



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

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

(11)



1-0026401

(51)⁷ C12P 21/08; C07K 16/24

(13) B

(21) 1-2012-01210

(22) 29/10/2010

(86) PCT/US2010/054662 29/10/2010

(87) WO/2011/053763 05/05/2011

(30) 61/256,862 30/10/2009 US; 61/310,919 05/03/2010 US

(45) 25/11/2020 392

(43) 25/09/2012 294A

(73) JANSSEN BIOTECH, INC. (US)

800/850 Ridgeview Drive Horsham, PA 19044, US.

(72) NASO, Michael (US); DUCATA, Daniela, Della (US); LUO, Jinquan (US);
OBMOLOVA, Galina (US); WU, Sheng-jiun (US); RUTZ, Mark (US); ELLOSO,
Merle (US); MALIA, Thomas (US); ALMAGRO, Juan, Carlos (US); WU, Bingyuan
(US); TAUDTE, Susann (DE); RAUCHENBERGER, Robert (US); SWEET,
Raymond (US).

(74) Công ty Cổ phần Sở hữu công nghiệp INVESTIP (INVESTIP)

(54) KHÁNG THỂ LIÊN KẾT ĐẶC HIỆU VỚI IL-17A Ở NGƯỜI VÀ DƯỢC PHẨM
CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó liên kết đặc hiệu với
IL-17A ở người và dược phẩm chứa kháng thể này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chất đối vận kháng thể interleukin-17A (IL-17A), polynucleotit mã hóa chất đối vận kháng thể IL-17A hoặc mảnh của nó, và phương pháp tạo ra và sử dụng chúng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Interleukin-17A (IL-17A, CTLA-8, IL-17) là xytokin được tiết ra bởi các tế bào Th17, các tế bào CD8⁺ T, các tế bào $\gamma\delta$ T và các tế bào NK được hoạt hóa trong đáp ứng với các xytokin như IL-23 và TGF- β , và điều chỉnh sự sản sinh các chất trung gian như các peptit kháng vi khuẩn (các defensin), các xytokin và các chemokin tiền viêm từ nhiều loại tế bào như các nguyên bào sợi và các tế bào dịch khớp liên quan đến sinh học bạch cầu trung tính, chứng viêm, sự phá hủy các cơ quan và bảo vệ vật chủ (xem ấn phẩm của Weaver và các đồng tác giả, *Annu. Rev. Immunol.* 25:821-52, 2007; Aggarwal và các đồng tác giả, *J. Biol. Chem.* 278:1910-4, 2003; Mangan và các đồng tác giả, *Nature* 441:231-4, 2006). IL-17A đồng vận với các xytokin khác, như TNF- α và IL-1 β để tăng cường hiệu lực môi trường tiền viêm.

Họ xytokin IL-17A bao gồm sáu thể đồng đẳng được gọi là IL-17A, B, C, D, E và F, mỗi thể có vai trò sinh học khác nhau và riêng biệt (Kawaguchi và các đồng tác giả, *J. Allergy Clin. Immunol.* 114:1265-73, 2004; Kolls và Linden, *Immunity* 21:467-76, 2004; Moseley và các đồng tác giả, *Xytokin Growth Factor Rev.* 14:155-74, 2003). Trong số các thành viên của họ, IL-17F tương đồng với IL-17A và có nhiều đặc tính chức năng giống nhau như cảm ứng với sự tăng bạch cầu trung tính trong phổi và cảm ứng với các xytokin tiền viêm; tuy nhiên, ở người, IL-17F ít hiệu lực hơn khoảng 10 lần so với IL-17A (Moseley và các đồng tác giả, *Xytokin Growth Factor Rev.* 14:155-74, 2003; Kolls và các đồng tác giả, *Immunity*, 21: 467-76, 2004; McAllister và các đồng tác giả, *J. Immunol.* 175:404-12, 2005). IL-17A và IL-17F cũng có thể tạo ra các heterodime, có

hoạt tính sinh học trung gian *in vitro* (Wright và các đồng tác giả, J. Biol. Chem. 282:13447-55, 2007).

IL-17A trung hòa các tác dụng của nó bằng cách tương tác với thụ thể A của Interleukin-17 (IL-17RA) và thụ thể C (IL-17RC) (Moseley và các đồng tác giả, Xytokin Growth Factor Rev. 14:155-74, 2003; Toy và các đồng tác giả, J. Immunol. 177:36-9, 2006). IL-17F truyền tín hiệu thông qua các thụ thể giống nhau, mặc dù ái lực của IL-17F với các thụ thể là tương đối thấp (Kuestner và các đồng tác giả, J. Immunol. 179:5462-73, 2007). Các cấu trúc tinh thể của IL-17F ở người và phức hợp IL-17F/IL-17RA ở người nhận dạng khoang được cho là liên kết thụ thể ở homodime IL-17F (Hymowitz và các đồng tác giả, EMBO J. 20:5332-41, 2001; Ely và các đồng tác giả, Nat. Immunology 10:1245-51, 2009). Khoang tương tự được nhận dạng ở cấu trúc tinh thể của IL-17A ở người cùng với Fab trung hòa, mặc dù khoang này bị chiếm một phần (Gerhardt và các đồng tác giả, J. Mol. Biol. 394:905-21, 2009).

Sự sản sinh IL-17A không thích hợp hoặc quá mức có liên quan đến bệnh học của các bệnh và rối loạn khác nhau, bao gồm bệnh viêm khớp dạng thấp (Lubberts, Xytokin 41:84-91, 2008), tăng nhạy cảm đường dẫn khí bao gồm bệnh dị ứng đường dẫn khí như bệnh hen (xem trong Linden, Curr. Opin. Investig. Drugs. 4:1304-12, 2003; Ivanov, Trends Pharmacol. Sci. 30:95-103, 2009), bệnh vẩy nến (Johansen và các đồng tác giả, Br. J. Dermatol. 160:319-24, 2009), tăng nhạy cảm da bao gồm bệnh viêm da cơ địa (Toda và các đồng tác giả, J. Allergy Clin. Immunol. 111:875-81, 2003), xơ cứng toàn thân (Fujimoto và các đồng tác giả, J. Dermatolog. Sci. 50:240-42, 2008), các bệnh viêm loét đại tràng bao gồm bệnh viêm loét đại tràng và bệnh Crohn (Holtta và các đồng tác giả, Inflamm. Bowel Dis. 14:1175-84, 2008; Zhang và các đồng tác giả, Inflamm. Bowel Dis. 12:382-88, 2006), và các bệnh phổi bao gồm bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (Curtis và các đồng tác giả, Proc. Am. Thorac. Soc. 4:512-21, 2007).

Các kháng thể với IL-17A đã được đề xuất sử dụng để điều trị các bệnh và rối loạn gây ra bởi IL-17A (công bố đơn PCT các số: WO08/021156, WO07/070750, WO07/149032, WO06/054059, WO06/013107, WO08/001063, WO10/034443; đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US2008/095775, US2009/0175881;). Do các nét đặc trưng về được

động học, hiệu quả và an toàn của các liệu pháp kháng thể sẽ phụ thuộc vào các chế phẩm cụ thể, có nhu cầu về các kháng thể được cải thiện cho IL-17A ở người mà thích hợp để sử dụng trong điều trị các bệnh và các rối loạn gây ra bởi IL-17A.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó, trong đó kháng thể này liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người có trình tự được thể hiện trong SEQ ID NO: 105 ở các gốc axit amin 56-68 (SEQ ID NO: 157) và 100-116 (SEQ ID NO: 158); hoặc ở các gốc L26, R55, E57, P59, E60, R61, Y62, S64, V65, W67, R101, E102, P103 và F110.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó, trong đó kháng thể liên kết đặc hiệu với khoang túi P2 trên IL-17A ở người, khoang túi P2 bao gồm các gốc axit amin V22, V24, L26, I28, Y62, L99, R101, F110, và L112 của SEQ ID NO: 105.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người mà cạnh tranh liên kết IL-17A ở người với kháng thể đơn dòng chứa các trình tự axit amin của các vùng bổ trợ xác định (complementarity determining region - CDR) chuỗi nặng nhất định 1, 2 và 3 (HCDR1, HCDR2, HCDR3), các trình tự axit amin của các vùng bổ trợ xác định (complementarity determining region: CDR) chuỗi nhẹ nhất định 1, 2 và 3 (LCDR1, LCDR2, LCDR3), các trình tự axit amin của các vùng biến đổi chuỗi nặng nhất định (heavy chain variable regions: VH) hoặc các trình tự axit amin của các vùng biến đổi chuỗi nhẹ nhất định (light chain variable regions: VL).

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, trong đó kháng thể này chứa các gốc axit amin paratop của vùng biến đổi chuỗi nặng nhất định và các gốc axit amin paratop của vùng biến đổi chuỗi nhẹ nhất định mà tương tác với các gốc nhất định của IL-17A ở người có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 105.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kháng thể được phân lập hoặc mảnh

mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ, trong đó kháng thể này chứa paratop của vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn từ các gốc Chothia F56 và Y58; và paratop của vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn từ các gốc Chothia Y91, F93 và F94.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (VL), trong đó kháng thể này chứa các trình tự axit amin của các vùng bổ trợ xác định (CDR) chuỗi nặng 1, 2 và 3 (HCDR1, HCDR2, HCDR3), các trình tự axit amin của các vùng bổ trợ xác định (CDR) chuỗi nhẹ nhất định 1, 2 và 3 (LCDR1, LCDR2, LCDR3), các trình tự axit amin của các vùng biến đổi chuỗi nặng nhất định (VH) hoặc các trình tự axit amin của các vùng biến đổi chuỗi nhẹ nhất định (VL).

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, trong đó kháng thể này chứa các trình tự axit amin của các chuỗi nặng nhất định và các trình tự axit amin của các chuỗi nhẹ nhất định.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó và chất mang được dụng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kháng thể được phân lập chứa chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin được thể hiện trong các SEQ ID NO: 67, 68, 69, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, hoặc 100.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kháng thể được phân lập chứa chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin được thể hiện trong các SEQ ID NO: 76, 77, 78, 79, 80, 87, 88, 89, 90, hoặc 91.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit được phân lập mà mã hóa chuỗi nặng của kháng thể chứa trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 67, 68, 69, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, hoặc 100.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit được phân lập mà mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể chứa trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 76, 77, 78, 79, 80, 87, 88, 89, 90, hoặc 91.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất vectơ chứa ít nhất một polynucleotit theo sáng chế.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất tế bào chủ chứa vectơ theo sáng chế.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp ức chế tương tác của IL-17A ở người với IL-17RA, trong đó phương pháp này bao gồm các bước: tạo ra IL-17A và IL-17RA ở người; và cho IL-17A ở người tiếp xúc với chất đối vận mà liên kết IL-17A ở người ở ít nhất một gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm V22, V24, L26, I28, Y62, L99, R101, F110, và L112.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp ức chế hoạt tính sinh học IL-17A, trong đó phương pháp này bao gồm các bước: tạo ra IL-17A và IL-17RA ở người; và cho IL-17A ở người tiếp xúc với chất đối vận mà liên kết IL-17A ở người ở ít nhất một gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm V22, V24, L26, I28, Y62, L99, R101, F110, và L112.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị tình trạng viêm bao gồm bước cho bệnh nhân cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu kháng thể được phân lập theo điểm 3 hoặc 7 yêu cầu bảo hộ trong khoảng thời gian đủ để điều trị tình trạng viêm.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1. A-H. Các trình tự CDR của chất đối vận kháng thể IL-17A họ 2, 6a, 6b, 19a, và 19b.

Fig.2. Ví dụ A) các gen dòng mầm IGLV3 và IGLJ; và ví dụ B) các gen dòng mầm IGHV3 và IGHJ làm giàn để ghép các gốc paratop. Trình tự mAb6785 được trình bày trên đây. Các vùng CDR được gạch dưới và các vị trí tiếp xúc lõi ở chuỗi nhẹ mAb6785 (Y31, D49, Y90, F92, F93) và chuỗi nặng (S52, T54, F57, Y59, Q99, L100 và T101) được biểu thị bằng dấu sao “*”. Các vùng khung 4 ở ví dụ B) được gạch dưới hai gạch. Các trình tự được thể hiện bằng các alen *01 trừ khi có quy định cụ thể khác đi.

Fig.3. Đánh số Kabat và Chotia để lựa chọn chuỗi A) nhẹ và chuỗi B) nặng kháng thể. Các vị trí của CDR Kabat và HV Chothia được đánh dấu màu xám.

Fig.4. Các thử nghiệm liên kết cạnh tranh của A) và B) mAb1926; C) mAb317; D) mAb3171; E) và F) mAb7357 được đánh dấu với IL-17A ở định dạng ELISA.

Fig.5. A) biểu đồ trao đổi H/D của IL-17A được tạo phức hợp với các mAb kháng IL-17A khác. Việc đánh số các khối bảo vệ trên đây tương ứng với việc đánh số các trình tự IL-17A trưởng thành (SEQ ID NO: 105).

Fig.6. A) Cấu trúc phân tử tổng thể của phức hợp IL-17A/ Fab6468. Dimer của IL-17A được thể hiện bằng màu xám đậm và xám nhạt. Hai phân tử Fab tương ứng được thể hiện bằng màu xám đậm và xám nhạt; B) So sánh monome của IL-17A (xám nhạt) và IL-17F (xám đậm); C) Dimer của IL-17A (xám nhạt và xám đậm); D) Dimer của IL-17F (xám nhạt và xám đậm).

Fig.7. Hai vị trí liên kết và epitop lõi trên IL-17A đối với Fab6468. Các protome 1 và 2 tương ứng có màu xám đậm và xám nhạt. Epitop lõi được biểu thị bằng hình ovan màu đen. Đường nét đứt thể hiện các gốc rời loạn.

Fig.8. So sánh các túi liên kết thụ thể giả định IL-17A và IL-17F. A) các hình chiếu trước và sau của các túi P1 và P2 của IL-17A. Môtip FF của chuỗi nhẹ mAb6468 CDR3 được thể hiện trong túi P2. B) IL-17F với môtip FF đầu cuối N ở túi P2. C) Sự điều chỉnh trình tự của IL-17A và IL-17F và sự bảo toàn các túi P1 và P2.

Fig.9. Liên kết đặc hiệu của mAb1926 với các loài khác của protein IL-17A ở dạng thức ELISA.

Mô tả chi tiết sáng chế

Tất cả các công bố, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở sáng chế và đơn xin cấp sáng chế, được trích dẫn trong bản mô tả này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Cần hiểu rằng thuật ngữ được sử dụng ở đây chỉ với mục đích mô tả các phương án cụ thể và không có mục đích giới hạn. Trừ khi được định nghĩa khác đi, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng ở đây có nghĩa giống như thường được hiểu bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế.

Mặc dù các phương pháp và chất liệu bất kỳ giống hoặc tương đương với các phương pháp và chất liệu được mô tả ở đây có thể được sử dụng trong thực hành thử nghiệm sáng chế, các chất liệu và phương pháp làm ví dụ được mô tả ở đây. Trong bản mô tả và yêu cầu bảo hộ của sáng chế, các thuật ngữ sau đây sẽ được sử dụng.

Thuật ngữ "chất đối vận" như được sử dụng ở đây nghĩa là phân tử ức chế một phần hoặc toàn bộ, theo cơ chế bất kỳ, hoạt tính IL-17A. Các chất đối vận làm ví dụ là các kháng thể, các protein dung hợp, các peptit, các peptidomimetic, các axit nucleic, các oligonucleotit và các phân tử nhỏ. Chất này có thể được nhận dạng bằng cách sử dụng các thử nghiệm đã biết đối với hoạt tính IL-17A được mô tả dưới đây.

Thuật ngữ "chất đối vận kháng thể IL-17A" hoặc "kháng thể phản ứng với IL-17A" như được sử dụng ở đây nghĩa là kháng thể mà có khả năng, trực tiếp hoặc gián tiếp, làm giảm hoặc ức chế hoạt tính sinh học IL-17A, phong bế liên kết của IL-17A với thụ thể của nó, hoặc ức chế sự hoạt hóa thụ thể IL-17A. Ví dụ, kháng thể phản ứng với IL-17A có thể liên kết trực tiếp với IL-17A và trung hòa hoạt tính IL-17A, nghĩa là, phong bế việc truyền tín hiệu IL-17A để làm giảm sự giải phóng xytokin và chemokin.

Thuật ngữ "IL-17A" (CTLA-8, IL-17, interleukin-17A) nghĩa là polypeptit IL-17A ở người có trình tự axit amin được thể hiện trong GenBank Acc. số NP_002181. SEQ ID NO: 105 thể hiện trình tự axit amin của IL-17A ở người trưởng thành. IL-17A trong cơ thể sống tạo ra các homodime gồm hai monome, được gọi là monome A và monome B, hoặc protome A và protome B, hoặc protome 1 và protome 2, hoặc chuỗi A và chuỗi B. IL-17A cũng có thể tạo ra heterodime có IL-17F. Thuật ngữ "IL-17A" bao gồm các dạng monome, homodime, và heterodime. Thuật ngữ "IL-17Amut6" nghĩa là biến thể của IL-17A có các phép thế A70Q và A132Q. Trình tự axit amin của IL-17Amut6 trưởng thành được thể hiện trong SEQ ID NO: 106, và trình tự cADN trong SEQ ID NO: 112. IL-17A và IL-17Amut6 có hoạt tính có thể so sánh được (công bố đơn PCT số WO09/003096).

Thuật ngữ "thụ thể IL-17A" như được sử dụng ở đây bao gồm cả hai thụ thể polypeptit, IL-17RA (GenBank Acc số NP_055154, SEQ ID NO: 107) và IL-17RC

(GenBank Acc số NP_703191, SEQ ID NO: 113), và các homodime hoặc các heterodime của hai polypeptit.

Thuật ngữ “các kháng thể” như được sử dụng ở đây có nghĩa rộng và bao gồm các phân tử globulin miễn dịch bao gồm các kháng thể đa dòng, các kháng thể đơn dòng bao gồm các kháng thể đơn dòng ở chuột, ở người, được làm cho thích ứng với người, nhân hóa và thể khảm, các mảnh kháng thể, các kháng thể đa đặc hiệu được tạo ra từ ít nhất hai kháng thể nguyên vẹn, các kháng thể dimeric, tetrameric hoặc multimeric.

Thuật ngữ “kháng thể đơn dòng” (monoclonal antibody - mAb) như được sử dụng ở đây nghĩa là kháng thể (hoặc mảnh kháng thể) thu được từ quần thể các kháng thể gần như tương đồng. Các kháng thể đơn dòng có tính đặc hiệu cao, thường được dẫn ngược với epitop riêng lẻ. Từ bỏ nghĩa “đơn dòng” dùng để chỉ đặc tính gần như tương đồng của kháng thể này và không yêu cầu sự sản sinh kháng thể này bằng phương pháp cụ thể bất kỳ.

Các globulin miễn dịch có thể được phân thành năm nhóm chính, đó là IgA, IgD, IgE, IgG và IgM, phụ thuộc vào trình tự axit amin miền ổn định chuỗi nặng. IgA và IgG được phân tiếp thành các lớp kháng thể IgA₁, IgA₂, IgG₁, IgG₂, IgG₃ và IgG₄. Các chuỗi nhẹ kháng thể của các loài có xương sống bất kỳ có thể được phân thành một trong hai loại phân biệt rõ ràng, đó là kappa (κ) và lambda (λ), dựa trên các trình tự axit amin của các miền ổn định của chúng.

Thuật ngữ “các mảnh kháng thể” bao gồm ít nhất phần của phân tử globulin miễn dịch, như vùng bổ trợ xác định chuỗi nặng (HCDR), vùng bổ trợ xác định chuỗi nhẹ (LCDR), vùng biến đổi chuỗi nặng (VH), vùng biến đổi chuỗi nhẹ (VL), vùng ổn định chuỗi nặng (CH), vùng ổn định chuỗi nhẹ (CL), hoặc vùng khung (FR) từ chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ kháng thể. Kháng thể có thể là Fab, F(ab'), F(ab')₂, scFv, dsFv, hoặc diabody. Các cấu trúc của các mảnh kháng thể nói trên, và các kỹ thuật điều chế và sử dụng các kháng thể và các mảnh của nó đã được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Vùng biến đổi kháng thể bao gồm vùng “khung” bị gián đoạn bởi ba “vị trí liên kết kháng nguyên”. Các vị trí liên kết kháng nguyên được định nghĩa bằng cách sử dụng các thuật ngữ khác nhau: (i) Các vùng bổ trợ xác định (CDR), ba vị trí trong VH

(HCDR1, HCDR2, HCDR3), và ba vị trí trong VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3), được dựa trên sự biến đổi trình tự (Wu và Kabat, J. Exp. Med. 132:211-250, 1970; Kabat và các đồng tác giả, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991). (ii) “Các vùng siêu biến đổi”, “HVR”, hoặc “HV”, ba vị trí trong VH (H1, H2, H3) và ba vị trí trong VL (L1, L2, L3), nghĩa là các vùng của các miền biến đổi kháng thể mà siêu biến đổi về cấu trúc như được định nghĩa bởi Chothia và Lesk (Chothia và Lesk, Mol. Biol. 196:901-917, 1987). Các thuật ngữ khác bao gồm “IMGT-CDRs” (Lefranc và các đồng tác giả, Dev. Comparat. Immunol. 27:55-77, 2003) và “Specificity Determining Gốc Usage” (SDRU) (Almagro, Mol. Recognit. 17:132-143, 2004). Cơ sở dữ liệu International ImMunoGeneTics (IMGT) (http://www_imgt_org) đưa ra danh mục được tiêu chuẩn hóa và định nghĩa về vị trí liên kết kháng nguyên. Sự tương ứng giữa các CDR, HV và mô tả IMGT được mô tả trong Lefranc và các đồng tác giả, Dev. Comparat. Immunol. 27:55-77, 2003.

“Các gốc Chothia” như được sử dụng ở đây là các gốc VL và VH kháng thể được đánh số theo Al-Lazikani (Al-Lazikani và các đồng tác giả, J. Mol. Biol. 273:927-48, 1997). Sự tương ứng giữa hai hệ thống đánh số được sử dụng phổ biến nhất, Kabat (Kabat và các đồng tác giả, Sequences of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, NIH, Bethesda, MD, 1991) và Chothia (Chothia và Lesk, Mol. Biol. 196:901-17, 1987) liên quan đến việc đánh số thứ tự polypeptit được thể hiện trong Fig.3 đối với các kháng thể làm ví dụ theo sáng chế.

“Khung” hoặc “các trình tự khung” là các trình tự còn lại của vùng biến đổi khác với trình tự được xác định là vị trí liên kết kháng nguyên. Do vị trí liên kết kháng nguyên có thể được định nghĩa bằng các thuật ngữ khác nhau như được mô tả trên đây, trình tự axit amin chính xác của khung phụ thuộc vào việc vị trí liên kết kháng nguyên được định nghĩa thế nào.

Thuật ngữ “gần như tương đồng” như được sử dụng ở đây nghĩa là hai trình tự axit amin kháng thể hoặc mảnh kháng thể được so sánh là tương đồng hoặc có “khác biệt không đáng kể”. Khác biệt không đáng kể là phép thế 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12,

13, 14, hoặc 15 axit amin trong trình tự axit amin kháng thể hoặc mảnh kháng thể mà không gây ảnh hưởng bất lợi lên các đặc tính của kháng thể. Các trình tự axit amin gần như tương đồng với các trình tự được bộc lộ ở đây cũng là một phần của đơn sáng chế này. Theo một số phương án, độ tương đồng trình tự có thể là khoảng 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc cao hơn. Phần trăm tương đồng có thể được xác định, ví dụ, bằng cách liên kết theo cặp bằng cách sử dụng các thiết lập mặc định của mô-đun AlignX của Vector NTI v.9.0.0 (Invitrogen, Carlsbad, CA). Các trình tự protein của sáng chế có thể được sử dụng làm trình tự truy vấn để thực hiện tra cứu trên cơ sở dữ liệu công cộng hoặc patent để, ví dụ, nhận dạng các trình tự có liên quan. Các chương trình làm ví dụ được sử dụng để thực hiện các tra cứu này là các chương trình XBLAST hoặc BLASTP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), hoặc bộ GenomeQuest™ (GenomeQuest, Westborough, MA) bằng cách sử dụng các thiết lập mặc định.

Thuật ngữ “kết hợp với” như được sử dụng ở đây nghĩa là các chất được mô tả có thể được cho động vật dùng kết hợp trong một hỗn hợp, đồng thời như các chất đơn lẻ hoặc liên tục dưới dạng chất đơn lẻ theo thứ tự bất kỳ.

Thuật ngữ “tình trạng viêm” như được sử dụng ở đây nghĩa là tương tác cục bộ hoặc toàn thân mạn tính hoặc cấp tính với kích thích có hại, như mầm bệnh, các tế bào bị phá hủy, tổn thương hoặc các kích thích về thể chất, mà bị gây ra một phần bởi hoạt tính của các xytokin, các chemokin, hoặc các tế bào viêm (nghĩa là, bạch cầu trung tính, bạch cầu đơn nhân, tế bào lympho, đại thực bào) và được đặc trưng trong hầu hết các trường hợp bởi chứng đau, tấy đỏ, sưng tấy, và suy giảm chức năng mô.

