



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

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

(11)



1-0036488

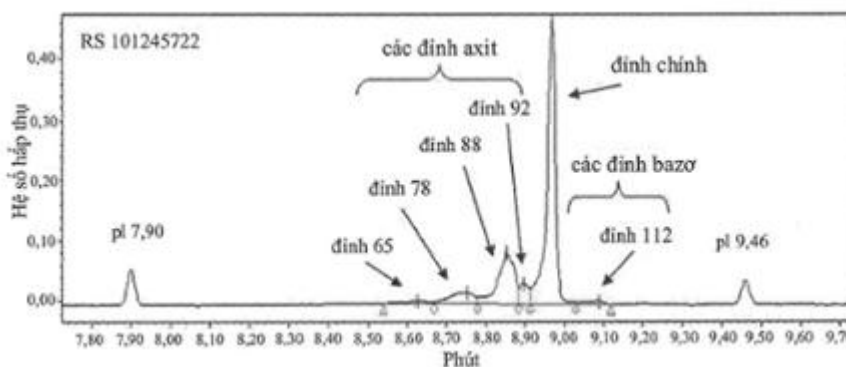
(51)⁸ C07K 16/24; C07K 1/16

(13) B

- (21) 1-2018-01183 (22) 22/08/2016
(86) PCT/IB2016/055012 22/08/2016 (87) WO 2017/033121 A1 02/03/2017
(30) 62/209,000 24/08/2015 US; 62/240,131 12/10/2015 US; 62/247,906 29/10/2015 US;
62/249,497 02/11/2015 US
(45) 25/07/2023 424 (43) 25/05/2018 362A
(73) GlaxoSmithKline Intellectual Property (No. 2) Limited (GB)
980 Great West Road, Brentford, Middlesex TW8 9GS, United Kingdom
(72) MONCK, Myrna A. (CA); BAM, Narendra B. (IN); DALLY, Jennifer (US);
SPATARA, Michelle (US).
(74) Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD)

(54) CHẾ PHẨM ĐIỀU TRỊ BỆNH QUA TRUNG GIAN INTERLEUKIN 5 (IL-5) VÀ
DƯỢC PHẨM CHỨA NÓ

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm để điều trị bệnh qua trung gian interleukin 5 (IL-5) và
dược phẩm chứa nó.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm để điều trị bệnh qua trung gian interleukin 5 (IL-5).

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

IL-5 đóng vai trò quan trọng trong các bệnh khác nhau như hen suyễn, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan trầm trọng, hen suyễn nặng, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan ở mức nhỏ, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, viêm mạch và đa u hạt dị ứng, hội chứng tăng bạch cầu ái toan, polyp mũi xoang, bệnh pemphigoid bong nước và bệnh viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan. Các bệnh nguy hiểm này ảnh hưởng đến hàng trăm triệu người trên toàn thế giới.

Mepolizumab là kháng thể đơn dòng mà gắn kết với IL-5 hòa tan và phong bế IL-5 hòa tan này không gắn kết với thụ thể của nó. Cấu trúc của IL-5 là chỉ báo của protein được tiết và không có bất kỳ dữ liệu nào về dạng liên kết màng bất kỳ của IL-5 trên các loại tế bào bất kỳ. Do đó, vai trò đáp ứng lại kích thích Fc không phải là một phần của cơ chế tác động của mepolizumab. Trên cơ sở cơ chế tác động và đặc tính dược động học của mepolizumab, có hai vùng chức năng tham gia vào hoạt tính sinh học của kháng thể đơn dòng này. Đó là a) gắn kết với IL-5 trong vùng quyết định bổ trợ (complementary determining region - CDR) mà tạo ra cơ chế tác động; và b) gắn kết với thụ thể Fc mới sinh (neonatal Fc receptor - FcRn) trong vùng Fc, mà quyết định thời gian bán hủy. Thông qua việc thực hiện các nghiên cứu tập trung xác định đặc tính để phát triển sản phẩm, sự khử amit, oxy hóa, và kết tụ được xác định là các đặc tính chất lượng quan trọng của mepolizumab. Quan trọng hơn là, mức cụ thể của biến thể này được xác định là phải được duy trì để đảm bảo chức năng sinh lý phù hợp.

Do đó, có nhu cầu đối với chế phẩm thích hợp để duy trì chức năng sinh lý của mepolizumab và để điều trị bệnh qua trung gian IL-5. Do đó, sáng chế đề xuất chế phẩm và phương pháp liên quan này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 80\%$ biến thể kháng thể axit.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 80\%$ biến thể kháng thể axit và $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 25\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N31 của trình tự axit amin chuỗi nhẹ; và $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 25\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N31 của trình tự axit amin chuỗi nhẹ; $\leq 55\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa ở M64 của trình tự axit amin chuỗi nặng; $\leq 3\%$ biến thể được oxy hóa ở W52 của trình tự axit amin chuỗi nặng; và $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin

chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 25\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N31 của trình tự axit amin chuỗi nhẹ; $\leq 35\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N386 của trình tự axit amin chuỗi nặng; và $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 25\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N31 của trình tự axit amin chuỗi nhẹ; $\leq 35\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N386 của trình tự axit amin chuỗi nặng; $\leq 55\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa ở M64 của trình tự axit amin chuỗi nặng, M254 của trình tự axit amin chuỗi nặng, M430 của trình tự axit amin chuỗi nặng; $\leq 3\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa ở W52 của trình tự axit amin chuỗi nặng; và $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa hỗn hợp thành phần tinh chế của kháng thể đơn dòng và chất đệm, trong đó chế phẩm này là ở pH từ 6,8 đến 7,2, trong đó chất đệm là histidin, phosphat, axit xitric, xitrat hoặc muối của chúng, trong đó hỗn hợp thành phần tinh chế chứa dạng tương tự (isoform) đặc trưng bởi đỉnh 65, đỉnh 78, đỉnh 88, đỉnh 92, đỉnh chính và đỉnh 112 được thể hiện trong Fig. 1, trong đó kháng thể này chứa trình tự axit amin chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2, và trong đó kháng thể được tạo ra từ tế bào buồng trứng chuột Hamster Trung Quốc.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa hỗn hợp thành phần tinh chế của kháng thể đơn dòng và chất đệm, trong đó chế phẩm này là ở pH từ 6,8 đến 7,2, trong đó chất đệm là phosphat hoặc muối của chúng, trong đó hỗn hợp thành phần tinh chế chứa dạng tương tự đặc trưng bởi đỉnh 65, đỉnh 78, đỉnh 88, đỉnh 92, đỉnh chính và đỉnh 112 được thể hiện trong Fig. 1, trong đó kháng thể này chứa trình tự axit amin chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID

NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2, và trong đó kháng thể được tạo ra từ tế bào buồng trứng chuột Hamster Trung Quốc.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; và b) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 50% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; b) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 50% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm; và c) dạng axit của kháng thể chứa khoảng 20% đến khoảng 45% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; b) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 50% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm; và c) dạng bazơ của kháng thể chứa khoảng 1% đến khoảng 15% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; b) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 50% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm; c) dạng axit của kháng thể

chứa khoảng 20% đến khoảng 45% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm; và d) dạng bazo của kháng thể chứa khoảng 1% đến khoảng 15% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; và b) dạng được khử amit của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 299, gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 317, gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 386 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; và b) dạng được oxy hóa của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở cystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở cystein 220.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; b) dạng được khử amit của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 299, gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 317, gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 386 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31; và c) dạng được oxy hóa của kháng thể chứa ít nhất

một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 10; và b) dạng được khử amit của kháng thể chứa gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 10; và b) dạng được oxy hóa của kháng thể chứa gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 10; và b) dạng được oxy hóa của kháng thể chứa gốc axit amin

chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64; và c) dạng được khử amit của kháng thể chứa gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa vùng biến đổi trình tự chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 3 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trình tự có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 4; và b) dạng được khử amit của kháng thể chứa gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa vùng biến đổi trình tự chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 3 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trình tự có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 4; và b) dạng được oxy hóa của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa vùng biến đổi trình tự chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 3 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trình tự có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 4; b) dạng được khử amit của kháng thể chứa gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31; và c) dạng được oxy hóa của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa các kháng thể kháng IL-5 có a) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nặng kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc pyroglutamat đầu cuối amino ở gốc axit amin 1, gốc axit amin glyxin đầu cuối carboxy ở gốc axit amin 448, gốc asparagin được khử amit ở vị trí 299, gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317, gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386, gốc tryptophan được oxy hóa ở vị trí 52, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64,

gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85, xystein được oxy hóa ở vị trí 222, metionin được oxy hóa ở vị trí 254, metionin được oxy hóa ở vị trí 360 và gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430; và b) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nhẹ kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 2 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 và xystein được oxy hóa ở vị trí 220.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa các kháng thể kháng IL-5 có a) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nặng kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc asparagin được khử amit ở vị trí 299, gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317, gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386, gốc tryptophan được oxy hóa ở vị trí 52, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85, xystein được oxy hóa ở vị trí 222, metionin được oxy hóa ở vị trí 254, metionin được oxy hóa ở vị trí 360, và gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430; và b) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nhẹ kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 2 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 và xystein được oxy hóa ở vị trí 220.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa các kháng thể kháng IL-5 có a) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nặng kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc asparagin được khử amit ở vị trí 299, gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317 và gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386; và b) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nhẹ kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 2 chứa gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa các kháng thể kháng IL-5 có a) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nặng kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc tryptophan được oxy hóa ở vị trí 52, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85, xystein được oxy hóa ở vị trí 222, metionin được oxy hóa ở vị trí 254, metionin được

oxy hóa ở vị trí 360, và gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430; và b) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nhẹ kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 2 chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 và xystein được oxy hóa ở vị trí 220.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; và b) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 20% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; b) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 20% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm; và c) dạng axit của kháng thể chứa lên đến khoảng 80% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1. Điện di đồ của điện di mao quản hội tụ đẳng điện (capillary isoelectric focusing - cIEF) tiêu biểu của chế phẩm tiêu chuẩn tham chiếu (reference standard - RS) chứa mepolizumab.

Fig. 2. Điện di đồ cIEF tiêu biểu của chế phẩm tiêu chuẩn tham chiếu chứa mepolizumab (đối chứng) và các mẻ khác nhau của chế phẩm chứa mepolizumab được cho thoái biến cưỡng bức trong ba ngày ở pH 9,0.

Fig. 3. Sắc ký đồ của sắc ký loại trừ kích thước (size exclusion chromatography - SEC) loại toàn phần tiêu biểu của chế phẩm RS chứa mepolizumab.

Fig. 4. Sắc ký đồ SEC loại khuếch đại của chế phẩm RS chứa mepolizumab.

Fig. 5. Sắc ký đồ SEC-tán xạ ánh sáng đa góc (multi-angle light scattering - MALS) tiêu biểu của chế phẩm RS chứa mepolizumab.

Fig. 6. Sắc ký đồ SEC-MALS tiêu biểu của mẻ của chế phẩm chứa mepolizumab.

Fig. 7. Sắc ký đồ SEC tiêu biểu của chế phẩm RS chứa mepolizumab và đối với các mẻ khác nhau của chế phẩm cường bức pH 3,5 chứa mepolizumab ở ngày 7.

Mô tả chi tiết sáng chế

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

Thuật ngữ “hen suyễn” như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là bệnh viêm của đường thở đặc trưng bởi tắc nghẽn đường khí thở nghịch đảo và co thắt phế quản. Các triệu chứng thông dụng bao gồm sự thở khò khè, ho, co thắt lồng ngực, và khó thở.

Đối với phương pháp theo sáng chế, “hen suyễn” có thể là “hen suyễn tăng bạch cầu ái toan trầm trọng”. Đối tượng mắc hen suyễn tăng bạch cầu ái toan trầm trọng có thể có hen suyễn và bạch cầu ái toan trong máu nhiều hơn hoặc bằng 300 bạch cầu ái toan mỗi μL của máu trong 12 tháng trước. Đối tượng mắc hen suyễn tăng bạch cầu ái toan trầm trọng có thể có, một hoặc nhiều trong số, các chỉ tiêu được mô tả trong bảng 1.

Bảng 1

Đối tượng có hen suyễn tăng bạch cầu ái toan trầm trọng nếu đáp ứng các chỉ tiêu sau đây:
1) đối tượng có đặc trưng lâm sàng của hen suyễn đề kháng trầm trọng tương tự với người bệnh được mô tả trong the American Thoracic Society Workshop on Refractory Asthma (162 <u>Am. J. Respir. Crit. Care Med.</u> 2341 (2000) trong ≥ 12 tháng.
2) đối tượng cần được theo dõi cẩn thận bằng tư liệu đối với việc điều trị thường xuyên bằng liều cao corticosteroid dạng hít (inhaled corticosteroids - ICS) (cụ thể là, $\geq 880 \mu\text{g/ngày}$ fluticasone propionate hoặc tương đương hàng ngày), với việc duy trì hoặc không cần duy trì corticosteroid dùng qua đường miệng (oral corticosteroids - OCS), trong 12 tháng trước.

3) đối tượng cần được theo dõi cẩn thận bằng tư liệu đối với thuốc ngăn ngừa, ví dụ, chất chủ vận beta-2 tác dụng kéo dài, chất đối kháng thụ thể leukotrien hoặc theophyllin trong 12 tháng trước.

4) đối tượng liên tục bị tắc nghẽn đường thở như được xác định bởi FEV₁ trước thử nghiệm giãn phế quản <80% được ghi nhận hoặc sự biến thiên hàng ngày theo dòng đỉnh là >20% trong 3 hoặc nhiều ngày.

5) đối tượng có sự viêm đường thở mà có thể là do bạch cầu ái toan trong nature như được xác định bởi một trong số các đặc trưng sau đây ở thời điểm hiện thời hoặc được theo dõi bằng tư liệu trong 12 tháng trước:

- Mức bạch cầu ái toan trong máu ngoại vi tăng $\geq 300/\mu\text{L}$ mà liên quan đến hen suyễn hoặc
- Bạch cầu ái toan trong đờm $\geq 3\%$ hoặc
- Nồng độ NO trong khí thở ≥ 50 ppb hoặc
- Đẩy mạnh việc làm giảm việc kiểm soát hen suyễn (trên cơ sở bản ghi quá trình lâm sàng hoặc thông số đo mục tiêu) tiếp theo $\leq 25\%$ mức giảm về liều duy trì thường xuyên của liều corticosteroid dạng hít hoặc dùng qua đường miệng trong 12 tháng trước.

8) đối tượng có bản ghi nhận trước đó về hai hoặc nhiều lần bệnh hen suyễn trở lên trầm trọng cần điều trị với corticosteroid dùng theo đường miệng hoặc toàn thân trong trước 12 tháng trước, không kể việc sử dụng ICS liều cao và thuốc ngăn ngừa khác. Đối với đối tượng nhận OCS duy trì với ICS liều cao cùng với thuốc ngăn ngừa, việc điều trị OCS đối với việc bệnh trở lên trầm trọng cần đến hai lần hoặc mức tăng nhiều hơn về liều của OCS.

9) đối tượng có hen suyễn như được theo dõi bằng tư liệu theo một trong số:

- Mức thuận nghịch đường thở (FEV₁ $\geq 12\%$ và 200 mL) ở thời điểm hiện thời hoặc được theo dõi bằng tư liệu trong 12 tháng trước hoặc
- Tăng đáp ứng đường thở (nồng độ kích thích do giảm 20% về FEV₁ của methacholin <8 mg/mL hoặc liều kích thích do giảm 20% về FEV₁ của histamin <7,8 μmol) được theo dõi bằng tư liệu trong trước 12 tháng hoặc

- Mức biến thiên đường thở về FEV₁ lâm sàng $\geq 20\%$ giữa hai lần kiểm tra được theo dõi bằng tư liệu trong trước 12 tháng (FEV₁ được ghi nhận trong việc bệnh trở lên trầm trọng là không có cơ sở) hoặc
- Mức biến thiên đường thở như được xác định bởi $>20\%$ mức biến thiên hàng ngày trong dòng đỉnh được quan sát trong 3 hoặc nhiều ngày.

Quan trọng hơn là, đối tượng mắc hen suyễn tăng bạch cầu ái toan trầm trọng theo các chỉ tiêu này có thể có nhỏ hơn 150 bạch cầu ái toan mỗi μL của máu ở thời điểm bắt đầu của việc điều trị. Mepolizumab là kháng thể đơn dòng chứa trình tự axit amin chuỗi nặng được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ được thể hiện trong SEQ ID NO: 2. Mepolizumab, và protein gắn kết kháng nguyên, cụ thể là phân tử kháng thể, chứa CDR chuỗi nặng và CDR chuỗi nhẹ của mepolizumab, có thể được sử dụng để điều trị hen suyễn tăng bạch cầu ái toan trầm trọng theo phương pháp theo sáng chế. Ví dụ, mepolizumab, hoặc protein gắn kết kháng nguyên liên quan, có thể được chỉ định đối với việc điều trị duy trì bổ sung đối với hen suyễn tăng bạch cầu ái toan trầm trọng, như được xác định bởi mức bạch cầu ái toan trong máu nhiều hơn hoặc bằng 300 tế bào/ μL trong 12 tháng trước và/hoặc mức bạch cầu ái toan trong máu nhiều hơn hoặc bằng 150 tế bào/ μL ở thời điểm bắt đầu của việc điều trị và/hoặc mức bạch cầu ái toan trong máu nhỏ hơn 150 tế bào/ μL ở thời điểm bắt đầu của việc điều trị, trong người bệnh. Theo một phương án khác, mepolizumab, hoặc protein gắn kết kháng nguyên liên quan, có thể được chỉ định đối với việc điều trị duy trì bổ sung đối với hen suyễn tăng bạch cầu ái toan trầm trọng, như được xác định bởi bạch cầu ái toan trong máu nhiều hơn hoặc bằng 300 tế bào/ μL trong 12 tháng trước và/hoặc bạch cầu ái toan trong máu nhiều hơn hoặc bằng 150 tế bào/ μL ở thời điểm bắt đầu của việc điều trị, trong người bệnh. Mepolizumab, hoặc protein gắn kết kháng nguyên liên quan, có thể được chỉ định đối với việc điều trị duy trì bổ sung đối với hen suyễn tăng bạch cầu ái toan trầm trọng, như được xác định bởi bạch cầu ái toan trong máu nhiều hơn hoặc bằng 300 tế bào/ μL trong 12 tháng trước và/hoặc bạch cầu ái toan trong máu nhỏ hơn 150 tế bào/ μL ở thời điểm bắt đầu của việc điều trị, trong người bệnh. Người bệnh này có thể ở độ tuổi 12 tuổi hoặc già hơn. Việc điều trị với mepolizumab có thể làm giảm việc bệnh hen suyễn trở lên trầm trọng trong người bệnh (ví dụ, người bệnh có tiền sử về việc bệnh trở lên trầm trọng).

Phương pháp theo sáng chế có thể được sử dụng khi việc điều trị với mepolizumab được chỉ định (cụ thể là, việc điều trị với mepolizumab này có thể được kết hợp với phương pháp theo sáng chế). Việc điều trị với mepolizumab có thể:

a) Tạo ra mức giảm về tần suất việc bệnh trở lên trầm trọng. So với giả dược, việc điều trị với mepolizumab, như 100 mg mỗi đối tượng được sử dụng dưới da hoặc 75 mg mỗi đối tượng được sử dụng trong tĩnh mạch, có thể làm giảm tỷ lệ của 1) việc bệnh trở lên trầm trọng đáng kể về mặt lâm sàng, 2) việc bệnh trở lên trầm trọng cần phải nhập viện hoặc số lần phải nhập khoa cấp cứu, và 3) việc bệnh trở lên trầm trọng cần phải nhập viện. Lợi ích này có thể làm giảm hiệu quả về sự hoành hành của bệnh tật và biến cố gây tử vong do hen suyễn;

b) Tạo ra mức giảm về liều OCS hàng ngày: Việc điều trị với mepolizumab, như 100 mg mỗi đối tượng được sử dụng dưới da hoặc 75 mg mỗi đối tượng được sử dụng trong tĩnh mạch, có thể cho phép đối tượng làm giảm liều hàng ngày của họ đối với corticosteroid dùng kết hợp mà không gặp phải sự mất kiểm soát hen suyễn. Đối tượng được điều trị với mepolizumab có thể tạo ra % mức giảm trung bình là 50% từ đường cơ sở về liều corticosteroid dùng hàng ngày theo đường miệng (OCS) so với 0% đối với đối tượng được điều trị với giả dược. Ngoài ra, 54% đối tượng được điều trị với mepolizumab có thể tạo ra mức giảm của liều OCS đến 5,0 mg so với 32% đối tượng được điều trị với giả dược ($p=0,025$);

c) Tạo ra sự cải thiện trong chức năng phổi: Sự thay đổi có liên quan về mặt lâm sàng trong trước và sau khi dùng chất giãn phế quản FEV_1 có thể được chứng minh với việc điều trị với mepolizumab, như 100 mg mỗi đối tượng được sử dụng dưới da hoặc 75 mg mỗi đối tượng được sử dụng trong tĩnh mạch, so với giả dược. Sự cải thiện bất kỳ về chức năng phổi có tầm quan trọng lâm sàng đặc biệt trong các đối tượng này như trong hầu hết trị liệu hen suyễn tốt nhất bao gồm ICS liều cao (corticosteroid dạng hít) và/hoặc OCS cùng với thuốc ngăn ngừa;

d) Tạo ra sự cải thiện trong kiểm soát hen suyễn: Sự cải thiện có ý nghĩa về mặt thống kê và có liên quan về mặt lâm sàng có thể được quan sát trong ACQ-5 với mepolizumab, như 100 mg mỗi đối tượng được sử dụng dưới da hoặc 75 mg mỗi đối tượng được sử dụng trong tĩnh mạch, so với giả dược, điều này cho thấy rằng đối

tượng có thể tạo ra kiểm soát hen suyễn với việc bổ sung mepolizumab vào quá trình điều trị hen suyễn hiện thời của họ;

e) Tạo ra sự cải thiện về chất lượng cuộc sống: sự thay đổi có ý nghĩa về mặt thống kê và có liên quan về mặt lâm sàng về điểm SGRQ có thể được chứng minh với mepolizumab, như 100 mg mỗi đối tượng được sử dụng dưới da hoặc 75 mg mỗi đối tượng được sử dụng trong tĩnh mạch, so với giả dược. Đối tượng có thể có sự cải thiện rõ ràng về triệu chứng hen suyễn và khả năng thực hiện hoạt động hàng ngày;

f) Tạo ra sự ổn định về hiệu quả điều trị và được lực học: Trong khoảng thời gian điều trị 32 và/hoặc 52 tuần, kéo dài sự giảm về số lần bệnh hen suyễn trở lên trầm trọng và bạch cầu ái toan trong máu, và cải thiện chức năng phổi, kiểm soát hen suyễn, và cải thiện chất lượng cuộc sống mà không có sự tăng kháng thuốc có thể quan sát được; và

g) Tạo ra mức giảm về bạch cầu ái toan trong máu. Việc điều trị với chế phẩm chứa mepolizumab, như 100 mg của mepolizumab mỗi đối tượng được sử dụng dưới da hoặc 75 mg mỗi đối tượng được sử dụng trong tĩnh mạch, có thể tạo ra mức giảm nhanh của bạch cầu ái toan trong máu (khoảng 80% ở lần đánh giá đầu tiên ở tuần 4 sau việc điều trị đầu tiên; ví dụ, từ 250-290 tế bào/ μ L đến 40-60 tế bào/ μ L v.v.).

Đối với phương pháp theo sáng chế, “hen suyễn” có thể là “hen suyễn nặng”. Đối tượng mắc hen suyễn nặng thỏa mãn định nghĩa về bệnh hen suyễn nặng được mô tả trong Hướng dẫn của Hiệp hội Hô hấp Châu Âu (European Respiratory Society - ERS)/Hiệp hội Lồng ngực Hoa Kỳ (American Thoracic Society - ATS) đối với bệnh hen suyễn nặng. Do đó, hen suyễn nặng là hen suyễn mà cần việc điều trị với thuốc như được đề xuất trong hướng dẫn của Tổ chức phòng chống hen toàn cầu (Global Initiative for Asthma - GINA) các bước 4-5 (corticosteroid dạng hít [ICS] liều cao cùng với chất chủ vận beta2 tác dụng dài [LABA] hoặc thuốc ức chế leukotrien/theophyllin) trong năm trước đó, hoặc corticosteroid toàn thân (CS) đối với $\geq 50\%$ của năm trước đó để duy trì kiểm soát bệnh hen suyễn ở đối tượng. Việc điều trị với chế phẩm chứa mepolizumab có thể được sử dụng để điều trị hen suyễn nặng theo phương pháp theo sáng chế.

Đối với phương pháp theo sáng chế, “hen suyễn” có thể là “hen suyễn tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát”. Đối tượng mắc hen suyễn tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát thỏa mãn các chỉ tiêu được mô tả trong bảng 2.

Bảng 2

Đối tượng có hen suyễn tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát nếu đáp ứng các chỉ tiêu sau đây:
1) đối tượng có tiền sử được chuẩn đoán mắc hen suyễn trong ít nhất trước 12 tháng. 2) đối tượng được kê đơn sử dụng hàng ngày ICS liều bình thường hoặc liều cao (corticosteroid dạng hít) cùng với LABA (chất chủ vận beta tác dụng dài) trong ít nhất trước 12 tháng. 3) liều của thuốc ngăn ngừa hen suyễn khác của đối tượng phải ổn định trong ít nhất trước 30 ngày. 4) đối tượng có ít nhất 2 lần bệnh hen suyễn trở lên trầm trọng được theo dõi bằng tư liệu trong trước 12 tháng mà cần sử dụng corticosteroid toàn thân tác dụng nhanh.

Việc điều trị với chế phẩm chứa mepolizumab có thể được sử dụng để điều trị hen suyễn tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát theo phương pháp theo sáng chế.

Đối với phương pháp theo sáng chế, “hen suyễn” có thể là “hen suyễn tăng bạch cầu ái toan”. Đối tượng mắc hen suyễn tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát thỏa mãn các chỉ tiêu được mô tả trong bảng 3.

Bảng 3

Đối tượng có hen suyễn tăng bạch cầu ái toan nếu đáp ứng các chỉ tiêu sau đây:
1) người bệnh đã được chuẩn đoán mắc hen suyễn. 2) người bệnh có ít nhất 1 lần bệnh hen suyễn trở lên trầm trọng cần phải sử dụng corticosteroid theo đường miệng, trong cơ (im), hoặc trong tĩnh mạch (iv) trong ít nhất 3 ngày trong trước 12 tháng.

- 3) người bệnh có mức bạch cầu ái toan hiện hành trong máu ít nhất là 400/ μ l.
- 4) người bệnh có mức thuận nghịch đường thở ít nhất là 12% đối với việc sử dụng chất chủ vận beta.
- 5) người bệnh có điểm ACQ ít nhất là 1,5.
- 6) người bệnh dùng fluticason dạng hít ở liều ít nhất là 440 μ g, hoặc tương đương, hàng ngày. Cũng có thể sử dụng corticosteroid dùng theo đường miệng mạn tính (không nhiều hơn 10 mg/ngày prednison hoặc tương đương). Chế độ trị liệu hen suyễn đường cơ sở của người bệnh (bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, corticosteroid dạng hít, corticosteroid dùng theo đường miệng lên đến liều tối đa là 10 mg prednison hàng ngày hoặc tương đương, chất đối kháng leukotrien, chất ức chế 5-lipoxygenaza, hoặc cromolyn) phải ổn định trong trước 30 ngày.

Đối với phương pháp theo sáng chế, “hen suyễn” có thể là “hen suyễn tăng bạch cầu ái toan ở mức nhỏ”. Đối tượng mắc hen suyễn tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát thỏa mãn các chỉ tiêu được mô tả trong bảng 4.

Bảng 4

Đối tượng có hen suyễn tăng bạch cầu ái toan ở mức nhỏ nếu đáp ứng các chỉ tiêu sau đây:

- 1) người bệnh đã được chuẩn đoán mắc hen suyễn.
- 2) người bệnh có ít nhất 1 lần bệnh hen suyễn trở lên trầm trọng cần phải sử dụng corticosteroid theo đường miệng, trong cơ (im), hoặc trong tĩnh mạch (iv) trong ít nhất 3 ngày trong trước 12 tháng.
- 3) người bệnh có mức bạch cầu ái toan hiện hành trong máu là nhỏ hơn 400/ μ l.
- 4) người bệnh có mức thuận nghịch đường thở ít nhất là 12% đối với việc sử dụng chất chủ vận beta.
- 5) người bệnh có điểm ACQ ít nhất là 1,5.
- 6) người bệnh dùng fluticason dạng hít ở liều ít nhất là 440 μ g, hoặc tương đương, hàng ngày. Có thể sử dụng corticosteroid dùng theo đường miệng mạn

tính (không nhiều hơn 10 mg/ngày prednison hoặc tương đương). Chế độ trị liệu hen suyễn đường cơ sở của người bệnh (bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, corticosteroid dạng hít, corticosteroid dùng theo đường miệng lên đến liều tối đa là 10 mg prednison hàng ngày hoặc tương đương, chất đối kháng leukotrien, chất ức chế 5-lipoxygenaza, hoặc cromolyn) phải ổn định trong trước 30 ngày.

Việc điều trị với chế phẩm chứa mepolizumab có thể được sử dụng để điều trị hen suyễn tăng bạch cầu ái toan ở mức nhỏ và cũng có thể được sử dụng để điều trị hen suyễn tăng bạch cầu ái toan ở mức nhỏ theo phương pháp theo sáng chế.

Thuật ngữ “bệnh pemphigoid bong nước” (bullous pemphigoid - BP) như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là bệnh tự miễn ở da cấp tính hoặc mạn tính, bao gồm sự tạo ra các chỗ phòng ở da, còn được gọi là bong nước, ở khoảng trống giữa các lớp da biểu bì và hạ bì. BP là bệnh phòng da tự miễn thông dụng nhất. Bệnh này ảnh hưởng đến người già (>70 tuổi) với tỷ lệ mắc bệnh hàng năm là 5 đến 35 trên mỗi triệu người. Tỷ lệ mắc BP tăng rất nhanh với trung bình là 17% mỗi năm. BP thường bắt đầu với các tổn thương ở da rất ngứa tương tự như chàm bội nhiễm hoặc chứng mày đay trước khi bong nước và các chỗ phòng ở da phát triển. Trong 10-30% người bệnh, BP còn bao gồm niêm mạc miệng. Mức độ nghiêm trọng của bệnh có thể được xác định bằng có nghĩa là của điểm số cường độ rối loạn da có bong nước tự miễn (autoimmune bullous skin disorder intensity score - ABSIS) mà đánh giá vùng liên quan cũng như hoạt tính bệnh. Bệnh do đáp ứng tự miễn đối với thành phần cấu trúc của phức hợp kết dính khớp làm tổn hại đến lớp chuyển tiếp da-biểu bì với sự tạo thành chỗ phòng rộp dưới biểu bì. Cụ thể hơn, đáp ứng của tế bào B và T tự phản ứng được xác định là chống lại kháng nguyên thể bán liên kết BP180 và BP230. Mức huyết thanh của tự kháng thể đối với BP180 phản ánh mức độ nghiêm trọng và hoạt tính của bệnh. Tế bào T là tế bào CD4+ nhớ tạo ra cả xytokin Th1 và Th2, chủ yếu là IL-4, IL-5 và IL-13. IL-5 cũng như eotaxin chủ yếu được tìm thấy trong dịch lỏng chỗ phòng. Trên thực tế, việc sản xuất IL-5 là có liên quan đến bạch cầu ái toan trong máu và sự thâm nhiễm bạch cầu ái toan đáng kể trong da của người bệnh BP. Bạch cầu ái toan được cho là tham gia đáng kể vào sự tạo thành chỗ phòng rộp bằng cách giải phóng protein dạng hạt có độc tính (ESP, MBP) và enzym phân giải protein.

