



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0035260

(51)¹⁹ C07K 16/24; A61K 39/395

(13) B

(21) 1-2019-07319

(22) 24/05/2018

(86) PCT/IB2018/053683 24/05/2018

(87) WO 2018/215964 A1 29/11/2018

(30) 62/511,441 26/05/2017 US

(45) 25/04/2023 421

(43) 25/06/2020 387ASC

(73) GLAXOSMITHKLINE INTELLECTUAL PROPERTY DEVELOPMENT
LIMITED (GB)

980 Great West Road, Brentford, Middlesex TW8 9GS, United Kingdom

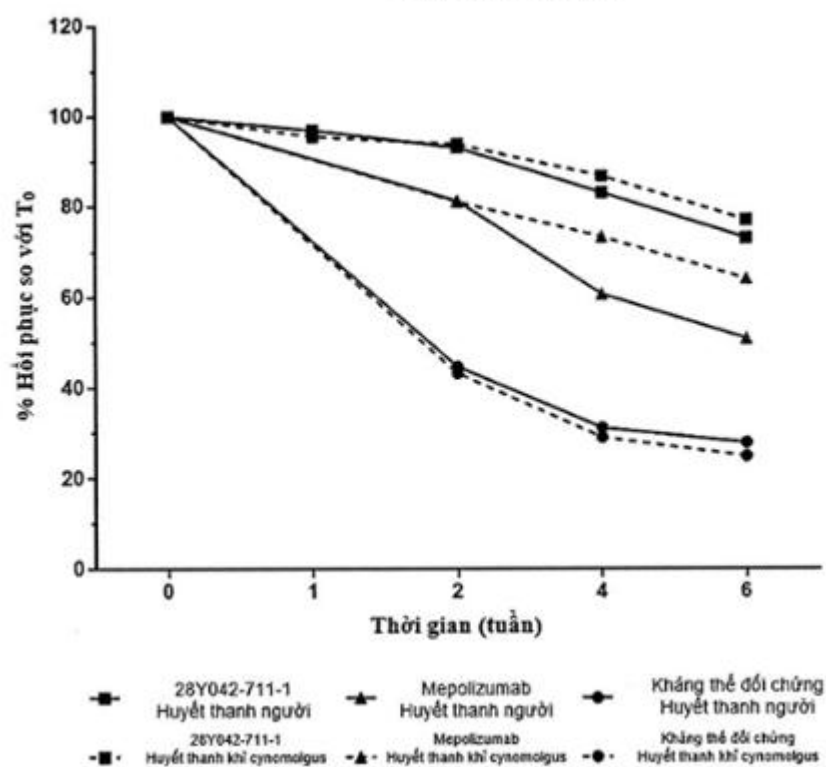
(72) GRANT, Steven (GB); AKINSEYE, Chika (GB); BHINDER, Tejinder (GB);
HOOK, Laura (GB); LEWIS, Alan Peter (GB); ORECCHIA, Martin (GB).

(74) Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD)

(54) PROTEIN LIÊN KẾT KHÁNG NGUYÊN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA NÓ

(57) Sáng chế đề cập đến protein liên kết kháng nguyên và dược phẩm chứa nó. Sáng chế cũng đề cập đến chế phẩm liên kết kháng nguyên, bao gồm các kháng thể để điều trị các bệnh qua trung gian interleukin 5 (IL-5), và các phương pháp liên quan. IL-5 là protein tiết. IL-5 đóng vai trò trong một số bệnh khác nhau như hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bọng nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, viêm da cơ địa, viêm da cơ địa trung bình và viêm da cơ địa nặng. Các chế phẩm được bộc lộ là thích hợp để điều trị các bệnh nghiêm trọng qua trung gian IL-5.

Độ ổn định huyết thanh của 28Y042-7F11-1, mepolizumab và kháng thể đối chứng
% Hồi phục so với T₀



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các chế phẩm để điều trị các bệnh qua trung gian interleukin 5 (IL-5), và các phương pháp liên quan.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

IL-5 là một protein tiết. IL-5 đóng vai trò trong một số bệnh khác nhau như hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bong nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, viêm da cơ địa, viêm da cơ địa trung bình và viêm da cơ địa nặng. Những căn bệnh nghiêm trọng này ảnh hưởng đến hàng trăm triệu người trên toàn thế giới.

Điều này có nghĩa là cần có các chế phẩm phù hợp để điều trị bệnh qua trung gian IL-5. Các chế phẩm và phương pháp liên quan như vậy được đề xuất bởi sáng chế.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến các chế phẩm, để điều trị các bệnh trung gian qua interleukin 5 (IL-5), và các đối tượng liên quan.

Một khía cạnh của sáng chế là protein liên kết kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 10.

Khía cạnh khác của sáng chế là protein liên kết kháng nguyên bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4.

Khía cạnh khác của sáng chế là kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, trong đó a) chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và b) chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 10.

Khía cạnh khác của sáng chế là kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, trong đó a) chuỗi nặng bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và b) chuỗi nhẹ bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4.

Khía cạnh khác của sáng chế là kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 2.

Khía cạnh khác của sáng chế là chuỗi peptit bao gồm trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3.

Khía cạnh khác của sáng chế là chuỗi peptit bao gồm trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 1.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3 và axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 2.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 1.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 15 và axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 16.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 17 và axit nucleic có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 18.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 13 và axit nucleic có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 14.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 15.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 17.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 13.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp sản xuất chuỗi peptit bao gồm trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3, phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ tái tổ hợp bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và thu hồi chuỗi peptit.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp sản xuất kháng thể bao gồm các bước: a) nuôi cấy tế bào chủ tái tổ hợp bao gồm vector biểu hiện bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 17 và axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 18; và b) thu hồi kháng thể; nhờ đó kháng thể được tạo ra.

Khía cạnh khác của sáng chế là được phẩm chứa: a) protein liên kết kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 10; và b) chất mang được dụng.

Khía cạnh khác của sáng chế là được phẩm chứa: a) kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3

được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 10; và b) chất mang được dụng.

Khía cạnh khác của sáng chế là được phẩm chứa: a) kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, trong đó chuỗi nặng bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và chuỗi nhẹ bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4; và b) chất mang được dụng.

Khía cạnh khác của sáng chế là được phẩm chứa: a) kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 2; và b) chất mang được dụng.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp điều trị hen phế quản từ nhẹ đến trung bình ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng được chẩn đoán bị hen phế quản từ nhẹ đến trung bình; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 10; nhờ đó bệnh hen phế quản từ nhẹ đến trung bình ở đối tượng được điều trị.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp điều trị hen phế quản từ nhẹ đến trung bình ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng được chẩn đoán bị hen phế quản từ nhẹ đến trung bình; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1; nhờ đó bệnh hen phế quản từ nhẹ đến trung bình ở đối tượng được điều trị.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp điều trị hen phế quản từ nhẹ đến trung bình ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng được chẩn đoán bị hen phế quản từ nhẹ đến trung bình; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu được

phẩm chứa kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chất mang được dụng; nhờ đó bệnh hen phế quản từ nhẹ đến trung bình ở đối tượng được điều trị.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp điều trị hen phế quản nặng ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng được chẩn đoán bị hen phế quản nặng; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 10; từ đó bệnh hen phế quản nặng ở đối tượng được điều trị.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp điều trị hen phế quản nặng ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng được chẩn đoán bị hen phế quản nặng; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 2; từ đó bệnh hen phế quản nặng ở đối tượng được điều trị.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp điều trị hen phế quản nặng ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng được chẩn đoán bị hen phế quản nặng; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu được phẩm chứa kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 2 và chất mang được dụng; từ đó bệnh hen phế quản nặng ở đối tượng được điều trị.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp điều trị viêm da cơ địa từ trung bình đến nặng ở đối tượng cần điều trị bao gồm các bước: a) xác định đối tượng có ít nhất 1 tiêu chí được chọn từ nhóm bao gồm: i) chẩn đoán viêm da cơ địa theo tiêu chí sửa đổi Eichenfield của Hanifin và Rajka; ii) chẩn đoán viêm da cơ địa trước khi điều trị từ khoảng 2 năm hoặc lâu hơn; iii) điểm đánh giá tổng quát theo chuyên gia chăm sóc sức khỏe lớn hơn hoặc bằng khoảng 3; iv) vùng viêm da cơ địa lớn hơn hoặc bằng

khoảng 10% diện tích bề mặt cơ thể; v) diện tích eczema và điểm chỉ số nghiêm trọng lớn hơn hoặc bằng 16; vi) số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần lớn hơn hoặc bằng 150 tế bào trên mỗi μl , lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl , lớn hơn hoặc bằng 300 tế bào trên mỗi μl , hoặc lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl ; và vii) ít nhất 1 tình trạng trước khi điều trị được chọn từ nhóm bao gồm: 1) phản ứng không đầy đủ đối với thuốc viêm da cơ địa khu trú, lớn hơn hoặc bằng 6 tháng; 2) dung nạp kém thuốc viêm da cơ địa khu trú; 3) tác dụng phụ từ thuốc viêm da cơ địa khu trú; và 4) đáp ứng không đầy đủ với điều trị phi phẫu thuật viêm da cơ địa; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 10; từ đó bệnh viêm da cơ địa ở đối tượng được điều trị.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp điều trị viêm da cơ địa từ trung bình đến nặng ở đối tượng cần điều trị bao gồm các bước: a) xác định đối tượng có ít nhất một tiêu chí được chọn từ nhóm bao gồm: i) chẩn đoán viêm da cơ địa theo tiêu chí sửa đổi Eichenfield của Hanifin và Rajka; ii) chẩn đoán viêm da cơ địa trước khi điều trị từ khoảng 2 năm hoặc lâu hơn; iii) điểm đánh giá tổng quát theo chuyên gia chăm sóc sức khỏe lớn hơn hoặc bằng khoảng 3; iv) vùng viêm da cơ địa lớn hơn hoặc bằng khoảng 10% diện tích bề mặt cơ thể; v) diện tích eczema và điểm chỉ số nghiêm trọng lớn hơn hoặc bằng 16; vi) số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần lớn hơn hoặc bằng 150 tế bào trên mỗi μl lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl ; và vii) ít nhất 1 tình trạng trước khi điều trị được chọn từ nhóm bao gồm: 1) phản ứng không đầy đủ đối với thuốc viêm da cơ địa khu trú, lớn hơn hoặc bằng 6 tháng; 2) dung nạp kém thuốc viêm da cơ địa khu trú; 3) tác dụng phụ từ thuốc viêm da cơ địa khu trú; và 4) đáp ứng không đầy đủ với điều trị phi phẫu thuật viêm da cơ địa; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1; từ đó bệnh viêm da cơ địa ở đối tượng được điều trị.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp điều trị viêm da cơ địa từ trung bình đến nặng ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng có ít nhất một tiêu chí được chọn từ nhóm bao gồm: i) chẩn đoán viêm da cơ địa theo tiêu chí sửa đổi Eichenfield của Hanifin và Rajka; ii) chẩn đoán viêm da cơ địa trước khi điều trị từ khoảng 2 năm hoặc lâu hơn; iii) điểm đánh giá tổng quát theo chuyên gia chăm sóc sức khỏe lớn hơn hoặc bằng khoảng 3; iv) vùng viêm da cơ địa lớn hơn hoặc bằng khoảng 10% diện tích bề mặt cơ thể; v) diện tích eczema và điểm chỉ số nghiêm trọng lớn hơn hoặc bằng 16; vi) số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần lớn hơn hoặc bằng 150 tế bào trên mỗi μl lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl ; và vii) ít nhất 1 tình trạng trước khi điều trị được chọn từ nhóm bao gồm: 1) phản ứng không đầy đủ đối với thuốc viêm da cơ địa khu trú, lớn hơn hoặc bằng 6 tháng; 2) dung nạp kém thuốc viêm da cơ địa khu trú; 3) tác dụng phụ từ thuốc viêm da cơ địa khu trú; và 4) đáp ứng không đầy đủ với điều trị phi phẫu thuật viêm da cơ địa; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu được phẩm chứa kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chất mang được dùng; từ đó bệnh viêm da cơ địa ở đối tượng được điều trị.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp làm giảm số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng có tình trạng được chọn từ nhóm bao gồm hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bọng nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan và viêm da cơ địa; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID

NO: 9, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 10; từ đó làm giảm số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần ở đối tượng.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp làm giảm số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng mắc tình trạng được chọn từ nhóm bao gồm hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bọng nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, viêm da cơ địa, viêm da cơ địa trung bình và viêm da cơ địa nặng; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1; từ đó bệnh viêm da cơ địa ở đối tượng được điều trị.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp làm giảm số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng mắc tình trạng được chọn từ nhóm bao gồm hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bọng nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, viêm da cơ địa, viêm da cơ địa trung bình và viêm da cơ địa nặng; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu được phẩm chứa kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chất mang được dụng; từ đó làm giảm số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần ở đối tượng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện cả 28Y042-7F11-1 và mepolizumab đều gây ra ức chế phụ thuộc liều tăng sinh tế bào IL-5 người cảm ứng TF-1 (IC_{50} lần lượt là 4pM và 105pM) khi được thử nghiệm ở khoảng nồng độ 1nM - 0,042pM.

Fig.2 thể hiện sự ức chế thay đổi hình dạng bạch cầu ái toan qua trung gian IL-5 tái tổ hợp bằng 28Y042-7F11-1 và mepolizumab trong máu người toàn phần. Số liệu thể hiện là đại diện của 6 người cho máu.

Fig.3 thể hiện sự liên kết của IL-5 bám dính với 28Y042-7F11-1 và mepolizumab bằng ELISA.

Fig.4 thể hiện sự so sánh độ ổn định của 28Y042-7F11-1 được ủ ở nhiệt độ 37°C trong 6 tuần trong huyết thanh khỉ cynomolgus hoặc huyết thanh người hỗn hợp. Số liệu được vẽ đồ thị so với kết quả trước đó thu được đối với kháng thể đối chứng đặc hiệu IL-13 và mepolizumab.

Fig.5 là đồ thị thay đổi ở động vật theo tỷ lệ tương ứng với đáp ứng bạch cầu ái toan trước khi sử dụng liều trung bình. Tỷ lệ đáp ứng bạch cầu ái toan ở động vật đối với trung bình hình học của các trị số trước khi sử dụng liều của chúng (ngày -12 đến -26). Các trị số được tính theo từng con vật với tổng các trị số trung bình hình học của từng nhóm được thêm vào dưới dạng các thanh ngang. Đường ngang liền nét tương ứng với 20% số lượng bạch cầu ái toan ban đầu của con vật. $n = 4$ mỗi nhóm [2♀ & 2♂]; iv (tiêm tĩnh mạch) thuốc riêng lẻ vào ngày nghiên cứu 1.

Fig.6 thể hiện nồng độ huyết thanh tổng IL-5 khỉ cynomolgus từ nghiên cứu PK/PD 9 tháng (dữ liệu đến ngày 267/tuần 38) đối với các con vật được xử lý bằng 28Y042-7F11-1, mepolizumab hoặc chất dẫn thuốc. 28Y042-7F11-1 chứng minh thời gian kéo dài và tăng lượng tổng IL-5: phức hợp kháng thể trong huyết thanh. Nồng độ định lượng thấp nhất (LLOQ) của IL-5 cynomolgus là 9,77 pg/ml.

Fig.7 thể hiện nồng độ huyết thanh trung bình (ng/ml) của 28Y042-7F11-1 và mepolizumab (SB-240563) ở khỉ cynomolgus sau khi tiêm tĩnh mạch (IV) hoặc tiêm dưới da (SC).

Fig.8. Ô 1-1 thể hiện sơ đồ thực hành lâm sàng – thể hiện ban đầu.

Fig.9. Ô 3-5 thể hiện chiến lược từng bước để kiểm soát các triệu chứng và giảm thiểu rủi ro trong tương lai.

Mô tả chi tiết sáng chế

Thuật ngữ “hen phế quản” như được sử dụng ở đây có nghĩa là bệnh viêm đường hô hấp đặc trưng bởi tắc nghẽn luồng khí thở đảo ngược và co thắt phế quản. Các triệu chứng thông thường bao gồm thở khò khè, ho, tức ngực và khó thở. Hen phế quản là một bệnh không đồng nhất, thường được đặc trưng bởi viêm đường thở mãn tính. Nó được xác định bằng lịch sử của các triệu chứng hô hấp như thở khò khè, khó thở, tức ngực và ho mà thay đổi theo thời gian và cường độ, cùng với giới hạn luồng khí thở ra thay đổi.

Theo các phương pháp của sáng chế, chẩn đoán hen phế quản ở đối tượng có thể được thực hiện theo hướng dẫn của tổ chức Sáng kiến hen toàn cầu (GINA), tài liệu Chiến lược toàn cầu về quản lý và phòng ngừa hen phế quản (cập nhật 2016). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ quen thuộc với lưu đồ chẩn đoán GINA cho thực hành lâm sàng (Fig.8) và tiêu chí chẩn đoán hen phế quản ở người trưởng thành, thanh thiếu niên và trẻ em từ 6 đến 11 tuổi (bảng 1) được trình bày dưới đây cũng như khía cạnh khác của hướng dẫn (ví dụ, đối với phụ nữ mang thai, v.v.). Xem thêm bảng 2 và bảng 3.

Bảng 1.

Ô 1-2. Tiêu chí chẩn đoán hen phế quản ở người trưởng thành, thanh thiếu niên và trẻ em từ 6 đến 11 tuổi.	
Hen phế quản là bệnh không đồng nhất, thường được đặc trưng bởi viêm đường thở mãn tính. Bệnh được xác định bằng lịch sử các triệu chứng hô hấp như thở khò khè, khó thở, tức ngực và ho mà thay đổi theo thời gian và cường độ, cùng với hạn chế luồng khí thở thay đổi.	
Đặc điểm chẩn đoán	Đặc điểm chẩn đoán
1. Lịch sử triệu chứng hô hấp thay đổi	
Thở khò khè, khó thở, tức ngực và ho Mô tả có thể khác nhau giữa các nền văn hóa và theo độ tuổi, ví dụ, trẻ em	• Thường có nhiều hơn 1 loại triệu chứng hô hấp (ở người lớn, ho riêng rẽ hiếm khi do hen phế quản)

có thể được mô tả là bị thở nặng	• Các triệu chứng xảy ra thay đổi theo thời gian và thay đổi về cường độ • Các triệu chứng thường nặng hơn vào ban đêm hoặc khi thức dậy • Các triệu chứng thường khởi phát do tập thể dục, cười, chất gây dị ứng, không khí lạnh • Các triệu chứng thường xuất hiện hoặc nặng hơn khi nhiễm vi rút
2. Hạn chế luồng khí thở thay đổi được xác nhận	
Sự thay đổi quá mức chức năng phổi được ghi nhận * (1 hoặc nhiều thử nghiệm dưới đây) và hạn chế luồng khí thở được ghi nhận*	Sự thay đổi càng lớn, hoặc càng quan sát được nhiều thay đổi vượt quá thì chẩn đoán càng tin cậy Ít nhất 1 lần trong quá trình chẩn đoán khi FEV1 thấp, xác nhận rằng FEV1/FVC giảm (bình thường >0,75–0,80 ở người lớn, >0,90 ở trẻ em)
Thử nghiệm khả năng hồi phục của thuốc giãn phế quản dương tính (BD)* (nhiều khả năng là dương tính nếu thuốc BD được giữ lại trước thử nghiệm: SABA ≥ 4 giờ, LABA ≥ 15 giờ)	Người lớn: tăng FEV1 >12% và >200ml so với giá trị chuẩn, 10–15 phút sau khi sử dụng 200–400 mcg albuterol hoặc tương đương (độ tin cậy cao hơn nếu tăng >15% và >400ml). Trẻ em: tăng FEV1 >12% dự đoán
Sự thay đổi quá mức PEF 2 lần mỗi ngày trong 2 tuần *	Người lớn: sự thay đổi PEF hàng ngày trung bình >10%**

	Trẻ em: sự thay đổi PEF hàng ngày trung bình >13%**
Tăng đáng kể chức năng phổi sau 4 tuần điều trị kháng viêm	Người lớn: tăng FEV1 >12% và >200ml (hoặc PEF† >20%) so với giá trị chuẩn sau 4 tuần điều trị, nhiễm trùng đường hô hấp bên ngoài
Thử nghiệm thử thách bài tập tích cực *	Người lớn: giảm FEV1 >10% và >200ml so với giá trị chuẩn Trẻ em: giảm FEV1 >12% dự đoán, hoặc PEF >15%
Thử nghiệm thử thách phế quản dương tính (thường chỉ thực hiện ở người lớn)	Giảm FEV1 so với giá trị chuẩn $\geq 20\%$ với liều tiêu chuẩn metacholin hoặc histamin, hoặc $\geq 15\%$ với tăng thông khí chuẩn hóa, thử thách mannitol hoặc nước muối ưu trương
Thay đổi quá mức chức năng phổi giữa các lần thăm khám * (ít tin cậy hơn)	Người lớn: thay đổi FEV1 >12% và >200ml giữa các lần thăm khám, nhiễm trùng ngoài đường hô hấp Trẻ em: thay đổi FEV1 >12% trong FEV1 hoặc >15% trong PEF† giữa các lần thăm khám (có thể bao gồm nhiễm trùng đường hô hấp)
BD: thuốc giãn phế quản (SABA tác dụng ngắn hoặc LABA tác dụng nhanh); FEV1: thể tích khí thở ra trong 1 giây; LABA: chất chủ vận beta2 tác dụng dài; PEF: lưu lượng đỉnh thở ra (cao nhất trong ba lần đọc); SABA: chất chủ vận beta2 tác dụng ngắn. Xem ô 1-4 để chẩn đoán ở những bệnh nhân đã điều trị kiểm soát. *Các thử nghiệm này có thể được lặp lại khi có các triệu chứng hoặc vào	

buổi sáng sớm. ** Độ biến thiên PEF hàng ngày được tính từ PEF 2 lần mỗi ngày là ([cao nhất trong ngày trừ đi thấp nhất trong ngày]/trung bình của mức cao nhất và thấp nhất trong ngày), và trung bình trong 1 tuần. †Đối với PEF, sử dụng dụng cụ đo giống nhau mỗi lần, vì PEF có thể thay đổi tới 20% giữa các dụng cụ đo khác nhau. Khả năng hồi phục của BD có thể bị mất trong các cơn cấp nặng hoặc nhiễm vi rút. Nếu khả năng hồi phục của thuốc giãn phế quản không có ở phần trình bày ban đầu thì bước tiếp theo phụ thuộc vào sự sẵn có của các thử nghiệm khác và sự khẩn cấp của yêu cầu điều trị. Trong tình huống khẩn cấp lâm sàng, điều trị hen phế quản có thể bắt đầu điều trị và bố trí thử nghiệm chẩn đoán trong vài tuần tiếp theo (ô 1-4), nhưng các tình trạng khác mà có thể tương tự hen phế quản (ô 1-3) cần được xem xét, và cần xác nhận chẩn đoán hen phế quản sớm nhất có thể.

Bảng 2.

Ô 1-3. Chẩn đoán phân biệt hen phế quản ở người lớn, thanh thiếu niên và trẻ em từ 6 đến 11 tuổi.		
Tuổi	Tình trạng	Triệu chứng
6–11 tuổi	Hội chứng ho từ đường khí trên mẫn tính	Hắt hơi, ngứa, nghẹt mũi, hắng giọng
	Dị vật hít phải	Xuất hiện triệu chứng đột ngột, thở khò khè một chiều
	Giãn phế quản	Nhiễm trùng tái phát, ho có đờm
	Rối loạn vận động lông mao nguyên phát	Nhiễm trùng tái phát, ho có đờm, viêm xoang
	Bệnh tim bẩm sinh	Tiếng thổi tim

	Loạn sản phế quản phổi U xơ nang	Sinh non, triệu chứng từ khi sinh Ho quá mức và tiết chất nhầy, các triệu chứng tiêu hóa
12–39 tuổi	Hội chứng ho từ đường khí trên mãn tính Rối loạn chức năng dây thanh âm Tăng thông khí, thở rối loạn Giãn phế quản U xơ nang Bệnh tim bẩm sinh Thiếu Alpha1-antitrypsin Dị vật hít phải	Hắt hơi, ngứa, nghẹt mũi, hắng giọng Khó thở, thở khò khè (thở rít) Chóng mặt, dị cảm, thở dài Ho có đờm, nhiễm trùng tái phát Ho quá mức và tiết chất nhầy Tiếng thổi tim Khó thở, lịch sử gia đình bị khí phế thũng sớm Xuất hiện triệu chứng đột ngột
40+ tuổi	Rối loạn chức năng dây thanh âm Tăng thông khí, thở rối loạn COPD*	Khó thở, thở khò khè (thở rít) Chóng mặt, dị cảm, thở dài Ho, có đờm, khó thở khi gắng sức, hút thuốc hoặc tiếp xúc chất độc hại

	Giãn phế quản	Ho có đờm, nhiễm trùng tái phát
	Suy tim	Khó thở khi gắng sức, triệu chứng về đêm
	Ho liên quan đến thuốc	Điều trị bằng chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin (ACE)
	Bệnh nhu mô phổi	Khó thở khi gắng sức, ho không có đờm, ngón tay dùi trống
	Thuyên tắc phổi	Đột ngột khó thở, đau ngực
	Tắc nghẽn đường thở trung tâm	Khó thở, không đáp ứng với thuốc giãn phế quản
*Tình trạng bất kỳ nào trong số các tình trạng trên cũng có thể góp phần vào các triệu chứng hô hấp ở bệnh nhân đã được xác nhận bị hen phế quản.		

Bảng 3.

Ô 1-4. Xác nhận chẩn đoán hen phế quản ở bệnh nhân đang điều trị kiểm soát.	
Tình trạng hiện tại	Các bước xác nhận chẩn đoán hen phế quản
Các triệu chứng hô hấp thay đổi và giới hạn luồng khí thay đổi	Chẩn đoán hen phế quản được xác nhận. Đánh giá mức độ kiểm soát hen phế quản và xem xét điều trị kiểm soát.

Các triệu chứng hô hấp thay đổi nhưng không có giới hạn luồng khí thay đổi	Lặp lại thử nghiệm khả năng hồi phục BD một lần nữa sau khi không sử dụng BD (SABA: 4 giờ; LABA: 12+ giờ) hoặc trong các triệu chứng. Nếu bình thường, xem xét các chẩn đoán thay thế (Ô 1-3). Nếu FEV1 được dự đoán >70%: xem xét thử nghiệm thử thách phế quản. Nếu âm tính, xem xét giảm điều trị kiểm soát và đánh giá lại trong 2 đến 4 tuần. Nếu FEV1 được dự đoán <70%: xem xét đẩy mạnh điều trị kiểm soát trong 3 tháng, tiếp đó đánh giá lại các triệu chứng và chức năng phổi. Nếu không đáp ứng, lại tiếp tục điều trị như trước và giới thiệu bệnh nhân để chẩn đoán và nghiên cứu
Ít triệu chứng hô hấp, chức năng phổi bình thường, và không có giới hạn luồng khí thay đổi	Lặp lại thử nghiệm khả năng hồi phục nhờ BD lần nữa sau khi không sử dụng BD (SABA: 4 giờ; LABA: 12+ giờ) hoặc trong khi có triệu chứng. Nếu bình thường, xem xét các chẩn đoán thay thế (Ô 1-3). Xem xét giảm điều trị kiểm soát: • Nếu các triệu chứng xuất hiện và chức năng phổi giảm: hen phế quản được xác nhận. Tăng điều trị kiểm soát đến liều thấp nhất có hiệu quả trước đó.

	• Nếu không thay đổi triệu chứng hoặc chức năng phổi ở bước kiểm soát thấp nhất: xem xét dừng kiểm soát, và theo dõi chặt chẽ bệnh nhân trong vòng ít nhất 12 tháng.
Khó thở kéo dài và giới hạn luồng khí cố định	Xem xét đẩy mạnh điều trị kiểm soát trong 3 tháng, sau đó đánh giá lại các triệu chứng và chức năng phổi. Nếu không đáp ứng, tiếp tục điều trị trước đó và giới thiệu bệnh nhân để chẩn đoán và nghiên cứu. Xem xét hội chứng chồng lấp hen phế quản-COPD.
BD: thuốc giãn phế quản; LABA: thuốc chủ vận beta2 tác dụng kéo dài; SABA: thuốc chủ vận beta2 tác dụng ngắn	

Theo các phương pháp của sáng chế, “hen phế quản” có thể là “hen phế quản nhẹ”, “hen phế quản trung bình” hoặc “hen phế quản nặng”. Theo các phương pháp của sáng chế, mức độ nghiêm trọng của hen phế quản có thể được đánh giá theo hướng dẫn của GINA. Cụ thể, mức độ nghiêm trọng của hen phế quản có thể được đánh giá hồi cứu từ mức độ điều trị cần thiết để kiểm soát các triệu chứng và các cơn cấp nghiêm trọng. Ví dụ, có thể đánh giá 1 lần bệnh nhân đã được điều trị kiểm soát trong vài tháng và, nếu thích hợp, cố gắng giảm điều trị để tìm ra mức độ điều trị hiệu quả tối thiểu cho bệnh nhân. Mức độ nghiêm trọng của hen phế quản không phải là đặc tính tĩnh và có thể thay đổi theo tháng hoặc năm.

Mức độ nghiêm trọng của hen phế quản có thể được đánh giá khi bệnh nhân được điều trị kiểm soát thường xuyên trong vài tháng:

- “Hen phế quản nhẹ” là hen phế quản mà được kiểm soát tốt bằng điều trị bước 1 hoặc bước 2 (xem Fig.9; Ô 3-5), tức là, chỉ sử dụng thuốc cắt cơn cấp khi cần, hoặc điều trị kiểm soát cường độ thấp như ICS liều thấp, chất đối kháng thụ thể leukotriene hoặc cromones.
- “Hen phế quản trung bình” là hen phế quản mà được kiểm soát tốt bằng điều trị bước 3 (xem Fig.9; Ô 3-5), ví dụ, ICS/LABA liều thấp.
- “Hen phế quản nặng” là hen phế quản mà cần điều trị bước 4 hoặc 5 (xem Fig.9; Ô 3-5), ví dụ, ICS/LABA liều cao, để phòng ngừa bệnh trở nên “không kiểm soát được”, hoặc hen phế quản vẫn “không kiểm soát được” mặc dù được điều trị như vậy. Mặc dù nhiều bệnh nhân bị hen phế quản không kiểm soát được có thể khó điều trị do điều trị không đầy đủ hoặc không phù hợp, hoặc các vấn đề dai dẳng về tính tuân thủ hoặc các bệnh đồng bị như viêm xoang mũi mãn tính hoặc béo phì, Hiệp Hội Hô hấp Châu Âu/Trường môn Hiệp hội Lồng ngực Hoa Kỳ về hen phế quản nặng cho rằng định nghĩa về “hen phế quản nặng” nên dành cho các bệnh nhân bị hen phế quản kháng trị và các bệnh nhân mà đáp ứng với điều trị các bệnh đồng bị là không đầy đủ. Bảng 4 cũng có thể được đề cập trong quá trình đánh giá mức độ nghiêm trọng của hen phế quản.

Bảng 4.

Ô 3-6. Liều corticosteroid dạng hít hàng ngày thấp, trung bình và cao			
Thuốc	Liều hàng ngày (mcg)		
	Thấp	Trung bình	Cao
Beclometasone dipropionate (CFC)*	200–500	>500–1000	>1000
Beclometasone dipropionate (HFA)	100–200	>200–400	>400
Budesonide (DPI)	200–400	>400–800	>800
Ciclesonide (HFA)	80–160	>160–320	>320
Fluticasone furoate (DPI)	100	n.a.	200
Fluticasone propionate (DPI)	100–250	>250–500	>500
Fluticasone propionate (HFA)	100–250	>250–500	>500
Mometasone furoate	110–220	>220–440	>440
Triamcinolone acetonide	400–1000	>1000–2000	>2000
Trẻ em 6–11 tuổi (đối với trẻ 5 tuổi trở xuống)			

Beclometasone dipropionate (CFC)*	100–200	>200–400	>400
Beclometasone dipropionate (HFA)	50-100	>100-200	>200
Budesonide (DPI)	100–200	>200–400	>400
Budesonide (nebules)	250–500	>500–1000	>1000
Ciclesonide	80	>80-160	>160
Fluticasone furoate (DPI)	n.a.	n.a.	n.a.
Fluticasone propionate (DPI)	100–200	>200–400	>400
Fluticasone propionate (HFA)	100–200	>200–500	>500
Mometasone furoate	110	≥ 220 –<440	≥ 440
Triamcinolone acetonide	400–800	>800–1200	>1200

CFC: thuốc đẩy chlorofluorocarbon; DPI: ống hít bột khô; HFA: thuốc đẩy hydrofluoroalkane; n.a. không áp dụng *Beclometasone dipropionate CFC được đưa vào để so sánh với các tài liệu cũ.

Theo các phương pháp của sáng chế “hen phế quản” có thể là “hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ”, “hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình” hoặc “hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng”.

“Hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ” là hen phế quản nhẹ với kiểu hình bạch cầu ái toan. Ví dụ, đối tượng bị hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ có thể bị hen phế quản nhẹ và bạch cầu ái toan trong máu lớn hơn hoặc bằng 150 bạch cầu ái toan mỗi μ l máu trong 12 tháng qua, lớn hơn hoặc bằng 200 bạch cầu ái toan mỗi μ l máu trong 12 tháng qua, lớn hơn hoặc bằng 300 bạch cầu ái toan mỗi μ l máu trong 12 tháng qua hoặc lớn hơn hoặc bằng 350 bạch cầu ái toan mỗi μ l máu trong 12 tháng qua.

“Hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình” là hen phế quản trung bình với kiểu hình bạch cầu ái toan. Ví dụ, đối tượng bị hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình có thể bị phế quản trung bình và bạch cầu ái toan trong máu lớn hơn hoặc bằng 150 bạch cầu ái toan trên mỗi μ l máu trong 12 tháng qua, lớn hơn hoặc bằng 200 bạch cầu ái toan mỗi μ l máu trong 12 tháng qua, lớn hơn hoặc bằng 300 bạch cầu ái

toan mỗi ụl máu trong 12 tháng qua hoặc lớn hơn hoặc bằng 350 bạch cầu ái toan mỗi ụl máu trong 12 tháng qua.

“Hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng” là hen phế quản nặng với kiểu hình bạch cầu ái toan. Ví dụ, đối tượng bị hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng có thể bị hen phế quản nặng và bạch cầu ái toan trong máu lớn hơn hoặc bằng 150 bạch cầu ái toan trên mỗi ụl máu trong 12 tháng qua, lớn hơn hoặc bằng 200 bạch cầu ái toan mỗi ụl máu trong 12 tháng qua, lớn hơn hoặc bằng 300 bạch cầu ái toan mỗi ụl máu trong 12 tháng qua (được ưu tiên hơn) hoặc lớn hơn hoặc bằng 350 bạch cầu ái toan mỗi ụl máu trong 12 tháng qua.

Đối tượng bị hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng cũng có thể đáp ứng 1 hoặc nhiều tiêu chí được mô tả trong bảng 5.

Bảng 5.

Bệnh nhân bị hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng nếu đáp ứng các tiêu chí sau đây:
1) Đối tượng có các đặc điểm lâm sàng của hen phế quản kháng trị nặng tương tự như các đặc điểm được nêu tại Hội thảo Hiệp hội Lồng ngực Hoa Kỳ về hen phế quản kháng trị (162 Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2341 (2000) ≥ 12 tháng. 2) Đối tượng có yêu cầu điều trị thường xuyên ICS liều cao (corticosteroid dạng hít) được ghi nhận (tức là, ≥ 880 μg/ngày fluticasone propionate hoặc tương đương hàng ngày), duy trì hoặc không duy trì OCS (corticosteroids đường miệng), trong 12 tháng qua. 3) Đối tượng có yêu cầu sử dụng thuốc kiểm soát được ghi nhận, ví dụ, chất chủ vận beta-2 tác dụng dài, chất đối kháng thụ thể leukotriene hoặc theophylline trong 12 tháng qua. 4) Đối tượng bị tắc nghẽn luồng khí kéo dài như được xác định bằng FEV1 trước khi sử dụng thuốc giãn phế quản $< 80\%$ dự đoán được ghi lại hoặc độ biến thiên hàng ngày lưu lượng đỉnh $> 20\%$ trong 3 ngày trở lên. 5) Đối tượng bị viêm đường thở mà có khả năng là tăng bạch cầu ái toan tự nhiên như được xác định bằng 1 trong số các đặc điểm sau đây ở hiện tại hoặc

được ghi nhận trong 12 tháng trước:

- Nồng độ bạch cầu ái toan trong máu ngoại vi cao $\geq 300/\mu\text{l}$, tức là liên quan đến hen phế quản hoặc
- Bạch cầu ái toan trong đờm $\geq 3\%$ hoặc
- Nitric oxit trong khí thở ra $\geq 50\text{ppb}$ hoặc
- Giảm nhanh kiểm soát hen phế quản (dựa trên lịch sử lâm sàng ghi nhận được hoặc đánh giá khách quan) sau khi giảm $\leq 25\%$ liều duy trì thường xuyên của liều corticosteroid đường miệng hoặc đường hít trong 12 tháng qua

8) Đối tượng có tiền sử được xác nhận trước đó là bị hai hoặc nhiều cơn hen cấp phế quản cần điều trị bằng corticosteroid đường miệng hoặc toàn thân trong 12 tháng trước đó, mặc dù được sử dụng ICS liều cao và thuốc kiểm soát bổ sung. Đối với đối tượng nhận OCS duy trì với thuốc kiểm soát cộng ICS liều cao, điều trị OCS cho các đợt nghiêm trọng cần tăng liều OCS gấp đôi hoặc nhiều hơn

9) Đối tượng bị hen phế quản như được ghi nhận bằng một trong số:

- Khả năng hồi phục đường thở ($\text{FEV}_1 \geq 12\%$ và 200ml) ở hiện tại hoặc được ghi nhận trong 12 tháng trước đó hoặc
- Tăng phản ứng đường thở (nồng độ kích thích làm giảm 20% FEV_1 của methacholine $< 8\text{mg/ml}$ hoặc liều kích thích làm giảm 20% FEV_1 của histamine $< 7,8 \mu\text{mol}$) được ghi nhận trong 12 tháng trước hoặc
- Độ thay đổi luồng khí trong phòng khám $\text{FEV}_1 \geq 20\%$ giữa 2 lần kiểm tra được ghi nhận trong 12 tháng qua (FEV_1 được ghi nhận trong cơn cấp là không hợp lệ) hoặc
- Độ biến đổi luồng khí được biểu thị bằng độ biến đổi lưu lượng đỉnh hàng ngày $> 20\%$ được quan sát trong 3 ngày trở lên.

