



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0000537  
(43) 공개일자 2024년01월02일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 16/24 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)  
A61P 11/06 (2006.01) A61P 29/00 (2023.01)  
C07K 16/06 (2006.01) G01N 33/68 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C07K 16/244 (2013.01)  
A61P 11/06 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7039567
- (22) 출원일자(국제) 2022년04월22일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2023년11월16일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2022/025994
- (87) 국제공개번호 WO 2022/226339  
국제공개일자 2022년10월27일
- (30) 우선권주장  
63/178,938 2021년04월23일 미국(US)

- (71) 출원인  
압젠 인크  
미국 캘리포니아 91320-1799, 사우전드 오크, 원  
압젠 센터 드라이브
- (72) 발명자  
장 하오  
미국, 캘리포니아 91320-1799, 사우전드 오크스,  
메일 스태프 28-5-에이, 원 압젠 센터 드라이브,  
씨/오 압젠 인크.  
폴로조바 알라  
미국, 캘리포니아 91320-1799, 사우전드 오크스,  
메일 스태프 28-5-에이, 원 압젠 센터 드라이브,  
씨/오 압젠 인크.  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
특허법인한얼

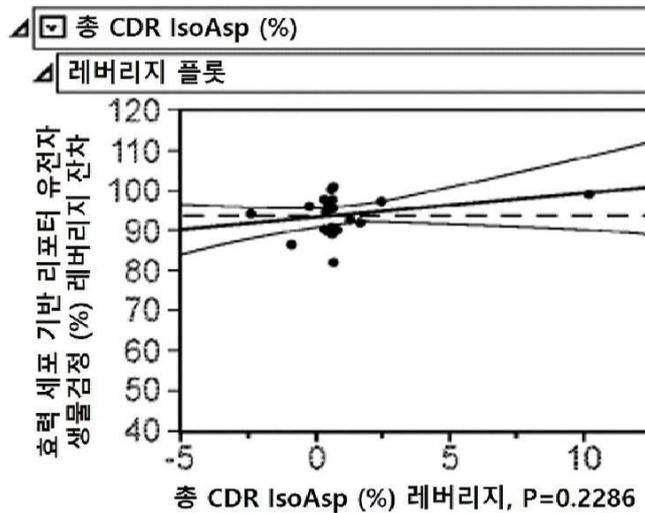
전체 청구항 수 : 총 89 항

(54) 발명의 명칭 항-TSLP 항체 조성물 및 이의 용도

(57) 요약

본 출원은 개괄적으로, 항체 품질 속성을 갖는 항-TSLP 항체 테제펩투마 및 이의 유도체를 포함하는 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

*A61P 29/00* (2023.02)  
*C07K 16/065* (2013.01)  
*G01N 33/6854* (2013.01)  
*A61K 2039/505* (2013.01)  
*C07K 2317/21* (2013.01)  
*C07K 2317/76* (2013.01)

(72) 발명자

**피츠패트릭 켈리**

미국, 캘리포니아 91320-1799, 사우전드 오크스,  
메일 스태프 28-5-에이, 원 암젠 센터 드라이브, 씨  
/오 암젠 인크.

**아브람스 크리스틴**

미국, 캘리포니아 91320-1799, 사우전드 오크스,  
메일 스태프 28-5-에이, 원 암젠 센터 드라이브, 씨  
/오 암젠 인크.

**상 동**

미국, 캘리포니아 91320-1799, 사우전드 오크스,  
메일 스태프 28-5-에이, 원 암젠 센터 드라이브, 씨  
/오 암젠 인크.

**주버트 마리사**

미국, 캘리포니아 91320-1799, 사우전드 오크스,  
메일 스태프 28-5-에이, 원 암젠 센터 드라이브, 씨  
/오 암젠 인크.

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

테제펠루맵 및 하나 이상의 테제펠루맵 유도체를 포함하는 조성물로서, 하나 이상의 테제펠루맵 유도체는 이성질화 유도체를 포함하고, 조성물 내 이성질화 유도체의 양은 약 30% 미만이고, 테제펠루맵은

(A) (i) 서열번호 3에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열;

(ii) 서열번호 4에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 및

(iii) 서열번호 5에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열

을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 및

(B) (i) 서열번호 6에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열;

(ii) 서열번호 7에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 및

(iii) 서열번호 8에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열

을 포함하는 중쇄 가변 도메인

을 포함하는, 조성물.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 조성물 내 이성질화 유도체의 양은 약 0.5% 내지 약 13%인, 조성물.

#### 청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 이성질화 유도체는 중쇄 또는 경쇄 상보성 결정 영역(CDR)에 변형을 포함하는, 조성물.

#### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 이성질화 유도체는 가변 영역 쇠 중 하나 또는 둘 모두에서 서열번호 7의 중쇄 CDR D54 및/또는 서열번호 4의 경쇄 CDR D49, D50, 또는 D52에서의 변화를 포함하는, 조성물.

#### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 이성질화 유도체는 서열번호 7의 D54에서의 이성질화를 약 5% 미만의 양으로 포함하는, 조성물.

#### 청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 이성질화 유도체는 서열번호 4의 D49, D50, 또는 D52 중 하나 이상에서의 이성질화를 약 13% 미만의 양으로 포함하는, 조성물.

#### 청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 이성질화 유도체는 이소아스파르트산(isoAsp) 또는 환형 아스파테이트(cAsp)인, 조성물.

#### 청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물 내 이성질화 유도체의 양은 환원 펩티드 맵핑에 의해 확인되는, 조성물.

**청구항 9**

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 30% 초과와 이성질화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 갖는(상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력, 또는 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함함), 조성물.

**청구항 10**

테제펠루맵 및 하나 이상의 테제펠루맵 유도체를 포함하는 조성물로서, 하나 이상의 테제펠루맵 유도체는 탈아미드화 유도체를 포함하고, 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양은 약 15% 미만이고, 테제펠루맵은

- (A) (i) 서열번호 3에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열;
  - (ii) 서열번호 4에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 및
  - (iii) 서열번호 5에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열
- 을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 및
- (B) (i) 서열번호 6에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열;
  - (ii) 서열번호 7에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 및
  - (iii) 서열번호 8에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열
- 을 포함하는 중쇄 가변 도메인
- 을 포함하는, 조성물.

**청구항 11**

제10항에 있어서, 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양은 약 0.5% 내지 10%인, 조성물.

**청구항 12**

제10항 또는 제11항에 있어서, 탈아미드화 유도체는 탈아미드화 아스파라긴, 서열번호 3의 N25/N26, 서열번호 13의 N316, 및/또는 서열번호 13의 N385/390을 포함하는, 조성물.

**청구항 13**

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 탈아미드화 유도체는 서열번호 3의 N25/N26에서의 탈아미드화를 약 3% 미만의 양으로 포함하는, 조성물.

**청구항 14**

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 탈아미드화 유도체는 서열번호 13의 N316 및/또는 N385/390 중 하나 이상에서의 탈아미드화를 약 13% 미만의 양으로 포함하는, 조성물.

**청구항 15**

제10항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양은 환원 펩티드 맵핑에 의해 확인되는, 조성물.

**청구항 16**

제10항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 15% 초과와 탈아미드화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 갖는(상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력, 또는 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함함), 조성물.

**청구항 17**

테제펠루맵 및 하나 이상의 테제펠루맵 유도체를 포함하는 조성물로서, 하나 이상의 테제펠루맵 유도체는 산화 유도체를 포함하고, 조성물 내 산화 유도체의 양은 약 7% 미만이고, 테제펠루맵은

(A) (i) 서열번호 3에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열;

(ii) 서열번호 4에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 및

(iii) 서열번호 5에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열

을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 및

(B) (i) 서열번호 6에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열;

(ii) 서열번호 7에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 및

(iii) 서열번호 8에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열

을 포함하는 중쇄 가변 도메인

을 포함하는, 조성물.

**청구항 18**

제17항에 있어서, 조성물 내 산화 유도체의 양은 약 0.4% 내지 약 7%인, 조성물.

**청구항 19**

제17항 또는 제18항에 있어서, 산화 유도체는 중쇄 중 하나 또는 둘 모두에서 중쇄 메티오닌, 서열번호 6의 M34, 서열번호 13의 M253, M359, 또는 중쇄 트립토판, 서열번호 7의 W52, 서열번호 5의 W90, 또는 서열번호 8의 W102 중 하나 이상에서의 산화를 포함하는, 조성물.

**청구항 20**

제17항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 산화 유도체는 중쇄 중 하나 또는 둘 모두에서 중쇄 메티오닌, 서열번호 6의 M34, 서열번호 13의 M253, M359 중 하나 이상에서의 산화를 포함하고, 임의로 산화는 약 7% 미만의 양인, 조성물.

**청구항 21**

제17항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 산화 유도체는 중쇄 중 하나 또는 둘 모두에서 트립토판, 서열번호 7의 W52, 서열번호 5의 W90, 또는 서열번호 8의 W102 중 하나 이상에서의 산화를 포함하고, 임의로 산화는 약 3% 미만의 양인, 조성물.

**청구항 22**

제17항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물 내 산화 유도체의 양은 환원 펩티드 맵핑에 의해 확인되는, 조성물.

**청구항 23**

제17항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 7% 초과 산화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 갖는(상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력, 또는 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함함), 조성물.

**청구항 24**

테제펠루맵 및 하나 이상의 테제펠루맵 유도체를 포함하는 조성물로서, 하나 이상의 테제펠루맵 유도체는 고분자량(HMW) 중이고, 조성물 내 HMW 중의 양은 약 20% 미만이고, 테제펠루맵은

- (A) (i) 서열번호 3에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열;
  - (ii) 서열번호 4에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 및
  - (iii) 서열번호 5에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열
- 을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 및
- (B) (i) 서열번호 6에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열;
  - (ii) 서열번호 7에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 및
  - (iii) 서열번호 8에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열
- 을 포함하는 중쇄 가변 도메인
- 을 포함하는, 조성물.

**청구항 25**

제24항에 있어서, 조성물 내 HMW 종의 양은 약 1.7% 이하인, 조성물.

**청구항 26**

제24항 또는 제25항에 있어서, 조성물 내 HMW 종의 양은 약 1.4% 이하인, 조성물.

**청구항 27**

제24항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, HMW 종은 테제펠루맵의 이량체를 포함하는, 조성물.

**청구항 28**

제24항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물 내 HMW 종의 양은 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피 (SE-HPLC)에 의해 확인되는, 조성물.

**청구항 29**

제28항에 있어서, SE-HPLC는 SE-Ultra HPLC이고, 단백질은 100 mM 인산나트륨, 250 mM 염화나트륨을 포함하는 이동상(pH 6.8)을 사용하여 등용매 분리되는, 조성물.

**청구항 30**

제24항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 20% 초과 HWM 종을 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 갖는(상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력, 또는 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함함), 조성물.

**청구항 31**

테제펠루맵 및 하나 이상의 테제펠루맵 유도체를 포함하는 조성물로서, 하나 이상의 테제펠루맵 유도체는 테제펠루맵 단편을 포함하고, 조성물 내 테제펠루맵 단편의 양은 약 15% 미만이고, 테제펠루맵은

- (A) (i) 서열번호 3에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열;
  - (ii) 서열번호 4에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 및
  - (iii) 서열번호 5에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열
- 을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 및
- (B) (i) 서열번호 6에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열;
  - (ii) 서열번호 7에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 및

(iii) 서열번호 8에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열  
을 포함하는 중쇄 가변 도메인  
을 포함하는, 조성물.

**청구항 32**

제31항에 있어서, 테제펠루맵 단편은 저분자량(LMW) 또는 중분자량(MMW) 중, 또는 이들의 조합인, 조성물.

**청구항 33**

제31항 또는 제32항에 있어서, 단편은 약 25 kD 미만의 저분자량 종인, 조성물.

**청구항 34**

제31항 또는 제32항에 있어서, 단편은 약 25 내지 50 kD의 분자량을 갖는 중분자량 종인, 조성물.

**청구항 35**

제31항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물 내 테제펠루맵 단편의 양은 나트륨 도데실 설페이트를 이용한 환원 모세관 전기영동(rCE-SDS)에 의해 확인되는, 조성물.

**청구항 36**

제31항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 15% 초과와 테제펠루맵 단편을 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 갖는(상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력, 또는 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함함), 조성물.

**청구항 37**

테제펠루맵 및 하나 이상의 테제펠루맵 유도체를 포함하는 조성물로서, 하나 이상의 테제펠루맵 유도체는 글리코실화 유도체를 포함하고, 조성물 내 글리코실화 유도체의 양은 약 40% 미만이고, 테제펠루맵은

- (A) (i) 서열번호 3에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열;
  - (ii) 서열번호 4에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 및
  - (iii) 서열번호 5에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열
- 을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 및
- (B) (i) 서열번호 6에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열;
  - (ii) 서열번호 7에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 및
  - (iii) 서열번호 8에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열
- 을 포함하는 중쇄 가변 도메인
- 을 포함하는, 조성물.

**청구항 38**

제37항에 있어서, 조성물 내 글리코실화 유도체의 양은 약 35%, 약 30%, 약 25%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 또는 약 5% 미만인, 조성물.

**청구항 39**

제37항 또는 제38항에 있어서, 글리코실화 유도체는 중쇄 중 하나 또는 둘 모두에서 서열번호 13의 잔기 N298에 테제펠루맵 글리코실화의 변경을 포함하는, 조성물.

**청구항 40**

제37항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 글리코실화 유도체는 고만노스 모이어티 또는 갈락토실 모이어티로의 테제펠루맵의 아푸코실화 또는 글리코실화의 변경을 포함하는, 조성물.

**청구항 41**

제37항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 글리코실화 유도체는 아푸코실화 유도체를 약 5% 미만의 양으로 포함하는, 조성물.

**청구항 42**

제37항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 글리코실화 유도체는 갈락토실 모이어티를 약 30% 미만의 양으로 포함하는, 조성물.

**청구항 43**

제37항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 글리코실화 유도체는 고만노스 모이어티를 약 5% 미만의 양으로 포함하는, 조성물.

**청구항 44**

제37항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 약 25%, 약 23%, 약 21%, 약 19%, 약 17%, 약 15%, 약 13%, 약 11%, 약 8%, 또는 약 5% 이하의 고만노스 글리코실화 유도체를 포함하는, 조성물.

**청구항 45**

제37항 내지 제40항, 제43항 또는 제43A항 중 어느 한 항에 있어서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 25% 초과, 40% 이하의 고만노스 글리코실화 유도체를 갖는 조성물보다 더 낮은 제거율 및/또는 더 긴 반감기를 갖는, 조성물.

**청구항 46**

제37항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물 내 글리코실화 유도체의 양은 글리칸 맵 방법에 의해 확인되는, 조성물.

**청구항 47**

제37항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서,

(a) 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 40% 초과, 80% 이하의 글리코실화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 갖거나(상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력, 또는 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함함); 또는

(b) 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 15% 이하의 고만노스를 포함하고, 15% 초과, 40% 이하의 고만노스를 포함하는 조성물보다 더 낮은 제거율을 갖는, 조성물.

**청구항 48**

제37항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서,

(a) 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 40% 초과, 80% 이하의 글리코실화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 갖거나(상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력, 또는 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함함); 또는

(b) 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 25% 이하의 고만노스를 포함하고, 25% 초과, 40% 이하의 고만노스를 포함하는 조성물보다 더 낮은 제거율을 갖는, 조성물.

**청구항 49**

테제펠루맘 및 이의 하나 이상의 이황화물 이소형 유도체를 포함하는 조성물로서, 하나 이상의 이황화물 이소형 유도체는 IgG2-B 이소형 및/또는 IgG2-A/B 이소형을 포함하고, 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양은 약 75% 미만인, 조성물.

**청구항 50**

제49항에 있어서, 하나 이상의 이황화물 이소형 유도체는 IgG2-B 이소형을 포함하고, 조성물 내 이황화물 유도체의 양은 약 20% 미만인, 조성물.

**청구항 51**

제50항에 있어서, IgG2-B 이소형의 양은 약 5% 미만인, 조성물.

**청구항 52**

제49항에 있어서, 하나 이상의 이황화물 이소형 유도체는 IgG2-A/B 이소형을 포함하는, 조성물.

**청구항 53**

제52항에 있어서, 조성물 내 IgG2-A/B 이소형의 양은 약 75% 미만인, 조성물.

**청구항 54**

제52항에 있어서, 조성물 내 IgG2-A/B 이소형의 양은 약 38% 내지 약 43%인, 조성물.

**청구항 55**

제48항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양은 비환원 역상 고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)에 의해 확인되는, 조성물.

**청구항 56**

테제펠루맘 및 하나 이상의 테제펠루맘 유도체를 포함하는 조성물로서, 테제펠루맘 유도체는 이성질화 유도체, 탈아미드화 유도체, 산화 유도체, 글리코실화 유도체, HMW 종, 단편, 이황화물 이소형 유도체, 또는 이들의 조합을 포함하고, 조성물은 다음 특징 중 하나 이상을 갖는, 조성물:

- (a) 환원 펩티드 맵핑으로 측정시 조성물 내 이성질화 유도체의 양이 약 30% 이하임;
- (b) 펩티드 맵핑으로 측정시 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양이 약 15% 이하임;
- (c) 환원 펩티드 맵핑으로 측정시 조성물 내 산화 유도체의 양이 약 7% 이하임;
- (d) 글리칸 맵핑으로 측정시 조성물 내 글리코실화 유도체의 양이 약 40% 이하임;
- (e) 비환원 역상 고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)로 측정시 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양이 약 75% 이하임;
- (f) SE-HPLC로 측정시 조성물 내 HMW 종의 양이 약 20% 이하임; 및/또는
- (g) rCE-SDS로 측정시 조성물 내 단편의 양이 약 15% 이하임.

**청구항 57**

제49항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 테제펠루맘은

- (A) (i) 서열번호 3에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열;
  - (ii) 서열번호 4에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 및
  - (iii) 서열번호 5에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열
- 을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 및

(B) (i) 서열번호 6에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열;  
 (ii) 서열번호 7에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 및  
 (iii) 서열번호 8에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열  
 을 포함하는 중쇄 가변 도메인  
 을 포함하는, 조성물.

**청구항 58**

제1항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 테제펠루맵은 서열번호 10에 제시된 중쇄 아미노산 서열 및 서열번호 12에 제시된 경쇄 아미노산 서열을 포함하는, 조성물.

**청구항 59**

제1항 내지 제58항 중 어느 한 항의 조성물 및 하나 이상의 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약학적 제형.

**청구항 60**

대상체의 염증성 질환을 치료하는 방법으로서, 치료 유효량의 제1항 내지 제58항 중 어느 한 항의 조성물 또는 제59항의 약학적 제형을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 61**

제60항에 있어서, 염증성 질환은 천식, 아토피성 피부염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 호산구성 식도염(EoE), 비용종, 만성 자발성 두드러기, Ig-유발 질환, IgA 신병증, 루푸스 신염, 호산구성 위염, 비용종이 없는 만성 부비동염, 및 특발성 폐섬유증(IPF)으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

**청구항 62**

제60항 또는 제61항에 있어서, 2주 간격 또는 4주 간격으로 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 63**

제60항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 적어도 4개월, 6개월, 9개월, 1년 또는 그 이상의 기간 동안 투여되는, 방법.

**청구항 64**

제60항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 천식은 중증 천식인, 방법.

**청구항 65**

제60항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 천식은 호산구성 또는 비호산구성 천식인, 방법.

**청구항 66**

제60항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 투여가 프리필드 시린지 또는 오토인젝터를 통해 이루어지는, 방법.

**청구항 67**

제66항에 있어서, 오토인젝터는 Ypsomed Ypsomate® 장치인, 방법.

**청구항 68**

대상체의 염증성 질환을 치료하는 데 사용하기 위한 제1항 내지 제58항 중 어느 한 항의 테제펠루맵 조성물 또는 제59항의 약학적 조성물.

**청구항 69**

제68항에 있어서, 염증성 질환은 천식, 아토피성 피부염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 호산구성 식도염(EoE), 비용종, 만성 자발성 두드러기, Ig-유발 질환, IgA 신병증, 루푸스 신염, 호산구성 위염, 비용종이 없는 만성 부비동염, 및 특발성 폐섬유증(IPF)으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 조성물.

**청구항 70**

대상체의 염증성 질환을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서, 제1항 내지 제58항 중 어느 한 항의 테제펠루맘 조성물 또는 제59항의 약학적 조성물의 용도.

**청구항 71**

제68항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 투여가 프리필드 시린지 또는 오토인젝터를 통해 이루어지는, 조성물 또는 용도.

**청구항 72**

제71항에 있어서, 오토인젝터는 Ypsomed Ypsomate® 장치인, 조성물 또는 용도.

**청구항 73**

제68항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 염증성 질환은 천식, 아토피성 피부염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 호산구성 식도염(EoE), 비용종, 만성 자발성 두드러기, Ig-유발 질환, IgA 신병증, 루푸스 신염, 호산구성 위염, 비용종이 없는 만성 부비동염, 및 특발성 폐섬유증(IPF)으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 조성물 또는 용도.

**청구항 74**

테제펠루맘 조성물의 품질을 평가하는 방법으로서,

테제펠루맘 및 하나 이상의 테제펠루맘 유도체를 함유하는 테제펠루맘 조성물을 수득하는 단계;

조성물 내 하나 이상의 테제펠루맘 유도체(테제펠루맘 유도체는 이성질화 유도체, 탈아미드화 유도체, 산화 유도체, 글리코실화 유도체, 이황화물 이소형 유도체, HMW 중, 단편, 또는 이들의 조합을 포함함)의 양을 측정하는 단계;

측정된 하나 이상의 테제펠루맘 유도체의 양을 소정의 참조 기준과 비교하는 단계; 및

비교에서 소정의 참조 기준이 충족되는 것으로 나타나면 테제펠루맘 조성물의 약학적 제형 또는 약학적 제품을 제조하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 75**

제74항에 있어서, 이성질화 유도체의 양이 측정되고 소정의 참조 기준은 약 30% 이하인, 방법.

**청구항 76**

제74항 또는 제75항에 있어서, 테제펠루맘 조성물 내 이성질화의 양은 환원 펩티드 맵핑에 의해 측정되는, 방법.

**청구항 77**

제74항에 있어서, 탈아미드화 유도체의 양이 측정되고 소정의 참조 기준은 약 15% 이하인, 방법.

**청구항 78**

제74항 또는 제77항에 있어서, 테제펠루맘 조성물 내 탈아미드화의 양은 환원 펩티드 맵핑에 의해 측정되는, 방법.

**청구항 79**

제74항에 있어서, 산화 유도체의 양이 측정되고 소정의 참조 기준은 약 7% 이하인, 방법.

**청구항 80**

제74항 또는 제79항에 있어서, 테제펠루맘 조성물 내 산화의 양은 환원 펩티드 맵핑에 의해 측정되는, 방법.

**청구항 81**

제74항에 있어서, 글리코실화 유도체의 양이 측정되고 소정의 참조 기준은 약 40% 이하인, 방법.

**청구항 82**

제74항 또는 제81항에 있어서, 테제펠루맘 조성물 내 글리코실화의 양은 글리칸 맵핑에 의해 측정되는, 방법.

**청구항 83**

제74항에 있어서, 이황화물 이소형 유도체의 양이 측정되고 소정의 참조 기준은 약 75% 이하인, 방법.

**청구항 84**

제74항 또는 제83항에 있어서, 테제펠루맘 조성물 내 이황화물 이소형의 양은 비환원 역상 고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)에 의해 측정되는, 방법.

**청구항 85**

제74항에 있어서, HMW 종의 양이 측정되고 소정의 참조 기준은 약 20% 이하인, 방법.

**청구항 86**

제74항 또는 제85항에 있어서, HMW 종의 양은 SE-HPLC에 의해 측정되는, 방법.

**청구항 87**

제74항에 있어서, 단편의 양이 측정되고 소정의 참조 기준은 약 15% 이하인, 방법.

**청구항 88**

제74항 또는 제87항에 있어서, 테제펠루맘 조성물 내 단편의 양은 rCE-SDS에 의해 측정되는, 방법.

**청구항 89**

제74항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 테제펠루맘 조성물은 서열번호 10의 중쇄를 암호화하는 핵산 및 서열번호 12의 경쇄를 암호화하는 핵산을 발현하는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포주로부터 획득되는, 방법.

**발명의 설명**

**기술분야**

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2021년 4월 23일에 출원된 미국 특허 가출원 63/178,938호의 우선권 이익을 주장하며, 그 전문은 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 출원은 개괄적으로, 항체 품질 속성을 포함하는 항-TSLP 항체 테제펠루맘 및 이의 유도체를 포함하는 조성물에 관한 것이다.

**배경기술**

[0005] 환경 자극 및 염증촉진 자극에 반응하여 생성되는 상피 세포-유래 사이토카인인 흉선 기질 림포포이에틴(TSLP)은 여러 염증 세포 및 하류 경로의 활성화를 초래한다(Soumelis et al. Nat Immunol 2002;3:673-80; Allakhverdi et al. J Exp Med 2007;204:253-8). TSLP는 천식 환자의 기도에서 증가하며, Th2 사이토카인 및

케모카인 발현Shikotra et al. J Allergy Clin Immunol 2012;129:104-11 e1-9) 및 질환 중증도(Ying et al. J Immunol 2005;174:8183-90; Ying et al. J Immunol 2008;181:2790-8)와 상관관계가 있다. TSLP는 Th2 면역성의 조절의 핵심이지만, 다른 염증 경로에서도 중요한 역할을 할 수 있으므로 여러 천식 표현형과 관련이 있을 수 있다.

[0006] 테제펠루맵은 TSLP에 결합하여 TSLP 수용체 복합체와의 상호작용을 방해하는 인간 면역글로불린 G2(IgG2) 단일 클론 항체(mAb)이다. 테제펠루맵은 2개의 중쇄와 2개의 경쇄를 포함하고 TSLP에 대한 2개의 결합 부위를 포함하는 이중사량체인 것으로 인식될 것이다. 경증 아토피성 천식 환자 대상의 개념 증명 연구에서, 테제펠루맵은 흡입 알레르겐 유발 후 초기 및 후기 천식 반응을 억제하고 Th2 염증의 바이오마커를 억제하는 것으로 나타났다 (Gauvreau, et al. N Engl J Med 2014;370:2102-10).

**발명의 내용**

[0007] 제형 내 항체 치료제의 경시적 모니터링은, 치료제의 임의의 분해를 줄이고 제품의 무결성을 유지하는 보관 조건을 결정하는 데 중요하다. 본 발명은 항체 내약성 및/또는 효력에 유익하거나 해로울 수 있는 속성을 포함하여, 제조 및 보관 중에 시간이 지남에 따라 변할 수 있는 항-TSLP 항체의 속성에 대한 연구를 제공한다.

[0008] 일 양태에서, 본 발명은 테제펠루맵 및 하나 이상의 테제펠루맵 유도체를 포함하는 조성물로서, 하나 이상의 테제펠루맵 유도체는 이성질화 유도체를 포함하고, 조성물 내 이성질화 유도체의 양은 약 30% 미만이고, 테제펠루맵은 (A) (i) 서열번호 3에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열; (ii) 서열번호 4에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 및 (iii) 서열번호 5에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 및 (B) (i) 서열번호 6에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열; (ii) 서열번호 7에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 및 (iii) 서열번호 8에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함하는, 조성물을 제공한다.

[0009] 다양한 구현예에서, 조성물 내 이성질화 유도체의 양은 약 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 또는 1% 미만이다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 이성질화 유도체의 양은 약 0.5% 내지 약 13%이다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 이성질화 유도체의 양은 약 1% 내지 12%, 2% 내지 10%, 또는 약 4% 내지 7%이다. 다양한 구현예에서, 이성질화 유도체는 중쇄 또는 경쇄 상보성 결정 영역(CDR)에 변형을 포함한다. 다양한 구현예에서, 이성질화 유도체는 가변 영역 쇄 중 하나 또는 둘 모두에서 서열번호 7의 중쇄 CDR 잔기 D54 및/또는 서열번호 4의 경쇄 CDR 잔기 D49, D50, 또는 D52에서의 변화를 포함한다. 다양한 구현예에서, 이성질화 유도체는 D54에서의 이성질화를 약 5% 미만의 양으로 포함한다. 다양한 구현예에서, 이성질화 유도체는 D54에서의 이성질화를 약 4%, 3%, 2%, 또는 1% 미만의 양으로 포함한다. 다양한 구현예에서, 이성질화 유도체는 서열번호 4의 잔기 D49, D50, 또는 D52 중 하나 이상에서의 이성질화를 약 26% 미만의 양으로 포함한다. 다양한 구현예에서, 이성질화 유도체는 서열번호 4의 잔기 D49, D50, 또는 D52 중 하나 이상에서의 이성질화를 약 25%, 20%, 18%, 15%, 13%, 10%, 7%, 5%, 3%, 또는 2% 미만의 양으로 포함한다. 다양한 구현예에서, 이성질화 유도체는 이소아스파르트산 (isoAsp), 환형 아스파테이트(cAsp), 석신이미드, 또는 이성질화 중간체이다. 다양한 구현예에서, 이성질화 유도체는 이소아스파르트산 (isoAsp) 또는 환형 아스파테이트(cAsp)이다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 이성질화 유도체의 양은 환원 펩티드 맵핑에 의해 확인된다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 30% 초과 이성질화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력을 포함한다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 30% 초과 이성질화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함한다.