Thuật ngữ “bệnh viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan” (eosinophilic esophagitis - EoE) như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là tình trạng bệnh lý viêm dị ứng của thực quản mà bao gồm bạch cầu ái toan. Triệu chứng bao gồm khó nuốt, sự tác động của thực phẩm, và chứng ợ nóng. EoE đặc trưng bởi sự thâm nhiễm nặng với tế bào máu trắng của loại bạch cầu ái toan vào trong niêm mạc biểu mô của thực quản. EoE được cho là phản ứng dị ứng chống lại thực phẩm được tiêu hóa, trên cơ sở tầm quan trọng của bạch cầu ái toan đóng vai trò quan trọng trong phản ứng dị ứng. Panel chuẩn đoán EoE có thể được sử dụng để chuẩn đoán EoE. EoE cũng có thể được chuẩn đoán nếu trào ngược dạ dày thực quản không đáp ứng với thử nghiệm 6 tuần của chất ức chế bơm proton liều cao hai lần một ngày (proton pump inhibitor - PPI) hoặc nếu nghiên cứu độ pH liên tục âm tính loại trừ trào ngược dạ dày thực quản bệnh (gastroesophageal reflux disease - GERD). Bằng kỹ thuật nội soi, đỉnh, rãnh, hoặc vòng tròn có thể quan sát thấy trong thành thực quản. Đôi khi, các vòng tròn có thể có trong thực quản, do đó tạo ra thuật ngữ “thực quản có nếp nhăn” hoặc “thực quản như mèo” do đặc tính tương tự của vòng tròn so với thực quản mèo. Sự xuất hiện của dịch tiết màu trắng trong thực quản cũng là một gợi ý cho việc chuẩn đoán. Nhờ việc sinh thiết được thực hiện ở thời điểm của kỹ thuật nội soi, các bạch cầu ái toan thường có thể quan sát thấy trong bề mặt biểu mô. Ít nhất 15 bạch cầu ái toan mỗi trường nhìn khách đại lớn cần để thực hiện việc chuẩn đoán. Sự viêm bạch cầu ái toan không chỉ giới hạn ở thực quản, và kéo dài hết toàn bộ đường tiêu hóa. Bạch cầu ái toan được loại bỏ hạt đến mức tối đa cũng có thể có mặt, như có thể vi áp xe và việc kéo dài của lớp nền. Xét về khía cạnh tia X học, thuật ngữ “thực quản có vòng” được sử dụng đối với sự biểu hiện của bệnh viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan trên nghiên cứu nuốt bari trái với sự biểu hiện của nếp ngang tạm thời mà đôi khi được quan sát với trào ngược thực quản (còn gọi là “thực quản giống mèo”).

Việc điều trị với chế phẩm chứa mepolizumab có thể được sử dụng để điều trị COPD theo phương pháp theo sáng chế.

Đối tượng mắc “bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính” (COPD) có thể có một hoặc nhiều tiêu chí sau đây: a) chuẩn đoán đã mắc COPD trước đây: đối tượng với tiền sử lâm sàng của COPD được theo dõi bằng tư liệu trong ít nhất 1 năm theo định nghĩa bởi Hiệp hội Lồng ngực Hoa Kỳ/Hiệp hội Hô hấp Châu Âu; b) mức độ nghiêm trọng của COPD: Đối tượng có thể có tiêu chí sau: Tỷ lệ được xác định của thể tích khí thở ra

gắng sức trong 1 giây đầu tiên/thể tích khí toàn bộ được thở ra gắng sức trong một lần thở (FEV_1/FVC) trước và sau dùng salbutamol là $<0,70$ để xác nhận việc chuẩn đoán của COPD; FEV_1 sau khi dùng salbutamol được xác định >20 phần trăm và ≤ 80 phần trăm của giá trị bình thường dự đoán được tính bằng cách sử dụng phương trình tham chiếu trong Điều tra khảo sát về Dinh dưỡng và Sức khỏe Hoa Kỳ lần thứ III (National Health and Nutrition Examination Survey - NHANES); c) tiền sử của việc bệnh trở lên trầm trọng: tiền sử được theo dõi bằng tư liệu (như bản ghi nhận sức khỏe) trong 12 tháng của: ít nhất hai lần việc bệnh COPD bình thường trở lên trầm trọng. Bình thường được xác định là việc sử dụng corticosteroid toàn thân (IM, trong tĩnh mạch, hoặc theo đường miệng) và/hoặc việc điều trị với chất kháng sinh, hoặc ít nhất một lần việc bệnh COPD nghiêm trọng trở lên trầm trọng. Nghiêm trọng được xác định là phải nhập viện. Cần lưu ý rằng: Ít nhất một lần việc bệnh trở lên trầm trọng phải xảy ra trong khi đối tượng dùng corticosteroid dạng hít (ICS) cùng với chất chủ vận beta2 tác dụng dài (LABA) cùng với chất đối kháng muscarin tác dụng dài (LAMA). Cần lưu ý là: Việc sử dụng trước chỉ chất kháng sinh không tốt vì việc bệnh bình thường trở lên trầm trọng trừ khi việc sử dụng là cụ thể đối với việc điều trị làm trầm trọng triệu chứng của COPD; và d) liệu pháp COPD đồng thời: cần được theo dõi bằng tư liệu đối với liệu pháp cơ bản về tiêu chuẩn chăm sóc tối ưu (SoC) mà bao gồm ICS cùng với 2 thuốc COPD bổ sung (cụ thể là, liệu pháp điều trị bộ 3) đối với 12 tháng trước và thỏa mãn tiêu chí sau đây: Ngay trước khi đến nhà cung cấp dịch vụ chăm sóc sức khỏe để kiểm tra, ít nhất 3 tháng sử dụng corticosteroid dạng hít (ở liều ≥ 500 microgam (mcg)/ngày fluticasone propionate cùng với đương lượng liều); hoặc LABA và LAMA.

Việc điều trị với chế phẩm chứa mepolizumab có thể được sử dụng để điều trị COPD theo phương pháp theo sáng chế.

Thuật ngữ “viêm mạch và đa u hạt dị ứng” (EGPA) như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là tình trạng bệnh lý tự miễn mà gây ra sự viêm của mạch máu kích thước trung bình và nhỏ (viêm mạch) ở người với tiền sử của sự quá mẫn dị ứng đường thở (tạng dị ứng). EGPA cũng có thể còn được gọi là Hội chứng Churg-Strauss (Churg-Strauss Syndrome - CSS) hoặc bệnh u hạt dị ứng. EGPA thường biểu lộ trong ba giai đoạn. Giai đoạn sớm (tiền triệu chứng) được thể hiện rõ bởi sự viêm đường thở; hầu hết tất cả người bệnh mắc hen suyễn và/hoặc viêm mũi dị ứng. Giai đoạn hai đặc trưng bởi số lượng cao bất thường của bạch cầu ái toan (tăng bạch cầu ái toan), mà

gây ra sự tổn thương mô, hầu như chỉ ở phổi và đường tiêu hóa. Giai đoạn ba bao gồm viêm mạch, mà có thể dẫn đến sự chế tể bào và có thể đe dọa đến mạng sống.

Đối tượng mắc EGPA có thể có một hoặc nhiều tiêu chí sau đây: a) hen suyễn; b) mức bạch cầu ái toan trong máu nhiều hơn 10% lượng tế bào máu trắng biệt hóa; c) sự xuất hiện của bệnh một dây thần kinh hoặc bệnh đa dây thần kinh; d) thâm nhiễm phổi không cố định; e) sự xuất hiện của xoang cạnh mũi bất thường; và e) cơ sở mô học chứng minh bạch cầu ái toan ngoại mạch. Đối với việc phân loại, người bệnh sẽ được cho là mắc EGPA nếu có ít nhất bốn trong số sáu tiêu chí trên đây.

Việc điều trị với chế phẩm chứa mepolizumab có thể được sử dụng để điều trị EGPA theo phương pháp theo sáng chế. Chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng cho người bệnh EGPA với lượng là 300 mg một lần mỗi 4 tuần.

Thuật ngữ “hội chứng tăng bạch cầu ái toan” (HES) như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là bệnh đặc trưng bởi lượng bạch cầu ái toan liên tục tăng (≥ 1500 bạch cầu ái toan/mm³) trong máu trong ít nhất sáu tháng mà không có bất kỳ nguyên nhân nào, bao gồm tim, hệ thần kinh, hoặc tủy xương.

Đối tượng mắc hội chứng tăng bạch cầu ái toan có thể có một hoặc nhiều tiêu chí sau đây: a) tiền sử được theo dõi bằng tư liệu của hội chứng tăng bạch cầu ái toan; b) lượng bạch cầu ái toan trong máu nhiều hơn 1500 tế bào trong 6 tháng; c) dấu hiệu và triệu chứng liên quan đến hệ các cơ quan; và d) không có ký sinh trùng, dị ứng hoặc nguyên nhân khác làm tăng bạch cầu ái toan sau khi được đánh giá toàn diện.

Việc điều trị với chế phẩm chứa mepolizumab có thể được sử dụng để điều trị hội chứng tăng bạch cầu ái toan theo phương pháp theo sáng chế. Chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng cho người bệnh mắc hội chứng tăng bạch cầu ái toan với lượng là 300 mg một lần mỗi 4 tuần.

Thuật ngữ “polyp mũi xoang” như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là bệnh đặc trưng bởi sự xuất hiện của polyp hốc mũi. Các polyp này có thể là trong hốc mũi trên và/hoặc có thể có nguồn gốc từ trong phức hợp lỗ - nhánh.

Đối tượng mắc polyp mũi xoang có thể có một hoặc nhiều tiêu chí sau đây: a) tiền sử được theo dõi bằng tư liệu của polyp mũi xoang; hoặc b) polyp mũi rõ ràng trong quá trình kiểm tra (ví dụ, quá trình kiểm tra bằng kỹ thuật nội soi).

Việc điều trị với chế phẩm chứa mepolizumab có thể được sử dụng để điều trị polyp mũi xoang theo phương pháp theo sáng chế. Chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng cho người bệnh mắc polyp mũi xoang với lượng là 750 mg một lần mỗi 4 tuần.

Thuật ngữ “kháng thể” như được sử dụng trong bản mô tả này đề cập đến phân tử với vùng tương tự như immunoglobulin (ví dụ, IgG, IgM, IgA, IgD hoặc IgE) và bao gồm kháng thể đơn dòng, tái tổ hợp, đa dòng, đơn dòng, tái tổ hợp, đa dòng, thể khảm, ở người, và phân tử được nhân hóa của dạng này. Kháng thể đơn dòng có thể được tạo ra từ dòng tế bào có nhân vô tính biểu hiện kháng thể. Kháng thể đơn dòng cũng có thể được tạo ra từ dòng tế bào có nhân mà có thể tái tổ hợp biểu hiện chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể nhờ có trình tự axit nucleic mã hóa chúng được bổ sung vào trong tế bào. Phương pháp để tạo ra kháng thể từ các dòng tế bào có nhân khác nhau như tế bào buồng trứng chuột Hamster Trung Quốc, tế bào lai hoặc tế bào kháng thể được làm 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, khỉ cynomolgus, khỉ mũi dài hoặc khỉ đột khổng lồ), người hoặc các nguồn khác như axit nucleic được tạo ra bằng cách sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử mà mã hóa phân tử kháng thể.

Kháng thể có thể chứa vùng hằng định, mà có thể có isotyp (kiểu tương đương) hoặc tiểu nhóm bất kỳ. Vùng hằng định có thể có isotyp IgG, ví dụ, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄ hoặc biến thể của chúng. Vùng hằng định của protein gắn kết kháng nguyên có thể là IgG₁.

Protein gắn kết kháng nguyên có thể chứa một hoặc nhiều biến đổi được chọn từ miền hằng định được đột biến sao cho kháng thể có vai trò đáp ứng lại kích thích/ADCC được nâng cao và/hoặc hoạt tính bổ thể.

Kháng thể có thể có khả năng gắn kết với kháng nguyên đích. Ví dụ về kháng nguyên đích này bao gồm IL-5 ở người chứa trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 11.

Mepolizumab chứa trình tự axit amin chuỗi nặng được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ được thể hiện trong SEQ ID NO: 2 là ví dụ về kháng thể. Mepolizumab gắn kết với IL-5 ở người và đối kháng hoạt tính của nó.

Mepolizumab là kháng thể đơn dòng được nhân hóa tái tổ hợp (IgG₁, Kappa) Mepolizumab có hai chuỗi nặng và hai chuỗi nhẹ.

Chuỗi nặng của Mepolizumab được mã hóa bằng trình tự axit nucleic được thể hiện trong SEQ ID NO: 13. Chuỗi nặng của Mepolizumab chứa 449 axit amin với khối lượng phân tử ước tính là khoảng 49 kDa. Trình tự axit amin chuỗi nặng trưởng thành dự kiến đối với mepolizumab là:

QVTLRESGPALVKPTQTLTLCTVSGFSLTSYSVHWVRQPPGKGLEWLGVIV
ASGGTDYNSALMSRLSISKDTSRNQVVL TMTNMDPVDTATYYCARDPPSSLL
RLDYWGRGTPVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN
TKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN*STYRVVSVLTVLHQD
WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 1)

Trong trình tự axit amin chuỗi nặng trên đây, bộ khung chuỗi nặng và CDR theo định nghĩa của Kabat được xác định như bộ khung được thể hiện bằng gạch dưới hình díc dắc1, CDR1 được thể hiện bằng đường gạch dưới đậm, bộ khung được thể hiện bằng gạch dưới hình díc dắc2, CDR2 được thể hiện bằng đường gạch dưới đậm, bộ khung được thể hiện bằng gạch dưới hình díc dắc3, CDR3 được thể hiện bằng đường gạch dưới đậm và zbộ khung hình díc dắc4 theo thứ tự từ phần đầu gần amino đến phần đầu cuối carboxy của trình tự được thể hiện. Trong trình tự axit amin chuỗi nặng trên đây, dấu hoa thị bên phải của ký tự đối với mã của axit amin ký tự đơn thể hiện gốc axit amin đến bên trái có thể là vị trí N-glycosylat hóa.

Chuỗi nhẹ của Mepolizumab được mã hóa bằng trình tự axit nucleic được thể hiện trong SEQ ID NO: 14. Chuỗi nhẹ của Mepolizumab chứa 220 axit amin gốc với khối lượng phân tử ước tính là khoảng 24 kDa. Trình tự axit amin chuỗi nhẹ trưởng thành là:

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLL
IYGASTRESGVPPDRFSGSGSGTDFTLTITSSSLQAEDVAVYYCQNVHSFPFTFGGG
TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL

QSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK
SFNRGEC (SEQ ID NO: 2)

Trong trình tự axit amin chuỗi nhẹ trên đây, bộ khung chuỗi nhẹ và CDR theo định nghĩa của Kabat được xác định như bộ khung được thể hiện bằng gạch dưới hình dĩa dắc1, CDR1 được thể hiện bằng đường gạch dưới đậm, bộ khung được thể hiện bằng gạch dưới hình dĩa dắc2, CDR2 được thể hiện bằng đường gạch dưới đậm, bộ khung được thể hiện bằng gạch dưới hình dĩa dắc3, CDR3 được thể hiện bằng đường gạch dưới đậm và bộ khung hình dĩa dắc4 theo thứ tự từ phần đầu gần amino đến phần đầu cuối carboxy của trình tự được thể hiện.

Chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của Mepolizumab được liên kết cộng hóa trị bằng liên kết disulfua duy nhất và chuỗi nặng được liên kết với nhau bằng hai liên kết disulfua tạo ra phân tử IgG tiêu biểu. Cả chuỗi nặng có thể được glycosylat hóa ở asparagin 299 với oligosacarit anten phức hợp. Khối lượng phân tử polypeptit dự đoán khoảng 146 kDa và khối lượng phân tử hydrat cacbon dự đoán khoảng 3 kDa cho tổng khối lượng phân tử ước tính là 149,2 kD đối với mepolizumab. Mepolizumab như được mã hóa có 1338 gốc axit amin (220 gốc axit amin mỗi chuỗi nhẹ, 449 gốc axit amin mỗi chuỗi nặng). PI chính của mepolizumab khoảng 8,7 – 9,1, hằng số phân ly cân bằng (K_D) đối với sự tương tác phân tử của mepolizumab và IL-5 ở người như được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm cộng hưởng bề mặt plasmon tiêu chuẩn là nhỏ hơn $2,29 \times 10^{-11}$ M.

Mepolizumab có thể được tạo ra dưới dạng bột được làm khô lạnh chứa kháng thể và tá dược mà có thể được hoàn nguyên với chất mang dược dụng (ví dụ, nước vô trùng). Dược phẩm được hoàn nguyên này sau đó có thể được sử dụng dưới da hoặc trong tĩnh mạch (ví dụ, với việc được pha loãng hơn nữa). Mepolizumab cũng có thể được tạo ra dưới dạng dược phẩm lỏng chứa kháng thể, tá dược và chất mang dược dụng. Dược phẩm lỏng này có thể sau đó được sử dụng dưới da hoặc trong tĩnh mạch (ví dụ, với việc được pha loãng hơn nữa).

Thuật ngữ “biến thể kháng thể” như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là kháng thể mà khác với kháng thể gốc do ít nhất một sự biến đổi axit amin (ví dụ, bằng cách có mạch nhánh axit amin khác), biến đổi sau dịch mã hoặc các biến đổi khác trong ít nhất một chuỗi nặng, chuỗi nhẹ, hoặc dạng kết hợp của chúng mà làm

thay đổi cấu trúc (ví dụ, mạch nhánh axit amin khác, biến đổi sau dịch mã khác hoặc các biến đổi khác) liên quan đến kháng thể gốc. Mepolizumab là ví dụ về kháng thể gốc này. Sự thay đổi về cấu trúc có thể được xác định trực tiếp bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này như LC-MS, giải trình tự trực tiếp hoặc gián tiếp thông qua phương pháp như hội tụ tại điểm đẳng điện và phương pháp tương tự. Phương pháp này là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Thuật ngữ “IL-5” như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là IL-5 ở người chứa trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 11.

Thuật ngữ “gắn kết đặc hiệu với”, như được sử dụng trong bản mô tả này liên quan đến protein gắn kết kháng nguyên có nghĩa là protein gắn kết kháng nguyên gắn kết với kháng nguyên đích cũng như vùng rời rạc, hoặc trình tự axit amin rời rạc, bên trong kháng nguyên đích mà không có hoặc gắn kết không đáng kể với protein (ví dụ, không liên quan) khác. Tuy nhiên, thuật ngữ này không loại trừ thực tế là protein gắn kết kháng nguyên cũng có thể phản ứng chéo với phân tử có liên quan (ví dụ, phân tử với sự tương đồng về trình tự mức độ cao hoặc từ giống hoặc loài khác). Protein gắn kết kháng nguyên được mô tả trong bản mô tả này có thể gắn kết với IL-5 ở người hoặc thụ thể IL-5 ở người với ái lực cao hơn ít nhất 2, 5, 10, 50, 100, hoặc 1000 lần chúng gắn kết với phân tử có liên quan.

Ái lực gắn kết (K_D) của sự tương tác giữa protein gắn kết kháng nguyên-kháng nguyên đích có thể là 1 mM hoặc nhỏ hơn, 100 nM hoặc nhỏ hơn, 10 nM hoặc nhỏ hơn, 2 nM hoặc nhỏ hơn hoặc 1 nM hoặc nhỏ hơn. Theo một phương án khác, K_D có thể nằm trong khoảng 5 và 10 nM; hoặc trong khoảng 1 và 2 nM. K_D có thể nằm trong khoảng 1 pM và 500 pM; hoặc trong khoảng 500 pM và 1 nM. Ái lực gắn kết của protein gắn kết kháng nguyên được xác định bằng hằng số kết hợp (K_a) và hằng số phân ly (K_d) ($K_D = K_d/K_a$). Ái lực gắn kết có thể được xác định bằng BIACORE™, ví dụ, bằng cách bắt giữ kháng thể thử nghiệm trên bề mặt cảm biến được phủ bằng protein-A và tạo dòng kháng nguyên đích trên bề mặt này. Theo một phương án khác, ái lực gắn kết có thể được xác định bằng FORTEBIO, ví dụ, với thụ thể kháng thể thử nghiệm được bắt giữ trên kim được phủ bằng protein-A và tạo dòng kháng nguyên đích trên bề mặt này.

K_d có thể là $1 \times 10^{-3} \text{ Ms}^{-1}$ hoặc nhỏ hơn, $1 \times 10^{-4} \text{ Ms}^{-1}$ hoặc nhỏ hơn, hoặc $1 \times 10^{-5} \text{ Ms}^{-1}$ hoặc nhỏ hơn. 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 nhỏ có thể tạo ra sự phân ly chậm của phức hợp protein gắn kết kháng nguyên-kháng nguyên đích và nâng cao khả năng trung hòa của kháng nguyên đích.

Thuật ngữ “hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu” như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là hoạt tính gắn kết kháng nguyên như được xác định bằng cộng hưởng plasmon bề mặt (Surface Plasmon Resonance - SPR). Hoạt tính gắn kết đặc hiệu IL-5 có thể là được xác định bằng SPR bằng cách sử dụng thiết bị BIACORE™, ví dụ được thực hiện trong chế độ gắn kết. Nó là hoạt tính gắn kết chia cho tổng hàm lượng protein (ví dụ, mepolizumab) trong mẫu.

Thuật ngữ “hoạt tính gắn kết FcRn” như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là hoạt tính gắn kết thụ thể Fc mới sinh (FcRn) như được xác định bằng cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR). Việc gắn kết FcRn có thể được xác định bằng cách sử dụng thiết bị BIACORE™. Nó là hoạt tính gắn kết với thụ thể FcRn, chia cho tổng nồng độ protein của mẫu.

Phương pháp SPR đối với việc gắn kết kháng nguyên đặc hiệu và việc gắn kết FcRn sử dụng tiêu chuẩn tham chiếu của mepolizumab. Tiêu chuẩn tham chiếu của mepolizumab có thể được sử dụng trong thử nghiệm để tạo ra tính tương thích của hệ thống và dữ liệu so sánh mẫu, để đảm bảo phương pháp được thực hiện phù hợp. Tiêu chuẩn tham chiếu có thể cho phép thiết lập đường cong chuẩn và nồng độ của mẫu được nội suy từ đường cong.

Ví dụ, chế phẩm tiêu chuẩn tham chiếu chứa SEQ ID NO:1 và SEQ ID NO:2. Theo một phương án khác, chế phẩm tiêu chuẩn tham chiếu chứa SEQ ID NO:1 và SEQ ID NO:2, và 98% hoặc nhiều hơn là biến thể được loại bỏ lysin đầu cuối C HC, và 95% hoặc nhiều hơn là biến thể pyro-glutamat đầu cuối N HC. Theo một phương án khác nữa, chế phẩm tiêu chuẩn tham chiếu chứa SEQ ID NO:1 và SEQ ID NO:2, và 98% hoặc nhiều hơn là biến thể được loại bỏ lysin đầu cuối C HC, 95% hoặc nhiều hơn là biến thể pyro-glutamat đầu cuối N HC, và 6% hoặc ít hơn là biến thể được khử amit. Theo một phương án khác, chế phẩm tiêu chuẩn tham chiếu chứa SEQ ID NO:1 và SEQ ID NO:2, và 98% hoặc nhiều hơn là biến thể được loại bỏ lysin đầu cuối C

HC, 95% hoặc nhiều hơn là biến thể pyro-glutamat đầu cuối N HC, 6% hoặc ít hơn là biến thể được khử amit, 4% hoặc ít hơn là metionin hoặc biến thể được oxy hóa xystein, và 0,1% biến thể được oxy hóa tryptophan. Theo một phương án khác nữa, chế phẩm tiêu chuẩn tham chiếu chứa SEQ ID NO:1 và SEQ ID NO:2, và 98% hoặc nhiều hơn là biến thể được loại bỏ lysin đầu cuối C HC, 95% hoặc nhiều hơn là biến thể pyro-glutamat đầu cuối N HC, 6% hoặc ít hơn là biến thể được khử amit, 4% hoặc ít hơn là metionin hoặc biến thể được oxy hóa xystein, 0,1% hoặc ít hơn là biến thể được oxy hóa tryptophan, và 0,4% hoặc ít hơn là biến thể kết tụ. Theo một phương án khác, chế phẩm tiêu chuẩn tham chiếu chứa dạng tương tự (isoform) đặc trưng bởi đỉnh 65, đỉnh 78, đỉnh 88, đỉnh 92, đỉnh chính và đỉnh 112 được thể hiện trong Fig. 1. Theo một phương án khác, chế phẩm tiêu chuẩn tham chiếu chứa SEQ ID NO: 1 và SEQ ID NO:2, khoảng 62,9% đỉnh chính, khoảng 35,9% đỉnh axit, khoảng 1,2% đỉnh bazơ, khoảng 99,6% monome, khoảng 0,4% kết tụ, khoảng 0% mảnh, khoảng 0,8% chuỗi nặng được khử amit N317, khoảng 5,5% chuỗi nặng được khử amit N386, khoảng 5,2% chuỗi nặng được khử amit N31, khoảng 0,2% chuỗi nặng được khử amit N299, khoảng 0,9% chuỗi nặng được oxy hóa M64, khoảng 3,5% chuỗi nặng được oxy hóa M254, khoảng 0,5% chuỗi nặng được oxy hóa M360, khoảng 0,5% chuỗi nặng được oxy hóa M430, khoảng 0,3% chuỗi nặng được oxy hóa M82 và M85, khoảng 0,2% chuỗi nhẹ được oxy hóa M4, khoảng 0,0% chuỗi nhẹ được oxy hóa C220, khoảng 0,1% chuỗi nặng được oxy hóa W52, 98% hoặc nhiều hơn là biến thể được loại bỏ lysin đầu cuối C HC, và 95% hoặc nhiều hơn là biến thể pyro-glutamat đầu cuối N HC.

Theo một phương án, chế phẩm có hoạt tính gắn kết IL-5 đặc hiệu là $\geq 0,70$; và hoạt tính gắn kết FcRn là $\geq 70\%$. Ví dụ, việc gắn kết kháng nguyên đặc hiệu nằm trong khoảng từ 0,70 đến 1,30; và/hoặc việc gắn kết FcRn nằm trong khoảng từ 70% đến 130%, khi so với tiêu chuẩn tham chiếu mà được thiết lập làm hoạt tính gắn kết IL-5 đặc hiệu 1,0, và hoạt tính gắn kết FcRn 100%.

Tỷ lệ ED₅₀ trung hòa IL-5 là ED₅₀ của kháng thể chuẩn tham chiếu (ví dụ, kháng thể mepolizumab chuẩn chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1 và SEQ ID NO: 2) chia cho ED₅₀ của kháng thể mẫu (ví dụ, mẫu biến thể mepolizumab hoặc mẫu của mẹ được sản xuất của chế phẩm chứa kháng thể mepolizumab chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1 và SEQ ID NO: 2).

Thuật ngữ “được phân lập”, nghĩa là phân tử, như protein gắn kết kháng nguyên hoặc axit nucleic, được tách ra từ môi trường trong đó nó có thể được tìm thấy trong tự nhiên. Ví dụ, phân tử có thể được tinh chế từ các chất trong đó nó thường có mặt trong tự nhiên. Ví dụ, khối lượng của phân tử trong mẫu có thể là 95% tổng khối lượng.

Các thuật ngữ “V_H” và “V_L” được sử dụng trong bản mô tả này lần lượt đề cập đến vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ của protein gắn kết kháng nguyên.

“CDR” được xác định là trình tự axit amin vùng quyết định hỗ trợ của protein gắn kết kháng nguyên. Có nhiều vùng siêu biến của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của immunoglobulin. Có ba CDR chuỗi nặng và ba chuỗi nhẹ (hoặc vùng CDR) trong phần biến đổi của immunoglobulin. Do đó, “CDR” như được sử dụng trong bản mô tả này đề cập đến tất cả ba CDR chuỗi nặng, tất cả ba CDR chuỗi nhẹ, tất cả CDR chuỗi nhẹ và chuỗi nặng, hoặc ít nhất một CDR và trong đó ít nhất một CDR là CDRH3. Vùng bộ khung sau mỗi trong số các vùng CDR này. Các vùng bộ khung 1, bộ khung 2 và bộ khung 3 có thể chấp nhận của vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ dễ dàng được xác định bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Vùng hằng định chuỗi nặng (bao gồm vùng bản lề) và vùng hằng định chuỗi nhẹ có thể chấp nhận dễ dàng được xác định bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Tương tự, isotyp của kháng thể có thể chấp nhận dễ dàng được xác định bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

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

Rõ ràng là đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, có quy ước đánh số khác đối với gốc axit amin trong trình tự vùng biến đổi và trình tự kháng thể có chiều dài hoàn chỉnh. Cũng có quy ước đánh số khác đối với trình tự CDR, ví dụ, đánh số theo quy ước đánh số Chothia. Cấu trúc và đoạn gập protein của kháng thể có thể có nghĩa là các gốc khác được xem là một phần của trình tự CDR và sẽ được hiểu như bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Quy ước đánh số khác đối với trình tự CDR là sẵn có đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này bao gồm phương pháp “AbM” (University of Bath) và phương pháp “tiếp xúc” (University College London). Vùng trùng lặp tối thiểu bằng cách sử dụng ít nhất hai trong số các phương pháp Kabat, Chothia, AbM và phương pháp tiếp xúc có thể được xác định để tạo ra “đơn vị gắn kết tối thiểu”. Đơn vị gắn kết tối thiểu có thể là tiểu phần của CDR.

Bảng 5 sau đây thể hiện một định nghĩa bằng cách sử dụng mỗi quy ước đánh số đối với mỗi CDR hoặc đơn vị gắn kết. Phương pháp đánh số Kabat được sử dụng trong bảng 5 để đánh số trình tự vùng biến đổi axit amin. Cần lưu ý rằng một vài trong số các định nghĩa CDR có thể thay đổi phụ thuộc vào mỗi công bố được sử dụng.

Bảng 5

	CDR theo phương pháp Kabat	CDR theo phương pháp Chothia	CDR theo phương pháp AbM	CDR theo phương pháp tiếp xúc	Đơn vị gắn 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 đích là giá trị “tương đồng”, được thể hiện dưới dạng phần trăm, mà được tính bằng thuật toán BLASTN khi trình tự axit nucleic đích có 100% mức độ che phủ truy

vấn với trình tự axit nucleic truy vấn sau sự sắp thẳng hàng BLASTN bắt cặp được thực hiện. Sự sắp thẳng hàng BLASTN bắt cặp này giữa trình tự axit nucleic truy vấn và trình tự axit nucleic đích được thực hiện bằng cách sử dụng mô hình chuẩn của thuật toán BLASTN sẵn có trên trang web của “the National Center for Biotechnology Institute” với việc tắt bộ lọc đối với vùng phức hợp thấp. Quan trọng hơn là, trình tự truy vấn có thể được mô tả bằng trình tự axit nucleic được xác định trong một hoặc nhiều điểm yêu cầu bảo hộ trong bản mô tả này.