Điều quan trọng là, đối tượng bị hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng theo các tiêu chí này có thể có ít hơn 150 bạch cầu ái toan mỗi μl máu khi bắt đầu điều trị.

28Y042-7F11-1 là kháng thể đơn dòng bao gồm trình tự axit amin chuỗi nặng được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ được thể hiện ở SEQ ID NO: 2. 28Y042-7F11-1 và kháng nguyên liên kết protein theo sáng chế - cụ thể là các phân tử kháng nguyên – bao gồm các CDR chuỗi nặng và các CDR chuỗi nhẹ của 28Y042-7F11-1, có thể được sử dụng để điều trị hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng theo các phương pháp của sáng chế. Ví dụ, 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế, có thể được chỉ định để điều trị duy trì bổ sung hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, như được xác định bằng mức bạch cầu ái toan trong máu lớn hơn hoặc bằng 300 tế bào/ μl trong 12 tháng qua và/hoặc bạch cầu ái toan trong máu lớn hơn hoặc bằng 150 tế bào/ μl khi bắt đầu điều trị và/hoặc bạch cầu ái toan trong máu dưới 150 tế bào/ μl khi bắt đầu điều trị, ở bệnh nhân. Ngoài ra, 28Y042-7F11-1, hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế, có thể được chỉ định để điều trị duy trì bổ sung hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, như được xác định bằng mức bạch cầu ái toan trong máu lớn hơn hoặc bằng 300 tế bào/ μl trong 12 tháng qua và/hoặc bạch cầu ái toan trong máu lớn hơn hoặc bằng 150 tế bào/ μl khi bắt đầu điều trị, ở bệnh nhân. 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế, có thể được chỉ định để điều trị duy trì bổ sung hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, như được xác định bằng mức bạch cầu ái toan trong máu lớn hơn hoặc bằng 300 tế bào/ μl trong 12 tháng qua và/hoặc bạch cầu ái toan trong máu dưới 150 tế bào/ μl khi bắt đầu điều trị, ở bệnh nhân. Những bệnh nhân này có thể từ 12 tuổi trở lên. Điều trị bằng 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế có thể làm giảm các cơn hen cấp phế quản ở bệnh nhân (ví dụ, bệnh nhân có tiền sử có cơn hen cấp). Các phương pháp của sáng chế có thể được sử dụng khi điều trị bằng 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế được chỉ định (tức là, điều trị bằng 28Y042-7F11-1 như vậy có thể có thể được kết hợp với các phương pháp của sáng chế). Điều trị bằng 28Y042-7F11-1 và các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế có thể:

a) làm giảm tần suất cơn hen cấp. So với giả dược, điều trị bằng 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế có thể giảm tỷ lệ 1) các cơn cấp đáng kể về mặt lâm sàng, 2) các cơn cấp cần phải nhập viện hoặc thăm khám ED, và 3) các

cơn cấp cần nhập viện. Lợi ích này có thể có khả năng làm giảm tỷ lệ bị bệnh và tử vong do hen phế quản.

b) làm giảm liều OCSS hàng ngày: điều trị bằng 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế có thể cho phép đối tượng giảm liều corticosteroid kết hợp hàng ngày mà không bị mất kiểm soát hen phế quản. Các đối tượng được điều trị bằng 28Y042-7F11-1 hoặc các chế phẩm liên kết kháng nguyên của sáng chế có thể đạt được mức giảm phần trăm trung bình liều corticosteroid dùng đường miệng hàng ngày so với giá trị chuẩn so với các đối tượng được điều trị bằng giả dược. Ngoài ra, các đối tượng được điều trị bằng 28Y042-7F11-1 hoặc chế phẩm liên kết kháng nguyên của sáng chế có thể đạt được độ giảm liều OCS so với 32% đối tượng được điều trị bằng giả dược.

c) cải thiện chức năng phổi: những thay đổi có liên quan về mặt lâm sàng của FEV₁ trước và sau sử dụng thuốc giãn phế quản có thể được chứng minh bằng điều trị bằng 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế so với giả dược. Sự cải thiện chức năng phổi bất kỳ đều có tầm quan trọng đặc biệt về mặt lâm sàng trong nhóm quần thể đối tượng này vì hầu hết đều điều trị hen phế quản tối đa bao gồm ICS liều cao (corticosteroid dạng hít) và/hoặc OCS kết hợp thuốc kiểm soát.

d) cải thiện kiểm soát hen phế quản: các cải thiện liên quan về mặt lâm sàng và có ý nghĩa về mặt thống kê có thể được quan sát trong ACQ-5 với 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế so với giả dược, cho thấy các đối tượng có thể đạt kiểm soát hen phế quản bằng cách bổ sung 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế vào việc điều trị hen phế quản hiện tại của họ.

e) cải thiện chất lượng cuộc sống: các thay đổi có liên quan về mặt lâm sàng và có ý nghĩa về mặt thống kê về điểm SGRQ có thể được chứng minh bằng 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế so với giả dược. Các đối tượng có thể đạt được sự cải thiện rõ rệt các triệu chứng hen phế quản và khả năng thực hiện các hoạt động thường ngày.

f) kéo dài hiệu quả và tác dụng dược lực học: trong thời gian điều trị 32 và/hoặc 52 tuần, có thể quan sát sự giảm duy trì liên tục các cơn hen cấp phế quản và tăng bạch

cầu ái toan trong máu, và các cải thiện về chức năng phổi, kiểm soát hen phế quản, và chất lượng cuộc sống mà không phải dùng nạp thuốc.

và

g) giảm bạch cầu ái toan trong máu. Điều trị bằng chế phẩm bao gồm 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế có thể làm giảm nhanh bạch cầu ái toan trong máu ở đối tượng.

Theo các phương pháp của sáng chế, “hen phế quản” có thể là “hen phế quản nặng”. Theo các phương pháp của sáng chế, “hen phế quản” cũng có thể là “hen phế quản nhẹ”, “hen phế quản trung bình”, “hen phế quản nặng”, “hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ”, “hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình”, hoặc “hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng” như nêu trên. Điều trị bằng các chế phẩm bao gồm 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế có thể được sử dụng để điều trị các tình trạng này theo các phương pháp của sáng chế.

Theo các phương pháp của sáng chế, “hen phế quản” có thể là “hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát”. Đối tượng bị hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát đáp ứng các tiêu chí được mô tả trong bảng 6.

Bảng 6.

Đối tượng bị hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát nếu đáp ứng các tiêu chí sau đây:
1) Đối tượng có tiền sử hen được chẩn đoán trong ít nhất 12 tháng trước. 2) Đối tượng được chỉ định sử dụng hàng ngày ICS liều cao hoặc liều trung bình (corticosteroid dạng hít) kết hợp LABA (chất chủ vận beta tác dụng dài) trong ít nhất 12 tháng. 3) Liều các thuốc kiểm soát hen phế quản khác của đối tượng phải ổn định trong ít nhất 30 ngày trước đó. 4) Đối tượng có ít nhất 2 cơn hen cấp phế quản được ghi nhận trong 12 tháng trước đó mà cần sử dụng xung corticosteroid toàn thân.

Điều trị bằng các chế phẩm bao gồm 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế có thể được sử dụng để điều trị hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát theo các phương pháp của sáng chế.

Theo các phương pháp của sáng chế, “hen phế quản” có thể là “hen phế quản tăng bạch cầu ái toan”. Đối tượng bị hen phế quản tăng bạch cầu ái toan đáp ứng các tiêu chí được mô tả trong bảng 7.

Bảng 7.

Đối tượng bị hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nếu đáp ứng các tiêu chí sau đây:

- 1) Bệnh nhân bị hen phế quản được chẩn đoán trước đó.
- 2) Bệnh nhân có ít nhất 1 cơn hen cấp phế quản cần sử dụng corticosteroid đường miệng, tiêm bắp (im), hoặc tiêm tĩnh mạch (iv) trong ít nhất 3 ngày trong 12 tháng trước.
- 3) Bệnh nhân có nồng độ bạch cầu ái toan trong máu hiện tại ít nhất là 400/ μ l.
- 4) Bệnh nhân có khả năng hồi phục đường thở ít nhất 12% khi sử dụng chất chủ vận beta.
- 5) Bệnh nhân có điểm ACQ ít nhất là 1,5.
- 6) Bệnh nhân đang dùng fluticasone dạng hít hàng ngày ở liều ít nhất 440 μ g, hoặc tương đương. Sử dụng corticosteroid đường miệng mãn tính (không quá 10mg/ngày prednisone hoặc tương đương) được chấp nhận. Phác đồ điều trị hen cơ bản của bệnh nhân (bao gồm, nhưng không giới hạn ở corticosteroid dạng hít, corticosteroid đường miệng với liều tối đa 10mg prednisone hàng ngày hoặc tương đương, chất đối kháng leukotrien, chất ức chế 5-lipoxygenaza, hoặc cromolyn) phải ổn định trong 30 ngày trước đó.

Theo các phương pháp của sáng chế, “hen phế quản” có thể là “hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ”. Các đối tượng bị hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ đáp ứng tiêu chí được mô tả trong bảng 8.

Bảng 8

Đối tượng bị hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ nếu đáp ứng các tiêu chí sau đây:
1) Bệnh nhân bị hen phế quản được chẩn đoán trước đó. 2) Bệnh nhân có ít nhất 1 cơn hen cấp phế quản cần sử dụng corticosteroid đường miệng, tiêm bắp (im), hoặc tiêm tĩnh mạch (iv) trong ít nhất 3 ngày trong 12 tháng trước. 3) Bệnh nhân có nồng độ bạch cầu ái toan trong máu hiện tại dưới 400/μl. 4) Bệnh nhân có khả năng hồi phục đường thở ít nhất 12% khi sử dụng chất chủ vận beta. 5) Bệnh nhân có điểm ACQ ít nhất là 1,5. 6) Bệnh nhân đang sử dụng fluticasone dạng hít hàng ngày ở liều ít nhất là 440μg, hoặc tương đương. Sử dụng corticosteroid đường miệng mãn tính (không quá 10mg/ngày prednisone hoặc tương đương) được chấp nhận. Phác đồ điều trị hen cơ bản của bệnh nhân (bao gồm, nhưng không giới hạn ở corticosteroid dạng hít, corticosteroid đường miệng với liều tối đa 10mg prednisone hàng ngày hoặc tương đương, chất đối kháng leukotrien, chất ức chế 5-lipoxygenaza, hoặc cromolyn) phải ổn định trong 30 ngày trước đó.

Điều trị bằng các chế phẩm bao gồm 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế có thể được sử dụng để điều trị hen phế quản tăng bạch cầu ái toan và cũng có thể được sử dụng để điều trị hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ theo các phương pháp của sáng chế.

Thuật ngữ “bọng nước dạng pemphigus” (BP) như được sử dụng ở đây có nghĩa là bệnh da tự miễn mãn tính hoặc cấp tính, liên quan đến sự hình thành các mụn nước, được biết đến một cách thích hợp hơn là bọng nước, ở khoảng trống giữa lớp da biểu bì và hạ bì. BP là bệnh da phòng rộp tự miễn phổ biến nhất. Đặc trưng của nó là ảnh hưởng đến người cao tuổi (>70 tuổi) với tỷ lệ bị hàng năm từ 5 đến 35 phần triệu. Tỷ lệ bị BP đang gia tăng đáng kể với tỷ lệ trung bình 17% mỗi năm. BP thường khởi

phát với các tổn thương da cực kỳ ngứa giống như bệnh chàm hoặc nổi mề đay trước khi mụn nước và bóng nước nổi lên. Ở 10-30% bệnh nhân, BP cũng liên quan đến viêm mạc miệng. Mức độ nghiêm trọng của bệnh có thể được xác định bằng phương pháp điểm số cường độ rối loạn bóng nước da tự miễn (ABSIS) mà đánh giá diện tích liên quan cũng như hoạt động bệnh. Bệnh là do phản ứng tự miễn đối với các thành phần cấu trúc của phức hợp bám dính dẫn đến sự phá hủy lớp nổi biểu bì-da với sự hình thành mụn nước dưới biểu bì. Cụ thể, các phản ứng tế bào B và T tự động chống lại các kháng nguyên hemidesmosomal BP180 và BP230 đã được xác định. Nồng độ huyết thanh của các thể tự kháng đối với BP180 phản ánh mức độ nghiêm trọng và hoạt động của bệnh. Các tế bào T là các tế bào nhớ CD4 + sản sinh cả hai cytokin Th1 và Th2, chủ yếu là IL-4, IL-5 và IL-13. IL-5 cũng như eotaxin được tìm thấy rất nhiều trong dịch bóng nước. Việc sản sinh IL-5 thực sự có liên quan đến tăng bạch cầu ái toan trong máu và xâm nhiễm bạch cầu ái toan đáng kể trên da của bệnh nhân HA. Bạch cầu ái toan được cho là có liên quan nghiêm trọng trong việc hình thành bóng nước bằng cách giải phóng các protein dạng hạt độc hại (ESP, MBP) và các enzyme phân giải protein.

Thuật ngữ “viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan” (EoE) như được sử dụng ở đây có nghĩa là tình trạng viêm dị ứng của thực quản có liên quan đến bạch cầu ái toan. Các triệu chứng là khó nuốt, bị nghẹn thức ăn và ợ nóng. EoE được đặc trưng bởi thâm nhiễm dày đặc với các tế bào máu trắng của loại bạch cầu ái toan vào lớp biểu mô của thực quản. EoE được cho là một phản ứng dị ứng đối với thức ăn ăn vào, dựa trên vai trò quan trọng của bạch cầu ái toan trong phản ứng dị ứng. Bảng chẩn đoán EoE có thể được sử dụng để chẩn đoán EoE. EoE cũng có thể được chẩn đoán nếu trào ngược dạ dày thực quản không đáp ứng với thử nghiệm 6 tuần dùng thuốc ức chế bơm proton liều cao (PPI) hai lần một ngày hoặc nếu nghiên cứu độ pH lưu động âm tính loại trừ bệnh trào ngược dạ dày thực quản (GERD). Nội soi, các đường vân, luống hoặc vòng có thể được nhìn thấy trong thành thực quản. Rãnh, nếp hoặc vòng có thể được quan sát thấy trên thành thực quản bằng nội soi. Đôi khi, nhiều vòng có thể xuất hiện trong thực quản, dẫn đến thuật ngữ "thực quản gấp nếp" hoặc "thực quản mèo" do sự giống nhau của các vòng với thực quản mèo. Sự hiện diện của dịch tiết màu trắng trong thực quản cũng gợi ý cho chẩn đoán. Trên sinh thiết được thực hiện tại thời điểm nội soi, nhiều bạch cầu ái toan thường có thể được nhìn thấy trong biểu mô bề mặt.

Cần tối thiểu 15 bạch cầu ái toan trên mỗi trường độ phóng đại cao để chẩn đoán. Viêm bạch cầu ái toan không chỉ giới hạn ở riêng thực quản, và mở rộng qua toàn bộ đường tiêu hóa. Bạch cầu ái toan bị mất hạt nghiêm trọng cũng có thể có mặt, như có thể vi áp xe và mở rộng lớp nền. Về mặt phóng xạ, thuật ngữ "thực quản vòng" đã được sử dụng cho sự xuất hiện của viêm thực quản bạch cầu ái toan trên các nghiên cứu chụp X quang thực quản nuốt bari để tương phản với sự xuất hiện của nếp gấp ngang thoáng qua đôi khi được nhìn thấy với trào ngược thực quản (gọi là "trào ngược thực quản").

Điều trị bằng các chế phẩm bao gồm 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế có thể được sử dụng để điều trị COPD theo các phương pháp của sáng chế.

Đối tượng bị “bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính” (COPD) có thể đáp ứng một hoặc nhiều tiêu chí sau: a) chẩn đoán COPD trước đó: các đối tượng có tiền sử bệnh COPD được ghi nhận lâm sàng trong ít nhất 1 năm theo định nghĩa của Hiệp hội lồng ngực Hoa Kỳ/Hiệp hội hô hấp châu Âu; b) mức độ nghiêm trọng của COPD: Các đối tượng có thể trình bày như sau: thể tích khí thở ra gắng sức trước và sau salbutamol đo được trong một giây/tỷ lệ dung tích sống gắng sức (FEV1/FVC) $<0,70$ để xác định chẩn đoán COPD; FEV1 sau khi sử dụng salbutamol đo được >20 phần trăm và ≤ 80 các trị số thông thường được dự đoán sử dụng công thức tham khảo khảo sát kiểm tra sức khỏe và dinh dưỡng quốc gia III; c) tiền sử các cơn cấp: tiền sử được ghi chép rõ ràng (như xác minh hồ sơ bệnh án) trong 12 tháng: ít nhất 2 cơn cấp COPD trung bình. Trung bình được định nghĩa là sử dụng corticosteroid toàn thân (IM, tiêm tĩnh mạch hoặc đường miệng) và/hoặc điều trị bằng kháng sinh, hoặc ít nhất 1 cơn cấp COPD nặng. Nặng được xác định là phải nhập viện. Lưu ý: ít nhất phải có 1 cơn cấp xảy ra trong khi đối tượng đang sử dụng corticosteroid dạng hít (ICS) cộng với thuốc chủ vận beta2 tác dụng dài (LABA) cộng với thuốc đối kháng muscarin tác dụng dài (LAMA). Lưu ý: việc chỉ sử dụng kháng sinh trước đó không đủ điều kiện là cơn cấp trung bình trừ khi sử dụng đặc biệt để điều trị các triệu chứng xấu đi của COPD; và d) điều trị COPD đồng thời: yêu cầu nền tối ưu hóa trị liệu tiêu chuẩn chăm sóc được ghi chép rõ ràng mà bao gồm ICS cộng với 2 loại thuốc COPD bổ sung (nghĩa là ba liệu pháp) trong 12 tháng trước và đáp ứng tiêu chí sau: vừa đến khám ở nhà cung cấp dịch vụ chăm sóc sức khỏe trước đó, tối thiểu 3 tháng sử dụng thuốc corticosteroid dạng hít

(với liều ≥ 500 microgam (mcg)/ngày cộng liều fluticasone propionate); hoặc LABA và LAMA.

Điều trị bằng các chế phẩm bao gồm 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế có thể được sử dụng để điều trị COPD theo các phương pháp của sáng chế.

Thuật ngữ “bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch” (EGPA) như được sử dụng ở đây có nghĩa là tình trạng tự miễn gây viêm các mạch máu kích thước nhỏ và vừa (viêm mạch máu) ở những người có tiền sử mắc dị ứng đường thở (dị ứng). EGPA cũng có thể được gọi là Hội chứng Churg-Strauss (CSS) hoặc bệnh u hạt dị ứng. EGPA thường biểu hiện thành ba giai đoạn. Giai đoạn sớm (prodromal) được đánh dấu bằng viêm đường thở; hầu hết tất cả các bệnh nhân bị hen phế quản và/hoặc viêm mũi dị ứng. Giai đoạn hai được đặc trưng bởi số lượng bạch cầu ái toan cao (hypereosinophilia), gây tổn thương mô, phổ biến nhất là phổi và đường tiêu hóa. Giai đoạn ba bao gồm viêm mạch, cuối cùng có thể dẫn đến chết tế bào và có thể đe dọa tính mạng.

Đối tượng bị EGPA có thể đáp ứng một hoặc nhiều tiêu chí sau: a) hen phế quản; b) nồng độ bạch cầu ái toan trong máu lớn hơn 10% số lượng bạch cầu khác nhau; c) sự hiện diện của bệnh đơn dây thần kinh hoặc bệnh đa dây thần kinh; d) thâm nhiễm phổi không cố định; e) sự hiện diện của các bất thường xoang cạnh mũi; và e) bằng chứng mô bệnh học của bạch cầu ái toan ngoại bào. Để phân loại, một bệnh nhân sẽ được cho là bị EGPA nếu ít nhất bốn trong số sáu tiêu chí trên là dương tính.

Điều trị bằng các chế phẩm bao gồm 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế có thể được sử dụng để điều trị EGPA theo các phương pháp của sáng chế. Các chế phẩm của sáng chế có thể được sử dụng cho bệnh nhân EGPA với liều 300mg 1 lần mỗi 4 tuần.

Thuật ngữ “hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát” (HES) như được sử dụng ở đây có nghĩa là bệnh được đặc trưng bởi số lượng bạch cầu ái toan tăng cao liên tục (≥ 1500 bạch cầu ái toan/mm³) trong máu trong ít nhất sáu tháng mà không có nguyên nhân bất kỳ nào có thể nhận biết được, có liên quan đến tim, hệ thống thần kinh, hoặc tủy xương.

Đối tượng mắc hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát có thể đáp ứng một hoặc nhiều tiêu chí sau: a) tiền sử hội chứng tăng bạch cầu ái toan được ghi nhận; b) số lượng bạch cầu ái toan trong máu lớn hơn 1500 tế bào trong 6 tháng; c) các dấu hiệu và triệu chứng của sự tham gia của hệ thống cơ quan; và d) không có bằng chứng về ký sinh trùng, dị ứng hoặc các nguyên nhân khác của tăng bạch cầu ái toan sau khi đánh giá toàn diện.

Điều trị bằng các chế phẩm bao gồm 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế có thể được sử dụng để điều trị hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát theo các phương pháp của sáng chế.

Thuật ngữ “polyp mũi” như được sử dụng ở đây có nghĩa là bệnh đặc trưng bởi sự hiện diện của khoang mũi polyp. Các polyp như vậy có thể ở khoang mũi trên và/hoặc có thể bắt nguồn từ bên trong phức hợp lỗ ngách.

Đối tượng bị polyp mũi có thể đáp ứng một hoặc nhiều tiêu chí sau: a) tiền sử polyp mũi được ghi nhận; hoặc b) polyp mũi rõ ràng khi khám (ví dụ, kiểm tra nội soi).

Điều trị bằng các chế phẩm bao gồm 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế có thể được sử dụng để điều trị polyp mũi theo các phương pháp của sáng chế.

Thuật ngữ “viêm da cơ địa” như được sử dụng ở đây có nghĩa là tình trạng viêm da đặc trưng bởi ngứa mạn tính, liken hóa, khô da, sẩn hồng ban và vảy nến.

Theo các phương pháp của sáng chế, “viêm da cơ địa” có thể là “viêm da cơ địa từ trung bình đến nặng”. Bệnh nhân bị viêm da cơ địa từ trung bình đến nặng có thể đáp ứng một hoặc nhiều tiêu chí được mô tả trong bảng 9.

Bảng 9.

Bệnh nhân bị viêm da cơ địa từ trung bình đến nặng nếu đáp ứng tiêu chí sau đây (ví dụ, tất cả, hoặc “một hoặc nhiều”):

1. Chẩn đoán viêm da cơ địa theo tiêu chí sửa đổi Eichenfield của Hanifin và
--

Rajka (Eichenfield et al., 70 J Am Acad Dermatol 338 (2014)). Xem Bảng 10.

2. Chẩn đoán viêm da cơ địa ≥ 2 năm trước khi bắt đầu điều trị.
3. Điểm đánh giá tổng quát của chuyên gia về chăm sóc sức khỏe (HGA, đôi khi còn gọi là đánh giá tổng quát của điều tra viên hoặc IGC) ≥ 3 trước khi bắt đầu điều trị. Xem Bảng 11.
4. Vùng viêm da cơ địa $\geq 10\%$ BSA trước khi bắt đầu điều trị. Xem Bảng 12.
5. Điểm diện tích bị eczema và chỉ số nghiêm trọng (EASI) ≥ 16 trước khi bắt đầu điều trị. Xem Bảng 13.
6. Số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần ≥ 350 tế bào/ μl trước khi bắt đầu điều trị.
7. Tùy ý, sử dụng chất làm dịu không kê đơn, không phải là thuốc (không có hoạt chất) hai lần mỗi ngày trong ít nhất 7 ngày ngay trước khi bắt đầu điều trị.
8. Trước khi bắt đầu điều trị có ít nhất 1 trong số các tiêu chí: a) đáp ứng không đầy đủ ≤ 6 tháng đối với phác đồ thuốc khu trú ổn định đối với viêm da dị ứng; b) dung nạp kém thuốc khu trú kê đơn đối với viêm da dị ứng; c) lo ngại về tác dụng phụ tiềm ẩn từ thuốc khu trú kê đơn đối với viêm da dị ứng, chẳng hạn làm mỏng da hoặc tăng nguy cơ ức chế vùng dưới đồi - tuyến yên - tuyến thượng thận [HPA]; và/hoặc d) đáp ứng không đầy đủ với tối ưu hóa các biện pháp phi phẫu thuật đối với viêm da cơ địa như kem dưỡng ẩm. “Phản ứng không đầy đủ” với phác đồ thuốc tại chỗ kê đơn ổn định cho viêm da cơ địa (như corticosteroid khu trú hiệu lực vừa đến cao hoặc chất ức chế calcineurin tại chỗ) được xác định là thất bại trong việc đạt được và duy trì sự thuyên giảm hoặc trạng thái hoạt động bệnh thấp (tương đương với điểm HGA = 0 [không có] đến 2 [nhẹ]) mặc dù điều trị theo thời gian được khuyến nghị theo nhãn hoặc trong thời gian tối đa được đề nghị cho điều trị theo đối tượng, tùy theo điều kiện nào ngắn hơn.

Đối tượng bị viêm da dị ứng từ trung bình đến nặng có thể là trẻ em dưới 18 tuổi, người lớn ít nhất 18 tuổi trở lên hoặc người lớn từ 18 đến 70 tuổi. Đối tượng có

thể là nam hoặc nữ. Được ưu tiên là đối tượng nữ cần điều trị là không mang thai, không cho con bú và/hoặc không có khả năng mang thai.

Chẩn đoán viêm da dị ứng dựa trên các tiêu chí sửa đổi Eichenfield của Hanifin và Rajka Eichenfield sửa đổi các tiêu chí của Hanifin và Rajka. Xem Bảng 10 và Eichenfield et al., 70 J Am Acad Dermatol 338 (2014).

Bảng 10.

Tiêu chí chẩn đoán viêm da cơ địa
ĐẶC ĐIỂM CẦN- buộc phải có: • Ngứa • Eczema (cấp tính, bán cấp, mãn tính) ○ Hình thái điển hình và các mẫu cụ thể theo độ tuổi * ○ Tiền sử mãn tính hoặc tái phát *Các mẫu gồm có: 1. Vùng bị viêm da ở mặt, cổ và cơ duỗi ở trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ 2. Các tổn thương uống hiện tại hoặc trước đây ở mọi lứa tuổi 3. Tách vùng háng và nách CÁC ĐẶC ĐIỂM QUAN TRỌNG – Thấy ở hầu hết các trường hợp, bổ sung hỗ trợ cho chẩn đoán: • Tuổi khởi phát sớm • Nội soi ○ Tiền sử cá nhân và/hoặc gia đình ○ Phản ứng globulin miễn dịch E • Khô da CÁC ĐẶC ĐIỂM LIÊN QUAN- Các kết hợp lâm sàng này giúp gợi ý chẩn đoán viêm da cơ địa nhưng không quá đặc hiệu để được sử dụng nhằm xác định hoặc phát hiện viêm da cơ địa đối với nghiên cứu và dịch tễ học:

- Phản ứng mạch máu không điển hình (ví dụ, xanh xao mặt, da vẻ nổi trắng, phản ứng đổi màu chậm)
- Dày sừng nang lông/đốm trắng pityriocation alba/lòng bàn tay nhiều đường/vảy cá ichthyosis
- Thay đổi ở mắt/ngoại vi
- Các phát hiện khu vực khác (ví dụ: thay đổi ngoại vi/tổn thương màng ngoài tim)
- Dày sừng quanh nang lông/likien hóa/tổn thương ngứa

CÁC ĐIỀU KIỆN LOẠI TRỪ-Cần lưu ý rằng chẩn đoán viêm da cơ địa phụ thuộc vào việc loại trừ các tình trạng, chẳng hạn:

- Bệnh ghẻ
- Viêm da tiết bã
- Viêm da tiếp xúc (kích thích hoặc dị ứng)
- Vảy cá
- U lympho tế bào T ở da
- Bệnh vẩy nến
- Nhạy cảm nhẹ
- Bệnh thiếu hụt miễn dịch
- Đỏ da toàn thân (Erythroderma) của các nguyên nhân khác

Đánh giá tổng quát của chuyên gia chăm sóc sức khỏe (HGA), công cụ lâm sàng để đánh giá tình trạng/mức độ nghiêm trọng hiện tại của một đối tượng viêm da dị ứng: Xem Rehal et al, 6 PLoS ONE e17520 (2011) và Bảng 11. Đây là đánh giá hình thái tĩnh 5 điểm về mức độ nghiêm trọng của bệnh tổng quát được xác định bởi chuyên gia chăm sóc sức khỏe được đào tạo sử dụng các đặc điểm lâm sàng của ban đỏ, thâm nhiễm, sẩn, rỉ nước, và kết vảy theo hướng dẫn. HGA được thực hiện mà không cần tham khảo các điểm số trước đó. Mỗi đánh giá nên được thực hiện dưới

dạng trung bình trực quan về mức độ nghiêm trọng của tất cả các diện tích bị ảnh hưởng tại thời điểm đánh giá.

Bảng 11.

Đánh giá tổng quát của chuyên gia chăm sóc sức khỏe (HGA)		
Điểm/Mức độ		Mô tả
0	Không	Không có ban đỏ hoặc cứng cộm/ nổi sần, không rỉ/kết vảy; có thể đổi màu chất bã
1	Hầu như không	Có thể có dấu hiệu ban đỏ hồng nhạt, hầu như không có cứng cộm/nổi sần, và không rỉ/kết vảy
2	Nhẹ	Có thể có ban đỏ mờ nhạt; có cứng cộm/nổi sần với độ dày hầu như không nhận thấy; và không rỉ/kết vảy
3	Trung bình	Có thể phân biệt rõ ràng ban đỏ quạch có cứng cộm/nổi sần với độ dày rõ ràng nhưng không lồi; có thể có rỉ/kết vảy
4	Nặng	Có thể có ban đỏ sáng hoặc sâu có cứng cộm/nổi sần với độ dày nổi bật (nổi sâu khỏi mép), có rỉ/kết vảy

Việc đánh giá tỷ lệ phần trăm diện tích bề mặt cơ thể (% BSA) là ước tính tỷ lệ phần trăm của tổng phần da liên quan đến viêm da cơ địa. Xem Bảng 12. Đánh giá % BSA có thể được thực hiện bằng cách xem xét các khu vực bị viêm từ bên trong mỗi vùng của 4 vùng bề mặt cơ thể một cách riêng biệt: đầu và cổ, chi trên, thân và chi dưới và mỗi vùng cơ thể này có thể có khả năng tới 100% bị bệnh. Những người đánh giá (ví dụ, chuyên gia chăm sóc sức khỏe) sẽ ước tính tỷ lệ phần trăm da bị bệnh của từng vùng về điểm diện tích % BSA sau đó nhân với hệ số tỷ lệ thích hợp để tính được trị số liên quan đến % BSA vùng bị bệnh (đối với đối tượng ≥ 8 năm tuổi, 0,1 cho đầu, 0,2 chi trên, 0,3 cho thân và 0,4 cho chi dưới). Trị số liên quan đến % BSA vùng bị bệnh được tổng hợp để tính tổng số % BSA bị bệnh. Điểm số diện tích % BSA vùng cũng sẽ được sử dụng làm một phần của ma trận để tính điểm EASI.

Bảng 12.

Diện tích bề mặt cơ thể

- Điểm diện tích %BSA có thể được xác định bằng cách làm theo 3 bước được mô tả ở đây để tính tổng % BSA tổn thương.
- Bước 1: Ước tính %BSA tổn thương ở từng vùng cơ thể; Bước 2: Nhân % tổn thương với một phần tổng diện tích cơ thể; Bước 3: Tính tổng số% BSA tổn thương. Một ví dụ về cách tính % tổng BSA tổn thương được đề cập dưới đây:

Vùng cơ thể	% vùng da bị bệnh (0-100% mỗi vùng)	% vùng da bị bệnh x hệ số nhân theo tỷ lệ	% BSA vùng da bị bệnh
Đầu và cổ		___ x 0.1	
Chi trên		___ x 0.2	
Thân		___ x 0.3	
Chi dưới		___ x 0.4	
Tổng %BSA bị bệnh (tổng của 4 trị số vùng			= _____

Hệ thống tính điểm EASI là một công cụ lâm sàng được tiêu chuẩn hóa để đánh giá viêm da cơ địa có xem xét tính toán mức độ chung của % diện tích bề mặt cơ thể (% BSA) tổn thương và điểm số nghiêm trọng của từng dấu hiệu lâm sàng: ban đỏ, cứng cộm/nổi sần, lột da, và liken hóa. Xem Hanifin et al., 10 Exp Dermatol 11 (2001); Rullo et al., 36 Allergol et Immunopathol 201 (2008) và Bảng 13. Điểm số diện tích % BSA từ đánh giá % BSA được sử dụng làm một phần của ma trận để tính điểm EASI. Điểm số nghiêm trọng cho từng dấu hiệu lâm sàng (ban đỏ, cứng cộm/nổi sần, lột da và liken hóa) được xếp loại theo thang điểm 4 (0 đến 3) cho mỗi vùng trong 4 vùng cơ thể (đầu và cổ, chi trên, chi dưới và thân). Điểm số nghiêm trọng của từng dấu hiệu được tổng hợp cho từng vùng và nhân với điểm số % BSA diện tích và theo hệ số tỷ lệ thích hợp (đối với các đối tượng ≥ 8 tuổi, 0,1 đối với đầu, 0,2 chi trên, 0,3 đối với thân và 0,4 đối với chi dưới) để tạo thành điểm EASI vùng. Sau đó, điểm EASI vùng được tổng hợp để thu được điểm EASI cuối cùng. Điểm EASI là một đánh giá tính được thực hiện mà không cần tham khảo các điểm trước đó.

Bảng 13.

Diện tích bị Eczema và chỉ số nghiêm trọng (EASI)
Khi % BSA tổn thương đối với từng vùng được xác định, mỗi tỷ lệ phần trăm được chuyển dịch thành điểm diện tích dựa trên các định nghĩa sau: 0 = Không tổn thương 1 = <10% 2 = 10%-29% 3 = 30%-49% 4 = 50%-69% 5 = 70%-89% 6 = 90%-100% Mức độ nghiêm trọng của các dấu hiệu: Xếp loại mức độ nghiêm trọng của từng dấu hiệu theo thang điểm từ 0 đến 3: ✓ Lấy trung bình của mức độ nghiêm trọng trên toàn diện tích tổn thương.

✓ Có thể sử dụng nửa điểm, ví dụ, 2,5

0	Không
1	Nhẹ
2	Trung bình
3	Nặng

Bảng chấm điểm:

Vùng cơ thể	Ban đỏ (0-3)	Cứng cộm/ nổi sần (0-3)	Bong da (0-3)	Liken hóa (0-3)	Điểm vùng (0-6)	Số nhân	Điểm mỗi vùng cơ thể
Đầu/cổ	(+	+	+	)	x	x 0,1	
Thân	(+	+	+	)	x	x 0,3	
Chi trên	(+	+	+	)	x	x 0,2	
Chi dưới	(+	+	+	)	x	x 0,4	
Điểm EASI cuối là tổng của 4 điểm vùng:							(0-72)

Lượng hữu hiệu trị liệu của 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế có thể được sử dụng để điều trị bệnh nhân bị viêm da cơ địa hoặc giảm số lượng bạch cầu ái toan tuyệt đối ở những bệnh nhân này. Viêm da dị ứng như vậy có thể là viêm da dị ứng trung bình hoặc viêm da dị ứng nặng.

