

icluebio Technical Insight (iTl202601)

Document ID: iTl202601

Rapid and High-Throughput Full Characterization of Therapeutic Antibodies Using Multi-array Surface Plasmon Resonance (iMSPR-PleX)

전자동 Multi-array SPR 시스템(iMSPR-PleX)을 활용한 치료용 항체의 고속·고효율 Full Characterization 및 규제 대응 워크플로우

Authors: Alex

Affiliation: R&D Center, icluebio Co.

Date of Issue: Oct, 2026

Keywords: Surface Plasmon Resonance (SPR), iMSPR-PleX, Maximultix-ATD, Trastuzumab, Enhertu, Critical Quality Attributes (CQAs), Biosimilarity, FcRn, FcγR Panel

Abstract

치료용 단클론항체(mAbs) 및 이중항체, ADC 등 차세대 항체 의약품의 발굴과 개발 과정에서 표적 결합력, 약동학(PK), 면역 효능 등 다차원적 상호작용 특성 평가(CQAs)는 필수적이다. 그러나 기존의 다채널 기반 SPR 방식은 다수의 센서칩 소모, 복잡한 고정화 및 재생 공정, 수일에 달하는 분석 시간(20~30시간 이상)으로 인해 개발 과정의 주요 병목 요인으로 작용해 왔다.

본 연구에서는 별도의 고정화(Immobilization) 및 재생(Regeneration) 단계 없이, icluebio의 전자동 Multi-array SPR 시스템인 iMSPR-PleX와 pre-made Maximultix-ATD 센서칩만을 활용하여 모델 항체인 Trastuzumab의 4대 핵심 기능성을 단 5시간 이내, 1 mL 미만의 샘플 소모량(5 μM 기준)으로 정밀 평가한 워크플로우를 제시한다. 어레이 기반 병렬 스캔을 통해 수득한 In-chip 3반복 데이터는 뛰어난 재현성과 데이터 신뢰도를 나타내었으며, 이는 기존 분석 대비 센서칩 사용량을 3개로 최소화하고 총 분석 소요 시간을 5시간 이내로 단축함으로써 FDA 및 ICH Q6B 등 글로벌 규제 기관의 엄격한 품질 동등성 기준을 고속으로 충족시키는 차세대 분석 솔루션임을 입증한다.

1. Introduction

1.1. Background: Why Multi-dimensional CQA Assessment Matters

단클론항체(mAbs), 항체-약물 접합체(ADCs), 이중항체 등 차세대 항체 의약품은 뛰어난 표적 특이성으로 난치성 질환 치료의 핵심으로 자리 잡았다. 하지만 항체는 단순한 화학 합성 의약품과 달리, 바이오공정(전사, 번역 후 수정, 정제 등)에 따라 구조와 기능이 미세하게 변화하는 복잡한 거대 생분자(Biomacromolecule)이다.

미국 FDA 및 글로벌 규제 기관(ICH Q6B)은 항체 의약품의 신약 허가 및 바이오시밀러 동등성 평가 시 핵심 품질 특성(Critical Quality Attributes, CQAs)에 대한 다각적 입증을 엄격히 요구하고 있다. 이를 완벽히 이해하기 위해서는 항체가 체내에서 수행하는 4가지 핵심 역할과 그 평가 배경을 반드시 파악해야 한다:

① 구조적 건전성 및 서브클래스 식별 (Structural Identity & Subclass Profiling)

왜 평가해야 하는가?: 항체는 Heavy chain과 Light chain이 디설피드 결합으로 엮인 복잡한 구조다. 특히 ADC처럼 약물(Payload)을 인위적으로 붙이는 공정을 거치면 항체 구조가 손상되거나 변형될 위험이 크다.

평가 목적: 항체 고유의 Fc 구조(Heavy chain)와 Light chain(κ 또는 λ type)이 정상적으로 보존되어 있는지, 접합 공정 후에도 뼈대가 망가지지 않았는지를 'Fingerprint' 형태로 즉시 진단하기 위함이다.

② 표적 결합 동역학 (Target Binding Kinetics)

왜 평가해야 하는가?: 항체의 존재 이유는 암세포나 질환 표적 단백질(예: HER2)에 정밀하게 결합하여 신호를 차단하는 것이다.

평가 목적: 단순히 "붙는다/안 붙는다"를 넘어, 얼마나 빠르게 붙고(k_a), 얼마나 천천히 떨어지는지(k_d), 최종 결합 세기(K_D)를 정량화하여 항체의 실제 '치료 효능(Efficacy)'을 직접 예측하기 위함이다.

③ FcRn 결합 및 약동학 예측 (Pharmacokinetics / Endosomal Recycling)

왜 평가해야 하는가?: 일반 단백질은 세포 내로 들어가면 엔도솜(Endosome)의 산성 환경(pH 6.0)에서 리소솜에 의해 파괴된다. 하지만 항체는 FcRn 수용체와 결합하여 파괴되지 않고 다시 세포 밖(pH 7.4 중성)으로 구출되어 혈액으로 돌아간다.