Trình tự axit nucleic mà có thể là hữu dụng, và bao gồm, trong chế phẩm và phương pháp liên quan theo sáng chế có thể có khoảng 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% tương đồng với trình tự axit nucleic được xác định trong bản mô tả này (ví dụ, axit nucleic mã hóa chuỗi nặng kháng thể hoặc chuỗi nhẹ kháng thể). Trong bản mô tả này, phần trăm tương đồng giữa trình tự axit nucleic được mô tả có thể bao gồm bất kỳ khoảng nhỏ rời rạc của phần trăm tương đồng được mô tả trên đây (ví dụ, bất kỳ khoảng của giá trị nguyên trong khoảng cụ thể hoặc giá trị nhỏ rời rạc trong khoảng cụ thể).

“Phần trăm tương đồng” giữa trình tự axit amin truy vấn và trình tự axit amin đích là giá trị “tương đồng”, được thể hiện dưới dạng phần trăm, mà được tính bằng thuật toán BLASTP khi trình tự axit amin đích có 100% mức độ che phủ truy vấn với trình tự axit amin truy vấn sau sự sắp thẳng hàng BLASTP bắt cặp được thực hiện. Sự sắp thẳng hàng BLASTP bắt cặp này giữa trình tự axit amin truy vấn và trình tự axit amin đích được thực hiện bằng cách sử dụng mô hình chuẩn của BLASTP thuật toán là sẵn có trên trang web của “the National Center for Biotechnology Institute” với việc tắt bộ lọc đối với vùng phức hợp thấp. Quan trọng hơn là, trình tự truy vấn có thể được mô tả bằng trình tự axit amin được xác định trong một hoặc nhiều điểm yêu cầu bảo hộ trong bản mô tả này.

Trình tự axit amin mà có thể là hữu dụng, và bao gồm, trong chế phẩm và phương pháp liên quan theo sáng chế có thể có khoảng 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% tương đồng với trình tự axit amin được xác định

trong bản mô tả này (ví dụ, đối với chuỗi nặng kháng thể hoặc chuỗi nhẹ kháng thể). Trong bản mô tả này, phần trăm tương đồng giữa trình tự axit amin được mô tả có thể bao gồm bất kỳ khoảng nhỏ rời rạc của phần trăm khoảng tương đồng được mô tả trên đây (ví dụ, bất kỳ khoảng của giá trị nguyên trong khoảng cụ thể hoặc giá trị nhỏ rời rạc trong khoảng cụ thể).

Thuật ngữ “peptit”, “polypeptit”, “protein” và “mạch peptit” đề cập đến phân tử chứa hai hoặc nhiều gốc axit amin. Peptit có thể là dạng monome hoặc dạng polyme.

Như được xác định trong lĩnh vực này một số sự thể axit amin được xem là “bảo toàn”. Axit amin được phân loại thành nhiều nhóm trên cơ sở đặc tính mạch nhánh thông thường và sự thể trong nhóm mà duy trì tất cả hoặc hầu như tất cả ái lực gắn kết của protein gắn kết kháng nguyên được xem là sự thể bảo toàn. Xem, Bảng 6. Protein gắn kết kháng nguyên được bộc lộ trong bản mô tả này có thể chứa sự thể axit amin “bảo toàn” này.

Bảng 6

Mạch nhánh	Thành phần
Kỵ nước	met, ala, val, leu, ile
Trung hòa ưa nước	cys, ser, thr
Có tính axit	asp, glu
Có tính bazơ	asn, gln, his, lys, arg
Gốc mà ảnh hưởng đến sự định hướng mạch	gly, pro
Thơm	trp, tyr, phe

Thuật ngữ “được phẩm” như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là chế phẩm thích hợp để sử dụng cho người bệnh.

Dược phẩm được mô tả trong bản mô tả này có thể chứa hỗn hợp thành phần tinh chế của kháng thể như được mô tả trong bản mô tả này.

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

Nói chung, dược phẩm này chứa chất mang dược dụng như đã biết và được sử dụng trong thực tiễn thực hành có thể chấp nhận được về dược phẩm. Ví dụ về này chất mang bao gồm chất mang dược vô trùng, như nước muối, dung dịch Ringer, hoặc dung dịch dextroza, tùy ý được đệm với chất đệm thích hợp đến pH trong khoảng là 5 đến 8.

Dược phẩm có thể được sử dụng bằng cách tiêm hoặc truyền (ví dụ, trong tĩnh mạch, trong bụng, trong da, dưới da, trong cơ, hoặc qua da). Tốt hơn nếu chế phẩm này không chứa vật chất dạng hạt có thể quan sát được bằng mắt. Dược phẩm có thể chứa trong khoảng từ 1 mg đến 10 g của protein gắn kết kháng nguyên, ví dụ, trong khoảng từ 5 mg và 1 g của protein gắn kết kháng nguyên. Theo một phương án khác, chế phẩm có thể chứa trong khoảng từ 5 mg và 500 mg của protein gắn kết kháng nguyên, ví dụ, trong khoảng từ 5 mg và 50 mg.

Phương pháp bào chế dược phẩm này là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Dược phẩm có thể chứa trong khoảng từ 1 mg đến 10 g của protein gắn kết kháng nguyên trong dạng liều đơn vị, tùy ý cùng với hướng dẫn sử dụng. Dược phẩm có thể được làm khô lạnh (làm đông khô) để hoàn nguyên trước khi sử dụng theo phương pháp đã biết hoặc hiển nhiên đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Nếu kháng thể có kiểu tương đương (isotyp) IgG₁, chất chelat hóa của đồng, như xitrat (ví dụ, natri xitrat) hoặc EDTA hoặc histidin, có thể được bổ sung vào dược phẩm để làm giảm mức độ của sự thoái biến do đồng của kháng thể có isotyp này. Dược phẩm cũng có thể chứa chất làm tan, như arginin, chất hoạt động bề mặt/chất chống kết tụ như polysorbat 80, và khí trơ như nitơ để thay thế oxy trong khoảng trống trong lọ.

Thuật ngữ “lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu” như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là lượng của chất (như kháng thể hoặc dược phẩm), mà tạo ra lợi ích trị liệu trong việc điều trị hoặc kiểm soát một hoặc nhiều triệu chứng của tình trạng bệnh lý được điều trị (như hen suyễn, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan trầm trọng, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan ở mức nhỏ, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, viêm mạch và

đa u hạt dị ứng (EGPA), hội chứng tăng bạch cầu ái toan và polyp mũi xoang). Ví dụ về việc điều trị hoặc kiểm soát của một hoặc nhiều triệu chứng này của hen suyễn - bao gồm hen suyễn tăng bạch cầu ái toan trầm trọng, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan hoặc hen suyễn tăng bạch cầu ái toan ở mức nhỏ - bao gồm 1) giảm tần suất bệnh hen suyễn trở nên trầm trọng; 2) giảm về thời gian đối với việc bệnh lần đầu trở lên trầm trọng đáng kể về mặt lâm sàng cần phải dùng corticosteroid toàn thân hoặc theo đường miệng, nhập viện, và/hoặc nhập khoa cấp cứu (emergency department - ED); 3) giảm tần suất của việc bệnh trở lên trầm trọng cần phải nhập viện (bao gồm việc phải luôn ống vào khí quản và việc phải vào phòng chăm sóc đặc biệt hoặc số lần phải nhập khoa cấp cứu; 4) giảm thời gian đối với việc bệnh lần đầu trở lên trầm trọng cần phải nhập viện hoặc nhập khoa cấp cứu (ED); 5) thay đổi từ đường cơ sở trong tiền thử nghiệm giãn phế quản lâm sàng FEV₁; 6) thay đổi từ đường cơ sở trong hậu thử nghiệm giãn phế quản lâm sàng FEV₁; 7) thay đổi từ đường cơ sở trong điểm câu hỏi điều tra kiểm soát hen suyễn (ACQ); 8) tăng chức năng phổi như được đánh giá bằng phép đo dung tích phổi (ví dụ, dung tích sống (VC), thể tích khí toàn bộ được thở ra gắng sức trong một lần thở (FVC), thể tích khí thở ra gắng sức trong 1 giây đầu tiên (FEV) ở các khoảng thời gian là 0,5, 1,0 (FEV₁), 2,0, và 3,0 giây, lưu lượng thở tối đa là 25–75% (FEF 25–75) và thông khí tự tối đa (MVV) tổng dung tích phổi, thể tích khí lưu thông, thể tích khí cặn, thể tích dự trữ thở ra, thể tích dự trữ hít vào, dung tích hít vào, dung tích sống hít vào, dung tích sống, dung tích cặn chức năng, thể tích khí cặn được thể hiện dưới dạng phần trăm của tổng dung tích phổi, thể tích khí phế nang, thể tích thực của phổi bao gồm thể tích của phế quản dẫn, thể tích khí toàn bộ được thở ra gắng sức trong một lần thở, v.v.); và 9) mức giảm về lần bệnh hen suyễn trở lên trầm trọng cần dùng steroid để kiểm soát (như steroid dùng theo đường miệng hoặc steroid—như prednison, prednisolon v.v.--được sử dụng theo đường bất kỳ). Mức giảm về việc bệnh hen suyễn trở lên trầm trọng cần dùng steroid để kiểm soát có thể là khoảng 50% mức giảm về việc bệnh trở lên trầm trọng cần dùng steroid (ví dụ, steroid dùng theo đường miệng).

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

Liều của protein gắn kết kháng nguyên được sử dụng cho đối tượng thường nằm trong khoảng 1 µg/kg đến 150 mg/kg, trong khoảng từ 0,1 mg/kg và 100 mg/kg, trong khoảng từ 0,5 mg/kg và 50 mg/kg, trong khoảng từ 1 và 25 mg/kg, trong khoảng từ khoảng 0,3 mg/kg và khoảng 3 mg/kg hoặc trong khoảng 1 và 10 mg/kg thể trọng của đối tượng. Ví dụ, liều có thể là 10 mg/kg, 30 mg/kg, hoặc 60 mg/kg. Liều cũng có thể là từ 10 mg/kg đến 110 mg/mg 15 mg/kg để 25 mg/kg hoặc 15 mg/kg đến 100 mg/kg. Protein gắn kết kháng nguyên có thể được sử dụng, ví dụ, ngoài đường tiêu hóa, dưới da, trong tĩnh mạch, hoặc trong cơ. Liều cũng có thể được sử dụng trên cơ sở mỗi đối tượng như khoảng 20 mg mỗi đối tượng đến khoảng 750 mg mỗi đối tượng, khoảng 75 mg mỗi đối tượng đến khoảng 750 mg mỗi đối tượng, khoảng 20 mg mỗi đối tượng đến khoảng 200 mg mỗi đối tượng. Liều có thể là bất kỳ khoảng nhỏ rời rạc trong khoảng liều này. Ví dụ, liều (như liều của mepolizumab hoặc dược phẩm chứa mepolizumab) cũng có thể được sử dụng dưới da trên cơ sở mỗi đối tượng như khoảng 100 mg mỗi đối tượng (ví dụ, một lần mỗi bốn tuần), hoặc 300 mg mỗi đối tượng (hoặc liều khác được sử dụng có thể là dưới da với, độ sinh khả dụng về cơ bản là tương đồng, hoặc tương đương, được tạo ra như với việc sử dụng trong tĩnh mạch - ví dụ, ba liều là 100 mg mỗi đối tượng để tạo ra tổng liều được sử dụng dưới da là 300 mg mỗi đối tượng).

Khoảng được mô tả trong bản mô tả này, của loại bất kỳ, bao gồm tất cả các giá trị trong khoảng cụ thể được mô tả và giá trị xung quanh điểm cuối đối với khoảng cụ thể.

Nếu cần, liều hàng ngày hữu hiệu của chế phẩm trị liệu có thể được sử dụng là hai, ba, bốn, năm, sáu hoặc nhiều liều được sử dụng một cách riêng rẽ ở khoảng thời gian thích hợp trong ngày, tùy ý, ở dạng liều đơn vị.

Việc sử dụng của liều có thể là bằng các truyền chậm liên tục trong khoảng thời gian từ 2 đến 24 giờ, như là từ 2 đến 12 giờ, hoặc từ 2 đến 6 giờ. Việc sử dụng này có thể làm giảm tác dụng phụ.

Việc sử dụng của liều có thể được lặp lại một hoặc nhiều lần nếu cần, ví dụ, ba lần mỗi ngày, một lần mỗi ngày, một lần mỗi 2 ngày, một lần một tuần, một lần mỗi 14 ngày, một lần tháng, một lần mỗi 3 tháng, một lần mỗi 4 tháng, một lần mỗi 6 tháng, hoặc một lần mỗi 12 tháng. Protein gắn kết kháng nguyên có thể được sử dụng

theo liệu pháp duy trì, ví dụ một lần một tuần trong thời gian 6 tháng hoặc nhiều hơn. Protein gắn kết kháng nguyên có thể được sử dụng theo liệu pháp gián đoạn, ví dụ, trong thời gian 3 đến 6 tháng và sau đó không có liều nào trong 3 đến 6 tháng, sau đó sử dụng của protein gắn kết kháng nguyên lại trong 3 đến 6 tháng, và tương tự, theo chu kỳ.

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

Protein gắn kết kháng nguyên có thể được sử dụng cho đối tượng theo cách hướng đích trị liệu vào vị trí cụ thể.

Protein gắn kết kháng nguyên trong phương pháp theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều hoạt chất trị liệu khác, như kháng thể hoặc chất ức chế phân tử nhỏ.

Thuật ngữ "điều trị" và các thuật ngữ biến đổi của nó như được sử dụng trong bản mô tả này nghĩa là liệu pháp điều trị. Khi liên quan đến tình trạng bệnh lý cụ thể, điều trị có nghĩa là: (1) để cải thiện tình trạng bệnh lý của một hoặc nhiều sự biểu lộ sinh học của tình trạng bệnh lý, (2) để can thiệp với a) một hoặc nhiều điểm trong con đường sinh học mà dẫn đến hoặc chịu trách nhiệm cho tình trạng bệnh lý hoặc b) một hoặc nhiều sự biểu lộ sinh học của tình trạng bệnh lý, (3) để làm thuyên giảm một hoặc nhiều triệu chứng, tác động hoặc tác dụng phụ liên quan đến tình trạng bệnh lý hoặc việc điều trị của chúng, (4) để làm chậm sự tiến triển của tình trạng bệnh lý hoặc một hoặc nhiều sự biểu lộ sinh học của tình trạng bệnh lý hoặc (5) để ngăn ngừa sự khởi phát của một hoặc nhiều sự biểu lộ sinh học của tình trạng bệnh lý. Liệu pháp ngăn ngừa cũng được xem là nằm trong phạm vi này. Người có hiểu biết trung bình sẽ xác định được rằng "việc ngăn ngừa" không thuật ngữ tuyệt đối. Trong y tế, "việc ngăn ngừa" được hiểu là đề cập đến việc sử dụng thuốc để ngăn ngừa để hầu như giảm bớt khả năng xảy ra hoặc mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh lý hoặc sự biểu lộ sinh học của chúng, hoặc để trì hoãn sự khởi phát của tình trạng bệnh lý này hoặc sự biểu lộ sinh học của chúng.

Thuật ngữ "cá thể", "đối tượng" và "người bệnh" được sử dụng thay thế cho nhau trong bản mô tả này. Đối tượng thường là người. Đối tượng cũng có thể là động

vật có vú, như chuột nhắt, chuột, hoặc động vật linh trưởng (ví dụ, khỉ đuôi sóc hoặc khỉ). Đối tượng có thể là động vật không phải là người. Protein gắn kết kháng nguyên, chế phẩm và phương pháp theo sáng chế cũng có sử dụng trong thú y. Đối tượng cần được điều trị có thể là động vật trang trại, ví dụ, bò hoặc bò đực, cừu, lợn, trâu, dê hoặc ngựa, hoặc có thể là động vật gia đình như chó hoặc mèo. Động vật có thể có độ tuổi bất kỳ, hoặc động vật trưởng thành.

Việc điều trị có thể là chữa bệnh, phòng ngừa hoặc ngăn ngừa. Đối tượng là đối tượng cần một trong số việc điều trị này. Đối tượng cần việc điều trị có thể bao gồm cá thể đã mắc bệnh cụ thể, cùng các bệnh có thể phát triển trong tương lai.

Do đó, phương pháp, protein gắn kết kháng nguyên và chế phẩm theo sáng chế được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng đối với việc điều trị phòng ngừa hoặc việc điều trị ngăn ngừa nếu cần. Trong trường hợp này, phương pháp, protein gắn kết kháng nguyên và chế phẩm theo 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 của bệnh. Đối tượng có thể có gen dễ mắc bệnh. Lượng hữu hiệu có tác dụng phòng ngừa của protein gắn kết kháng nguyên được sử dụng cho cá thể này. Lượng hữu hiệu có tác dụng phòng ngừa là lượng mà ngăn ngừa hoặc trì hoãn sự khởi phát của một hoặc nhiều khía cạnh hoặc triệu chứng của bệnh được mô tả trong bản mô tả này.

Phương pháp, protein gắn kết kháng nguyên và chế phẩm theo sáng chế không nhất thiết phải chữa khỏi bệnh hoàn toàn, hoặc loại bỏ mỗi triệu chứng hoặc sự biểu lộ của bệnh để tạo ra việc điều trị bệnh tin cậy. Như được xác định trong lĩnh vực này, thuốc được sử dụng làm thuốc chữa bệnh trong phương pháp điều trị có thể làm giảm mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh cụ thể, nhưng không nhất thiết phải loại bỏ mỗi sự biểu lộ của bệnh được xem là thuốc chữa bệnh hữu dụng. Tương tự, việc điều trị phòng ngừa không nhất thiết phải là hữu hiệu hoàn toàn trong việc ngăn ngừa sự khởi phát của bệnh để tạo ra thuốc phòng ngừa tin cậy. Việc đơn thuần chỉ làm giảm tác động của bệnh (ví dụ, bằng cách giảm số lần hoặc mức độ nghiêm trọng của triệu chứng của nó, hoặc tăng hiệu quả của việc điều trị khác, hoặc bằng cách tạo ra hiệu quả có lợi khác), hoặc giảm khả năng mà bệnh sẽ xảy ra (ví dụ bằng cách trì hoãn sự khởi phát của bệnh) hoặc trầm trọng trong đối tượng, là đủ.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 80\%$ biến thể kháng thể axit.

Theo một phương án, chế phẩm có: a) $\geq 0,70$ sự gắn kết kháng nguyên đặc hiệu IL-5; và/hoặc b) $\geq 70\%$ sự gắn kết FcRn. Sự gắn kết kháng nguyên đặc hiệu IL-5, như gắn kết với IL-5 ở người chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 11, có thể được xác định bằng cách sử dụng chuẩn thử nghiệm, như cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE™), mà đã biết trong lĩnh vực này. Sự gắn kết FcRn tương tự có thể được xác định bằng cách sử dụng chuẩn thử nghiệm, như cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE™), mà đã biết trong lĩnh vực này.

Theo một phương án khác a) sự gắn kết kháng nguyên đặc hiệu nằm trong khoảng từ 0,70 đến 1,30; và/hoặc b) sự gắn kết FcRn nằm trong khoảng từ 70% đến 130%. Theo một số phương án khác, sự gắn kết kháng nguyên đặc hiệu có thể là trong khoảng là khoảng 0,9 đến 1,1, 0,75 đến khoảng 1, khoảng 0,7 đến khoảng 0,8, khoảng 0,7, khoảng 0,91 đến khoảng 0,95, khoảng 0,994 đến khoảng 0,997 hoặc khoảng 0,7 đến khoảng 0,9. Theo một số phương án khác, sự gắn kết FcRn nằm trong khoảng từ khoảng 70% đến khoảng 100%, khoảng 100% đến khoảng 130%, khoảng 70%, khoảng 80%, khoảng 90%, khoảng 100%, khoảng 110%, khoảng 120%, khoảng 80% đến khoảng 90%, khoảng 80% đến khoảng 100%, khoảng 100% đến khoảng 110%, khoảng 110% đến khoảng 120%, khoảng 120% đến khoảng 130%, khoảng 80% đến khoảng 120% và khoảng 90% đến khoảng 110%.

Theo một phương án, chế phẩm chứa: $\leq 80\%$ biến thể kháng thể axit. Ví dụ, chế phẩm có thể chứa $\leq 75\%$, $\leq 70\%$, $\leq 65\%$, $\leq 60\%$, $\leq 55\%$, $\leq 50\%$, hoặc $\leq 45\%$ biến thể kháng thể axit.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa: $\leq 35\%$ biến thể kháng thể được khử amit.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa: $\leq 25\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N31 của trình tự axit amin chuỗi nhẹ. Ví dụ, chế phẩm có thể chứa $\leq 22,5\%$,

$\leq 20\%$, $\leq 17,5\%$, $\leq 15\%$, $\leq 12,5\%$, $\leq 10\%$, hoặc $\leq 7,5\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N31 của trình tự axit amin chuỗi nhẹ.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa: $\leq 35\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N386 của trình tự axit amin chuỗi nặng. Ví dụ, chế phẩm có thể chứa $\leq 32,5\%$, $\leq 30\%$, $\leq 25,5\%$, hoặc $\leq 20\%$, $\leq 17,5\%$, $\leq 15\%$, $\leq 12,5\%$, $\leq 10\%$, hoặc $\leq 7,5\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N386 của trình tự axit amin chuỗi nặng.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa: $\leq 55\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa: $\leq 55\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa ở bất kỳ một hoặc dạng kết hợp của: a) M64 của trình tự axit amin chuỗi nặng; b) M254 của trình tự axit amin chuỗi nặng; và/hoặc c) M430 của trình tự axit amin chuỗi nặng. Ví dụ, chế phẩm có thể chứa $\leq 50\%$, $\leq 45\%$, $\leq 40\%$, $\leq 35\%$, $\leq 30\%$, hoặc $\leq 25\%$, $\leq 20\%$, $\leq 15\%$, $\leq 10\%$, hoặc $\leq 5\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa ở M64, M254, và/hoặc M430 của trình tự axit amin chuỗi nặng.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa: $\leq 3\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa ở W52 của trình tự axit amin chuỗi nặng. Ví dụ, chế phẩm có thể chứa $\leq 2,5\%$, $\leq 2\%$, $\leq 1,5\%$, $\leq 1\%$, $\leq 0,5\%$, $\leq 0,4\%$, $\leq 0,3\%$, $\leq 0,25\%$, $\leq 0,2\%$, $\leq 0,15\%$, hoặc $\leq 0,1\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa ở W52 của trình tự axit amin chuỗi nặng.

Theo một phương án khác, lượng biến thể kháng thể được khử amit và/hoặc lượng biến thể được oxy hóa, được xác định bằng lập bản đồ peptit LC-MS/MS.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa: $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ. Ví dụ, chế phẩm có thể chứa $\leq 17,5\%$, $\leq 15\%$, $\leq 12,5\%$, $\leq 10\%$, $\leq 7,5\%$, $\leq 5\%$, hoặc $\leq 4\%$, biến thể kết tụ. Chế phẩm có thể chứa nhỏ hơn hoặc bằng 3%, 2%, 1% hoặc 0,5% kháng thể kết tụ. Chế phẩm có thể chứa nhiều hơn hoặc bằng 98% kháng thể dạng monome.

Theo một phương án khác, biến thể kháng thể kết tụ chứa dime. Kháng thể kết tụ này có thể chứa hai phân tử kháng thể (ví dụ, hai phân tử kháng thể IgG1).

Theo một phương án khác, lượng biến thể kháng thể kết tụ được xác định bằng sắc ký loại trừ kích thước (SEC). Phương pháp thực hiện sắc ký loại trừ kích thước và đo kích thước phân tử protein là đã biết trong lĩnh vực này.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa: $\geq 50\%$ biến thể kháng thể được loại bỏ lysin K449 đầu cuối C của trình tự axit amin chuỗi nặng. Ví dụ, chế phẩm có thể chứa $\geq 60\%$, $\geq 70\%$, $\geq 75\%$, $\geq 80\%$, $\geq 85\%$, $\geq 90\%$, hoặc $\geq 95\%$ biến thể kháng thể được loại bỏ lysin K449 đầu cuối C của trình tự axit amin chuỗi nặng.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa: $\geq 50\%$ biến thể kháng thể pyro-glutamat đầu cuối N của trình tự axit amin chuỗi nặng. Ví dụ, chế phẩm có thể chứa $\geq 60\%$, $\geq 70\%$, $\geq 75\%$, $\geq 80\%$, $\geq 85\%$, $\geq 90\%$, hoặc $\geq 95\%$ biến thể kháng thể pyro-glutamat đầu cuối N của trình tự axit amin chuỗi nặng.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa protein tế bào vật chủ (Host Cell Protein - HCP). HCP có thể được tạo ra từ tế bào CHO. HCP là tạp chất phát sinh trong quy trình trái với các chất liên quan đến sản phẩm mepolizumab (cụ thể là mepolizumab cùng với biến thể mepolizumab). Giới hạn có thể chấp nhận về tiêu chuẩn công nghiệp đối với HCP có thể là lên đến 100ppm (bằng 100ng/mg). Hàm lượng HCP trong chế phẩm được mô tả trong bản mô tả này có thể là ≤ 50 ng/mg, ≤ 40 ng/mg, ≤ 30 ng/mg, hoặc ≤ 20 ng/mg. Ví dụ, hàm lượng HCP của chế phẩm có thể là ≤ 10 ng/mg. Cụ thể là embodiment, hàm lượng HCP của chế phẩm có thể là ≤ 5 ng/mg hoặc ≤ 2 ng/mg.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 80\%$ biến thể kháng thể axit và $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 25\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N31 của trình tự axit amin chuỗi nhẹ; và $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 25\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N31 của trình tự axit amin chuỗi nhẹ; $\leq 55\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa ở M64 của trình tự axit amin chuỗi nặng; $\leq 3\%$ biến thể được oxy hóa ở W52 của trình tự axit amin chuỗi nặng; và $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 25\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N31 của trình tự axit amin chuỗi nhẹ; $\leq 35\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N386 của trình tự axit amin chuỗi nặng; và $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 25\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N31 của trình tự axit amin chuỗi nhẹ; $\leq 35\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N386 của trình tự axit amin chuỗi nặng; $\leq 55\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa ở M64 của trình tự axit amin chuỗi nặng, M254 của trình tự axit amin chuỗi nặng, M430 của trình tự axit amin chuỗi nặng; $\leq 3\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa ở W52 của trình tự axit amin chuỗi nặng; và $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ.

Chế phẩm theo sáng chế có thể còn chứa chất đệm được chọn từ nhóm bao gồm natri phosphat diaxit heptahydrat, phosphat, axit xitric, xitrat, natri phosphat, kali phosphat, natri xitrat, và histidin, miễn là pH nằm trong khoảng 6,8 và 7,2 hoặc pH là từ pH 6,2 đến pH 6,6 với giá trị pH là 6,3 được ưu tiên. Chất đệm trong chế phẩm theo

sáng chế có thể có mặt trong khoảng từ khoảng 10-30 mM, khoảng 10-20 mM, khoảng 20 mM hoặc khoảng 15,5 mM. Ví dụ, chất đệm trong chế phẩm theo sáng chế có mặt trong khoảng 20 mM, hoặc ở khoảng 15,5 mM natri phosphat diaxit heptahydrat.

Chế phẩm theo sáng chế có thể chứa chất đệm natri phosphat diaxit heptahydrat và axit xitric miễn là pH là từ 6,2 đến 6,6, trong đó giá trị pH là 6,3 được ưu tiên. Chất đệm natri phosphat diaxit heptahydrat có thể có mặt trong khoảng từ khoảng 15-16,4 mM và chất đệm axit xitric có thể có mặt trong khoảng từ khoảng 3,8-4,9 mM. Ví dụ, chế phẩm theo sáng chế có thể chứa khoảng 15,5 mM natri phosphat diaxit heptahydrat và khoảng 4,5 mM axit xitric monohydrat.

Chế phẩm theo sáng chế có thể còn chứa đường. Chế phẩm theo sáng chế có thể còn chứa sucroza. Sucroza có thể có mặt trong chế phẩm theo sáng chế trong khoảng từ khoảng 5-20%; khoảng 10-15%, khoảng 11-13% hoặc ở khoảng 12% khối lượng theo thể tích.

Chế phẩm theo sáng chế có thể còn chứa polysorbat 80. Polysorbat 80 có thể có mặt trong khoảng từ khoảng 0,01-0,1% khối lượng theo thể tích. Ví dụ, polysorbat 80 có thể có mặt trong chế phẩm theo sáng chế ở khoảng 0,02% khối lượng theo thể tích, hoặc ở khoảng 0,05% khối lượng theo thể tích.

Chế phẩm theo sáng chế có thể còn chứa EDTA. EDTA có thể có mặt trong khoảng từ khoảng 0,01-0,1 mM. Ví dụ, EDTA có thể có mặt ở khoảng 0,05 mM.

Theo một phương án, chế phẩm theo sáng chế còn chứa 20 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích và 0,05% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích.

Theo một phương án khác, chế phẩm theo sáng chế còn chứa 15,5 mM natri phosphat diaxit, 3,9 mM axit xitric monohydrat, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích, 0,02% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích và 0,05 mM EDTA.

Chế phẩm theo sáng chế có thể chứa chế phẩm lỏng chứa nước ở pH 6,2 chứa 16,1 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 3,9 mM axit xitric monohydrat, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích, 0,02% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích và 0,05 mM EDTA.

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

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

Chế phẩm theo sáng chế có thể chứa chế phẩm lỏng chứa nước ở pH 6,6 chứa 16,3 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 3,7 mM axit xitric monohydrat, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích, 0,02% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích và 0,05 mM EDTA.

Chế phẩm theo sáng chế có thể chứa chế phẩm lỏng chứa nước ở pH 6,3 chứa 15,5 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 4,5 mM axit xitric monohydrat, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích, 0,02% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích và 0,05 mM EDTA. Quan trọng hơn là, lọc tiếp tuyến và bước trao đổi siêu lọc của Ví dụ 1 sau đây có thể được điều chỉnh để tạo ra chế phẩm theo sáng chế, như chế phẩm theo sáng chế chứa 15,5 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 4,5 mM axit xitric monohydrat, 12% khối lượng theo thể tích sucroza, 0,02% khối lượng theo thể tích polysorbat 80, 0,05 mM EDTA ở pH là 6,3—hoặc các chế phẩm lỏng khác.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa hỗn hợp thành phần tinh chế của kháng thể đơn dòng và chất đệm, trong đó chế phẩm này là ở pH từ 6,8 đến 7,2, trong đó chất đệm là histidin, phosphat, axit xitric, xitrat hoặc muối của chúng, trong đó hỗn hợp thành phần tinh chế chứa dạng tương tự đặc trưng bởi đỉnh 65, đỉnh 78, đỉnh 88, đỉnh 92, đỉnh chính và đỉnh 112 được thể hiện trong Fig. 1, trong đó kháng thể này chứa trình tự axit amin chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2, và trong đó kháng thể được tạo ra từ tế bào buồng trứng chuột Hamster Trung Quốc. Trong chế phẩm, chuỗi nặng có thể chứa trình tự axit amin có ít nhất 95%, 96%, 96,88%, 97%, 98% hoặc 99% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1. Trong chế phẩm, chuỗi nhẹ có thể chứa

trình tự axit amin có ít nhất 98%, 98,63 hoặc 99% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2,

Theo một phương án, chất đệm là ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm natri phosphat diaxit heptahydrat, phosphat, axit xitric và xitrat.

Theo một phương án khác, chất đệm là natri phosphat, kali phosphat, hoặc natri xitrat.