[0010] 테제펠루맵 및 하나 이상의 테제펠루맵 유도체를 포함하는 조성물에 있어서, 하나 이상의 테제펠루맵 유도체는 탈아미드화 유도체를 포함하고, 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양은 약 15% 미만이고, 테제펠루맵은 (A) (i) 서열번호 3에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열; (ii) 서열번호 4에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 및 (iii) 서열번호 5에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 및 (B) (i) 서열번호 6에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열; (ii) 서열번호 7에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 및 (iii) 서열번호 8에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함한다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양은 약 15%, 약 10%, 약 7%, 약 5%, 약 4%, 약 3%, 약 2%, 또는 약 1% 미만이다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양은 약 0.5% 내지 약 13%이다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양은 약 0.5% 내지 10%, 약 1% 내지 8%, 약 2% 내지 7%, 또는 약 3% 내지 6%이다. 다양한 구현예에서, 탈아미드화 유도체는 탈아미드화 아스파라긴, 서열번호 3에 제시된 LCDR1의 잔기 N25/N26, 서열번호

13에 제시된 중쇄의 잔기 N316, 및/또는 서열번호 13에 제시된 중쇄의 잔기 N385/390을 포함한다. 다양한 구현예에서, 탈아미드화 유도체는 N25/N26에서의 탈아미드화를 약 3% 미만의 양으로 포함한다. 다양한 구현예에서, 탈아미드화 유도체는 N316 및/또는 N385/390 중 하나 이상에서의 탈아미드화를 약 13% 미만의 양으로 포함한다. 다양한 구현예에서, 탈아미드화 유도체는 탈아미드화 아스파라긴 또는 탈아미드화 중간체이다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양은 환원 펩티드 맵핑에 의해 확인된다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 15% 초과와 탈아미드화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력을 포함한다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 15% 초과와 탈아미드화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함한다.

[0011] 본 발명은 또한, 테제펠루맵 및 하나 이상의 테제펠루맵 유도체를 포함하는 조성물로서, 하나 이상의 테제펠루맵 유도체는 산화 유도체를 포함하고, 조성물 내 산화 유도체의 양은 약 7% 미만이고, 테제펠루맵은 (A) (i) 서열번호 3에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열; (ii) 서열번호 4에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 및 (iii) 서열번호 5에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 및 (B) (i) 서열번호 6에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열; (ii) 서열번호 7에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 및 (iii) 서열번호 8에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함하는, 조성물을 제공한다.

[0012] 다양한 구현예에서, 산화 유도체의 양은 약 6%, 약 5%, 약 4%, 약 3%, 약 2%, 또는 약 1% 미만이다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 산화 유도체의 양은 약 0.4% 내지 약 7%, 약 1% 내지 약 6%, 약 2% 내지 약 5%, 또는 약 0.4% 내지 약 4%이다. 다양한 구현예에서, 산화 유도체는 중쇄 중 하나 또는 둘 모두에서 중쇄 메티오닌, 서열번호 6에 제시된 HCDR1의 잔기 M34, 또는 서열번호 13에 제시된 중쇄 불변 영역의 잔기 M253 또는 M359, 또는 중쇄 트립토판, 서열번호 7에 제시된 HCDR2의 잔기 W52, 서열번호 5에 제시된 LCDR3의 W90, 또는 서열번호 8에 제시된 HCDR3의 W102 중 하나 이상에서의 산화를 포함한다. 다양한 구현예에서, 산화 유도체는 중쇄 중 하나 또는 둘 모두에서 중쇄 메티오닌 잔기 M34, M253, M359 중 하나 이상에서의 산화를 포함하고, 임의로 산화는 약 7% 미만의 양이다. 다양한 구현예에서, 산화 유도체는 중쇄 중 하나 또는 둘 모두에서 트립토판 잔기 W52, W90, 또는 W102 중 하나 이상에서의 산화를 포함하고, 임의로 산화는 약 3% 미만의 양이다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 산화 유도체의 양은 환원 펩티드 맵핑에 의해 확인된다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 7% 초과와 산화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력을 포함한다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 7% 초과와 산화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함한다.

[0013] 다른 구현예에서, 본 발명은 테제펠루맵 및 하나 이상의 테제펠루맵 유도체를 포함하는 조성물로서, 하나 이상의 테제펠루맵 유도체는 글리코실화 유도체를 포함하고, 조성물 내 글리코실화 유도체의 양은 약 40% 미만이고, 테제펠루맵은 (A) (i) 서열번호 3에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열; (ii) 서열번호 4에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 및 (iii) 서열번호 5에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 및 (B) (i) 서열번호 6에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열; (ii) 서열번호 7에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 및 (iii) 서열번호 8에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함하는, 조성물을 제공한다.

[0014] 다양한 구현예에서, 조성물 내 글리코실화 유도체의 양은 약 35%, 약 30%, 약 25%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 9%, 약 8%, 약 7%, 약 6%, 또는 약 5% 미만이다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 글리코실화 유도체의 양은 약 1% 내지 약 35%, 약 3% 내지 약 30%, 약 5% 내지 약 25%, 약 10% 내지 약 20%이다. 다양한 구현예에서, 글리코실화 유도체는 중쇄 중 하나 또는 둘 모두에서 서열번호 13의 잔기 N298에 테제펠루맵 글리코실화의 변형을 포함한다. 다양한 구현예에서, 글리코실화 유도체는 고만노스 모이어티 또는 갈락토실 모이어티로의 테제펠루맵의 아푸코실화 또는 글리코실화의 변형을 포함한다. 다양한 구현예에서, 글리코실화 유도체는 아푸코실화 유도체를 약 5% 미만의 양으로 포함한다. 다양한 구현예에서, 글리코실화 유도체는 갈락토실 모이어티를 약 30% 미만의 양으로 포함한다. 다양한 구현예에서, 글리코실화 유도체는 고만노스 모이어티를 약 5% 미만의 양으로 포함한다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 글리코실화 유도체의 양은 글리칸 맵 방법에 의해 확인된다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 40% 초과와 글리코실화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효

력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴닐화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력을 포함한다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 40% 초과 글리코실화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함한다.

[0015] 글리코실화 유도체는 또한 이펙터 기능 및 항체 제거율과 연관될 수 있다(더 낮은 항체 제거율은 더 긴 반감기를 나타낼 수 있음이 인정될 것이다; 따라서 참조 항체 또는 항체 조성물보다 "더 낮은 제거율"을 갖는 항체 또는 항체 조성물은 참조 항체 또는 항체 조성물보다 수치적으로 더 긴 반감기를 의미하는 것으로 이해될 것이다). 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 약 15%, 약 13%, 약 11%, 약 8%, 또는 약 6% 초과 고만노스 글리코실화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 낮은 항체 제거율 및/또는 더 큰 내약성을 갖는다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 약 25%, 약 23%(예를 들어, 약 23.1%), 약 21%, 약 18%, 약 15%, 약 13%, 약 11%, 약 8%, 약 6%, 또는 약 5% 초과 고만노스 글리코실화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 낮은 항체 제거율 및/또는 더 큰 내약성을 갖는다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 약 23.1% 초과 고만노스 글리코실화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 낮은 항체 제거율 및/또는 더 큰 내약성을 갖는다. 다양한 구현예에서, 고만노스 중을 5%에서 23.1%로 증가시키면 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체의 제거율이 1.7% 또는 10% 이하만큼 증가한다.

[0016] 또한, 테제펠루맵 및 이의 하나 이상의 이황화물 이소형 유도체를 포함하는 조성물로서, 하나 이상의 이황화물 이소형 유도체는 IgG2-B 이소형 및/또는 IgG2-A/B 이소형을 포함하고, 조성물 내 이황화물 이소형의 양은 약 75% 미만인, 조성물이 제공된다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 이황화물 이소형의 양은 약 70%, 약 65, 약 60%, 약 55%, 약 50%, 약 45%, 약 40%, 약 35%, 약 30%, 약 25%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 5%, 약 4%, 약 3%, 약 2%, 또는 약 1% 미만이다.

[0017] 다양한 구현예에서, 하나 이상의 이황화물 이소형 유도체는 IgG2-B 이소형을 포함한다. 다양한 구현예에서, IgG2-B 이소형의 양은 약 5% 미만이다. 다양한 구현예에서, 하나 이상의 이황화물 이소형 유도체는 IgG2-A/B 이소형을 포함한다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 IgG2-A/B 이소형의 양은 약 75% 미만이다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 IgG2-A/B 이소형의 양은 약 38% 내지 약 43%이다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양은 비환원 역상 고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)에 의해 확인된다.

[0018] 또한, 테제펠루맵 및 하나 이상의 테제펠루맵 유도체를 포함하는 조성물로서, 하나 이상의 테제펠루맵 유도체는 고분자량(HMW) 중이고, 조성물 내 HMW 종의 양은 약 20% 미만이고, 테제펠루맵은 (A) (i) 서열번호 3에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열; (ii) 서열번호 4에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 및 (iii) 서열번호 5에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 및 (B) (i) 서열번호 6에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열; (ii) 서열번호 7에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 및 (iii) 서열번호 8에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함하는, 조성물이 고려된다.

[0019] 다양한 구현예에서, 조성물 내 HMW 종은 약 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 또는 1% 미만이다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 HMW 종의 양은 약 0.5% 내지 약 13%, 약 1% 내지 약 11%, 약 2% 내지 약 10%, 또는 약 3% 내지 약 8% 또는 약 4% 내지 약 7%이다. 다른 구현예에서, 조성물 내 HMW 종의 양은 약 1.7% 이하이다. 다른 구현예에서, 조성물 내 HMW 종의 양은 약 1.4% 이하이다. 다양한 구현예에서, HMW 종은 테제펠루맵의 이량체를 포함한다.

[0020] 다양한 구현예에서, 조성물 내 HMW 종의 양은 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피(SE-HPLC), 침강 속도 초원심분리(SV-AUC), 또는 환원 나트륨 도데실 설페이트 모세관 전기영동(rCE-SDS)에 의해 확인된다. 다양한 구현예에서, SE-HPLC는 SE-ultra HPLC(SE-UHPLC) 또는 정적 광산란을 이용한 SE-HPLC(SE-HPLC-SLS)이다. 다양한 구현예에서, SE-HPLC는 SE-UHPLC이다. 다양한 구현예에서, SE-HPLC는 SE-UHPLC이고, 단백질은 100 mM 인산나트륨, 250 mM 염화나트륨을 포함하는 이동상(pH 6.8)을 사용하여 등용매 분리된다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 20% 초과 HWM 종을 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴닐화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력을 포함한다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 20% 초과 HWM 종을 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함한다.

[0021] 조성물의 다양한 구현예에서, (a) 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 40% 초과 글리코실화 유도체를 포함하

는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 갖거나(상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴닐화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력, 또는 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함함); 또는 (b) 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 15% 이하의 고만노스를 포함하고, 15% 초과와 고만노스를 포함하는 조성물보다 더 낮은 제거율을 갖는다.

[0022] 조성물의 다양한 구현예에서, (a) 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 40% 초과와 글리코실화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 갖거나(상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴닐화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력, 또는 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함함); 또는 (b) 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 25% 이하의 고만노스를 포함하고, 25% 초과와 고만노스를 포함하는 조성물보다 더 낮은 제거율을 갖는다.

[0023] 또한, 테제펠루맵 및 하나 이상의 테제펠루맵 유도체를 포함하는 조성물로서, 하나 이상의 테제펠루맵 유도체는 테제펠루맵 단편을 포함하고, 조성물 내 테제펠루맵 단편의 양은 약 15% 미만이고, 테제펠루맵은 (A) (i) 서열번호 3에 제시된 경쇄 CDR1 아미노산 서열; (ii) 서열번호 4에 제시된 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 및 (iii) 서열번호 5에 제시된 경쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 및 (B) (i) 서열번호 6에 제시된 중쇄 CDR1 아미노산 서열; (ii) 서열번호 7에 제시된 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 및 (iii) 서열번호 8에 제시된 중쇄 CDR3 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함하는, 조성물이 제공된다.

[0024] 다양한 구현예에서, 조성물 내 단편의 양은 약 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 또는 1% 미만이다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 단편의 양은 약 0.5% 내지 약 13%, 약 1% 내지 약 11%, 약 2% 내지 약 10%, 또는 약 3% 내지 약 8% 또는 약 4% 내지 약 7%이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 단편은 저분자량(LMW) 또는 중분자량(MMW) 중, 또는 이들의 조합이다. 다양한 구현예에서, 단편은 약 25 kD 미만의 저분자량 중이다. 다양한 구현예에서, 단편은 약 25 내지 50 kD의 분자량을 갖는 중분자량 중이다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 테제펠루맵 단편의 양은 나트륨 도데실 설페이트를 이용한 환원 모세관 전기영동(rCE-SDS)에 의해 확인된다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 20% 초과와 테제펠루맵 단편을 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴닐화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력을 포함한다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 15% 초과와 테제펠루맵 단편을 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함한다.

[0025] 테제펠루맵 및 하나 이상의 테제펠루맵 유도체를 포함하는 조성물로서, 테제펠루맵 유도체는 이성질화 유도체, 탈아미드화 유도체, 산화 유도체, 글리코실화 유도체, HMW 중, 단편, 이황화물 이성질체, 또는 이들의 조합을 포함하는, 조성물이 본원에 제공되며, 조성물은 다음 특징 중 하나 이상을 갖는다: (a) 환원 펩티드 맵핑으로 측정시 조성물 내 이성질화 유도체의 양이 약 30% 이하임; (b) 펩티드 맵핑으로 측정시 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양이 약 15% 이하임; (c) 환원 펩티드 맵핑으로 측정시 조성물 내 산화 유도체의 양이 약 7% 이하임; (d) 글리칸 맵핑으로 측정시 조성물 내 글리코실화 유도체의 양이 약 75% 이하임; (e) 비환원 역상 고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)로 측정시 조성물 내 이황화물 이성질체의 양이 약 40% 이하임; (f) SE-HPLC로 측정시 조성물 내 HMW 종의 양이 약 20% 이하임; 및/또는 (g) rCE-SDS로 측정시 조성물 내 단편의 양이 약 20% 이하임.

[0026] 다양한 구현예에서, 테제펠루맵은 서열번호 10에 제시된 중쇄 아미노산 서열 및 서열번호 12에 제시된 경쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0027] 다른 양태에서, 본 발명은 테제펠루맵 조성물의 품질을 평가하는 방법으로서, 테제펠루맵 및 하나 이상의 테제펠루맵 유도체를 함유하는 테제펠루맵 조성물을 수득하는 단계; 조성물 내 하나 이상의 테제펠루맵 유도체(테제펠루맵 유도체는 이성질화 유도체, 탈아미드화 유도체, 산화 유도체, 글리코실화 v, 이황화물 이소형 유도체, HMW 중, 단편, 또는 이들의 조합을 포함함)의 양을 측정하는 단계; 측정된 하나 이상의 테제펠루맵 유도체의 양을 소정의 참조 기준과 비교하는 단계; 및 비교에서 소정의 참조 기준이 충족되는 것으로 나타나면 테제펠루맵 조성물의 약학적 제형 또는 약학적 제품을 제조하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 다양한 구현예에서, 이성질화 유도체의 양이 측정되고 소정의 참조 기준은 약 30% 이하이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이성질화의 양은 환원 펩티드 맵핑에 의해 측정된다. 다양한 구현예에서, 탈아미드화 유도체의 양이 측정되고 소정의 참조 기준은 약 15% 이하이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 탈아미드화의 양은 환원 펩

티드 맵핑에 의해 측정된다. 다양한 구현예에서, 산화 유도체의 양이 측정되고 소정의 참조 기준은 약 7% 이하이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 산화의 양은 환원 펩티드 맵핑에 의해 측정된다. 다양한 구현예에서, 글리코실화 유도체의 양이 측정되고 소정의 참조 기준은 약 40% 이하이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 글리코실화의 양은 글리칸 맵핑에 의해 측정된다. 다양한 구현예에서, 이황화물 이소형 유도체의 양이 측정되고 소정의 참조 기준은 약 75% 이하이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이황화물 이소형의 양은 비환원 역상 고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)에 의해 측정된다. 다양한 구현예에서, HMW 종의 양이 측정되고 소정의 참조 기준은 약 20% 이하이다. 다양한 구현예에서, HMW 종의 양은 SE-HPLC에 의해 측정된다. 다양한 구현예에서, 단편의 양이 측정되고 소정의 참조 기준은 약 15% 이하이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 단편의 양은 rCE-SDS에 의해 측정된다.

- [0028] 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 조성물은 서열번호 10의 중쇄를 암호화하는 핵산 및 서열번호 12의 경쇄를 암호화하는 핵산을 발현하는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포주로부터 획득된다.
- [0029] 다양한 구현예에서, 면역글로불린, 항원 결합 단백질 또는 항체는 인간 항체이다. 다양한 구현예에서, 항체는 IgG2 항체이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 또는 이의 유도체는 서열번호 2의 아미노산 29 내지 159에 제시된 바와 같은 TSLP 폴리펩티드에 특이적으로 결합한다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 또는 이의 유도체의 두 결합 부위는 TSLP에 대해 동일한 결합을 갖는다.
- [0030] 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 또는 이의 유도체는 수치적으로  $10^{-8}$  M Kd 이하의 친화도로 TSLP에 결합한다.
- [0031] 추가로, 본원에 기술된 바와 같은 테제펠루맵 또는 이의 유도체 및 약학적으로 허용되는 담체, 부형제, 또는 희석제를 포함하는 조성물이 고려된다.
- [0032] 본 발명은 또한, 본원에 기술된 테제펠루맵 또는 이의 유도체의 경쇄 가변 도메인, 중쇄 가변 도메인, 또는 둘 모두를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 단리된 핵산을 제공한다.
- [0033] 본 발명은 추가로 본원에 기술된 바와 같은 테제펠루맵을 암호화하는 핵산을 포함하는 재조합 발현 벡터를 고려한다. 또한, 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포가 제공된다.
- [0034] 서열번호 2의 아미노산 29 내지 159를 포함하는 TSLP 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 테제펠루맵 또는 이의 유도체를 포함하는 조성물의 제조 방법으로서, 면역글로불린, 항원 결합 단백질, 또는 항체를 발현할 수 있는 조건하에 숙주 세포를 인큐베이션하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 추가로 고려되며, 상기 숙주 세포는 (i) 본원에 기술된 바와 같은 항원 결합 단백질의 경쇄 가변 도메인을 암호화하는 재조합 발현 벡터 및 본원에 기술된 바와 같은 항원 결합 단백질의 중쇄 가변 도메인을 암호화하는 재조합 발현 벡터, 또는 (ii) 테제펠루맵의 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인 둘 모두를 암호화하는 재조합 발현 벡터를 포함한다.
- [0035] 또한, 대상체의 염증성 질환을 치료하는 방법으로서, 테제펠루맵 및 이의 유도체를 포함하는 조성물의 치료 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다. 다양한 구현예에서, 염증성 질환은 천식, 아토피성 피부염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 호산구성 식도염(EoE), 비용종, 만성 자발성 두드러기, Ig-유발 질환, IgA 신병증, 루푸스 신염, 호산구성 위염, 비용종이 없는 만성 부비동염, 및 특발성 폐섬유증(IPF)으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 다양한 구현예에서, 천식은 경증, 중등도, 또는 중증 천식이다. 다양한 구현예에서, 천식은 중증 천식이다. 다양한 구현예에서, 천식은 호산구성 또는 비호산구성 천식이다.
- [0036] 다양한 구현예에서, 상기 방법은 2주 간격 또는 4주 간격으로 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 다양한 구현예에서, 조성물은 적어도 4개월, 6개월, 9개월, 1년 또는 그 이상의 기간 동안 투여된다.
- [0037] 다양한 구현예에서, 항체는 IgG2 항체이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 또는 테제펠루맵 유도체는 서열번호 10에 제시된 중쇄 가변 영역 및 서열번호 12에 제시된 경쇄 가변 영역을 포함하고, 본원에 기술된 속성 중 하나 이상을 포함한다.
- [0038] 본 발명은 또한 염증성 질환을 치료하는 데 사용하기 위한, 본원에 기술된 바와 같은 테제펠루맵 및 이의 유도체를 포함하는 조성물을 제공한다. 특정 구현예에서, 본 발명은 염증성 질환 치료용 의약의 제조에 있어서 본원에 기술된 바와 같은 테제펠루맵 및 이의 유도체를 포함하는 조성물의 용도를 제공한다.
- [0039] 시린지, 예를 들어 일회용 또는 프리필드 시린지, 멸균 밀봉된 용기, 예를 들어 바이알, 병, 베셀, 및/또는 임의로 적합한 사용 설명서와 함께 상기 임의의 항체 또는 조성물을 포함하는 키트 또는 패키지가 또한 고려된다. 다양한 구현예에서, 투여는 프리필드 시린지 또는 오토인젝터를 통해 이루어진다. 다양한 구현예에서, 오토인젝

터는 Ypsomed YpsoMate® 장치이다.

[0040] 본원에 기술된 각각의 특징 또는 구현예, 또는 조합은 본 발명의 임의의 양태의 비제한적인 예시적 예이므로 본원에 기술된 임의의 다른 특징 또는 구현예, 또는 조합과 결합될 수 있음을 의미하는 것으로 이해된다. 예를 들어, 특징이 "일 구현예", "일부 구현예", "특정 구현예", "추가 구현예", "특정 예시적 구현예", 및/또는 "다른 구현예"와 같은 표현으로 기술된 경우, 이러한 유형의 구현예 각각은 가능한 모든 조합을 나열할 필요 없이, 본원에 기술된 임의의 다른 특징 또는 특징의 조합과 결합되도록 의도된 특징의 비제한적인 예이다. 이러한 특징 또는 특징의 조합은 본 발명의 임의의 양태에 적용된다. 범위 내에 속하는 값의 예가 개시되는 경우, 이러한 임의의 예는 범위의 가능한 끝점으로서 간주되고, 이러한 끝점 사이의 모든 수치가 고려되며, 상한과 하한 끝점의 임의의 모든 조합이 예상된다.

[0041] 본 명세서의 제목은 이를 접하는 사람의 편의를 위한 것이며, 제한하려는 의도는 아니다. 본 발명의 추가적인 양태, 구현예, 및 변형은 상세한 설명 및/또는 도면 및/또는 청구범위로부터 명백해질 것이다.

**도면의 간단한 설명**

[0042] 도 1a 내지 도 1f는 효력과 총 CDR IsoAsp(도 1a 및 도 1d), HMW 중(도 1b 및 도 1e), 및 총 CDR Trp 산화(도 1c 및 도 1f) 사이의 관계를 나타내는 일련의 레버리지 플롯이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0043] 테제펠루마의 구조는 다양한 생물학적, 생화학적, 생물물리학적 기법을 통해 규명되었으며, 이를 통해 테제펠루마의 구조 및 기능적 특성을 이해하고 중요한 품질 속성을 평가할 수 있다.

[0044] 달리 명시되지 않는 한, 본 명세서 및 청구범위를 포함하는 본 출원에서 사용되는 하기 용어는 아래에 주어진 정의를 갖는다.

[0045] 본 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용되는 단수 형태는 문맥에서 달리 명시하지 않는 한 복수의 지시대상을 포함한다.

[0046] 달리 정의하지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다.

[0047] 용어 "약" 또는 "대략"은 당업자에 의해 결정되는 특정 값의 허용되는 오차를 의미하며, 이는 부분적으로는 값의 측정 또는 결정 방법에 따라 달라진다. 특정 구현예에서, 용어 "약" 또는 "대략"은 1, 2, 3, 또는 4 표준편차 이내를 의미한다. 특정 구현예에서, 용어 "약" 또는 "대략"은 주어진 값 또는 범위의 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.5%, 또는 0.05% 이내를 의미한다. 용어 "약" 또는 "대략"이 2개 이상의 일련의 수치에서 첫 번째 수치 앞에 있는 모든 경우, 용어 "약" 또는 "대략"은 해당되는 일련의 수치 각각에 적용되는 것으로 이해된다.

[0048] 용어 "염증성 질환"은 면역 체계가 자신의 세포나 조직을 공격하여 발생하는 비정상적인 염증을 수반하는 의학적 상태를 의미하며, 이는 만성 통증, 발적, 부종, 경직, 및 정상 조직 손상을 초래할 수 있다. 염증성 질환은 예를 들어 천식, 만성 소화성 궤양, 결핵, 치주염, 부비동염, 활성 간염, 강직성 척추염, 류마티스 관절염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 크론병, 궤양성 대장염, 골관절염, 죽상경화증, 전신 홍반성 루푸스, 아토피성 피부염, 호산구성 식도염(EoE), 비용종, 만성 자발성 두드러기, Ig-유발 질환(예컨대, IgA 신병증 및 루푸스 신염), 호산구성 위염, 비용종이 없는 만성 부비동염, 특발성 폐 섬유증(IPF) 등을 포함한다. 예시적인 양태에서, 염증성 질환은 천식, 아토피성 피부염, 또는 COPD이다. 예시적인 양태에서, 염증은 천식이고, 일부 경우에, 천식은 중증 천식, 호산구성 천식, 비호산구성 천식, 또는 저호산구성 천식이다.

[0049] 본원에서 사용되는 용어 "천식"은 알레르기성, 비알레르기성, 호산구성, 및 비호산구성 천식을 지칭한다.

[0050] 본원에서 사용되는 용어 "알레르기성 천식"은 하나 이상의 흡입된 알레르겐에 의해 유발되는 천식을 지칭한다. 이러한 환자는 천식 반응을 유발하는 하나 이상의 알레르겐에 대해 양성 IgE 형광 효소 면역분석(FEIA) 수치를 나타낸다. 일반적으로, 대부분의 알레르기성 천식은 Th2형 염증과 관련이 있다.

[0051] 용어 "비알레르기성 천식"은 진단 당시 호산구 수치, Th2 수치, 또는 IgE 수치가 낮은 환자를 의미한다. "비알레르기성 천식" 환자는 지역-특이적 알레르겐을 포함한 알레르겐 패널에 반응하여 IgE 형광 효소 면역분석(FEIA)에서 일반적으로 음성이다. 낮은 IgE 외에도, 이러한 환자는 대체로 진단 당시 호산구 수치가 낮거나 전

혀 없고 Th2 수치가 낮다.

- [0052] 본원에서 사용되는 용어 "중증 천식"은 양호한 제어를 유지하기 위해 고강도 치료(예를 들어, GINA 4단계 및 5 단계를 필요로 하는 천식, 또는 고강도 치료에도 불구하고 양호한 제어가 달성되지 않는 천식을 지칭한다 (GINA, Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Global Initiative for Asthma (GINA) December 2012).
- [0053] 본원에서 사용되는 용어 "호산구성 천식"은 스크리닝 혈액 호산구 수치가 300개 세포/ $\mu\text{L}$  이하 또는 250개 세포/ $\mu\text{L}$  이하인 천식 환자를 의미한다. "저호산구성" 천식은 혈액 또는 혈청 수치가 250개 세포/ $\mu\text{L}$  미만인 천식 환자를 의미한다. 대안적으로, "저호산구성" 천식은 혈액 또는 혈청 수치가 300개 세포/ $\mu\text{L}$  미만인 천식 환자를 의미한다.
- [0054] "T 헬퍼(Th) 1 사이토카인" 또는 "Th1-특이적 사이토카인"은 Th1 T 세포에 의해 발현되는(세포내 발현되고/되거나 분비되는) 사이토카인을 지칭하며, IFN-g, TNF-a, 및 IL-12를 포함한다. "Th2 사이토카인" 또는 "Th2-특이적 사이토카인"은 IL-4, IL-5, IL-13, 및 IL-10을 포함하는, Th2 T 세포에 의해 발현되는(세포내 발현되고/되거나 분비되는) 사이토카인을 지칭한다. "Th17 사이토카인" 또는 "Th17-특이적 사이토카인"은 IL-17A, IL-17F, IL-22, 및 IL-21을 포함하는, Th17 T 세포에 의해 발현되는(세포내 발현되고/되거나 분비되는) 사이토카인을 지칭한다. 특정 Th17 세포 집단은 본원에 열거된 Th17 사이토카인 외에도 IFN-g 및/또는 IL-2를 발현한다. 다기능성 CTL 사이토카인은 IFN-g, TNF-a, IL-2, 및 IL-17을 포함한다.
- [0055] "특이적으로 결합하는"이라는 용어는 "항원 특이적", 또는 "~에 특이적", "선택적 결합제", "특이적 결합제", "항원 표적", 또는 항원과 "면역반응성"이라는 의미이며, 유사한 서열의 다른 항원보다 더 큰 친화도로 표적 항원에 결합하는 항체 또는 폴리펩티드를 나타낸다. 본원에서 제제는 면역 세포 유형, 예를 들어 표면 항원(예를 들어, T 세포 수용체, CD3), 사이토카인(예를 들어, TSLP, IL-4, IL-5, IL-13, IL-17, IFN-g, TNF-a) 등을 식별하는 데 유용한 표적 단백질에 특이적으로 결합하는 것으로 고려된다. 다양한 구현예에서, 항체는 표적 항원에 특이적으로 결합하지만, 밀접하게 관련된 종의 동원체(ortholog)와 교차 반응할 수 있으며, 예를 들어 항체는 인간 단백질에 결합할 수 있고, 또한 밀접하게 관련된 영양류 단백질에 결합할 수 있다. 다양한 구현예에서, TSLP에 특이적인 면역글로불린, 항원 결합 단백질 또는 이의 단편, 또는 항체 또는 이의 단편은 수치적으로  $10^{-8}$  M 이하인 Kd로 결합한다. 다양한 구현예에서, 본원에 기술된 항-TSLP 항체는 적어도  $10^{-8}$  M,  $10^{-9}$  M,  $10^{-10}$  M,  $10^{-11}$  M,  $10^{-12}$  M,  $10^{-13}$  M 이하의 친화도(Kd)로 결합한다.
- [0056] 용어 "항체"는 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄로 이루어진(각각은 가변 영역 및 불변 영역을 포함함) 사량체 당단백질을 지칭한다. "중쇄" 및 "경쇄"는 실질적으로 전장인 표준 면역글로불린 경쇄 및 중쇄를 지칭한다(예를 들어, 문헌[Immunobiology, 5th Edition (Janeway and Travers et al., Eds., 2001)] 참조). 항원 결합 부분은 재조합 DNA 기술에 의해, 또는 온전한 항체의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생성될 수 있다.
- [0057] 항원 결합 단백질은 표준 사량체 항체의 구조에 대한 구조적 변화를 가질 수 있는 항체, 항체 단편, 및 항체-유사 단백질을 포함한다. 항체 "변이체"는 알려진 서열을 갖는 모 항체와 비교하여 항체 서열 또는 기능에 구조적 변화를 가질 수 있는 항원 결합 단백질 또는 이의 단편을 지칭한다. 항체 변이체는 불변 영역이 변경된 V 영역을 포함하거나, 대안적으로는, 임의로 비표준 방식으로, 불변 영역에 V 영역을 추가한 것을 포함한다. 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 예로서 다중특이적 항체(예를 들어, 추가 V 영역을 갖는 이중특이적), 항원에 결합할 수 있는 항체 단편(예를 들어, Fab', F'(ab)2, Fv, 단일쇄 항체, 디아바디), 이들을 포함하는 이중파라토프 및 재조합 펩티드가 포함된다.
- [0058] 목적하는 생물학적 활성을 항체가 유지하는 한, 항체 단편은, 특히 Fab, Fab', F(ab')2, Fv, 도메인 항체(dAb), 상보성 결정 영역(CDR) 단편, CDR-이식 항체 결합 영역, 단일쇄 항체(scFv), 단일쇄 항체 단편, 키메라 항체, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, 미니바디, 선형 항체; 킬레이트 재조합 항체, 트리바디 또는 바이바디, 인트라바디, 나노바디, 소형 모듈 면역약제(SMIP), 항원 결합 도메인 면역글로불린 융합 단백질, 단일 도메인 항체(낙타화 항체 포함), VHH 함유 항체, 또는 이들의 변이체 또는 유도체, 및 폴리펩티드에 특이적 항원 결합을 부여하기에 충분한 면역글로불린의 적어도 일부, 예컨대 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 6개의 CDR 서열을 포함하는 폴리펩티드를 비롯한, 항체의 항원 결합 부분을 포함한다.
- [0059] 본원에서 사용되는 바와 같은 "항체 유도체"는 본원에 기술된 하나 이상의 속성을 포함하는 항체, 항원 결합 단백질, 또는 이의 단편을 지칭하며, 화학적 동일성, 화학적 변형 또는 구조적 속성 유형(예를 들어, HMW 종, 단

편, 또는 이소형)의 관점에서 특성화될 수 있고 목적하는 생물학적 활성을 나타낸다.