Điều trị viêm da dị ứng - như viêm da dị ứng trung bình hoặc viêm da dị ứng nặng – bằng 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế, theo các phương pháp của sáng chế, có thể tạo ra ít nhất một kết quả được chọn từ nhóm bao gồm:

a) điểm HGA bằng 0 hoặc 1 và ít nhất là cải thiện mức độ 2 trong HGA (ví dụ: so với điểm HGA bắt đầu);

- b) giảm điểm diện tích Eczema và chỉ số nghiêm trọng (EASI) (ví dụ, so với điểm EASI bắt đầu);
- c) giảm phần trăm tổng diện tích bề mặt cơ thể (% BSA) bị ảnh hưởng (ví dụ: so với % BSA bắt đầu); và/hoặc
- d) quyết định của chuyên gia chăm sóc sức khỏe rằng một đối tượng không bị viêm da dị ứng theo các tiêu chí sửa đổi Eichenfield của Hanifin và Rajka (Eichenfield et al., 70 J Am Acad Dermatol 338 (2014)).

Điểm EASI sau khi điều trị theo các phương pháp của sáng chế, có thể nhỏ hơn 16, ví dụ từ khoảng 0 đến dưới 16. Điểm EASI sau điều trị cũng có thể từ khoảng 0 đến khoảng 15, khoảng 0 đến khoảng 14, khoảng 0 đến khoảng 13, khoảng 0 đến khoảng 12, khoảng 0 đến khoảng 11, khoảng 0 đến khoảng 10, khoảng 0 đến khoảng 9, khoảng 0 đến khoảng 8, khoảng 0 đến khoảng 7, khoảng 0 đến khoảng 6, khoảng 0 đến khoảng 5, khoảng 0 đến khoảng 4, khoảng 0 đến khoảng 3, khoảng 0 đến khoảng 2, khoảng 0 đến khoảng 1, từ khoảng 1 đến dưới 16, từ khoảng 2 đến dưới 16, từ khoảng 3 đến dưới 16, từ khoảng 4 đến dưới 16, từ khoảng 5 đến dưới 16, từ khoảng 6 đến dưới 16, từ khoảng 7 đến dưới 16, từ khoảng 8 đến dưới 16, từ khoảng 9 đến dưới 16, từ khoảng 10 đến dưới 16, từ khoảng 11 đến dưới 16, từ khoảng 12 đến dưới 16, từ khoảng 13 đến dưới 16, từ khoảng 14 đến dưới 16, từ khoảng 15 đến dưới 16, từ khoảng 2 đến khoảng 15, từ khoảng 3 đến khoảng 14, từ khoảng 4 đến khoảng 13, từ khoảng 5 đến khoảng 12, từ khoảng 6 đến khoảng 11, từ khoảng 7 đến khoảng 10, từ khoảng 8 đến khoảng 9, từ khoảng 0 đến khoảng 8, từ khoảng 8 đến ít hơn hơn 16, từ khoảng 0 đến khoảng 4, từ khoảng 4 đến khoảng 8, từ khoảng 8 đến khoảng 12 và từ khoảng 12 đến dưới 16.

% BSA sau khi điều trị theo các phương pháp của sáng chế, có thể nhỏ hơn khoảng 10%, ví dụ từ khoảng 0% đến dưới 10%. % BSA sau điều trị cũng có thể từ khoảng 1% đến dưới 10%, từ khoảng 2% đến dưới 10%, từ khoảng 3% đến dưới 10%, từ khoảng 4% đến dưới 10%, từ khoảng 5% đến dưới 10%, từ khoảng 6% đến dưới 10%, từ khoảng 7% đến dưới 10%, từ khoảng 8% đến dưới 10%, từ khoảng 9% đến dưới 10%, từ khoảng 0% đến khoảng 9%, từ khoảng 0% đến khoảng 8%, từ khoảng 0% đến khoảng 7%, từ khoảng 0% đến khoảng 6%, từ khoảng 0% đến khoảng 5%, từ khoảng 0% đến khoảng 4 %, từ khoảng 0% đến khoảng 3%, từ khoảng 0% đến khoảng

3%, từ khoảng 0% đến khoảng 2%, từ khoảng 0% đến khoảng 1%, từ khoảng 0% đến khoảng 5%, từ khoảng 5% % đến dưới 10%, từ khoảng 0% đến khoảng 2,5%, từ khoảng 2,5% đến khoảng 5%, từ khoảng 5% đến khoảng 7,5% và từ khoảng 7,5% đến dưới 10%.

Thuật ngữ protein liên kết kháng nguyên, như được sử dụng ở đây đề cập đến các kháng thể được phân lập, các mảnh kháng thể (ví dụ Fabs, v.v.) và các cấu trúc protein có nguồn gốc kháng thể khác - chẳng hạn các kháng thể bao gồm các miền kháng thể (ví dụ: kháng thể miền v.v.) - có khả năng liên kết với IL-5 người (ID SEQ NO: 11).

Thuật ngữ kháng thể như được sử dụng ở đây chỉ các phân tử có miền giống như globulin miễn dịch (ví dụ: IgG, IgM, IgA, IgD hoặc IgE) và bao gồm đơn dòng, tái tổ hợp, đa dòng, đơn dòng, tái tổ hợp, đa dòng, khảm, người và các phân tử được nhân hóa của loại này. Kháng thể đơn dòng có thể được tạo ra bởi bản sao tế bào nhân chuẩn biểu hiện kháng thể. Các kháng thể đơn dòng cũng có thể được tạo ra bởi dòng tế bào nhân chuẩn mà có thể biểu hiện tái tổ hợp chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể nhờ vào trình tự axit nucleic mã hóa chúng được đưa vào tế bào. Các phương pháp sản xuất kháng thể từ các dòng tế bào nhân chuẩn khác nhau như tế bào buồng trứng chuột Hamster Trung Quốc, tế bào lai hoặc tế bào kháng thể bất tử có nguồn gốc từ động vật (ví dụ, người) là đã biết.

Kháng thể có thể có nguồn gốc từ chuột, chuột nhắt, động vật linh trưởng (ví dụ, cynomolgus, khỉ Old World hoặc Great Ape), người hoặc các nguồn khác như axit nucleic được tạo ra bằng kỹ thuật sinh học phân tử mà mã hóa phân tử kháng thể.

Các kháng thể có thể bao gồm vùng hằng định, mà có thể là lớp hoặc phân lớp bất kỳ. Vùng hằng định có thể là lớp IgG, ví dụ, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 hoặc các biến thể của chúng. Vùng hằng định protein liên kết kháng nguyên có thể là IgG1.

Protein liên kết kháng nguyên có thể bao gồm một hoặc nhiều biến thể được chọn từ miền cố định bị đột biến sao cho kháng thể tăng cường chức năng tác động/ADCC và/hoặc hoạt hóa bổ thể.

Kháng thể có thể có khả năng liên kết với kháng nguyên mục tiêu. Các ví dụ về các kháng nguyên đích như vậy bao gồm IL-5 người bao gồm trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 11.

28Y042-7F11-1 bao gồm trình tự axit amin chuỗi nặng được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ được thể hiện ở SEQ ID NO: 2 là một ví dụ về kháng thể. 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế liên kết IL-5 người và đối kháng hoạt động của nó.

28Y042-7F11-1 là một kháng thể đơn dòng nhân hóa tái tổ hợp (IgG1, Kappa) 28Y042-7F11-1 có hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng.

Chuỗi nặng 28Y042-7F11-1 được mã hóa bởi trình tự axit nucleic được thể hiện ở SEQ ID NO: 15. Chuỗi sáng 28Y042-7F11-1 được mã hóa bởi trình tự axit nucleic được thể hiện ở SEQ ID NO: 16.

Các chuỗi nặng và nhẹ 28Y042-7F11-1 được liên kết cộng hóa trị bằng liên kết disulfit riêng rẽ và các chuỗi nặng được liên kết với nhau bằng hai liên kết disulfit tạo thành phân tử IgG điển hình.

28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế có thể được tạo ra ở dạng bột đông khô chứa kháng thể và tá dược mà có thể được hoàn nguyên bằng chất mang dược dụng (ví dụ, nước vô trùng). Các dược phẩm hoàn nguyên này sau đó có thể được sử dụng tiêm dưới da hoặc tiêm tĩnh mạch (ví dụ, với việc pha loãng thêm). 28Y042-7F11-1 hoặc các protein liên kết kháng nguyên của sáng chế cũng có thể được tạo ra ở dạng dược phẩm lỏng chứa kháng thể, tá dược và chất mang dược dụng. Dược phẩm lỏng này sau đó có thể được sử dụng bằng cách tiêm dưới da hoặc tiêm tĩnh mạch (ví dụ, pha loãng thêm).

Thuật ngữ “biến thể kháng thể” như được sử dụng ở đây có nghĩa là kháng thể mà khác với kháng thể gốc do có ít nhất một biến đổi axit amin (ví dụ: do có mạch bên axit amin khác nhau), biến đổi sau dịch mã hoặc biến đổi khác trong ít nhất là một chuỗi nặng, chuỗi nhẹ hoặc kết hợp các chuỗi này dẫn đến thay đổi cấu trúc (ví dụ: mạch bên axit amin khác nhau, biến đổi sau dịch mã khác nhau hoặc biến đổi khác) liên quan đến kháng thể gốc. 28Y042-7F11-1 là ví dụ về kháng thể gốc như vậy. Các thay đổi cấu trúc có thể được xác định trực tiếp bằng nhiều phương pháp là đã biết trong lĩnh vực này như LC-MS, giải trình tự trực tiếp hoặc gián tiếp thông qua các phương pháp như đẳng điện hội tụ và tương tự. Những phương pháp như vậy là đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết rõ.

Thuật ngữ “IL-5” như được sử dụng ở đây có nghĩa là IL-5 người bao gồm trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 11.

Thuật ngữ “liên kết đặc hiệu”, như được sử dụng ở đây liên quan đến các protein liên kết kháng nguyên có nghĩa là protein liên kết kháng nguyên liên kết với một kháng nguyên đích cũng như một miền riêng biệt hoặc trình tự axit amin riêng biệt, trong kháng nguyên đích không có hoặc liên kết không đáng kể với kháng nguyên đích các protein khác (ví dụ, không liên quan). Tuy nhiên, thuật ngữ này không loại trừ thực tế là các protein liên kết kháng nguyên cũng có thể phản ứng chéo với các phân tử có liên quan chặt chẽ với nhau (ví dụ, những loại có mức độ nhận dạng trình tự cao hoặc từ các chi hoặc loài khác). Các protein liên kết kháng nguyên được mô tả trong bản mô tả này có thể liên kết với IL-5 người hoặc thụ thể IL-5 người có ái lực lớn hơn ít nhất 2, 5, 10, 50, 100 hoặc 1000 lần so với chúng liên kết với các phân tử liên quan chặt chẽ.

Ái lực liên kết (K_D) của tương tác kháng nguyên protein đích liên kết kháng nguyên có thể là 1mM trở xuống, 100nM trở xuống, 10nM trở xuống, 2nM trở xuống hoặc 1nM trở xuống. Ngoài ra, K_D có thể từ 5 đến 10nM; hoặc từ 1 đến 2nM. K_D có thể nằm trong khoảng từ 1pM đến 500pM; hoặc trong khoảng từ 500pM đến 1nM. Ái lực liên kết của protein liên kết kháng nguyên được xác định bằng hằng số liên kết (K_a) và hằng số phân ly (K_d) ($K_D = K_d/K_a$). Ái lực liên kết có thể được đo bằng BIACORE™, ví dụ, bằng cách bắt giữ kháng thể thử nghiệm trên bề mặt cảm biến được phủ protein-A và kháng nguyên đích chảy trên bề mặt này. Theo cách khác, ái lực liên kết có thể được đo bằng FORTEBIO, ví dụ, với thụ thể kháng thể thử nghiệm được giữ trên kim phủ protein-A và kháng nguyên đích chảy trên bề mặt này.

K_d có thể là $1 \times 10^{-3} \text{ Ms}^{-1}$ trở xuống, $1 \times 10^{-4} \text{ Ms}^{-1}$ trở xuống, hoặc $1 \times 10^{-5} \text{ Ms}^{-1}$ trở xuống. K_d có thể nằm trong khoảng $1 \times 10^{-5} \text{ Ms}^{-1}$ và $1 \times 10^{-4} \text{ Ms}^{-1}$; hoặc trong khoảng $1 \times 10^{-4} \text{ Ms}^{-1}$ và $1 \times 10^{-3} \text{ Ms}^{-1}$. K_d chậm có thể dẫn đến sự phân ly chậm của phức hợp kháng nguyên đích protein liên kết với kháng nguyên và sự trung hòa của kháng nguyên đích được cải thiện.

Thuật ngữ “hoạt tính liên kết kháng nguyên đặc hiệu” như được sử dụng ở đây có nghĩa là hoạt tính liên kết kháng nguyên như được đo bằng Cộng hưởng Plasmon bề mặt (SPR). Hoạt tính liên kết đặc hiệu IL-5 có thể được xác định bằng SPR sử dụng

thiết bị BIACORE™, ví dụ được thực hiện ở chế độ liên kết. Đây là hoạt tính liên kết được chia cho tổng protein (ví dụ, 28Y042-7F11-1) trong mẫu.

Thuật ngữ “hoạt tính liên kết FcRn” như được sử dụng ở đây có nghĩa là hoạt tính liên kết thụ thể Neonatal Fc (FcRn) như được đo bằng Cộng hưởng từ Plasmon bề mặt (SPR). Liên kết FcRn có thể được xác định sử dụng thiết bị BIACORE™. Đây là hoạt tính liên kết với thụ thể FcRn, chia cho tổng nồng độ protein của mẫu.

Phương pháp SPR đối với liên kết kháng nguyên đặc hiệu và liên kết FcRn sử dụng tiêu chuẩn tham chiếu 28Y042-7F11-1. Tiêu chuẩn tham chiếu 28Y042-7F11-1 có thể được sử dụng trong các thử nghiệm để có được dữ liệu so sánh mẫu và tính phù hợp của hệ thống, để đảm bảo các phương pháp được thực hiện phù hợp. Tiêu chuẩn tham chiếu có thể cho phép thiết lập đường cong hiệu chỉnh và nồng độ của các mẫu được nội suy từ đường cong.

Thuật ngữ “phân lập” dùng để chỉ phân tử, chẳng hạn protein liên kết kháng nguyên hoặc axit nucleic, được tách khỏi môi trường mà nó có thể được tìm thấy ở dạng tự nhiên. Ví dụ, phân tử có thể được tinh chế khỏi các chất mà nó thường tồn tại ở dạng tự nhiên. Ví dụ, khối lượng của phân tử trong một mẫu có thể bằng 95% tổng khối lượng. Sáng chế cũng đề xuất các axit nucleic phân lập bao gồm các SEQ ID NO: 13, 14, 15, 16, 17 và/hoặc 18 và các phần của chúng cũng như các chế phẩm của chúng. Quan trọng là, axit nucleic của sáng chế thường được tạo ra ở dạng chế phẩm mà có thể bao gồm tổ hợp bất kỳ của các axit nucleic của sáng chế, chất đệm, chất đệm gốc, các muối, các ion phản ứng, nước, rượu hoặc vector và tương tự. Ngoài ra, chế phẩm của sáng chế có thể chỉ bao gồm các axit nucleic của sáng chế.

Các thuật ngữ “V_H” và “V_L” như được sử dụng ở đây chỉ vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ tương ứng của protein liên kết kháng nguyên.

Các “CDR” được định nghĩa là các trình tự axit amin vùng xác định hỗ trợ của protein liên kết kháng nguyên. Đây là vùng siêu biến của chuỗi nặng và nhẹ globulin miễn dịch. Có ba CDR (hoặc vùng CDR) chuỗi nặng và ba CDR (hoặc vùng CDR) chuỗi nhẹ trong phần biến đổi của globulin miễn dịch. Do đó, các “CDR” như được sử dụng ở đây đề cập đến cả ba CDR chuỗi nặng, cả ba CDR chuỗi nhẹ, tất cả CDR chuỗi nặng và nhẹ, hoặc ít nhất một CDR và trong đó ít nhất một CDR này là CDRH3. Các vùng khung theo từng mỗi trong số các CDR này. Vùng biến đổi chuỗi nặng có thể

chấp nhận và các vùng khung 1, khung 2 và khung 3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ có thể dễ dàng được nhận biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Các vùng hằng định chuỗi nặng có thể chấp nhận (bao gồm các vùng bản lề) và các vùng hằng số chuỗi nhẹ cũng dễ dàng được nhận biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Tương tự, các lớp kháng thể được nhận biết dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Trong bản mô tả này, các gốc axit amin trong các trình tự miền biến đổi và các trình tự kháng thể chiều dài đầy đủ được đánh số theo quy ước đánh số Kabat. Tương tự, các thuật ngữ “CDR”, “CDRL1”, “CDRL2”, “CDRL3”, “CDRH1”, “CDRH2”, “CDRH3” được sử dụng trong bản mô tả này theo quy ước đánh số Kabat.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hiểu rõ rằng có các quy ước đánh số khác đối với trình tự axit amin trong trình tự miền biến đổi và các trình tự kháng nguyên chiều dài đầy đủ. Ngoài ra còn có các quy ước đánh số khác đối với các trình tự CDR, ví dụ các quy ước được đặt theo quy ước đánh số Chothia. Cấu trúc và gấp nếp protein của kháng thể có thể có nghĩa là các gốc khác được coi là một phần của trình tự CDR và người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể hiểu như vậy.

Các quy ước đánh số trình tự CDR khác sẵn có đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này gồm có các phương pháp “AbM” (Đại học Bath) và “tiếp xúc” (Đại học London). Vùng chồng lấp tối thiểu sử dụng ít nhất 2 trong số các phương pháp Kabat, Chothia, AbM và tiếp xúc có thể được xác định để tạo ra “đơn vị liên kết tối thiểu”. Đơn vị liên kết tối thiểu có thể là phần phụ của CDR.

Bảng 14 dưới đây thể hiện một định nghĩa sử dụng từng quy ước đánh số cho từng CDR hoặc đơn vị liên kết. Sơ đồ đánh số Kabat được sử dụng trong Bảng 14 để đánh số trình tự axit amin miền biến đổi. Cần lưu ý rằng một số định nghĩa CDR có thể thay đổi tùy thuộc vào công bố phẩm riêng được sử dụng

Bảng 14.

	Kabat CDR	Chothia CDR	AbM CDR	CDR tiếp xúc	Đơn vị liên kết tối thiểu
H1	31-35/35A/35B	26-32/33/34	26-35/35A/35B	30-35/35A/35B	31-32
H2	50-65	52-56	50-58	47-58	52-56
H3	95-102	95-102	95-102	93-101	95-101
L1	24-34	24-34	24-34	30-36	30-34
L2	50-56	50-56	50-56	46-55	50-55
L3	89-97	89-97	89-97	89-96	89-96

“Phần trăm tương đồng” giữa trình tự axit nucleic truy vấn và trình tự axit nucleic chủ là trị số “tương đồng”, được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm, mà được tính bằng thuật toán BLASTN khi trình tự axit nucleic chính có phạm vi truy vấn 100% với trình tự axit nucleic truy vấn sau khi thực hiện sắp xếp BLASTN theo cặp. Việc sắp xếp BLASTN theo cặp như vậy giữa trình tự axit nucleic truy vấn và trình tự axit nucleic chủ được thực hiện bằng cách sử dụng cài đặt mặc định thuật toán BLASTN có sẵn trên trang web của National Center for Biotechnology Institute với bộ lọc cho các vùng có độ phức tạp thấp đã được tắt. Quan trọng là, trình tự truy vấn có thể được mô tả bằng trình tự axit nucleic được xác định trong một hoặc nhiều yêu cầu bảo hộ trong bản mô tả này.

Trình tự axit nucleic mà có thể là hữu ích, và được bao gồm, trong các chế phẩm và phương pháp liên quan của sáng chế có thể tương đồng khoảng từ 85% đến khoảng 100%, khoảng 90% đến khoảng 100%, khoảng 95% đến khoảng 100%, khoảng 91% , khoảng 92%, khoảng 93%, khoảng 94%, khoảng 95%, khoảng 96%, khoảng 97%, khoảng 98%, khoảng 99% và khoảng 100% với các trình tự axit nucleic được xác định trong sáng chế (ví dụ: axit nucleic mã hóa chuỗi nặng kháng thể hoặc chuỗi nhẹ kháng thể). Theo sáng chế, phần trăm tương đồng giữa các trình tự axit nucleic được mô tả có thể bao gồm khoảng phụ riêng biệt bất kỳ của các khoảng phần

trăm tương đồng nêu trên (ví dụ: khoảng bất kỳ của các trị số nguyên trong khoảng cụ thể hoặc các trị số phụ riêng biệt trong khoảng cụ thể).

“Phần trăm tương đồng” giữa trình tự axit nucleic truy vấn và trình tự axit nucleic chủ là trị số “tương đồng”, được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm, mà được tính bằng thuật toán BLASTN khi trình tự axit nucleic chủ có phạm vi truy vấn 100% với trình tự axit nucleic truy vấn sau khi thực hiện sắp xếp BLASTN theo cặp. Việc sắp xếp BLASTN theo cặp như vậy giữa trình tự axit nucleic truy vấn và trình tự axit nucleic chủ được thực hiện bằng cách sử dụng cài đặt mặc định thuật toán BLASTN có sẵn trên trang web của National Center for Biotechnology Institute với bộ lọc cho các vùng có độ phức tạp thấp đã được tắt. Quan trọng là trình tự truy vấn có thể được mô tả bằng trình tự axit nucleic được xác định trong một hoặc nhiều yêu cầu bảo hộ trong bản mô tả này.

Trình tự axit nucleic mà có thể là hữu ích, và được bao gồm, trong các chế phẩm và phương pháp liên quan của sáng chế có thể tương đồng khoảng từ 85% đến khoảng 100%, khoảng 90% đến khoảng 100%, khoảng 95% đến khoảng 100%, khoảng 91% , khoảng 92%, khoảng 93%, khoảng 94%, khoảng 95%, khoảng 96%, khoảng 97%, khoảng 98%, khoảng 99% và khoảng 100% với các trình tự axit nucleic được xác định trong sáng chế (ví dụ: axit nucleic mã hóa chuỗi nặng kháng thể hoặc chuỗi nhẹ kháng thể). Theo sáng chế, phần trăm tương đồng giữa các trình tự axit nucleic được mô tả có thể bao gồm khoảng phụ riêng biệt bất kỳ của các khoảng phần trăm tương đồng được trích dẫn ở trên (ví dụ: khoảng bất kỳ của các trị số nguyên trong khoảng cụ thể hoặc các trị số phụ riêng biệt trong khoảng cụ thể).

Mỗi thuật ngữ “peptit”, “polypeptit”, “protein” và “chuỗi peptit” dùng để chỉ phân tử bao gồm hai hoặc nhiều gốc axit amin. Peptit có thể là monome hoặc polyme.

Đã được công nhận rộng rãi trong lĩnh vực này là các đột biến thể axit amin nhất định được coi là “bảo toàn”. Các axit amin được chia thành các nhóm dựa vào đột biến thể và các đặc tính mạch bên chung và các đột biến thể trong các nhóm mà giữ lại toàn bộ hoặc hầu như toàn bộ ái lực liên kết của protein liên kết kháng nguyên được coi là thay thế bảo toàn. Xem bảng 15. Các protein liên kết kháng nguyên được bộc lộ ở đây có thể bao gồm các đột biến thể axit amin “bảo toàn” như vậy.

Bảng 15.

Mạch bên	Thành phần
Chất kỵ nước	met, ala, val, leu, ile
Ưu nước trung tính	cys, ser, thr
Axit	asp, glu
Ba zơ	asn, gln, his, lys, arg
Gốc mà ảnh hưởng đến hướng chuỗi	gly, pro
Thơm	trp, tyr, phe

Thuật ngữ “dược phẩm” như được sử dụng ở đây có nghĩa là chế phẩm thích hợp để sử dụng cho bệnh nhân.

Các dược phẩm được mô tả trong bản mô tả này có thể bao gồm các chế phẩm được tinh chế của kháng thể như được mô tả trong bản mô tả này.

Ví dụ, chế phẩm dược có thể bao gồm chế phẩm được tinh chế của kháng thể như được mô tả trong bản mô tả này kết hợp với chất mang dược dụng.

Thông thường, các dược phẩm chứa chất mang dược dụng như đã biết và được yêu cầu bởi thực hành dược dụng. Các ví dụ về các chất mang như vậy gồm có chất mang vô trùng, như nước muối, dung dịch Ringers, hoặc dung dịch dextroza, tùy ý được đệm bằng chất đệm thích hợp đến độ pH trong khoảng từ 5 đến 8.

Các dược phẩm có thể được sử dụng bằng cách tiêm hoặc truyền (ví dụ, tiêm tĩnh mạch, tiêm màng bụng, tiêm trong da, tiêm dưới da, tiêm trong cơ, tiêm bắp). Thích hợp là, các chế phẩm này không chứa vật chất dạng hạt khả kiến. Các dược phẩm có thể bao gồm khoảng từ 1mg đến 10g protein liên kết kháng nguyên, ví dụ khoảng từ 5mg và 1g protein liên kết kháng nguyên. Ngoài ra, chế phẩm có thể chứa từ 5mg đến 500mg protein liên kết kháng nguyên, ví dụ từ 5mg đến 50mg.

Các phương pháp bào chế các dược phẩm như vậy là đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết rõ. Các dược phẩm có thể chứa từ 1mg đến 10g protein liên kết kháng nguyên ở dạng liều đơn vị, tùy ý cùng với hướng dẫn sử dụng. Các dược phẩm có thể được làm khô lạnh (đông khô) để hoàn nguyên trước khi sử dụng theo các phương pháp là đã biết hoặc rõ ràng đối với người có hiểu biết trung

bình trong lĩnh vực này. Trong trường hợp các kháng thể có lớp IgG1, chất chelat hóa của đồng, chẳng hạn xitrat (ví dụ, natri xitrat) hoặc EDTA hoặc histidin, có thể được bổ sung vào dược phẩm để làm giảm mức độ thoái biến qua trung gian đồng của kháng thể của lớp này. Các dược phẩm cũng có thể bao gồm chất hòa tan, chẳng hạn arginin, chất hoạt động bề mặt/chất chống kết tụ như polysorbat 80 và khí trơ như nitơ để thay thế oxy trong khoảng không đầu lọ chứa.

Thuật ngữ “lượng hữu hiệu trị liệu của” như được sử dụng ở đây có nghĩa là lượng tác nhân (như kháng thể hoặc dược phẩm), mà mang lại lợi ích trị liệu trong điều trị hoặc kiểm soát một hoặc nhiều triệu chứng của tình trạng được điều trị (như hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bong nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, viêm da cơ địa, viêm da cơ địa trung bình và viêm da cơ địa nặng). Các ví dụ về điều trị hoặc quản lý một hoặc nhiều triệu chứng hen phế quản bao gồm hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan và hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ như vậy bao gồm 1) giảm tần suất các cơn hen cấp phế quản; 2) giảm thời gian cơn cấp nghiêm trọng cần sử dụng corticosteroid đường miệng hoặc toàn thân, nhập viện và/hoặc thăm khám tại khoa cấp cứu (ED) lần đầu tiên về mặt lâm sàng; 3) giảm tần suất các cơn cấp phải nhập viện (bao gồm đặt nội khí quản và nhập viện tại một đơn vị chăm sóc đặc biệt) hoặc thăm khám ED; 4) giảm thời gian đến cơn cấp tính cần nhập viện hoặc thăm khám ED đầu tiên; 5) thay đổi FEV1 trước khi sử dụng thuốc giãn phế quản phòng khám so với giá trị chuẩn; 6) thay đổi FEV1 sau khi sử dụng thuốc giãn phế quản phòng khám so với giá trị chuẩn; 7) thay đổi điểm bảng hỏi kiểm soát hen phế quản (ACQ) so với giá trị chuẩn; 8) cải thiện chức năng phổi khi được đánh giá bằng phương pháp đo phế dung (ví dụ: dung tích sống (VC), dung lượng sống gắng sức (FVC), thể tích thở ra gắng sức (FEV) ở các khoảng thời gian 0,5, 1,0

(FEV1), 2,0 và 3,0 giây, lưu lượng thở ra gắng sức 25–75% (FEF 25-75) và thông khí tự ý tối đa (MVV) dung tích toàn phổi, thể tích bình thường, thể tích còn lại, thể tích dự trữ hô hấp, thể tích dự trữ hít vào, thể tích hít vào, thể tích sống hít vào, thể tích sống, thể tích cặn chức năng, dung tích cặn được biểu thị bằng phần trăm dung tích toàn phổi, thể tích khí phế nang, thể tích thực của phổi bao gồm thể tích phế quản dẫn, thể tích sống gắng sức, v.v); và 9) giảm các cơn hen cấp phế quản cần dùng steroid để kiểm soát (chẳng hạn steroid đường miệng hoặc prednisone giống steroid, prednisolone v.v - được sử dụng bằng đường bất kỳ). Việc giảm các cơn hen cấp phế quản cần dùng steroid để kiểm soát như vậy có thể giảm khoảng 50% các cơn cấp cần dùng steroid (ví dụ: steroid đường miệng).

Lượng hữu hiệu trị liệu của và chế độ điều trị thường được xác định theo kinh nghiệm và có thể phụ thuộc vào các yếu tố, như độ tuổi, cân nặng và tình trạng sức khỏe của bệnh nhân và bệnh hoặc rối loạn được điều trị. Các yếu tố này là trong hiểu biết của bác sĩ phụ trách.

Liều protein liên kết kháng nguyên được sử dụng cho đối tượng thường nằm trong khoảng từ 1g/kg đến 150mg/kg, từ 0,1mg/kg đến 100mg/kg, từ 0,5mg/kg đến 50mg/kg, từ 1 đến 25mg/kg, trong khoảng 0,3mg/kg và khoảng 3mg/kg hoặc từ 1 đến 10mg/kg trọng lượng cơ thể của đối tượng. Ví dụ, liều có thể là 10mg/kg, 30mg/kg hoặc 60mg/kg. Liều cũng có thể từ 10mg/kg đến 110mg/mg 15mg/kg đến 25mg/kg hoặc 15mg/kg đến 100mg/kg. Protein liên kết kháng nguyên có thể được sử dụng, ví dụ, ngoài đường tiêu hóa, tiêm dưới da, tiêm tĩnh mạch hoặc tiêm bắp. Liều cũng có thể sử dụng theo từng chuẩn đối tượng như khoảng 750mg mỗi đối tượng, khoảng 75mg mỗi đối tượng đến khoảng 750mg mỗi đối tượng, khoảng 20mg mỗi đối tượng đến khoảng 200mg mỗi đối tượng. Liều có thể là khoảng phụ riêng rẽ bất kỳ với các khoảng liều này. Ví dụ, liều cũng có thể được tiêm dưới da theo từng chuẩn đối tượng, chẳng hạn khoảng 100mg cho mỗi đối tượng (ví dụ, một lần mỗi 4 tuần), hoặc 300mg cho mỗi đối tượng (hoặc các liều khác được sử dụng có thể là tiêm dưới da với liều xấp xỉ được cung cấp, hoặc có thể tương đương, sinh khả dụng đạt được như khi tiêm tĩnh mạch, ví dụ, ba liều 100mg cho mỗi đối tượng để đạt được tổng liều tiêm dưới da là 300mg mỗi đối tượng).

Các khoảng được đề xuất ở đây, của loại bất kỳ, bao gồm tất cả trị số trong khoảng cụ thể được mô tả và các trị số ở đầu mút của khoảng cụ thể.

Nếu muốn, liều hữu hiệu hàng ngày của kháng thể hoặc protein liên kết kháng nguyên của sáng chế (ví dụ, dưới dạng dược phẩm) có thể được sử dụng thành 2, 3, 4, 5, 6 hoặc nhiều liều được sử dụng riêng biệt trong các khoảng thích hợp trong ngày, tùy ý, ở các dạng liều đơn vị.

Việc sử dụng liều có thể bằng cách tiêm truyền chậm liên tục trong khoảng thời gian từ 2 đến 24 giờ, chẳng hạn từ 2 đến 12 giờ, hoặc từ 2 đến 6 giờ. Việc sử dụng như vậy có thể làm giảm tác dụng phụ.

Sử dụng liều có thể được lặp lại một hoặc nhiều lần khi cần thiết, ví dụ, ba lần mỗi ngày, mỗi ngày một lần, 1 lần mỗi 2 ngày, mỗi tuần một lần, một lần mỗi 14 ngày, mỗi tháng một lần, một lần mỗi 3 tháng, một lần sau 4 tháng, một lần sau 6 tháng, hoặc một lần mỗi 12 tháng. Các protein liên kết kháng nguyên có thể được sử dụng bằng liệu pháp duy trì, ví dụ mỗi tuần một lần trong khoảng thời gian 6 tháng trở lên. Các protein liên kết kháng nguyên có thể được sử dụng bằng liệu pháp không liên tục, ví dụ, trong khoảng thời gian từ 3 đến 6 tháng và sau đó không dùng liều trong 3 đến 6 tháng, sau đó dùng lại protein liên kết kháng nguyên trong 3 đến 6 tháng, v.v. trong một chu kỳ.

Ví dụ, liều có thể được tiêm dưới da, một lần mỗi 14 hoặc 28 ngày, dưới dạng đa liều vào mỗi ngày sử dụng. Theo một phương án, liều của chế phẩm là 100mg 1 lần mỗi 4 tuần (28 ngày).

Protein liên kết kháng nguyên có thể được sử dụng cho đối tượng theo đích mục tiêu trị liệu đến vị trí cụ thể.

Protein liên kết kháng nguyên theo các phương pháp của sáng chế, có thể được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân có hoạt tính trị liệu khác, như kháng thể hoặc các chất ức chế phân tử nhỏ.

Thuật ngữ “điều trị” và các biến thể ngữ pháp của nó như được sử dụng ở đây, có nghĩa là liệu pháp điều trị. Liên quan đến tình trạng cụ thể, điều trị có nghĩa là: (1) để cải thiện tình trạng của một hoặc nhiều biểu hiện sinh học của tình trạng, (2) để can thiệp a) một hoặc nhiều điểm trong bậc thang sinh học dẫn đến hoặc là chịu trách nhiệm về tình trạng hoặc b) một hoặc nhiều biểu hiện sinh học của tình trạng này, (3) để làm giảm nhẹ một hoặc nhiều triệu chứng, tác dụng hoặc tác dụng phụ liên quan đến tình trạng hoặc việc điều trị nó, (4) để làm chậm sự tiến triển của tình trạng hoặc

một hoặc nhiều biểu hiện sinh học của tình trạng hoặc (5) để ngăn chặn sự khởi phát của một hoặc nhiều biểu hiện sinh học của tình trạng này. Từ đó điều trị dự phòng cũng được dự tính. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng “phòng ngừa” không phải là thuật ngữ tuyệt đối. Trong y học, “phòng ngừa” được hiểu là chỉ việc sử dụng dự phòng thuốc để làm giảm đáng kể khả năng xuất hiện hoặc mức độ nghiêm trọng của tình trạng hoặc biểu hiện sinh học của nó, hoặc trì hoãn sự khởi phát của tình trạng đó hoặc biểu hiện sinh học của chúng.

Các thuật ngữ “cá thể”, “đối tượng” và “bệnh nhân” trong bản mô tả này được sử dụng thay thế cho nhau. Các thuật ngữ cá nhân, và các đối tượng khác, và các bệnh nhân khác được sử dụng thay thế cho nhau. Đối tượng thường là con người. Đối tượng cũng có thể là động vật có vú, chẳng hạn chuột, chuột nhắt hoặc linh trưởng (ví dụ: khỉ đuôi sóc hoặc khỉ). Đối tượng có thể là động vật không phải người. Các protein liên kết kháng nguyên, các chế phẩm và các phương pháp của chế phẩm cũng có tác dụng trong thú y. Đối tượng được điều trị có thể là động vật trang trại, ví dụ: bò cái hoặc bò đực, cừu, lợn, bò, dê hoặc ngựa hoặc có thể là vật nuôi trong nhà như chó hoặc mèo. Con vật có thể ở lứa tuổi bất kỳ, hoặc động vật trưởng thành thuần thục.

Điều trị có thể là chữa bệnh, phòng ngừa hoặc dự phòng. Đối tượng sẽ là đối tượng cần điều trị. Những đối tượng cần điều trị có thể bao gồm các cá thể đã mắc một căn bệnh y tế cụ thể, ngoài những đối tượng có thể mắc bệnh trong tương lai.