Theo một phương án khác, chế phẩm còn chứa đường, hydrat cacbon và/hoặc muối.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa sucroza.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa hỗn hợp thành phần tinh chế của kháng thể đơn dòng và chất đệm, trong đó chế phẩm này là ở pH từ 6,8 đến 7,2, trong đó chất đệm là phosphat hoặc muối của chúng, trong đó hỗn hợp thành phần tinh chế chứa dạng tương tự đặc trưng bởi đỉnh 65, đỉnh 78, đỉnh 88, đỉnh 92, đỉnh chính và đỉnh 112 được thể hiện trong Fig. 1, trong đó kháng thể này chứa trình tự axit amin chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2, và trong đó kháng thể được tạo ra từ tế bào buồng trứng chuột Hamster Trung Quốc.

Theo một phương án khác, chất đệm là ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm natri phosphat diaxit heptahydrat, phosphat, axit xitric và xitrat.

Theo một phương án khác, chế phẩm còn chứa đường.

Theo một phương án khác, đường là sucroza.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa polysorbat 80.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa một thành phần được chọn từ thành phần chế phẩm thứ nhất bao gồm 20 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích và 0,05% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích; và thành phần chế phẩm thứ hai là 15,5 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 3,9 mM axit xitric monohydrat, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích, 0,02% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích và 0,05 mM EDTA; và thành phần chế phẩm thứ ba bao gồm 26 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 15% khối lượng của sucroza theo

thể tích và 0,065% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích. Chế phẩm có thể là ở pH giữa khoảng 6,8 đến khoảng 7,2, khoảng 6,1 đến khoảng 6,5 hoặc khoảng 6 đến khoảng 6,6,

Theo một phương án khác, kháng thể có hằng số phân ly bằng, hoặc nhỏ hơn, khoảng $3,5 \times 10^{-11}$ M đối với interleukin-5 ở người chứa trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 11,

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; và b) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 50% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm. Dạng chính của kháng thể cũng có thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 57,9%, 59,4%, và 60% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

Theo một phương án khác, dạng chính của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; b) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 50% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm; và c) dạng axit của kháng thể chứa khoảng 20% đến khoảng 45% là protein trong chế phẩm như được xác định

bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm. Dạng axit của kháng thể cũng có thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 37,6%, 37,8%, 38,4% và 39,8% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm. Tổng diện tích đỉnh axit được xác định bằng cIEF có thể cao lên đến 72% và vẫn duy trì sự gắn kết đặc hiệu IL-5 0,74 và sự gắn kết FcRn 80%.

Theo một phương án khác, dạng axit của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm dạng axit của đỉnh 65, dạng axit của đỉnh 78, dạng axit của đỉnh 88 và dạng axit của đỉnh 92.

Theo một phương án khác, dạng axit của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được khử amit được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 299, gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 317, gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 386 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31. Mức có thể chấp nhận của sự khử amit trên chuỗi nhẹ N31 nhiều hơn hoặc bằng 17%, hoặc nhiều hơn hoặc bằng 17,4% như được xác định bằng cách lập bản đồ peptit chuỗi nhẹ MS/MS. Mức có thể chấp nhận của sự khử amit trên chuỗi nặng 386 nhiều hơn hoặc bằng 30% như được xác định bằng cách lập bản đồ peptit chuỗi nhẹ MS/MS. Mức lớn hơn có thể chấp nhận được có thể là mức của biến thể cụ thể mà cho phép phân tử kháng thể trong chế phẩm duy trì hoạt tính gắn kết kháng nguyên là khoảng 0,70 đến khoảng 1,30 như được xác định bằng SPR và hoạt tính gắn kết FcRn là khoảng 70% đến khoảng 130% như được xác định bằng SPR hoặc giá trị hoạt tính gắn kết kháng nguyên hoặc hoạt tính gắn kết FcRn khác, hoặc khoảng, được bộc lộ trong bản mô tả này.

Theo một phương án khác, dạng axit của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220. Mức oxy hóa có thể chấp nhận trên chuỗi nặng gốc của kháng thể như được xác định bằng cách lập bản đồ peptit LC-MS/MS có thể là khoảng 50% đối với

chuỗi nặng M64, M254, và M430 và khoảng 3% đối với chuỗi nặng W52. Mức lớn hơn có thể chấp nhận được có thể là mức của biến thể cụ thể mà cho phép phân tử kháng thể trong chế phẩm duy trì hoạt tính gắn kết kháng nguyên là khoảng 0,70 đến khoảng 1,30 như được xác định bằng SPR và hoạt tính gắn kết FcRn là khoảng 70% đến khoảng 130% như được xác định bằng SPR hoặc giá trị hoạt tính gắn kết kháng nguyên hoặc hoạt tính gắn kết FcRn khác, hoặc khoảng, được bộc lộ trong bản mô tả này.

Theo một phương án khác, dạng chính của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220; và dạng axit của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; b) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 50% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm; và c) dạng bazơ của kháng thể chứa khoảng 1% đến khoảng 15% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm. Dạng bazơ của kháng thể cũng có thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 2,2% và 2,3% là protein trong

chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

Theo một phương án khác, dạng bazơ của kháng thể chứa dạng bazơ có đỉnh 112.

Theo một phương án khác, dạng bazơ của kháng thể chứa chuỗi nặng có gốc đầu cuối carboxy mà là glyxin 448.

Theo một phương án khác, dạng bazơ của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

Theo một phương án khác, dạng chính của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220; và dạng bazơ của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; b) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 50% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm; c) dạng axit của kháng thể chứa khoảng 20% đến khoảng 45% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm; và d) dạng bazơ của kháng thể chứa khoảng 1% đến khoảng 15% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

Theo một phương án khác, dạng axit của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220; và dạng bazơ của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222.

Theo một phương án khác, dạng chính của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222.

metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220; dạng axit của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220; và trong đó dạng bazơ của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; và b) dạng được khử amit của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 299, gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 317, gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 386 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; và b) dạng được oxy hóa của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc

axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; b) dạng được khử amit của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 299, gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 317, gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 386 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31; và c) dạng được oxy hóa của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 10; và b) dạng được khử amit của kháng thể chứa gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31. Trong chế phẩm, CDRH2 có thể chứa trình tự axit amin có ít nhất 85% hoặc 87,5% tương đồng với trình tự axit amin của

SEQ ID NO: 6. Trong chế phẩm, CDRL1 có thể chứa trình tự axit amin có ở 93%, 94% hoặc 94,11% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 8.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 10; và b) dạng được oxy hóa của kháng thể chứa gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 10; và b) dạng được oxy hóa của kháng thể chứa gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64; và c) dạng được khử amit của kháng thể chứa gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa vùng biến đổi trình tự chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 3 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trình tự có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 4; và b) dạng được khử amit của kháng thể chứa gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31. Trong chế phẩm, vùng biến đổi chuỗi nặng có thể chứa trình tự axit amin có ít nhất 90%, 95% hoặc 95,57% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 3. Trong chế phẩm, vùng biến đổi chuỗi nhẹ có thể chứa trình tự axit amin có ít nhất 90%, 98% hoặc 98,31% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 3.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa vùng biến đổi trình tự chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 3 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trình tự có trình tự axit amin được thể hiện

trong SEQ ID NO: 4; và b) dạng được oxy hóa của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa vùng biến đổi trình tự chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 3 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trình tự có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 4; b) dạng được khử amit của kháng thể chứa gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31; và c) dạng được oxy hóa của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4.

Theo một phương án khác, tổng nồng độ protein khoảng 75 mg/mL. Tổng nồng độ protein cũng có thể là khoảng của cặp giá trị bất kỳ, hoặc giá trị duy nhất trong khoảng là khoảng 75 mg/mL đến khoảng 150 mg/mL, như khoảng 75 mg/mL đến khoảng 100 mg/mL, khoảng 67,3 đến khoảng 87,5 mg/mL, khoảng 76 g protein/L đến khoảng 82 g protein/L, khoảng 46 g protein/L đến khoảng 66 g protein/L hoặc khoảng 100 mg/mL. Trong chế phẩm, độ tinh khiết của kháng thể kháng IL-5 ở người trong mẫu là nhiều hơn, hoặc bằng, 97,0%, 96%, 95%, hoặc 80%, 85%.

Theo một phương án khác, chế phẩm còn chứa a) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 50% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

Theo một phương án khác, chế phẩm còn chứa a) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 50% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm; và b) dạng axit của kháng thể chứa khoảng 20% đến khoảng 45% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

Theo một phương án khác, chế phẩm còn chứa a) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 50% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng

cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm; và b) dạng bazơ của kháng thể chứa khoảng 1% đến khoảng 15% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

Theo một phương án khác, chế phẩm còn chứa a) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 50% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm; b) dạng axit của kháng thể chứa khoảng 20% đến khoảng 45% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm; và c) dạng bazơ của kháng thể chứa khoảng 1% đến khoảng 15% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa các kháng thể kháng IL-5 có a) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nặng kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc pyroglutamat đầu cuối amino ở gốc axit amin 1, gốc axit amin glyxin đầu cuối carboxy ở gốc axit amin 448, được khử amit aparagin gốc ở vị trí 299, gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317, gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386, gốc tryptophan được oxy hóa ở vị trí 52, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85, gốc xystein được oxy hóa ở vị trí 222, metionin được oxy hóa ở vị trí 254, metionin được oxy hóa ở vị trí 360 và gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430; và b) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nhẹ kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 2 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 và gốc xystein được oxy hóa ở vị trí 220.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa a) khoảng nhiều hơn hoặc bằng 92% là các kháng thể chứa gốc pyroglutamat đầu cuối amino ở gốc axit amin 1 của chuỗi nặng kháng thể, b) khoảng nhiều hơn hoặc bằng 90% là các kháng thể chứa gốc axit amin glyxin đầu cuối carboxy ở gốc axit amin 448 của chuỗi nặng kháng thể, c) nhỏ hơn hoặc bằng 6,0% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng kháng thể; d) khoảng nhỏ hơn hoặc bằng 1,5% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64 của chuỗi nặng kháng thể, e) khoảng nhỏ hơn

hoặc bằng 4,5% là các kháng thể chứa metionin được oxy hóa ở vị trí 254 của chuỗi nặng kháng thể, f) khoảng nhỏ hơn hoặc bằng 0,8% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430 của chuỗi nặng kháng thể, và g) khoảng nhỏ hơn hoặc bằng 6,6% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31 của chuỗi nhẹ kháng thể.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa a) khoảng 92% đến khoảng 99% là các kháng thể chứa gốc pyroglutamat đầu cuối amino ở gốc axit amin 1 của chuỗi nặng kháng thể, b) khoảng 95% đến khoảng 99,5% là các kháng thể chứa gốc axit amin glyxin đầu cuối carboxy ở gốc axit amin 448 của chuỗi nặng kháng thể, c) khoảng 0,3% đến khoảng 1,5% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317 của chuỗi nặng kháng thể, d) khoảng 1,5% đến khoảng 4,5% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng kháng thể; e) khoảng 0,5% đến khoảng 1,5% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64 của chuỗi nặng kháng thể, f) khoảng 0,2% đến khoảng 1,5% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82 của chuỗi nặng kháng thể hoặc gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85 của chuỗi nặng kháng thể, g) khoảng 2,5% đến khoảng 3,5% là các kháng thể chứa metionin được oxy hóa ở vị trí 254 của chuỗi nặng kháng thể, h) khoảng 0,4% đến khoảng 0,8% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430 của chuỗi nặng kháng thể, i) khoảng 3,3% đến khoảng 6,6% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31 của chuỗi nhẹ kháng thể, và j) khoảng 0,1% đến khoảng 1% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 của chuỗi nhẹ kháng thể.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa: a) khoảng 93,7% đến khoảng 98,6% là các kháng thể chứa gốc pyroglutamat đầu cuối amino ở gốc axit amin 1 của chuỗi nặng kháng thể, b) khoảng 97,6% đến khoảng 99,2% là các kháng thể chứa gốc axit amin glyxin đầu cuối carboxy ở gốc axit amin 448 của chuỗi nặng kháng thể, c) khoảng 0,4% đến khoảng 1,2% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317 của chuỗi nặng kháng thể, d) khoảng 1,6% đến khoảng 4,2% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng kháng thể; e) khoảng 0,7% đến khoảng 0,9% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64 của chuỗi nặng kháng thể, f) khoảng 0,3% đến khoảng 1,1% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82 của chuỗi nặng kháng thể hoặc gốc

metionin được oxy hóa ở vị trí 85 của chuỗi nặng kháng thể, g) khoảng 2,6% đến khoảng 3,3% là các kháng thể chứa metionin được oxy hóa ở vị trí 254 của chuỗi nặng kháng thể, h) khoảng 0,5% đến khoảng 0,7% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430 của chuỗi nặng kháng thể, i) khoảng 3,4% đến khoảng 6,5% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31 của chuỗi nhẹ kháng thể, và j) khoảng 0,2% đến khoảng 0,8% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 của chuỗi nhẹ kháng thể.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa các kháng thể kháng IL-5 có a) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nặng kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc asparagin được khử amit ở vị trí 299, gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317, gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386, gốc tryptophan được oxy hóa ở vị trí 52, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85, gốc xystein được oxy hóa ở vị trí 222, metionin được oxy hóa ở vị trí 254, metionin được oxy hóa ở vị trí 360 và gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430; và b) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nhẹ kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 2 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 và gốc xystein được oxy hóa ở vị trí 222.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa: a) khoảng 0,3% đến khoảng 1,5% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317 của chuỗi nặng kháng thể, b) khoảng 1,5% đến khoảng 4,5% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng kháng thể; c) khoảng 0,5% đến khoảng 1,5% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64 của chuỗi nặng kháng thể, d) khoảng 0,2% đến khoảng 1,5% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82 của chuỗi nặng kháng thể hoặc gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85 của chuỗi nặng kháng thể, e) khoảng 2,5% đến khoảng 3,5% là các kháng thể chứa metionin được oxy hóa ở vị trí 254 của chuỗi nặng kháng thể, f) khoảng 0,4% đến khoảng 0,8% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430 của chuỗi nặng kháng thể, g) khoảng 3,3% đến khoảng 6,6% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31 của chuỗi nhẹ kháng thể, và h) khoảng 0,1% đến khoảng 1% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 của chuỗi nhẹ kháng thể.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa: a) khoảng 0,4% đến khoảng 1,2% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317 của chuỗi nặng kháng thể, b) khoảng 1,6% đến khoảng 4,2% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng kháng thể; c) khoảng 0,7% đến khoảng 0,9% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64 của chuỗi nặng kháng thể, d) khoảng 0,3% đến khoảng 1,1% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82 của chuỗi nặng kháng thể hoặc gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85 của chuỗi nặng kháng thể, e) khoảng 2,6% đến khoảng 3,3% là các kháng thể chứa metionin được oxy hóa ở vị trí 254 của chuỗi nặng kháng thể, f) khoảng 0,5% đến khoảng 0,7% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430 của chuỗi nặng kháng thể, g) khoảng 3,4% đến khoảng 6,5% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31 của chuỗi nhẹ kháng thể, và h) khoảng 0,2% đến khoảng 0,8% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 của chuỗi nhẹ kháng thể.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa các kháng thể kháng IL-5 có a) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nặng kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm được khử amit ở gốc asparagin ở vị trí 299, gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317 và gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386; và b) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nhẹ kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 2 chứa gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa: a) khoảng 0,3% đến khoảng 1,5% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317 của chuỗi nặng kháng thể, b) khoảng 1,5% đến khoảng 4,5% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng kháng thể; và c) khoảng 3,3% đến khoảng 6,6% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31 của chuỗi nhẹ kháng thể.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa: a) khoảng 0,4% đến khoảng 1,2% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317 của chuỗi nặng kháng thể, b) khoảng 1,6% đến khoảng 4,2% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng kháng thể; và c) khoảng 3,4% đến khoảng 6,5% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31 của chuỗi nhẹ kháng thể.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa các kháng thể kháng IL-5 có a) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nặng kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc tryptophan được oxy hóa ở vị trí 52, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85, gốc xystein được oxy hóa ở vị trí 222, metionin được oxy hóa ở vị trí 254, metionin được oxy hóa ở vị trí 360 và gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430; và b) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nhẹ kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 2 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 và gốc xystein được oxy hóa ở vị trí 220.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa: a) khoảng 0,5% đến khoảng 1,5% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64 của chuỗi nặng kháng thể, b) khoảng 0,2% đến khoảng 1,5% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82 của chuỗi nặng kháng thể hoặc gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85 của chuỗi nặng kháng thể, c) khoảng 2,5% đến khoảng 3,5% là các kháng thể chứa metionin được oxy hóa ở vị trí 254 của chuỗi nặng kháng thể, d) khoảng 0,4% đến khoảng 0,8% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430 của chuỗi nặng kháng thể, và e) khoảng 0,1% đến khoảng 1% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 của chuỗi nhẹ kháng thể.

Theo một phương án khác, chế phẩm chứa: a) khoảng 0,7% đến khoảng 0,9% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64 của chuỗi nặng kháng thể, b) khoảng 0,3% đến khoảng 1,1% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82 của chuỗi nặng kháng thể hoặc gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85 của chuỗi nặng kháng thể, c) khoảng 2,6% đến khoảng 3,3% là các kháng thể chứa metionin được oxy hóa ở vị trí 254 của chuỗi nặng kháng thể, d) khoảng 0,5% đến khoảng 0,7% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430 của chuỗi nặng kháng thể, và e) khoảng 0,2% đến khoảng 0,8% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 của chuỗi nhẹ kháng thể.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; và b) dạng chính của kháng thể chứa

nhiều hơn, hoặc bằng, 20% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; b) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 20% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm; và c) dạng axit của kháng thể chứa lên đến khoảng 80% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

Theo một phương án khác, chế phẩm được dùng để điều trị bệnh được chọn từ nhóm bao gồm hen suyễn, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan trầm trọng, hen suyễn nặng, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan ở mức nhỏ, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, viêm mạch và đa u hạt dị ứng, hội chứng tăng bạch cầu ái toan, polyp mũi xoang, bệnh pemphigoid bong nước và bệnh viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan.

Theo một ví dụ khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh trong đối tượng bao gồm các bước a) xác định đối tượng với bệnh được chọn từ nhóm bao gồm hen suyễn, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan trầm trọng, hen suyễn nặng, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan ở mức nhỏ, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, viêm mạch và đa u hạt dị ứng, hội chứng tăng bạch cầu ái toan, polyp mũi xoang, bệnh pemphigoid bong nước và bệnh viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan; và b) sử dụng lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu của chế phẩm theo sáng chế cho đối tượng; nhờ đó bệnh ở đối tượng được điều trị.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra chế phẩm theo sáng chế, bao gồm các bước: a) biểu hiện trong tế bào vật chủ kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin

chuỗi nhẹ này; b) phát triển tế bào ở pH là khoảng 6,75 đến khoảng 7,00; c) thu hoạch dịch nổi môi trường nuôi cấy tế bào; d) cho dịch nổi môi trường nuôi cấy tế bào tiếp xúc với nhựa protein A hoặc nhựa protein G để gắn kết phân tử kháng thể; e) rửa giải phân tử kháng thể từ nhựa để tạo ra dịch rửa giải thứ nhất; f) xử lý dịch rửa giải thứ nhất ở pH là khoảng 3,3 đến khoảng 3,7 trong khoảng 15 đến khoảng 240 phút để tạo ra dịch rửa giải thứ nhất được xử lý; g) cho dịch rửa giải thứ nhất được xử lý tiếp xúc với nhựa trao đổi anion ở pH tải là khoảng 8,3 đến khoảng 8,7; h) thu gom dịch rửa giải thứ hai (dịch rửa giải thông qua dòng chảy) từ nhựa trao đổi anion và giữ nhựa này trong khoảng 96 giờ hoặc nhỏ hơn; i) xử lý dịch rửa giải thứ hai với guanidin và amoni sulfat để tạo ra dung dịch; j) cho dung dịch này tiếp xúc với tầng nhựa sắc ký tương tác kỵ nước ở tỷ lệ tải là tỷ lệ tải khoảng 12 g protein/L nhựa đến khoảng 27 g protein/L của nhựa; k) rửa giải dịch rửa giải thứ ba chứa phân tử kháng thể từ nhựa sắc ký tương tác kỵ nước với thể tích gradien rửa giải là khoảng 9 thể tích tầng nhựa đến khoảng 11 thể tích tầng nhựa và điểm cắt đỉnh rửa giải là khoảng 17% chiều cao đỉnh tối đa đến khoảng 23% chiều cao đỉnh tối đa; và l) bào chế dịch rửa giải thứ ba; nhờ đó chế phẩm theo sáng chế được tạo ra. Trong phương pháp theo sáng chế, trình tự axit nucleic bất kỳ thích hợp để biểu hiện kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này. Ví dụ, trình tự axit nucleic của SEQ ID NO: 13 hoặc SEQ ID NO: 14 có thể được sử dụng để biểu hiện kháng thể trong tế bào có nhân. Theo một phương án khác, trình tự axit nucleic khác với trình tự khác mà mã hóa (ví dụ, do việc sử dụng mã bộ ba khác) trình tự axit amin chuỗi nặng kháng thể như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ kháng thể như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2 có thể được sử dụng. Trong phương pháp theo sáng chế, sự khử amit có thể được kiểm soát bằng cách phát triển tế bào ở pH là khoảng 6,75 đến khoảng 7,00. Trong phương pháp theo sáng chế, sự khử amit có thể được kiểm soát bằng cách phát triển tế bào trong khoảng 12 đến khoảng 18 ngày đối với độ tuổi tế bào in vitro của nhỏ hơn hoặc bằng 166 ngày. Trong phương pháp theo sáng chế, sự khử amit có thể được kiểm soát bằng cách cho dịch rửa giải thứ nhất được xử lý tiếp xúc với nhựa trao đổi anion ở pH tải là khoảng 8,3 đến

khoảng 8,7 và thu gom dịch rửa giải thứ hai từ nhựa trao đổi anion và giữ nhựa này trong khoảng 96 giờ hoặc nhỏ hơn. Trong phương pháp theo sáng chế, sự kết tụ có thể kiểm soát trong sắc ký dòng chảy nhanh phenyl SEPHAROSE™ bằng cho dung dịch tiếp xúc với tầng nhựa sắc ký tương tác kỵ nước ở tỷ lệ tải là khoảng 12 g protein/L nhựa đến khoảng 27 g protein/L của nhựa; rửa giải dịch rửa giải thứ ba chứa phân tử kháng thể từ nhựa sắc ký tương tác kỵ nước với thể tích gradien rửa giải là khoảng 9 thể tích tầng nhựa đến khoảng 11 thể tích tầng nhựa và điểm cắt đỉnh rửa giải là khoảng 17% chiều cao đỉnh tối đa đến khoảng 23% chiều cao đỉnh tối đa. Sự kết tụ cũng có thể được hạn chế sau lần lọc cuối, nạp đầy và làm lạnh được phẩm theo sáng chế đến nhỏ hơn hoặc bằng khoảng 6 giờ. Quan trọng hơn là, bước bất kỳ trong số các bước của phương pháp được bộc lộ có thể được bỏ qua, hoặc được kết hợp để tạo ra chế phẩm theo sáng chế.

Trong quá trình sản xuất kháng thể, sự biến đổi sau dịch mã có thể xảy ra. Điều này có thể bao gồm sự phân cắt của một số trình tự dẫn đầu, sự bổ sung của các gốc đường trong các quá trình glycosylat hóa, sự khử amit (ví dụ ở gốc asparagin hoặc glutamin), oxy hóa (ví dụ ở gốc metionin, tryptophan hoặc xystein tự do), sự xáo trộn liên kết disulfua, sự đồng phân hóa (ví dụ ở gốc axit aspartic), sự cắt lysin đầu cuối C (ví dụ từ một hoặc cả chuỗi nặng), và sự đóng vòng glutamin đầu cuối N (ví dụ trong chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ).

Chế phẩm chứa kháng thể có thể chứa (i) kháng thể (cụ thể là, kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2); và (ii) biến thể kháng thể mà bao gồm một hoặc nhiều hoặc dạng kết hợp của: biến thể mang điện tích (ví dụ, biến thể axit và bazơ), biến thể trình tự axit amin, và biến thể cấu trúc kháng thể (ví dụ, biến thể kết tụ và phân mảnh).

Biến thể kháng thể axit hoặc bazơ có thể có đặc trưng và được phân biệt từ kháng thể trên cơ sở điện tích chung axit hoặc bazơ của chúng. Ví dụ, sự phân bố điện tích của chế phẩm chứa kháng thể có thể được phát hiện bằng cách sử dụng điện di mao quản điểm đẳng điện (cIEF) hoặc sắc ký trao đổi ion. Biến thể axit có thể chứa biến thể kháng thể được khử amit, biến thể kháng thể được bổ sung phân tử đường, biến thể kháng thể được sialylat hóa, và biến thể kháng thể được oxy hóa. Sự oxy hóa xystein và tryptophan trong biến thể kháng thể tạo ra độ chuyển dịch pI (cụ thể là, sự

thay đổi về điện tích) và được phát hiện với biến thể kháng thể axit khác. Sự oxy hóa metionin trong biến thể kháng thể có thể được theo dõi bởi thay đổi trong sự gắn kết kháng nguyên, hoặc bằng cách lập bản đồ peptit, ví dụ bằng LC-MS/MS.

Sự khử amit là phản ứng xúc tác bởi enzym về cơ bản chuyển hóa asparagin (N) thành axit iso-aspartic (iso-aspartat) (iso-D) và axit aspartic (aspartat) (D) ở tỷ lệ khoảng 3:1. Vì thể phản ứng khử amit này liên quan đến sự đồng phân hóa của aspartat (D) thành iso-aspartat. Sự khử amit của asparagin và sự đồng phân hóa của aspartat, đều liên quan đến sản phẩm trung gian succinimit. ở mức độ nhỏ hơn, sự khử amit có thể xảy ra với gốc glutamin theo cách tương tự. Sự khử amit có thể xảy ra trong CDR, trong Fab (vùng không CDR), hoặc trong vùng Fc.

Sự khử amit làm thay đổi về điện tích của kháng thể, sao cho biến thể kháng thể được khử amit có tính axit so với kháng thể. Chế phẩm chứa kháng thể có thể chứa $\leq 35\%$ biến thể kháng thể được khử amit. Ví dụ, N31 của chuỗi nhẹ có thể được khử amit thành Iso-D, D hoặc succinimit. Chế phẩm chứa kháng thể có thể chứa $\leq 25\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở vị trí 31 của chuỗi nhẹ. Điều này có thể tạo ra một sự thay đổi axit amin trong trình tự của chuỗi nhẹ của kháng thể, ví dụ trong $\leq 25\%$ chế phẩm chứa kháng thể.

Ví dụ, N386 của chuỗi nặng có thể được khử amit thành Iso-D, D hoặc succinimit. Chế phẩm chứa kháng thể có thể chứa $\leq 35\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng. Điều này có thể tạo ra một sự thay đổi axit amin trong trình tự của chuỗi nặng của kháng thể, ví dụ trong $\leq 35\%$ chế phẩm chứa kháng thể. Chế phẩm có thể chứa hỗn hợp của biến thể kháng thể. Sự khử amit có thể tích lũy, sao cho hai hoặc nhiều gốc asparagin được khử amit. Do đó, chế phẩm chứa kháng thể có thể chứa ít nhất một sự thay đổi axit amin trong trình tự của chuỗi nặng của kháng thể và/hoặc ít nhất một sự thay đổi axit amin trong trình tự của chuỗi nặng của kháng thể. Ví dụ, chế phẩm chứa kháng thể có thể chứa biến thể kháng thể được khử amit ở vị trí 31 của chuỗi nhẹ và biến thể kháng thể được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng.

Sự oxy hóa có thể xảy ra trong quá trình sản xuất và lưu trữ (cụ thể là, với sự có mặt của điều kiện oxy hóa) và làm biến đổi hóa trị của protein, được gây ra trực tiếp bởi chất chứa oxy hoạt động hoặc gián tiếp bằng phản ứng với sản phẩm phụ thứ cấp

mất cân bằng oxy hóa. Sự oxy hóa về cơ bản xảy ra với gốc metionin, nhưng có thể xảy ra ở gốc tryptophan và gốc tự do xystein. Sự oxy hóa có thể xảy ra trong CDR, trong vùng Fab (không CDR), hoặc trong vùng Fc.

Sự oxy hóa có thể làm thay đổi điện tích của kháng thể, sao cho biến thể kháng thể được oxy hóa có tính axit so với kháng thể. Một số biến thể kháng thể được oxy hóa có cùng điện tích như kháng thể. Chế phẩm chứa kháng thể có thể chứa $\leq 55\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa. Ví dụ, bất kỳ một hoặc kết hợp của M64, M254, và/hoặc M430 của chuỗi nặng có thể được oxy hóa. Chế phẩm chứa kháng thể có thể chứa $\leq 55\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa ở bất kỳ một hoặc kết hợp của M64, M254, và/hoặc M430 của chuỗi nặng. Ví dụ, W52 của chuỗi nặng có thể được oxy hóa. Chế phẩm chứa kháng thể có thể chứa $\leq 3\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa ở W52 của chuỗi nặng.

Chế phẩm có thể chứa hỗn hợp của biến thể kháng thể. Do đó, chế phẩm chứa kháng thể có thể chứa ít nhất một sự thay đổi axit amin trong trình tự của chuỗi nặng của kháng thể và/hoặc ít nhất một sự thay đổi axit amin trong trình tự của chuỗi nặng của kháng thể. Ví dụ, chế phẩm chứa kháng thể có thể chứa biến thể kháng thể được khử amit ở vị trí 31 của chuỗi nhẹ; và/hoặc biến thể kháng thể được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng; và/hoặc oxy hóa ở bất kỳ một hoặc kết hợp của M64, M254, và/hoặc M430 và/hoặc W52 của chuỗi nặng.

Sự xáo trộn liên kết disulfua có thể xảy ra trong quá trình sản xuất và điều kiện lưu trữ bảo quản có tính bazơ. Dưới một số điều kiện, liên kết disulfua có thể bị bẻ gãy hoặc ở dạng không phù hợp, tạo ra gốc xystein không được bắt cặp (-SH). Sulfhydryl tự do (không được bắt cặp) này (-SH) có thể thúc đẩy sự sắp xếp lại trật tự.

N-terminal glutamin (Q) và glutamat (axit glutamic) (E) trong chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ có thể tạo ra pyroglutamat (pGlu) thông qua sự vòng hóa. Hầu hết quá trình tạo ra pGlu được cho là xảy ra trong thiết bị phản ứng sinh học của quá trình sản xuất, nhưng nó cũng có thể được tạo ra không cần enzyme xúc tác, phụ thuộc vào pH và nhiệt độ của điều kiện xử lý và lưu trữ. Sự vòng hóa của đầu cuối N Q hoặc E thường được quan sát trong kháng thể người tự nhiên. Chế phẩm chứa kháng thể được mô tả trong bản mô tả này có thể chứa $\geq 50\%$ pGlu ở đầu cuối N của kháng thể. PGlu có thể có mặt trong chuỗi nặng. Điều này có thể tạo ra một sự thay đổi axit amin trong

trình tự của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể, ví dụ trong $\geq 50\%$ chế phẩm chứa kháng thể.