- [0060] "결합가"는 에피토프를 표적화하는 각각의 항체 또는 항체 단편 상의 항원 결합 부위의 수를 의미한다. 전형적인 전장 IgG 분자, 또는 F(ab)<sub>2</sub>는 2개의 동일한 표적 결합 부위를 갖는다는 점에서 "2가"이다. "1가" 항체 단편, 예컨대 F(ab)' 또는 scFc는 단일 항원 결합 부위를 갖는다. 3가 또는 4가 항원 결합 단백질은 또한 다가가 되도록 조작될 수 있다.
- [0061] "단일클론 항체"는 실질적으로 균질한 항체 집단으로부터 수득된 항체를 지칭한다(즉, 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연발생적 돌연변이를 제외하고는 집단을 구성하는 개별 항체가 동일함).
- [0062] "TSLP 활성을 억제한다"라는 용어는 다음 중 임의의 하나 이상을 억제하는 것을 포함한다: TSLP와 그 수용체의 결합; TSLP 존재하의 TSLPR 발현 세포의 증식, 활성화, 또는 분화; TSLP 존재하의 분극 점정에서의 Th2 사이토카인 생성의 억제; TSLP 존재하의 수지상 세포 활성화 또는 성숙; 및 TSLP 존재하의 비만 세포 사이토카인 방출. 예를 들어, 미국 특허 7982016 B2(6단 및 실시예 8) 및 US 2012/0020988 A1(실시예 7 내지 10) 참조.
- [0063] 용어 "샘플" 또는 "생물학적 샘플"은 본 발명의 방법에 사용하기 위해 대상체로부터 얻은 검체를 지칭하며, 소변, 전혈, 혈장, 혈청, 타액, 객담, 조직 생검, 뇌척수액, 시험관내 자극이 있는 말초 혈액 단핵 세포, 시험관내 자극이 없는 말초 혈액 단핵 세포, 시험관내 자극이 있는 장 림프 조직, 시험관내 자극이 없는 장 림프 조직, 장 세척액, 기관지폐포 세척액, 비강 세척액, 및 유도 객담을 포함한다.
- [0064] 용어 "치료"는 본원에 기술된 염증성 장애와 관련된 사건, 질환, 또는 병태의 임상 증상, 징후, 또는 진행을 일시적으로 또는 영구적으로, 부분적으로 또는 완전히 제거하거나, 감소시키거나, 억제하거나, 또는 개선하는 것을 의미한다. 관련 분야에서 인식되는 바와 같이, 치료제로 사용되는 약물은 주어진 질환 상태의 중증도를 감소시킬 수 있지만, 유용한 치료제로 간주되기 위해 질환의 모든 징후를 없앨 필요는 없다. 마찬가지로, 예방적으로 투여되는 치료가 실용적인 예방제를 구성하기 위해 병태의 발병을 예방하는 데 완전히 효과적일 필요는 없다. (예를 들어, 증상의 수나 중증도를 줄이거나, 다른 치료의 효과를 높이거나, 다른 유익한 효과를 생성함으로써) 단순히 질환의 영향을 줄이거나, 대상체에서 질환이 발생하거나 악화될 가능성을 줄이는 것만으로도 충분하다. 본 발명의 일 구현예는 치료의 효능을 확인하는 방법으로서, 특정 장애의 중증도를 반영하는 지표의 기준선에 비해 지속적 개선을 유도하기에 충분한 양의 치료제를 그러한 유도에 충분한 시간 동안 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다.
- [0065] 용어 "치료 유효량"은 질환 또는 장애와 관련된 질환의 증상 또는 징후를 개선하거나 줄이는 데 효과적인 치료제의 양을 의미한다.
- [0066] **TSLP**
- [0067] 흉선 기질 림포포이에틴(TSLP)은 염증 촉진 자극에 반응하여 생성되고 주로 수지상 세포(Gilliet, J Exp Med. 197:1059-1067, 2003; Soumelis, Nat Immunol. 3:673-680, 2002; Reche, J Immunol. 167:336-343, 2001), 비만 세포(Allakhverdi, J Exp Med. 204:253-258, 2007), 및 CD34+ 전구 세포(Swedin et al. Pharmacol Ther 2017;169:13-34)에서의 활성을 통해 알레르기성 염증 반응을 유발하는 상피 세포-유래 사이토카인이다. TSLP는 인터류킨 (IL)-7 수용체 알파(IL-7R $\alpha$ ) 쇄 및 공통  $\gamma$  쇄-유사 수용체(TSLPR)로 이루어진 이종이량체성 수용체를 통해 신호를 전달한다(Pandey, Nat Immunol. 1:59-64, 2000; Park, J Exp Med. 192:659-669, 2000).
- [0068] 인간 TSLP mRNA (Brightling et al., J Allergy Clin Immunol 2008;121:5-10; quiz 1-2;Ortega et al. N Engl J Med 2014;371:1198-207) 및 단백질 수준(상기 Ortega 등의 문헌)은 대조군에 비해 천식 개체의 기도에서 증가하며, 이 발현의 크기는 질환 중증도와 상관관계가 있다(상기 Brightling 등의 문헌). 최근 연구에서는 인간 TSLP 유전자좌의 단일 뉴클레오티드 다형성과 천식, 아토피성 천식, 및 기도 과민성으로부터의 보호와의 연관성이 입증되었으며, 이는 TSLP 유전자 발현의 차등 조절이 질환 감수성에 영향을 미칠 수 있음을 시사한다(Ortega et al. N Engl J Med 2014;371:1198-207; To et al. BMC Public Health 2012;12:204). 이러한 데이터는 TSLP의 표적화가 천식에 관련된 여러 생물학적 경로를 억제할 수 있음을 시사한다.
- [0069] TSLP의 이전 비임상 연구에서는 TSLP가 기도 상피 세포 또는 기질 세포로부터 방출된 후, 비만 세포, 수지상 세포, 및 T 세포를 활성화하여 Th2 사이토카인(예를 들어, IL-4/13/5)을 방출하는 것으로 나타났다. 최근 공개된 인간에 대한 데이터는 조직 TSLP 유전자와 단백질 발현, Th2 유전자 표지 점수, 및 조직 호산구 사이의 양호한 상관 관계를 보여주었다. 따라서, 항-TSLP 표적 치료법은 Th2형 염증이 있는 천식 환자에서 효과적일 수 있다 (Shikotra et al, J Allergy Clin Immunol. 129(1):104-11, 2012).

- [0070] 다른 연구로부터의 데이터는 TSLP가 기도 평활근과 비만 세포 사이의 크로스토크(crosstalk)와 같은 Th2 독립적 경로를 통해 기도 염증을 촉진할 수 있음을 시사한다(Allakhverdi et al., J Allergy Clin Immunol. 123(4):958-60, 2009; 상기 Shikotra 등의 문헌). TSLP는 또한 T 세포를 Th-17-사이토카인 생성 세포로 분화되도록 유도하는 것을 촉진할 수 있으며, 보다 중증인 천식에서 흔히 볼 수 있는 호중구성 염증을 결과적으로 증가시킨다(Tanaka et al., Clin Exp Allergy. 39(1):89-100, 2009). 이러한 데이터 및 기타 새로운 증거는 TSLP를 차단하면 Th2 사이토카인(IL-4/13/5)과 관련된 경로를 포함하되 이에 한정되지 않는 여러 생물학적 경로를 억제하는 역할을 할 수 있음을 시사한다.
- [0071] **항체**
- [0072] TSLP에 특이적인 항체 또는 항체 유도체 또는 항원 결합 단백질은 본원에 기술된 천식, 예컨대 중증 천식, 호산구성 천식, 비호산구성/저호산구성 및 기타 형태의 천식, 아토피성 피부염, EoE, 및 COPD를 비롯한 염증성 질환의 치료에 유용한 것으로 고려된다.
- [0073] 표적 항원, 예를 들어 TSLP에 결합하는 항체 및 항체 유도체 또는 단편과 같은 특이적 결합제가 본 발명의 방법 및 조성물에 유용하다. 일 구현예에서, 특이적 결합제는 항체이다. 항체는 단일클론 항체(MAb); 재조합 항체; 키메라 항체; 인간화 항체, 예컨대 상보성 결정 영역(CDR) 이식 항체; 인간 항체; 단일쇄 항체를 포함하는 항체 변이체; 및/또는 이중특이적 항체; 뿐만 아니라 이의 단편; 변이체; 또는 유도체일 수 있다. 항체 단편은 관심 폴리펩티드 상의 에피토프에 결합하는 항체의 부분을 포함한다. 이러한 단편의 예는 전장 항체의 효소적 절단에 의해 생성된 Fab 및 F(ab') 단편을 포함한다. 기타 결합 단편은 항체 가변 영역을 암호화하는 핵산 서열을 포함하는 재조합 플라스미드의 발현과 같은 재조합 DNA 기술에 의해 생성된 것들을 포함한다.
- [0074] 단일클론 항체는 치료제 또는 진단제로 사용하기 위해 변형될 수 있다. 일 구현예는, 중(H)쇄 및/또는 경(L)쇄의 일부가, 특정 종으로부터 유래되거나 특정 항체 클래스 또는 하위클래스에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성인 한편, 쇠(들)의 나머지는, 다른 종으로부터 유래되거나 다른 항체 클래스 또는 하위클래스에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성인, "키메라" 항체이다. 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 이러한 항체의 단편도 포함된다. 문헌[미국 특허 4,816,567호; Morrison et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. 81:6851-55] 참조.
- [0075] 다른 구현예에서, 단일클론 항체는 "인간화" 항체이다. 비인간 항체를 인간화하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 미국 특허 5,585,089호 및 5,693,762호 참조. 일반적으로, 인간화 항체는 비인간인 공급원으로부터 도입된 하나 이상의 아미노산 잔기를 갖는다. 인간화는 예를 들어, 당해 분야(Jones et al., 1986, Nature 321:522-25; Riechmann et al., 1998, Nature 332:323-27; Verhoeyen et al., 1988, Science 239:1534-36)에 기술된 방법을 사용하여, 설치류 상보성 결정 영역의 적어도 일부를 인간 항체의 상응하는 영역에 대체함으로써 수행될 수 있다.
- [0076] TSLP에 결합하는 인간 항체 변이체 및 유도체(항체 단편 포함)도 본 발명에 포함된다. 내인성 면역글로불린 생성 없이 인간 항체의 레퍼토리를 생성할 수 있는 유전자이식 동물(예를 들어, 마우스)을 사용하여, 임의로 담체에 접합된, 폴리펩티드 항원(즉, 적어도 6개의 연결 아미노산을 가짐)으로 면역화하여 이러한 항체가 생성된다. 예를 들어, 문헌[Jakovovits et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. 90:2551-55; Jakovovits et al., 1993, Nature 362:255-58; Bruggermann et al., 1993, Year in Immuno. 7:33] 참조. 또한, PCT 출원 PCT/US96/05928호 및 PCT/US93/06926호 참조. 추가의 방법은 미국 특허 5,545,807호, PCT 출원 PCT/US91/245호 및 PCT/GB89/01207호, 및 유럽 특허 546073B1호 및 546073A1호에 기술되어 있다. 인간 항체는 또한, 본원에 기술된 바와 같이 숙주 세포에서의 재조합 DNA의 발현에 의해, 또는 하이브리도마 세포에서의 발현에 의해 생성될 수 있다.
- [0077] 키메라, CDR 이식, 인간화 항체, 항체 단편, 및/또는 항체 변이체 및 유도체는 일반적으로 재조합 방법에 의해 생성된다. 항체를 암호화하는 핵산은 본원에 기술된 물질 및 절차를 사용하여 숙주 세포 내에 도입되고 발현된다. 바람직한 구현예에서, 항체는 포유류 숙주 세포, 예컨대 CHO 세포에서 생성된다. 단일클론(예를 들어, 인간) 항체는 본원에 기술된 바와 같이 숙주 세포에서의 재조합 DNA의 발현에 의해, 또는 하이브리도마 세포에서의 발현에 의해 생성될 수 있다. 포유류 세포의 추가 예는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포 외에도, HeLa 세포, 어린 햄스터 신장(BHK) 세포, 원숭이 신장 세포(COS), 인간 간세포 암종 세포(예를 들어, Hep G2), 및 인간 상피 신장 293세포를 포함하여, ATCC(American Type Culture Collection, Manassas, VA)로부터 입수가 가능한 불멸화 세포주를 포함한다. 또한, 테제펠루맵 또는 테제펠루맵 유도체의 정확한 변형 및 처리를 위해 세포주 또는 숙주 시스템이 선택될 수 있다. 유전자 산물의 1차 전사, 글리코실화, 및 인산화의 적절한 처리를 위한 세포 기

구를 보유하는 진핵 숙주 세포가 사용될 수 있다. 이들은 CHO, VERY, BHK, HeLa, COS, MDCK, 293, 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 및 T47D, NS0(기능적 면역글로불린쇄를 내생적으로 생성하지 않는 무린 골수종 세포주), SP20, CRL7030 및 HsS78Bst 세포를 포함한다. 인간 림프구를 불멸화하여 개발된 인간 세포주도 사용될 수 있다. 인간 세포주 PER.C6®(Janssen; Titusville, NJ)도 단일클론 항체를 재조합적으로 생산하는 데 사용될 수 있다.

[0078] 예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 분자 속성을 갖는 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 이러한 분자 속성을 갖는 테제펠루맵 또는 테제펠루맵 유도체를 발현하는 세포 클론을 선택함으로써 얻을 수 있다. 이러한 테제펠루맵 또는 테제펠루맵 유도체를 생성하기 위해 재조합 DNA 방법이 사용될 수 있다. 예를 들어, 테제펠루맵 또는 테제펠루맵 유도체의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 DNA를 적합한 발현 벡터(또는 벡터들, 예를 들어 중쇄에 대한 하나의 벡터 및 경쇄에 대한 하나의 벡터)에 삽입할 수 있고, 이는 포유류 세포주의 세포와 같은 적합한 숙주 세포 내로 형질감염될 수 있다. 예를 들어, 프로모터에 연결된 테제펠루맵 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 적합한 발현 벡터는 당업계에 잘 알려져 있다. 발현 벡터는 통상적인 기술에 의해 숙주 세포에 전달될 수 있고, 형질감염된 세포는 배양되어 항체를 생성할 수 있다. 임의로, 숙주 세포는 분자 속성을 조절하도록 조작될 수 있다. 예를 들어, 푸코실화를 조절하기 위해, 글리코실화 능력이 있는 세포를 유전적으로 변형하여 푸코실-트랜스퍼라제 또는 Golgi GDP-푸코스 수송체의 활성을 변경할 수 있다. 예를 들어, 글리코실화를 조절하기 위한 세포주 조작은 PCT 공개 WO 2015/116315호에 기술되어 있다.

[0079] 관련 분자 속성을 포함하는 테제펠루맵 또는 테제펠루맵 유도체를 생성하는 클론이 선택될 수 있다. 예를 들어, 확립된 미세역가 플레이트 기반 클론 생성 및 성장 방법이 수행될 수 있다. 수백 개의 혼합된 이중 세포는 형광 활성화 세포 분류(FACS) 또는 제한 희석과 같은 과정을 통해 단일 세포 배양물로 분류될 수 있다. 건강하고 안정적인 집단으로 회복시킨 후, 이러한 클론-유래 세포를 분석할 수 있으며, 추가 분석을 위해 선별 집단을 선택한다. 추가 분석을 위해, 클론 세포는 "소규모 세포 배양"(예를 들어, 10일 유가식 공정)으로 배양되는 스피너 튜브, 24-웰 플레이트, 또는 96-웰 플레이트와 같은 작은 용기에서 배양될 수 있다. 이 소규모 공정에서, 다량의 영양소가 주기적으로 추가되고, 세포 성장과 생존력에 대한 다양한 측정이 이루어진다. 수백 또는 수천 개의 이러한 소규모 배양이 병행될 수 있다. 배양 종료시(예를 들어, 10일째), 검정 및 분석을 위해 세포를 채취한다. 임의로, 미세역가 플레이트 기반 클론 생성 및 성장 방법(예를 들어, 서브클로닝)은, 예를 들어 Berkeley Lights Beacon™ 광전자 세포주 생성 및 분석 시스템과 같은 자동화 또는 부분 자동화 고처리량 및 고품량 스크리닝 도구를 사용하여 대체될 수 있다. 임의로, 관련 분자 속성을 생성하는 클론의 선별을 촉진하기 위해 고처리량 스크리닝 방법 및 기계 학습 도구를 사용할 수 있다(예를 들어, PCT 공개 WO 2020/223422호 참조).

[0080] 항-TSLP 항체 테제펠루맵은 미국 특허 7,982,016호 및 미국 특허 출원 15/951,602호에 기술되어 있다.

[0081] 본 발명의 방법에 유용한 항-TSLP 항원 결합 단백질(이의 단편 포함)은 a. i. 서열번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR1 서열; ii. 서열번호 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR2 서열; iii. 서열번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인; 및 b. i. 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1 서열; ii. 서열번호 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR2 서열; 및 iii. 서열번호 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함하는 항-TSLP 항체를 포함하며, 항체 또는 항체 유도체는 서열번호 2의 아미노산 29 내지 159에 제시된 바와 같은 TSLP 폴리펩티드에 특이적으로 결합한다.

[0082] 또한, a. i. 서열번호 12와 적어도 80% 동일한 아미노산 서열; ii. 서열번호 11과 적어도 80% 동일한 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 암호화되는 아미노산 서열; iii. 서열번호 11로 이루어진 폴리뉴클레오티드의 상보체와 중등도로 엄격한 조건하에 혼성화하는 아미노산 서열로 이루어진 균으로부터 선택되는 경쇄 가변 도메인; 및 b. i. 서열번호 10과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열; ii. 서열번호 9와 적어도 80% 동일한 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 암호화되는 아미노산 서열; iii. 서열번호 9로 이루어진 폴리뉴클레오티드의 상보체와 중등도로 엄격한 조건하에 혼성화하는 아미노산 서열로 이루어진 균으로부터 선택되는 중쇄 가변 도메인; 또는 c. (a)의 경쇄 가변 도메인 및 (b)의 중쇄 가변 도메인을 포함하는 항체 또는 항체 유도체가 고려되며, 항체 또는 항체 유도체는 서열번호 2의 아미노산 29 내지 159에 제시된 바와 같은 TSLP 폴리펩티드에 특이적으로 결합한다.

[0083] 테제펠루맵은 a. i. 서열번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR1 서열; ii. 서열번호 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR2 서열; iii. 서열번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR3 서열; 및 b. i. 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1 서열; ii. 서열번호 7에 제시된 아미노

산 서열을 포함하는 중쇄 CDR2 서열; 및 iii. 서열번호 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR3 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 갖는 예시적인 항-TSLP 항체이다.

- [0084] 테제펠루맵은 또한, 서열번호 11에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 암호화되는, 서열번호 12에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인; 및 서열번호 9에 제시된 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 암호화되는, 서열번호 10에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0085] 다양한 구현예에서, 항-TSLP 항체 또는 이의 항체 유도체는 2가이고, 인간 항체, 인간화 항체, 키메라 항체, 단일클론 항체, 재조합 항체, 항원 결합 항체 단편, 단일쇄 항체, 1가 항체, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, Fab 단편, IgG1 항체, IgG2 항체, IgG3 항체, 및 IgG4 항체로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0086] 다양한 구현예에서, 항-TSLP 항체 유도체는 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, Fab 단편, 단일 도메인 항체, scFv로 이루어진 군으로부터 선택되며, 용량은 결합 부위가 2가 항체에 의해 투약되는 것과 등물이 되도록 조정된다.
- [0087] 항체 또는 항체 유도체는 IgG2 항체인 것으로 고려된다. 인간 IgG2 불변 영역에 대한 예시적인 서열은 본원에 참조로 포함된 Uniprot 데이터베이스로부터 Uniprot 번호 P01859로 입수가능하다. 다른 항체 중쇄 및 경쇄 불변 영역에 대한 서열 정보를 포함한 정보도 Uniprot 데이터베이스뿐만 아니라 항체 조작 및 생성 분야에 잘 알려진 다른 데이터베이스를 통해 공개적으로 이용가능하다. 테제펠루맵은 IgG2 항체이다. IgG2 쇄를 포함하는 테제펠루맵의 전장 중쇄 및 경쇄의 서열은 각각 서열번호 13 및 14에 제시되어 있다.
- [0088] 특정 구현예에서, 항체의 유도체는 글리코실화 부위의 수 및/또는 유형이 모 폴리펩티드의 아미노산 서열과 비교하여 변경된 사량체 글리코실화 항체를 포함한다. 특정 구현예에서, 변이체는 천연 단백질보다 더 많거나 더 적은 수의 N-연결 글리코실화 부위를 포함한다. 대안적으로, 이 서열을 제거하는 치환은 기존의 N-연결 탄수화물 쇄를 제거할 것이다. 또한, 하나 이상의 N-연결 글리코실화 부위(일반적으로는, 자연발생적인 부위)가 제거되고 하나 이상의 새로운 N-연결 부위가 생성되는, N-연결 탄수화물 쇄의 재배열이 제공된다. 추가의 항체 변이체는 모 아미노산 서열과 비교하여 하나 이상의 시스테인 잔기가 결실되거나 다른 아미노산(예를 들어, 세린)으로 치환된 시스테인 변이체를 포함한다. 시스테인 변이체는 불용성 봉입체의 단리 후와 같이 항체가 생물학적 활성 입체형태로 다시 접혀야 할 때 유용할 수 있다. 시스테인 변이체는 전반적으로 천연 단백질보다 더 적은 시스테인 잔기를 갖고, 쌍을 이루지 않은 시스테인으로 인한 상호작용을 최소화하기 위해 일반적으로 짝수를 갖는다.
- [0089] 목적하는 아미노산 치환(보존적이든 비보존적이든)은 이러한 치환이 필요한 시점에 당업자에 의해 결정될 수 있다. 특정 구현예에서, 아미노산 치환은 인간 TSLP에 대한 항체의 중요한 잔기를 식별하기 위해, 또는 본원에 기술된 인간 TSLP에 대한 항체의 친화도를 증가시키거나 감소시키기 위해 사용될 수 있다.
- [0090] 특정 구현예에 따르면, 바람직한 아미노산 치환은 (1) 단백질분해에 대한 민감성을 감소시키고/시키거나, (2) 산화에 대한 민감성을 감소시키고/시키거나, (3) 결합 친화도를 변경하고/하거나, (4) 고분자량(HMW) 종의 형성을 억제하고/하거나, (5) 이러한 폴리펩티드에 다른 물리화학적 또는 기능적 특성을 부여하거나 변형시키는 것들이다. 특정 구현예에 따르면, 자연발생적 서열에서(특정 구현예에서는, 분자간 접촉을 형성하는 도메인(들) 밖의 폴리펩티드의 부분에서) 단일 또는 다중 아미노산 치환(특정 구현예에서는, 보존적 아미노산 치환)이 이루어질 수 있다. 특정 구현예에서, 보존적 아미노산 치환은 일반적으로 모 서열의 구조적 특성을 실질적으로 변화시키면 안 된다(예를 들어, 대체 아미노산은 모 서열에서 발생하는 나선을 파괴하거나, 모 서열을 특징짓는 다른 유형의 2차 구조를 파괴하는 경향이 없어야 한다). 당업계에서 인식되는 폴리펩티드의 2차 및 3차 구조의 예는 문헌[Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)); Introduction to Protein Structure (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)); 및 Thornton et al. Nature 354:105 (1991)]에 기술되어 있으며, 각 문헌은 본원에 참조로 포함된다.
- [0091] **제조 방법**
- [0092] 본 발명의 테제펠루맵 조성물은, 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 핵산을 숙주 세포에서 재조합적으로 발현시키고, 숙주 세포 배양물 또는 숙주 세포 용해물로부터 테제펠루맵을 정제하거나 부분적으로 정제하고, 생성된 조성물을 아래에서 더 자세히 기술되는 방법에 따라 본원에 기술된 테제펠루맵 유도체 중 하나 이상에 대해 분석함으로써 제조될 수 있다.
- [0093] 테제펠루맵 또는 테제펠루맵 유도체의 재조합 제조를 위해, 중쇄(예를 들어, 서열번호 10의 아미노산 서열을 포

합하는 중쇄 폴리펩티드) 및 경쇄(예를 들어, 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩티드)를 암호화하는 하나 이상의 핵산이 하나 이상의 발현 벡터에 삽입된다. 중쇄를 암호화하는 핵산 및 경쇄를 암호화하는 핵산은 단일 발현 벡터에 삽입되거나 별개의 발현 벡터에 삽입될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "발현 벡터" 또는 "발현 구성체"는 목적하는 암호화 서열 및 특정 숙주 세포에서 작동가능하게 연결된 암호화 서열의 발현에 필요한 적절한 핵산 제어 서열을 포함하는 재조합 DNA 분자를 지칭한다. 발현 벡터는 전사와 번역을 제어하거나 이에 영향을 미치는 서열을 포함할 수 있고, 인트론이 존재하는 경우에는 이에 작동가능하게 연결된 암호화 영역의 RNA 스플라이싱에 영향을 미치는 서열을 포함할 수 있다. 원핵생물에서의 발현에 필요한 핵산 서열은 프로모터, 임의로 조작자 서열, 리보솜 결합 부위, 및 가능하게는 다른 서열을 포함한다. 진핵 세포는 프로모터, 인핸서, 및 종결 및 폴리아데닐화 신호를 활용하는 것으로 알려져 있다. 발현된 폴리펩티드가 필요한 경우 재조합 숙주 세포에 의해 분비되어 세포로부터 관심 폴리펩티드가 더욱 용이하게 단리될 수 있도록, 분비 신호 펩티드 서열이 또한 임의로, 관심 암호화 서열에 작동가능하게 연결된 발현 벡터에 의해 암호화될 수 있다. 벡터는 또한, 벡터가 도입된 숙주 세포의 선택을 용이하게 하기 위해 하나 이상의 선별 마커 유전자를 포함할 수 있다. 테제펠루맘의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 예시적인 핵산뿐만 아니라 적합한 신호 펩티드 서열 및 테제펠루맘을 재조합적으로 발현하기 위한 발현 벡터의 기타 구성요소는 전체가 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 7,982,016에 기술되어 있으며, 본원에서 서열번호 9 및 서열번호 11에 제시되어 있다.

[0094] 발현 벡터가 구성되고 테제펠루맘 또는 이의 유도체의 중쇄 및 경쇄 구성요소를 암호화하는 하나 이상의 핵산 분자가 벡터 또는 벡터들의 적절한 부위(들)에 삽입된 후, 완성된 벡터(들)는 증폭 및/또는 폴리펩티드 발현을 위해 적합한 숙주 세포에 삽입될 수 있다. 테제펠루맘 또는 이의 유도체에 대한 발현 벡터를 선택된 숙주 세포 내로 형질전환시키는 것은 형질감염, 감염, 인산칼슘 공침전, 전기천공, 미세주입, 리포펙션, DEAE-텍스트란 매개 형질감염, 또는 기타 알려진 기술을 포함한 잘 알려진 방법에 의해 달성될 수 있다. 선택된 방법은 부분적으로는, 사용될 숙주 세포의 유형에 따라 것이다. 이러한 방법 및 기타 적합한 방법은 당업자에게 잘 알려져 있고, 예를 들어 문헌[Sambrook, Fritsch and Maniatis (eds), Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989), Ausubel *et al.* (eds.) Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates, (1989)]에 기재되어 있다.

[0095] 숙주 세포는 적절한 조건하에 배양되는 경우, 테제펠루맘 또는 이의 유도체를 합성하며, 이는 후속적으로 (숙주 세포가 이를 배지 내로 분비하는 경우) 배양 배지로부터 수집되거나, (분비되지 않는 경우) 이를 생성하는 숙주 세포로부터 직접 수집될 수 있다. 적절한 숙주 세포의 선택은 다양한 인자, 예컨대 원하는 발현 수준, 활성에 바람직하거나 필요한 폴리펩티드 변형(예컨대, 글리코실화 또는 인산화), 및 생물학적 활성 분자로서의 접힘 용이성에 따라 달라질 것이다.