Do đó, các phương pháp, các protein liên kết kháng nguyên và các chế phẩm của sáng chế được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng để điều trị phòng ngừa hoặc điều trị dự phòng nếu được chỉ định. Trong trường hợp này, các phương pháp, các protein liên kết kháng nguyên và các chế phẩm của sáng chế có thể được sử dụng để ngăn ngừa hoặc trì hoãn sự khởi phát của một hoặc nhiều khía cạnh hoặc triệu chứng của bệnh. Đối tượng có thể không có triệu chứng. Đối tượng có thể có bản chất di truyền đối với bệnh. Lượng protein liên kết kháng nguyên hữu hiệu phòng ngừa được sử dụng cho cá thể như vậy. Lượng hữu hiệu phòng ngừa là lượng mà phòng ngừa hoặc trì hoãn sự khởi đầu của một hoặc nhiều khía cạnh hoặc triệu chứng của một bệnh được mô tả trong bản mô tả này.

Các phương pháp, các protein liên kết kháng nguyên và các chế phẩm của sáng chế không nhất thiết phải có tác dụng chữa khỏi hoàn toàn, hoặc loại bỏ mọi triệu

chứng hoặc biểu hiện của bệnh để trở thành phương pháp điều trị khả thi. Như đã được công nhận trong lĩnh vực này, các loại thuốc được sử dụng làm tác nhân trị liệu trong các phương pháp điều trị có thể làm giảm mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh nhất định, nhưng không cần loại bỏ mọi biểu hiện của bệnh để được coi là tác nhân trị liệu hữu ích. Tương tự như vậy, điều trị sử dụng dự phòng không cần phải hoàn toàn hiệu quả trong việc ngăn ngừa sự khởi phát của bệnh để tạo thành một tác nhân dự phòng khả thi. Đơn giản là chỉ cần giảm tác động của bệnh (ví dụ, bằng cách giảm số lượng hoặc mức độ nghiêm trọng của các triệu chứng hoặc bằng cách tăng hiệu quả của việc điều trị khác, hoặc bằng cách tạo ra hiệu quả có lợi khác), hoặc giảm khả năng bệnh sẽ xảy ra (ví dụ: bằng cách trì hoãn sự khởi phát của bệnh) hoặc xấu đi ở đối tượng, là đủ.

Một khía cạnh của sáng chế là protein liên kết kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 10.

Theo một phương án của protein liên kết kháng nguyên sáng chế, vùng biến đổi chuỗi nặng còn bao gồm trình tự axit amin FR4 chuỗi nặng như được thể hiện ở SEQ ID NO: 21.

Theo một phương án, protein liên kết kháng nguyên của sáng chế bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256 và trong đó đầu amin của miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng.

Khía cạnh khác của sáng chế là protein liên kết kháng nguyên bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4.

Khía cạnh khác của sáng chế là kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, trong đó a) chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và b)

chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 10.

Theo một phương án của kháng thể của sáng chế, vùng biến đổi chuỗi nặng còn bao gồm trình tự axit amin FR4 chuỗi nặng như được thể hiện ở SEQ ID NO: 21.

Theo một phương án của kháng thể của sáng chế, chuỗi nặng bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256.

Khía cạnh khác của sáng chế là kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, trong đó a) chuỗi nặng bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và b) chuỗi nhẹ bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4.

Theo một phương án của kháng thể của sáng chế, chuỗi nặng bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256.

Khía cạnh khác của sáng chế là kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 2.

Khía cạnh khác của sáng chế là chuỗi peptit bao gồm trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3.

Khía cạnh khác của sáng chế là chuỗi peptit bao gồm trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 1.

Theo một phương án, chế phẩm của sáng chế bao gồm axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của sáng chế và axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của protein liên kết kháng nguyên của sáng chế.

Theo một phương án, chế phẩm của sáng chế bao gồm axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của sáng chế và axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của sáng chế.

Theo một phương án, chế phẩm của sáng chế bao gồm axit nucleic mã hóa miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng của sáng chế và axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của sáng chế.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3 và axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 2.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 1.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 15 và axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 16.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 17 và axit nucleic có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 18.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 13 và axit nucleic có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 14.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 15.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 17.

Khía cạnh khác của sáng chế là chế phẩm bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 13.

Theo một phương án, chế phẩm của sáng chế bao gồm axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của sáng chế.

Theo một phương án, chế phẩm của sáng chế bao gồm axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của sáng chế.

Theo một phương án, chế phẩm của sáng chế bao gồm axit nucleic mã hóa miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng của sáng chế.

Theo một phương án, vector biểu hiện của sáng chế bao gồm chế phẩm của sáng chế.

Theo một phương án, tế bào chủ tái tổ hợp của sáng chế bao gồm vector biểu hiện bao gồm chế phẩm của sáng chế. Theo một phương án khác tế bào chủ tái tổ hợp có thể bao gồm vector biểu hiện thứ nhất mã hóa chuỗi peptit protein liên kết kháng nguyên đầu tiên (ví dụ, chuỗi nhẹ kháng thể) và vector biểu hiện thứ hai mã hóa chuỗi peptit liên kết kháng nguyên thứ hai của sáng chế (ví dụ, chuỗi nhẹ kháng thể).

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp sản xuất chuỗi peptit bao gồm trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 3 phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ tái tổ hợp bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và thu hồi chuỗi peptit.

Theo một phương án của phương pháp của sáng chế, axit nucleic bao gồm trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 15.

Theo một phương án của phương pháp của sáng chế, axit nucleic bao gồm trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 13.

Theo một phương án của phương pháp của sáng chế, axit nucleic bao gồm trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 17.

Một phương án của sáng chế là phương pháp sản xuất protein liên kết kháng nguyên bao gồm các bước: a) nuôi cấy tế bào chủ tái tổ hợp bao gồm vector biểu hiện bao gồm chế phẩm của sáng chế; và b) thu hồi protein liên kết kháng nguyên; nhờ đó protein liên kết kháng nguyên được sản xuất.

Theo một phương án của sáng chế, protein liên kết kháng nguyên được sản xuất bằng phương pháp của sáng chế.

Một phương án của sáng chế là phương pháp sản xuất kháng thể bao gồm các bước: a) nuôi cấy tế bào chủ tái tổ hợp bao gồm vector biểu hiện bao gồm chế phẩm của sáng chế; và b) thu hồi kháng thể; nhờ đó kháng thể được tạo ra.

Một phương án của sáng chế là kháng thể được sản xuất theo phương pháp của sáng chế.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp sản xuất kháng thể bao gồm các bước: a) nuôi cấy tế bào chủ tái tổ hợp bao gồm vectơ biểu hiện bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 17 và axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 18; và b) thu hồi kháng thể; nhờ đó kháng thể được tạo ra.

Khía cạnh khác của sáng chế là dược phẩm chứa: a) protein liên kết kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 10; và b) chất mang dược dụng.

Theo một phương án của dược phẩm của sáng chế, vùng biến đổi chuỗi nặng còn bao gồm trình tự axit amin FR4 chuỗi nặng như được thể hiện ở SEQ ID NO: 21.

Theo một phương án, dược phẩm của sáng chế bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256 và trong đó đầu amin của miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng.

Theo một phương án của dược phẩm của sáng chế, protein liên kết kháng nguyên ở nồng độ từ khoảng 75mg/ml đến khoảng 150mg/ml.

Theo một phương án của dược phẩm của sáng chế, chất mang dược dụng bao gồm chế phẩm dạng lỏng chứa nước ở khoảng độ pH từ 5,5 đến khoảng 6,0 chứa khoảng 40mM histidin, khoảng 180nM trehaloza, khoảng 100mM arginin, khoảng 8mM methionin, khoảng 0,02% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích và khoảng 0,05mM EDTA.

Theo một phương án của dược phẩm của sáng chế, độ pH là khoảng 6,0 và protein liên kết kháng nguyên ở nồng độ khoảng 150mg/ml.

Khía cạnh khác của sáng chế là dược phẩm chứa: a) kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình

tự axit amin CDRH2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 10; và b) chất mang được dụng.

58. Dược phẩm theo điểm 57 trong đó kháng thể ở nồng độ trong khoảng từ 75mg/ml đến khoảng 150mg/ml.

Theo một phương án của dược phẩm của sáng chế, chất mang được dụng bao gồm chế phẩm lỏng chứa nước có độ pH từ khoảng 5,5 đến khoảng pH 6,0 chứa khoảng 40mM histidin, khoảng 180mM trehaloza, khoảng 100mM arginin, khoảng 8mM methionin, khoảng 0,02% trọng lượng polysorbate 80 theo thể tích và khoảng 0,05mM EDTA.

Theo một phương án của dược phẩm của sáng chế, độ pH là khoảng 6,0 và kháng thể ở nồng độ khoảng 150mg/ml.

Khía cạnh khác của sáng chế là dược phẩm chứa: a) kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, trong đó chuỗi nặng bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và chuỗi nhẹ bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4; và b) chất mang được dụng.

Khía cạnh khác của sáng chế là dược phẩm chứa: a) kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 2; và b) chất mang được dụng.

Một phương án của sáng chế là phương pháp điều trị bệnh ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng mắc bệnh được chọn từ nhóm gồm có hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bọng nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, viêm da cơ địa, viêm da cơ địa trung bình và viêm da cơ địa

nặng; và b) sử dụng lượng hữu hiệu trị liệu của protein liên kết kháng nguyên theo sáng chế cho đối tượng; nhờ đó bệnh ở đối tượng được điều trị.

Theo một phương án của các phương pháp của sáng chế, lượng protein liên kết kháng nguyên là khoảng 2mg đến khoảng 600mg. Ví dụ, lượng protein liên kết kháng nguyên (ví dụ, kháng thể) có thể là liều 2mg, 10mg, 30mg, 100mg, 300mg hoặc 600mg.

Theo một phương án của phương pháp của sáng chế, protein liên kết kháng nguyên được sử dụng một lần mỗi 3 tháng hoặc một lần mỗi 6 tháng.

Theo một phương án của phương pháp của sáng chế, đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl .

Một phương án của sáng chế là phương pháp điều trị bệnh ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng mắc bệnh được chọn từ nhóm gồm có hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bong nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, viêm da cơ địa, viêm da cơ địa trung bình và viêm da cơ địa nặng; và b) sử dụng lượng hữu hiệu trị liệu của kháng thể theo sáng chế cho đối tượng; nhờ đó bệnh ở đối tượng được điều trị.

Một phương án của sáng chế là phương pháp điều trị bệnh ở đối tượng bao gồm các bước a) xác định đối tượng mắc bệnh được chọn từ nhóm gồm có hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bong nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, viêm da cơ địa, viêm da cơ địa trung bình và viêm da cơ địa

nặng; và b) sử dụng lượng hữu hiệu trị liệu của chế phẩm theo sáng chế cho đối tượng; nhờ đó bệnh ở đối tượng được điều trị.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp điều trị hen phế quản từ nhẹ đến trung bình ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng được chẩn đoán bị hen phế quản từ nhẹ đến trung bình; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 10; nhờ đó bệnh hen phế quản từ nhẹ đến trung bình ở đối tượng được điều trị.

Một phương án là phương pháp của sáng chế trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng còn bao gồm trình tự axit amin FR4 chuỗi nặng như được thể hiện ở SEQ ID NO: 21.

Một phương án là phương pháp của sáng chế trong đó kháng thể bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256 và trong đó đầu amin của miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng.

Một phương án là phương pháp của sáng chế trong đó kháng thể bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4.

Một phương án là phương pháp của sáng chế trong đó kháng thể được tiêm dưới da.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp điều trị hen phế quản từ nhẹ đến trung bình ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng được chẩn đoán bị hen phế quản từ nhẹ đến trung bình; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1; nhờ đó bệnh hen phế quản từ nhẹ đến trung bình ở đối tượng được điều trị.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp điều trị hen phế quản từ nhẹ đến trung bình ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng được chẩn đoán bị hen phế quản từ nhẹ đến trung bình; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu được phẩm chứa kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chất mang được dụng; nhờ đó bệnh hen phế quản từ nhẹ đến trung bình ở đối tượng được điều trị.

Một phương án là phương pháp của sáng chế trong đó chất mang được dụng bao gồm chế phẩm lỏng chứa nước có pH từ khoảng 5,5 đến khoảng 6,0 chứa khoảng 40mM histidin, khoảng 180mM trehaloza, khoảng 100mM arginin, khoảng 8mM methionin, khoảng 0,02% trọng lượng polysorbate 80 đến đủ thể tích và khoảng 0,05mM EDTA.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp điều trị hen phế quản nặng ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng được chẩn đoán bị hen phế quản nặng; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 10; từ đó bệnh hen phế quản nặng ở đối tượng được điều trị.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp điều trị hen phế quản nặng ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng được chẩn đoán bị hen phế quản nặng; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1; từ đó bệnh hen phế quản nặng ở đối tượng được điều trị.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp điều trị hen phế quản nặng ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng được chẩn đoán bị hen phế quản nặng; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu được phẩm chứa kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có

trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chất mang được dụng; từ đó bệnh hen phế quản nặng ở đối tượng được điều trị.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp điều trị viêm da cơ địa từ trung bình đến nặng ở đối tượng cần điều trị bao gồm các bước: a) xác định đối tượng có ít nhất một tiêu chí được chọn từ: i) chẩn đoán viêm da cơ địa theo tiêu chí sửa đổi Eichenfield của Hanifin và Rajka; ii) chẩn đoán viêm da cơ địa trước khi điều trị từ khoảng 2 năm hoặc lâu hơn; iii) điểm đánh giá tổng quát của chuyên gia chăm sóc sức khỏe lớn hơn hoặc bằng khoảng 3; iv) vùng viêm da cơ địa lớn hơn hoặc bằng khoảng 10% diện tích bề mặt cơ thể; v) diện tích eczema và điểm chỉ số nghiêm trọng lớn hơn hoặc bằng 16; vi) số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần lớn hơn hoặc bằng 150 tế bào trên mỗi μl , lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl , lớn hơn hoặc bằng 300 tế bào trên mỗi μl , hoặc lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl ; và vii) ít nhất 1 tình trạng trước khi điều trị được chọn từ nhóm bao gồm: 1) phản ứng không đầy đủ đối với thuốc viêm da cơ địa khu trú, lớn hơn hoặc bằng 6 tháng; 2) dung nạp kém thuốc viêm da cơ địa khu trú; 3) tác dụng phụ từ thuốc viêm da cơ địa khu trú; và 4) đáp ứng không đầy đủ với điều trị phi phẫu thuật viêm da cơ địa; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 10; từ đó bệnh viêm da cơ địa ở đối tượng được điều trị.

Một phương án là phương pháp của sáng chế trong đó kháng thể được tiêm tĩnh mạch.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp điều trị viêm da cơ địa từ trung bình đến nặng ở đối tượng cần điều trị bao gồm các bước: a) xác định đối tượng có ít nhất một tiêu chí được chọn từ: i) chẩn đoán viêm da cơ địa theo tiêu chí sửa đổi Eichenfield của Hanifin và Rajka; ii) chẩn đoán viêm da cơ địa trước khi điều trị từ khoảng 2 năm hoặc lâu hơn; iii) điểm đánh giá tổng quát của chuyên gia chăm sóc sức khỏe lớn hơn hoặc bằng khoảng ba; iv) vùng viêm da cơ địa lớn hơn hoặc bằng khoảng 10% diện tích bề mặt cơ thể; v) diện tích eczema và điểm chỉ số nghiêm trọng lớn hơn

hoặc bằng 16; vi) số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần lớn hơn hoặc bằng 150 tế bào trên mỗi μl , lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl , lớn hơn hoặc bằng 300 tế bào trên mỗi μl , hoặc lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl ; và vii) ít nhất 1 tình trạng trước khi điều trị được chọn từ nhóm bao gồm: 1) phản ứng không đầy đủ đối với thuốc viêm da cơ địa khu trú, lớn hơn hoặc bằng 6 tháng; 2) dung nạp kém thuốc viêm da cơ địa khu trú; 3) tác dụng phụ từ thuốc viêm da cơ địa khu trú; và 4) đáp ứng không đầy đủ với điều trị phi phẫu thuật viêm da cơ địa; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1; từ đó bệnh viêm da cơ địa ở đối tượng được điều trị.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp điều trị viêm da cơ địa từ trung bình đến nặng ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng có ít nhất một tiêu chí được chọn từ: i) chẩn đoán viêm da cơ địa theo tiêu chí sửa đổi Eichenfield của Hanifin và Rajka; ii) chẩn đoán viêm da cơ địa trước khi điều trị từ khoảng 2 năm hoặc lâu hơn; iii) điểm đánh giá tổng quát của chuyên gia chăm sóc sức khỏe lớn hơn hoặc bằng khoảng ba; iv) vùng viêm da cơ địa lớn hơn hoặc bằng khoảng 10% diện tích bề mặt cơ thể; v) diện tích eczema và điểm chỉ số nghiêm trọng lớn hơn hoặc bằng 16; vi) số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần lớn hơn hoặc bằng 150 tế bào trên mỗi μl , lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl , lớn hơn hoặc bằng 300 tế bào trên mỗi μl , hoặc lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl ; và vii) ít nhất 1 tình trạng trước khi điều trị được chọn từ nhóm bao gồm: 1) phản ứng không đầy đủ đối với thuốc viêm da cơ địa khu trú, lớn hơn hoặc bằng 6 tháng; 2) dung nạp kém thuốc viêm da cơ địa khu trú; 3) tác dụng phụ từ thuốc viêm da cơ địa khu trú; và 4) đáp ứng không đầy đủ với điều trị phi phẫu thuật viêm da cơ địa; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu được phẩm chứa kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chất mang được dụng; từ đó bệnh viêm da cơ địa ở đối tượng được điều trị.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp làm giảm số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng mắc tình trạng được chọn từ nhóm bao gồm hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế

quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bong nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan và viêm da cơ địa; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 10; từ đó làm giảm số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần ở đối tượng.

Một phương án của phương pháp của sáng chế còn bao gồm các bước: a) thực hiện phép đo số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần thứ nhất ở đối tượng; b) thực hiện phép đo số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần thứ hai ở đối tượng sau khi cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu protein liên kết kháng nguyên; và so sánh phép đo thứ nhất và phép đo thứ hai.

Một phương án của phương pháp của sáng chế còn bao gồm các bước: a) thực hiện phép đo số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần thứ nhất ở đối tượng; b) thực hiện phép đo số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần thứ hai ở đối tượng sau khi cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu protein liên kết kháng nguyên; và so sánh phép đo thứ nhất và phép đo thứ hai; và trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl .

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp làm giảm số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng mắc tình trạng được chọn từ nhóm bao gồm hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bong nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, viêm da cơ

địa, viêm da cơ địa trung bình và viêm da cơ địa nặng; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1; từ đó bệnh viêm da cơ địa ở đối tượng được điều trị.

Khía cạnh khác của sáng chế là phương pháp làm giảm số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần ở đối tượng bao gồm các bước: a) xác định đối tượng mắc tình trạng được chọn từ nhóm bao gồm hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bọng nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, viêm da cơ địa, viêm da cơ địa trung bình và viêm da cơ địa nặng; và b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu được phẩm chứa kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chất mang được dụng; từ đó làm giảm số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần ở đối tượng.

Một phương án của sáng chế là chế phẩm theo sáng chế để sử dụng trong điều trị bệnh.

Một phương án của sáng chế là chế phẩm theo sáng chế để sử dụng trong điều trị hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bọng nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, viêm da cơ địa, viêm da cơ địa trung bình và viêm da cơ địa nặng.

Các chế phẩm của sáng chế có thể còn bao gồm chất đệm được chọn từ nhóm gồm có natri phosphat dibazơ heptahydrat, phosphat, axit xitric, xitrat, natri phosphat,

kali phosphat, natri xitrat, và histidin, tạo độ pH trong khoảng từ 6,8 đến 7,2 hoặc pH từ khoảng 6,2 đến 6,6 với trị số pH 6,3 là được ưu tiên. Chất đệm trong các chế phẩm của sáng chế có thể có mặt với lượng từ khoảng 10-30mM, khoảng 10-20mM, khoảng 20mM hoặc khoảng 15,5mM. Ví dụ, chất đệm trong các chế phẩm của sáng chế có ở khoảng 20mM, hoặc ở khoảng 15,5mM natri phosphat dibazơ heptahydrat.

Các chế phẩm của sáng chế có thể bao gồm các tác nhân đệm axit xitric và natri phosphat dibazơ heptahydrat tạo độ pH ở khoảng từ 6,2 đến 6,6 bao gồm trị số pH 6,3 được ưu tiên. Tác nhân đệm natri phosphat dibazơ heptahydrat có thể có mặt với lượng trong khoảng 15-16,4mM và tác nhân đệm axit xitric có thể có mặt với lượng trong khoảng 3,8-4,9mM. Ví dụ, các chế phẩm của sáng chế có thể bao gồm khoảng 15,5mM natri phosphat dibazơ heptahydrat và khoảng 4,5mM axit xitric monohydrat.

Các chế phẩm của sáng chế có thể còn bao gồm đường. Các chế phẩm của sáng chế có thể còn bao gồm sucroza. Sucroza có thể có trong các chế phẩm của sáng chế trong khoảng 5-20%; khoảng 10-15%, khoảng 11-13% hoặc ở khoảng 12% trọng lượng theo thể tích.

Các chế phẩm của sáng chế có thể còn bao gồm polysorbat 80. Polysorbat 80 có thể có mặt với lượng trong khoảng từ 0,01-0,1% trọng lượng theo thể tích. Ví dụ, polysorbat 80 có thể có trong các chế phẩm của sáng chế ở khoảng 0,02% trọng lượng theo thể tích, hoặc ở khoảng 0,05% trọng lượng theo thể tích.

Các chế phẩm của sáng chế có thể còn bao gồm EDTA. EDTA có thể có mặt với lượng trong khoảng từ khoảng 0,01-0,1mM. Ví dụ, EDTA có thể có ở khoảng 0,05mM.

Theo một phương án, các chế phẩm của sáng chế bao gồm 20mM natri phosphat dibazơ heptahydrat, 12% trọng lượng sucroza theo thể tích và 0,05% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích.

Theo một phương án khác, các chế phẩm của sáng chế bao gồm 15,5mM natri phosphat dibazơ, 3,9mM axit xitric monohydrat, 12% trọng lượng sucroza theo thể tích, 0,02% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích và 0,05mM EDTA.

Các chế phẩm của sáng chế có thể bao gồm chế phẩm lỏng chứa nước có độ pH 6,2 chứa 16,1mM natri phosphat dibazơ heptahydrat, 3,9mM axit xitric monohydrat,

12% trọng lượng sucroza theo thể tích, 0,02% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích và 0,05mM EDTA.

Các chế phẩm của sáng chế có thể bao gồm chế phẩm lỏng chứa nước ở độ pH 6,2 chứa 15,2mM natri phosphat dibazơ heptahydrat, 4,8mM axit xitric monohydrat, 12% trọng lượng sucroza theo thể tích, 0,02% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích và 0,05mM EDTA.

Các chế phẩm của sáng chế có thể bao gồm chế phẩm lỏng chứa nước có độ pH 6,4 chứa 15,8mM natri phosphat dibazơ heptahydrat, 4,2mM axit xitric monohydrat, 12% trọng lượng sucroza theo thể tích, 0,02% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích và 0,05mM EDTA.

Các chế phẩm của sáng chế có thể bao gồm chế phẩm lỏng chứa nước có độ pH 6,6 chứa 16,3mM natri phosphat dibazơ heptahydrat, 3,7mM axit xitric monohydrat, 12% trọng lượng sucroza theo thể tích, 0,02% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích và 0,05mM EDTA.

Các chế phẩm của sáng chế có thể bao gồm chế phẩm lỏng chứa nước có độ pH 6,3 chứa 15,5mM natri phosphat dibazơ heptahydrat, 4,5mM axit xitric monohydrat, 12% trọng lượng sucroza theo thể tích, 0,02% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích và 0,05mM EDTA. Quan trọng là, bước lọc tiếp xúc và trao đổi siêu lọc của ví dụ 1 dưới đây có thể được điều chỉnh để điều chế các chế phẩm của sáng chế, chẳng hạn chế phẩm của sáng chế bao gồm 15,5mM natri phosphat dibazơ heptahydrat, 4,5mM axit xitric monohydrat, 12% thể tích sucroza, 0,02% trọng lượng theo thể tích polysorbat 80, 0,05mM EDTA có độ pH 6,3 hoặc các chế phẩm lỏng khác.

Các chế phẩm của sáng chế có thể bao gồm chế phẩm được tinh chế chứa kháng thể đơn dòng và tác nhân đệm, trong đó chế phẩm có độ pH từ 6,8 đến 7,2, trong đó tác nhân đệm là histidin, phosphat, axit xitric, xitrat hoặc muối của nó.

Trong các chế phẩm của sáng chế, tác nhân đệm có thể là ít nhất một loại được chọn từ nhóm gồm có natri phosphat dibazơ heptahydrat, phosphat, axit xitric và xitrat.

Trong các chế phẩm của sáng chế, tác nhân đệm có thể là natri phosphat, kali phosphat, hoặc natri xitrat.

Các chế phẩm của sáng chế có thể bao gồm đường, carbohydrat và/hoặc muối.

Các chế phẩm của sáng chế còn có thể bao gồm sucroza hoặc trehaloza.

Các chế phẩm của sáng chế còn có thể bao gồm chế phẩm được tinh chế chứa kháng thể đơn dòng và tác nhân đệm, trong đó chế phẩm có độ pH từ 6,8 đến 7,2, trong đó tác nhân đệm là phosphat hoặc muối của nó.

Chế phẩm của sáng chế còn có thể bao gồm một loại được chọn từ chế phẩm thứ nhất chứa 20mM natri phosphat dibazơ heptahydrat, 12% trọng lượng sucroza theo thể tích và 0,05% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích; và chế phẩm thứ hai chứa 15,5mM natri phosphat dibazơ heptahydrat, 3,9mM axit xitric monohydrat, 12% trọng lượng sucroza theo thể tích, 0,02% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích và 0,05mM EDTA; và chế phẩm thứ 3 chứa 26mM natri phosphat dibazơ heptahydrat, 15% trọng lượng sucroza theo thể tích và 0,065% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích. Chế phẩm có thể có độ pH trong khoảng 6,8 đến khoảng 7,2, khoảng 6,1 đến khoảng 6,5 hoặc khoảng 6 đến khoảng 6,6.

Các chế phẩm được mô tả trong bản mô tả này có thể được sản xuất bằng nhiều kỹ thuật thông thường bất kỳ. Ví dụ, các chế phẩm có thể được biểu hiện và được tinh chế từ các hệ thống biểu hiện tái tổ hợp. Theo một phương án, chế phẩm được sản xuất bằng phương pháp nuôi cấy tế bào chủ dưới các điều kiện thích hợp để biểu hiện polypeptit bao gồm SEQ ID NO: 1 và SEQ ID NO:2, trong đó chế phẩm được biểu hiện, và tùy ý được tinh chế, và tùy ý được phối chế thành dược phẩm.

Nhiều hệ thống biểu hiện và chế độ tinh chế khác nhau có thể được sử dụng để sản xuất các chế phẩm. Nói chung, các tế bào chủ được chuyển nhiễm với vector biểu hiện tái tổ hợp mã hóa kháng thể. Nhiều loại tế bào chủ có thể được sử dụng, bao gồm các dòng tế bào nhân chuẩn có nguồn gốc từ động vật có vú (ví dụ: CHO, Perc6, HEK293, HeLa, NS0). Các tế bào chủ thích hợp bao gồm các tế bào động vật có vú như CHO (ví dụ: CHOK1 và CHO-DG44).

Tế bào chủ có thể là tế bào chủ được phân lập. Tế bào chủ thường không phải là bộ phận của sinh vật đa bào (ví dụ, thực vật hay động vật). Tế bào chủ có thể là tế bào chủ không phải của người.

Các vector nhân dòng và biểu hiện thích hợp để sử dụng với vật chủ tế bào nhân chuẩn hoặc động vật có vú và phương pháp nhân dòng là đã biết trong lĩnh vực này.

Các tế bào có thể được nuôi cấy dưới các điều kiện thúc đẩy sự biểu hiện của kháng thể. Ví dụ, bình phản ứng sinh học sản xuất được sử dụng để nuôi cấy các tế bào. Thể tích bình phản ứng sinh học sản xuất có thể là: (i) khoảng 20.000 lít, khoảng 10.000 lít; khoảng 5.000 lít; khoảng 2.000 lít; khoảng 1.000 lít; hoặc khoảng 500 lít; hoặc (ii) từ 500 đến 20.000 lít; từ 500 đến 10.000 lít; từ 500 đến 5.000 lít; từ 1.000 đến 10.000 lít, hoặc từ 2.000 đến 10.000 lít. Ví dụ, các tế bào có thể được nuôi cấy trong lò phản ứng sinh học sản xuất ở độ pH là khoảng 6,75 đến 7,00. Theo cách khác, các tế bào có thể được nuôi cấy trong lò phản ứng sinh học sản xuất trong khoảng 12 đến khoảng 18 ngày. Theo cách khác, các tế bào có thể được nuôi cấy trong lò phản ứng sinh học sản xuất ở độ pH là khoảng 6,75 đến 7,00, trong khoảng 12 đến khoảng 18 ngày. Bước nuôi cấy này có thể giúp kiểm soát mức độ của các biến thể kháng thể khử amin, ví dụ, để giảm mức độ của các biến thể kháng thể khử amin.

Chế phẩm có thể được thu hồi và tinh chế bằng các quy trình tinh chế protein thông thường. Ví dụ, chế phẩm có thể được thu hoạch trực tiếp từ môi trường nuôi cấy. Việc thu hoạch môi trường nuôi cấy tế bào có thể bằng cách lọc, ví dụ bằng cách ly tâm và/hoặc lọc sâu. Sau đó tinh chế để thu hồi chế phẩm để đảm bảo đủ độ tinh khiết.

Một hoặc nhiều bước sắc ký có thể được sử dụng trong quá trình tinh chế, ví dụ một hoặc nhiều nhựa sắc ký; và/hoặc một hoặc nhiều bước lọc. Ví dụ, sắc ký ái lực sử dụng nhựa, chẳng hạn protein A, G hoặc L có thể được sử dụng để tinh chế chế phẩm. Theo cách khác, hoặc ngoài ra, nhựa trao đổi ion như trao đổi cation có thể được sử dụng để tinh chế chế phẩm. Theo cách khác, hoặc ngoài ra, nhựa trao đổi ion như trao đổi cation có thể được sử dụng để tinh chế chế phẩm. Theo cách khác, hoặc ngoài ra, nhựa sắc ký tương tác kỵ nước có thể được sử dụng để tinh chế chế phẩm. Theo cách khác, các bước tinh chế bao gồm: bước nhựa sắc ký ái lực, tiếp đó là bước nhựa trao đổi cation, tiếp theo là bước nhựa sắc ký tương tác kỵ nước.

Ví dụ, sản phẩm thu hoạch được cho tiếp xúc với nhựa protein A. Dung dịch chứa chế phẩm có thể được giải hấp từ nhựa protein A và được xử lý ở độ pH từ 3,3 đến 3,7 trong 15 đến 240 phút. Bước nhựa protein A này có thể giúp kiểm soát mức độ

của các biến thể kháng thể tổng hợp, ví dụ, để giảm mức độ của các biến thể kháng thể tổng hợp.

Sau đó, dung dịch chứa chế phẩm có thể được làm trong thêm bằng cách lọc sâu và/hoặc lọc hai lớp.

Theo cách khác, hoặc ngoài ra, nhựa trao đổi anion có thể được sử dụng. Dung dịch chứa chế phẩm có thể được cho tiếp xúc với nhựa trao đổi anion (ví dụ sắc ký trao đổi anion dòng chảy nhanh Q-SEPHAROSE™) ở độ pH tải từ 8,3 đến 8,7. Dung dịch chứa chế phẩm có thể được rửa giải từ nhựa trao đổi anion và được lưu trong 96 giờ hoặc ít hơn. Bước nhựa trao đổi anion này có thể giúp kiểm soát mức độ của các biến thể kháng thể khử amin, ví dụ, để giảm mức độ của các biến thể kháng thể khử amin.

Tùy ý, guanidine và/hoặc amoni sulphat có thể được bổ sung vào dung dịch chứa chế phẩm và được lưu trong 15 đến 240 phút.

Theo cách khác, hoặc ngoài ra, nhựa sắc ký tương tác kỵ nước có thể được sử dụng. Dung dịch chứa chế phẩm có thể được cho tiếp xúc với nhựa sắc ký tương tác kỵ nước (ví dụ, sắc ký dòng chảy nhanh phenyl SEPHAROSE™) ở tỷ lệ tải từ 12 đến 27g protein/l nhựa. Ví dụ: dung dịch chứa chế phẩm có thể được rửa giải sử dụng thể tích gradien rửa giải (thể tích đệm; BV) khoảng 9 đến khoảng 11. Có thể sử dụng dừng cắt đỉnh rửa giải (% chiều cao cực đại) khoảng 17 đến khoảng 23 trong quá trình rửa giải từ nhựa sắc ký tương tác kỵ nước. Bước nhựa sắc ký tương tác kỵ nước này có thể giúp kiểm soát mức độ của các biến thể kháng thể tổng hợp, ví dụ, để giảm mức độ của các biến thể kháng thể tổng hợp.

Sau đó, dung dịch chứa chế phẩm có thể được lọc để loại bỏ vi rút. Dung dịch chứa chế phẩm sau đó có thể được phối chế với nồng độ kháng thể khoảng 76 g protein/l đến khoảng 82 g protein/L, hoặc khoảng 100 g protein/L. Dung dịch chứa chế phẩm có thể được nhồi vào bình chứa và được làm đông lạnh. Các phân phân ước của dung dịch chứa chế phẩm có thể được đông khô. Sản phẩm đông khô có thể được hoàn nguyên bằng cách bổ sung nước để tạo ra chế phẩm chứa 75mg/L protein, kháng thể kháng IL-5 đơn dòng và 20mM heptahydrate natri phosphat, 12% trọng lượng sucroza theo thể tích có độ pH từ khoảng 6,8 đến khoảng 7,2.

Tóm lại, sáng chế bao gồm:

1. Protein liên kết kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 10.
2. Protein liên kết kháng nguyên theo điểm 1, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng còn bao gồm trình tự axit amin FR4 chuỗi nặng như được thể hiện ở SEQ ID NO: 21.
3. Protein liên kết kháng nguyên theo điểm 2, bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256 và trong đó đầu amin của miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng.
4. Protein liên kết kháng nguyên bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4.
5. Protein liên kết kháng nguyên theo điểm 4, bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256 và trong đó đầu amin của miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng.
6. Kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, trong đó:
 - a) chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và
 - b) chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 10.
7. Kháng thể theo điểm 6, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng còn bao gồm trình tự axit amin FR4 chuỗi nặng như được thể hiện ở SEQ ID NO: 21.
8. Kháng thể theo điểm 7, trong đó chuỗi nặng bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256.

9. Kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, trong đó:

a) chuỗi nặng bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và

b) chuỗi nhẹ bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4.

10. Kháng thể theo điểm 9, trong đó chuỗi nặng bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256.

11. Kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 2.

12. Chuỗi peptit bao gồm trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3.

13. Chuỗi peptit bao gồm trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 1.

14. Chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của 1 và axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của protein liên kết kháng nguyên theo điểm 1.

15. Chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng theo điểm 2 và axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ theo điểm 2.

16. Chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng theo điểm 3 và axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ theo điểm 3.

17. Chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng theo điểm 6 và axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của protein liên kết kháng nguyên theo điểm 6.

18. Chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng theo điểm 7 và axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ theo điểm 7.

19. Chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng theo điểm 8 và axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ theo điểm 8.

20. Chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3 và axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4.

21. Chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 2.
22. Chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3.
23. Chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 1.
24. Chế phẩm bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 15 và axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 16.
25. Chế phẩm bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 17 và axit nucleic có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 18.
26. Chế phẩm bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 13 và axit nucleic có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 14.
27. Chế phẩm bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 15.
28. Chế phẩm bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 17.
29. Chế phẩm bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 13.
30. Chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng theo điểm 1.
31. Chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng theo điểm 2.
32. Chế phẩm bao gồm axit nucleic mã hóa miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng như được đề cập ở điểm 3.
33. Vectơ biểu hiện bao gồm chế phẩm theo điểm 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 hoặc 32.
34. Tế bào chủ tái tổ hợp bao gồm vectơ biểu hiện bao gồm chế phẩm theo điểm 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 hoặc 32.
35. Phương pháp sản xuất chuỗi peptit bao gồm trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 3, phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ tái tổ hợp bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và thu hồi chuỗi peptit.

36. Phương pháp theo điểm 35, trong đó axit nucleic bao gồm trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 15.

37. Phương pháp theo điểm 35, trong đó axit nucleic bao gồm trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 13.

38. Phương pháp theo điểm 35, trong đó axit nucleic bao gồm trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 17.

39. Phương pháp sản xuất protein liên kết kháng nguyên bao gồm các bước:

a) nuôi cấy tế bào chủ tái tổ hợp bao gồm vector biểu hiện bao gồm chế phẩm theo điểm 14, 15 hoặc 16; và

b) thu hồi protein liên kết kháng nguyên;

nhờ đó protein liên kết kháng nguyên được sản xuất.