Chế phẩm có thể chứa hỗn hợp của biến thể kháng thể. Sự thay đổi trình tự có thể tích lũy, sao cho chế phẩm chứa hai hoặc nhiều sự thay đổi trình tự trong chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ. Do đó, chế phẩm chứa kháng thể có thể chứa ít nhất một sự thay đổi axit amin trong trình tự của chuỗi nặng của kháng thể và/hoặc ít nhất một sự thay đổi axit amin trong trình tự của chuỗi nặng của kháng thể. Ví dụ, chế phẩm chứa kháng thể có thể chứa biến thể kháng thể được khử amit ở vị trí 31 của chuỗi nhẹ; và/hoặc biến thể kháng thể được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng; và/hoặc oxy hóa ở bất kỳ một hoặc kết hợp của M64, M254, và/hoặc M430 và/hoặc W52 của chuỗi nặng; và/hoặc pGlu ở đầu cuối N của chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ.

Sự cắt lysin đầu cuối C là phản ứng xúc tác bởi enzym được xúc tác bằng carboxypeptidaza, và thường được quan sát trong kháng thể tái tổ hợp và kháng thể người tự nhiên. Biến thể của quá trình xử lý này bao gồm sự loại bỏ lysin từ một hoặc cả hai chuỗi nặng do enzym tế bào từ tế bào vật chủ tái tổ hợp. Để sử dụng cho đối tượng là người/người bệnh có thể làm loại bỏ bất kỳ đầu cuối C lysin còn lại. Chế phẩm chứa kháng thể được mô tả trong bản mô tả này có thể chứa $\geq 50\%$ đầu cuối C được loại bỏ lysin ở đầu cuối C của kháng thể. K449 có thể được loại bỏ trong một hoặc cả hai chuỗi nặng của kháng thể. Do đó có hai biến thể kháng thể: sự chỉ loại bỏ lysin trong chuỗi nặng, và sự loại bỏ lysin kép trong chuỗi nặng. Kháng thể (cụ thể là, kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2) có cả lysin nguyên vẹn/hiện tại. Điều này có thể tạo ra một sự thay đổi axit amin trong trình tự của chuỗi nặng của kháng thể, ví dụ trong $\geq 50\%$ chế phẩm chứa kháng thể.

Chế phẩm có thể chứa hỗn hợp của biến thể kháng thể. Ví dụ, chế phẩm chứa kháng thể có thể chứa biến thể kháng thể được khử amit ở vị trí 31 của chuỗi nhẹ; và/hoặc biến thể kháng thể được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng; và/hoặc oxy hóa ở bất kỳ một hoặc kết hợp của M64, M254, và/hoặc M430 và/hoặc W52 của chuỗi nặng; và/hoặc pGlu ở đầu cuối N của chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ; và/hoặc đầu cuối C được loại bỏ lysin ở đầu cuối C.

Sự kết tụ hoặc phân mảnh biến thể kháng thể có thể có đặc trưng và được phân biệt từ kháng thể trên cơ sở kích thước của chúng. Ví dụ, sự phân bố kích thước của chế phẩm chứa kháng thể có thể được phát hiện bằng cách sử dụng sắc ký loại trừ kích thước (SEC).

Chế phẩm chứa kháng thể có thể chứa $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ. Biến thể kháng thể kết tụ có thể chứa dime. Chế phẩm có thể chứa hỗn hợp của biến thể kháng thể. Ví dụ, chế phẩm chứa kháng thể có thể chứa biến thể kháng thể được khử amit ở vị trí 31 của chuỗi nhẹ; và/hoặc biến thể kháng thể được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng; và/hoặc oxy hóa ở bất kỳ một hoặc kết hợp của M64, M254, và/hoặc M430 và/hoặc W52 của chuỗi nặng; và/hoặc pGlu ở đầu cuối N của chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ; và/hoặc đầu cuối C được loại bỏ lysin ở đầu cuối C; và/hoặc biến thể kháng thể kết tụ.

Chế phẩm được mô tả có thể được cho tham gia, hoặc trải qua, một hoặc nhiều sự biến đổi sau dịch mã. Sự biến đổi có thể xảy ra trong CDR, bộ khung vùng biến đổi, hoặc vùng hằng định. Sự biến đổi có thể làm thay đổi trong điện tích của phân tử. Sự biến đổi sau dịch mã và thay đổi trong trình tự axit amin chính được mô tả trên đây, không tạo ra sự thay đổi đáng kể trong ái lực gắn kết kháng nguyên, hoạt tính sinh học, PK/PD, sự kết tụ, tính tạo miễn dịch, hoặc gắn kết với thụ thể Fc, của chế phẩm. Chế phẩm hầu như không chứa tạp chất bản.

Chế phẩm chứa kháng thể chứa kháng thể và biến thể kháng thể được mô tả trên đây duy trì sự gắn kết kháng nguyên đặc hiệu và/hoặc sự gắn kết FcRn. Ví dụ, chế phẩm chứa kháng thể chứa kháng thể và biến thể kháng thể được mô tả trên đây có $\geq 0,70$ sự gắn kết kháng nguyên đặc hiệu IL-5; và/hoặc $\geq 70\%$ sự gắn kết FcRn. Do đó, các mức (%) của biến thể này có thể được sử dụng trong chế phẩm chứa kháng thể mà không ảnh hưởng đến chức năng.

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

Các hệ biểu hiện khác nhau và chế độ tinh chế có thể được sử dụng để tạo ra chế phẩm. Tế bào vật chủ thường được biến nạp với vector biểu hiện tái tổ hợp mã hóa kháng thể. Các tế bào vật chủ khác nhau có thể được sử dụng, bao gồm dòng tế bào có nhân có nguồn gốc từ động vật có vú (ví dụ, CHO, Perc6, HEK293, HeLa, NS0). Tế bào vật chủ thích hợp bao gồm tế bào động vật có vú như CHO (ví dụ, CHOK1 và CHO-DG44).

Tế bào vật chủ có thể là tế bào vật chủ được phân lập. Tế bào vật chủ thường không phải là một phần của sinh vật đa bào (ví dụ, thực vật hoặc động vật). Tế bào vật chủ có thể là tế bào vật chủ không phải từ người.

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

Tế bào có thể được nuôi cấy dưới điều kiện mà đẩy mạnh sự biểu hiện kháng thể. Ví dụ, thiết bị phản ứng sinh học của quá trình sản xuất được sử dụng để nuôi cấy tế bào. Thể tích thiết bị phản ứng sinh học của quá trình sản xuất có thể là: (i) khoảng 20.000 L, khoảng 10.000 L; khoảng 5.000 L; khoảng 2.000 L; khoảng 1.000 L; hoặc khoảng 500 L; hoặc (ii) trong khoảng 500 và 20.000 L; trong khoảng 500 và 10.000 L; trong khoảng 500 và 5.000 L; trong khoảng 1.000 và 10.000 L, hoặc trong khoảng 2.000 và 10.000 L. Ví dụ, tế bào có thể được nuôi cấy trong thiết bị phản ứng sinh học của quá trình sản xuất ở pH là khoảng 6,75 đến pH 7,00. Theo một phương án khác, tế bào có thể được nuôi cấy trong thiết bị phản ứng sinh học của quá trình sản xuất trong khoảng 12 đến khoảng 18 ngày. Theo một phương án khác, tế bào có thể được nuôi cấy trong thiết bị phản ứng sinh học của quá trình sản xuất ở pH là khoảng 6,75 đến pH 7,00, trong khoảng 12 đến khoảng 18 ngày. Bước nuôi cấy này có thể giúp kiểm soát mức của biến thể kháng thể được khử amit, ví dụ, để làm giảm mức của biến thể kháng thể được khử amit này.

Chế phẩm có thể được thu hồi và được tinh chế bằng phương pháp tinh chế protein truyền thống. Ví dụ, chế phẩm có thể được thu hoạch trực tiếp từ môi trường nuôi cấy. Việc thu hoạch của môi trường nuôi cấy tế bào có thể là thông qua quá trình làm sạch, ví dụ bằng ly tâm và/hoặc lọc sâu. Việc thu hồi của chế phẩm sau quá trình tinh chế để đảm bảo độ tinh khiết thích hợp.

Một hoặc nhiều bước tinh chế 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 bằng cách sử dụng nhựa, như protein A, G, hoặc L có thể được sử dụng để tinh chế chế phẩm. Theo một phương án khác, hoặc ngoài ra, nhựa trao đổi ion như nhựa trao đổi cation có thể được sử dụng để tinh chế chế phẩm. Theo một phương án khác, hoặc ngoài ra, nhựa sắc ký tương tác kỵ nước có thể được sử dụng để tinh chế chế phẩm. Theo một phương án khác, bước tinh chế bao gồm: bước sử dụng nhựa sắc ký ái lực, tiếp theo là bước sử dụng nhựa trao đổi cation, tiếp theo là bước sử dụng 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 pha loãng từ nhựa protein A và được xử lý ở pH 3,3 đến 3,7 trong 15 đến 240 phút. Bước sử dụng nhựa protein A này có thể giúp kiểm soát mức của biến thể kháng thể kết tụ, ví dụ, để làm giảm mức của biến thể kháng thể kết tụ này.

Dung dịch chứa chế phẩm có thể sau đó còn được tinh chế bằng lọc sâu và/hoặc lọc lớp kép.

Theo một phương án 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 Q-SEPHAROSE™ Fast Flow) ở pH tải là 8,3 đến 8,7. Dung dịch chứa chế phẩm có thể được pha loãng từ nhựa trao đổi anion và được duy trì trong 96 giờ hoặc nhỏ hơn. Bước sử dụng nhựa trao đổi anion này có thể giúp kiểm soát mức của biến thể kháng thể được khử amit, ví dụ, để làm giảm mức của biến thể kháng thể được khử amit này.

Tùy ý, guanidin và/hoặc amoni sulfat có thể được bổ sung dung dịch chứa chế phẩm, và được duy trì trong 15 đến 240 phút.

Theo một phương án 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 là 12 đến 27g protein /L nhựa. Ví dụ, dung dịch chứa chế phẩm có thể được pha loãng bằng cách sử dụng thể tích gradien rửa giải (đơn vị thể tích cơ sở; BV) là khoảng 9 đến khoảng 11, điểm cắt đỉnh rửa giải (% chiều cao đỉnh tối đa) là khoảng 17 đến khoảng

23 có thể được sử dụng trong việc rửa giải từ nhựa sắc ký tương tác kỵ nước. Bước sử dụng nhựa sắc ký tương tác kỵ nước này có thể giúp kiểm soát mức của biến thể kháng thể kết tụ, ví dụ, để làm giảm mức của biến thể kháng thể kết tụ.

Dung dịch chứa chế phẩm sau đó có thể được lọc để loại bỏ virus. Dung dịch chứa chế phẩm có thể sau đó được bào chế ở nồng độ kháng thể là khoảng 76 g protein/L đến khoảng 82 g protein/L, hoặc đến khoảng 100 g protein/L. Dung dịch chứa chế phẩm có thể được nạp đầy vào trong vật chứa và được kết đông. Phần phân ước của dung dịch chứa chế phẩm có thể được làm khô lạnh. Sản phẩm khô lạnh có thể được hoàn nguyên bằng cách bổ sung nước để tạo ra chế phẩm chứa 75 mg/L của protein, kháng thể mepolizumab kháng IL-5 đơn dòng và 20 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích và 0,05% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích ở pH là từ khoảng 6,8 đến khoảng 7,2.

Theo một phương án khác, chế phẩm theo sáng chế được tạo ra bằng cách sử dụng phương pháp tạo ra chế phẩm theo sáng chế.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa hỗn hợp thành phần tinh chế của kháng thể đơn dòng và chất đệm, trong đó chế phẩm này là ở pH từ 6,2 đến 6,6, trong đó chất đệm là histidin, phosphat, axit xitric, axit xitric monohydrat, xitrat hoặc muối của chúng, trong đó hỗn hợp thành phần tinh chế chứa dạng tương tự đặc trưng bởi đỉnh 65, đỉnh 78, đỉnh 88, đỉnh 92, đỉnh chính và đỉnh 112 được thể hiện trong Fig. 1, trong đó kháng thể này chứa trình tự axit amin chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2, và trong đó kháng thể được tạo ra từ tế bào buồng trứng chuột Hamster Trung Quốc.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa hỗn hợp thành phần tinh chế của kháng thể đơn dòng và chất đệm, trong đó chế phẩm này là ở pH từ 6,2 đến 6,6, trong đó chất đệm là phosphat hoặc muối của chúng, trong đó hỗn hợp thành phần tinh chế chứa dạng tương tự đặc trưng bởi đỉnh 65, đỉnh 78, đỉnh 88, đỉnh 92, đỉnh chính và đỉnh 112 được thể hiện trong Fig. 1, trong đó kháng thể này chứa trình tự axit amin chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin

của SEQ ID NO: 2, và trong đó kháng thể được tạo ra từ tế bào buồng trứng chuột Hamster Trung Quốc.

Theo một phương án khác của chế phẩm theo sáng chế, chất đệm là ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm natri phosphat diaxit heptahydrat, phosphat và axit xitric.

Theo một phương án khác, chế phẩm theo sáng chế chứa một thành phần được chọn từ thành phần chế phẩm thứ nhất bao gồm 16,1 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 3,9 mM axit xitric, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích, 0,02% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích và 0,05 mM EDTA; thành phần chế phẩm thứ hai bao gồm 15,2 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 4,8 mM axit xitric, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích, 0,02% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích và 0,05 mM EDTA; thành phần chế phẩm thứ ba bao gồm 15,8 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 4,2 mM axit xitric, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích, 0,02% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích và 0,05 mM EDTA; thành phần chế phẩm thứ tư bao gồm 16,3 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 3,7 mM axit xitric, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích, 0,02% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích và 0,05 mM EDTA; và thành phần chế phẩm thứ năm bao gồm 15,5 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 4,5 mM axit xitric, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích, 0,02% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích và 0,05 mM EDTA.

Tóm lại, sáng chế đề xuất:

1. Chế phẩm chứa kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 80\%$ biến thể kháng thể axit.
2. Chế phẩm theo mục 1, trong đó chế phẩm này có:
 - a) $\geq 0,70$ sự gắn kết kháng nguyên đặc hiệu IL-5; và/hoặc
 - b) $\geq 70\%$ sự gắn kết FcRn.

3. Chế phẩm theo mục 2, trong đó a) sự gắn kết kháng nguyên đặc hiệu nằm trong khoảng từ 0,70 đến 1,30; và/hoặc b) sự gắn kết FcRn nằm trong khoảng từ 70% đến 130%.
4. Chế phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục trên đây, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 35\%$ biến thể kháng thể được khử amit.
5. Chế phẩm theo theo mục bất kỳ trong số các mục trên đây, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 25\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N31 của trình tự axit amin chuỗi nhẹ.
6. Chế phẩm theo theo mục bất kỳ trong số các mục trên đây, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 35\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N386 của trình tự axit amin chuỗi nặng.
7. Chế phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục trên đây, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 55\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa ở bất kỳ một hoặc dạng kết hợp của:
 - a) M64 của trình tự axit amin chuỗi nặng;
 - b) M254 của trình tự axit amin chuỗi nặng; và/hoặc
 - c) M430 của trình tự axit amin chuỗi nặng.
8. Chế phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục trên đây, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 3\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa ở W52 của trình tự axit amin chuỗi nặng.
9. Chế phẩm theo bất kỳ một trong số 4 đến 8, trong đó lượng biến thể kháng thể được khử amit và/hoặc lượng biến thể được oxy hóa, được xác định bằng cách lập bản đồ peptit LC-MS/MS.
10. Chế phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục trên đây, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ.
11. Chế phẩm theo mục 10, trong đó biến thể kháng thể kết tụ chứa dime.
12. Chế phẩm theo mục 10 hoặc 11, trong đó lượng biến thể kháng thể kết tụ được xác định bằng SEC.
13. Chế phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục trên đây, trong đó chế phẩm này chứa: $\geq 50\%$ biến thể kháng thể được loại bỏ lysin K449 đầu cuối C của trình tự axit amin chuỗi nặng.

14. Chế phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục trên đây, trong đó chế phẩm này chứa: $\geq 50\%$ biến thể kháng thể pyro-glutamat đầu cuối N của trình tự axit amin chuỗi nặng.

15. Chế phẩm chứa kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 80\%$ biến thể kháng thể axit và $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ.

16. Chế phẩm chứa kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 25\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N31 của trình tự axit amin chuỗi nhẹ; và $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ.

17. Chế phẩm chứa kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 25\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N31 của trình tự axit amin chuỗi nhẹ; $\leq 55\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa ở M64 của trình tự axit amin chuỗi nặng; $\leq 3\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa ở W52 của trình tự axit amin chuỗi nặng; và $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ.

18. Chế phẩm chứa kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 25\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N31 của trình tự axit amin chuỗi nhẹ; $\leq 35\%$ biến

thể kháng thể được khử amit ở N386 của trình tự axit amin chuỗi nặng; và $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ.

19. Chế phẩm chứa kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 25\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N31 của trình tự axit amin chuỗi nhẹ; $\leq 35\%$ biến thể kháng thể được khử amit ở N386 của trình tự axit amin chuỗi nặng; $\leq 55\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa ở M64 của trình tự axit amin chuỗi nặng, M254 của trình tự axit amin chuỗi nặng, M430 của trình tự axit amin chuỗi nặng; $\leq 3\%$ biến thể kháng thể được oxy hóa ở W52 của trình tự axit amin chuỗi nặng; và $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ.

20. Chế phẩm chứa hỗn hợp thành phần tinh chế của kháng thể đơn dòng và chất đệm, trong đó chế phẩm này là ở pH từ 6,8 đến 7,2,

trong đó chất đệm là histidin, phosphat, axit xitric, xitrat hoặc muối của chúng,

trong đó hỗn hợp thành phần tinh chế chứa dạng tương tự đặc trưng bởi đỉnh 65, đỉnh 78, đỉnh 88, đỉnh 92, đỉnh chính và đỉnh 112 được thể hiện trong Fig. 1,

trong đó kháng thể này chứa trình tự axit amin chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2, và

trong đó kháng thể được tạo ra từ tế bào buồng trứng chuột Hamster Trung Quốc.

21. Chế phẩm theo mục 20, trong đó chất đệm là ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm natri phosphat diaxit heptahydrat, phosphat, axit xitric và xitrat.

22. Chế phẩm theo mục 20, trong đó chất đệm là natri phosphat, kali phosphat, hoặc natri xitrat.

23. Chế phẩm theo mục 20, trong đó chế phẩm này còn chứa đường, hydrat cacbon và/hoặc muối.

24. Chế phẩm theo mục 23, trong đó chế phẩm này chứa sucroza.

25. Chế phẩm chứa hỗn hợp thành phần tinh chế của kháng thể đơn dòng và chất đệm, trong đó chế phẩm này là ở pH từ 6,8 đến 7,2, trong đó chất đệm là phosphat hoặc muối của chúng, trong đó hỗn hợp thành phần tinh chế chứa dạng tương tự đặc trưng bởi đỉnh 65, đỉnh 78, đỉnh 88, đỉnh 92, đỉnh chính và đỉnh 112 được thể hiện trong Fig. 1, trong đó kháng thể này chứa trình tự axit amin chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2, và trong đó kháng thể được tạo ra từ tế bào buồng trứng chuột Hamster Trung Quốc.
26. Chế phẩm theo mục 25, trong đó chất đệm là ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm natri phosphat diaxit heptahydrat, phosphat, axit xitric và xitrat.
27. Chế phẩm theo mục 26, trong đó chế phẩm này còn chứa đường.
28. Chế phẩm theo mục 27, trong đó đường là sucroza.
29. Chế phẩm theo mục 28, trong đó chế phẩm này chứa polysorbat 80.
30. Chế phẩm theo mục 29, trong đó chế phẩm này chứa một thành phần được chọn từ thành phần chế phẩm thứ nhất bao gồm 20 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích và 0,05% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích; thành phần chế phẩm thứ hai bao gồm 15,5 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 3,9 mM axit xitric monohydrat, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích, 0,02% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích và 0,05 mM EDTA; và thành phần chế phẩm thứ ba bao gồm 26 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 15% khối lượng của sucroza theo thể tích và 0,065% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích.
31. Chế phẩm theo mục 29, trong đó kháng thể có hằng số phân ly bằng, hoặc nhỏ hơn, khoảng $3,5 \times 10^{-11}$ M đối với interleukin-5 ở người chứa trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 11.
32. Chế phẩm theo mục 31, trong đó nồng độ kháng thể đơn dòng khoảng 75 mg/mL hoặc khoảng 100 mg/mL.

33. Chế phẩm theo mục 30, trong đó kháng thể có hằng số phân ly bằng, hoặc nhỏ hơn, khoảng $3,5 \times 10^{-11}$ M đối với interleukin-5 ở người chứa trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 11.

34. Chế phẩm theo mục 33, trong đó nồng độ kháng thể đơn dòng khoảng 75 mg/mL hoặc khoảng 100 mg/mL.

35. Chế phẩm chứa:

- a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; và
- b) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 50% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

36. Chế phẩm theo mục 35, trong đó dạng chính của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở cystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở cystein 220.

37. Chế phẩm chứa:

- a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; và
- b) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 50% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm; và

- c) dạng axit của kháng thể chứa khoảng 20% đến khoảng 45% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

38. Chế phẩm theo mục 37, trong đó dạng axit của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm đỉnh 65 dạng axit, đỉnh 78 dạng axit, đỉnh 88 dạng axit và đỉnh 92 dạng axit.

39. Chế phẩm theo mục 38, trong đó dạng axit của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được khử amit được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 299, gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 317, gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 386 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31.

40. Chế phẩm theo mục 39, trong đó dạng chính của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

41. Chế phẩm theo mục 39, trong đó dạng axit của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.,

42. Chế phẩm theo mục 39, trong đó dạng chính của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc

axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220; và

trong đó dạng axit của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

43. Chế phẩm chứa:

- a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2;
- b) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 50% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm; và
- c) dạng bazơ của kháng thể chứa khoảng 1% đến khoảng 15% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

44. Chế phẩm theo mục 43, trong đó dạng bazơ của kháng thể chứa dạng bazơ có đỉnh 112.

45. Chế phẩm theo mục 44, trong đó dạng bazơ của kháng thể chứa chuỗi nặng có gốc đầu cuối carboxy mà là glyxin 448.

46. Chế phẩm theo mục 45, trong đó dạng chính của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc

axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

47. Chế phẩm theo mục 45, trong đó dạng bazơ của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 220.

48. Chế phẩm theo mục 45, trong đó dạng chính của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 220; và

trong đó dạng bazơ của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

49. Chế phẩm chứa:

- a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2;
- b) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 50% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm;
- c) dạng axit của kháng thể chứa khoảng 20% đến khoảng 45% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm; và
- d) dạng bazơ của kháng thể chứa khoảng 1% đến khoảng 15% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

50. Chế phẩm theo mục 49, trong đó dạng axit của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm đỉnh 65 dạng axit, đỉnh 78 dạng axit, đỉnh 88 dạng axit và đỉnh 92 dạng axit.

51. Chế phẩm theo mục 50, trong đó dạng axit của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được khử amit được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 299, gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 317, gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 386 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31.

52. Chế phẩm theo mục 49, trong đó dạng bazơ của kháng thể chứa dạng bazơ có đỉnh 112.

53. Chế phẩm theo mục 52, trong đó dạng bazơ của kháng thể chứa chuỗi nặng có gốc đầu cuối carboxy mà là glyxin 448.

54. Chế phẩm theo mục 49, trong đó dạng chính của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy

hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

55. Chế phẩm theo mục 49, trong đó dạng axit của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 220.

56. Chế phẩm theo mục 49, trong đó dạng bazơ của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

57. Chế phẩm theo mục 49, trong đó dạng chính của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222; và

trong đó dạng axit của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

58. Chế phẩm theo mục 49, trong đó dạng axit của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220; và

trong đó dạng bazơ của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

59. Chế phẩm theo mục 49, trong đó dạng chính của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit

amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220; và

trong đó dạng bazơ của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

60. Chế phẩm theo mục 49, trong đó dạng chính của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220;

trong đó dạng axit của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 220, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220; và

trong đó dạng bazơ của kháng thể chứa ít nhất một gốc axit amin được oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit

amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

61. Chế phẩm chứa:

- a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; và
- b) dạng được khử amit của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 299, gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 317, gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 386 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31.

62. Chế phẩm chứa:

- a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; và
- b) dạng được oxy hóa của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

63. Chế phẩm chứa:

- a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2;
- b) dạng được khử amit của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 299, gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 317, gốc axit amin chuỗi nặng được khử amit ở asparagin 386 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31; và
- c) dạng được oxy hóa của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở xystein 222, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 254, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 360, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 430, gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở xystein 220.

64. Chế phẩm chứa:

- a) kháng thể kháng IL-5 chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 10; và
- b) dạng được khử amit của kháng thể chứa gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31.

65. Chế phẩm chứa:

- a) kháng thể kháng IL-5 chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện trong

SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 10; và

- b) dạng được oxy hóa của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52 và gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64.

66. Chế phẩm chứa:

- a) kháng thể kháng IL-5 chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin CDRH1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin CDRH2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 6, và trình tự axit amin CDRH3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 7; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin CDRL1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRL2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 9, và trình tự axit amin CDRL3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 10;
- b) dạng được oxy hóa của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52 và gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64; và
- c) dạng được khử amit của kháng thể chứa gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31.

67. Chế phẩm chứa:

- a) kháng thể kháng IL-5 chứa vùng biến đổi trình tự chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 3 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trình tự có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 4; và
- b) dạng được khử amit của kháng thể chứa gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31.

68. Chế phẩm chứa:

- a) kháng thể kháng IL-5 chứa vùng biến đổi trình tự chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 3 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trình tự có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 4; và

- b) dạng được oxy hóa của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4.

69. Chế phẩm chứa:

- a) kháng thể kháng IL-5 chứa vùng biến đổi trình tự chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 3 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trình tự có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 4;
- b) dạng được khử amit của kháng thể chứa gốc axit amin chuỗi nhẹ được khử amit ở asparagin 31; và
- c) dạng được oxy hóa của kháng thể chứa ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở tryptophan 52, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 64, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 82, gốc axit amin chuỗi nặng được oxy hóa ở metionin 85 và gốc axit amin chuỗi nhẹ được oxy hóa ở metionin 4.

70. Chế phẩm chứa các kháng thể kháng IL-5 có:

- a) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nặng kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc pyroglutamat đầu cuối amino ở gốc axit amin 1, gốc axit amin glyxin đầu cuối carboxy ở gốc axit amin 448, gốc asparagin được khử amit ở vị trí 299, gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317, gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386, gốc tryptophan được oxy hóa ở vị trí 52, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85, xystein được oxy hóa ở vị trí 222, metionin được oxy hóa ở vị trí 254, metionin được oxy hóa ở vị trí 360 và gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430; và
- b) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nhẹ kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 2 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 và xystein được oxy hóa ở vị trí 220.

71. Chế phẩm theo mục 70, trong đó:

- a) khoảng nhiều hơn hoặc bằng 92% là các kháng thể chứa gốc pyroglutamat đầu cuối amino ở gốc axit amin 1 của chuỗi nặng kháng thể,
- b) khoảng nhiều hơn hoặc bằng 90% là các kháng thể chứa gốc axit amin glyxin đầu cuối carboxy ở gốc axit amin 448 của chuỗi nặng kháng thể,
- c) nhỏ hơn hoặc bằng 6,0% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng kháng thể;
- d) khoảng nhỏ hơn hoặc bằng 1,5% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64 của chuỗi nặng kháng thể,
- e) khoảng nhỏ hơn hoặc bằng 4,5% là các kháng thể chứa metionin được oxy hóa ở vị trí 254 của chuỗi nặng kháng thể,
- f) khoảng nhỏ hơn hoặc bằng 0,8% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430 của chuỗi nặng kháng thể, và
- g) khoảng nhỏ hơn hoặc bằng 6,6% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31 của chuỗi nhẹ kháng thể.

72. Chế phẩm theo mục 71, trong đó:

- a) khoảng 93,7% đến khoảng 98,6% là các kháng thể chứa gốc pyroglutamat đầu cuối amino ở gốc axit amin 1 của chuỗi nặng kháng thể,
- b) khoảng 97,6% đến khoảng 99,2% là các kháng thể chứa gốc axit amin glyxin đầu cuối carboxy ở gốc axit amin 448 của chuỗi nặng kháng thể,
- c) khoảng 0,4% đến khoảng 1,2% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317 của chuỗi nặng kháng thể,
- d) khoảng 1,6% đến khoảng 4,2% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng kháng thể;
- e) khoảng 0,7% đến khoảng 0,9% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64 của chuỗi nặng kháng thể,
- f) khoảng 0,3% đến khoảng 1,1% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82 của chuỗi nặng kháng thể hoặc gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85 của chuỗi nặng kháng thể,
- g) khoảng 2,6% đến khoảng 3,3% là các kháng thể chứa metionin được oxy hóa ở vị trí 254 của chuỗi nặng kháng thể,

- h) khoảng 0,5% đến khoảng 0,7% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430 của chuỗi nặng kháng thể,
- i) khoảng 3,4% đến khoảng 6,5% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31 của chuỗi nhẹ kháng thể, và
- j) khoảng 0,2% đến khoảng 0,8% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 của chuỗi nhẹ kháng thể.

73. Chế phẩm chứa các kháng thể kháng IL-5 có :

- a) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nặng kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc asparagin được khử amit ở vị trí 299, gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317, gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386, gốc tryptophan được oxy hóa ở vị trí 52, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85, xystein được oxy hóa ở vị trí 222, metionin được oxy hóa ở vị trí 254, metionin được oxy hóa ở vị trí 254, metionin được oxy hóa ở vị trí 360 và gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430; và
- b) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nhẹ kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 2 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 và xystein được oxy hóa ở vị trí 220.

74. Chế phẩm theo mục 73, trong đó:

- a) khoảng 0,3% đến khoảng 1,5% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317 của chuỗi nặng kháng thể,
- b) khoảng 1,5% đến khoảng 4,5% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng kháng thể;
- c) khoảng 0,5% đến khoảng 1,5% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64 của chuỗi nặng kháng thể,
- d) khoảng 0,2% đến khoảng 1,5% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82 của chuỗi nặng kháng thể hoặc gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85 của chuỗi nặng kháng thể,

- e) khoảng 2,5% đến khoảng 3,5% là các kháng thể chứa metionin được oxy hóa ở vị trí 254 của chuỗi nặng kháng thể,
- f) khoảng 0,4% đến khoảng 0,8% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430 của chuỗi nặng kháng thể,
- g) khoảng 3,3% đến khoảng 6,6% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31 của chuỗi nhẹ kháng thể, và
- h) khoảng 0,1% đến khoảng 1% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 của chuỗi nhẹ kháng thể.

75. Chế phẩm theo mục 74, trong đó:

- a) khoảng 0,4% đến khoảng 1,2% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317 của chuỗi nặng kháng thể,
- b) khoảng 1,6% đến khoảng 4,2% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng kháng thể;
- c) khoảng 0,7% đến khoảng 0,9% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64 của chuỗi nặng kháng thể,
- d) khoảng 0,3% đến khoảng 1,1% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82 của chuỗi nặng kháng thể hoặc gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85 của chuỗi nặng kháng thể,
- e) khoảng 2,6% đến khoảng 3,3% là các kháng thể chứa metionin được oxy hóa ở vị trí 254 của chuỗi nặng kháng thể,
- f) khoảng 0,5% đến khoảng 0,7% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430 của chuỗi nặng kháng thể,
- g) khoảng 3,4% đến khoảng 6,5% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31 của chuỗi nhẹ kháng thể, và
- h) khoảng 0,2% đến khoảng 0,8% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 của chuỗi nhẹ kháng thể.