[0096] 예시적인 숙주 세포는 원핵생물, 효모, 또는 고등 진핵생물 세포를 포함한다. 원핵생물 숙주 세포는 유박테리아, 예컨대 그람 음성 또는 그람 양성 유기체, 예를 들어 엔테로박테리아세에(*Enterobacteriaceae*), 예컨대 에세리키아(*Escherichia*), 예컨대 E. 콜라이(*E. coli*), 엔테로박터(*Enterobacter*), 어위니아(*Erwinia*), 클렙시엘라(*Klebsiella*), 프로테우스(*Proteus*), 살모넬라(*Salmonella*), 예를 들어 살모넬라 타이피무리움(*Salmonella typhimurium*), 세라티아(*Serratia*), 예를 들어 세라티아 마르세스칸스(*Serratia marcescans*), 및 시겔라(*Shigella*), 뿐만 아니라 바실러스(*Bacillus*), 예컨대 B. 서브틸리스(*B. subtilis*) 및 B. 리케니포르미스(*B. licheniformis*), 슈도모나스(*Pseudomonas*), 및 스트렙토마이세스(*Streptomyces*)를 포함한다. 사상 진균 또는 효모와 같은 진핵 미생물은 재조합 폴리펩티드에 적합한 클로닝 또는 발현 숙주이다. 사카로마이세스 세레비시애(*Saccharomyces cerevisiae*), 또는 일반적인 제빵용 효모가 하등 진핵 숙주 미생물 중에서 가장 일반적으로 사용된다. 그러나, 여러 다른 속, 종, 및 균주, 예컨대 피키아(*Pichia*), 예를 들어 P. 파스토리스(*P. pastoris*), 스킴조사카로마이세스 폼베(*Schizosaccharomyces pombe*); 클루이베로마이세스(*Kluyveromyces*), 야로위아(*Yarrowia*); 칸디다(*Candida*); 트리코더마 리이시아(*Trichoderma reesia*); 뉴로스포라 크라싸(*Neurospora crassa*); 슈반니오마이세스(*Schwanniomyces*), 예컨대 슈반니오마이세스 옥시덴탈리스(*Schwanniomyces occidentalis*); 및 사상 진균, 예컨대, 뉴로스포라(*Neurospora*), 페니실리움(*Penicillium*), 톨리포클라디움(*Tolypocladium*), 및 아스페르길러스(*Aspergillus*) 숙주, 예컨대 A. 니들란스(*A. nidulans*) 및 A. 나이거(*A. niger*)가 일반적으로 이용가능하고 본원에서 유용하다.

[0097] 글리코실화 항체의 발현을 위한 숙주 세포는 다세포 유기체로부터 유래될 수 있다. 무척추동물 세포의 예는 식물 및 곤충 세포를 포함한다. 스포도테라 프루기페르다(*Spodoptera frugiperda*)(애벌레), 이집트 숲모기(*Aedes aegypti*)(모기), 흰줄숲모기(*Aedes albopictus*)(모기), 노랑초파리(*Drosophila melanogaster*)(초파리), 및 누에나방(*Bombyx mori*)과 같은 숙주로부터의 수많은 바칼로바이러스 균주 및 변이체 및 상응하는 허용 곤충 숙주

세포가 확인되었다. 이러한 세포의 형질감염을 위한 다양한 바이러스 균주, 예를 들어 오토그라파 칼리포니카 (*Autographa californica*) NPV의 L-1 변이체 및 누에나방 NPV의 Bm-5 균주가 공개적으로 이용가능하다.

[0098] 척추동물 숙주 세포도 적합한 숙주이며, 이러한 세포로부터 항체를 재조합적으로 생산하는 것은 통상적인 절차가 되었다. 발현을 위한 숙주로 이용가능한 포유류 세포주는 당업계에 잘 알려져 있으며, CHOK1 세포(ATCC CCL61), DXB-11, DG-44, 및 중국 햄스터 난소 세포/-DHFR(CHO, Urlaub *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216, 1980)을 포함하는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포; SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주(COS-7, ATCC CRL 1651); 인간 배아 신장 세포주 293 또는 현탁 배양에서의 성장을 위해 서브클로닝된 293 세포(Graham *et al.*, J. Gen Virol. 36: 59, 1977); 아기 햄스터 신장 세포(BHK, ATCC CCL 10); 마우스 세르톨리 세포(TM4, Mather, Biol. Reprod. 23 : 243-251, 1980); 원숭이 신장 세포(CV1 ATCC CCL 70); 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포(VERO-76, ATCC CRL-1587); 인간 자궁경부 암종 세포(HELA, ATCC CCL 2); 개 신장 세포(MDCK, ATCC CCL 34); 벼팔로 래트 간세포(BRL 3A, ATCC CRL 1442); 인간 폐세포(W138, ATCC CCL 75); 인간 간세포암 세포(Hep G2, HB 8065); 마우스 유방 종양(MMT 060562, ATCC CCL51); TRI 세포(Mather *et al.*, Annals N.Y Acad. Sci. 383: 44-68, 1982); MRC 5 세포 또는 FS4 세포; 포유류 골수종 세포, 및 다수의 다른 세포주를 포함하여(이에 한정되지 않음), ATCC(American Type Culture Collection)로부터 입수가 가능한 불멸화 세포주를 포함하나 이에 한정되지 않는다. CHO 세포는 테제펠루맷 또는 이의 유도체를 발현하기 위한 일부 구현예에서 바람직한 숙주 세포이다.

[0099] 숙주 세포는 테제펠루맷 또는 이의 유도체의 생성을 위해 상기 발현 벡터로 형질전환 또는 형질감염되고, 프로모터 유도, 형질전환체 선택, 또는 목적하는 서열을 암호화하는 유전자 증폭에 적합하게 변형된 통상적인 영양 배지에서 배양된다. 테제펠루맷 또는 이의 유도체를 생성하는 데 사용되는 숙주 세포는 다양한 배지에서 배양될 수 있다. 시판되는 배지, 예컨대 Ham's F10(Sigma), 최소 필수 배지(MEM, Sigma), RPMI-1640(Sigma), 및 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM, Sigma)가 숙주 세포 배양에 적합하다. 추가로, 문헌[Ham *et al.*, Meth. Enz. 58: 44, 1979; Barnes *et al.*, Anal. Biochem. 102: 255, 1980; 미국 특허 4,767,704호; 4,657,866호; 4,927,762호; 4,560,655호; 또는 5,122,469호; WO 90/03430; 또는 WO 87/00195]에 기술된 임의의 배지가 숙주 세포에 대한 배양 배지로서 사용될 수 있다. 임의의 이들 배지는 필요에 따라 호르몬 및/또는 다른 성장 인자(예컨대 인슐린, 트랜스페린, 또는 표피 성장 인자), 염(예컨대 염화나트륨, 칼슘, 마그네슘 및 인산 염), 완충제(예컨대, HEPES), 뉴클레오티드(예컨대, 아데노신 및 티미딘), 항생제(예컨대, Gentamycin™ 약물), 미량 원소(마이크로몰 범위의 최종 농도로 보통 존재하는 무기 화합물로 정의됨), 및 글루코스 또는 동등한 에너지원으로 보충될 수 있다. 임의의 다른 필요한 보충제도 당업자에게 알려진 적절한 농도로 포함될 수 있다. 온도, pH 등과 같은 배양 조건은 발현을 위해 선택된 숙주 세포와 함께 이전에 사용된 조건이며, 당업자에게 명백할 것이다.

[0100] 숙주 세포를 배양할 때, 항체는 주변세포질 공간에서 세포내 생성되거나, 배지 내로 직접 분비될 수 있다. 항체가 세포내 생성되는 경우, 첫 번째 단계로서, 숙주 세포가 (예를 들어, 기계적 전단, 삼투압 충격, 또는 효소적 방법에 의해) 용해되고, 미립자 잔해(예를 들어, 숙주 세포 및 용해된 단편)가 예를 들어 원심분리, 미세여과, 또는 한외여과에 의해 제거된다. 항체가 배양 배지 내로 분비되는 경우, 항체는 원심분리 또는 미세여과를 통해 숙주 세포로부터 분리될 수 있고, 임의로 후속하여 한외여과를 통해 농축될 수 있다. 테제펠루맷 또는 이의 유도체는 예를 들어 친화성 크로마토그래피(예를 들어, 단백질 A 또는 단백질 G 친화성 크로마토그래피), 양이온 교환 크로마토그래피, 음이온 교환 크로마토그래피, 하이드록시아파타이트 크로마토그래피, 소수성 상호작용 크로마토그래피, 또는 혼합 모드 크로마토그래피와 같은 하나 이상의 크로마토그래피 단계를 사용하여 추가로 정제되거나 부분적으로 정제될 수 있다.

[0101] 테제펠루맷 조성물이 생성되거나 수득되면, 조성물은 이성질화 유도체(이의 이성질화 중간체 포함), 탈아미드화 유도체(이의 탈아미드화 중간체 포함), 산화 유도체, 글리코실화 유도체, 이황화물 이소형 유도체, 및 크기 유도체(예를 들어, HMW 종 또는 단편)를 포함하는, 본원에 기술된 하나 이상의 테제펠루맷 유도체의 존재 및 양에 대해 평가될 수 있다. 따라서, 본 발명은 테제펠루맷 조성물의 품질을 평가하는 방법으로서, 테제펠루맷 및 하나 이상의 테제펠루맷 유도체를 함유하는 테제펠루맷 조성물을 수득하는 단계; 조성물 내 하나 이상의 테제펠루맷 유도체의 양을 측정하는 단계; 측정된 하나 이상의 테제펠루맷 유도체의 양을 소정의 참조 기준과 비교하는 단계; 및 비교에서 소정의 참조 기준이 충족되는 것으로 나타나면 테제펠루맷 조성물의 약학적 제형 또는 약학적 제품을 제조하는 단계를 포함하는 방법을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 다음 중 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7개 단계를 포함한다: (1) 조성물 내 이성질화 유도체(이의 이성질화 중간체 포함)의 양을 측정하는 단계, (2) 조성물 내 탈아미드화 유도체(이의 탈아미드화 중간체 포함)의 양을 측정하는 단계, 조성물 내 산화 유

도체의 양을 측정하는 단계, (4) 조성물 내 글리코실화 유도체의 양을 측정하는 단계, (5) 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양을 측정하는 단계, (6) 조성물 내 HMW 중의 양을 측정하는 단계, 및/또는 (7) 조성물 내 단편의 양을 측정하는 단계. 특정 구현예에서, 테제펠루맵 조성물에 대해 7가지 측정 모두 수행된다.

[0102] 각각의 테제펠루맵 유도체에 대한 소정의 참조 기준은, 예를 들어 투여 중의 안전성 목적 또는 TSLP 수용체의 리간드-유도 활성화 억제를 위한, 테제펠루맵 조성물의 효력 및/또는 내약성에 크게 영향을 미치지 않는 유도체의 역치량 또는 양의 범위일 수 있다. 예를 들어, 유도체의 본원에 개시된 임의의 한계 또는 범위를 갖는 테제펠루맵 조성물이 임상 시험에서 평가되어 임상 효능을 갖는 것으로 나타난 테제펠루맵 조성물에 필적하는 효력 및/또는 내약성을 가졌기 때문에, 각각의 테제펠루맵 유도체에 대한 소정의 참조 기준은 유도체 각각에 대해 이러한 한계 또는 범위일 수 있다. 본원에 기술된 소정의 참조 기준은 본원에 기술된 바와 같은 방법의 시작 이전에 지정될 수 있다는 것이 이해될 것이다.

[0103] 상기 방법의 특정 구현예에서, 조성물 내 테제펠루맵 유도체의 측정된 양이 소정의 참조 기준을 충족하면, 테제펠루맵 조성물은 허용되는 것으로 분류되어 제조 또는 유통 과정에서, 예컨대 (예를 들어, 하나 이상의 부형제 또는 희석제와 배합함으로써) 조성물의 약학적 제형을 제조하거나; (예를 들어, 바이알, 시린지, 오토인젝터, 또는 기타 용기 또는 전달 장치에 충전함으로써) 조성물의 약학적 제품을 제조하거나; 사용 설명서, 희석제, 및/또는 전달 장치와 함께 조성물을 패키징하거나; 또는 상업적 판매를 위해 조성물을 출시하거나 유통업자에게 배송함으로써 다음 단계로 진행될 수 있다. 상기 방법의 일부 구현예에서, 조성물 내 테제펠루맵 유도체의 측정된 양이 소정의 참조 기준을 충족하면, 테제펠루맵 조성물의 약학적 제형이 제조된다. 상기 방법의 다른 구현예에서, 조성물 내 테제펠루맵 유도체의 측정된 양이 소정의 참조 기준을 충족하면, 테제펠루맵 조성물의 약학적 제품이 제조된다. 테제펠루맵 조성물의 약학적 제형 및 약학적 제품을 제조하는 방법은 아래에서 더 자세히 기술되어 있다. 조성물 내 테제펠루맵 유도체의 측정된 양이 소정의 참조 기준을 충족하지 않으면, 상기 방법의 일부 구현예에서, 테제펠루맵 조성물은 허용되지 않는 것으로 분류되어 폐기되거나, 파괴되거나, 또는 소정의 참조 기준이 충족되도록 조성물 내 테제펠루맵 유도체의 양을 제거하거나 감소시키기 위한 추가의 정제와 같은 추가의 제조 단계를 거칠 수 있다.

[0104] 일 구현예에서, 테제펠루맵 조성물의 품질을 평가하는 방법은 테제펠루맵 및 테제펠루맵 이성질화 유도체(이의 이성질화 중간체 포함)를 함유하는 테제펠루맵 조성물을 수득하는 단계; 조성물 내 이성질화 유도체의 양을 측정하는 단계; 측정된 이성질화 유도체의 양을 소정의 참조 기준과 비교하는 단계; 및 비교에서 소정의 참조 기준이 충족되는 것으로 나타나면 테제펠루맵 조성물의 약학적 제형 또는 약학적 제품을 제조하는 단계를 포함한다. 테제펠루맵 조성물 내 이성질화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 30% 미만, 예를 들어 약 25% 미만, 약 20% 이하, 약 17% 이하, 약 15% 이하, 약 12% 이하, 약 10% 이하, 약 8% 이하, 약 6% 이하, 또는 약 4% 이하일 수 있다. 일 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이성질화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 15% 이하이다. 다른 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이성질화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 13% 이하이다. 다른 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이성질화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 10%, 약 8%, 약 5%, 약 3%, 또는 약 2% 미만이다. 일부 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이성질화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 양의 범위, 예를 들어 테제펠루맵 조성물의 약 0.5% 내지 약 13%, 테제펠루맵 조성물의 약 1% 내지 약 10%, 또는 테제펠루맵 조성물의 약 0.5% 내지 약 5%일 수 있다. 다른 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이성질화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 가변 영역 세트 중 하나 또는 둘 모두에서 서열 번호 7의 D54에서의 약 5%, 4%, 3%, 2%, 또는 1% 미만의 이성질화이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이성질화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 서열번호 4의 D49, D50, 또는 D52 중 하나 이상에서의 약 13%, 약 10%, 약 8%, 약 5%, 약 3%, 또는 약 2% 미만의 이성질화이다. 특정 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이성질화 유도체의 양은 환원 펩티드 맵핑에 의해 측정된다.

[0105] 일 구현예에서, 테제펠루맵 조성물의 품질을 평가하는 방법은 테제펠루맵 및 테제펠루맵 탈아미드화 유도체(이의 탈아미드화 중간체 포함)를 함유하는 테제펠루맵 조성물을 수득하는 단계; 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양을 측정하는 단계; 측정된 탈아미드화 유도체의 양을 소정의 참조 기준과 비교하는 단계; 및 비교에서 소정의 참조 기준이 충족되는 것으로 나타나면 테제펠루맵 조성물의 약학적 제형 또는 약학적 제품을 제조하는 단계를 포함한다. 테제펠루맵 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 15% 미만, 예를 들어 약 13% 이하, 약 10% 이하, 약 8% 이하, 약 6% 이하, 약 4% 이하, 약 3% 이하, 약 2% 이하, 또는 약 1% 이하일 수 있다. 일 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 7% 이하이다. 다른 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 5% 이하이다. 다른 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 2% 이하

이다. 일부 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 양의 범위, 예를 들어 테제펠루맘 조성물의 약 0.4% 내지 약 10%, 테제펠루맘 조성물의 약 1% 내지 약 7%, 또는 테제펠루맘 조성물의 약 0.1% 내지 약 4%일 수 있다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 서열번호 3에 제시된 LCDR1의 N25/N26에서의 약 3% 미만의 탈아미드화이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 서열번호 13에 제시된 중쇄의 N316, 및/또는 서열번호 13에 제시된 중쇄의 N385/390에서의 약 13% 미만의 탈아미드화이다. 특정 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양은 환원 펩티드 맵핑에 의해 측정된다.

[0106] 일 구현예에서, 테제펠루맘 조성물의 품질을 평가하는 방법은 테제펠루맘 및 테제펠루맘 산화 유도체를 함유하는 테제펠루맘 조성물을 수득하는 단계; 조성물 내 산화 유도체의 양을 측정하는 단계; 측정된 산화 유도체의 양을 소정의 참조 기준과 비교하는 단계; 및 비교에서 소정의 참조 기준이 충족되는 것으로 나타나면 테제펠루맘 조성물의 약학적 제형 또는 약학적 제품을 제조하는 단계를 포함한다. 테제펠루맘 조성물 내 산화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 7% 이하, 약 6% 이하, 약 4% 이하, 약 3% 이하, 약 2% 이하, 또는 약 1% 이하일 수 있다. 일 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 산화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 7% 이하이다. 다른 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 산화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 5% 이하이다. 다른 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 산화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 3% 이하이다. 일부 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 산화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 양의 범위, 예를 들어 테제펠루맘 조성물의 약 0.1% 내지 약 7%, 테제펠루맘 조성물의 약 0.4% 내지 약 5%, 또는 테제펠루맘 조성물의 약 0.8% 내지 약 3%일 수 있다. 다른 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 산화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 서열번호 8에 제시된 HCDR3의 W102에서의 약 7% 이하, 또는 약 6% 이하, 또는 약 5% 이하, 또는 약 3% 이하의 산화이다. 특정 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 산화 유도체의 양은 환원 펩티드 맵핑에 의해 측정된다.

[0107] 일 구현예에서, 테제펠루맘 조성물의 품질을 평가하는 방법은 테제펠루맘 및 테제펠루맘 글리코실화 유도체를 함유하는 테제펠루맘 조성물을 수득하는 단계; 조성물 내 글리코실화 유도체의 양을 측정하는 단계; 측정된 글리코실화 유도체의 양을 소정의 참조 기준과 비교하는 단계; 및 비교에서 소정의 참조 기준이 충족되는 것으로 나타나면 테제펠루맘 조성물의 약학적 제형 또는 약학적 제품을 제조하는 단계를 포함한다. 테제펠루맘 조성물 내 글리코실화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 40% 미만, 예를 들어 약 35% 이하, 약 30% 이하, 약 25% 이하, 약 20% 이하, 약 17% 이하, 약 15% 이하, 약 12% 이하, 약 10% 이하, 약 8% 이하, 약 6% 이하, 또는 약 4% 이하일 수 있다. 일 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 글리코실화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 30% 이하이다. 다른 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 글리코실화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 20% 이하이다. 다른 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 글리코실화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 15% 이하이다. 다른 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 글리코실화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 10% 이하이다. 일부 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 글리코실화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 양의 범위, 예를 들어 테제펠루맘 조성물의 약 1% 내지 약 40%, 테제펠루맘 조성물의 약 4% 내지 약 30%, 테제펠루맘 조성물의 약 2% 내지 약 20%, 또는 테제펠루맘 조성물의 약 5% 내지 약 15%일 수 있다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 글리코실화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 17% 이하, 약 15% 이하, 약 12% 이하, 약 10% 이하, 약 8% 이하, 약 5% 이하, 또는 약 4% 이하의 조성물 내 고만노스 글리코실화이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 글리코실화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 25% 이하, 약 23% 이하(예를 들어, 약 23.1% 이하), 약 21% 이하, 약 19% 이하, 약 17% 이하, 약 15% 이하, 약 12% 이하, 약 10% 이하, 약 8% 이하, 약 6% 이하, 약 5% 이하, 또는 약 4% 이하의 조성물 내 고만노스 글리코실화이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 글리코실화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 23.1% 이하의 조성물 내 고만노스 글리코실화이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 글리코실화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 30% 이하, 약 25% 이하, 약 20% 이하, 약 17% 이하, 약 15% 이하, 약 12% 이하, 약 10% 이하, 약 8% 이하, 약 5% 이하, 또는 약 4% 이하의 조성물 내 갈락토실화이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 글리코실화 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 5% 이하, 약 4% 이하, 약 3% 이하, 약 2% 이하, 약 1% 이하의 아푸코실화 글리코실화이다. 특정 구현예에서, 테제펠루맘 조성물 내 글리코실화 유도체의 양은 글리칸 맵핑에 의해 측정된다.

[0108] 일 구현예에서, 테제펠루맘 조성물의 품질을 평가하는 방법은 테제펠루맘 및 테제펠루맘 이황화물 이소형 유도체를 함유하는 테제펠루맘 조성물을 수득하는 단계; 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양을 측정하는 단계; 측정된 이황화물 이소형의 양을 소정의 참조 기준과 비교하는 단계; 및 비교에서 소정의 참조 기준이 충족되는 것으로 나타나면 테제펠루맘 조성물의 약학적 제형 또는 약학적 제품을 제조하는 단계를 포함한다. 테제펠루맘 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 75% 미만, 예를 들어 약 70% 이하, 약

65% 이하, 약 55% 이하, 약 50% 이하, 약 45% 이하, 약 40% 이하, 약 35% 이하, 약 30% 이하, 약 25% 이하, 약 20% 이하, 약 17% 이하, 약 15% 이하, 약 12% 이하, 약 10% 이하, 약 8% 이하, 약 6% 이하, 또는 약 4% 이하일 수 있다. 일 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 50% 이하이다. 일 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 35% 이하이다. 일 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 25% 이하이다. 일 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 15% 이하이다. 다른 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 10% 이하이다. 다른 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 8% 이하이다. 일부 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 양의 범위, 예를 들어 테제펠루맵 조성물의 약 10% 내지 약 70%, 테제펠루맵 조성물의 약 15% 내지 약 50%, 또는 테제펠루맵 조성물의 약 20% 내지 약 40%일 수 있다. 일 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 50% 이하의 IgG2-A/B 이소형이다. 일 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 5% 이하의 IgG2-B 이소형이다. 특정 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양은 역상 HPLC에 의해 측정된다.

[0109] 다른 구현예에서, 테제펠루맵 조성물의 품질을 평가하는 방법은 테제펠루맵 및 테제펠루맵의 HMW 종을 함유하는 테제펠루맵 조성물을 수득하는 단계; 조성물 내 HMW 종의 양을 측정하는 단계; 측정된 HMW 종의 양을 소정의 참조 기준과 비교하는 단계; 및 비교에서 소정의 참조 기준이 충족되는 것으로 나타나면 테제펠루맵 조성물의 약학적 제형 또는 약학적 제품을 제조하는 단계를 포함한다. 테제펠루맵 조성물 내 HMW 종의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 20% 미만, 예를 들어 약 15% 이하, 약 12% 이하, 약 10% 이하, 약 9% 이하, 약 8% 이하, 약 7% 이하, 약 6% 이하, 약 5% 이하, 또는 약 4% 이하일 수 있다. 테제펠루맵 조성물 내 HMW 종의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 3.0% 미만, 예를 들어 약 2.5% 이하, 약 2.4% 이하, 약 2.3% 이하, 약 2.2% 이하, 약 2.1% 이하, 약 2.0% 이하, 약 1.8% 이하, 약 1.6% 이하, 약 1.4% 이하, 약 1.2% 이하, 약 1.0% 이하, 약 0.8% 이하, 약 0.6% 이하, 또는 약 0.4% 이하일 수 있다. 일 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 HMW 종의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 2.5% 이하이다. 다른 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 HMW 종의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 1.7% 이하이다. 다른 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 HMW 종의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 1.4% 이하이다. 또 다른 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 HMW 종의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 1.2% 이하이다. 또 다른 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 HMW 종의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 0.6% 이하이다. 일부 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 HMW 종의 양에 대한 소정의 참조 기준은 양의 범위, 예를 들어 테제펠루맵 조성물의 약 0.3% 내지 약 2.4%, 테제펠루맵 조성물의 약 0.6% 내지 약 2.1%, 테제펠루맵 조성물의 약 0.4% 내지 약 1.2%, 또는 테제펠루맵 조성물의 약 0.6% 내지 약 1.4%일 수 있다. 특정 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 HMW 종의 양은 SE-HPLC, 예를 들어 SE-UHPLC, SE-HPLC-SLS, 또는 침강 속도 초원심분리(SV-AUC)에 의해 측정된다.

[0110] 다른 구현예에서, 테제펠루맵 조성물의 품질을 평가하는 방법은 테제펠루맵 및 테제펠루맵의 단편(예를 들어, LMW 또는 MMW)을 함유하는 테제펠루맵 조성물을 수득하는 단계; 조성물 내 단편의 양을 측정하는 단계; 측정된 단편의 양을 소정의 참조 기준과 비교하는 단계; 및 비교에서 소정의 참조 기준이 충족되는 것으로 나타나면 테제펠루맵 조성물의 약학적 제형 또는 약학적 제품을 제조하는 단계를 포함한다. 테제펠루맵 조성물 내 HMW 종의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 15% 이하, 약 12% 이하, 약 10% 이하, 약 9% 이하, 약 8% 이하, 약 7% 이하, 약 6% 이하, 약 5% 이하, 또는 약 4% 이하일 수 있다. 테제펠루맵 조성물 내 단편의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 3.0% 미만, 예를 들어 약 2.5% 이하, 약 2.4% 이하, 약 2.3% 이하, 약 2.2% 이하, 약 2.1% 이하, 약 2.0% 이하, 약 1.8% 이하, 약 1.6% 이하, 약 1.4% 이하, 약 1.2% 이하, 약 1.0% 이하, 약 0.8% 이하, 약 0.6% 이하, 또는 약 0.4% 이하일 수 있다. 일 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 단편의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 2.5% 이하이다. 다른 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 단편의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 1.7% 이하이다. 다른 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 단편의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 1.4% 이하이다. 또 다른 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 단편의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 1.2% 이하이다. 또 다른 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 단편의 양에 대한 소정의 참조 기준은 약 0.6% 이하이다. 일부 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 단편의 양에 대한 소정의 참조 기준은 양의 범위, 예를 들어 테제펠루맵 조성물의 약 0.3% 내지 약 2.4%, 테제펠루맵 조성물의 약 0.6% 내지 약 2.1%, 테제펠루맵 조성물의 약 0.4% 내지 약 1.2%, 또는 테제펠루맵 조성물의 약 0.6% 내지 약 1.4%일 수 있다. 특정 구현예에서, 테제펠루맵 조성물 내 단편의 양은 rCE-SDS에 의해 측정된다.

- [0111] 본 발명의 방법의 특정 구현예에서, 상기 방법은
- [0112] (a) 테제펠루맘 및 하나 이상의 테제펠루맘 유도체를 함유하는 테제펠루맘 조성물을 수득하는 단계(테제펠루맘 유도체는 이성질화 유도체, 탈아미드화 유도체, 산화 유도체, 글리코실화 v, 이황화물 이소형 유도체, HMW 중, 단편, 또는 이들의 조합을 포함함);
- [0113] (b) 다음 단계 중 하나 이상을 수행함으로써 테제펠루맘 조성물을 평가하는 단계:
- [0114] (i) 환원 펩티드 맵핑으로 조성물 내 이성질화 유도체의 양을 측정하고, 측정된 양을 약 30% 이하의 소정의 참조 기준과 비교하는 단계;
- [0115] (ii) 환원 펩티드 맵핑으로 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양을 측정하고, 측정된 양을 약 15% 이하의 소정의 참조 기준과 비교하는 단계;
- [0116] (iii) 환원 펩티드 맵핑으로 조성물 내 산화 유도체의 양을 측정하고, 측정된 양을 약 7% 이하의 소정의 참조 기준과 비교하는 단계;
- [0117] (iv) 글리칸 맵핑으로 조성물 내 글리코실화 유도체의 양을 측정하고, 측정된 양을 약 40% 이하의 소정의 참조 기준과 비교하는 단계;
- [0118] (vi) 비환원 역상 고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)로 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양을 측정하고, 측정된 양을 약 75% 이하의 소정의 참조 기준과 비교하는 단계;
- [0119] (vi) SE-HPLC의 프리-피크(pre-peak)로 조성물 내 HMW 중의 양을 측정하고, 측정된 양을 약 20% 이하의 소정의 참조 기준과 비교하는 단계; 및/또는
- [0120] (vii) rCE-SDS의 프리-피크로 조성물 내 단편의 양을 측정하고, 측정된 양을 약 15% 이하의 소정의 참조 기준과 비교하는 단계
- [0121] 및
- [0122] (c) 단계 (b)에서의 비교 또는 비교들에서 소정의 참조 기준/기준들이 충족되는 것으로 나타나면 테제펠루맘 조성물의 약학적 제형 또는 약학적 제품을 제조하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 모든 단계 (b)(i), (b)(ii), (b)(iii), (b)(iv), (b)(v), (b)(vi), 및 (b)(vii)이 수행된다. 다른 구현예에서, 단계 (b)(vi) 및 (b)(vii)만이 수행된다. 특정 구현예에서, 단계 (b)(iv), (b)(vi), 및 (b)(vii)이 수행된다.
- [0123] **단백질 결합에 기여하는 속성의 식별**
- [0124] 단백질 결합 및 활성에 기여하는 속성을 확인하기 위해, 본원에 기술된 바와 같은 항-TSLP 항체 테제펠루맘은 치료 단백질의 유도체의 형성으로 이어지는 구조의 변화, 예를 들어 치료 단백질의 아미노산 구조의 변화를 가져오는 조건에 놓이게 된다. 예시적인 양태에서, 아미노산의 변화된 구조는 "속성"으로 지칭되고, 이의 화학적 동일성 또는 속성 유형 및 항원 결합 단백질의 아미노산 서열 내 위치, 예를 들어 속성이 존재하는 아미노산의 위치의 관점에서 특성화될 수 있다. 예를 들어, 아스파라긴 및 글루타민 잔기는 탈아미드화되기 쉽다. 단백질 아미노산 서열의 10번 위치에 있는 탈아미드화된 아스파라긴은 속성의 예이다. 특정 아미노산에 대한 예시적인 속성 유형 목록이 표 A에 제공되어 있다. 따라서, 본원에서 사용되는 바와 같은 "구조"는 표 A에 열거된 속성 유형, 또는 표 A에 열거된 둘 이상의 속성 유형의 조합을 포함하거나, 본질적으로 이로 이루어지거나, 이로 이루어질 수 있다. 속성은 구조의 예이며, 달리 언급되지 않는 한, 본원에서 "구조"가 언급되는 모든 곳에서 속성은 구조의 예로서 고려된다는 것이 이해될 것이다. 예를 들어, 고분자량 중(HMW) 및 단편도 속성의 예이다.

