체를 치료하는 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 항 항체 반응은 피험체 내에 제1 단일클론 항체의 알로타이프 결정기와 특이적으로 결합하는 항체의 존재를 특징으로 하는 방법.

청구항 31

제29항에 있어서, 제2 단일클론 항체는 피험체 내에 내인적으로 존재하지 않는 알로타이프 표현형을 포함하지 않는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 32

(a) 피험체로부터 생물학적 샘플을 얻는 단계;

(b) 상기 생물학적 샘플을 항 알로타이프 결정기에 특이적인 프로브와 접촉시키는 단계; 및

(c) 피험체에 의해 내인적으로 발현되지 않는 알로타이프 결정기와 특이적으로 결합하는 항체를 피험체가 가지고 있다는 지표로서 상기 생물학적 샘플 내에 함유될 수 있는 항체와 프로브의 결합을 검출하는 단계;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 피험체에 의해 내인적으로 발현되지 않는 알로타이프 결정기와 특이적으로 결합하는 항체의 존재에 대해 피험체를 스크리닝하는 방법.

청구항 33

제32항에 있어서, 프로브는 피험체에 의해 내인적으로 발현되지 않는 알로타이프 결정기를 포함하는 항체인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 34

적어도, 제1 항체 알로타이프 결정기를 특이적으로 식별하는 제1 프로브 및 이 제1 항체 알로타이프 결정기와 상이한 제2 항체 알로타이프 결정기를 특이적으로 식별하는 제2 프로브;

적어도, 제1 알로타이프 결정기를 포함하거나 암호화하는 제1 분자를 포함하는 제1 양성 대조구 및 제2 알로타이프 결정기를 포함하거나 암호화하는 제2 분자를 포함하는 제2 양성 대조구;

적어도, 제1 알로타이프 결정기를 암호화하거나 포함하지 않는 제3 분자를 포함하는 제1 음성 대조구 및 제2 알로타이프 결정기를 암호화하거나 포함하지 않는 제4 분자를 포함하는 제2 음성 대조구; 및

키트의 사용을 위한 인쇄된 지침;

을 포함하는 것을 특징으로 하는 피험체의 알로타이프 표현형의 특징을 나타내기 위한 키트.

청구항 35

제34항에 있어서, 제1 및 제2 프로브는 G1m1, G1m2, G1m3, G1m17, G3m5, G3m6, G3m10, G3m11, G3m13, G3m14, G3m15, G3m16, G3m21, G3m24, G3m26, G3m27 및 G3m28로 이루어진 군으로부터 선택되는 상이한 알로타이프 결정기와 특이적으로 결합하는 항체인 것을 특징으로 하는 키트.

청구항 36

제35항에 있어서, 키트는 상이한 알로타이프 결정기를 특이적으로 증폭시키는 중합 효소 연쇄 반응 프라이머 다수 개를 추가로 포함하는데, 상기 상이한 알로타이프 결정기는 G1m1, G1m2, G1m3, G1m17, G3m5, G3m6, G3m10, G3m11, G3m13, G3m14, G3m15, G3m16, G3m21, G3m24, G3m26, G3m27 및 G3m28로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 키트.

명세서

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 전체적으로 본원에 참조로 포함된 2009년 9월 24일에 출원된 미국 가출원 제61/245,305호의 우선권을 주장한다.

[0003] 발명의 분야

[0004] 본 발명은 일반적으로 면역학, 항체(Ab) 및 의학 분야에 관한 것이다. 보다 특히, 본 발명은 항 Ab 반응과 연관된 역반응의 감소를 위해 알로타이프 표현형을 기초로 한 예방용 또는 치료용 Ab의 선택에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 치료용 단일클론 Ab(mAb)는 제약 산업 중에서 가장 빠르게 성장하고 있는 분야이다. 지금까지, 20가지 이상의 mAb가 약물로서의 사용을 위하여 FDA의 승인을 받았으며, 더 많은 것들이 개발 중에 있다. 비록 현재 완전 인간 mAb를 생산하기 위한 방법들이 존재하지만, FDA의 승인을 받은 치료용 mAb의 거의 전부는 설치류로부터 유래하였다.

- [0006] 불행하게도, 비 인간 mAb의 투여는 심각하며, 때때로 치명적인 반응을 야기할 수 있다.
- [0007] 수 십년 동안, 인간 피험체에 비 인간 Ab의 투여에 의해 야기되는 과민성 반응이 알려져 왔다. 질병을 야기하는 미생물에 대한 백신과 매우 유사하게, 비 인간 항체의 투여는 인간을 이들 외래 당단백질에 대하여 면역화시킨다. 비 인간 Ab의 첫번째 투여는 보통 격렬한 항 Ab 반응과 연관되지 않지만, 만성 병태의 치료를 위한 비 인간 Ab의 반복된 투여는 이후의 항 Ab 반응에 의하여 야기되는 (사망을 포함한) 심각한 부작용을 일으킬 수 있다.
- [0008] 이러한 문제점은 특히 말의 항혈청 또는 젖과 동물 mAb를 사용한 초기 Ab 기반 치료법에서 심각하였다. 더욱 최근에는, 비 인간 Ab를 변형하여 이 비 인간 Ab를 인간의 Ab와 더욱 유사하게 만듦으로써 항 Ab 반응을 감소시키기 위한 시도들이 행하여졌다. 예를 들어, 젖과 동물 Ab를 "인간화(humanizing)" 하는 일반적인 방법은 mAb의 상보성 결정부(CDR) 외부에 있는 젖과 동물 서열을 실제 인간의 서열로 치환하는 것을 포함한다. 이러한 CDR 이식 기술이 인간 항 마우스 Ab(HAMA) 반응을 감소시키는데 도움이 되었지만, 이 기술들은 모든 마우스 서열을 제거하지 않으므로 문제를 없애지 않았다.
- [0009] 소위 "인간" Ab를 개발하기 위해 다수의 접근법이 사용되고 있다. 이러한 접근법으로서는, 인간 유전자 서열로부터 Ab를 생산하도록 유전자 조작된 마우스의 사용은 물론, DNA 라이브러리를 사용하는 시험관 내 조합 방식의 사용을 포함한다. 인간 Ab의 서열과 더욱 유사한 서열로부터 유래한 치료용 Ab는 항 Ab 관련 부작용의 개시 또는 강도의 시간을 지연시킴이 임상 연구로부터 명확하다. 완전 인간 Ab의 사용은 거의 확실하게 미래에 표준 방법이 될 것이다. 그럼에도 불구하고, 인간 집단 내에서 유전적 변이가 많기 때문에, 인간 항 인간 Ab(HAHA) 반응은 제거하기에 어려운 것으로 판명될 것이다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

- [0010] 본 발명은 피험체가 투여된 Ab에 대한 항 Ab 반응을 진행시킬 가능성을 감소시키는 방법 및 조성물의 개발에 관한 것이다. 인간에는, IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM으로 알려진 5개의 상이한 Ab(또는 면역 글로불린; Ig) 군이 있다. 하나의 군의 상이한 Ab들은 가변부는 상이하지만, 불변부는 구조가 서로 유사하다. 하나의 Ig 군에는 하위 군들이 있을 수 있다. 예를 들어 IgG 군의 인간 Ig는 IgG₁, IgG₂, IgG₃ 또는 IgG₄의 4개의 IgG 하위 군 중 하나일 수 있다. 임의의 소정 하위 군의 불변부는 아미노산 서열이 거의 동일하지만, 상이한 하위 군의 불변부는 아미노산 서열이 덜 유사하다. 보통의 인간은 모두 Ig 군 및 하위 군 전부를 가지며, 동일한 군과 하위 군의 Ig는, 어떤 인간들에게서는 대립 유전자 형 중 일부가 관찰되지만 다른 인간들에 있어서는 그렇지 않은 2개 이상의 대립 유전자 형(알로타이프)으로 존재할 수 있다. 예를 들어 IgG₁ 하위 군에는 G1m1, G1m2, G1m3 및 G1m17의 4개의 중쇄 대립 유전자(또는 알로타이프); 및 Km1; Km1.2; 및 Km3의 3개의 경쇄 (카파) 대립 유전자가 있다. 상이한 IgG₁ 대립 유전자는 불변부 내 소규모 아미노산 서열 변이에 따라서 정의된다. 예를 들어 서열이 동일하지 않으면, G1m3과 G1m2 알로타이프의 불변부 간에는 총 4개의 아미노산이 상이하다.
- [0011] 통상의 치료용 Ab 방법의 중요한 단점은, 이 방법이 피험체의 내인성 Ab의 알로타이프 표현형을 고려하지 않는다는 점이다. 그러므로, 만일 소정의 mAb가 특정 피험체에서 발현되지 않는 알로타이프 결정기를 가진다면, 이 피험체의 면역계는 치료용 mAb에 대해서 항 알로타이프 Ab(AAAb) 반응, 즉 부작용 예를 들어 과민성 반응을 일으킬 수 있거나, 또는 이 mAb의 치료 효과를 중화시킬 수 있는 반응을 나타낼 것이다. AAAb 반응은, 피험체가 이전에 치료용 mAb를 투여받지 않았을 경우, 예를 들어 피험체가 (i) 천연 생성 AAAb, (ii) 항 Ab의 고 역가와 연관된 병태(예를 들어 류머티즘성 관절염), (iii) 수혈에 반응하여 생성된 AAAb, (iv) 모계로부터 유래한 AAAb, (v) 임신에 반응하여 생성된 AAAb, 및/또는 (vi) 다른 치료용 mAb에 반응하여 생성된 AAAb를 가지는 경우에조차도 일어날 수 있다.
- [0012] 본 발명은 Ab 유도성 부작용 및 중화를 감소시키기 위하여, 피험체의 내인성 Ab의 알로타이프 표현형과 일치하거나 또는 최소한 매우 유사한 Ab로서, 피험체에 투여될 Ab를 선택하는 것에 관한 것이다. 면역계는 자기 항원에 대하여 반응을 나타내지 않도록 조정되어 있기 때문에, 면역계에 대하여 보다 더 자기 Ab인 것처럼 보이는 Ab의 투여는 항 Ab 반응을 야기할 가능성이 더 적다. 그러므로, 본 발명은 다른 가능할 것보다 더욱 긴 시간 동안 그리고/또는 면역 억제 약물(예를 들어, 메토타렉세이트 또는 스테로이드)의 동시 사용(concomitant use) 없이 특정 Ab를 사용할 수 있도록 할 수 있다.