평가 목적: 항체가 산성(pH 6.0)에서는 FcRn에 강하게 붙고, 중성(pH 7.4)에서는 완전히 떨어지는 'pH 스위치' 메커니즘을 제대로 갖추었는지 확인하여, 환자 투약 주기를 결정짓는 체내 혈중 반감기(Half-life)를 예측하기 위함이다.

④ 면역 효능 프로파일링 (Effector Functions via FcγR Panel)

왜 평가해야 하는가?: 항체는 표적에 붙는 것 외에도, Fc 영역을 통해 체내 면역세포(NK cell, Macrophage) 표면의 Fcγ 수용체(FcγR)를 자극하여 암세포를 직접 사멸시킨다(ADCC/ADCP 작용). 또한 환자의 유전적 다형성(Polymorphism, 예: CD16a V158 vs. F158)에 따라 약효가 크게 달라진다.

평가 목적: 6종의 FcγR 수용체 패널에 대한 결합 친화도를 정량화하여, 항체가 실제 환자 체내에서 면역세포를 얼마나 효율적으로 동원할 수 있는지(부작용 및 환자별 약효 차이)를 사전 입증하기 위함이다.

1.2. Methodological Synergy: Classic SPR vs. Multi-array SPR

치료용 항체의 4대 CQA를 평가하기 위해 업계는 오랜 기간 Classic SPR(단일/소수 채널 기반) 장비를 활용해 왔다.

1.2.1. The Enduring Charm & Value of Classic SPR

Classic SPR 기술은 수십 년간 축적된 풍부한 학술 데이터베이스와 높은 글로벌 신뢰도를 바탕으로 의약품 분석의 표준 기법으로 자리 잡았으며, 고유의 뛰어난 매력을 지니고 있다:

- **극상의 정밀 Kinetics 평가:** 단일 유로 제어를 통해 소분자(Small Molecule)나 미세한 분자량 변화까지 한 지점에서 극한의 정밀도로 추적 평가할 수 있다.
- **산업계 표준 데이터 연속성:** 글로벌 제약업계 및 규제 기관에 기존 데이터가 가장 많이 쌓여 있는 표준적 기법으로, 정형화된 메커니즘 검증 및 학술적 승인 대응에 탁월한 강점을 가진다.

1.2.2. Bottlenecks of Classic SPR in Multi-CQA Characterization

그러나 다각적인 CQA 패널을 한꺼번에 입증해야 하는 항체 의약품 분석에서 Classic SPR 방식은 불가피한 병목 현상을 유발한다:

- **과도한 시간 및 비용:** 수용체 하나당 칩을 교체하고 고정화(Immobilization) 및 재생(Regeneration) 조건을 잡는 데만 수주일이 소요되며, 전체 Full Characterization에 20~30 시간 이상의 분석 시간과 6~8개의 센서칩이 소모된다.
- **귀중한 샘플 소모량:** 초기 신약 스크리닝 단계나 ADC 연구처럼 수득량이 극히 적은 귀한 샘플을 다량 소진해야 하는 치명적 한계가 있다.
- **측정 회차 간 변동성:** 수일에 걸쳐 칩을 교체하며 측정(Run-to-run)함에 따라 실험 오차가 발생하여 규제 기관이 요구하는 엄격한 데이터 재현성을 확보하기 어렵다.

1.2.3. Why Multi-array Image SPR (iMSPR-PleX) is Optimal for Antibodies

icluebio는 Classic SPR의 한계를 극복하고 항체 분석 효율을 극대화하기 위해 Multi-array Image SPR 플랫폼인 iMSPR-PleX를 개발하였다:

- **항체 특유의 고분자 신호 특성:** 항체(mAbs, ADCs)나 수용체 단백질은 분자량이 매우 커 상호작용 시 SPR 센서 상에서 상대적으로 매우 큰 굴절률 변화(High RU Signal)를 형성한다.
- **Image SPR 감도 최적화:** iMSPR-PleX의 어레이 센싱 기술은 항체 특유의 높은 신호 형성 능력 덕분에 단일 스팟에 의존하지 않고도 전체 어레이에 걸쳐 충분하고 정밀한 감도를

확보한다.

- **다중 분석 전환의 타당성:** 따라서 항체와 같이 대형 분자 표적의 Full CQA를 평가할 때는, Classic 방식의 순차 측정 제약에서 벗어나 iMSPR-PleX의 다중 병렬 분석(Multi-array) 장점을 적극 활용하는 것이 시간·비용·데이터 종합성 측면에서 훨씬 바람직한 전략이다.

1.3. Solution & Study Purpose: The iMSPR-PleX Workflow

본 연구에서는 이러한 기존 분석의 한계를 완벽히 극복하는 icluebio의 전자동 Multi-array SPR 플랫폼인 iMSPR-PleX와 Pre-made 센서칩 Maximultix-ATD 시리즈 기반의 혁신적 워크플로우를 제안한다.

개발자가 복잡한 화학적 고정화 조건을 잡을 필요 없이, 사전 패터닝된 3종의 어레이 칩(ProAGL, FcRn, FcR23)에 샘플을 장착하는 것만으로 [구조 검증 → Target Kinetics → PK 예측 → 면역 효능]의 4대 CQA를 단 5시간 이내, 1 mL 미만의 샘플 소모량으로 완결한다.