[0125] [표 A]

예시적인 속성 유형	아미노산 잔기
탈아미드화	Asn, Gln
탈아미노화	Glu, Ser, Gly
당화, 하이드록시라이신	Lys
글리코질화	Asn
고리화	N-말단 Gln, N-말단 Glu
산화	Met, Trp, His
이성질화	Asp
단편화/클리핑	Asp/Pro

[0126]

[0127]

테제켈루맵과 같은 면역글로불린 또는 이의 단편, 항체 또는 항원 결합 단백질은 다수의 아미노산을 포함하므로, 본원에 기술된 항체 또는 항원 결합 단백질은 둘 이상의 속성(예를 들어, 변화된 구조를 갖는 둘 이상의 아미노산)을 가질 수 있고 속성 프로파일의 관점에서 기술될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "속성 프로파일"은 항원 결합 단백질 속성의 목록을 의미한다. 다양한 경우에, 속성 프로파일은, 임의로 치료 단백질의 본래 구조와 관련된, 화학적 동일성 또는 속성 유형, 예를 들어 탈아미드화를 제공한다. 다양한 경우에, 속성 프로파일은 속성의 위치, 예를 들어 속성이 존재하는 아미노산의 위치를 제공한다. 일부 양태에서 속성 프로파일은 항원 결합 단백질에 존재하는 모든 속성에 대한 설명을 제공한다. 다른 양태에서, 속성 프로파일은 단백질에 존재하는 속성의 하위집합에 대한 설명을 제공한다. 예를 들어, 속성 프로파일은 단백질의 특정 부분, 예를 들어 불변 영역, 가변 영역, CDR(예컨대, 3개의 경쇄 CDR 및 3개의 중쇄 CDR)에 존재하는 속성만을 제공할 수 있다. 항체 또는 항원 결합 단백질과 같은 치료 단백질 중은 단백질에 존재하는 속성(들)을 특징으로 한다. 항체 또는 항원 결합 단백질 중은 상이한 속성 프로파일을 가짐으로써 동일한 단백질의 다른 종과 상이할 수 있다. 두 가지 치료 단백질이 서로 다른 속성 프로파일을 갖는 경우, 치료 단백질은 치료 단백질의 두 가지 상이한 종 또는 유도체를 나타낸다. 두 가지 치료 단백질이 동일한 속성 프로파일을 갖는 경우, 치료 단백질은 치료 단백질의 동일한 종 또는 유도체로 간주된다.

[0128]

다양한 경우에, 면역글로불린, 항체, 또는 항원 결합 단백질은 구조의 변화, 예를 들어 하나 이상의 속성의 형성으로 이어지는 조건에 놓이게 되고, 구조의 변화는 치료 단백질의 표적에 대한 친화도를 변경할 수 있다. 다양한 양태에서, 면역글로불린, 항체, 또는 항원 결합 단백질은 구조의 변화, 예를 들어 하나 이상의 속성의 형성으로 이어지는 조건에 놓이게 되고, 구조의 변화는 항원 결합 단백질의 표적에 대한 친화도를 감소시킨다. 일부 양태에서 감소된 친화도는 면역글로불린, 항체, 항원 결합 단백질이 표적과 상호작용하는(예를 들어, 표적에 결합하는) 능력의 부분적 또는 전체적 손실을 초래한다. 다양한 경우에, 면역글로불린, 항체, 항원 결합 단백질이 표적과 상호작용하는(예를 들어, 표적에 결합하는) 능력의 부분적 또는 전체적 손실은 궁극적으로 항원 결합 단백질의 효능을 감소시킨다. 대안적인 경우, 면역글로불린, 항체, 또는 항원 결합 단백질은 구조의 변화, 예를 들어 하나 이상의 속성의 형성으로 이어지는 조건에 놓이게 되고, 구조의 변화는 면역글로불린, 항체, 또는 항원 결합 단백질의 표적에 대한 친화도를 변경하지 않는다. 다양한 양태에서, 구조의 변화는 단백질의 표적에 대한 친화도를 감소시키지 않는다. 임의의 특정 이론에 구애됨이 없이, 본 발명의 방법은 유리하게는, 면역글로불린, 항체, 또는 항원 결합 단백질과 표적 사이의 상호작용에 영향을 미치는 면역글로불린, 항체, 또는 항원 결합 단백질의 속성을, 이러한 상호작용에 영향을 미치지 않는 속성과 정밀하고 정확하게 구별한다.

[0129]

다양한 양태에서, 본원의 조성물은 면역글로불린, 항원 결합 단백질 또는 이의 단편, 또는 항체 또는 이의 단편의 종 또는 유도체의 집단을 포함한다. 다양한 경우에, 집단은 면역글로불린, 항원 결합 단백질 또는 이의 단편, 또는 항체 또는 이의 단편의 동종 집단이고, 임의로 조성물 샘플에 존재하는 각각의 단백질은 동일한 종 또는 유도체이다. 다양한 경우에, 집단은 본원에 기술된 속성을 갖는 면역글로불린, 항원 결합 단백질 또는 이의 단편, 또는 항체 또는 이의 단편의 적어도 2개의 상이한 종 또는 유도체를 포함하는 이종 집단이다. 다양한 양태에서, 이종 집단은 면역글로불린, 항원 결합 단백질 또는 이의 단편, 또는 항체 또는 이의 단편의 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개 또는 그 이상의 상이한 종 또는 유도체를 포함한다. 임의로, 이종 집단은 단백질의 7개 초과, 8개 초과, 9개 초과, 10개 초과, 20개 초과, 30개 초과, 40개 초과, 50 초과 상이한 종 또는 유도체를 포함한다. 일부 양태에서 집단의 각각의 종 또는 유도체는 특유의 속성 프로파일을 갖는다. 예시적인 경우에, 면역글로불린, 항원 결합 단백질 또는 이의 단편, 또는 항체 또는 이의 단편의 종은 조성물에 존재하는 유일한 단백질이다. 일부 양태에서, 조성물은 (i) 집단 면역글로불린, 항원 결합 단백질 또는 이의 단편, 또는 항체 또는 이의 단편, 면역글로불린, 항원 결합 단백질 또는 이의 단편, 또

는 항체 또는 이의 단편, 및 (ii) 약학적으로 허용되는 담체, 희석제, 부형제, 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 구현예에서, 이중 집단의 면역글로불린, 항원 결합 단백질 또는 이의 단편, 또는 항체 또는 이의 단편의 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 이상은 본원에 기술된 바와 같은 속성을 포함한다. 일부 구현예에서, 이중 집단의 면역글로불린, 항원 결합 단백질 또는 이의 단편, 또는 항체 또는 이의 단편의 20%, 15%, 10%, 5%, 또는 1% 이하는 본원에 기술된 바와 같은 속성을 포함한다.

[0130] 분리

[0131] 예시적인 구현예에서, 본 발명은 상이한 종의 항원을 포함하는 혼합물을 적어도 2개의 분획으로 분리하는 방법을 포함한다. 일부 양태에서, 혼합물은 다수(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 그 이상)의 분획으로 분리된다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 방법의 분리 단계는 항원 결합 단백질 및 그 표적의 고유 접합, 고차 구조, 및 결합 능력을 유지한다. 다양한 양태에서, 혼합물은 비결합 항체 또는 항원 결합 단백질 또는 표적을 포함하는 비결합 분획, 및 항체/항원 결합 단백질-표적 복합체를 포함하는 결합 분획으로 분리된다.

[0132] 혼합물을 분획으로 분리하기 위한 적합한 방법 및 기술은 당업계에 알려져 있다. 예를 들어, 문헌[Coskun, North Clin Istanb 3(2): 156-160 (2016); Snyder et al., Practical HPLC Method Development, 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc. 1997; Snyder et al., Introduction to Modern Liquid Chromatography, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, 2010; Heftmann, Chromatography: Fundamentals and applications of chromatography and related differential migration methods, 6th ed., Volume 69A, Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 2004; Mori and Barth, Size Exclusion Chromatography, Springer-Verlag, Berlin, 1999] 참조. 일부 양태에서, 분리는 예를 들어 이온 교환 크로마토그래피, 모세관 등전 집속(cIEF), 및/또는 모세관 구역 전기영동(CZE)과 같이 전하를 기반으로 하거나, 예를 들어 역상 분리(RP; 예를 들어 RP-HPLC) 및 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC-HPLC)와 같이 소수성을 기반으로 한다. 다양한 양태에서, 분리는 예를 들어 크기 배제 크로마토그래피(SEC; 예를 들어 SE-HPLC), 나트륨 도데실 설페이트-폴리아크릴아미드 겔 전기영동(SDS-PAGE), 나트륨 도데실 설페이트를 이용한 모세관 전기영동(CE-SDS)과 같이 크기를 기반으로 한다. 본원에 기술된 방법은 Met 또는 Trp 잔기의 생성물 산화, 단편화/클리핑, Asp의 이성질화, 탈아미드화, N-말단에서의 피로글루탐산의 형성을 검출하는 데 사용된다. 다양한 구현예에서, 혼합물은 크기, 전하, 소수성, 포획 분자에 대한 친화도, 또는 이들의 조합에 따라 혼합물의 성분을 분리하는 기술을 사용하여 적어도 2개의 분획으로 분리된다. 다양한 경우에, 이러한 기술은 크기 배제 크로마토그래피(SEC), 친화성 크로마토그래피, 비드 또는 세포를 이용한 침전, 자유 흐름 분획법(FFF), 이온 교환 크로마토그래피(IEC), 양이온 교환 크로마토그래피(CEX), 소수성 상호작용 크로마토그래피(HIC), 또는 초원심분리(UC)이다. 임의로, 혼합물은 크기에 따라 혼합물의 성분을 분리하는 기술을 사용하여 적어도 2개의 분획으로 분리되며, 임의로 이러한 기술은 크기 배제 크로마토그래피(SEC)이다.

[0133] 다양한 양태에서, 혼합물은 고체 지지체(임의로, 비드 또는 세포)에 결합된 포획 분자에 대한 친화도에 따라 혼합물의 성분을 분리하는 기술을 사용하여 적어도 2개의 분획으로 분리된다. 다양한 경우에, 혼합물은 (i) 포획 분자에 결합된 비드 또는 표면에서 포획 분자를 발현하는 세포를 포함하는 용기(예를 들어, 튜브)에 혼합물을 첨가하고, (ii) 용기(예를 들어, 튜브)를 원심분리하여 상청액과 펠릿을 얻고, (iii) 펠릿으로부터 상청액을 수집하여 비결합 분획을 얻고, (iv) 용액을 사용하여 펠릿으로부터 결합 분획을 방출하고, (v) 펠릿과 용액을 포함하는 용기(예를 들어, 튜브)를 원심분리하여 결합 분획을 포함하는 제2 상청액 및 비드 또는 세포를 포함하는 제2 펠릿을 얻고, (vi) 제2 상청액을 수집하여 결합 분획을 얻음으로써 분리된다. 일부 양태에서 혼합물은 (i) 포획 분자에 결합된 비드를 포함하는 컬럼에 혼합물을 첨가하여 통과액 및 결합 분획을 얻고, (ii) 통과액을 수집하여 비결합 분획을 얻고, (iii) 용액을 사용하여 비드로부터 결합 분획을 방출하고 결합 분획을 포함하는 용액을 수집함으로써 분리된다. 적합한 고체 지지체는 예를 들어 비드, 수지, 종이를 포함하며, 임의로 셀룰로스, 실리카, 알루미늄, 유리, 플라스틱, 또는 이들의 조합으로 이루어진다. 예시적인 양태에서, 고체 지지체에 결합된 포획 분자는 단백질이다. 포획 분자는 표적과 동일할 수 있다. 유리하게는, 포획 분자는 임의의 특정 분자로 제한되지 않는다.

[0134] 비결합 분획 및 결합 분획 각각에 대해, 항원 결합 단백질과 표적 사이의 상호작용에 영향을 미치는 면역글로불린, 항원 결합 단백질(예를 들어, 테제펠루맵), 또는 표적의 속성을 식별하는 방법의 다양한 구현예에서, 상기 방법은 항원 결합 단백질 또는 표적의 종 또는 유도체에 존재하는 각각의 속성의 존재비를 식별하고 정량화하는 단계를 포함하고, 비결합 분획에서의 속성의 존재비가 결합 분획에서의 속성의 존재비보다 클 경우, 속성은 항원 결합 단백질과 표적 사이의 상호작용에 부정적인 영향을 미친다. 다양한 양태에서, 상기 방법은 질량 분석기를 사용하여 비결합 분획 및 결합 분획 각각에서의 항원 결합 단백질 또는 표적 종의 각 속성의 존재비를 식별

하고 정량화하는 단계를 포함한다.

- [0135] 항원 결합 단백질과 표적 사이의 상호작용에 대한 항원 결합 단백질 또는 표적의 종에 존재하는 알고 있는 속성의 효과를 확인하는 방법의 다양한 구현예에서, 상기 방법은 비결합 분획 및 결합 분획 각각에 대해, 알고 있는 속성의 존재비를 정량화하는 단계를 포함하고, 비결합 분획에서의 알고 있는 속성의 존재비가 결합 분획에서의 알고 있는 속성의 존재비보다 클 경우, 알고 있는 속성은 항원 결합 단백질과 표적 사이의 상호작용에 부정적인 영향을 미친다. 다양한 양태에서, 상기 방법은 질량 분석기를 사용하여 비결합 분획 및 결합 분획 각각에서의 알고 있는 속성의 존재비를 정량화하는 단계를 포함한다.
- [0136] 안정성은 제조, 보관 중에 발생할 수 있는 스트레스 조건 및/또는 추가적 또는 대안적 스트레스 조건 동안의 HMW 종의 형성과 같은, 아미노산 잔기의 화학적 변형 및 생물물리학적 단백질 변형에 대한 저항성을 의미한다. 본원에 기술된 구현예의 방법 및 면역글로불린, 항원 결합 단백질, 및 이의 단편에 있어서, "안정성" 및/또는 "HMW" 종은 크기 배제 크로마토그래피(SEC)를 사용하여 확인될 수 있다. 면역글로불린, 항원 결합 단백질, 또는 단편 또는 유도체를 포함하는 조성물은 SEC, 예컨대 SEC-UV에 의해 분리될 수 있다. SEC는 100 mM 인산나트륨 및 250 mM NaCl을 포함하는 이동상(pH 6.8)을 사용할 수 있고, 유량은 0.5 ml/분으로 설정될 수 있고, 컬럼 온도는 37°C로 설정될 수 있고, 실행 시간은 35분일 수 있고, 자동 샘플러는 4°C로 설정될 수 있다. SEC에 대한 적합한 컬럼의 예는 다음 작용기를 포함하고 5 μm의 평균 직경 및 약 25 nM의 평균 기공 크기를 갖는 실리카 입자를 포함하는 겔 컬럼을 포함한다(예를 들어, TOSOH Bioscience의 G3000SWx1 컬럼으로서 상업적으로 이용가능함). SEC-UV의 경우, 자외선/가시광선 분광법(UV/VIS) 검출은 214 nm 및 280 nm에서 수행될 수 있다. 분리 후 단량체와 HMW 종을 나타내는 피크가 SEC 용리 프로파일에서 서로 다른 시간에 용리될 수 있다는 것이 이해될 것이다.
- [0137] SEC 분석 후, 펩티드 맵핑이 임의로 수행될 수 있고, 결합 종 및 비결합 종과 관련된 펩티드 변형이 예를 들어 본원 및 국제 공개 WO 2020/247790호에 기술된 바와 같이 식별될 수 있다. 펩티드 맵핑의 경우, 용리 분획은 분자량 컷오프(예를 들어, 10 kDa 초과) 기능이 있는 필터를 사용하여 수집될 수 있으며 7.5 M의 구아니딘 용리 완충액을 사용하여 용리될 수 있다. 항원에 대한 결합에 영향을 미치는 화학적 변형을 확인하기 위해, 스트레스 처리된 면역글로불린(또는 항원 결합 단백질 또는 이의 단편)과 항원이 함께 혼합되고 초기 용리 항원 결합 복합체와 후기 용리 비결합 면역글로불린(또는 항원 결합 단백질 또는 이의 단편)에 대해 분리될 수 있다. HMW에 영향을 미치거나 이와 상관관계가 있는 화학적 변형을 확인하기 위해, 단량체 및 HMW 종이 수집될 수 있다.
- [0138] "친화도" 또는 "결합"은 표면 플라즈몬 공명(SPR), 바이오-레이어 간섭법에 의해, 또는 본원에 기술된 바와 같은 SEC 결합 친화도 실험에 의해서도 확인될 수 있다. 본원에서 달리 언급되지 않거나 과학적 맥락에 따라 달리 필요하지 않는 한, "친화도"는 SPR에 의해 측정된 친화도를 의미하는 것으로 이해될 것이다. Kd 값은 BIAcore® 시스템과 같은 바이오센서 시스템을 사용하여 SPR에 의해 측정될 수 있다. BIAcore® 시스템을 이용한 분석은 표면에 분자(예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 항-TSLP 면역글로불린, 항원 결합 단백질, 또는 이의 단편)가 고정된 칩으로부터의 항원(예를 들어, TSLP)의 결합 및 해리를 분석하는 단계를 포함할 수 있다. 10<sup>-6</sup> M 미만의 Kd를 갖는 결합 복합체는 SPR을 사용하여 검출될 수 있다. 다양한 구현예에서, SPR은 20°C, 25°C, 30°C, 또는 37°C에서 수행될 수 있다.
- [0139] **조성물**
- [0140] 테제펠루맵 내 잔기의 넘버링은 서열번호 10 및 12에 각각 제시된 중쇄 및 경쇄 가변 서열과 서열번호 13 및 14에 각각 제시된 전장 항체 중쇄 및 경쇄를 기반으로 한다는 것이 이해될 것이다.
- [0141] 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 각각 서열번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR1 서열; 서열번호 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR2 서열; 서열번호 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 CDR3 서열; 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR1 서열; 서열번호 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR2 서열; 및 서열번호 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 CDR3 서열을 포함하는 하나 이상의 테제펠루맵 유도체를 포함하는 조성물이 제공되며, 유도체는 이성질화 유도체, 탈아미드화 유도체, 산화 유도체, 글리코실화 유도체, HMW 종, 단편, 이황화물 이소형 유도체, 또는 이들의 조합 중 적어도 하나를 포함한다. 다양한 구현예에서, 조성물은 테제펠루맵 및 각각 서열번호 10에 제시된 중쇄 아미노산 서열 및 서열번호 12에 제시된 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 하나 이상의 테제펠루맵 유도체를 포함한다.
- [0142] 이성질화 유도체는 아스파르트산 잔기에 대한 변형을 포함한다. 아스파르트산에서의 예시적인 이성질화는 이소아스파르트산(isoAsp), 환형 아스파테이트(cAsp), 석신이미드, 또는 기타 이성질화 중간체를 포함한다. 조성물 내 이

성질화 유도체는 중쇄 또는 경쇄 상보성 결정 영역(CDR)에 또는 가변 영역의 다른 부분 내에 유도체를 포함할 수 있다. 다양한 구현예에서, 이성질화는 CDR에 존재한다. 이성질화 유도체는 가변 영역 쇄 중 하나 또는 둘 모두에서 서열번호 7의 중쇄 CDR D54 및/또는 서열번호 4의 경쇄 CDR D49, D50, 또는 D52에서의 변화를 포함한다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 이성질화 유도체의 양은 약 0.5% 내지 약 30%, 또는 약 0.5% 내지 13%이다. 일부 구현예에서, 조성물은 테제펠루맵 및 이의 유도체를 포함하며, D54에서의 이성질화는 약 5% 미만의 양이고/이거나, D49, D50, 또는 D52 중 하나 이상에서의 이성질화는 약 13% 미만의 양이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 30% 초과 이성질화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력을 포함한다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 30% 초과 이성질화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함한다.

[0143] 탈아미드화 유도체는 아스파라긴 잔기에 대한 변경을 포함한다. 예시적인 탈아미드화 유도체는 완전한 탈아미드화 및 탈아미드화 중간체를 포함한다. 조성물내 탈아미드화 유도체는 탈아미드화 아스파라긴, 서열번호 3에 제시된 LCDR1의 N25/N26, 서열번호 13에 제시된 중쇄 가변 영역의 N316, 및/또는 서열번호 13에 제시된 중쇄 가변 영역의 N385/390을 포함할 수 있다. 다양한 구현예에서, 조성물은 N25/N26에서의 약 3% 미만의 양의 탈아미드화 및/또는 N316 및/또는 N385/390 중 하나 이상에서의 약 13% 미만의 양의 탈아미드화를 포함하는 탈아미드화 유도체를 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양은 약 0.5% 내지 10%이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 15% 초과 탈아미드화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력을 포함한다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 15% 초과 탈아미드화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함한다.

[0144] 산화 유도체는 단백질의 메티오닌 또는 트립토판 잔기 중 하나 이상에 대한 변경을 포함한다. 예시적인 산화 유도체는 완전한 산화 또는 산화 중간체를 포함한다. 조성물 내 산화 유도체는 중쇄(또는 해당되는 경우 경쇄) 중 하나 또는 둘 모두에서 중쇄 메티오닌, 서열번호 6에 제시된 HCDR1의 M34, 또는 서열번호 13에 제시된 중쇄 불변 영역의 M253 또는 M359, 또는 중쇄 트립토판, 서열번호 7에 제시된 HCDR2의 W52, 서열번호 5에 제시된 LCDR3의 W90, 또는 서열번호 8에 제시된 HCDR3의 W102 중 하나 이상에서의 산화를 포함할 수 있다. 예를 들어, 조성물 내 산화 유도체는 중쇄(또는 해당되는 경우 경쇄) 중 하나 또는 둘 모두에서 중쇄 메티오닌, 서열번호 6에 제시된 HCDR1의 M34, 중쇄 트립토판, 서열번호 7에 제시된 HCDR2의 W52, 서열번호 5에 제시된 LCDR3의 경쇄 W90, 또는 서열번호 8에 제시된 HCDR3의 중쇄 W102 중 하나 이상에서의 산화를 포함할 수 있다. 다양한 구현예에서, 산화 유도체는 중쇄 중 하나 또는 둘 모두에서 중쇄 메티오닌 M34, M253, M359 중 하나 이상에서의 산화를 포함하고, 임의로 산화는 약 7% 미만의 양이다. 다양한 구현예에서, 산화 유도체는 중쇄 중 하나 또는 둘 모두에서 트립토판 W52, W90, 또는 W102 중 하나 이상에서의 산화를 포함하고, 임의로 산화는 약 7% 미만, 임의로 약 5% 미만, 또는 약 3% 미만의 양이다. 일부 구현예에서, 조성물 내 산화 유도체의 양은 약 0.4% 내지 약 7%이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 7% 초과 산화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력을 포함한다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 7% 초과 산화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함한다.

[0145] 고분자량 유도체는 이량체 또는 더 큰 단백질 응집체로의 항체 응집을 포함한다. 본원에서 고려되는 HMW 종은 테제펠루맵의 이량체 및 올리고머를 포함한다. 다양한 구현예에서, HMW 종은 이량체이다. 다양한 구현예에서, 이량체는 공유적으로 또는 비공유적으로 회합된다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 HMW 종의 양은 약 1.7% 이하, 약 1.6% 이하, 약 1.5% 이하, 약 1.4% 이하, 약 1.3% 이하, 약 1.2% 이하, 약 1.1% 이하, 약 1.0% 이하, 약 0.9% 이하, 약 0.8% 이하, 약 0.7% 이하, 약 0.6% 이하, 약 0.5% 이하, 또는 약 0.4% 이하이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 20% 초과 HWM 종을 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력을 포함한다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 20% 초과 HWM 종을 포함

하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함한다.

[0146] 테제펠루맵 단편 유도체는 생성 중에 내부 펩티다제에 의해 절단되거나 생성 과정의 다른 단계에서 생성될 수 있는 단백질 산물을 포함한다. 테제펠루맵 단편은, 예를 들어 약 25 kD 미만의 저분자량(LMW) 중, 예를 들어 25 내지 50 kD의 중분자량(MMW) 중, 또는 이들의 조합을 포함한다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 단편의 양은 약 1.7% 이하, 약 1.6% 이하, 약 1.5% 이하, 약 1.4% 이하, 약 1.3% 이하, 약 1.2% 이하, 약 1.1% 이하, 약 1.0% 이하, 약 0.9% 이하, 약 0.8% 이하, 약 0.7% 이하, 약 0.6% 이하, 약 0.5% 이하, 또는 약 0.4% 이하이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 15% 초과 단편 중을 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴닐화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력을 포함한다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 15% 초과 단편 중을 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함한다.

[0147] 테제펠루맵의 글리코실화 유도체는 항체의 Fc 영역의 아스파라긴 잔기에 번역 후 적용될 수 있는 당 잔기 프로파일의 변경을 포함한다. 예시적인 글리코실화 유도체는 아푸코실화, 즉 아스파라긴에 대한 갈락토실 모이어티의 적용(갈락토실화) 및 고만노스 모이어티의 적용을 포함한다. 본원에서 고려되는 글리코실화 유도체는 중쇄 중 하나 또는 둘 모두에서, 서열번호 13에 제시된 Fc 영역의 아스파라긴 N298에서의 당 잔기로의 변화이다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 글리코실화 유도체의 양은 약 40%, 약 35%, 약 30%, 약 25%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 또는 약 5% 미만이다. 일부 구현예에서, 글리코실화 유도체는 아푸코실화 유도체를 약 5%, 약 4%, 약 3%, 또는 약 2% 미만의 양으로 포함한다. 다양한 구현예에서, 글리코실화 유도체는 갈락토실 모이어티를 약 30%, 약 25%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 또는 약 5% 미만의 양으로 포함한다. 다양한 구현예에서, 글리코실화 유도체는 고만노스 모이어티를 약 25% 이하, 약 23% 이하(예를 들어, 약 23.1% 이하), 약 21% 이하, 약 19% 이하, 약 17% 이하, 약 15% 이하, 약 12% 이하, 약 10% 이하, 약 8% 이하, 약 5% 이하, 또는 약 4% 이하의 양으로 포함한다. 다양한 구현예에서, 글리코실화 유도체는 고만노스 모이어티를 약 23.1% 이하의 양으로 포함한다. 다양한 구현예에서, 글리코실화 유도체는 고만노스 모이어티를 약 5%, 약 4%, 약 3%, 약 2%, 또는 약 1% 미만의 양으로 포함한다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 40% 초과 글리코실화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 공여체 비드에 고정된 비오틴닐화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 능력을 포함한다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 40% 초과 글리코실화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함한다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 15%, 13%, 11%, 8%, 또는 5% 이하의 고만노스를 포함하고, 15% 초과 고만노스를 갖는 조성물보다 더 낮은 제거율(및/또는 더 긴 반감기)을 갖는다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 약 25%, 약 23%, 약 21%, 약 19%, 약 17%, 약 15%, 약 13%, 약 11%, 약 8%, 또는 약 5% 이하의 고만노스를 포함하고, 약 25% 초과 고만노스를 갖는 조성물보다 더 낮은 제거율(및/또는 더 긴 반감기)을 갖는다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 약 23.1% 이하의 고만노스를 포함하고, 약 23.1% 초과 고만노스를 갖는 조성물보다 더 낮은 제거율(및/또는 더 긴 반감기)을 갖는다. 고만노스 백분율은 HILIC에 의해 확인될 수 있다.

[0148] "더 낮은 제거율"을 갖는 테제펠루맵 또는 테제펠루맵 유도체는 참조 항체, 예를 들어 테제펠루맵 또는 다른 IgG2 항체의 제거율과 비교할 때 체내(혈액 또는 혈청)에서 제거되는 양이 더 적다는 것을 의미한다. 테제펠루맵 또는 테제펠루맵 유도체의 제거율은 참조 항체와 비교하여 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15% 미만 또는 그 이상의 제거율 수준일 수 있다. 테제펠루맵 또는 테제펠루맵 유도체의 "더 긴 반감기"는 참조 항체, 예를 들어 테제펠루맵 또는 다른 IgG2 항체의 체내 반감기와 비교할 때 항체가 체내(혈액 또는 혈청)에서 검출될 수 있는 기간이 더 길다는 것을 의미한다. 테제펠루맵 또는 테제펠루맵 유도체의 반감기는 참조 항체의 반감기보다 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15% 이상 더 길 수 있다.

[0149] 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 약 40%, 35%, 30%, 25%, 23%, 21%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 또는 4% 초과 글리코실화 유도체를 포함하는

조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 갖는다.