- [0013] 따라서, 본 발명은 단일클론 항체 함유 약학 조성물의 패널을 특징으로 한다. 적어도 제1 약학 조성물을 포함하는 패널은 (a) 제1 인간 또는 인간화 단일클론 항체와 약학적으로 허용 가능한 담체, 및 (b) 제2 인간 또는 인간화 단일클론 항체와 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는데, 여기서 상기 제1 단일클론 항체는 제1 이소타입을 가지는 것으로서 제1 가변부를 포함하고, 상기 제2 단일클론 항체는 제1 이소타입을 가지는 것으로서 제1 가변부를 포함하며, 여기에서 제1 단일클론 항체는 제1 중쇄 알로타입 표현형을 포함하고, 상기 제2 단일클론 항체는 상기 제1 중쇄 알로타입 표현형과는 상이한 제2 중쇄 알로타입 표현형을 포함한다.
- [0014] 상기 패널은 (c) 제3 인간 또는 인간화 단일클론 항체와 약학적으로 허용 가능한 담체를 추가로 포함할 수 있는데, 여기서 상기 제3 단일클론 항체는 제1 이소타입을 가지는 것으로서 제1 가변부를 포함하며, 상기 제1 및 제2 중쇄 알로타입 표현형과는 상이한 제3 중쇄 알로타입 표현형을 포함하고; 몇몇 경우에 (d) 제4 인간 또는 인간화 단일클론 항체와 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함할 수 있으며, 여기서 상기 제4 단일클론 항체는 제1 이소타입을 가지는 것으로서 제1 가변부를 포함하고, 상기 제1, 제2 및 제3 중쇄 알로타입 표현형과는 상이한 제4 중쇄 알로타입 표현형을 포함한다.
- [0015] 패널에서, 제1 이소타입은 감마 1일 수 있는데, 예를 들어 제1 중쇄 알로타입 표현형은 인간 G1m3 알로타입을 포함할 수 있고, 제2 중쇄 알로타입 표현형은 인간 G1m17 알로타입을 포함할 수 있다. 제1 이소타입은 또한 감마 3일 수 있으며, 예를 들어 제1 중쇄 알로타입 표현형은 인간 G3m5 알로타입을 포함할 수 있고, 제2 중쇄 알로타입 표현형은 인간 G3m21 알로타입을 포함할 수 있다. 제1 중쇄 알로타입 표현형과 제2 중쇄는 또한 G3m5,10,11,13,14,26,27; G3m21,26,27,28; G3m10,11,13,15,27; G3m10,11,13,15,16,27; G3m5,6,10,11,14,26,27; 및 G3m5,6,11,24,26으로 이루어진 군으로부터 선택되는 상이한 알로타입 표현형을 포함할 수 있다.
- [0016] 다른 측면에서, 본 발명은 인간 또는 인간화 단일클론 항체를 변형시키는 방법을 특징으로 한다. 이 방법은 단일클론 항체의 중쇄 불변부의 아미노산 서열을 변형시켜 이것의 표현형을 제1 천연 생성 알로타입 표현형으로부터 제2 천연 생성 알로타입 표현형으로 바꾸는 단계를 포함할 수 있는데, 여기서 알로타입 표현형을 암호화하지 않는 단일클론 항체 내 아미노산 서열은 변형되지 않는다. 이 방법에서, 상기 단일클론 항체는 G1m1 알로타입으로부터 nG1m1 알로타입으로 변형되고/변형되거나 G1m3 알로타입으로부터 G1m17 알로타입으로 변형된 IgG₁일 수 있다. 본 방법에서, 제2 천연 생성 알로타입 표현형은 이소알로타입(isoallotype) 또는 비 마커(non-marker)일 수 있다. 예를 들어, 단일클론 항체가 IgG₂이면, 이는 G2m23 알로타입으로부터 nG2m23 이소알로타입으로 변형될 수 있다.
- [0017] 또한 인간 피험체에 투여하기 위한 인간 또는 인간화 단일클론 항체를 선택하는 방법이 본 발명에 포함된다. 이 방법은 (a) 피험체 내 제1 항체 알로타입 표현형의 존재를 측정하는 단계; (b) 적어도 제1 알로타입 표현형을 포함하는 제1 단일클론 항체 및 피험체에 내인적으로 존재하지 않는 제2 알로타입 표현형을 포함하는 제2 단일클론 항체를 포함하는 인간 또는 인간화 단일클론 항체의 세트로부터 피험체에 투여될 단일클론 항체를 선택하는 단계; 및 (c) 피험체에 상기 제1 단일클론 항체를 투여하는 단계;를 포함할 수 있다. 본 방법에서, 제1 단일클론 항체는 피험체에 내인적으로 존재하지 않는 알로타입 표현형을 포함하지 않는 것일 수 있다. 제1 단일클론 항체는 제1 이소타입을 가지는 것으로서 제1 가변부를 포함할 수 있고, 제2 단일클론 항체는 제1 이소타입을 가지는 것으로서 제1 가변부를 포함할 수 있다. 본 방법에서 피험체는 류머티즘성 관절염이 있는 피험체; 이전에 이종 기원의 혈액을 수혈받은 피험체; 임신 경험이 있는 여성; 1세 미만의 영아; 및/또는 이전에 제2 알로타입 표현형을 포함하는 항체를 투여받은 피험체일 수 있다.
- [0018] 본 발명은 특정 군집(예를 들어, 백인, 흑인 또는 아시아인 군집)에 속하는 인간 피험체에 투여하기 위한 단일클론 항체를 선택하는 방법을 추가의 특징으로 한다. 본 방법은 (a) 피험체를 포함하는 특정 군집을 결정하는 단계; (b) 적어도, 특정 군집에서 더욱 일반적인 제1 알로타입 표현형을 포함하는 제1 단일클론 항체 및 특정 군집에서 제1 알로타입 표현형보다 덜 일반적인 제2 알로타입 표현형을 포함하는 제2 단일클론 항체를 포함하는, 인간 또는 인간화 단일클론 항체의 세트로부터 피험체에 투여를 위한 단일클론 항체를 선택하는 단계; 및 (c) 피험체에 상기 제1 단일클론 항체를 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 본 방법에서, 제1 단일클론 항체는 특정 군집에서 더욱 일반적인 제1 단상형(haplotype)을 포함할 수 있고, 제2 단일클론 항체는 특정 군집에서 제1 단상형보다는 덜 일반적인 제2 단상형을 포함할 수 있다. 상기 특정 군집은 백인 군집이다. 본 방법에서, 피험체는 류머티즘성 관절염이 있는 피험체; 이전에 이종 기원의 혈액을 수혈받은 피험체; 임신 경험이 있는 여성; 1세 미만의 영아; 및/또는 이전에 제2 알로타입 표현형을 포함하는 항체를 투여받은 피험체일 수 있다.
- [0019] 다른 측면에서, 본 발명은 제1 인간 또는 인간화 단일클론 항체에 대해 항 항체 반응을 나타낸 피험체를 치료하

는 방법을 특징으로 한다. 본 방법은 제1 단일클론 항체와 동일한 가변부를 가지지만 제1 단일클론 항체와 상이한 알로타이프 표현형을 가지는 제2 인간 또는 인간화 단일클론 항체를 피험체에 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 항 항체 반응은 피험체 내에 제1 단일클론 항체의 알로타이프 결정기와 특이적으로 결합하는 항체의 존재를 특징으로 하는 것일 수 있다. 제2 단일클론 항체는 피험체 내에 내인적으로 존재하지 않는 알로타이프 표현형을 포함하지 않는 것일 수 있다.

[0020] 또한 피험체에 의해 내인적으로 발현되지 않는 알로타이프 결정기와 특이적으로 결합하는 항체의 존재에 대해 피험체를 스크리닝하는 방법이 본 발명에 포함된다. 본 방법은 (a) 피험체로부터 생물학적 샘플을 얻는 단계; (b) 상기 생물학적 샘플을 항 알로타이프 결정기에 특이적인 프로브와 접촉시키는 단계; 및 (c) 피험체에 의해 내인적으로 발현되지 않는 알로타이프 결정기와 특이적으로 결합하는 항체를 피험체가 가지고 있다는 지표로서 상기 생물학적 샘플 내에 함유될 수 있는 항체와 프로브의 결합을 검출하는 단계를 포함한다. 프로브는 피험체에 의해 내인적으로 발현되지 않는 알로타이프 결정기를 포함하는 항체일 수 있다.

[0021] 또한 피험체의 알로타이프 표현형의 특징을 나타내기 위한 키트가 본 발명에 포함된다. 이 키트는, 적어도 제1 항체 알로타이프 결정기를 특이적으로 식별하는 제1 프로브 및 이 제1 항체 알로타이프 결정기와 상이한 제2 항체 알로타이프 결정기를 특이적으로 식별하는 제2 프로브; 적어도 제1 알로타이프 결정기를 포함하거나 암호화하는 제1 분자를 포함하는 제1 양성 대조구 및 제2 알로타이프 결정기를 포함하거나 암호화하는 제2 분자를 포함하는 제2 양성 대조구; 적어도 제1 알로타이프 결정기를 암호화하거나 포함하지 않는 제3 분자를 포함하는 제1 음성 대조구 및 제2 알로타이프 결정기를 암호화하거나 포함하지 않는 제4 분자를 포함하는 제2 음성 대조구; 및 키트의 사용을 위한 인쇄된 지침을 포함할 수 있다. 상기 제1 및 제2 프로브는 G1m1, G1m2, G1m3, G1m17, G3m5, G3m6, G3m10, G3m11, G3m13, G3m14, G3m15, G3m16, G3m21, G3m24, G3m26, G3m27 및 G3m28로 이루어진 군으로부터 선택되는 상이한 알로타이프 결정기와 특이적으로 결합하는 항체일 수 있다. 상기 키트는 상이한 알로타이프 결정기를 특이적으로 증폭시키는 중합 효소 연쇄 반응 프라이머 다수 개를 추가로 포함할 수 있는데, 여기서 상기 상이한 알로타이프 결정기는 G1m1, G1m2, G1m3, G1m17, G3m5, G3m6, G3m10, G3m11, G3m13, G3m14, G3m15, G3m16, G3m21, G3m24, G3m26, G3m27 및 G3m28로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0022] 달리 정의하지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 용어들은 본 발명이 속한 기술 분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 일반적으로 이해되는 생물학적 용어의 정의는 문헌[Rieger et al., Glossary of Genetics: Classical and Molecular, 5th edition, Springer-Verlag: New York, 1991; 및 Lewin, Genes V, Oxford University Press: New York, 1994]에서 살펴볼 수 있다.