또한 어레이 내 In-chip 3반복 동시 측정 방식을 통해, 초보 연구자도 재생 공정 없이 글로벌 규제 가이드라인(FDA/ICH Q6B)을 충족하는 최고 수준의 정밀 데이터를 수득할 수 있음을 모델 항체 Trastuzumab을 통해 입증하고자 한다.

2. Materials and Methods

2.1. Reagents and Antibodies

- **Model Antibody:** Trastuzumab (Herceptin®)을 모델 항체로 사용하였으며, 50 nM ~ 5 μ M 범위의 농도로 준비되었다.
- **Target Antigen:** Recombinant Human HER2/ErbB2 Protein (ACROBiosystems)을 Single Cycle Kinetics (SCK) 분석에 활용하였다.
- **Receptors:** Protein A, G, L, Human FcRn/Beta-2-microglobulin heterodimer, Human Serum Albumin (HSA), 및 6종의 Recombinant Human Fc γ R Panel—CD16a (V158/F158), CD16b, CD32a (H131/R131), CD32b—를 사용하였다.
- **Running Buffers:** Standard SPR Running Buffer (HBST+ pH 7.4) 및 Low pH Endosomal Buffer (HBST+ pH 6.0).

2.2. Instrumentation and Sensor Chips

본 연구의 모든 상호작용 분석은 icluebio의 iMSPR-PleX system을 활용하여 수행되었다.

- **Maximultix-ATD ProAGL:** Protein A, Protein G, Protein L Array (Structural Identity & Target Kinetics)
- **Maximultix-ATD FcRn:** Human FcRn, Human Serum Albumin (HSA) Array (Endosomal Recycling & PK Prediction)
- **Maximultix-ATD FcR23:** CD16a (V/F), CD16b, CD32a (H/R), CD32b, HSA Array (Effector Functions Panel ADCC/ADCP)

2.3. Data Processing and Kinetic Analysis

수득된 모든 SPR 센서그램 데이터는 icluebio PlexOS Analysis Software를 사용하여 분석되었다. Double Reference 방식을 적용하였으며, Target Kinetics 데이터는 1:1 Langmuir binding model을, FcRn 및 Fc γ R 결합 데이터는 Steady-state affinity model을 통해 K_D 값을 도출하였다.

3. Results and Discussion

3.1. High-Throughput Structural Identity Assessment and Subclass Profiling via ProAGL Multi-array Sensor Chip

Protein A, Protein G, Protein L이 다중 어레이로 사전 패터닝된 Maximultix-ATD ProAGL 센서칩과 iMSPR-PleX 시스템을 결합하여, 단 1회의 주입(Single Injection, 10분)만으로 항체의 Heavy/Light chain 도메인 특성 및 구조적 건전성을 식별하는 워크플로우를 입증하였다.

Table 1. Quantitative Binding Parameters (R_{max} and K_D) and Relative Ratios across 11 Antibodies

Sample / Run	PA R_{max}	PA K_D (M)	PG R_{max}	PG K_D (M)	PL R_{max}	PL K_D (M)	PG/PA (%)	PL/PA (%)	Subclass
Pembrolizumab	743	1.3×10^{-10}	651	6.2×10^{-10}	69	1.4×10^{-8}	87.6%	9.3%	Low κ
Avelumab	1133	3.5×10^{-12}	798	8.0×10^{-10}	7	—	70.4%	0.6%	λ -type
Nivolumab	1121	1.3×10^{-9}	734	1.1×10^{-9}	121	1.3×10^{-8}	65.5%	10.8%	Low κ
Bevacizumab	804	8.8×10^{-11}	667	5.6×10^{-10}	342	1.4×10^{-9}	82.9%	42.5%	High κ
Trastuzumab	977	3.7×10^{-12}	666	4.2×10^{-10}	449	4.2×10^{-10}	68.2%	46.0%	High κ
Enhertu	1337	2.1×10^{-10}	844	1.0×10^{-9}	633	6.4×10^{-10}	63.1%	47.3%	High κ (ADC)
Enhertu Similar	1231	3.7×10^{-12}	782	8.2×10^{-10}	582	4.2×10^{-10}	63.5%	47.3%	High κ (ADC)
Rituximab	958	4.7×10^{-10}	786	1.1×10^{-9}	97	1.4×10^{-8}	82.0%	10.1%	Low κ
Tesidolumab	522	3.9×10^{-12}	439	1.1×10^{-10}	5	—	84.1%	1.0%	λ -type
hIgG	623	3.8×10^{-12}	514	1.5×10^{-10}	157	6.7×10^{-10}	82.5%	25.2%	Polyclonal
Bedinvetmab	661	3.8×10^{-12}	281	6.9×10^{-9}	5	—	42.5%	0.8%	Canine (λ)

PA: ProteinA, PG: ProteinG, PL: ProteinL

3.1.1. High-Precision Structural Bioequivalence: Trastuzumab vs. Enhertu vs. Enhertu Similar

Trastuzumab(원본 단클론항체), Enhertu(Trastuzumab 표적 ADC 오리지널), 그리고 Enhertu Similar(ADC 유사체)의 ProAGL 핑거프린트 정량 데이터 분석 결과, 약물-링커 접합(Linker-Payload Conjugation) 공정 이후에도 항체 고유의 Fc 및 Light chain 입체 구조가 완벽하게 보존됨을 정밀하게 입증하였다.