- [0150] 글리코실화 유도체의 효력 및/또는 내약성은 또한 이펙터 기능 및 항체 제거율과 연관될 수 있다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 약 15%, 약 13%, 약 11%, 약 8%, 또는 약 6% 초과的高만노스 글리코실화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 낮은 항체 제거율 및/또는 더 큰 내약성을 갖는다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 약 25%, 약 23%, 약 19%, 약 17%, 약 15%, 약 13%, 약 11%, 약 8%, 또는 약 6% 초과的高만노스 글리코실화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 낮은 항체 제거율 및/또는 더 큰 내약성을 갖는다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 약 23.1% 초과的高만노스 글리코실화 유도체를 포함하는 조성물보다 더 낮은 항체 제거율 및/또는 더 큰 내약성을 갖는다.
- [0151] 이황화물 구조적 비균질성은 18개의 이황화 결합, 즉 6개의 쇠간 및 12개의 쇠내 결합을 포함하는 제조합 및 자연발생적 IgG2 분자에 내재되어 있다. 힌지:힌지 펩티드는 전형적인 IgG2-A 구조에서 4개의 이황화 연결을 포함한다. 전형적인 IgG2-A 구조와 달리, 이성질체 IgG2-B는 Fab 펩티드(C<sub>H1</sub>-C<sub>L</sub>-힌지)의 두 카피와 힌지 펩티드의 두 카피를 연결하는 대칭 연결을 포함한다. IgG2-A/B는 이황화 결합을 통해 힌지 펩티드의 두 카피에 공유적으로 연결된 하나의 Fab 아암을 포함하는 비대칭 배열에 의해 정의되는, IgG2-A와 IgG2-B 둘 모두의 부분적 특징을 포함하는 중간 형태이다. 이황화물 이소형 유도체는 IgG2-B 이소형 및/또는 IgG2-A/B 이소형을 포함한다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양은 약 75% 미만이다. 일부 구현예에서, 유도체가 IgG2-B 이소형을 포함하는 경우, 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양은 약 20%, 약 15%, 약 10%, 또는 약 5% 미만이다. 일부 구현예에서, 유도체가 IgG2-A/B 이소형을 포함하는 경우, 조성물 내 IgG2-A/B 이소형의 양은 약 75%, 약 70%, 약 65%, 약 60%, 약 55%, 약 50%, 약 45%, 또는 약 35% 미만이다. 다양한 구현예에서, 조성물 내 IgG2-A/B 이소형의 양은 약 38% 내지 약 43%이다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 75% 초과的高만노스 이소형 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 Stat 루시페라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함한다. 다양한 구현예에서, 테제펠루맵 및 테제펠루맵 유도체는 75% 초과的高만노스 이소형 유도체를 포함하는 조성물보다 더 큰 효력 및/또는 내약성을 가지며, 상기 효력은 Stat 루시페라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는 능력을 포함한다.
- [0152] 다양한 구현예에서, 조성물은 다음 특징 중 하나 이상을 갖는다:
- [0153] (a) 환원 펩티드 맵핑으로 측정시 조성물 내 이성질화 유도체의 양이 약 30% 이하임;
- [0154] (b) 펩티드 맵핑으로 측정시 조성물 내 탈아미드화 유도체의 양이 약 15% 이하임;
- [0155] (c) 환원 펩티드 맵핑으로 측정시 조성물 내 산화 유도체의 양이 약 7% 이하임;
- [0156] (d) 글리칸 맵핑으로 측정시 조성물 내 글리코실화 유도체의 양이 약 40% 이하임;
- [0157] (e) 비환원 역상 고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)로 측정시 조성물 내 이황화물 이소형 유도체의 양이 약 75% 이하임;
- [0158] (f) SE-HPLC로 측정시 조성물 내 HMW 종의 양이 약 20% 이하임; 및/또는
- [0159] (g) rCE-SDS로 측정시 조성물 내 단편의 양이 약 15% 이하임.
- [0160] 일부 구현예에서, 조성물은 본원에 기술된 제형의 일부이다. 일부 구현예에서, 조성물은 본원에 기술된 바와 같은 제형을 제조하는 데 사용되는 원료의약품이다.
- [0161] **투여 방법**
- [0162] 일 양태에서, 본 발명의 방법은, 임의로 약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제 중의, 본원에 기술된 치료용 항-TSLP 항체 또는 항체 유도체를 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 약학적 조성물은 멸균 조성물이다.
- [0163] 본원에 기술된 바와 같은 항-TSLP 항체 또는 항원 결합 단백질 또는 이의 단편을 사용하여 천식, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 아토피성 피부염, 호산구성 식도염(EoE), 비용종, 만성 자발성 두드러기, Ig-유발 질환, IgA 신병증, 루푸스 신염, 호산구성 위염, 비용종이 없는 만성 부비동염, 및 특발성 폐섬유증(IPF)과 같은 염증성 질환, 병태, 또는 장애를 치료하는 방법이 본원에서 고려된다. 다양한 구현예에서, 질환, 병태, 또는 장애는 중증

천식, 호산구성 또는 비호산구성 천식 및 저호산구성 천식을 포함하는 천식이다.

- [0164] 천식은 기도의 만성 염증성 장애이다. 매년, 미국에서 천식으로 인한 외래 환자 방문 건수는 약 110만 건, 응급실 방문 건수는 160만 건, 입원 건수는 444,000건에 이르고(Defrances et al., 2008, 질병 관리 센터 웹사이트, [www.cdc.gov/nchs/data/nhsr/nhsr005.pdf](http://www.cdc.gov/nchs/data/nhsr/nhsr005.pdf) 참조), 사망 건수는 3,500건에 이른다. 민감한 개인의 경우, 천식 증상은 천명음, 호흡곤란, 흉부 압박감, 및 기침을 반복적으로 유발한다. 천식의 병인은 유전적 환경 메커니즘(To et al., BMC Public Health 2012;12:204; Chung et al. Eur Respir J 2014;43:343-73)과 중요한 원인인 환경적 알레르겐(Chung et al., supra; Pavord ID, et al., NPJ Prim Care Respir Med 2017;27:17) 둘 모두에 의해 영향을 받는 다인성인 것으로 여겨진다. 대부분의 경우는 사람이 알레르겐에 과민해질 때 발생한다(아토피). 아토피는 Th2 세포의 증가 및 Th2 사이토카인 발현 및 IgE 생성을 특징으로 한다. 미국에서는 대략 1천만 명의 환자가 알레르기-유발 천식을 앓고 있는 것으로 여겨진다. 이용가능한 치료 옵션에도 불구하고, 천식은 여전히 주요 건강 문제이다. 전 세계적으로 천식은 현재 대략 3억 명의 사람에게서 발생하며; 2020년까지 4억 명의 사람에게서 발생할 것으로 예상된다(Partridge, Eur Resp Rev. 16:67-72, 2007).
- [0165] 아토피성 천식 환자에 의한 알레르겐 흡입은 가역적 기도 폐쇄, 기도 과민성, 및 호산구성 및 호염기구성 기도 염증을 포함한 일부 천식 증상을 유발한다. 알레르겐 흡입 시험감염은 많은 종에서 주된 천식 모델이 되어 왔다(Bates et al., Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 297(3):L401-10, 2009; Diamant et al., J Allergy Clin Immunol. 132(5):1045-1055, 2013).
- [0166] 스테로이드 치료에 불응성인 상이한 천식 하위유형이 확인된 바 있다. 호산구는 Th2형 CD4+ T 세포에 의해 특징적으로 매개되는 알레르기성 천식에서 중요한 염증 세포이다. 호중구성 기도 염증은 중증 천식에서의 코르티코스테로이드 치료와 관련되며, Th1형 또는 Th17형 T 세포에 의해 매개될 수 있다(Mishra et al., Dis. Model. Mech. 6:877-888, 2013).
- [0167] 천식의 진단 및 평가 척도는 다음을 포함한다: 표준화 단위 호흡 호기 산화질소 분율(FeNO)(American Thoracic Society; ATS, Am J Respir Crit Care Med. 171(8):912-30, 2005) 검사를 이용해 평가되는 기도 염증. 폐활량 측정은 ATS/유럽 호흡기 학회(European Respiratory Society; ERS) 지침에 따라 수행된다(Miller et al, Eur Respir J. 26(1):153-61, 2005). 기관지확장제 후(BD 후) 폐활량 측정 검사는 대상체가 BD 전 폐활량 측정을 수행한 후 평가된다. 최대 기관지 확장은 SABA, 예컨대 알부테롤(90 µg의 계량된 용량) 또는 살부타몰(100 µg의 계량된 용량) 또는 최대 총 8회의 퍼프를 위한 스페이서 장치와 동등한 것을 사용하여 유도된다(Sorkness et al, J Appl Physiol. 104(2):394-403, 2008). 4, 6, 또는 8회의 퍼프 후 얻은 BD 전 및 BD 후 최고 FEV<sub>1</sub>이 가역성 결정 및 분석에 사용된다. 천식 조절 설문(ACQ) 6은 천식 증상(즉, 야간 각성, 각성 증상, 활동 제한, 숨가쁨, 천명음) 및 응급 기관지확장제의 매일 사용 및 FEV<sub>1</sub>을 평가하는 환자 자기평가 설문이다(Juniper et al, Oct 1999). ACQ-6은 원래의 ACQ 점수에서 FEV<sub>1</sub> 측정을 생략한 ACQ의 단축 버전이다. 평균 ACQ 점수는 반응의 평균이다. 0.75 이하의 평균 점수는 잘 조절된 천식을 나타내며, 0.75 내지 1.5의 점수는 부분적으로 조절된 천식을 나타내며, 1.5 초과인 점수는 조절되지 않은 천식을 나타낸다(Juniper et al, Respir Med. 100(4):616-21, 2006). 최소 0.5의 개별 변화가 임상적으로 의미 있는 것으로 간주된다(Juniper et al, Respir Med. 99(5):553-8, 2005). 천식 환자의 삶의 질에 대한 설문, 표준화(AQLQ[S])+12(AQLQ(S))+12)는 천식 환자가 경험하는 HRQoL을 측정하는 32개 항목의 설문이다(Juniper et al, Chest. 115(5):1265-70, May 1999). 천식 일지(Asthma Daily Diary)도 평가에 사용된다.
- [0168] 관련 미국 특허 공개 US-2018-0296669(본원에 참조로 포함됨)는 항-TSLP 항체를 이용한 치료가 고호산구 집단에서와 마찬가지로 무호산구/저호산구 집단에서 천식 증상을 감소시키는 데 효과적임을 개시하고 있다. 또한, 대상체에서 천식 악화의 빈도를 감소시키는 방법이 고려된다.
- [0169] 또한, Th2가 높은 천식 프로파일 또는 Th2가 낮은 천식 프로파일을 갖는 대상체의 천식을 치료하는 방법이 본원에서 고려된다. TSLP 단백질의 수용체 복합체에 대한 결합을 억제하는 TSLP 길항체는 본원에 기술된 항체로서 저호산구성 천식 집단을 효과적으로 치료할 것으로 고려된다. 마찬가지로, TSLP의 수용체 복합체에 대한 결합을 억제하는 TSLP 길항체는 Th2가 낮은 천식 집단을 치료하는 데 효과적일 것으로 고려된다. 또한, 대상체의 만성 폐쇄성 폐질환(COPD)을 치료하는 방법으로서, 본원에 기술된 항-TSLP 항체 또는 항체 유도체 또는 항원 결합 단백질을 투여하는 단계를 포함하는 방법이 고려된다. 치료받는 대상체는 인간인 것으로 고려된다. 대상체는 성인, 청소년, 또는 아동일 수 있다.
- [0170] 치료용 항체(또는 항체 유도체) 조성물은 여러 부위에서 환자에게 전달될 수 있다. 다중 투여는 동시에 이루어

질 수 있거나 일정 기간에 걸쳐 투여될 수 있다. 특정 경우에는 치료 조성물의 연속적인 흐름을 제공하는 것이 유익하다. 추가 치료법은 기간 기준으로, 예를 들어, 매시간, 매일, 매주, 2주마다, 3주마다, 매월, 또는 더 긴 간격으로 투여될 수 있다.

- [0171] 다양한 구현예에서, 주어진 투여량에서, 2개의 TSLP 결합 부위를 갖는 2가 항체와 같은 치료제의 양은 치료법을 투여받는 개체의 체격뿐만 아니라 치료되는 장애의 특징에 따라 달라질 수 있다.
- [0172] 예시적인 치료에서, 항-TSLP 항체 또는 항체 유도체는 1일 용량당 약 70 mg 내지 약 280 mg의 용량 범위로 투여된다. 예를 들어, 용량은 약 70 mg, 210 mg, 또는 280 mg으로 주어질 수 있다. 다양한 구현예에서, 항-TSLP 항체 또는 항체 유도체는 용량당 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 또는 280 mg의 용량으로 투여될 수 있다. 이러한 농도는 단회 투약 형태 또는 다회 용량으로 투여될 수 있다. 상기 용량은 2주마다 또는 4주마다 주어진다. 다양한 구현예에서, 항-TSLP 항체 또는 항체 유도체는 격주로 또는 4주마다 70 mg의 단회 용량으로 투여된다. 다양한 구현예에서, 항-TSLP 항체 또는 항체 유도체는 2주마다 또는 4주마다 210 mg의 단회 용량으로 투여된다. 다양한 구현예에서, 항-TSLP 항체 또는 항체 유도체는 2주마다 또는 4주마다 280 mg의 단회 용량으로 투여된다.
- [0173] 항체 유도체의 경우, 항체 유도체의 양은 용량 내에 있는 TSLP 결합 부위의 수가 전술한 표준 2가 항체와 등몰수의 TSLP 결합 부위를 갖도록 하는 것이어야 한다.
- [0174] 항-TSLP 항체 또는 항체 유도체는 적어도 4개월, 6개월, 9개월, 1년 또는 그 이상의 기간 동안 격주로 또는 4주마다 투여되는 것으로 고려된다. 다양한 구현예에서, 투여는 피하 또는 정맥내 투여이다.
- [0175] 항-TSLP 항체 또는 항체 유도체를 이용한 치료는 대상체의 혈액, 객담, 기관지폐포액, 또는 폐에서 호산구를 감소시키는 것으로 고려된다. 또한, 투여는 대상체의 세포 수를 Th2가 높은 집단으로부터 Th2가 낮은 집단으로 이동시키는 것으로 고려된다. 추가로, 항-TSLP 항체의 투여는 강제 호기량(FEV), FEV1 가역성, 강제 폐활량(FVC), FeNO, 천식 조절 설문-6 점수 및 AQLQ(S)+12 점수로 이루어진 군으로부터 선택되는 대상체에서의 하나 이상의 천식 척도를 개선시키는 것으로 고려된다.
- [0176] 천식의 개선은 다음 중 하나 이상으로서 측정될 수 있다: AER(연간 악화율)의 감소, 천식에 대한 입원/중증 악화의 감소, (항-TSLP 항체를 이용한 치료의 시작 후) 최초 천식 악화까지의 시간의 기준선으로부터의 변화(증가), 치료 과정, 예를 들어, 52주에 걸쳐 하나 이상의 천식 악화 또는 중증 악화를 갖는 대상체의 비율의 위약 대비 감소, FEV1 및 FVC(기관지확장제 전 및 기관지확장제 후)의 기준선으로부터의 변화(증가), 혈액 또는 객담중 호산구(또는 생검 또는 BAL 수액을 얻은 경우 폐 호산구)의 기준선으로부터의 변화(감소), FeNO의 기준선으로부터의 변화(감소), IgE의 기준선으로부터의 변화(감소), ACQ 및 변형, AQLQ 및 변형, SGRQ, 및 천식 증상 일지를 포함하는 PRO에 의해 측정되는 바와 같은 천식 증상 및 조절의 개선, 응급 약물 사용의 변화(감소), 전신 코르티코스테로이드 사용의 감소, 혈액에서의 Th2/Th1 세포 비의 감소. 이러한 척도의 대부분/모두는 전체 집단 및 하위집단(고호산구 및 저호산구(250 이상은 고호산구; 250 미만은 저호산구), 알레르기성 및 비알레르기성, Th2 높음 및 낮음, (중양값과 비교하여) 페리오스틴 높음 및 낮음, 및 FeNO 높음 및 낮음(24 이상 또는 24 미만)을 포함)에서의 것이어야 한다.
- [0177] 또한, 소염제 또는 천식 치료법을 포함하되 이에 한정되지 않는 본원에 기술된 바와 같은 제2 제제와 함께 사용되는 항체 조성물과 같은 다중 제제의 투여가 본 발명에서 고려된다.
- [0178] 그러나, 다양한 구현예에서, 투여는 대상체에서 공동 투여되는 치료법의 빈도 또는 수준을 감소시키는 것으로 고려된다. 예시적인 공동 투여 치료법은 흡입 코르티코스테로이드(ICS), 지속형 β2 작용제(LABA), 류코트리엔 수용체 길항제[LTRA], 지속형 항-무스카린제[LAMA], 크로몬, 속효성 β2 작용제(SABA), 및 테오필린 또는 경구 코르티코스테로이드를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 다양한 구현예에서, 투여는 코르티코스테로이드 치료법에 대한 필요성을 없앤다.
- [0179] **제형**
- [0180] 일부 구현예에서, 본 발명은 치료 유효량의 항-TSLP 항체 또는 항체 유도체를 약학적으로 허용되는 희석제, 담체, 가용화제, 유화제, 보존제, 및/또는 보조제와 함께 포함하는 약학적 조성물의 용도를 고려한다. 또한, 본 발명은 이러한 약학적 조성물을 투여함으로써 대상체를 치료하는 방법을 제공한다.
- [0181] 특정 구현예에서, 허용되는 제형화 물질은 사용되는 투여량 및 농도에서 수여체에게 무독성인 것이 바람직하다. 특정 구현예에서, 약학적 조성물은 예를 들어 조성물의 pH, 삼투질농도, 점도, 투명도, 색상, 등장성, 냄새, 멸

균성, 안정성, 용해 또는 방출 속도, 흡착, 또는 침투를 변경, 유지, 또는 보존하기 위한 제형화 물질을 함유할 수 있다. 이러한 구현예에서, 적합한 제형화 물질은 아미노산(예컨대, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌, 또는 라이신); 항균제; 항산화제(예컨대, 아스코르산, 아황산나트륨, 또는 아황산수소나트륨); 완충제(예컨대, 붕산염, 중탄산염, 트리스-HCl, 시트르산염, 인산염, 또는 기타 유기산); 증량제(예컨대, 만니톨 또는 글리신); 킬레이트화제(예컨대, 에틸렌디아민 테트라아세트산(EDTA)); 착화제(예컨대, 카페인, 폴리비닐피롤리돈, 베타-시클로덱스트린, 또는 하이드록시프로필-베타-시클로덱스트린); 충전제; 단당류; 이당류; 및 기타 탄수화물(예컨대, 글루코스, 수크로스, 만노스, 또는 텍스트린); 단백질(예컨대, 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린); 착색제, 착향제, 및 희석제; 유화제; 친수성 중합체(예컨대, 폴리비닐피롤리돈); 저분자량 폴리펩티드; 염형성 짝이온(예컨대 나트륨); 보존제(예컨대 염화벤잘코늄, 벤조산, 살리실산, 티메로살, 페네틸 알코올, 메틸파라벤, 프로필파라벤, 클로르헥시딘, 소르브산, 또는 과산화수소); 용매(예컨대, 글리세린, 프로필렌 글리콜, 또는 폴리에틸렌 글리콜); 당 알코올(예컨대, 만니톨 또는 소르비톨); 현탁화제; 계면활성제 또는 습윤제(예컨대 플루로닉, PEG, 소르비탄 에스테르, 폴리소르베이트, 예컨대 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트, 트리톤, 트로메타민, 레시틴, 콜레스테롤, 킬록사팔); 안정성 강화제(예컨대, 수크로스 또는 소르비톨); 긴장성 강화제(예컨대, 알칼리 금속 할로겐화물, 바람직하게는 염화나트륨 또는 염화칼륨, 만니톨 소르비톨); 전달 비히클; 희석제; 부형제 및/또는 약학적 보조제를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 문헌[REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18'' Edition, (A. R. Genrmo, ed.), 1990, Mack Publishing Company] 참조.

[0182] 적합한 비히클 또는 담체는 비경구 투여용 조성물에 일반적으로 사용되는 다른 물질로 보충될 수 있는 주사용수, 생리 식염수 용액, 또는 인공 뇌척수액일 수 있다. 중성 완충 식염수 또는 혈청 알부민과 혼합된 식염수는 추가의 예시적인 비히클이다. 특정 구현예에서, 약학적 조성물은 약 pH 7.0~8.5의 Tris 완충제, 또는 약 pH 4.0~5.5의 아세테이트 완충제를 포함하며, 소르비톨 또는 이의 적합한 대체제를 추가로 포함할 수 있다.

[0183] 제형 성분은 바람직하게는 투여 부위에 허용되는 농도로 존재한다. 특정 구현예에서, 완충제는 조성물을 생리학적 pH 또는 약간 더 낮은 pH로, 일반적으로는 약 4.5 내지 약 8(약 4.5, 약 4.6, 약 4.7, 약 4.8, 약 4.9, 약 5.0, 약 5.1, 약 5.2, 약 5.3, 약 5.4, 약 5.5, 약 5.6, 약 5.7, 약 5.8, 약 5.9, 약 6.0, 약 6.1, 약 6.2, 약 6.3, 약 6.4, 약 6.5, 약 6.6, 약 6.7, 약 6.8, 약 6.9, 약 7.0, 약 7.1, 약 7.2, 약 7.3, 약 7.4, 약 7.5, 약 7.6, 약 7.7, 약 7.8, 약 7.9, 및 약 8.0 포함)의 pH 범위 내로 유지하는 데 사용된다.

[0184] 다양한 구현예에서, 항-TSLP 항체 또는 항체 유도체는 아세테이트와, 프롤린, 수크로스, 폴리소르베이트 20 또는 폴리소르베이트 80 중 하나 이상을 함유하는 제형의 형태로 존재한다. 다양한 구현예에서, 제형은 4.9 내지 6.0의 pH에서 5~50 mM의 아세테이트, 3%(w/v) 이하의 프롤린, 0.015%(w/v) ± 0.005%(w/v)의 폴리소르베이트 20 또는 폴리소르베이트 80을 포함한다. 임의로, 항체 또는 항체 유도체의 농도는 약 100 내지 약 150 mg/ml이다. 제형은 -20℃ 내지 -70℃에서 보관될 수 있다. 이러한 부형제를 포함하는 예시적인 항-TSLP 제형은 본원에 참조로 포함되는 국제 출원 PCT/US2021/018561호에 기술되어 있다.

[0185] 대안적 구현예에서, 항-TSLP 항체 또는 항체 유도체는 계면활성제 및 적어도 하나의 염기성 아미노산 또는 이의 염을 함유하는 제형의 형태로 존재한다. 예시적인 경우에, 염기성 아미노산은 아르기닌 또는 히스티딘이다. 다양한 구현예에서, 염은 아르기닌, 글루타메이트, 또는 히스티딘 글루타메이트이고, 임의로 10 내지 200 mM의 농도로 존재한다. 임의로, 제형은 프롤린을 추가로 포함한다. 대안적 구현예에서, 항-TSLP 항체 또는 항체 유도체는 계면활성제 및 칼슘 또는 이의 염을 함유하는 제형의 형태로 존재한다. 다양한 구현예에서, 염은 칼슘 글루타메이트이고, 임의로 15 mM 내지 약 150 mM의 농도로 존재한다. 임의로, 제형은 프롤린을 추가로 포함한다. 다양한 구현예에서, 계면활성제는 폴리소르베이트 20 또는 폴리소르베이트 80 또는 이들의 혼합물이다. 임의로, 항체 또는 항체 유도체의 농도는 약 110 mg/ml 초과 또는 약 140 mg/ml 초과이다. 이러한 부형제를 포함하는 예시적인 항-TSLP 제형은 본원에 참조로 포함되는 국제 특허 출원 PCT/US2021/017880호에 기술되어 있다.

[0186] 비경구 투여가 고려되는 경우, 본 발명에서 사용하기 위한 치료 조성물은 약학적으로 허용되는 비히클에 목적하는 항-TSLP 항체 또는 이의 유도체를 포함하는 무발열원, 비경구적으로 허용되는 수용액의 형태로 제공될 수 있다. 비경구 주사에 특히 적합한 비히클은 항체가 멸균 등장 용액으로 제형화되는 적절하게 보존된 멸균 증류수이다. 특정 구현예에서, 조제는 데포 주사를 통해 전달될 수 있는 생물물의 제어 방출 또는 지속 방출을 제공할 수 있는, 주사가능한 미소구체, 생분해성 입자, 폴리머 화합물(예컨대, 폴리락트산 또는 폴리글리콜산), 비드, 또는 리포솜과 같은 제제를 이용한 목적하는 분자의 제형화를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 순환에서 일관된 지속을 촉진시키는 효과를 갖는 히알루론산이 또한 사용될 수 있다. 특정 구현예에서, 항체를 도입하기 위해 이식형 약물 전달 장치가 사용될 수 있다. 다양한 구현예에서, 투여는 프리필드 시린지 또는 오토인젝터를 통해 이루어질 수 있다. 다양한 구현예에서, 오토인젝터는 Ypsomed Ypsomate®이다. 다양한 구현예에서, 오토인젝터

는 WO 2018/226565, WO 2019/094138, WO 2019/178151, WO 20120/072577, WO2020/081479, WO 2020/081480, PCT/US20/70590, PCT/US20/70591, PCT/US20/53180, PCT/US20/53179, PCT/US20/53178, 또는 PCT/US20/53176에 개시되어 있다.

[0187] **키트**

[0188] 추가적 양태로서, 본 발명은 본 발명의 방법을 실행하기 위한 사용을 용이하게 하는 방식으로 패키징된 하나 이상의 화합물 또는 조성물을 포함하는 키트를 포함한다. 일 구현예에서, 이러한 키트는 밀봉된 병 또는 베셀과 같은 용기에 패키징된 화합물 또는 조성물을 포함하며, 방법을 실행함에 있어서의 화합물 또는 조성물의 사용을 설명하는 라벨이 용기에 부착되거나 패키지에 포함되어 있다. 바람직하게는, 화합물 또는 조성물은 단위 투약 형태로 패키징된다. 키트는 특정 투여 경로에 따른 조성물의 투여 또는 스크리닝 검정의 실시에 적합한 장치를 추가로 포함할 수 있다. 바람직하게는, 키트에는 항체 조성물의 사용을 설명하는 라벨이 포함되어 있다.

[0189] 제한하기 위한 것이 아니라 예시하기 위한 의도의 하기 실시예로부터 본 발명의 추가 양태 및 세부사항이 명백해질 것이다.

[0190] **실시예**

[0191] **실시예 1-테제펠루맵 속성의 식별**

[0192] 테제펠루맵은 중국 햄스터 난소(CHO) 세포에서 생성된 IgG2 하위클래스의 전장 인간 단일클론 항체이다. 이는 램다 하위클래스의 2개의 중쇄(HC) 및 2개의 경쇄(LC)로 구성된다. 중쇄와 경쇄는 이황화 결합을 통해 공유적으로 연결되어 있다. 테제펠루맵의 구조적, 기능적 특성에 대한 포괄적인 이해를 제공하고 결합 및 효력에 영향을 미칠 수 있는 항체 속성을 평가할 수 있도록 테제펠루맵의 생화학적, 생물물리학적, 생물학적 특성 분석을 수행하였다.

[0193] **물질 및 방법**

[0194] *AMG 157 및 잠재적으로 결합에 영향을 미치는 불안정성 잔기*: 서열 A5(및 쇠 H5, L5)로서의 AMG157의 아미노산 서열 및 여러 다른 TSLP-결합 항체는 이전에 미국 특허 7,982,016 B2에서 기술되었다.

[0195] A2G0F/A2G0F 글리코실화가 포함된 항체(C6500 H9998 O2068 N1734 S52)의 분자량은 147189.4 Da이다(제거된 중쇄 N-말단 피로글루타메이트 및 C-말단 K 포함). TSLP는 74%의 단량체, 23%의 이량체, 및 3%의 사량체 중을 함유하였다.

[0196] *펩티드 맵핑*: 문헌[Ren et al., *Anal.Biochem.* 392: 12-21 (2009)]에 기술된 바와 같이 구아니딘을 이용한 재접합, 이황화 결합의 환원 및 알킬화, 완충액 교환, 및 LC-MS 분석에 적합한 펩티드 상의 트립신을 이용한 분해를 포함하는 샘플 준비 절차를 사용하여 테제펠루맵 샘플의 펩티드 맵핑을 수행하였다. 간략하게, 테제펠루맵을 포함하는 샘플을 0.5 ml의 pH 7.5 변성 완충액(7.5 M 구아니딘 염산염(GdnHCl) 및 0.25 M Tris)에 약 1 mg/ml로 희석하였다. 3 μl의 0.5 M 디티오프레이톨(DTT)을 첨가한 후, 실온에서 30분간 인큐베이션하여 환원을 달성하였다. 7 μl의 0.5 M 요오도아세트산(IAA)을 첨가하여 카복시-메틸화를 달성하였다. 반응은 실온에서 15분 동안 암실에서 수행되었다. 4 μl의 0.5 M DTT를 첨가하여 과잉 IAA를 퀴칭하였다. 환원 및 알킬화된 테제펠루맵 샘플을 NAP-5 컬럼(GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA)을 사용하여 pH 7.5 분해 완충액(0.1 M Tris 또는 0.1 M 중탄산암모늄)으로 완충액 교환하였다. 동결건조된 트립신을 1 mg/ml의 최종 농도로 물에 용해시켰다. 환원, 알킬화, 및 완충액 교환된 테제펠루맵 샘플에 1 mg/ml의 트립신 용액을 첨가하여 분해가 시작되어 1:25의 효소/기질 비를 달성하였다. 분해는 37°C에서 30분 동안 수행되었다. 5 t1의 20% FA를 첨가하여 최종 분해물을 퀴칭하였다. 상기 문헌[Ren et al., 2009]에 기술된 바와 같이, Thermo Scientific Q-Exactive Biopharma 질량 분석기에 연결된 Agilent 1290 UHPLC 시스템에서, 분해된 테제펠루맵 샘플의 LC-MS/MS 펩티드 맵핑 분석을 수행하였다. 획득한 LC-MS/MS 원시 데이터와 테제펠루맵 및 표적의 서열을 사용하여 MassAnalyzer 소프트웨어로 변형을 식별하고 정량화하였다(Zhang, *Anal.Chem.* 81: 8354-8364 (2009)).

[0197] *SE-UHPLC*: 테제펠루맵 샘플을 분석용 SE-UHPLC 컬럼(BEH200 컬럼, 1.7 μm 입자 크기, 4.6 mm × 150 mm, Waters Corporation)에 로딩하고, 100 mM 인산나트륨, 250 mM 염화나트륨을 포함하는 이동상(pH 6.8)을 사용하여 등용매 분리하였다. 용리액은 280 nm에서 UV 흡광도에 의해 모니터링되었다. 컬럼은 상온에서 작동되었고 이동상은 0.4 mL/분의 유량으로 컬럼에 적용되었다.

[0198] *비환원 RP-HPLC*: 테제펠루맵 샘플을 Waters BEH300 C4 컬럼(1.7 μm 입자 크기, 2.1 mm × 50 mm)을 사용하여 RP-HPLC로 분석하고, 75°C에서 0.1% TFA 함유 이동상 및 1-프로판올의 구배를 사용하여 용리하였다. 215 nm에서

의 흡광도를 모니터링하였다.