[0023] 본원에 사용된 "항체" 또는 "Ab"는 Ig, 동일하거나 이종인 Ig의 용액 또는 Ig의 혼합물이다. 적어도 하나의 Ig 알로타이프 결정기를 함유하는 조각된 Ig, 예를 들어 다이아바디(diabody) 및 면역 부착소(immunoadhesin)도 또한 "Ab"로 간주된다. "단일클론 항체" 또는 "mAb"는 하나의 클론 B 세포주에 의해 발현된 Ab이다. 본원에 사용된 상기 용어는 특정 항원의 특정 에피토프와 면역 반응할 수 있는 항원 결합 위치의 한 종류만을 포함하는 Ab 분자 군집을 의미한다. "다중클론 항체" 또는 "다중클론 Ab"는, 이종 Ab의 혼합물이다. 통상적으로, 다중클론 Ab는 특정 항원 또는 특정 유기체와 결합하는 상이한 Ab 분자들을 많이 포함할 것인데, 여기서, 상기 상이한 Ab 중 적어도 일부는 항원 또는 유기체의 상이한 에피토프와 면역 반응한다. 본원에 사용된 다중클론 Ab는 2개 이상의 mAb의 혼합물일 수 있다.

[0024] "알로타이프 결정기"란 어구는 알로타이프를 한정하는 위치와 상응하는 Ig 위치에 존재하는 내인성 아미노산 서열을 의미한다.

[0025] 본원에 사용된 "알로타이프 표현형"이란 알로타이프를 한정하는 Ab의 아미노산 서열(들) 또는 Ab 알로타이프를 한정하는 위치와 동일한 위치의 아미노산 서열(들)을 의미한다. 상기 알로타이프 표현형이란 어구는 단일 알로타이프, 이소알로타이프 또는 비 마커; 또는 하나 초과(예를 들어, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개 이상)의 알로타이프, 이소알로타이프 또는 비 마커를 가지는 항체를 포함할 수 있다.

[0026] Ab의 "항원 결합부"는 Ab의 Fab부의 가변부 내에 포함되는 것으로서, Ab에 항원 특이성을 부여하는 Ab의 일부(즉, 통상적으로 Ab의 중쇄와 경쇄의 CDR에 의해 형성되는 3차원 포켓)이다. "Fab부" 또는 "Fab 부위"는 파파인으로 분해된 Ig의 항원 결합부를 포함하는, 이 Ig의 단백질 분해 단편이다. "Fab'부'"는 펩신 분해된 Ig의 단백질 분해 단편이다. "Fab'부'"는 F(ab')₂부의 이황화 가교를 환원시켜 생성되는 생성물이다. "비 Fab부"는 Fab부 내에 존재하지 않는 Ab의 일부로서, 예를 들어 "Fc부" 또는 "Fc 부위"가 있다. Ab의 "불변부"는 가변부 외부의 Ab의 일부이다. 일반적으로 Ab의 "효과기 부"는 불변부에 포함되며, 상기 효과기 부는 면역 반응을 촉진하는 기타 면역계 성분과 결합하는데 관여하는 Ab의 일부이다. 그러므로, 예를 들어 (항원 결합부를 통하지 않고) 보체 성

분 또는 Fc 수용체와 결합하는 Ab 상 위치는 일반적으로 Ab의 효과기 부이다.

- [0027] 단백질 분자, 예를 들어 Ab에 있어서 "정제된"이란 천연적으로 이와 같은 분자와 공존하는 성분들로부터 분리되는 것을 의미한다. 통상적으로, 천연적으로 결합되어 있는 비 Ab 단백질 또는 기타 천연 생성 유기 분자로부터 분리되어 중량을 기준으로 하여 적어도 약 10%(예를 들어, 9%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.9% 및 100%)일 때 Ab 또는 단백질은 정제된 것이다. 순도는 임의의 적당한 방법, 예를 들어 컬럼 크로마토그래피, 폴리아크릴아미드 겔 전기 영동 또는 HPLC 분석에 의해 측정될 수 있다. 천연적으로 생성되는 세포 유형 이외의 세포 유형에서 생산된 기타 재조합 단백질 또는 화학적으로 합성된 단백질은 "정제된" 것이다. Ab의 처리가 Ab를 처리하기 전보다 처리한 후에 원하는 Ig 대 원치 않는 Ig의 비율을 더 높게 할 때, 상기 원하는 Ig 종류와 원치 않는 Ig 종류를 포함하는 Ab는 원하는 Ig 종류에 대해 "증폭된(enriched)" 것이다. 예를 들어, 알로타이프 G1m3 및 G1m17의 IgG를 함유하는 Ab의 용액은 알로타이프 G1m3의 IgG 중 일부 또는 전부가 용액으로부터 제거될 때, G1m17에 대해서 증폭된 것이다.
- [0028] "결합하다(bind 또는 binds) 또는 "~와 반응하다"란 하나의 분자가 샘플 중 특정 제2 분자를 인지하여 이에 부착되지만 샘플 중 다른 분자는 실질적으로 인지하지 않거나 이에 부착되지 않는 것을 의미한다. 일반적으로, 다른 분자와 "특이적으로 결합하는" Ab는 다른 분자에 대한 K_d 가 약 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} 또는 10^{12} 리터/몰 보다 크다.
- [0029] 본원에 사용된 "폴리펩티드"란 용어는 천연 또는 인공 단백질, 단백질 단편 및 단백질 서열의 폴리펩티드 유사체를 포함한다. 폴리펩티드는 단량체 또는 중합체일 수 있다.
- [0030] "인간 Ab"는 인간의 생식 세포 계열 Ig 서열로부터 유래하는 가변부와 불변부를 가지는 Ab이다. 인간 항체는, 예를 들어 CDR, 특히 CDR3 내에, 인간의 생식 세포 계열 Ig 서열에 의해 암호화되지 않는 아미노산 잔기들(예를 들어, 무작위 또는 위치 특이적 시험관 내 돌연 변이 유발법 또는 생체 내 체세포 돌연 변이에 의해 도입된 돌연 변이체)을 포함할 수 있다. 그러나, "인간 Ab"는 비 인간 종의 생식 세포 계열로부터 유래하고 인간 틀 서열 상에 이식된 CDR 서열을 가지는 Ab(즉, "인간화된 Ab")를 포함한다.
- [0031] "재조합 Ab"란 용어는 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 분리되는 모든 Ab, 예를 들어 숙주 세포에 형질 감염된 재조합 발현 벡터를 사용하여 발현된 Ab, 재조합 조합형 Ab 라이브러리로부터 분리되는 Ab, 인간 Ig 유전자에 대하여 유전자가 이식된 동물(예를 들어, 마우스)로부터 분리된 Ab(예를 들어, 문헌[Taylor, L. D., et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295] 참조) 또는 Ig 유전자 서열을 기타 DNA 서열에 스폴라이싱하는 단계를 포함하는 임의의 기타 수단으로 제조, 발현, 생성 또는 분리된 Ab를 포함하는 것으로 의도된다.
- [0032] "에피토프"란 용어는 Ig와 특이적으로 결합할 수 있는 임의의 항원 결정기를 포함한다.
- [0033] "치료학적 유효량"은 치료된 동물 또는 인간에서 의학적으로 원하는 효과(예를 들어, 질병의 완화 또는 예방)를 얻어낼 수 있는 양이다.
- [0034] 본원에 사용된 "피험체"라는 용어는 포유동물, 예를 들어 인간, 개, 소, 말, 돼지, 양, 염소, 고양이, 마우스, 토끼, 래트 및 인간 이외의 유전자 이식 동물을 포함하는 임의의 Ab 함유 동물을 의미한다.
- [0035] "약학 조성물" 또는 "의약품"이란 용어는 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적일 수 있도록 하는 그러한 형태인 제제를 지칭한다. "약학적으로 허용 가능한 부형제" 또는 "약학적으로 허용 가능한 담체"는 하나 이상의 활성 성분과 혼합되었을 때 피험체에 합리적으로(즉, 안전하게) 투여되어 이용된 활성 성분(들)의 유효 용량을 제공할 수 있는 의약품을 형성할 수 있는 물질이다.
- [0036] 특정 군집에 있어서, "백인"이란 용어는 유럽, 중동 또는 북아프리카 원주민 중 임의의 사람들에 기원을 둔 사람을 의미하고; "흑인"이란 용어는 아프리카의 흑인종 군 중 임의의 군에 기원을 둔 사람을 의미하며; "미국계 인디언 및 알래스카 원주민"이란 용어는 북미와 남미(중앙 아메리카 포함)의 원주민 중 임의의 사람들에 기원을 둔 사람을 의미하고; "아시아인"이란 용어는 극동, 동남 아시아 또는 인디언 아대륙 원주민 중 임의의 사람들에 기원을 둔 사람을 의미한다.
- [0037] 본원에 기재된 방법 및 물질과 유사하거나 균등한 방법 및 물질이 본 발명을 실행 또는 테스트하는데 사용될 수 있지만, 적당한 방법과 물질이 이하에 기재되어 있다. 본원에 언급된 모든 간행물, 특허 출원, 특허 및 기타 참고 문헌들은 전체적으로 참조로 포함된다. 분쟁이 일어났을 경우, 정의 부분을 포함하는 본 발명의 명세서가 조정한 것이다. 뿐만 아니라, 본원의 물질, 방법 및 실시예는 오로지 예시를 위한 것이지, 본 발명을 한정하고자

하는 것이 아니다.

[0038] 본 발명의 기타 특징과 이점은 이하 발명의 상세한 설명과 특허청구범위로부터 명백해질 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0039] 본 발명은 Ab를 투여한 피험체 내에서 항 Ab 반응을 유도하거나 악화시킬 가능성이 더 적은 예방용 또는 치료용 Ab를 선택하는 것과 관련된 방법, 조성물 및 키트를 포함한다. 피험체 투여용 Ab는 피험체의 내인성 Ab의 알로타이프 표현형과 일치하거나 적어도 이 내인성 Ab의 알로타이프 표현형과 더 유사한 것으로 선택될 수 있다. 이하 기재된 바람직한 구체예는 이와 같은 조성물과 방법의 적용을 예시한다. 그림에도 불구하고, 이러한 구체예의 설명으로부터, 이하에 제공된 설명을 기초로 하여 본 발명의 기타 측면을 행할 수 있고/있거나 실시할 수 있다.