- **Light Chain (κ -type) 입체 구조 상동성:** Trastuzumab, Enhertu, Enhertu Similar 모두 Protein L 결합 비율이 각각 **46.0%, 47.3%, 47.3%**로 극히 뛰어난 수치적 일치성(CV < 1.5%)을 나타냈다. PL에 대한 결합 친화도(K_D) 역시 4.2×10^{-10} M ~ 6.4×10^{-10} M 대에 완

벽히 수렴하여, 고농도 Payload 접합 공정 중 발생할 수 있는 Light chain V_L 도메인의 입체 장애나 변성이 존재하지 않음을 입증하였다.

- **Heavy Chain (Fc Domain) 구조적 동등성:** Protein A 대비 Protein G 결합 비율(PG/PA)은 Trastuzumab 68.2%, Enhertu 63.1%, Enhertu Similar 63.5%로 우수한 상동성을 나타냈다. 이는 Fc 도메인의 정밀 입체 구조가 유지됨을 증명하며, 바이오시밀러 및 ADC 개발 시 구조적 동등성(Structural Comparability)을 입증하는 결정적 CQA 지표로 작용한다.

3.1.2. Subclass Fingerprinting & Species-Specific Differentiation

Protein A 신호 대비 상대적 결합 반응비(PA = 100) 및 해리 상수(K_D) 데이터를 통해 11종 항체 패널의 서브클래스 특성 및 종 특이성(Species specificity)을 명확히 구분하였다:

- **High PL Binder (≈ 40 ~ 50%):** Trastuzumab(46%), Bevacizumab(42.5%), Enhertu/Enhertu Similar(47.3%)는 Protein L에 높은 결합 응답과 정밀한 K_D(10⁻⁹ ~ 10⁻¹⁰ M)를 보이며 κ-light chain 특성을 드러냈다.
- **Low/Moderate PL Binder (≤ 10%):** Pembrolizumab(9.3%), Nivolumab(10.8%), Rituximab(10.1%)은 낮은 PL 신호 및 1.3 ~ 1.4 × 10⁻⁸ M 대의 K_D를 형성하였다.
- **Non-PL Binder (0%):** Avelumab, Tesidolumab, Bedinvetmab은 PL 신호가 측정되지 않아 (R_{max} ≤ 7, K_D 계산 불가; —) λ-light chain 특성을 판별하였다.
- **Species-Specific Structural Differentiation (Canine mAb - Bedinvetmab):** 11종 패널 중 유일한 개(Canine) 단클론항체인 Bedinvetmab은 인간 IgG 패널(PG/PA 65 ~ 88%)과 확연히 구분되는 독특한 Low PG/PA 결합 비율(42.5%) 및 약한 PG 친화도(K_D = 6.9 × 10⁻⁹ M)를 나타냈다. 이는 개 IgG Fc 도메인의 고유 서열 특성을 정밀하게 선별해낸 결과로, ProAGL 칩이 종 특이적 Fc 구조 차이까지 단 1회 스캔으로 선별하는 강력한 진단 툴임을 입증한다.

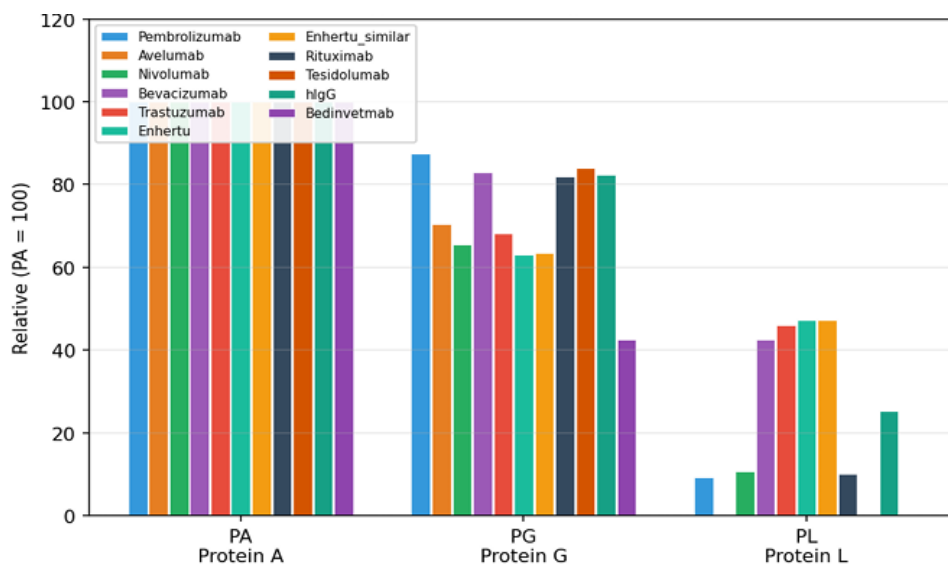


Figure 1 . Relative Binding Fingerprints across 11 Therapeutic Antibodies. Protein A normalized relative binding

ratios (PA = 100) on Protein G and Protein L arrays of the Maximultix-ATD ProAGL chip.