Thuật ngữ “tình trạng viêm gây ra bởi IL-17A” như được sử dụng ở đây nghĩa là tình trạng viêm do ít nhất một phần từ hoạt tính sinh học IL-17A, hoặc gây ra do hoạt tính IL-17A. Các tình trạng viêm gây ra bởi IL-17A làm ví dụ là bệnh vẩy nến và viêm khớp dạng thấp.

Thuật ngữ “tình trạng gây ra bởi IL-17A” như được sử dụng ở đây bao gồm tất cả các bệnh và tình trạng y khoa trong đó IL-17A đóng vai trò, dù trực tiếp hoặc gián tiếp, trong bệnh hoặc tình trạng y khoa này, bao gồm nguyên nhân, sự xuất hiện, tiến triển, tồn tại dai dẳng hoặc bệnh lý của bệnh hoặc tình trạng này.

Thuật ngữ "epitop" như được sử dụng ở đây nghĩa là phần kháng nguyên mà kháng thể liên kết đặc hiệu với nó. Các epitop thường bao gồm các nhóm bề mặt hoạt động hóa học (như có cực, không cực hoặc kỵ nước) của các gốc như các axit amin hoặc các chuỗi cạnh polysaccarit và có thể có các đặc điểm cấu trúc ba chiều cụ thể, cũng như các đặc điểm nạp cụ thể. Epitop có thể bao gồm một trong hai hoặc cả hai axit amin kề nhau hoặc không kề nhau mà tạo ra đơn vị không gian hình dạng. Đối với epitop không kề nhau, các axit amin từ các phần khác nhau của trình tự tuyến tính của kháng nguyên tiến đến trạng thái gần kề trong không gian ba chiều thông qua việc gấp của phân tử protein.

Thuật ngữ "paratop" như được sử dụng ở đây nghĩa là phần kháng thể mà kháng nguyên liên kết đặc hiệu với nó. Paratop có thể thẳng về bản chất hoặc có thể không liên tục, được tạo ra bằng quan hệ không gian giữa các axit amin không kề nhau của kháng thể hơn là các chuỗi thẳng của các axit amin. "Paratop chuỗi nhẹ" và "paratop chuỗi nặng" hoặc "các gốc axit amin paratop chuỗi nhẹ" và "các gốc axit amin paratop chuỗi nặng" nghĩa là các gốc chuỗi nhẹ và chuỗi nặng kháng thể tương ứng tiếp xúc với kháng nguyên.

Thuật ngữ "liên kết đặc hiệu" như được sử dụng ở đây nghĩa là kháng thể liên kết với kháng nguyên định trước với ái lực lớn hơn so với các kháng nguyên hoặc protein khác. Thông thường, kháng thể này liên kết với hằng số phân ly (K_D) là 10^{-7} M hoặc nhỏ hơn, và liên kết với kháng nguyên định trước với K_D nhỏ hơn ít nhất mười lần so với K_D của nó để liên kết với kháng nguyên không đặc hiệu (ví dụ, BSA, casein, hoặc polypeptit đặc hiệu bất kỳ khác) ngoài kháng nguyên định trước. Các cụm từ "kháng thể nhận dạng kháng nguyên" và "kháng thể đặc hiệu đối với kháng nguyên" ở đây có thể sử dụng thay thế bằng thuật ngữ "kháng thể liên kết đặc hiệu với kháng nguyên" hoặc "kháng thể đặc hiệu kháng nguyên", ví dụ, kháng thể đặc hiệu IL-17A. Hằng số phân ly có thể được đo bằng cách sử dụng các quy trình chuẩn.

Thuật ngữ "hoạt tính sinh học IL-17A" hoặc "sự hoạt hóa IL-17A" như được sử dụng ở đây nghĩa là hoạt tính bất kỳ diễn ra do IL-17A liên kết với thụ thể IL-17A. Các hoạt tính sinh học IL-17A làm ví dụ mang lại sự tiết gia tăng của hoạt tính IL-6 hoặc IL-

8, NF- κ B, hoặc sự điều chỉnh các kinaza xuôi dòng như ERK1, ERK2 và p38 khi liên kết với thụ thể IL-17A. Sự giải phóng các xytokin và các chemokin từ các tế bào, mô hoặc trong tuần hoàn, sự hoạt hóa NF- κ B, hoặc các trường hợp phosphoryl hóa kinaza có thể được đo bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết, ví dụ thử nghiệm miễn dịch, miễn dịch thấm, hoặc các hệ gen chỉ thị (Yao và các đồng tác giả, *Immunity* 3:811-21, 1995; Awane và các đồng tác giả, *J. Immunol.* 162:5337-44, 1999).

Thuật ngữ “vector” nghĩa là polynucleotit có khả năng được nhân đôi trong hệ thống sinh học hoặc có thể được di chuyển giữa các hệ thống này. Các vector polynucleotit thường chứa các thành phần, như các gốc sao chép, tín hiệu polyadenylat hóa hoặc chất chỉ thị lựa chọn, mà chức năng để tạo điều kiện nhân đôi hoặc duy trì các polynucleotit này trong hệ sinh học. Ví dụ về các hệ sinh học này có thể bao gồm tế bào, virus, động vật, thực vật, và các hệ sinh học tái lập lại sử dụng các thành phần sinh học có khả năng nhân đôi vector. Polynucleotit bao gồm vector có thể là các phân tử ADN hoặc ARN hoặc thể lai của các phân tử này.

Thuật ngữ “vector biểu hiện” nghĩa là vector có thể được sử dụng trong hệ sinh học hoặc trong hệ sinh học tái lập lại để hướng sự dịch mã của polypeptit được mã hóa bằng trình tự polynucleotit có mặt ở vector biểu hiện.

Thuật ngữ “polynucleotit” nghĩa là phân tử bao gồm chuỗi nucleotit được liên kết cộng hóa trị bằng trực chính đường-phosphat hoặc hóa chất cộng hóa trị tương đương khác. Các ADN và ARN sợi đôi và sợi đơn là các ví dụ điển hình của các polynucleotit.

Thuật ngữ “polypeptit” hoặc “protein” nghĩa là phân tử bao gồm ít nhất hai gốc axit amin được liên kết bằng liên kết peptit để tạo ra polypeptit. Các polypeptit nhỏ với ít hơn 50 axit amin có thể được gọi là “các peptit”.

Các ký hiệu axit amin một ký tự và ba ký tự thông thường được sử dụng ở đây như sau:

<u>Axit amin</u>	<u>Ký hiệu ba ký tự</u>	<u>Ký hiệu một ký tự</u>
Alanin	ala	A
Arginin	arg	R

Asparagin	asn	N
Aspartat	asp	D
Xystein	cys	C
Glutamat	glu	E
Glutamin	gln	Q
Glysin	gly	G
Histidin	his	H
Isoleuxin	ile	I
Leuxin	leu	L
Lysin	lys	K
Metionin	met	M
Phenylalanin	phe	F
Prolin	pro	P
Serin	ser	S
Threonin	thr	T
Tryptophan	trp	W
Tyrosin	tyr	Y
Valin	val	V

Chế phẩm

Sáng chế đề cập đến các chất đối vận kháng thể IL-17A có khả năng ức chế hoạt tính sinh học IL-17A và việc sử dụng các kháng thể này. Các cơ chế làm ví dụ mà nhờ đó sự hoạt hóa IL-17A có thể được ức chế bằng các kháng thể này bao gồm sự ức chế homodime hóa hoặc heterodime hóa IL-17A trong ống nghiệm, trong cơ thể sống hoặc tại chỗ, và chặn liên kết của IL-17A với thụ thể IL-17A, ức chế dime hóa thụ thể, ức chế hoạt tính kinaza của các đường truyền tín hiệu xuôi dòng, hoặc ức chế sự phiên mã

mARN IL-17A. Các chất đối vận kháng thể khác có khả năng ức chế sự hoạt hóa IL-17A bằng các cơ chế khác cũng nằm trong phạm vi của các khía cạnh và phương án khác nhau theo sáng chế. Các chất đối vận kháng thể này cũng hữu ích làm thuốc thử dùng trong nghiên cứu, thuốc thử dùng trong chẩn đoán và các thuốc trị bệnh.

Sáng chế đề cập đến các vị trí liên kết kháng nguyên mới được dẫn xuất từ các thư viện gen globulin miễn dịch ở người. Cấu trúc để mang vị trí liên kết kháng nguyên thông thường là chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ kháng thể hoặc mảnh của nó.

Sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (VL), trong đó kháng thể này bao gồm các trình tự axit amin vùng bổ trợ xác định chuỗi nặng (CDR) 1, 2 và 3 (HCDR1, HCDR2 và HCDR3) và các trình tự axit amin vùng bổ trợ xác định chuỗi nhẹ (CDR) 1, 2 và 3 (LCDR1, LCDR2 và LCDR3) như được thể hiện trong Bảng 1a.

Bảng 1a.

Họ	MORmAb#	mAb#	SEQ ID NO:					
			LCDR1	LCDR2	LCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
2	7702		1	4	7	23	26	52
	7701		1	4	7	23	27	52
	7708	624	1	4	7	23	28	52
	8297		1	4	7	23	29	52
	8298		1	4	7	23	30	52
	7785	3307	1	4	7	23	31	52
	8104	7024	1	4	7	23	32	52
	8105		1	4	7	23	33	52
	7786		1	4	7	23	34	52
	Trình tự liên ứng		1	4	7	23	35	52
6a	Dòng vô tính 10		2	5	8	24	36	53
	Dòng vô tính 11		2	5	9	24	36	53
	Dòng vô tính		2	5	10	24	36	53

	12							
	Trình tự liên ứng		2	5	11	24	36	53
6b	Dòng vô tính 13		2	5	12	24	36	53
	7706	4538	2	5	13	24	36	53
	8299	3584	2	5	13	24	36	54
	8300		2	5	13	24	36	55
	8301		2	5	13	24	36	56
	Dòng vô tính 15		2	5	14	24	36	53
	Dòng vô tính 16		2	5	15	24	36	53
	7775	732	2	5	16	24	36	53
	8101		2	5	16	24	36	54
	8102		2	5	16	24	36	55
	8103	4168	2	5	16	24	36	56
	Trình tự liên ứng		2	5	17	24	36	57
Họ	MORmAb#	mAb#	SEQ ID NO:					
			LCDR1	LCDR2	LCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
19a	Dòng vô tính 179		3	6	18	25	37	58
	Dòng vô tính 180		3	6	18	25	38	58
	7709		3	6	18	25	39	58
	Dòng vô tính 182		3	6	18	25	40	58
	7700	1926	3	6	18	25	41	58
	8095		3	6	18	25	42	58
	8096		3	6	18	25	43	58
	8097		3	6	18	25	41	59
	8098		3	6	18	25	41	60
	8141		3	6	19	25	41	58
	8142		3	6	20	25	41	58
	8143		3	6	21	25	41	58

	8160	7146	3	6	19	25	41	60
	8161		3	6	20	25	41	60
	8162		3	6	21	25	41	60
	8302	6785	3	6	18	25	43	60
	8303		3	6	20	25	43	60
		5548	3	6	19	25	43	60
	7768		3	6	18	25	44	58
	Dòng vô tính 185		3	6	18	25	45	58
	Trình tự liên ứng		3	6	22	25	46	61
19b	Dòng vô tính 186		3	6	18	25	47	58
	Dòng vô tính 187		3	6	18	25	48	58
	Dòng vô tính 188		3	6	18	25	49	58
	Dòng vô tính 189		3	6	18	25	50	58
	Trình tự liên ứng		3	6	18	25	51	58

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, bao gồm VH và VL, trong đó kháng thể này bao gồm các trình tự axit amin HCDR1, HCDR2 và HCDR3 như được thể hiện trong các SEQ ID NO: 23, 35 và 52, trong đó HCDR2 có SEQ ID NO: 35 được xác định tiếp như được thể hiện trong Công thức (I):

$$\text{Xaa}_1\text{-I-I-P-W-F-G-Xaa}_2\text{-T-Xaa}_3\text{-Y-A-Q-K-F-Q-G},$$

(I)

trong đó

Xaa₁ có thể là His, Met, Arg, Ser hoặc Tyr;

Xaa₂ có thể là Trp, Thr hoặc Tyr; và

Xaa₃ có thể là Tyr, Phe, Ser hoặc Asp.

Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, bao gồm VH và VL, trong đó kháng thể này bao gồm các trình tự axit amin LCDR1, LCDR2 và LCDR3 như được thể hiện trong các SEQ ID NO: 2, 5 và 11, trong đó LCDR3 của SEQ ID NO: 11 được xác định tiếp như được thể hiện trong Công thức (II):

$$\text{Xaa}_4\text{-Q-Xaa}_5\text{-Xaa}_6\text{-Xaa}_7\text{-Xaa}_8\text{-Xaa}_9\text{-Xaa}_{10},$$

(II)

trong đó

Xaa₄ có thể là His hoặc Gln;

Xaa₅ có thể là Phe hoặc Gly;

Xaa₆ có thể là Thr, Val hoặc Asn;

Xaa₇ có thể là Ile, Thr hoặc Tyr;

Xaa₈ có thể là Pro hoặc Arg;

Xaa₉ có thể là Ser hoặc Pro; và

Xaa₁₀ có thể là His, Phe hoặc Leu.

Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với liên kết IL-17A ở người, bao gồm VH và VL, trong đó kháng thể này bao gồm các trình tự axit amin LCDR1, LCDR2, và LCDR3 như được thể hiện trong các SEQ ID NO: 2, 5 và 17, trong đó LCDR3 có SEQ ID NO: 17 được xác định tiếp như được thể hiện trong Công thức (III):

$$\text{Xaa}_{11}\text{-Q-Xaa}_{12}\text{-Xaa}_{13}\text{-Xaa}_{14}\text{-Xaa}_{15}\text{-Xaa}_{16}\text{-Xaa}_{17}\text{-Xaa}_{18}\text{-T},$$

(III)

trong đó

Xaa₁₁ có thể là Gln hoặc Thr;

Xaa₁₂ có thể là Ser hoặc Tyr;

Xaa₁₃ có thể là Asn, Arg, Val hoặc Tyr;

Xaa₁₄ có thể là His hoặc Ser;

Xaa₁₅ có thể là Ile, Thr, Leu, Ala hoặc Ser;

Xaa₁₆ có thể là Pro, Leu hoặc Ser;

Xaa₁₇ có thể là Pro, Ser, Phe hoặc Leu; và

Xaa₁₈ có thể là Ala, Leu hoặc Asp.

Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, bao gồm VH và VL, trong đó kháng thể này bao gồm các trình tự axit amin HCDR1, HCDR2 và HCDR3 như được thể hiện trong các SEQ ID NO: 24, 36 và 57, trong đó HCDR3 có SEQ ID NO: 57 được xác định tiếp như được thể hiện trong Công thức (IV):

E-V-D-S-Xaa₁₉-Y-Y-S-Y-F-D-I,

(IV)

trong đó

Xaa₁₉ là Met, Ile, Leu hoặc Thr.

Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, bao gồm VH và VL, trong đó kháng thể này bao gồm các trình tự axit amin LCDR1, LCDR2 và LCDR3 như được thể hiện trong các SEQ ID NO: 3, 6 và 22, trong đó LCDR3 có SEQ ID NO: 22 được xác định tiếp như được thể hiện trong Công thức (V):

G-S-Y-D-F-F-L-G-Xaa₂₀-I-V,

(V)

trong đó

Xaa₂₀ là Met, Leu, Thr hoặc Tyr.

Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, bao gồm VH và VL, trong đó kháng thể này bao gồm các trình tự axit amin HCDR1, HCDR2 và HCDR3 như được thể hiện trong

các SEQ ID NO: 25, 46 và 61, trong đó HCDR2 có SEQ ID NO: 46 được xác định tiếp như được thể hiện trong Công thức (VI):

$$\text{Xaa}_{21}\text{-I-Xaa}_{22}\text{-Xaa}_{23}\text{-Xaa}_{24}\text{-Xaa}_{25}\text{-Xaa}_{26}\text{-Xaa}_{27}\text{-Xaa}_{28}\text{-Xaa}_{29}\text{-Y-A-D-S-V-K-G},$$

(VI)

trong đó

Xaa₂₁ có thể là Ala, Gly, Thr hoặc Val;

Xaa₂₂ có thể là Asn hoặc Ser;

Xaa₂₃ có thể là Gly, Met, Lys, Ile, Leu hoặc His;

Xaa₂₄ có thể là Leu, Asp, Ala, His, Thr, Gly hoặc Ser;

Xaa₂₅ có thể là Gly hoặc Ser;

Xaa₂₆ có thể là Thr, Gly, Tyr hoặc Asp;

Xaa₂₇ có thể là His, Trp, Tyr hoặc Phe;

Xaa₂₈ có thể là Lys, Thr hoặc Ile; và

Xaa₂₉ có thể là Tyr, Phe hoặc Asn, và

HCDR3 có SEQ ID NO: 61 được xác định như được thể hiện trong Công thức (VII):

$$\text{Q-L-Xaa}_{30}\text{-L-D-V},$$

(VII)

trong đó

Xaa₃₀ có thể là Met, Leu hoặc Thr.

Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, bao gồm VH và VL, trong đó kháng thể này bao gồm các trình tự axit amin HCDR1, HCDR2 và HCDR3 như được thể hiện trong các SEQ ID NO: 25, 51 và 58, trong đó HCDR2 có SEQ ID NO: 51 được xác định tiếp như được thể hiện trong Công thức (VIII):

$$\text{V-T-S-Xaa}_{31}\text{-Xaa}_{32}\text{-Xaa}_{33}\text{-Xaa}_{34}\text{-T-Y-Y-A-Xaa}_{35}\text{-S-V-K-G},$$

(VIII)

trong đó

Xaa₃₁ có thể là Ala, Lys, Met hoặc His;

Xaa₃₂ có thể là Asn, Met, Thr hoặc Arg;

Xaa₃₃ có thể là Gly hoặc Asp;

Xaa₃₄ có thể là Arg, His hoặc Asn; và

Xaa₃₅ có thể là Asp hoặc Gly.

Các kháng thể mà các trình tự axit amin vị trí liên kết kháng nguyên của chúng gần như tương đồng với các trình tự được thể hiện trong Bảng 1a (các SEQ ID NO: 1-61) là được bao gồm trong phạm vi của sáng chế. Thông thường, điều này liên quan đến một hoặc một vài phép thế axit amin với axit amin có đặc trưng nạp hoặc kỵ nước hoặc hóa học lập thể tương tự, và được tạo ra để cải thiện các đặc tính kháng thể, ví dụ tính ổn định hoặc ái lực. Ví dụ, phép thế bảo toàn có thể liên quan đến phép thế gốc axit amin tự nhiên bằng gốc không tự nhiên sao cho có ít hoặc không có tác động lên sự phân cực hoặc nạp gốc axit amin ở vị trí đó. Ngoài ra, gốc tự nhiên bất kỳ trong polypeptit cũng có thể được thế bằng alanin, như đã được mô tả trước đó đối với sự gây đột biến quét alanin (MacLennan và các đồng tác giả, *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 643:55-67, 1998; Sasaki và các đồng tác giả, *Adv. Biophys.* 35:1-24, 1998). Các phép thế bảo toàn sẽ tạo ra các phân tử có các đặc tính chức năng và hóa học tương tự với các đặc tính của phân tử mà từ đó các sự cải biến như vậy được tạo ra. Các phép thế không bảo toàn trong các đặc tính chức năng và/hoặc hóa học của các phân tử có thể được thực hiện bằng cách lựa chọn các phép thế trong trình tự axit amin mà khác đáng kể về tác động của chúng trong việc duy trì (1) cấu trúc của trục chính phân tử trong vùng thể, ví dụ, dưới dạng tấm hoặc hình xoắn ốc, (2) việc nạp hoặc tính kỵ nước của phân tử ở vị trí đích, hoặc (3) kích cỡ của phân tử. Các phép thế axit amin được mong muốn (dù bảo toàn hoặc không bảo toàn) có thể được xác định bởi các chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này tại thời điểm các phép thế này được mong muốn. Ví dụ, các phép thế axit amin có thể được sử dụng để nhận dạng các gốc quan trọng đối với chức năng của các kháng thể, như các gốc ảnh hưởng đến ái lực,

hoặc các gốc mà truyền các đặc tính không mong muốn như kết tụ. Các phép thế axit amin làm ví dụ được thể hiện ở Bảng 1b, và Fig.1.

Các phép thế ở các vùng khung, ngược với các vị trí liên kết kháng nguyên cũng có thể được tạo ra miễn là chúng không ảnh hưởng xấu đến đặc tính của kháng thể này. Các phép thế khung có thể được tạo ra, ví dụ, ở các gốc vùng Vernier (Patent Mỹ số 6,649,055) để cải thiện ái lực hoặc tính ổn định kháng thể. Các phép thế cũng có thể được tạo ra ở các vị trí khung này ở kháng thể mà khác về trình tự so với các trình tự gen dòng mầm tương đồng ở người để làm giảm khả năng sinh miễn dịch có thể có. Các sự cải biến này có thể được thực hiện, ví dụ, cho các kháng thể được dẫn xuất từ các thư viện kháng thể *mới*, như các thư viện pIX.

Bảng 1b.

Gốc ban đầu	Phép thế làm ví dụ	Phép thế bảo toàn hơn
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, Norleuxin	Leu
Leu	Norleuxin, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, axit 1,4Diamino-butyric, Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser, Ala	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, Norleuxin	Leu

Các phép thể axit amin bảo toàn cũng có thể bao gồm các gốc axit amin không tồn tại trong tự nhiên mà thường được kết hợp bằng phép tổng hợp peptit hóa học hơn là bằng phép tổng hợp trong các hệ sinh học. Các phép thể axit amin có thể được thực hiện, ví dụ, bằng phép gây đột biến PCR (Patent Mỹ số 4,683,195). Các thư viện biến thể có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết, ví dụ bằng cách sử dụng các codon ngẫu nhiên (NNK) hoặc không ngẫu nhiên, ví dụ các codon DVK, mã hóa 11 axit amin (ACDEGKNRSYW), và sàng lọc các thư viện hoặc các biến thể với các đặc tính được mong muốn, như được thể hiện trong Ví dụ 1. Fig.1 thể hiện các phép thể được tạo ra cho năm chất đối vận kháng thể IL-17A khởi đầu trong các vùng LCDR3, HCDR2 và HCDR3 để cải thiện các đặc tính kháng thể. Các đặc tính được cải thiện, như ái lực hoặc tính ổn định có thể được đo bằng các phương pháp đã biết.

Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, bao gồm VH và VL, trong đó kháng thể này bao gồm các trình tự VH và VL nhất định, và cũng đề cập đến mỗi VH và VL phân lập như được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 2.

MOR#	SEQ ID NO:	
	VL	VH
Họ 2		
7708	62	67
7785	62	68
8104	62	69
Họ 6b		
7706	63	70
8299	63	71
7775	64	70
8103	64	72
Họ 19a		
7700	65	73
8160	66	74
8302	65	75

mAb#	SEQ ID NO:			
	VL	VH	Chuỗi nhẹ	Chuỗi nặng
Họ 2				
624	76	67	87	92
3077	76	68	87	93
7024	76	69	87	94
Họ 6b				
4538	77	81	88	95
3584	77	82	88	96
732	78	81	89	95
4168	78	83	89	97
Họ 19a				
1926	79	84	90	98
7146	80	85	91	99
6785	79	86	90	100

			5548	80	86	91	100
--	--	--	------	----	----	----	-----

Mặc dù các phương án làm ví dụ trong các Ví dụ bao gồm các cặp vùng biến đổi, các cặp chuỗi kháng thể có chiều dài toàn bộ, hoặc các cặp vùng CDR1, CDR2 và CDR3, một từ chuỗi nặng và một từ chuỗi nhẹ, người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ nhận ra rằng các phương án thay thế có thể bao gồm các vùng biến đổi chuỗi nặng riêng lẻ hoặc các vùng biến đổi chuỗi nhẹ riêng lẻ, các chuỗi kháng thể chiều dài toàn bộ riêng lẻ, hoặc các vùng CDR1, CDR2 và CDR3 từ một chuỗi kháng thể, hoặc nặng hoặc nhẹ. Vùng biến đổi riêng lẻ, chuỗi kháng thể chiều dài toàn bộ hoặc vùng CDR1, CDR2 và CDR3 của một chuỗi có thể được sử dụng để sàng lọc cho các miền tương ứng trong một chuỗi khác, hai chuỗi này có khả năng tạo ra kháng thể mà liên kết đặc hiệu với IL-17A. Việc sàng lọc có thể được thực hiện bằng các phương pháp sàng lọc biểu hiện thể thực khuẩn bằng cách sử dụng, ví dụ, phương pháp tiếp cận tổ hợp kép phân cấp được bộc lộ trong công bố đơn PCT số WO92/01047. Trong phương pháp tiếp cận này, quần thể đơn lẻ chứa dòng vô tính chuỗi H hoặc L được sử dụng để lan truyền thư viện hoàn chỉnh của các dòng vô tính mã hóa chuỗi khác (L hoặc H), và miền liên kết kháng nguyên đặc hiệu hai chuỗi thu được được lựa chọn theo các kỹ thuật biểu hiện thể thực khuẩn như đã được mô tả.

Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, bao gồm VH và VL có các trình tự axit amin có ít nhất 90% độ tương đồng với các trình tự axit amin VH và VL được thể hiện trong Bảng 2.

Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, bao gồm VH và VL có các trình tự axit amin có ít nhất 95% độ tương đồng với các trình tự axit amin VH và VL được thể hiện trong Bảng 2.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh có các trình tự axit amin chuỗi nặng và chuỗi nhẹ nhất định như được thể hiện trong Bảng 2. Ngoài việc đánh số các góc kháng thể theo trình tự, các polypeptit mã hóa các chuỗi kháng thể có thể được đánh số dựa trên phương pháp đánh số Kabat hoặc Chothia (Kabat

và các đồng tác giả, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991; Chothia và Lesk, Mol. Biol. 196:901-917, 1987). Các ví dụ về sự tương ứng giữa phương pháp đánh số Kabat và Chothia theo trình tự để lựa chọn các chuỗi kháng thể được thể hiện ở Fig.3. Các vị trí được đánh dấu màu xám dùng để chỉ các vùng kháng thể CDR.

Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, bao gồm VH và VL, trong đó kháng thể này bao gồm paratop vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn từ các gốc Chothia S51, T53, F56, Y58, Q95, L96 và T97 và paratop vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn từ các gốc Chothia Y32, D50, Y91, F93 và F94. Các gốc Chothia paratop chuỗi nặng và paratop chuỗi nhẹ tương ứng với các gốc chuỗi nặng S52, T54, F57, Y59, Q99, L100 và T101 có SEQ ID NO: 86 và các gốc chuỗi nhẹ Y31, D49, Y90, F92 và F93 có SEQ ID NO: 79.

Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, bao gồm các gốc axit amin paratop vùng biến đổi chuỗi nặng mà tương tác với các gốc của IL-17A ở người có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 105, bao gồm:

gốc threonin thứ nhất mà tương tác với R55 hoặc E57 của IL-17A ở người;

gốc glutamin mà tương tác với R55 hoặc E57 của IL-17A ở người;

gốc lysin mà tương tác với E57 của IL-17A ở người;

gốc tyroxin mà tương tác với P59, E60 hoặc R101 của IL-17A ở người;

gốc phenylalanen mà tương tác với E60, R101, E102 hoặc P103 của IL-17A ở người;

gốc serin mà tương tác với E60 của IL-17A ở người; và

gốc threonin thứ hai mà tương tác với E60 của IL-17A ở người.

Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, bao gồm các gốc axit amin paratop vùng biến đổi chuỗi nhẹ mà tương tác với các gốc của IL-17A ở người có trình tự axit amin

được thể hiện trong SEQ ID NO: 105, bao gồm:

gốc phenylalanin thứ nhất mà tương tác với L26 của IL-17A ở người;

gốc axit aspactic mà tương tác với R55 hoặc W67 của IL-17A ở người;

gốc tyroxin thứ nhất mà tương tác với P59, S64 hoặc R101 của IL-17A ở người;

gốc phenylalanin thứ hai mà tương tác với P59, E60, R61, Y62, R101 hoặc F110 của IL-17A ở người; và

gốc tyroxin thứ hai mà tương tác với V65 của IL-17A ở người.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, bao gồm các gốc axit amin paratop vùng biến đổi chuỗi nặng và các gốc axit amin paratop vùng biến đổi chuỗi nhẹ mà tương tác với các gốc của IL-17A ở người có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 105, bao gồm:

gốc tyroxin ở vùng biến đổi chuỗi nặng mà tương tác với R101 của IL-17A ở người;

gốc phenylalanin ở vùng biến đổi chuỗi nặng mà tương tác với R101, của IL-17A ở người;

gốc phenylalanin thứ nhất ở vùng biến đổi chuỗi nhẹ mà tương tác với Y62 và R101 của IL-17A ở người;

gốc phenylalanin thứ hai ở vùng biến đổi chuỗi nhẹ mà tương tác với L26 và F110 của IL-17A ở người; và

gốc tyroxin ở vùng biến đổi chuỗi nhẹ mà tương tác với R101 của IL-17A ở người.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ, trong đó kháng thể này bao gồm:

paratop vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn từ các gốc Chothia F56 và Y58; và

paratop vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn từ các gốc Chothia Y91, F93 và F94.

Các gốc Chothia paratop chuỗi nặng F56 và Y58 và các gốc Chothia paratop chuỗi nhẹ Y91, F92 và F94 là các gốc tiếp xúc trực tiếp với các gốc IL-17A L26, Y62, R101 và F110. Các gốc IL-17A này là một phần của hai epitop Fab6468 và khoang túi P2 (xem dưới đây). Sáng chế không bị ràng buộc bởi lý thuyết cụ thể bất kỳ, được tin rằng tương tác giữa Fab6468 và IL-17A ở các gốc được chọn này có thể là đủ để kháng thể này phong bế hoạt tính IL-17A.

Các mAb đầy đủ ở người thiếu các trình tự không phải người bất kỳ có thể được điều chế và tối ưu hóa từ các thư viện biểu hiện thể thực khuẩn bằng các kỹ thuật được viện dẫn ở, ví dụ, Knappik và các đồng tác giả, *J. Mol. Biol.* 296:57-86, 2000; và Krebs và các đồng tác giả, *J. Immunol. Meth.* 254:67-84 2001. Theo phương án làm ví dụ, các kháng thể theo sáng chế được phân lập từ các thư viện biểu hiện các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ kháng thể dưới dạng các protein dung hợp với protein vỏ pIX thể thực khuẩn. Các thư viện kháng thể này được sàng lọc để liên kết với IL-17mut6 ở người (SEQ ID NO: 105), và các dòng vô tính dương thu được sau đó được định rõ các đặc điểm, Fabs được phân lập từ các dịch thủy phân dòng vô tính, và được biểu hiện dưới dạng IgGs chiều dài đầy đủ. Các thư viện kháng thể làm ví dụ và các phương pháp sàng lọc được mô tả trong Shi và các đồng tác giả, *J. Mol. Biol.* 397:385-96, 2010; Công bố đơn PCT số WO09/085462, và đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 12/546850; Patent Mỹ số 5,223,409, 5,969,108, và 5,885,793).

Các mAb thu được có thể được cải biến tiếp ở các vùng khung để thay đổi các gốc khung nhất định thành các gốc có mặt trong dòng mầm ở người phù hợp, như làm ví dụ ở đây.

Các kháng thể theo sáng chế liên kết các epitop IL-17A đặc hiệu có thể được tạo ra bằng cách gây miễn dịch chuột được nhân hóa biểu hiện các vị trí globulin miễn dịch ở người (Lonberg và các đồng tác giả, *Nature* 368:856-9, 1994; Fishwild và các đồng tác giả, *Nature Biotechnology* 14:845-51, 1996; Mendez và các đồng tác giả, *Nature Genetics* 15:146-56, 1997, Patent Mỹ số 5,770,429, 7,041,870, và 5,939,598) hoặc chuột Balb/c có các peptit mã hóa các epitop, ví dụ, peptit ₅₆NEDPERYPSVIWE₆₈ (SEQ ID

NO: 157) hoặc ₁₀₀RREPPHCPNSFRLEKIL₁₁₆ (SEQ ID NO: 158) và sử dụng phương pháp tế bào lai của Kohler và các đồng tác giả, Nature 256:495-97. Các kháng thể thu được được thử nghiệm về độ liên kết của chúng với epitop bằng cách sử dụng các phương pháp tiêu chuẩn. Các mAb tương đồng có thể được cải biến tiếp bằng cách kết hợp các gốc nâng đỡ khung được biến đổi để duy trì ái lực liên kết bằng các kỹ thuật như các kỹ thuật được bộc lộ trong Queen và các đồng tác giả, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 86:10029-32, 1989 và Hodgson và các đồng tác giả, Bio/Technology, 9:421, 1991.

Các kháng thể được phân lập có các gốc paratop nhất định (ví dụ, các gốc paratop lỗi được xác định trong Bảng 10) mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người có thể được tạo ra, ví dụ, bằng cách ghép các gốc paratop vào giàn thích hợp, lắp ghép các giàn được bố trí vào các toàn bộ kháng thể, biểu hiện các kháng thể thu được, và thử nghiệm các kháng thể về liên kết với IL-17A hoặc về tác động lên hoạt tính sinh học IL-17A. Các giàn làm ví dụ là các trình tự axit amin của các vùng biến đổi kháng thể ở người được mã hóa bởi các gen dòng mầm ở người. Các giàn có thể được chọn dựa trên, ví dụ, độ tương đồng trình tự tổng thể, % tương đồng giữa các gốc paratop, hoặc sự tương đồng lớp cấu trúc kiểu mẫu giữa giàn và kháng thể làm ví dụ, như mAb6785. Các gen dòng mầm kháng thể ở người được bộc lộ trong, ví dụ, ấn phẩm của Tomlinson và các đồng tác giả, J. Mol. Biol 227:776-798, và ở cơ sở dữ liệu InteARNtional ImMunoGeneTics (IMGT) (http://_www_imgt_org). Các vùng khung liên ứng ở người cũng có thể được sử dụng, ví dụ, như được mô tả trong Patent Mỹ số 6,054,297. Việc lựa chọn giàn thích hợp có thể được thực hiện, ví dụ, theo các phương pháp được mô tả trong công bố đơn PCT số WO10/045340.

Các gen dòng mầm ở người làm ví dụ mà có thể được sử dụng làm các giàn mà các gốc paratop được ghép lên đó là các gen được mã hóa bằng các khung V λ 3, V μ 3, J λ , và J μ . Các gen V κ 3 làm ví dụ là IGLV3-1, IGLV3-9, IGLV3-10, IGLV3-12, IGLV3-16, IGLV3-19, IGLV3-21, IGLV3-22, IGLV3-25, IGLV3-27, và IGLV3-32 (hệ danh pháp IMGT, các alen *01), (tương ứng là các SEQ ID NO: 117-127). Các gen J λ làm ví dụ là IGLJ1, IGLJ2, IGLJ3, IGLJ4, IGLJ5, IGLJ6, và IGLJ7 (tương ứng là các SEQ ID NO: 128-134). Các gen V μ 3 làm ví dụ là IGHV3-7, IGHV3-9, IGHV3-11, IGHV3-16, IGHV3-19, IGHV3-20, IGHV3-21, IGHV3-23, IGHV3-30, IGHV3-30*03, IGHV3-33,

IGHV3-45, IGHV3-48, IGHV3-64, và IGHV3-74 (hệ danh pháp IMGT, các alen *01 trừ khi alen khác được chỉ định) (tương ứng là các SEQ ID NO: 135-150). Các gen Jh làm ví dụ là IGHJ1, IGHJ2, IGHJ3, IGHJ4, IGHJ5, và IGHJ6 (tương ứng là SEQ ID NO:s 151-156). Các vùng J dòng mầm được sử dụng toàn bộ hoặc một phần để lựa chọn các trình tự FR4. Ví dụ, các gốc paratop chuỗi nhẹ mAb6785 có thể được ghép vào khung protein V λ 3 được mã hóa bằng IGLV3-1 (SEQ ID NO: 117) được liên kết vào trình tự vùng J được mã hóa bằng IGLJ2 (SEQ ID NO: 129) trong đó gốc axit amin riêng lẻ được chèn giữa các trình tự IGLV3-1 và IGLJ2, ví dụ, metionin. Khung protein V λ 3 được mã hóa bằng IGLV3-1 có thể chứa các phép thế bổ sung, ví dụ phép thế gốc xystein ở vị trí 33 có SEQ ID NO: 117 (“ACW”) bằng, ví dụ, asparagin; và phép thế các gốc 1-3 có SEQ ID NO: 117 (“SYE”) bằng trình tự đầu đầu cuối amino phổ biến với các họ chuỗi lambda khác, như “QSV” của họ IGLV1. Các trình tự từ các gen V λ 3 và J λ chức năng làm ví dụ khác có thể được sử dụng để ghép các gốc paratop chuỗi nhẹ mAb6785 với việc chèn không, một hoặc hai gốc axit amin giữa đầu cuối carboxy được mã hóa bằng các gen V λ 3 và đầu cuối amino được mã hóa bằng các gen J λ , sao cho chiều dài của vùng CDR3 là 11 axit amin. Ví dụ, metionin và isoleuxin có thể được đưa vào giữa IGLV3-22 (SEQ ID NO: 124) và IGLJ2 (SEQ ID NO: 129). Fig.2A thể hiện sự liên kết của giàn chuỗi nhẹ làm ví dụ mà có thể được sử dụng để ghép. Các gốc paratop chuỗi nặng mAb6785 có thể được ghép lên trên, ví dụ, khung Vh3 được mã hóa bởi IGHV3-23 (SEQ ID NO: 142), tức là được nối với trình tự FR4 vùng J (các axit amin đầu cuối 11 C, ví dụ, “WGQGTLVTVSS”) của IGHJ1 (SEQ ID NO: 151), với khoảng 5 đến 7 gốc được đưa vào, ví dụ, 6 gốc, tạo thành HCDR3, ở giữa các vùng V và J. HCDR3 được chèn khoảng 5 đến 7 gốc bao gồm sự chèn glutamin, leuxin và threonin, ví dụ 3 gốc paratop từ mAb6785 Vh (Bảng 10). Các trình tự từ các gen Vh3 và Jh chức năng làm ví dụ khác có thể được sử dụng để ghép các gốc paratop chuỗi nặng mAb6785. Trong một số trường hợp, axit amin đầu cuối 1C từ gen Vh3 có thể được loại bỏ trước khi đưa vào 5-7 gốc tạo thành HCDR3 sao cho chỉ các trình tự FR3 có ở giàn. Các trình tự từ các gen Vh3 khác mã hóa CDR2 của 17 gốc (các gốc 50-66 của IGHV3-23 (SEQ Id NO: 142) cũng có thể được sử dụng, và các trình tự FR4 của các gen Jh khác có thể được tạo thành thay cho IGJH1.

Có thể đánh giá liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người và hoạt tính sinh học của kháng thể thu được bằng cách sử dụng phương pháp tiêu chuẩn. Liên kết của các vùng biến đổi chuỗi nhẹ mAb6785 và vùng biến đổi chuỗi nặng với các gen Vh3, Vλ3, Jλ hoặc Jh làm ví dụ được thể hiện trong Fig.2A và Fig.2B. Theo cách khác, các gốc paratop mở rộng của mAb6785, như được xác định trong Bảng 10, có thể được sử dụng thay cho các gốc paratop lõi. Các kháng thể được ghép paratop có thể được cải biến tiếp bằng cách thế các gốc Vernier Zone (xem Patent Mỹ số 6,639,055) hoặc các gốc xác định ái lực (đơn xin cấp patent Mỹ số 2010/0261620; Cobaugh và các đồng tác giả, J Mol Biol. 378:622–33, 2008) để cải thiện các đặc tính của kháng thể, ví dụ, ái lực. Khi kháng thể được ghép paratop tiếp tục liên kết với IL-17A, thì trình tự axit amin khung ở kháng thể được ghép paratop có thể là có 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% độ tương đồng với các trình tự khung mAb6785. Các biến thể alen của khung gen dòng mầm làm ví dụ có thể được sử dụng thay cho các trình tự protein vùng V và J. Các trình tự Th của biến thể alen là đã biết và có thể tìm thấy tại cơ sở dữ liệu International ImmunoGeneTics (IMGT) ([http://_www_imgt_org](http://www.imgt.org)).

Ngoài ra, các trình tự từ vị trí liên kết kháng nguyên có thể được ghép với các gốc paratop bằng cách sử dụng phương pháp tiêu chuẩn. Ví dụ, toàn bộ HCDR3 hoặc LCDR3 có thể được ghép.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người cạnh tranh cho liên kết IL-17A ở người với kháng thể đơn dòng bao gồm các trình tự axit amin HCDR1, HCDR2 và HCDR3, và LCDR1, LCDR2 và LCDR3 nhất định. Các kháng thể đơn dòng làm ví dụ theo sáng chế là kháng thể được phân lập bao gồm các trình tự axit amin HCDR1, HCDR2 và HCDR3 như được thể hiện trong các SEQ ID NO: 25, 43 và 60 và các trình tự axit amin LCDR1, LCDR2 và LCDR3 như được thể hiện trong các SEQ ID NO: 3, 6 và 18.

Sự cạnh tranh giữa liên kết đặc hiệu với IL-17A có thể được thử nghiệm trong ống nghiệm bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết. Ví dụ, liên kết của kháng thể được đánh dấu MSD Sulfo-Tag™ NHS-este với IL-17A với sự có mặt của kháng thể không được đánh dấu có thể được đánh giá bằng ELISA.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc kháng thể hoặc mảnh của nó, trong đó kháng thể này liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người có trình tự được thể hiện trong SEQ ID NO: 105 ở các gốc axit amin 56-68 (SEQ ID NO: 157) và 100-116 (SEQ ID NO: 158); hoặc ở các gốc L26, R55, E57, P59, E60, R61, Y62, S64, V65, W67, R101, E102, P103 và F110.

Một số phương pháp luận đã biết có thể được sử dụng để xác định epitop liên kết của các kháng thể theo sáng chế. Ví dụ, khi biết được cấu trúc của cả hai thành phần riêng lẻ, thì có thể tiến hành liên kết protein-protein trên máy tính để nhận dạng các vị trí tương tác thích hợp. Tiến hành trao đổi hydro-deuteri (hydrogen-deuterium - H/D) với phức hợp kháng nguyên và kháng thể để sắp xếp các vùng trên kháng nguyên được liên kết bởi kháng thể này. Việc gây đột biến đoạn và điểm của kháng nguyên có thể được sử dụng để định vị các axit amin quan trọng đối với liên kết kháng thể. Cấu trúc đồng tinh thể của phức hợp kháng thể-kháng nguyên được sử dụng để nhận dạng các gốc tạo thành epitop và paratop.

Các kháng thể kháng IL-17A nêu trên liên kết với các epitop trên IL-17A khác với epitop đối với Fab6468 được mô tả theo sáng chế. Các kháng thể liên kết IL-17A ở người (SEQ ID NO: 105) các gốc 74-85, 46-53, 71-87, 80-86, 11-18, 29-41 hoặc 54-62 được mô tả trong công bố đơn PCT số WO08/021156, WO07/106769, WO07/149032, WO07/070750; đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US2008/095775 tương ứng). Các epitop cấu hình được mô tả trong công bố đơn PCT số WO09/130459 và ấn phẩm của Gerhardt và các đồng tác giả, J. Mol. Biol: 394:901-21, 2009.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó, trong đó kháng thể này liên kết đặc hiệu với khoang túi P2 trên IL-17A, khoang túi P2 bao gồm các gốc axit amin V22, V24, L26, I28, Y62, L99, R101, F110, và L112 của SEQ ID NO: 105.

Cấu trúc đồng tinh thể của homodime IL-17A với Fab6468 kháng IL-17A nhận dạng khoang túi P2 kỵ nước trên bề mặt của homodime IL-17A, cấu trúc này có thể tham gia vào liên kết IL-17RA (Xem Ví dụ thực hiện sáng chế). “Khoang túi P2” như được sử dụng ở đây nghĩa là khoang có cấu trúc kỵ nước bậc ba trên homodime IL-17A, trong đó

các gốc lộ bề mặt trong túi P2 là V24, L26, I28, Y62, L99, R101, F110 và L112 trên monome A và V22, V24 và L112 trên monome B, và ngược lại. Lựa chọn các kháng thể theo sáng chế phản ứng với IL-17A, ví dụ Fab6468, có tiếp xúc trực tiếp với các gốc L26, Y62, R101 và F110 ở khoang túi P2, các gốc này cũng là một phần của epitop Fab6468. Sáng chế không bị giới hạn bởi lý thuyết cụ thể bất kỳ, giả thiết rằng các kháng thể theo sáng chế liên kết các gốc của khoang túi P2 IL-17A chọn lọc phong bế sự tương tác giữa IL-17A và IL-17RA. Dựa trên cấu trúc đồng tinh thể, môtip phenylalanin (FF) ở các gốc 93 và 94 trong chuỗi nhẹ (SEQ ID NO: 79) của Fab6468 phong bế sự tương tác IL-17A/IL-17RA, và do đó là khối phong bế khoang túi P2. Các chất đối vận phong bế khoang túi P2 khác cũng nằm trong phạm vi của sáng chế, như các peptit mới hoặc các phân tử nhỏ. Các chất này có thể được tạo mẫu dựa trên đồng cấu trúc IL-17A/Fab6468, và được sàng lọc để có khả năng thay thế liên kết Fab6468 với IL-17A. Ví dụ, chất ức chế peptit có thể được sàng lọc từ thư viện peptit ngẫu nhiên kết hợp môtip FF (ví dụ, thư viện XXXXFFXX; X là axit amin bất kỳ; F = phenylalanin) và được thể hiện trên thể thực khuẩn dưới dạng dung hợp với, ví dụ, protein vỏ pIII, pVII hoặc pIX (US 5,223,409; Gao và các đồng tác giả, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96:6025-30, 1999, Tornetta và các đồng tác giả, J. Immunol. Methods. 360:39-46, 2010; Shi và các đồng tác giả, J. Mol. Biol. 397:385-96, 2010) và sau đó thử nghiệm sự ức chế liên kết Fab6468 của chúng với IL-17A, và sự ức chế hoạt tính IL-17A.

Các phân tử nhỏ có thể được sàng lọc bằng cách sử dụng thư viện hợp chất tự nhiên hoặc tổng hợp, hoặc sự kết hợp bất kỳ của chúng, và kết quả khả quan ban đầu thu được có thể dễ dàng được cải biến để tạo ra các chất có cấu trúc tương tự. Các phương pháp tạo ra thư viện peptit và dung hợp pIX, và sàng lọc thư viện thu được là đã biết.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến phương pháp ức chế tương tác của IL-17A ở người với IL-17RA bao gồm:

tạo ra IL-17A và IL-17RA ở người; và

cho IL-17A ở người tiếp xúc với chất đối vận mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người ở ít nhất một gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm: V22, V24, L26, I28, Y62, L99, R101, F110, và L112.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến phương pháp ức chế hoạt tính sinh học IL-17A ở người, bao gồm:

tạo ra IL17-A và IL-17RA ở người; và

cho IL-17A ở người tiếp xúc với chất đối vận mà liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người ở ít nhất một gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm: V22, V24, L26, I28, Y62, L99, R101, F110, và L112.

IL-17A và IL-17RA ở người có thể được tạo ra dưới dạng các protein được phân lập hoặc các protein dung hợp. Homodimer IL-17A ở người có thể được tinh chế từ môi trường tế bào Th17 hoạt hóa được xử lý bằng sự kích thích trong ống nghiệm của tế bào CD4 T non bằng hai kích thích kháng-CD3/kháng-CD28 với sự có mặt của IL-2, IL-23 và IL-1 β . IL-17RA có thể kết hợp với các tế bào hoặc màng tế bào, có thể tự nhiên hoặc biểu hiện quá mức, hoặc có thể là mảnh của IL-17RA, ví dụ miền ngoại bào của thụ thể. IL-17RA có thể là IL-17RA ở người, hoặc IL-17RA từ các loài khác như từ chuột nhắt, chuột đồng hoặc khỉ. Chất đối vận liên kết với các gốc IL-17A ở người V22, V24, L26, I28, Y62, L99, R101, F110, và L112 có thể được nhận dạng về khả năng mà chất đối vận này thay thế liên kết Fab6468 với IL-17A, bởi các nghiên cứu về sự gây đột biến hoặc bởi cấu trúc đồng tinh thể. Các protein dung hợp của IL-17A và IL-17RA ở người có thể được tạo ra bằng phương pháp đã biết. Protein dung hợp làm ví dụ là IL-17RA có thể hòa tan được dung hợp với miền Fc globulin miễn dịch.

Một khía cạnh khác của sáng chế là polynucleotit được phân lập mã hóa kháng thể chuỗi nặng hoặc kháng thể chuỗi nhẹ bất kỳ hoặc các mảnh của nó theo sáng chế hoặc bổ sung chúng. Polynucleotit làm ví dụ nhất định được bộc lộ trong bản mô tả này, tuy nhiên, các polynucleotit khác, dựa vào sự suy biến của mã di truyền hoặc sự ưu tiên codon trong hệ biểu hiện nhất định, mã hóa các chất đối vận kháng thể theo sáng chế cũng nằm trong phạm vi của sáng chế. Các polynucleotit làm ví dụ được thể hiện trong các SEQ ID NO: 101, 102, 103 và 104.