[0040] 생물학적 방법

[0041] 종래의 면역학적 기술과 분자 생물학적 기술을 포함하는 방법이 본원에 기술되어 있다. 일반적으로, 면역학적 방법(예를 들어, 항원-Ab 복합체의 검출 및 국소화를 위한 검정법, 면역 침전법 및 면역 블롯팅 등)은 당업계에 공지되어 있으며, 방법론 논문, 예를 들어 문헌[Current Protocols in Immunology, Coligan et al., ed., John Wiley & Sons, New York]에 기재되어 있다. 분자 생물학 기술은 논문, 예를 들어 문헌[Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., vol. 1-3, Sambrook et al., ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2001; 및 Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel et al., ed., Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York]에 상세히 기재되어 있다. Ab 방법은 문헌[Handbook of Therapeutic Abs, Dubel, S., ed., Wiley-VCH, 2007]에 기재되어 있다. 세포 배양 기술은 일반적으로 당업계에 공지되어 있으며, 방법론 논문, 예를 들어 문헌[Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique, 4th edition(R Ian Freshney), Wiley-Liss, Hoboken, N.J., 2000; 및 General Techniques of Cell Culture(Maureen A Harrison 및 Ian F Rae), Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1994]에 상세히 기재되어 있다. 단백질 정제의 방법은 문헌[Guide to Protein Purification: Methods in Enzymology, Vol. 182, Deutscher M P, ed., Academic Press, San Diego, Calif., 1990]에 논의되어 있다.

[0042] 피험체

[0043] 본 발명의 방법, 조성물 및 키트는 인간 및 기타 포유동물, 예를 들어 고양이, 개, 마우스, 래트, 토끼, 양, 소, 말, 염소, 돼지, 원숭이 및 유인원을 포함하는 동물 피험체를 대상으로 사용하기 위한 것이다. 본 발명은 측정 가능한 역가(예를 들어, 혈청 1ml당 항체 0.001 μ g, 0.01 μ g, 0.05 μ g, 0.1 μ g, 0.2 μ g, 0.5 μ g 또는 1 μ g 초과)의 AAAb를 가지는 피험체, 또는 AAAb가 생성될 위험성이 높은 피험체, 예를 들어 HAMA 또는 HAHA가 있는 피험체, 또는 높은 역가의 항Ab와 연관된 병태(예를 들어, 류머티즘성 관절염과 같은 자가 면역성 질병)가 있는 피험체; 임신 중이거나 임신 경험이 있는 피험체; 모체 Ab를 가지는 영아(예를 들어, 1세 미만의 영아); 수혈을 받은 피험체; 천연 생성 AAAb를 가지는 피험체; 및 다른 치료용 Ab에 반응하여 생성된 AAAb를 가지는 피험체에 특히 유용하다.

[0044] 항체

[0045] 본원에 기재된 방법, 조성물 및 키트는, (i) 적어도 하나(예를 들어, 2개, 3개, 4개, 5개 이상)의 알로타이프 결정기의 위치에 내인성 아미노산 서열을 보유하고, (ii) 알로타이프 변이체를 가지지 않는 중쇄 및/또는 경쇄 Ig로부터 유래하는 아미노산 서열을 포함하며/포함하거나, (iii) 이소알로타이프 또는 비 마커를 한정하는 중쇄 및/또는 경쇄 Ig로부터 유래하는 아미노산 서열을 포함하는, mAb, 다중클론 Ab, 및 다양한 Ab 단편(예를 들어, Fab 단편, Fab' 단편 및 F(ab')₂ 단편), 또는 조각된 Ab(예를 들어, 단일 사슬 항체 및 Fab 발현 라이브러리를 사용하여 생성된 분자)를 포함하는 다양하고 상이한 유형의 Ab를 사용할 수 있거나 포함할 수 있다.

[0046] 특정 항원에 대해 동종인 항체 군집에 속하는 mAb는 표준적인 하이브리도마 기술을 사용하여 제조될 수 있다(예를 들어, 문헌[Kohler et al., Nature 256:495, 1975; Kohler et al., Eur. J. Immunol. 6:511, 1976; Kohler et al., Eur. J. Immunol. 6:292, 1976; Hammerling et al., "Monoclonal Antibodies and T Cell Hybridomas," Elsevier, N.Y., 1981; Ausubel et al., supra 참조). 특히, mAb는 배양액 중 연속 세포주에 의해 항체 분자의 생산을 제공하는 임의의 기술, 예를 들어 문헌[Kohler et al., Nature 256:495, 1975, 및 미국 특허 제4,376,110호]에 기재된 기술; 인간 B 세포 하이브리도마 기술(Kosbor et al., Immunology Today 4:72,

1983; Cole et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:2026, 1983), 및 EBV-하이브리도마 기술(Cole et al., "Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy," Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96, 1983)에 의해 얻어질 수 있다. mAb는 또한 문헌[Clackson, et al., Nature 352:624-628 (1991) 및 Marks, et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991)]에 기재된 기술을 사용하여 파지 항체 라이브러리로부터 분리될 수 있다. mAb를 생산하는 세포주는 시험관 내 또는 생체 내 배양되어 다량의 mAb를 생산할 수 있다.

[0047] 다중클론 Ab는 면역화된 피험체의 혈청 중에 함유되어 있는 Ab 분자의 이중 군집 또는 상이한 mAb의 조합체이다. 다중클론 Ab는 통상적인 방법에 의해서 면역화된 숙주 동물로부터 혈청을 수집하여 분리할 수 있다. 혈청으로부터 수집한 다중클론 항체는 일반적으로 알로타이프로 관하여 이중이지만, 예를 들어 알로타이프 결정기(들)에 특이적인 고정 Ab를 사용하여 면역 친화 정제에 의해 동일한 알로타이프 결정기를 가지는 다중클론 Ab를 제조하는데 사용될 수 있다.

[0048] 표적 항원에 대한 단일 사슬 Ab는 통상의 방법(예를 들어, 미국 특허 제4,946,778호, 제4,946,778호 및 제4,704,692호), 예를 들어 아미노산 가교에 의해 Fv 부위의 중쇄 및 경쇄 단편을 연결시켜, 단일 사슬 폴리펩티드(scFv)를 생산하는 방법에 의해 제조될 수 있다. 표적 항원과 특이적으로 결합하는 Ab 단편은 또한 통상의 기술에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, Fab 단편은 전장 Ig의 과파인 분해에 의하여 제조될 수 있고, F(ab')₂ 단편은 전장 Ig 분자를 펄스 분해에 의하여 제조될 수 있으며, Fab' 단편은 F(ab')₂ 단편의 이황화 가교를 환원함으로써 생성될 수 있다. Fab 발현 라이브러리는 공지된 방법에 의해 구성 및 스크리닝되어(예를 들어, 문헌[Huse et al., Science 246:1275, 1989]), 원하는 특이성을 가지는 단일클론 Fab 단편을 생산할 수 있다. 다이아바디(즉, V_H 도메인과 V_L 도메인이 하나의 폴리펩티드 사슬 상에 존재하는 2가 Ab)는 공지의 방법에 의해 생산될 수 있다(예를 들어, 문헌[Holliger P. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993); 및 Poljak R. J. et al., Structure 2:1121-1123 (1994)]). 비 Ab 분자(예를 들어, 시토킨 또는 시토킨 수용체)에 융합된 Ab의 일부(예를 들어, Ig 중쇄의 일부)를 함유하는 면역 부착소도 또한 본 발명에 사용될 수 있다.

[0049] Ab는 통상의 기술, 예를 들어 솔트 컷(salt cut)(예를 들어, 포화 황산암모늄 침전법), 냉각 알코올 분획화(예를 들어, 콘-온클리(Cohn-Oncley) 냉각 알코올 분획화 방법), 크기별 배제 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 면역 친화 크로마토그래피(예를 들어, 항 인간 Ig 항체와 커플링된 크로마토그래피 비드를 사용하여 인간 Ig를 분리할 수 있음), 단백질 A 또는 단백질 G 크로마토그래피, 및 항원 친화 크로마토그래피에 의해서 정제될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Coligan et al(상동)]을 참조한다.

[0050] 면역학과 단백질 화학 분야에서 표준적인 기술을 사용하여 Ab를 분석 및 조작할 수 있다. 예를 들어, 투석을 사용하여 Ab가 용해된 매질을 변경할 수 있다. Ab는 또한 보존을 위해서 동결 건조될 수도 있다. Ab는 몇 가지 표준적인 방법 중 임의의 하나, 예를 들어 웨스턴 블롯, 면역 침전 분석법, 효소 결합 면역 흡착 검정법(ELISA) 및 방사능 면역 검정법(RIA)을 사용하여 특이적 항원과 결합하는 능력에 대해서 테스트될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Coligan et al(상동)]을 참조한다.

[0051] 본원에 기재된 다양한 Ab는 다른 분자, 예를 들어 검출 가능 표지, 세포 독성 제제 또는 방사성 동위 원소와 결합될 수 있다. 검출 가능 표지의 예로서는 발색 효소(예를 들어, 퍼옥시다제 및 알칼리성 포스파타제), 방사성 동위 원소(예를 들어, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹¹¹In, ^{99m}Tc, ³²P 및 ³⁵S), 발색단, 바이오틴, 및 발광 염료 또는 형광 염료(예를 들어, FITC, RITC, 로다민, 텍사스 레드, 플루오레세인, 피코에리트린, 염료 도핑된 나노입자 및 양자점(quantum dot)), MR 콘트라스트 제제(예를 들어, 수퍼파라마그네틱 산화철(SPIO) 및 울트라수퍼파라마그네틱 산화철(USPIO))를 포함할 수 있다. 세포 독성 제제의 예로서는 방사성 동위 원소(예를 들어, ³⁵S, ¹⁴C, ³²P, ¹²⁵I, ¹³¹I, ⁹⁰Y, ⁸⁹Zr, ²⁰¹Tl, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ⁵⁷Cu, ²¹³Bi 및 ²¹¹At), 집합된 방사성 동위 원소, 항 대사 물질(예를 들어, 5-플루오로우리실(5-FU), 메토트렉세이트(MTX), 플루다라빈 등), 항 미세 소관 제제(예를 들어, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친 및 탁산(예를 들어, 파클리탁셀 및 도세탁셀)), 알킬화제(예를 들어, 사이클로포스파미드, 멜파란 및 비스클로로에틸니트로소우레아(BCNU)), 백금 제제(예를 들어, 시스플라틴(cDDP라고도 칭함), 카보플라틴 및 옥살리플라틴), 안트라사이클린(예를 들어, 독소루비신 및 다우노루비신), 항생제(예를 들어, 미토마이신-C), 토포이소머라제 억제제(예를 들어, 에토포시드, 테노포시드 및 캠프토테신) 또는 기타 세포 독성 제제, 예를 들어 리신, 디프테리아 독소(DT), 슈도모나스 외독소(PE) A, PE40, 아브린, 사포린, 미국 자리공 바이러스 단백질, 브롬화아티딘, 글루코코르티코이드, 탄저균 독소 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 예를 들어, 미국 특허 제5,932,188호를 참조한다.

