ÖZET

STABİL SIVI ANTİKOR FORMULASYONU

Mevcut buluş genellikle antikorlar içeren farmasötik formülasyonların alanı ile ilgilidir. Spesifik olarak mevcut buluş, stabil sıvı bir antikor formülasyonu ve bunun farmasötik preparasyonu ve kullanımı ile ilgilidir. Bu buluş, insancıllaştırılmış bir anti-NGF antikoru içeren bir sıvı formülasyon ile örneklendirilir.

İSTEMLER

1. Aşağıdakileri içeren bir sıvı anti-NGF antikoru kompozisyonu:

bir antikor,
bir tonisite ajanı
bir tampon,
bir kıskaçlama ajanı,
bir surfektan;
burada adı geçen kompozisyonun pH'si, 5.8 ila 6.8 arasındadır,
buradaki surfektan, polisorbat 20'dir,
buradaki tampon, histidindir,
buradaki tonisite ajanı, trehalozdur ve
buradaki antikor, SEK.KİM.NO.:1'e ait bir değişken ağır zincir sekansı ve SEK.KİM.NO.:2'ye ait bir değişken hafif zincir sekansı içerir.

2. İstem 1'e göre sıvı kompozisyon; buradaki tonisite ajanı, trehaloz dihidrattır.

3. İstem 2'ye göre sıvı kompozisyon; buradaki trehaloz dihidrat konsantrasyonu, 1 mg/ml ila 100 mg/ml arasındadır.

4. 1 ila 3 istemlerinden birine göre sıvı kompozisyon; buradaki polisorbat 20 konsantrasyonu, 0.01 ila 0.15 mg/ml arasındadır.

5. 1 ila 4 istemlerinden birine göre sıvı kompozisyon; buradaki

histidin tamponu konsantrasyonu, 1.0 ila 15 mM arasındadır.

6. 1 ila 5 istemlerinden birine göre sıvı kompozisyon; buradaki kıskaçlama ajanı, EDTA'dır.

7. İstem 6'ya göre sıvı kompozisyon; buradaki EDTA konsantrasyonu, 0.01 ila 0.1 mg/ml arasındadır.

8. 1 ila 7 istemlerinden birine göre sıvı kompozisyon; buradaki antikor konsantrasyonu, 50 mg/ml'den az veya buna eşittir.

9. 1 ila 8 istemlerinden birine göre olup ayrıca bir antioksidan ajan ve/veya bir prezervatif ajan da içeren sıvı kompozisyon.

10. 1 ila 9 istemlerinden birine göre olup, şunları içeren sıvı anti-NGF kompozisyonu:

0.5 mg/ml ila 50 mg/ml antikor,
1.0 mM ila 15 mM histidin tamponu,
1 mg/ml ila 100 mg/ml trehaloz dihidrat,
0.01 ila 0.15 mg/ml polisorbat 20,
0.01 ila 0.1 mg/ml EDTA,
burada adı geçen kompozisyonun pH'si, 5.8 ila 6.8 arasındadır.

11. 1 ila 10 istemlerinden birine göre sıvı kompozisyon; buradaki antikor, bir insan veya insancıllaştırılmış antikordur.

12. 1 ila 11 istemlerinden birine göre sıvı kompozisyon; buradaki antikor, bir IgG2 antikorudur.

13. 1 ila 12 istemlerinden birine göre sıvı kompozisyon; buradaki antikor, insan NGF'sine 2 nM'den az veya buna eşit bir K_D ile bağlanır.

14. 1 ila 13 istemlerinden birine göre sıvı kompozisyon; buradaki antikor, SEK.KİM.NO.:16'ya ait bir ağır zincir amino asit sekansı ve SEK.KİM.NO.:17'ye ait bir hafif zincir amino asit sekansı içerir.

15. 1 ila 14 istemlerinden birine göre sıvı kompozisyon; buradaki kompozisyon liyofilize edilmesi ve liyofilizasyona tabi tutulmamıştır.

16. 1 ila 15 istemlerinden birine göre sıvı kompozisyon; buradaki kompozisyon, birçok dondurma eritme döngüsünden sonra antikor agregasyonuna dirençlidir.

17. 1 ila 15 istemlerinden birine göre sıvı kompozisyon; buradaki kompozisyon, 40°C'lik bir sıcaklıkta en az 26 haftalık bir süre boyunca depolanabilir ve burada:

(a) kompozisyonun antikorunda %10'dan az agregasyon artışı,

(b) kompozisyonun antikorunda %10'dan az oksidasyon artışı veya

(c) kompozisyonun antikorunda %10'dan az aktivite düşüşü olur.

18. 1 ila 17 istemlerinden birine göre sıvı kompozisyon; buradaki kompozisyon, 40°C'lik bir sıcaklıkta en az 26 haftalık bir sure

boyunca depolanabilir ve buradaki kompozisyonun antikorunda %10'dan az aktivite azalması olur.

19. Bir memelide ağrı tedavisinde kullanım için 1 ila 18 istemlerinden birine göre sıvı kompozisyon.

20. İstem 19'a göre kullanım için sıvı kompozisyon; buradaki kompozisyonun uygulanma paterni, bir doz kompozisyonun sekiz haftada bir uygulanmasını kapsar.

21. İstem 20'ye göre kullanım için sıvı kompozisyon; buradaki doz hacmi, 2.5 ml'den az veya buna eşittir.

22. İstem 20 yada istem 21'e göre kullanım için sıvı kompozisyon; buradaki doz, 50 mg'den az veya buna eşit antikor içerir.

23. 20 ila 22 istemlerinden birine göre kullanım için sıvı kompozisyon; buradaki doz uygulaması, intravenöz veya subkütandır.

24071

TARİFNAME

STABİL SIVI ANTİKOR FORMULASYONU

Mevcut buluş, antikorlardan oluşan farmasötik formülasyon alanı ile ilgilidir. Spesifik olarak mevut buluş, bir stabil sıvı antikor formülasyonu ve bunun farmasötik preparasyonu ve kullanımı ile ilgilidir.

BULUŞUN GEÇMİŞİ

Terapötik veya profilaktik kullanım için amaçlanan antikor preparasyonları, kullanılmadan önce depolama ve nakliye sırasındaki zaman zarfında denatürasyon, oksidasyon veya agregasyon etkilerinden dolayı proteinin aktivite veya yapısal bütünlük kaybını engellemek için stabilizerler gerektirir. Bu problemler, terapötik uygulama için sıklıkla arzu edilen yüksek antikor konsantrasyonlarında çoğalır.

Antikor formülasyonları geliştirmede başlıca amaç, antikoru, çözünürlüğü, stabiliteyi ve bunun antijen bağlama potansını korumaktır. Çözelti içinde agregatlardan ve partikülatlardan kaçınılması özellikle arzu edilen bir durumdur çünkü bunlar, intravenöz veya subkütan enjeksiyon için kullanılmadan önce steril filtreleme gerektirir ve uygulama yolunu sınırlar. Antikor agregatları, bunları içeren formülasyonun intravenöz yoldan enjekte edildiği durumda ağrıya ve anafilaktoid yan etkilere neden olabilir.

Liyofilizasyon ve dondurarak kurutma, sıvı antikor formülasyonlarına alternatiftir. Her iki proses de, tekrar biçimlendirme üzerine antikorda denatürasyon indükleme ve bunun antijen bağlama aktivitesini azaltma eğilimi gösterir.

Tuzlar, surfektanlar, pH ve tonisite ajanları, örn., şekerler, agregasyon problemlerinin aşılmasına katkıda bulunabilir. Antikor preparasyonlarının formülasyonu, proteinin denatüre olmasını ve antijen bağlama aktivitesindeki kaybı engellemek için diğerleri arasında bu faktörlerin dikkatli seçilmesini gerektirir. Bir antikor preparasyonunun pH aralığına ilişkin olarak, pH değeri düşük bir antikor formülasyonunun intravenöz yoldan enjekte edilmesi durumunda sıklıkla enjeksiyon ağrısı meydana gelir. Bir antikor formülasyonunun bir enjeksiyon olarak kullanılması durumunda pH değerinin yaklaşık olarak bir nötr pH aralığında olması arzu edilebilir, ayrıca formülasyon içinde süjelere enjeksiyon için zararlı baloncuklar olmasını engellemek için surfektan seviyelerini minimuma indirmek de avantajlı olur.

Monoklonal anti-CTLA4 antikoru içeren bir sıvı formülasyon, WO2006/096491'den (Pharmacia and Upjohn Company) bilinir ve bu, 20 mg/ml antikor, 20 mM histidin tamponu, 84 mg/ml treheloz, 0.2 mg/ml PS80 surfektan, 0.05 mg/ml EDTA pH 5.5 içerir.

Çözelti içinde biyoaktif antikorun yüksek konsantrasyonlarını stabil şekilde destekleyen ve intravenöz, intramüsküler, intraperitonel, intradermal veya subkütan enjeksiyon dahil olmak üzere parenteral uygulamaya uygun olan stabil sıvı bir antikor formülasyonuna ihtiyaç

vardır. Ayrıca formülasyonda baloncuk oluşma ve anafilaktoid yan etki riskinin minimuma inmiş olması da arzu edilebilir.

Ayrıca bir anti-NGF antikoru için de bu tür bir stabil sıvı formülasyon sağlanması gerekmektedir. NGF'nin hem periferal hem de merkezi nöronların gelişiminde ve korunmasında merkez bir rol oynadığı bilinir. Sinir sistemindeki etkilerine ek olarak NGF seviyelerinin artmış olması, sistemik lupus eritematoz, multipl sklerozis, psöryazi, artrit, interstisyel sistit ve astım dahil olmak üzere çeşitli enflamatuar durumlar ile de ilişkilendirilmiştir. NGF ayrıca çeşitli ağrı durumlarında da aktivite göstermiştir. Anti-NGF antikoru E3'ün, kanser ağrısı, römatoid artrit ağrısı, osteoartrit ağrısı ve ameliyat sonrası ağrı dahil olmak üzere akut ve kronik ağrı durumlarının tedavisinde faydalı olduğu gösterilmiştir (bakınız örneğinWO2004/058184). NGF'nin aracılık ettiği enflamatuar ve ağrı durumlarından muzdarip hastaların tıbbi ihtiyacını karşılamak için bir anti-NGF antikoru içeren stabil bir sıvı antikor preparasyonunu ihtiyaç vardır.

WO2006/096488, anti-CTLA4 antikorlarının, EDTA, histidin, trehaloz, polisorbat 80 içeren kompozisyonlarını açıklar. WO2006096490, insancıllaştırılmış IgG1 antikoru, histidin, sukroz, polisorbat ve benzil alkol içeren yeniden biçimlendirilmiş bir kompozisyonu bildirir. WO2006096461, monoklonal anti-M-CSF antikoru, EDTA, histidin tamponu, polisorbat 80 ve bir manitol tonisite ajanı içeren formülasyonları tarif eder. WO2006096489, anti-insan M-CSF antikoru içeren sıvı kompozisyonları açıklar.

BULUŞUN KISA ÖZETİ

Mevcut buluşa göre şunlar sağlanır:

Bir antikor, bir tonisite ajanı, bir tampon, bir kıskaçlama ajanı, bir surfektan içeren sıvı bir anti-NGF antikoru kompozisyonu;

burada adı geçen kompozisyonun pH'si, 5.8 ila 6.8 arasındadır; buradaki surfektan, polisorbat 20'dir; buradaki tampon, histidindir;

buradaki tonisite ajanı, trehalozdur ve

buradaki antikor, SEK.KİM.NO.:1'e ait bir değişken ağır zincir sekansı ve SEK.KİM.NO.:2'ye ait bir değişken hafif zincir sekansı içerir.

Mevcut açıklama, en az bir antikor, en az bir tonisite ajanı, en az bir tampon, en az bir kıskaçlama ajanı, en az bir surfektan içeren bir sıvı kompozisyonu sunar; burada adı geçen kompozisyonun pH'si, 5.8 ila 6.8 arasındadır.

Mevcut açıklama, en az bir antikor, en az bir tonisite ajanı, en az bir tampon, en az bir kıskaçlama ajanı, en az bir surfektandan oluşan veya esasen bunlardan oluşan bir sıvı kompozisyonu sunar; burada adı geçen kompozisyonun pH'si, 5.8 ila 6.8 arasındadır.

Mevcut açıklamaya göre sıvı kompozisyon, çözelti içinde biyoaktif antikorun yüksek konsantrasyonlarını stabil şekilde destekleme ve intravenöz, intramüsküler, intraperitonel, intradermal veya subkütan enjeksiyon dahil olmak üzere parenteral uygulamaya uygun olma avantajı sunar. Ayrıca baloncuk oluşma ve anafilaktoid yan etki riski de minimuma inmiştir.

Mevcut buluşun tercih edilen bir düzeneğine göre sıvı kompozisyon, en az bir antikor içerebilir. Bazı açıklamalarda birden fazla antikor mevcut olabilir. En az bir, en az iki, en az üç, en az dört, en az beş veya daha fazla farklı antikor mevcut olabilir. Genellikle iki veya daha fazla farklı antikor, birbirini ters yönde etkilemeyen tamamlayıcı aktivitelere sahiptir. Bu veya her bir antikor, antikorların etkinliğini arttırmaya ve/veya tamamlamaya hizmet eden başka ajanlarla birlikte de kullanılabilir.

Mevcut açıklamaya göre pH, 5.0 ila 7.5 aralığında, daha fazla tercihen yaklaşık pH 7.5 ile pH 5.1, 5.2, 5.3, 5.4 veya 5.5'ten biri arasında olabilir. Ayrıca tercihen pH, pH 5.6, 5.7 veya 5.8'den biri ile yaklaşık pH 7.5, 7.4, 7.3, 7.2, 7.1, 7.0, 6.9, 6.8, 6.7, 6.6, 6.5, 6.4, 6.3, 6.2, 6.1, 6.0, 5.9, 5.8 veya 5.7'den biri arasından seçilen aralıktadır.

Tercih edilen bir düzenekte pH, pH 5.5 ile pH 6.0, 6.2, 6.5 veya 6.8'den biri arasındaki aralıkta olabilir, alternatif olarak buluşa göre pH, yaklaşık pH 5.8 ile pH 6.0, 6.2, 6.5 veya 6.8'den biri arasındaki aralıkta da olabilir.

Burada açıklandığı gibi pH, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6.0, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7.0, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4 veya 7.5'lik pH değerlerinden seçilebilir, en fazla tercihen de pH, pH 6.0+/-0.2'dir. Bu aralıklardaki pH değerleri, antikor agregasyonundan ve parçalanmasından yüksek düzeyde korunan ve enjekte edilmesi üzerine ağrı veya anafilaktoid yan etki riskinin düşmesi için fizyolojik pH'ye (yaklaşık pH 7.2 ila 7.4) yakın olan sıvı kompozisyon sağlar.

Mevcut açıklamaya göre tonisite ajanı, bir poliol, bir sakarid, bir karbohidrat, bir tuz, örn., sodyum klorid veya bunların karışımlarını kapsar. Tercihen poliolün moleküler ağırlığı, yaklaşık 600 kD'nin altındadır (örn., 120 ila 400 kD aralığında), tercihen manitol, trehaloz, sorbitol, eritritol, izomalt, laktitol, maltitol, ksilitol, gliserol, laktitol, propilen glikol, polietilen glikol, inositol veya bunların karışımları arasından seçilir. Tercihen sakarid veya karbohidrat, monosakaridler, disakaridler ve polisakaridler veya bunların karışımlarının oluşturduğu gruptan seçilir. Tercihen sakarid veya karbohidrat, fruktoz, glukoz, manoz, sukroz, sorboz, ksiloz, laktoz, maltoz, sukroz, dekstran, pullulan, dekstrin, siklodekstrinler, çözülebilir nişasta, hidroksietil nişasta, suyla çözülebilir glukanlar ve bunların karışımlarının oluşturduğu gruptan seçilir. Tercihen tonisite ajanı, indirgeyici şeker veya indirgeyici olmayan şeker veya bunların karışımlarının oluşturduğu gruptan seçilen bir sakaridi kapsar. Yine tercihen tonisite ajanı, tercihen sukroz, trehaloz ve bunların karışımlarının oluşturduğu gruptan seçilen indirgeyici olmayan bir şeker gibi bir sakaridi kapsar. En fazla tercihen buluşa göre tonisite ajanı, trehalozu, tercihen de trehaloz dihidratı kapsar. Mevcut buluşa göre tonisite ajanı, özellikle trehaloz, tercihen trehaloz dihidrat, sıvı kompozisyonun antikor stabilitesinin artmasını ve buzdolabında saklama sırasında, örn., 0 ila 10°C, özellikle 5 ila 8°C, daha özel olarak da 5°C'de veya dondurarak saklama sırasında ve dondurma ve eritme döngülerinde agregasyona, oksidasyona ve parçalanmaya direnç sağlar. Trehaloz, elde edilen antikor formülasyonu glikasyondan muzdarip olmadığından özellikle avantajlıdır.

Tonisite ajanının sıvı kompozisyon içindeki konsantrasyonu, 1 mg/ml

ila 300 mg/ml, 1 mg/ml ila 200 mg/ml veya 1 mg/ml ila 100 mg/ml aralığındadır. Tercihen tonisite ajanının sıvı kompozisyon içindeki konsantrasyonu, 60 mg/ml, 65 mg/ml, 70 mg/ml, 75 mg/ml, 80 mg/ml, 81 mg/ml, 82 mg/ml, 83 mg/ml, 84 mg/ml, 85 mg/ml, 86 mg/ml, 87 mg/ml, 88 mg/ml, 89 mg/ml, 90 mg/ml, 91 mg/ml, 92 mg/ml, 93 mg/ml, 94 mg/ml, 95 mg/ml, 96 mg/ml, 97 mg/ml, 98 mg/ml, 99 mg/ml, 100 mg/ml, 105 mg/ml, 110 mg/ml, 120 mg/ml veya 130 mg/ml'dir. En fazla tercihen tonisite ajanının sıvı kompozisyon içindeki konsantrasyonu, 84 mg/ml'dir.

Tonisite ajanının bir tuzu kapsaması durumunda tuzun sıvı kompozisyon içindeki konsantrasyonu, 1 mg/ml ila 20 mg/ml aralığındadır. Farmasötik açıdan kabul gören ve bu açıklama için uygun olan tuzlar arasında sodyum klorid, sodyum sukinat, sodyum sülfat, potasyum klorid, magnezyum klorid, magnezyum sülfat ve kalsiyum klorid yer alır. Bu açıklama için tercih edilen tuzlar, sodyum klorid ve magnezyum kloriddir; magnezyum klorid ayrıca proteini deamidasyondan koruyarak da antikor stabilitesini geliştirebilir. Tercihen tuzun sıvı kompozisyon içindeki konsantrasyonu, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg/ml, 4 mg/ml, 5 mg/ml, 6 mg/ml, 7 mg/ml, 8, mg/ml, 9 mg/ml, 10 mg/ml, 11 mg/ml, 12 mg/ml, 13 mg/ml, 14 mg/ml, 15 mg/ml, 16 mg/ml, 17 mg/ml, 18 mg/ml, 19 mg/ml ve 20 mg/ml arasından seçilir.

Mevcut açıklamaya göre surfektan tercihen polisorbatlar, poloksamerler, tritonlar, sodyum dodesil sülfat, sodyum laurel sülfat, sodyum oktil glikosid, lauril-sülfobetain, miristil-sülfobetain, linoleil-sülfobetain, stearil-sülfobetain, lauril-sarkosin, miristil-sarkosin,

linoleil-sarkosin, stearil-sarkosin, linoleil-betain, miristil-betain, setil-betain, lauroamidopropil-betain, kokamidopropil-betain, linoleamidopropil-betain, miristamidopropil-betain, palmidopropil-betain, izostearamidopropil-betain, miristamidopropil-dimetilamin, palmidopropil-dimetilamin, izostearamidopropil-dimetilamin, sodyum metil kokoil-taurat, disodyum metil oleil-taurat, dihidroksipropil PEG 5 linoleamonyum klorid, polietilen glikol, polipropilen glikol ve bunların karışımlarının oluşturduğu gruptan seçilir. Ayrıca tercihen surfektan, polisorbat 20, polisorbat 21, polisorbat 40, polisorbat 60, polisorbat 61, polisorbat 65, polisorbat 80, polisorbat 81, polisorbat 85 ve bunların karışımlarının oluşturduğu gruptan da seçilir. Daha fazla tercihen surfektan, polisorbat 20, polisorbat 80, PEG3350 veya bunların karışımları arasından seçilir. En fazla tercihen mevcut buluşa göre surfektan, polisorbat 20'dir. Mevcut buluşa göre surfektan, özellikle polisorbat 20, sıvı kompozisyona, artmış antikor stabilitesi ve agregasyon ve parçalanmaya direnç sağlar.

Surfektan konsantrasyonu genellikle 0.01 mg/ml ila 10 mg/ml, 0.01 mg/ml ila 5.0 mg/ml, 0.01 mg/ml ila 2.0 mg/ml, 0.01 mg/ml ila 1.5 mg/ml, 0.01 mg/ml ila 01.0 mg/ml, 0.01 mg/ml ila 0.5 mg/ml, 0.01 mg/ml ila 0.4 mg/ml, 0.01 mg/ml ila 0.3 mg/ml, 0.01 mg/ml ila 0.2 mg/ml, 0.01 mg/ml ila 0.15 mg/ml, 0.01 mg/ml ila 0.1 mg/ml veya 0.01 mg/ml ila 0.05 mg/ml aralığındadır. Yine tercihen surfektan konsantrasyonu, 0.5 mg/ml, 0.05 mg/ml, 0.06 mg/ml, 0.07 mg/ml, 0.08 mg/ml, 0.09 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.11 mg/ml, 0.12 mg/ml, 0.13 mg/ml, 0.14 mg/ml, 0.15 mg/ml, 0.16 mg/ml, 0.17 mg/ml, 0.18 mg/ml, 0.19 mg/ml, 0.2 mg/ml'dir. En fazla tercihen surfektan konsantrasyonu, 0.1 mg/ml'dir. Surfektan konsantrasyonunun 0.1

mg/ml olduğu düzenekler yüksek düzeyde tercih edilir çünkü bu konsantrasyon, çözelti içinde formülasyon antikorunun stabilitesinin muhafaza edilmesine izin verirken formülasyonun preparasyonu, formülasyonun işlenmesi ve parenteral uygulama için preparasyon sırasında baloncuk oluşma eğilimini ve özellikle de preparasyonu ve ayrıca nakliye sırasında çalkantı ve sallanmayla ilgili stresi azaltır.

Mevcut açıklamanın tercih edilen bir düzeneğine göre tampon, asetat, sukinat, glukonat, sitrat, histidin, asetik asit, fosfat, fosforik asit, askorbat, tartarik asit, maleik asit, glisin, laktat, laktik asit, askorbik asit, imidazol, bikarbonat ve karbonik asit, sukinik asit, sodyum benzoat, benzoik asit, glukonat, edetat, asetat, malat, imidazol, tris, fosfat ve bunların karışımlarının oluşturduğu gruptan seçilebilir. Tercihen mevcut buluşa göre tampon, histidin –ki buradaki histidin, L-histidini veya D-histidini kapsayabilir-, histidinin solvatlı bir formu, histidinin hidratlı bir formu (örn., monohidrat) veya histidinin susuz bir formu veya bunların bir karışımıdır. Mevcut buluşa göre tampon, özellikle tercihen histidin tamponu, sıvı kompozisyona, enjeksiyon üzerine ağrı veya anafilaktoid yan etki riskinin azalması için fizyolojik pH'ye yakın bir pH sağlar ve ayrıca artmış antikor stabilitesi ve agregasyon, oksidasyon ve parçalanmaya direnç de sağlar.

Tampon konsantrasyonu, 0.1 milimolar (mM) ila 100 mM aralığında olabilir. Tercihen tampon konsantrasyonu, 0.5 mM ila 50 mM, yine tercihen 1 mM ila 30 mM, daha fazla tercihen 1 mM ila 18 mM, artan şekilde tercihen 1 mM ila 15 mM arasındadır. Tercihen tampon konsantrasyonu, 1 mM, 2 mM, 3 mM, 4 mM, 5 mM, 6 mM, 7 mM, 8 mM, 9 mM, 10 mM, 11 mM, 12 mM, 13 mM, 14 mM, 15 mM, 16

mM, 17 mM, 18 mM, 19 mM, 20 mM, 21 mM, 22 mM, 23 mM, 24 mM, 25 mM, 30 mM, 35 mM, 40 mM, 45 mM veya 50 mM'dir. En fazla tercihen tampon konsantrasyonu, 10 mM'dir.

Mevcut açıklamanın tercih edilen bir düzeneğine göre kıskaçlama ajanı, aminopolikarboksilik asitler, hidroksiaminokarboksilik asitler, N-ikame edilmiş glisinler, 2-(2-amino-2-oksositil)aminoetan sülfonik asit (BES), deferoksamin (DEF), sitrik asit, niasinamid ve desoksikolatlar ve bunların karışımlarının oluşturduğu gruptan seçilebilir. Yine tercihen kıskaçlama ajanı, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), dietilentriamin pentaasetik asit 5 (DTPA), nitrilotriasetik asit (NTA), N-2-asetamido-2-iminodiasetik asit (ADA), bis(aminoetil)glikoleter, N,N,N',N'-tetraasetik asit (EGTA), trans-diaminosikloheksan tetraasetik asit (DCTA), glutamik asit ve aspartik asit, N-hidroksietiliminodiasetik asit (HIMDA), N,N-bis-hidroksietilglisin (bisin) ve N-(trishidroksimetilmetil) 10 glisin (trisin), glisilglisin, sodyum desoksikolat, etilendiamin; propilendiamin; dietilentriamin; trietilentetraamin (trien), etilendiamintetraaseto EDTA; disodyum EDTA, kalsiyum EDTA, oksalik asit, malat, sitrik asit, sitrik asit monohidrat ve trisodyum sitrat-dihidrat, 8-hidroksikinolat, amino asitler, histidin, sistein, metiyonin, peptitler, polipeptitler ve proteinler ve bunların karışımlarının oluşturduğu gruptan seçilir. Yine tercihen kıskaçlama ajanı, EDTA tuzlarının, örneğin dipotasyum edetat, disodyum edetat, edetat kalsiyum disodyum, sodyum edetat, trisodyum edetat ve potasyum edetatın oluşturduğu gruptan seçilir ve uygun bir deferoksamin (DEF) tuzu, deferoksamin mesilat (DFM) veya bunların karışımlarıdır. Buluşta kullanılan kıskaçlama ajanları, mümkün olan

yerde bileşiğin serbest asit veya serbest baz formu veya tuz formu halinde ve ayrıca bileşiğin veya ilgili tuzu susuz, solvatlı veya hidratlı formu halinde mevcut olabilir.

En fazla tercihen kıskaçlama ajanı, disodyum EDTA, kalsiyum EDTA, en fazla tercihen de disodyum EDTA'dır.

Sıvı kompozisyona artmış antikor stabilitesi ve/veya agregasyon direnci sağladığından disodyum EDTA özellikle tercih edilebilir.

Kıskaçlama ajanının konsantrasyonu genellikle 0.01 mg/ml ila 50 mg/ml, 1 mg/ml ila 10.0 mg/ml, 15 mg/ml ila 5.0 mg/ml, 0.01 mg/ml ila 1.0 mg/ml veya 0.03 mg/ml ila 0.5 mg/ml aralığındadır. Yine tercihen kıskaçlama ajanının konsantrasyonu genellikle 0.01 mM ila 2.0 mM, 0.01 mM ila 1.5 mM, 0.01 mM ila 0.5 mM, 0.01 mM ila 0.4 mM, 0.01 mM ila 0.3 mM, 0.01 mM ila 0.2 mM, 0.01 mM ila 0.15 mM, 0.01 mM ila 0.1 mM, 0.01 mM ila 0.09 mM, 0.01 mM ila 0.08 mM, 0.01 mM ila 0.07 mM, 0.01 mM ila 0.06 mM, 0.01 mM ila 0.05 mM, 0.01 mM ila 0.04 mM, 0.01 mM ila 0.03 mM, 0.01 mM ila 0.02 mM veya 0.05 mM ila 0.01 mM aralığındadır. Tercihen kıskaçlama ajanının konsantrasyonu, 0.01 mg/ml, 0.02 mg/ml, 0.03 mg/ml, 0.04 mg/ml, 0.05 mg/ml, 0.06 mg/ml, 0.07 mg/ml, 0.10 mg/ml, 0.20 mg/ml olabilir. Yine tercihen kıskaçlama ajanının konsantrasyonu, 0.045 mg/ml, 0.046 mg/ml, 0.047 mg/ml, 0.048 mg/ml, 0.049 mg/ml, 0.05 mg/ml, 0.051 mg/ml, 0.052 mg/ml, 0.053 mg/ml, 0.054 mg/ml, 0.055 mg/ml veya 0.056 mg/ml'dir. En fazla tercihen kıskaçlama ajanının konsantrasyonu, 0.05 mg/ml'dir.

Kıskaçlama ajanları, mevcut buluşa ait kompozisyonlar içinde indirgenmiş oksijen türleri oluşumunu azaltabilir, asidik türler (örn., deamidasyon) oluşumunu azaltabilir, antikor agregasyonunu azaltabilir ve/veya antikor parçalanmasını azaltabilir ve/veya antikor oksidasyonunu azaltabilir. Bu tür kıskaçlama ajanları, bir kıskaçlama ajanının koruması olmayan antikora kıyasla formüle edilen bir antikorda degradasyonu azaltabilir veya engelleyebilir.

Aksi belirtilmediği sürece burada sıralanan konsantrasyonlar, ortam koşullarındaki [yani 25°C ve atmosferik basınçta] konsantrasyonlardır.

Mevcut buluşun tercih edilen bir düzeneğine göre sıvı kompozisyon ayrıca bir antioksidan ajan da içerebilir. Tercihen antioksidan, metiyonin, sodyum tiyosülfat, katalaz ve platinyumun oluşturduğu gruptan seçilir. Antioksidan konsantrasyonu genellikle yaklaşık 0.01 mg/ml ila yaklaşık 50 mg/ml, yaklaşık 0.01 mg/ml ila yaklaşık 10.0 mg/ml, yaklaşık 0.01 mg/ml ila yaklaşık 5.0 mg/ml, yaklaşık 0.01 mg/ml ila yaklaşık 1.0 mg/ml veya yaklaşık 0.01 mg/ml ila yaklaşık 0.02mg/ml aralığındadır. Tercihen antioksidan konsantrasyonu, yaklaşık 0.01 mg/ml, 0.02 mg/ml, 0.03 mg/ml, yaklaşık 0.04 mg/ml, yaklaşık 0.05 mg/ml, yaklaşık 0.06 mg/ml, yaklaşık 0.07 mg/ml, 0.08 mg/ml, 0.09 mg/ml, yaklaşık 0.10 mg/ml, 0.11 mg/ml, 0.12 mg/ml, 0.13 mg/ml, yaklaşık 0.14 mg/ml, yaklaşık 0.15 mg/ml, yaklaşık 0.16 mg/ml, yaklaşık 0.17 mg/ml, 0.18 mg/ml, 0.19 mg/ml, yaklaşık 0.20 mg/ml, yaklaşık 0.25 mg/ml, 0.3 mg/ml, 0.4 mg/ml, 0.5 mg/ml, 0.6 mg/ml, 0.7 mg/ml, 0.8 mg/ml, 0.9 mg/ml, 1.0 mg/ml olabilir. En fazla tercihen antioksidan konsantrasyonu, yaklaşık 0.01 mg/ml'dir.

Mevcut buluşun tercih edilen başka bir düzeneğine göre sıvı kompozisyon ayrıca bir prezervatif de içerebilir. Tercihen prezervatif ajan, Fenol, m-kresol, benzil alkol, benzalkonyum klorid, benzaltonyum klorid, fenoksietanol ve metil paraben arasından seçilir.

Prezervatif konsantrasyonu genellikle yaklaşık 0.001 mg/ml ila yaklaşık 50 mg/ml, yaklaşık 0.005 mg/ml ila yaklaşık 15.0 mg/ml, yaklaşık 0.008 mg/ml ila yaklaşık 12.0 mg/ml veya yaklaşık 0.01 mg/ml ila yaklaşık 10.0 mg/ml aralığındadır. Tercihen prezervatif konsantrasyonu, yaklaşık 0. 1 mg/ml, 0. 2 mg/ml, 0.3 mg/ml, yaklaşık 0.4 mg/ml, yaklaşık 0.5 mg/ml, yaklaşık 0.6 mg/ml, yaklaşık 0.7 mg/ml, 0.8 mg/ml, 0.9 mg/ml, yaklaşık 1.0 mg/ml, 2.0 mg/ml, 3.0 mg/ml, yaklaşık 4.0 mg/ml, yaklaşık 5.0 mg/ml, yaklaşık 6.0 mg/ml, yaklaşık 7.0 mg/ml, 8.0 mg/ml, 9.0 mg/ml, yaklaşık 9.1 mg/ml, yaklaşık 9.2 mg/ml, 9.3 mg/ml, 9.4 mg/ml, 9.5 mg/ml, 9.6 mg/ml, 9.7 mg/ml, 9.8 mg/ml, 9.9 mg/ml, 10.0 mg/ml olabilir. En fazla tercihen prezervatif konsantrasyonu, yaklaşık 0.1 mg/ml veya 9.0 mg/ml'dir.

Mevcut açıklamanın bir yönüne göre sıvı formülasyon, bir antioksidan içermez.

Mevcut açıklamanın bir yönüne göre sıvı formülasyon, bir prezervatif içermez.

Mevcut buluşun tercih edilen düzeneğine göre antikor konsantrasyonu, yaklaşık 0.1 ila yaklaşık 200 mg/ml aralığında olabilir. Tercihen antikor konsantrasyonu, yaklaşık 0.5 mg/ml, yaklaşık 1 mg/ml, yaklaşık 2 mg/ml, yaklaşık 2.5 mg/ml, yaklaşık 3

mg/ml, yaklaşık 3.5 mg/ml, yaklaşık 4 mg/ml, yaklaşık 4.5 mg/ml, yaklaşık 5 mg/ml, yaklaşık 5.5 mg/ml, yaklaşık 6 mg/ml, yaklaşık 6.5 mg/ml, yaklaşık 7 mg/ml, yaklaşık 7.5 mg/ml, yaklaşık 8 mg/ml, yaklaşık 8.5 mg/ml, yaklaşık 9 mg/ml, yaklaşık 9.5 mg/ml, yaklaşık 10 mg/ml, yaklaşık 11 mg/ml, yaklaşık 12 mg/ml, yaklaşık 13 mg/ml, yaklaşık 14 mg/ml, yaklaşık 15 mg/ml, yaklaşık 16 mg/ml, yaklaşık 17 mg/ml, yaklaşık 18 mg/ml, yaklaşık 19 mg/ml, yaklaşık 20 mg/ml, yaklaşık 21 mg/ml, yaklaşık 22 mg/ml, yaklaşık 23 mg/ml, yaklaşık 24 mg/ml, yaklaşık 25 mg/ml, yaklaşık 26 mg/ml, yaklaşık 27 mg/ml, yaklaşık 28 mg/ml, yaklaşık 29 mg/ml, yaklaşık 30 mg/ml, yaklaşık 31 mg/ml, yaklaşık 32 mg/ml, yaklaşık 33 mg/ml, yaklaşık 34 mg/ml, yaklaşık 35 mg/ml, yaklaşık 36 mg/ml, yaklaşık 37 mg/ml, yaklaşık 38 mg/ml, yaklaşık 39 mg/ml, yaklaşık 40 mg/ml, yaklaşık 41 mg/ml, yaklaşık 42 mg/ml, yaklaşık 43 mg/ml, yaklaşık 44 mg/ml, yaklaşık 45 mg/ml, yaklaşık 46 mg/ml, yaklaşık 47 mg/ml, yaklaşık 48 mg/ml, yaklaşık 49 mg/ml, yaklaşık 50 mg/ml, yaklaşık 51 mg/ml, yaklaşık 52 mg/ml, yaklaşık 53 mg/ml, yaklaşık 54 mg/ml, yaklaşık 55 mg/ml, yaklaşık 56 mg/ml, yaklaşık 57 mg/ml, yaklaşık 58 mg/ml, yaklaşık 59 mg/ml, yaklaşık 60 mg/ml, yaklaşık 70 mg/ml, yaklaşık 80 mg/ml, yaklaşık 90 mg/ml, yaklaşık 100 mg/ml veya yaklaşık 110mg/ml'dir. En fazla tercihen antikor konsantrasyonu, yaklaşık 50 mg/ml'den az veya buna eşittir ve yaklaşık 2 mg/ml, yaklaşık 2.5 mg/ml, yaklaşık 5 mg/ml, yaklaşık 10 mg/ml, yaklaşık 19 mg/ml, yaklaşık 20 mg/ml, 22 mg/ml ve yaklaşık 50 mg/ml'nin oluşturduğu gruptan seçilebilir.