Các chất đối vận kháng thể làm ví dụ có thể là các kháng thể của các lớp kháng thể IgG, IgD, IgE, IgA hoặc IgM. Ngoài ra, các chất đối vận kháng thể này có thể được cải biến sau dịch mã bởi các quy trình như glycosyl hóa, đồng phân hóa, deglycosyl hóa

hoặc cải biến đồng hóa trị xảy ra không tự nhiên như sự bổ sung gốc polyetylen glycol (PEG) (pegyl hóa) và sự lipit hóa. Các cải biến này có thể xảy ra trong cơ thể sống hoặc trong ống nghiệm. Ví dụ, các kháng thể theo sáng chế có thể liên hợp với polyetylen glycol (PEG) để cải thiện đặc tính dược động học của chúng. Sự liên hợp có thể được tiến hành bằng các kỹ thuật đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Sự liên hợp của kháng thể có tác dụng trị liệu với PEG được cho là tăng cường dược lực học trong khi không có tác động xấu đến chức năng của chúng. Xem ấn phẩm của Deckert và các đồng tác giả, nt. J. Ung thư 87:382-90, 2000; Knight và các đồng tác giả, *Đĩalets* 15:409-18, 2004; Leong và các đồng tác giả, *Xytokin* 16:106-19, 2001; và Yang và các đồng tác giả, *Protein Eng.* 16:761-70, 2003.

Đặc tính dược động học của kháng thể theo sáng chế có thể được tăng cường qua các cải biến Fc bằng kỹ thuật đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Kháng thể “Fc” không trực tiếp tham gia vào liên kết của kháng thể với kháng nguyên, nhưng bộc lộ nhiều chức năng của chất tác động. Kháng thể “Fc” là thuật ngữ đã biết và được xác định dựa trên sự phân chia kháng thể bằng papain. Kháng thể Fc trực tiếp tham gia vào độc tính tế bào gây ra bởi tế bào phụ thuộc vào kháng thể (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity - ADCC) và độc tính tế bào phụ thuộc vào bổ thể (complement-dependent cytotoxicity - CDC) dựa trên sự hoạt hóa của bổ thể, liên kết C1q và liên kết thụ thể Fc. Bổ thể này và các vị trí liên kết thụ thể Fc là đã biết và bao gồm, ví dụ, L234, L235, D270, N297, E318, K320, K322, P331, và P329 (đánh số theo chỉ số Kabat châu Âu) (Brekke và các đồng tác giả, *Eur. J. Immunol.* 24:2542-7, 1995; Patent Mỹ số 5,624,821, 7,597,889, Canfield và Morrison, *J. Exp. Med.* 173:1483-91, 1991). Ví dụ, đột biến của Leu234/Leu235 ở vùng khớp nối của IgG1 với L234A/L235A hoặc Phe235/Leu236 ở vùng khớp nối của IgG4 với P235A/L236A làm giảm đến mức tối thiểu liên kết FcR và giảm khả năng gây ra độc tính tế bào phụ thuộc vào bổ thể và ADCC của globulin miễn dịch. Phép thế Ser đối với Pro ở môtip Cys-Pro-Ser-Cys (CPSC) trong vùng khớp nối của các chuỗi nặng IgG4 có khả năng tạo ra liên kết disulfua trong hoặc giữa chuỗi nặng trong cơ thể sống qua hoạt động của isomerase (Aalberse và Schuurman, *Immunology* 105:9-19, 2002), dẫn đến “tập tính giống IgG1”, ví dụ, các phân tử trước khi được thể không thể tạo ra liên kết disulfua trong chuỗi nặng.

Địa điểm của môtip CPSC về cơ bản được tìm thấy ở gốc 228 của chuỗi nặng trưởng thành nhưng có thể thay đổi phụ thuộc vào chiều dài CDR. Vùng Fc của IgG1 làm ví dụ có các gốc Leu234/Leu235 có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 114, trong đó các gốc L117 và L118 tương ứng với các gốc Leu234/Leu235 trong chuỗi nặng trưởng thành. Vùng Fc của IgG4 làm ví dụ có môtip Cys-Pro-Ser-Cys (CPSC) và các gốc Leu234/Leu235 có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 115, trong đó môtip CPSC được định vị ở các gốc 106-109 và các gốc Leu234/Leu235 tại các vị trí 122 và 123.

Các kháng thể hoặc các mảnh của nó theo sáng chế được cải biến để cải thiện tính ổn định, tính chọn lọc, tính phản ứng chéo, ái lực, tính sinh miễn dịch hoặc đặc tính sinh học hoặc lý sinh mong muốn khác nằm trong phạm vi của sáng chế. Tính ổn định của kháng thể bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố, bao gồm (1) sự bó lỗi của các miền riêng lẻ ảnh hưởng đến tính ổn định nội tại của chúng, (2) sự tương tác mặt phân cách protein/protein có ảnh hưởng lên sự ghép cặp HC và LC, (3) sự phủ các gốc mang điện và phân cực, (4) mạng liên kết H cho các gốc mang điện và phân cực; và (5) sự phân bố gốc mang điện và phân cực ở bề mặt giữa lực trong phân tử và lực liên phân tử (Worn và các đồng tác giả, J. Mol. Biol. 305:989-1010, 2001). Các gốc làm mất ổn định cấu trúc tiềm năng có thể được nhận dạng dựa trên cấu trúc tinh thể của kháng thể này hoặc được nhận dạng bởi mẫu phân tử trong các trường hợp nhất định, và tác động của các gốc đối với tính ổn định của kháng thể có thể được thử nghiệm bằng cách tạo ra và đánh giá các biến thể chứa các đột biến ở các gốc đã nhận dạng. Một cách để tăng tính ổn định của kháng thể là tăng trung điểm chuyển hóa nhiệt (thermal transition midpoint - T_m) như được đo bằng nhiệt lượng kế quét vi sai (differential scanning calorimetry - DSC). Nói chung, protein T_m có tương quan với tính ổn định của nó và tương quan ngược với tính nhạy của nó đối với quá trình không gập và làm biến tính trong dung dịch và quy trình thoái biến phụ thuộc vào hướng không gập của protein (Remmele và các đồng tác giả, Biopharm. 13:36-46, 2000). Nhiều nghiên cứu đã cho thấy sự tương quan giữa sự phân hạng tính ổn định vật lý của chế phẩm được đo dưới dạng tính ổn định nhiệt bằng DSC và tính ổn định vật lý được đo bằng các phương pháp khác (Gupta và các đồng tác giả, AAPS PharmSci. 5E8, 2003; Zhang và các đồng tác giả, J. Pharm. Sci. 93:3076-89, 2004; Maa và các đồng tác

giả, *Int. J. Pharm.*, 140:155-68, 1996; Bedu-Addo và các đồng tác giả, *Pharm. Res.*, 21:1353-61, 2004; Remmele và các đồng tác giả, *Pharm. Res.*, 15:200-8, 1997). Nghiên cứu chế phẩm chỉ ra rằng Fab Tm có tính ổn định vật lý lâu dài của mAb tương ứng. Các khác biệt trong các axit amin trong khung hoặc trong các CDR có thể có tác động đáng kể lên tính ổn định nhiệt của miền Fab (Yasui, và các đồng tác giả, *FEBS Lett.* 353:143-6, 1994).

Các chất đối vận kháng thể theo sáng chế có thể liên kết IL-17A với K_d nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} hoặc 10^{-12} M. Ái lực của phân tử nhất định đối với IL-17A, như kháng thể có thể được xác định từ thử nghiệm bằng cách sử dụng phương pháp thích hợp bất kỳ. Các phương pháp này có thể sử dụng thiết bị đo Biacore hoặc KinExA, ELISA hoặc thử nghiệm liên kết cạnh tranh đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Các chất đối vận kháng thể liên kết IL-17A ở người với ái lực mong muốn có thể được chọn từ thư viện biến thể hoặc các mảnh bằng các kỹ thuật bao gồm quá trình thuần thực ái lực kháng thể. Các chất đối vận kháng thể có thể được nhận dạng dựa trên sự ức chế hoạt tính sinh học IL-17A của chúng bằng cách sử dụng phương pháp thích hợp bất kỳ. Các phương pháp này có thể sử dụng thử nghiệm gen chỉ thị hoặc thử nghiệm đo sự sản sinh xytokin bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết và như được mô tả theo sáng chế.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến vector bao gồm ít nhất một polynucleotit theo sáng chế. Các vector này có thể là vector plasmit, vector virus, vector biểu hiện baculovirus, vector trên cơ sở transposon hoặc vector khác bất kỳ thích hợp để đưa các polynucleotit theo sáng chế vào cơ thể nhất định hoặc nền tảng di truyền bằng cách bất kỳ.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến tế bào chủ bao gồm polynucleotit bất kỳ theo sáng chế như polynucleotit mã hóa polypeptit bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng globulin miễn dịch có trình tự axit amin được thể hiện trong các SEQ ID NO: 67-75 VÀ 81-86 hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ globulin miễn dịch có trình tự axit amin được thể hiện trong các SEQ ID NO: 62-66 và 76-80 hoặc chuỗi nặng globulin miễn dịch có trình

tự axit amin được thể hiện trong các SEQ ID NO: 92-100 hoặc chuỗi nhẹ globulin miễn dịch có trình tự axit amin được thể hiện trong các SEQ ID NO: 87-91. Các tế bào chủ này có thể là các tế bào tế bào có màng nhân, các tế bào vi khuẩn, các tế bào thực vật hoặc các tế bào cổ khuẩn. Các tế bào tế bào có màng nhân làm ví dụ có thể là các tế bào ở động vật có vú, côn trùng, chim hoặc loài động vật khác. Các tế bào tế bào có màng nhân ở động vật có vú bao gồm dòng tế bào bất tử như dòng tế bào lai hoặc tế bào u tủy như dòng tế bào ở chuột SP2/0 (American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA, CRL-1581), NS0 (European Collection of Cell Cultures (ECACC), Salisbury, Wiltshire, UK, ECACC số 85110503), FO (ATCC CRL-1646) và Ag653 (ATCC CRL-1580). Dòng tế bào u tủy ở người làm ví dụ là U266 (ATTC CRL-TIB-196). Dòng tế bào hữu dụng khác bao gồm các dòng tế bào có nguồn gốc từ các tế bào buồng trứng chuột đồng Trung Quốc (Chinese Hamster Ovary - CHO) như CHO-K1SV (Lonza Biologics, Walkersville, MD), CHO-K1 (ATCC CRL-61) hoặc DG44.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến phương pháp tạo ra kháng thể phản ứng với IL-17A bao gồm nuôi cấy tế bào chủ theo sáng chế và khôi phục kháng thể được sản sinh bởi tế bào chủ. Các phương pháp tạo ra kháng thể và tinh chế chúng là đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Để biểu hiện, trình tự chuỗi nặng của họ 2, 6a, 6b, 19a và 19b đã bố trí có thể bao gồm trình tự dẫn đầu có đầu cuối N như MAWVWTLFLMAAAQSIQA (SEQ ID NO:109). Các trình tự nucleotit làm ví dụ mã hóa chuỗi nặng của mAb6785 thử nghiệm (họ 19) với trình tự dẫn đầu và dạng trưởng thành (mà không có trình tự dẫn đầu) được thể hiện trong các SEQ ID NO: 101 và 102 tương ứng. Tương tự, để biểu hiện, các trình tự chuỗi nhẹ của kháng thể họ 2, 6a, 6b theo sáng chế có thể bao gồm trình tự dẫn đầu có đầu cuối N như MGVPTQVLGLLLWLTDARC (SEQ ID NO: 110) và trình tự chuỗi nhẹ của kháng thể họ 19a và 19b theo sáng chế có thể bao gồm trình tự dẫn đầu có đầu cuối N như MAWSPLLLTLLAHCTGSWA (SEQ ID NO: 116). Các trình tự nucleotit làm ví dụ mã hóa chuỗi nhẹ của mAb6785 tối ưu hóa codon với trình tự dẫn đầu và dạng trưởng thành (mà không có trình tự dẫn đầu) được thể hiện trong các SEQ ID NO: 103 và 104 tương ứng.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến dòng tế bào lai sản sinh kháng thể theo sáng chế.

Các phương pháp điều trị

Chất đối vận IL-17A theo sáng chế, ví dụ, các chất đối vận kháng thể IL-17A, có thể được sử dụng trong liệu pháp bất kỳ trong đó mong muốn làm giảm tác động của IL-17A ở động vật. IL-17A có thể tuần hoàn ở cơ thể hoặc có thể có mặt với mức độ cao không mong muốn được khoan vùng ở vị trí cụ thể trong cơ thể, ví dụ, vị trí viêm. Sáng chế không bị giới hạn bởi lý thuyết cụ thể bất kỳ, chất đối vận theo sáng chế tạo ra liệu pháp có lợi bằng cách ngăn ngừa hoặc làm giảm liên kết IL-17A với thụ thể của nó, hoặc homodime hoặc heterodime của IL-17A. Các phương pháp theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị động vật thuộc cách phân loại bất kỳ. Ví dụ về các động vật này bao gồm động vật có vú như người, loài gặm nhấm, chó, mèo và động vật nuôi trong trang trại.

Các kháng thể theo sáng chế có thể hữu dụng để phòng bệnh và điều trị tình trạng bệnh gây ra bởi IL-17A, như tình trạng viêm, dị ứng và tình trạng dị ứng, phản ứng nhạy thuốc, bệnh tự miễn, nhiễm trùng nặng, và sự thái bỏ cơ quan hoặc mô được ghép. Các kháng thể theo sáng chế còn hữu dụng trong điều chế thuốc để điều trị bệnh, trong đó thuốc được điều chế để dùng theo liều được xác định trong bản mô tả này. Tình trạng bệnh gây ra bởi IL-17A làm ví dụ như tình trạng viêm, rối loạn miễn dịch và rối loạn tăng sinh, bao gồm viêm khớp dạng thấp (RA), viêm cột sống dính khớp, viêm khớp vảy nến, viêm khớp xương mạn tính, chứng loãng xương, viêm màng bồ đào, xơ hóa do viêm (ví dụ, bệnh cứng da, xơ hóa phổi, và bệnh xơ gan), rối loạn đường ruột viêm (ví dụ, Bệnh Crohn, bệnh viêm loét đại tràng và bệnh viêm ruột), bệnh hen (bao gồm bệnh hen do dị ứng), dị ứng, COPD, đa xơ cứng, bệnh vảy nến, bệnh luput ban đỏ hệ thống, bệnh tiểu đường và ung thư. Các kết quả khả quan ở các bệnh nhân được điều trị bằng liệu pháp kháng IL-17A ở người được mô tả trong bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh vảy nến và viêm màng bồ đào không lây nhiễm (Genovese và các đồng tác giả, Arthritis Rheum. 62:929-39, 2010; Hueber và các đồng tác giả, Sci. Transl. Med. 2: 52ra72., 2010).

Tình trạng viêm phổi là một ví dụ của tình trạng viêm. Tình trạng viêm phổi làm ví dụ bao gồm tình trạng viêm phổi do nhiễm trùng bao gồm tình trạng kết hợp với nhiễm

virut, nhiễm vi khuẩn, nhiễm nấm, nhiễm ký sinh trùng hoặc nhiễm khuẩn vi protein; tình trạng viêm phổi do dị ứng; tình trạng viêm phổi do chất gây ô nhiễm như bệnh phổi phát sinh do hít phải hạt amiăng, bệnh bụi phổi, hoặc bệnh ngộ độc beryllium; tình trạng viêm phổi hít do dịch dạ dày, rối loạn điều hòa miễn dịch, tình trạng viêm do di truyền bẩm sinh như xơ hóa u nang, và tình trạng viêm phổi do chấn thương vật lý, như tổn thương phổi do thở máy. Các tình trạng viêm này còn bao gồm bệnh hen, khí thũng, viêm phế quản, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (chronic obstructive pulmonary disease - COPD), bệnh u hạt lympho lành tính, bệnh mô bào huyết, rối loạn lymphangiomyomatosis, tổn thương phổi cấp tính, hội chứng suy hô hấp cấp, bệnh phổi mạn tính, hội chứng loạn sản phế quản-phổi, viêm phổi mắc phải trong cộng đồng, viêm phổi mắc phải tại bệnh viện, viêm phổi liên quan đến thở máy, sự nhiễm trùng, viêm phổi do virut, bệnh nhiễm vi trùng cúm, bệnh nhiễm virut parainfluenza, bệnh nhiễm rota virut, nhiễm metapneumovirut ở người, bệnh nhiễm virut hợp bào hô hấp và bệnh nhiễm nấm aspergillus hoặc nấm khác. Các bệnh viêm liên quan đến nhiễm trùng làm ví dụ có thể bao gồm viêm phổi do virut hoặc vi khuẩn, bao gồm viêm phổi nặng, xơ hóa u nang, viêm phế quản, kích phát đường dẫn khí và hội chứng suy hô hấp cấp tính (acute respiratory distress syndrome - ARDS). Các tình trạng liên quan đến nhiễm trùng này có thể bao gồm bệnh đa nhiễm trùng như nhiễm trùng khởi phát do virut và nhiễm trùng thứ phát do vi khuẩn. Sự sản sinh IL-17A rối loạn điều hòa có thể có vai trò trong bệnh học của các bệnh phổi như bệnh hen và bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD) (xem trong ấn phẩm của Alcorn và các đồng tác giả, *Annu. Rev. Physiol.* 72:495-516, 2010). IL-17A được cho là điều hòa chứng viêm do bạch cầu đa nhân trung tính ở phổi - dấu hiệu nhận dạng bệnh hen nặng cũng như COPD - do IL-17A có thể làm giảm các yếu tố quan trọng trong sự bổ sung bạch cầu trung tính, sự tồn tại và sự hoạt hóa từ tế bào biểu mô ở phổi (ví dụ, IL-6, IL-8, GM-CSF, G-CSF). Các kháng thể theo sáng chế ngăn IL-6, IL-8, và GM-CSF tiết ra từ tế bào biểu mô ở phổi, và do đó có thể có lợi trong điều trị phòng ngừa hoặc chữa bệnh cho các đối tượng mắc phải tình trạng viêm phổi, như bệnh hen và COPD. Các mẫu động vật thường được sử dụng đối với bệnh hen và chứng viêm đường dẫn khí bao gồm mẫu thử ovalbumin và mẫu nhạy metacholin (Hessel và các đồng tác giả, *Eur. J. Pharmacol.* 293:401-12, 1995). Sự ức chế xytokin và sự sản sinh chemokin từ

các tế bào biểu mô phế quản ở người được nuôi cấy, các nguyên bào sợi ở phế quản hoặc các tế bào cơ trơn ở đường dẫn khí còn có thể được sử dụng làm mẫu trong ống nghiệm. Cho mẫu bất kỳ nêu trên dùng chất đối vận theo sáng chế có thể đánh giá việc sử dụng các chất đối vận để cải thiện các triệu chứng và biến đổi quá trình diễn biến của bệnh hen, chứng viêm đường dẫn khí, COPD và bệnh tương tự.

Bệnh vẩy nến là một ví dụ khác của tình trạng viêm. Bệnh vẩy nến là được đặc trưng bởi sự siêu tăng sinh gây ra bởi tế bào T của keratinocytes bắt cặp với thâm nhiễm viêm. Chứng viêm và siêu tăng sinh của mô vẩy nến có liên quan đến mô, kháng nguyên, và cytokin hơn là da thông thường. Các cytokin liên quan đến bệnh vẩy nến là: TNF α , IL-19, IL-18, IL-15, IL-12, IL-7, IFN γ , IL-17A và IL-23 (Gudjonsson và các đồng tác giả, Clin. Exp. Immunol. 135:1-8, 2004). IL-17A được phát hiện là biểu hiện quá mức trong các thương tổn của bệnh vẩy nến (Patent Mỹ số 7,776,540) và các kết quả khả quan thu được ở bệnh nhân được điều trị bằng liệu pháp kháng IL-17A ở người (Hueber và các đồng tác giả, Sci. Transl. Med. 2: 52ra72., 2010).

Chứng viêm khớp, bao gồm viêm khớp xương mạn tính, viêm khớp dạng thấp, khớp bị viêm do tổn thương, và chứng viêm khớp tương tự, là tình trạng viêm thường gặp, sẽ đạt hiệu quả điều trị có lợi từ việc sử dụng liệu pháp protein kháng viêm, như chất đối vận theo sáng chế. Sự hoạt hóa của tín hiệu IL-17A có thể duy trì chứng viêm và tiếp tục phá hủy mô trong khớp viêm. Một số mẫu động vật đối với bệnh viêm khớp dạng thấp là đã biết. Ví dụ, ở mẫu viêm khớp do collagen (collagen-induced arthritis - CIA), chuột mắc bệnh viêm khớp mạn tính gần giống với viêm khớp dạng thấp ở người. Dùng các kháng thể IL-17A theo sáng chế để điều trị chuột mắc bệnh CIA có thể được sử dụng để đánh giá việc sử dụng các chất đối vận này để cải thiện các triệu chứng và biến đổi quá trình diễn biến của bệnh.

Tình trạng viêm dạ dày-ruột làm ví dụ là bệnh viêm ruột (inflammatory bowel disease - IBD), bệnh viêm loét đại tràng (ulcerative colitis - UC) và Bệnh Crohn (Crohn's disease - CD), viêm ruột kết do tổn thương môi trường (ví dụ, chứng viêm dạ dày-ruột (ví dụ, viêm ruột kết) gây ra do hoặc liên quan đến (ví dụ, làm tác dụng phụ) chế độ trị liệu, như dùng liệu pháp hóa trị liệu, liệu pháp phóng xạ, và liệu pháp tương tự), viêm

ruột kết do nhiễm trùng, viêm ruột kết do thiếu máu cục bộ, viêm ruột kết lympho hoặc collagen, viêm ruột hoại tử, viêm ruột kết trong tình trạng như bệnh u hạt mạn tính hoặc bệnh đường ruột mạn tính, dị ứng đối với thức ăn, viêm dạ dày, viêm dạ dày lây nhiễm hoặc viêm ruột non kết (ví dụ, viêm dạ dày mạn tính hoạt động lây nhiễm *Helicobacter pylori*) và các dạng viêm dạ dày-ruột khác gây ra bởi tác nhân lây nhiễm. Một số mẫu động vật đối với tình trạng viêm dạ dày-ruột tồn tại. Một số mẫu được sử dụng rộng rãi nhất là mẫu viêm ruột kết do axit 2,4,6-trinitrobenesulfonic/etanol (TNBS) gây ra hoặc mẫu oxazolon, gây ra chứng viêm mạn tính và loét ruột kết (Neurath và các đồng tác giả, Intern. Rev. Immunol 19:51-62, 2000). Một mẫu khác sử dụng dextran sulfat natri (dextran sulfate natri: DSS), gây ra viêm ruột kết cấp tính với triệu chứng tiêu chảy có máu, giảm cân, thu hẹp ruột kết và loét niêm mạc với sự thâm nhiễm bạch cầu trung tính. Một mẫu khác nữa bao gồm truyền tế bào mutton CD4 T5RB^{cao} CD4 non đến chuột RAG hoặc SCID. Trong mẫu này, các tế bào cho T non tấn công ruột nhận gây ra chứng viêm ruột mạn tính và các triệu chứng tương tự như bệnh viêm loét đại tràng ở người (Read và Powrie, Curr. Protoc. Immunol. Chapter 15 unit 15.13, 2001). Việc dùng chất đối vận theo sáng chế trong mẫu bất kỳ nêu trên có thể được sử dụng để đánh giá hiệu quả tiềm tàng của các chất đối vận để cải thiện các triệu chứng và biến đổi quá trình diễn biến của bệnh liên quan đến chứng viêm ở ruột, như bệnh viêm ruột.