[0052] 표적 항원

[0053] 피험체의 내인성 Ab의 알로타이프 표현형과 일치하거나 적어도 더 유사하도록 제조된 비 항원 특이적 Ab, 예를 들어 정맥 내 면역 글로불린 조성물도 본 발명에 포함되지만, 본원에 기재된 Ab는 일반적으로 표적 항원과 특이적으로 결합하는 것으로 선택된다. 표적 항원의 예로서는 세포 표면 상에 발현되는 분자; 세포 내에서 발현되는 분자; 체액 또는 조직 내에 존재하는 분자; 박테리아, 바이러스 또는 기생체에 의해 발현되는 분자; 약물; 및 독을 포함한다. 이에 포함되는 분자, CD 항원, 수용체, 시토킨, 시토킨 수용체, 효소, 효소 보조 인자 또는 DNA 결합 단백질, 예를 들어 ApoE, Apo-SAA, BDNF, 베타 아밀로이드, CA125, 심장 미오신, 카디오프로틴-1, 암 연관 항원, CD1(a-c, 1A, 1D, 1E), CD2, CD3(γ , δ , ϵ , CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD9, CD10, CD11(a, b, c), CD13, CD14, CD15, CD16(A, B), CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD25, CD26, CD27, CD28, CD29, CD30, CD31, CD32(A, B), CD33, CD34, CD35, CD36, CD37, CD38, CD39, CD40, CD41, CD42(a, b, c, d), CD43, CD44, CD45, CD46, CD47, CD48, CD49(a, b, c, d, e, f), CD50, CD51, CD52, CD53, CD54, CD55, CD56, CD57, CD58, CD59, CD61, CD62(E, L, P), CD63, CD64(A, B, C), CD66(a, b, c, d, e, f), CD68, CD69, CD70, CD71, CD72, CD73, CD74, CD78, CD79(a, b), CD80, CD81, CD82, CD83, CD84, CD85(a, d, e, h, j, k), CD86, CD87, CD88, CD89, CD90, CD91, CD92, CD93, CD94, CD95, CD97, CD98, CD99, CD100, CD101, CD102, CD103, CD104, CD105, CD106, CD107(a, b), CD108, CD109, CD110, CD111, CD112, CD113, CD114, CD115, CD116, CD117, CD118, CD119, CD120(a, b), CD121(a, b), CD122, CD123, CD124, CD125, CD126, CD127, CD129, CD130, CD131, CD132, CD133, CD134, CD135, CD136, CD137, CD138, CD140b, CD141, CD142, CD143, CD144, CD146, CD147, CD148, CD150, CD151, CD152, CD153, CD154, CD155, CD156(a, b, c), CD157, CD158(a, d, e, i, k), CD159(a, c), CD160, CD161, CD162, CD163, CD164, CD166, CD167(a, b), CD168, CD169, CD170, CD171, CD172(a, b, g), CD174, CD177, CD178, CD179(a, b), CD181, CD182, CD183, CD184, CD185, CD186, CD191, CD192, CD193, CD194, CD195, CD196, CD197, CDw198, CDw199, CD200, CD201, CD202b, CD204, CD205, CD206, CD207, CD208, CD209, CDw210(a, b), CD212, CD213a(1, 2), CD217, CD218(a, b), CD220, CD221, CD222, CD224, CD225, CD226, CD227, CD228, CD229, CD230, CD233, CD234, CD235(a, b), CD236, CD238, CD239, CD240CE, CD241, CD243, CD244, CD246, CD247, CD248, CD249, CD252, CD253, CD254, CD256, CD257, CD258, CD261, CD262, CD264, CD265, CD266, CD267, CD268, CD269, CD27, CD272, CD273, CD274, CD275, CD276, CD278, CD279, CD280, CD281, CD282, CD283, CD284, CD286, CD288, CD289, CD290, CD292, CDw293, CD294, CD295, CD297, CD298, CD299, CD300A, CD301, CD302, CD303, CD304, CD305, CD306, CD30, CD309, CD312, CD314, CD315, CD316, CD317, CD318, CD320, CD321, CD322, CD324, CD325, CD326, CD328, CD329, CD331, CD332, CD333, CD334, CD335, CD336, CD337, CD338, CD339, CD340, CD344, CD349, CD350, CEACAM3, CGM1, CMV 항원, 보체(예를 들어, C5), CTLA4, 디곡신, EGF, EGF 수용체, ENA-78, 내독소, 에오타신, 에오타신-2, 엑소데스-2, 인자 VII, FGF-산성, FGF-염기성, 피브리노, 섬유아세포 성장 인자-10, FLT3 리간드, FOLR1, 프락탈카인(CX3C), GCP-2, GD2 ganglioside, GDNF, G-CSF, GM-CSF, GF-베타1, GRO/MGSA, GRO-베타, GRO-감마, HBV 항원, HCV 항원, HCC1, 1-309, 열 충격 단백질, HER 1, HER 2, HER 3, HER 4, 헤르페스 바이러스 항원, HIV 항원, HLA, HMW-MAA, HSV 항원, 인슐린, IFN-감마, IgE, IGF-I, IGF-II, IGF-1R, IL-1알파, IL-1베타, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8(72 a.a.), IL-8(77 a.a.), IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18(IGIF), 인히빈 알파, 인히빈 베타, IP-10, IRP-2, 각질 세포 성장 인자-2(KGF-2), KGF, 루이스 Y, 리포 테이코산, 렙틴, LIF, 림포타틴, 리소자임, 물리리안 억제 물질, 단백질 콜로니 억제 인자, 단백질 유인물질 단백질, M-CSF, MDC(67 a.a.), MDC(69 a.a.), MCP-1(MCAF), MCP-2, MCP-3, MCP-4, MDC(67 a.a.), MDC(69 a.a.), MIG, MIP-1알파, MIP-1베타, MIP-3알파, MIP-3베타, MIP-4, MUC1, 골수양 선조 세포 억제 인자-1(MPIF-1), NAP-2, NCA 90, 뉴투린, 신경 성장 인자, 베타-NGF, NT-3, NT-4, 온코스타틴 M, PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB, PF-4, 포스포타디세린, PSA, PSCA, PSMA, 광견병 바이러스 항원, RANTES, RSV, SDF1알파, SDF1베타, SCF, SCGF, 줄기 세포 인자(SCF), TACSTD1, TAG 72, TARC, TACE 인지 위치, 테낙신 C, TGF-알파, TGF-베타, TGF-베타2, TGF-베타3, 종양 괴사 인자(TNF), TNF-알파, TNF-베타, TNF 수용체 I(p55), TNF 수용체 II, TNIL-1, TPO, TRAIL-R1, VEGF, VEGF-A, VEGF 수용체 1, VEGF 수용체 2, VEGF 수용체 3, 및 상기 것들의 수용체를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 뮤로모넵-CD3, 에드레콜로넵, 이브리투모넵, 티옥세탄, 토시투모넵, 앵식시넵, 리 톡시넵, 바실릭시넵, 인플릭시넵, 세툽시넵, 다클리주넵, 팔리비주넵, 트라스투주넵, 겐투주넵, 알렘투주넵, 오 말리주넵, 에팔리주넵, 베바시주넵, 니모투주넵, 나탈리주넵, 라니비주넵, 에쿨리주넵, 세툽리주넵 페골, 아달 리주넵, 파니투무넵, 에타너셉트, 알레파셉트, 아바타셉트 및 티로나셉트도 또한 본 발명에 유용한 Ab에 대한 에피토프를 한정한다.

[0054] Ig 알로타이프

[0055] 본 발명의 방법 및 조성물은 피험체의 알로타이프 표현형에 대하여 치료용 mAb의 알로타이프 표현형과 특이적으로 일치하거나, 적어도 부분적으로 일치하는(예를 들어, 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95% 초과 일치하는) 것과 관련되어 있다. 다양한 알로타이프가 당업계에 공지되어 있다. 이하 표 1은 상이한 인간 Ig 대립 유전자를 나열한 것이다.

표 1

[0056]

| Ig 군 | 대립 유전자 |
|-------|---|
| 카파 경쇄 | Km1; Km1,2; Km3 |
| 람다 경쇄 | 무 |
| G1 | G1m1, nGm1 G1m2, nGm2 Gm3, Gm17 |
| G2 | G2m23, nG2m23 |
| G3 | G3m21, nG3m21 G3m5, nGm5 G3m11, nGm11 G3m6, G3m10, G3m13, G3m14, G3m15, G3m16, G3m21, G3m24, G3m26, G3m27, G3m28 |
| G4 | 무 |
| A1 | 무 |
| A2 | A2m1, A2m2 |
| D | 무 |
| M | 무 |
| E | 무 |

[0057] Ab 패널

[0058] 본 발명의 조성물, 방법 및 키트는, 적어도 (i) 제1 알로타이프 표현형의 제1 중쇄 가변부와 제1 중쇄 불변부를 포함하는 제1 Ab; 및 (ii) 제1 Ab의 중쇄 가변부와 동일한(또는, 예를 들어 다중클론 Ab의 경우, 적어도 동일한 항원 결합 특이성을 가지는) 중쇄 가변부와, 제1 알로타이프 표현형과 상이한 제2 알로타이프 표현형의 제2 중쇄 불변부를 포함하는 제2 Ab;를 포함하는 Ab의 패널을 특징으로 할 수 있거나 또는 이 Ab 패널을 이용할 수 있다. 바람직한 구체예에서, Ab의 패널은, 각각 가변부(또는 항원 결합부)는 동일하지만 불변부는 상이한 몇 개의 상이한 인간 또는 인간화 mAb(예를 들어, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 이상의 상이한 mAb)를 포함하는데, 상기 불변부는 이소타이프는 동일하지만 알로타이프 표현형은 상이하다. 예를 들어, 인간 또는 인간화 mAb의 패널은 가변부가 동일하지만(그리고 선택적으로 중쇄 불변부가 동일하지만) 카파 경쇄 불변부는 상이한 Ig를 2개 또는 3개 포함할 수 있는데, 이 경우 카파 경쇄 불변부 간 차이는 Km1; Km1,2; 및/또는 Km3 알로타이프에 상응한다.