Antikor tercihen monoklonal antikorlar, poliklonal antikorlar, antikor fragmanları (örn., Fab, Fab', F(ab')2, Fv, Fc, ScFv, vb.), kimerik antikorlar, bispesifik antikorlar, heterokonjugat antikorlar, bunların

terk zincirli (ScFv) mutantları; bir antikor parçası (örn. bir alan antikoru) içeren füzyon proteinleri, insancıllaştırılmış antikorlar insan antikorları ve immünoglobulin molekülünün, gerekli spesifiteye sahip bir antijen tanıma sahası içeren modifiye edilmiş başka herhangi bir konfigürasyonunun, antikorların glikosilasyon varyantları, antikorların amino asit sekans varyantları ve kovalent olarak modifiye edilmiş antikorlar dahil olmak üzere oluşturduğu gruptan seçilir. Antikor, murin, sıçan, insan veya başka herhangi bir orijinden (kimerik veya insancıllaştırılmış antikorlar dahil) olabilir. Bazı düzeneklerde antikor, insan olabilir ancak daha fazla tercihen insancıllaştırılmıştır. Tercihen antikor izole edilir, yine tercihen önemli ölçüde saftır. Antikorun bir antikor fragmanı olması durumunda bu tercihen orijinal antikorun fonksiyonel karakteristiklerini, yani ligand bağlama ve/veya antagonist veya agonist aktivitesini muhafaza eder.

Mevcut buluşun tercih edilen bir düzeneğine göre antikor ağır zincir sabit bölgesi, IgG, IgM, IgD, IgA ve IgE gibi herhangi bir tip sabit bölgeden ve IgG1, IgG2, IgG3 ve IgG4 gibi herhangi bir izotipten olabilir. Tercihen antikor, bir IgG2 antikorudur.

Mevcut buluşa göre antikor, insan ağır zincirinin IgG2a sabit bölgesini içerebilir. Bazı düzeneklerde antikor, insan hafif zincirinin kappa sabit bölgesini içerir. Bazı düzeneklerde antikor, modifiye edilmiş sabit bir bölge, örn., immünolojik açıdan eylemsiz, örn., komplement aracılı lizizi tetiklemeyen veya antikora bağlı hücre aracılığında sitotoksisiteyi (ADCC) uyarmayan sabit bir bölge ihtiva eder. Başka düzeneklerde sabit bölge, Eur. J. Immunol. (1999) 29:2613-2624; PCT Yayını No. WO99/58572; ve/veya İngiltere Patent Başvurusu No.

9809951.8'de tarif edildiği gibi modifiye edilir. Yine başka düzeneklerde antikor, aşağıdaki mutasyonları içeren insan ağır zincirindeki bir IgG2a sabit bölgesini ihtiva eder: A330P331'den S330S331'e (amino asit numaralandırması, vahşi tip IgG2a sekansı referans alınarak yapılır), Eur. J. Immunol. (1999)29:2613-2624.

Mevcut buluşun tercih edilen bir düzeneğine göre antikor, NGF'yi (örn., insan NGF'si) yüksek bir afinite ile bağlayan bir anti-NGF antikorudur. Bazı düzeneklerde yüksek afinite, (a) NGF'ye, yaklaşık 2nM'nin altındaki bir K_D (örn., yaklaşık 1 nM, 800 pM, 600 pM, 400 pM, 200 pM, 100 pM, 90 pM, 80 pM, 70 pM, 60 pM, 50 pM, 40 pM, 30 pM, 20 pM, 10pM, 5pM'den herhangi biri veya daha azı) ve/veya yaklaşık $6x10^{-5}s^{-1}$'den daha yavaş bir k_{kapama} ile bağlanma; ve/veya (b) fare E13.5 trigeminal nöronlarının insan NGF'sine bağlı canlılığının yaklaşık 200 pM, 150 pM, 100 pM, 80 pM, 60 pM, 40 pM, 20 pM, 10 pM'den herhangi biri veya daha az olan bir IC50 (yaklaşık 15 pM NGF varlığında) inhibe edilmesi (azaltılması ve/veya bloke edilmesi); ve/veya (c) fare E13.5 trigeminal nöronlarının insan NGF'sine bağlı canlılığının yaklaşık 50 pM, 40 pM, 30 pM, 10 pM, 20 pM, 10 pM, 5 pM, 2 pM, 1 pM'den herhangi biri veya daha azı olan bir IC50 (yaklaşık 1.5 pM NGF varlığında) ile inhibe edilmesi (azaltılması ve/veya bloke edilmesi); ve/veya (d) fare E13.5 trigeminal nöronlarının sıçan NGF'sine bağlı canlılığının yaklaşık 150 pM, 125 pM, 100 pM, 80 pM, 60 pM, 40 pM, 30 pM, 20 pM, 10 pM, 5 pM'den herhangi biri veya daha azı olan bir IC50 (yaklaşık 15 pM NGF varlığında) ile inhibe edilmesi (azaltılması ve/veya bloke edilmesi); ve/veya (e) fare E13.5 trigeminal nöronlarının sıçan NGF'sine bağlı canlılığının, yaklaşık 30 pM, 25 pM, 20 pM, 15 pM, 10pM, 5pM,

4pM, 3pM, 2pM, 1 pM'den herhangi biri veya daha azı olan bir IC50 (yaklaşık 1.5 pM NGF varlığında) ile inhibe edilmesi (azaltılması ve/veya bloke edilmesi); ve/veya (f) NGF'ye, trkA reseptörününkinden daha yüksek bir afinite ile bağlanmadır.

Başka bir yönde antikorlar, (a) NGF'yi (örn., insan NGF'si), yaklaşık 2 nM'nin altındaki bir K_D (örn., yaklaşık 1 nM, 800 pM, 600 pM, 400 pM, 200 pM, 100pM, 90 pM, 80 pM, 70 pM, 60 pM, 50, 40pM, 30pM, 20pM, 10pM, 5pM'den herhangi biri veya daha azı) ve/veya yaklaşık $6x10^{-5}s^{-1}$'den daha yavaş bir k_{kapama} ile bağlar; ve/veya (b) fare E13.5 trigeminal nöronlarının insan NGF'sine bağlı canlılığını, yaklaşık 200 pM, 150 pM, 100 pM, 80 pM, 60 pM, 40 pM, 20 pM, 10 pM'den herhangi biri veya daha azı olan bir IC50 (yaklaşık 15 pM NGF varlığında) inhibe eder; ve/veya (c) fare E13.5 trigeminal nöronlarının insan NGF'sine bağlı canlılığını, yaklaşık 50 pM, 40 pM, 30 pM, 10 pM, 20 pM, 10 pM, 5 pM, 2 pM, 1 pM'den herhangi biri veya daha azı olan bir IC50 (yaklaşık 1.5 pM NGF varlığında) ile inhibe eder; ve/veya NGF'yi, trkA reseptörününkinden daha yüksek afiniteyle bağlar. Bazı düzeneklerde antikorlar, (a) NGF'yi, yaklaşık 2 nM''nin altındaki bir K_D ile bağlar; ve/veya (b) fare E13.5 trigeminal nöronlarının insan NGF'sine bağlı canlılığını, yaklaşık 100 pM veya altındaki bir IC50 ile inhibe eder, buradaki IC50, yaklaşık 15 pM NGF varlığında ölçülür; ve/veya (c) fare E13.5 trigeminal nöronlarının insan NGF'sine bağlı canlılığını, yaklaşık 10 pM veya altındaki bir IC50 ile inhibe eder; buradaki IC50, yaklaşık 1.5 pM NGF varlığında ölçülür. Bazı düzeneklerde antikorlar, (a) NGF'yi, yaklaşık 100 pM'nin altındaki bir K_D ile bağlar; ve/veya (b) fare E13.5 trigeminal nöronlarının insan NGF'sine bağlı canlılığını, yaklaşık 20 pM veya

altındaki bir IC50 ile inhibe eder, buradaki IC50, yaklaşık 15 pM NGF varlığında ölçülür; ve/veya (c) fare E13.5 trigeminal nöronlarının insan NGF'sine bağlı canlılığını, yaklaşık 2 pM veya altındaki bir IC50 ile inhibe eder; buradaki IC50, yaklaşık 1.5 pM NGF varlığında ölçülür.

Antikor tarafından bağlanabilen epitop(lar), sürekli veya süreksiz olabilir. Bir düzenekte antikor, Hongo ve arkadaşları, Hybridoma, 19: 215-227 (2000)'de tarif edildiği gibi MAb 911, MAb 912 ve MAb 938'in oluşturduğu gruptan seçilen bir antikor, burada tanımlanan (örn., bir E3 antikoru) ve/veya W02005019266'da (4D4, 14D10, 6G9, 7H2, 14F11 ve 4G6 antikorları dahil) veya W02006131951'de (Hu-aD11 antikoru dahil), W009023540 veya US20090041717'de tarif edilen bir antikor ile esasen aynı hNGF epitoplarını bağlar. Başka bir düzenekte antikor esasen MAb 911 ile esasen aynı hNGF epitopunu bağlar. Yine başka bir düzenekte antikor esasen MAb 909 ile aynı epitopu bağlar. Hongo ve arkadaşları, yukarıda. Örneğin epitop, aşağıdakilerin bir veya daha fazlasını ihtiva edebilir: hNGF'nin değişken bölgesi 1 (amino asit 23-35) içerisinde K32, K34 ve E35 tortuları; hNGF'nin değişken bölgesi 4 (amino asit 81-88) içerisinde F79 ve T81 tortuları; değişken bölge 4 içerisinde H84 ve K88 tortuları; hNGF'nin değişken bölgesi 5 (amino asit 94-98) ile hNGF'nin C terminali (amino asit 111-118) arasında R103 tortusu; hNGF'nin ön değişken bölgesi 1 (amino asit 10-23) içerisinde E11 tortusu; hNGF'nin değişken bölgesi 2 (amino asit 40-49) ile hNGF'nin değişken bölgesi 3 (amino asit 59-66) arasında Y52; hNGF'nin C terminalinde L112 ve S113 tortuları; hNGF'nin değişken bölgesi 3 içerisinde R59 ve R69 tortuları; veya hNGF'nin ön değişken bölgesi 1 içerisinde V18, V20 ve G23 tortuları. İlaveten bir epitop,

hNGF'nin değişken bölgesi 1, değişken bölgesi 3, değişken bölgesi 4, değişken bölgesi 5, N terminal bölgesi ve/veya C terminalinden bir veya daha fazlasını da ihtiva edebilir. Yine başka bir düzenekte antikor, hNGF'nin R103 tortusunun solvent erişebilirliğini anlamlı şekilde azaltır. Yukarıda tarif edilen epitopların, insan NGF'si ile alakalı olmasına rağmen sıradan uzmanlığa sahip bir kişinin, insan NGF'si yapılarını, başka türlerin NGF'si ile aynı hizaya getirebileceği ve bu epitoplara karşılık gelen benzer parçaları tanımlayabileceği anlaşılmaktadır.

Bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:9'u kapsayan bir ağır zincir değişken bölgesi içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar; buradaki I34, S, L, V, A veya I'dır; ve N35, N,T veya S ile ikame edilir. Burada uygunluk açısından bu metinde veya bir amino aside atıfta bulunularak "ikame edilir" veya "dir" terimi, verilen bir pozisyon için amino asit seçimlerine karşılık gelir. Açıkçası ikame veya seçim, bir SEK.KİM. veya Şekilde gösterilen amino asit olabilir. Tortu numaraları, belirtilen SEK.KİM.NO.'ya gönderme yapılarak kolayca belirlenir ve bunlar, antikorun tortu numaralandırmasını izler.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:10'u kapsayan bir ağır zincir değişken bölgesi içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar; buradaki M50, M, I, G, Q, S veya L'dir; A62, A veya S'dir ve L63, L veya V'dir.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:11'i kapsayan bir ağır zincir değişken bölgesi içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar; buradaki Y100, Y, L veya R'dir; buradaki Y101, Y veya W'dir;

buradaki G103, G, A veya S'dir; buradaki T104, T veya S'dir; buradaki S105, S, A veya T'dir; buradaki Y106, Y, R, T veya M'dir; buradaki Y107, Y veya F'dir; buradaki F108, F veya W'dir; buradaki D109, D, N veya G'dir; ve buradaki Y110, Y, K, S, R veya T'dir.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:11'i kapsayan bir ağır zincir değişken bölgesi içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar; buradaki Y100, Y, L veya R'dir; buradaki Y101, Y veya W'dir; buradaki G103, G, A veya S'dir; buradaki T104, T veya S'dir; buradaki S105, S, A veya T'dir; buradaki Y106, Y, R, T veya M'dir; buradaki Y107, Y veya F'dir; buradaki F108, F veya W'dir; buradaki D109, S, A, C, G, D, N, T veya G'dir; ve buradaki Y110, herhangi bir amino asittir.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:11' kapsayan bir ağır zincir değişken bölgesi içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar; buradaki G98, G, S, A, C, V, N, D veya T'dir; buradaki G99, G, S, A, C, V, N, D veya T'dir; buradaki Y100, Y, L veya R'dir; buradaki Y101, Y veya W'dir; buradaki G103, G, A veya S'dir; buradaki T104, T veya S'dir; buradaki S105, S, A veya T'dir; buradaki Y106, Y, R, T veya M'dir; buradaki Y107, Y veya F'dir; buradaki F108, F veya W'dir; buradaki D109, S, A, C, G, D, N, T veya G'dir; ve buradaki Y110, herhangi bir amino asittir.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:12'yi kapsayan bir hafif zincir değişken bölgesi içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar; buradaki S26, S veya F'dir; D28, D, S, A veya Y'dir; ve H32, H, N veya Q'dur.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:13'ü kapsayan bir hafif zincir değişken bölgesi içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar; buradaki I51, I, T, V veya A'dır; ve S56, S veya T'dir.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:14'ü kapsayan bir hafif zincir değişken bölgesi içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar; buradaki S91, S veya E'dir; K92, K, H, R veya S'dir ve buradaki Y96, Y veya R'dir.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:14'ü kapsayan bir hafif zincir değişken bölgesi içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar; buradaki S91, S veya E'dir; K92, herhangi bir amino asittir; T93, herhangi bir amino asittir ve buradaki Y96, Y veya R'dir.

Bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:9'da gösterilen bir amino asit sekansı içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar; buradaki I34, S, L, V, A veya I'dır; ve N35, N, T veya S'dir.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:10'da gösterilen bir amino asit sekansı içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar; buradaki M50, M, I, G, Q, S veya L'dir; A62, A veya S'dir ve L63, L veya V'dir.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:11'de gösterilen bir amino asit sekansı içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar; buradaki Y100, Y, L veya R'dir; buradaki Y101, Y veya W'dir; buradaki G103, G, A veya S'dir; buradaki T104, T veya S'dir; buradaki S105, S, A veya T'dir; buradaki Y106, Y, R, T veya M'dir; buradaki Y107, Y

veya F'dir; buradaki F108, F veya W'dir; buradaki D109, D, N veya G'dir; ve buradaki Y110, Y, K, S, R veya T'dir.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:11'de gösterilen bir amino sit sekansı içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar; buradaki Y100, Y, L veya R'dir; buradaki Y101, Y veya W'dir; buradaki G103, G, A veya S'dir; buradaki T104, T veya S'dir; buradaki S105, S, A veya T'dir; buradaki Y106, Y, R, T veya M'dir; buradaki Y107, Y veya F'dir; buradaki F108, F veya W'dir; buradaki D109, S, A, C, G, D, N, T veya G'dir; ve buradaki Y110, herhangi bir amino asittir.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:11'de gösterilen bir amino asit sekansı içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar; buradaki G98, G, S, A, C, V, N, D veya T'dir; buradaki G99, G, S, A, C, V, N, D veya T'dir; buradaki Y100, Y, L veya R'dir; buradaki Y101, Y veya W'dir; buradaki G103, G, A veya S'dir; buradaki T104, T veya S'dir; buradaki S105, S, A veya T'dir; buradaki Y106, Y, R, T veya M'dir; buradaki Y107, Y veya F'dir; buradaki F108, F veya W'dir; buradaki D109, S, A, C, G, D, N, T veya G'dir; ve buradaki Y110, herhangi bir amino asittir.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:12'de gösterilen bir amino asit sekansı içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar; buradaki S26, S veya F'dir; D28, D, S, A veya Y'dir; ve H32, H, N veya Q'dur.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:13'te gösterilen bir amino asit sekansı içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar; buradaki I51, I, T, V veya A'dır; ve S56, S veya T'dir.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:14'te gösterilen bir amino asit sekansı içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar; buradaki S91, S veya E'dir; K92, K, H, R veya S'dir ve buradaki Y96, Y veya R'dir.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:14'te gösterilen bir amino asit sekansı içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar; buradaki S91, S veya E'dir; K92, herhangi bir amino asittir; T93, herhangi bir amino asittir ve buradaki Y96, Y veya R'dir.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:9'un CDR1 bölgesini (buradaki I34, S, L, V, A veya I'dır; ve N35, N, T veya S'dir); SEK.KİM.NO.:10'un CDR2 bölgesini (buradaki M50, M, I, G, Q, S veya L'dir; A62, A veya S'dir; ve L63, L veya V'dir); ve SEK.KİM.NO.:11'in CDR3 bölgesini (buradaki Y100, Y, L veya R'dir; buradaki Y101, Y veya W'dir; buradaki G103, G, A veya S'dir; buradaki T104, T veya S'dir; buradaki S105, S, A veya T'dir; buradaki Y106, Y, R, T veya M'dir; buradaki Y107, Y veya F'dir; buradaki F108, F veya W'dir; buradaki D109, D, N veya G'dir; buradaki Y110, Y, K, S, R veya T'dir) kapsayan bir ağır zincir değişken bölgesi içeren polipeptitler (örn., antikorlar, örn., insancıllaştırılmış antikorlar) sağlar. Bazı düzeneklerde ağır zincir değişken bölgesi, SEK.KİM.NO.:11'in CDR3 bölgesini kapsar; buradaki Y100, Y, L veya R'dir; buradaki Y101, Y veya W'dir; buradaki G103, G, A veya S'dir; buradaki T104, T veya S'dir; buradaki S105, S, A veya T'dir; buradaki Y106, Y, R, T veya M'dir; buradaki Y107, Y veya F'dir; buradaki F108, F veya W'dir; buradaki D109, S, A, C, G, D, N, T veya G'dir; buradaki Y110, herhangi bir amino asittir. Başka düzeneklerde ağır zincir değişken bölgesi,

SEK.KİM.NO.:11'in CDR3 bölgesini kapsar; buradaki G98, G, S, A, C, V, N, D veya T'dir; buradaki G99, G, S, A, C, V, N, D veya T'dir; buradaki Y100, Y, L veya R'dir; buradaki Y101, Y veya W'dir; buradaki G103, G, A veya S'dir; buradaki T104, T veya S'dir; buradaki S105, S, A veya T'dir; buradaki Y106, Y, R, T veya M'dir; buradaki Y107, Y veya F'dir; buradaki F108, F veya W'dir; buradaki D109, S, A, C, G, D, N, T veya G'dir; ve buradaki Y110, herhangi bir amino asittir. Bazı düzeneklerde polipeptit (örn., bir antikor) ayrıca bir antikor hafif zinciri değişken bölgesi de içerir.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:12'nin CDR1 bölgesini (buradaki S26, S veya F'dir; D28, D, S, A veya Y'dir; ve H32, H, N veya Q'dur); SEK.KİM.NO.:13'ün CDR2 bölgesini (buradaki I51, I, T, V veya A'dır ve S56, S veya T'dir); ve SEK.KİM.NO.:14'ün CDR3 bölgesini (buradaki S91, S veya E'dir; K92, K, H, R veya S'dir; ve buradaki Y96, Y veya R'dir) kapsayan bir hafif zincir değişken bölgesi içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar. Bazı düzeneklerde hafif zincir değişken bölgesi, SEK.KİM.NO.:14'ün CDR3 bölgesini içerir; buradaki S91, S veya E'dir; K92, herhangi bir amino asittir; T93, herhangi bir amino asittir ve buradaki Y96, Y veya R'dir. Bazı düzeneklerde polipeptit (örn., bir antikor) ayrıca bir antikor ağır zinciri de içerir.

Başka bir yönde açıklama, (a) SEK.KİM.NO.:9'un CDR1 bölgesini (buradaki I34, S, L, V, A veya I'dır; ve N35, N, T veya S'dir); SEK.KİM.NO.:10'un CDR2 bölgesini (buradaki M50, M, I, G, Q, S veya L'dir; A62, A veya S'dir; ve L63, L veya V'dir); ve SEK.KİM.NO.:11'in CDR3 bölgesini (buradaki Y100, Y, L veya

R'dir; buradaki Y101, Y veya W'dir; buradaki G103, G, A veya S'dir; buradaki T104, T veya S'dir; buradaki S105, S, A veya T'dir; buradaki Y106, Y, R, T veya M'dir; buradaki Y107, Y veya F'dir; buradaki F108, F veya W'dir; buradaki D109, D, N veya G'dir; buradaki Y110, Y, K, S, R veya T'dir) içeren bir ağır zincir değişken bölgesi; ve (b) SEK.KİM.NO.:12'nin CDR1 bölgesini (buradaki S26, S veya F'dir; D28, D, S, A veya Y'dir; ve H32, H, N veya Q'dur); SEK.KİM.NO.:13'ün CDR2 bölgesini (buradaki I51, I, T, V veya A'dır; ve S56, S veya T'dir); ve SEK.KİM.NO.:14'ün CDR3 bölgesini (buradaki S91, S veya E'dir; K92, K, H, R veya S'dir; ve buradaki Y96, Y veya R'dir) içeren bir hafif zincir değişken bölgesi ihtiva eden polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar. Bazı düzeneklerde hafif zincir değişken bölgesi, SEK.KİM.NO.:14'ün CDR3 bölgesini içerir; buradaki S91, S veya E'dir; K92, herhangi bir amino asittir; T93, herhangi bir amino asittir ve buradaki Y96, Y veya R'dir. Bazı düzeneklerde ağır zincir değişken bölgesi, SEK.KİM.NO.:11'in CDR3 bölgesini kapsar; buradaki Y100, Y, L veya R'dir; buradaki Y101, Y veya W'dir; buradaki G103, G, A veya S'dir; buradaki T104, T veya S'dir; buradaki S105, S, A veya T'dir; buradaki Y106, Y, R, T veya M'dir; buradaki Y107, Y veya F'dir; buradaki F108, F veya W'dir; buradaki D109, S, A, C, G, D, N, T veya G'dir; buradaki Y110, herhangi bir amino asittir. Başka düzeneklerde ağır zincir değişken bölgesi, SEK.KİM.NO.:11'in CDR3 bölgesini kapsar; buradaki G98, G, S, A, C, V, N, D veya T'dir; buradaki G99, G, S, A, C, V, N, D veya T'dir; buradaki Y100, Y, L veya R'dir; buradaki Y101, Y veya W'dir; buradaki G103, G, A veya S'dir; buradaki T104, T veya S'dir; buradaki S105, S, A veya T'dir; buradaki Y106, Y, R, T veya M'dir; buradaki Y107, Y veya F'dir; buradaki F108, F veya W'dir; buradaki

D109, S, A, C, G, D, N, T veya G'dir; ve buradaki Y110, herhangi bir amino asittir. Bazı düzeneklerde polipeptit ayrıca bir antikor hafif zinciri de içerir.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:9'da gösterilen bir amino asit sekansı (buradaki I34, S, L, V, A veya I'dır; ve N35, N, T veya S'dir); SEK.KİM.NO.:10'da gösterilen bir amino asit sekansı (buradaki M50, M, I, G, Q, S veya L'dir; A62, A veya S'dir; ve L63, L veya V'dir); ve SEK.KİM.NO.:11'de gösterilen bir amino asit sekansı (buradaki Y100, Y, L veya R'dir; buradaki Y101, Y veya W'dir; buradaki G103, G, A veya S'dir; buradaki T104, T veya S'dir; buradaki S105, S, A veya T'dir; buradaki Y106, Y, R, T veya M'dir; buradaki Y107, Y veya F'dir; buradaki F108, F veya W'dir; buradaki D109, D, N veya G'dir; buradaki Y110, Y, K, S, R veya T'dir) içeren polipeptitler (örn., antikorlar, örneğin insancıllaştırılmış antikorlar) sağlar. Bazı düzeneklerde polipeptit, SEK.KİM.NO.:11'de gösterilen bir amino asit sekansını içerir; buradaki Y100, Y, L veya R'dir; ve buradaki Y101, Y veya W'dir; buradaki G103, G, A veya S'dir; buradaki T104, T veya S'dir; buradaki S105, S, A veya T'dir; buradaki Y106, Y, R, T veya M'dir; buradaki Y107, Y veya F'dir; buradaki F108, F veya W'dir; buradaki D109, S, A, C, G, D, N, T veya G'dir; ve buradaki Y110, herhangi bir amino asittir. Başka düzeneklerde polipeptit, SEK.KİM.NO.:11'de gösterilen bir amino asit sekansı içerir; buradaki G98, G, S, A, C, V, N, D veya T'dir; buradaki G99, G, S, A, C, V, N, D veya T'dir; buradaki Y100, Y, L veya R'dir; buradaki Y101, Y veya W'dir; buradaki G103, G, A veya S'dir; buradaki T104, T veya S'dir; buradaki S105, S, A veya T'dir; buradaki Y106, Y, R, T veya M'dir; buradaki Y107, Y veya F'dir;

buradaki F108, F veya W'dir; buradaki D109, S, A, C, G, D, N, T veya G'dir; ve buradaki Y110, herhangi bir amino asittir. Bazı düzeneklerde polipeptit (örn., bir antikor) ayrıca bir antikor hafif zinciri değişken bölgesi de içerir.

Başka bir yönde açıklama, SEK.KİM.NO.:12'de gösterilen bir amino asit sekansı (buradaki S26, S veya F'dir; D28, D, S, A veya Y'dir; ve H32, H, N veya Q'dur); SEK.KİM.NO.:13'te gösterilen bir amino asit sekansı (buradaki I51, I, T, V veya A'dır ve S56, S veya T'dir); ve SEK.KİM.NO.:14'te gösterilen bir amino asit sekansı (buradaki S91, S veya E'dir; K92, K, H, R veya S'dir; ve buradaki Y96, Y veya R'dir) içeren polipeptitler (örn., bir antikor) sağlar.

Mevcut açıklamanın tercih edilen başka bir düzeneğine göre antikor, şunları içeren bir ağır zincir değişken bölgesi ihtiva eden bir anti-NGF antikoru olabilir:

(a) SEK.KİM.NO.:3'te gösterilen bir CDR1 bölgesi;

(b) SEK.KİM.NO.:4'te gösterilen bir CDR2 bölgesi; ve

(c) SEK.KİM.NO.:5, 11, 56, 58, 60, 62, 64'te gösterilen bir CDR3 bölgesi.

Mevcut açıklamanın tercih edilen başka bir düzeneğine göre antikor, şunları içeren bir hafif zincir değişken bölgesi ihtiva eden bir anti-NGF antikoru olabilir:

(a) SEK.KİM.NO.:6'da gösterilen bir CDR1 bölgesi;

(b) SEK.KİM.NO.:7'de gösterilen bir CDR2 bölgesi; ve

(c) SEK.KİM.NO.:8, 14, 55, 57, 59, 61 veya 63'te gösterilen bir CDR3 bölgesi.

Mevcut buluşun tercih edilen bir düzeneğine göre antikor, şunları içeren bir ağır zincir değişken bölgesi ihtiva eden bir anti-NGF antikoru olabilir:

(a) SEK.KİM.NO.:3'te gösterilen bir CDR1 bölgesi;

(b) SEK.KİM.NO.:4'te gösterilen bir CDR2 bölgesi; ve

(c) SEK.KİM.NO.:5'te gösterilen bir CDR3 bölgesi.

Mevcut buluşa göre antikor, şunları içeren bir hafif zincir değişken bölgesi ihtiva eden bir anti-NGF antikoru olabilir:

(a) SEK.KİM.NO.:6'da gösterilen bir CDR1 bölgesi;

(b) SEK.KİM.NO.:7'de gösterilen bir CDR2 bölgesi; ve

(c) SEK.KİM.NO.:8'de gösterilen bir CDR3 bölgesi.

Anti-NGF antikoru ayrıca şunları içeren bir ağır zincir değişken bölgesi de ihtiva edebilir:

(a) SEK.KİM.NO.:3'te gösterilen bir CDR1 bölgesi;

(b) SEK.KİM.NO.:4'te gösterilen bir CDR2 bölgesi; ve

(c)SEK.KİM.NO.:5'te gösterilen bir CDR3 bölgesi.

Mevcut açıklamaya göre anti-NGF antikoru, SEK.KİM.NO.:1'deki amino asit sekansına en az yaklaşık %80, %85, %90, %91, %92, %93, %94, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş bir amino asit sekansı içeren bir ağır zincir değişken bölgesi ve/veya SEK.KİM.NO.:2'deki amino asit sekansına en az yaklaşık %80, %85, %90, %91, %92, %93, %94, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş bir amino asit sekansı içeren bir hafif zincir değişken bölgesi ihtiva edebilir; buradaki antikor, NGF'ye spesifik olarak bağlanır.

İnsancıllaştırılmış bir anti-NGF antikorunun ağır zincir değişken

bölgesi ve/veya hafif zincir değişken bölgesi, bir veya daha fazla ilgili çerçeve mutasyonu içerebilir. Bir yönde çerçeve mutasyonu, bir insan çerçeve tortusunu komplementer fare çerçeve tortusu ile değiştirebilir. Mutasyon, ağır zincir değişken bölgesinde V71K ikamesini kapsayabilir.

Mevcut buluşa göre anti-NGF antikoru, SEK.KİM.NO.:1'e ait amino asit sekansını içeren bir ağır zincir değişken bölgesi ihtiva edebilir ve/veya SEK.KİM.NO.:2'ye ait amino asit sekansı içeren bir hafif zincir değişken bölgesi ihtiva edebilir.

Mevcut buluşa göre anti-NGF antikoru, SEK.KİM.NO.:1 ve 2'de gösterilen amino asit sekanslarını içerir.

Anti-NGF antikoru, SEK.KİM.NO.:16'daki amino asit sekansına en az yaklaşık %80, %85, %90, %91, %92, %93, %94, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş bir amino asit sekansı içeren bir ağır zincir bölgesi ve/veya SEK.KİM.NO.:17'deki amino asit sekansına en az yaklaşık %80, %85, %90, %91, %92, %93, %94, %95, %96, %97, %98 veya %99 özdeş bir amino asit sekansı içeren bir hafif zincir bölgesi ihtiva edebilir; buradaki antikor, NGF'ye spesifik olarak bağlanır.

Anti-NGF antikoru, SEK.KİM.NO.:16'ya ait amino asit sekansını içeren bir ağır zincir bölgesi ihtiva edebilir ve/veya SEK.KİM.NO.:17'ye ait amino asit sekansı içeren bir hafif zincir bölgesi ihtiva edebilir.

Anti-NGF antikoru, SEK.KİM.NO.:16 ve 17'de gösterilen amino asit

sekanslarını içeren bir antikor olabilir.

Mevcut açıklamaya göre anti-NGF antikoru, NGF'ye bağlanma konusunda burada tanımlanan bir anti-NGF antikoru ile rekabet edebilir. Anti-NGF antikoru, NGF'ye bağlanma konusunda SEK.KİM.NO.:1'e ait amino asit sekansını içeren bir ağır zincir değişken bölgesi ve/veya SEK.KİM.NO.:2'ye ait amino asit sekansını içeren bir hafif zincir değişken bölgesi ihtiva eden bir antikor ile rekabet edebilir.

Anti-NGF antikoru, insan ve kemirgen NGF'sini spesifik olarak bağlayan insancıllaştırılmış ve afinite bakımından olgunlaşmış bir E3 antikoru olabilir. E3 antikoru, WO2004/058184'te tarif edilir. E3'ün ağır zincir ve hafif zincir değişken bölgelerindeki amino asit sekansları, ayrı ayrı SEK.KİM.NO.:1 ve 2'de (WO2004/058184'te Şekil 1A ve 1B) gösterilmiştir. E3 antikorunun CDR bölümleri (Chothia ve Kabat CDRleri dahil), WO2004/058184'teki Şekil 1A ve 1B'de diyagram şeklinde gösterilmiştir. E3 ağır ve hafif zincirlerinin ve ayrı ayrı uzatılmış CDRlerin amino asit sekansları da aşağıda gösterilmiştir (Bakınız aşağıdaki "antikor sekansları"). E3 antikoru, NGF'nin tecrit edilmesinde ve kendi reseptörü ile etkileşmesinin engellenmesinde yüksek düzeyde güçlüdür. E3 ve bunun murin öncüsü antikor 911'in artrit, kanser ağrısı ve ameliyat sonrası ağrı dahil olmak üzere patolojik ağrılı klinik olmayan hayvan modellerinde etkili bir analjezik olduğu gösterilmiştir.

Anti-NGF antikoru ayrıca E3 antikorunun (burada dönüşümlü olarak "E3" şeklinde de adlandırılır) bir fragmanını veya bir bölgesini de kapsayabilir. Bir düzenekte fragman, WO2004/058184'teki Şekil

1B'de ve burada SEK.KİM.NO.:17'de gösterildiği gibi E3 antikorunun bir hafif zinciridir. Bir başka düzenekte fragman, WO2004/058184'teki Şekil 1A'da ve burada SEK.KİM.NO.:16'da gösterildiği gibi E3 antikorunun bir ağır zinciridir. Yine başka bir düzenekte fragman, E3 antikorunun bir hafif zincirinden ve/veya bir ağır zincirinden bir veya daha fazla değişken bölge içerir. Yine bir başka düzenekte fragman, WO2004/058184'teki Şekil 1A ve 1B'de ve burada sırasıyla SEK.KİM.NO.:17 ve 16'da gösterildiği gibi E3 antikorunun bir hafif zincirinden ve/veya bir ağır zincirinden bir veya daha fazla CDR içerir.