Chứng xơ hóa thận có thể phát triển từ chấn thương cấp tính (ví dụ, thiếu máu cục bộ/tái tưới máu mô ghép) (Freese và các đồng tác giả, Nephrol. Dial. Transplant. 16:2401-6, 2001) hoặc bệnh mạn tính (ví dụ, bệnh tiểu đường) (Ritz và các đồng tác giả, Nephrol. Dial. Transplant. 11 Suppl 9:38-44, 1996). Sự phát sinh bệnh được đặc trưng tiêu biểu bởi đáp ứng viêm ban đầu kèm theo sự tạo sụn kéo dài của thiết bị lọc cầu thận và viêm thận kẽ (Liu, Thận Int. 69:213-7, 2006). Chứng xơ hóa viêm thận kẽ được cho là đóng vai trò quan trọng trong sự phát sinh bệnh của tổn thương thận đối với suy thận giai đoạn cuối và tế bào ống lượn gần được bộc lộ làm chất trung gian ở giữa (Phillips và Steadman, Histol. Histopathol. 17:247-52, 2002; Phillips, Chang Gung Med. J. 30:2-6, 2007). Sự tạo sụn trong viêm thận kẽ một phần là do sự hoạt hóa của các nguyên bào sợi gây ra, tiết ra các xytokin tiền viêm kích thích tế bào biểu mô ống lượn gần để tiết ra chất trung gian viêm và tạo sụn cục bộ. Ngoài ra, xytokin hóa chất được tiết ra bởi các nguyên bào sợi và các tế bào biểu mô

và tạo ra gradient hướng sự thâm nhiễm của bạch cầu đơn nhân/đại thực bào và tế bào T vào kẽ thận. Thâm nhiễm của viêm tạo ra các xytokin tạo sụn và viêm bổ sung mà các xytokin này tiếp tục hoạt hóa nguyên bào sợi và giải phóng xytokin biểu mô trong khi kích thích biểu mô trải qua chuyển hóa phenotip trong đó các tế bào làm lắng đọng thành phần chất nền ngoại bào dư thừa (Simonson, Thận Int. 71:846-54, 2007). IL-17A được điều hòa lên trong suốt quá trình thải bỏ mô ghép trong thận ở người (Van Kooten và các đồng tác giả, J. Am. Soc. Nephrol. 9:1526-34, 1998; Loong và các đồng tác giả, J. Path. 197:322-32, 2002). IL-17A kích thích sự sản sinh các chất trung gian tiền viêm IL-6, IL-8, thành phần bổ thể C3, và RANTES bằng tế bào biểu mô ống lượn gần (Van Kooten và các đồng tác giả, J. Am. Soc. Nephrol. 9:1526-34, 1998; Woltman và các đồng tác giả, J. Am. Nephrol. 11:2044-55, 2000). Các yếu tố này, lần lượt, gây ra sự bổ sung các loại tế bào viêm khác vào kẽ thận góp phần duy trì đáp ứng miễn dịch/viêm và, nếu không bị phong bế, sự tấn công của chứng xơ hóa và bệnh thận mạn tính sau ghép (Racusen và các đồng tác giả, Thận Int. 55:713-23, 1999; Mannon, Am. J. Transpl. 6:867-75, 2006).

Các tình trạng xơ làm ví dụ khác có thể bao gồm chứng xơ hóa gan (bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở bệnh xơ gan do rượu, bệnh xơ gan do virus, bệnh viêm gan do tự miễn dịch); bệnh xơ hóa phổi (bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở bệnh xơ cứng bì, bệnh xơ hóa phổi tự phát); bệnh xơ hóa thận (bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở bệnh xơ cứng bì, viêm thận tiểu đường, viêm cầu thận, viêm thận luput); chứng xơ hóa da (bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở bệnh cứng da, sẹo đầy và lồi, bóng); xơ hóa tủy; u xơ thần kinh; u xơ; chứng xơ hóa ruột; và xơ hóa kết dính do quy trình phẫu thuật. Chứng xơ hóa có thể là chứng xơ hóa đặc hiệu cơ quan hoặc chứng xơ hóa hệ thống. Chứng xơ hóa đặc hiệu cơ quan có thể liên quan đến xơ hóa phổi, chứng xơ hóa gan, chứng xơ hóa thận, chứng xơ hóa tim, chứng xơ hóa mạch, chứng xơ hóa da, chứng xơ hóa mắt hoặc chứng xơ hóa tủy xương. Xơ hóa phổi có thể liên quan đến xơ hóa phổi tự phát, xơ hóa phổi do thuốc, bệnh hen, bệnh u hạt lympho lành tính hoặc bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính. Chứng xơ hóa gan có thể liên quan đến bệnh xơ gan, bệnh sán máng hoặc viêm đường mật. Bệnh xơ gan có thể được chọn từ bệnh xơ gan do rượu, bệnh xơ gan sau viêm gan C, bệnh xơ gan mật khởi phát. Viêm đường mật có thể là viêm đường mật xơ cứng. Chứng xơ hóa thận có thể liên quan đến bệnh thần kinh tiểu đường hoặc lupus xơ cứng

tiêu cầu thận. Chứng xơ hóa tim có thể liên quan đến bệnh nhồi máu cơ tim. Chứng xơ hóa mạch có thể liên quan đến sự tái phát hẹp động mạch sau tạo hình hoặc bệnh vữa xơ động mạch. Chứng xơ hóa da có thể liên quan đến sẹo do bỏng, sẹo phì đại, sẹo lồi, hoặc bệnh đa xơ hóa do thận. Chứng xơ hóa mắt có thể liên quan đến chứng xơ hóa sau hốc mắt, phẫu thuật sau đục thủy tinh thể hoặc bệnh võng mạc dịch kính tăng sinh. Chứng xơ hóa tủy xương có thể liên quan đến xơ hóa tủy tự phát hoặc xơ hóa tủy do thuốc. Chứng xơ hóa hệ thống có thể là xơ cứng toàn thân hoặc bệnh cơ quan ghép ngược với vật chủ.

Các tình trạng viêm và bệnh thần kinh khác, có thể được ngăn ngừa hoặc điều trị bằng các phương pháp theo sáng chế là các tình trạng do bệnh tự miễn gây ra. Các tình trạng và bệnh thần kinh này bao gồm đa xơ cứng, bệnh luput ban đỏ hệ thống, và rối loạn thoái hóa thần kinh và rối loạn hệ thần kinh trung ương (central nervous system - CNS) bao gồm Bệnh Alzheimer, Bệnh Parkinson, Bệnh Huntington, rối loạn lưỡng cực và bệnh xơ cứng teo cơ một bên (Amyotrophic Lateral Sclerosis - ALS), các bệnh gan bao gồm bệnh xơ gan tắc mật nguyên phát, viêm đường mật xơ cứng nguyên phát, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu/bệnh viêm gan nhiễm mỡ, chứng xơ hóa, virus viêm gan C (hepatitis C virus - HCV) và virus viêm gan B (hepatitis B virus - HBV), bệnh tiểu đường và kháng insulin, rối loạn tim mạch bao gồm bệnh vữa xơ động mạch, xuất huyết não, đột quỵ và nhồi máu cơ tim, chứng viêm khớp, viêm khớp dạng thấp, viêm khớp vảy nến và viêm khớp dạng thấp ở trẻ em (juvenile rheumatoid arthritis - JRA), chứng loãng xương, viêm khớp xương mạn tính, viêm tụy, chứng xơ hóa, viêm não, bệnh vảy nến, viêm động mạch tế bào khổng lồ, viêm cột sống dính khớp, viêm gan tự miễn, virus suy giảm miễn dịch ở người (human immunodeficiency virus - HIV), tình trạng viêm da, cấy ghép, ung thư, dị ứng, bệnh nội tiết, sự lành vết thương, các rối loạn tự miễn khác, tăng tương tác đường dẫn khí và tế bào, virus, hoặc bệnh nhiễm hoặc rối loạn do prion gây ra.

Cách dùng/Dược phẩm

“Lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị” của chất theo sáng chế hữu dụng trong điều trị các tình trạng bệnh trong đó sự phong bế hoạt tính IL-17A mong muốn có thể được xác định bằng các kỹ thuật nghiên cứu tiêu chuẩn. Ví dụ, liều lượng chất hữu dụng trong điều trị tình trạng viêm như bệnh hen, Bệnh Crohn, bệnh viêm loét đại tràng hoặc viêm

khớp dạng thấp có thể được xác định bằng cách dùng chất này cho các mẫu động vật thích hợp, như các mẫu được mô tả trong bản mô tả này.

Hơn nữa, thử nghiệm trong ống nghiệm có thể tùy ý được thực hiện nhằm nhận dạng khoảng liều lượng tối ưu. Việc chọn liều hữu dụng cụ thể có thể được xác định (ví dụ, qua thử nghiệm lâm sàng) bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này dựa trên sự xem xét một số yếu tố. Các yếu tố này bao gồm bệnh được điều trị hoặc ngăn ngừa, các triệu chứng liên quan, trọng lượng cơ thể của bệnh nhân, tình trạng miễn dịch của bệnh nhân và các yếu tố khác đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Liều lượng chính xác được sử dụng trong dược phẩm còn phụ thuộc vào đường dùng, và mức độ nghiêm trọng của bệnh, và được quyết định theo đánh giá của người thực hiện và trường hợp của mỗi bệnh nhân. Liều hữu dụng có thể ngoại suy từ đường cong đáp ứng liều xuất phát từ trong ống nghiệm hoặc hệ thống thử nghiệm mẫu động vật.

Cách dùng đối với việc sử dụng chất theo sáng chế để điều trị có thể là đường dùng thích hợp bất kỳ truyền chất theo sáng chế đến vật chủ. Dược phẩm chứa các chất này đặc biệt hữu dụng để dùng ngoài ruột, ví dụ, trong da, trong cơ, trong màng bụng, trong tĩnh mạch, dưới da hoặc trong mũi.

Chất theo sáng chế có thể được bào chế dưới dạng dược phẩm chứa chất với lượng hữu hiệu làm thành phần hoạt tính trong chất mang dược dụng. Thuật ngữ "chất mang" nghĩa là chất pha loãng, chất hỗ trợ, tá dược, hoặc tá dược lỏng được dùng với hợp chất hoạt tính. Các tá dược lỏng dược dụng này có thể là chất lỏng, như nước và dầu, bao gồm các chất lỏng từ dầu thô, động vật, thực vật hoặc nguồn tổng hợp, như dầu lạc, dầu đậu nành, dầu khoáng, dầu vừng và dầu tương tự. Ví dụ, có thể sử dụng nước muối 0,4% và glysin 0,3%. Các dung dịch này vô trùng và không chứa các chất dạng hạt. Chúng có thể được khử trùng bằng kỹ thuật khử trùng thông thường đã biết (ví dụ, bằng cách lọc). Dược phẩm có thể chứa các chất hỗ trợ dược dụng thích hợp như yêu cầu để gần đạt đến các điều kiện sinh lý như chất đệm và điều chỉnh độ pH, chất làm ổn định, chất làm dày, chất bôi trơn và chất tạo màu, v.v.. Nồng độ các chất theo sáng chế trong dược phẩm có thể thay đổi rất lớn, ví dụ, từ nhỏ hơn 0,5%, thường nằm trong khoảng hoặc ít nhất trong

khoảng từ 1% đến 15 hoặc 20% trọng lượng và nồng độ này chủ yếu được chọn dựa trên liều yêu cầu, thể tích chất lỏng, độ nhớt, v.v., theo cách dùng cụ thể được chọn.

Do đó, dược phẩm theo sáng chế để tiêm trong cơ có thể được bào chế sao cho dược phẩm này chứa 1ml nước đệm vô trùng, và giữa khoảng 1ng đến 100mg, ví dụ nằm trong khoảng từ 50ng đến 30mg hoặc tốt hơn nữa là, nằm trong khoảng từ 5 mg đến 25mg, của chất đối vận kháng thể IL-17A theo sáng chế. Tương tự, dược phẩm theo sáng chế để truyền trong tĩnh mạch có thể được bào chế sao cho dược phẩm này chứa 250ml dung dịch Ringer vô trùng, và nằm trong khoảng từ 1mg đến 30mg và tốt hơn là khoảng từ 5mg đến 25mg chất đối vận theo sáng chế. Phương pháp hiện nay để bào chế dược phẩm dùng ngoài ruột là đã biết và được mô tả chi tiết hơn trong, ví dụ, ấn phẩm "Remington's Pharmaceutical Science", 15th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA.

Các chất đối vận kháng thể theo sáng chế có thể được làm khô lạnh để bảo quản và được hoàn nguyên trong chất mang thích hợp trước khi sử dụng. Kỹ thuật này được cho là hữu dụng với việc bào chế protein và globulin miễn dịch thông thường và kỹ thuật làm khô lạnh và tái tạo đã biết có thể được sử dụng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế được mô tả bằng cách viện dẫn đến các ví dụ cụ thể và không giới hạn sau đây.

Ví dụ 1

Nhận dạng các mAb đối kháng kháng IL-17A ở người

Thư viện biểu hiện thể thực khuẩn MorphoSys Human Combinatorial Antibody Library (HuCAL®) Gold (Morphosys AG, Martinsried, Germany) được sử dụng làm nguồn của các mảnh kháng thể ở người và được chọn lọc trong bộ nhớ phụ trong dung dịch. Ở vòng chọn lọc đầu tiên, thư viện phụ được chọn ngược với biến thể A70Q và A132Q IL-17A được gắn thẻ His6 trưởng thành được biotinylat hóa (IL-17Amut6) (SEQ ID NO: 106). Ở vòng thứ hai, sản phẩm mở rộng của vòng 1 được chọn ngược với IL-17Amut6 được gắn thẻ His6 được biotinylat hóa với sự có mặt hoặc vắng mặt của các thành viên của họ IL-17A khác làm đối thủ để cạnh tranh với các kháng thể đặc hiệu với

IL-17A. Sản phẩm mở rộng của vòng 2 được chia thành hai nhóm. Nhóm thứ nhất được đãi như trong vòng 1. Dòng vô tính ở nhóm thứ hai tiếp tục được đa dạng hóa trong HCDR2 hoặc LCDR3, phụ thuộc vào thư viện phụ được sử dụng ở lựa chọn ban đầu, và sau đó được đưa qua hai vòng chọn lọc bổ sung 2 ngược với IL-17A_{mut6} để thu được nguồn dòng vô tính thứ hai để sàng lọc. Fab từ dịch thủy phân của dòng vô tính thu được trong các lỗ của đĩa ELISA được phủ bằng kháng thể kháng Fd ở người ở cừu và được sàng lọc để liên kết với IL-17A_{mut6} được biotinylat hóa. Dịch thủy phân thô của dòng vô tính dương được sàng lọc để ức chế liên kết IL-17A_{mut6} với thụ thể IL-17RA ở người tái tổ hợp (SEQ ID NO: 107).

Các dòng vô tính được chọn để tiếp tục xác định đặc tính làm Fab được tinh chế dựa trên điểm số của trình tự, ái lực, và sự hiện diện của tất cả các họ trong trình tự, và được xác định bằng số MOR. Các biến thể bổ sung đối với MOR7708, MOR7785, MOR7706, MOR7775 và MOR7700 được tạo ra để thay thế Trp hoặc Met có trong HCDR2, HCDR3, hoặc LCDR3. Bảng 3 thể hiện các biến thể được tạo ra.

Bảng 3.

Họ	MOR# gốc	MOR# biến thể	Phép thế		
			HCDR2	HCDR3	HCDR3
2	MOR7708	MOR8297	W57T		
		MOR8298	W57Y		
	MOR7785	MOR8104	W57Y		
		MOR8105	W57Y		
6b	MOR7706	MOR8299		M106I	
		MOR8300		M106L	
		MOR8301		M106T	
	MOR7705	MOR8101		M106I	
		MOR8102		M106L	
		MOR8103		M106T	
19a	MOR7700	MOR8095	M53L		
		MOR8096	M53L		
		MOR8097		M101L	
		MOR8098		M101T	

		MOR8141			M96L
		MOR8142			M96T
		MOR8143			M96Y
		MOR8160		M101T	M96L
		MOR8161		M101T	M96T
		MOR8162		M101T	M96Y
		MOR8302	M53L	M101T	
		MOR8303	M53L	M101T	M96T

Các Fab được thử nghiệm đối với sự ức chế liên kết IL-17Amut6 và cynoIL-17A để tái tổ hợp thụ thể IL-17RA ở người, và liên kết của chúng với IL-17Amut6. Tất cả Fab được thử nghiệm ức chế liên kết IL-17Amut6 và cynoIL-17A với IL-17RA. Ái lực của các Fab đối với IL-17Amut6 được đo bằng cách sử dụng thử nghiệm SET (Bảng 4). Từ các Fab được nhận dạng, các chất thử nghiệm từ các họ 2, 6a, 6b, 19a và 19b được chọn để tiếp tục xác định đặc tính.

Bảng 4.

Họ	MOR#	Kd (SET) (pM)
2	7702	11
	7701	45
	7708	90
	7785	6
	8104	150
	8105	130
	7786	20
6b	7706	90
	7775	44
	8101	150
	8102	130
	8103	89

Họ	MOR#	Kd (SET) (pM)
19a	7700	30
	8095	77
	8096	28
	8097	69
	8098	47
	8141	30
	8142	90
	8143	130
	8160	70

Ví dụ 2

Sự điều chế, sự bố trí và xác định đặc tính của mAb đối kháng kháng IL-17A

MOR# Fabs đã chọn được biến đổi và biểu hiện như mAb trong định dạng IgG1 ở người, và lựa chọn MORmAb tương ứng nhất định. MORmAb đã tạo ra được thử nghiệm đối với khả năng biểu hiện và kết hợp, khả năng ức chế liên kết IL-17A ở người và ở khỉ cyno với IL-17RA ở người, và sự tiết IL-8 từ các tế bào NHDF. Bảng 5 thể hiện các trị số IC50 đối với thử nghiệm chọn lọc cho MORmAb. Không có MORmAb được thử nghiệm nào (MORmAb#s 7702, 7708, 7785, 7786, 7706, 7775, 7700, 8095, 8096, 8097, 8098, 7768) phản ứng chéo với thành viên của họ IL-17 khác.

Bảng 5.

Họ	MORmAb#	IL-17, IC50 (pM) ở người		IL-17, IC50 (pM) ở Cyno
		Ức chế IL-17RA	Tiết IL-8	Ức chế IL-17RA
2	7702	297	6214	209
	7708	284	398	289
	7785	172	196	270
	8104	204	512	306
	8105	538	1168	498
	7786	140	368	59
6b	7706	378	402	961
	7775	138	2244	541
	8101	108	1907	845
	8102	186	24520	838
	8103	167	929	491
19a	7700	99	70	236
	8095	130	121	198
	8096	189	75	58
	8097	178	84	300
	8098	225	146	289
	8141	117	67	1435
	8142	129	79	139
	8143	191	61	252
	7768	456	229	388

Khung bố trí các mAb đôi kháng kháng IL-17A

Dựa trên hoạt tính và các đặc tính hóa sinh và lý sinh, các MORmAb chọn lọc tiếp tục được bố trí trong các vùng biến đổi để thay đổi các gốc của khung nhất định thành các gốc có trong dòng mầm matching ở người và thay đổi các codon thành các codon

xuất hiện thường xuyên nhất trong các protein của động vật có vú được biểu hiện cao. Trong họ 2 VL, các phép thế L11V và V85T (trình tự tuyến tính) được thực hiện, biến đổi khung thành liên kết chính xác với VK-1 dòng mầm Vb-L5 (IGKV1-12*01). Vùng biến đổi làm ví dụ trong đó có các phép thế V11V và V85T là vùng biến đổi có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 76. Trong họ 6a và 6b VL, các phép thế D1E, V59I và T86V được thực hiện (trình tự tuyến tính), biến đổi khung thành liên kết chính xác với Vk-3 dòng mầm Vb-L6 (IGKV3-11*01). Vùng biến đổi làm ví dụ trong đó có các phép thế D1E, V59I và T86V là vùng biến đổi có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 77. Trong họ 6a và 6b VH, phép thế G44S được thực hiện (trình tự tuyến tính) để liên kết Vh-6 dòng mầm Vb 6-01 (IGHV6-1*01). Vùng biến đổi làm ví dụ trong đó có phép thế G44S là vùng biến đổi có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 81. Trong họ 19a và 19b VL, các axit amin 1-3 (DIE) được thế bằng QSV để thay thế điểm đầu cuối N kappa với điểm đầu cuối của chuỗi lamda. Vùng biến đổi làm ví dụ trong đó có phép thế QSV là vùng biến đổi có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 79. Trong họ 19a và 19b VH, phép thế V5L được thực hiện để thu được liên kết chặt với Vh-3 dòng mầm Vb 3-23 (IGHV3-23*01). Tương tự, trong quy trình này, các gốc 353-357 (REEMT) của trình tự axit amin của vùng ổn định chuỗi nặng được thế bằng RDEL T. Vùng biến đổi làm ví dụ trong đó có phép thế V5L là vùng biến đổi có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 86. Chuỗi nặng làm ví dụ tổng đó có các phép thế 353-357 REEMT -> RDEL T của vùng ổn định là chuỗi nặng có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 100. Các kháng thể đã bố trí là các nhóm mAb nhất định.

Sự lựa chọn tương ứng và danh mục trình tự của các vùng biến đổi ban đầu và đã được bố trí và các kháng thể có chiều dài đầy đủ được liệt kê trong Bảng 2. Các trình tự CDR trong mỗi họ được thể hiện trong Fig.1.

Các mAb được xác định đặc tính như nêu trên đối với MORmAbs. Trị số IC₅₀ (pM) được đo bằng cách sử dụng thử nghiệm đã nêu được thể hiện trong Bảng 6.

Bảng 6.

Họ	mAb#	IC ₅₀ (Pm), IL-17A ở người	IC ₅₀ (Pm), IL-17A ở khỉ cyno
----	------	---------------------------------------	--

		Ức chế IL-17RA	Sự sản sinh IL-8	Sự sản sinh IL-6	Ức chế IL-17RA	Sự sản sinh IL-8	Sự sản sinh IL-6
2	mAb624	78	687	234	51	192	687
	mAb3077	118	292	37	54	374	113
	mAb7024	185	693	412	117	2979	999
6b	mAb4538	229	1483	264	636	1754	847
	mAb3584	195	2388	370	489	1253	823
	mAb732	327	2607	560	463	12527	2017
	mAb4168	266	4878	732	764	3301	2172
19a	mAb1926	108	62	35	53	105	67
	mAb7146	143	71	40	67	140	139
	mAb6785	172	95	45	76	563	193

Ái lực của các mAb chọn lọc được đánh giá bằng cách sử dụng Biacore. Kết quả đo được thể hiện trong Bảng 7.

Bảng 7.

Liên kết với IL-17A_{mut6} ở người

Kháng thể	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (pM)	Hệ số tỷ lệ *
mAb7146	4.67×10^6	5.57×10^{-6}	12	2.1
mAb6785	3.80×10^6	6.98×10^{-5}	18	2.1
Fab6486	3.14×10^6	1.23×10^{-4}	39	1.1
mAb5548	3.63×10^6	1.45×10^{-4}	40	2.1
mAb1926	4.43×10^6	3.41×10^{-5}	8	2.1

Liên kết với IL-17A ở khỉ cyno

Kháng thể	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (pM)	Hệ số tỷ lệ *
mAb7146	2.23×10^6	1.12×10^{-4}	50	2
mAb6785	1.80×10^6	2.67×10^{-4}	148	2.2
Fab6486	1.60×10^6	3.28×10^{-4}	205	1.1
mAb5548	1.61×10^6	3.62×10^{-4}	225	1.9
mAb1926	2.77×10^6	5.11×10^{-5}	18	2.3

*Dime/kháng thể kháng IL-17

Kháng thể kháng IL-17 ức chế sự tiết xytokin trong tế bào NHBE

IL-17A được cho là điều hòa chứng viêm do bạch cầu đa nhân trung tính ở phổi, dấu hiệu nhận dạng bệnh hen nặng như COPD, do IL-17A gây ra có khả năng làm giảm các yếu tố quan trọng trong sự bổ sung, sự tồn tại và sự hoạt hóa bạch cầu trung tính (ví dụ, IL-6, IL-8, GM-CSF). Để xác định các kháng thể kháng IL-17A theo sáng chế có thể ức chế sự thay đổi do IL-17A gây ra trong các tế bào ở phổi hay không, thì các tế bào tế bào biểu mô phế quản ở người (human bronchial epithelial - NHBE) được kích thích bằng IL-17A ở người trong 48 giờ với sự có mặt của mAb6785. MAb6785 ức chế sự sản sinh GM-CSF và IL-6 do IL-17A gây ra bởi các tế bào NHBE với $IC_{50}=619,0 \pm 64,0$ pM và 564 ± 86 pM tương ứng.

Kháng thể kháng IL-17 ức chế hoạt tính sinh học của heterodime IL-17A/F

Các tế bào nguyên bào sợi ở da ở người thông thường (Normal Human Dermal Fibroblasts-NHDF; Lonza) được gieo trong đĩa nuôi cấy mô đáy bằng có 48 lỗ với tỷ lệ là 10,000 tế bào/lỗ trong môi trường FGM-2 (Lonza) và được ủ qua đêm (37° , 5% CO_2). Sau khi ủ, 50 ng/mL nồng độ cuối (1.47 nM) của heterodime rhIL-17A/F (R&D Systems) được ủ trước với nhóm pha loãng mAb6785 (30 μ g/mL – 0,5 ng/mL) hoặc các kháng thể trong 10 phút ở nhiệt độ trong phòng, và được bổ sung vào các tế bào. Các tế bào được ủ trong 4 giờ (37° , 5% CO_2) và dịch nổi nuôi cấy được thu gom và thử nghiệm bằng ELISA đối với hàm lượng IL-6 sử dụng bộ kép IL-6 ở người (R&D Systems, Inc.) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các trị số IC_{50} được xác định bằng phương pháp hồi quy phi tuyến tính sử dụng phần mềm GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc). MAb6785 ức chế sự sản sinh IL-6 do heterodime IL-17A/F tạo ra bởi NHDF với $EC_{50} 2 \pm 2,5$ nM.

Phương pháp

Xác định ái lực mức picomole bằng cách sử dụng chuẩn độ cân bằng dung dịch (Solution Equilibrium Titration - SET)

Để xác định K_D bằng chuẩn độ cân bằng dung dịch (SET), các phân monome (ít nhất 90% hàm lượng monome, được phân tích bởi SEC; Superdex75 column, GE) của protein Fab được sử dụng.