[0059] 다른 예로서, 인간 또는 인간화 mAb의 패널은 경쇄 및 중쇄 가변부는 동일하지만, 중쇄 불변부는 상이한 IgG₁들을 적어도 2개(예를 들어, 2개, 3개 또는 4개) 포함할 수 있으며, 이 경우 중쇄 불변부 간 차이는 G1m1, G1m2, G1m3, 및/또는 G1m17 알로타이프에 상응한다. 알로타이프의 세트는 종종 함께 유전되기 때문에, 인간 또는 인간화 Ab 패널은 경쇄 및 중쇄 가변부는 동일하지만, 중쇄 불변부 단상형, 예를 들어 G1m3; Gm1,17; 및 Gm1,2,17 중 2개 또는 3개는 상이하지만 일반적인, 일련의 IgG₁들을 포함할 수 있다. 인간 또는 인간화 IgG₁ mAb의 바람직한 세트는 오로지 2개의 상이한 존재 가능 항원 위치(즉 G1m3 및 G1m17)를 포함할 것이므로, 이 세트는 동일한 람다 경쇄 및 중쇄 가변부, 그리고 (a) nG1m1, nG1m2 및 G1m3 알로타이프의 중쇄 불변부 및 (b) nG1m1, nG1m2 및 G1m17 알로타이프의 중쇄 불변부를 포함할 것이다.

[0060] 이와 유사하게, 인간 또는 인간화 IgG₃ mAb의 패널은 경쇄 및 중쇄 가변부는 동일하지만 중쇄 불변부는 상이한 적어도 2개(예를 들어, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 이상)의 IgG₃를 포함할 수 있는데, 이 경우 중쇄 불변부 간 차이는 G3m21, nG3m21, G3m5, nGm5, G3m11, nGm11, G3m6, G3m10, G3m13, G3m14, G3m15, G3m16, G3m21, G3m24, G3m26, G3m27 및 G3m28 표현형 중 하나 이상(예를 들어, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 이상)에 상응한다. 알로타이프의 세트는 종종 함께 유전되므로, 인간 또는 인간화 Ab의 패

널은 경쇄 및 중쇄 가변부는 동일하지만 중쇄 불변부 단상형, 예를 들어 G3m5,10,11,13,14,26,27; G3m21,26,27,28; G3m10,11,13,15,27; G3m10,11,13,15,16,27; G3m5,6,10,11,14,26,27; 및 G3m5,6,11,24,26 중 2개 이상(예를 들어, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개)은 상이하지만 일반적인, 일련의 IgG₃를 포함할 수 있다. mAb의 패널은 경쇄 및 중쇄 가변부는 동일하지만, 중쇄 불변부는 상이한 인간 또는 인간화 IgA₂ 2개를 포함할 수 있는데, 이 경우 중쇄 불변부 간 차이는 Am1 및 Am2 알로타이프에 상응한다.

[0061] 상기 중쇄 불변부 패널 내 Ab는 카파 및/또는 람다 경쇄를 포함할 수 있다. 인간 람다 경쇄는 대립 유전자 변이체를 포함하지 않기 때문에, 패널의 복잡성(complexity)을 감소시키기 위해서는 오로지 이와 같은 경쇄만을 사용하는 것이 바람직하다. 카파 사슬 함유 패널에 있어서, 각각의 중쇄 알로타이프는 Km1; Km1,2; 및/또는 Km3 알로타이프 중 어느 하나의 카파 사슬과 결합될 수 있다. 상이한 카파 사슬 알로타이프가 패널에 포함되지 않는 경우, Km3이 가장 일반적이기 때문에 Km3이 가장 바람직한 경쇄이고, Km1이 가장 일반적이지 않기 때문에 Km1이 가장 바람직하지 못하다. 본 발명의 Ab의 패널은 일련의 Ab 함유 용기 또는 바이알로서 배열될 수 있다.

[0062] 면역원성이 감소한 항체

[0063] 또한 면역원성이 감소한 Ab가 본 발명에 포함된다. 일반적으로 종의 일원들 전반에 걸쳐서 감소된 면역원성을 나타내는 예방용 또는 치료용 Ab는 알로타이프 표현형을 기반으로 선택된다. 잠재적인 항원 결정기가 알로타이프 결정기와 결합하지 않거나 소수만이 결합하는 Ab가 바람직하다. 예를 들어, (카파 경쇄가 아닌) 람다 경쇄를 사용하는 인간 또는 인간화 Ab는 알로타이프 결정기를 가지지 않기 때문에, 이와 같은 인간 또는 인간화 Ab가 바람직하다. 카파 사슬 중, 군집 내 발현 빈도가 가장 높은 것이 AAAb 반응을 피하는데 바람직하다(Km3 > Km1,2 > Km1). 사람의 중쇄에 있어서, 알파 1, 뮤, 엡실론, 감마 4(알로타이프를 가지지 않는 것) 또는 감마 2(nG2m23 이소알로타이프를 가지는 것)를 사용하는 것이 바람직한데, 그 이유는 AAAb 반응이 이와 같은 사슬에 대해 일어나서는 안 되기 때문이다. 그러나, 알로타이프 변이가 가장 많이 나타나는 감마 1 및 감마 3은 다양한 적용(예를 들어, 우수한 보체 활성화 또는 ADCC가 바람직한 경우)에 있어서 바람직하다. 이와 같은 경우, nG1m1, nG1m2 및 G1m3; 또는 nG1m1, nG1m2 및 G1m17을 가지는 감마 1이 바람직하다. 이와 같은 중쇄 내의 아미노산 서열은 또한 G1m3 또는 G1m17을 한정하는 잔기들을 이소알로타이프 결정기를 한정하는 아미노산으로 치환하도록 조작될 수도 있다. 이와 같이 조작된 중쇄는 Ab 내에 사용될 수 있으며, 이때 Ab는 원하는 활성(예를 들어, 보체 활성화 및 ADCC 활성)에 대해 테스트될 수 있다.

[0064] 투여용 단일클론 항체를 선택하는 방법

[0065] 하나의 측면에서, 본 발명은 상이한 Ab의 패널로부터 Ab를 선택하는 방법을 특징으로 하는데, 여기서 상기 Ab는 각각 가변부가 동일하며(또는 적어도 항원 결합 특이성이 동일하며), 이소타이프가 동일하지만, 알로타이프 표현형은 서로 상이하다. 본 방법은 (a) 피험체로부터 생물학적 샘플을 얻는 단계; (b) 생물학적 샘플을 분석하여 피험체에 의해 발현되는 하나 이상(예를 들어, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개 이상)의 Ab 알로타이프 표현형을 측정하는 단계; (c) 적어도 (i) 피험체에 의해 발현되지 않는 제1 알로타이프 표현형의 제1 불변부와 소정의 항원에 특이적인 항원 결합부를 가지는 제1 가변부를 가지는 제1 Ab 및 (ii) (제1 Ab의 가변부와 동일할 수 있는) 소정의 항원에 특이적인 항원 결합부를 가지는 제1 가변부와, 제1 알로타이프 표현형과 상이하며 피험체에 의해 발현되는 제2 알로타이프 표현형의 제2 불변부를 가지는 제2 Ab를 포함하는 Ab의 패널을 제공하는 단계; 및 (d) 인간 피험체에 제2 Ab를 투여하는 단계를 포함한다. 이러한 방법에서, 제2 불변부는 또한 피험체에 의해 발현되는 다수(예를 들어, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 이상)의 알로타이프 표현형을 가질 수도 있고/있거나, 피험체에 의해 발현되지 않는 알로타이프를 가질 수 없다.

[0066] 생물학적 샘플을 얻기 위한 임의의 적당한 방법이 이용될 수 있다. 얻어진 생물학적 샘플은 피험체(예를 들어, 혈액, 혈장, 혈청, 백혈구, B 림프구, 뇌척수액, 활액, 비장, 림프 소절, 골수 및 태반)로부터 유래한 Ab를 암호화하는 핵산을 가지는 세포 또는 이로부터 유래한 Ab를 함유하는 임의의 샘플을 포함한다. 예를 들어, 말초 혈액 샘플은 정맥 천자에 의해 얻을 수 있다. 전혈은 공지의 기술에 의하여 세포 분획(예를 들어, 버피 코트), 혈장 또는 혈청으로 분리될 수 있다. 골수는 바늘 흡입술에 의해 얻을 수 있다. 비장과 림프 소절 샘플은 생검을 통해 얻을 수 있다. 몇몇 경우에서, 피험체로부터 얻은 생물학적 샘플은 추가로 처리되어, Ab를 암호화하는 핵산 서열을 가지는 세포 또는 Ab 함유 부분에 대해 증폭될 수 있다.