40. Protein liên kết kháng nguyên được sản xuất theo phương pháp theo điểm 39.

41. Phương pháp sản xuất kháng thể bao gồm các bước:

a) nuôi cấy tế bào chủ tái tổ hợp bao gồm vector biểu hiện bao gồm chế phẩm theo điểm 17, 18 hoặc 19; và

b) thu hồi kháng thể;

từ đó kháng thể được sản xuất.

42. Kháng thể được sản xuất theo phương pháp theo điểm 41.

43. Phương pháp sản xuất kháng thể bao gồm các bước:

a) nuôi cấy tế bào chủ tái tổ hợp bao gồm vector biểu hiện bao gồm chế phẩm theo điểm 20 hoặc 22; và

b) thu hồi kháng thể;

từ đó kháng thể được sản xuất.

44. Kháng thể được sản xuất theo phương pháp theo điểm 43.

45. Phương pháp sản xuất kháng thể bao gồm các bước:

a) nuôi cấy tế bào chủ tái tổ hợp bao gồm vector biểu hiện bao gồm chế phẩm theo điểm 24, 26 hoặc 27; và

b) thu hồi kháng thể;

từ đó kháng thể được sản xuất.

46. Kháng thể được sản xuất theo phương pháp theo điểm 45.

47. Phương pháp sản xuất kháng thể bao gồm các bước:

a) nuôi cấy tế bào chủ tái tổ hợp bao gồm vector biểu hiện bao gồm axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 17 và axit nucleic có trình tự được thể hiện ở SEQ ID NO: 18; và

b) thu hồi kháng thể;

từ đó kháng thể được sản xuất.

48. Kháng thể được sản xuất theo phương pháp theo điểm 47.

49. Dược phẩm chứa:

a) protein liên kết kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 10; và

b) chất mang dược dụng.

50. Dược phẩm theo điểm 49, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng còn bao gồm trình tự axit amin FR4 chuỗi nặng như được thể hiện ở SEQ ID NO: 21.

51. Dược phẩm theo điểm 50, bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256 và trong đó đầu amin của miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng.

52. Dược phẩm theo điểm 51, trong đó protein liên kết kháng nguyên ở nồng độ trong khoảng từ khoảng 75mg/ml đến khoảng 150mg/ml.

53. Dược phẩm theo điểm 49, 50, 51 hoặc 52, trong đó chất mang dược dụng bao gồm chế phẩm lỏng chứa nước có độ pH ở khoảng 5,5 đến khoảng pH 6,0 chứa khoảng 40mM histidin, khoảng 180mM trehaloza, khoảng 100mM arginin, khoảng 8mM

methionin, khoảng 0,02% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích và khoảng 0,05mM EDTA.

54. Dược phẩm theo điểm 53, trong đó độ pH là khoảng 6,0 và protein liên kết kháng nguyên ở nồng độ khoảng 150mg/ml.

55. Dược phẩm chứa:

- a) kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 10; và
- b) chất mang dược dụng.

56. Dược phẩm theo điểm 55, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng còn bao gồm trình tự axit amin FR4 chuỗi nặng như được thể hiện ở SEQ ID NO: 21.

57. Dược phẩm theo điểm 56 bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256 và trong đó đầu amin của miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng.

58. Dược phẩm theo điểm 57, trong đó kháng thể có nồng độ trong khoảng 75mg/ml đến khoảng 150mg/ml.

59. Dược phẩm theo điểm 55, 56, 57 hoặc 58, trong đó chất mang dược dụng bao gồm chế phẩm lỏng chứa nước có độ pH trong khoảng từ 5,5 đến khoảng pH 6,0 chứa khoảng 40mM histidin, khoảng 180mM trehaloza, khoảng 100mM arginin, khoảng 8mM methionin, khoảng 0,02% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích và khoảng 0,05mM EDTA.

60. Dược phẩm theo điểm 59, trong đó độ pH là khoảng 6,0 và kháng thể có nồng độ khoảng 150mg/ml.

61. Dược phẩm chứa:

- a) kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, trong đó chuỗi nặng bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và

chuỗi nhẹ bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4; và

b) chất mang được dụng.

62. Dược phẩm theo điểm 61, bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256 và trong đó đầu amin của miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng.

63. Dược phẩm theo điểm 62, trong đó kháng thể có nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 75mg/ml đến khoảng 150mg/ml.

64. Dược phẩm theo điểm 61, 62 hoặc 63, trong đó chất mang được dụng bao gồm chế phẩm lỏng chứa nước có độ pH trong khoảng từ khoảng 5,5 đến khoảng pH 6,0 chứa khoảng 40mM histidin, khoảng 180mM trehaloza, khoảng 100mM arginin, khoảng 8mM methionin, khoảng 0,02% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích và khoảng 0,05mM EDTA.

65. Dược phẩm theo điểm 64, trong đó độ pH là khoảng 6,0 và kháng thể có nồng độ khoảng 150mg/ml.

66. Dược phẩm chứa:

a) kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 2; và

b) chất mang được dụng.

67. Dược phẩm theo điểm 66, trong đó protein liên kết kháng nguyên ở nồng độ trong khoảng 75mg/ml đến khoảng 150mg/ml.

68. Dược phẩm theo điểm 67, trong đó chất mang được dụng bao gồm chế phẩm lỏng chứa nước có độ pH nằm trong khoảng từ khoảng 5,5 đến khoảng pH 6,0 chứa khoảng 40mM histidin, khoảng 180mM trehaloza, khoảng 100mM arginin, khoảng 8mM methionin, khoảng 0,02% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích và khoảng 0,05mM EDTA.

69. Dược phẩm theo điểm 68, trong đó độ pH là khoảng 6,0 và protein liên kết kháng nguyên ở nồng độ khoảng 150mg/ml.

70. Phương pháp điều trị bệnh ở đối tượng bao gồm các bước:

- a) xác định đối tượng mắc bệnh được chọn từ nhóm gồm có hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bông nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, viêm da cơ địa, viêm da cơ địa trung bình và viêm da cơ địa nặng; và
- b) sử dụng lượng hữu hiệu trị liệu của protein liên kết kháng nguyên theo 1, 2, 3, 4, 5 hoặc 40 cho đối tượng;

nhờ đó bệnh ở đối tượng được điều trị.

71. Phương pháp theo điểm 70, trong đó lượng protein liên kết kháng nguyên là khoảng 2mg đến khoảng 600mg.

72. Phương pháp theo điểm 71, trong đó protein liên kết kháng nguyên được sử dụng một lần mỗi 3 tháng hoặc một lần mỗi 6 tháng.

73. Phương pháp theo điểm 70, 71 hoặc 72, trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl .

74. Phương pháp điều trị bệnh ở đối tượng bao gồm các bước:

- a) xác định đối tượng mắc bệnh được chọn từ nhóm gồm có hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bông nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, viêm da cơ địa, viêm da cơ địa trung bình và viêm da cơ địa nặng; và

- b) sử dụng lượng hữu hiệu trị liệu của kháng thể theo 6, 7, 8, 9, 10, 11, 42, 44, 46 và 48 cho đối tượng;

nhờ đó bệnh ở đối tượng được điều trị.

75. Phương pháp theo điểm 74, trong đó lượng kháng thể từ khoảng 2mg đến khoảng 600mg.

76. Phương pháp theo điểm 75, trong đó kháng thể được sử dụng một lần mỗi 3 tháng hoặc một lần mỗi 6 tháng.

77. Phương pháp theo điểm 74, 75 hoặc 76, trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl .

78. Phương pháp điều trị bệnh ở đối tượng bao gồm các bước:

- a) xác định đối tượng mắc bệnh được chọn từ nhóm gồm có hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bọng nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, viêm da cơ địa, viêm da cơ địa trung bình và viêm da cơ địa nặng; và

- b) sử dụng lượng hữu hiệu trị liệu của chế phẩm theo điểm 49, 50, 51, 52, 53 hoặc 54 cho đối tượng;

nhờ đó bệnh ở đối tượng được điều trị.

79. Phương pháp theo điểm 78, trong đó lượng chế phẩm đề xuất liều protein liên kết kháng nguyên từ khoảng 2mg đến khoảng 600mg.

80. Phương pháp theo điểm 79, trong đó chế phẩm được sử dụng một lần mỗi 3 tháng hoặc một lần mỗi 6 tháng.

81. Phương pháp theo điểm 78, 79 hoặc 80, trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl .

82. Phương pháp điều trị bệnh ở đối tượng bao gồm các bước:

- a) xác định đối tượng mắc bệnh được chọn từ nhóm gồm có hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bong nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, viêm da cơ địa, viêm da cơ địa trung bình và viêm da cơ địa nặng; và
- b) sử dụng lượng hữu hiệu trị liệu của chế phẩm theo điểm 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 65, 66, 67, 68 hoặc 69 cho đối tượng;

nhờ đó bệnh ở đối tượng được điều trị.

83. Phương pháp theo điểm 82, trong đó lượng chế phẩm đề xuất liều protein liên kết kháng nguyên từ khoảng 2mg đến khoảng 600mg.

84. Phương pháp theo điểm 83, trong đó kháng thể được sử dụng một lần mỗi 3 tháng hoặc một lần mỗi 6 tháng.

85. Phương pháp theo điểm 82, 83 hoặc 84 trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl .

86. Phương pháp điều trị hen phế quản từ nhẹ đến trung bình ở đối tượng bao gồm các bước:

- a) xác định đối tượng được chẩn đoán bị hen phế quản từ nhẹ đến trung bình; và
- b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin

CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 10;

nhờ đó bệnh hen phế quản từ nhẹ đến trung bình ở đối tượng được điều trị.

87. Phương pháp theo điểm 86, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng còn bao gồm trình tự axit amin FR4 chuỗi nặng như được thể hiện ở SEQ ID NO: 21.

88. Phương pháp theo điểm 87, trong đó kháng thể bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256 và trong đó đầu amin của miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng.

89. Phương pháp theo điểm 88, trong đó kháng thể bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4.

90. Phương pháp theo điểm 89, trong đó liều kháng thể là từ khoảng 2mg đến khoảng 600mg.

91. Phương pháp theo điểm 90, trong đó kháng thể được sử dụng một lần mỗi 3 tháng hoặc một lần mỗi 6 tháng.

92. Phương pháp theo điểm 90, trong đó kháng thể được tiêm dưới da.

93. Phương pháp theo điểm 86, 87, 88, 89, 90, 91 hoặc 92, trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μ l và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μ l.

94. Phương pháp điều trị hen phế quản từ nhẹ đến trung bình ở đối tượng bao gồm các bước:

- a) xác định đối tượng được chẩn đoán bị hen phế quản từ nhẹ đến trung bình; và
- b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 2;

nhờ đó bệnh hen phế quản từ nhẹ đến trung bình ở đối tượng được điều trị.

95. Phương pháp theo điểm 94, trong đó liều kháng thể từ khoảng 2mg đến khoảng 600mg.

96. Phương pháp theo điểm 95, trong đó kháng thể được sử dụng một lần mỗi 3 tháng hoặc một lần mỗi 6 tháng.

97. Phương pháp theo điểm 96, trong đó kháng thể được tiêm dưới da.

98. Phương pháp theo điểm 94, 95, 96 hoặc 97, trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μ l và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μ l.

99. Phương pháp điều trị hen phế quản từ nhẹ đến trung bình ở đối tượng bao gồm các bước:

- a) xác định đối tượng được chẩn đoán bị hen phế quản từ nhẹ đến trung bình; và
- b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu được phẩm chứa kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 2 và chất mang được dụng;

nhờ đó bệnh hen phế quản từ nhẹ đến trung bình ở đối tượng được điều trị.

100. Phương pháp theo điểm 92, trong đó chất mang được dụng bao gồm chế phẩm lỏng chứa nước at khoảng pH 5,5 đến khoảng pH 6,0 chứa khoảng 40mM histidin, khoảng 180mM trehaloza, khoảng 100mM arginin, khoảng 8mM methionin, khoảng 0,02% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích và khoảng 0,05mM EDTA.

101. Phương pháp theo điểm 100, trong đó liều kháng thể từ khoảng 2mg đến khoảng 600mg.

102. Phương pháp theo điểm 101, trong đó được phẩm được sử dụng một lần mỗi 3 tháng hoặc một lần mỗi 6 tháng.

103. Phương pháp theo điểm 102, trong đó được phẩm được tiêm dưới da.

104. Phương pháp theo điểm 99, 100, 101, 102 hoặc 103, trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μ l và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μ l.

105. Phương pháp điều trị hen phế quản nặng ở đối tượng bao gồm các bước:

- a) xác định đối tượng được chẩn đoán bị hen phế quản nặng; và

b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 10;

từ đó bệnh hen phế quản nặng ở đối tượng được điều trị.

106. Phương pháp theo điểm 105, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng còn bao gồm trình tự axit amin FR4 chuỗi nặng như được thể hiện ở SEQ ID NO: 21.

107. Phương pháp theo điểm 106, trong đó kháng thể bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256 và trong đó đầu amin của miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng.

108. Phương pháp theo điểm 107, trong đó kháng thể bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4.

109. Phương pháp theo điểm 108, trong đó liều kháng thể từ khoảng 2mg đến khoảng 600mg.

110. Phương pháp theo điểm 109, trong đó kháng thể được sử dụng một lần mỗi 3 tháng hoặc một lần mỗi 6 tháng.

111. Phương pháp theo điểm 110, trong đó kháng thể được tiêm dưới da.

112. Phương pháp theo điểm 105, 106, 107, 108, 109, 110 hoặc 111, trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μ l và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μ l.

113. Phương pháp điều trị hen phế quản nặng ở đối tượng bao gồm các bước:

a) xác định đối tượng được chẩn đoán bị hen phế quản nặng; và

b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1;

từ đó bệnh hen phế quản nặng ở đối tượng được điều trị.

114. Phương pháp theo điểm 113, trong đó liều kháng thể từ khoảng 2mg đến khoảng 600mg.

115. Phương pháp theo điểm 114, trong đó kháng thể được sử dụng một lần mỗi 3 tháng hoặc một lần mỗi 6 tháng.

116. Phương pháp theo điểm 115, trong đó kháng thể được tiêm dưới da.

117. Phương pháp theo điểm 113, 114, 115 hoặc 116, trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μ l và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μ l.

118. Phương pháp điều trị hen phế quản nặng ở đối tượng bao gồm các bước:

a) xác định đối tượng được chẩn đoán bị hen phế quản nặng; và

b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu được phẩm chứa kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chất mang được dụng;

từ đó bệnh hen phế quản nặng ở đối tượng được điều trị.

119. Phương pháp theo điểm 118, trong đó chất mang được dụng bao gồm chế phẩm lỏng chứa nước at khoảng pH 5,5 đến khoảng pH 6,0 chứa khoảng 40mM histidin, khoảng 180mM trehaloza, khoảng 100mM arginin, khoảng 8mM methionin, khoảng 0,02% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích và khoảng 0,05mM EDTA.

120. Phương pháp theo điểm 119, trong đó liều kháng thể từ khoảng 2mg đến khoảng 600mg.

121. Phương pháp theo điểm 120, trong đó được phẩm được sử dụng một lần mỗi 3 tháng hoặc một lần mỗi 6 tháng.

122. Phương pháp theo điểm 121, trong đó được phẩm được tiêm dưới da.

123. Phương pháp theo điểm 118, 119, 120, 121 hoặc 122, trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl .

124. Phương pháp điều trị viêm da cơ địa từ trung bình đến nặng ở đối tượng cần điều trị bao gồm các bước:

a) xác định đối tượng có ít nhất một tiêu chí được chọn từ:

i) chẩn đoán viêm da cơ địa theo tiêu chí sửa đổi Eichenfield của Hanifin và Rajka;

ii) chẩn đoán viêm da cơ địa trước khi điều trị từ khoảng 2 năm hoặc lâu hơn;

iii) điểm đánh giá tổng quát của chuyên gia chăm sóc sức khỏe lớn hơn hoặc bằng khoảng ba;

iv) vùng viêm da cơ địa lớn hơn hoặc bằng khoảng 10% diện tích bề mặt cơ thể;

v) diện tích eczema và điểm chỉ số nghiêm trọng lớn hơn hoặc bằng 16;

vi) số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần là lớn hơn hoặc bằng 150 tế bào trên mỗi μl , lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl , và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl ;

and vii) ít nhất 1 tình trạng trước khi điều trị được chọn từ nhóm bao gồm: 1) phản ứng không đầy đủ đối với thuốc viêm da cơ địa khu trú, lớn hơn hoặc bằng 6 tháng; 2) dung nạp kém thuốc viêm da cơ địa khu trú; 3) tác dụng phụ từ thuốc viêm da cơ địa khu trú; và 4) đáp ứng không đầy đủ với điều trị phi phẫu thuật viêm da cơ địa; và

b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 10;

từ đó bệnh viêm da cơ địa ở đối tượng được điều trị.

125. Phương pháp theo điểm 124, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng còn bao gồm trình tự axit amin FR4 chuỗi nặng như được thể hiện ở SEQ ID NO: 21.
126. Phương pháp theo điểm 125, trong đó kháng thể bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256 và trong đó đầu amin của miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng.
127. Phương pháp theo điểm 126, trong đó kháng thể bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4.
128. Phương pháp theo điểm 127, trong đó liều kháng thể từ khoảng 2mg đến khoảng 600mg.
129. Phương pháp theo điểm 128, trong đó kháng thể được sử dụng một lần mỗi 3 tháng hoặc một lần mỗi 6 tháng.
130. Phương pháp theo điểm 128, trong đó kháng thể được tiêm dưới da.
131. Phương pháp theo điểm 128, trong đó kháng thể được tiêm tĩnh mạch.
132. Phương pháp điều trị viêm da cơ địa từ trung bình đến nặng ở đối tượng cần điều trị bao gồm các bước:
- a) xác định đối tượng có ít nhất một tiêu chí được chọn từ:
 - i) chẩn đoán viêm da cơ địa theo tiêu chí sửa đổi Eichenfield của Hanifin và Rajka;
 - ii) chẩn đoán viêm da cơ địa trước khi điều trị từ khoảng 2 năm hoặc lâu hơn;
 - iii) điểm đánh giá tổng quát của chuyên gia chăm sóc sức khỏe lớn hơn hoặc bằng khoảng 3;
 - iv) vùng viêm da cơ địa lớn hơn hoặc bằng khoảng 10% diện tích bề mặt cơ thể;
 - v) diện tích eczema và điểm chỉ số nghiêm trọng lớn hơn hoặc bằng 16;
 - vi) số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần lớn hơn hoặc bằng 150 tế bào trên mỗi μ l lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μ l và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μ l;

và vii) ít nhất 1 tình trạng trước khi điều trị được chọn từ nhóm bao gồm: 1) phản ứng không đầy đủ đối với thuốc viêm da cơ địa khu trú, lớn hơn hoặc bằng 6 tháng; 2) dung nạp kém thuốc viêm da cơ địa khu trú; 3) tác dụng phụ từ thuốc viêm da cơ địa khu trú; và 4) đáp ứng không đầy đủ với điều trị phi phẫu thuật viêm da cơ địa; và

b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1;

từ đó bệnh viêm da cơ địa ở đối tượng được điều trị.

133. Phương pháp theo điểm 132, trong đó liều kháng thể từ khoảng 2mg đến khoảng 600mg.

134. Phương pháp theo điểm 133, trong đó kháng thể được sử dụng một lần mỗi 3 tháng hoặc một lần mỗi 6 tháng.

135. Phương pháp theo điểm 134, trong đó kháng thể được tiêm dưới da.

136. Phương pháp theo điểm 132, 133, 134 hoặc 135, trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl và lớn hơn hoặc bằng 150 tế bào trên mỗi μl lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl .

137. Phương pháp điều trị viêm da cơ địa từ trung bình đến nặng ở đối tượng bao gồm các bước:

a) xác định đối tượng có ít nhất một tiêu chí được chọn từ:

i) chẩn đoán viêm da cơ địa theo tiêu chí sửa đổi Eichenfield của Hanifin và Rajka;

ii) chẩn đoán viêm da cơ địa trước khi điều trị từ khoảng 2 năm hoặc lâu hơn;

iii) điểm đánh giá tổng quát của chuyên gia chăm sóc sức khỏe lớn hơn hoặc bằng khoảng ba;

iv) vùng viêm da cơ địa lớn hơn hoặc bằng khoảng 10% diện tích bề mặt cơ thể;

v) diện tích eczema và điểm chỉ số nghiêm trọng lớn hơn hoặc bằng 16;

vi) số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần là lớn hơn hoặc bằng 150 tế bào trên mỗi μl , lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl ;

vii) ít nhất 1 tình trạng trước khi điều trị được chọn từ nhóm bao gồm: 1) phản ứng không đầy đủ đối với thuốc viêm da cơ địa khu trú, lớn hơn hoặc bằng 6 tháng; 2) dung nạp kém thuốc viêm da cơ địa khu trú; 3) tác dụng phụ từ thuốc viêm da cơ địa khu trú; và 4) đáp ứng không đầy đủ với điều trị phi phẫu thuật viêm da cơ địa; và

b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu được phẩm chứa kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chất mang được dùng;

từ đó bệnh viêm da cơ địa ở đối tượng được điều trị.

138. Phương pháp theo điểm 137, trong đó chất mang được dùng bao gồm chế phẩm lỏng chứa nước có độ pH khoảng 5,5 đến khoảng pH 6,0 chứa khoảng 40mM histidin, khoảng 180mM trehaloza, khoảng 100mM arginin, khoảng 8mM methionin, khoảng 0,02% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích và khoảng 0,05mM EDTA.

139. Phương pháp theo điểm 138, trong đó liều kháng thể từ khoảng 2mg đến khoảng 600mg.

140. Phương pháp theo điểm 139, trong đó được phẩm được sử dụng một lần mỗi 3 tháng hoặc một lần mỗi 6 tháng.

141. Phương pháp theo điểm 140, trong đó được phẩm được tiêm dưới da.

142. Phương pháp theo điểm 137, 138, 139, 140 hoặc 141 trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl .

143. Phương pháp làm giảm số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần ở đối tượng bao gồm các bước:

a) xác định đối tượng mắc tình trạng được chọn từ nhóm bao gồm hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát,

hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bong nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan và viêm da cơ địa; và

b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDR như được thể hiện ở SEQ ID NO: 10;

từ đó làm giảm số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần ở đối tượng.

144. Phương pháp theo điểm 143, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng còn bao gồm trình tự axit amin FR4 chuỗi nặng như được thể hiện ở SEQ ID NO: 21.

145. Phương pháp theo điểm 144, trong đó kháng thể bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256 và trong đó đầu amin của miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng.

146. Phương pháp theo điểm 145, trong đó kháng thể bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4.

147. Phương pháp theo điểm 146, trong đó liều kháng thể từ khoảng 2mg đến khoảng 600mg.

148. Phương pháp theo điểm 147, trong đó kháng thể được sử dụng một lần mỗi 3 tháng hoặc một lần mỗi 6 tháng.

149. Phương pháp theo điểm 148, trong đó kháng thể được tiêm dưới da.

150. Phương pháp theo điểm 142, 144, 145, 146, 147, 148 hoặc 149, trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μ l và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μ l.

151. Phương pháp 142, 144, 145, 146, 147, 148 hoặc 149, còn bao gồm các bước:

a) thực hiện phép đo số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần thứ nhất ở đối tượng;

b) thực hiện phép đo số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần thứ hai ở đối tượng sau khi cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu protein liên kết kháng nguyên; và

so sánh phép đo thứ nhất và phép đo thứ hai.

152. Phương pháp theo điểm 142, 144, 145, 146, 147, 148 hoặc 149, còn bao gồm các bước:

a) thực hiện phép đo số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần thứ nhất ở đối tượng;

b) thực hiện phép đo số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần thứ hai ở đối tượng sau khi cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu protein liên kết kháng nguyên; và

so sánh phép đo thứ nhất và phép đo thứ hai; và trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl .

153. Phương pháp làm giảm số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần ở đối tượng bao gồm các bước:

a) xác định đối tượng mắc tình trạng được chọn từ nhóm bao gồm hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bong nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, viêm da cơ địa, viêm da cơ địa trung bình và viêm da cơ địa nặng; và

b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1;

từ đó bệnh viêm da cơ địa ở đối tượng được điều trị.

154. Phương pháp theo điểm 153, trong đó liều kháng thể từ khoảng 2mg đến khoảng 600mg.

155. Phương pháp theo điểm 154, trong đó kháng thể được sử dụng một lần mỗi 3 tháng hoặc một lần mỗi 6 tháng.

156. Phương pháp theo điểm 155, trong đó kháng thể được tiêm dưới da.

157. Phương pháp theo điểm 154, 155, 156 hoặc 157, trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl .

158. Phương pháp theo điểm 154, 155, 156 hoặc 157, trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl .

159. Phương pháp 154, 155, 156 hoặc 157, còn bao gồm các bước:

a) thực hiện phép đo số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần thứ nhất ở đối tượng;

b) thực hiện phép đo số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần thứ hai ở đối tượng sau khi cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu protein liên kết kháng nguyên; và

so sánh phép đo thứ nhất và phép đo thứ hai.

160. Phương pháp theo điểm 154, 155, 156 hoặc 157, còn bao gồm các bước:

a) thực hiện phép đo số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần thứ nhất ở đối tượng;

b) thực hiện phép đo số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần thứ hai ở đối tượng sau khi cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu protein liên kết kháng nguyên; và

so sánh phép đo thứ nhất và phép đo thứ hai; và trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl .

161. Phương pháp làm giảm số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần ở đối tượng bao gồm các bước:

a) xác định đối tượng mắc tình trạng được chọn từ nhóm bao gồm hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bong nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, viêm da cơ địa, viêm da cơ địa trung bình và viêm da cơ địa nặng; và

b) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu được phẩm chứa kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chất mang được dụng;

từ đó làm giảm số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần ở đối tượng.

162. Phương pháp theo điểm 161, trong đó chất mang được dụng bao gồm chế phẩm lỏng chứa nước at khoảng pH 5,5 đến khoảng pH 6,0 chứa khoảng 40mM histidin, khoảng 180mM trehaloza, khoảng 100mM arginin, khoảng 8mM methionin, khoảng 0,02% trọng lượng polysorbat 80 theo thể tích và khoảng 0,05mM EDTA.

163. Phương pháp theo điểm 162, trong đó liều kháng thể từ khoảng 2mg đến khoảng 600mg.

164. Phương pháp theo điểm 163, trong đó được phẩm được sử dụng một lần mỗi 3 tháng hoặc một lần mỗi 6 tháng.

165. Phương pháp theo điểm 164, trong đó được phẩm được tiêm dưới da.

166. Phương pháp theo điểm 162, 163, 164, 165 hoặc 166, trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μ l và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μ l.

167. Phương pháp 162, 163, 164, 165 hoặc 166, còn bao gồm các bước:

a) thực hiện phép đo số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần thứ nhất ở đối tượng;

b) thực hiện phép đo số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần thứ hai ở đối tượng sau khi cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu protein liên kết kháng nguyên; và

so sánh phép đo thứ nhất và phép đo thứ hai.

168. Phương pháp theo điểm 162, 163, 164, 165 hoặc 166, còn bao gồm các bước:

a) thực hiện phép đo số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần thứ nhất ở đối tượng;

b) thực hiện phép đo số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần thứ hai ở đối tượng sau khi cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu protein liên kết kháng nguyên; và

so sánh phép đo thứ nhất và phép đo thứ hai; và trong đó đối tượng có số lượng bạch cầu ái toan trong máu toàn phần được chọn từ nhóm gồm có lớn hơn hoặc bằng 200 tế bào trên mỗi μl và lớn hơn hoặc bằng 350 tế bào trên mỗi μl .

169. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-11, 40, 42, 44, 46, 47 hoặc 49-69 để sử dụng trong điều trị bệnh.

170. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-11, 40, 42, 44, 46, 47 hoặc 49-69 để sử dụng trong điều trị hen phế quản, hen phế quản nhẹ, hen phế quản trung bình, hen phế quản nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nhẹ, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan trung bình, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan nặng, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan, hen phế quản tăng bạch cầu ái toan phụ, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, bệnh u hạt tăng bạch cầu ái toan có viêm đa động mạch, hội chứng tăng bạch cầu ái toan tự phát, polyp mũi, bong nước dạng pemphigus, viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan, viêm da cơ địa, viêm da cơ địa trung bình và viêm da cơ địa nặng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Phân tích động lực học của 28Y042-7F11-1

Các phân tích động lực học được thực hiện để so sánh 28Y042-7F11-1, mepolizumab, và GSK3559090A (so sánh dựa trên phân tử IgG1 kháng IL-5 mAb).

Các kết quả được tổng hợp trong bảng 16 dưới đây. Do ái lực 28Y042-7F11-1 cao, không thể xác định chính xác tốc độ phân ly bằng Biacore 4000 ở nhiệt độ 25°C; do đó phân tích KINEXA được sử dụng để tính ái lực chính xác cho liên kết 28Y042-7F11-1 với IL-5 người ở 25°C. Ái lực 28Y042-7F11-1 với IL-5 người ở nhiệt độ 25°C bằng phân tích ái lực pha dung dịch KINEXA là 10,47pM (khoảng tin cậy 95% từ 0,88pM - 31,97pM). Kết quả này là đáng kể so với ái lực 122,8pM đối với liên kết mepolizumab với IL-5 người (được xác định bằng BIACORE 4000 ở nhiệt độ 25°C).

Kháng thể so sánh GSK3559090A được phân tích bằng BIACORE 4000 về liên kết với IL-5 người ở nhiệt độ 25°C, cho trị số ái lực (K_D) là 16,4pM. GSK3559090A có K_D cao hơn 10 lần đối với IL-5 người so với mepolizumab, chủ yếu là do tốc độ liên kết (k_a) của GSK3559090A nhanh hơn 20 lần so với mepolizumab.

Ái lực của 28Y042-7F11-1 với IL-5 người và khỉ cynomolgus ở 37°C được xác định bằng cách sử dụng BIACORE T200. Nhiệt độ cao hơn làm tăng tốc độ phân ly (k_d) của 28Y042-7F11-1 sao cho nó nằm trong phạm vi của thiết bị. Ái lực của 28Y042-7F11-1 với IL-5 người và khỉ cynomolgus ở 37°C lần lượt là 39,13pM và 23,93pM.

Thử nghiệm cạnh tranh được thực hiện trên thiết bị FORTEBIO OCTET RED384 BLI chứng minh rằng 28Y042-7F11-1 cạnh tranh với mepolizumab để liên kết với IL-5 người. Chú thích/mô tả bảng 16: Tóm tắt dữ liệu động lực học K_D . (N.D. không xác định).

Bảng 16.

	Biacore 4000 25°C (K_D ,pM)	Kinexa 25°C (K_D ,pM)	Biacore T200 37°C (K_D ,pM)	Biacore T200 37°C (K_D ,pM)
	IL-5 người	IL-5 người	IL-5 người	IL-5 khỉ cyno
Mepolizumab	122,8	N.D.	N.D.	N.D.
28Y042-7F11-1	N.D.	10,5	39,1	23,9
GSK3559090A	16,4	N.D.	N.D.	N.D.

Liên kết với các thụ thể Fc của người

28Y042-7F11-1 có ái lực tăng gấp 13 lần đối với FcRn người ở độ pH 6,0 so với mepolizumab (tương ứng 157nM và 2082nM) và cũng liên kết với ái lực thấp ở độ pH 7,4; ái lực là 16 μ M ở độ pH 7. Các trị số K_D được xác định bằng BIACORE T200 ở 37°C được trình bày trong bảng 17. Chú thích/mô tả bảng 17: So sánh ái lực liên kết của 28Y042-7F11-1 và mepolizumab đối với FcRn người ở độ pH 6,0 và độ pH 7,4.

Bảng 17.

	Ái lực (nM)	
	pH 6,0	pH 7,4
mepolizumab	2082	Không phát hiện
28Y042-7F11-1	157	16160

Phân tích liên kết của 28Y042-7F11-1 với các thụ thể Fc gamma người (Fc γ R) bằng PROTEON XPR36 chứng minh khả năng so sánh với kháng thể đối chứng chứa YTE. Ái lực liên kết với Fc γ R của các mAbs chứa YTE này thấp hơn khoảng 1,5 lần so với đối chứng kiểu đại IgG1 người. 28Y042-7F11-1 cũng có ái lực thấp hơn so với đối chứng kiểu đại IgG1 người đối với thành phần bổ sung C1q (tương ứng 750nM và 465nM).

Theo một thí nghiệm riêng biệt, 28Y042-7F11-1 cho thấy ái lực tăng khoảng 3 lần đối với thụ thể sơ sinh của người ở độ pH 6,0 so với đối chứng kiểu đại IgG1 người (tương ứng 130nM và 359nM) và cũng có liên kết với ái lực thấp ở độ pH 7,4 (2650nM) trong khi đối chứng kiểu đại không liên kết với FcRn ở độ pH này (Bảng 18). Điều này có thể so sánh với đối chứng YTE được sử dụng trong thí nghiệm. Chú thích/mô tả bảng 18: Liên kết 28Y042-7F11-1 với thụ thể tái tổ hợp sơ sinh của người (FcRn) sử dụng PROTEON. Đối chứng isotype bị vô hiệu hóa Fc và chứng isotype kiểu đại có nguồn gốc từ kháng thể không có chức năng (để liên kết CDR), ban đầu được đưa ra để chống lại yếu tố đông máu F9 IX. Chứng isotype bị vô hiệu hóa Fc chứa 2 đột biến điểm trong vùng Fc (L235 và G237, cả hai bị đột biến thành Alanine) làm giảm tương tác với các thụ thể Fc gamma.

Bảng 18.

Kháng thể	K _D (nM)	
	FcRn người pH 6,0	FcRn người pH 7,4
28Y042-7F11-1	130,0	2650,0
GSK2800528	94,3	1190,0
Chứng isotype IgG ₁ kiểu đại	359,0	NB
Chứng isotype bị vô hiệu hóa Fc IgG ₁	314,0	NB

Thử nghiệm tế bào chức năng TF-1

Khả năng ức chế tăng sinh qua trung gian IL-5 người của các tế bào TF-1 của 28Y042-7F11-1, theo cách phụ thuộc liều, được đánh giá. Các tế bào TF-1 là dòng tế bào hồng cầu đã được thiết kế để tăng sinh để đáp ứng với kích thích IL-5 người và khỉ cynomolgus.

Phân tích hiệu quả của 28Y042-7F11-1 trong thử nghiệm tăng sinh tế bào TF-1 cho thấy nó là chất ức chế mạnh mẽ sự tăng sinh qua trung gian IL-5 của các tế bào TF-1. Cả 28Y042-7F11-1 và mepolizumab đều gây ức chế phụ thuộc liều sự tăng sinh tế bào TF-1 do IL-5 người khi được thử nghiệm ở khoảng nồng độ 1nM - 0,042pM (IC₅₀ tương ứng 4pM và 105pM, Fig.1). Điều này cho thấy sự cải thiện gấp gần 30 lần về hiệu quả thử nghiệm tế bào 28Y042-7F11-1 so với mepolizumab.

28Y042-7F11-1 và mepolizumab đều gây ức chế phụ thuộc liều tăng sinh tế bào TF-1 do IL-5 người khi được thử nghiệm ở khoảng nồng độ 1nM - 0,042pM (IC₅₀ tương ứng 0,004nM và 0,105nM).

Phép phân tích bổ sung về 28Y042-7F11-1 được thực hiện sau khi phân tử tiếp xúc với ứng suất nhiệt bằng cách ủ trong 1 tuần ở 40°C trong dung dịch đệm axetat hoặc phosphat. Trong các điều kiện này, trị số IC₅₀ đối với 28Y042-7F11-1 trong thử nghiệm tế bào TF-1 nằm trong khoảng từ 4pM đến 5pM, cho thấy các trị số tương tự với 28Y042-7F11-1 tiếp xúc với điều kiện đối chứng “không cực đoan”.

Thử nghiệm thay đổi hình dạng bạch cầu ái toan và liên kết với IL-5 nội sinh

Khả năng ức chế sự thay đổi hình dạng bạch cầu ái toan qua trung gian IL-5 trong máu người toàn phần của 28Y042-7F11-1 g được đánh giá. Cả mepolizumab và 28Y042-7F11-1 (10 μ g/ml) đều cho thấy sự ức chế thay đổi hình dạng bạch cầu ái toan qua trung gian IL-5 (10ng/ml), trong khi các kháng thể đối chứng pascolizumab và kháng RSV (Fc bị vô hiệu hóa) không ngăn chặn được sự thay đổi hình dạng bạch cầu ái toan qua trung gian IL-5 (Fig.2).

Khả năng liên kết IL-5 bẩm sinh từ bề mặt của các tế bào đơn nhân máu ngoại vi được kích thích CD3/CD28 (PBMCs) của 28Y042-7F11-1 và mepolizumab (cả hai đều là 1 μ g/ml), được đánh giá bằng ELISA. 28Y042-7F11-1 và mepolizumab liên kết với IL-5 bẩm sinh, trong khi pascolizumab kháng thể đối chứng thì không. Mặc dù thử nghiệm đã chứng minh liên kết với IL-5 bẩm sinh, nó không được tối ưu hóa thêm để xác định các trị số EC50 chính xác (Fig.3).