76. Chế phẩm chứa các kháng thể kháng IL-5 có:

- a) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nặng kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc asparagin được khử amit ở vị trí 299, gốc

asparagin được khử amit ở vị trí 317 và gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386; và

- b) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nhẹ kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 2 chứa gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31.

77. Chế phẩm theo mục 76, trong đó:

- a) khoảng 0,3% đến khoảng 1,5% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317 của chuỗi nặng kháng thể,
- b) khoảng 1,5% đến khoảng 4,5% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng kháng thể; và
- c) khoảng 3,3% đến khoảng 6,6% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31 của chuỗi nhẹ kháng thể.

78. Chế phẩm theo mục 77, trong đó:

- a) khoảng 0,4% đến khoảng 1,2% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 317 của chuỗi nặng kháng thể,
- b) khoảng 1,6% đến khoảng 4,2% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở vị trí 386 của chuỗi nặng kháng thể; và
- c) khoảng 3,4% đến khoảng 6,5% là các kháng thể chứa gốc asparagin được khử amit ở gốc axit amin 31 của chuỗi nhẹ kháng thể.

79. Chế phẩm chứa các kháng thể kháng IL-5 có:

- a) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nặng kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc tryptophan được oxy hóa ở vị trí 52, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82, gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85, xystein được oxy hóa ở vị trí 222, metionin được oxy hóa ở vị trí 254, metionin được oxy hóa ở vị trí 360 và gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430; và
- b) dạng được biến đổi của trình tự axit amin chuỗi nhẹ kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 2 chứa ít nhất một sự biến đổi về gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 và xystein được oxy hóa ở vị trí 220.

80. Chế phẩm theo mục 79, trong đó:

- c) khoảng 0,5% đến khoảng 1,5% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64 của chuỗi nặng kháng thể,
- d) khoảng 0,2% đến khoảng 1,5% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82 của chuỗi nặng kháng thể hoặc gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85 của chuỗi nặng kháng thể,
- e) khoảng 2,5% đến khoảng 3,5% là các kháng thể chứa metionin được oxy hóa ở vị trí 254 của chuỗi nặng kháng thể,
- f) khoảng 0,4% đến khoảng 0,8% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430 của chuỗi nặng kháng thể, và
- g) khoảng 0,1% đến khoảng 1% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 của chuỗi nhẹ kháng thể.

81. Chế phẩm theo mục 80, trong đó:

- a) khoảng 0,7% đến khoảng 0,9% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 64 của chuỗi nặng kháng thể,
- b) khoảng 0,3% đến khoảng 1,1% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 82 của chuỗi nặng kháng thể hoặc gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 85 của chuỗi nặng kháng thể,
- c) khoảng 2,6% đến khoảng 3,3% là các kháng thể chứa metionin được oxy hóa ở vị trí 254 của chuỗi nặng kháng thể,
- d) khoảng 0,5% đến khoảng 0,7% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 430 của chuỗi nặng kháng thể, và
- e) khoảng 0,2% đến khoảng 0,8% là các kháng thể chứa gốc metionin được oxy hóa ở vị trí 4 của chuỗi nhẹ kháng thể.

82. Chế phẩm chứa:

- a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; và

- b) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 20% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

83. Chế phẩm chứa:

- a) kháng thể kháng IL-5 chứa trình tự chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2;
- b) dạng chính của kháng thể chứa nhiều hơn, hoặc bằng, 20% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm; và
- c) dạng axit của kháng thể chứa lên đến khoảng 80% là protein trong chế phẩm như được xác định bằng cách sử dụng điện di mao quản hội tụ đẳng điện đối với chế phẩm.

84. Chế phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục trên đây để điều trị bệnh được chọn từ nhóm bao gồm hen suyễn, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan trầm trọng, hen suyễn nặng, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan ở mức nhỏ, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, viêm mạch và đa u hạt dị ứng, hội chứng tăng bạch cầu ái toan, polyp mũi xoang, bệnh pemphigoid bong nước và bệnh viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan.

85. Chế phẩm theo mục 20 đến 83, trong đó chế phẩm này có:

- a) $\geq 0,70$ sự gắn kết kháng nguyên đặc hiệu IL-5; và/hoặc
- b) $\geq 70\%$ sự gắn kết FcRn.

86. Chế phẩm theo mục 20 đến 83, trong đó a) sự gắn kết kháng nguyên đặc hiệu nằm trong khoảng từ 0,70 đến 1,30; và/hoặc b) sự gắn kết FcRn nằm trong khoảng từ 70% đến 130%.

87. Chế phẩm theo mục 20 đến 83, trong đó chế phẩm này chứa: $\leq 20\%$ biến thể kháng thể kết tụ.

88. Chế phẩm theo mục 20 đến 83, trong đó biến thể kháng thể kết tụ chứa dime.

89. Phương pháp tạo ra chế phẩm theo mục từ 1 đến 83, bao gồm các bước:

- a) biểu hiện trong tế bào vật chủ kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, hoặc biến thể kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nặng này và/hoặc trình tự axit amin chuỗi nhẹ ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin chuỗi nhẹ này;
 - b) phát triển tế bào ở pH là khoảng 6,75 đến khoảng 7,00 trong khoảng 12 đến khoảng 18 ngày đối với tế bào in vitro có độ tuổi nhỏ hơn hoặc bằng 166 ngày;
 - c) thu hoạch dịch nổi môi trường nuôi cấy tế bào;
 - d) cho dịch nổi môi trường nuôi cấy tế bào tiếp xúc với nhựa protein A hoặc nhựa protein G để gắn kết phân tử kháng thể;
 - e) rửa giải phân tử kháng thể từ nhựa để tạo ra dịch rửa giải thứ nhất;
 - f) xử lý dịch rửa giải thứ nhất ở pH là khoảng 3,3 đến khoảng 3,7 trong khoảng 15 đến khoảng 240 phút để tạo ra dịch rửa giải thứ nhất được xử lý;
 - g) cho dịch rửa giải thứ nhất được xử lý tiếp xúc với nhựa trao đổi anion ở pH tải là khoảng 8,3 đến khoảng 8,7;
 - h) thu gom dịch rửa giải thứ hai từ nhựa trao đổi anion và giữ nhựa này trong khoảng 96 giờ hoặc nhỏ hơn;
 - i) xử lý dịch rửa giải thứ hai với guanidin và amoni sulfat để tạo ra dung dịch;
 - j) cho dung dịch tiếp xúc với tầng nhựa sắc ký tương tác kỵ nước ở tỷ lệ tải là khoảng 12 g protein/L nhựa đến khoảng 27 g protein/L của nhựa;
 - k) rửa giải dịch rửa giải thứ ba chứa phân tử kháng thể từ nhựa sắc ký tương tác kỵ nước với thể tích gradien rửa giải là khoảng 9 thể tích tầng nhựa đến khoảng 11 thể tích tầng nhựa và điểm cắt đỉnh rửa giải là khoảng 17% chiều cao đỉnh tối đa đến khoảng 23% chiều cao đỉnh tối đa; và
 - l) bào chế dịch rửa giải thứ ba;
- nhờ đó chế phẩm theo mục từ 1 đến 83 được tạo ra.

90. Chế phẩm theo mục từ 1 đến 83 được tạo ra bằng phương pháp theo mục 89.

91. Chế phẩm chứa hỗn hợp thành phần tinh chế của kháng thể đơn dòng và chất đệm,

trong đó chế phẩm này là ở pH từ 6,2 đến 6,6,

trong đó chất đệm là histidin, phosphat, axit xitric, axit xitric monohydrat, xitrat hoặc muối của chúng,

trong đó hỗn hợp thành phần tinh chế chứa dạng tương tự đặc trưng bởi đỉnh 65, đỉnh 78, đỉnh 88, đỉnh 92, đỉnh chính và đỉnh 112 được thể hiện trong Fig. 1,

trong đó kháng thể này chứa trình tự axit amin chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2, và

trong đó kháng thể được tạo ra từ tế bào buồng trứng chuột Hamster Trung Quốc.

92. Chế phẩm theo mục 91, trong đó chất đệm là ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm natri phosphat diaxit heptahydrat, phosphat, axit xitric và axit xitric monohydrat.

93. Chế phẩm theo mục 91, trong đó chất đệm là natri phosphat, kali phosphat, axit xitric, axit xitric monohydrat hoặc natri xitrat.

94. Chế phẩm theo mục 91, trong đó chế phẩm này còn chứa đường, hydrat cacbon và/hoặc muối.

95. Chế phẩm theo mục 94, trong đó chế phẩm này chứa sucroza.

96. Chế phẩm chứa hỗn hợp thành phần tinh chế của kháng thể đơn dòng và chất đệm, trong đó chế phẩm này là ở pH từ 6,2 đến 6,6,

trong đó chất đệm là phosphat hoặc muối của chúng,

trong đó hỗn hợp thành phần tinh chế chứa dạng tương tự đặc trưng bởi đỉnh 65, đỉnh 78, đỉnh 88, đỉnh 92, đỉnh chính và đỉnh 112 được thể hiện trong Fig. 1,

trong đó kháng thể này chứa trình tự axit amin chuỗi nặng có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ có ít nhất 90% tương đồng với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2, và

trong đó kháng thể được tạo ra từ tế bào buồng trứng chuột Hamster Trung Quốc.

97. Chế phẩm theo mục 96, trong đó chất đệm là ít nhất một dạng được chọn từ nhóm bao gồm natri phosphat diaxit heptahydrat, phosphat, axit xitric, axit xitric monohydrat và xitrat.

98. Chế phẩm theo mục 97, trong đó chế phẩm này còn chứa đường.

99. Chế phẩm theo mục 98, trong đó đường là sucroza.

100. Chế phẩm theo mục 99, trong đó chế phẩm này chứa polysorbat 80.

101. Chế phẩm theo mục 100, trong đó chế phẩm này chứa một thành phần được chọn từ thành phần chế phẩm thứ nhất bao gồm 16,1 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 3,9 mM axit xitric monohydrat, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích, 0,02% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích và 0,05 mM EDTA; thành phần chế phẩm thứ hai bao gồm 15,2 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 4,8 mM axit xitric monohydrat, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích, 0,02% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích và 0,05 mM EDTA; thành phần chế phẩm thứ ba bao gồm 15,8 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 4,2 mM axit xitric monohydrat, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích, 0,02% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích và 0,05 mM EDTA; thành phần chế phẩm thứ tư bao gồm 16,3 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 3,7 mM axit xitric monohydrat, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích, 0,02% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích và 0,05 mM EDTA; và thành phần chế phẩm thứ năm bao gồm 15,5 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 4,5 mM axit xitric monohydrat, 12% khối lượng của sucroza theo thể tích, 0,02% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích và 0,05 mM EDTA.

102. Chế phẩm theo mục 100, trong đó kháng thể có hằng số phân ly bằng, hoặc nhỏ hơn, khoảng $3,5 \times 10^{-11}$ M đối với interleukin-5 ở người chứa trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 11.

103. Chế phẩm theo mục 100, trong đó nồng độ kháng thể đơn dòng khoảng 75 mg/mL hoặc khoảng 100 mg/mL.

104. Chế phẩm theo mục 102, trong đó kháng thể có hằng số phân ly bằng, hoặc nhỏ hơn, khoảng $3,5 \times 10^{-11}$ M đối với interleukin-5 ở người chứa trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 11.

105. Chế phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục trên đây, trong đó kháng thể ở nồng độ nằm trong khoảng 75 mg/ml đến khoảng 100 mg/ml.

106. Chế phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục trên đây, trong đó chế phẩm này còn chứa một thành phần hoặc hỗn hợp của:

a) chất đệm được chọn từ nhóm bao gồm natri phosphat diaxit heptahydrat, phosphat, xitrat, natri phosphat, kali phosphat, natri xitrat, và histidin, miễn là pH nằm trong khoảng 6,8 và 7,2; và/hoặc

b) đường; và/hoặc

c) polysorbat 80; và/hoặc d) EDTA.

107. Chế phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục trên đây, trong đó chế phẩm này còn chứa một thành phần hoặc hỗn hợp của:

a) chất đệm được chọn từ nhóm bao gồm natri phosphat diaxit heptahydrat, phosphat, xitrat, axit xitric monohydrat, natri phosphat, kali phosphat, natri xitrat, và histidin, miễn là pH nằm trong khoảng 6,2 và 6,6; và/hoặc

b) đường; và/hoặc

c) polysorbat 80; và/hoặc d) EDTA.

108. Chế phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ 1 đến 107, để sử dụng trong trị liệu.

109. Chế phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ 1 đến 107, để sử dụng trong điều trị hen suyễn, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan trầm trọng, hen suyễn nặng, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan không kiểm soát, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan, hen suyễn tăng bạch cầu ái toan ở mức nhỏ, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, viêm mạch và đa u hạt dị ứng, hội chứng tăng bạch cầu ái toan, polyp mũi xoang, bệnh pemphigoid bong nước và bệnh viêm thực quản tăng bạch cầu ái toan.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Bào chế chế phẩm

Các mẻ của chế phẩm chứa kháng thể kháng IL-5 đơn dòng mepolizumab được tạo ra.

Chất cấy truyền tế bào buồng trứng chuột Hamster Trung Quốc được chuyển nhiễm một cách ổn định với cấu trúc vector biểu hiện chứa trình tự axit nucleic được thể hiện SEQ ID NO: 13 và SEQ ID NO: 14 được nuôi cấy trong thiết bị phản ứng sinh học dung tích 5000 L chứa môi trường nuôi cấy tế bào lỏng. Kháng thể trưởng thành được mã hóa bằng các axit nucleic này là mepolizumab và chứa trình tự axit amin chuỗi nặng được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ được thể hiện trong SEQ ID NO: 2.

Thiết bị phản ứng sinh học được vận hành ở nhiệt độ là khoảng 34,5°C đến khoảng 35,5°C. Không khí và oxy được thổi vào trong môi trường nuôi cấy và pH là khoảng 6,75 đến 7,00 được duy trì. Thời gian nuôi cấy là khoảng 12 đến 18 ngày. Độ tuổi tế bào in vitro (số ngày nuôi cấy từ khi rã đông ngân hàng tế bào chủ đến khi thu hoạch sản phẩm) là 166 ngày hoặc nhỏ hơn. Sau đó, dịch nổi môi trường nuôi cấy tế bào được tinh chế được thu hoạch bằng ly tâm và lọc sâu môi trường nuôi cấy tế bào. Dịch nổi bề mặt được tinh chế này sau đó được cho sắc ký protein A và tạp chất được cho chảy ra khỏi cột sắc ký. Protein gắn kết bao gồm phân tử kháng thể sau đó được pha loãng từ cột protein, được xử lý ở pH là khoảng 3,3 đến 3,7 trong khoảng 15 đến 240 phút. Thành phần hỗn hợp được xử lý này sau đó được điều chỉnh đến khoảng pH 4,3 đến 4,7 và được duy trì trong khoảng 20 đến 1110 phút. Thành phần hỗn hợp được xử lý này sau đó được tinh chế thông qua đường lọc của bộ lọc sâu và bộ lọc lớp kép 0,5/0,2 μm . Hỗn hợp thành phần được lọc sau đó được cho sắc ký trao đổi anion Q-SEPHAROSE™ Fast Flow ở pH tải là khoảng 8,3 đến 8,7 và được pha loãng từ cột sắc ký. Dịch rửa giải này sau đó được duy trì trong khoảng 96 giờ hoặc nhỏ hơn. Guanidin và amoni sulfat sau đó được bổ sung. Guanidin được bổ sung đến nồng độ là khoảng 1,8 M đến 2,2 M và được duy trì trong khoảng 15 đến 240 phút. Dung dịch này sau đó được cho sắc ký dòng chảy nhanh phenyl SEPHAROSE™ ở tỷ lệ tải là khoảng 12 g protein/L nhựa đến khoảng 27 g/L nhựa, thể tích gradien rửa giải (đơn vị thể tích cơ sở; BV) là khoảng 9 đến khoảng 11, và điểm cắt đỉnh rửa giải (% chiều cao đỉnh tối đa) là khoảng 17 đến khoảng 23. Việc lọc virus sau đó được thực hiện bằng cách sử dụng bộ loại bỏ virus Planova 20N. Phần nước lọc này sau đó được điều chỉnh để nồng độ đích là khoảng 46 g protein/L đến khoảng 66 g protein/L và khối thuốc (bulk drug substances - BDS) được bào chế bằng lọc tiếp tuyến và trao đổi siêu lọc với dung dịch chứa khoảng 20 mM natri phosphat diaxit heptahydrat và 12% khối lượng

của sucroza theo thể tích. Dung dịch này sau đó được điều chỉnh để nồng độ đích là 76 g protein/L đến khoảng 82 g protein/L và khoảng 0,05% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích được bổ sung. Dung dịch này sau đó được lọc thông qua bộ lọc PES 0,5/0,2 μm và vật chứa dung dịch được nạp đầy và được kết đông. Sản phẩm thuốc được sản xuất bằng cách sử dụng quá trình sản xuất vô trùng bao gồm rửa đông và kết hợp vào thể tích vật chứa, tiếp theo là lọc thể tích vào trong lọ, làm khô lạnh sản phẩm, đóng nắp bằng nút và cuộn mép bằng quá trình sản xuất đã biết trong lĩnh vực này. Sản phẩm thuốc thành phẩm là sản phẩm thuốc được làm khô lạnh trong lọ riêng rẽ.

Sản phẩm khô lạnh từ mỗi mẻ được tạo ra được hoàn nguyên bằng cách bổ sung nước để tạo ra chế phẩm chứa 100 mg/mL của protein, kháng thể mepolizumab kháng IL-5 đơn dòng và 26 mM natri phosphat diaxit heptahydrat, 15% khối lượng của sucroza theo thể tích và 0,065% khối lượng của polysorbat 80 theo thể tích ở pH là từ khoảng 6,8 đến khoảng 7,2.

Ví dụ 2

Xác định đặc tính của chế phẩm

Mẫu từ mẻ của chế phẩm chứa kháng thể kháng IL-5 đơn dòng được tạo ra như được mô tả trên đây được xác định đặc tính.

Điện di mao quản hội tụ đẳng điện (cIEF) cho thấy sự xuất hiện ổn định của sáu dạng tương tự của kháng thể trong chế phẩm (ví dụ, chế phẩm tiêu chuẩn tham chiếu (RS) 101245722). Xem, Fig. 1. Các dạng tương tự này là dạng tương tự có đỉnh 65, đỉnh 78, đỉnh 88, đỉnh 92, đỉnh chính và đỉnh 112 được thể hiện trong Fig. 1. Mẫu của chế phẩm được cho cIEF bằng cách sử dụng phương pháp chuẩn. Tiêu chuẩn PI 7,9 và pI 9,46 bao gồm trong mẫu được phân tích bằng cIEF. Điện di đồ cIEF được thể hiện trong Fig. 1 đại diện cho các dạng tương tự đối với chế phẩm từ các mẻ.

Điện di đồ cho thấy chế phẩm chứa dạng chính, dạng axit và dạng bazơ của kháng thể. Dạng chính có thể được quan sát trong Fig. 1 và cũng được xác định như đỉnh 100 trong một số trường hợp. Dạng axit của kháng thể tương ứng với các dạng có đỉnh 65, đỉnh 78, đỉnh 88 và đỉnh 92 của Fig. 1, dạng bazơ của kháng thể tương ứng với dạng đỉnh 112 của Fig. 1.

Công thức được sử dụng để thiết lập đỉnh như sau:

$tên\ đỉnh = \text{int}\{(pI_{đỉnh} - 8)/(pI_{chính} - 8) * 100\}$ trong đó: int = số nguyên và $pI_{đỉnh}$ = pI của đỉnh được đặt tên. Bảng 7 thể hiện quy ước đặt tên đỉnh đối với điện di đồ cIEF của chế phẩm chứa kháng thể kháng IL-5 đơn dòng. Tên của đỉnh được xác định như được mô tả trong bản mô tả này tốt hơn là được xác định trên cơ sở mẫu điện di/sắc ký được quan sát. Đỉnh mà không nằm trong khoảng được mô tả bản mô tả này tốt hơn là được xử lý theo Công thức trên đây.

Bảng 7. Xác định đỉnh cIEF

	Đỉnh	Đỉnh	Đỉnh	Đỉnh	Đỉnh	Đỉnh	Đỉnh	Đỉnh
Đỉnh với								
Thời gian lưu nhiều hơn	62	75	85	89	100	103	109	120
Thời gian lưu nhỏ hơn	68	81	91	95	100	109	115	126
Được ghi nhận là đỉnh	Đỉnh 65	Đỉnh 78	Đỉnh 88	Đỉnh 92	Đỉnh 100	Đỉnh 106	Đỉnh 112	Đỉnh 123

Phân tích tích phân của đỉnh điện di đồ được thực hiện. Xem, Bảng 8.

Bảng 8. Tổng diện tích đỉnh trong điện di đồ cIEF chọn lọc của các mẻ chế phẩm khác nhau.

Mẻ MDS1			Mẻ MDS2		
T04L009	T04M001	T04N002	T0414001 (PPQ ¹ 1)	T0414002 (PPQ ¹ 2)	T0414003 (PPQ ¹ 3)
Điện tích dạng tương tự bằng cIEF					
Diện tích đỉnh	Diện tích đỉnh	Diện tích đỉnh	Diện tích đỉnh	Diện tích đỉnh	Diện tích đỉnh
61,2% đối với đỉnh chính;	63,9% đối với đỉnh chính;	60,6% đối với đỉnh chính;	58,1% đối với đỉnh chính;	61,8% đối với đỉnh chính;	62,3% đối với đỉnh chính;
37,5% đối với tổng đỉnh có tính axit;	34,4% đối với tổng đỉnh có tính axit;	38,0% đối với tổng đỉnh có tính axit;	37,1% đối với tổng đỉnh có tính axit;	34,1% đối với tổng đỉnh có tính axit;	33,0% đối với tổng đỉnh có tính axit;
1,2% đối với tổng đỉnh có tính bazơ	1,6% đối với tổng đỉnh có tính bazơ	1,3% đối với tổng đỉnh có tính bazơ	4,9% đối với tổng đỉnh có tính bazơ	4,0% đối với tổng đỉnh có tính bazơ	4,7% đối với tổng đỉnh có tính bazơ

Điều này thể hiện dạng chính có mặt nhiều hơn hoặc bằng 50,0% tổng diện tích đỉnh trong mẫu (với giá trị giữa từ khoảng 58,1% và 62,3% như được quan sát). Điều này cũng thể hiện dạng axit có mặt nhỏ hơn hoặc bằng 45,0% tổng diện tích đỉnh trong mẫu (với giá trị nằm trong khoảng từ khoảng 20% đến khoảng 45% như 32,2% và 40,7% như được quan sát). Dạng bazơ có mặt từ khoảng 1% đến khoảng 15% tổng diện tích đỉnh trong mẫu (với giá trị nằm trong khoảng từ khoảng 1,2% đến khoảng 4,9% như được quan sát).

Phần đỉnh của dạng chính, dạng axit và dạng bazơ được tạo ra từ cIEF sau đó còn được phân tích bằng trao đổi cation yếu (weak cation exchange - WCX), lập bản đồ peptit trypsin và phân tích quang phổ khối lượng-sắc ký lỏng/quang phổ khối lượng (LC-MS/MS). Phương pháp chuẩn được sử dụng đối với các phân tích này.

Kết quả WCX, lập bản đồ peptit trypsin và LC-MS/MS thể hiện rằng phân đoạn đỉnh chính chứa hai sự biến đổi IgG₁ mAb. Do đó, trong trình tự axit amin chuỗi nặng kháng thể của SEQ ID NO: 99,6% của đầu cuối N glutamin (Gln, Q) được vòng hóa thành pyroaxit glutamic (pGlu) và 99,9% của chuỗi nặng (HC) đầu cuối C lysin (Lys, K) 449 bị phân cắt. Mức pGlu thường trong mẻ được thử nghiệm là >95,0% và mức của chuỗi nặng không có mức đầu cuối C K449 là > 98,0%.

Kết quả WCX, lập bản đồ peptit trypsin và LC-MS/MS cũng thể hiện đối với đỉnh dạng axit mà độ chuyển dịch khối một Dalton đặc trưng bởi của sự khử amit được quan sát. Việc lập bản đồ peptit LC-MS/MS còn chứng minh đỉnh dạng axit chứa hỗn hợp của dạng kháng thể được khử amit. Sự khử amit chủ yếu được quan sát ở chuỗi nặng N386 của trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và ở chuỗi nhẹ N31 của trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2. Mức thấp hơn của sự khử amit cũng được quan sát ở chuỗi nặng N317 của trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1.

Nói chung, dữ liệu thử nghiệm này thể hiện rằng gốc asparagin chuỗi nặng N317, chuỗi nặng N386, chuỗi nặng N299 của trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ N31 của trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2 nhạy với sự khử amit.

Kết quả WCX, lập bản đồ peptit trypsin và LC-MS/MS này cũng thể hiện đối với đỉnh dạng bazơ mà các dạng kháng thể trong các đỉnh này có ít nhất một chuỗi nặng, lysin gốc axit amin đầu cuối carboxy giữ nguyên không đổi. Dạng kháng thể với lysin giữ nguyên không đổi, liên quan đến các dạng khác trong đó gốc này vắng mặt, sẽ di chuyển trong vùng có tính bazơ do điện tích dương bổ sung từ các gốc này. Do đó, dạng bazơ, như đỉnh 112, tương ứng với các dạng kháng thể trong đó một, hoặc cả, trình tự axit amin chuỗi nặng có trình tự axit amin lysin đầu cuối carboxy được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 giữ nguyên không đổi.

Việc giải trình tự cơ bản của chế phẩm chứa kháng thể kháng IL-5 đơn dòng cũng được thực hiện bằng kỹ thuật LC-MS/MS chuẩn. Các phân tích này kiểm tra sự tạo cấu trúc cơ bản và trình tự axit amin của phân tử kháng thể trong chế phẩm. Cụ thể là, các phân tích này thể hiện rằng gốc axit amin được khử amit, được oxy hóa, được vòng hóa hoặc không có mặt trong kháng thể kháng IL-5 và phần trăm của chúng trong các kháng thể kháng IL-5 (ví dụ, được biểu hiện từ trình tự axit nucleic của SEQ ID NO: 13 và trình tự axit nucleic của SEQ ID NO: 14) có mặt trong chế phẩm. Xem, bảng 9.

Bảng 9. Kháng thể trình tự cơ bản bằng cách lập bản đồ peptit LC-MS/MS.

Mẻ MDS1			Mẻ MDS2		
T04L009	T04M001	T04N002	T0414001 (PPQ ¹ 1)	T0414002 (PPQ ¹ 2)	T0414003 (PPQ ¹ 3)
Trình tự cơ bản bằng cách lập bản đồ peptit LC-MS/MS					
Sự khử amit 1,0% của chuỗi nặng (HC hoặc H) asparagin (N) 317 ;	Sự khử amit 1,1% của chuỗi nặng N317;	Sự khử amit 1,1% của chuỗi nặng N317;	Sự khử amit 1,1% của chuỗi nặng N317;	Sự khử amit 1,2% của chuỗi nặng N317;	Sự khử amit 1,1% của chuỗi nặng N317;
1,9% của chuỗi nặng N386;	2,2% của chuỗi nặng N386;	1,6% của chuỗi nặng N386;	1,7% của chuỗi nặng N386;	1,6% của chuỗi nặng N386;	1,9% của chuỗi nặng N386;
5,8% của chuỗi nhẹ (LC hoặc L) N31	6,5% của chuỗi nhẹ N31	6,2% của chuỗi nhẹ N31	5,6% của chuỗi nhẹ N31	6,5% của chuỗi nhẹ N31	6,2% của chuỗi nhẹ N31
HC 1-5 pGlu 93,7%;	HC 1-5 pGlu 94,6%;	HC 1-5 pGlu 94,0%;	HC 1-5 pGlu 93,7%;	HC 1-5 pGlu 94,6%;	HC 1-5 pGlu 95,3%;
	HC 449 Lys	HC 449 Lys	HC 449 Lys bị	HC 449 Lys	HC 449 Lys bị cắt

Mê MDS1			Mê MDS2		
T04L009	T04M001	T04N002	T0414001 (PPQ ¹ 1)	T0414002 (PPQ ² 2)	T0414003 (PPQ ³ 3)
HC 449 Lys bị cắt 99,2%	bị cắt 98,4%	bị cắt 97,6%	cắt 99,2%	bị cắt 98,9%	98,5%
Oxy hóa 0,9% của chuỗi nặng metionin (M) 64; 1,1% của chuỗi nặng M82/85; 3,0% của chuỗi nặng M254; 0,7% của chuỗi nặng M360; 0,6% của chuỗi nặng M430; 0,8% của chuỗi nhẹ M4	Oxy hóa = 1,0% của chuỗi nặng M64; 0,7% của chuỗi nặng M82/85; 2,9% của chuỗi nặng M254; 0,5% của chuỗi nặng M360; 0,6% của chuỗi nặng M430; 0,4% của chuỗi nhẹ M4	Oxy hóa = 0,8% của chuỗi nặng M64; 0,8% của chuỗi nặng M82/85; 3,1% của chuỗi nặng M254; 0,5% của chuỗi nặng M360; 0,6% của chuỗi nặng M430; 0,5% của chuỗi nhẹ M4	Oxy hóa = 0,7% của chuỗi nặng M64; 0,7% của chuỗi nặng M82/85; 2,6% của chuỗi nặng M254; 0,4% của chuỗi nặng M360; 0,5% của chuỗi nặng M430; 0,3% của chuỗi nhẹ M4	Oxy hóa = 0,8% của chuỗi nặng M64; 0,7% của chuỗi nặng M82/85; 2,7% của chuỗi nặng M254; 0,4% của chuỗi nặng M360; 0,5% của chuỗi nặng M430; 0,4% của chuỗi nhẹ M4	Oxy hóa = 0,7% của chuỗi nặng M64; 0,7% của chuỗi nặng 82/85; 2,7% của chuỗi nặng M254; 0,5% của chuỗi nặng M360; 0,6% của chuỗi nặng M430; 0,5% của chuỗi nhẹ M4

Biến thể kháng thể

Mepolizumab gắn kết với IL-5 hòa tan và phong bế IL-5 hòa tan không gắn kết với thụ thể của nó. Cấu trúc của IL-5 là chỉ báo của protein được tiết và không có bất kỳ dữ liệu nào về bất kỳ dạng liên kết màng của IL-5 trên các loại tế bào bất kỳ. Do đó, vai trò đáp ứng lại kích thích Fc không phải là một phần của cơ chế tác động của mepolizumab (Mechanism of action - MOA). Trên cơ sở MOA và đặc tính PK của mepolizumab, có hai chức năng tham gia vào hoạt tính sinh học của kháng thể này: gắn kết với IL-5 thông qua CDR, và gắn kết với thụ thể FcRn thông qua vùng Fc.

Thông qua các nghiên cứu xác định đặc tính tập trung được thực hiện trên đây và như được mô tả sau đây, đã xác định được rằng ít nhất sự khử amit, oxy hóa, và kết tụ có thể tạo ra biến thể kháng thể trong chế phẩm của mepolizumab, và biến thể này có thể ảnh hưởng đến chức năng của mepolizumab. Mức cụ thể của biến thể này tốt hơn là được duy trì để đảm bảo chức năng sinh lý phù hợp. Chức năng trong bản mô tả này được mô tả trong khoảng có thể chấp nhận được là 0,70-1,30 hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu (Sự gắn kết IL5) và 70%-130% sự gắn kết FcRn. Do đó bước để xác định biến thể kháng thể mà ảnh hưởng đến chức năng bao gồm: (i) biến thể kháng thể được tạo ra, (ii) biến thể có ảnh hưởng đến chức năng, và (iii) mức nào của biến thể có thể tạo ra thành phần chức năng.