Tiến hành xác định ái lực dựa trên điện hóa phát quang (Electrochemiluminescence - ECL) trong dung dịch và đánh giá dữ liệu về cơ bản như nêu trên (Haenel và các đồng tác giả, Anal Biochem 339:182-4, 2005). Nồng độ cố định đã xác định của Fab tinh chế (~10-100 pM) được ủ với nồng độ tăng dần của IL-17Amut6 (nồng độ cao nhất là 5 nM) trong dung dịch cho đến khi thu được trạng thái cân bằng hóa học. Xác định số lượng Fab không liên kết trong các mẫu dung dịch được truyền đến đĩa vi độ chuẩn 384 lỗ Streptavidin MSD (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD) với được phủ được biotinylat hóa IL-17Amut6. Để dò tìm, kháng thể kháng Fab/IgG ở người được đánh dấu phức hợp ruteni được sử dụng và đọc các đĩa bằng Sector™ Imager 6000 (MSD). Đường cong chuẩn độ (nồng độ của Fab tự do có chức năng là nồng độ của kháng nguyên) được vẽ đồ thị và phù hợp với phần mềm Excel / XLfit sử dụng mẫu được mô tả dưới đây.

Để đánh giá dữ liệu nhằm xác định K_D của các phân tử Fab, mẫu phù hợp sau đây được sử dụng (được cải biến theo Abraham và các đồng tác giả J Mol Recognit. 9:456-461, 1996):

$$y = B_{\max} - (B_{\max} / (2 * c_{\text{Fab}}) * (x + c_{\text{Fab}} + K_D - \sqrt{((x + c_{\text{Fab}} + K_D) * (x + c_{\text{Fab}} + K_D) - 4 * x * c_{\text{Fab}})}))$$

Trong đó:

$B_{\max}$: tín hiệu liên kết tối đa (với nồng độ kháng nguyên = 0)

c_{Fab} : nồng độ Fab được sử dụng

x : tổng nồng độ kháng nguyên có thể hòa tan được sử dụng (vị trí liên kết)

$\sqrt{}$: gốc vuông

K_D : hằng số phân ly cân bằng

Ức chế liên kết IL-17A với IL-17RA (ví dụ, thử nghiệm “ức chế IL-17RA”

Đĩa maxisorp sạch được được phủ bằng 100 μl /lỗ chứa 2,5 $\mu\text{g/ml}$ ở người IL-17RA-Fc (R&D Systems, Minneapolis, MN) trong 0,1 M natri cacbonat-chất đệm bicarbonat, độ pH 9,4 và được ủ qua đêm ở nhiệt độ 4°C. Sau khi phong bế và rửa, 25 ng/ml IL-17mut6 ở người được biotinylat hóa (SEQ ID NO: 106) hoặc IL-17A ở khi

cynomolgus (SEQ ID NO: 108) được ủ trước bằng mAb đã thử nghiệm hoặc mAb đối chứng (nồng độ cuối từ 30 đến 0 $\mu\text{g/ml}$) trong thể tích kết hợp là 100 μl trong thời gian từ 5 đến 10 phút, và sau đó được bổ sung vào các đĩa. Tín hiệu được dò tìm với 100 μl dung dịch 1:10,000 của 1 mg/ml SA-HRP (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ trong phòng (RT) tiếp theo là 100 μl /lỗ chất nền OPD (Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO). Các đĩa được đọc ở 492 nm (Envision, PerkinElmer, Waltham, MA). Liên kết Fab với IL-17RA được thử nghiệm như đã mô tả đối với các mAb.

Ức chế sự sản sinh IL-8 và IL-6 từ tế bào NHDF (ví dụ thử nghiệm “sự sản sinh IL-8” và “sự sản sinh IL-6”)

Hiệu quả của sự ức chế các mAb kháng IL-17A lên sự sản sinh IL-8 và IL-6 được đánh giá trong các nguyên bào sợi trong da ở người thông thường (NHDF). Các tế bào được dần mỏng trong đĩa nuôi cấy mô đáy bằng có 48 lỗ với $0,1 \times 10^5$ tế bào/lỗ, 250 μl /lỗ trong môi trường FGM-2 và được ủ qua đêm (37° , 5% CO_2). Sau khi ủ, 0,1 ng/ml TNF- α ở người được bổ sung vào tất cả các lỗ. 10 ng/ml IL-17mut6 hoặc 25 ng/ml IL-17A ở khi cynomolgus được ủ trước bằng các mAb đã thử nghiệm hoặc các mAb đối chứng (nồng độ cuối từ 30 đến 0 $\mu\text{g/ml}$) trong thể tích kết hợp 250 μl trong thời gian 10 phút ở nhiệt độ trong phòng, và sau đó được bổ sung vào 250 μl tế bào. Ở các thử nghiệm, các mẫu IL-17mut6 mà không có kháng thể bổ sung là các mẫu đối chứng, còn các mẫu bao gồm TNF- α hoặc môi trường nuôi cấy là các mẫu đối chứng âm. Các tế bào được ủ trong thời gian 24 giờ (37° , 5% CO_2) và môi trường điều kiện được thu gom và thử nghiệm bằng ELISA đối với IL-6 và IL-8 sử dụng hai bộ ELISA IL-6 & IL-8 ở người theo hướng dẫn của nhà sản xuất (R&D Systems, Minneapolis, MN). Các fab được thử nghiệm như được mô tả đối với các mAb.

Ức chế sự sản sinh IL-6 và G-CSF từ tế bào NHBE

Tế bào biểu mô phế quản ở người (Normal human bronchial epithelial: NHBE; Lonza) các tế bào được gieo ở 20,000 tế bào/lỗ trong môi trường BEGM (Lonza) và được ủ qua đêm (37° , 5% CO_2). Sau khi ủ, các tế bào được kích thích bằng IL-17Amut6 trong thời gian 48 giờ với sự có mặt của các kháng thể đã thử nghiệm trong khoảng nồng độ

(30 $\mu\text{g/mL}$ – 0,5 ng.mL). Dịch nổi được thu gom sau khi ủ và được thử nghiệm đối với hàm lượng IL-6 hoặc G-CSF sử dụng ELISA đặc hiệu IL-6 hoặc G-CSF ở người (R&D Systems, Inc.). Trị số IC₅₀ được xác định bằng phương pháp hồi quy phi tuyến tính sử dụng phần mềm GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc.).

Tính phản ứng chéo với thành viên họ IL-17A

Đĩa maxisorp sạch được phủ với 100 μL /lỗ chứa 5 $\mu\text{g/mL}$ mAb hoặc mAb đối chứng lớp kháng thể trong PBS, và được ủ qua đêm ở nhiệt độ 4°C. Các đĩa được phong bế với 200 μL /lỗ trong thời gian 1 giờ với chất đệm phong bế ELISA (1% BSA, 5% Sucroza trong PBS với 0,05% NaN_3) và được rửa ba lần bằng chất đệm rửa (PBS, 0,01% Tween-20). Các xytokin cạnh tranh được xác định độ chuẩn trong chất đệm pha loãng thử nghiệm (1% BSA trong PBS) với nồng độ cuối là 2x, và xytokin được biotinylat hóa được bào chế với nồng độ cuối là 2x. 100 μL xytokin có nồng độ cuối là 2x được trộn (nồng độ cuối là 30-0 $\mu\text{g/mL}$) với 100 μL IL-17mut6 được biotinylat hóa có nồng độ cuối là 2x (nồng độ cuối 25 ng/mL) trong chất đệm thử nghiệm. IL-23 tái tổ hợp ở người (R&D Systems, Minneapolis, MN) được sử dụng làm mẫu đối chứng âm, mẫu chỉ có chất đệm làm mẫu đối chứng nền, và IL-17mut6 làm mẫu đối chứng dương. Bổ sung gấp đôi 100 μL /lỗ của hỗn hợp xytokin/IL-17mut6 được biotinylat hóa vào đĩa và được ủ trong thời gian 1-2 giờ. Các đĩa được rửa ba lần bằng chất đệm rửa, và được ủ với 100 μL chất pha loãng 1:10,000 SA-HRP 1 mg/mL (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ trong phòng. Các đĩa được rửa ba lần bằng chất đệm rửa ELISA. Sau khi rửa, bổ sung 100 μL /lỗ chất nền OPD (Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO) vào mỗi lỗ và ủ cho đến khi thấy sự thay đổi màu sắc thích hợp. Ngừng phản ứng bằng cách bổ sung 50 μL axit sulfuric 2N, và các đĩa được đọc ở 492 nm sử dụng dụng cụ Envision.

Đo ái lực – thử nghiệm Biacore

Thực hiện đo ái lực sử dụng Cộng hưởng Plasmon bề mặt (Surface Plasmon Resonance - SPR) bằng cách sử dụng bộ cảm biến sinh học và quang học Biacore 3000 (Biacore). Các Fab (~30 RU) hoặc mAb (~50 RU) đã chọn thu được trong bề mặt chip cảm biến bằng cách sử dụng kháng thể kháng Fd ở cừu hoặc kháng thể kháng Fc ở người

để thu được Fab hoặc mAb tương ứng. Sau khi thu được Fab hoặc mAb, tiến hành tiêm huIL-17mut6 hoặc cyno IL-17A trong dung dịch (0,2 đến 49 nM).

Ví dụ 4

Nhận diện epitop

Các epitop kháng thể được suy luận bằng sự kết hợp của liên kết cạnh tranh, phân tích trao đổi H/D, và đồng cấu trúc kháng thể-IL-17A (xem Ví dụ 5). Sau khi các kháng thể được sử dụng: mAb1926, MORmAb7700, MORmAb7706, MORmAb7708, mAb7357 (kháng thể trung hòa kháng IL-17A ở người ở chuột nhắt có nguồn gốc từ tế bào lai C1863), mAb2832 (kháng thể trung hòa kháng IL-17A ở người được thí nghiệm trên chuột nhắt/người có nguồn gốc từ tế bào lai C1861), mAb317 (kháng thể kháng IL-17A ở người ở chuột nhắt, R&D Systems, Minneapolis, MN) và mAb3171 (kháng thể kháng IL-17A ở người ở chuột nhắt, R&D Systems, Minneapolis, MN), và mAbEIO16-7178 (kháng thể kháng IL-17A ở người ở chuột nhắt, e-Bioscience, San Diego, CA). Ba kháng thể này thể hiện mức độ hoạt tính trung hòa khác nhau.

Liên kết Epitop có cạnh tranh

Đối với liên kết ELISA cạnh tranh, 5 μ l (20 μ g/ml) của protein IL-17Amut6 was được phủ trên đĩa MSD HighBind (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD) với mỗi lỗ trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung 150 μ l chứa 5% chất đệm A chất phong bế MSD (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD) vào mỗi lỗ và được ủ trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Các đĩa được rửa bằng chất đệm HEPES 0,1 M (pH 7,4). Kháng thể đã đánh dấu (thuốc nhuộm huỳnh quang MDS), 10 nM, được ủ với nồng độ gia tăng của các kháng thể cạnh tranh (1 nM - 2 μ M), và bổ sung 25 μ l hỗn hợp vào các lỗ được xác định. Sau khi ủ trong thời gian 2 giờ, lắc nhẹ ở nhiệt độ trong phòng, các đĩa được rửa như trên, bổ sung 150 μ l chất đệm đọc MSD T được pha loãng, và các đĩa được đọc bằng MDS Sector Imager 6000.

Tiến hành thử nghiệm với mAb1926, mAb317, mAb3171, hoặc mAb7357 được đánh dấu (Fig.4). Dựa trên các thử nghiệm cạnh tranh, kháng thể kháng IL-17A được chia thành bốn thùng khác nhau. Thùng A: mAb1926, MORmAb7706, và

MORmAb7708; thùng B: eBio16-7178 và mAb7357; thùng C: mAb317; thùng D: mAb3171.

Phân tích trao đổi H/D

Đối với trao đổi H/D, quy trình được sử dụng để phân tích sự nhiễu loạn kháng thể tương tự như quy trình được mô tả trước đó (Hamuro và các đồng tác giả, J. Biomol. Techniques, 14:171–82, 2003; Horn và các đồng tác giả, Biochemistry, 45: 8488-98, 2006) trong đó có một số cải biến. IL-17Amut6 tái tổ hợp (được biểu hiện trong tế bào HEK293E với His-tag đầu cuối C) được ủ trong dung dịch nước có deuteri trong thời gian được xác định trước thu được hỗn hợp deuteri trong nguyên tử hydro có thể trao đổi. IL-17Amut6 có deuteri thu được trên cột chứa các mAb kháng IL-17A riêng lẻ được cố định và sau đó được rửa bằng chất đệm nước. Protein IL-17Amut6 trao đổi ngược được tách rửa từ cột và vị trí của deuteri chứa các mảnh được xác định bằng thủy phân proteaza và phân tích khối phổ. Các vùng liên kết với kháng thể này được suy luận là các vị trí được bảo vệ tương đối từ sự trao đổi và do đó chứa phần deuteri cao hơn, so với IL-17Amut6 không phức hợp với kháng thể. Sơ đồ nhiễu loạn trao đổi H/D của IL-17Amut6 được thể hiện trong Fig.5. Các số trên đầu thanh dùng để chỉ các gốc IL-17Amut6.

MORmAb7700, MORmAb7706 và MORmAb7708 thể hiện mức độ biến đổi của sự trao đổi vi sai đối với ba mảnh của IL-17A (SEQ ID NO: 105) ₄₅NRSTSPWNLH₅₄ (SEQ ID NO: 159), ₅₆NEDPERYPSVIWE₆₈ (SEQ ID NO: 157) và ₁₀₀RREPPHCPNSFRLEKIL₁₁₆ (SEQ ID NO: 158), biểu thị sự bảo vệ bởi các kháng thể. Mảnh ₅₆NEDPERYPSVIWE₆₈ (SEQ ID NO: 157) được bảo vệ mạnh bởi MORmAb7708, được bảo vệ yếu bởi MORmAb7700, và không được bảo vệ bởi MORmAb7706. Sự xếp chồng trong các mẫu bảo vệ mảnh của các kháng thể này phù hợp với sự ức chế chéo của chúng trong các thử nghiệm cạnh tranh nêu trên.

Đối với mAb7357 và mAb eBio16-7178, quan sát thấy sự bảo vệ mạnh cho ₇₁CRHLGCINADGNVDYHM₈₇ (SEQ ID NO: 160) phù hợp với sự ức chế chéo của chúng trong thử nghiệm cạnh tranh nêu trên. Quan sát thấy sự trao đổi chênh lệch, yếu và do đó không đem lại kết quả cho các mảnh với mAb7357, mAb2832, mAb317 và mAb3171.

Nghiên cứu trao đổi H/D xác định vị trí liên kết cho hai trong số bốn nhóm cạnh tranh nêu trên. Các kháng thể thùng A (MORmAb7700, MORmAb7706 và MORmAb7708) được liên kết trong vùng có các mảnh peptit $_{45}\text{NRSTSPWNLH}_{54}$, (SEQ ID NO: 159), $_{56}\text{NEDPERYPSVIWE}_{68}$ (SEQ ID NO: 157) và $_{100}\text{RREPPHCPNSFRLEKIL}_{116}$ (SEQ ID NO: 158), của SEQ ID NO: 105, và các kháng thể thùng B (mAb7357 và mAbEbio16-7178) được liên kết trong vùng có mảnh peptit $_{71}\text{CRHLGCINADGNVDYHM}_{87}$ (SEQ ID NO: 160). mAb317 và mAb3171 được liên kết với các vị trí khác nhau và từ các kháng thể thùng A và thùng B. Tuy nhiên, tín hiệu yếu trong nghiên cứu trao đổi H/D với cả hai kháng thể không đem lại đủ dấu hiệu để xác định vị trí các epitop trên IL-17A.

Ví dụ 5

Cấu trúc đồng tinh thể của kháng thể IL-17A và kháng thể kháng IL-17A

Đồng cấu trúc của IL-17A_{mut6} với Fab6468, Fab được gắn thẻ His6 tái tổ hợp của mAb6785, được xác định bằng tinh thể học tia X. Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ Fab6468 được thể hiện trong SEQ ID NO: 90, và trình tự axit amin chuỗi nặng được thể hiện trong SEQ ID NO: 111. Ở Ví dụ 5, các gốc axit amin của IL-17A dùng để chỉ các gốc theo SEQ ID NO: 105, và các gốc Fab6468 dùng để chỉ các gốc của vùng biến đổi chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 79 và các gốc của vùng biến đổi chuỗi nặng theo SEQ ID NO: 86. Sự biểu hiện, sự gấp lại và sự tinh chế của IL-17A_{mut6} ở người tái tổ hợp được mô tả (Wu và các đồng tác giả, Xytokin, ePub ahead of print Jul29). Fab6468 được biểu hiện trong tế bào HEK-293F và được tinh chế bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp được mô tả (Zhao và các đồng tác giả, Protein Expr Purif, 67:182-9, 2009).

Sự kết tinh của phức hợp IL-17A/Fab6468

Phức hợp IL-17A/Fab6468 được bào chế bằng cách trộn IL-17A_{mut6} và Fab6468 với tỷ lệ 1:1.1 mol trong MES 20 mM pH 6,5, NaCl 0,2 M, và 10% glyxerol và được ủ qua đêm ở nhiệt độ 4°C. Phức hợp được tinh chế từ Fab không phức tạp quá mức bằng cách sử dụng sắc lý loại trừ kích thước (size exclusion chromatography: SEC) trên cột Superdex 200 10/300 GL (GE Healthcare, Piscataway, NJ) trong MES 20 mM pH 6,5,

NaCl 0,2 M, và glyxerol 10%. Các phần tương ứng với phức hợp được gộp lại và được cô đặc bằng dụng cụ Amicon Ultra 10000 MWCO đến 4,6 mg/ml.

Sự sàng lọc kết tinh tự động hóa được thực hiện bằng cách sử dụng robot kết tinh protein tự động Oryx4 (Douglas Instruments, East Garston, UK) phân bố đều thể tích protein và dung dịch chứa dưới định dạng giọt liên tục sử dụng đĩa Corning 3550 (Corning Inc., Corning, NY). Sự sàng lọc ban đầu được thực hiện bằng Hampton Crystal Screen HT (HR2-130, Hampton Research) và các tinh thể dạng kim tạo ra từ một số điều kiện chứa amoni sulfat, PEG với độ pH 4,5-4,6. các tinh thể nhỏ này được sử dụng để tạo ra khối hạt để sàng lọc chất nền vi hạt (microseed-matrix screening: MMS) (D'Arcy và các đồng tác giả, Acta Crystallographica Section D, 63:550-4, 2007). Các tinh thể chất lượng nhiều xạ thu được từ sự sàng lọc MMS trong Natri Axetat 0,1 M pH 5,5, 12% PEG MME 5000 và Lithi Sulfat 0,2 M.

Thu thập dữ liệu tia X của phức hợp IL-17A/Fab6468

Đối với sự thu thập dữ liệu tia X, tinh thể được was được bọc trong vài giây trong rượu gốc được bổ sung với 24% glyxerol, và được làm đông lạnh nhanh trong dòng khí nitơ ở 95°K. Dữ liệu nhiễu xạ tia X được thu gom và xử lý bằng cách sử dụng máy phát tia X Rigaku MicroMaxTM-007HF microfocus sử dụng quang học đồng tâm OsmicTM VariMaxTM, thiết bị dò Saturn 944 CCD, và hệ thống làm lạnh cryo X-streamTM 2000 (Rigaku, Woodlands, TX). Cường độ nhiễu xạ được dò tìm qua vòng quay tinh thể 254° với thời gian phơi sáng là 3 phút/ảnh nửa độ đến độ phân giải tối đa là 2,2 Å. Dữ liệu tia X được xử lý bằng chương trình D*TREK (Pflugrath, J., Acta Crystallographica Section D, 55:1718-25, 1999). Tinh thể này thuộc nhóm đối xứng đơn nghiêng P2₁ với a=73,40 Å, b=64,04 Å, c=145,61 Å và β=95,39°. Thống kê dữ liệu tia X được thể hiện trong Bảng 8.

Bảng 8.

Bước sóng (Å)	1,5418
Nhiệt độ (K)	95
Khoảng quay (°)	254

Nhóm đối xứng	P2 ₁
Trục tế bào đơn vị (Å)	73,40, 64,04, 145,61
Góc tế bào đơn vị (°)	90, 95.39, 90
Phân tử/đơn vị không đối xứng	IL-17 dime + 2 Fab
V _m (Å ³ /Da)	2,76
Hàm lượng dung môi (%)	55
Độ phân giải (Å)	73-2,2 (2,28-2,20)*
Số lượng phản chiếu đo được	251,653 (16,276)
Số lượng phản chiếu đơn nhất	61,776 (5,947)
Hoàn thành (%)	89,8 (86,9)
Còn dư	4,1 (2,7)
Hợp nhất R	0,151 (0,353)
<I/σ>	5,6 (1,9)
Hệ số B (Wilson) (Å ²)	33,3

* Trị số đối với cấu trúc phân giải cao nhất ở trong ().

Xác định cấu trúc

Cấu trúc tinh thể của IL-17A/Fab6468 được xác định bằng sự thay thế phân tử bằng cách sử dụng Phaser (Read, Acta Crystallogr D Biol Crystallogr, 57:1373-82, 2001). Các mẫu nghiên cứu là IL-17F (PDB ID 1JPY) (Hymowitz và các đồng tác giả, EMBO J., 20:5332-41, 2001) và mẫu đồng đẳng đối với Fv (VH/VL), được tạo ra dựa trên kháng thể kháng IL-13 CNT0607 (PDB ID 3G6A) (Teplyakov và các đồng tác giả, J. Mol. Biol. 389:115-23, 2009) đối với cả VH và VL, sử dụng Modeller (Accelrys, CA). Hai miền bất biến CL/CH1 được lấy từ PDB ID 8FAB (Strong và các đồng tác giả, Biochemistry, 30:3739-48, 1991). Tiến hành lọc cấu trúc bằng PHENIX (Adams và các đồng tác giả, J. Synchrotron. Radiat. 11:53-5, 2004). Cấu trúc đối xứng phi tinh thể bậc hai ban đầu được ép chặt trong giai đoạn đầu của quá trình sàng lọc nhưng được giảm bớt ở các giai đoạn cuối dựa trên R_{tự do}. Tiến hành điều chỉnh mẫu và tái tạo thủ công bằng cách sử dụng COOT (Emsley và các đồng tác giả, Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr. 60:2126-32, 2004). R_{tinh thể} và R_{tự do} ở giai đoạn cuối tương ứng là 23,4% và 29,7%, thu

được tất cả 61,706 phản chiếu độc lập với 2,2Å. Thống kê sàng lọc được thể hiện trong Bảng 9.

Bảng 9.

Việc lọc cấu trúc

Độ phân giải (Å) 73-2,2 (2,234-2,2)

$R_{\text{tinh thể}}/R_{\text{tự do}}(\%)^b$ 23,4/29,7 (27,2/37,7)

Số lượng phản chiếu

Bộ hoạt động 58,570

Bộ thử nghiệm (5% dữ liệu) 3,136

Rmsd từ trị số lý tưởng

Chiều dài kết dính (Å) 0,007

Góc kết dính (°) 1,1

Hệ số B trung bình (Å²) 28,0

Số lượng nguyên tử protein 7,994

Số lượng dung môi (nước + ion) 864

Sơ đồ Ramachandran ^c

Các vùng ưu tiên nhất (%) 90,5

Vùng cho phép bổ sung (%) 8,6

Vùng cho phép rộng 0,2

Vùng không cho phép (%) 0,7

Cấu trúc của phức hợp IL-17A/Fab6468

Cấu trúc của phức hợp được xác định đến độ phân giải cao (~ 2,2 Å). IL-17A là homo-dime gần như đối xứng trong tinh thể và liên kết hai phân tử Fab. Tương tác kháng thể-kháng nguyên kỵ nước với mức độ lớn và tương phản với hầu hết các kháng thể, CDR chuỗi nhẹ tạo ra nhiều tiếp điểm quan trọng. Cấu trúc phân tử tổng thể của phức hợp IL-17A/Fab6468 được thể hiện trong Fig.6A. Monome của IL-17A dime mang cấu trúc liên kết thắt nút xystin tổng thể (Fig.6B). Hai monome tương tự α RMSD 0,54 Å đối với 77 nguyên tử α trục chính. Toàn bộ cấu trúc thắt nút xystin của monome IL-17A tương tự như cấu trúc của IL-17F với rmsd là 0,71 Å đối với 76 nguyên tử α (Fig.6B).