Başka bir yönde antikor, ATCC No. PTA-4893 veya ATCC No. PTA-4894 bırakıt numarasına sahip bir konakçı hücre tarafından üretilen bir polinükleotidin şifrelediği bir hafif zincir içerir. Başka bir yönde antikor, ATCC No. PTA-4895 bırakıt numaralı bir konakçı hücre tarafından üretilen bir polinükleotidin şifrelediği bir ağır zincir içerir. Başka bir yönde antikor (a) ATCC No. PTA-4894 veya ATCC No. PTA-4893 bırakıt numaralı bir konakçı hücre tarafından üretilen bir polinükleotidin şifrelediği bir hafif zincir; ve (b) ATCC No. PTA-4895 bırakıt numaralı bir konakçı hücre tarafından üretilen bir polinükleotidin şifrelediği bir ağır zincir içerir (burada uygunluk açısından bırakılmış bir konakçı hücre tarafından üretilen polinükleotit(ler), ATCC NO PTA-4894, PTA-4893 ve PTA-4895 bırakıt numarasına sahip olarak anılır). Başka bir yönde antikor, ATCC No. PTA-4894 veya ATCC No. PTA-4893 bırakıt numaralı bir konakçı hücre tarafından üretilen bir polinükleotidin şifrelediği bir hafif zincirin bir hafif zincir değişken bölgesini içerir. Başka bir yönde antikor, ATCC No. PTA-4895 bırakıt numaralı bir konakçı hücre

tarafından üretilen bir polinükleotidin şifrelediği bir ağır zincirin ağır zincir değişken bölgesini içerir. Başka bir yönde antikor, (a) ATCC No. PTA-4894 veya ATCC No. PTA-4893 bırakıt numaralı bir konakçı hücre tarafından üretilen bir polinükleotidin şifrelediği bir hafif zincirin bir hafif zincir değişken bölgesini ve (b) ATCC No. PTA-4895 bırakıt numaralı bir konakçı hücre tarafından üretilen bir polinükleotidin şifrelediği bir ağır zincirin bir ağır zincir değişken bölgesini içerir. Yine başka bir yönde antikor, (a) ATCC No. PTA-4894 bırakıt numaralı bir konakçı hücre tarafından üretilen bir polinükleotidin ve/veya (b) ATCC No. PTA-4895 bırakıt numaralı bir konakçı hücre tarafından üretilen bir polinükleotidin şifrelediği bir ağır zincirin şifrelediği bir veya daha fazla CDR içerir.

Başka bir yönde antikor, aşağıdakilerden birini veya daha fazlasını içerir: a) SEK.KİM.NO.: 1-8 veya SEK.KİM.NO.:3-8'de (WO2004/058184'teki Şekil 1A ve 1B) gösterilen E3 antikorunun bir veya daha fazla CDR'si; b) SEK.KİM.NO.: 1 ve 5'te WO2004/058184'teki Şekil 1A) gösterilen E3 antikorunun ağır zincirinden CDR H3; c) SEK.KİM.NO.2 ve 8'de (WO2004/058184'teki Şekil 1B) gösterilen E3 antikorunun hafif zincirinden CDR L3; d) SEK.KİM.NO.2, 6-8'de (WO2004/058184'teki Şekil 1B) gösterilen E3 antikorunun hafif zincirinden üç CDR; e) SEK.KİM.NO. 1,3-5'te (WO2004/058184'teki Şekil 1A) E3 antikorunun ağır zincirinden üç CDR; ve f) SEK.KİM.NO. 1-8'de (WO2004/058184'teki Şekil 1A ve 1B) gösterilen E3 antikorunun hafif zincirinden üç CDR ve ağır zincirinden üç CDR. Başka bir yönde antikor, aşağıdakilerden birini veya daha fazlasını içerebilir: a) SEK.KİM.NO. 1-8'de

(WO2004/058184'teki Şekil 1A ve 1B) gösterilen E3 antikorundan türetilmiş bir veya daha fazla (bir, iki, üç, dört, beş veya altı) CDR; b) SEK.KİM.NO. 1 ve 5'te (WO2004/058184'teki Şekil 1A) gösterilen E3 antikorunun ağır zincirinden CDR H3'ten türetilmiş bir CDR; ve/veya SEK.KİM.NO. 2 ve 8'de (WO2004/058184'teki Şekil 1B) gösterilen E3 antikorunun hafif zincirinden CDR L3'ten türetilmiş bir CDR. Bazı düzeneklerde CDRler, Kabat CDRleri, Chothia CDRleri veya Kabat ve Chothia CDRlerinden oluşan bir kombinasyon (burada "uzatılmış" veya "birleştirilmiş" CDRler olarak adlandırılır) olabilir. Bazı düzeneklerde polipeptitler, burada tarif edilen CDR konfigürasyonlarından (kombinasyonlar, varyantlar, vb. dahil) herhangi birini kapsar.

Bir başka açıklamada antikor, şunları içerebilir:

(a) aşağıdakileri içeren bir ağır zincir değişken bölgesi:

(i) SEK.KİM.NO.:30'a ait bir CDR1 bölgesi;

(ii) SEK.KİM.NO.:31'e ait sekansı içeren bir CDR2 bölgesi;

(iii) SEK.KİM.NO.:11, 56, 58, 60, 62 ve 64'ün oluşturduğu gruptan seçilen bir CDR3 bölgesi;

(b) aşağıdakileri içeren bir hafif zincir değişken bölgesi:

(i) SEK.KİM.NO.:18'e ait bir CDR1 bölgesi;

(ii) SEK.KİM.NO.:19'a ait bir CDR2 bölgesi;

(iii) SEK.KİM.NO.:14, 55, 57, 59, 61 ve 63'ün oluşturduğu gruptan seçilen bir CDR3 bölgesi.

Mevcut buluşun başka düzeneklerinde burada tarif edilen anti-NGF antikorlarından herhangi birinin ağır zincirinin C terminalindeki lisin delete edilir. Çeşitli durumlarda burada tarif edilen anti-NGF

antikorlarının ağır ve/veya hafif zinciri isteğe göre bir sinyal sekansı içerebilir.

Bir başka açıklamada antikor, bu konuda bilinen bir anti-NGF antikoru, örn., WO2005019266'da (4D4, 14D10, 6G9, 7H2, 14F11 ve 4G6 antikorları dahil), WO2006131951'de (Hu-αD11 antikoru dahil), WO09023540 veya US20090041417'de tarif edilen antikorlar arasından seçilebilir. Burada açıklandığı gibi antikor, bu konuda bilinen bir anti-NGF antikoru, örn., Hongo ve arkadaşları, Hybridoma, 19: 215-227 (2000)'de tarif edildiği gibi Mab911, MAb 912 ve MAb 938 ve WO2005019266'da (4D4, 14D10, 6G9, 7H2, 14F11 ve 4G6 antikorları dahil),WO2006131951'de (Hu-αD11 antikoru dahil), WO09023540 veya US20090041417'de tarif edilen antikorlar ile aynı epitopa bağlanabilir ve/veya bu tür bir antikor ile NGF'ye bağlanma konusunda rekabet edebilir.

Mevcut buluşun bir başka yönüne göre sıvı kompozisyon, şunları içerir veya şunlardan oluşur:
yaklaşık 0.5 mg/ml ila yaklaşık 50 mg/ml en az bir antikor,
yaklaşık 1.0 mM ila yaklaşık 15 mM histidin tamponu,
yaklaşık 1 mg/ml ila yaklaşık 100 mg/ml trehaloz dihidrat,
yaklaşık 0.01 ila yaklaşık 0.15 mg/ml PS20,
yaklaşık 0.01 ila yaklaşık 0.1 mg/ml disodyum EDTA,
burada adı geçen kompozisyonun pH'si, pH 5.8 ila 6.8 arasındadır.

Mevcut buluşun bir başka yönüne göre sıvı kompozisyon, en az bir antikordan yaklaşık 2.5 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, 22 mg/ml veya yaklaşık 50 mg/ml, yaklaşık 1.0 mM ila yaklaşık 15 mM

histidin tamponu, yaklaşık 1 mg/ml ila yaklaşık 100 mg/ml trehaloz dihidrat, yaklaşık 0.01 ila yaklaşık 0.15 mg/ml PS20, yaklaşık 0.01 ila yaklaşık 0.1 mg/ml. disodyum EDTA'dan oluşur, burada adı geçen kompozisyonun pH'si, pH 5.8 ila 6.8 arasındadır.

Tercih edilen bir düzeneğe göre sıvı kompozisyon, şunları içerir veya şunlardan oluşur:
en az bir antikordan yaklaşık 2.5 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, 22 mg/ml veya yaklaşık 50 mg/ml,
yaklaşık 10 mM histidin tamponu,
yaklaşık 84 mg/ml trehaloz dihidrat,
yaklaşık 0.1 mg/ml PS20,
yaklaşık 0.05 mg/ml disodyum EDTA,
Burada adı geçen kompozisyonun pH'si, pH 5.8 ila 6.8 arasında, tercihen pH 5.8 ila 6.5 arasındadır ve burada adı geçen antikor, SEK.KİM.NO.1'e ait bir değişken ağır zincir ve SEK.KİM.NO.2'ye ait bir değişken hafif zincir içerir.

Tercih edilen bir düzeneğe göre sıvı kompozisyon, şunları içerir veya şunlardan oluşur:
en az bir antikordan yaklaşık 2.5 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, 22 mg/ml veya yaklaşık 50 mg/ml,
yaklaşık 10 mM histidin tamponu,
yaklaşık 84 mg/ml trehaloz dihidrat,
yaklaşık 0.1 mg/ml PS20,
yaklaşık 0.05 mg/ml disodyum EDTA,
burada adı geçen kompozisyonun pH'si, 6.0+/- 0.2'dir ve burada adı geçen antikor, SEK.KİM.NO.1'e ait bir değişken ağır zincir ve

SEK.KİM.NO.2'ye ait bir değişken hafif zincir içerir. Tercih edilen bir düzenekte kullanılan doz hacmi, 1 ml'dir.

Bir yönde liyofilize edilmeyen ve liyofilizasyona tabi tutulmamış olan bir sıvı kompozisyon sunulur.

Mevcut buluşun bir başka yönüne göre buluşa ait bir sıvı kompozisyon sunulur; buradaki kompozisyon, birçok dondurma eritme döngüsünden sonra antikor agregasyonuna dirençlidir.

Tercihen antikor, kompozisyonun en az bir dondurma ve eritme döngüsü sırasında agregasyona dirençlidir, ayrıca tercihen burada antikor, birçok dondurma eritme döngüsü sırasında, tercihen 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 , 11, 12, 13, 14 veya 15 dondurma eritme döngüsü sırasında agregasyona dirençlidir. En fazla tercihen antikor, sıvı kompozisyonun en az on beş dondurma ve eritme döngüsü, daha fazla tercihen dört ila on beş döngü sırasında agregasyona dirençlidir.

Daha fazla tercihen antikor, sıvı kompozisyonun birçok dondurma eritme döngüsünden sonra dondurma eritme öncesindeki aynı kompozisyona veya özdeş veya neredeyse özdeş kompozisyondan muadil bir örneğe kıyasla yaklaşık %10'dan az agregasyon artışı gösterir, daha fazla tercihen sıvı kompozisyonun birçok dondurma eritme döngüsünden sonra dondurma eritme öncesindeki aynı kompozisyona veya özdeş veya neredeyse özdeş kompozisyondan muadil bir örneğe kıyasla %9, 8, 7 ,6, 5, 4, 3, 2, 1, 0.5 veya %0'dan az veya yaklaşık o kadar agregasyon artışı gösterir.

Mevcut buluşun bir başka yönüne göre buluşa ait bir sıvı kompozisyon sağlanır ki bu kompozisyon, yaklaşık 5, 25 veya 40°C'lik bir sıcaklıkta en az yaklaşık 26 veya 52 haftalık bir süre boyunca saklanabilir ve buradaki kompozisyonun antikorunda yaklaşık %35'ten az, daha fazla tercihen yaklaşık %10'dan az agregasyon artışı olur. Tercihen antikor konsantrasyonu, yaklaşık 10mg/ml yada yaklaşık 50 mg/ml'dir.

Tercihen yaklaşık 5, 25 veya 40°C'lik bir sıcaklıkta yaklaşık 2, 4, 8, 9, 13, 26 veya 52 haftalık bir süre boyunca saklandığında sıvı formülasyonun antikorunda, depolama periyodu öncesi aynı kompozisyona veya özdeş veya neredeyse özdeş kompozisyondan muadil bir örneğe kıyasla yaklaşık %35'ten az, daha fazla tercihen yaklaşık %10'dan az agregasyon artışı olur. Tercihen antikor konsantrasyonu, yaklaşık 10mg/ml yada yaklaşık 50 mg/ml'dir.

Yine tercihen sıvı kompozisyondaki antikor, yaklaşık 5, 25 veya 40°C'lik bir sıcaklıkta, 2, 4, 8, 9, 13, 26 veya 52 haftalık depolanma periyodunun ardında depolanma öncesi aynı kompozisyona veya özdeş veya neredeyse özdeş kompozisyondan muadil bir örneğe kıyasla yaklaşık %35'ten az, daha fazla tercihen yaklaşık %10'dan az agregasyon artışı, daha fazla tercihen yaklaşık %34, %33, %32, %31, %30, %29, %28, %27%, %26, %25, %24, %23, %22, %21, %20, %19, %18, %17, %16, %15, %14, %13, %12, %11, %10, %9'dan az, daha fazla tercihen yaklaşık %8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 veya %0.5'ten az veya yaklaşık %0'a eşit; en fazla tercihen de 40°C'de 52 hafta süreyle yaklaşık %20'den az veya 40°C'de 26 hafta süreyle yaklaşık %10'dan

az agregasyon artışı gösterir. Tercihen antikor konsantrasyonu, yaklaşık 10mg/ml yada yaklaşık 50 mg/ml'dir.

Mevcut buluşun bir başka yönüne göre buluşa ait bir sıvı kompozisyon sağlanır ki bu kompozisyon, yaklaşık 5, 25 veya 40°C'lik bir sıcaklıkta en az yaklaşık 26 veya 52 haftalık bir süre boyunca saklanabilir ve buradaki kompozisyonun antikorunda, depolanma öncesi aynı kompozisyona veya özdeş veya neredeyse özdeş kompozisyondan muadil bir örneğe kıyasla yaklaşık %35'ten az, daha fazla tercihen yaklaşık %10'dan az bir oksidasyon artışı olur. Tercihen antikor konsantrasyonu, yaklaşık 10mg/ml yada yaklaşık 50 mg/ml'dir.

Tercihen sıvı kompozisyondaki antikor, yaklaşık 5, 25 veya 40°C'lik bir sıcaklıkta, yaklaşık 2, 4, 8, 9, 13, 26 veya 52 haftalık depolanma periyodunun ardında depolanma öncesi aynı kompozisyona veya özdeş veya neredeyse özdeş kompozisyondan muadil bir örneğe kıyasla yaklaşık %35'ten az, daha fazla tercihen yaklaşık %10'dan az oksidasyon artışı, daha fazla tercihen yaklaşık %34, %33, %32, %31, %30, %29, %28, %27%, %26, %25, %24, %23, %22, %21, %20, %19, %18, %17, %16, %15, %14, %13, %12, %11, %10, %9'dan az, daha fazla tercihen yaklaşık %8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 veya %0.5'ten az veya yaklaşık %0'a eşit; en fazla tercihen de 40°C'de 52 hafta süreyle yaklaşık %31 veya %30'dan az veya 26 hafta süreyle yaklaşık %11 veya %10'dan az oksidasyon artışı gösterir. Tercihen antikor konsantrasyonu, yaklaşık 10mg/ml yada yaklaşık 50 mg/ml'dir.

Mevcut buluşun bir başka yönüne göre buluşa ait bir sıvı kompozisyon sağlanır ki bu kompozisyon, yaklaşık 5, 25 veya 40°C'lik bir sıcaklıkta en az yaklaşık 26 veya 52 haftalık bir süre boyunca saklanabilir ve buradaki kompozisyonun antikorunda yaklaşık %30'dan az aktivite düşüşü olur.

Tercihen sıvı formülasyonun antikorunda, yaklaşık 5, 25 veya 40°C'lik bir sıcaklıkta en az yaklaşık 2, 4, 8, 13 veya 26 haftalık bir süre boyunca depolandığında, depolanma öncesi aynı kompozisyona veya özdeş veya neredeyse özdeş kompozisyondan muadil bir örneğe kıyasla yaklaşık %30'dan az aktivite düşüşü, daha fazla tercihen formülasyonun antikorunda yaklaşık %25'ten az, daha fazla tercihen %20, daha fazla tercihen yaklaşık %19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0.5'ten az veya %0 aktivite düşüşü olur. Tercihen antikor konsantrasyonu, yaklaşık 10mg/ml yada yaklaşık 50 mg/ml'dir.

Mevcut buluşun bir başka yönüne göre buluşa ait bir sıvı kompozisyon sağlanır ki bu kompozisyon, yaklaşık 5, 25 veya 40°C'lik bir sıcaklıkta en az yaklaşık 26 haftalık bir süre boyunca saklanabilir ve buradaki kompozisyonun antikorunda, depolanma öncesi aynı kompozisyona veya özdeş veya neredeyse özdeş kompozisyondan muadil bir örneğe kıyasla yaklaşık %15'ten az parçalanma artışı olur, tercihen buradaki antikorun konsantrasyonu, yaklaşık 10mg/ml veya yaklaşık 50mg/ml'dir. Tercihen sıvı kompozisyonun antikoru, yaklaşık 5, 25 veya 40°C'lik bir sıcaklıkta yaklaşık 2, 4, 8, 9, 13 veya 26 haftalık depolanma periyodundan sonra

depolanma öncesi aynı kompozisyona veya özdeş veya neredeyse özdeş kompozisyondan muadil bir örneğe kıyasla yaklaşık %15'ten az, daha fazla tercihen yaklaşık %14, %13, %12, %11, %10, %9, %8, %7, %6, %5, %4, %3, %2, %1 veya %0.5'ten az veya yaklaşık %0'a eşit, en fazla tercihen de yaklaşık 40°C'de yaklaşık 26 haftada yaklaşık %14'ten az parçalanma artışı gösterir. Tercihen antikor konsantrasyonu, yaklaşık 10mg/ml yada yaklaşık 50 mg/ml'dir.

Mevcut buluşun bir başka yönüne göre buluşa ait bir sıvı kompozisyon sağlanır ki bu kompozisyon, yaklaşık 2 ila 8°C atasındaki bir sıcaklıkta, tercihen 5°C'de en az yaklaşık 52 haftalık bir süre boyunca saklanabilir ve buradaki kompozisyonun antikorunda %20'den az aktivite düşüşü olur. Tercihen antikor konsantrasyonu, yaklaşık 2.5, 5, 10, 20 veya 50mg/ml'dir.

Tercihen yaklaşık 2 ila 8°C arasındaki bir sıcaklıkta, tercihen 5°C'de yaklaşık 2, 4, 8, 13, 26 veya 52 hafta, daha fazla tercihen en az yaklaşık 2, 3, 6, 9, 12, 18 veya 24 aylık bir süre boyunca depolandığında sıvı formülasyonun antikorunda, depolama periyodu öncesi aynı kompozisyona veya özdeş veya neredeyse özdeş kompozisyondan muadil bir örneğe kıyasla yaklaşık %15'ten az, daha fazla tercihen yaklaşık %10'dan az agregasyon artışı olur. Tercihen antikor konsantrasyonu, yaklaşık 2.5, 5, 10, 20 veya 50mg/ml'dir.

Yine tercihen sıvı kompozisyonun antikoru, depolanma periyodunun ardından, depolanma periyodu öncesindeki aynı kompozisyona veya özdeş veya neredeyse özdeş kompozisyondan muadil bir örneğe

kıyasla yaklaşık %15'ten az agregasyon artışı, yine tercihen yaklaşık %10'dan az, daha fazla tercihen yaklaşık %9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0.5'ten az veya %0 agregasyon artışı gösterir.

Mevcut buluşun tercih edilen başka bir yönüne göre, bir memelide ağrı tedavisinde kullanım için yukarıdaki herhangi bir yöne veya düzeneğe göre bir sıvı kompozisyon sağlanır.

Tercihen ağrı, akut ağrı, kronik ağrı, nöropatik, enflamatuar, nosiseptif, karışık etyoloji ağrısı, hiperaljezi, allodini, visseral ağrı, somatik ağrı ve sırt ağrısından biri veya daha fazlası arasından seçilir.

Açıklamanın yöne bir başka düzeneğine göre, ağrı ve/veya interstisyel sistit ve/veya ağrılı mesane sendromu ve/veya mesane ağrısı sendromu ile bağlantılı alt üriner sistem semptomlarının (LUTler) tedavisine yönelik bir ilaç üretimi için yukarıdaki herhangi bir yöne veya düzeneğe göre bir sıvı kompozisyon sağlanır. Açıklamanın yine bir başka düzeneğine göre ağrı ve/veya kronik prostatit ve/veya kronik pelvik ağrı sendromunun tedavisine yönelik bir ilaç üretimi için yukarıdaki herhangi bir yöne veya düzeneğe göre bir sıvı kompozisyon sağlanır. Bir başka açıklamaya göre, ağrı ve/veya endometriyoz ve/veya rahim fibroidleri ile bağlantılı diğer semptomların tedavisine yönelik bir ilaç üretimini için yukarıdaki herhangi bir yöne veya düzeneğe göre bir sıvı kompozisyon sağlanır.

Tercihen memeli, kemirgenler (örn., fareler, sıçanlar ve tavşanlar), petler (örn., kediler, köpekler ve atlar), çiftlik hayvanları (örn., inekler, koyunlar, domuzlar ve keçiler), spor hayvanları ve/veya petler (örn., kediler, köpekler ve atlar), primatlar, daha fazla tercihen insanlar arasından seçilir.

Tercih edilen bir düzeneğe göre sıvı kompozisyon, kan akışına, kas içerisine, doku içerisine, yağ içerisine veya bir iç oran içerisine uygulanabilir. Parenteral yoldan uygulama için uygun vasıtalar arasında intravenöz, intraarteryel, intraperitonel, intratekal, intraventriküler, intraüretral, intrasternal, intrakranyal, intramüsküler, intraossiyal, intradermal ve subkütan yer alır. Parenteral yoldan uygulama için uygun aygıtlar arasında iğneli (mikro-iğne, mikroprojeksiyonlar, çözülebilir iğneler ve diğer mikro-gözenek oluşturma teknikleri) enjektörler, iğnesiz enjektörler ve infüzyon teknikleri yer alır.

Bazı düzeneklerde ilacın uygulama paterni, bir ilaç dozunun haftada bir kez, iki haftada bir kez, üç haftada bir kez, dört haftada bir kez, beş haftada bir kez, altı haftada bir kez, yedi haftada bir kez, sekiz haftada bir kez, dokuz haftada bir kez, on haftada bir kez, on beş haftada bir kez, yirmi haftada bir kez, yirmi beş haftada bir kez veya yirmi altı haftada bir kez uygulanmasını kapsar. Bazı düzeneklerde anti NGF antagonist antikoru, ayda bir kez, iki ayda bir kez, üç ayda bir kez, dört ayda bir kez, beş ayda bir kez veya altı ayda bir kez uygulanır. En fazla tercihen ilacı uygulama paterni, bir ilaç dozunun sekiz haftada bir kez uygulanmasını kapsar.

Bazı düzeneklerde bir dozun hacmi, yaklaşık 20 ml, yaklaşık 15 ml, yaklaşık 10 ml, yaklaşık 5 ml, yaklaşık 2.5 ml, yaklaşık 1.5 ml, yaklaşık 1.0 ml, yaklaşık 0.75 ml, yaklaşık 0.5 ml, yaklaşık 0.25 ml veya yaklaşık 0.01 ml'den az veya buna eşittir.

Bazı düzeneklerde bir dozun hacmi, yaklaşık 20 ml, yaklaşık 19 ml, yaklaşık 18 ml, yaklaşık 17 ml, yaklaşık 16 ml, yaklaşık 15 ml,

yaklaşık 14 ml, yaklaşık 13 ml, yaklaşık 12 ml, yaklaşık 11 ml, yaklaşık 10 ml, yaklaşık 9 ml, yaklaşık 8 ml, yaklaşık 7 ml, yaklaşık 6 ml, yaklaşık 5 ml, yaklaşık 4 ml, yaklaşık 3 ml, yaklaşık 2 ml veya yaklaşık 1 ml'dir. Alternatif olarak yaklaşık 20.5 ml, yaklaşık 19.5 ml, yaklaşık 18.5 ml, yaklaşık 17.5 ml, yaklaşık 16.5 ml, yaklaşık 15.5 ml, yaklaşık 14.5 ml, yaklaşık 13.5 ml, yaklaşık 12.5 ml, yaklaşık 11.5 ml, yaklaşık 10.5 ml, yaklaşık 9.5 ml, yaklaşık 8.5 ml, yaklaşık 7.5 ml, yaklaşık 6.5 ml, yaklaşık 5.5 ml, yaklaşık 4.5 ml, yaklaşık 3.5 ml, yaklaşık 2.5 ml, yaklaşık 1.5 ml veya yaklaşık 0.5'tir. Alternatif olarak yaklaşık 900 mikrolitre, yaklaşık 800 mikrolitre, yaklaşık 700 mikrolitre, yaklaşık 600 mikrolitre, yaklaşık 500 mikrolitre, yaklaşık 400 mikrolitre, yaklaşık 300 mikrolitre, yaklaşık 200 mikrolitre veya yaklaşık 100 mikrolitre, alternatif olarak yaklaşık 950 mikrolitre, yaklaşık 850 mikrolitre, yaklaşık 750 mikrolitre, yaklaşık 650 mikrolitre, yaklaşık 550 mikrolitre, yaklaşık 450 mikrolitre, yaklaşık 350 mikrolitre, yaklaşık 250 mikrolitre, yaklaşık 150 mikrolitre veya yaklaşık 50 mikrolitredir. En fazla tercihen dozun hacmi, yaklaşık 2.5 ml'den az veya buna eşittir.

Tercih edilen düzeneğe göre antikor konsantrasyonu, yaklaşık 0.1 ila yaklaşık 200 mg/ml aralığında olabilir. Tercihen antikor konsantrasyonu, yaklaşık 0.5 mg/ml, yaklaşık 1 mg/ml, yaklaşık 2 mg/ml, yaklaşık 2.5 mg/ml, yaklaşık 3 mg/ml, yaklaşık 3.5 mg/ml, yaklaşık 4 mg/ml, yaklaşık 4.5 mg/ml, yaklaşık 5 mg/ml, yaklaşık 5.5 mg/ml, yaklaşık 6 mg/ml, yaklaşık 6.5 mg/ml, yaklaşık 7 mg/ml, yaklaşık 7.5 mg/ml, yaklaşık 8 mg/ml, yaklaşık 8.5 mg/ml, yaklaşık 9 mg/ml, yaklaşık 9.5 mg/ml, yaklaşık 10 mg/ml, yaklaşık 11 mg/ml, yaklaşık 12 mg/ml, yaklaşık 13 mg/ml, yaklaşık 14 mg/ml, yaklaşık

15 mg/ml, yaklaşık 16 mg/ml, yaklaşık 17 mg/ml, yaklaşık 18 mg/ml, yaklaşık 19 mg/ml, yaklaşık 20 mg/ml, yaklaşık 21 mg/ml, yaklaşık 22 mg/ml, yaklaşık 23 mg/ml, yaklaşık 24 mg/ml, yaklaşık 25 mg/ml, yaklaşık 26 mg/ml, yaklaşık 27 mg/ml, yaklaşık 28 mg/ml, yaklaşık 29 mg/ml, yaklaşık 30 mg/ml, yaklaşık 31 mg/ml, yaklaşık 32 mg/ml, yaklaşık 33 mg/ml, yaklaşık 34 mg/ml, yaklaşık 35 mg/ml, yaklaşık 36 mg/ml, yaklaşık 37 mg/ml, yaklaşık 38 mg/ml, yaklaşık 39 mg/ml, yaklaşık 40 mg/ml, yaklaşık 41 mg/ml, yaklaşık 42 mg/ml, yaklaşık 43 mg/ml, yaklaşık 44 mg/ml, yaklaşık 45 mg/ml, yaklaşık 46 mg/ml, yaklaşık 47 mg/ml, yaklaşık 48 mg/ml, yaklaşık 49 mg/ml, yaklaşık 50 mg/ml, yaklaşık 51 mg/ml, yaklaşık 52 mg/ml, yaklaşık 53 mg/ml, yaklaşık 54 mg/ml, yaklaşık 55 mg/ml, yaklaşık 56 mg/ml, yaklaşık 57 mg/ml, yaklaşık 58 mg/ml, yaklaşık 59 mg/ml, yaklaşık 60 mg/ml, yaklaşık 70 mg/ml, yaklaşık 80 mg/ml, yaklaşık 90 mg/ml, yaklaşık 100 mg/ml veya yaklaşık 110mg/ml'dir. En fazla tercihen antikor konsantrasyonu, yaklaşık 50 mg/ml'den az veya buna eşittir ve yaklaşık 2 mg/ml, yaklaşık 2.5 mg/ml, yaklaşık 5 mg/ml, yaklaşık 10 mg/ml, yaklaşık 19 mg/ml, yaklaşık 20 mg/ml, 22 mg/ml ve yaklaşık 50 mg/ml'nin oluşturduğu gruptan seçilebilir.

Tercih edilen bir düzeneğe göre doz, yaklaşık 0.5 mg, yaklaşık 1 mg, yaklaşık 2 mg, yaklaşık 3 mg, yaklaşık 4 mg, yaklaşık 5 mg, yaklaşık 6 mg, yaklaşık 7 mg, yaklaşık 8 mg, yaklaşık 9 mg, yaklaşık 10 mg, yaklaşık 11 mg, yaklaşık 12 mg, yaklaşık 13 mg, yaklaşık 14 mg, yaklaşık 15 mg, yaklaşık 16 mg, yaklaşık 17 mg, yaklaşık 18 mg, yaklaşık 19 mg, yaklaşık 20 mg, yaklaşık 21 mg, yaklaşık 22 mg, yaklaşık 23 mg, yaklaşık 24 mg, yaklaşık 25 mg, yaklaşık 26 mg, yaklaşık 27 mg, yaklaşık 28 mg, yaklaşık 29 mg, yaklaşık 30 mg,

yaklaşık 31 mg, yaklaşık 32 mg, yaklaşık 33 mg, yaklaşık 34 mg, yaklaşık 35 mg, yaklaşık 36 mg, yaklaşık 37 mg, yaklaşık 38 mg, yaklaşık 39 mg, yaklaşık 40 mg, yaklaşık 41 mg, yaklaşık 42 mg, yaklaşık 43 mg, yaklaşık 44 mg, yaklaşık 45 mg, yaklaşık 46 mg, yaklaşık 47 mg, yaklaşık 48 mg, yaklaşık 49 mg, yaklaşık 50 mg, yaklaşık 51 mg, yaklaşık 52 mg, yaklaşık 53 mg, yaklaşık 54 mg, yaklaşık 55 mg, yaklaşık 56 mg, yaklaşık 57 mg, yaklaşık 58 mg, yaklaşık 59 mg, yaklaşık 60 mg, yaklaşık 70 mg, yaklaşık 80 mg, yaklaşık 90 mg, yaklaşık 100 mg veya yaklaşık 110mg'den az veya buna eşit antikor içerir. En fazla tercihen doz, yaklaşık 50 mg'den az veya buna eşit antikor içerir.

Tercih edilen bir düzeneğe göre doz, (dozun uygulanacağı memeli kütlesindeki) kg başına yaklaşık 1 µg, kg başına yaklaşık 10 µg, kg başına yaklaşık 20 µg, kg başına yaklaşık 25 µg, kg başına yaklaşık 50 µg, kg başına yaklaşık 100 µg, kg başına yaklaşık 200 µg, kg başına yaklaşık 250 µg, kg başına yaklaşık 500 µg, kg başına yaklaşık 1 mg/kg, kg başına yaklaşık 2 mg, kg başına yaklaşık 3 mg, kg başına yaklaşık 4 mg, kg başına yaklaşık 5 mg, kg başına yaklaşık 6 mg, kg başına yaklaşık 7 mg, kg başına yaklaşık 8 mg, kg başına yaklaşık 9 mg, kg başına yaklaşık 10 mg veya kg başına yaklaşık 11 mg'lik bir miktarda antikor içerir. En fazla tercihen doz, yaklaşık 20 µg/kg, yaklaşık 25 µg/kg, yaklaşık 50 µg/kg, yaklaşık 100 µg/kg, yaklaşık 200 µg/kg, yaklaşık 250 µg/kg, 1 mg/kg veya yaklaşık 2 mg/kg içerir.

Dozaj rejimleri, pratisyenin ulaşmak istediği farmakokinetik bozulma paternine bağlı olabilir. Örneğin bazı düzeneklerde haftada bir-dört

kez dozlama tasarlanır. Daha az sıklıkta dozlama bile kullanılabilir. Bazı düzeneklerde doz, 2 haftada, 3 haftada, 4 haftada, 5 haftada, 6 haftada, 7 haftada, 8 haftada, 9 haftada, 10 haftada, 15 haftada, 20 haftada, 25 haftada veya daha uzun sürede bir kez uygulanır. Bazı düzeneklerde doz, 1 ayda, 2 ayda, 3 ayda, 4 ayda, 5 ayda, 6 ayda veya daha uzun sürede bir kez uygulanır. En fazla tercihen doz, sekiz haftada bir kez uygulanır. Bu terapinin gidişatı, bilindik teknik ve deneylerle kolayca izlenir. Dozlama rejimi, zaman içerisinde değişebilir.

Mevcut buluşun amaçları çerçevesinde ilacın uygun dozajı, kullanılan antikora, tedavi edilecek ağrının tipine ve şiddetine, ajanın engelleyici mi yoksa veya terapötik amaçlar için mi uygulandığına, önceki terapiye, hastanın klinik geçmişine ve ajana tepkisine ve görevli fizisyenin takdirine bağlı olacaktır. Tipik olarak klinisyen, arzu edilen sonuca ulaşan bir dozaja ulaşılana kadar ilacı uygulayacaktır. Dozajlar, deney yoluyla belirlenebilir, örneğin kişilere artan dozajlar verilerek ilacın etkinliği değerlendirilebilir, ağrı sayısal derecelendirme skalasında (NRS) bir değişiklik gibi bir ağrı göstergesi takip edilebilir.

Doz ve/veya sıklık, tedavi süresince değişkenlik gösterebilir. Antikorun yarı ömrü gibi ampirik konular genellikle dozaj belirlemeye katkıda bulunacaktır. Uygulamanın sıklığı, terapi süreci boyunca belirlenebilir ve ayarlanabilir ve genellikle fakat şart olmamakla birlikte bu, ağrının tedavisine ve/veya baskılanmasına ve/veya hafifletilmesine ve/veya geciktirilmesine dayanır. Bazı kişilerde birden fazla doz gerekli olabilir. Uygulamanın sıklığı belirlenebilir ve

terapi süresince ayarlanabilir. Birkaç gün boyunca veya daha uzun bir süre tekrarlanan uygulamalarda, ağrıya ve bunun şiddetine bağlı olarak tedavi, semptomlarda arzu edilen bir baskılanma oluşana veya ağrıyı azaltmak için yeterli terapötik seviyelere ulaşılana kadar sürdürülür.

Sıvı kompozisyonu içeren ilacın uygulanması, örneğin, alıcının fizyolojik durumuna, uygulamanın amacının terapötik mi yoksa profilaktik mi olduğuna ve uzman pratisyenlerce bilinen diğer faktörlere bağlı olarak sürekli veya aralıklı olabilir. Sıvı kompozisyonu içeren ilacın uygulaması, esasen önceden seçilmiş bir zaman periyodu boyunca sürekli olabilir veya bir dizi aralıklı doz halinde, örn., ya ağrı gelişmeden önce ya bu sırada yada geliştikten sonra yapılabilir.