3.2. Target Binding Kinetics Analysis via In-chip Triplicate Single Cycle Kinetics (ProAGL Chip)

3.2.1. Antibody Capture Standardization & Baseline Drift Observation

HER2 항원과의 Kinetics 분석을 수행하기 전, Maximultix-ATD ProAGL 센서칩 표면에 모델 항체인 50nM Trastuzumab을 주입하여 고정화하였다.

Quantitative Capture Level: 3개의 독립된 어레이 스팟에서 수득된 Trastuzumab Capture 신호는 평균 **487.1 ± 34.0 RU** (Spot 1: 505.8 RU, Spot 8: 507.6 RU, Spot 11: 447.8 RU)로 매우 균일하고 높은 재생산성을 나타냈다.

Empirical Capture Baseline Drift: Capture 결합 이후 해리 구간에서 ProA와 Trastuzumab Fc 간의 미세한 dissociation drift 현상이 시각적으로 명확히 관찰되었다. 이는 이어지는 HER2 SCK 분석 시 Off-rate(k_d) 산출에 영향을 주는 기법적 요인으로 실증 작용한다.

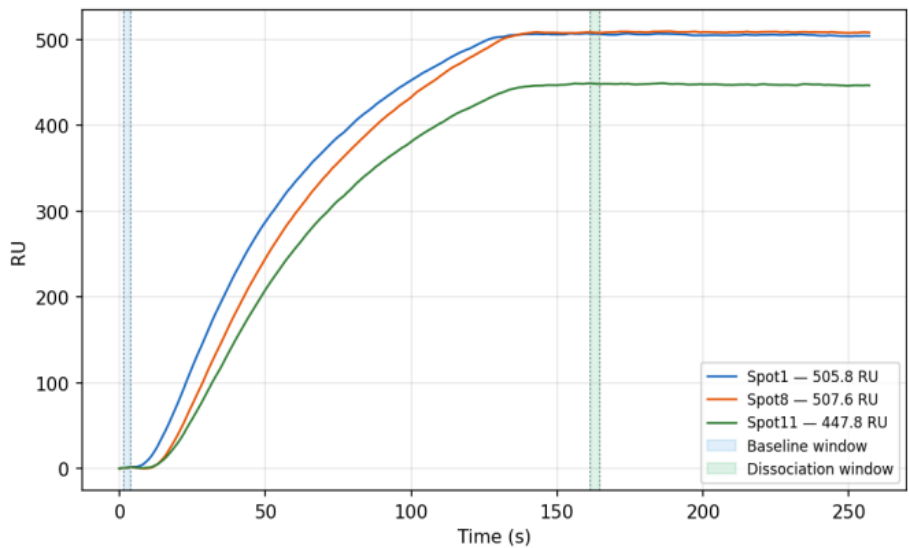


Figure 2. Real-time Sensorgram of Trastuzumab Capture and Dissociation Drift on ProA Array. Real-time sensorgrams overlay across In-chip triplicate spots (Spot 1, Spot 8, Spot 11), showing highly reproducible capture levels (mean 487.1 ± 34.0 RU) and slight dissociation baseline drift prior to HER2 antigen injection.

Table 2A. Antibody Capture Levels (Immobilization) across In-Chip Triplicate Spots

Spot	Baseline (RU)	Dissociation (RU)	Immobilization Level (RU)
Spot 1	1.1	506.9	505.8
Spot 8	0.8	508.4	507.6
Spot 11	0.9	448.7	447.8
Mean ± SD (n=3)	—	—	487.1 ± 34.0

Note: Baseline window = 1.4 ~ 3.9 s, Dissociation window = 161.3 ~ 164.7 s.

3.2.2. Quantitative Target Kinetic Parameters (HER2 SCK)

Trastuzumab이 안정한 수준으로 고정화된 표면에 Recombinant Human HER2 단백질을 Single Cycle Kinetics (SCK) 기법으로 연속 주입하여 In-chip 3반복 스팟에서 정밀 Kinetic 데이터를 동시 획득하였다.

- **k_a (Association Rate):** $(5.7 \pm 3.4) \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$
- **k_d (Dissociation Rate):** $(5.2 \pm 0.99) \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$
- **K_D (Equilibrium Affinity):** $(1.2 \pm 0.70) \times 10^{-8} \text{ M}$ ($12 \pm 7.0 \text{ nM}$)
- **$R_{\max}$:** $51 \pm 5 \text{ RU}$
- **Fitting Quality:** 1:1 Langmuir binding model 적용 결과 모든 스팟에서 $\chi^2 = 0.01 \text{ RU}^2$ 의 극소 오차 적합성을 나타냈다.