Tính ổn định in vitro của 28Y042-7F11-1 trong huyết thanh người và khỉ *Cynomolgus* bằng thử nghiệm miễn dịch

Khả năng liên kết với IL-5 tái tổ hợp của 28Y042-7F11-1 được đánh giá sau khi ủ ở nhiệt độ 37°C trong 6 tuần trong huyết thanh người hoặc khỉ *cynomolgus* đối chứng gộp (Fig.4). Sau khi ủ, các mẫu được thử nghiệm trong thử nghiệm miễn dịch MSD, trong đó 28Y042-7F11-1 hoạt tính còn lại được ghi lại bằng cách sử dụng IL-5 biotin hóa bất động và sau đó được phát hiện bằng thuốc thử đơn dòng Fc kháng thể được gắn nhãn trực tiếp. Trong huyết thanh của cả người và khỉ *cynomolgus*, sự hồi phục của 28Y042-7F11-1 hoạt tính cho thấy sự giảm dần theo thời gian, đạt lần lượt 73,1% và 77,1% nồng độ T₀ sau 6 tuần. Điều này so sánh với dữ liệu lịch sử thu được đối với mepolizumab (51,0% [người] và 64,2% [*cynomolgus*]) và kháng thể đối chứng đặc hiệu với IL-13 được biết là có độ ổn định kém trong thử nghiệm này (27,9% [người] và 24,9% [*cynomolgus*]). Kết quả từ nghiên cứu này chứng minh độ ổn định huyết thanh người và *cynomolgu* in vitro của 28Y042-7F11-1 so với các trị số lịch sử thu được đối với mepolizumab và cho thấy 28Y042-7F11-1 phù hợp với mong muốn về kháng thể đơn dòng điển hình.

Xác định PK/PD 28Y042-7F11-1 ở khỉ *Cynomolgus*

Nghiên cứu dược động học/dược lực học (PK/PD) 9 tháng không GLP in vivo được thực hiện bao gồm 4 nhóm khỉ *cynomolgus* (*Macaca fascicularis*), mỗi nhóm

gồm 2 con đực và 2 con cái. Các con vật được sử dụng bằng cách tiêm tĩnh mạch nhanh 28Y042-7F11-1 (0,05mg/kg hoặc 1mg/kg), mepolizumab (1mg/kg) hoặc chất dẫn thuốc vào ngày 1. Ngoài việc xác định các thông số PK của các kháng thể được tiêm, 2 thông số PD được đánh giá để so sánh hoạt tính của 28Y042-7F11-1 với mepolizumab in vivo: a) mức độ và thời gian ức chế bạch cầu ái toan; b) mức độ và thời gian của tổng nồng độ huyết thanh IL-5.

Đánh giá PK của 28Y042-7F11-1

Đánh giá PK được thực hiện trên các mẫu huyết thanh khỉ cynomolgus lên đến 5376 giờ (tuần 32). Phân tích cho thấy 28Y042-7F11-1 có tốc độ thanh thải huyết thanh giảm 1,8 lần so với mepolizumab (0,125ml/giờ/kg so với 0,185ml/giờ/kg) và thời gian bán hủy được cải thiện là 24,5 ngày so với 11,5 ngày đối với mepolizumab (Bảng 19). Chú thích/mô tả bảng 19: Các thông số dược động học được xác định từ nghiên cứu PK khỉ cynomolgus (*trị số trung bình).

Bảng 19.

Nhóm	Con vật	AUC	AUC _{inf}	C _{cực đại}	T _{cực đại}	Thời gian bán thải	MRT	CI	V _{ss}
		(giờ·μg/ml)	(giờ·μg/ml)	(μg/ml)	(giờ)	(giờ)	(giờ)	(ml/giờ/kg)	(ml/kg)
28Y042-7F11-1 (0,05mg/kg) IV	301	493	542	1,30	0,25	598	672	0,0923	80,1
	302	394	467	1,20	3,00	501	447	0,107	74,8
	351	427	556	1,23	0,25	649	484	0,0899	81,1
	352	515	573	1,41	0,25	614	630	0,0873	75,1
	Mean:	457	534	1,29	0,25*	590	558	0,0942	77,8
28Y042-7F11-1 (1mg/kg) IV	401	9930	9950	24,1	0,25	543	735	0,100	75,1
	402	9400	9430	22,6	0,25	616	748	0,106	81,3
	451	9840	9870	23	0,25	558	745	0,101	77,0
	452	9020	9070	24	0,25	603	749	0,110	85,3

	Mean:	9550	9580	23,4	0,25	580	744	0,105	79,7
Mepolizumab (1mg/kg) IV	201	5140	5190	27,7	0,25	304	374	0,193	76,0
	202	5790	5850	28,9	0,25	307	400	0,171	71,9
	251	5060	5160	30,4	0,25	242	302	0,194	63,8
	252	5390	5540	28,8	0,25	253	308	0,181	62,2
	Mean:	5350	5430	29,0	0,25	276	346	0,185	68,5

Mức ức chế tăng bạch cầu ái toan qua trung gian 28Y042-7F11-1

Giảm số lượng bạch cầu ái toan được sử dụng làm một dấu ấn sinh học cho hoạt tính trung hòa IL-5 qua trung gian 28Y042-7F11-1. In vivo, 28Y042-7F11-1 thể hiện thời gian ức chế tăng bạch cầu ái toan kéo dài so với mepolizumab ở khỉ cynomolgus (Fig.5). 28Y042-7F11-1 khi được dùng ở 1/20, liều mepolizumab cho thấy sự ức chế bạch cầu ái toan tương đương hoặc vượt trội một chút, cho thấy 28Y042-7F11-1 có hoạt tính lớn hơn ít nhất 20 lần so với mepolizumab in vivo. Số lượng bạch cầu ái toan trong máu $\leq 50\%$ trị số trước khi sử dụng liều trong tối đa 24 tuần sau khi dùng liều 28Y042-7F11-1, so với 4 - 7 tuần đối với mepolizumab, khi dùng liều 1mg/kg. Số lượng bạch cầu ái toan trong máu bắt đầu cho thấy sự hồi phục vào khoảng tuần thứ 7 đối với 28Y042-7F11-1 và tuần thứ 4 đối với mepolizumab. Những dữ liệu này chứng minh rằng liều mỗi 3 tháng của người là có thể đạt được và liều mỗi 6 tháng cũng có thể đạt được.

Tổng nồng độ IL-5 trong huyết thanh

Nồng độ của tổng IL-5 (IL-5 phức hợp gần như duy nhất với 28Y042-7F11-1 hoặc mepolizumab) được quan sát để tăng liều sau và cho thấy sự tồn tại rõ rệt của hai nhóm dùng liều 28Y042-7F11-1 so với nhóm mepolizumab, trong đó phức hợp IL-5 bắt đầu suy giảm sớm hơn nhiều (Fig.6). Nhóm dùng liều mepolizumab 1mg/kg bắt đầu giảm sau ngày nghiên cứu 29 (672 giờ), nhóm 0,05mg/kg 28Y042-7F11-1 bắt đầu giảm sau ngày nghiên cứu 85 (giờ 2016) và 1mg/kg 28Y042-7F11-1 bắt đầu giảm sau ngày nghiên cứu 113 (2688 giờ). Điều này phản ánh ái lực thấp hơn cũng như thời gian bán hủy ngắn hơn của mepolizumab đối với IL-5 so với 28Y042-7F11-1 mà tiếp tục duy trì phức hợp với IL-5 trong thời gian dài hơn.

Phân tích dược động học không ngăn cũng được thực hiện đối với 28Y042-7F11-1 được phân bổ bằng cách tiêm tĩnh mạch riêng lẻ và bằng cách tiêm dưới da riêng lẻ. GSK3511294 tiêm tĩnh mạch đã chứng minh thời gian bán hủy trong huyết thanh tăng so với mepolizumab (24 ngày so với 11,5 ngày) và giảm độ thanh thải trong huyết thanh 1,8 lần (Fig.4).

Các phương pháp: Thử nghiệm tế bào chức năng TF-1

Các mẫu kháng thể và đối chứng được điều chế trong đĩa polypropylene 96 lỗ để sàng lọc ban đầu. Các kháng thể được pha loãng trong môi trường nuôi cấy tế bào đến nồng độ thử nghiệm cuối cùng là 200nM sau đó được lọc vô trùng sử dụng đĩa lọc (đĩa nhiều lỗ Pall Corporation, đĩa lọc ACRO PREP 96, môi trường sợi thủy tinh 3,0µm/ màng BIO-INERT 0,2µm, # 5053). Các mẫu được pha loãng 1 trong 4 trên đĩa để tạo chuỗi 10 điểm với dải nồng độ (200nM - 7,63pM). Mục đích là tạo đường cong phản ứng liều riêng rẽ để tạo ra ước tính sớm các trị số IC₅₀ đối với các biến thể.

Xytokin IL-5 người (trọng lượng phân tử của homodime, 28,5 KDa) để kích thích tế bào được pha loãng trong môi trường nuôi cấy tế bào và được điều chế ở nồng độ thử nghiệm cuối là 17,5pM (0,5ng/ml), EC₈₀ để kích thích IL-5 người trong thử nghiệm. IL-5 người được bổ sung vào đĩa chứa chuỗi pha loãng kháng thể và được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Các tế bào TF1 được rửa 3 lần bằng PBS để đảm bảo loại bỏ thành công yếu tố tăng trưởng, GMCSF (Yếu tố kích thích đại thực bào Granulocyte) được sử dụng để nhân dòng tế bào. Các tế bào được cấy vào đĩa nuôi cấy mô đáy phẳng màu trắng loại 96 lỗ với mật độ 0,2 x 10⁶ tế bào/lỗ. Sau đó, kháng thể và xytokin đã được ủ sơ bộ được bổ sung vào các tế bào và tiếp tục được ủ trong 3 ngày ở nhiệt độ 37°C, 5% CO₂.

Các đĩa được lấy ra khỏi tủ ấp và 100µl thuốc thử thuốc phát quang CELLTITER-GLO (Promega, G7571) được bổ sung vào các lỗ của các đĩa và được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng trên máy lắc đĩa. Sau đó, các đĩa này được đọc trên đầu đọc đĩa phát quang ENVISION (Biomax 501510).

Theo cách khác, để đánh giá chi tiết hơn các trị số IC₅₀, các độ lệch sau được sử dụng so với phương pháp được mô tả ở trên. Chuỗi pha loãng của các kháng thể và đối chứng được điều chế trong đĩa polypropylene 96 lỗ. Các kháng thể được pha loãng đến nồng độ thử nghiệm cuối là 1nM trong môi trường nuôi cấy tế bào và được pha loãng

1 trong 1,7 trên đĩa để tạo ra dải nồng độ (1nM - 0,000418pM). Xytokin IL-5 người để kích thích các tế bào được pha loãng trong môi trường nuôi cấy tế bào và được điều chế ở nồng độ thử nghiệm cuối là 3pM.

Phương pháp: BIACORE

Phép đo liên kết với IL-5 người được thực hiện bằng cách sử dụng BIACORE 4000 (GE Healthcare). Tốc độ dòng mẫu được sử dụng trong phép đo là 10 μ l/phút để ghép và tái sinh, với 30 μ l/phút được sử dụng để xác định động lực học. Protein A đã được bất động trên chip Series Scm5 (GE Healthcare, BR-1005-30) bằng cách ghép cặp amin bậc 1 (GE Healthcare, BR-1000-50). Bề mặt này sau đó được sử dụng để bắt giữ các kháng thể kháng IL-5 tại điểm 1 và 5, trong khi các điểm 2 và 4 được sử dụng để tham khảo. Sau đó, IL-5 người tái tổ hợp được truyền qua các kháng thể bị bắt giữ ở 100nM. Thời gian phân ly 30 phút được sử dụng vì điều này được cho là cần thiết trong các thí nghiệm trước đó để xác định chính xác tỷ lệ tắt của mepolizumab. Các đường cong liên kết được tham chiếu kép bằng cách tiêm đệm (tức là 0nM) và dữ liệu thích hợp với phần mềm đánh giá BIACORE 4000 sử dụng mô hình 1: 1. Việc chạy được thực hiện ở 25°C, sử dụng HBS-EP (Teknova, H8022) làm bộ đệm chạy và NaOH 50mM làm dung dịch tái sinh.

Phân tích dữ liệu cho thấy tỷ lệ tắt của các kháng thể nằm ở giới hạn độ nhạy của thiết bị BIACORE 4000 và do đó không thể tính được tốc độ phân ly chính xác ở nhiệt độ 25°C. Do đó, việc chạy được lặp lại ở 37°C để tăng tốc độ phân ly, do đó có thể tính được tốc độ phân ly chính xác cho các kháng thể.

Phương pháp: phân tích MSD-SET

Phân tích MSD-SET (chuẩn độ cân bằng dung dịch MSD) được sử dụng để xác định ái lực của các kháng thể với IL-5 người ở 25°C vì tốc độ phân ly quá chậm để đo bằng BIACORE ở nhiệt độ này. MSD-SET xác định pha dung dịch, ái lực cân bằng của kháng thể. Phương pháp này dựa vào việc phát hiện kháng nguyên tự do ở trạng thái cân bằng trong chuỗi nồng độ kháng thể được chuẩn độ.

IL-5 biotin hóa của người được sử dụng ở nồng độ không đổi 30pM, trong khi các mẫu kháng thể được chuẩn độ 1 trong 3 từ 2,5nM đến 0,5pM, với mẫu pha loãng 1 trong 10 cuối ở 0,05pM trên đĩa polypropylen 96. Kháng thể chuẩn độ và IL-5 được ủ trong 24 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau 24 giờ, các kháng thể (20nM trong PBS)

được phủ lên các đĩa MSD liên kết tiêu chuẩn (Meso Scale Discovery, L15XA) trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, các đĩa được chặn bằng bộ đệm chặn STARTING BLOCK (Thermo Science, # 37542) trong 30 phút đồng thời lắc ở tốc độ 700 vòng/phút, sau đó là rửa ba lần bằng chất đệm rửa. Các dung dịch đã được ủ được bổ sung vào các đĩa MSD trong 150 giây với tốc độ lắc 700 vòng/phút sau đó rửa một lần. Kháng nguyên thu được trên đĩa được phát hiện bằng streptavidin dán nhãn SULFOTAG (Meso Scale Discovery, R32AD-1) bằng cách ủ trên đĩa trong 3 phút. Các đĩa được rửa ba lần bằng dung dịch đệm rửa và sau đó đọc trên thiết bị IMAGER IMDER MSD bằng cách sử dụng 1x Read Buffer T với chất hoạt động bề mặt (Meso Scale Discovery, R92TC-1). Phần trăm kháng nguyên tự do được vẽ đồ thị dưới dạng chức năng của kháng thể được chuẩn độ bằng phần mềm GRAPHPAD PRISM và phù hợp với phương trình bậc hai.

Ái lực với IL-5 khi cynomolgus ở nhiệt độ 25°C cũng được xác định bằng cách sử dụng phân tích MSD-SET. Phương pháp được sử dụng là giống như mô tả ở trên, nhưng sử dụng nồng độ IL-5 khi cynomolgus là 62,5pM.

Phương pháp: Phân tích KINEXA của 28Y042-7F11-1

Để tạo việc xác định ái lực chính xác cho liên kết 28Y042-7F11-1 với IL-5 người ở nhiệt độ 25°C, KINEXA (thử nghiệm loại trừ động lực học) được sử dụng thay thế cho các phân tích MSD-SET khi khoảng tin cậy 95% được tạo ra cho 28Y042-7F11-1 cho thấy dữ liệu không phù hợp với mô hình.

Các phép đo ái lực pha dung dịch được thực hiện bằng cách sử dụng thiết bị Sapidyme's KINEXA 3200. Phương pháp này dựa vào việc phát hiện kháng thể tự do ở trạng thái cân bằng trong chuỗi nồng độ kháng nguyên được chuẩn độ. Để phát hiện, ma trận hạt được tạo ra sử dụng các hạt SEPHEROSE được kích hoạt NHS (GE Health, 17-0906-01) được phủ bằng IL-5 người. Để xác định ái lực, nồng độ kháng thể cố định được ủ bằng chuỗi pha loãng nồng độ IL-5 người và liên kết được phép đạt đến trạng thái cân bằng trước khi các mẫu được chạy trên thiết bị KINEXA 3200. Mỗi dung dịch được truyền qua một phần các hạt kháng nguyên trong đó kháng thể tự do liên kết với hạt được phủ kháng nguyên và được phát hiện sử dụng kháng thể kháng IgG người (kháng IgG người của dê mảnh DYLIGHT 649-AFFINIPURE F(ab')₂; Jackson ImmunoResearch, 109-496-170), với các hạt kháng nguyên tươi được sử

dụng để đo từng mẫu. Dữ liệu được phân tích sử dụng phần mềm sẵn có của máy KINEXA, với nhiều lần chạy được thực hiện bằng cách sử dụng nồng độ kháng thể bắt đầu khác nhau ở trên và dưới ái lực mong muốn của tương tác, tức là 300pM và 50pM (tương tác tương ứng điều khiển theo nồng độ và hướng ái lực) và với một loạt nồng độ kháng nguyên trong một thử nghiệm duy nhất có khả năng bão hòa tất cả các kháng thể có sẵn, gần như không liên kết 100% (10nM đến 4,88pM đối với đường cong điều khiển nồng độ, 1nM đến 0,49pM đối với đường cong hướng ái lực). Dữ liệu từ nhiều lần chạy được kết hợp được phân tích sử dụng phần mềm phân tích “n-plot” có sẵn ở máy KINEXA để xác định K_D và khoảng tin cậy 95%.

Phương pháp: Liên kết IL-5 của 28Y042-7F11-1 trong sự cạnh tranh với Mepolizumab

Để xác định rằng 28Y042-7F11-1 liên kết với cùng một epitope trên IL-5 người là mepolizumab, thử nghiệm cạnh tranh được thực hiện bằng cách sử dụng thiết bị giao thoa lớp sinh học (BLI) FORTEBIO OCTET RED384. Vì IL-5 người là dime, nên định dạng thử nghiệm song song được sử dụng trong đó IL-5 được biotinyl hóa của người ở mức 5 $\mu\text{g/mL}$ trong bộ đệm PBSF được chụp trên bề mặt streptavidin (FORTEBIO, 18-5019). Bề mặt này được bão hòa bằng mepolizumab ở 100nM trong PBSF sau đó là 28Y042-7F11-1 ở 100nM. Quy trình này được lặp lại với bề mặt IL-5 được bão hòa bằng 28Y042-7F11-1 sau đó bằng mepolizumab và các đối chứng tự phân khoảng cũng được bao gồm. Phân tích được thực hiện ở 25°C, với tốc độ lắc đĩa 1000 vòng/phút. Dữ liệu được phân tích bằng cách sử dụng công cụ phân tích dữ liệu FORTEBIO.

Phương pháp: Phân tích SEC

Sắc ký rây phân tử phân tích (SEC) được thực hiện để đánh giá độ tinh khiết (% monome) và thời gian lưu của phân tử. Thời gian lưu giữ muộn có thể chỉ ra các vấn đề phát triển tiềm ẩn với phân tử. SEC được thực hiện bằng cách sử dụng cột TSK G3000SWXL, 250A, 5 μm , 30cm x 7,8mM trên hệ thống AGILENT 1100 HPLC. Điều kiện chạy là 200mM NaH_2PO_4 , 250mM NaCl , pH 6,0 với tốc độ dòng 0,5ml/phút. Tải trọng là 20 μg mỗi mẫu với thời gian chạy là 30 phút. Kết quả được phân tích bằng cách sử dụng phần mềm tích hợp cực đại trong CHEMSTATION.

Phương pháp: Liên kết của 28Y042-7F11-1 với các thụ thể Fc của người được đánh giá bằng PROTEON

Sự gắn kết của 28Y042-7F11-1 với các thụ thể Fc gamma người hòa tan tái tổ hợp (FcγRs) được đánh giá bằng cách sử dụng thiết bị cảm biến sinh học PROTEON XPR36 (BIORAD). Các kháng thể được phân tích đối với kháng thể đối chứng dương chứa vùng IgG1 Fc của người kiểu đại và kháng thể đối chứng âm tính chứa 2 đột biến điểm ở vùng Fc mà làm giảm tương tác với các thụ thể Fc gamma (L235A/G237A). Kháng thể kiểm soát khác chứa đột biến YTE trong vùng Fc của nó cũng được bao gồm (28Y042-7F11-1 cũng chứa đột biến YTE).

IgG kháng poly-histidine chuột (ANTI-TETRA-HIS; Qiagen, 34670) được làm bất động trên chip cảm biến sinh học GLM (Bio-Rad, 176-5012) bằng cách ghép cặp amin bậc 1 (GE Healthcare, BR-1000-50). Bề mặt này được sử dụng làm bề mặt bắt giữ đối với các thụ thể Fc gamma người được gắn thể poly-histidine (tất cả các thuốc thử được tự tạo [ngoại trừ CD64-Fc; R & D Systems, 1257-FC]). Các kháng thể được kiểm tra được sử dụng làm chất phân tích và được truyền ở 1024nM, 256nM, 64nM, 16nM và 4nM với liều tiêm 0nM (tức là, chỉ riêng bộ đệm) được sử dụng để tham chiếu kép đường cong liên kết. Bề mặt IgG kháng poly-histidine chuột được tái sinh bằng axit photphoric 100mM giữa các tương tác. Việc chạy được thực hiện ở 25°C sử dụng HBS-EP (Teknova, H8022) làm bộ đệm chạy. Dữ liệu được phân tích riêng cho từng thụ thể, thiết lập R-max toàn cầu và sử dụng mô hình cân bằng sẵn có của phần mềm phân tích PROTEON.

Phương pháp: Liên kết của 28Y042-7F11-1 với bề mặt người C1q được đánh giá bằng PROTEON

Liên kết của 28Y042-7F11-1 với bề mặt người C1q hòa tan tái tổ hợp được đánh giá bằng cách sử dụng thiết bị cảm biến sinh học PROTEON XPR36 (BioRad TM). Kháng thể đối chứng chứa sự thay đổi YTE với vùng Fc của nó được bao gồm làm mẫu đối chứng.

Các kháng thể cần được thử nghiệm được làm bất động trên chip GLC (Bio-Rad, 176-5011) bằng cách ghép cặp amin bậc một (GECare, BR-1000-50). C1q tái tổ hợp (Sigma, C1740) được truyền qua các kháng thể bất động ở 512nM, 128nM, 32nM, 8nM, 2nM và 0nM (tức là chỉ dùng bộ đệm) và tế bào dòng được kích hoạt và bất hoạt trống được sử dụng để tham chiếu kép đường cong liên kết. Bộ đệm chạy để phân tích liên kết là HBS-EP (pH7,4, Teknova, H8022) với 10mM CaCl₂. Dữ liệu được làm

thích hợp với mô hình cân bằng, vốn có của phần mềm phân tích PROTEON XPR36 (BioRad TM) sử dụng trị số R-max toàn cầu.

Phương pháp: Liên kết FcRn

Ái lực liên kết của 28Y042-7F11-1 và mepolizumab với FcRn người ở độ pH 6,0 và độ pH 7,4 được đánh giá bằng cách sử dụng thiết bị BIACORE T200 ở nhiệt độ 37°C. IL-5 người tái tổ hợp được pha loãng trong dung dịch đệm axetat có độ pH 5,0 và được bất hoạt ở mức 535 RU bằng cách ghép cặp amin trên chip CM5 (GE, BR100530). 28Y042-7F11-1 hoặc mepolizumab được bắt giữ bằng cách cho chảy (5µl/phút) dung dịch 100nM mSA trong bộ đệm HBS-EP (Teknova, H8022) trong 24 giây trên bề mặt chip. Sau khi bắt giữ kháng thể thông qua IL-5 bất động, các chu kỳ có nồng độ khác nhau (0,5µM đến 32µM) của FcRn người được chảy trên bề mặt chip với tốc độ 5µl/phút trong thời gian tiếp xúc 120 giây, sau đó phân ly 80 giây cho mỗi chu kỳ. Khi hoàn thành mỗi chu kỳ, bề mặt chip được tái tạo bằng cách sử dụng 10mM Glycine pH 1,5 trong 5 giây với tốc độ 50µl/phút, sau đó bằng NaOH 10mM trong 5 giây với tốc độ 50µl/phút. Các chu kỳ FcRn được thực hiện cho từng nồng độ ở độ pH 6,0 (HBS-EP +, Teknova, Cat: H8022, pH 6,0) và độ pH 7,4 (HBS-EP). Trọng lượng phân tử 42929 Da cho FcRn người được sử dụng trong các phép tính.

Phương pháp: Liên kết với IL-5 bẩm sinh

Khả năng liên kết với IL-5 bẩm sinh của 28Y042-7F11-1, mepolizumab và kháng thể đối chứng âm tính (pascolizumab & kháng RSV) được xác định. 28Y042-7F11-1, mepolizumab hoặc các kháng thể đối chứng, được pha loãng đến nồng độ 1µg/ml/200 µl/lỗ trong PBS và được ủ trên đĩa ELISA MAXISORP (Nunc, 10394751) qua đêm ở 4°C sau đó được rửa (tất cả các bước rửa sử dụng 200 µl/lỗ PBS được bổ sung 0,05% Tween 20. Đĩa được phong bế bằng 300 µl/lỗ PBS được bổ sung 1% BSA (Sigma, A9576) trong 2 giờ trước khi chuẩn độ 1: 2 dịch nổi nuôi cấy chứa 4ng/ml IL-5 bẩm sinh được thêm vào đĩa. Dịch nổi được ủ với các kháng thể trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng, được rửa sạch, sau đó 100 µl/lỗ kháng thể kháng IL-5 được biotin hóa (Fisher, mm550CB) ở mức 1 µg/ml được pha loãng trong PBS được bổ sung 0,5% BSA được cho vào đĩa trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Streptavidin-HRP (GE Health, RPN4401V) được sử dụng để phát hiện, được pha loãng 1: 5500 trong PBS được bổ sung BSA 0,5%, (100 µl/lỗ) và được ủ trong 20 phút ở nhiệt độ trong phòng,

sau đó bổ sung 100 μ l/lỗ chất nền TMB trong 5 phút, sau đó phản ứng được làm dừng bằng cách sử dụng 100 μ l/lỗ H_2SO_4 . Độ hấp thụ được đọc ở 450nm sử dụng phần mềm đọc đĩa SPECTRAMAX (Biomax, 088261; tất cả các điểm được thực hiện trùng lặp). Các điều kiện kiểm soát đối chứng sử dụng dịch nổi nuôi cấy thiếu IL-5 hoặc không có kháng thể bắt giữ (28Y042-7F11-1, mepolizumab và kháng thể đối chứng âm tính) cũng được đánh giá.

IL-5 bẩm sinh được tạo bằng cách kích thích các PBMC người được phân lập bằng kháng thể kháng CD3 và kháng CD28. Máu (100ml) từ người hiến tặng tình nguyện khỏe mạnh (người) thu được trong natri heparin (1000 IU/100ml). Máu được pha loãng theo tỷ lệ 1: 1 với RPMI (Gibco, 31870074) trước khi được tách bằng ly tâm gradient mật độ để phân lập PBMC bằng cách sử dụng ống HISTOPAQUE FICOLL và LEUCOSEP (Greiner, 227290), theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau khi phân lập, PBMC được rửa hai lần bằng RPMI, (quay 2 x 5 phút với tốc độ 1200 vòng/phút). Sau lần rửa thứ hai, các tế bào được tạo huyền phù lại trong 50ml RPMI (được bổ sung 10% huyết thanh bào thai bò, penicillin/streptomycin và L-glutamine), từ đó lấy mẫu 500 μ l và trộn theo tỷ lệ 1: 1 với TRYPLE EXPRESS (Gibco, 12,60 -021) và chạy trên VICELL để lấy số lượng tế bào. Đĩa được phủ trước bằng 1 μ g/ml kháng CD3 (OKT3, trong nhà) và 3 μ g/ml kháng CD28 (nội bộ) ở nhiệt độ 37°C trong 60 phút sau đó rửa các lỗ một lần bằng PBS. Các tế bào đã được pha loãng đến 1×10^6 /ml và 200 μ l/lỗ (2×10^5 tế bào) được bổ sung vào lỗ đã được phủ trước kháng CD3/CD28 và được ủ ở nhiệt độ 37°C, CO2 5% trong 4 ngày. Sau khi kích thích, dịch nổi tế bào được gộp vào ống falcon 50ml và quay (5 phút, 1200 vòng/phút). Dịch nổi (45ml) được thu hồi vào ống falcon mới và các viên tế bào bị loại bỏ. BSA (667 μ l mua từ Sigma, A9576) được bổ sung vào 40ml dịch nổi (nồng độ cuối 0,5%) và chia đều vào 2 cột VIVASPIN 20 (Sartorius, VS0112) và ly tâm ở tốc độ 3600 g (4500 vòng/phút) 2 lần x 10 phút để cô dịch nổi. Các phân đoạn dịch nổi được làm giàu được bảo quản gộp chung ở 4°C. Với đối chứng thử nghiệm, 5ml dịch nổi ban đầu chưa được tách ra hoặc có BSA được bổ sung cũng được bảo quản ở 4°C. Các mẫu dịch nổi chưa được kích thích được quay theo cách tương tự như trên và được bảo quản ở 4°C để thu được dịch nổi đối chứng không có IL-5. Nồng độ IL-5 được định lượng bằng cách sử dụng kit ELISA QUANTIKINE (Hệ thống R & D, D5000B).

Phương pháp: Ước chế thay đổi hình dạng bạch cầu ái toan qua trung gian IL-5 được thử nghiệm bằng phép đếm tế bào dòng chảy

Thử nghiệm này được sử dụng để đo sự ức chế thay đổi hình dạng bạch cầu ái toan qua trung gian IL-5 trong máu người toàn phần bằng 28Y042-7F11-1 hoặc mepolizumab (tất cả các điểm được thực hiện nhắc lại). Máu của người hiến tặng tình nguyện khỏe mạnh (người; có xác nhận đồng thuận tham gia thích hợp) thu được trong natri heparin (1000 IU/100ml) từ GlaxoSmithKline Stevenage Blood Donation Unit. Mỗi 28Y042-7F11-1, mepolizumab và kháng thể đối chứng pascolizumab và kháng RSV được pha loãng để thu được nồng độ thử nghiệm cuối 10 Phag/ml. Các kháng thể được ủ với thể tích IL-5 tái tổ hợp bằng nhau (R&D Systems, Lot# 091231202) 10ng/ml ở 37°C trong 1 giờ. Sau khi ủ, mỗi 20µl mẫu phức hệ kháng thể/IL-5 được bổ sung vào 80µl máu toàn phần của 1 trong 6 người hiến trong đĩa polypropylen có 96 lỗ sâu (Fisher Khoa học, 10007621). Đĩa được ủ ở 37°C trong 30 phút sau khi được đặt trên nước đá và được cố định bằng 250µl/lỗ trong 2 phút bằng cách sử dụng CELL FIX (BD, 340181) được pha loãng theo tỷ lệ 1: 9: 30 CELL FIX: nước: PBS (tỷ lệ này loãng hơn 4 lần so với khuyến nghị của nhà sản xuất để tạo ra các điều kiện không gây bất lợi cho tính toàn vẹn của bạch cầu ái toan). Sau đó, các tế bào được dung giải bằng 1ml/lỗ PHARM LYSE lạnh đá (BioLegend, đệm dung giải giải RBC, 420602) theo quy trình của nhà sản xuất. Các mẫu được tách ra và loại bỏ dịch nổi trước khi được tạo huyền phù lại trong bộ đệm FACS và dữ liệu thu được về bạch cầu ái toan qua cổng CANTOII bằng sự tự phát quang của chúng trong kênh PE. Hiệu quả của 28Y042-7F11-1, mepolizumab, pascolizumab và kháng RSV khi không có IL-5 cũng được thử nghiệm bằng cách chỉ sử dụng PBS. Hiệu quả của IL-5 đối với thay đổi hình dạng bạch cầu ái toan cũng được thử nghiệm trong trường hợp không có bất kỳ kháng thể nào, chỉ sử dụng PBS.

Phương pháp: Nghiên cứu độ ổn định huyết thanh

28Y042-7F11-1 được pha loãng trong huyết thanh người vô trùng gộp nguyên chất (đơn vị hiến máu GSK Stevenage) hoặc huyết thanh khỉ cynomolgus vô trùng gộp nguyên chất (từ SeraLabs) để tạo ra 4ml mỗi loại chứa 28Y042-7F11-1 ở nồng độ đích 120µg/ml. Mỗi mẫu huyết thanh (người hoặc khỉ cynomolgus) sau đó được chia thành 5 x 750 phần phân ước vào các ống ly tâm 2ml vô trùng và nắp được đậy chặt. Một phần phân ước của mỗi loại huyết thanh sau đó ngay lập tức được đặt trên đá khô và

được để đông băng, tạo ra các mẫu T_0 , sau đó được chuyển đến nhiệt độ -80°C để bảo quản. Các phần phân ước còn lại được đặt vào tủ ẩm nuôi cấy mô ẩm ở 37°C với CO_2 5%. Sau 1, 2, 4 và 6 tuần, 1 phần phân ước cho mỗi loại huyết thanh được lấy ra, được làm đông lạnh trên đá khô như trước, sau đó được chuyển đến -80°C để bảo quản. Nghiên cứu độ ổn định in vitro hoàn thành khi lấy ra và lưu trữ các mẫu 6 tuần.

Các mẫu thu được từ nghiên cứu độ ổn định huyết thanh in vitro được thử nghiệm trong thử nghiệm miễn dịch bắt giữ IL-5 MSD (Meso Scale Discovery) để định lượng 28Y042-7F11-1 trong suốt thời gian ủ huyết thanh. Do sử dụng IL-5 biotinyl hóa làm thuốc thử bắt giữ, chỉ các phân tử có hoạt tính kháng IL-5 được bắt giữ và sau đó được phát hiện, do đó, sự thay đổi bất kỳ nào trong quá trình hồi phục được phát hiện theo thời gian thể hiện sự mất 28Y042-7F11-1 hoạt tính. Tất cả các mẫu được thử nghiệm cùng nhau trong thử nghiệm riêng sau khi hoàn thành quá trình ủ 6 tuần.