- [0199] **환원 CE-SDS:** 테제펠루맵 샘플을 rCE-SDS로 분석하였다. 샘플을 나트륨 도데실 설페이트(SDS) 및  $\beta$ -머캅토에탄올의 존재하에 가열하여 환원 및 변성시킨 후, 25°C에서 SDS 겔 완충액 충전 기본 용융 실리카 모세관에 동전기 주입하였다. 220 nm에서 흡광도를 모니터링하였다.
- [0200] **CEX-UHPLC:** 테제펠루맵 원료의약품 샘플을 분석용 CEX-HPLC 컬럼(BioPro SP-F, 5  $\mu$ m 입자 크기, 4.6 mm  $\times$  100 mm, YMC America, Inc.)에 로딩하였다. 이동상 A는 20 mM 인산나트륨을 함유하였고(pH 6.6), 이동상 B는 20 mM 인산나트륨, 500 mM 염화나트륨으로 이루어졌다(pH 6.6). 0분 내지 4분에 5% 내지 12%의 이동상 B, 18분에 23%까지의 이동상 B, 18.5분 내지 20.5분에 100%까지의 이동상 B, 및 21분 내지 25분에 다시 5%까지의 이동상 B로 생성된 선형 염 구배를 사용하여 단백질을 분리하였다. 용리액은 280 nm에서 UV 흡광도에 의해 모니터링되었다. 컬럼은 28°C에서 작동되었고 이동상은 0.6 mL/분의 유량으로 컬럼에 적용되었다.
- [0201] **글리칸 맵핑:** N-글리칸 맵핑은 아스파라긴 잔기에 부착된 올리고당이 효소적 절단을 통해 방출되는 분석 기술이다. 유리 올리고당은 이어서 검출 및 정량화를 위해 형광 태그로 유도체화된다. 표지된 올리고당은 형광 검출 기능이 있는 친수성 상호작용 액체 크로마토그래피(HILIC)에 의해 분리되어 글리칸 프로파일을 생성한다. 이 방법에서, 테제펠루맵은 올리고당의 N-아세틸글루코사민(GlcNAc)과 아스파라긴 잔기 사이의 결합을 특이적으로 절단하는 N-글리코시다제 F(PNGase F)를 사용하여 효소적 분해를 거친다. 방출된 올리고당은 환원성 아미노화를 통해 2-아미노베노조산(2-AA)으로 표지된다. 원심분리 정제 단계 후, 올리고당은 초고성능 액체 크로마토그래피(UPLC) 시스템에서 HILIC에 의해 분리된다. 주요 올리고당 종의 상대적 피크 면적(%)을 계산한다.
- [0202] **효력:** 본원에 기술된 속성을 포함하는 테제펠루맵 조성물의 효력은 수용체-리간드 결합 생물검정 및/또는 수용체 유전 세포 기반 생물검정에 의해 관찰되었다.
- [0203] **수용체-리간드 결합 검정:** 이 검정은 테제펠루맵 활성의 근접 측정을 제공하고, TSLP에 결합하여 TSLP 수용체(TSLPR)에 결합하는 것을 방지하는 테제펠루맵 작용의 분자 메커니즘을 직접적으로 반영한다. 이 방법은 TSLP와 TSLPR의 결합을 억제하는 테제펠루맵의 능력을 정량적으로 측정하는 방법을 제공한다. 테제펠루맵은 제조합 TSLP-His 리간드(TSLP-His)에 결합하여 비오틴화 TSLP 수용체(TSLPR)에 결합하는 것을 억제한다. 효력 검정은 생체분자 상호작용을 검출하는 비드 기반 증폭 발광 근접 균질 검정(Alpha)이다. 검정은 수용체 비드와 공여체 비드의 두 가지 비드 유형을 포함한다. 공여체 비드는 프탈로시아닌, 감광제, 및 스트렙타비딘이 함유된 하이드로겔로 코팅되어 있다. 수용체 비드는 티옥센 유도체와 니켈 킬레이트가 함유된 하이드로겔로 코팅되어 있다. 공여체 비드는 스트렙타비딘과 비오틴 사이의 상호작용을 통해 비오틴화 TSLPR에 결합하고, 수용체 비드는 니켈 킬레이트와 히스티딘 사이의 상호작용으로 인해 히스티딘 태깅된 TSLP에 결합한다. TSLP-His와 비오틴화 TSLPR이 서로 결합하면, 수용체 비드와 공여체 비드가 근접하게 된다. 이 복합체에 레이저를 가하면, 주변 산소가 공여체 비드에 의해 일중항 산소로 변환된다. 비드들이 근접하게 되면 수용체 비드로의 에너지 전달이 발생하여 발광이 일어나며, 이는 AlphaScreen® 신호 검출 기능이 장착된 플레이트 판독기에서 측정된다. 테제펠루맵은 TSLP-His에 결합하여 비오틴화 TSLPR에 결합하는 것을 방지함으로써, 용량 의존적 방식으로 발광 출력을 감소시킨다. 시험 샘플 활성은 시험 샘플 반응을 참조 표준에 대해 얻은 반응과 비교하여 결정된다. 본 단락에 기술된 수용체-리간드 결합 검정은 공여체 비드에 고정된 비오틴화 TSLPR과 수용체 비드에 고정된 TSLP-His의 결합을 억제하는 조성물의 능력을 확인하기 위한 적합한 검정이라는 것이 이해될 것이다.
- [0204] **세포 기반 리포터 유전자 생물검정:** 안정적인 뮤린 BaF 세포의 표면에 발현된 인간 TSLP 수용체(TSLPR) 복합체에 결합하는 인간 흥선 기질 리포포이에틴(TSLP) 단백질은 Stat 5 활성화 및 세포 증식을 유도한다. 이 방법은 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자 및 블라스티시딘-내성 유전자를 암호화하는 플라스미드로 공동 형질감염된 뮤린 BaF/hu HTR 세포주를 활용한다. Stat/BaF/HTR 세포를 제조합 인간 TSLP와 함께 인큐베이션하면 TSLPR에 대한 결합 후 신호 전달이 발생하여, 루시퍼라제 활성을 증가시킨다. AMG 157은 TSLPR의 TSLP 유도 활성을 길항하여 TSLP 매개 루시퍼라제 반응을 억제한다. 이 방법은 TSLP로 자극된 Stat/BaF/HTR 세포에 대한 AMG 157 참조 표준 및 시험 샘플의 용량 의존적 억제 효과를 측정한다. TSLP 및 테제펠루맵과 함께 인큐베이션한 후, 세포를 세제(세포 용해용) 및 루시퍼라제의 기질인 루시페린을 함유하는 시약으로 처리한다. 루시퍼라제와 루시페린의 반응으로 인해 발광계에서 측정되는 발광이 일어난다. TSLP 자극에 대한 반응으로서 리포터 세포에서의 루시퍼라제 생성은 루시퍼라제 기질 첨가 후 발광 판독에 의해 정량화된다. 루시퍼라제 리포터 활성의 TSLP 유도 활성화 억제 정도는 테제펠루맵의 양에 비례한다. 시험 샘플의 생물학적 활성은 시험 샘플의 반응을 참조 표준과 비교하여 결정된다. 본 단락에 기술된 세포 기반 리포터 유전자 검정은 Stat 루시퍼라제 리포터 유전자를 암호화하는 Stat/BaF/HTR 세포의 표면에 발현된 TSLPR(이의 발현은 TSLPR에 대한 TSLP의 결합을 나타냄)의 결합을 억제하는

조성물의 능력을 확인하기 위한 적합한 검정이라는 것이 이해될 것이다.

[0205]

**결과**

[0206]

테제펠루탐의 생화학적 특성화를 통해, 테제펠루탐 제제로부터 그리고 원료의약품의 보관 후에 단리될 수 있는 변형된 테제펠루탐 항체가 식별되었다(이성질화 유도체, 탈아미드화 유도체, 산화 유도체, 고분자량 중, 단편화 중, 부분 환원 중, 고만노스 글리칸 유도체, 또는 이황화물 이소형 유도체 포함). 이러한 속성을 테제펠루탐의 효력 및 내약성에 대한 잠재적 영향에 대해 평가하였다.

[0207]

**이성질화:** 아스파르트산 이성질화는 LC-MS/MS를 이용한 환원 펩티드 매핑을 통해 평가되었다. 아스파르트산 잔기는 천연이든 Asn의 탈아미드화에 의해 형성되었든 환형 이미드 중간체를 통해 이성질화를 겪을 수 있다. 이성질화는 CDR에 대한 변형된 잔기의 근접성을 기반으로 표적 결합 및 효력에 영향을 미칠 수 있다. 펩티드 매핑 연구의 질량 분광 분석을 통해 테제펠루탐에서의 이성질화의 기본 수준을 평가하였다. HC CDR2 Asp<sup>54</sup> 및 LC CDR3 Asp<sup>91/95</sup>에서의 이성질화는 원료의약품에서 유의미한 수준으로 관찰되지 않았다. 열 노출 강제 분해 연구 결과, LC CDR2 Asp<sup>49/50</sup>은 고온에서 이성질화에 민감한 것으로 나타났다. 또한, HC CDR2 Asp<sup>54</sup>의 이성질화 수준도 고온에서 약간의 증가(2% 미만)를 나타냈다. 따라서, 주요 이성질화 부위는 5주간의 열 강제 분해(40°C) 후 10% 및 2%로 LC CDR Asp<sup>49/50</sup> 및 HC CDR Asp<sup>54</sup>로서 확인되었다.

[0208]

경쇄 CDR2에서 Asp<sup>49/50</sup>의 이성질화는 원료의약품에서 약 0.2%로 관찰되었다. HC CDR2 Asp<sup>54</sup> 및 LC CDR3 Asp<sup>91/95</sup>에서의 이성질화는 원료의약품에서 유의미한 수준으로 관찰되지 않았다.

[0209]

유효기한이 끝난 임상시험에 사용된 제품 로트에 대해 HMW 중, 단편, 이성질화 등과 같은 불순물의 수준을 모니터링하고, 동일한 로트의 최초 출하시의 불순물과 비교하였다. 시간이 지남에 따라 불순물이 증가하면, 불순물 수준에 대한 대상체의 임상적 노출의 계산 및 제품 안전성에 대한 이러한 속성의 효과 확인이 가능해지고, 원료의약품에서의 불순물에 대한 내약성을 측정할 수 있다. 예를 들어, 테제펠루탐에 대한 임상 연구에서는 36개월의 임상 유효기간 중 마지막 달까지 투약된 원료의약품을 활용하였다. 더 높고 더 빈번한 투약과 조합된 오래된 의약품의 사용은 환자를 새로운 의약품 로트보다 더 높은 수준의 제품 관련 물질 및 제품 관련 불순물에 노출시켰다. 노출의 증가는 주로, 월 210 mg 용량의 피하 주사 투약과 비교하여, 치료의 월 누적 투약의 증가(예를 들어, 420 mg Q14D 피하 주사 투약을 통해)로 인한 것이었다.

[0210]

피하 주사에 의한 2주마다 420 mg의 임상 투약은 210 mg의 월 용량보다 약 4배 더 많다. 이러한 예정된 투약으로부터, "곡선 아래 면적"(AUC) 또는 최대 혈청 농도(C<sub>max</sub>)로 표시되는 더 높은 용량 요법에서의 전신 노출은 더 낮은 임상 용량보다 각각 3.2배 내지 3.7배 큰 것으로 계산되었다. 임상 연구 프로토콜에 따라, 항체 검사는 노출에 예상치 못한 변화가 있거나 잠재적으로 항약물 항체 관련 안전성 문제가 있는 경우에만 수행된다. 이러한 결과는 관찰되지 않았으며 약물 내약성은 양호했다.

[0211]

본 임상 시험에서의 투여량 및 투여시 속성 수준 추정치를 기반으로, 임상 시험 환자에 대한 속성 노출 수준을 추정하고 내약성을 평가하였다. 예를 들어, 의약품 내 속성(예를 들어, HWM)의 %에 임상 노출 승수를 곱하여, 210 mg Q28D의 제안 용량으로 투여되는 제품 로트에서의 동등한 속성 수준 %를 결정할 수 있다.

[0212]

이성질화의 경우, 210 mg Q28D 용량을 기준으로 계산된 최대 30%의 총 이성질화는 어떠한 생체내 안전성 관련 문제와도 관련이 없었다. 210 mg Q28D 용량을 기준으로 계산된 26%의 D49/D50 또는 D52 이성질화는 어떠한 생체내 안전성 문제와도 관련이 없었던 반면, 210 mg Q28D 용량을 기준으로 계산된 4%의 D54 이성질화는 어떠한 생체내 안전성 문제와도 관련이 없었다.

[0213]

**산화:** 산화는 환원 트립신 펩티드 맵 LC-MS를 사용하여 평가되었다. 메티오닌(Met) 잔기에서의 산화는 산소 및/또는 화학적 산화제에 대한 노출과 광 노출의 결과로 인해 잠재적으로 발생할 수 있는 번역 후 변형이다. 테제펠루탐은 각각의 중쇄에 8개의 Met 잔기(Met<sup>2</sup>, Met<sup>34</sup>, Met<sup>83</sup>, Met<sup>117</sup>, Met<sup>253</sup>, Met<sup>359</sup>, Met<sup>398</sup>, Met<sup>429</sup>)를 포함한다. 경쇄에는 Met 잔기가 없다. 단 하나의 Met 잔기 Met<sup>34</sup>만이 상보성 결정 영역(CDR)에 위치한다. 중쇄의 Met<sup>2</sup>, Met<sup>117</sup>, Met<sup>253</sup>, Met<sup>359</sup>, Met<sup>398</sup> 잔기에서 낮지만 검출가능한 수준의 산화가 관찰되었다(표 1). CDR에서의 메티오닌 산화는 잠재적으로 효력에 영향을 미칠 수 있지만, CDR 영역의 Met<sup>34</sup>에서의 산화는 관찰되지 않았다. 질량 분광 검출(ESI-MS)을 이용한 환원 펩티드 맵을 통해 산화의 정도를 추정하였다. 산화된 종과 산화되지 않은 종의 상

대적 강도로부터 추론하여 상대적 백분율을 계산했지만, 이 접근법은 간섭 중의 동시 용리와 이온화 효율의 잠재적 차이로 인해 반정량적인 것으로 간주된다. 분자의 특정 부위의 산화에 대한 민감성을 규명하기 위해 강제 산화하에서의 테제펠루맵 분석을 사용하였다.

**표 1**

**테제펠루맵 원료의약품에서의 메티오닌 산화 수준**

잔기	산화	루프 (요소)
Met <sup>2</sup>	약 1%	V <sub>H</sub> (Fab)
Met <sup>117</sup>	약 1%	CH <sub>1</sub> (Fab)
Met <sup>253</sup>	약 2%	CH <sub>2</sub> (Fc)
Met <sup>359</sup>	약 3%	CH <sub>2</sub> (Fc)
Met <sup>398</sup>	약 1%	CH <sub>3</sub> (Fc)
Met <sup>429</sup>	< 1%	CH <sub>3</sub> (Fc)

[0214]

[0215]

강제 화학적 산화에서 중쇄 메티오닌에 대한 민감도 순서는 Met<sup>117</sup> > Met<sup>253</sup> > Met<sup>2</sup> > Met<sup>429</sup>인 것으로 나타났고, 이는 Met<sup>117</sup> 및 Met<sup>253</sup>이 가장 큰 용매 노출을 갖는 부위임을 나타낸다. 상기 화학적 산화 연구와 유사하게, 광 분해 연구에서는 중쇄 Met 잔기의 광 유도 산화에 대한 상대적 민감도가 Met<sup>253</sup> > Met<sup>117</sup> > Met<sup>398</sup> > Met<sup>359</sup>인 것으로 밝혀졌다. Met<sup>34</sup> 산화 수준은 정량 수준 미만이며, 서열과 분자 접힘을 고려하면 이 잔기가 산화에 이용될 수 없음을 알 수 있다. 또한, 광 분해 연구에서는 트립토판 잔기의 산화 수준이 Trp<sup>102</sup> > Trp<sup>56</sup> > Trp<sup>52</sup> > Trp<sup>90</sup>의 순서로 증가하는 것으로 나타났고, 이는 중쇄 가변 영역 Trp<sup>102</sup> 및 경쇄 Trp<sup>56</sup>이 가장 큰 광 노출을 갖는 부위임을 나타낸다(표 2).

**표 2**

**테제펠루맵 원료의약품에서의 트립토판 산화 수준**

잔기	산화	루프 (요소)
Trp <sup>56</sup>	< 1%	V <sub>L</sub> (Fab)
Trp <sup>102</sup>	< 1%	V <sub>H</sub> (Fab, CDR3)
Trp <sup>150</sup>	< 1%	CH <sub>1</sub> (Fab)
Trp <sup>278</sup>	약 2%	CH <sub>2</sub> (Fc)

[0216]

[0217]

유효기간 종료시 EOS(최대값 36개월 2-8C + 2개월 30C)에서 관찰된 산화는 약 0.2%의 W52에서의 HCDR 산화 및 1.1%의 W102에서의 산화를 나타냈다. 원료의약품 산화에서는 0.3 내지 0.5% 산화된 W102가 검출되었다. 인간 임상 시험에서의 투여량 및 투여시 속성 수준 추정치를 기반으로, 임상 시험 환자에 대한 속성 노출 수준을 추정하였다. 210 mg Q28D 용량을 기준으로 계산된 최대 6~7%의 산화된 W102는 어떠한 생체내 안전성 문제와도 관련이 없었다. 트립토판 산화는 고온 및 극도의 가시광선 및 자외선 노출하에 발생할 수 있다. 극도의 조건으로 인한 CDR 트립토판 산화는 효력의 중등 감소와 관련이 있다. 트립토판 산화와 황색 지수 사이에는 강한 상관관계가 있다.

[0218]

**탈아미드화:** 아스파라긴 탈아미드화는 LC-MS를 이용한 트립신 펩티드 맵핑을 사용하여 평가되었다. 펩티드 맵핑 연구의 ESI-MS/MS 분석을 통해 테제펠루맵에서의 탈아미드화의 기본 수준을 평가하였다. 중쇄의 Asn<sup>316</sup> 및 Asn<sup>385</sup> 잔기에서 낮은 수준의 탈아미드화만이 관찰되었다(표 3). 중쇄 CDR2 및 경쇄 CDR1의 각각 Asn<sup>57</sup> 및 Asn<sup>25/26</sup>을 포함한 다른 부위에서의 탈아미드화는 원료의약품에서 관찰되지 않았다.

**표 3**

**테제펠루맵 원료의약품에서의 아스파라긴 탈아미드화 수준**

잔기	탈아미드화	루프 (요소)
Asn <sup>316</sup>	< 1%	C <sub>H</sub> 2 (Fc)
Asn <sup>385</sup>	2%	C <sub>H</sub> 3 (Fc)

[0219]

[0220]

특정 분자 부위의 탈아미드화에 대한 민감성을 평가하기 위해 강제 탈아미드화 조건하에서의 테제펠루맵 분석을 사용하였다. 생리학적 pH 7.4에서, 가장 취약한 부위는 Asn<sup>390</sup> 및 Asn<sup>385</sup> 인 것으로 확인된 반면(원료의약품 3%; EOS, 5%), Asn316에서 부차적인 부위가 식별되었으며(0.09~0.1%; EOS, 0.4%), 이들 모두 Fc 영역에 위치한다. Asn<sup>25</sup>에서의 LC 가변 CDR 영역의 탈아미드화는 낮은 수준으로만 관찰되었다(원료의약품, 0.1 내지 0.2%; EOS, 0.4%). 인간 임상 시험에서의 투여량 및 투여시 속성 수준 추정치를 기반으로, 임상 시험 환자에 대한 속성 노출 수준을 추정하였다. 최대 2%(210 mg Q28D 용량 기준)로 계산된 Asn25에서의 탈아미드화는 어떠한 생체내 안전성 문제와도 관련이 없었고, 최대 13%(210 mg Q28D 용량 기준)로 계산된 Asn385/390에서의 탈아미드화는 어떠한 생체내 안전성 문제와도 관련이 없었다.

[0221]

**글리코실화:** 글리코실화는 항체 이펙터 기능 및 세포 표면의 Fc 수용체에 대한 항체의 결합과 관련이 있으며, 변경된 글리코실화는 이러한 기능 중 하나 이상을 방해할 수 있다. 이펙터 기능은 항체 의존성 세포매개 세포독성(ADCC) 및 항체 의존성 세포 식세포작용(ADCP)을 포함한다.

[0222]

공통 서열의 존재 및 포유류 세포 배양물로부터 생성된 IgG2 단일클론 항체의 과거 특성화에 따르면, 테제펠루맵은 각각의 중쇄 상의 Asn<sup>298</sup>에 단일 N-글리코실화 부위를 포함할 것으로 예상된다. 글리코실화 부위는 PNGaseF 처리 유무에 따른 트립신 펩티드 맵의 비교를 통해 평가되었다. PNGaseF는 글리칸의 환원 말단 N-아세틸글루코사민 잔기와 펩티드 백본의 Asn 잔기 사이의 고만노스, 하이브리드, 및 복합 글리칸 모이어티를 절단한다. 크로마토그래피 분리의 배출구를 Orbitrap 질량 분석기에 연결하여 N-연결 글리칸 맵에서의 종의 조성을 확인하였다.

[0223]

테제펠루맵의 글리칸 보체에 대한 포괄적인 특성화는 다양한 정도의 말단 갈락토실화를 주요 종으로 갖고 높은 수준(약 95%)의 푸코실화를 갖는 이중안테나형 N-연결 구조의 존재를 입증한다. HILIC에 의해 확인된 CEX 원료의약품 각각의 글리칸 분포는 표 4에 제시되어 있다.

**표 4**

**테제펠루맵 원료의약품(DS)의 글리칸 피크 면적 %**

샘플	푸코실화 (%)	고만노스 (%)	β-갈락토실화 (%)	시알산화 (%)
DS	93.8	3.9	22.8	0.1

[0224]

[0225]

테제펠루맵 글리칸 유도체 집단은 갈락토실화 중(DS 19.9~28.6%), 아푸코실화 중(DS 1.1~1.2%), 및 DS 내 3.9~4.8%의 고만노스 중(주로 올리고만노스 5)을 포함한다. 인간 임상 시험에서의 투여량 및 투여시 속성 수준 추정치를 기반으로, 임상 시험 환자에 대한 속성 노출 수준을 추정하였다. 최대 약 5%로 계산된 아푸코실화 중, 최대 75~90%로 계산된 갈락토실화 중, 및 최대 14~18%로 계산된 고만노스 유도체는 어떠한 생체내 안전성 문제와도 관련이 없었다(모든 추정치는 210 mg Q28D 용량 기준).

[0226]

N-연결 글리칸 제거의 생물학적 효과를 조사하기 위해, 테제펠루맵을 PNGaseF로 처리하고, 정제하고, 수용체-리간드 결합 검정 및 세포 기반 리포터 유전자 생물검정으로 검사하였다(표 5). 이들 결과는 N-글리칸의 제거가 두 효력 검정 모두에서 테제펠루맵에 영향을 미치지 않음을 입증한다.

**표 5**

[0227]

탈글리코실화 테제펠루마프의 생물학적 활성

평가 조건	수용체- 리간드 결합 검정	세포 기반 리포터 유전자 생물검정
	상대적 효력 %*	상대적 효력 %*
탈글리코실화	112	98

[0228]

\* 3회 반복의 평균값

[0229]

고만노스 글리칸의 수준은 잠재적으로 제품 반감기에 영향을 미칠 수 있으며, 생산 생물반응기의 공정 조건은 고만노스 수준에 영향을 미칠 수 있다. 고만노스에 대한 생산 생물반응기 공정 매개변수의 영향은 고만노스에 영향을 미치는 주요 공정 매개변수로 확인된 pH를 이용한 공정 특성화 연구에서 평가되었다. pH에 대한 허용 범위는 일관된 고만노스 수준을 뒷받침하도록 설정되었다. 공정 특성화 연구에서의 고만노스 수준은 7.5% 이하였다.

[0230]

실시예 2-크기 유도체

[0231]

테제펠루마프의 아미노산 수준에서의 화학적 변화 외에도, 응집체 또는 단편을 갖는 유도체도 가능하다.

[0232]

온전한 테제펠루마프의 펩티드 백본의 총 예상 질량은, 2개의 비변형 경쇄, 2개의 N-말단 피로글루타미드화 중쇄, 및 18개의 이황화물의 존재를 가정할 때, 144,298 Da이다. 또한, 천연 테제펠루마프는 2개의 중쇄 각각의 Asn<sup>298</sup>에 단일 N-연결 글리코실화 부위를 포함한다. Asn<sup>298</sup> 상의 2개의 글리칸 카피, 주요 중쇄 C-말단 Gly 유도체의 2개의 카피, 및 주요 중쇄 N-말단 피로글루타미드의 2개의 카피를 갖는 온전한 글리코실화 테제펠루마프의 이론적 질량은 147,189 Da이다. 온전한 테제펠루마프를 PNGaseF로 처리하면 N-글리코실화가 제거되고 그에 따라 글리칸 함유 Asn이 Asp 잔기로 변환되기 때문에 폴리펩티드 질량에서 쇄당 1 Da가 증가하며, 디컨볼루션된 질량 스펙트럼의 비균질성이 줄어든다. 탈글리코실화 물질에 대한 이론적 질량은 144,300 Da이다.

[0233]

크기 비균질성은 화학적 또는 효소적 절단 작용뿐만 아니라 다양한 메커니즘을 통한 자기 회합으로 인한 단백질의 고유 특성이다. 잠재적인 크기 유도체는 단량체보다 큰 중(이량체, 고차 올리고머 중)을 형성하기 위한 자기 회합을 통한 고분자량(HMW) 종을 포함할 수 있다. HMW는 비공유 회합, 환원성 공유 회합, 및/또는 비환원성 공유 회합을 통해 형성될 수 있으며; 저분자량(LMW) 종은 폴리펩티드 백본의 절단 및/또는 하위단위 구성요소(즉, 경쇄 및 중쇄)의 불완전한 조립을 통해 형성될 수 있다.

[0234]

테제펠루마프의 크기 비균질성은 다음의 분석 방법을 사용하여 평가될 수 있다: 본래 조건하에서 크기와 순도를 평가하기 위한 크기 배제 초고성능 액체 크로마토그래피(SE-UHPLC); 몰 질량에 대한 추가 평가를 제공하기 위한 침강 속도 초원심분리(SV-AUC) 및 정적 광산란(SLS)을 이용한 SE-HPLC; 환원 및 변성 조건하에서 크기와 순도를 확인하기 위한 환원 나트륨 도데실 설페이트 모세관 전기영동(rCE-SDS). 분리된 유도체는 단편, 비환원 공유 연결, 정상적인 글리코실화가 결여되어 있거나 추가적인 글리코실화 부위를 함유하고 있는 폴리펩티드를 포함한다; 변성 조건하에서 크기와 순도를 확인하기 위한 비환원 나트륨 도데실 설페이트 모세관 전기영동(nrCE-SDS). 분리된 유도체는 부분적으로 조립된 분자, 단편, 공유 연결을 포함한다.

[0235]

이러한 분석 기술의 결과는 SE-UHPLC, SE-HPLC-SLS, 및 침강 속도 분석 초원심분리(SV-AUC) 결과에 따르면 테제펠루마프 원료의약품이 낮은 수준의 이량체 및 LMW 종과 함께 주로 단량체로 구성되어 있음을 나타냈다. 낮은 수준의 LMW 종은 변성(nrCE-SDS) 조건과 환원 및 변성 조건(rCE-SDS)에서 관찰된다. rCE-SDS 결과에 따르면, 테제펠루마프는 미미한 수준의 단편화된 중 및 HMW 종과 함께 주로 HC 및 LC 구성요소로 환원된다. 이들은 LMW(LC보다 작음), 중분자량(MMW, HC보다 작지만 LC보다 큼), 및 HMW(HC보다 큼) 종을 포함한다. LMW 종(예를 들어, 25 kD 미만) 및 MMW 종(약 25 내지 50 kD)은 집합적으로 단편으로서 검출되었으며, 테제펠루마프 제제에서 2% 미만으로 관찰되었다[DS: < 0.4%(HC+LC에 대해 98.7~99%); EOS: 1.5%( HC+LC에 대해 97.3~97.5%)].

[0236]

공정중 제어 방법이며 원료의약품 및 완제의약품 출하 및 안정성 시험 프로그램의 일부인 비변성 SE-UHPLC를 통해 테제펠루마프의 크기 비균질성을 모니터링한다. 이 방법은 단량체 주 피크로부터 HMW 종을 분리하기 위해 비변성 조건하에 수행된다. 테제펠루마프 원료의약품을 0.4 mL/분의 유량의 이동상(100 mM 인산나트륨, 250 mM 염화나트륨, pH 6.8) 중의 Waters BEH200(4.6 x 150 mm, 1.7 mm 입자 크기) 컬럼에서 SE-UHPLC로 분석하고, 280 nm에서 흡광도를 검출하였다. 프로파일은 약 2.8분에서 용리되는 주 피크(상대적 백분율 면적 99.6%)의 존재를 특징으로 한다. 20배 강화 크로마토그램에서 가장 잘 관찰되는 부 피크는 약 2.2분의 머무름 시간에서 주 피크 전에 용리된다. 이 피크는 테제펠루마프 HMW를 포함하며, 표 6에 나타낸 바와 같이 0.4%의 상대적 면적 백분율을 갖는다.

다.

**표 6**

**SE-UHPLC에 의한 테제펠루맙 원료의약품의 피크 면적 백분율**

피크 식별	상대적 면적 %
주 피크	99.6
HMW	0.4

[0237]

[0238]

전체 HMW 종은 원료의약품(DS)에서 약 0.3~0.6%로 검출되었지만 EOS에서 1.7%로 검출되었다. 예를 들어, 1.4% 이하 HMW(출하) 및 1.7 이하 HMW(안정성). 인간 임상 시험에서의 투여량 및 투여시 속성 수준 추정치를 기반으로, 임상 시험 환자에 대한 속성 노출 수준을 추정하였다. 최대 20% HMW(210 mg Q28D 용량 기준)로 계산된 HMW 종은 어떠한 생체내 안전성 관련 문제와도 관련이 없었다.