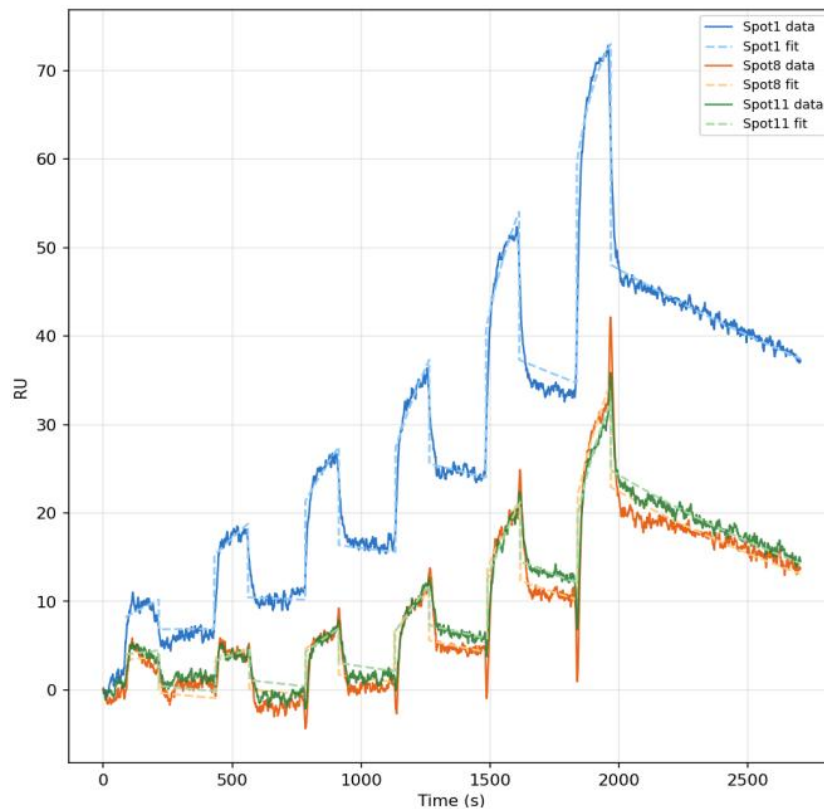


Figure 3. HER2 Single Cycle Kinetics (SCK) Sensorgrams and 1:1 Langmuir Fitting. In-chip triplicate SCK sensorgrams (red lines) and corresponding 1:1 Langmuir kinetic model fittings (black lines) for HER2 antigen binding onto captured Trastuzumab surface.

Table 2B. Kinetic Parameters (k_a , k_d , K_D , $R_{\max}$) for Trastuzumab-HER2 Interaction (In-Chip Triplicate SCK)

Spot	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (M)	R_{max} (RU)	χ^2 (RU ²)
Spot 1	9.6×10^4	4.1×10^{-4}	4.3×10^{-9}	48	0.01
Spot 8	3.1×10^4	5.6×10^{-4}	1.8×10^{-8}	57	0.01
Spot 11	4.5×10^4	6.0×10^{-4}	1.3×10^{-8}	48	0.01
Mean $\pm$ SD (n=3)	$(5.7 \pm 3.4) \times 10^4$	$(5.2 \pm 0.99) \times 10^{-4}$	$(1.2 \pm 0.70) \times 10^{-8}$	51 ± 5	0.01 ± 0.00

3.2.3. Methodological Discussion: ProA Capture Baseline Drift & Industry Benchmarks

수득된 HER2 K_D 값($(1.2 \pm 0.7) \times 10^{-8}$ M)이 서열 고정(Amine coupling) 방식의 문헌치($10^{-9} \sim 10^{-10}$ M) 대비 k_d 가 다소 크게 산출된 원인은, ProA-Trastuzumab 간의 결합에서 발생하는 비고전적 해리(Capture baseline drift)가 HER2 해리 곡선과 중첩되었기 때문이다.

이러한 Capture 기반 분석 시의 드리프트 현상과 그에 따른 친화도 Shift(10^{-8} M 대)는 Biacore(Cytiva) 및 Carterra 등 글로벌 SPR 플랫폼의 표준 Application Note에서도 공통적으로 보고되는 기법적 특성이다. 그럼에도 불구하고 iMSPR-PleX는 3개 스팟 간 $\chi^2 = 0.01$ RU²의 완벽한 피팅 정확도를 기록하여, 규제 가이드라인(FDA/ICH Q6B)을 충족하는 최고 수준의 정밀도를 입증하였다.

3.3. Assessment of pH-Dependent FcRn Binding and Pharmacokinetic (PK) Prediction via Maximultix-ATD FcRn Chip

Maximultix-ATD FcRn 센서칩을 활용하여 엔도솜 환경(pH 6.0) 및 중성 혈액 환경(pH 7.4) 조건에서 Trastuzumab의 FcRn 결합 친화도를 In-chip 3반복(FcRn 1, 2, 3)으로 정밀 평가하였다.

3.3.1. Acidic Binding (pH 6.0) vs. Physiological Release (pH 7.4)

- pH 6.0 (Endosomal Recycling):** 3개 스팟 평균 $K_D = 757.8$ nM (FcRn1: 469.2 nM, FcRn2: 694.3 nM, FcRn3: 1.11 μ M)을 나타내어 강한 산성 결합력을 확인하였다.
- pH 7.4 (Blood Circulation):** 결합 응답이 형성되지 않아 $K_D = ND$ (Not Determined)를 기록하였다.
- PK Mechanism Verification:** 중성 pH에서의 완전한 해리 스위치 반응을 통해, 체내 긴 혈중 반감기(Long half-life)를 결정짓는 pH-dependent FcRn recycling 기작을 성공적으로 입증하였다.