Thử nghiệm miễn dịch bắt giữ IL-5 được thực hiện bằng cách sử dụng các đĩa MSD liên kết chuẩn 96 lỗ (MSD, # L15XA-6) được phủ bằng $50\mu\text{l}$ NEUTRAVIDIN (Thermo-Fisher Scientific, #31000) ở $2\mu\text{g/ml}$ pha loãng thành lớp nuôi cấy mô PBS (Sigma-Aldrich, # D8537). Các đĩa được để qua đêm ở nhiệt độ $+4^{\circ}\text{C}$. Các đĩa được phủ được rửa bằng cách sử dụng máy rửa đĩa tự động (Biotek ELx405) trong đó mỗi lỗ được rửa 3 lần bằng $300\mu\text{l}$ PBS + 0,1% TWEEN-20. Sau khi rửa, các đĩa được gỡ trên khăn giấy để loại bỏ dịch lỏng còn sót lại. Sau đó, tất cả các đĩa được phong bế bằng $150\mu\text{l}$ chất đệm thử nghiệm (PBS + 5% BSA (Sigma-Aldrich, # A7030) + 1% TWEEN-20 (Fisher Scientific, # BP337)). Các đĩa được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ trên máy lắc đĩa (Heidolph TITRAMAX 1000) được đặt ở khoảng 750 vòng/phút (được sử dụng trong suốt thử nghiệm) và sau đó được rửa sạch như trước. IL-5 được biotin hóa của người (thuốc thử GSK) được pha loãng thành 100ng/ml trong dung dịch đệm thử nghiệm và $25\mu\text{l}$ dung dịch này được bổ sung vào tất cả các lỗ của các đĩa bị phong bế và được rửa. Sau đó, các đĩa được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong ít nhất 1 giờ trên máy lắc đĩa và sau đó được rửa như được mô tả ở trên. Trong quá trình ủ với IL5 biotinyl hóa, các mẫu thử nghiệm và đường cong chuẩn 28Y042-7F11-1 đã được chuẩn bị. Đường cong chuẩn 28Y042-7F11-1 được chuẩn bị bằng cách pha loãng đến nồng độ cao nhất 250ng/ml trong dung dịch đệm thử nghiệm. Dung dịch này sau đó được pha loãng bằng cách sử dụng hệ số pha loãng 2,5 trên tổng số 11 điểm pha

loãng, với điểm thứ 12 là bộ đệm thử nghiệm đơn thuần như là phép thử trống. Tất cả các mẫu ổn định huyết thanh thử nghiệm được pha loãng bằng cách sử dụng các hệ số pha loãng 2000, 20,000 và 200,000 vào dung dịch đệm thử nghiệm. Mỗi mẫu nguyên chất được pha loãng sử dụng tối thiểu 20µl giữa các lần pha loãng và sử dụng các độ pha loãng liên tiếp không lớn hơn hệ số pha loãng 10 (nghĩa là hệ số pha loãng 2000 đạt được bằng 3 lần pha loãng 10 lần tiếp theo sau đó pha loãng 2 lần). Sau khi việc ủ với IL-5 được biotin hóa hoàn tất và các đĩa được rửa sạch, 25µl của đường cong tiêu chuẩn 28Y042-7F11-1 được bổ sung vào ba lần, sau đó bổ sung 25µl của mỗi mẫu thử trong mỗi lần pha loãng nhắc lại. Sau đó, các đĩa được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong ít nhất 1 giờ trên máy rung đĩa và sau đó được rửa sạch như trước. Để phát hiện 28Y042-7F11-1 được liên kết, kháng Fc SULFOTAG người đơn dòng của chuột (được dán nhãn sử dụng kháng thể không dán nhãn mua từ South Biotech, # 9040-01) được pha loãng đến 500ng/ml trong dung dịch thử nghiệm và 25µl được bổ sung vào tất cả các lỗ. Sau đó, các đĩa được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong ít nhất 1 giờ trên máy rung đĩa và sau đó được rửa sạch như trước. Đọc MSD T với dịch nổi được pha loãng thành dung dịch thử nghiệm 1x bằng H₂O cất và sau đó 150µl được bổ sung vào tất cả các lỗ. Sau đó, các đĩa được đọc bằng phần mềm đọc ảnh SECTOR 6000 MSD. Nồng độ trung bình của 28Y042-7F11-1 được đo trong huyết thanh người hoặc khỉ Cynomolgus sau đó được chuẩn hóa thành % của nồng độ được xác định trong các mẫu T₀ bằng cách sử dụng công thức:

$$\% T_0 = [\text{nồng độ trong mẫu thử nghiệm} / \text{nồng độ trong mẫu } T_0] * 100$$

Để đưa dữ liệu ổn định huyết thanh được tạo ra cho 28Y042-7F11-1 vào ngữ cảnh, nó được vẽ đồ thị cùng với dữ liệu được tạo ra trong lịch sử cho mepolizumab và cho kháng thể chuẩn đặc hiệu IL-13. Độ ổn định huyết thanh thiết lập được sử dụng cho các phân tử này giống như được mô tả ở trên ngoại trừ các mốc thời gian được sử dụng là 0, 2, 4 và 6 tuần và lô huyết thanh người và khỉ cynomolgus được sử dụng là khác nhau. Việc phân tích các mẫu mepolizumab là như được mô tả ở trên, ngoại trừ đường cong chuẩn mepolizumab được sử dụng bắt đầu từ 500ng/ml và các mẫu được thử nghiệm chỉ sử dụng hệ số pha loãng 1000. Việc phân tích các mẫu kháng thể chuẩn đặc hiệu IL-13 là như được mô tả ở trên, ngoại trừ đường cong chuẩn kháng thể bắt đầu từ 500ng/ml, các mẫu được kiểm tra chỉ sử dụng hệ số pha loãng 1000 và đối với dữ liệu được báo cáo ở đây là thử nghiệm bắt giữ IL-13 được sử dụng trong trường

hợp IL-13 biotin hóa (thuốc thử nội của GSK) ở 100ng/ml trong đệm thử nghiệm được sử dụng thay cho IL-5 biotinyl hóa. Dữ liệu được chuẩn hóa thành giá trị tại T_0 như được mô tả ở trên.

Phương pháp: PK/PD khi *Cynomolgus* *in vivo*

Nghiên cứu bao gồm 4 nhóm khỉ *cynomolgus* (*Macaca fascicularis*, 2 - 5 tuổi, nặng 2 - 6 kg, thuần gây giống mục đích có nguồn gốc Mauritius), mỗi nhóm nghiên cứu gồm 2 con đực và 2 con cái. Những con khỉ *cynomolgus* được giữ nội bộ với 4 con vật cùng giới tính trong mỗi nhóm với môi trường phong phú để thúc đẩy tương tác xã hội, vui chơi và khám phá. Mỗi con vật trong nghiên cứu được cấp mức trung bình 200 g/ngày khẩu phần tiêu chuẩn (Chế độ ăn dành cho linh trưởng được chứng nhận dinh dưỡng quốc tế MI số 5S48 (25% protein) và Special Diets Services (SDS) Mazuri Expanded Short (MP (E) short SQC)) trong suốt nghiên cứu và nước tùy ý. Số lượng tế bào huyết học toàn phần, bao gồm số lượng bạch cầu ái toan, được xác định trước khi dùng thuốc và sau đó cứ sau 1 hoặc 2 tuần dùng thuốc (trong 6 tháng). Các con vật được sử dụng bằng cách tiêm tĩnh mạch nhanh vào ngày 1 với 28Y042-7F11-1 (0,05mg/kg hoặc 1mg/kg), mepolizumab (1mg/kg) hoặc chất dẫn thuốc. Ngoài số lượng tế bào huyết học, các phép đo chất nền thử nghiệm PK và tổng số IL-5 được thực hiện.

Phương pháp: Dữ liệu PK

Động vật được cho dùng liều chất thử nghiệm vào ngày 1 và được lấy mẫu (xem Bảng 20 và Bảng 21) bằng cách lấy máu từ tĩnh mạch đùi mà không cần thêm thuốc chống đông máu. Việc lấy mẫu được thực hiện càng muộn càng tốt vào buổi chiều (trong khoảng từ 1 đến 3 giờ chiều) để trùng với lịch lấy mẫu máu huyết học (bạch cầu ái toan). Các mẫu được để đông máu trong ít nhất 1 giờ ở nhiệt độ môi trường và sau đó được ly tâm ở 2500 g trong 10 phút ở 4°C. Huyết thanh thu được được phân tách, chuyển vào các ống Standard Sarstedt và được đông lạnh ngay lập tức trên đá khô sau đó được bảo quản ở -80°C.

Nồng độ 28Y042-7F11-1 và mepolizumab từ mẫu huyết thanh khỉ *cynomolgus* được xác định bằng thử nghiệm miễn dịch sử dụng nền tảng GYROLAB Work Station (Gyros, P0004943). Chất bắt giữ IL-5 người tái tổ hợp biotinyl hóa (thuốc thử nội bộ) và các chất chuẩn 28Y042-7F11-1 (trong huyết thanh khỉ *cynomolgus*) được pha

loãng trong bộ đệm REXXIP A (Gyros, P0004820) và ALEXA-647 được dán nhãn phát hiện kháng IgG người (JDC-10 vô tính) được pha loãng trong bộ đệm REXXIP F (Gyros, P0004825). Thử nghiệm này được xác nhận hợp lệ với khoảng từ 30 đến 10.000ng/ml đối với 28Y042-7F11-1 và 100-10.000ng/ml đối với mepolizumab trên CD BIOAFFY 1000 (Gyros, P0004253). Trị số nồng độ huyết thanh cho 28Y042-7F11-1 nằm trong khoảng dự kiến. Chú thích/mô tả bảng 20: Lịch lấy mẫu máu khi Cynomolgus cho các thử nghiệm PK và tổng IL-5. Thể tích trích máu là 0,7ml (0,5ml đối với *). Chú thích/mô tả bảng 21: Lịch lấy mẫu huyết học.

Bảng 20.

Thời điểm lấy máu (Thời gian sau liều tính theo giờ) từ khi kết thúc tiêm vào ngày 1; [Ngày số]									
0,25 giờ [1]	1 giờ [1]	3 giờ [1]	6 giờ [1]	24 giờ [2]	48 giờ [3]	96 giờ [5]	168 giờ [8]	336 giờ [15]	672 giờ [29]
1008 giờ [43]	1344 giờ [57]	1680 giờ [71]*	2016 giờ [85]	2688 giờ [113]	3360 giờ [141]	4032 giờ [169]	4368 giờ [183]	4704 giờ [197]	
5040 giờ [211]	5376 giờ [225]	5712 giờ [239]	6048 giờ [253]	6384 giờ [267]					

Bảng 21.

Thời điểm lấy máu (Thời gian sau liều tính theo giờ) từ khi kết thúc tiêm vào ngày 1; [Ngày số]									
24 giờ [2]	168 giờ [8]	336 giờ [15]	672 giờ [29]	1008 giờ [43]	1176 giờ [50]	1344 giờ [57]	1512 giờ [64]	1680 giờ [71]	1848 giờ [78]

2016	2184	2376	2520	2688	3024	3360	3696	4032	4368
giờ	giờ	giờ	giờ	giờ	giờ	giờ	giờ	giờ	giờ
[85]	[92]	[100]	[106]	[113]	[127]	[141]	[155]	[169]	[183]
4704	5040	5376	5712	6048	6384				
giờ	giờ	giờ	giờ	giờ	giờ				
[197]	[211]	[225]	[239]	[253]	[267]				

Phương pháp: Dữ liệu IL-5 tổng

Động vật được sử dụng liều, lấy mẫu máu và xử lý như được mô tả đối với việc thu thập dữ liệu PK. Các đường cong chuẩn của IL-5 khỉ cynomolgus (nồng độ cuối 2,44 – 10.000 pg/ml) được chuẩn bị ở nồng độ cuối cùng x2 pha loãng hàng loạt 1 trong 4 trong huyết thanh khỉ cynomolgus gộp (SeraLab, S-118-D). 4 đối chứng IL-5 thêm chuẩn QC cũng được chuẩn bị ở 2x nồng độ cuối cần thiết (để tính độ pha loãng 1:2 bằng kháng thể cocktail) sử dụng huyết thanh khỉ cynomolgus gộp (5000, 500, 50 và 0 pg/ml IL-5). Sau đó, từng mẫu thử nghiệm huyết thanh/đối chứng thêm chuẩn QC/chuẩn được chuyển (50µl) vào đĩa polypropylene loại 96 lỗ mới.

Cocktail kháng thể bắt giữ và phát hiện được điều chế bằng cách sử dụng mEP thể liên hợp kháng mAb IL-5-biotin người của chuột (Southern Biotech, 10118-08) ở nồng độ cuối 0,5µg/ml làm mAb bắt giữ và mAb kháng IL-5- người của chuột được gắn sulfo (Southern Biotech, 10118-14 (MSD được gắn sulfo nội bộ)) ở nồng độ cuối 0,5µg/ml dưới dạng mAb phát hiện. Cả hai kháng thể bắt giữ và phát hiện đều được điều chế trong dung dịch đệm thử nghiệm (Bộ đệm RK/CI: [6,4mM EDTA, 5,1mM EGTA, 50mM HEPES, 149,2mM NaCl, 1% Triton X-100, 1% BSA, pH 7,4]) ở 2x nồng độ cuối để tính độ pha loãng 1: 2 theo chuẩn/mẫu/chứng. Cocktail kháng thể (50µl) được bổ sung vào từng mẫu huyết thanh thử nghiệm/đối chứng thêm chuẩn QC/chuẩn và được ủ trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng, lắc (600 vòng/phút) trong bóng tối. Đĩa MSD vàng streptavidin (Meso Scale Discovery, L15SA-1) được phong bế bằng 150µl/lỗ bộ đệm phong bế MSD (3% MSD Blocker A (Meso Scale Discovery, R93BA-1) in PBS) và được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng đồng thời lắc (600 vòng/phút). Sau 3 giờ ủ cocktail kháng thể và mẫu huyết thanh thử

nghiệm/QC spiked/chuẩn, 25 μ l/lỗ nhắc lại (hoặc ba lần đối với các Chứng thêm chuẩn QCs) được chuyển lên đĩa vàng streptavidin bị phong bế và được rửa (SKAN WASHER 300, Skatron Instruments). Sau đó, đĩa được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng đồng thời lắc (600 vòng/phút). Sau quá trình ủ này, đĩa được rửa (SKAN WASHER 300, Skatron Instruments). Chất đệm đọc T (2x) được điều chế và 150 μ l/lỗ được bổ sung vào từng lỗ của đĩa vàng streptavidin MSD. Sau đó, điện hóa phát quang được định lượng bằng cách sử dụng MSD sector S 600 (Model 1201) trong vòng 15 phút.

Phương pháp: Số lượng bạch cầu ái toan

Việc giảm số lượng bạch cầu ái toan được sử dụng làm dấu ấn sinh học cho hoạt tính trung hòa IL-5 trung gian qua 28Y042-7F11-1. Trước khi sử dụng chất thử nghiệm, một nhóm gồm 39 con vật được sàng lọc mức độ bạch cầu ái toan trước (ngày -51 và -44) và các con vật có nồng độ bạch cầu ái toan (≥ 180 bạch cầu ái toan/ μ L) được chọn để nghiên cứu. Các con vật có số lượng bạch cầu ái toan cao hơn được lựa chọn dựa trên giả định rằng chúng sẽ cung cấp cửa sổ thử nghiệm lớn hơn để đo mức độ ức chế bạch cầu ái toan. Đã có lo ngại rằng do các con vật bị nhốt giữ và sống trong điều kiện phòng sạch, chúng có số lượng bạch cầu ái toan theo chuẩn thấp hơn so với động vật hoang dã và các trị số bạch cầu ái toan thấp hơn khi bị ức chế bởi thuốc, có thể giảm xuống dưới mức định lượng thấp nhất. Cũng trở nên rõ ràng trong giai đoạn tiền sàng lọc rằng một số con vật cho thấy sự dao động lớn về số lượng bạch cầu ái toan. Nguyên nhân của sự biến đổi này là vẫn chưa được biết, nhưng có thể được quy cho nhiều yếu tố, chẳng hạn: môi trường, căng thẳng hoặc thay đổi nội tiết tố.

Sau khi 16 con vật được chọn để nghiên cứu, chúng được nhốt trong chuồng trong các bãi nghiên cứu (4 con vật cùng giới tính trong mỗi bãi) và được để thích nghi với môi trường mới xung quanh. Trong giai đoạn thích nghi, 3 lần đếm huyết học trước khi sử dụng liệu được thực hiện (ngày -21, -14 và -7). Các con vật được sử dụng liệu chất thử nghiệm vào ngày 1 và được lấy mẫu bằng cách trích 0,5ml máu từ tĩnh mạch đuôi sử dụng EDTA làm thuốc chống đông máu. Việc lấy mẫu được thực hiện càng muộn càng tốt vào buổi chiều (trong khoảng từ 1 đến 3 giờ chiều) để kiểm soát sự thay đổi nồng độ bạch cầu ái toan trong máu theo thời gian. Sau khi thu gom, các mẫu được xử lý trong vòng 60 phút từ lần lấy mẫu cuối cùng cho từng thời điểm và

được đo định lượng sử dụng máy phân tích huyết học ADVIA 120 (Siemens) sử dụng cả phương pháp Peroxidase và phương pháp Basophil/lobularity

Ví dụ 2

28Y042-7F11-1 cũng được đánh giá trong các nghiên cứu độc tính GLP liều 4 tuần và liều lặp lại 26 tuần (10 và 100mg/kg/tuần). Trong các nghiên cứu này, 28Y042-7F11-1 được tiêm dưới da cho khỉ cynomolgus. Giai đoạn giảm liều của nghiên cứu kéo dài 26 tuần đang diễn ra (tháng 5 năm 2017), do đó, một báo cáo tạm thời trình bày dữ liệu được tạo ra trong quá trình tiền xử lý cho đến khi kết thúc thời gian dùng thuốc được báo cáo ở đây. Các phơi nhiễm hệ thống đạt được trong nghiên cứu này được trình bày trong Bảng 22. Phương pháp chuẩn được sử dụng để tiến hành các nghiên cứu này và các phân tích liên quan. Chú thích/mô tả Bảng 22: Đánh giá so sánh phơi nhiễm toàn thân trung bình sau khi tiêm dưới da 28Y042-7F11-1 ở khỉ cynomolgus. Chú thích/mô tả Bảng 23: Các thông số dược động học trung bình của 28Y042-7F11-1 ở khỉ cynomolgus sau khi tiêm riêng IV hoặc SC. Chú thích/mô tả bảng 24: Biên độ an toàn khi so sánh dữ liệu NOAEL của khỉ cynomologus với dữ liệu dự đoán của người với liều được tiêm dưới da (“bao gồm tính an toàn”).

Bảng 22.

Thời gian	Liều (mg/kg)	Giới tính	AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$) ^a		C _{cực đại} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		T _{cực đại} (giờ)	
			Ngày 1	Tuần 14	Ngày 1	Tuần 14	Ngày 1	Tuần 14
Liều đơn 4 tuần ^b	10	M/ F	58900	NA	131	NA	84	NA
	100	M/ F	551000	NA	1200	NA	84	NA
Liều lặp lại 26 tuần ^{b,c}	10	M/ F	104000 (85100- 138000)	1160000 40300- 185000)	125 (113- 153)	149 (101- 221)	120	120
	100	M/ F	837000 (671000 -983000)	1120000 (898000 - 1290000)	1200 (1110- 1270)	1390 (1090- 1610)	72	96

Thời gian	Liều	Giới tính	AUC (µg·h/ml) ^a		C _{cực đại} (µg/ml)		T _{cực đại} (giờ)	
	(mg/kg)		Ngày 1	Tuần 14	Ngày 1	Tuần 14	Ngày 1	Tuần 14
Chú thích:								
a. AUC(0-t) = diện tích dưới đường cong nồng độ huyết tương - thời gian từ 0 đến 672 giờ (4 tuần) sau liều duy nhất và 0 đến 2016 giờ (12 tuần) sau khi sử dụng lặp lại								
b. n = 3/giới tính/nhóm; giới tính kết hợp vì không có sự khác biệt rõ rệt giữa hai giới tiếp xúc với 28Y042-7F11-1								
c. 5/giới tính/nhóm ở liều 10mg/kg và n = 3/giới tính/nhóm với liều 100mg/kg; giới tính kết hợp vì không có sự khác biệt rõ rệt giữa các giới tính tiếp xúc với 28Y042-7F11-1. Liều thuốc đầu tiên được sử dụng vào ngày 1; liều thứ hai dùng vào tuần 14								
Không quan sát thấy có mức hiệu ứng (NOAEL) được thể hiện bằng chữ in đậm.								
Các trị số trong ngoặc thể hiện phạm vi								
C _{max} = nồng độ tối đa								
NA - không áp dụng								
T _{max} = thời gian để nồng độ quan sát tối đa								

Bảng 23.

Thông số	Tiêm tĩnh mạch		Tiêm dưới da
Liều (mg/kg)	0,05	1	1
C _{max} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	1,29	23,4	12,5
AUC _{0-t} ($\text{hr}\cdot\mu\text{g}/\text{ml}$)	457	9550	9270
CL ($\text{ml}/\text{hr}/\text{kg}$)	0,0942	0,105	0,0974 ¹
V _{ss} (ml/kg)	77,8	79,7	74,0 ²
T _{1/2} (ngày)	25	24	22
Sinh khả dụng (%)	NA	NA	111

NA = không áp dụng

1. CL/F

2. V_z/F

Bảng 24.

Cmax người và AUC được dự đoán				Bao gồm độ an toàn (đối với khi NOAEL)		
Liều (mg)	Liều (mg/kg) ¹	C _{cực đại} (µg/ml)	AUC (µg*h/ml)	Bao gồm liều ²	Bao gồm C _{cực đại}	Bao gồm AUC
2	0,03	0,226	323	3500x	6156x	3471x
10	0,14	1,13	1613	700x	1231x	694x
30	0,43	3,39	4840	233x	410x	231x
100	1,43	11,3	16132	70x	123x	69x
300	4,29	33,9	48396	23x	41x	23x

1 – giả định rằng đối tượng nặng 70kg; 2 – liều bao gồm (thể hiện bằng mg/kg)

Ví dụ 3

Danh mục trình tự không chính thức

Phần gạch chân dưới đây xác định trình tự CDR, theo định nghĩa Kabat của CDR, trong các phân chuỗi nặng biến đổi và chuỗi nhẹ biến đổi của các kháng thể hoặc trình tự axit nucleic mã hóa các trình tự CDR này. Ví dụ, trong SEQ ID NO: 1, các khung và CDR được trình bày dưới dạng khung văn bản gốc 1, CDR1 được gạch chân, khung văn bản gốc 2, CDR2 được gạch chân, khung văn bản gốc 3, CDR3 được gạch chân và khung văn bản gốc 4 theo thứ tự từ phần gần gốc amino đến phần đầu cacboxy của trình tự được thể hiện. Sơ đồ này được sử dụng trong các SEQ ID NO: 1-4 chẳng hạn. Gốc methionin đầu amin thể hiện trong các trình tự này có thể được phân tách. Do đó, các trình tự ở đây cho thấy gốc methionine của đầu amin cũng cần được xem xét để bộc lộ các phiên bản bị cắt của các protein thiếu gốc methionin của đầu amin như vậy. Các trình tự axit nucleic được trình bày dưới dạng trình tự axit nucleic DNA và bao gồm gốc axit nucleic “t”, trình tự RNA tương ứng cũng được coi là được bộc lộ sao cho gốc axit nucleic “t” cũng có thể được coi là bộc lộ gốc axit nucleic “u”. Ngoài ra, bộ ba bắt đầu “atg” gần 5’ và bộ ba kết thúc taa,” “tag,” và “tga” gần 3’ được loại bỏ khỏi các trình tự axit nucleic cDNA dưới đây.

CHUỖI NẶNG CHIỀU DÀI ĐẦY ĐỦ 28Y042-7F11-1

SEQ ID NO: 1

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTVSGFSLTGSSVHWVRQPPGKGLEWLGVIW
ASGGTDYNSALMSRLSISKDTSRNQVVL TMTNMDPVD TATYYCARDPPSGLL
RLDYWGRGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
 VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN
 TKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCV
 VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
 WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
 TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

CHUỖI NHẹ CHIỀU DÀI ĐẦY ĐỦ 28Y042-7F11-1

SEQ ID NO: 2

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLL
IYGASTRESGVPDRFSGSGGTDFLTTISSLQAEDVAVYYCQNVHSFPFTFGGG
 TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL
 QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK
 SFNRGEC

28Y042-7F11-1 VH

SEQ ID NO: 3

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTVSGFSLTGSSVHWVRQPPGKGLEWLGVIW
ASGGTDYNSALMSRLSISKDTSRNQVVL TMTNMDPVD TATYYCARDPPSGLL
RLDYWGRGTL VTVSS

28Y042-7F11-1 VL

SEQ ID NO: 4

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLL
IYGASTRESGVPDRFSGSGGTDFLTTISSLQAEDVAVYYCQNVHSFPFTFGGG
 TKLEIKR

28Y042-7F11-1 CDRH1

SEQ ID NO: 5

GSSVH

28Y042-7F11-1 CDRH2

SEQ ID NO: 6

VIWASGGTDYNSALMS

28Y042-7F11-1 CDRH3

SEQ ID NO: 7

DPPSGLLRLDY

28Y042-7F11-1 CDRL1

SEQ ID NO: 8

KSSQSLLNSGNQKNYLA

28Y042-7F11-1 CDRL2

SEQ ID NO: 9

GASTRES

28Y042-7F11-1 CDRL3

SEQ ID NO: 10

QNVHSFPFT

IL-5 NGƯỜI (PROTEIN HOÀN CHỈNH)

SEQ ID NO: 11

IPTEIPTSALVKETLALLSTHRTLILANETLRIPVPVHKNHQLCTEEIFQGIGTLES
QTVQGGTVERLFKNLSLIKKYIDGQKKKCGEERRRVNQFLDYLQEFLGVMNT
EWIIES

ISOFROM ALPHA TIỂU ĐƠN VỊ THỤ THỂ IL-5 NGƯỜI 1 (PROTEIN HOÀN CHỈNH)

SEQ ID NO: 12

DLLPDEKISLLPPVNFTIKVTGLAQVLLQWKPNPDQEQRNVNLEYQVKINAPK
EDDYETRITESKCVTILHKGFSASVRTILQNDHSLASSWASAELHAPPGSPGT
SIVNLTCTTNTTEDNYSRLRSYQVSLHCTWLVGTDAPEDTQYFLYYRYGSWT
EECQEYSKDTLGRNIACWFPRTFILSKGRDWLAVLVNGSSKHSAIRPFDQLFA
LHAIDQINPPLNVTAIEGTRL SIQWEKPVSAFPIHCFDYEVKIHNTNRNGYLQIE
KLMTNAFISIIDDLSKYDVQVRAAVSSMCREAGLWSEWSQPIYVGNDCHKPL
REWFVIVIMATICFILLILSLICKICHLWIKLFPIIPAPKSNIKDLFVTTNYEKAGS
SETEIEVICYIEKPGVETLEDSVF

ADN MÃ HÓA CHUỖI NẶNG CHIỀU DÀI ĐẦY ĐỦ 28Y042-7F11-1 VỚI TRÌNH TỰ DẪN ĐẦU

SEQ ID NO: 13

atgggctggtcctgcatcactctgtttctggtggccaccgccaccggtgtgcacagccaggtgaccctgagggagagcggc
cccgcctggtgaagcccacacagaccctcactctgacctgcaccgtgagcggcttcagcctgaccggctctagcgtccac
tgggtgagggcagccccccggcaagggcctggagtggctgggcgtgatctgggcaagcggggggacggactacaactc
ggcctgatgagcaggctctccatcagcaaggacaccagccggaaccaggtggtgctgacatgaccaatggacccc
gtggacaccgccacctattactgcgccagggaccctccctccggcctgctgaggctggactactggggcaggggaact
agtaccgtgtccagcgcagcaccaagggccccagcgtgttccccctggccccagcagcaagagcaccagcggcgg
cacagccgcctgggctgctggtgaaggactacttccccagcccgtgaccgtgtcctggaacagcggagccctgacca
gcggcgtgcacaccttccccgcctgctgcagagcagcggcctgtacagcctgagcagcgtggtgaccgtgccagcag
cagcctgggcacccagacctacatctgaacgtgaaccacaagcccagcaacaccaaggtggacaagcgggtggagcc
caagagctgtgacaagacccacacctgccccccctgcccctgccccagagctgctgggagggccccagcgtgttctgttc
cccccaagcctaaggacacctgtatcaccagagaacccgaggtgacctgtgtggtggtggatgtgagccacgaggac
cctgaggtgaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcacaatgccaagaccaagcccagggaggagcagtaca
acagcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgtgcaccaggattggctgaacggcaaggagtacaagtgtaggtgt
ccaacaaggccctgctgccccctatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggccagcccagagagccccaggtgtaca
ccctgccccctagcagagaggagatgaccaagaaccaggtgtccctgacctgctggtgaagggttctaccccagcgac
atcgccgtggagtgggagagcaacggccagcccagagaacaactacaagaccacccccctgtgctggacagcgtggc
agcttctctgtacagcaagctgaccgtggacaagagcagatggcagcagggcaacgtgttcagctgtccgtgatgcac
gaggccctgcacaatcactacaccagaagagcctgagcctgtccccctggcaag

ADN MÃ HÓA CHUỖI NHẹ CHIỀU DÀI ĐẦY ĐỦ VỚI TRÌNH TỰ DẪN ĐẦU
28Y042-7F11-1

SEQ ID NO: 14

atgggctggtcctgcatcactctgtttctggtggccaccgccaccggtgtgcacagcgacatcgtgatgacctagtctccc
attcactggcctgagcctgggcgagagggccaccatcaactgcaagagcagccagagcctcctgaacagcggcaacca
gaagaactacctggcctggtaccagcagaaaaccggccagcccccaagctgctgatctatggcgcctccaccaggag
agcggcgtgccagacaggtttagcggcagcggcagcggcaccgacttcacctgacaatcagcagcctgcaggccgag
gacgtggcctgtactactgccagaacgtccacagcttcccccttcaccttgcggcgggggaaccaagctggagatcaagcgt
acgggtggccgccccagcgtgttcatttccccccagcgatgagcagctgaagagcggcaccgccagcgtggtgtgtct
gtgaacaacttctaccccgggaggccaaggtgcagtggaaaggtggacaatgccctgcagagcggcaacagccagga
gagcgtgaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagcagcaccctgacctgagcaaggccgactacga
gaagcacaaggtgtacgcctgtgaggtgaccaccagggcctgtccagccccgtgaccaagagcttcaaccggggcgag
tgc

ADN MÃ HÓA VÙNG BIỂN ĐỔI CHUỖI NẶNG 28Y042-7F11-1

SEQ ID NO: 15

caggtgacctgagggagagcggccccgcctggtgaagcccacacagaccctcactctgacctgcaccgtgagcggct
tcagcctgaccggctctagcgtccactgggtgagggcagccccccggcaagggcctggagtggctgggcgtgatctgggc
aagcggggggacggactacaactcggccctgatgagcaggctctccatcagcaaggacaccagccggaaccaggtggt
gctgacctgaccaacatggaccccggtggacaccgccacctattactgcgccagggaccctccctccggcctgctgaggc
tggactactggggcaggggaacactagtaccgtgtccagc

ADN MÃ HÓA VÙNG BIỂN ĐỔI CHUỖI NHẹ 28Y042-7F11-1

SEQ ID NO: 16

gacatcgtgatgaccagctctcccgattcactggccgtgagcctgggcgagagggccaccatcaactgcaagagcagcca
gagcctcctgaacagcggcaaccagaagaactacctggcctggtaccagcagaaacccggccagcccccaagctgctg
atctatggcgctccaccaggagagcggcgtgccagacaggtttagcggcagcggcagcggcaccgacttcacctga
caatcagcagcctgcaggccgaggacgtggcctgtactactgccagaacgtccacagcttcccccttcaccttcggcggg
ggaaccaagctggagatcaagcgt

ADN MÃ HÓA CHUỖI NHẹ CHIỀU DÀY ĐẦY ĐỦ 28Y042-7F11-1

SEQ ID NO: 17

caggtgaccctgagggagagcggccccgcctggtgaagcccacacagaccctcactctgacctgcaccgtgagcggct
tcagcctgaccggctctagcgtccactgggtgaggcagcccccggaaggcctggagtggctgggcgtgatctgggc
aagcgggggggacggactacaactcggccctgatgagcaggtctccatcagcaaggacaccagccggaaccaggtggt
gctgacctgaccaacatggaccccggtggacaccgccacctattactgcgccagggaccctccctccggcctgctgaggc
tggtacttggggcaggggaacactagtaccgtgtccagcgcagcaccaagggccccagcgtgttccccctggcccc
cagcagcaagagcaccagcggcggcacagcccgctgggtgctggtgaaggactactccccgagcccgtgaccgt
gtcctggaacagcggagccctgaccagcggcgtgcacacctccccgccgtgctgcagagcagcggcctgtacagcctg
agcagcgtggtgaccgtgccagcagcagcctgggcaccagacctacatctgtaacgtgaaccacaagcccagcaaca
ccaaggtggacaagcgggtggagcccaagagctgtgacaagaccacacctgccccccctgccctgccccgagctgct
gggaggccccagcgtgttctgttccccccaagcctaaggacacctgtacatcaccagagaacccgaggtgacctgtgt
ggtggtggatgtgagccacgaggacctgaggtgaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcacaatgccaa
accaagcccagggaggagcagtacaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgacctgctgcaccaggattggctga
acggcaaggagtacaagtgttaaggtgtccaacaaggccctgctgcccctatcgagaaaaccatcagcaaggccaaggg
ccagcccagagagcccaggtgtacacctgccccctagcagagaggagatgaccaagaaccaggtgtccctgacctgc
ctggtgaagggtcttacctccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaacggccagcccagagaacaactacaagacc
acccccctgtgctggacagcgatggcagcttcttctgtacagcaagctgacctgggacaagagcagatggcagcaggg
caacgtgttcagctgctccgtgatgcagaggccctgcacaatcactacaccagaaagagcctgagcctgtcccctggcaa
g

ADN MÃ HÓA CHUỖI NHẹ CHIỀU DÀY ĐẦY ĐỦ 28Y042-7F11-1

SEQ ID NO: 18

gacatcgtgatgaccagctctcccgattcactggccgtgagcctgggcgagagggccaccatcaactgcaagagcagcca
gagcctcctgaacagcggcaaccagaagaactacctggcctggtaccagcagaaacccggccagcccccaagctgctg
atctatggcgctccaccaggagagcggcgtgccagacaggtttagcggcagcggcagcggcaccgacttcacctga
caatcagcagcctgcaggccgaggacgtggcctgtactactgccagaacgtccacagcttcccccttcaccttcggcggg
ggaaccaagctggagatcaagcgtacggtggccgccccagcgtgttcatcttccccccagcgtgagcagctgaagag
cggcaccgcccagcgtggtgtgtctgctgaacaacttctacccccgggaggccaaggtgcagtggaaggtggacaatgcc
tgagagcggcaacagccaggagagcgtgaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagcagcaccctg
acctgagcaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgtgaggtgaccaccaggcctgtccagccccgtga
ccaagagcttaaccggggcgagtgc

TRÌNH TỰ DẪN ĐẦU CHUỖI NHẹ 28Y042-7F11-1

SEQ ID NO: 19

MGWSCILFLVATATGVHS

TRÌNH TỰ DẪN ĐẦU CHUỖI NẶNG 28Y042-7F11-1

SEQ ID NO: 20

MGWSCIILFLVATATGVHS

TRÌNH TỰ FR4 CHUỖI NẶNG 28Y042-7F11-1

SEQ ID NO: 21

WGRGTLVTVSS

Sáng chế đã được mô tả một cách đầy đủ, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hiểu rõ rằng các thay đổi và sửa đổi có thể được thực hiện mà không nằm ngoài phạm vi sáng chế.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Protein liên kết kháng nguyên được tách mà liên kết với IL-5 người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 10.
2. Protein liên kết kháng nguyên theo điểm 1, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng còn bao gồm trình tự axit amin FR4 chuỗi nặng như được thể hiện ở SEQ ID NO: 21.
3. Protein liên kết kháng nguyên theo điểm 2, bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256 và trong đó đầu amin của miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng.
4. Protein liên kết kháng nguyên được tách mà liên kết với IL-5 người bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4.
5. Protein liên kết kháng nguyên theo điểm 4, bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256 và trong đó đầu amin của miền Fc chuỗi nặng được nối với đầu cacboxy của vùng biến đổi chuỗi nặng.
6. Kháng thể được tách mà liên kết với IL-5 người bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, trong đó:
 - a) chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 7; và
 - b) chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện ở SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện ở SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện ở SEQ ID NO: 10.
7. Kháng thể theo điểm 6, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng còn bao gồm trình tự axit amin FR4 chuỗi nặng như được thể hiện ở SEQ ID NO: 21.