Tercihen doz uygulaması, tercihen intravenöz, intraarteryel, intraperitonel, intratekal, intraventriküler, intraüretral, intrasternal, intrakranyal, intramüsküler, intraossiyal, intradermal ve subkütan arasından seçilen bir parenteral yoldan uygulamadır. Tercihen ilaç, parenteral uygulama için birim dozajda steril sıvı formdadır.

Tedavinin etkinliği, ağrı dinmesinin izlenmesiyle değerlendirilebilir. Ağrı dinmesi, dinmenin zaman süreci ile karakterize edilebilir. Buna göre bazı düzeneklerde dinme, uygulamadan sonraki yaklaşık 24 saat içerisinde gözlenir. Başka düzeneklerde dinme, uygulamadan sonraki yaklaşık 36, 48, 60, 72 saat veya 4 gün içerisinde gözlenir. Bazı düzeneklerde ağrının sıklığı ve/veya yoğunluğu azalır ve/veya hastalıktan yakınanların yaşam kalitesi artar. Bazı düzeneklerde ağrı

dinmesi, tek bir doz ilaçtan sonra en az yaklaşık 7 gün, en az yaklaşık 14 gün, en az yaklaşık 21 gün, en az yaklaşık 28 gün, en az yaklaşık 35 gün, en az yaklaşık 42 gün, en az yaklaşık 49 gün, en az yaklaşık 56 gün, en az yaklaşık 63 gün, en az yaklaşık 70 gün, en az yaklaşık 77 gün, en az yaklaşık 84 gün, en az yaklaşık 180 gün veya daha uzun bir sürede sağlanır.

KOMBİNASYONLAR

Herhangi bir yöne veya düzeneğe göre sıvı kompozisyon, özellikle bir memelide ağrı tedavisinde farmakolojik açıdan aktif bir başka bileşik ile veya farmakolojik açıdan aktif iki veya daha fazla başka bileşik ile faydalı şekilde birleştirilebilir ve şunlardan seçilen bir veya daha fazla ajan ile kombinasyon halinde aynı anda, sırayla veya ayrı ayrı uygulanabilir:

(i) bir opioid analjeziği, örn., morfin, eroin, hidromorfon, oksimorfon, levorfanol, levallorfan, metadon, meperidin, fentanil, kokain, kodein, dihidrokodein, oksikodon, hidrokodon, propoksifen, nalmefen, nalorfin, nalokson, naltrekson, buprenorfin, butorfanol, nalbufin veya pentazosin;

(ii) steroidal olmayan antienflamatuar bir ilaç (NSAID), örn. aspirin, diklofenak, diflusinal, etodolak, fenbufen, fenoprofen, flufenisal, flurbiprofen, ibuprofen, indometasin, ketoprofen, ketorolak, meklofenamik asit, mefenamik asit, nabumeton, naproksen, oksaprozin, fenilbutazon, piroksikam, sulindak, tolmetin veya zomepirak veya bunların farmasötik açıdan kabul gören bir tuzu;

(iii) bir barbiturat sedatif, örn., amobarbital, aprobarbital, butabarbital, butabital, mefobarbital, metarbital, metoheksital,

pentobarbital, fenobartital, sekobarbital, talbutal, teamilal veya tiyopental veya bunların farmasötik açıdan kabul gören bir tuzu;

(iv) sedatif bir aktiviteye sahip bir benzodiazepin, örn., klordiazepoksid, klorazepat, diazepam, flurazepam, lorazepam, oksazepam, temazepam veya triazolam veya bunların farmasötik açıdan kabul gören bir tuzu;

(v) bir sedatif aktiviteye sahip bir H_1 antagonisti, örn., difenhidramin, pirilamin, prometazin, klorfeniramin veya klorsiklizin veya bunların farmasötik açıdan kabul gören bir tuzu;

(vi) bir sedatif, örn., glutetimid, meprobamat, metakalon veya dikloralfenazon veya bunların farmasötik açıdan kabul gören bir tuzu;

(vii) bir iskelet kas gevşetici, örn., baklofen, karizoprodol, klorzoksazon, siklobenzaprin, metokarbamol veya orfrenadin veya bunların farmasötik açıdan kabul gören bir tuzu;

(viii) bir NMDA reseptör antagonisti, örn., dekstrometorfan ((+)-3-hidroksi-N-metilmorfinan) veya bunun metaboliti dekstrorfan ((+)-3-hidroksi-N-metilmorfinan), ketamin, memantin, pirolokinolin kinon veya cis-4-(fosfonometil)-2-piperidinkarboksilik asit veya bunların farmasötik açıdan kabul gören bir tuzu;

(ix) bir alfa-adrenerjik, örn. doksazosin, tamsulosin, klonidin veya 4-amino-6,7-dimetoksi-2-(5-metan-sülfonamido-1,2,3,4-tetrahidroizokinol-2-il)-5-(2-piridil)kinazolin;

(x) bir trisiklik antidepresan, örn., desipramin, imipramin, amitriptilin veya nortriptilin;

(xi) bir antikonvülsan, örn., karbamazepin veya valproat;

(xii) bir tacikinin (NK) antagonisti, özellikle bir NK-3, NK-2

veya NK-1 antagonisti, örn. (αR,9R)-7-[3,5-bis(triflorometil)benzil]-8,9,10,11-tetrahidro-9-metil-5-(4-metilfenil)-7H-[1,4]diazosino[2,1-g][1,7]-naftiridin6-13-dion (TAK-637), 5-[[(2R,3S)-2-[(1R)-1-[3,5-bis(triflorometil)fenil]etoksi-3-(4-florofenil)-4-morfolinil]-metil]-1,2-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-on (MK-869), lanepitant, dapitant veya 3-[[2-metoksi-5-(triflorometoksi)fenil]-metilamino]-2-fenilpiperidin (2S,3S);

(xiii) bir muskarinik antagonist, örn., oksibutinin, tolterodin, propiverin, tropsiyum klorid veya darifenasin;

(xiv) bir COX-2 inhibitörü, örn., selekoksib, rofekoksib veya valdekoksib;

(xv) seçici olmayan bir COX inhibitörü (tercihen G1 korumalı), örn. nitroflurbiprofen (HCT-1026);

(xvi) bir kömür katranı analjeziği, özellikle parasetamol;

(xvii) bir nöroleptik, örn., droperidol;

(xviii) bir vaniloid reseptör agonisti (örn. resinferatoksin) veya antagonisti (örn. kapsazepin);

(xix) bir beta-adrenerjik, örn., propranolol;

(xx) bir lokal anestetik, örn., meksiletin;

(xxi) bir kortikosteroid, örn., deksametazon;

(xxii) bir serotonin reseptör agonisti veya antagonisti;

(xxiii) bir kolinerjik (nikotinik) analjezik;

(xxiv) Tramadol (ticari marka);

(xxv) bir PDEV inhibitörü, örn., sildenafil, vardenafil veya taladafil;

(xxvi) bir alfa-2-delta ligandı, örn., gabapentin veya pregabalin; ve

(xxvii) bir kanabinoid.

Şekillerin Tarifi

Şekil 1 40°C'de 50 mg/mL anti-NGF antikoru:Tonisite Ajanı Tarama Çalışmasından gelen %Agregasyon (SEC yoluyla) Verilerinin Özeti

Şekil 2 40°C'de 50 mg/mL anti-NGF antikoru:Tonisite Ajanı Tarama Çalışmasından gelen %Parçalanma (indirgenmiş CGE yoluyla) Verilerinin Özeti

Şekil 3 15 Dondurma-Eritme Döngüsüne tabi tutulmuş 22 mg/mL anti-NGF antikorundan gelen %Agregasyon (SEC yoluyla) Verilerinin Özeti

Şekil 4 pH 6.0'da histidin tamponu içinde 2.5, 5, 10, 20 ve 50 mg/mL olmak üzere trehaloz, EDTA, polisorbat 20 içeren anti-NGF antikoru E3 formülasyonunun 5°C'de Uzun Süreli Stabilite Çalışması için %Agregasyon Verileri (her bir SEC başına)

Şekil 5 pH 6.0'da histidin tamponu içinde 2.5, 5, 10, 20 ve 50 mg/mL olmak üzere trehaloz, EDTA, polisorbat 20 içeren anti-NGF antikoru E3 formülasyonunun 5°C'de Uzun Süreli Stabilite Çalışması için %Parçalanma Verileri (her bir indirgenmiş CGE başına)

Şekil 6 pH 6.0'da histidin tamponu içinde 2.5, 5, 10, 20 ve 50 mg/mL olmak üzere trehaloz, EDTA, polisorbat 20 içeren anti-NGF antikoru E3 formülasyonunun 5°C'de Uzun Süreli Stabilite Çalışması için %Oksidasyon Verileri

TANIMLAR

Burada kullanıldığı gibi "formülasyon" veya "kompozisyon" terimleri,

bir antikor ile ilişkilendirildiğinde, en az bir tonisite ajanı, en az bir tampon, en az bir kıskaçlama ajanı, en az bir surfektan dahil olmak üzere farmasötik açıdan kabul gören bir eksipiyan ile kombinasyon halindeki antikoru anlatacak anlamdadır; buradaki pH, tanımlandığı gibidir.

"Farmasötik kompozisyon" terimi, aktif muhteviyatların biyolojik aktivitesinin etkili olmasına izin verecek formda preparasyonlara karşılık gelir.

"Farmasötik açıdan kabul gören eksipiyanlar" (araçlar, katkı maddeleri), kullanılan aktif muhteviyatın etkin bir dozunu sağlamak için bir süjeye güvenli şekilde uygulanabilenlerdir. Burada kullanıldığı gibi "eksipiyan" veya "taşıyıcı" terimi, genellikle ilaçlar için bir seyreltici, araç, prezervatif, bağlayıcı veya stabilize edici ajan olarak kullanılan eylemsiz bir maddeye karşılık gelir. Burada kullanıldığı gibi "seyreltici" terimi, farmasötik açıdan kabul gören (bir insana uygulanmak için güvenli ve toksik olmayan) bir solvente karşılık gelir ve buradaki sıvı formülasyonların preparasyonunda faydalıdır. Örnek seyreltiçiler arasında, bunlarla sınırlı olmamak üzere, steril su ve bakteriyostatik enjeksiyon suyu (BWFI) yer alır.

Burada kullanıldığı gibi "antikor" terimi, bozulmamış bir antikora veya bunun, spesifik bağlanma konusunda bozulmamış antikor ile rekabet eden antijen bağlayıcı bir bölümüne karşılık gelir. Genel olarak bakınız Fundamental Immunology, Bölüm 7 (Paul, W., ed., 2. baskı, Raven Press, N.Y. (1989)). Antijen bağlayıcı bölümler, rekombinant DNA teknikleri ile veya bozulmamış antikorların

enzimatik veya kimyasal klivajı yoluyla üretilebilir. Bazı düzeneklerde antijen bağlayıcı bölümler arasında, Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fd, Fv, dAb ve komplementerlik belirleyici bölge (CDR) fragmanları, tek zincirli antikorlar (scFv), kimerik antikorlar, diabodiler ve bir antikorun, en azından polipeptide spesifik antijen bağlama özelliği kazandırmak için yeterli bir bölümünü ihtiva eden polipeptitler yer alır. N-terminalinden C-terminaline kadar hem olgun hafif hem de ağır zincir değişken alanları, FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 ve FR4 bölgelerini kapsar. Amino asitlerin her bir alana tahsisi, Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 ve 1991)), Chotiya & Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987); veya Chotiya ve arkadaşları, Nature 342:878-883 (1989)'daki tanımlara uygundur. Burada kullanıldığı gibi "polipeptit" terimi, doğal veya suni proteinleri, protein fragmanlarını ve bir protein sekansının polipeptit analoglarını kapsar. Bir polipeptit, monomerik veya polimerik olabilir.

Burada kullanıldığı gibi bir Fd fragmanı, V_H ve CH1 alanlarından oluşan bir antikor fragmanı anlamına gelir; bir Fv fragmanı, bir antikorun tek bir kolunun V_l ve VH alanlarından oluşur; ve bir dAb fragmanı (Ward ve arkadaşları, Nature 341 :544-546 (1989)), bir V_H alanından oluşur.

"Antikor" terimi ile birlikte kullanıldığında "veya bunun antijen bağlayıcı bölümü" terimi, amino terminalinde ve/veya karboksi terminalinde bir delesyonun olduğu ancak geriye kalan amino asit sekansının, doğal yollarla meydana gelen sekanstaki ilgili pozisyonlara özdeş olduğu bir polipeptide karşılık gelir. Bazı

düzeneklerde fragmanlar, en az 5, 6, 8 veya 10 amino asit uzunluğundadır. Diğer düzeneklerde fragmanlar, en az 14, en az 20, en az 50 veya en az 70, 80, 90, 100, 150 veya 200 amino asit uzunluğundadır.

Burada kullanıldığı gibi "monoklonal antikor" terimi, monoklonal antikorun, bir antijenin seçici bağlanmasında yer alan amino asitlerden (doğal yollarla oluşan ve doğal yollarla oluşmayan) amino asitlerden müteşekkil olduğu homojen bir antikor popülasyonuna karşılık gelir. Bir monoklonal antikorlar popülasyonu, yüksek düzeyde spesifik olup tek bir antijenik sahaya karşı yönlendirilir. "Monoklonal antikor" terimi, sadece bozulmamış monoklonal antikorları ve tam boyda monoklonal antikorları kapsamakla kalmaz aynı zamanda bunların fragmanlarını (örn., Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv), tek zincirli (ScFv) mutantlarını, bir antikor bölümü içeren füzyon proteinleri ve immünoglobulin molekülünün, gerekli spesifiteye ve bir antijene bağlanma kabiliyetine sahip bir antijen tanıma sahası içeren modifiye edilmiş başka herhangi bir konfigürasyonunu da kapsar. Antikorun kaynağı veya yapılma şekli (örn., hibridoma, faz seçimi, rekombinant ekspresyon, transgenik hayvanlar, vb. yoluyla) konusunda sınırlama olması amaçlanmaz.

Tek zincirli bir antikor (scFv), VL ve VH bölgeleri çiftlenerek, bunların tek bir protein zinciri haline gelmelerini sağlayan sentetik bir bağlayıcı yoluyla bir monovalent molekülün oluşturulduğu bir antikordur (Bird ve arkadaşları, Science, 242:423-426 (1988) ve Huston ve arkadaşları, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:5879-5883 (1988)).

Diabodiler, VH ve VL alanlarının, tek bir polipeptit zinciri üzerinde eksprese edildiği, ancak aynı zincir üzerindeki iki alan arasında çiftlenme sağlamak için çok kısa bir bağlayıcı kullanıldığı, bu şekilde alanların, bir başka zincirin komplementerlik alanları ile çiftlenmeye zorlandığı ve iki antijen bağlama sahasının yaratıldığı, bivalent, bispesifik antikorlardır.

"Kimerik antikorlar", ağır ve hafif zincirlerin amino asit sekanslarından her birinin bir bölümü, özel bir türden türetilmiş veya özel bir sınıfa ait antikorlardaki ilgili sekanslara homolog iken zincirlerin geriye kalan segmentinin, bir diğerindeki ilgili sekanslara homolog olduğu antikorlara karşılık gelir. Tipik olarak bu kimerik antikorlarda hem hafif hem de ağır zincirlerin değişken bölgesi, bir memeli türünden türetilmiş antikorların değişken bölgelerini taklit ederken sabit bölümler, bir diğerinden türetilmiş antikorlardaki sekanslara homologtur. Bu gibi kimerik formlara yönelik net bir avantaj, örneğin, değişken bölgelerin, kolayca elde edilebilen hibridomalar veya insan dışı konakçı organizmalardan gelen B hücreleri ile kombinasyon halinde örneğin insan hücresi preparasyonlarından türetilmiş sabit bölgeler kullanılarak hali hazırda bilinen kaynaklardan uygun şekilde türetilebilmesidir. Değişken bölge, preparasyon kolaylığı avantajına sahipken ve spesifite, bunun kaynağından etkilenmezken insan olan sabit bölgenin, antikorlar enjekte edildiğinde bir insan süjeden bir immün tepkisi ortaya çıkarma olasılığı muhtemelen insan dışı bir kaynaktan gelen sabit bölgeden daha düşüktür. Bununla birlikte tanım, bu özel örnekle sınırlı değildir.

Bir antikorun bir "değişken bölgesi", tek başına veya kombinasyon

halinde antikor hafif zincirinin değişken bölgesine veya antikor ağır zincirinin değişken bölgesine karşılık gelir. Ağır ve hafif zincirin değişken bölgelerinin her biri, hiperdeğişken bölgeler olarak da bilinen üç komplementerlik belirleme bölgesi (CDRler) ile bağlı dört çerçeve bölgesinden (FR) oluşur. Her bir zincir içindeki CDRler, FRler tarafından birbirine yakın tutulurken diğer zincirden CDRler, antikorların antijen bağlama sahasının oluşturulmasına katkıda bulunur. CDRleri belirlemek için en az iki teknik vardır: (1) çapraz tür sekans değişkenliğine dayanan bir yaklaşım (yani Kabat ve arkadaşları, Sequences of Proteins of Immunological Interest, (5inci baskı, 1991, National Institutes of Health, Bethesda MD)); ve (2) antijen-antikor kompleksleriyle ilgili kristalografik çalışmalara dayanan bir yaklaşım (Chothia ve arkadaşları (1989) Nature 342:877; Allazikani ve arkadaşları (1997) J. Molec. Biol. 273:927-948)). Burada kullanıldığı gibi bir CDR, herhangi bir yaklaşım veya iki yaklaşımın bir kombinasyonuyla tanımlanan CDRlere karşılık gelebilir.

Bir antikorun bir "sabit bölgesi", tek başına veya kombinasyon halinde antikor hafif zincirinin sabit bölgesine veya antikor ağır zincirinin sabit bölgesine karşılık gelir.

Burada kullanıldığı gibi "E3", "3E" ve "E3 antikoru" terimleri, ayrı ayrı SEK.KİM.NO.:1ve SEK.KİM.NO.:2'de (WO2004/058184'teki Şekil 1A ve 1B) gösterilen ağır zincir ve hafif zincir değişken bölgelerinin amino asit sekansını içeren bir antikora karşılık gelecek şekilde dönüşümlü olarak kullanılır. E3'ün üretimi ve karakterizasyonu, WO2004/058184'teki Örneklerde tarif edilir Bazı

düzeneklerde "E3" terimi, (a) yatırma numarası ATCC No. PTA-4893 veya ATCC No. PTA-4894 olan E3 hafif zincirini şifreleyen bir polipeptit ve (b) yatırma numarası ATCC No. PTA-4895 olan E3 ağır zincirini şifreleyen bir polinükleotit tarafından şifrelenen immünoglobuline karşılık gelir.

Burada kullanıldığı gibi "izole edilmiş antikor" veya "saflaştırılmış antikor", menşei veya türevlendirilme kaynağından dolayı aşağıdakilerin biri ila dördüne sahip olan bir antikora karşılık gelir: (1) doğal halindeyken kendisine eşlik eden doğal olarak bağlantılı olduğu bileşenler ile bağlantılı olmama, (2) aynı türden gelen diğer proteinlerden muaf olma, (3) farklı bir türden bir hücre tarafından eksprese edilme veya (4) doğal olarak meydana gelmeme.

Bir antikor, bir örneğin en az yaklaşık %60 ila 75'inin tek bir antikor türü sergilediği durumda "önemli ölçüde saf", "önemli ölçüde homojen" veya "önemli ölçüde saflaştırılmış"tır. Önemli ölçüde saf bir antikor tipik olarak bir antikor örneğinin a/a olarak yaklaşık %50, %60, %70, %80 veya %90'ını, daha genel olarak yaklaşık %95'ini oluşturabilir ve tercihen %99'un üzerinde saf olacaktır. Antikor saflığı veya homojenliği, poliakrilamid jel elektroforez veya HPLC gibi bu konuda iyi bilinen birçok yolla test edilebilir.

Burada kullanıldığı gibi "insan antikoru" teriminin, insan germ çizgisi immünoglobulin sekanslarından türetilen değişken ve sabit bölgelere sahip antikorları kapsaması amaçlanır. Bu insan antikoru tanımı, en az bir insan ağır zincirli polipeptidi veya en az bir insan hafif zincirli polipeptidi içeren antikorları kapsar. Buluşa ait insan antikorları

örneğin CDR'lerde ve özellikle CDR3'te insan germ çizgili immünoglobulin sekansları tarafından şifrelenmeyen amino asit tortuları içerebilir (örn., in vitro rasgele veya sahaya özel mutajenez yoluyla veya in vivo somatik mutasyon yoluyla mutasyonlar sokulabilir). Bununla birlikte burada kullanıldığı gibi "insan antikoru" teriminin, bir fare gibi bir başka memeli türünün germ çizgisinden türetilen CDR sekanslarının insan çerçeve sekansları üzerine graft edilmiş olduğu antikorları kapsaması amaçlanmaz.

Burada kullanıldığı gibi "insancıllaştırılmış" antikor, insan dışı immünoglobulinden türetilen minimum düzeyde sekans ihtiva eden kimerik immünoglobulinler, immünoglobulin zincirleri veya bunların fragmanları (örn., Fv, Fab, Fab', $F(ab')_2$ veya antikorların diğer antijen bağlayıcı alt sekansları) gibi insan dışı (örn., murin) antikor formlarına karşılık gelir. Tercihen insancıllaştırılmış antikorlar, alıcının bir komplementerlik belirleme bölgesinden (CDR) tortuların, arzu edilen spesifite, afinite ve kapasiteye sahip bir fare, sıçan veya tavşan gibi insan dışı bir türün (donör antikoru) bir CDR'sinden tortular ile değiştirildiği insan immünoglobulinleridir (alıcı antikoru). Bazı durumlarda insan immünoglobulinin Fv çerçeve bölgesi (FR) tortuları, karşılık gelen insan dışı tortular ile değiştirilir. Ayrıca insancıllaştırılmış antikor, ne alıcı antikorunda ne de alınan CDR veya çerçeve sekanslarında bulunan ancak antikor performansını düzeltmek ve optimize etmek için dahil edilen tortuları kapsayabilir. Genel olarak insancıllaştırılmış antikor, içerisindeki CDR bölgelerinin tamamının veya önemli ölçüde tamamının, insan dışı bir immünoglobulininkilere karşılık geldiği ve FR bölgelerinin tamamının veya önemli ölçüde tamamının, bir insan immünoglobulin konsensüs sekansınınkiler

olduğu, en az bir ve tipik olarak iki değişken alanın önemli ölçüde tamamını ihtiva edecektir. İnsancıllaştırılmış antikor optimum şekilde ayrıca tipik olarak bir insan immünoglobulininin bir immünoglobulin sabit bölgesinin veya alanının (Fc) en az bir bölümünü de içerecektir. WO99/58572'de tarif edildiği gibi modifiye edilmiş Fc bölgelerine sahip antikorlar tercih edilir. İnsancıllaştırılmış antikorların diğer formları, orijinal antikora göre değiştirilen ve ayrıca orijinal antikordan gelen bir veya daha fazla CDR'den "türetilmiş" bir veya daha fazla CDR olarak da adlandırılan bir veya daha fazla CDR'ye (CDR L1, CDR L2, CDR L3, CDR H1, CDR H2 veya CDR H3) sahiptir.

Bir monoklonal antikoru insancıllaştırmak için dört genel adım vardır. Bunlar: (1) başlangıçtaki antikor hafif ve ağır değişken alanlarının nükleotit ve ön görülen amino asit sekansının belirlenmesi (2) insancıllaştırılmış antikorun tasarlanması, yani insancıllaştırma süreci esnasında hangi antikor çerçeve bölgesinin kullanılacağına karar verilmesi (3) gerçek insancıllaştırma metodolojileri/teknikleri ve (4) insancıllaştırılmış antikorun transfeksiyonu ve ekspresyonudur. Bakınız örneğin ABD Patent No. 4,816, 567; 5,807, 715; 5, 866,692 ; 6,331, 415; 5,530, 101; 5,693, 761; 5,693, 762; 5,585, 089; ve 6,180, 370.

İnsan dışı bir immünoglobulinden türetilmiş bir antijen bağlama sahası ihtiva eden birçok "insancıllaştırılmış" antikor molekülü, kemirgen veya modifiye edilmiş kemirgen V bölgelerine ve bunların, insan sabit alanlarına füzyonla birleştirilmiş bağlantılı komplementerlik belirleme bölgelerine (CDRler) sahip kimerik antikorlar dahil olmak üzere tarif edilmiştir.

Bakınız örneğin Winter ve arkadaşları Nature 349:293-299 (1991), Lobuglio ve arkadaşları, Proc. Nat. Acad. Sci. ABD 86:4220-4224 (1989), Shaw ve arkadaşları, J Immunol. 138:4534-4538 (1987) ve Brown ve arkadaşları Cancer Res. 47:3577-3583 (1987). Diğer referanslar, uygun bir insan antikoru sabit alanı ile füzyonla birleşmeden önce bir insan destekleyici çerçeve bölgesine (FR) graft edilen kemirgen CDRlerini tarif eder. Bakınız örneğin Riechmann ve arkadaşları Nature 332:323-327 (1988), Verhoeyen ve arkadaşları Science 239:1534-1536 (1988) ve Jones ve arkadaşları Nature 321:522-525 (1986). Bir diğer referans, rekombinant şekilde kaplanmış kemirgen çerçeve bölgelerinin desteklediği kemirgen CDRlerini tarif eder. Bakınız örneğin Avrupa Patent Yayını No. 0519596. Bu "insancıllaştırılmış" moleküller, kemirgen anti-insan antikoru moleküllerine yönelik, insan alıcılarda bu yarımların terapötik uygulamalarının süresini ve etkinliğini kısıtlayan istenmeyen immünolojik tepkiyi minimize etmek için tasarlanır. Örneğin antikor sabit bölgesi, immünolojik olarak eylemsiz olacak (örn., komplement lizizini tetiklemeyecek) şekilde değiştirilebilir. Bakınız örn., PCT Başvurusu No. WO99/58572; İngiltere Patent Başvurusu No. 9809951.8. Yine kullanılabilen antikorların insancıllaştırılmasına yönelik diğer yöntemler, Daugherty ve arkadaşları tarafından Nucl. Acids Res. 19: 2471-2476 (1991)'de ve ABD Patent No. . 6,180,377;6,054,297;5,997,867;5,866,692;6,210,671; ve 6,350,861; ve PCT Yayını No. WO 01/27160'ta açıklanmıştır.

Burada kullanıldığı gibi "rekombinant antikor" teriminin, rekombinant yöntemlerle hazırlanan, eksprese edilen, yaratılan veya izole edilen bütün antikorları, örneğin bir konakçı hücre içerisine transfekte edilmiş bir rekombinant ekspresyon vektörü kullanılan eksprese edilen

antikorları, bir rekombinant, kombinatoryal insan antikor kütüphanesinden izole edilmiş antikorları, insan immünoglobulin genleri için transgenik olan bir hayvandan (örn., bir fare) izole edilmiş antikorları veya bu tür rekombinant insan antikorlarının in vitro mutajeneze tabi tutulabileceği şekilde hazırlanmış antikorları kapsaması amaçlanır.

Burada kullanıldığı gibi "spesifik olarak bağlanan", "spesifik olarak bağlanır" veya "tercih edilen şekilde bağlanır" terimleri, bir antikorun bir antijene ≤1 μM, tercihen ≤1 nM ve en fazla tercihen de ≤10 pM'lik bir ayrılma sabiti ile bağlandığı duruma karşılık gelir. Bir antikora veya bir polipeptide "spesifik olarak bağlanan" veya "tercih edilen şekilde bağlanan" (burada dönüşümlü olarak kullanılır) bir epitop, bu konuda iyi anlaşılmış bir terimdir ve bu tür spesifik veya tercih edilen bağlanmayı belirlemeye yönelik yöntemler de bu konuda iyi bilinir. Bir molekülün, özel bir hücre veya madde ile, alternatif hücreler veya maddeler ile olduğundan daha sık, daha hızlı bir şekilde, daha uzun bir süre ve/veya yüksek bir afinite ile reaksiyona girmesi veya birleşmesi durumunda "spesifik bağlanma" veya "tercih edilen bağlanma" sergilediği söylenir. Bir antikor, bir hedefe, diğer maddelere bağlandığından daha yüksek afinite, avidite ile, daha kolay bir şekilde ve/veya daha uzun süreyle bağlanması durumunda "spesifik olarak bağlanır" veya "tercih edilen şekilde bağlanır". Örneğin bir NGF epitopuna spesifik olarak veya tercih edilen şekilde bağlanan bir antikor, bu epitopa, diğer NGF epitoplarına veya NGF dışı epitoplara bağlandığından daha büyük bir afinite, avidite ile, daha kolay bir şekilde ve/veya daha uzun bir süreyle bağlanan bir antikordur. Ayrıca bu tanımın okunmasıyla örneğin birinci bir hedefe spesifik olarak

veya tercih edilen şekilde bağlanan bir antikorun (veya yarımın veya epitopun), ikinci bir hedefe spesifik olarak veya tercih edilen şekilde bağlanabileceği yada bağlanmayabileceği de anlaşılır. Bu şekilde "spesifik bağlanma" veya "tercih edilen bağlanma"nın özel bağlanma gerektirmesi (içerebilmesine rağmen) şart değildir.

Burada kullanıldığı gibi antikorların "immünospesifik" bağlanması, bir antikorun antijene birleşme sahası ile o antikorun tanıdığı spesifik antijen arasında meydana gelen antijene özel bağlanma etkileşimine karşılık gelir (yani antikor, bir ELISA veya başka bir immüno-deneyde protein ile reaksiyona girer ve alakasız proteinler ile saptanabilir şekilde reaksiyona girmez). Bir antikor ile bağlantılı olarak burada kullanıldığı gibi "rekabet etme" terimi, birinci bir antikorun veya bunun antijen bağlayıcı bir bölümünün, bir epitopa, ikinci bir antikorun veya bunun antijen bağlayıcı bir bölümünün bağlanmasına yeterince benzer bir şekilde bağlanması, böylelikle birinci antikorun kendi kognat epitopu ile bağlanması sonucunun, ikinci antikor varlığında, ikinci antikor olmadan birinci antikorun bağlanmasına kıyasla saptanabilir şekilde azalması anlamına gelir. İkinci antikorun kendi epitopuna bağlanmasının birinci antikor varlığında saptanabilir düzeyde azaldığı bir alternatif de olabilir ancak mutlaka olmaz. Yani bir birinci antikor, bir ikinci antikorun kendi epitopuna bağlanmasını, ikinci antikor birinci antikorun kendi ilgili epitopuna bağlanması inhibe etmeden inhibe edebilir. Bununla birlikte her bir antikorun, başka bir antikorun kendi kognat epitopuna veya ligandına bağlanmasını saptanabilir düzeyde inhibe ettiği durumda, ister aynı, ister daha yüksek veya daha düşük derecede olsun, antikorların kendi ilgili epitop(lar)ına bağlanma konusunda birbirleri

ile "çapraz rekabet ettiği" söylenir. Hem rekabet eden hem de çapraz rekabet eden antikorlar, mevcut açıklamanın kapsamına girer. Bu tür bir rekabetin veya çapraz rekabetin meydana gelme mekanizması (örn., sterik engelleme, konformasyonel değişim veya ortak bir epitopa veya bunun bir bölümüne bağlanma) ne olursa olsun uzman kişiler, burada sunulan öğretilere dayanarak, bu tür rekabet eden ve/veya çapraz rekabet eden antikorların kapsam dahilinde olduğunu ve burada açıklanan yöntemler için faydalı olabileceğini takdir edecektir.

Burada kullanıldığı gibi "sinir büyüme faktörü" ve "NGF" terimi, NGF'nin biyolojik aktivitesini en azından kısmen muhafaza eden sinir büyüme faktörüne ve bunun varyantlarına karşılık gelir. Burada kullanıldığı gibi NGF, insan, köpek, kedi, at veya inek dahil olmak üzere saf NGF sekanslı bütün memeli türlerini kapsar.

"NGF reseptörü", NGF tarafından bağlanan veya aktifleştirilen bir polipeptide karşılık gelir. NGF reseptörleri arasında bunlarla sınırlı olmamak üzere insan, köpek, kedi, at, primat veya inek gibi herhangi bir memeli türünün TrkA reseptörü ve p75 reseptörü yer alır.

Burada kullanıldığı gibi bir "anti-NGF antikoru" ("anti-NGF antagonist antikoru" ile dönüşümlü olarak kullanılır), NGF'ye bağlanabilen ve NGF'nin biyolojik aktivitesini ve/veya NGF sinyallerinin aracılık ettiği aşağı akış yolak(lar)ını inhibe edebilen, bloke edebilen, antagonize edebilen, baskılayabilen veya azaltabilen bir antikora karşılık gelir. Bazı düzeneklerde "anti-NGF antagonist antikoru" terimi, daha önce tanımlanan bütün terimleri, başlıkları ve fonksiyonel halleri ve karakteristikleri kapsar, böylelikle NGF'nin kendisi, bir NGF biyolojik aktivitesi (bunlarla sınırlı olmamak üzere

ameliyat sonrası ağrının herhangi bir yönüne aracılık etme kabiliyeti dahil) veya biyolojik aktivitenin sonuçları, herhangi bir anlamlı derecede önemli ölçüde boşa çıkar, azalır veya nötralize olur. Bazı düzeneklerde bir anti-NGF antagonist antikoru, NGF'ye bağlanır ve NGF dimerizasyonunu ve/veya bir NGF reseptörüne (örn., p75 ve/veya trkA) bağlanmayı engeller. Başka düzeneklerde bir anti-NGF antikoru, NGF'ye bağlanır ve trkA reseptörü dimerizasyonunu ve/veya trkA oto-fosforilasyonunu engeller. Anti-NGF antagonist antikorlarının örnekleri burada verilmiştir.

"Özdeşlik" terimi, iki amino asit sekansının veya iki nükleik asit sekansının yüzde "özdeşliği"ne karşılık gelir. Yüzde özdeşlik genellikle optimum karşılaştırma amaçları için sekansların hizalanması (örn., ikinci sekans ile en iyi hizalanma için birinci sekansa boşluklar konulabilir) ve ilgili pozisyonlardaki amino asit tortularının veya nükleotitlerin karşılaştırılması suretiyle belirlenir. "En iyi hizalanma", iki sekansın, en yüksek özdeşlik yüzdesiyle sonuçlanan hizalanmasıdır. Yüzde özdeşlik, sekanslar içerisindeki özdeş amino asit tortuları veya nükleotitlerin sayılarının karşılaştırılmasıyla belirlenir (yani % özdeşlik = özdeş pozisyon sayısı/toplam pozisyon sayısı x 100).