[0239]

rCE-SDS를 사용하여 중쇄 및 경쇄뿐만 아니라 LMW 및 MMW 종을 평가하였다. 테제펠루맙에 대한 rCE-SDS 전기영동도는 표 7에 나타난 피크 면적 % 값으로 표시된다. 이들 데이터는 테제펠루맙이 이황화 연결 중쇄와 경쇄로 구성되어 있음을 보여준다. 테제펠루맙 원료의약품에서, LMW 및 MMW 영역에서 관찰된 부 피크는 방법의 기준선 노이즈 및 가변성 내에 있다. SE-UHPLC 결과와 일치하게, LMW 또는 MMW 종은 거의 관찰되지 않았다. 인간 임상 시험에서의 투여량 및 투여시 속성 수준 추정치를 기반으로, 임상 시험 환자에 대한 속성 노출 수준을 추정하였다. 210 mg Q28D 용량을 기준으로 계산된 최대 15%의 단편 종은 어떠한 생체내 안전성 문제와도 관련이 없었다.

**표 7**

**rCE-SDS에 의한 테제펠루맙 원료의약품의 피크 면적 백분율**

피크 식별	상대적 면적 %
LC + HC	98.7
LMW	< LOQ*
MMW	< LOQ*
NGHC	0.6
HMW	0.4

[0240]

[0241]

\*LOQ = 0.3%

[0242]

비단량체 종의 존재를 평가하기 위해 CE-SDS가 또한 비환원 조건하에 수행될 수 있다. 이 기술은 단백질 접힘을 풀고 비공유 회합을 파괴하기 위해 변성 조건하에 수행되며, 부분 분자 중 및 부분적으로 환원된 온전한 분자, 즉 2개의 경쇄 및 2개의 중쇄 구성요소 중 하나 이상이 결합되어 있거나 단량체 항체에서 예상되는 각각의 쇠간 연결이 결합된 것들을 검출하는 데 특히 유용하다. 단일 경쇄와 회합된 2개의 중쇄(HHL) 또는 단일 경쇄와 회합된 단일 중쇄(HL, 반분자라고도 함)로 이루어진 종이 특정 세포 배양 조건으로부터 보고된 바 있다(Trexler-Schmidt M, et al, 2010). 테제펠루맙을 SDS 및 N-에틸말레이미드의 존재하에 가열하여 변성시킨 후, 25°C에서 SDS 겔 완충액 충전 기본 용융 실리카 모세관(50 mm ID x 30.2 cm)에 동전기 주입하였다. 주입 전압은 10.0 kV였고, 분리 전압은 15.0 kV였고, 흡광도는 220 nm에서 모니터링되었다. 데이터는 테제펠루맙 원료의약품이 분포의 4.5% 미만을 포함하는 낮은 수준의 더 작은 중과 함께 주로 이황화 연결 중쇄 및 경쇄 단량체로 구성되어 있음을 보여준다(표 8).

**표 8**

**nrCE-SDS에 의한 테제펠루맙 원료의약품의 피크 면적 백분율**

피크 식별	상대적 면적 %
주 피크, HC+LC 단량체	95.5
프리-피크, 더 작은 중	4.5

[0243]

[0244]

SE-HPLC 방법에 정적 광산란(SLS) 검출을 추가하면 크로마토그램의 개별 피크에 대한 몰 질량을 확인할 수

있다. 용리 중에 의해 산란되는 빛의 강도는 중의 농도와 분자량에 비례한다. UV 흡광도(280 nm)의 강도는 단백질 농도에 비례한다. 각 용리 중의 물 질량은 각 피크에 대한 광산란 강도와 농도를 활용하여 기기 제조사의 소프트웨어에 의해 확인될 수 있다. TSK-GEL G3000SWx1(5 μm 입자 크기, 7.8 mm ID x 300 mm 길이 컬럼)을 구비한 Agilent 1100 HPLC 시스템을 사용하여 온라인 다각도 광산란 검출과 결합된 SE-HPLC 크로마토그래피를 통해 테제펠루맵 원료의약품을 분석하였다. 사용된 검출기는 파장이 280 nm로 설정된 Wyatt Heleos II 검출기, Wyatt Optilab TrEX RI 검출기, 및 Agilent UV 검출기였다. SE-HPLC 실험은 실온에서 수행되었으며, 100 mM 인산나트륨, 250 mM 염화나트륨, pH 6.8 ± 0.1의 완충액이 이동상으로 사용되었고, 유량은 0.5 mL/분이었다.

[0245] 테제펠루맵 원료의약품에 대해 생성된 UV 프로파일 및 SLS 데이터로부터 계산된 상응하는 물 질량은 주 피크의 물 질량이 145 kDa임을 보여주며, 이는 테제펠루맵 단량체의 이론적 질량(147 kDa)과 거의 일치한다. 단량체 이전에 용리되는 피크에 대한 물 질량은 평균 284 kDa로, 테제펠루맵 이량체의 이론적 질량(294 kDa)과 거의 일치하며, 이는 HMW 중의 대부분이 테제펠루맵의 이량체임을 나타낸다(표 9).

**표 9**

**SE-HPLC-SLS에 의해 확인된 테제펠루맵 원료의약품의 메인 및 메이저 HMW 피크의 분자량**

피크 식별	분자량 (kDa) <sup>a</sup>
단량체	145 ± 0.2
이량체 (HMW)	284 ± 6

[0247] 강화된 HMW 분획(테제펠루맵 이량체에 대해 강화됨) 및 주 피크(주로 단량체 함유)를 수용체-리간드 결합 검정 및 세포 기반 리포터 유전자 생물검정을 통해 효력에 대해 평가하였다. 결과는 수용체-리간드 결합 검정 및 세포 기반 리포터 유전자 생물검정에 의해 확인되는 바와 같이 각각 테제펠루맵 활성의 64% 및 62%로 효력의 감소를 나타낸다(표 10).

**표 10**

**SE-UHPLC 분획의 효력 확인**

샘플 설명	수용체-리간드 결합 검정 상대적 효력 %	세포 기반 리포터 유전자 생물검정 상대적 효력 %
HMW	64	62
주 피크	108	96

[0249] 자기 회합이 입체적 제약을 부과하여 입체형태 변화를 초래할 수 있고 결과적으로 결합에 영향을 미칠 수 있으므로 이러한 결과가 예상된다. 응집체 형성 속도의 증가는 높은 온도, 낮은 pH, 생리학적 pH, 가시광선 및 자외선 노출하에 일어날 수 있다. 생물학적 특성화에서는 HMW 중이 효력 감소를 나타낸 것으로 확인되었다. 시험관 내 효력의 감소는 정상적인 처리 및 보관 조건하에 검출된 양을 크게 초과하는 수준으로 강화된 경우에만 검출 가능했다.

[0250] **이황화물 이소형:** 테제펠루맵은 IgG2 하위클래스의 항체이므로, 이황화물 매개 구조적 유도체 및 이소형을 나타낼 것으로 예상된다(Wypych *et al.*, Journal of Biological Chemistry, Vol. 283(23):16194-16205, 2008; Dillon *et al.*, Journal of Biological Chemistry, Vol. 283(23):16206-16215, 2008). 이황화물 구조적 비균질성은 18개의 이황화 결합, 즉 6개의 쇠간 및 12개의 쇠내 결합을 포함하는 재조합 및 자연발생적 IgG2 분자에 내재되어 있다(Wang *et al.*, 2007; Zhang and Czupryn, 2002). 테제펠루맵에서 검출된 이황화 결합의 연결성은 비환원 펩티드에 존재하는 연결의 수에 따라 다양한 접근법을 사용하여 규명되었다. 단일 이황화 연결을 포함하는 펩티드의 경우, 환원 및 비환원 트립신 펩티드 맵의 비교를 사용하여 이황화 연결성을 지정했다.

[0251] 전형적인 IgG2-A 구조와 달리, IgG2-B 이성질체는 Fab 펩티드(C<sub>H1</sub>-C<sub>L</sub>-힌지)의 두 카피와 힌지 펩티드의 두 카피를 연결하는 대칭 연결을 포함한다. IgG2-A/B는 이황화 결합을 통해 힌지 펩티드의 두 카피에 공유적으로 연결된 하나의 Fab 아암을 포함하는 비대칭 배열에 의해 정의되는, IgG2-A와 IgG2-B 둘 모두의 부분적 특징을 포함하는 중간 형태를 나타낸다(Wypych *et al.*, Journal of Biological Chemistry, Vol. 283(23):16194-16205,

2008; Dillon *et al.*, Journal of Biological Chemistry, Vol. 283(23):16206-16215, 2008; Zhang *et al.*, Anal Chem., Vol. 82(3):1090-1099, 2010).

[0252] 비환원 및 환원 조건하에 엔도프로테아제 트립신을 사용하여 펩티드 맵핑을 통해 미분획 원료의약품에서 이황화 연결 펩티드를 식별하였다. UV 검출 외에 질량 분석을 위해 RP-HPLC 분리의 배출구를 전기분무 이온화 질량 분석기(ESI-MS)에 연결하였다. 이어서, 비환원 분해물을 환원제[트리스(2-카복시에틸) 포스핀 하이드로클로라이드 (TCEP)]로 처리하고, 동일 조건을 사용하여 재분석하였다. 테제펠루맵 원료의약품의 비환원 트립신 펩티드 맵으로부터의 각 이황화 연결 펩티드를 환원 조건하에 질량 분석법으로 구성 펩티드에 대해 분석하였다. 종합하면, A 내지 H로 지정된 이황화 연결 펩티드의 특성화를 통해 표 11에 요약된, 특정 Cys 잔기 사이의 연결을 규명하였으며, 이는 전형적인 이황화물 구조인 IgG2-A의 존재를 확인시켜 준다.

표 11

펩티드 A 내지 H에 대한 IgG2-A 연결성 확인

이황화 연결 펩티드	구성 펩티드	식별된 Cys-Cys 결합 (펩티드)	루프 (요소)
A	(H3)/(H12)	Cys <sup>22</sup> (H3) - Cys <sup>96</sup> (H12)	V <sub>H</sub> (Fab)
B	(H15)/(H16)	Cys <sup>149</sup> (H15) - Cys <sup>205</sup> (H16)	C <sub>H1</sub> (Fab)
C	(L2)/(L5)	Cys <sup>22</sup> (L2) - Cys <sup>87</sup> (L5)	V <sub>L</sub> (Fab)
D	(L8)/(L14)	Cys <sup>136</sup> (L8) - Cys <sup>195</sup> (L14)	C <sub>L</sub> (Fab)
E	(H14)/(L15)	Cys <sup>136</sup> (H14) - Cys <sup>213</sup> (L15)	인터 HC-LC
F	(H22)/(H27)	Cys <sup>262</sup> (H22) - Cys <sup>322</sup> (H27)	C <sub>H2</sub> (Fc)
G	(H35)/(H40)	Cys <sup>368</sup> (H35) - Cys <sup>426</sup> (H40)	C <sub>H3</sub> (Fc)
H	(H20)/(H20)	Cys <sup>224</sup> (H20) - Cys <sup>224</sup> (H20)	힌지
		Cys <sup>225</sup> (H20) - Cys <sup>225</sup> (H20)	
		Cys <sup>228</sup> (H20) - Cys <sup>228</sup> (H20)	
		Cys <sup>231</sup> (H20) - Cys <sup>231</sup> (H20)	

[0254] 비환원 트립신 펩티드 맵은 또한 IgG2-B 유도체의 존재를 나타냈다. 비환원 RP-HPLC를 통해 IgG2-B 이황화물 유도체에 대한 추가 확인을 실시하였다. 종합하면, 이황화 연결 펩티드 A 내지 D, 펩티드 F 내지 G, 및 펩티드 I의 특성화를 통해 표 12에 요약된, 특정 Cys 잔기 사이의 연결을 규명하였으며, 이는 이황화물 이소형 구조인 IgG2-B의 존재를 확인시켜 준다.

표 12

펩티드 A 내지 D, F 내지 G, 및 I에 대한 IgG2-B 연결성 확인

이황화 연결 펩티드	구성 펩티드	식별된 Cys-Cys 결합 (펩티드)	루프 (요소)
A	(H3)/(H12)	Cys <sup>22</sup> (H3) - Cys <sup>96</sup> (H12)	V <sub>H</sub> (Fab)
B	(H15)/(H16)	Cys <sup>149</sup> (H15) - Cys <sup>205</sup> (H16)	C <sub>H1</sub> (Fab)
C	(L2)/(L5)	Cys <sup>22</sup> (L2) - Cys <sup>87</sup> (L5)	V <sub>L</sub> (Fab)
D	(L8)/(L14)	Cys <sup>136</sup> (L8) - Cys <sup>195</sup> (L14)	C <sub>L</sub> (Fab)
F	(H22)/(H27)	Cys <sup>262</sup> (H22) - Cys <sup>322</sup> (H27)	C <sub>H2</sub> (Fc)
G	(H35)/(H40)	Cys <sup>368</sup> (H35) - Cys <sup>426</sup> (H40)	C <sub>H3</sub> (Fc)
I	(H20)/(L15)	Cys <sup>224</sup> (H20) - Cys <sup>213</sup> (L15)	IgG2-B 형태
	(H14)/(H20)	Cys <sup>136</sup> (H14) - Cys <sup>225</sup> (H20)	
	(H20)/(H20)	Cys <sup>228</sup> (H20) - Cys <sup>228</sup> (H20)	
	(H20)/(H20)	Cys <sup>231</sup> (H20) - Cys <sup>231</sup> (H20)	

[0256] 구조적 이소형 IgG2-A/B의 존재는 테제펠루맵의 비환원 트립신 펩티드 맵에서도 확인되었다. 비환원 RP-HPLC를 통해 IgG2-A/B 이황화물 이소형 유도체에 대한 추가 확인을 실시한다. 종합하면, 이황화 연결 펩티드 A 내지 G 및 펩티드 J의 특성화를 통해 표 13에 요약된 바와 같은, 특정 Cys 잔기 사이의 연결을 규명하였으며, 이는 이황화물 이소형 구조인 IgG2-A/B의 존재를 확인시켜 준다.

표 13

[0257] **펩티드 A 내지 G 및 J에 대한 IgG2-A/B 연결성 확인**

이황화 연결 펩티드	구성 펩티드	식별된 Cys-Cys 결합 (펩티드)	루프 (요소)
A	(H3)/(H12)	Cys <sup>22</sup> (H3) - Cys <sup>96</sup> (H12)	V <sub>H</sub> (Fab)
B	(H15)/(H16)	Cys <sup>149</sup> (H15) - Cys <sup>205</sup> (H16)	C <sub>H1</sub> (Fab)
C	(L2)/(L5)	Cys <sup>22</sup> (L2) - Cys <sup>87</sup> (L5)	V <sub>L</sub> (Fab)
D	(L8)/(L14)	Cys <sup>136</sup> (L8) - Cys <sup>195</sup> (L14)	C <sub>L</sub> (Fab)
E	(H14)/(L15)	Cys <sup>136</sup> (H14) - Cys <sup>213</sup> (L15)	인터 HC-LC
F	(H22)/(H27)	Cys <sup>262</sup> (H22) - Cys <sup>322</sup> (H27)	C <sub>H2</sub> (Fc)
G	(H35)/(H40)	Cys <sup>368</sup> (H35) - Cys <sup>426</sup> (H40)	C <sub>H3</sub> (Fc)
J	(H14)/(H20) (H20)/(L15) (H20)/(H20) (H20)/(H20) (H20)/(H20)	Cys <sup>136</sup> (H14) - Cys <sup>224</sup> (H20) Cys <sup>224</sup> (H20) - Cys <sup>213</sup> (L15) Cys <sup>225</sup> (H20) - Cys <sup>225</sup> (H20) Cys <sup>228</sup> (H20) - Cys <sup>228</sup> (H20) Cys <sup>231</sup> (H20) - Cys <sup>231</sup> (H20)	IgG2-A/B 형태

[0258] 환원 및 비환원 트립신 펩티드 맵핑의 비교는 주요 IgG2-A 구조에 대한 예상된 이황화 연결 펩티드, 뿐만 아니라 추가의 IgG2-A/B 및 IgG2-B 이황화물 구조적 이소형과 관련된 연결성을 갖는 펩티드의 존재를 밝혀냈다. 테제펠루맵에서의 이황화물 이소형의 상대적 수준은 RP-HPLC 기준으로 약 3.4~4.2% IgG2-B, 39.2~42% IgG2-A/B, 및 54.2~57.1% IgG2-A 범위이다. 인간 임상 시험에서의 투여량 및 투여시 속성 수준 추정치를 기반으로, 임상 시험 환자에 대한 속성 노출 수준을 추정하였다. 210 mg Q28D 용량을 기준으로 계산된 최대 15%의 이황화물 이소형 유도체 IgG2-B, 및 210 mg Q28D 용량을 기준으로 계산된 최대 75%의 이황화물 이소형 유도체 IgG2-A/B는 어떠한 생체내 안전성 문제와도 관련이 없었다. CEX-UHPLC를 사용하여 원료의약품에서의 주요 이소형, IgG2-A, IgG2-A/B, 및 IgG2-B를 강화함으로써 이황화물 이소형의 효력을 평가하였다. 결과는 검정 능력 내에서 모든 이소형이 완전한 효력을 나타냄을 입증하였다.

[0259] **실시예 3-속성 및 효력의 레버리지 분석**

[0260] 최소 제공 회귀 모델을 활용한 통계 분석을 수행하여 HMW 중, D49D50에서의 CDR isoAsp, 및 총 CDR 산화 사이의 관계를 평가하였다. 분석은 실시예 1에 기술된 강제 분해 분석으로부터 확인된 이러한 속성을 기반으로 했다.

[0261] 본원에 기술된 세포 기반 리포터 유전자 생물검정을 이용한 효력 측정(도 1a 내지 도 1c), 및 본원에 기술된 수용체-리간드 결합 검정을 이용한 효력 측정(도 1d 내지 도 1f)으로 분석을 수행하였다. 속성 간의 확인된 관계는 두 효력 분석에 대해 유사했다. HMW 중과 총 CDR trp 산화 사이에 통계적으로 유의미한 음의 상관관계가 확인되었다(도 1b 및 도 1c, 및 도 1e 및 도 1f). CDR IsoAsp D49D50과 효력 간의 관계는 통계적 유의성에 도달하지 못했다.

[0262] **실시예 4-고만노스 중 및 약동학(PK) 모델링**

[0263] 테제펠루맵 제거율에 대한 고만노스(HM) % 증가의 잠재적 영향을 추정하기 위해 모델링 접근법을 사용하였다. 모델은 단일 IV 투약 후 참조 IgG2 단일클론 항체의 HM% 감소율을 기준으로 테제펠루맵의 HM 형태에 대해 0.035/일의 증가된 속도 상수 및 24.5일의 반감기(임상 연구에서 테제펠루맵의 IV 투약의 PK 프로파일)를 가정했다. 참조 IgG2 단일클론 항체 HM 형태의 증가된 속도 상수는 현재까지 분석된 가장 높은 값을 가지며, 테제펠

루맵 HM 반감기의 보수적 추정치로 선택되었다. PK 프로파일은 최대 122.5일(5 반감기에 해당)까지 모델링되었으며, 우선적 페어링에 대한 수정은 사용되지 않았다. 아래 표 14에 나타난 바와 같이, HM 수준과 테제펠루맵의 제거율 증가 추정치 사이의 관계를 모델링하였다.

표 14

고만노스 수준 및 제거율에 대한 영향 추정

HM 수준	제거율 증가 추정치
5%	N/A
8%	1.7%
11%	3.3%
13%	4.4%
15%	5.5%
18%	7.2%
21%	9.4%
23.1%	10.0%

[0264]

[0265]

[0266]

[0267]

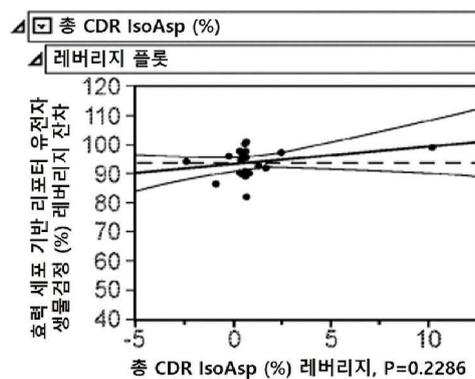
이들 결과는 5% 이하의 HM 중을 갖는 테제펠루맵 조성물은 제거율의 증가가 거의 또는 전혀 나타나지 않았으며, 테제펠루맵 조성물 내 약 23% HM 중은 항체 제거율의 약 10% 증가를 가져왔음을 나타낸다.

본원에 논의되고 인용된 모든 간행물, 특허, 및 특허 출원은 그 전체가 본원에 참조로 포함된다. 개시된 발명은 기술된 특정 방법, 프로토콜, 및 물질이 다양할 수 있으므로 이들에 한정되지 않음이 이해된다. 또한, 본원에서 사용된 용어는 특정 구현예를 설명하기 위한 목적으로만 사용된 것이며 첨부된 청구범위의 범위를 제한하려는 것이 아님이 이해된다.

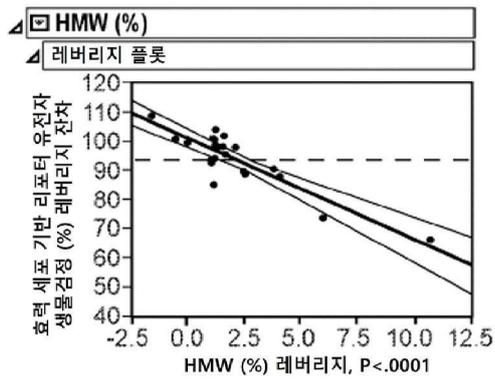
당업자는 본원에 기술된 본 발명의 특정 구현예에 대한 많은 균등물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 이러한 균등물은 하기 청구범위에 포함되는 것으로 의도된다.

도면

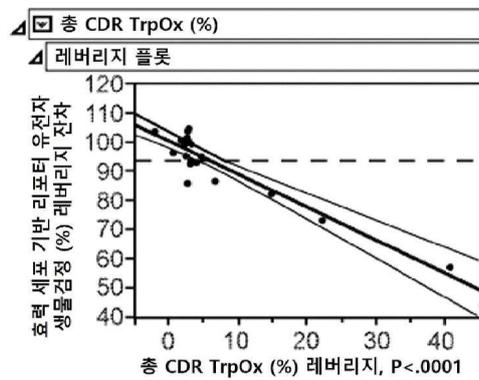
도면 1a



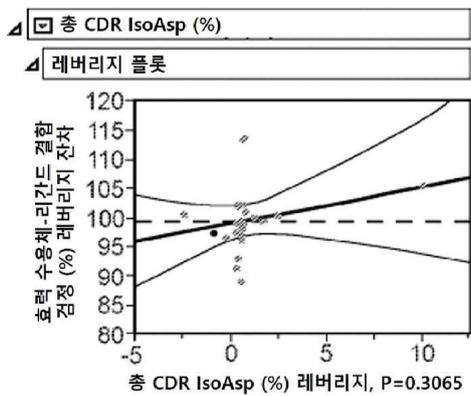
도면1b



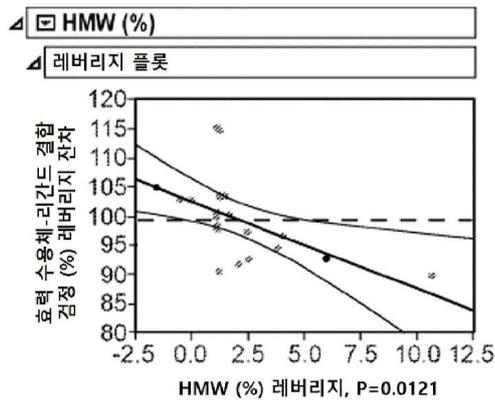
도면1c



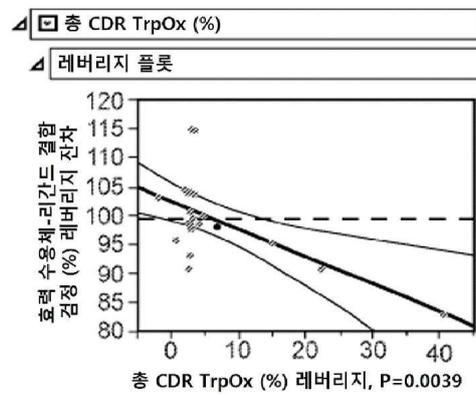
도면1d



도면1e



도면1f



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Amgen Inc.

<120> ANTI-TSLP ANTIBODY COMPOSITIONS AND USES THEREOF

<130> 32053/56674/PC

<150> US 63/178,938

<151> 2021-04-23

<160> 14

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 743

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<220><221> misc\_feature

<223> TSLP

<220><221> CDS

<222> (200)..(676)

<400> 1

```

gcagccagaa agctctggag catcaggag actccaactt aaggcaacag catgggtgaa      60
taagggttc ctgtggactg gcaatgagag gcaaaactg gtgcttgagc actggccct      120

aaggcaggcc ttacagatct cttacactcg tggagggaag agtttagtgt gaaactgggg      180
tggaattggg tgcaccgt atg ttc cct ttt gcc tta cta tat gtt ctg tca      232
                Met Phe Pro Phe Ala Leu Leu Tyr Val Leu Ser
                1             5             10
gtt tct ttc agg aaa atc ttc atc tta caa ctt gta ggg ctg gtg tta      280
Val Ser Phe Arg Lys Ile Phe Ile Leu Gln Leu Val Gly Leu Val Leu
                15             20             25

act tac gac ttc act aac tgt gac ttt gag aag att aaa gca gcc tat      328
Thr Tyr Asp Phe Thr Asn Cys Asp Phe Glu Lys Ile Lys Ala Ala Tyr
                30             35             40
ctc agt act att tct aaa gac ctg att aca tat atg agt ggg acc aaa      376
Leu Ser Thr Ile Ser Lys Asp Leu Ile Thr Tyr Met Ser Gly Thr Lys
                45             50             55
agt acc gag ttc aac aac acc gtc tct tgt agc aat cgg cca cat tgc      424

Ser Thr Glu Phe Asn Asn Thr Val Ser Cys Ser Asn Arg Pro His Cys
60             65             70             75
ctt act gaa atc cag agc cta acc ttc aat ccc acc gcc ggc tgc gcg      472
Leu Thr Glu Ile Gln Ser Leu Thr Phe Asn Pro Thr Ala Gly Cys Ala
                80             85             90
tcg ctc gcc aaa gaa atg ttc gcc atg aaa act aag gct gcc tta gct      520
Ser Leu Ala Lys Glu Met Phe Ala Met Lys Thr Lys Ala Ala Leu Ala

                95             100             105
atc tgg tgc cca ggc tat tcg gaa act cag ata aat gct act cag gca      568
Ile Trp Cys Pro Gly Tyr Ser Glu Thr Gln Ile Asn Ala Thr Gln Ala
                110             115             120
atg aag aag agg aga aaa agg aaa gtc aca acc aat aaa tgt ctg gaa      616

```





<220><221> MISC\_FEATURE

<223> HCDR1

<400> 6

Thr Tyr Gly Met His

1 5

<210> 7

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> HCDR2

<400> 7

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 8

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> HCDR3

<400> 8

Ala Pro Gln Trp Glu Leu Val His Glu Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 9

<211> 366

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<220><221> misc\_feature

<223> Heavy Chain VH

<400> 9

cagatgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tctgtgcag cgictggatt caccttcaga acctatggca tgcactgggt cgccaggct 120  
 ccaggcaagg gactggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaacactat 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc accagagaca attccaagaa cactctgaat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagcccct 300  
 cagtgggagc tagttcaiga agcttttgat atctggggcc aagggacaat ggtcacgctc 360

tcttca 366

<210> 10

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> Heavy Chain VH

<400> 10

Gln Met Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Thr Tyr

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Thr Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asn

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ala Pro Gln Trp Glu Leu Val His Glu Ala Phe Asp Ile Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 11

<211> 325

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<220><221> misc\_feature

<223> Light Chain VL

<400> 11

```

tcctatgtgc tgactcagcc accctcggtg tcagtggccc caggacagac ggccaggatt      60
acctgtgggg gaaacaacct tggaagtaaa agtgtgcact ggtaccagca gaagccaggc      120
caggcccctg tgctggctgt ctatgatgat agcgaccggc cctcatggat ccctgagcga      180
ttctctggct ccaactctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggg cgaagccggg      240

gatgaggccg actattactg tcaggatggt gatagtagta gtgatcatgt ggtatttcgg      300
cggagggacc aagctgaccg tccta                                           325

```

<210> 12

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> Light Chain VL

<400> 12

```

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1           5           10          15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Leu Gly Ser Lys Ser Val
          20           25           30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
          35           40           45
Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
          50           55           60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly
65           70           75           80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
          85           90           95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
          100          105

```

<210> 13

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 13

Gln Met Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1                    5                    10                    15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Thr Tyr

                  20                    25                    30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

                  35                    40                    45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val

                  50                    55                    60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Thr Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asn

65                    70                    75                    80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

                  85                    90                    95

Ala Arg Ala Pro Gln Trp Glu Leu Val His Glu Ala Phe Asp Ile Trp

                  100                    105                    110

Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

                  115                    120                    125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr

                  130                    135                    140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145                    150                    155                    160

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

                  165                    170                    175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

                  180                    185                    190

Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp

                  195                    200                    205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys

210 215 220  
 Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser

225 230 235 240  
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255  
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

260 265 270  
 Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285  
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val

290 295 300  
 Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

305 310 315 320  
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

325 330 335  
 Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

340 345 350  
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

355 360 365  
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

370 375 380  
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp

385 390 395 400  
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

405 410 415  
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430  
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 14

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 14

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln

1                    5                    10                    15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Leu Gly Ser Lys Ser Val

20                    25                    30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

35                    40                    45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Trp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50                    55                    60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Gly Glu Ala Gly

65                    70                    75                    80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His

85                    90                    95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys

100                    105                    110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln

115                    120                    125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly

130                    135                    140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly

145                    150                    155                    160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala

165                    170                    175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser

180                    185                    190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val

195                    200                    205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210