8. Kháng thể theo điểm 7, trong đó chuỗi nặng bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256.
9. Kháng thể được tách mà liên kết với IL-5 người bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, trong đó:
- a) chuỗi nặng bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 3; và
 - b) chuỗi nhẹ bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 4.
10. Kháng thể theo điểm 9, trong đó chuỗi nặng bao gồm miền Fc chuỗi nặng có gốc tyrosin ở vị trí 252, gốc threonin ở vị trí 254 và gốc axit glutamic ở vị trí 256.
11. Kháng thể được tách mà liên kết với IL-5 người bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được thể hiện ở SEQ ID NO: 2.
12. Vectơ bao gồm trình tự axit nucleic được thể hiện ở SEQ ID NO: 17 và SEQ ID NO: 18.
13. Dược phẩm chứa protein liên kết kháng nguyên hoặc kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11 kết hợp với chất mang dược dụng.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> GLAXOSMITHKLINE INTELLECTUAL PROPERTY DEVELOPMENT LIMITED

<120> PROTEIN LIÊN KẾT KHÁNG NGUYÊN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA NÓ

<130> PU66209

<160> 21

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 449

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 1

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Gly Ser

20 25 30

Ser Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Val Ile Trp Ala Ser Gly Gly Thr Asp Tyr Asn Ser Ala Leu Met

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Asp Pro Pro Ser Gly Leu Leu Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Arg Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr
 245 250 255
 Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Lys

<210> 2

<211> 220

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 2

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30
 Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95
 Val His Ser Phe Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110
 Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 115 120 125
 Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 130 135 140
 Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 145 150 155 160
 Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 165 170 175
 Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 180 185 190
 Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 195 200 205
 Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215 220

<210> 3

<211> 119

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 3

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Gly Ser
 20 25 30
 Ser Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 35 40 45
 Gly Val Ile Trp Ala Ser Gly Gly Thr Asp Tyr Asn Ser Ala Leu Met
 50 55 60
 Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Asn Gln Val Val Leu
 65 70 75 80
 Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Asp Pro Pro Ser Gly Leu Leu Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Arg Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 4

<211> 114

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 4

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30
 Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95
 Val His Ser Phe Pro Phe Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110
 Lys Arg

<210> 5

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 5

Gly Ser Ser Val His

1 5

<210> 6

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 6

Val Ile Trp Ala Ser Gly Gly Thr Asp Tyr Asn Ser Ala Leu Met Ser

1 5 10 15

<210> 7

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 7

Asp Pro Pro Ser Gly Leu Leu Arg Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 8

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 8

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 9

Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 10

Gln Asn Val His Ser Phe Pro Phe Thr

1 5

<210> 11

<211> 115

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 11

Ile Pro Thr Glu Ile Pro Thr Ser Ala Leu Val Lys Glu Thr Leu Ala
 1 5 10 15
 Leu Leu Ser Thr His Arg Thr Leu Leu Ile Ala Asn Glu Thr Leu Arg
 20 25 30
 Ile Pro Val Pro Val His Lys Asn His Gln Leu Cys Thr Glu Glu Ile
 35 40 45
 Phe Gln Gly Ile Gly Thr Leu Glu Ser Gln Thr Val Gln Gly Gly Thr
 50 55 60
 Val Glu Arg Leu Phe Lys Asn Leu Ser Leu Ile Lys Lys Tyr Ile Asp
 65 70 75 80
 Gly Gln Lys Lys Lys Cys Gly Glu Glu Arg Arg Arg Val Asn Gln Phe
 85 90 95
 Leu Asp Tyr Leu Gln Glu Phe Leu Gly Val Met Asn Thr Glu Trp Ile
 100 105 110
 Ile Glu Ser
 115

<210> 12

<211> 400

<212> PRT

<213> Homo sapien

<400> 12

Asp Leu Leu Pro Asp Glu Lys Ile Ser Leu Leu Pro Pro Val Asn Phe
 1 5 10 15
 Thr Ile Lys Val Thr Gly Leu Ala Gln Val Leu Leu Gln Trp Lys Pro
 20 25 30
 Asn Pro Asp Gln Glu Gln Arg Asn Val Asn Leu Glu Tyr Gln Val Lys
 35 40 45
 Ile Asn Ala Pro Lys Glu Asp Asp Tyr Glu Thr Arg Ile Thr Glu Ser
 50 55 60
 Lys Cys Val Thr Ile Leu His Lys Gly Phe Ser Ala Ser Val Arg Thr
 65 70 75 80
 Ile Leu Gln Asn Asp His Ser Leu Leu Ala Ser Ser Trp Ala Ser Ala
 85 90 95
 Glu Leu His Ala Pro Pro Gly Ser Pro Gly Thr Ser Ile Val Asn Leu
 100 105 110
 Thr Cys Thr Thr Asn Thr Thr Glu Asp Asn Tyr Ser Arg Leu Arg Ser
 115 120 125

Tyr Gln Val Ser Leu His Cys Thr Trp Leu Val Gly Thr Asp Ala Pro
 130 135 140
 Glu Asp Thr Gln Tyr Phe Leu Tyr Tyr Arg Tyr Gly Ser Trp Thr Glu
 145 150 155 160
 Glu Cys Gln Glu Tyr Ser Lys Asp Thr Leu Gly Arg Asn Ile Ala Cys
 165 170 175
 Trp Phe Pro Arg Thr Phe Ile Leu Ser Lys Gly Arg Asp Trp Leu Ala
 180 185 190
 Val Leu Val Asn Gly Ser Ser Lys His Ser Ala Ile Arg Pro Phe Asp
 195 200 205
 Gln Leu Phe Ala Leu His Ala Ile Asp Gln Ile Asn Pro Pro Leu Asn
 210 215 220
 Val Thr Ala Glu Ile Glu Gly Thr Arg Leu Ser Ile Gln Trp Glu Lys
 225 230 235 240
 Pro Val Ser Ala Phe Pro Ile His Cys Phe Asp Tyr Glu Val Lys Ile
 245 250 255
 His Asn Thr Arg Asn Gly Tyr Leu Gln Ile Glu Lys Leu Met Thr Asn
 260 265 270
 Ala Phe Ile Ser Ile Ile Asp Asp Leu Ser Lys Tyr Asp Val Gln Val
 275 280 285
 Arg Ala Ala Val Ser Ser Met Cys Arg Glu Ala Gly Leu Trp Ser Glu
 290 295 300
 Trp Ser Gln Pro Ile Tyr Val Gly Asn Asp Glu His Lys Pro Leu Arg
 305 310 315 320
 Glu Trp Phe Val Ile Val Ile Met Ala Thr Ile Cys Phe Ile Leu Leu
 325 330 335
 Ile Leu Ser Leu Ile Cys Lys Ile Cys His Leu Trp Ile Lys Leu Phe
 340 345 350
 Pro Pro Ile Pro Ala Pro Lys Ser Asn Ile Lys Asp Leu Phe Val Thr
 355 360 365
 Thr Asn Tyr Glu Lys Ala Gly Ser Ser Glu Thr Glu Ile Glu Val Ile
 370 375 380
 Cys Tyr Ile Glu Lys Pro Gly Val Glu Thr Leu Glu Asp Ser Val Phe
 385 390 395 400

<210> 13

<211> 1404

<212> DNA

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit nucleic được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 13

```

atgggctggt cctgcatcat cctgtttctg gtggccaccg ccaccggtgt gcacagccag 60
gtgaccctga gggagagcgg ccccgccctg gtgaagccca cacagaccct cactctgacc 120
tgcaccgtga gcggcttcag cctgaccggc tctagcgtcc actgggtgag gcagccccc 180
ggcaagggcc tggagtggct gggcgtgata tgggcaagcg gggggacgga ctacaactcg 240
gccctgatga gcaggtctc catcagcaag gacaccagcc ggaaccaggt ggtgctgacc 300
atgaccaaca tggaccccggt ggacaccgcc acctattact gcgccaggga cctccctcc 360
ggcctgctga ggctggacta ctggggcagg ggaacactag tgaccgtgtc cagcgccagc 420
accaagggcc ccagcgtgtt cccctggcc cccagcagca agagcaccag cggcggcaca 480
gccgccctgg gctgctggt gaaggactac tccccgagc ccgtgaccgt gtcttggaac 540
agcggagccc tgaccagcgg cgtgcacacc tccccgccg tgctgcagag cagcggcctg 600
tacagcctga gcagcgtggt gaccgtgcc agcagcagcc tgggcacca gacctacatc 660
tgaacgtga accacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agcgggtgga gccaagagc 720
tgtgacaaga cccacacctg cccccctgc cctgcccccg agctgctggg aggccccagc 780
gtgttctgt tccccccaa gcctaaggac acctgtaca tcaccagaga acccgaggtg 840
acctgtgtgg tgggtgatgt gagccacgag gacctgagg tgaagtcaa ctggtacgtg 900
gacggcgtgg aggtgcacaa tgccaagacc aagcccaggg aggagcagta caacagcacc 960
taccgggtgg tgtcctgtct gaccgtgtg caccaggatt ggctgaacgg caaggagtac 1020
aagttaagg tgtccaacaa ggcctgcct gccctatcg agaaaacct cagcaaggcc 1080
aagggccagc ccagagagcc ccaggtgtac acctgcccc ctagcagaga ggagatgacc 1140
aagaaccagg tgtccctgac ctgcctggtg aagggttct accccagcga catgcccgtg 1200
gagtgggaga gcaacggcca gcccagaaac aactacaaga ccaccccccc tgtgctggac 1260
agcgatggca gcttcttct gtacagcaag ctgaccgtgg acaagagcag atggcagcag 1320
ggcaacgtgt tcagctgctc cgtgatgcac gaggccctgc acaatcacta caccagaag 1380
agcctgagcc tgcacctgg caag                                     1404

```

<210> 14

<211> 717

<212> DNA

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit nucleic được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 14

```

atgggctggt cctgcatcat cctgtttctg gtggccaccg ccaccggtgt gcacagcgac 60
atcgtgatga cccagtctcc cgattcactg gccgtgagcc tgggcgagag ggccaccatc 120
aactgcaaga gcagccagag cctcctgaac agcggcaacc agaagaacta cctggcctgg 180
taccagcaga aaccggcca gcccccaag ctgtgatct atggcgctc caccaggag 240

```

agcggcgtgc cagacaggtt tagcggcagc ggcagcggca ccgacttcac cctgacaate 300
 agcagcctgc aggccgagga cgtggccgtg tactactgcc agaacgtcca cagcttcccc 360
 ttcaccttcg gcgggggaac caagctggag atcaagcgta cggtggccgc ccccagcgtg 420
 ttcatcttcc ccccagcga tgagcagctg aagagcggca ccgccagcgt ggtgtgtctg 480
 ctgaacaact tctacccccg ggaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa tgcctgcag 540
 agcggcaaca gccaggagag cgtgaccgag caggacagca aggactccac ctacagcctg 600
 agcagcacc tgacctgag caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgtgag 660
 gtgaccacc agggcctgtc cagccccgtg accaagagct tcaaccgggg cgagtgc 717

<210> 15

<211> 356

<212> DNA

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit nucleic được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 15

aggtgaccct gagggagagc ggccccgccc tggtaagcc cacacagacc ctactctga 60
 cctgcaccgt gacgggttc agcctgaccg gctctagcgt cactgggtg aggcagcccc 120
 ccggcaaggg cctggagtgg ctgggcgtga tctgggcaag cggggggacg gactacaact 180
 cgccctgat gacgaggctc tccatcagca aggacaccag ccggaaccag gtggtgctga 240
 ccatgaccaa catggacccc gtggacaccg ccacctatta ctgcgccagg gaccctccct 300
 ccggcctgct gaggtggac tactggggca ggggaacact agtgaccgtg tccagc 356

<210> 16

<211> 342

<212> DNA

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit nucleic được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 16

gacatcgtga tgaccagtc tccgattca ctggccgtga gcctgggcga gagggccacc 60
 atcaactgca agagcagcca gagectcctg aacagcggca accagaagaa ctacctggcc 120
 tggtagcagc agaaacccgg ccagcccccc aagctgctga tctatggcgc ctccaccagg 180
 gagagcggcg tgccagacag gtttagcggc agcggcagcg gcaccgactt caccctgaca 240
 atcagcagcc tgcaggccga ggacgtggcc gtgtactact gccagaacgt ccacagcttc 300
 cccttcacct tcggcggggg aaccaagctg gagatcaagc gt 342

<210> 17

<211> 1347

<212> DNA

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit nucleic được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 17

```
caggtgaccc tgagggagag cggccccgcc ctggtgaagc ccacacagac cctcactctg 60
acctgcaccg tgagcggctt cagcctgacc ggctctagcg tccactgggt gaggcagccc 120
cccggcaagg gcctggagtg gctgggcgtg atctgggcaa gcggggggac ggactacaac 180
tcggccctga tgagcaggct ctccatcagc aaggacacca gccggaacca ggtggtgctg 240
accatgacca acatggaccc cgtggacacc gccacctatt actgcgccag ggaccctccc 300
tccggcctgc tgaggctgga ctactggggc aggggaacac tagtgaccgt gtccagcgcc 360
agcaccaagg gccccagcgt gttccccctg gccccagca gcaagagcac cagcggcggc 420
acagccgccc tgggctgcct ggtgaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg 480
aacagcggag ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca gagcagcggc 540
ctgtacagcc tgagcagcgt ggtgaccgtg ccagcagca gcctgggcac ccagacctac 600
atctgtaacg tgaaccaca gcccagcaac accaaggtgg acaagcgggt ggagcccaag 660
agctgtgaca agaccacac ctgccccccc tgcctgccc ccgagctgct gggaggcccc 720
agcgtgttcc tgttcccccc caagcctaag gacacctgt acatcaccag agaacccgag 780
gtgacctgtg tgggtggtga tgtgagccac gaggacctg aggtgaagtt caactggtac 840
gtggacggcg tggaggtgca caatgccaag accaagccca gggaggagca gtacaacagc 900
acctaccggg tgggttccgt gctgaccgtg ctgcaccagg attggctgaa cggcaaggag 960
tacaagtgtg aggtgtccaa caaggccctg cctgccccta tcgagaaaac catcagcaag 1020
gccaagggcc agcccagaga gccccaggtg tacacctgc cccctagcag agaggagatg 1080
accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtgaagggt tetaccccag cgacatgcc 1140
gtggagtggg agagcaacgg ccagcccag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg 1200
gacagcgatg gcagcttctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagag cagatggcag 1260
cagggcaacg tgttcagctg ctccgtgatg cagcaggccc tgcacaatca ctacaccag 1320
aagagcctga gcctgtcccc tggcaag                                     1347
```

<210> 18

<211> 660

<212> DNA

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit nucleic được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 18

gacatcgtga tgacccagtc tcccgattca ctggccgtga gcctgggcca gagggccacc 60
 atcaactgca agagcagcca gagcctcctg aacagcggca accagaagaa ctacctggcc 120
 tggtagcagc agaaacccgg ccagccccc aagctgctga tctatggcgc ctccaccagg 180
 gagagcggcg tgccagacag gtttagcggc agcggcagcg gcaccgactt caccctgaca 240
 atcagcagcc tgcaggccga ggacgtggcc gtgtactact gccagaacgt ccacagcttc 300
 cccttcacct tcggcggggg aaccaagctg gagatcaagc gtacgggtggc cgccccagc 360
 gtgttcattc tcccccccag cgatgagcag ctgaagagcg gcaccgccag cgtggtgtgt 420
 ctgctgaaca acttetaccc ccgggaggcc aaggtgcagt ggaaggtgga caatgccctg 480
 cagagcggca acagccagga gacgtgacc gagcaggaca gcaaggactc cacctacagc 540
 ctgagcagca cctgaccct gagcaaggcc gactacgaga agcacaaggt gtacgcctgt 600
 gaggtgaccc accagggcct gtccagcccc gtgaccaaga gcttcaaccg gggcgagtgc 660

<210> 19

<211> 19

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 19

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15

Val His Ser

<210> 20

<211> 19

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 20

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15

Val His Ser

<210> 21

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử.

<400> 21

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1

5

10

FIG. 1

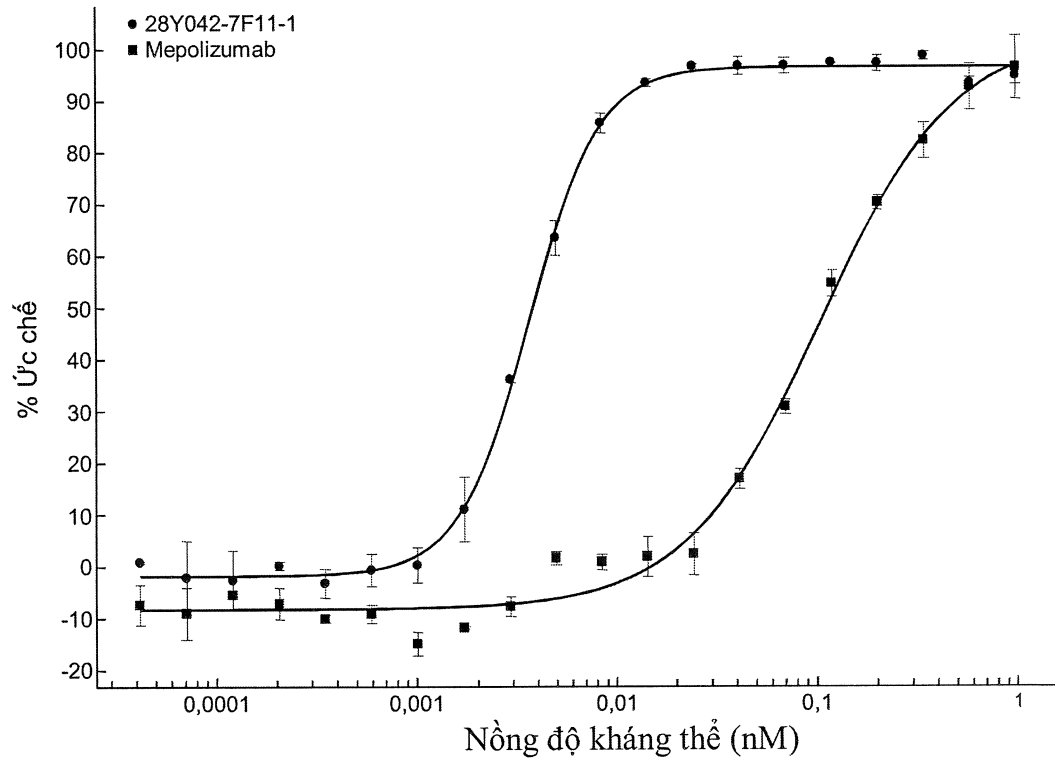


FIG. 2

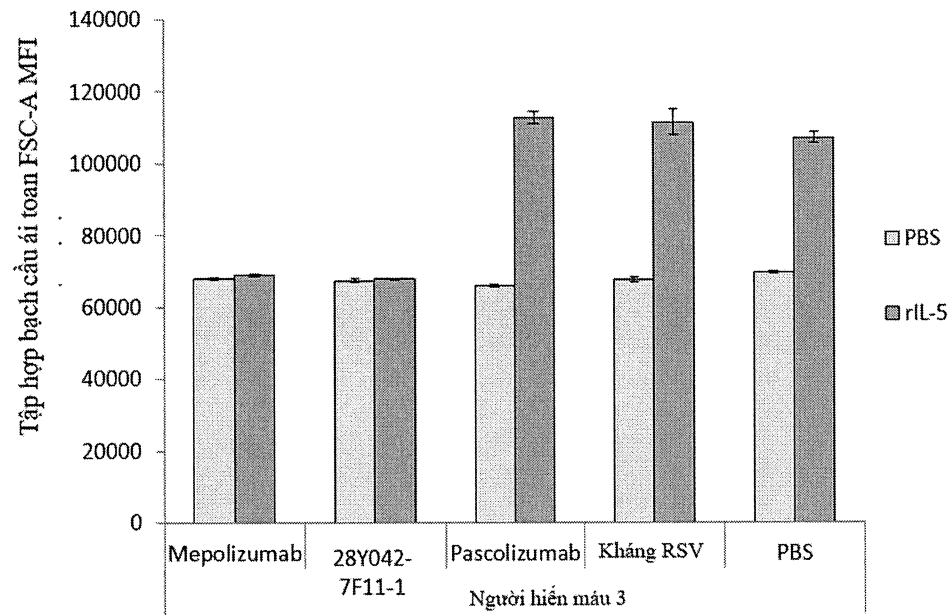


FIG. 3

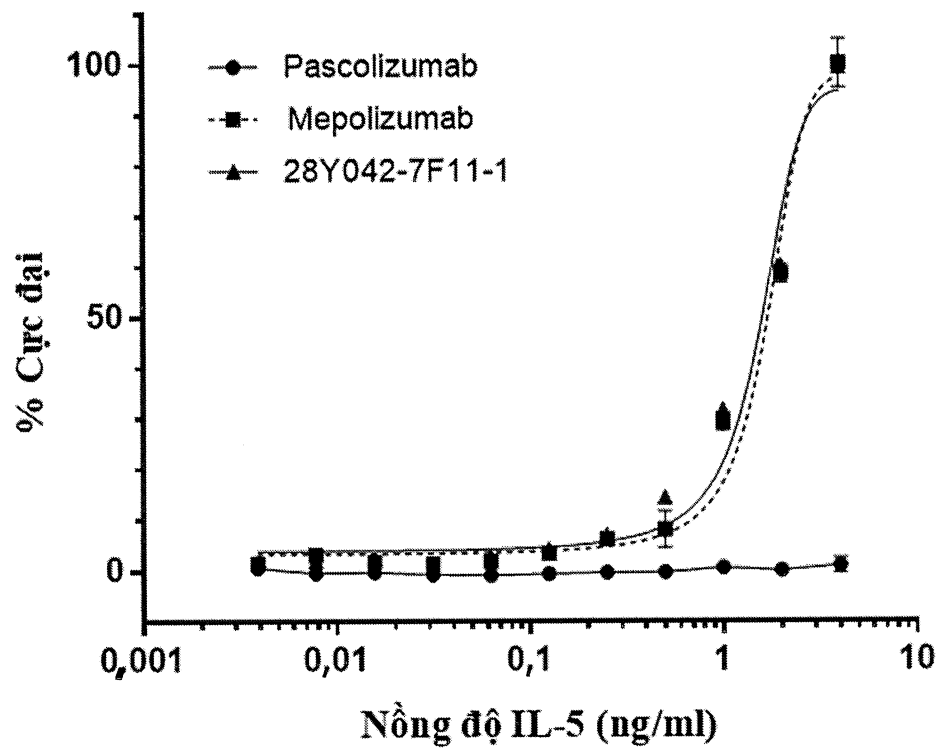


FIG. 4

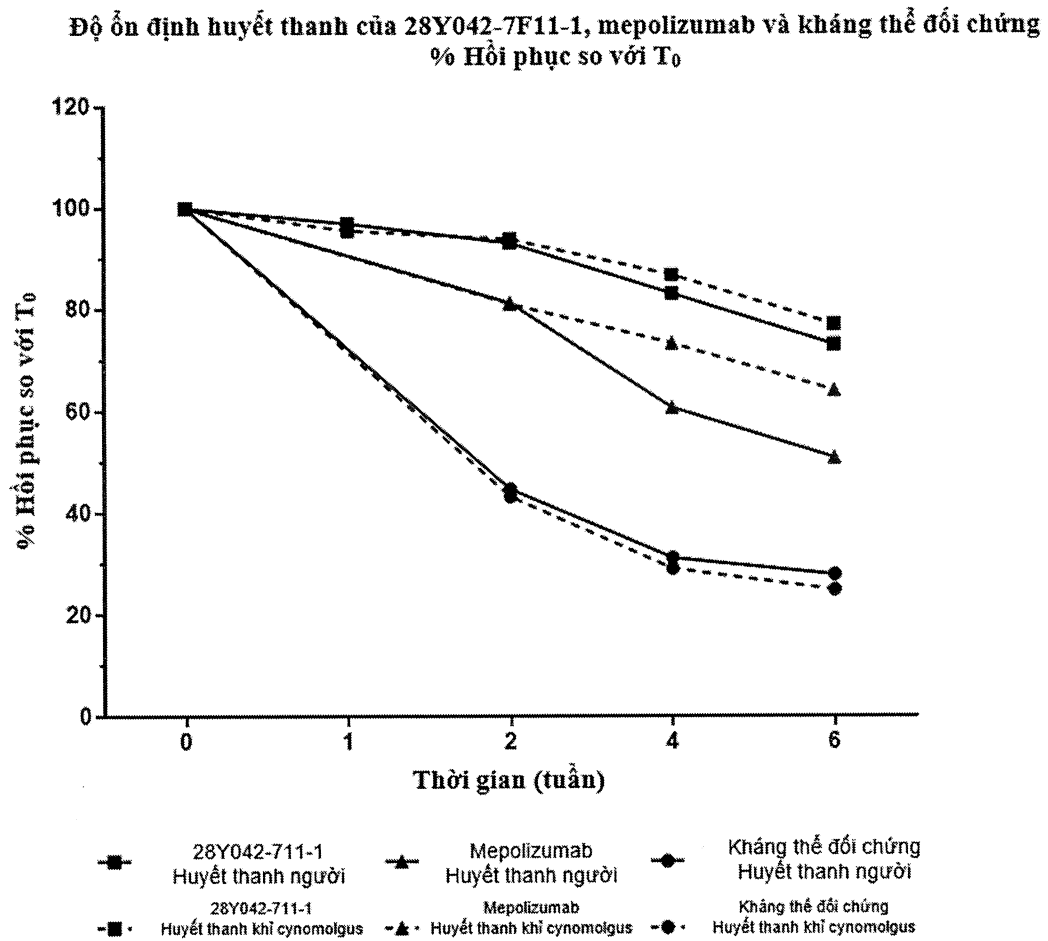


FIG. 5

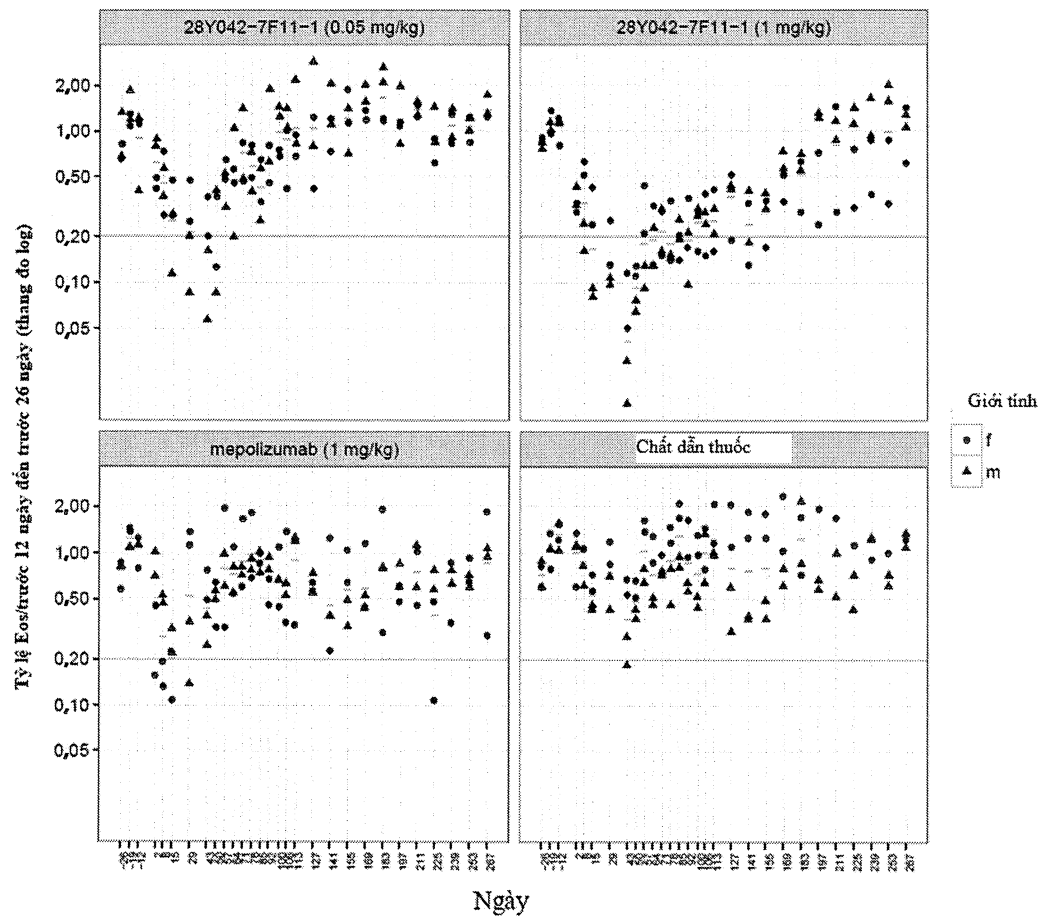


FIG. 6

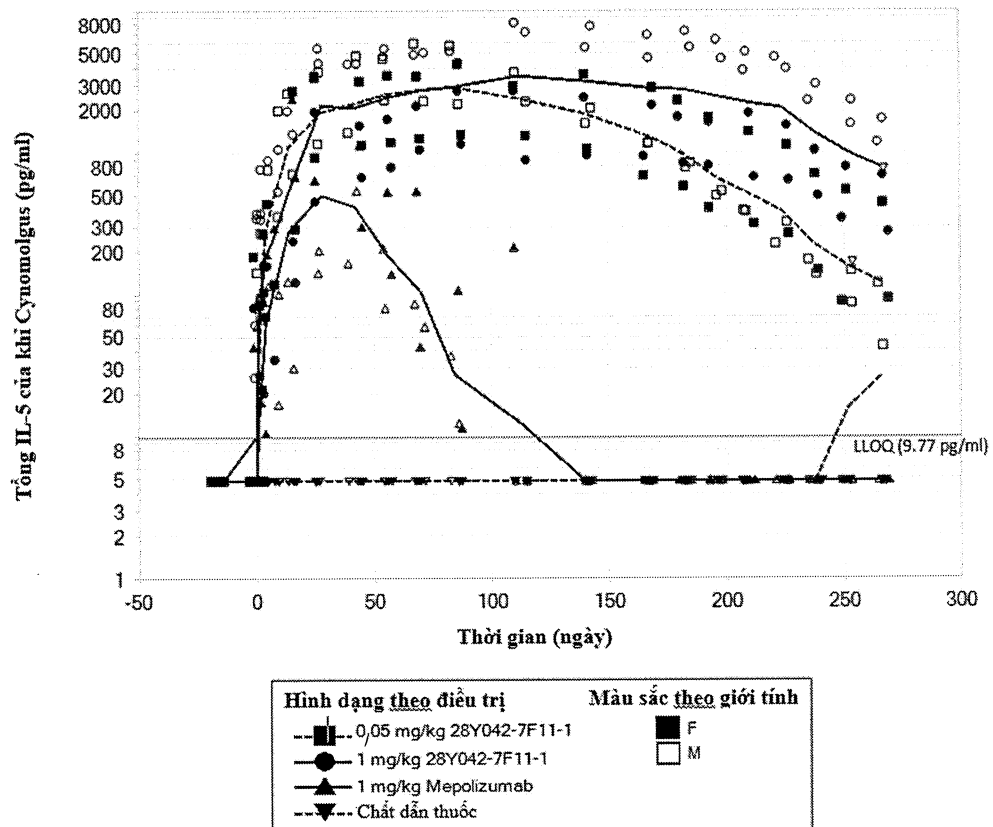


FIG. 7

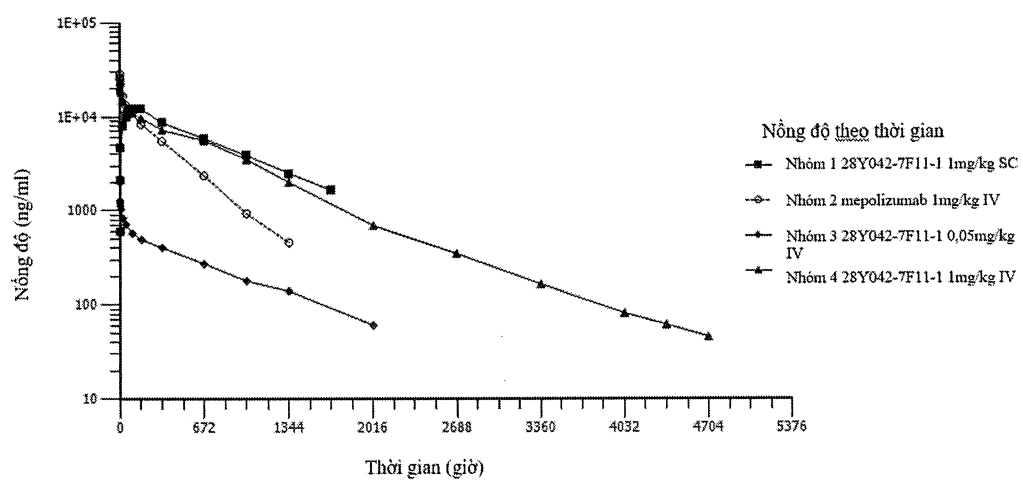


FIG. 8

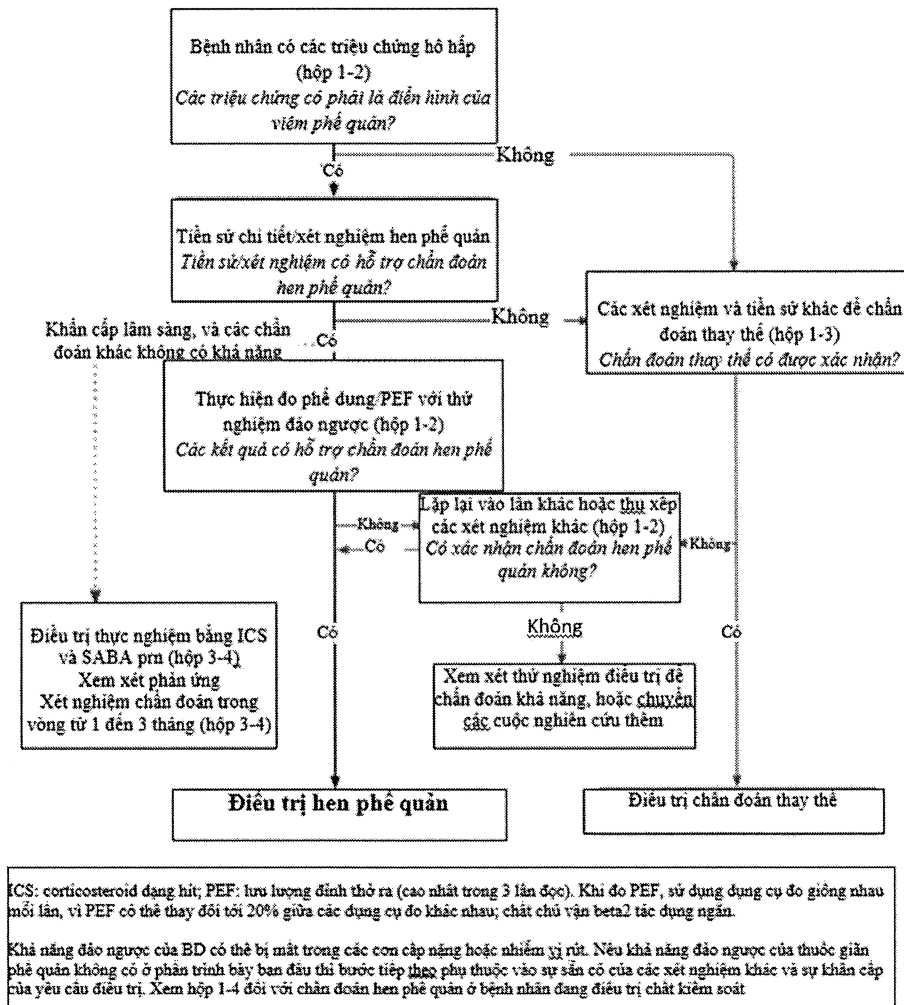
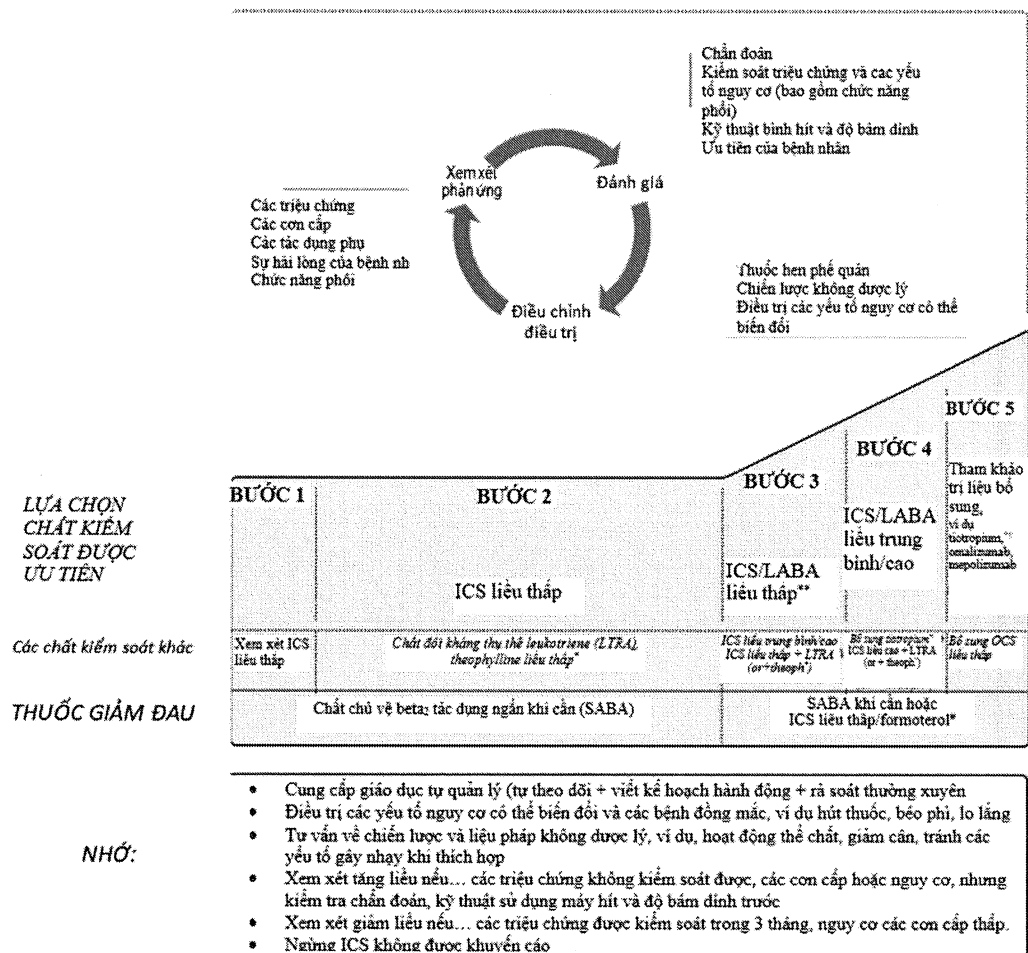


FIG. 9



ICS: corticosteroid dạng hít; LABA: chất chủ vận beta₂ tác dụng dài; med: liều trung bình; OCS: corticosteroid đường miệng. Xem Hộp 3-6 đối với liều ICS trung bình và cao cho người lớn, người trưởng thành và trẻ em từ 6 đến 11 tuổi.

*Không dùng cho trẻ <12 tuổi. **Dùng cho trẻ 6–11 tuổi, điều bước 3 được ưu tiên là ICS liều trung bình. # ICS/formoterol liều thấp là thuốc giảm đau cho bệnh nhân được kê đơn budesonide/formoterol liều thấp hoặc điều trị duy trì và giảm đau beclometasone/formoterol liều thấp. †Tiotropium bằng máy hít sương là phương pháp điều trị bổ sung cho bệnh nhân có tiền sử bị các cơn cấp; phương pháp này không được chỉ định cho trẻ em <12 tuổi