İki sekans arasındaki özdeşlik yüzdesinin belirlenmesi işlemi, bu konuda uzman kişilerce bilinen matematiksel bir algoritma kullanılarak gerçekleştirilebilir. İki sekansın karşılaştırılması için bir matematiksel algoritma örneği, Karlin ve Altschul (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. ABD 87: 2264- 2268'deki, Karlin ve Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. ABD 90: 5873- 5877'de olduğu gibi modifiye edilmiş olan algoritmadır. BLAST nükleotit araştırmaları, NBLAST programı,

skor = 100, sözcük uzunluğu = 12 ile yapılarak buluşa ait nükleik asit moleküllerine homolog nükleotit sekansları elde edilebilir. BLAST protein araştırmaları, XBLAST programı (skor = 50, sözcük uzunluğu = 3) ile yapılarak buluşa ait protein moleküllerine homolog amino asit sekansları elde edilebilir. Karşılaştırma amacıyla boşluklu hizalamalar elde etmek için Gapped BLAST, Altschul ve arkadaşları (1997), Nucleic Acids Res. 25:3389-3402'de tarif edildiği gibi kullanılabilir. Alternatif olarak moleküller arasındaki uzak ilişkileri saptayan tekrarlı bir araştırma yapmak için PSI-Blast kullanılabilir (Id.) BLAST, Gapped BLAST ve PSI-Blast programları kullanıldığı durumda ilgili programların (örn., XBLAST ve NBLAST) varsayılan parametreleri kullanılabilir. Bakınız http://www.ncbi.nlm.nih.gov. Sekansların karşılaştırılmasında kullanılan bir matematik algoritmanın bir başka örneği, Myers ve Miller, CABIOS (1989) algoritmasıdır. GCG sekans hizalama yazılım paketinin bir parçası olan ALIGN programı (versiyon 2.0), böyle bir algoritma içermektedir. Bu konuda bilinen sekans analizi için diğer algoritmalar arasında Torellis ve Robotti (1994) Comput. Appl. Biosci., 10:3-5'te tarif edilen ADVANCE ve ADAM ve Pearson ve Lipman (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. 85:2444-8'de tarif edilen FASTA yer alır. FASTA içinde ktup, araştırmanın hassasiyetini ve hızını ayarlayan bir kontrol opsiyonudur.

Bir "terapötik açıdan etkin miktar", gereken dozajlarda ve zaman periyotlarında arzu edilen terapötik etkiye, ki bu, anti-NGF antikorları bağlamında, hedeflenen patolojik durumun, örneğin enflamasyon veya ağrının tedavisini veya profilaktik engellenmesini kapsar, ulaşmak için etkili bir miktara karşılık gelir. Dozaj değerlerinin, iyileştirilecek durumun şiddetine göre değişiklik gösterebileceği kaydedilecektir.

Ayrıca özel bir süje için spesifik dozaj rejimlerinin zaman içinde kişinin ihtiyaçlarına ve kompozisyonları uygulayan veya uygulanmasını denetleyen kişinin mesleki yargılarına göre ayarlanması gerektiği ve burada belirtilen dozaj aralıklarının sadece örnek olduğu ve istemde bulunulan kompozisyonun kapsamını veya uygulamasını kısıtlama amaçlı olmadığı da anlaşılacaktır. Benzer şekilde antikorun veya antikor parçasının terapötik açıdan etkin bir miktarı, kişinin hastalık durumu, yaşı, cinsiyeti ve kilosu, antikorun veya antikor parçasının kişide arzu edilen bir tepki ortaya çıkarma yetisi ve antikor formülasyonunun arzu edilen uygulanma yolu gibi faktörlere göre değişkenlik gösterebilir. Terapötik açıdan etkin bir miktar aynı zamanda antikor veya antikor parçasının her toksik veya zararlı etkisinin, terapötik açıdan faydalı etkilerle bertaraf edildiği bir miktardır.

Burada kullanıldığı gibi "tedavi" terimi, hem terapötik tedaviye hem de profilaktik veya engelleyici tedbirlere karşılık gelir; burada amaç, hedeflenen patolojik durumu, örneğin ağrıyı engellemek veya yavaşlatmaktır (azaltmak). Bu tedaviye ihtiyaç duyanlar, hali hazırda duruma sahip olanların yanı sıra duruma sahip olmaya yatkın olanlar veya durumun engellenmesi gerekenlerdir. Burada kullanıldığı gibi "tedavi", örneğin ve bunlarla sınırlı olmamak üzere, aşağıdakilerden biri veya daha fazlası gibi faydalı veya arzu edilen klinik sonuçları elde etmeye yönelik bir yaklaşımdır: şiddetin azaltılması, ağrının her yönü dahil olmak üzere ağrı ile bağlantılı bir veya daha fazla semptomun iyileştirilmesi (örn., ağrı süresinin kısaltılması, ağrıya duyarlılığının veya ağrı hissiyatının azaltılması) dahil.

İlaç, bileşik veya farmasötik kompozisyonun bir "etkin miktarı",

hedeflenen patolojik durumun, örneğin ağrı hissiyatının iyileştirilmesi veya azaltılması gibi klinik sonuçlar dahil olmak üzere faydalı veya arzu edilen sonuçlara ulaşmak için yeterli bir miktardır. Etkin bir miktar, bir veya daha fazla uygulama halinde uygulanabilir. Bu buluşun amaçları çerçevesinde ilaç, bileşik veya farmasötik kompozisyonun etkin bir miktarı, hedeflenen patolojik durumun, örneğin enflamasyon veya ağrının tedavi edilmesi, hafifletilmesi, yoğunluğunun azaltılması için yeterli bir miktardır. Bazı düzeneklerde "etkin miktar", dinlenme (yatma ağrısı) veya mekanik olarak indüklenen ağrıyı (hareket sonrası ağrı dahil) veya her ikisini de azaltabilir ve bu, ağrılı uyarandan önce, bu sırada veya sonra uygulanabilir. Klinik metinden anlaşılacağı üzere bir ilaç, bileşik veya farmasötik kompozisyonun etkin bir miktarına, başka bir ilaç, bileşik veya farmasötik kompozisyon ile birlikte ulaşılabilir yada ulaşılamaz. Bu nedenle bir "etkin miktar", bir veya daha fazla terapötik ajanın uygulanması anlamında göz önünde bulundurulabilir ve bir veya daha fazla başka ajan ile birlikte arzu edilebilir sonuca ulaşılabilir veya ulaşılırsa tek bir ajanın etkin bir miktarda verildiği düşünülür.

Burada kullanıldığı gibi "ağrı", akut ve kronik ağrı dahil olmak üzere herhangi bir etyolojide ağrıya ve enflamatuar bileşenli herhangi bir ağrıya karşılık gelir. Burada kullanıldığı gibi "ağrı", ağrı nosisepsiyonunu ve hissiyatını kapsar ve ağrı, ağrı skorları ve bu konuda iyi bilinen diğer yöntemler kullanılarak objektif ve sübjektif şekilde değerlendirilebilir. Ağrı, bu konuda iyi bilindiği üzere primer veya sekonder ağrı olabilir.

Burada kullanıldığı gibi tedavi amaçları için "süje" terimi, herhangi

bir süjeyi kapsar ve tercihen hedeflenen patolojik durumun, örneğin enflamasyon veya ağrının tedavi edilmesi gereken bir süjedir. Engelleme amaçları için süje, herhangi bir süjedir ve tercihen hedeflenen patolojik durumu, örneğin enflamasyon veya ağrı geliştirme riski taşıyan veya buna yatkın bir süjedir. "Süje" terimim, canlı organizmaları, örn., prokaryotları ve ökaryotları kapsaması amaçlanır. Süjelerin örnekleri arasında memeliler örn., insanlar, köpekler, inekler, atlar, domuzlar, koyunlar, keçiler, kediler, fareler, tavşanlar, sıçanlar ve transgenik insan dışı hayvanlar yer alır. Buluşun spesifik düzeneklerinde süje, bir insandır.

Mevcut buluşa ait elementlere veya bunların tercih edilen düzenek(ler)ine girildiğinde "bir", "bu" ve "adı geçen" artikellerinin, bir veya daha fazla elementin var olduğu anlamına gelmesi amaçlanır. "İçeren", "içerme", "içerir", "dahil" ve "sahip" terimlerinin, kapsayıcı olması ve sıralanan elementlerden başka ilave elementler olabileceği anlamına gelmesi amaçlanır.

Burada kullanıldığı gibi, burada dönüşümlü olarak kullanılan "polinükleotit" veya "nükleik asit" terimi, nükleotitlerin ribonükleotitler yada deoksinükleotitler gibi polimerik bir formu veya herhangi bir tip nükleotidin modifiye edilmiş bir formu anlamına gelir ve tek ve çift iplikçikli formlar olabilir. Bir "polinükleotit" veya bir "nükleik asit " sekansı, aksi belirtilmediği sürece kendi komplementini de kapsar. Burada kullanıldığı gibi "izole edilmiş polinükleotit" veya "izole edilmiş nükleik asit" terimi, genomik, cDNA'lı veya sentetik menşeli veya bunların bir kombinasyonundan bir polinükleotit anlamına gelir; menşei veya türevlendirilme kaynağından dolayı izole

edilmiş polinükleotit, şunlardan biri ila üçüne sahiptir: (1) "izole edilmiş polinükleotit"in doğada birlikte bulunduğu bir polinükleotidi tamamı veya bir bölümü ile bağlantılı olmama, (2) doğada bağlantılı olmadığı bir polinükleotide işlevsel şekilde bağlanma veya (3) daha büyük bir sekansın bir parçası olarak doğada meydana gelmeme.

Burada kullanıldığı gibi "kıskaçlama ajanı", bir metal iyonuna en az bir bağ (örn., kovalent, iyonik veya başka türlü) oluşturabilen bir eksipiyandır. Bir kıskaçlama ajanı tipik olarak sıvı kompozisyonlar içerisinde, aksi takdirde instabilite promote edebilecek türler ile kompleks oluşturacak bir stabilizer olarak kullanılabilen çok dişli bir liganddır.

Burada kullanıldığı gibi "tampon" terimi, bir sıvı antikor formülasyonunun, tipik olarak kendi asit-baz konjugat bileşenlerinin etkisiyle pH'deki değişikliklere direnmesini sağlayan katkılı bir kompozisyona karşılık gelir. Bir tamponun bir konsantrasyonuna gönderme yapıldığı durumda alıntı yapılan konsantrasyonun, tamponun serbest asit veya serbest baz formunun molar konsantrasyonunu temsil etmesi amaçlanır.

Burada kullanıldığı gibi 'tonisite ajanı" veya "tonikleyici" terimleri, bir sıvı antikor formülasyonunun ozmotik basıncını ayarlayabilen bir eksipiyana karşılık gelir. Bazı düzeneklerde tonisite ajanı, bir sıvı antikor formülasyonunun ozmotik basıncını izotoniğe ayarlayabilir ve böylelikle antikor formülasyonu, süjenin vücut dokusundaki hücreler ile fizyolojik açıdan uyumlu olur. Yine başka düzeneklerde "tonisite ajanı", burada tarif edilen antikorlarda stabilitenin gelişmesine katkıda

bulunabilir. Bir "izotonik" formülasyon, insan kanı ile esasen aynı ozmotik basınca sahip olandır. İzotonik formülasyonların ozmotik basıncı genellikle yaklaşık 250 ila 350 mOsm arasındadır. "Hipotonik" terimi, ozmotik basıncı, insan kanınınkinden düşük olan bir formülasyonu açıklar. Buna karşılık "hipertonik" terimi, ozmotik basıncı insan kanınınkinden yüksek olan bir formülasyonu açıklamak için kullanılır. İzotonisite,, örneğin bir buhar basıncı veya buzla dondurma tipi ozmometre kullanılarak ölçülebilir. Tonisite ajanı, enantiyomerik (örn., L veya D-enantiyomeri) veya rasemik formda; alfa veya beta, örneğin alfa, alfa; veya beta, beta; veya alfa, beta; veya beta, alfa gibi izomerler; bir serbest asit veya serbest baz formunda; hidratlı bir formda (örn., monohidrat) veya susuz bir formda olabilir.

Burada kullanıldığı gibi "poliol" terimi, birçok hidroksil grubu olan bir eksipiyana karşılık gelir ve bunlar arasında şekerler (indirgeyici ve indirgeyici olmayan şekerler), şekerli alkoller ve şeker asitleri yer alır.

Burada kullanıldığı gibi "surfektan" terimi, bir sıvı antikor formülasyonunun yüzey gerilimini değiştirebilen bir eksipiyana karşılık gelir. Bazı düzeneklerde surfektan, bir sıvı antikor formülasyonunun yüzey gerilimini azaltır. Yine başka düzeneklerde "surfektan", formülasyon içindeki antikorda stabilitenin gelişmesine katkıda bulunabilir. Surfektan, formüle edilmiş antikorda agregasyonu azaltabilir ve/veya formülasyon içinde partikülat oluşumunu minimuma indirebilir ve/veya adsorpsiyonu azaltır. Surfektan ayrıca antikor stabilitesini bir dondurma/eritme döngüsü sırasında ve sonrasında da geliştirebilir.

Burada kullanıldığı gibi "sakarid" terimi, polihidrik alkollerin türevleri

olan bir molekül sınıfına karşılık gelir. Sakaridler genellikle karbohidratlar olarak anılır ve bunlar, farklı miktarlarda şeker (sakarid) üniteleri, örn., monosakaridler, disakaridler ve polisakaridler içerebilir.

Burada kullanıldığı gibi "indirgeyici şeker" terimi, proteinler içinde metal iyonlarını indirgeyebilen veya lisin ve diğer amino grupları ile kovalent şekilde reaksiyona girebilen bir hemiasetal grubu içerir ve bir "indirgeyici olmayan şeker", indirgeyici şekerin bu özelliklerini taşımayan şekerdir.

Burada kullanıldığı gibi "farmasötik açıdan kabul gören taşıyıcı", bir aktif muhteviyat ile birleştirildiğinde muhteviyatın, biyolojik aktiviteyi muhafaza etmesini sağlayan ve süjenin immün sistemi ile reaktif olmayan herhangi bir materyali kapsar. Örnekler arasında, bunlarla sınırlı olmamak üzere, fosfat tamponlu tuz çözeltisi, su, emülsiyonlar, örn., yağ/su emülsiyonu ve çeşitli tiplerde nemlendirici ajanlar gibi standart farmasötik taşıyıcılardan biri yer alır. Aerosol veya parenteral uygulama için tercih edilen seyrelticiler, fosfat tamponlu tuz veya normal (%0.9) tuzdur. Bu tür taşıyıcıları içeren kompozisyonlar, iyi bilinen klasik yöntemlerle formüle edilir (bakınız örneğin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18inci baskı, A. Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990; ve Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20nci baskı Mack Publishing, 2000).

Burada kullanılan şekliyle "K_{kapama}" teriminin bir antikorun antikor/antijen kompleksinden ayrılması için off oran sabitine karşılık

gelmesi amaçlanır.

Burada kullanıldığı gibi "K_d" teriminin, bir antikor-antijen etkileşiminin ayrılma sabitine karşılık gelmesi amaçlanır. Kd'nin veya antikorların NGF'ye bağlanma afinitesinin belirlenmesine yönelik bir yol, antikorun monofonksiyonel Fab fragmanlarının bağlanma afinitesinin ölçülmesidir. Monofonksiyonel Fab fragmanları elde etmek için bir antikor (örneğin IgG), papain ile klivaj edilebilir veya rekombinant şekilde eksprese edilebilir. Bir antikorun bir anti-NGF Fab fragmanının afinitesi, yüzey plazmon rezonansı (BIAcore3000™ yüzey plazmon rezonans (SPR) sistemi, BIAcore, INC, Piscaway NJ) ile belirlenebilir. CM5 çipleri, satıcının talimatlarına göre N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)-karbodiimid hidroklorid (EDC) ve N-hidroksisukinimid (NHS) ile aktifleştirilebilir. İnsan NGF'si (veya başka herhangi bir NGF), 10 mM sodyum asetat, pH 4.0 içerisinde seyreltilebilir ve 0.005 mg/mL'lik bir konsantrasyonda aktifleştirilmiş çip üzerinden enjekte edilebilir. Ayrı ayrı çip kanallarından değişken akış süresi kullanılarak iki antijen yoğunluğu aralığına ulaşılabilir: detaylı kinetik çalışmalar için 100-200 tepki birimi (RU) ve tarama deneyleri için 500-600 RU. Saflaştırılmış Fab örneklerinin seri seyreltmeleri (0.1-10x tahmini K_D), 1 dakika süreyle dakikada 100 mikrolitre olacak şekilde enjekte edilir ve en fazla 2 saatlik ayrılma sürelerine izin verilir. Fab proteinlerinin konsantrasyonları, bir standart olarak bilinen konsantrasyonda (amino asit analizi ile belirlenen şekilde) bir Fab kullanılarak ELISA ve/veya SDS-PAGE elektroforezi ile belirlenir. Kinetik birleşme oranları ($k_{açma}$) ve ayrılma oranları (k_{kapama}), BIAevaluation programı kullanılarak verilerin 1:1'lik bir Langmuir bağlanma modeline oturtulması suretiyle aynı

anda elde edilir (Karlsson, R. Roos, H. Fagerstam, L.Petersson, B. (1994). Methods Enzymology 6. 99-110). Denge ayrılma sabiti (K_d) değerleri, $k_{kapama}/k_{açma}$ şeklinde hesaplanır. Bu protokol, insan NGF'si, başka bir omurgalının (bazı düzeneklerde memeli) NGF'si (örn., fare NGF'si, sıçan NGF'si, primat NGF'si) dahil olmak üzere herhangi bir NGF'ye bir antikorun bağlanma afinitesinin belirlenmesinde kullanılmak için ve aynı zamanda ilgili nötrofinler NT3, NT4/5 ve/veya BDNF gibi başka nötrofinler ile kullanılmak için uygundur.

Buluşta kullanım amaçlı anti-NGF antagonist antikorları, bu konuda bilinen yöntemler kullanılarak tanımlanabilir veya karakterize edilebilir, bu suretle bir NGF biyolojik aktivitesindeki azalma, iyileşme veya nötralize olma saptanır ve/veya ölçülür. PCT WO 04/065560'ta tarif edilen yöntemler kullanılabilir. Başka bir yöntem, örneğin ABD Patent No. 5,766,863 ve 5,891,650'de tarif edilen bir kinaz reseptörü aktifleştirme (KIRA) deneyi, anti-NGF ajanlarını tanımlamak için kullanılabilir.

Anti-NGF antagonist antikorları, bir aday ajanın, örneğin bir antikorun veya anti-NGF antikorunun, NGF ile inkübe edilmesi ve aşağıdaki karakteristiklerden biri veya daha fazlasının izlenmesi suretiyle de tanımlanabilir: (a) NGF'ye bağlanma ve NGF'nin biyolojik aktivitesini veya NGF sinyal fonksiyonunun aracılık ettiği aşağı akış yolaklarını inhibe etme; (b) NGF reseptörünün aktivitesini inhibe etme, bloke etme veya azaltma (TrkA dimerizasyonu ve/veya otofosforilasyon dahil); (c) NGF'nin temizlenmesini arttırma; (d) ağrıyı tedavi etme veya engelleme; (e) NGF sentezini, üretimini veya salımını inhibe etme (azaltma). Bir anti-NGF antagonist antikorunun,

NGF'nin biyolojik aktivitesini bloke etme veya nötralize etme kabiliyeti, aday ajanın, Hongo ve arkadaşları, Hybridoma 19:215-227 (2000)'de tarif edildiği gibi embriyonik sıçan dorsal kök gangliası canlılık biyodeneyinde NGF aracılığında canlılığı inhibe etme kabiliyetinin izlenmesi suretiyle de değerlendirilebilir.

Ağrı "vakasının azaltılması", şiddetin azaltılması (bu durumlar için genellikle kullanılan örneğin opiatlar gibi başka ilaç ve/veya terapilere (örn., maruz kalmaya) olan ihtiyacın ve/veya bunların miktarının azalmasını kapsar), sürenin ve/veya sıklığın azaltılması (örneğin bir kişide ameliyat sonrası ağrıya kadar geçen sürenin uzatılması veya bunun geciktirilmesini kapsar) anlamına gelir. Bu konuda uzman kişilerce anlaşıldığı üzere kişiler, tedaviye tepkileri bakımından değişkenlik gösterebilir ve böylelikle örneğin "bir kişide römatoid artrit ağrısı veya osteoartrit ağrısı vakasının azaltılmasına yönelik bir yöntem", an-NGF antagonisti antikorunun, bu uygulamanın, o özel kişideki vakada böyle bir azalmaya neden olabilmesiyle ilgili makul bir beklentiye dayanarak uygulanmasını yansıtır.

Bir ağrının veya bir ağrının (örn., römatoid artrit ağrısı veya osteoartrit ağrısı) bir veya daha fazla semptomunun "iyileştirilmesi", bir ağrının bir veya daha fazla semptomunun, bir anti-NGF antagonist antikoru uygulanmamasına kıyasla azaltılması veya geliştirilmesi anlamına gelir. "İyileştirme" ayrıca bir semptomun süresinin kısaltılması veya azaltılmasını da kapsar.

Bir ağrının veya bir ağrının (römatoid artrit ağrısı veya osteoartrit ağrısı gibi) bir veya daha fazla semptomunun "hafifletilmesi", buluşa

ait bir anti-NGF antagonist antikoru ile tedavi edilen bir kişide veya kişiler topluluğunda ameliyat sonrası ağrının bir veya daha fazla istenmeyen klinik dışavurumunun derecesinin azaltılması anlamına gelir.

Burada kullanıldığı gibi ağrı gelişiminin "geciktirilmesi", ağrının (ameliyat sonrası ağrı, römatoid artrit ağrısı veya osteoartrit ağrısı gibi) ilerleyişinin ertelenmesi, engellenmesi, yavaşlatılması, frenlenmesi, stabilize edilmesi ve/veya ötelenmesi anlamına gelir. Bu gecikme, hastalığın geçmişi ve/veya tedavi edilmekte olan kişilere bağlı olarak çeşitli süre uzunluklarında olabilir. Bu konuda uzman bir kişi için aşikar olacağı üzere yeterli veya anlamlı bir gecikme, gerçekte, kişi ağrı geliştirmeyecek şekilde engellemeyi kapsar. Semptomun gelişmesini "geciktiren" bir yöntem, yöntemin kullanılmaması ile kıyaslandığında, belirli bir zaman çerçevesi içerisinde semptomun gelişme ihtimalini azaltan ve/veya belirli bir zaman çerçevesi içerisinde semptomların derecesini azaltan bir yöntemdir. Bu gibi karşılaştırmalar tipik olarak istatistiksel açıdan anlamlı sayıda süje kullanılan klinik çalışmalara dayanır.

"Ağrı", gerçek veya potansiyel doku hasarı ile bağlantılı olan veya böyle bir hasar anlamında açıklanan hoş olmayan duyusal ve hissel bir deneyim anlamında alınır. Ağrı, farklı patofizyolojiden dolayı birçok farklı alana ayrılabilir; bunlar arasında nosiseptif, enflamatuar, nöropatik ağrı, vb. yer alır. Bazı ağrı tiplerinin birçok etyolojiye sahip olduğu ve bu yüzden de birden fazla alanda sınıflandırılabileceği kaydedilmelidir, örn., Sırt ağrısı, Kanser ağrısı, hem nosiseptif hem de nöropatik bileşenlere sahiptir.

Burada kullanıldığı gibi "kronik ağrı", kronik bir bozukluk ile bağlantılı ağrı, yani bu tür bir altta yatan bozukluk çözüldükten veya bir zedelenme düzeldikten sonra da devam eden ve sıklıkla altta yatan süreç veya bozukluğun yapacağı öngörülenden daha yoğun olan travma, malignanlık, hastalık, enfeksiyon veya ağrı anlamında alınır Kronik ağrı ayrıca örneğin nosiseptif ve/veya nöropatik ağrıyı ve/veya enflamatuar ağrıyı ve/veya kanser ağrısını kapsayan bir "karışık etyolojide ağrı" da olabilir. Sonuç olarak kronik ağrı sıklıkla analjeyize tepki olarak öngörülemez. "Dual mekanizmalı ağrı", hem periferal hem de merkezi duyarlılıkla amplifiye edilen ve korunan ağrı anlamında alınır.

"Enflamatuar ağrı", doku zedelenmesine ve sonuçta meydana gelen enflamatuar prosese tepki olan ağrı anlamında alınır. Enflamatuar ağrı, reaktif enflamatuar bir sürece giren ve ayrıca nöronal fonksiyonu da etkileyebilen zedelenmiş dokuda ortaya çıkabilir. Enflamatuar ağrı, biyokimyasal aracıların (PGE_2, bradikinin, sitokinler ve nöropeptitler) ağrıyı ileten nöronlar üzerindeki reseptörlere bağlanmasını ve bunların fonksiyonlarının değişmesini, uyarılabilirliklerinin artmasını ve böylece ağrı hissiyatının artmasını kapsayabilir. Enflamatuar ağrı terimine, kronik ve akut ağrı dahildir.

"Karışık etyolojide ağrı", enflamatuar ve/veya nöropatik ve/veya nosiseptif bileşenler içeren ağrı anlamında alınır. "Dual mekanizmalı ağrı", hem periferal hem de merkezi duyarlılıkla amplifiye edilen ve korunan ağrı anlamında alınır.

"Nöropatik ağrı", periferal veya merkezi sinir sistemindeki nöronların hasar görmesinin veya işlevsizleşmesinin meydana getirdiği ağrı anlamında alınır.

"Akut ağrı" ve "akur enflamatuar ağrı", zararlı bir kimyasal, termal veya mekanik uyarana veya doku hasarı tehdidinde bulunan veya bunu üreten ve akut enflamasyona ve akut enflamatuar ağrı tepkisine yol açan bir hastalık sürecine normal, öngörülebilir, uygun fizyolojik tepki anlamında alınır; bu tür akut ağrı sıklıkla bir nosiseptif ağrı bileşeni içerir. Genel olarak akut ağrının yoğunluğu, uyaranın yoğunluğu ile orantılıdır ve uyaran kaldığı sürece veya doku hasarı iyileşene kadar kalır. Akut enflamatuar ağrı genellikle zedelenme, envazif prosedürler, travma, enfeksiyon, immün reaksiyon, alerji, hiperduyarlılık ve hastalık ile bağlantılıdır.

"Nosiseptif ağrı", doku hasarı sinyali gönderen veya doku hasarı tehdidinde bulunan zararlı uyaranların neden olduğu, nosiseptörler tarafından iletilen ağrı anlamında alınır. Nosiseptif ağrı, ağrı sinyallerinin aferent nöronlar tarafından dorsal omurilik borusuna iletmesini, ikinci sıra nöronların sinyalleri daha yüksek merkezlere iletmesini kapsar.

Nosiseptif ağrı, hafiflemiş olan durumun ortadan kalkması üzerine normalde ortadan kalkar ki bu ayrıca akut ağrının da bir karakteristiğidir.

"Hiperaljezi", sıklıkla vücuttaki yumuşak dokularda nosiseptörlerin hasar görmesinin neden olduğu, ağrıya aşırı duyarlılıktır. Fokal formda tecrübe edilebilir, tipik olarak zedelenme ile bağlantılıdır ve iki alt tipe ayrılır: (1) Primer hiperaljezi, yani direkt olarak hasar görmüş dokularda meydana gelen ağrı hissiyatı; (2) hasar görmemiş çevre dokularda meydana gelen ağrı hissiyatı. Ayrıca daha difüze,

vücut çapında bir formda da tecrübe edilebilir. Hiperaljezi, bir akut veya kronik enflamatuar durumuyla indüklenebilir. Bu tür bir hiperaljezi gelişmesinin temeli, bu tür bir enflamatuar durumdan veya bir alerjik tepkiden kaynaklanan ve periferal sinir sistemi ile etkileşen ve ağrıya yol açan sitokinleri ve kemokinleri salan immün hücreleri yoluyla meydana gelen platelet agrege edici faktör (PAF) aktivitesidir. Enflamatuar durumlar, omurilikte uzun süreli güçlendirme adıyla bilinen bir amplifikasyon formu ile tutarlı bir paternde ağrı fiberlerinin uyarılmasını indükleyebilir; omurilikte bu tür bir amplifikasyon, hiperaljezi üreten bir yolak sağlar.

"Allodini", normalde ağrılı olmayan uyaranlardan kaynaklanan ağrıdır, başka durumda zararlı olmayan uyaranlara karşı egzajere olmuş bir tepkidir ve statik veya dinamik allodini olabilir, yani hareket olmadan spontan şekilde veya hareketle meydana gelebilir. Allodini ayrıca uyarılan dışındaki alanlarda da algılanabilir, bu yüzden disestetik de olabilir. Enflamatuar durumlarda özellikle eklem enflamasyonu yaygındır.

"Somatik ağrı", kütan veya derin dokularda ortaya çıkan ağrı anlamında alınır, kas-iskelet sokularında meydana geldiğinde "derin somatik ağrı " adıyla anılır. "Visseral ağrı", torasik, abdominal veya pelvik visserada infiltrasyon, kompresyon, uzama veya gerilmeden kaynaklanan, ağrı reseptörlerinin aktifleşmesinin neden olduğu ağrı anlamında alınır.

Burada kullanıldığı gibi "ağrı", akut ve kronik ağrı dahil olmak üzere herhangi bir etyolojide ağrıya ve enflamatuar bileşenli herhangi bir

ağrıya karşılık gelir. Ağrı örnekleri arasında ameliyat sonrası ağrı, operasyon sonrası ağrı (diş ağrısı dahil), migren, baş ağrısı ve trigeminal nevralji, yanık, yara veya böbrek taşı ile bağlantılı ağrı, travma (travmatik kafa hasarı dahil) ile bağlantılı ağrı, nöropatik ağrı, sırt ağrısı, örn., kronik alt sırt ağrısı, kas-iskelet bozuklukları, örn., römatoid artrit ile bağlantılı ağrı, osteoartrit, ankilozan spondilit, sero-negatif (römatoid olmayan) artropatiler, artiküler olmayan romatizma ve periartiküler bozukluklar ile bağlantılı ağrı ve kanser ("delip geçen ağrı" ve son aşamada kanser ile bağlantılı ağrı ve kemik metastazlarına bağlı ağrı dahil), periferal nöropati ve post-herpetik nevralji ile bağlantılı ağrı, interstisyel sistit ve/veya ağrılı mesane sendromu ve/veya mesane ağrısı sendromu ile bağlantılı ağrı, kronik prostatit ve/veya kronik pelvik ağrı sendromu ile bağlantılı ağrı, endometriyoz ve/veya rahim fibroidleri ile bağlantılı ağrı yer alır. Enflamatuar bileşenli ağrının örnekleri (yukarıda tarif edilenlerden bazılarına ek olarak) arasında römatik ağrı, mukozit ile bağlantılı ağrı ve dismenore yer alır.

"Ameliyat sonrası ağrı" ("ensizyon sonrası" veya "post-travmatik ağrı" ile dönüşümlü olarak kullanılabilir), bir kişinin dokusunda bir kesilme, delinme, ensizyon, yırtılma veya yaralanma (ister envazif ister envazif olmayan bütün cerrahi prosedürlerden kaynaklananlar dahil) gibi harici bir travmadan kaynaklanan veya ortaya çıkan ağrıya karşılık gelir. Burada kullanıldığı gibi "ameliyat sonrası ağrı", harici fiziksel bir travma olmaksızın meydana gelen (ortaya çıkan veya kendini gösteren) ağrıyı kapsamaz. Bazı düzeneklerde ameliyat sonrası ağrı, iç veya dış (periferal dahil) ağrıdır ve yaralanma, kesik, travma, yırtılma veya ensizyon kazayla (travmatik bir yaralanmada

olduğu gibi) veya kasıtlı olarak (cerrahi bir ensizyonla olduğu gibi) gerçekleşebilir. Burada kullanıldığı gibi "ağrı", nosisepsiyon ve ağrı hissiyatını kapsar ve ağrı, ağrı skorları ve bu konuda iyi bilinen diğer yöntemler kullanılarak objektif ve sübjektif bir şekilde değerlendirilebilir. Burada kullanıldığı gibi ameliyat sonrası ağrı, doğasında termal yada mekanik (taktil) olabilen alodini (yan, normalde zararlı olmayan bir uyarana karşı tepkinin artması) ve hiperaljeziyi (yani normalde zararlı veya hoş olmayan bir uyarana karşı olan tepkinin artması) kapsar. Bazı düzeneklerde ağrı, termal duyarlılık, mekanik duyarlılık ve/veya yatma ağrısı ile karakterize edilir. Bazı düzeneklerde ameliyat sonrası ağrı, mekanik olarak indüklenen ağrıyı veya yatma ağrısını kapsar. Başka düzeneklerde ameliyat sonrası ağrı, yatma ağrısını kapsar.

Ağrı, bu konuda iyi bilindiği üzere primer veya sekonder ağrı olabilir.

İnterstisyel sistit ve/veya ağrılı mesane sendromu ve/veya mesane ağrısı sendromu ile bağlantılı ağrı, alt abdominal (pelvik) ağrıyı; mesane ağrısını; suprapubik ağrıyı; vajinal ağrıyı; penis, testis, skrotum ve perineum ağrısını; üretra ağrısını; disparanöriyi; mesane doldukça artabilen ağrı, baskı veya rahatsızlığı kapsayabilir.

Kronik prostatit ve/veya kronik pelvik ağrı sendromu ile bağlantılı ağrı, alt abdominal (pelvik) ağrıyı; alt mide ağrısını; mesane ağrısını; suprapubik ağrıyı; penis, testis, skrotum ve perineum ağrısını; üretra ağrısını; disparanöriyi; mesane doldukça artabilen ağrı, baskı veya rahatsızlığı; disüriyi; ve boşalma ağrısını kapsayabilir.

Alt üriner sistem semptomları (LUTS), depolama (tahriş edici), boşaltma (obstrüktif) ve işeme sonrası semptomlar olarak tanımlanabilen üç üriner semptom grubunu kapsayabilir. Depolama semptomları, sıkışma, sıklık, noktüri, sıkışmalı inkontinans ve stres inkontinansı kapsar; bunlar, aşırı aktif mesane (OAB) ve iyi huylu prostatik hiperplazi (BPH) ile bağlantılı olabilir. Boşaltma semptomları, duraksama, zayıf akış, aralıklılık, ıkınma ve disüriyi kapsar. İşeme sonrası semptomlar, terminal damlama, boşaltma sonrası damlama ve boşaltmanın tam olmadığı hissini kapsar.

Endometriyoz ve/veya rahim fibroidleri ile bağlantılı ağrı ve/veya diğer semptomlar, ağrılı adet; kronik menstrual olmayan pelvik ağrı; disparöni; dişeksi; menoraji; alt abdominal veya sırt ağrısı; kısırlık ve alt kısırlık; disüri; işeme üzerine şişme ve ağrı; mide bulantısı, kusma ve/veya ishali kapsayabilir. Semptomlar ayrıca örneğin hemoptiz, pnömotoraks veya hemotoraks olarak kendini gösteren torasik endometriyoz sendromu ve dispnea ve bir pulmoner kütle şeklinde kendini gösteren pulmoner leiomiyoz dahil olmak üzere peritonel kavite dışında yer alan endometriyotik lezyonlar veya fibroidler ile ilgili semptomları da kapsayabilir.

Aşağıdaki örnekler, buluşu açıklamak için verilmiştir. WO2004/058184'teki örneklere, mevcut buluşta kullanım amaçlı antikorları açıklamak için gönderme yapılır.

ÖRNEKLER

Örnek 1 Antikor üretimi ve saflaştırma

Tam antikorların eksprese edilmesi için ağır ve hafif zincir değişken bölgeleri, iki adet memeli ekspresyon vektörü (hafif zincir için Eb.

911.3E veya Eb.pur.911.3E ve ağır zincir için Db.911.3E; burada tarif edilmiştir) içerisinde klonlandı ve lipofektamin kullanılarak geçici ekspresyon için HEK 293 hücrelerine transfekte edildi. Antikorlar, standart yöntemler kullanılarak protein A ile saflaştırıldı.