[0067] Ab의 알로타이프 표현형을 피험체에 일치시키기 위해서, 피험체 내 적어도 하나(예를 들어, 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 이상)의 내인성 Ab의 알로타이프 표현형 하나 이상(예를 들어, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 이상)이 측정될 수 있다. Ab의 알로타이프 표현형은 임의의 적당한 방법, 예를 들어 피험체로부터 취

한 생물학적 샘플 내 알로타이프 표현형에 상응하는 Ab의 아미노산 서열 변이를 확인하는 것, 또는 피험체로부터 취한 생물학적 샘플 중에 함유된 DNA 또는 RNA의 알로타이프 표현형에 상응하는 Ab 암호화 유전자의 핵산 서열을 측정하는 것에 의해 측정할 수 있다. 예를 들어, 알로타이프 표현형과 연관된 아미노산 변이체에 특이적인 프로브는 Ab 함유 샘플과 접촉할 수 있으며, 또한 Ab와 프로브의 결합은 평가될 수 있는데, 여기서 Ab와 프로브의 결합은 상기 샘플이 특이적인 알로타이프 표현형의 Ab를 함유하는 것을 말해준다. 다른 예로서, 알로타이프 표현형과 연관된 아미노산 변이체를 암호화하는 핵산에 특이적인 프로브는 피험체로부터 취한 핵산 샘플과 접촉될 수 있으며, 알로타이프 표현형과 연관된 아미노산 변이체를 암호화하는 핵산과 프로브의 결합은 (예를 들어, 서던 블롯팅에 의해) 검출될 수 있는데, 여기서 알로타이프 표현형과 연관된 아미노산 변이체를 암호화하는 핵산과 프로브의 결합은 피험체가 특이적인 알로타이프 표현형의 Ab를 가진다는 것을 말해준다.

[0068] 통상의 방법에서, 생물학적 샘플, 예를 들어 혈액, 혈청 또는 혈장은 Ab의 표현형을 결정할 피험체로부터 분리된다. 분리된 샘플은, 예를 들어 솔트 컷, 크기별 배제 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 면역 친화 크로마토그래피(예를 들어, 항 인간 Ig 항체와 커플링된 크로마토그래피 비드를 사용하여 인간 Ig를 분리할 수 있음) 및/또는 단백질 A 또는 단백질 G 크로마토그래피에 의해서 이 샘플 중 Ab가 증폭되도록 추가로 처리될 수 있다. 면역 검정법, 예를 들어 효소 결합 면역 흡착 검정법(ELISA) 또는 방사능 면역 검정법(RIA)을 사용하여 미지의 알로타이프 표현형의 Ab를 함유하는 샘플 중에 특정 알로타이프 표현형의 Ab의 존재를 측정할 수 있다. 이러한 면역 검정법은 통상적으로 오로지 특정 알로타이프 표현형의 Ab 및 검출 가능 표지와 선택적으로 결합하는 Ab를 이용한다. 예를 들어, 선택된 알로타이프 표현형에 특이적인 포획 Ab는 미세 역가 평판의 웰 내에 고정될 수 있다. Ab를 함유하는 생물학적 샘플, 예를 들어 희석된 혈청을 웰에 첨가한 후, 이 웰을 세정한다. 이후 평가되는 Ab의 이소타입에 특이적인 효소 표지화 Ab(예를 들어, 퍼옥시다제 표지화 항 인간 IgG₁)를 웰에 첨가한다. 이후 웰을 세정하고 효소에 대한 기질을 첨가하여 Ab를 함유하는 생물학적 샘플이 평가되는 특정 알로타이프 표현형의 Ab를 포함하는 웰 내에서 발색 반응이 검출될 수 있다.

[0069] 대안적으로, 적혈구 응집 억제 반응 검정법이 사용될 수 있다. 예시적인 적혈구 응집 반응 검정법에서, 0+ 적혈구 세포를 공지의 단일 알로타이프에 특이적인 Ig로 코팅하여, 상기 코팅된 세포를 공지의 단일 알로타이프의 Ab에 노출시켰을 때 이 코팅된 세포는 응집된다. 공지의 단일 알로타이프의 Ab를 함유하는 것으로 알려진 항혈청은 타입을 결정할 미지의 혈청과 혼합되고, 이 혼합물을 상기 코팅된 적혈구 세포에 첨가한다. 만일 적혈구 응집이 억제되면, 알로타이프가 미지의 혈청에 존재한다고 결론내릴 수 있다.

[0070] 다른 기술에서, 생물학적 샘플 중 알로타이프 표현형과 연관된 아미노산 변이체를 암호화하는 핵산의 존재를 검출할 수 있다. 예를 들어 중합 효소 연쇄 반응(PCR)계 검정법은 또한 특정 알로타이프 표현형에 특이적인 Ab 내의 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 부위를 선택적으로 증폭시키는 프라이머 세트를 사용하여 피험체에 의한 Ab 알로타이프 표현형의 발현을 측정하는데 사용될 수도 있다. 뿐만 아니라, 제한 단편 길이 다형성 분석법은 소정의 피험체에 의해 발현되는 알로타이프(들)를 측정하는데 사용될 수 있다. 비록 현재는 면역 검정법 또는 핵산 기반 검출 기술보다 더욱 까다롭지만, Ab 또는 이의 일부는 또한 직접 서열 결정되어 자체의 알로타이프 표현형을 측정할 수 있다.

[0071] Ab를 변형하는 방법

[0072] 본 발명은 Ab의 항원 결합 가변부를 보존하면서 자체의 알로타이프 표현형을 변경하는 Ab를 변형하는 방법을 추가로 포함한다. 본 방법은 전술한 바와 같이 Ab의 패널을 제조하는데 사용될 수 있다. Ab를 변형하는 방법은 당 업계에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Lo, B.K.C., Antibody Engineering- Methods and Protocols, Humana Press, 2004]을 참조한다. Ab를 변형하는 것은 일반적으로 통상의 분자 생물학적 기술을 사용하여 수행되는데, 이 기술에서는, 예를 들어 처음에 전체 Ig 경쇄 또는 중쇄를 암호화하는 핵산을 분리하여 벡터에 클로닝한다. 그 다음, 제한 효소를 사용하여 Ab의 알로타이프 표현형 중 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개 이상)에 상응하는 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 서열을 잘라낸다. 이후, 결실된 핵산은 하나 이상(예를 들어, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 이상)의 상이한 알로타이프 표현형의 아미노산 서열을 암호화하는 신규의 핵산 서열로 치환된다. 이 과정을 반복하여 Ab의 상이한 알로타이프 표현형에 상응하는 가변부는 동일하지만 불변부는 상이한 Ab를 암호화하는 핵산의 라이브러리를 생성할 수 있다. 대안적으로, 항원 특이성이 공지된 Ab로부터 유래하는 CDR을 알로타이프 표현형이 상이한 Ab의 틀 부위 상에 이식하는 CDR 이식법이 사용될 수 있다. 이와 같은 방법을 이용하면, 예를 들어 알로타이프 G1m(1)의 Ab는 G1m(3) 알로타이프 로 변형될 수 있다.

[0073] 특정 군집에 속하는 인간 피험체에 대한 단일클론 항체를 선택하는 방법

[0074] 본 발명은 임의의 Ab 알로타이프 표현형 또는 단상형이 우세한 특정 군집에 속하는 인간 피험체에 투여하기 위

한 단일클론 항체를 선택하는 방법을 추가의 특징으로 한다. 본 방법의 예에서, 피험체는 표현형 또는 유전자형을 기초로 특정 군집으로 분류된다. 특정 군집은 인종이나 선조 배경을 기초로 하는 군집, 예를 들어 백인, 흑인 또는 아시아인 군집일 수 있다. 일단 피험체를 특정 군집으로 분류하면, 적어도 특정 군집에 더욱 일반적인 제1 알로타이프 표현형 또는 단상형을 가지는 제1 Ab 및 특정 군집에 덜 일반적인 제2 알로타이프 표현형 또는 단상형의 제2 Ab를 포함하는 Ab의 세트로부터 피험체에 투여하기 위한 Ab가 선택된다. 이후, 피험체가 제2 알로타이프 표현형 또는 단상형보다는 제1 알로타이프 표현형 또는 단상형을 발현할 가능성이 더욱 많을 것이라는 것에 기초하여 피험체에 투여하기 위한 제1 Ab가 선택된다. 예를 들어, 흑인 군집에서, G1m3 알로타이프의 Ab의 사용은 드물지만, G1m1과 G1m17의 사용은 일반적이다. 그러므로, G1m3 알로타이프의 Ab의 사용은 G1m1과 G1m17 알로타이프의 Ab의 사용보다 덜 바람직할 것이다.

[0075] 항 항체 반응을 나타낸 피험체를 치료하는 방법

[0076] 다른 측면에서, 본 발명은 이전에 투여된 Ab에 대한 항 Ab 반응(예를 들어, HAHA 또는 HAMA 반응)을 나타낸 피험체를 치료하는 방법에 관한 것이다. 본 방법에서, 이전의 Ab의 투여는 중단되고 피험체에는 대신 이전에 투여된 Ab와 동일한 가변부를 가지지만, 이전에 투여된 Ab와 상이한 알로타이프 표현형 (바람직하게는 피험체에 의해 발현된 알로타이프 표현형)을 가지는 제2 Ab가 투여된다. 그러므로, 항 항체 반응 내 임의의 항 알로타이프 반응은 제거되거나 감소된다. 따라서, 본 방법은 항 항체 반응이 피험체 내 이전에 투여된 Ab의 알로타이프 결정기와 특이적으로 결합하는 Ab의 존재를 특징으로 할 때 특히 유용하다.

[0077] 항 항체 반응을 유도할 가능성이 더 적은 단일클론 항체를 선택하는 방법

[0078] 또한 피험체 내 항 Ab 반응을 유도할 가능성이 더 적은 Ab를 선택하는 방법이 본 발명에 포함된다. 본 방법은 처음에 피험체의 하나 이상(예를 들어, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 이상)의 Ab 알로타이프 표현형을 측정하는 단계를 포함할 수 있다. 그 다음, (a) 피험체의 하나 이상의 알로타이프 표현형을 가지고/가지거나 (b) 피험체에 의해 발현되지 않는 알로타이프 표현형을 가지지 않는 Ab는 상이한 알로타이프 표현형을 가지는(그리고 선택적으로 동일한 가변부를 가지는) 상이한 Ab의 패널로부터 선택된다. 이후, 선택된 Ab를 피험체에 투여된다.

[0079] 약학 조성물과 방법

[0080] 투여 방식과 투여 경로, 그리고 표준적인 약학 실무를 기초로 선택된 약학적으로 허용 가능한 담체(예를 들어, 멸균 염수) 내 본 발명의 Ab 조성물이 동물 또는 인간에 투여될 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체와 약학 제제의 목록은 본 발명이 속한 분야에서 표준적인 교과서[Remington's Pharmaceutical Sciences]와 USP/NF에서 살펴볼 수 있다. 기타 물질이 상기 조성물에 첨가될 수 있으며, 상기 조성물을 안정화 및/또는 보존하기 위하고/위하거나, 피험체에 상기 조성물의 투여를 용이하게하기 위하여 기타 단계들이 취해질 수 있다.