Chức năng

Sự gắn kết IL-5: phân tích thống kê được thực hiện để xác định khả năng hoạt tính chức năng gắn kết kháng nguyên có thể chấp nhận được bằng cách sử dụng tất cả các dữ liệu về độ ổn định và giải phóng dược chất (drug substance - DS) và sản phẩm thuốc (drug product - DP) được tạo ra đến thời điểm hiện tại. Khoảng thống kê được tính được so với kinh nghiệm lâm sàng và được đánh giá trên cơ sở ảnh hưởng đã biết của biến thể liên quan đến sản phẩm đối với hiệu quả. Trên cơ sở điều phân tích này, khả năng hoạt tính chức năng gắn kết kháng nguyên có thể chấp nhận được ở thời điểm giải phóng và ở thời điểm kết thúc hạn sử dụng là sự gắn kết kháng nguyên đặc hiệu là 0,70 - 1,30.

Sự gắn kết đặc hiệu IL-5 được xác định bằng cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) bằng cách sử dụng thiết bị BIACORE™, được thực hiện trong chế độ gắn kết.

Thử nghiệm SPR này có thể phát hiện mức giảm về sự gắn kết kháng nguyên mà dẫn đến thay đổi trong mepolizumab và biến thể mepolizumab liên quan đến hiệu quả.

SPR được sử dụng để xác định hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu của mepolizumab. Đầu tiên, tiêu chuẩn tham chiếu của mepolizumab được phun vào bề mặt của chip cảm biến CM5 chứa protein được làm bất động và sau đó protein IL-5 được pha loãng ở nồng độ cố định được phun vào, điều này cho phép IL-5 gắn kết với mẫu mepolizumab được bắt giữ. Nồng độ của mepolizumab được gắn kết với IL-5, được ghi nhận là hoạt tính gắn kết chức năng của mepolizumab với IL-5, được xác định từ đường cong chuẩn Tiêu chuẩn tham chiếu của mepolizumab tương ứng. Kết quả SPR được ghi nhận là nồng độ gắn kết chức năng của mepolizumab với IL-5, chia cho tổng nồng độ protein.

Sự gắn kết FcRn: Hoạt tính gắn kết thụ thể Fc mới sinh (FcRn) của mepolizumab cũng được xác định bằng cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) bằng cách sử dụng thiết bị BIACORE™. Khoảng hoạt tính chức năng gắn kết FcRn có thể chấp nhận được được xác định là 70-130%, trên cơ sở kết quả được tạo ra đến thời điểm hiện tại trong việc phát triển sản phẩm mepolizumab, tham biến thử nghiệm đã biết, và kết quả được tạo ra đối với sản phẩm mAb tương tự.

Vùng Fc của mepolizumab gắn kết với FcRn, và sự tương tác này phản ánh thời gian bán hủy lâu trong huyết thanh của mepolizumab (thời gian bán hủy trung bình = 20 ngày). Trong Thử nghiệm SPR, chip cảm biến axit nitrilotriaxetic (NTA) chứa thụ thể FcRn được làm bất động được sử dụng để xác định nồng độ cố định của mepolizumab. Đầu tiên, Ni^{2+} được phun vào ở nồng độ cố định và được bắt giữ trên chip cảm biến NTA bằng sự chelat hóa của Ni^{2+} thông qua NTA. Sau đó, thụ thể FcRn được phun vào ở nồng độ cố định và histidin tag 6x ở đầu cuối C của mạch alpha của thụ thể FcRn gắn kết với Ni^{2+} mà đã được bắt giữ trước đó. Mepolizumab mà đã được pha loãng trong khoảng nồng độ đường cong chuẩn sau đó được phun vào bề mặt của chip cảm biến NTA chứa thụ thể FcRn được bắt giữ. Nồng độ của mepolizumab được gắn kết với thụ thể FcRn được ngoại suy từ đường cong chuẩn Tiêu chuẩn tham chiếu của mepolizumab tương ứng. Kết quả SPR được ghi nhận là nồng độ gắn kết chức năng của mepolizumab đối với thụ thể FcRn, chia cho tổng nồng độ protein.

Phương pháp SPR đối với sự gắn kết kháng nguyên đặc hiệu và sự gắn kết FcRn sử dụng tiêu chuẩn tham chiếu của mepolizumab. Tiêu chuẩn tham chiếu của mepolizumab đơn thuần được sử dụng trong thử nghiệm để tạo ra tính tương thích của hệ thống và dữ liệu so sánh mẫu, để đảm bảo phương pháp được thực hiện phù hợp. Tiêu chuẩn tham chiếu cho phép thiết lập đường cong chuẩn và nồng độ của mẫu được nội suy từ đường cong.

Biến thể axit

Nghiên cứu thoái biến cường bức sau đó được thực hiện để xác định ảnh hưởng của mức tăng của biến thể axit, ví dụ sự khử amit, đối với chức năng/hiệu quả của kháng thể, cụ thể là, hoạt tính gắn kết kháng nguyên và gắn kết FcRn.

Trong nghiên cứu thoái biến cường bức ở pH 9,0, chế phẩm được điều chỉnh đến pH 9,0 bằng natri hydroxit 6N và được ủ trong 30 ngày ở 40°C. Mẫu được thu gom ở 0, 3, 7, 14 và 30 ngày và so với chế phẩm không được cường bức, mà được sử dụng làm đối chứng. Mẫu được cường bức ở pH 9,0 sau đó được phân tích bằng cIEF. Kết quả được thể hiện trong bảng 10 và Fig. 1 (ngày 0 và ngày 3). Chế phẩm được cường bức ở pH 9,0 bị thoái biến ngoài khả năng của thử nghiệm cIEF ở ngày 14; do đó, chỉ kết quả lên đến thời điểm ngày 7 được thể hiện trong bảng 10. Ở điều kiện cường bức pH 9,0 trong 3 ngày, tổng vùng axit được quan sát là 74,4% và 71,9% đối với hai các mẻ khác nhau của chế phẩm.

Bảng 10. Tổng hợp dữ liệu cIEF đối với nghiên cứu thoái biến cường bức ở pH 9,0.

Điều kiện	Quá trình sản xuất cơ bản/Mẻ	Ngày	Diện tích (%)		
			Đỉnh chính	Tổng dạng có tính axit	Tổng dạng có tính bazơ
Đối chứng			62,9	35,9	1,2
pH tăng 9,0	MDS1	0	62,5	36,1	1,4

	T004L003S	3	24,8	74,4	0,8
		7	8,3	91,7	0,0
	MDS2 T0413010	0	63,7	33,3	3,0
		3	26,9	71,9	1,2
		7	11,4	88,3	0,3

Mẫu của chế phẩm trong nghiên cứu thoái biến cường bức ở pH 9,0 từ các mẻ khác nhau sau đó được thử nghiệm đối với hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu (Bảng 11) và hoạt tính gắn kết FcRn (Bảng 12) bằng cách sử dụng phương pháp cộng hưởng bề mặt plasmon (SPR) chuẩn.

Bảng 11. Tổng hợp dữ liệu của hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu (ví dụ, hoạt tính gắn kết IL-5 ở người) được xác định bằng SPR trong mẫu của chế phẩm trong nghiên cứu thoái biến cường bức ở pH 9,0 từ các mẻ khác nhau.

Điều kiện	Quá trình sản xuất cơ bản/Mẻ	Ngày	Hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu
pH tăng 9,0	MDS1 T04L003S	0	0,96
		3	0,74
		7	0,60
	MDS2 T0413010	0	0,94
		3	0,74
		7	0,62

Bảng 12. Sự gắn kết FcRn được xác định bằng SPR trong mẫu của chế phẩm trong nghiên cứu thoái biến cường bức ở pH 9,0 từ các mẻ khác nhau.

Điều kiện	Quá trình sản xuất cơ bản/Mẻ	Ngày	Sự gắn kết FcRn (%)
pH tăng 9,0	MDS1 T04L003S	0	91
		3	84
		7	82
	MDS2 T0413010	0	86
		3	82
		7	80

Hoạt tính gắn kết đặc hiệu IL5 ở ngày 3 (cụ thể là, khoảng 72-74% biến thể axit) là 0,74 đối với cả hai mẻ của chế phẩm được cho thoái biến cường bức ở pH 9,0. Hoạt tính gắn kết FcRn lần lượt là 82% và 80% đối với cả hai mẻ của chế phẩm được cho thoái biến cường bức ở pH 9,0. Các giá trị này là trong chỉ tiêu chấp nhận đối với mỗi thử nghiệm. Chỉ tiêu chấp nhận đối với hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu là 0,70-1,30 và chỉ tiêu chấp nhận đối với sự gắn kết FcRn là 70%-130%. Do đó, biến thể axit có thể cao lên đến khoảng 74% để duy trì chức năng của chế phẩm mepolizumab.

Sự khử amit

Nghiên cứu thoái biến cường bức có thể xác định gốc mà được cho là nhạy với sự khử amit thực sự bị khử amit, và liệu biến thể được khử amit có ảnh hưởng đến trên chức năng, và mức nào của sự khử amit có thể chấp nhận trong chế phẩm để duy trì chức năng. Gốc asparagin mà được xác định bằng thử nghiệm là nhạy với sự khử amit là chuỗi nặng N317, chuỗi nặng N386, chuỗi nặng N299, và chuỗi nhẹ N31. Nghiên cứu thoái biến cường bức được thực hiện để xác định ảnh hưởng đến của mức tăng của sự khử amit chuỗi nhẹ N31 trong trình tự axit amin chuỗi nhẹ kháng thể được thể hiện

trong SEQ ID NO: 2 lên hoạt tính gắn kết kháng nguyên. Trong nghiên cứu, các chế phẩm nghiên cứu từ các mẻ khác nhau được điều chỉnh đến pH 9,0 bằng natri hydroxit 6N và được ủ trong 30 ngày ở 40°C. Mẫu được thu gom ở 0, 3, 7, 14 và 30 ngày và so với chế phẩm không được cường bức (ví dụ, tiêu chuẩn tham chiếu) mà được sử dụng làm đối chứng. Mẫu được cường bức ở pH 9,0 được thử nghiệm bằng cách lập bản đồ peptit LC-MS/MS. Kết quả được thể hiện trong bảng 13. Khi mepolizumab được duy trì ở pH 9,0 trong 3 ngày. Mức của được khử amit chuỗi nhẹ N31 trong trình tự axit amin chuỗi nhẹ kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 2 là 17,4% và 16,8% đối với các mẻ khác nhau của chế phẩm. Xem, Bảng 13. Kháng nguyên và dữ liệu gắn kết FcRn đối với mepolizumab được duy trì ở pH 9,0 trong 3 ngày được thể hiện trong bảng 11 và bảng 12.

Bảng 13. Phần trăm sự khử amit bằng cách lập bản đồ peptit LC-MS/MS trong mẫu của chế phẩm trong nghiên cứu thoái biến cường bức ở pH 9,0 từ các mẻ khác nhau ở ngày 3.

Điều kiện	Quá trình sản xuất cơ bản/Mẻ	Sự khử amit (%)			
		HC N317	HC N386	LC N31	HC N299
Đối chứng		0,8	5,5	5,2	0,2
pH tăng 9,0	MDS1 T04L003S	0,9	28,2	17,4	1,3
	MDS2 T0413010	1,0	27,8	16,8	1,3

Do đó ở ngày 3, hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu là 0,74 (Bảng 11), và hoạt tính gắn kết FcRn là 84% và 82% (Bảng 12), thể hiện rằng sự khử amit ở N31 là lên đến khoảng 17%, và sự khử amit ở N386 là lên đến khoảng 28% (Bảng 13), có thể

duy trì thành phần chức năng trong khoảng có thể chấp nhận được là 0,70-1,30 hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu và 70%-130% hoạt tính gắn kết FcRn.

Oxy hóa

Nghiên cứu thoái biến cường bức được thực hiện để đánh giá bằng thử nghiệm độ nhạy của metionin và các gốc axit amin khác trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ kháng thể của chế phẩm đối với sự oxy hóa. Nghiên cứu thoái biến cường bức có thể xác định rằng gốc mà được cho là nhạy với sự oxy hóa thực sự bị oxy hóa, và liệu biến thể được oxy hóa có ảnh hưởng đến trên chức năng, và mức nào của sự oxy hóa có thể chấp nhận trong chế phẩm để duy trì chức năng/hiệu quả (sự gắn kết kháng nguyên và/hoặc sự gắn kết FcRn).

Mẫu của chế phẩm được ủ với 0,1% hydro peroxit (H_2O_2) trong 48 giờ ở nhiệt độ phòng (RT) để cảm ứng sự oxy hóa. Mẫu được thu gom ở 0, 6, 12, 24, và 48 giờ. Chúng được so với chế phẩm không được cường bức (ví dụ, tiêu chuẩn tham chiếu) mà được sử dụng làm đối chứng. Từ nghiên cứu này, đã xác định được rằng gốc metionin (M) dễ bị oxy hóa nhất bao gồm chuỗi nặng M64, chuỗi nặng M82, chuỗi nặng M85, chuỗi nặng M254, chuỗi nặng M360, chuỗi nặng M430 của trình tự axit amin chuỗi nặng kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và chuỗi nhẹ M4 của trình tự axit amin chuỗi nhẹ kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 2. Gốc metionin (M) dễ bị oxy hóa nhất bao gồm M64, mà nằm trong chuỗi nặng CDR2; M254 và M430, mà nằm trong FcRn và hóc gắn kết protein trong vùng Fc; và M360 của trình tự axit amin chuỗi nặng kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 1. Gốc metionin nhạy với sự oxy hóa ở mức độ nhỏ hơn bao gồm chuỗi nặng M4, chuỗi nặng M82, và chuỗi nặng M85 của trình tự axit amin chuỗi nặng kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 1. Ngoài ra, chuỗi nhẹ C220 của trình tự axit amin chuỗi nhẹ kháng thể được thể hiện trong SEQ ID NO: 2 được xác định là nhạy với sự oxy hóa dưới điều kiện được cảm ứng hóa học. Quan trọng hơn là, chuỗi nhẹ C220 và chuỗi nặng C222 tạo ra liên kết disulfua nội mạch mà kết hợp chuỗi nặng và chuỗi nhẹ.

Mức của sulfoxit tạo ra từ sự oxy hóa metionin và mức của axit sulfonic tạo ra từ sự oxy hóa cystein được xác định bằng cách lập bản đồ peptit LC-MS/MS và được tổng hợp trong bảng 14. chuỗi nặng M64, M254, M360, và M430 bị oxy hóa nhiều hơn 70% ở 48 giờ sau khi ủ với 0,1% hydro peroxit (H_2O_2).

Bảng 14. Phần trăm oxy hóa được xác định bằng cách lập bản đồ peptit LC-MS/MS trong mẫu thử nghiệm của chế phẩm từ các mẻ khác nhau sau khi được xử lý với H_2O_2 trong 48 giờ.

Quá trình sản xuất cơ bản	Mẻ BDS	Sự oxy hóa (%)						
		HC M64	HC M254	HC M360	HC M430	HC M82 và 85	LC M4	LC C220
Đối chứng		0,9	3,5	0,5	0,5	0,3	0,2	0,0
MDS1	T04L003S	72,9	99,9	98,5	95,6	3,2	0,8	7,6
MDS2	T0413010	85,6	99,8	98,1	98,7	3,5	1,0	7,2

Sự gắn kết kháng nguyên đặc hiệu bằng kháng thể trong chế phẩm được xác định bằng SPR. Điều này còn chứng minh mức giảm lớn hơn về hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu ở 48 giờ trong các mẻ được cường bức bằng H_2O_2 khác nhau như được tổng hợp trong bảng 15. Mức giảm này về sự gắn kết kháng nguyên tương quan với mức tương đối cao của sự oxy hóa M64 được quan sát bằng cách lập bản đồ peptit LC-MS/MS. Hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu trong mẫu được thử nghiệm từ các mẻ khác nhau của chế phẩm lần lượt giảm khoảng 15% và 32%. Khi mepolizumab được oxy hóa 85,6%, hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu vẫn được duy trì ở 0,57. Mối quan hệ tuyến tính giữa mức tích tụ oxy hóa trong mepolizumab và hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu được sử dụng và đã được xác định rằng, trong trường hợp xấu nhất, chuỗi nặng M64 có thể được oxy hóa khoảng 50% và kháng thể trong chế phẩm sẽ vẫn duy trì hoạt tính gắn kết kháng nguyên nằm trong khoảng 0,70-1,30.

Bảng 15. Hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu được xác định bằng SPR trong các mẻ khác nhau của chế phẩm được xử lý với H_2O_2 trong 48 giờ.

Quá trình sản xuất cơ bản/Mẻ	Điều kiện	Thời gian (giờ)	Hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu
MDS1 T04L003S	Kiểm soát sự oxy hóa	0	0,92
		48	0,92
	0,1% H ₂ O ₂	0	0,91
		48	0,76
MDS2 T0413010	Kiểm soát sự oxy hóa	0	0,96
		48	0,96
	0,1% H ₂ O ₂	0	0,89
		48	0,57

Profin hoạt tính gắn kết FcRn của mẫu được cường bức bằng H₂O₂ từ các mẻ khác nhau của chế phẩm là tương tự ở mức cao với mức giảm đáng kể về hoạt tính gắn kết FcRn ở 48 giờ so với đối chứng (tiêu chuẩn tham chiếu không được xử lý) như được thể hiện trong bảng 16. chuỗi nặng M254 và chuỗi nặng M430 nằm trong vùng Fc và khi được oxy hóa đã thể hiện là tạo ra mức giảm về sự gắn kết FcRn. Kết quả trên cơ sở lập bản đồ peptit được tạo ra trong nghiên cứu thoái biến cường bức, khi chế phẩm được oxy hóa hóa học với H₂O₂ trong 48 giờ, mức của chuỗi nặng M254 và chuỗi nặng M430 được oxy hóa được quan sát trong các mẻ khác nhau là $\geq 95\%$. Kết quả gắn kết FcRn cho thấy mức giảm khoảng 80% về sự gắn kết FcRn của kháng nguyên trong mẫu được cường bức bằng H₂O₂ từ các mẻ khác nhau của chế phẩm. Khi mepolizumab được oxy hóa $\geq 90\%$, hoạt tính gắn kết FcRn vẫn được duy trì ở 22%. Mối quan hệ tuyến tính giữa mức tích tụ của sự oxy hóa trong mepolizumab và hoạt tính gắn kết FcRn được sử dụng và đã xác định rằng, trong trường hợp xấu nhất, chuỗi nặng M254 và chuỗi nặng M430 có thể được oxy hóa 50% và kháng thể trong chế phẩm sẽ vẫn duy trì hoạt tính gắn kết FcRn trong khoảng là 70%-130%.

Bảng 16. Hoạt tính gắn kết FcRn được xác định bằng SPR trong các mẻ khác nhau của chế phẩm được xử lý với H₂O₂ trong 48 giờ.

Quá trình sản xuất cơ bản/Mẻ	Điều kiện	Time (giờ)	Hoạt tính gắn kết FcRn (%)
MDS1 T04L003S	Kiểm soát sự oxy hóa	0	97
		48	94
	0,1% H ₂ O ₂	0	79
		48	22
MDS2 T0413010	Kiểm soát sự oxy hóa	0	97
		48	98
	0,1% H ₂ O ₂	0	77
		48	17

Nghiên cứu cường bức ánh sáng được thực hiện để xác định ảnh hưởng của sự oxy hóa tryptophan được cảm ứng bằng ánh sáng lên hoạt tính gắn kết kháng nguyên của kháng thể trong các mẻ khác nhau của chế phẩm. Điều này thể hiện tryptophan W52 trong chuỗi nặng kháng thể nhạy với sự oxy hóa. Đối với nghiên cứu này, chế phẩm từ các mẻ khác nhau được cho tiếp xúc với 1,8 triệu lux-giờ của ánh sáng khả kiến trong khoảng 60 giờ ở 25°C để cảm ứng sự cường bức do ánh sáng. Mẫu được thu gom ở 0, 3, 7, 14, và 30 giờ so với tiêu chuẩn tham chiếu của chế phẩm không bị cường bức mà được sử dụng làm đối chứng. Mức của sự di-oxy hóa/kynurenin tạo ra từ sự oxy hóa tryptophan là tương tự ở mức cao trong các mẻ khác nhau của chế phẩm được cường bức bằng cách cho tiếp xúc với ánh sáng như được tổng hợp trong bảng 17. Mức tăng về sự oxy hóa chuỗi nặng W52 được phát hiện sau 60 giờ tiếp xúc với ánh sáng.

Bảng 17. Phần trăm oxy hóa được xác định bằng cách lập bản đồ peptit LC-MS/MS trong các mẻ khác nhau của chế phẩm sau khi cường bức bằng cách cho tiếp xúc với ánh sáng trong 60 giờ.

Quá trình sản xuất cơ bản/Mẻ	Mức oxy hóa (%)	
	W52 (+32 Da)	W52 (+4 Da)
Đối chứng	0,1	0,0
MDS1 T04L003S	3,3	3,4
MDS2 T04I3010	3,5	4,6

Profin hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu của kháng thể trong các mẻ khác nhau của chế phẩm được cường bức bằng cách cho tiếp xúc với ánh sáng thể hiện mức giảm về hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu theo thời gian. Điều này được tổng hợp trong bảng 18. Khi mepolizumab được oxy hóa khoảng 7%, hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu vẫn được duy trì ở 0,53. Mối quan hệ tuyến tính giữa mức tích tụ của sự oxy hóa tryptophan trong mepolizumab và hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu được sử dụng và đã xác định rằng, trong trường hợp xấu nhất, W52 có thể được oxy hóa 3% và kháng thể trong chế phẩm sẽ vẫn duy trì hoạt tính gắn kết kháng nguyên nằm trong khoảng 0,70-1,30.

Bảng 18. Hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu được xác định bằng SPR trong các mẻ khác nhau của chế phẩm sau khi cường bức bằng cách cho tiếp xúc với ánh sáng trong 60 giờ.

Quá trình sản xuất cơ bản/Mẻ	Điều kiện	Ngày	Hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu
MDS1 T04L003S	Kiểm soát việc tiếp xúc với ánh sáng	0	0,89
		60	0,89
	Được tiếp xúc với	0	0,89

	ánh sáng	60	0,53
MDS2 T0413010	Kiểm soát việc tiếp xúc với ánh sáng	0	0,93
		60	0,93
	Được tiếp xúc với ánh sáng	0	0,93
		60	0,55

Do đó, để duy trì chức năng (Sự gắn kết IL-5, và/hoặc sự gắn kết FcRn), chuỗi nặng M64 có thể được oxy hóa lên đến 50%, chuỗi nặng M254 và chuỗi nặng M430 có thể được oxy hóa lên đến 50%, và W52 có thể được oxy hóa lên đến 3%.

Kết tụ

Sự phân bố kích thước của kháng thể trong chế phẩm được theo dõi bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký loại trừ kích thước (SEC) chuẩn không biến tính. Ba đỉnh được phát hiện trong profin SEC của chế phẩm RS như được thể hiện trong Fig. 3 và Fig. 4. Đỉnh chính ở 7,9 phút với diện tích phần trăm tương đối là 99,4% được xác định là dạng monome; đỉnh nhỏ hơn ở khoảng 6,7 phút với diện tích phần trăm tương đối là 0,5% được xác định là dạng kết tụ. Giây đỉnh nhỏ hơn được quan sát trong một số mẻ, mà rửa giải sau đỉnh chính mà cho thấy sự có mặt của mảnh. Đỉnh này thường thấp hơn QL của thử nghiệm SEC là 0,1.

Đỉnh kết tụ còn được xác định đặc tính bằng cách sử dụng SEC với việc phát hiện tán xạ ánh sáng đa góc (MALS) và siêu ly tâm phân tích (AUC). Kết quả thể hiện rằng profin SEC-MALS chứa đỉnh rửa giải sớm (dime) và đỉnh rửa giải muộn (monome) như được thể hiện trong Fig. 5 đối với chế phẩm RS và Fig. 6 đối với các mẻ khác nhau của chế phẩm. Đường mà cắt ngang mỗi đỉnh thể hiện khối lượng mol của dạng được phát hiện và vị trí của đỉnh dime, mà không dễ dàng quan sát được trong sắc ký đồ do lượng nhỏ của dime trong mẫu.

Dữ liệu SEC-MALS được sử dụng để xác định khối lượng mol của monome và dime của kháng thể. Khối lượng mol của monome thu được trong chế phẩm RS và đối

với các mẻ khác nhau của chế phẩm tương đương với khối lượng trên lý thuyết của monome mepolizumab là 148,760 kDa như được thể hiện trong bảng 19. Sự biến đổi được phát hiện trong khối lượng phân tử được quan sát đối với dime do mức nhỏ của dạng này có mặt trong mẫu.

Bảng 19. Phân tích SEC-MALS của monome trong chế phẩm RS và đối với các mẻ khác nhau của chế phẩm.

Mẫu mepolizumab	Khối lượng mol (kDa)	
	Monome	Dime
Tiêu chuẩn tham chiếu RS 101245722	147	304
Mẻ T0413010	147	340

Phân tích tích phân diện tích dưới đường cong (AUC) tốc độ lắng được sử dụng làm kỹ thuật hỗ trợ đối với phương pháp trên cơ sở phân đoạn bao gồm SEC để xác nhận không có sự rối loạn về chính trạng thái cân bằng kết hợp hoặc loại trừ kết tụ bậc cao hơn từ quá trình phân tách sắc ký. Kết quả của AUC phân tích đã chứng minh sự phân bố bao gồm một dạng chủ yếu (đỉnh chính), được xác định là monome, với hệ số lắng đối với cả mẻ RS của chế phẩm và mẻ khác của chế phẩm là 2,81 S; và một đỉnh kết tụ, được xác định là dime, với hệ số lắng là 4,87 S đối với mẻ RS của chế phẩm và 5,10 S đối với mẻ khác của chế phẩm như được thể hiện trong bảng 20. Sự khác nhau về hệ số lắng giá trị giữa PRS và BDS không được xem là đáng kể và được cho là do lượng thấp của dime trong mẫu. Chỉ dạng có khối lượng phân tử cao được phát hiện là dime, mà phù hợp với kết quả SEC-UV và SEC-MALS.

Bảng 20. Phân tích AUC của các mẻ khác nhau của chế phẩm

Mẫu Mepolizumab	Hệ số lắng		Khối lượng phân tử kDa		Lượng	
	Monome	Dime	Monome	Dime	Monome	Dime

PRS 101245722	2,81	4,87	137	336	99,1%	0,9%
BDS T0413003	2,81	5,10	136	353	99,3%	0,7%

Hệ số lắng được xác định đối với monome và dime thấp hơn giá trị thường được quan sát đối với kháng thể đơn dòng IgG₁. Chế phẩm của mepolizumab chứa 12% (w/v) sucroza, tạo ra mẫu có độ nhớt cao mà tạo ra hệ số lắng thấp hơn được quan sát đối với các phân tử kháng thể này trong chế phẩm. Kết quả của SEC-UV, SEC-MALS, và phân tích AUC cho thấy rằng dạng kết tụ trong chế phẩm là dime kháng thể.

Để nghiên cứu ảnh hưởng của sự kết tụ lên hoạt tính gắn kết kháng nguyên, nghiên cứu ở pH thấp được thực hiện đối với các chế phẩm từ các mẻ khác nhau. Mẫu chế phẩm từ các mẻ khác nhau được điều chỉnh đến pH 3,5 bằng axit clohydric 5N. Mẫu được điều chỉnh ở pH 3,5 sau đó được ủ trong 30 ngày ở 40°C để gây ra sự biến đổi hóa học. Mẫu được thu gom ở 0, 3, 7, 14 và 30 ngày so với mẫu RS của chế phẩm không bị cưỡng bức, mà được sử dụng làm đối chứng. Điều này cho thấy khi chế phẩm bị cưỡng bức hóa học ở pH 3,5 thấp, sự kết tụ một trong số các con đường thoái biến chính.

Profin về sự thoái biến SEC của mẫu được cưỡng bức ở pH 3,5 của chế phẩm được thể hiện trong Fig. 7 và được tổng hợp trong bảng 21. Dưới điều kiện cưỡng bức ở pH 3,5 thấp, tốc độ kết tụ khác nhau mà được quan sát giữa các mẻ khác nhau của chế phẩm. Tuy nhiên, ở ngày 30 cả hai mẻ của chế phẩm đều đạt đến trạng thái cân bằng và có mức kết tụ tương tự. Sự khác nhau này về tỷ lệ kết tụ giữa các mẻ khác nhau được cho là do mức cao của dime cộng hóa trị so với trị dime không cộng hóa trong mẻ. Tốc độ kết tụ chậm hơn được quan sát trong mẻ MDS1 của chế phẩm được cho là do tỷ lệ cao hơn của dime không cộng hóa trị liên so với tỷ lệ trong mẻ MDS2; dime không cộng hóa trị phân ly và không phân ly cho đến khi đạt được trạng thái cân bằng, mà có thể làm chậm tốc độ chung trong việc hình thành kết tụ.

Bảng 21. Tổng hợp dữ liệu SEC đối với mẻ RS của chế phẩm không được xử lý và các mẻ của chế phẩm được cưỡng bức pH.

Điều kiện	Quá trình sản xuất cơ bản/Mẻ	Ngày	Diện tích (%)		
			Monome	Kết tụ	Mảnh
Đối chứng			99,6	0,4	0,0
pH 3,5 thấp	MDS1 T004L003S	0	99,0	1,0	0,0
		3	81,4	14,3	4,2
		7	59,3	35,4	5,2
		14	47,9	44,4	7,7
		30	36,8	51,2	12,0
	MDS2 T0413010	0	98,4	1,6	0,1
		3	56,5	40,5	3,1
		7	48,3	46,9	4,8
		14	41,9	50,7	7,4
		30	34,0	54,4	11,5

Profin hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu của các mẫu trong các mẻ của chế phẩm cường bức có pH 3,5 thể hiện mức giảm về hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu theo thời gian như được tổng hợp trong bảng 22.

Bảng 22. Tổng hợp dữ liệu của hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu được xác định bằng SPR trong các mẫu của các mẻ chế phẩm được cường bức pH.

Điều kiện	Quá trình sản xuất cơ bản/Mẻ	Ngày	Hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu (mg/mL)
-----------	------------------------------	------	---

pH 3,5 thấp	MDS1 T04L003S	0	0,92
		3	0,56
		7	0,43
	MDS2 T0413010	0	0,95
		3	0,57
		7	0,43

Profin hoạt tính gắn kết FcRn của mẫu trong các mẻ chế phẩm cường bức có pH 3,5 thể hiện mức giảm về hoạt tính gắn kết FcRn theo thời gian như được tổng hợp trong bảng 23.

Bảng 23. Tổng hợp dữ liệu của sự gắn kết FcRn được xác định bằng SPR trong mẻ chế phẩm được cường bức pH.