Anti-NGF E3 antikorunun jenerasyonu, üretimi, saflaştırılması ve karakterizasyonu, WO2004/0581'deki Örneklerde tarif edilir. E3 hafif zinciri e E3 ağır zinciri içeren vektörler, Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu, 10801 University Boulevard, Manassas, Virginia, ABD (ATCC)'ye bırakılmıştır:

Materyal	ATCC Erişim No.	Bırakma Tarihi
Eb.911.3E E3 hafif zinciri	PTA-4893	8 Ocak 2003
Eb.pur.911.3E E3 hafif zinciri	PTA-4894	8 Ocak 2003
Db.911.3E E3 ağır zinciri	PTA-4895	8 Ocak 2003

Bu bırakıtlar ile ilgili detaylar, WO2004058184'te bulunabilir.

3 Memeli ekspresyon vektörleri, memeli hücrelerinde E3 antikorunun eksprese edilmesinde kullanılmak üzere tasarlandı ve yapılandırıldı. Db.911.3E vektörü, E3 antikorunun ağır zincir değişken bölgesini ve insan IgG2a'sının sabit bölgesini kapsayan bir ekspresyon vektörüdür ve ağır zincirin geçici veya stabil ekspresyonu için uygundur. Db.911.3E, aşağıdaki bölgelere karşılık gelen nükleotit sekanslarından oluşur: murin sitomegalovirüs promoter bölgesi (nükleotitler 1-612); bir sentetik intron (nükleotitler 619-1507); DHFR kodlayıcı bölge

(nükleotitler 707-1267); insan büyüme hormonu sinyal peptidi (nükleotitler 1525-1602); 3E antikoru ağır zincir değişken bölgesi (nükleotitler 1603-1965); aşağıdaki mutasyonları içeren insan ağır zinciri IgG2a sabit bölgesi: A330P331 ila S330S331 (vahşi tip IgG2a sekansına gönderme yapılarak amino asit numaralandırması; bakınız Eur. J. Immunol. (1999) 29:2613-2624); SV40 geç poliadenilasyon sinyali (nükleotitler 2974-3217); SV40 güçlendirici bölge (nükleotitler 3218-3463); faj f1 bölgesi (nükleotitler 3551-4006) ve beta laktamaz (AmpR) kodlayıcı bölge (nükleotitler 4443-5300). Db.911.3E, 8 Ocak 2003 tarihinde ATCC'ye bırakıldı ve ATCC Erişim No. PTA-4895 tahsis edildi.

Eb.911.3E vektörü, E3 antikorunun hafif zincir değişken bölgesini ve insan kapa zinciri sabit bölgesini kapsayan bir ekspresyon vektörüdür ve hafif zincirin geçici ekspresyonu için uygundur. Eb.911.3E, aşağıdaki bölgelere karşılık gelen nükleotit sekanslarından oluşur: murin sitomegalovirüs promoter bölgesi (nükleotitler 1-612); insan EF-1 intronu (nükleotitler 619-1142); insan büyüme hormonu sinyal peptidi (nükleotitler 1173-1150); E3 antikoru hafif zincir değişken bölgesi (nükleotitler 1251-1571); insan kapa zinciri sabit bölgesi (nükleotitler 1572-1892); SV40 geç poliadenilasyon sinyali (nükleotitler 1910-2153); SV40 güçlendirici bölge (nükleotitler 2154-2399); faj f1 bölgesi (nükleotitler 2487-2942) ve beta laktamaz (AmpR) kodlayıcı bölge (nükleotitler 3379-4236). Eb.911.3E, 8 Ocak 2003 tarihinde ATCC'ye bırakıldı ve ATCC Erişim No. PTA-4893 tahsis edildi.

Eb.pur.911.3E vektörü, E3 antikorunun hafif zincir değişken bölgesini

ve insan kapa zinciri sabit bölgesini kapsayan bir ekspresyon vektörüdür ve hafif zincirin stabil ekspresyonu için uygundur. Eb.pur.911.3E, aşağıdaki bölgelere karşılık gelen nükleotit sekanslarından oluşur: murin sitomegalovirüs promoter bölgesi (nükleotitler 1-612); insan EF-1 intronu (nükleotitler 619-1758); pac geni (puromisinR) kodlayıcı bölge (nükleotitler 739-1235); insan hsp70 5'UTR bölgesi (nükleotitler 1771-1973); insan büyüme hormonu sinyal peptidi (nükleotitler 1985-2062); E3 antikoru hafif zincir değişken bölgesi (nükleotitler 2063-2383); insan kapa zinciri sabit bölgesi (nükleotitler 2384-2704); SV40 geç poliadenilasyon sinyali (nükleotitler 2722-2965); SV40 güçlendirici bölge (nükleotitler 2966-3211); faj f1 bölgesi (nükleotitler 3299-3654) ve beta laktamaz (AmpR) kodlayıcı bölge (nükleotitler 4191-5048). Eb.pur.911.E3, 8 Ocak 2003 tarihinde ATCC'ye bırakıldı ve ATCC Erişim No. PTA-4894 tahsis edildi.

Geçici hücre ekspresyonu, aşağıdaki şekilde yapıldı: 150 mm'lik tabaklarda CHO ve HEK293T hücreleri, her bir plazmidden (yani ağır zincir içeren bir plazmid ve hafif zincir içeren bir plazmid) 25 ug ile birlikte geçici olarak transfekte edildi. Üreticinin talimatlarına göre DNA, 100 ul lipofektamin 2000 (Invitrogen) ile karıştırıldı. DNA-lipit komplekslerinin, 5 saat süreyle serum veya antibiyotik içermeyen DMEM/F12 ortamında hücrelere temas etmesine izin verildi. Bu inkübasyonu takiben ortam, ekspresyon için iki gün süreyle herhangi bir katkı maddesi içermeyen Opti-MEM (Invitrogen) ile değiştirildi. Antikor içeren hücre süpernatanları, dört kereye kadar sırayla toplandı, ardından ortam değiştirildi. Süpernatanlar, MapSelect Protein A resini (Amersham biosciences 17-5199-02) kullanılarak

afinite kromatografisiyle saflaştırıldı. Antikor, 0.3M glisin, pH 8'de 0.6M NaCl tamponu içinde protein A reçinesine bağlandıktan sonra pH 3'te 0.1 M sitrat tamponu ile elüte edildi. Antikor içerikli fraksiyonlar hemen pH 8.0'da 1M Tris tamponu ile nötralize edildi. Antikor fraksiyonları daha sonra diyalize tabi tutuldu ve PBS içinde konsantre edildi. Antikorlar seçildi ve aşağıdaki gibi deneye tabi tutuldu:

Biacore Deneyi

Anti-NGF Fablerin ve monoklonal antikorların afiniteleri, BIAcore3000™ yüzey plazmon rezonans (SPR) sistemi (BIAcore, INC, Piscaway NJ) kullanılarak belirlendi. CM5 çipleri, satıcının talimatlarına göre N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)-karbodiimid hidroklorid (EDC) ve N-hidroksisukinimid (NHS) ile aktifleştirildi. İnsan NGF'si, 10 mM sodyum asetat, pH 4.0 içerisinde seyreltildi ve 0.005 mg/mL'lik bir konsantrasyonda aktifleştirilmiş çip üzerinden enjekte edildi. Ayrı ayrı çip kanallarından değişken akış süresi kullanılarak iki antijen yoğunluğu aralığına ulaşıldı: detaylı kinetik çalışmalar için 100-200 tepki birimi (RU) ve tarama deneyleri için 500-600. Çip, etanolamin ile bloke edildi. Rejenerasyon çalışmaları, Pierce elüsyon tamponu (Ürün No. 21004, Pierce Biotechnology, Rockford IL) ve 4 M NaCl'den oluşan bir karışımın (2:1), bağlı Fab'yi etkin şekilde çıkarırken çip üzerindeki hNGF'nin aktivitesini 200 enjeksiyonun üzerinde muhafaza ettiğini gösterdi. HBS-EP tamponu (0.01 M HEPES, pH 7.4, 0.15 NaCl, 3mM EDTA, %0.005 Surfektan P29), BIAcore deneylerinin tamamı için kaydırma tamponu olarak kullanıldı.

Tarama deneyi

Kütüphanelerden Fab klonlarının afinitesini belirlemek için tarayıcı bir BIAcore deneyi optimize edildi. Küçük kültür lisatlarının süpernatanları, 2 dakika süreyle dakikada 50 µl olacak şekilde enjekte edildi. BIAevaluation yazılımı kullanarak tek üslü bir ayrılma oranı (k_{kapama}) belirlemek için 10 ila 15 dakikalık ayrılma süreleri kullanıldı. Kütüphane yaratmak için kullanılan şablonla aynı aralıkta k_{kapama} oranları gösteren örnekler (klon 8L2-6D5, k_{kapama} $1x10^{-3}s^{-1}$), doğrulama için enjekte edildi ve daha iyi k_{kapama} değerleri elde etmek için 45 dakikaya kadar ayrılma sürelerine izin verildi. Gelişmiş (daha yavaş) k_{kapama} değerleri gösteren klonlar, büyük ölçekte eksprese edildi ve saflaştırılmış protein üzerinde tam kinetik parametreler, $k_{açma}$ ve k_{kapama} belirlendi. Deney, yaklaşık 2 kat veya üzeri afinite farklılıklarını saptayabildi.

Afinite belirleme deneyi

Saflaştırılmış Fab örneklerinin seri seyreltmeleri (0.1-10x tahmini K_D), 1 dakika süreyle dakikada 100 µL olacak şekilde enjekte edildi ve 2 saate kadar olan ayrılma sürelerine izin verildi. Fab proteinlerinin konsantrasyonları, bir standart olarak bilinen konsantrasyonda (amino asit analizi ile belirlenen şekilde) bir Fab kullanılarak ELISA ve/veya SDS-PAGE elektroforezi ile belirlendi. Kinetik birleşme oranları ($k_{açma}$) ve ayrılma oranları (k_{kapama}), BIAevaluation programı kullanılarak verilerin 1:1'lik bir Langmuir bağlanma modeline oturtulması suretiyle aynı anda elde edildi (Karlsson, R. Roos, H. Fagerstam, L.Petersson, B. (1994). Methods Enzymology 6. 99-110). Denge ayrılma sabiti (K_D) değerleri, $k_{kapama}/k_{açma}$ şeklinde hesaplandı.

ÖRNEK 2

Tamponların ve pH'nin Analizi

Dört farklı tamponun antikor agregasyonu ve parçalanması üzerindeki etkisini değerlendirmek için bir çalışma yapıldı.

Spesifik olarak asetat, sukinat, histidin veya Sitrat ile tamponlanmış anti-NGF antikoru E3 içeren dört sıvı formülasyon hazırlandı. Formülasyonlar daha sonra 5, 25 ve 40°C'de depolandı ve 0, 4, 9 ve 13üncü haftalarda antikor agregasyonu, parçalanması ve oksidasyonu için ölçümler alındı.

Uretim prosesi şu şekilde özetlenebilir: Tampon hazırlanır, pH ayarlanır ve steril filtre edilir (detaylar için bakınız Tablo 2.1 ve 2.2). Antikor konsantre edildikten sonra antikor değiştirilir. Antikor, UV ile analiz edilir ve sonra ilgili tampon ile 20 mg/mL'ye seyreltilir. Daha sonra 20 mg/mL'lik çözelti, steril filtre edilir. Son olarak steril çözelti doldurulur, stoperlenir ve bir üst kapak ile kapatılır.

Agregasyon Analizi:

Tablo 2.2'deki antikor formülasyonları, 5, 25 ve 40°C'lik bir sıcaklıkta 0, 4, 9 ve 13 hafta süreyle depolandı.

Her bir formülasyon, büyüklük dışlama kromatografisi (SEC) kullanılarak agregasyon analizine tabi tutuldu. Büyüklük dışlama kromatografisi, bir TSK jel G3000SWXL- G2000SWXL kolonu, mobil faz pH 7.0'da 0.2 M sodyum fosfat tamponu, 1ml/dakikalık bir akış hızı ve 214 nm'de UV saptaması kullanılarak yapıldı.

Agregasyon seviyeleri, her bir formülasyon için kromatogram piklerinin altındaki alanların entegre edilmesi ve moleküler ağırlığı yüksek tür pikleri altındaki entegre edilmiş alanların, toplam pik alanı yüzdesi şeklinde bildirilmesi suretiyle hesaplandı. Tablo 2.3'te görülebileceği gibi özellikle pH 6'da histidin tamponlu formülasyonlar, en düşük agregasyon sevilerini gösterdi; bunu, bu sırayla asetat, sukinat ve sonra sitrat tamponlu formülasyonlar izledi.

Parçalanma Analizi:

Tablo 2.2'deki antikor formülasyonları, 5, 25 ve 40°C'lik bir sıcaklıkta 0, 4, 9 ve 13 hafta süreyle depolandı.

Her bir formülasyon ayrıca indirgenmiş kılcal jel elektroforezi (rCGE) kullanılarak parçalanma analizine de tabi tutuldu. Red-CGE içindeki disülfid bağlarının klivaj olmasının ardından proteinlerin katı açıldı (denatüre oldu) ve 'çubuk benzeri' bir yapı haline geldi. 'İndirgenmiş' protein, ağır ve hafif zincirlerine ayrılarak bunların parçalanmış türler ile birlikte nicelenmesine izin verdi. İndirgenmiş-CGE, yüzde fragmanların (%impüriteler) nicelenmesinde güvenilir bir yöntem olarak kabul edilir. Parçalanma yüzdesi, her bir formülasyon için ilgili zamanlarda ölçüldü. Parçalanma seviyeleri, toplam bant hacminin bir yüzdesi olarak hesaplandı. Tablo 2.4'te görülebileceği üzere, özellikle pH 6'da histidin tamponlu formülasyonlar, en düşük parçalanma seviyelerini gösterdi.

Oksidasyon analizi:

Anti-NGF E3 antikoru içinde X ve Y pozisyonlarındaki metiyonin tortularının oksidasyon seviyeleri, 5, 25 ve 40°C'de 0, 4, 9 ve 13 hafta

süreyle depolandıktan sonra bir Lisin-C haritalama yöntemiyle ölçüldü. Test edilen her bir formülasyon örneği daha sonra standart koşullar altında pH 8.0'da tris tamponu içinde Lyc-C enzimi ile dijest edildi ve ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisiyle analiz edildi. %0.1 su içinde TFA ve %0.085 Asetonitril içinde TFA gradyanlı elüsyonu ile bir Grace Vydae Protein C4 analitik kolonu kullanılarak ayırma yapıldı. Anti-NGF E3 antikoru içindeki metiyonin amino asitlerinin yüzde oksidasyonu kaydedildi.

Tablo 2.5'teki sonuçlar, sitrat formülasyonunun yüzde oksidasyonunun en büyük olduğunu işaret eder.

Tablo 2.1. Tampon Preparasyonu Tablosu: 250 mL tamponun birleştirilmesi için üretim kayıtlarından kaydedilmiş tampon bileşenleri miktarlarının özeti.

Formülasyon Parti numarası	Ph	Asetat (mg/mL)	Asetik Asit (mg/mL)	Histidin (mg/mL)	Histidin HCl (mg/mL)	Sitrat (mg/mL)	Sitrik Asit (mg/mL)	Sukinat (mg/mL)	Sukinik Asit (mg/mL)
Asetat pH 5.0	5.0	435.58	104.14	-	-	-	-	-	-
Asetat pH 5.5	5.5	577.75	34.59	-	-	-	-	-	-
Asetat pH 6.0	6.0	644.28	15.07	-	-	-	-	-	-
Asetat pH 6.5	6.5	668,51	10.32	-	-	-	-	-	-
Histidin pH 5.0	5.0	-	-	70.45	839.27	-	-	-	-
Histidin pH 5.5	5.5	-	-	186.9	751.9	-	-	-	-
Histidin pH 6.0	6.0	-	-	387.5	454.1	-	-	-	-
Histidin pH 6.5	6.5	-	-	588.75	220.87	-	-	-	-
Sitrat pH 5.0	5.0	-	-	-	-	233.63	107.18	-	-

Sitrat pH 5.5	5.5	-	-	-	-	279.09	79.01	-	-
Sitrat pH 6.0	6.0	-	-	-	-	321.25	42.51	-	-
Sitrat pH 6.5	6.5	-	-	-	-	348.77	20.52	-	-
Sukinat pH 5.0	5.0	-	-	-	-	-	-	585.18	176.86
Sukinat pH 5.5	5.5	-	-	-	-	-	-	679.4	80.83
Sukinat pH 6.0	6.0	-	-	-	-	-	-	756.23	34.73
Sukinat pH 6.5	6.5	-	-	-	-	-	-	791.83	11.60

Tablo 2.2. Formülasyon Matrisi Tablosu:

Formülasyon parti Numarası	pH	mAb Kons. (mg/mL)	Asetat (mg/mL)	Asetik Asit (mg/mL)	Histidin (mg/mL)	Histidin HCl (mg/mL)	Sitrat (mg/mL)	Sitrik Asit (mg/mL)	Sukinat (mg/mL)	Sukinik Asit (mg/mL)
Asetat pH 5.0	5.0	20	1.7423	0.4323	-	-	-	-	-	-
Asetat pH 5.5	5.5	20	2.3110	0.1813	-	-	-	-	-	-
Asetat pH 6.0	6.0	20	2.5771	0.0639	-	-	-	-	-	-
Asetat pH 6.5	6.5	20	2.6744	0.0210	-	-	-	-	-	-
Histidin pH 5.0	5.0	20	-	-	0.2818	3.8182	-	-	-	-
Histidin pH 5.5	5.5	20	-	-	0.7448	3.1909	-	-	-	-
Histidin pH 6.0	6.0	20	-	-	1.5500	2.1000	-	-	-	-
Histidin pH 6.5	6.5	20	-	-	2.3552	1.0091	-	-	-	-
Sitrat pH 5.0	5.0	5	-	-	-	-	0.9345	0.3821	-	-
Sitrat pH 5.5	5.5	5	-	-	-	-	1.1164	0.2530	-	-
Sitrat pH 6.0	6.0	5	-	-	-	-	1.2850	0.1325	-	-
Sitrat pH 6.5	6.5	5	-	-	-	-	1.3951	0.0538	-	-
Sukinat pH 5.0	5.0	20	-	-	-	-	-	-	2.3407	0.6561
Sukinat pH 5.5	5.5	20	-	-	-	-	-	-	2.7183	0.3809
Sukinat pH 6.0	6.0	20	-	-	-	-	-	-	3.0249	0.1575
Sukinat pH 6.5	6.5	20	-	-	-	-	-	-	3.1673	0.0537

Tablo 2.3. 20 mg/mL anti-NGF antikorundan %Agregasyon (SEC yoluyla) Verilerinin Özeti: pH ve Tampon tarama Çalışması

Koşu	5°C		25 °C			40°C			
Hafta	0	13	0	9	13	0	4	9	13
Parti No.									
Asetat pH 5.0	1.6	1.8	1.6	2.2	2.5	1.6	3.2	5.1	8.1
Asetat pH 5.5	1.8	2.1	1.8	2.7	3.0	1.8	3.4	4.9	7.1
Asetat pH 6.0	2.0	2.4	2.0	3.2	3.3	2.0	4.3	5.5	7.0
Asetat pH 6.5	2.0	2.5	2.0	3.5	3.9	2.0	4.4	5.8	7.0
Histidin pH 5.0	1.6	1.8	1.6	2.0	2.3	1.6	2.7	3.9	7.0
Histidin pH 5.5	1.6	1.8	1.6	2.2	2.4	1.6	2.7	3.4	5.1
Histidin pH 6.0	1.8	2.1	1.8	2.5	2.7	1.8	3.0	3.5	4.8
Histidin pH 6.5	1.9	2.2	1.9	2.8	3.1	1.9	3.4	4.2	5.6
Sitrat pH 5.0	1.6	1.9	1.6	2.4	2.8	1.6	4.6	8.5	15.0
Sitrat pH 5.5	1.8	2.2	1.8	3.0	3.3	1.8	4.9	8.7	12.2
Sitrat pH 6.0	2.0	2.5	2.0	3.3	3.7	2.0	4.4	6.5	8.4
Sitrat pH 6.5	2.1	2.8	2.1	3.7	4.2	2.1	4.8	6.5	8.4
Sukinat pH 5.0	1.6	1.9	1.6	2.3	2.7	1.6	3.5	6.1	11.2
Sukinat pH 5.5	2.0	2.2	2.0	2.8	3.2	2.0	3.9	5.7	8.4
Sukinat pH 6.0	1.8	2.5	1.8	3.1	3.6	1.8	4.3	5.8	7.8
Sukinat pH 6.5	2.2	2.8	2.2	3.7	4.1	2.2	4.8	5.9	7.5

Tablo 2.4. 20 mg/mL anti-NGF antikorundan %Parçalanma (CGE yoluyla) Verilerinin Özeti: pH ve Tampon tarama Çalışması

Koşul	5 C		25 C			40 C			
Hafta	0	13	0	9	13	0	4	9	13
Parti No.									
Asetat pH 5.0	1.1	1.1	1.1	1.4	1.0	1.1	4.2	7.0	10.3
Asetat pH 5.5	1.1	1.0	1.1	1.0	1.7	1.1	4.4	5.2	9.4
Asetat pH 6.0	1.1	1.1	1.1	1.4	1.3	1.1	3.6	5.9	7.2
Asetat pH 6.5	1.1	1.2	1.1	1.0	2.2	1.1	4.1	6.4	8.1
Histidin pH 5.0	1.1	1.0	1.1	1.0	1.8	1.1	5.8	7.5	11.2
Histidin pH 5.5	1.1	1.1	1.1	0.9	1.5	1.1	4.3	6.4	7.9
Histidin pH 6.0	1.1	1.0	1.1	1.6	1.5	1.1	3.1	3.8	6.1
Histidin pH 6.5	1.0	1.2	1.0	1.6	2.2	1.0	3.7	6.1	9.7
Sitrat pH 5.0	1.0	1.0	1.0	1.0	2.1	1.0	5.4	9.1	14.5
Sitrat pH 5.5	1.0	1.1	1.0	1.1	1.4	1.0	4.6	7.6	11.5
Sitrat pH 6.0	1.1	1.6	1.1	2.0	1.6	1.1	3.7	6.9	10.6
Sitrat pH 6.5	1.5	1.0	1.5	1.3	9.1	1.5	3.4	8.2	10.9
Sukinat pH 5.0	1.2	1.0	1.2	2.1	7.9	1.2	5.4	8.8	13.1
Sukinat pH 5.5	1.2	1.5	1.2	0.9	0.9	1.2	3.1	5.8	9.0
Sukinat pH 6.0	1.2	1.0	1.2	1.3	6.8	1.2	3	5.0	8.0
Sukinat pH 6.5	1.2	1.1	1.2	1.5	11.8	1.2	3.5	7.2	8.0

Tablo 2.5. 20 mg/mL anti-NGF antikorundan %Oksidasyon Verilerinin Özeti: pH ve Tampon tarama Çalışması

Koşul	5 C			25 C			40 C			
Hafta	0	9	13	0	9	13	0	4	9	13
Parti no.										
Asetat pH 5.0	2.8	2.1		2.8	2.3		2.8		3.3	4.1
Asetat pH 5.5	2.8	2.1		2.8	2.3		2.8		3.3	4.1
Asetat pH 6.0	2.3	2.0		2.3	2.2		2.3		3.1	3.4
Asetat pH 6.5	2.3	2.1		2.3	2.5		2.3		3.5	4.1
Histidin pH 5.0	2.2	2.0		2.2	2.5		2.2		4.1	6.4
Histidin pH 5.5	2.6	1.8		2.6	2.3		2.6		3.9	5.7
Histidin pH 6.0	2.0	1.9		2.0	2.3		2.0		3.9	6.1
Histidin pH 6.5	2.4	2.1		2.4	2.5		2.4		4.7	7.1
Sitrat pH 5.0	2.1	2.1		2.1	2.8		2.1		7.2	9.7
Sitrat pH 5.5	2.8	2.1		2.8	2.9		2.8		8.0	10.1
Sitrat pH 6.0	2.4	1.8		2.4	2.7		2.4		6.6	7.9
Sitrat pH 6.5	2.4	1.8		2.4	2.6		2.4		6.3	8.1
Sukinat pH 5.0	3.9	1.8		3.9	2.2		3.9		4.0	5.5
Sukinat pH 5.5	2.7	1.9		2.7	2.3		2.7		4.1	4.6
Sukinat pH 6.0	2.1	2.1		2.1	2.1		2.1		3.8	3.4
Sukinat pH 6.5	2.7	2.1		2.7	2.1		2.7		3.5	3.1

ÖRNEK 3

Tonisite ajanları Trehaloz ve Sukroza karşılık Sorbitolün Analizi

Tonisite ajanlarının, özellikle trehaloz, sukroz ve sorbitolün anti-NGF E3 antikoru formülasyonlarının stabilitesi üzerindeki etkisini karşılaştırmak için bir çalışma yapıldı. Spesifik olarak anti-NGF E3 antikoru ve trehaloz, sukroz veya sorbitol içeren üç sıvı formülasyon, Tablo 3.1'de sıralanan şekilde hazırlandı. Formülasyonlar daha sonra 5, 25 ve 40°C'de depolandı ve 2, 4, 8, 13 ve 26 haftalarda antikor

agregasyonu, parçalanması ve oksidasyonu için ölçümler alındı.

Tablo 3.1'deki formülasyonlar için üretim prosesi şu şekilde özetlenebilir: Tampon hazırlanır, pH ayarlanır ve steril filtre edilir (detaylar için bakınız Tablo 3.1). Stok eksipiyan çözeltileri hazırlanır ve steril filtre edilir. Antikor konsantre edildikten sonra antikor değiştirilir. Konsantre edilmiş antikor, UV ile analiz edilir ve sonra ilgili tampon ile 50 mg/ml'ye seyreltilir ve ilgili eksipiyanlar, gerekli konsantrasyona kadar birleştirilir. Daha sonra 50 mg/mL'lik çözelti, steril filtre edilir. Son olarak steril çözelti doldurulur, stoperlenir ve bir üzeri kapatılır. Bütün formülasyonların pH'si 6.0'dır ve bir anti-NGF E3 antikorunun konsantrasyonu, 50 mg/ml'dir.

Agregasyon Analizi:

Tablo 3.1'deki antikor formülasyonları, 5, 25 ve 40°C'lik bir sıcaklıkta 2, 4, 8, 13 ve 26 hafta süreyle depolandı.

Her bir formülasyon, Örnek 2'de tarif edilen yöntem kullanılarak agregasyon analizine tabi tutuldu. Agregasyon seviyeleri hesaplandı ve Şekil 1'de gösterildi.

Parçalanma Analizi:

Tablo 3.1'deki antikor formülasyonları, 5, 25 ve 40°C'lik bir sıcaklıkta 2, 4, 8, 13 ve 26 hafta süreyle depolandı.

Her bir formülasyon ayrıca Örnek 2'deki metodoloji kullanılarak parçalanma analizine de tabi tutuldu. Şekil 2'de görülebileceği üzere trehaloz formülasyonu, 13 haftalık depolanmada en düşük parçalanma seviyelerini gösterdi.

Tablo 3.1 Formülasyon Matrisi

Formülasyonun Parti Numarası	pH	mAb Kons. (mg/mL)	Histidin (mM)	Trehaloz (mg/mL)	Sukroz (mg/mL)	Sorbitol (mg/mL)
114069-001-A#	6.0	50	10	84	-	-
114069-001-B#	6.0	50	10	-	80	-
114069-001-C#	6.0	50	10	-	-	40

ÖRNEK 4 Tonisite Ajanı Tarama Çalışması: Trehaloza karşılık Sukroz

Tonisite ajanlarının, özellikle trehaloz ve sukrozun anti-NGF E3 antikoru formülasyonlarının stabilitesi ve aktivitesi üzerindeki etkisini karşılaştırmak için bir çalışma yapıldı. Sukrozun bir seyrek asit çözeltisi içinde fruktoza ve glukoza hidrolizi iyi bilinir. Glukoz moleküllerinin, bir proteinin amino asit sekansındaki lisin tortularına rasgele bağlandığı da bilinir. Bu, glikasyon olarak bilinir. Böylelikle bir asidik pH'ye kadar tamponlanmış, sukroz içeren bir protein formülasyonu, sukroz hidrolizi ve sonra glikasyon yaşayabilir. Glike edilmiş protein, degradasyon proseslerine glike edilmemiş bir proteinden daha kolay girebilir. Buna göre bir sıvı protein formülasyonu içinde sukroz varlığı, proteinin raf ömrü boyunca kalitesi üzerinde ters bir etki gösterebilir. Buna karşılık trehalozun bu tür bir hidroliz bazlı degradasyona girdiği bilinmez ve bu, protein formülasyonlarında tercih edilen bir tonisite modifiye edici ajan olabilir.

Spesifik olarak sukroz ile anti-NGF E3 antikoru içeren altı sıvı formülasyon ve anti-NGF E3 antikoru ve trehaloz içeren iki sıvı formülasyon hazırlandı, bakınız Tablo 4.1. Formülasyonlar daha sonra 5, 25 ve 40°C'de depolandı ve 2, 4, 8, 13 ve 26ncı haftalarda antikor

agregasyonu ve glikasyon ölçümleri alındı.

Tablo 4.1'deki formülasyonlar için üretim prosesi şu şekilde özetlenebilir: Tampon hazırlanır, pH ayarlanır ve steril filtre edilir (detaylar için bakınız Tablo 4.1). Stok eksipiyan çözeltileri hazırlanır ve steril filtre edilir. Antikor konsantre edildikten sonra antikor değiştirilir. Konsantre edilmiş antikor, UV ile analiz edilir ve sonra ilgili tampon ile 10 mg/mL'ye veya 50 mg/ml'ye seyreltilir ve ilgili eksipiyanlar, gerekli konsantrasyona kadar birleştirilir. Daha sonra 10 mg/mL veya 50 mg/ml'lik çözelti, steril filtre edilir. Son olarak steril çözelti doldurulur, stoperlenir ve bir üzeri kapatılır.

Agregasyon Analizi:

Tablo 4.1'deki antikor formülasyonları, 5, 25, 40 ve 50°C'lik bir sıcaklıkta 2, 4, 8, 13 ve 25 hafta süreyle depolandı.

Her bir formülasyon, Örnek 2'de tarif edildiği gibi büyüklük dışlama kromatografisi (SEC) kullanılarak agregasyon analizine tabi tutuldu. Hesaplanan agregasyon seviyeleri, Tablo 4.2'de karşılaştırılır ve trehalozun, araştırılan aynı antikor konsantrasyonları için sukroza kıyasla hiç değilse daha düşük agregasyon seviyeleri gösterdiğini gösterir.

Glikasyon Analizi:

Anti-NGF E3 antikoru içindeki lisin tortularının glikasyon seviyeleri, formülasyonların, 25,40 ve 50°C'de 0, 2, 4, 8 ve 13 hafta süreyle depolanmasından sonra Tablo 4.1'e göre sukroz yada trehaloz tonisite ajanı içeren formülasyon örnekleri (10 mg/ml antikor, 10mM Histidin

pH6.0) için bir kütle spektrometrisi haritalama yöntemiyle ölçüldü. Glikasyonun, tonisite ajanının hidroliz oranı ile orantılı olduğu bulundu. Trehalozda hidroliz görülmedi, bu yüzden formülasyon antikorunun glikasyonundan kaçınıldığından trehaloz, antikor formülasyonu için sukrozdan fazla tercih edilen bir tonisite ajanıdır; sukroz, 25°C'de 104 hafta süreyle depolanan formülasyonlarda %1 ile %2 arasında hidroliz gösterdi.

Tablo 4.1. Örnek 4 için Formülasyon Matrisi Tablosu

Formülasyonun Parti Numarası	pH	MAb Kons. (mg/mL)	Histidin (mg/mL)	Histidin HC1	Sukroz (mg/mL)	Trehaloz (mg/mL)	Glukoz (mg/mL)	Fruktoz (mg/mL)	Metiyonin (mg/mL)	EDTA (mg/mL)	PS20 (mg/mL)
112633-174	6.0	10	0.8206	0.9879	94	-	--	--	-	-	0.1
112633-175	6.0	10	0.8206	0.9879	94	-	--	--	-	0.05	0.1
112633-176	6.0	10	0.8206	0.9879	94	-	--	--	0.1	0.05	0.1
112633-177	6.0	10	0.8206	0.9879	94	-	--	--	0.1	-	0.1
112633-178	5.7	10	0.5586	1.3418	94	-	--	--	-	-	0.1
112633-179	5.7	10	0.5586	1.3418	94	-	--	--	-	0.05	0.1
112633-180	6.0	10	0.8206	0.9879	-	84	--	--	-	0.05	0.1
112633-181	5.7	10	0.5586	1.3418	-	84	--	--	-	0.05	0.1
112633-182	6.0	10	0.8206	1.3418	--	--	49.5	49.5	--	0.05	0.1

Tablo 4.2. 10 mg/mL anti-NGF antikorundan gelen %Agregasyon (SEC yoluyla) Verilerinin Özeti: Sukroza karşılık trehaloz karşılaştırması

Koşul	25°C			40°C			50°C		
Hafta	0	4	12	0	4	12	0	4	12
Parti no.									
112633-174	0.5	0.5	0.8	0.5	1.0	1.9	0.5	4.3	20.4
112633-175	0.5	0.6	0.6	0.5	0.7	1.4	0.5	3.2	19.2
112633-176	0.5	0.6	0.7	0.5	0.7	1.2	0.5	2.9	13.5
112633-177	0.5	0.6	0.6	0.5	0.8	1.2	0.5	2.8	13.2
112633-178	0.5	0.5	0.6	0.5	1.0	1.8	0.5	4.6	24.8
112633-179	0.5	0.5	0.6	0.5	0.7	1.4	0.5	3.6	20.0
112633-180	0.5	0.6	0.7	0.5	0.8	1.6	0.5	3.1	11.4
112633-181	0.5	0.5	0.6	0.5	0.7	1.7	0.5	3.7	12.5
112633-182	0.5	0.6	0.9	0.5	1.7	12.1	0.5		

Tablo 4.3. 10 mg/mL anti-NGF antikorundan gelen anti-NGF antikorunun Glikasyon (%ağır zincir+162 Dalton olarak bildirilir) Verilerinin Özeti: Sukroza karşılık trehaloz karşılaştırması

Koşul	25°C			40°C			50°C			
Hafta	0	4	12	0	4	12	0	4	9	12
Parti No.										
112633-174	0	--	--	0	--	4	0	3	19	23
112633-175	0	--	--	0	--	4	0	4	22	29
112633-176	0	--	--	0	--	3	0	4	13	17
112633-177	0	--	00	0	--	3	0	4	14	18
112633-178	0	--	--	0	--	4	0	7	29	49
112633-179	0	--	--	0	--	4	0	7	30	52
112633-180	0	--	--	0	--	--	0	--	--	--
112633-181	0	--	--	0	--	--	0	1	--	--
112633-182	19	67	--	19	92	60	19			100

ÖRNEK 5

Surfektan ajanlarının ve polimer stabilizerlerinin analizi

Surfektanların ve polimer stabilizerlerinin, özellikle PS20, PS80,

PEG3350, PEG3350+PS20'nin anti-NGF E3 antikoru formülasyonlarının stabilitesi üzerindeki etkisini karşılaştırmak için bir çalışma yapıldı.

Spesifik olarak anti-NGF E3 antikoru ve PS20, PS80, PEG3350, PEG3350+PS20 içeren dört sıvı formülasyon, Tablo 5.1'de sıralanan şekilde hazırlandı. Formülasyonlar daha sonra 5, 25 ve 40°C'de depolandı ve 2, 4, 8, 13 ve 26nvı haftalarda antikor agregasyonu, parçalanması ve oksidasyonu için ölçümler alındı.