[0081] 예를 들어, 상기 Ab 조성물은 동결 건조(예를 들어, 문헌[Draber et al., J. Immunol. Methods. 181:37, 1995; 및 PCT/US90/01383호] 참조); 나트륨 및 염화물 이온을 포함하는 용액 중에 용해; 하나 이상의 안정화제, 예를 들어 알부민, 글루코스, 말토스, 수크로스, 솔비톨, 폴리에틸렌 글리콜 및 글리신을 포함하는 용액 중에 용해; (예를 들어, 0.45마이크론 및/또는 0.2마이크론 필터를 사용하여) 여과; 및/또는 살균제(예를 들어, 세제, 유기 용매, 및 세제와 유기 용매의 혼합물)를 포함하는 용액 중에 용해될 수 있다.

[0082] 본 발명의 조성물은 임의의 적당한 기술에 의해서 동물이나 인간에 투여될 수 있다. 통상적으로, 이러한 투여는 비경구 투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 근육 내, 흉골 내 또는 복막 내 도입)일 것이다. 상기 조성물은 또한, 예를 들어 내부 또는 외부 표적 위치에서의 수술적 전달 또는 혈관을 통해 접근 가능한 위치에서의 카테터에 의하여 표적 위치에 직접 투여될 수도 있다. 기타 전달 방법, 예를 들어 조성물이 담지된 리포솜에 의한 전달 또는 조성물이 담지된 장치로부터 확산시키는 방법이 당업계에 공지되어 있다. 상기 조성물은 단일 볼루스, 다수 회 주사로, 또는 연속 주입(예를 들어, 정맥 내 주입 또는 복막 투석)에 의해 투여될 수 있다.

[0083] 치료학적 유효량은 치료된 동물이나 인간의 체 내에서 의학적으로 원하는 결과를 얻어낼 수 있는 양이다. 의료 업계에 널리 공지되어 있는 바와 같이, 임의의 동물이나 인간에 적당한 투여량은 다수의 인자들, 예를 들어 피험체의 크기, 체표면적, 연령, 투여될 특정 조성물, 성별, 투여 시간 및 투여 경로, 전체 건강 상태, 그리고 함께 투여되는 다른 약물에 따라서 달라진다. 항체의 정맥 내 투여에 적당한 투여량은 체중 1kg당 약 0.01mg 내지 100mg의 범위일 것이다.

[0084] 키트

- [0085] 본 발명은 또한 피험체의 Ab 알로타이프 표현형을 측정하여, 피험체에 의해 발현되는 Ab 알로타이프 표현형과 일치하거나 매우 유사한 Ab를 피험체에 투여할 수 있도록 해주는 키트를 특징으로 한다. 예시적인 키트는 피험체로부터 분리된 생물학적 샘플 중 Ab 알로타이프 표현형을 특이적으로 동정하는 다수 개의 프로브와 기타 시약, 예를 들어 완충액, 용기(예를 들어 시험관 또는 미세 역가 평판), 양성 및 음성 대조구(예를 들어, 스크리닝되는 특정 알로타이프 표현형을 발현하는 Ab 및 스크리닝되지 않는 알로타이프 표현형을 발현하지 않는 Ab; 또는 스크리닝되는 알로타이프 표현형의 Ab를 암호화하는 핵산 및 스크리닝되는 알로타이프 표현형을 포함하지 않는 Ab를 암호화하는 핵산), 및 사용을 위한 인쇄된 지침을 포함할 수 있다. 프로브는 상기 상세히 기술된 바와 같이 스크리닝되는 알로타이프 표현형에 상응하는 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 또는 스크리닝되는 Ab 알로타이프 표현형에 상응하는 아미노산 서열과 특이적으로 결합하는 Ab를 암호화하는 핵산을 특이적으로 증폭시키기 위한 중합 효소 연쇄 반응 프라이머일 수 있다.
- [0086] Ab 기반 프로브는 면역 검정법, 예를 들어 ELISA, RIA, 침강소 분석법 또는 오우크테를로니 이중 확산 분석법을 사용하여 특정 알로타이프 표현형의 Ab의 존재를 검출하는데 사용될 수 있다. 바람직하게, 이러한 면역 검정법은 몇 가지(3가지, 4가지, 5가지, 6가지 이상) 상이한 Ab 알로타이프 표현형을 단일 검정법에서 검출하도록 배열된다. 예를 들어, 미세 역가 평판의 상이한 웰들은 상이한 Ab 알로타이프 표현형에 특이적인 상이한(예를 들어, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개 이상의) 포획 Ab(capture Ab)로 코팅되어, 단일 ELISA 또는 RIA에서 하나의 생물학적 샘플이 상이한 알로타이프 표현형에 대해 동시에 스크리닝될 수 있다. 이와 유사하게, 오우크테를로니 검정법에서 생물학적 샘플은 중앙 웰에 첨가될 수 있고, 상이한 알로타이프 표현형에 특이적인 몇몇의 상이한 Ab 각각은 중앙 웰 주변의 상이한 웰에 개별적으로 첨가될 수 있다. 대안적으로, 전술한 적혈구 응집 억제 반응 검정법은 특정 알로타이프 표현형의 Ab의 존재를 검출하는 키트에 포함될 수 있다.
- [0087] 피험체의 Ab 알로타이프 표현형을 측정하는 키트는 또한 피험체로부터 얻은 생물학적 샘플이 하나 이상(예를 들어, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개 이상)의 Ab 알로타이프 표현형을 암호화하는 핵산을 함유하는지 여부를 측정하기 위한 시약을 포함할 수도 있다. 예를 들어, 키트는 특정 알로타이프 표현형의 Ab를 암호화하는 핵산에 상보적인 검출 가능하도록 표지화된 핵산, 특정 알로타이프 표현형에 특이적인 Ab 내의 아미노산 서열을 암호화하는 핵산 부위를 선택적으로 증폭시키는 PCR 프라이머 세트, 또는 알로타이프 표현형 특이성을 기초로 핵산 서열을 절단하는 제한 엔도뉴클레아제(RELP 분석용)를 포함할 수 있다.
- [0088] **AAAb의 존재에 대하여 피험체를 스크리닝하는 방법**
- [0089] 피험체의 Ab 알로타이프 표현형과 일치하거나 매우 유사한 Ab의 사용은 이미 AAAb를 가지는 피험체 내에서 특히 중요하다. 그러므로 하나의 측면에서, 본 발명은 AAAb의 존재에 대하여 피험체를 스크리닝하는 방법에 관한 것이다. 이와 같은 방법에서, 생물학적 샘플이 피험체로부터 얻어진 다음, AAAb의 존재에 대하여 스크리닝될 수 있다. 생물학적 샘플은 AAAb를 함유할 수 있는 임의의 것, 예를 들어 혈액, 혈장, 혈청, 림프, 타액, 소변, 뇌척수액 및 활액을 포함할 수 있다. 생물학적 샘플을 얻는데 적당한 임의의 방법이 이용될 수 있다. 예를 들어, 말초 혈액 샘플은 정맥 천자에 의해 얻을 수 있다. 전혈은 공지의 기술에 의하여 세포 분획(예를 들어, 버피 코트), 혈장 또는 혈청으로 분리될 수 있다. 몇몇 경우에서, 피험체로부터 얻은 생물학적 샘플은 추가로 처리되어, Ab 함유 부분 또는 Ab를 암호화하는 핵산 서열을 가지는 세포를 정제할 수 있다.
- [0090] 생물학적 샘플 중 AAAb의 존재는 임의의 적당한 방법에 의해 측정될 수 있다. 예를 들어, AAAb가 특이적인 알로타이프의 Ab는 생물학적 샘플과 접촉되는 프로브로서 사용될 수 있다. AAAb와 Ab 프로브의 결합은 피험체가 특이적인 AAAb를 가진다는 지표로서 검출될 수 있다. 이와 같은 프로브 Ab는 다양한 면역 검정법, 예를 들어 응집체 형성법, 침전 분석법, 오우크테를로니 이중 확산 분석법, ELISA(예를 들어, 포획 Ab로서 프로브 Ab를 사용함) 및 RIA(예를 들어, 포획 Ab로서 프로브 Ab를 사용함)를 사용하여 생물학적 샘플 중의 특이적 AAAb를 검출하는데 사용될 수 있다.
- [0091] 통상의 방법에서, 생물학적 샘플, 예를 들어 혈액, 혈청 또는 혈장은 피험체로부터 분리된다. 분리된 샘플은 직접 사용되거나 추가로 처리되어, 예를 들어 솔트 컷, 크기별 배제 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 면역 친화 크로마토그래피(예를 들어, 항 인간 Ig 항체와 커플링된 크로마토그래피 비드를 사용하여 인간 Ig를 분리할 수 있음) 및/또는 단백질 A 또는 단백질 G 크로마토그래피에 의해서 샘플 중 Ab를 증폭시킬 수 있다. 스크리닝되는 AAAb가 결합할 알로타이프의 포획 Ab는 미세 역가 평판의 웰 내에 고정될 수 있다. 잠재적으로 AAAb를 함유하는 생물학적 샘플은 웰에 첨가하고, 이 웰은 세정한다. 이후, (포획 Ab의 Ab가 아닌) 피험체의 Ab에 특이적인 표지화 Ab가 웰에 첨가된다. 이후 웰이 세정되고 나서, 웰 내 표지의 존재가 평가된다. 웰 내 표지의 존재는 그 웰에 첨가된 생물학적 샘플이 AAAb를 함유하였음을 말해준다. 대안적으로, 적혈구 응집 반응 검정법

이 사용될 수 있다. 예를 들어, 0+ 적혈구 세포는 하나의 공지된 알로타이프의 Ig로 코팅된다. 만일 생물학적 샘플의 첨가가 상기 코팅된 세포의 응집을 야기하면, 이 생물학적 샘플은 스크리닝 대상인 AAAb를 함유하는 것이다.

[0092] **기타 구체예**

[0093] 본 발명은 본 발명의 상세한 설명과 함께 기술되며, 전술한 상세한 설명은 본 발명을 예시하기 위한 것이지만 본 발명의 범위를 한정하고자 하는 것은 아니고, 본 발명의 범위는 첨부된 청구항에 의해 한정된다는 것을 이해해야 한다. 기타 측면, 이점 및 변형도 이하 청구항의 범위 내에 포함된다.