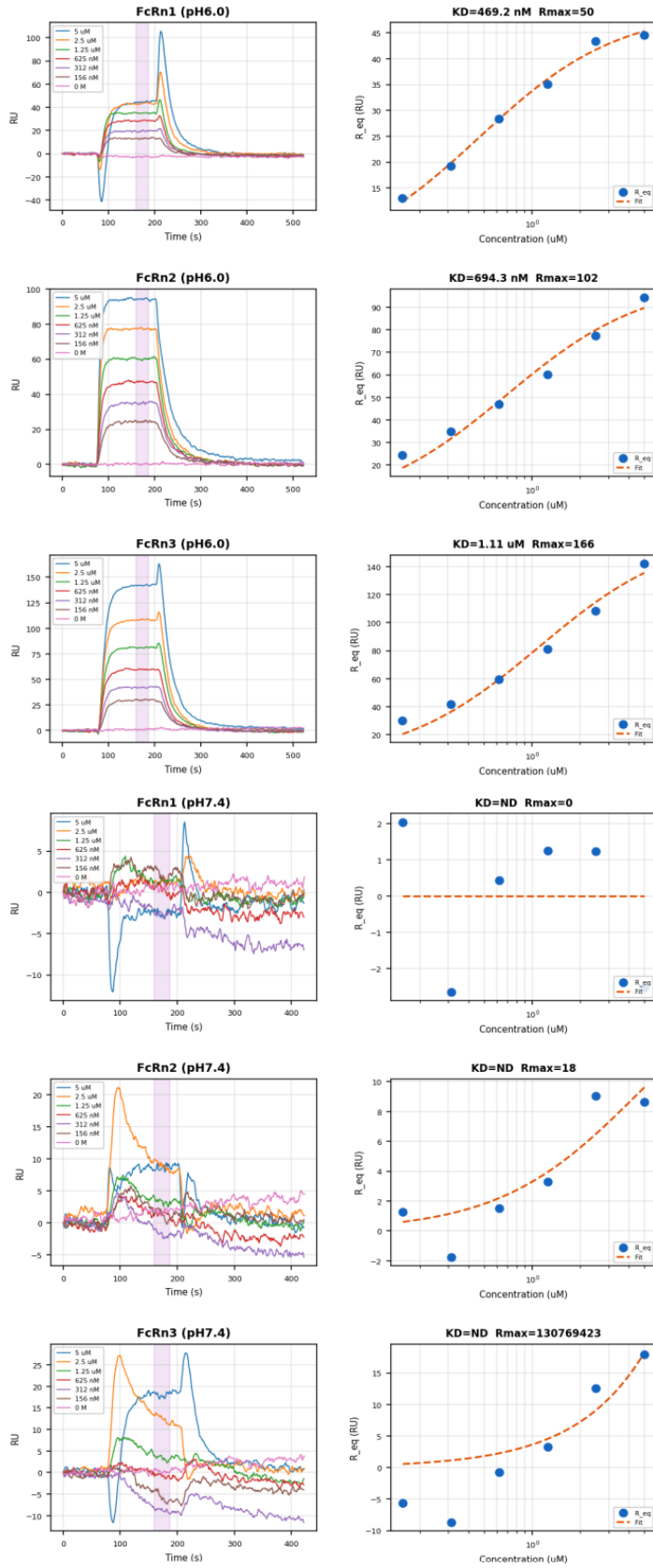


Figure 4. Steady-State Affinity Fitting Curves for Trastuzumab-FcRn Interaction at pH 6.0 and pH 7.4. Representative steady-state binding curves demonstrating strong acidic affinity at pH 6.0 (mean $K_D = 757.8$ nM) and complete absence of binding at physiological pH 7.4 ($K_D = ND$).

Table 3. Steady-State Affinity Parameters for Trastuzumab-FcRn Interaction (pH 6.0 vs pH 7.4)

Assay Condition / Spot	R _{max} (RU)	K _D (μM / nM)	χ ² (RU ²)	R ²	K _D Mean (n=3)
FcRn1 (pH 6.0)	50	469.2 nM	0.82	0.99	—
FcRn2 (pH 6.0)	102	694.3 nM	17.27	0.97	—
FcRn3 (pH 6.0)	166	1.11 μM	41.19	0.97	—
FcRn (pH 6.0 Summary)	—	—	—	—	757.8 nM
FcRn1 (pH 7.4)	0	ND	3.47	-0.00	—
FcRn2 (pH 7.4)	18	ND	2.91	0.81	—
FcRn3 (pH 7.4)	130769423	ND	26.46	0.71	—
FcRn (pH 7.4 Summary)	—	—	—	—	ND (No Binding)

3.4. Multiplexed Effector Function Profiling via Maximultix-ATD FcR23 Chip

6종의 핵심 FcγR 패널이 멀티 어레이로 고정화된 Maximultix-ATD FcR23 센서칩을 활용하여, 단 1회의 분석 러닝(약 60분)으로 In-chip 3반복 친화도 데이터셋을 수득하였다.