Bütün formülasyonların pH'si 6.0 idi ve bir anti-NGF E3 antikorunun konsantrasyonu, 50 mg/ml idi. Tablo 5.1'deki formülasyonlar için üretim prosesi şu şekilde özetlenebilir: Tampon hazırlanır, pH ayarlanır ve steril filtre edilir (detaylar için bakınız Tablo 5.1). Stok eksipiyan çözeltileri hazırlanır ve steril filtre edilir. Antikor konsantre edildikten sonra antikor değiştirilir. Konsantre edilmiş antikor, UV ile analiz edilir ve sonra ilgili tampon ile 50 mg/ml'ye seyreltilir ve ilgili eksipiyanlar, gerekli konsantrasyona kadar birleştirilir. Daha sonra 50 mg/ml'lik çözelti, steril filtre edilir. Son olarak steril çözelti doldurulur, stoperlenir ve bir üzeri kapatılır. Tablo 5.2 ve 5.3, sonuçları bildirmektedir.

Agregasyon Analizi:

Tablo 5.1'deki antikor formülasyonları, 5, 25 ve 40°C'lik bir sıcaklıkta 2, 4, 8, 13 ve 26 hafta süreyle depolandı.

Her bir formülasyon, Ornek 2'de tarif edildiği gibi büyüklük dışlama kromatografisi (SEC) kullanılarak agregasyon analizine tabi tutuldu. Hesaplanan agregasyon seviyeleri, Tablo 5.2'de karşılaştırılır ve

bunlar, 0.2 mg/ml'lik bir konsantrasyonda PS20'nin, araştırılan 0.2mg/ml PS80 ve 1 mg/ml PEG3350 ile kıyaslandığında denk seviyelerde agregasyon gösterdiğini gösterir. 0.1mg/ml'lik bir konsantrasyonda PS20 de denk sonuçlar sergiler (40°C'den gelen veriler).

Parçalanma Analizi:

Tablo 5.1'deki antikor formülasyonları, 5, 25 ve 40°C'lik bir sıcaklıkta 2, 4, 8, 13 ve 26 hafta süreyle depolandı.

Her bir formülasyon, Örnek 2'deki metodoloji kullanılarak parçalanma analizine tabi tutuldu. 40°C'deki örneklerden toplamam veriler, Tablo 5.3'te gösterilmiştir ve bunlar, 0.2 mg/ml'lik bir konsantrasyonda PS20'nin, araştırılan 0.2mg/ml PS80 ve 1 mg/ml PEG3350 ile kıyaslandığında denk seviyelerde parçalanma gösterdiğini gösterir. 0.1mg/ml'lik bir konsantrasyonda PS20'nin de denk sonuçlar sergilediği gösterilmiştir.

Tablo 5.1 Surfektan Ajanı Tarama Çalışması için Formülasyon Matrisi

Formülasyonun Parti Numarası	pH	mAbKons. (mg/mL)	Histidin (mM)	PS20 (mg/mL)	PS80 (mg/mL)	PEG 3350 (mg/mL)	PS20 + PEG 3350
114069-001-D#	6.0	50	10	0.2	-	-	-
114069-001-E#	6.0	50	10	-	0.2	-	-
114069-001-F#	6.0	50	10	-	-	10	-
114069-001-G#	6.0	50	10	-	-	-	0.2 + 1

Tablo 5.2. 50 mg/mL anti-NGF antikorundan %Agregasyon (SEC yoluyla) Verilerinin Özeti: Surfektan Ajanı Tarama Çalışması

			25C				40C				
	Hafta	T0	4	8	13	26	2	4	8	13	26
114069-001-D2	PS20	1	1.4	1.5	1.8	2.4	1.8	2.2	2.8	4.2	8.2
114069-001-E2	PS80	0.9	1.3	1.5	1.8	n/a	1.8	2.2	3.1	4.2	n/a
114069-001-F2	PEG3350	1	1.4	1.5	1.9	n/a	1.8	2.2	2.8	3.9	n/a
114069-001-G2	PS20+PEG3350	0.9	1.3	1.5	1.9	n/a	1.8	2.1	3	4.3	n/a

Tablo 5.3. 50 mg/mL anti-NGF antikorundan %Parçalanma (indirgenmiş CGE yoluyla) Verilerinin Özeti: Surfektan Tarama Çalışması

			25C				40C				
	Hafta	T0	4	8	13	26	2	4	8	13	26
114069-001-D2	PS20	0.9	0.8	1.3	2.3	3.1	1.3	2.6	5.5	7.1	13.6
114069-001-E2	PS80	0.9	0.7	0.9	1.7	n/a	1.4	1.7	6.4	6.5	n/a
114069-001-F2	PEG3350	0.9	0.8	1.6	2.3	n/a	1.6	1.8	4.5	7	n/a
114069-001-G2	PS20+PEG3350	0.8	0.7	1	2.3	n/a	1.3	1.2	4.9	7.9	n/a

5

ÖRNEK 6: Anti-oksidan ajanlarının Analizi

Anti-oksidan ajanlarının, özellikle metiyoninin, anti-NGF E3 antikoru formülasyonlarının stabilitesi üzerindeki etkisini karşılaştırmak için bir çalışma yapıldı.

10

Spesifik olarak metiyoninli ve onsuz anti-NGF E3 antikoru içeren dokuz sıvı formülasyon hazırlandı. Bütün formülasyonların pH'si 6.0 idi ve anti-NGF E3 antikorunun konsantrasyonu, 10 veya 50 mg/ml, 84 mg/ml trehaloz veya sukroz ve 0.1 mg/ml PS20, 10 mM histidin, artı veya eksi 0.05 mg/ml EDTA idi.

Formülasyonlar için üretim prosesi şu şekilde özetlenebilir: Tampon hazırlanır, pH ayarlanır ve steril filtre edilir. Stok eksipiyan çözeltileri hazırlanır ve steril filtre edilir. Antikor konsantre edildikten sonra antikor değiştirilir. Konsantre edilmiş antikor, UV ile analiz edilir ve sonra ilgili tampon ile 10 veya 50 mg/ml'ye seyreltilir ve ilgili eksipiyanlar, gerekli konsantrasyona kadar birleştirilir. Daha sonra 10 mg/mL veya 50 mg/ml'lik çözelti, steril filtre edilir. Son olarak steril çözelti doldurulur, stoperlenir ve bir üzeri kapatılır.

Formülasyonlar daha sonra 5, 25 ve 40°C'de depolandı ve 2, 4, 8, 13, 26 ve 52nci haftalarda antikor agregasyonu, parçalanması ve oksidasyonu için ölçümler alındı.

Agregasyon Analizi:

Antikor formülasyonları, 5, 25 ve 40°C'lik bir sıcaklıkta 0, 8, 13, 26 ve 52 hafta süreyle depolandı.

Her bir formülasyon, Örnek 2'de tarif edildiği gibi büyüklük dışlama kromatografisi (SEC) kullanılarak agregasyon analizine tabi tutuldu. Hesaplanan agregasyon seviyeleri karşılaştırıldı ve metiyoninli veya onsuz 26 hafta süreyle 5 veya 25°C'de depolanmış örnekler için anlamlı bir farklılık olmadığı bulundu; metiyonin varlığının,

agregasyon üzerinde dikkate değer bir etkisi yoktur.

Parçalanma Analizi:

Antikor formülasyonları, 5, 25 ve 40°C'lik bir sıcaklıkta 0, 8, 13 ve 26 hafta süreyle depolandı ve 26ncı haftada parçalanma ölçümleri alındı.

Her bir formülasyon, Örnek 2'deki metodoloji kullanılarak parçalanma analizine tabi tutuldu. Hesaplanan parçalanma seviyeleri karşılaştırıldı ve metiyoninli veya onsuz 26 hafta süreyle 5 veya 25°C'de depolanmış örnekler için anlamlı bir farklılık olmadığı bulundu; metiyonin varlığının, parçalanma üzerinde dikkate değer bir etkisi yoktur.

Oksidasyon analizi:

Anti-NGF E3 antikoru içinde X ve Y pozisyonlarındaki metiyonin tortularının oksidasyon seviyeleri, 5, 25 ve 40°C'de 0, 13, 26 ve 52 hafta süreyle depolandıktan sonra bir Lisin-C haritalama yöntemiyle ölçüldü. Anti-NGF E3 antikoru içindeki metiyonin amino asitlerinin yüzde oksidasyonu, Örnek 2'de tarif edilen şekilde kaydedildi.

Tablo 6.1'deki sonuçlar, antikorun yüzde oksidasyonunun, daha uzun depolama sürelerinde metiyonin varlığıyla azaldığını işaret eder.

Tablo 6.1. 10 ve 50 mg/mL anti-NGF antikorundan %Oksidasyon Verilerinin Özeti: Antioksidan Ajan Tarama Çalışması

	25oC				40oC		
Hafta	0	13	26	52	13	26	52
10mM Histidin + Suc + PS20 + 10 mg/mL mAb		3.50	3.40	4.70	7.80	21.00	51.60
10mM Histidin + Suc + PS20 + EDTA + Met + 10 mg/mL mAb		4.70	3.20	0.00	7.00	10.90	0.00
10mM Histidin + Suc + PS20 + 50 mg/mL mAb	1.77	3.90	3.80	5.50	8.40	15.50	39.20
10mM Histidin + Suc + PS20 + EDTA + Met + 50 mg/mL mAb	1.72	2.70	3.40	3.10	5.10	10.10	30.60
10mM Histidin + Tre + PS20 + 50 mg/mL mAb	1.79	3.40	3.80	5.80	6.80	15.00	30.00
10mM Histidin + Tre + PS20 + EDTA + 50 mg/mL mAb	1.65	3.30	4.00	5.90	6.60	11.20	20.20
10mM Histidin + Tre + PS20 + Met + 50 mg/mL mAb	1.72	2.70	2.80	2.60	3.90	6.50	14.40
10mM Histidin + Tre + PS20 + EDTA + Met + 50 mg/mL mAb	1.70	2.70	3.30	3.10	4.60	7.00	14.00
10mM Histidin + Tre + PS20 + EDTA + Met + 10 mg/mL mAb	0.00	4.10	3.30	3.30	6.20	6.80	12.60

ÖRNEK 7 Trehalozlu ve onsuz Dondurma Eritme Stabilitesi

50 mg/ml anti-NGF E3 antikoru, 10 mM histidin tamponu pH 6.0 ve 84 mg/ml trehaloz içeren antikor formülasyonları hazırlandı ve trehalozsuz özdeş örnekler hazırlandı. Örnekler, 4 dondurma ve eritme

döngüsüne tabi tutuldu ve örnekler için agregasyon belirlendi. Dondurma eritme döngüleri, -70°C'de 72 saat dondurma ve 5°C'de 48 saat eritmedir.

Her bir formülasyon, Örnek 2'de tarif edildiği gibi büyüklük dışlama kromatografisi (SEC) kullanılarak agregasyon analizine tabi tutuldu. Hesaplanan agregasyon seviyeleri, Tablo 7.1'de karşılaştırılır ve trehaloz içeren örneklerin, antikor agregasyonu üzerindeki dondurma eritme etkilerinden tam koruma sunduğunu gösterir. Trehalozlu örnekler, zaman içerisinde agregasyon seviyelerinde takdire şayan bir artış göstermez.

Tablo 7.1 50 mg/mL anti-NGF antikorunun %Agregasyon (SEC yoluyla) Verilerinin Özeti:

Dondurma/Eritme Döngüsü	Kontrol Örneğinin (Trehalozsuz) %HMMS'si	Trehalozlu Örneğin %HMMS'si
0	0.60	0.60
1	0.75	0.60
2	0.90	0.60
3	1.00	0.60
4	1.30	0.60

ÖRNEK 8 Trehalozlu anti-NGF E3 antikoru formülasyonunun Çoklu Dondurma Eritme Stabilitesi

22 mg/ml anti- NGF E3 antikoru, 10 mM histidin tamponu pH 6.0 ve 84 mg/ml trehaloz, 0.05 mg/mL disodyum EDTA ve 0.1 mg/mL polisorbat 20 içeren antikor formülasyonları (112746-124 ve 112746-125) hazırlandı. Örnekler, 15 dondurma ve eritme döngüsüne tabi

tutuldu ve örnekler için agregasyon belirlendi.

Her bir formülasyon, Ornek 2'de tarif edildiği gibi büyüklük dışlama kromatografisi (SEC) kullanılarak agregasyon analizine tabi tutuldu. Hesaplanan agregasyon seviyeleri, Şekil 3'te karşılaştırılır ve trehaloz içeren bütün örneklerin, antikor agregasyonu üzerindeki dondurma eritme etkilerinden tam koruma sunduğunu gösterir. Trehalozlu örnekler, zaman içerisinde agregasyon seviyelerinde takdire şayan bir artış göstermez.

ORNEK 9: 10 ve 50 mg/mL anti-NGF E3 antikoru ile Uzun Süreli Stabilite Çalışması: Trehalozun bir stabilizer olarak etkisi

10 mg/ml anti-NGF E3 antikoru, 10 mM histidin tamponu pH 6.0 ve 84 mg/ml trehaloz içeren antikor formülasyonları hazırlandı ve trehalozsuz özdeş örnekler hazırlandı. Çalışma yapılan örneklerin detayları, Tablo 9.1'de verilmiştir. Ornekler, 5, 25 ve 40°C'lik bir sıcaklıkta 2, 4, 8, 13, 26 ve 52 hafta süreyle depolandı ve örnekler için agregasyon belirlendi. Her bir formülasyon, Ornek 2'de tarif edildiği gibi büyüklük dışlama kromatografisi (SEC) kullanılarak agregasyon analizine tabi tutuldu. Toplanan veriler, trehaloz içeren örneklerin, antikorun 40°C'lik hızlandırılmış koşulda depolanması üzerine agregasyonu üzerindeki etkilerinden yüksek seviyelerde koruma sunduğunu gösterdi.

Tablo 9.1 10 ve 50 mg/mL anti-NGF E3 antikoruyla Uzun Süreli Stabilite Çalışması için Formülasyon Matrisi: Trehalozun bir stabilizer olarak etkisi

Formülasyonun Parti Numarası	pH	PF-04383119 (mg/mL)	Histidin mM	Sukroz (mg/mL)	Trehaloz (mg/mL)	PS20 (mg/mL)	Metiyonin (mg/mL)	EDTA (mg/mL)
112746-27-1	6.0	10	10	94	-	0.1	-	-
112746-27-2	6.0	10	10	94	-	0.1	0.1	0.05
112746-27-3	6.0	50	10	94	-	0.1	-	-
112746-27-4	6.0	50	10	94	-	0.1	0.1	0.05
112746-27-5	6.0	50	10	-	84	0.1	-	-
112746-27-6	6.0	50	10	-	84	0.1	-	0.05
112746-27-7	6.0	50	10	-	84	0.1	0.1	-
112746-27-8	6.0	50	10	-	84	0.1	0.1	0.05
112746-27-9	6.0	10	10	-	84	0.1	0.1	0.05

Tablo 9.2 10 ve 50 mg/mL anti-NGF E3 antikoru ile Uzun Süreli Stabilite Çalışmasının 40°C'de %Agregasyon Verileri (her bir SEC başına): Trehalozun bir stabilize olarak etkisi

Kompozisyon	Örneğin Kimliği	Süre (hafta)						
		0	2	4	8	13	26	52
10mM Histidin + Suc + PS20 + 10 mg/mL mAB	112746-27-1	0.60	0.70	0.90	1.2	1.7	4.80	22.10
10mM Histidin + Suc + PS20 + EDTA + Met + 10 mg/mL mAB	112746-27-2	0.60	0.70	0.90	1.2	1.5	3.40	NA
10mM Histidin + Suc + PS20 + 50 mg/mL mAB	112746-27-3	0.60	1.60	2.00	2.8	3.7	7.50	20.70
10mM Histidin + Suc + PS20 + EDTA + Met + 50 mg/mL mAB	112746-27-4	0.60	1.50	1.80	2.4	3.2	6.00	22.40
10mM Histidin + Tre + PS20 + 50 mg/mL mAB	112746-27-5	0.60	1.70	1.90	2.9	3.8	7.60	16.20
10mM Histidin + Tre + PS20 + EDTA + 50 mg/mL mAB	112746-27-6	0.60	1.70	2.00	2.6	3.3	5.40	13.20
10mM Histidin + Tre + PS20 + Met + 50 mg/mL mAB	112746-27-7	0.60	1.60	1.80	2.5	3.2	5.40	12.60
10mM Histidin + Tre + PS20 + EDTA + Met + 50 mg/mL mAB	112746-27-8	0.60	1.60	1.80	2.5	3.1	4.80	11.60
10mM Histidin + Tre + PS20 + EDTA + Met + 10 mg/mL mAB	112746-27-9	0.60	0.90	1.00	1.4	1.8	3.10	7.00

ÖRNEK 10: pH 6.0'da histidin tamponu içinde 2.5, 5, 10, 20 ve 50 mg/mL olmak üzere trehaloz, EDTA, polisorbat 20 içeren anti-NGF antikoru E3 formülasyonunun Uzun Süreli Stabilite Çalışması

2.5 veya 5 veya 10 veya 20 veya 50 mg/mL anti- NGF E3 antikoru, 10 mM histidin tamponu pH 6.0 ve 84 mg/ml trehaloz, 0.05 mg/mL EDTA ve 0.1 mg/mL polisorbat 20 içeren antikor formülasyonları hazırlandı. Örnekler, 5 ile 8°C arasındaki bir sıcaklıkta 24 ay ve sonrasına kadar depolandı ve örnekler için agregasyon, parçalanma, oksidasyon belirlendi.

Toplanan ve Şekil 4, 5 ve 6'da sunulan veriler, 2.5, 5, 10, 20 veya 50 mg/mL mAb konsantrasyonunda anti-NGF E3 antikoru içeren adı geçen formülasyonun, 52 haftaya kadar stabil olduğunu işaret eder.

Mevcut buluşa ait bir sıvı antikor kompozisyonunun bir örneği, şu şekildedir:

SEK.KİM.NO.:1'e ait bir değişken ağır zincir sekansı ve SEK.KİM.NO.:2'ye ait bir değişken hafif zincir sekansı içeren yaklaşık 2.5 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, 22 mg/ml veya yaklaşık 50 mg/ml'lik bir antikor,

yaklaşık 10 mM histidin tamponu,

yaklaşık 84 mg/ml trehaloz dihidrat,

yaklaşık 0.01 ağırlık/hacimde Polisorbat 20,

yaklaşık %0.005 disodyum EDTA,

Burada adı geçen kompozisyonun pH'si, 6.0 +/- 0.2'dir. Sıvı antikor kompozisyonunun toplam hacmi tercihen 1 ml civarındadır.

Antikor sekansları

Ağır zincir değişken bölgesi E3 (Kabat CDRlerinin altı çizilidir; Chothia CDRleri **KOYU VE *İTALİKTİR*)**

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLI***GYDLN***WIRQPPGKGLEWIG***IIWGDGTT***
DYNSAVKSRVTISKDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR***GGYWYATSYYFDY***WG
QGTLVTVS (SEK.KİM.NO:1)

Hafif zincir değişken bölgesi E3 (Kabat CDRlerinin altı çizilidir; Chothia CDRleri KOYU VE İTALİKTİR)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC***RASQSISNNLN***WYQQKPGKAPKLLIY***YTSRFHS***G
VPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYC***QQEHTLPYT***FGQGTKLEIKRT (SEQ
(SEK.KİM.NO:2)

E3 ağır zincir uzatılmış CDRleri

CDRH1: GFSLIGYDLN (SEK.KİM.NO:3)

CDRH2: IIWGDGTTDYNSAVKS (SEK.KİM.NO:4)

CDRH3: GGYWYATSYYFDY (SEK.KİM.NO:5)

E3 hafif zincir uzatılmış CDRleri

CDRL1: RASQSISNNLN (SEK.KİM.NO:6)

CDRL2: YTSRFHS (SEK.KİM.NO:7)

CDRL3: QQEHTLPYT (SEK.KİM.NO:8)

Fare monoklonal antikoru 911 uzatılmış CDRleri

911 ağır zincir uzatılmış CDRleri

CDRH1: GFSLIGYDIN (SEK.KİM.NO:9)

CDRH2: MIWGDGTTDYNSALKS (SEK.KİM.NO: 10)

CDRH3: GGYYYGTSYYFDY (SEK.KİM.NO:11)

911 hafif zincir uzatılmış CDRleri

CDRL1: RASQDISNHLN (SEK.KİM.NO:12)

CDRL2: YISRFHS (SEK.KİM.NO:13)

CDRL3: QQSKTLPYT (SEK.KİM.NO:14)

E3 ağır zincir amino asit sekansı (tam)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLIGYDLNWIRQPPGKGLEWIGIIWGDGT
TDYNSAVKSRVTISKDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYWYATSYYFDYW
GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERK
CCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI
EKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL
SPGK (SEK.KİM.NO.:16)

3E hafif zincir amino asit sekansı (tam antikor)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRFHS
GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQEHTLPYTFGQGTKLEIKRTVAAP
SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS
KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC SEQ ID
(SEK.KİM.NO.:17)

Atıfta bulunulan diğer ilave CDR sekansları

RASQSISNNLN (SEK.KİM.NO:18)

YTSRFHS (SEK.KİM.NO:19)

GFSLIGYDLN (SEK.KİM.NO:30)

IIWGDGTTDYNSAV (SEK.KİM.NO:31)

QQEHTLPYT (SEK.KİM.NO:55)

GGYWYATSYYFDY (SEK.KİM.NO:56)

QQESTLPYT (SEK.KİM.NO:57)

GGYWYSTSYYFDY (SEK.KİM.NO:58)

QQEKTLPYT (SEK.KİM.NO:59)

GGYYYATSYYFDY (SEK.KİM.NO:60)

QQERTLPYT (SEK.KİM.NO:61)

GGYWYATSYYFDY (SEK.KİM.NO:62)

QQERTLPYT (SEK.KİM.NO:63)

GGYYYATSYYFDY (SEK.KİM.NO:64)

3E ağır zincir nükleotit sekansı (tam antikor)

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCCGAGACCC
TGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGGTTCTCACTTATCGGCTATGATCTTAACT
GGATCCGACAGCCTCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGATTATCTGGGG
TGATGGAACCACAGACTATAATTCAGCTGTCAAATCCCGCGTCACCATCTCAAA
AGACACCTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGG
ACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGAGGTTATTGGTACGCCACTAGCTAC
TACTTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCAC
CAAGGGCCCATCTGTCTTCCCACTGGCCCCATGCTCCCGCAGCACCTCCGAGA
GCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCAGAACCTGTGAC
CGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTG
TCCTGCAGTCCTCAGGTCTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCATCC
AGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCAAGCAA
CACCAAGGTCGACAAGACCGTGGAGAGAAAGTGTTGTGTGGAGTGTCCACCTT
GTCCAGCCCCTCCAGTGGCCGGACCATCCGTGTTCCTGTTCCCTCCAAAGCCA
AAGGACACCCTGATGATCTCCAGAACCCCAGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGA
CGTGTCCCACGAGGACCCAGAGGTGCAGTTCAACTGGTATGTGGACGGAGTG
GAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAAGAGAGGAGCAGTTCAACTCCACCTT
CAGAGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGAAAG
GAGTATAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGACTGCCATCCAGCATCGAGAAGAC
CATCTCCAAGACCAAGGGACAGCCAAGAGAGCCACAGGTGTATACCCTGCCAC
CATCCAGAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAG
GGATTCTATCCATCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGACAGCCAGA
GAACAACTATAAGACCACCCCTCCAATGCTGGACTCCGACGGATCCTTCTTCCT
GTATTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGAAACGTGTTCT
CTTGTTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTATACCCAGAAGAGCCTG
TCCCTGTCTCCAGGAAAGTAA (SEK.KİM.NO:65)

3E ağır zincir değişken alan nükleotit sekansı

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCCGAGACCC
TGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGGTTCTCACTTATCGGCTATGATCTTAACT
GGATCCGACAGCCTCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGATTATCTGGGG
TGATGGAACCACAGACTATAATTCAGCTGTCAAATCCCGCGTCACCATCTCAAA
AGACACCTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGG
ACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGAGGTTATTGGTACGCCACTAGCTAC
TACTTTGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
(SEK.KİM.NO.:66)

5

3E hafif zincir nükleotit sekansı (tam antikor)

GATATCCAGATGACACAGTCCCCATCCTCCCTGTCTGCCTCTGTGGGTGACCG
CGTCACCATCACCTGCCGCGCATCTCAGTCCATTAGCAATAATCTGAACTGGTA
TCAGCAGAAGCCAGGCAAAGCCCCAAAACTCCTGATCTACTACACCTCACGCT
TCCACTCAGGTGTCCCATCACGCTTCAGTGGCAGTGGCTCTGGTACAGATTTCA
CCTTCACCATTAGCAGCCTGCAACCAGAAGATATTGCCACTTATTACTGCCAAC
AGGAGCATACCCTTCCATATACCTTCGGTCAAGGCACCAAGCTGGAGATCAAA
CGCACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTTCCTCCATCTGATGAGCAGTTG
AAATCCGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCACGCGAG
GCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCCGGTAACTCCCAGGA
GAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACC
CTGACCCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGT
CACCCATCAGGGCCTGAGTTCTCCAGTCACAAAGAGCTTCAACCGCGGTGAGT
GCTAA (SEK.KİM.NO.:67)

3E hafif zincir değişken alan nükleotit sekansı

GATATCCAGATGACACAGTCCCCATCCTCCCTGTCTGCCTCTGTGGGTGACCG
CGTCACCATCACCTGCCGCGCATCTCAGTCCATTAGCAATAATCTGAACTGGTA

TCAGCAGAAGCCAGGCAAAGCCCCAAAACTCCTGATCTACTACACCTCACGCT
TCCACTCAGGTGTCCCATCACGCTTCAGTGGCAGTGGCTCTGGTACAGATTTCA
CCTTCACCATTAGCAGCCTGCAACCAGAAGATATTGCCACTTATTACTGCCAAC
AGGAGCATACCCTTCCATATACCTTCGGTCAAGGCACCAAGCTGGAGATCAAA
CGC (SEK.KİM.NO.:68)

Yukarıdaki sekanslar ve burada tarif edilen diğer sekanslar, ekteki sekans listesinde verilmiştir.

SEKANS LİSTESİ

<110 PFIZER INC.

<120 STABİL SIVI ANTİKOR FORMULASYONU

Badkar, Advait
Bohack, Leigh
King, Kevin
Alanta L. Lary

<130 PC33665A

<150 US61/1098305

<151 19-09-2008

<160 77

<170 Windows Versiyon 4.0 için FastSEQ

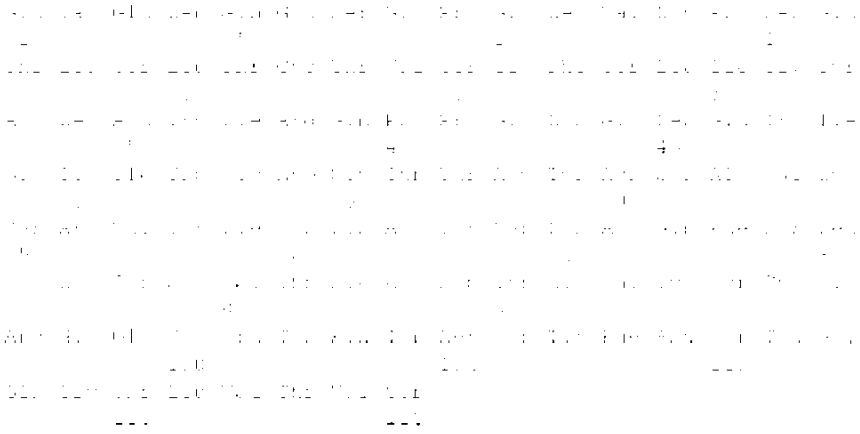
<210 1

<211 120
<212 PRT
<213 Suni Sekans

<220

<223 Sentetik Yapı

<400 1



<210> 2

<211> 109

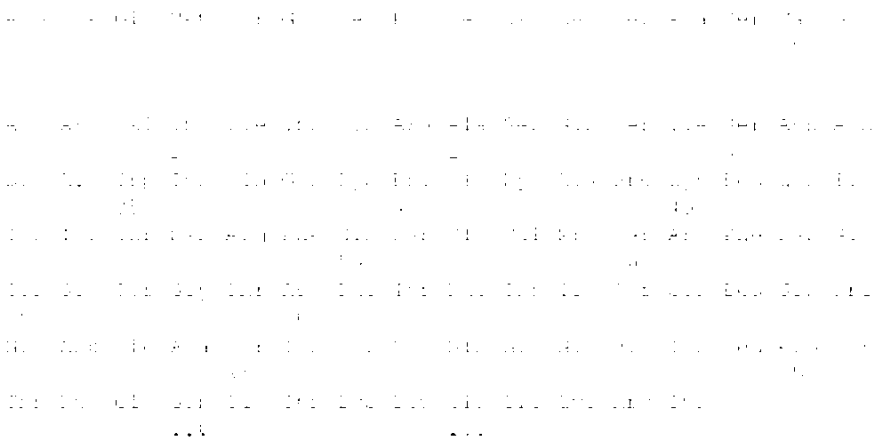
<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 2



<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 3

<210> 4

<211> 16

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 4

<210> 5

<211> 13

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 5

<210> 6

<211> 11

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 6

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 7

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 8

<210> 9

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 9

<210> 10
<211> 16
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 10

<210> 11
<211> 13
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 11

<210> 12
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 12

<210> 13
<211> 7
<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 13

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 14

<210> 15

<211> 15

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 15

<210> 16

<211> 447

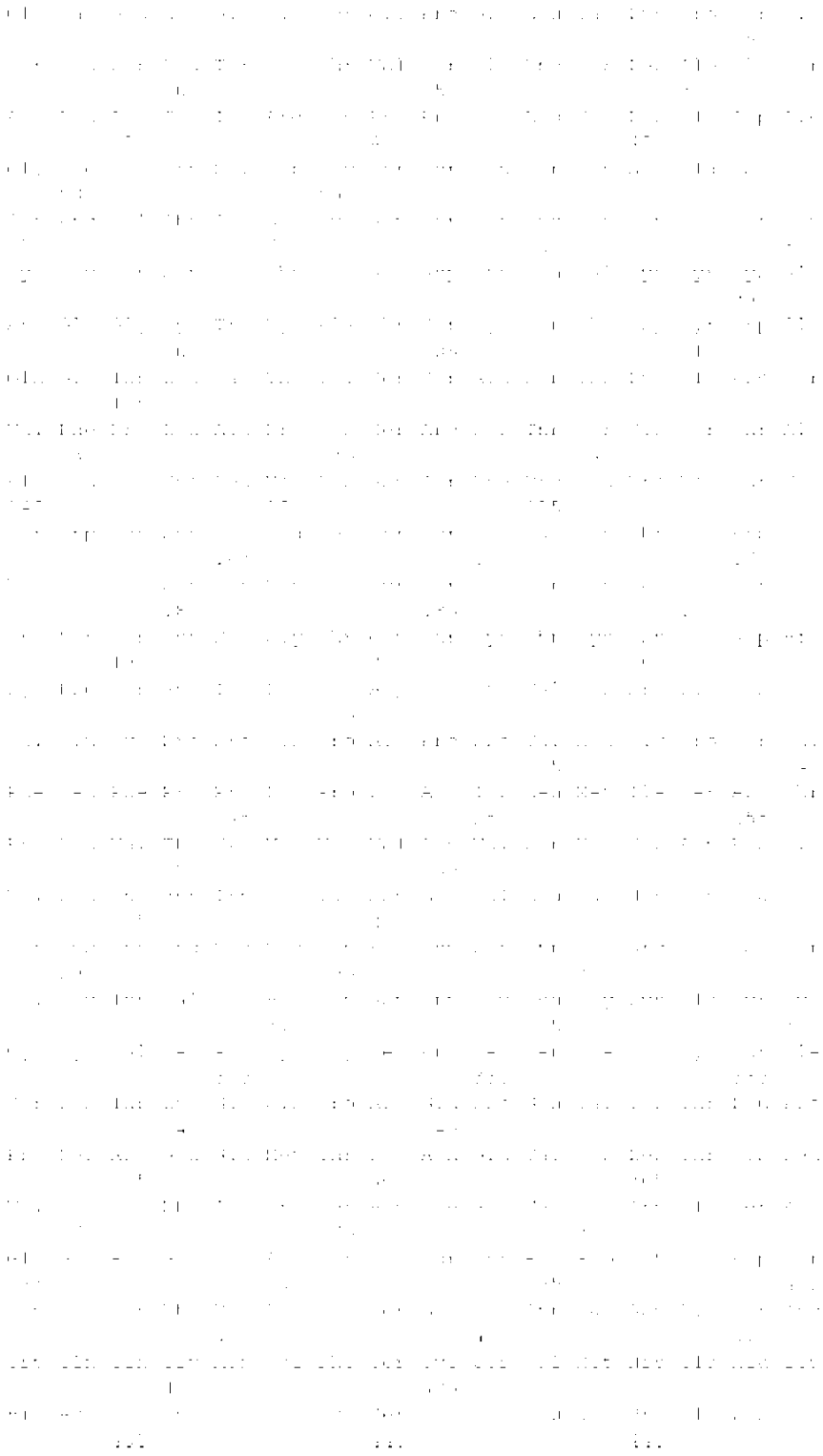
<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 16



<210> 17

<211> 214

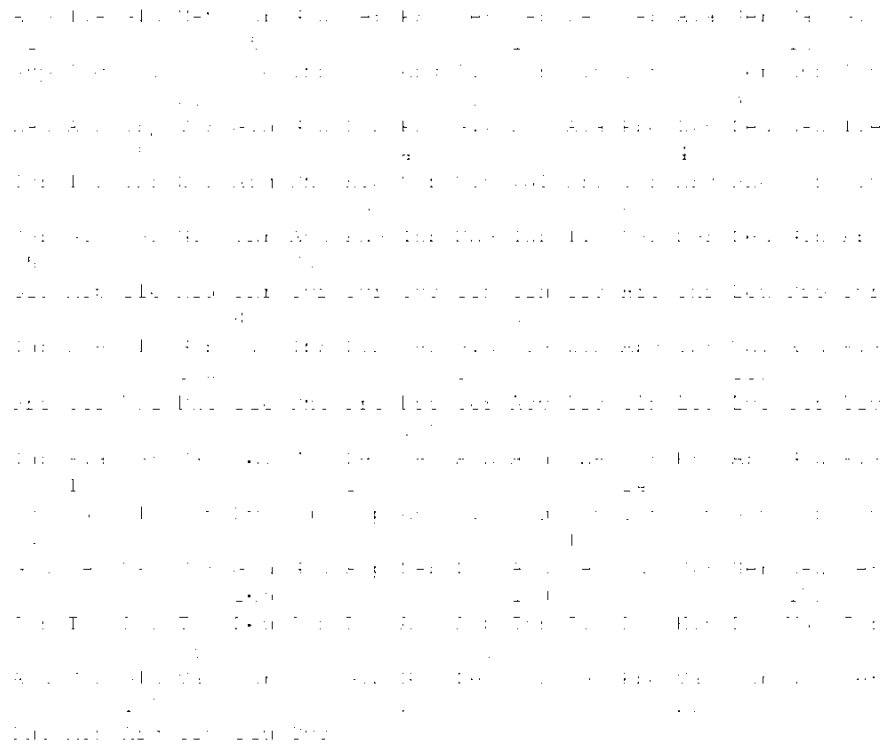
<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 17