Điều kiện	Quá trình sản xuất cơ bản/Mẻ	Ngày	Sự gắn kết FcRn (%)
pH 3,5 thấp	MDS1 T04L003S	0	90
		3	54
		7	46
	MDS2 T0413010	0	86
		3	51
		7	43

Tóm lại, các Bảng 21-23 thể hiện rằng có mức giảm khoảng 50% về sự gắn kết kháng nguyên và sự gắn kết FcRn khi có mức kết tụ khoảng 40% trong mẫu. Khi mepolizumab được kết tụ khoảng 40%, hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu vẫn được duy trì ở 0,57 và hoạt tính gắn kết FcRn được duy trì ở 51% (Bảng 22, MDS2 ngày 3). Có sự chênh lệch nhỏ về profin thoái biến đối với hàm lượng kết tụ giữa MDS1 và MDS2 ở ngày 3 (Bảng 21) do tỷ lệ khác nhau của dime cộng hóa trị so với dime không cộng hóa trị.

Mối quan hệ tuyến tính giữa mức kết tụ trong mepolizumab và hoạt tính gắn kết FcRn và kháng nguyên đặc hiệu được sử dụng từ MDS2 và đã xác định rằng, trong trường hợp xấu nhất, mepolizumab có thể kết tụ là 20% và kháng thể trong chế phẩm sẽ vẫn duy trì hoạt tính gắn kết kháng nguyên nằm trong khoảng 0,70-1,30 và hoạt tính gắn kết FcRn là 70-130%.

Do đó, đối với kháng thể trong chế phẩm chứa mepolizumab có thể kết tụ 20% và vẫn duy trì hoạt tính gắn kết IL-5 nằm trong khoảng 0,70-1,30 và hoạt tính gắn kết FcRn trong khoảng là 70%-130%.

HCP

Mức protein tế bào vật chủ CHO còn lại trong chế phẩm mepolizumab được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym (ELISA). Phương pháp này sử dụng kháng thể được tạo ra đối với kháng nguyên tự nhiên của dòng tế bào CHO được phát triển dưới điều kiện mà tương tự điều kiện quá trình sản xuất của mepolizumab.

Đối với chế phẩm mepolizumab, đã xác định được rằng, khoảng có thể chấp nhận được đối với hàm lượng HCP là ≤ 10 ng/mg. Khoảng này được tạo ra từ dữ liệu giải phóng được tạo ra đến thời điểm hiện tại và thể hiện chính xác sự thay đổi về quá trình và phân tích. 37 các mẻ khác nhau của dược chất có hàm lượng HCP sau đây: 1,1 ng/mg (2 mẻ), 1,0 ng/mg (5 mẻ), 0,9 ng/mg (1 mẻ), 0,8 ng/mg (3 mẻ), 0,7 ng/mg (1 mẻ), 0,6 (1 mẻ), 0,5 ng/mg (1 mẻ), <0,5 ng/mg (4 mẻ), <1 ng/mg (19 mẻ).

Tóm lại, có hai chức năng chính tham gia vào hoạt tính sinh học của mepolizumab: gắn kết với IL-5 thông qua CDR, và gắn kết với thụ thể FcRn thông qua vùng Fc. Thông qua các nghiên cứu xác định đặc tính tập trung được thực hiện trên đây, đã xác định được rằng, biến thể kháng thể được khử amit cụ thể, biến thể kháng

thể được oxy hóa cụ thể, và biến thể kháng thể kết tụ, có thể ảnh hưởng đến chức năng của chế phẩm của mepolizumab. Do đó, mức cụ thể của biến thể này tốt hơn là được duy trì để đảm bảo thích hợp chức năng/hiệu quả.

Ví dụ 3

Danh mục trình tự chưa chính thức

Phần gạch chân sau đây xác định trình tự CDR, theo định nghĩa của Kabat về CDR, trong phần chuỗi nặng biến đổi và chuỗi nhẹ biến đổi của kháng thể hoặc trình tự axit nucleic mã hóa trình tự CDR này. Ví dụ, trong SEQ ID NO: 1, bộ khung và CDR được thể hiện là bộ khung1 theo văn bản thuần túy, CDR1 được gạch chân, bộ khung2 theo văn bản thuần túy, được gạch chân CDR2, bộ khung3, CDR3 được gạch chân và bộ khung4 theo văn bản thuần túy theo thứ tự từ phần đầu gần amino đến phần đầu cuối carboxy của trình tự được thể hiện. Dấu hoa thị bên phải của ký tự đối với mã của axit amin là ký tự đơn thể hiện gốc axit amin sang bên trái là vị trí N-glycosylat hóa. Cách này cũng được sử dụng trong các, ví dụ, SEQ ID NO: 1-4, 11, 12 và 19-22, v.v.. Gốc metionin đầu cuối amino được thể hiện trong các trình tự này có thể được phân cắt. Do đó, trình tự trong bản mô tả này thể hiện gốc metionin đầu cuối amino tốt hơn nếu cũng được hiểu là bộc lộ dạng bị phân cắt của protein này mà không có gốc metionin đầu cuối amino này. Trình tự axit nucleic được thể hiện là trình tự axit nucleic ADN và bao gồm gốc axit nucleic “t”, trình tự ARN tương ứng cũng nên được hiểu là bộc lộ sao cho gốc axit nucleic “t” cũng có thể được xem là bộc lộ gốc axit nucleic “u”. Ngoài ra, mã bộ ba “atg” gần 5’ và “taa”, “tag” gần 3’ và mã bộ ba kết thúc “tga” được lược bỏ từ trình tự axit nucleic cADN sau đây. Đây là trường hợp đối với, ví dụ, các SEQ ID NO: 31-34, v.v..

CHUỖI NẶNG VỚI CHIỀU DÀI HOÀN CHỈNH CỦA MEPOLIZUMAB

SEQ ID NO: 1

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTVSGFSLTSYSVHWVRQPPGKGLEWLGVIW
ASGGTDYNSALMSRLSISKDTSRNQVVLTMTNMDPVDATYYCARDPPSSLL
RLDYWGRGTPVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
 VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN
 TKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
 VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN*STYRVVSVLTVLHQD
 WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
 TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

CHUỖI NHẹ VỚI CHIỀU DÀI HOÀN CHỈNH CỦA MEPOLIZUMAB

SEQ ID NO: 2

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLL
 IYGASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNVHSFPFTFGGG
 TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL
 QSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK
 SFNRGEC

VH CỦA MEPOLIZUMAB

SEQ ID NO: 3

QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTVSGFSLTSYSVHWVRQPPGKGLEWLGVIW
ASGGTDYNSALMSRLSISKDTSRNQVVLTMTNMDPVDATYYCARDPPSSLL
RLDYWGRGTPVTVSS

VL CỦA MEPOLIZUMAB

SEQ ID NO: 4

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLL
 IYGASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNVHSFPFTFGGG
 TKLEIK

CDRH1 CỦA MEPOLIZUMAB

SEQ ID NO: 5

SYSVH

CDRH2 CỦA MEPOLIZUMAB

SEQ ID NO: 6

VIWASGGTDYNSALMS

CDRH3 CỦA MEPOLIZUMAB

SEQ ID NO: 7

DPPSSLLRLDY

CDRL1 CỦA MEPOLIZUMAB

SEQ ID NO: 8

KSSQSLLNSGNQKNYLA

CDRL2 CỦA MEPOLIZUMAB

SEQ ID NO: 9

GASTRES

MEPOLIZUMAB CDRL3

SEQ ID NO: 10

QNVHSFPFT

IL-5 Ở NGƯỜI (PROTEIN TRƯỞNG THÀNH)

SEQ ID NO: 11

IPTEIPTSALVKETLALLSTHRTLLIANETLRIPVPVHKNHQLCTEEIFQGIGTLES
QTVQGGTVERLFKNLSLIKKYIDGQKKKCGEERRRVNQFLDYLQEFLGVMNT
EWIIES

DẠNG TƯƠNG TỰ TIÊU ĐƠN VỊ ALPHA THỤ THỂ 1IL-5 Ở NGƯỜI (PROTEIN
TRƯỞNG THÀNH)

SEQ ID NO: 12

DLLPDEKISLLPPVNFTIKVTGLAQVLLQWKPNPDQEQRVNLEYQVKINAPK
 EDDYETRITESKCVTILHKGFSASVRTILQNDHSLASSWASAEHAPPGSPGT
 SIVNLTCTTNTTEDNYSRLRSYQVSLHCTWLVGTDAPEDTQYFLYYRYGSWT
 EECQEYSKDTLGRNIACWFPRTFILSKGRDWLAVLVNGSSKHSAIRPFDQLFA
 LHAIHQINPPLNVTAEIEGTRLSIQWEKPVSAFPIHCFDYEVKIHNTNRNGYLQIE
 KLMTNAFISIIDDLKYDVQVRAAVSSMCREAGLWSEWSQPIYVGNDCHKPL
 REWFVIVIMATICFILLILSLICKICHLWIKLFPPIPAPKSNIKDLFVTTNYEKAGS
 SETEIEVICYIEKPGVETLEDSVF

ADN MÃ HÓA CHUỖI NẶNG VỚI CHIỀU DÀI HOÀN CHỈNH CỦA
 MEPOLIZUMAB

SEQ ID NO: 13

cagggtaccctgcgtgaatccgggtccggcactagttaaaccgaccagaccctgacgttaacctgcaccgtctccggtttctc
 cctgacgagctatagtgtacactgggtccgtcagccgccgggtaaaggcttagaatggctgggtgtaatatgggctagtggg
 ggcacagattataatccggtctcatgtcccgtctgtcgatatccaaagacacctcccgtaccaggtgttctgacatgacta
 acatggaccgggtgacaccgtacctactactgcgtcgcgatcccccttcttactacggcttgactactggggctcgtg
 gtaccccagttaccgtgagctcagctagtagcaaggcccatcggtcttccccctggcacctctccaagagcacctctgg
 gggcacagcggccctgggctgcctggtaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgctggaactcaggcgccctg
 accagcggcgtgcacaccttcccggtgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgacctgcccctca
 gcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagagagttgagcc
 caaatcttgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagcttctcttcccc
 caaaaccaaggacacctcatgatctcccgaccctgaggtcacatgcgtggtgggtggacgtgagccacgaagacct
 gaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgaggagcagtagacaaca
 gcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtctgcaccaggactgggtgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctcca
 acaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacct
 gcccccatcccgaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcg
 ccgtggagtgggagagcaatgggcagccgggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcctt
 ctctctctatagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggt
 ctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaag

ADN MÃ HÓA CHUỖI NHẸ VỚI CHIỀU DÀI HOÀN CHỈNH CỦA
 MEPOLIZUMAB

SEQ ID NO: 14

gatatcgtgatgacccagctctccagactcgctagctgtgtctctgggcgagagggccaccatcaactgcaagagctctcaga
 gtctgttaaacagtggaaatcaaaagaactacttggcctggtatcagcagaaacccgggcagcctcctaagttgctcatttac
 ggggcgtcgactaggggaatctggggtaacctgaccgattcagtggcagcgggtctgggacagattcactctcaccatcage
 agcctgcaggctgaagatgtggcagtatactactgtcagaatgttcatagtttccattcacgttcggcggaggggaccaagttg
 gagatcaaacgtactgtggcggcgccatctgtcttcatttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtt
 gtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactccc
 aggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctgagcaaagcagact
 acgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaagagcttcaacagggg
 agagtgt

Mặc dù sáng chế đã được mô tả một cách đầy đủ chi tiết, tuy nhiên rõ ràng là người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể thực hiện các thay đổi và biến đổi mà không nằm ngoài nội dung và phạm vi của yêu cầu bảo hộ sau đây.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm chứa hỗn hợp kháng thể, chế phẩm này chứa:

(i) kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2; và

(ii) kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2, ngoại trừ gốc 31 của SEQ ID NO: 2 được thay bằng axit aspartic hoặc axit iso-aspartic.

2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó kháng thể (ii) chiếm từ 3,3% đến 25% chế phẩm.

3. Chế phẩm theo điểm 2, trong đó chế phẩm này có ít nhất 0,70 hoạt tính gắn kết kháng nguyên đặc hiệu IL-5 so với chế phẩm tiêu chuẩn tham chiếu, chế phẩm tiêu chuẩn tham chiếu này chứa:

(a) kháng thể có trình tự axit amin chuỗi nặng như được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ như được thể hiện trong SEQ ID NO: 2;

(b) $\geq 98\%$ biến thể được loại bỏ lysin đầu cuối C chuỗi nặng của kháng thể (a);

(c) $\geq 95\%$ biến thể pyroglutamat đầu cuối N chuỗi nặng của kháng thể (a);

(d) 5,2% kháng thể (a) trong đó gốc 31 của SEQ ID NO: 2 được thay bằng axit aspartic hoặc axit iso-aspartic;

(e) khoảng 0,9% kháng thể (a) trong đó gốc M64 của SEQ ID NO: 1 được oxy hóa;

(f) 0,1% kháng thể (a) trong đó gốc W52 của SEQ ID NO: 1 được oxy hóa; và,

(g) 0,4% kháng thể kết tụ của chế phẩm tiêu chuẩn tham chiếu.

4. Dược phẩm chứa chế phẩm theo điểm 2 và chất mang dược dụng.

5. Chế phẩm theo điểm 2, trong đó hàm lượng kháng thể nằm trong khoảng từ 75mg/mL đến 100mg/mL.

6. Chế phẩm theo điểm 2, trong đó chế phẩm này chứa:

(a) $\geq 92\%$ gốc pyroglutamat đầu cuối amino ở gốc axit amin 1 của các kháng thể của hỗn hợp kháng thể;

- (b) $\geq 90\%$ gốc axit amin glyxin đầu cuối carboxy ở gốc axit amin 448 của các kháng thể của hỗn hợp kháng thể;
 - (c) từ 1,5% đến 6% gốc 386 của SEQ ID NO: 1 được thay bằng axit aspartic hoặc axit iso-aspartic;
 - (d) từ 0% đến 1% gốc W52 của SEQ ID NO: 1 được oxy hóa;
 - (e) từ 0,5% đến 1,5% gốc M64 của SEQ ID NO: 1 được oxy hóa;
 - (f) từ 2,5% đến 4,5% gốc M254 của SEQ ID NO: 1 được oxy hóa;
 - (g) từ 0,4% đến 0,8% gốc M430 của SEQ ID NO: 1 được oxy hóa; và,
 - (h) từ 3,3% đến 6,6% gốc 31 của SEQ ID NO: 2 được thay bằng axit aspartic hoặc axit iso-aspartic.
7. Chế phẩm theo điểm 2, trong đó kháng thể (ii) chiếm từ 3,3% đến 6,6% chế phẩm.
 8. Chế phẩm theo điểm 2, trong đó nhiều hơn 50% gốc lysin đầu cuối C chuỗi nặng K449 được loại bỏ.
 9. Chế phẩm theo điểm 2, trong đó chế phẩm này chứa từ 0,5% đến 55% gốc M64 của SEQ ID NO: 1 được oxy hóa và từ 0% đến 3% gốc W52 của SEQ ID NO: 1 được oxy hóa.
 10. Chế phẩm theo điểm 2, trong đó chế phẩm này chứa từ 0,5% đến 55% gốc M64 của SEQ ID NO:1 được oxy hóa, từ 2,5% đến 55% gốc M254 của SEQ ID NO:1 được oxy hóa, từ 0,4% đến 55% gốc M360 của SEQ ID NO:1 được oxy hóa, từ 0,4% đến 55% gốc M430 của SEQ ID NO:1 được oxy hóa, và từ 0% đến 3% gốc W52 của SEQ ID NO:1 được oxy hóa.
 11. Chế phẩm theo điểm 2, trong đó chế phẩm này chứa từ 1,5% đến 35% kháng thể có gốc 386 của SEQ ID NO: 1 được thay bằng axit aspartic hoặc axit iso-aspartic.
 12. Chế phẩm theo điểm 2, trong đó chế phẩm này còn chứa từ 0,4% đến 20% kháng thể kết tụ của chế phẩm.

Fig. 1

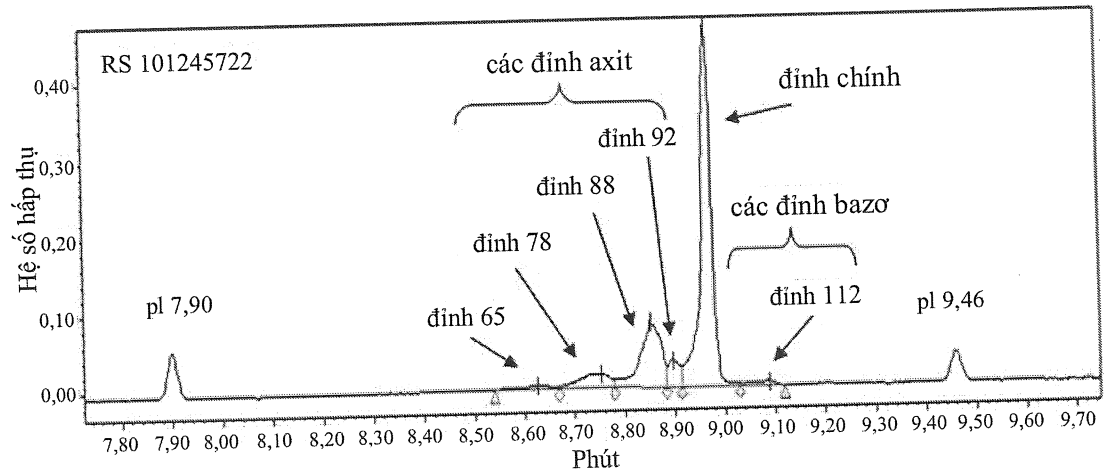


Fig. 2

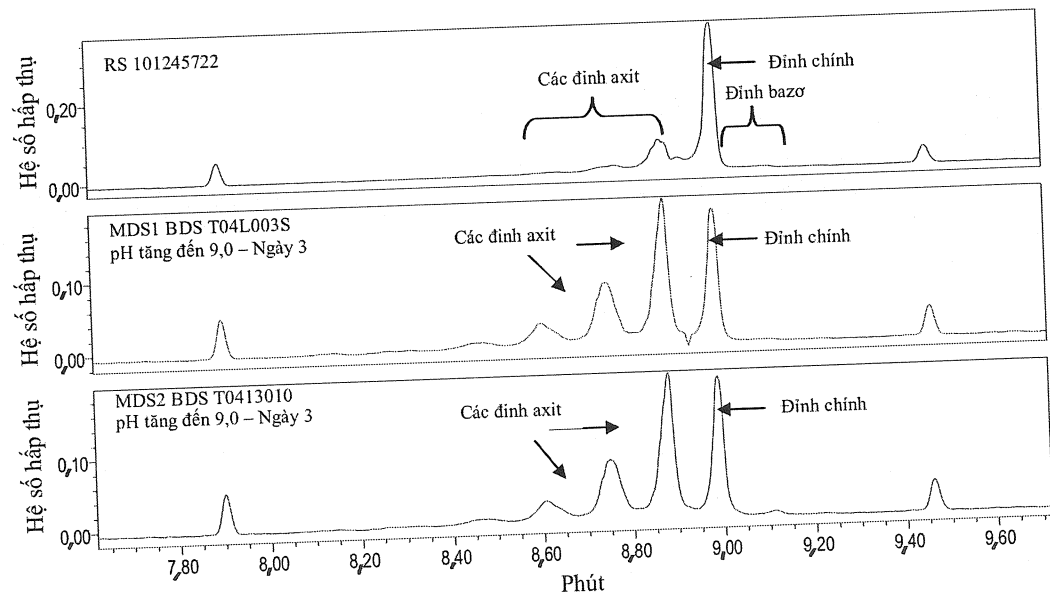


Fig. 3

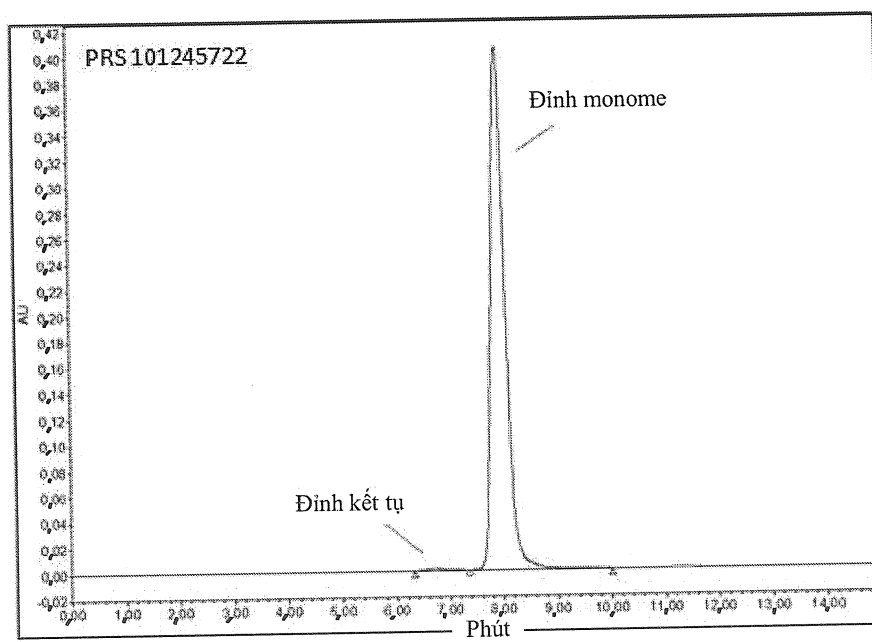


Fig. 4

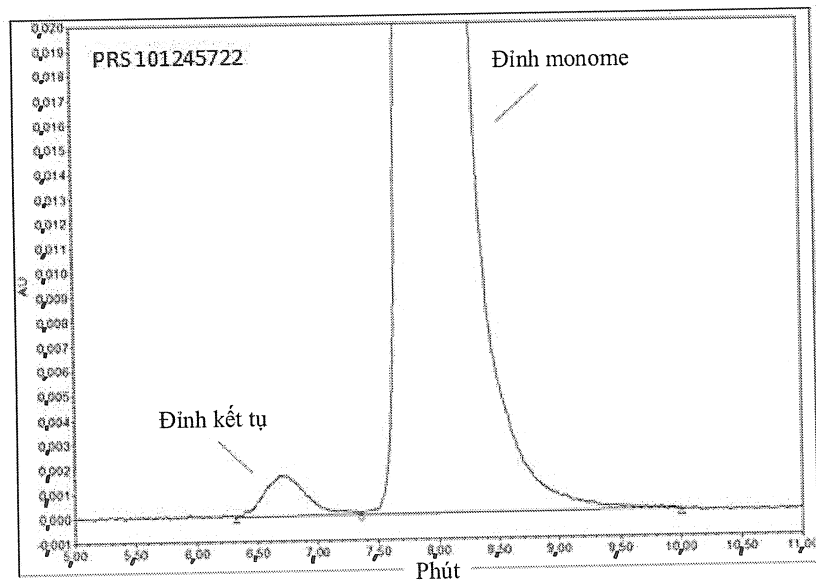


Fig. 5

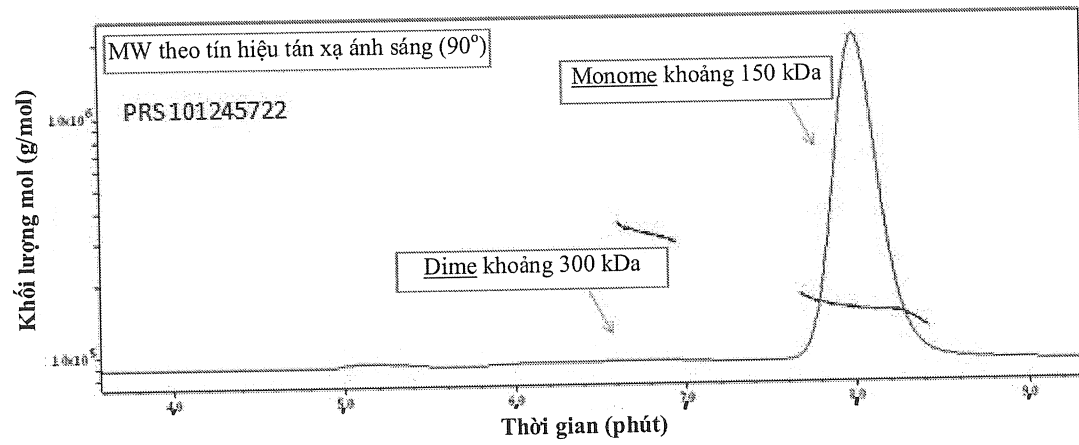


Fig. 6

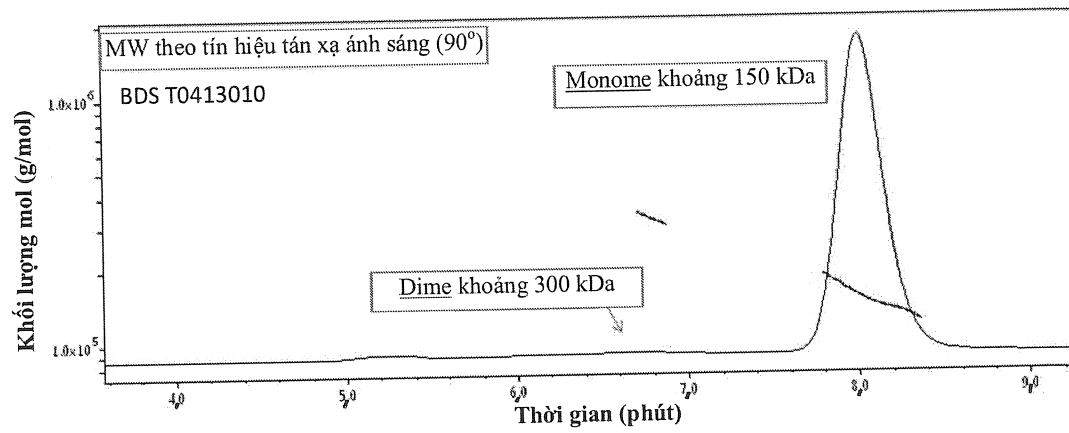
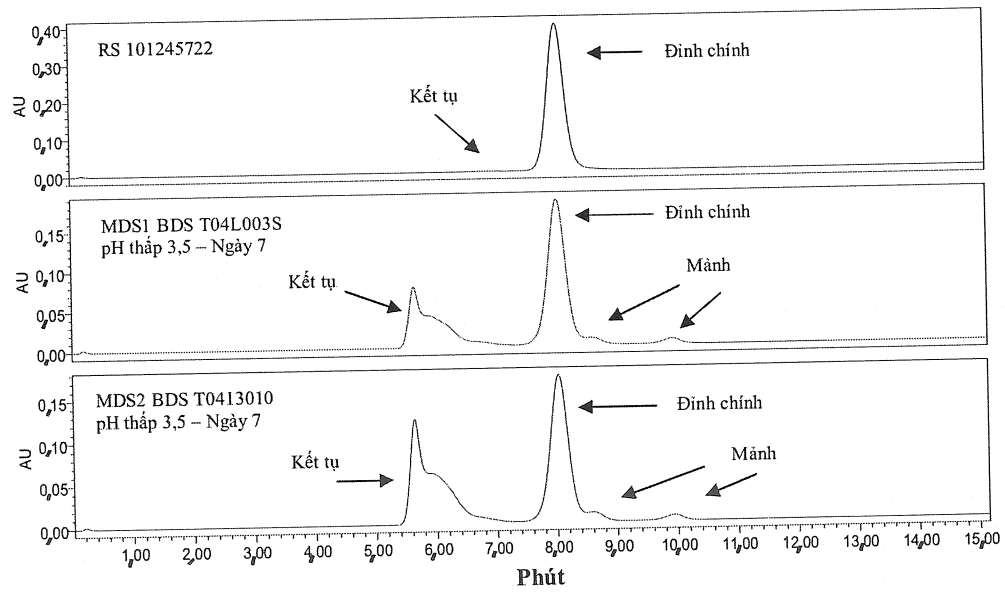


Fig. 7



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> GlaxoSmithKline Intellectual Property (NO. 2) Limited

Bam, Narendra
Monck, Myrna
Dally, Jennifer
Spatara, Michelle

<120> Chế phẩm điều trị bệnh qua trung gian interleukin 5 (IL-5) và được phẩm chứa nó

<130> PU65961

<150> PCT/IB2016/055012

<151> 2016-08-22

<150> 62/249,497

<151> 2015-11-02

<150> 62/247,906

<151> 2015-10-29

<150> 62/240,131

<151> 2015-10-12

<150> 62/209,000

<151> 2015-08-24

<160> 14

<170> FastSEQ dành cho Windows phiên bản 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 kỹ thuật sinh học

<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	Ser	Tyr
			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 Ser Leu Leu Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Arg Gly
 100 105 110
 Thr Pro 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 Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr 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
kỹ thuật sinh học

<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
kỹ thuật sinh học

<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 Ser Tyr
          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 Ser Leu Leu Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Arg Gly
 100 105 110
 Thr Pro Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 4
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự axit amin được xác định bằng cách sử dụng
 kỹ thuật sinh học

<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 Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110
 Lys

<210> 5
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự axit amin được xác định bằng cách sử dụng
 kỹ thuật sinh học

<400> 5
 Ser Tyr 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
kỹ thuật sinh học

<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
kỹ thuật sinh học

<400> 7

Asp	Pro	Pro	Ser	Ser	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
kỹ thuật sinh học

<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
kỹ thuật sinh học

<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
 kỹ thuật sinh học

<400> 10
 Gln Asn Val His Ser Phe Pro Phe Thr
 1 5

<210> 11
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự axit amin được xác định bằng cách sử dụng
 kỹ thuật sinh học

<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> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự axit amin được xác định bằng cách sử dụng
 kỹ thuật sinh học

<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      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      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      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      290      295      300
Trp Ser Gln Pro Ile Tyr Val Gly Asn Asp Glu His Lys Pro Leu Arg
305      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      385      390      395      400

```

<210> 13

<211> 1347

<212> DNA

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

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

<400> 13

```

caggttaccc tgcgtgaatc cgggtccggca ctagttaaac cgaccagac cctgacgtta 60
acctgcaccg tctccggttt ctccctgacg agctatagtg tacactgggt ccgtcagccg 120
ccgggtaaaag gtctagaatg gctgggtgta atatgggcta gtggaggcac agattataat 180
tcggctctca tgtcccgctc gtcgatatcc aaagacacct cccgtaacca ggttggtctg 240
accatgacta acatggaccc ggttgacacc gctacctact actgcgctcg agatccccct 300
tcttccttac tacggcttga ctactgggtt cgtgggtacc cagttaccgt gagctcagct 360
agtaccaagg gcccacgggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 420
acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 480
aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ctgtcctaca gtcctcagga 540
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 600
atctgcaacg tgaatcaca gcccagcaac accaagggtg acaagagagt tgagcccaaa 660
tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg 720
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gaccctgag 780
gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 840
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 900
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 960
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagcccca tcgagaaaac catctccaaa 1020
gccaaagggc agccccgaga accacagggtg tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg 1080
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1140
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1200
gactccgacg gtccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgacg 1320
aagagcctct ccctgtctcc gggtaag 1347

```

<210> 14

<211> 660

<212> DNA

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

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

<400> 14

```

gatatcgtga tgaccagtc tccagactcg ctagctgtgt ctctgggcga gaggccacc 60
atcaactgca agagctctca gagtctgtta aacagtggaa atcaaaagaa ctacttggcc 120
tggatatcagc agaaaccggg gcagcctcct aagttgtctca ttacggggc gtcgactagg 180
gaatctgggg tacctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtatactact gtcagaatgt tcatagtttt 300
ccattcacgt tcggcggagg gaccaagttg gagatcaaac gtactgtggc ggcgccatct 360
gtcttcatct tccgccatc tgatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc 420
ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaagggtga taacgccctc 480
caatcgggta actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc 540
ctcagcgaca ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc 600
gaagtcaccc atcagggcct gagctcgccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt 660

```