Mỗi monome IL-17A được làm ổn định bởi ba liên kết disulfua. Đối với chuỗi B, quan sát thấy ba liên kết disulfua trong chuỗi ($C^{10}-C^{106}$, $C^{71}-C^{121}$, $C^{76}-C^{123}$), trong khi đó đối với chuỗi $C^{10}-C^{106}$, không quan sát thấy liên kết disulfua do sự rối loạn trong các mảnh của monome. Hai liên kết disulfua sau ($C^{71}-C^{121}$, $C^{76}-C^{123}$) làm ổn định cấu trúc thắt nút xystin, tương tự như IL-17F và NGF. Mẫu cấu trúc đối với chuỗi B của IL-17A bao gồm tất cả các góc 10-128 (các góc 1-9 bị rối loạn), trong khi đó, đối với các góc của chuỗi A, chỉ quan sát thấy các góc 21-29, 41-104 và 109-127 và các góc 1-20, 30-40, 105-108 và 128 khác không quan sát thấy do sự rối loạn trong cấu trúc. Đối với hai Fab, các góc 1-2 của cả hai chuỗi nhẹ bị rối loạn hoặc có mật độ electron yếu. Ba góc đầu cuối C của cả chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, bao gồm liên kết disulfua trong chuỗi cũng như His tag trên chuỗi nặng bị rối loạn.

Mảnh đầu cuối N được sắp xếp trình tự của IL-17A (chuỗi B) bao gồm nguyên tố xoắn ốc ngắn (các góc 8-12). Nó gập ngược hướng về vòng 3-4 của monome tương tự và tạo ra liên kết disulfua trong chuỗi ($C^{10}-C^{106}$). Ngược lại, mảnh tương đương của IL-17F vượt quá monome khác của dime và tạo ra liên kết disulfua trong chuỗi và nối hai monome đồng hóa trị. Các phần được sắp xếp trình tự của mảnh 17-39 của hai monome IL-17A được trao đổi, như trong IL-17F. Sự trao đổi này dẫn đến sự giao nhau đối với các phần này của IL-17A dime. Khi kết hợp với liên kết disulfua trong phân tử ($C^{10}-C^{106}$), hai mảnh đầu cuối N của IL-17A tạo ra hai monome cài vào nhau, làm tăng dime bên ngoài của 26 kD trên SDS-PAGE không giảm.

Dime của IL-17A gần như đối xứng qua bốn sợi β chính (các sợi từ 1 đến 4) (Fig.6C). α rmsd đối với 76 góc là 0,71 Å. Tính bất đối xứng nhẹ là do hai nguồn. Thứ nhất, chuỗi bao gồm nhiều mảnh rối loạn, chủ yếu trong điểm đầu cuối N. Chỉ sợi β ngắn (sợi 0, các góc 22-26) được sắp xếp trình tự, trong khi đó các góc 10-40 của chuỗi B được sắp xếp trình tự với mảnh hình xoắn ốc (các góc 12-16) và sợi β (sợi 0, các góc 21-25). Thứ hai, khi bốn sợi β chính được thắt nút xystin của hai monome (40-128) của IL-17A liên quan đến đối xứng bậc 2 của vòng quay, phần được sắp xếp trình tự của sợi 0 không chồng khít khi thân chính được phủ (không được thể hiện). Liệu đây là sản phẩm nhân tạo của quá trình gập lại protein hay sự bố trí này tồn tại sẵn trong tự nhiên, điều này vẫn chưa rõ ràng khi chưa có nghiên cứu tiếp theo. Hoạt tính sinh học của các loài

này tương tự như hoạt tính sinh học của IL-17A từ nguồn thương mại (còn được tạo ra trong *E. coli*) (R&D Systems, Minneapolis, MN) chỉ ra rằng liên kết disulfua trong hoặc ngoài chuỗi đối với C¹⁰-C¹⁰⁶ không quan trọng đối với thụ thể liên kết của nó. Tuy nhiên, cấu trúc này chỉ ra rằng các mảnh đầu cuối N (1-20) và (30-39) rất linh hoạt và cấu trúc của chúng không ảnh hưởng đến hoạt tính của IL-17A dime được gập.

Epitop và paratop

Các gốc có trong liên kết giữa IL-17A và Fab6468 được liệt kê trong Bảng 10. Do không quan sát thấy các gốc trong protome ở IL-17A và đặc tính bất đối xứng nhẹ của IL-17A dime, tất cả các gốc epitop từ hai vị trí tiếp xúc không giống nhau (Bảng 10 và Fig.7). Tuy nhiên, bộ lõi của các gốc cũng như sự tương tác của chúng giống nhau. Các gốc này là L26, R55, E57, P59, E60, R61, Y62, S64, V65, W67, R101, E102, P103 và F110 của IL-17A SEQ ID NO: 105 (được đánh dấu màu đen trong Bảng 10), và chúng tạo thành lõi epitop đối với Fab6468.

Bảng 10. Các gốc epitop lõi được đánh dấu màu đen. Các gốc paratop lõi được bôi đậm. Các gốc paratop mở rộng được thể hiện trong ngoặc đơn.

VL	epitop IL-17A trên monome B	VH	VL	epitop IL-17A trên monome A	VH
(D25)	F18				
(F93)	P19				
(F93)	V22				
F93	L26		F93	L26	
			(N26)	N27	
			(D29), (F93)	I28	
(D29)	H29		(G28)	N30	
			(D50), (I51), (Y31)	N36	
			(I51), (D52), (D49), (Y31)	R39	
D49	R55 E57	T101, Q99 L100, Q99, T101	(Y48), D49	R55 E57	T101, Q99 L100, Q99, T101
Y90, F92	P59	Y59, (L100)	Y90, F92	P59	(S52), Y59
F92	E60	Y59, F57, S52, T54	F92	E60	Y59, F57, S52, T54
F92	R61		F92	R61	
F92	Y62		F92, (F93), (D29)	Y62	
Y90	S64		Y90	S64	(L100)
Y31	V65		Y31, (D49)	V65	
D49, (Y31)	W67		D49, (D52), (Y48)	W67	
	L99		(F93)	L99	
F92, Y90	R101	F57, Y59	Y90, F92	R101	F57, Y59
	E102	F57		E102	F57
	P103	F57		P103	F57
	P104			P104	(G56)
F92	F110		F92, (F93)	F110	

Tương tự, các gốc tiếp xúc từ các kháng thể ở hai vị trí đều không giống nhau. Các gốc có trong các điểm tiếp xúc giống nhau với các gốc epitop lõi được đề cập đến như “paratop lõi”, bao gồm các gốc sau: Chuỗi nhẹ (LC): Y31, D49, Y90, F92, F93 (SEQ ID NO: 79); và chuỗi nặng (HC): S52, T54, F57, Y59, Q99, L100 và T101 (SEQ ID NO: 86) (Bảng 10). Các gốc paratop lõi được bôi đậm trong Bảng 10. Các gốc “paratop mở rộng” bổ sung được nhận dạng trong một monome liên kết với gốc IL-17A đặc hiệu được thể hiện trong ngoặc đơn.

Dữ liệu bảo vệ H/D đối với MORmAb7700 giống với nghiên cứu đồng tinh thể, bởi vì tất cả các gốc epitop lõi được nhận dạng ở cấu trúc đồng tinh thể ngoại trừ L26 đều nằm trong hoặc ở đường biên của hai mảnh được bảo vệ được nhận dạng bởi trao đổi H/D, ₅₆NEDPERYPSVIWE₆₈ (SEQ ID NO: 157) và ₁₀₀RREPPHCPNSFRLEKIL₁₁₆ (SEQ ID NO: 158) đối với MORmAb7700. Tất cả dẫn xuất của kháng thể MORmAb7700, bao gồm MORmAb8302 và mAb1926, được giả định là có tính đặc hiệu liên kết như Fab6468 bởi vì chúng khác nhau nhất bởi một gốc ở vùng VH đầu cuối N (xem Ví dụ 1), 3 gốc ở điểm đầu cuối N của VL (xem Ví dụ 1), và 3 gốc CDR (mỗi gốc trong H2, H3 và L3, Bảng 1a), mà không gốc nào là một phần của paratop kháng thể.

Cấu trúc IL-17A có đặc tính theo sáng chế tương tự với cấu trúc đã được công bố trước đây, khác biệt ở chỗ do không quan sát thấy các mảnh, nên khoang túi P2 (xem dưới đây) không được nhận dạng trước đó (cấu trúc 2VXS, sẵn có tại ngân hàng dữ liệu Protein DataBank <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>; Gerhardt và các đồng tác giả, J. Mol. Biol. 394:905-21, 2009).

Cấu trúc tinh thể của IL-17F ở người trong phức hợp với IL-17RA đã được công bố (Ely và các đồng tác giả, Nat. Immunology, 10:1245-51, 2009). Do có sự giống nhau về trình tự và cấu trúc giữa IL-17A và IL-17F, IL-17A có khả năng sẽ tương tác với IL-17RA với IL-17F theo cách tương tự. Thu được mẫu phân tử bằng cách phủ cấu trúc IL-17A trong phức hợp với Fab6468 trong nghiên cứu này lên trên IL-17F trong phức hợp IL-17F/IL-17RA đã công bố chỉ ra rằng các mảnh của Fab6468 sẽ có các va chạm không gian với IL-17RA. Một mảnh khoanh vùng quanh môtip FF (các gốc 92 và 93 của SEQ ID NO: 79) ở chuỗi nhẹ CDR3 của Fab6468. Do đó, sáng chế không bị giới hạn bởi lý

thuyết cụ thể bất kỳ, Fab6468 được chỉ ra rằng sẽ ức chế chức năng IL-17A bằng cách phong bế tương tác của nó với IL-17RA và bằng vùng tương đồng, IL-17RC, mặc dù cách thức tương tác giữa IL-17RC và IL-17A không được biết ở mức độ phân tử.

Sự khác nhau quan trọng về ái lực của IL-17A và IL-17F đối với IL-17RA chỉ ra rằng có thể có các khác nhau quan trọng một cách chi tiết về sự tương tác IL-17A và IL-17RA, mức độ khác nhau này chỉ có thể xảy ra khi cấu trúc đồng tinh thể của IL-17A/IL-17RA được xác định. Điều này được thể hiện bởi sự nhận dạng khoang túi P2 trong nghiên cứu này, mà chỉ một phần được nhận dạng trong vùng tương đồng IL-17F trong cấu trúc tinh thể IL-17F/IL-17RA đã công bố (Ely và các đồng tác giả, *Nat. Immunology*, 10:1245-51, 2009).

Hai túi kỵ nước lớn và sâu được nhận dạng trên bề mặt của IL-17A dọc theo mặt phân cách dime (Fig.8A, 5B). TÚI P1, tương đồng với túi mà lần đầu tiên được phát hiện trong IL-17F (Hymowitz và các đồng tác giả, *EMBO J*, 20: 5332-41, 2001), bao gồm các gốc Q94, E95, L97 và K114 của monome A và L53, Y62, P63, V65, I66, W67, I96, V117 và V119 của monome B, và ngược lại. Trên một bên của dime, túi P1 một phần được phủ bởi mảnh 30-40, trong khi đó, trên bên còn lại, nó hoàn toàn hở do mảnh bị rối loạn. Do mảnh này xuất hiện linh hoạt, các phân tử khác sẽ có thể tiếp cận được túi P1. TÚI P2 còn bao gồm các gốc từ cả hai chuỗi: V24, L26, I28, Y62, L99, R101, F110 và L112 của monome A và V22, V24 và L112 của monome B, và ngược lại.

Mặc dù chi tiết các túi P2 hơi khác nhau do tính bất đối xứng của IL-17A dime như nêu trên, nhưng hình học tổng thể của hai túi P2 tương tự nhau. Hai bộ gốc sắp hàng thành các túi P1 và P2 các túi được giữ giữa IL-17A và IL-17F (Fig.8C). Tuy nhiên, trong cấu trúc IL-17F, túi P2 chứa các gốc F10 và F11 (F₁₀F₁₁ môtip) (Fig.8B) (Hymowitz và các đồng tác giả, *EMBO J*, 20: 5332-41, 2001). FF môtip không có trong IL-17A ở người; thay vào đó, các gốc axit amin tương ứng là I4 và P5 (các gốc 4 và 5 trong SEQ ID NO: 105) (Fig.8C). Các gốc này không liên kết ở túi P2 cũng như môtip FF bởi vì chúng nhỏ hơn nhiều so với các gốc phenylalanin, và hầu như không có đủ ái lực đối với túi P2. Do đó, môtip FF của IL-17F có thể là biệt số về cấu trúc đối với tương tác IL-17F và IL-17A ở người với thụ thể IL-17RA và IL-17RC. Cả hai túi kỵ nước lớn

(P1 và P2) này có thể được yêu cầu đối với liên kết IL-17A với IL-17RA. Gần đây, cấu trúc tinh thể của phức hợp IL-17F/IL-17RA thể hiện rằng môtip FF được thể bằng IL-17RA (Ely và các đồng tác giả, *Nat. Immunology* 10:1245-51, 2009). Sự loại bỏ môtip FF mạnh mẽ từ P2 có thể dẫn đến ái lực liên kết thấp hơn. Điều này phù hợp với quan sát cho thấy IL-17RA liên kết IL-17A với ái lực cao nhưng liên kết IL-17F với ái lực thấp ở người (Kuestner và các đồng tác giả, *J Immunol*, 179:5462-73, 2007), và có khả năng giải thích các khác nhau trong hiệu lực của IL-17A và IL-17F. Ở chuột, môtip FF không có trong cả IL-17A và IL-17F, và được thể bằng các gốc IP và AL tương ứng. Cặp gốc AL và IP nhỏ và có thể có ái lực thấp đối với túi P2. Do đó, P2 có thể dùng trong IL-17A và IL-17F ở chuột nhất để liên kết IL-17RA. Cả IL-17A và IL-17F ở chuột nhất liên kết IL-17RA ở chuột nhất với ái lực tương tự (Kuestner và các đồng tác giả, *J Immunol*, 179:5462-73, 2007), phù hợp với đề xuất hiện tại rằng khả năng có thể dùng túi P2 để liên kết làm tăng ái lực của phối tử.

Nói chung, các khác nhau về cấu trúc quan sát thấy giữa IL-17A và IL-17F tạo ra cơ sở để phân tích tỉ mỉ sự tương tác của chúng với thụ thể tương ứng. Ngoài ra, có thể hiểu rằng các peptit, các peptidomimetic và các phân tử nhỏ có thể được bố trí để liên kết trong một hoặc hai túi để phong bế IL-17A và/hoặc IL-17F không tương tác với thụ thể của chúng. Do môtip FF có trong Fab6468 (các gốc F92 và F93 trong SEQ ID NO: 79) liên kết các gốc của túi P2 như L26, R61, L99, R101 và R102, cấu trúc Fab 6468 có thể được sử dụng để chọn và đánh giá tích cực các chất đối vận IL-17A bổ sung, như các peptit từ thư viện peptit ngẫu nhiên hoặc xác định bằng cách sử dụng kỹ thuật biểu hiện thể thực khuẩn.

Các gốc sắp hàng thành các túi P1 và P2 được giữ giữa IL-17A và IL-17F và mẫu phân tử chỉ ra rằng IL-17A/F heterodime sẽ chấp nhận cấu trúc tổng thể gần giống khi so sánh với một mình homodime IL-17A. Do đó, các túi P1 và P2 có thể có mặt trong heterodime IL-17A/F với cấu trúc liên kết tổng thể tương tự và tạo thành các vị trí liên kết thụ thể của nó. Do đó, chất đối vận IL-17A liên kết với các gốc của túi P2 có thể liên kết và đối kháng heterodime IL-17A/F.

Ví dụ 6

Tính đặc hiệu của liên kết chéo loài

Để đánh giá tính đặc hiệu của liên kết chéo loài của mAbtr1926, liên kết ELISA được thực hiện với các protein IL-17A khác nhau được phủ trên đĩa micro-titer Protein IL-17A ở người, chuột nhắt và chuột đồng được phủ trên đĩa micro-titer. Chất pha loãng theo từng hàng của mAb1926 đã đánh dấu được ủ ở nhiệt độ 37⁰C trong thời gian 2 giờ. Sau khi ủ, đĩa micro-titer được rửa cẩn thận, và liên kết mAb1926 đã đánh dấu được phát hiện. MAb 1926 liên kết với IL-17A ở người mạnh hơn nhiều so với liên kết với protein IL-17A ở chuột đồng hoặc chuột nhắt (Fig.9). Điều này làm giảm liên kết với IL-17A ở chuột đồng và chuột nhắt phù hợp với các protein khác với IL-17A ở người tại 7 vị trí của epitop mở rộng Fab6468 (Bảng 10). Hơn nữa, một axit amin được cho vào IL-17A ở chuột đồng và chuột nhắt giữa các gốc 40 và 41 của IL-17A ở người, vị trí gần với phần epitop của Fab 6468.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, trong đó kháng thể này chứa vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (VL), trong đó vùng VH bao gồm HCDR1, HCDR2 và HCDR3 có các trình tự axit amin như được thể hiện trong các SEQ ID NO: 25, 46 và 61 tương ứng, và vùng VL bao gồm LCDR1, LCDR2, và LCDR3 có các trình tự axit amin như được thể hiện trong các SEQ ID NO: 3, 6 và 22 tương ứng, và trong đó:

trong SEQ ID NO: 46,

Xaa₂₁ có thể là Ala, Gly, Thr hoặc Val;

Xaa₂₂ có thể là Asn hoặc Ser;

Xaa₂₃ có thể là Gly, Met, Lys, Ile, Leu hoặc His;

Xaa₂₄ có thể là Leu, Asp, Ala, His, Thr, Gly hoặc Ser;

Xaa₂₅ có thể là Gly hoặc Ser;

Xaa₂₆ có thể là Thr, Gly, Tyr hoặc Asp;

Xaa₂₇ có thể là His, Trp, Tyr hoặc Phe;

Xaa₂₈ có thể là Lys, Thr hoặc Ile; và

Xaa₂₉ có thể là Tyr, Phe hoặc Asn;

trong SEQ ID NO: 61,

Xaa₃₀ có thể là Met, Leu hoặc Thr; và

trong SEQ ID NO: 22,

Xaa₂₀ là Met, Leu, Thr hoặc Tyr.

2. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó theo điểm 1, trong đó kháng thể này chứa các trình tự axit amin HCDR1, HCDR2 và HCDR3 như được thể hiện trong:
 - a. các SEQ ID NO: 25, 37 và 58 tương ứng;
 - b. các SEQ ID NO: 25, 38 và 58 tương ứng;

- c. các SEQ ID NO: 25, 39 và 58 tương ứng;
- d. các SEQ ID NO: 25, 40 và 58 tương ứng;
- e. các SEQ ID NO: 25, 41 và 58 tương ứng;
- f. các SEQ ID NO: 25, 42 và 58 tương ứng;
- g. các SEQ ID NO: 25, 43 và 58 tương ứng;
- h. các SEQ ID NO: 25, 41 và 59 tương ứng;
- i. các SEQ ID NO: 25, 41 và 60 tương ứng;
- j. các SEQ ID NO: 25, 43 và 60 tương ứng;
- k. các SEQ ID NO: 25, 44 và 58 tương ứng; hoặc
- l. các SEQ ID NO: 25, 45 và 58 tương ứng; và

các trình tự axit amin LCDR1, LCDR2, và LCDR3 như được thể hiện trong:

- m. các SEQ ID NO: 3, 6 và 18 tương ứng;
 - n. các SEQ ID NO: 3, 6 và 19 tương ứng;
 - o. các SEQ ID NO: 3, 6 và 20 tương ứng; hoặc
 - p. các SEQ ID NO: 3, 6 và 21 tương ứng.
3. Kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh của nó liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người mà cạnh tranh cho IL-17A ở người liên kết với kháng thể đơn dòng chứa các trình tự axit amin chuỗi nặng CDR 1, 2 và 3 (HCDR1, HCDR2 và HCDR3) như được thể hiện trong các SEQ ID NO: 25, 43 và 60 tương ứng, và các trình tự axit amin chuỗi nhẹ CDR 1, 2 và 3 (LCDR1, LCDR2 và LCDR3) như được thể hiện trong các SEQ ID NO: 3, 6 và 18 tương ứng.
 4. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó theo điểm 1 hoặc 3, trong đó kháng thể này hoàn toàn ở người.
 5. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó theo điểm 1 hoặc 3, trong đó kháng thể này được liên hợp với polyetylen glycol.

6. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó theo điểm 1 hoặc 3, trong đó kháng thể này có lớp kháng thể IgG1 hoặc IgG4.
7. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó theo điểm 1 hoặc 3, trong đó miền Fc bao gồm các đột biến S229P, P235A hoặc L236A ở miền Fc.
8. Dược phẩm chứa kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó theo điểm 1 hoặc 3 và chất mang dược dụng.
9. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người chứa VH và VL, trong đó kháng thể này chứa:
 - a. các trình tự axit amin HCDR1, HCDR2 và HCDR3 như được thể hiện trong các SEQ ID NO: 25, 43 và 60 tương ứng và
các trình tự axit amin LCDR1, LCDR2, và LCDR3 như được thể hiện trong các SEQ ID NO: 3, 6 và 18 tương ứng; hoặc
 - b. VH của SEQ ID NO: 86; hoặc
 - c. VL của SEQ ID NO: 79; hoặc
 - d. VH của SEQ ID NO: 86 và VL của SEQ ID NO: 79.
10. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người chứa VH và VL, trong đó kháng thể này chứa VH có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 86.
11. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó theo điểm 10, trong đó kháng thể này chứa VL có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 79.
12. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người chứa VH và VL, trong đó kháng thể này chứa VL có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 79.
13. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người chứa VH và VL, trong đó kháng thể này chứa VH có ít nhất 95% độ tương đồng với VH có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 86.

14. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người chứa VH và VL, trong đó kháng thể này chứa VL có ít nhất 95% độ tương đồng với vùng biến đổi có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 79.
15. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó liên kết đặc hiệu với IL-17A ở người, trong đó kháng thể này chứa chuỗi nặng của kháng thể có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 100.
16. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh của nó liên kết đặc hiệu với IL-17A, trong đó kháng thể này chứa chuỗi nhẹ của kháng thể có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 90.

Fig.1

Fig.1A
HCDR2 họ 2

MOR#	mAb#	Liên ứng HCDR2 họ 2																	SEQ ID NO	
7702		H	I	I	P	W	F	G	W	T	Y	Y	A	Q	K	F	Q	G		
7701		M							T		F									
7708	624	R									S									
8297		R							T		S									
8298		R							Y		S									
7785	3077	S									N									
8104	7024	S							T		N									
8105		S							Y		N									
7786		Y									N									
Liên ứng		HMRSY																		
Công thức I		Xaa ₁	I	I	P	W	F	G	Xaa ₁	T	Xaa ₁	YFSD	Y	A	Q	K	F	Q	G	35

Xaa₁ có thể là His, Met, Arg, Ser hoặc Tyr;
Xaa₁ có thể là Trp, Thr hoặc Tyr; và
Xaa₁ có thể là Tyr, Phe, Ser hoặc Asp.

Fig.1B
LCDR3 họ 6a

Fig.1

MOR#	mAb#	Liên ứng LCDR3 họ 6a										SEQ ID NO
Dòng vô tính 10		H	Q	F	T	I	P	S	H			
Dòng vô tính 11		Q			V	T			F			
Dòng vô tính 12		Q		G	N	Y	R	P	L			
Liên ứng		HQ		FG	TVN	ITY	PR	SP	HFL			
Công thức II	Xaa ₄	Q	Xaa ₅	Xaa ₆	Xaa ₇	Xaa ₈	Xaa ₉	Xaa ₁₀			11	

- Xaa₄ có thể là His hoặc Gln;
- Xaa₅ có thể là Phe hoặc Gly;
- Xaa₆ có thể là Thr, Val hoặc Asn;
- Xaa₇ có thể là Ile, Thr hoặc Tyr;
- Xaa₈ có thể là Pro hoặc Arg;
- Xaa₉ có thể là Ser hoặc Pro; và
- Xaa₁₀ có thể là His, Phe hoặc Leu.

Fig.1

Fig.1C
LCDR3 họ 6b

MOR#	mAb#	Liên ứng L_CDR3 họ 6B										SEQ ID NO
Dòng vô tính 13		Q	Q	S	N	H	I	P	P	A	T	
7706	4538			Y	R	S	T	L	S	L		
8299	3584			Y	R	S	T	L	S	L		
8300				Y	R	S	T	L	S	L		
8301				Y	R	S	T	L	S	L		
Dòng vô tính 15				Y	V	S	L	S	F	D		
Dòng vô tính 16				Y	Y	S	A		L	L		
7775	732	T		Y	Y	S	S		S	L		
8101		T		Y	Y	S	S		S	L		
8102		T		Y	Y	S	S		S	L		
8103	4168	T		Y	Y	S	S		S	L		
Liên ứng		QT	Q	SY	NRVY	HS	ITLAS	PLS	PSFL	ALD	T	
Công thức III		Xaa11	Q	Xaa12	Xaa13	Xaa14	Xaa15	Xaa16	Xaa17	Xaa18	T	17

Xaa11 có thể là Gln hoặc Thr;

Xaa12 có thể là Ser hoặc Tyr;

Xaa13 có thể là Asn, Arg, Val hoặc Tyr;

Xaa14 có thể là His hoặc Ser;

Xaa15 có thể là Ile, Thr, Leu, Ala hoặc Ser;

Xaa16 có thể là Pro, Leu hoặc Ser;

Xaa17 có thể là Pro, Ser, Phe hoặc Leu; và

Xaa18 có thể là Ala, Leu hoặc Asp.