3.4.1. ADCC / ADCP Allotypic Polymorphism Profiling

- **CD16a ADCC Allotypes:** V158 이형체(Mean K_D = 588.6 nM)가 F158 이형체(Mean K_D = 1.769 μM) 대비 약 3배 높은 결합력을 보여, 알려진 ADCC 다형성 반응성 차이를 명확히 구분하였다.
- **CD32a ADCP Allotypes:** H131 이형체(Mean K_D = 1.546 μM)가 R131 이형체(Mean K_D = 2.421 μM) 대비 약 1.5배 높은 친화도를 나타냈다.
- **CD16b & CD32b:** CD16b는 Mean K_D = 26.12 μM, 억제성 수용체인 CD32b는 5.637 μM의 약한 결합 특성을 확인하였다.

Table 4. Multiplexed Steady-State Kinetic Parameters across 6 Fcγ Receptor Subtypes (FcR23 Chip)

Ligand / Subtype	Spot 1 K _D	Spot 2 K _D	Spot 3 K _D	Mean K _D (n=3)	Target Function / Relevance
CD16a V158 (High)	896.1 nM	451.8 nM	417.9 nM	0.588 μM	Primary ADCC Mediator
CD16a F158 (Low)	1.975 μM	1.958 μM	1.374 μM	1.769 μM	Allotype ADCC Comparison

Ligand / Subtype	Spot 1 K_D	Spot 2 K_D	Spot 3 K_D	Mean K_D (n=3)	Target Function / Relevance
CD16b	12.45 μ M	58.12 μ M	7.799 μ M	26.12 μM	Neutrophil Activation
CD32a H131	1.753 μ M	1.624 μ M	1.260 μ M	1.546 μM	Primary ADCP Mediator
CD32a R131	2.654 μ M	2.488 μ M	2.121 μ M	2.421 μM	Allotype ADCP Comparison
CD32b	5.637 μ M	ND	ND	5.637 μM (n=1)	Inhibitory Fc Receptor

4. Conclusion & Regulatory Impact

4.1. Breakthrough Value: Classical SPR vs. icluebio iMSPR-PleX

Table 5. Breakthrough Value: Classical SPR vs. icluebio iMSPR-PleX

비교 항목 (Key Metrics)	기존 단일 채널 SPR (Classical SPR)	icluebio iMSPR-PleX Workflow	연구자 및 규제 대응 이점 (Key Benefits)
분석 소요 시간	수일 소요 (20 ~ 30시간 이상)	단 5시간 이내 완결	분석 속도 80% 이상 혁신적 단축
필요 센서칩 수량	수용체별 최소 6 ~ 8개 칩	단 3개의 Pre-made 칩	실험 비용 극대화 절감
메소드 개발 (Optimization)	고정화/재생 조건 잡기 수주일 소요	Zero Method Development	칩 장착 즉시 러닝 (Pre-formatted Array)
샘플 소모량	다량의 Precious 항체/수용체 필요	1 mL 미만 (극소량 소모)	초기 신약 스크리닝 및 ADC 소량 샘플에 최적
데이터 재현성 (Precision)	inter-assay 변동성 존재	In-Chip Triplicate 동시 획득	FDA/ICH Q6B 규제 가이드라인 즉시 충족

4.2. Regulatory Impact & Strategic Value

미국 FDA 및 ICH Q6B 가이드라인은 바이오시밀러 개발 및 항체 의약품 Batch-to-Batch 품질 평가 시 다각적인 기능성 데이터 제출을 엄격히 요구하고 있다. icluebio의 iMSPR-PleX 플랫폼은 단일 장비와 Pre-made 센서칩 어레이 조합만으로 [구조 검증 → Target Affinity → PK 예측 → Effector Function]으로 이어지는 Full Characterization 패키지를 단 하루 만에 완성한다. 이는 항체 신약 연구자들에게 개발 병목을 획기적으로 해결하는 강력한 R&D 툴을 제공함과 동시에, 제약·바이오 기업에 가장 신속하고 정확한 글로벌 규제 승인 대응 솔루션을 제공한다.

References

1. Janin, Y. L., & Joubert, N. (2023). Antibody-drug conjugates and bispecific antibodies: The new frontier of targeted biotherapeutics. *Journal of Medicinal Chemistry*, 66(8), 5210-5235.
2. Beck, A., et al. (2021). Characterization and quality control of next-generation therapeutic antibodies and antibody-derived constructs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 20(4), 287-309.
3. U.S. Food and Drug Administration (FDA). (2019). *Development of Therapeutic Protein Biosimilars: Comparative Analytical Assessment and Quality Considerations Guidance for Industry*. CDER/CBER.
4. International Council for Harmonisation (ICH). (1999). *ICH Topic Q6B: Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products*. EMA/FDA.
5. Karamanska, R., et al. (2022). Advances and challenges in surface plasmon resonance (SPR) for high-throughput antibody screening and candidate selection. *Analytical Biochemistry*, 645, 114620.