<210> 18

<211> 11

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 18

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 19

<210> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 20

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 21

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 22

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 23

<210> 24

<211> 11

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 24

5

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> Suni Sekans

10

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 25

15

<210> 26

<211> 11

<212> PRT

<213> Suni Sekans

20

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 26

25

<210> 27

<211> 7

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 27

<210> 28

<211> 10

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 28

<210> 29

<211> 14

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 29

<210> 30

<211> 10

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 30

<210> 31

<211> 14

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 31

<210> 32

<211> 10

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 32

<210> 33

<211> 14

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 33

<210> 34

<211> 10

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 34

<210> 35

<211> 14

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 35

<210> 36

<211> 10

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 36

<210> 37

<211> 14

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 37

<210> 38

<211> 10

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 38

<210> 39

<211> 14

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 39

<210> 40

<211> 10

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 40

<210> 41

<211> 14

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 41

<210> 42

<211> 10

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 42

<210> 43

<211> 14

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 43

<210> 44

<211> 10

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 44

<210> 45

<211> 14

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 45

<210> 46

<211> 13

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 46

<210> 47

<211> 13

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 47

<210> 48

<211> 13

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 48

<210> 49

<211> 13

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 49

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 50

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 51

<210> 52

<211> 13

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 52

<210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 53

<210> 54

<211> 13

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 54

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 55

<210> 56

<211> 13

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 56

<210> 57

<211> 9

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 57

<210> 58

<211> 13

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 58

<210> 59

<211> 9

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 59

<210> 60

<211> 13

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 60

<210> 61

<211> 9

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 61

<210> 62
<211> 13
<212> PRT
<213> Suni Sekans

<220>
<223> Sentetik Yapı

<400> 62

<210> 63
<211> 9
<212> PRT
<213> Suni Sekans

<220>
<223> Sentetik Yapı

<400> 63

<210> 64
<211> 13
<212> PRT
<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 64

<210> 65

<211> 1344

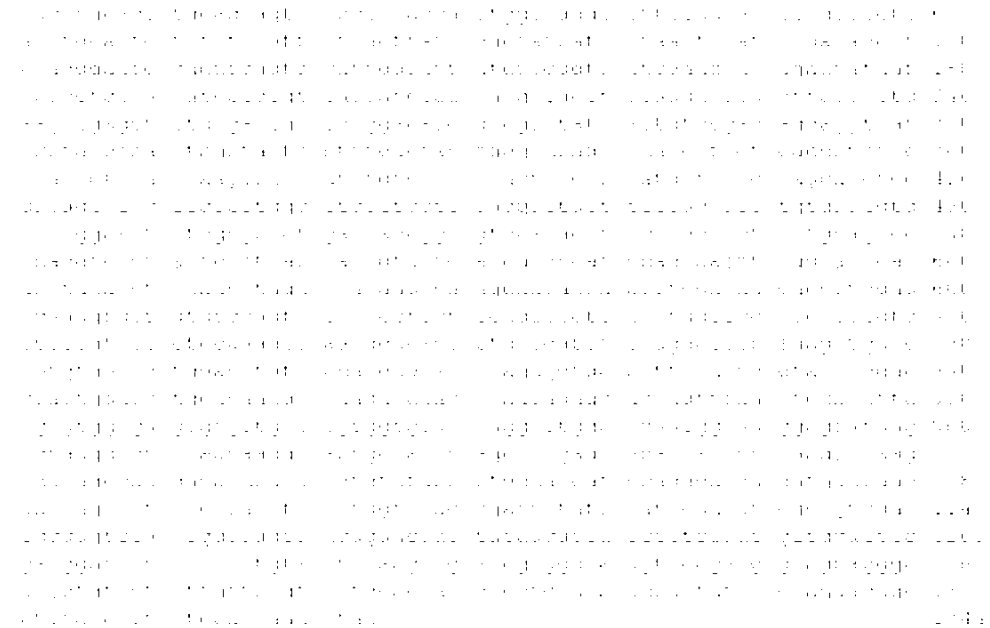
<212> DNA

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 65



<210> 66

<211> 363

<212> DNA

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 66

<210> 67

<211> 645

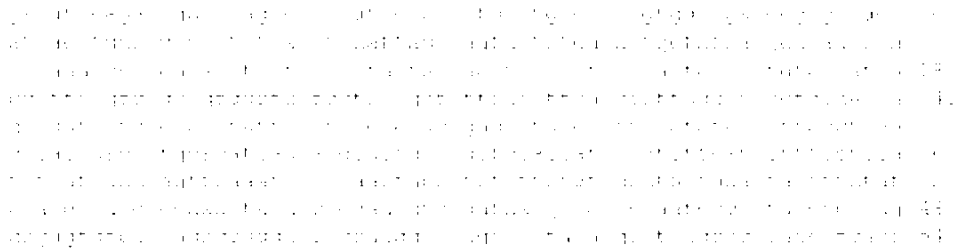
<212> DNA

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 67



<210> 68

<211> 324

<212> DNA

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 68

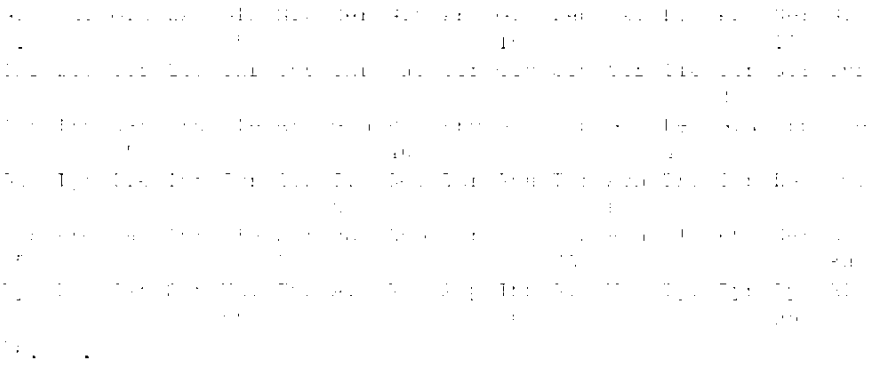
<210> 69

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 69



<210> 70

<211> 120

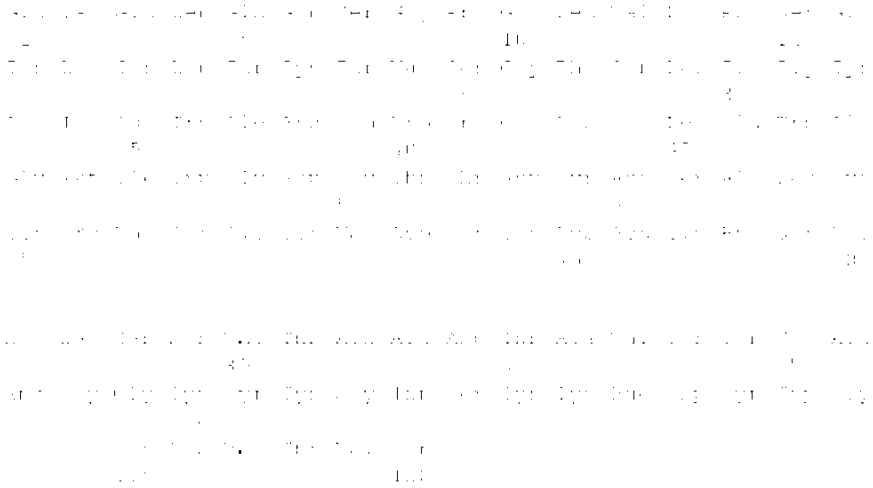
<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 70



<210> 71

<211> 120

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 71

<210> 72

<211> 120

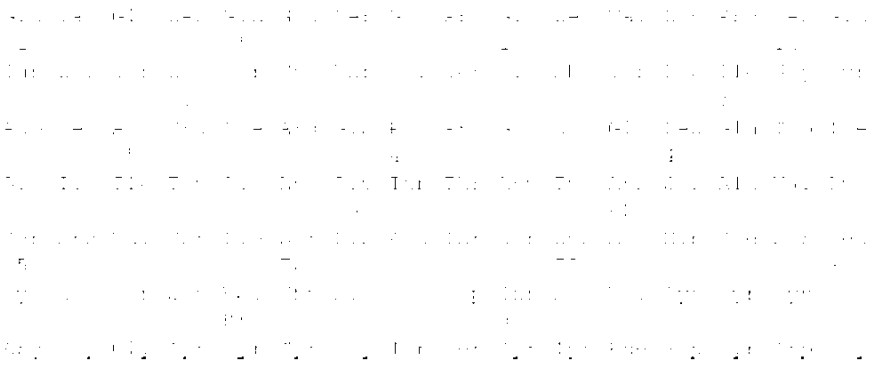
<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 72



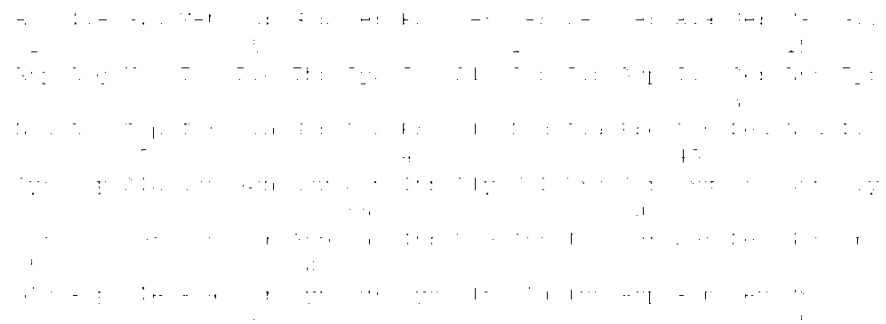
<210> 73

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73



<210> 74

<211> 109

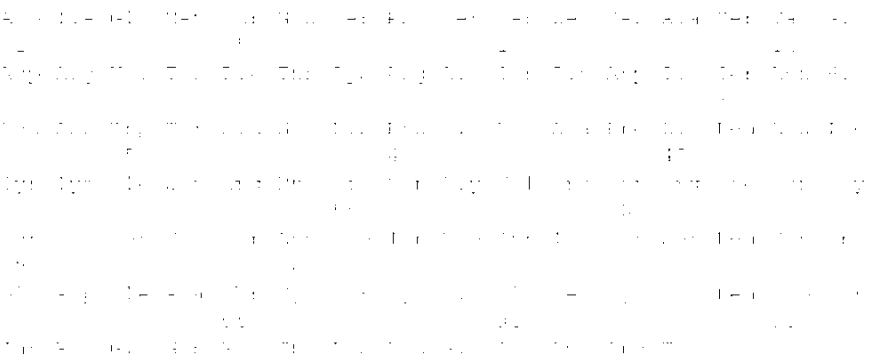
<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 74



<210> 75

<211> 109

<212> PRT

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 75

<210> 76

<211> 1429

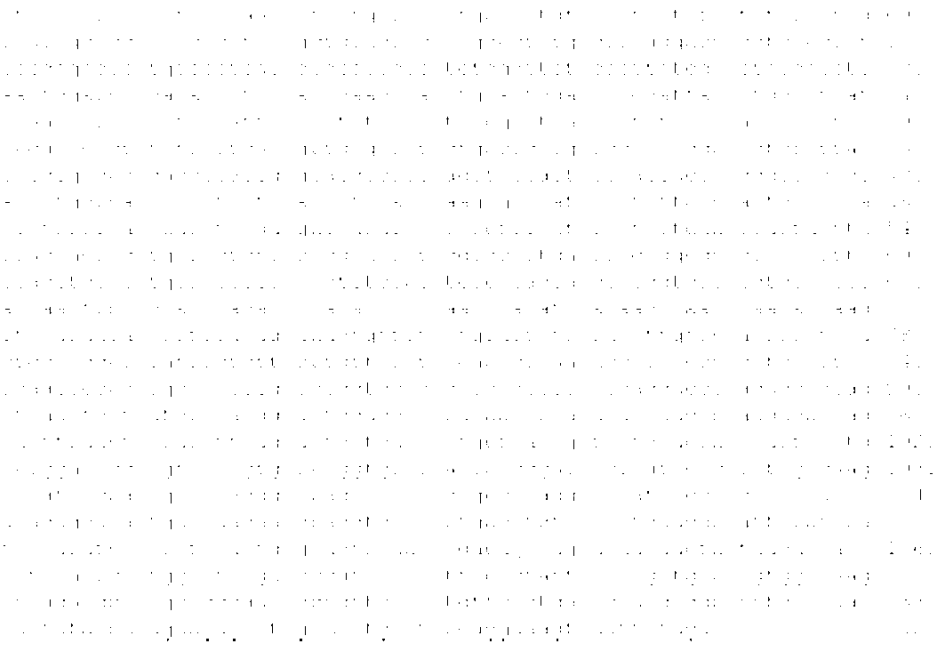
<212> DNA

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

<400> 76



<210> 77

<211> 729

<212> DNA

<213> Suni Sekans

<220>

<223> Sentetik Yapı

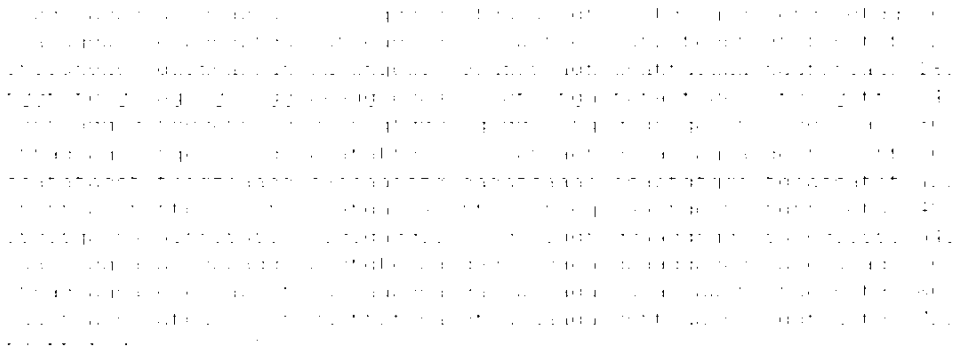
<220>

<221> misc_feature

<222> 646

<223> m=A veya C

<400 77



TARİFNAME İÇERİSİNDE ATIF YAPILAN REFERANSLAR

Başvuru sahibi tarafından atıf yapılan referanslara ilişkin bu liste, yalnızca okuyucunun yardımı içindir ve Avrupa Patent Belgesinin bir kısmını oluşturmaz. Her ne kadar referansların derlenmesine büyük önem verilmiş olsa da, hatalar veya eksiklikler engellenememektedir ve EPO bu bağlamda hiçbir sorumluluk kabul etmemektedir.

Tarifname içerisinde atıfta bulunulan patent dökümanları:

- WO 2006096491 A **[0006]**
- WO 2004058184 A **[0008] [0076] [0077] [0079] [0131] [0184] [0187]**
- WO 2006096488 A **[0009]**
- WO 2006096490 A **[0009]**
- WO 2006096461 A **[0009]**
- WO 2006096489 A **[0009]**
- WO 09958572 A **[0039]**
- GB 9809951 A **[0039] [0137]**
- WO 2005019266 A **[0041] [0082]**
- WO 2006131951 A **[0041] [0082]**
- WO 09023540 A **[0041] [0082]**
- US 20090041717 A **[0041]**
- US 20090041417 A **[0082]**
- WO 9958572 A **[0135] [0137]**
- US 4816567 A **[0136]**
- US 5807715 A **[0136]**
- US 5866692 A **[0136] [0137]**
- US 6331415 B **[0136]**
- US 5530101 A **[0136]**
- US 5693761 A **[0136]**
- US 5693762 A **[0136]**
- US 5585089 A **[0136]**
- US 6180370 B **[0136]**
- EP 0519596 A **[0137]**
- US 6180377 A **[0137]**
- US 6054297 A **[0137]**
- US 5997867 A **[0137]**
- US 6210671 A **[0137]**
- US 6350861 A **[0137]**
- WO 0127160 A **[0137]**
- WO 04065560 A **[0160]**
- US 5766863 A **[0160]**
- US 5891650 A **[0160]**
- WO 20040581 A **[0186]**
- US 61098305 B **[0257]**

Tarifnamede belirtilen patentleştirilmemiş literatür:

- Eur. J. Immunol., 1999, vol. 29, 2613-2624 **[0039] [0189]**
- **HONGO et al.** Hybridoma, 2000, vol. 19, 215-227 **[0041] [0082] [0161]**
- Fundamental Immunology. Raven Press, 1989 **[0122]**
- **KABAT.** Sequences of Proteins of Immunological Interest. National Institutes of Health, 1987 **[0122]**
- **CHOTHIA ; LESK.** J. Mol. Biol., 1987, vol. 196, 901-917 **[0122]**
- **CHOTHIA et al.** Nature, 1989, vol.
- **SHAW et al.** J Immunol., 1987, vol. 138, 4534-4538 **[0137]**
- **BROWN et al.** Cancer Res., 1987, vol. 47, 3577-3583 **[0137]**
- **RIECHMANN et al.** Nature, 1988, vol. 332, 323-327 **[0137]**
- **VERHOEYEN et al.** Science, 1988, vol. 239, 1534-1536 **[0137]**
- **JONES et al.** Nature, 1986, vol. 321, 522-525 **[0137]**
- **DAUGHERTY et al.** Nucl. Acids Res., 1991, vol. 19,2471-2476 **[0137]**

342, 878-883 **[0122]**
• **WARD et al.** Nature, 1989, vol. 341, 544-546 **[0123]**
• **BIRD et al.** Science, 1988, vol. 242, 423-426 **[0126]**
• **HUSTON et al.** Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1988, vol. 85, 5879-5883 **[0126]**
• **KABAT et al.** Sequences of Proteins of Immunological Interest. National Institutes of Health, 1991 **[0129]**
• **CHOTHIA et al.** Nature, 1989, vol. 342, 877 **[0129]**
• **AL-LAZIKANI et al.** J. Molec. Biol., 1997, vol. 273, 927-948 **[0129]**
• **WINTER et al.** Nature, 1991, vol. 349, 293-299 **[0137]**
• **LOBUGLIO et al.** Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1989, vol. 86, 4220-4224 **[0137]**
• Remington, The Science and Practice of Pharmacy. Mack Publishing, 2000 **[0157]**
• **KARLSSON, R. ROOS ; H. FAGERSTAM ; L. PETERSSON, B.** Methods Enzymology, 1994, vol. 6, 99-110 **[0159]**
• **KARLIN ; ALTSCHUL.** Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1990, vol. 87, 2264-2268 **[0142]**
• **KARLIN ; ALTSCHUL.** Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993, vol. 90, 5873-5877 **[0142]**
• **ALTSCHUL et al.** J. Mol. Biol., 1990, vol. 215, 403-410 **[0142]**
• **ALTSCHUL et al.** Nucliec Acids Res., 1997, vol. 25, 3389-3402 **[0142]**
• **MYERS ; MILLER.** CABIOS, 1989 **[0142]**
• **TORELLIS; ROBOTTI.** Comput. Appl. Biosci., 1994,vol. 10, 3-5 **[0142]**
• **PEARSON ; LIPMAN.** Proc. Natl. Acad. Sci., 1988,vol. 85, 2444-8 **[0142]**
• Remington's Pharmaceutical Sciences. Mack Publishing Co, 1990 **[0157]**
• **KARLSSON, R. ; ROOS, H. ; FAGERSTAM, L. ; PETERSSON,B.** Methods Enzymology, 1994, vol. 6, 99-110 **[0195]**

ŞEKİLLERDEKİ YAZILARIN ANLAMLARI

ŞEKİL 1

A =Trehaloz

B =Sukroz

C = %Agregasyon

D =Süre (hafta)

ŞEKİL 2

E = %Parçalanma

ŞEKİL 3

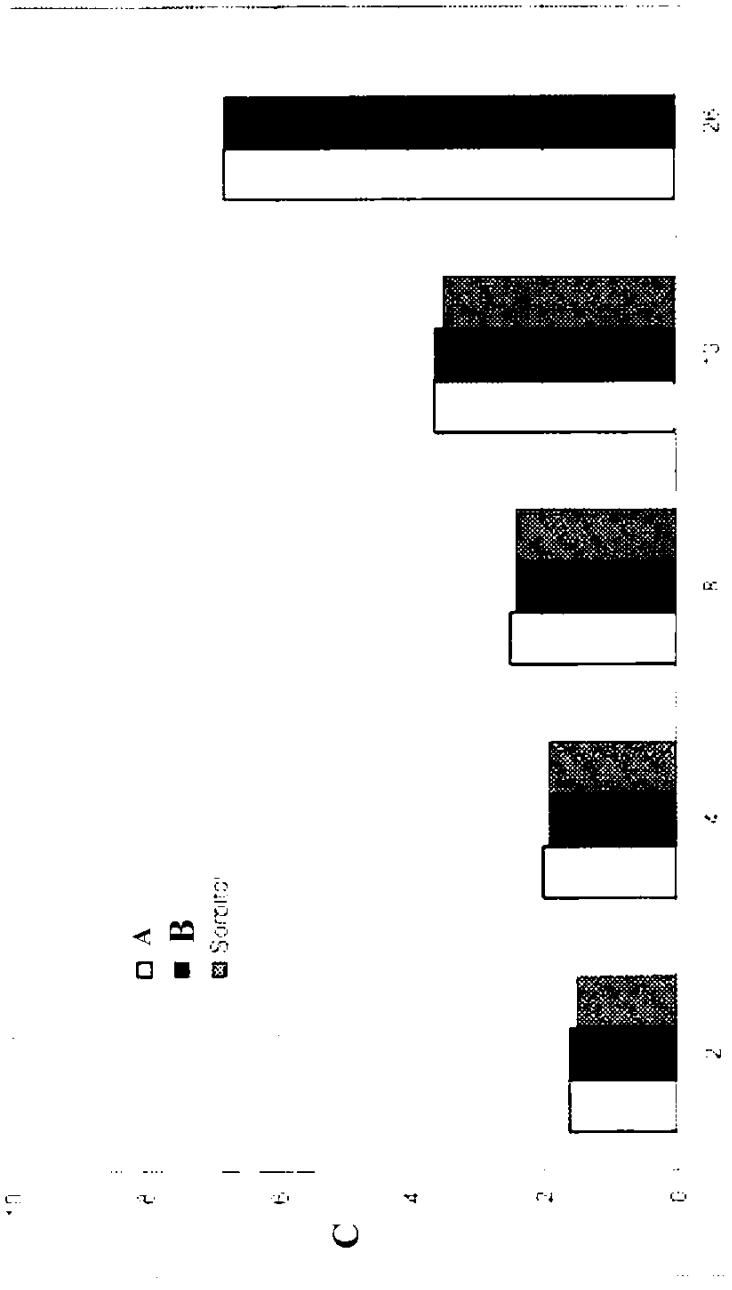
F = Dondurma eritme döngüsü

ŞEKİL 4

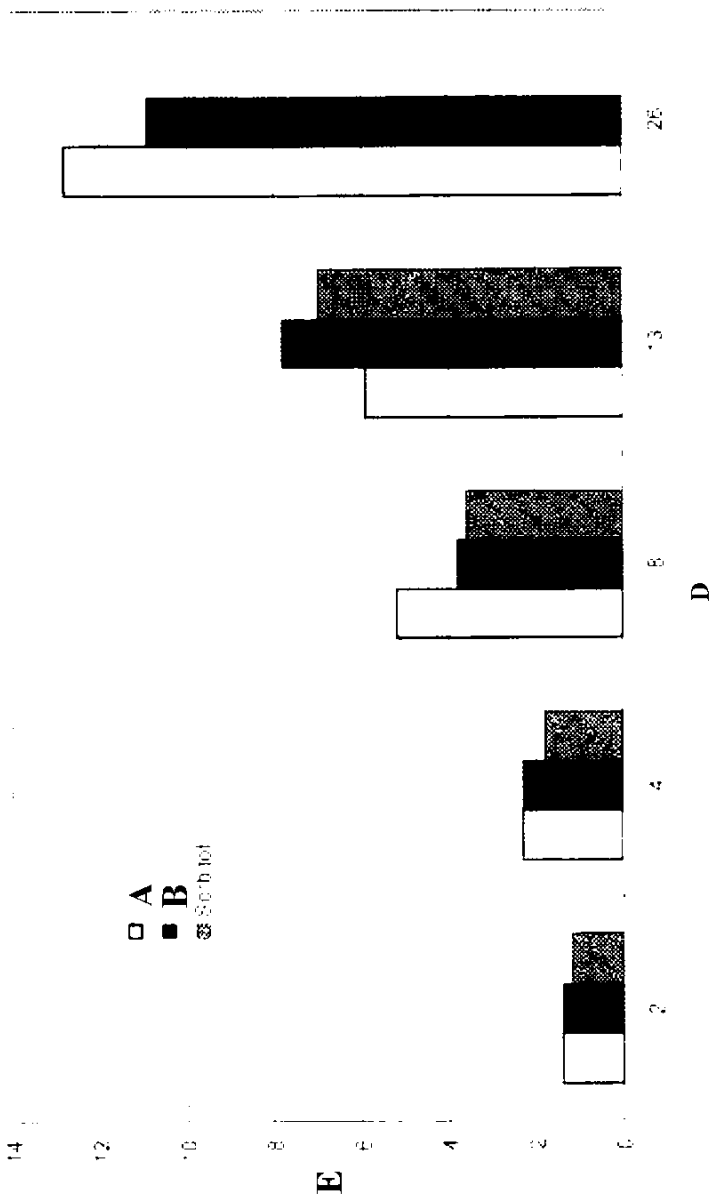
G =Ay

ŞEKİL 6

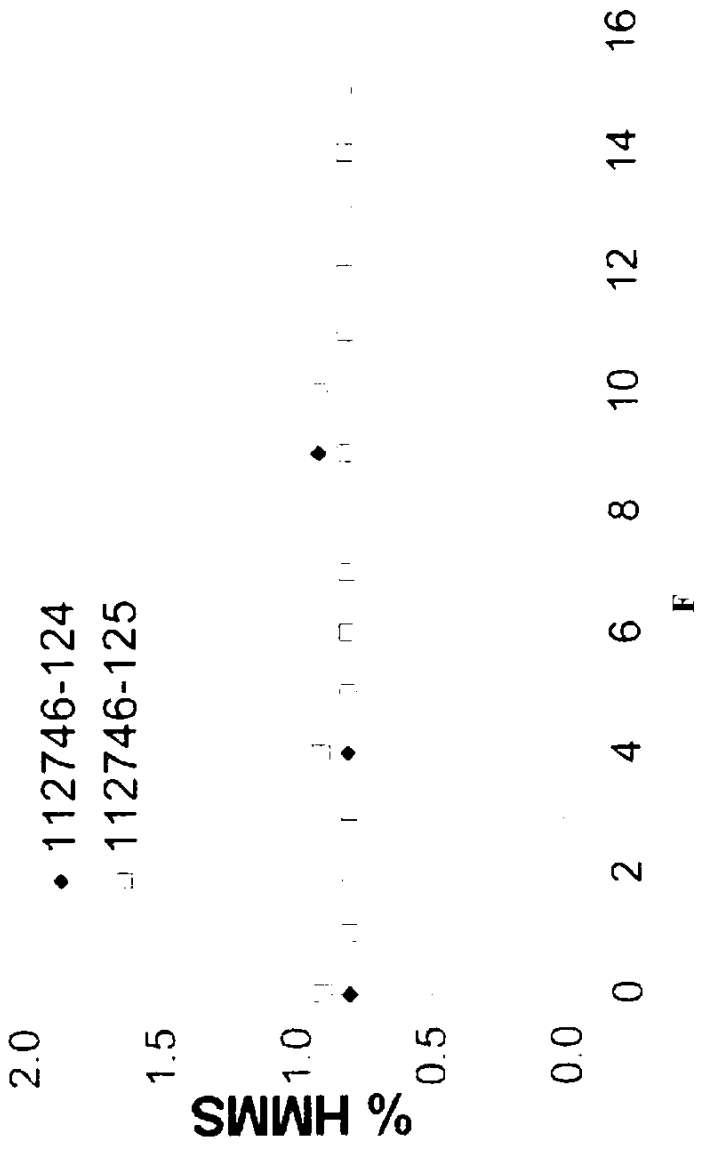
H =Oksidasyon



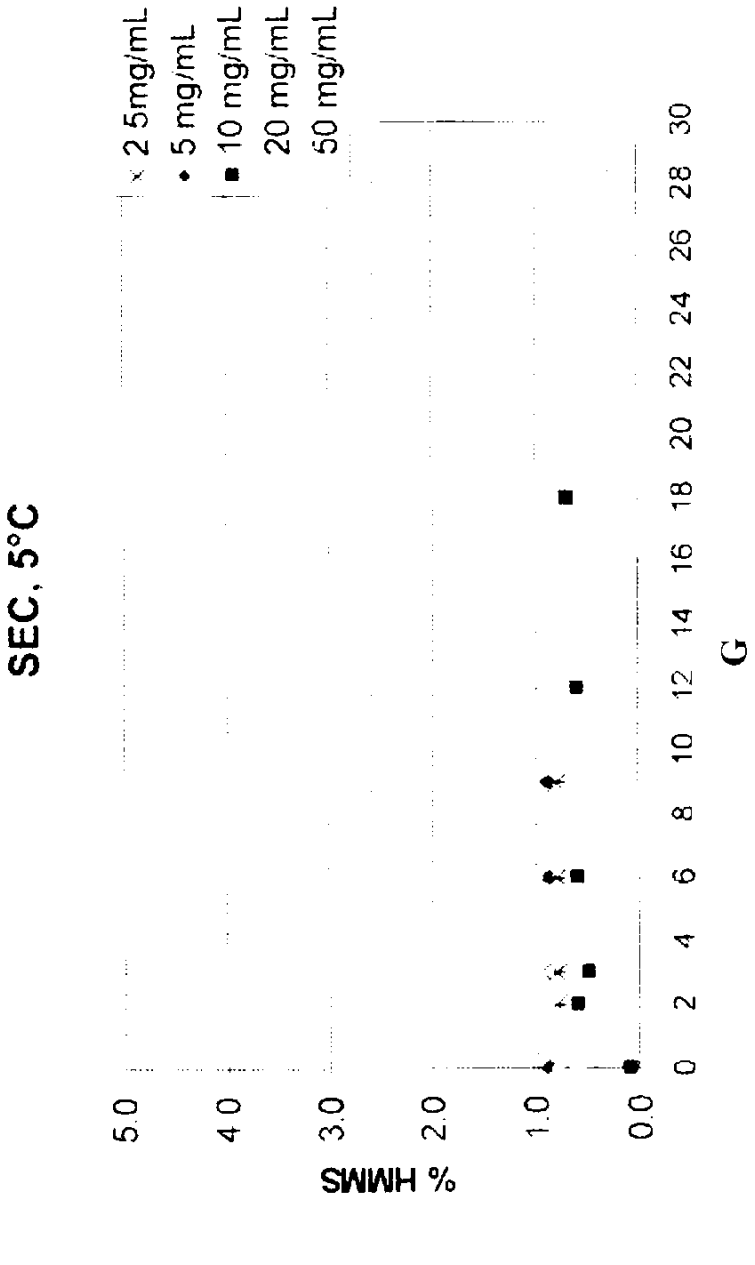
ŞEKİL 1



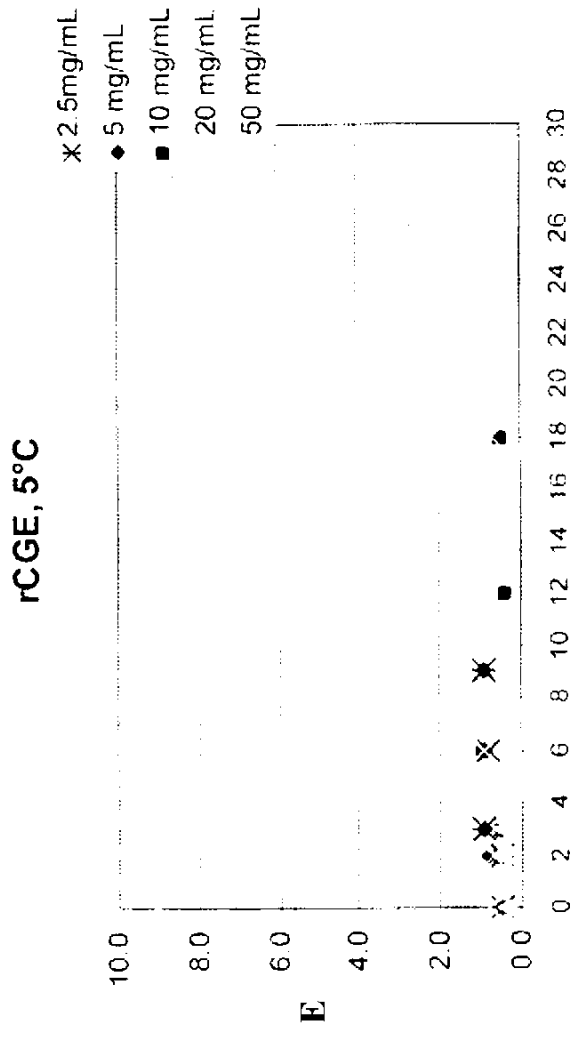
ŞEKİL 2



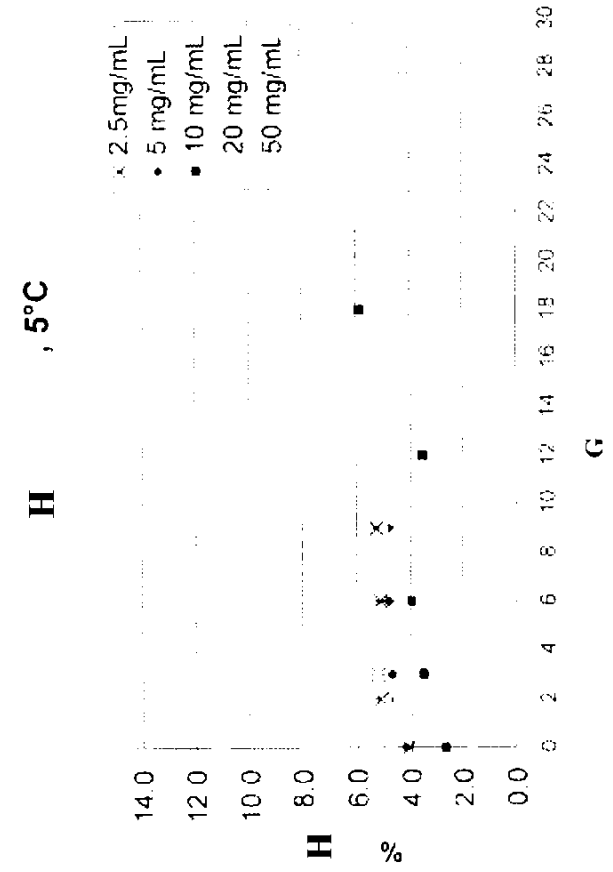
ŞEKİL 3


SEC, 5°C
2.5mg/mL
5 mg/mL
10 mg/mL
20 mg/mL
50 mg/mL
SWMH %
G
0.0
1.0
2.0
3.0
4.0
5.0
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28
30

ŞEKİL 4


rCGE, 5°C
2.5mg/mL
5 mg/mL
10 mg/mL
20 mg/mL
50 mg/mL
E
G
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30

ŞEKİL 5


H , 5°C
2.5mg/mL
5 mg/mL
10 mg/mL
20 mg/mL
50 mg/mL
H %
14.0
12.0
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30
G

ŞEKİL 6