Fig.1

Fig.1D
HCDR3 họ 6b

MOR#	mAb#	Liên ứng HCDR3 họ 6b												SEQ ID NO
Dòng vô tính 13		E	V	D	S	M	Y	Y	S	Y	F	D	I	
7706	4538													
8299	3584													
8300						I								
8301						L								
Dòng vô tính 15						T								
Dòng vô tính 16														
7775	732													
8101						I								
8102						L								
8103	4168					T								
Liên ứng		E	V	D	S	MILT	Y	Y	S	Y	F	D	I	
Công thức IV		E	V	D	S	Xaa19	Y	Y	S	Y	F	D	I	57

Xaa19 có thể là Met, Ile, Leu hoặc Thr.

Fig.1

Fig.1E
LCDR3 họ 19a

Dòng vô tính	MOR#	mAb#	Trình tự liên ứng LCDR3 họ 19a										SEQ ID NO
179	Dòng vô tính 179		G	S	Y	D	F	F	L	G	M	I	V
180	Dòng vô tính 180												
181	7709												
182	Dòng vô tính 182												
183	7700	1926											
	8095												
	8096												
	9097												
	8098												
	8141										L		
	8142										T		
	8143										Y		
	8160	7146									L		
	8161										T		
	8162										Y		
	8302	6785											
	8303										T		
		5548									L		
184	7768												
185	Dòng vô tính 185												
	Liên ứng		G	S	Y	D	F	F	L	G	MLTY	I	V
	Công thức V		G	S	Y	D	F	F	L	G	Xaa20	I	V

Xaa20 có thể là Met, Leu, Thr hoặc Tyr.

Fig.1

Fig.1F

HCDR2 họ 19a

MOR#	mAb#	Trình tự liên ứng HCDR2 họ 19a																	SEQ ID NO			
Dòng vô tính 179		A	I	N	G	L	G	T	H	K	Y	Y	A	D	S	V	K	G				
Dòng vô tính 180				S	M	D		G	W	T												
7709		G			K	A		Y	Y	T												
Dòng vô tính 182		G		S		H		G	Y		F											
7700	1926	T		S	M	T	S	G	F	T												
8095		T		S	I	T	S	G	F	T												
8096		T		S	L	T	S	G	F	T												
8097		T		S	M	T	S	G	F	T												
8098		T		S	M	T	S	G	F	T												
8141		T		S	M	T	S	G	F	T												
8142		T		S	M	T	S	G	F	T												
8143		T		S	M	T	S	G	F	T												
8160	7146	T		S	M	T	S	G	F	T												
8161		T		S	M	T	S	G	F	T												
8162		T		S	M	T	S	G	F	T												
8302	6785	T		S	L	T	S	G	F	T												
8303		T		S	L	T	S	G	F	T												
	5548	T		S	L	T	S	G	F	T												
7768		V			K	G		D	F													
Dòng vô tính 185		V		S	H	S		G	W	I	N											
Liên ứng		AGTV	I	NS	GMKILH	LDAHTGS	GS	TGYD	HWYF	KTI	YFN	Y	A	D	S	V	K	G				
Công thức VI		Xaa21	I	Xaa22	Xaa23	Xaa24	Xaa25	Xaa26	Xaa27	Xaa28	Xaa29	Y	A	D	S	V	K	G				46

Xaa21 có thể là Ala, Gly, Thr hoặc Val;

Xaa22 có thể là Asn hoặc Ser;

Xaa23 có thể là Gly, Met, Lys, Ile, Leu hoặc His;

Xaa24 có thể là Leu, Asp, Ala, His, Thr, Gly hoặc Ser;

Xaa25 có thể là Gly hoặc Ser;

Xaa26 có thể là Thr, Gly, Tyr hoặc Asp;

Xaa27 có thể là His, Trp, Tyr hoặc Phe;

Xaa28 có thể là Lys, Thr hoặc Ile; và

Xaa29 có thể là Tyr, Phe hoặc Asn.

Fig.1

Fig.1G
HCDR3 họ 19a

MOR#	mAb#	Trình tự liên ứng HCDR3 họ 19a					SEQ ID NO
Dòng vô tính 179		Q	L	M	L	D	V
Dòng vô tính 180							
7709							
Dòng vô tính 182							
7700	1926						
8095							
8096							
8097				L			
8098				T			
8141							
8142							
8143							
8160	7146			T			
8161				T			
8162				T			
8302	6785			T			
8303				T			
	5548			T			
7768							
Dòng vô tính 185							
Liên ứng		Q	L	MLT	L	D	V
Công thức VII		Q	L	Xaa30	L	D	V

Xaa30 có thể là Met, Leu hoặc Thr.

Fig.1

Fig.1H

HCDR2 họ 19b

MOR#	mAb#	Trình tự liên ứng HCDR2 họ 19b														SEQ ID NO	
Dòng vô tính 186		V	T	S	A	N	G	R	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G
Dòng vô tính 187					K	M		H									
Dòng vô tính 188					M	T		N									
Dòng vô tính 189					H	R	D	N					G				
Liên ứng		V	T	S	AKMH	NMTR	GD	RHN	T	Y	Y	A	DG	S	V	K	G
Công thức VIII		V	T	S	Xaa31	Xaa32	Xaa33	Xaa34	T	Y	Y	A	Xaa35	S	V	K	G
																	51

Xaa31 có thể là Ala, Lys, Met hoặc His;

Xaa32 có thể là Asn, Met, Thr hoặc Arg;

Xaa33 có thể là Gly hoặc Asp;

Xaa34 có thể là Arg, His hoặc Asn; và

Xaa35 có thể là Asp hoặc Gly.

Fig.2

Fig.2A

	1	*	*	60
6785	QSVLTQPPSVSVAPGQTARITCSGDNLGDKYANWYQQKPGQAPVLVIYDDIDRPSGIPER			
IGLV3-1	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPER			
IGLV3-9	SYELTQPLSVSVALGQTARITCGGNNIGSKNVHWYQQKPGQAPVLVIYRDSNRPSGIPER			
IGLV3-10	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPER			
IGLV3-12	SYELTQPHSVSVATAQMARITCGGNNIGSKAVHWYQQKPGQDPVLVIYSDSNRPSGIPER			
IGLV3-16	SYELTQPPSVSVSLGQMARITCSGEALPKKYAYWYQQKPGQFPVLVIYKDSERPSGIPER			
IGLV3-19	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRYYASWYQQKPGQAPVLVIYKNNRPSGIPDR			
IGLV3-21	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVIYDSDRPSGIPER			
IGLV3-22	SYELTQLPSVSVSPGQTARITCSGDVLGENYADWYQQKPGQAPVLVIYEDSERYPGIPER			
IGLV3-25	SYELMQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKQYAYWYQQKPGQAPVLVIYKDSERPSGIPER			
IGLV3-27	SYELTQPSSSVSVSPGQTARITCSGDVLAKKYARWFQQKPGQAPVLVIYKDSERPSGIPER			
IGLV3-32	SSGPTQVPAVSVALGQMARITCQGDSEGSYEHWYQQKPGQAPVLVIYDSSDRPSRIPER			
	61	* **		108
6785	FSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCGSYDFFLGMIVFGGGTKLTVL			
IGLV3-1	FSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTA			
IGLV3-9	FSGSNSGNTATLTISRAGQAEADYYCQVWDSSTA			
IGLV3-10	FSGSSSGTMTLTISGAQVEADYYCYSTDSSGNH			
IGLV3-12	FSGSNPGNTTTLTISRIEAGDEADYYCQVWDSSSDH			
IGLV3-16	FSGSSSGTIVTLTISGVQAEDEADYYCLSDSSGT			
IGLV3-19	FSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNH			
IGLV3-21	FSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDH			
IGLV3-22	FSGSTSGNTTTLTISRVLTEADYYCLSGDEDN			
IGLV3-25	FSGSSSGTTVTLTISGVQAEDEADYYCQADSSGT			
IGLV3-27	FSGSSSGTTVTLTISGAQVEADYYCYSAADNN			
IGLV3-32	FSGSKSGNTTTLTITGAQAEDEADYYQLIDNHA			
IGLJ1	YVFGTGTKVTVL			
IGLJ2	VVFEGGKLTVL			
IGLJ3	VVFEGGKLTVL			
IGLJ4	FVFEGGTQLIIL			
IGLJ5	WVFEGTELTVL			
IGLJ6	NVFGSGTKVTVL			
IGLJ7	AVFEGGTQLTVL			

Fig.2

Fig.2B

```

1                                     * * * * 70
6785  QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISLTSGFTYYADSVKGRFTI

IGHV3-7  EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDSEKYYVDSVKGRFTI
IGHV3-9  EVQLVESGGGLVQPCRSLRLSCAASGFTTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIYADSVKGRFTI
IGHV3-11 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFDDYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTI
IGHV3-16 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFNSDMNWARKAPGKGLEWVSGVSWNGSRTIYYDSVKRRFTI
IGHV3-19 TVQLVESGGGLVEPGGSLRLSCAASGFTTFNSDMNWVRQAPGKGLEWVSGVSWNGSRTHYADSVKGRFTI
IGHV3-20 EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTTFDDYGMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTI
IGHV3-21 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTI
IGHV3-23 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTI
IGHV3-30 QVQLVESGGGVVQPCRSLRLSCAASGFTTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAISYDGSNKYYADSVKGRFTI
IGHV3-30-3 QVQLVESGGGVVQPCRSLRLSCAASGFTTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAISYDGSNKYYADSVKGRFTI
IGHV3-33 QVQLVESGGGVVQPCRSLRLSCAASGFTTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAIWIYDGSNKYYADSVKGRFTI
IGHV3-35 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFNSDMNWVHQAPGKGLEWVSGVSWNGSRTHYADSVKGRFTI
IGHV3-43 EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTTFDDYTMHWVRQAPGKGLEWVSLISWGGSTYYADSVKGRFTI
IGHV3-48 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTI
IGHV3-64 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSSYAMHWVRQAPGKGLEYVSAISSNGGSTYYANSVKGRFTI
IGHV3-74 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSTSYADSVKGRFTI

/1                                     *** 115
6785  SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLTLDVWGQGTLVTVSS

IGHV3-7  SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-9  SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKD
IGHV3-11 SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-16 SRDNSRNSLYLQKNRRRAEDMAVYYCVR
IGHV3-19 SRDNSRNFYQQMNSLRPEDMAVYYCVR
IGHV3-20 SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYHCAR
IGHV3-21 SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-23 SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK
IGHV3-30 SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-30-3 SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-33 SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-35 SRDNSRNTLYLQTNSLRAEDTAVYYCVR
IGHV3-35 SRDNSRNTLYLQTNSLRAEDTAVYYCVR
IGHV3-43 SRDNSKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKD
IGHV3-48 SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-64 SRDNSKNTLYLQMGSLRAEDMAVYYCAR
IGHV3-74 SRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR

IGHJ1  ...AEYFQHWGQGTLVTVSS
IGHJ2  ...YWYFDLWGRGTLVTVSS
IGHJ3  ....AFDVWGQGTMVTVSS
IGHJ4  ....YFDYWGQGTLVTVSS
IGHJ5  ...NWFDSWGQGTLVTVSS
IGHJ6  YYYYYGMDVWGQGTTVTVSS

```

Fig.3

Fig.3A

MORmAb 8141	MORmAb 8142	MORmAb 8143	mAb 5785	Đánh số			Kabat	Chothia
VL	VL	VL	VL	Thao tác ty	Kabat	Chothia	CDR	HV
Q	Q	Q	Q	1	1	1		
S	S	S	S	2	2	2		
V	V	V	V	3	3	3		
L	L	L	L	4	4	4		
T	T	T	T	5	5	5		
Q	Q	Q	Q	6	6	6		
F	F	F	F	7	7	7		
F	F	F	F	8	8	8		
S	S	S	S	9	9	9		
V	V	V	V	10	11	11		
S	S	S	S	11	12	12		
V	V	V	V	12	13	13		
A	A	A	A	13	14	14		
F	F	F	F	14	15	15		
G	G	G	G	15	16	16		
Q	Q	Q	Q	16	17	17		
T	T	T	T	17	18	18		
A	A	A	A	18	19	19		
R	R	R	R	19	20	20		
I	I	I	I	20	21	21		
S	S	S	S	21	22	22		
C	C	C	C	22	23	23		
S	S	S	S	23	24	24		
G	G	G	G	24	25	25		
D	D	D	D	25	26	26		
N	N	N	N	26	27	27		
L	L	L	L	27	28	28		
G	G	G	G	28	29	29		
D	D	D	D	29	30	30		
K	K	K	K	30	31	31		
Y	Y	Y	Y	31	32	32		
A	A	A	A	32	33	33		
N	N	N	N	33	34	34		
W	W	W	W	34	35	35		
Y	Y	Y	Y	35	36	36		
Q	Q	Q	Q	36	37	37		
Q	Q	Q	Q	37	38	38		
K	K	K	K	38	39	39		
F	F	F	F	39	40	40		
G	G	G	G	40	41	41		
Q	Q	Q	Q	41	42	42		
A	A	A	A	42	43	43		
F	F	F	F	43	44	44		
V	V	V	V	44	45	45		
L	L	L	L	45	46	46		
V	V	V	V	46	47	47		
I	I	I	I	47	48	48		
Y	Y	Y	Y	48	49	49		
D	D	D	D	49	50	50		
D	D	D	D	50	51	51		
I	I	I	I	51	52	52		
D	D	D	D	52	53	53		
R	R	R	R	53	54	54		
F	F	F	F	54	55	55		
S	S	S	S	55	56	56		
G	G	G	G	56	57	57		

I	I	I	I	57	58	58		
P	P	P	P	58	59	59		
E	E	E	E	59	60	60		
R	R	R	R	60	61	61		
F	F	F	F	61	62	62		
S	S	S	S	62	63	63		
G	G	G	G	63	64	64		
S	S	S	S	64	65	65		
N	N	N	N	65	66	66		
S	S	S	S	66	67	67		
G	G	G	G	67	68	68		
N	N	N	N	68	69	69		
T	T	T	T	69	70	70		
A	A	A	A	70	71	71		
T	T	T	T	71	72	72		
L	L	L	L	72	73	73		
T	T	T	T	73	74	74		
I	I	I	I	74	75	75		
S	S	S	S	75	76	76		
G	G	G	G	76	77	77		
T	T	T	T	77	78	78		
Q	Q	Q	Q	78	79	79		
A	A	A	A	79	80	80		
E	E	E	E	80	81	81		
D	D	D	D	81	82	82		
E	E	E	E	82	83	83		
A	A	A	A	83	84	84		
D	D	D	D	84	85	85		
Y	Y	Y	Y	85	86	86		
Y	Y	Y	Y	86	87	87		
C	C	C	C	87	88	88		
G	G	G	G	88	89	89		
S	S	S	S	89	90	90		
Y	Y	Y	Y	90	91	91		
D	D	D	D	91	92	92		
F	F	F	F	92	93	93		
F	F	F	F	93	94	94		
L	L	L	L	94	95	95		
G	G	G	G	95	a	a		
L	T	Y	M	96	b	b		
I	I	I	I	97	96	96		
V	V	V	V	98	97	97		
F	F	F	F	99	98	98		
G	G	G	G	100	99	99		
G	G	G	G	101	100	100		
G	G	G	G	102	101	101		
T	T	T	T	103	102	102		
K	K	K	K	104	103	103		
L	L	L	L	105	104	104		
T	T	T	T	106	105	105		
V	V	V	V	107	106	106		
L	L	L	L	108	a	a		

Fig.3

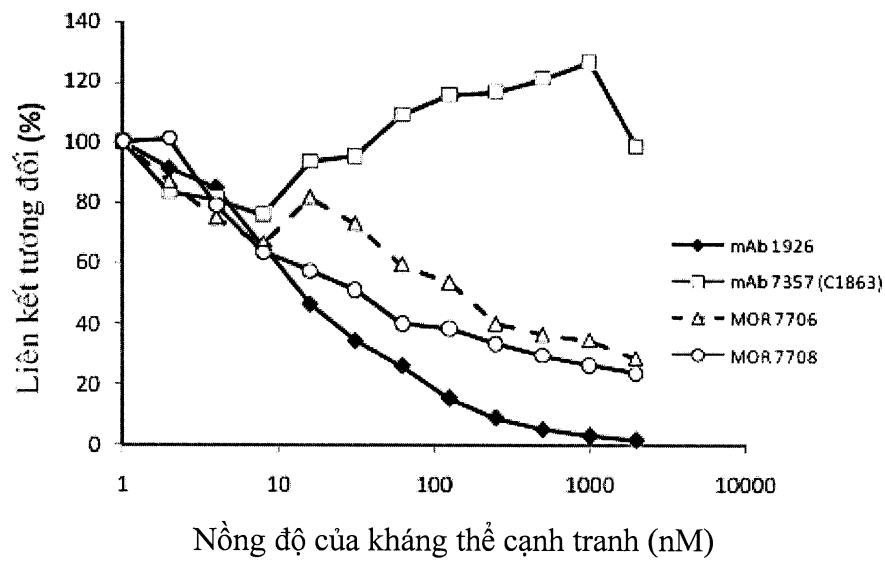
Fig.3B

MORmAb 7709	MORmAb 7700	MORmAb 8096	mAb 8785	Đánh số			Kabat	Chothia
VH	VH	VH	VH	Theo trình tự	Kabat	Chothia	CDR	HV
Q	Q	Q	Q	1	1	1		
V	V	V	V	2	2	2		
Q	Q	Q	Q	3	3	3		
L	L	L	L	4	4	4		
L	L	L	L	5	5	5		
E	E	E	E	6	6	6		
S	S	S	S	7	7	7		
G	G	G	G	8	8	8		
G	G	G	G	9	9	9		
G	G	G	G	10	10	10		
L	L	L	L	11	11	11		
V	V	V	V	12	12	12		
Q	Q	Q	Q	13	13	13		
P	P	P	P	14	14	14		
G	G	G	G	15	15	15		
G	G	G	G	16	16	16		
S	S	S	S	17	17	17		
L	L	L	L	18	18	18		
R	R	R	R	19	19	19		
L	L	L	L	20	20	20		
S	S	S	S	21	21	21		
C	C	C	C	22	22	22		
A	A	A	A	23	23	23		
A	A	A	A	24	24	24		
S	S	S	S	25	25	25		
G	G	G	G	26	26	26		
F	F	F	F	27	27	27		
T	T	T	T	28	28	28		
F	F	F	F	29	29	29		
S	S	S	S	30	30	30		
S	S	S	S	31	31	31		
Y	Y	Y	Y	32	32	32		
A	A	A	A	33	33	33		
M	M	M	M	34	34	34		
S	S	S	S	35	35	35		
W	W	W	W	36	36	a		
V	V	V	V	37	37	36		
R	R	R	R	38	38	37		
Q	Q	Q	Q	39	39	36		
A	A	A	A	40	40	39		
P	P	P	P	41	41	40		
G	G	G	G	42	42	41		
K	K	K	K	43	43	42		
G	G	G	G	44	44	43		
L	L	L	L	45	45	44		
E	E	E	E	46	46	45		
W	W	W	W	47	47	46		
V	V	V	V	48	48	47		
S	S	S	S	49	49	48		
G	T	T	T	50	50	49		
I	I	I	I	51	51	50		
N	S	S	S	52	52	51		
K	M	L	L	53	a	52		
A	T	T	T	54	53	53		
G	S	S	S	55	54	54		
Y	G	G	G	56	55	55		
Y	F	F	F	57	56	56		
T	T	T	T	58	57	57		

Y	Y	Y	Y	59	58	58		
Y	Y	Y	Y	60	59	59		
A	A	A	A	61	60	60		
D	D	D	D	62	61	61		
S	S	S	S	63	62	62		
V	V	V	V	64	63	63		
K	K	K	K	65	64	64		
G	G	G	G	66	65	65		
R	R	R	R	67	66	66		
F	F	F	F	68	67	67		
T	T	T	T	69	68	68		
I	I	I	I	70	69	69		
S	S	S	S	71	70	70		
R	R	R	R	72	71	71		
D	D	D	D	73	72	72		
N	N	N	N	74	73	73		
S	S	S	S	75	74	74		
K	K	K	K	76	75	75		
N	N	N	N	77	76	76		
T	T	T	T	78	77	77		
L	L	L	L	79	78	78		
Y	Y	Y	Y	80	79	79		
L	L	L	L	81	80	80		
Q	Q	Q	Q	82	81	81		
M	M	M	M	83	82	82		
N	N	N	N	84	a	a		
S	S	S	S	85	b	b		
L	L	L	L	86	c	c		
R	R	R	R	87	83	83		
A	A	A	A	88	84	84		
E	E	E	E	89	85	85		
D	D	D	D	90	86	86		
T	T	T	T	91	87	87		
A	A	A	A	92	88	88		
V	V	V	V	93	89	89		
Y	Y	Y	Y	94	90	90		
Y	Y	Y	Y	95	91	91		
C	C	C	C	96	92	92		
A	A	A	A	97	93	93		
R	R	R	R	98	94	94		
Q	Q	Q	Q	99	95	95		
L	L	L	L	100	96	96		
M	M	M	T	101	97	97		
L	L	L	L	102	98	98		
D	D	D	D	103	101	101		
V	V	V	V	104	102	102		
W	W	W	W	105	103	103		
G	G	G	G	106	104	104		
Q	Q	Q	Q	107	105	105		
G	G	G	G	108	106	106		
T	T	T	T	109	107	107		
L	L	L	L	110	108	108		
V	V	V	V	111	109	109		
T	T	T	T	112	110	110		
V	V	V	V	113	111	111		
S	S	S	S	114	112	112		
S	S	S	S	115	113	113		

Fig.4**Fig.4A**

Sự cạnh tranh của mAb 1926 đã đánh dấu với các mAb kháng IL-17A khác

**Fig.4B**

Sự cạnh tranh của mAb 1926 đã đánh dấu với các mAb kháng IL-17A khác

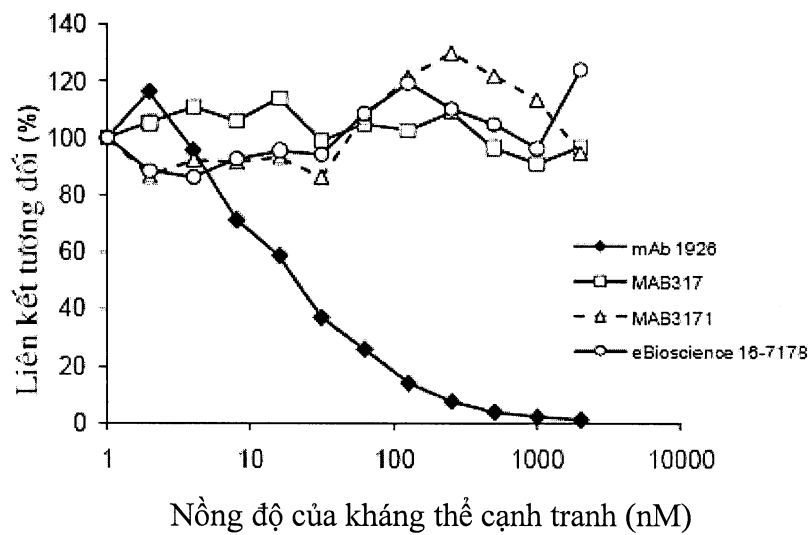


Fig.4

Fig.4C

Sự cạnh tranh của MAB 317 đã đánh dấu với các mAb kháng IL-17A khác

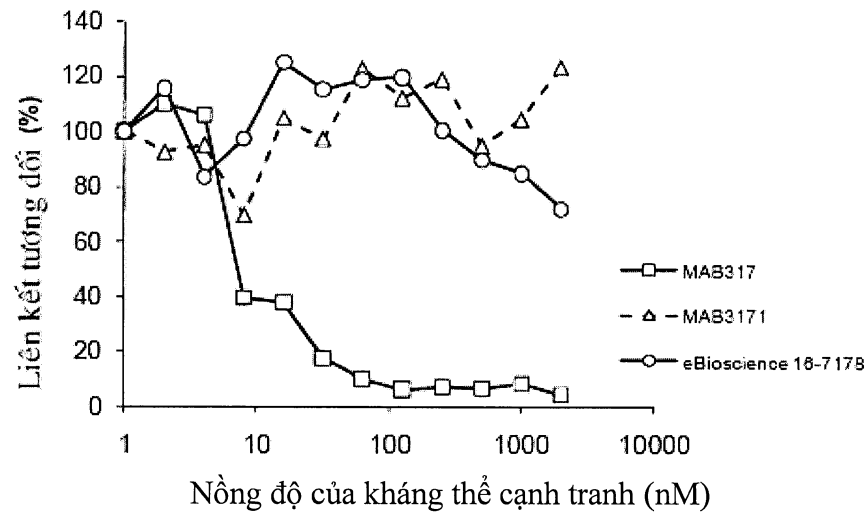


Fig.4D

Sự cạnh tranh của MAB 3171 đã đánh dấu với các mAb kháng IL-17A khác

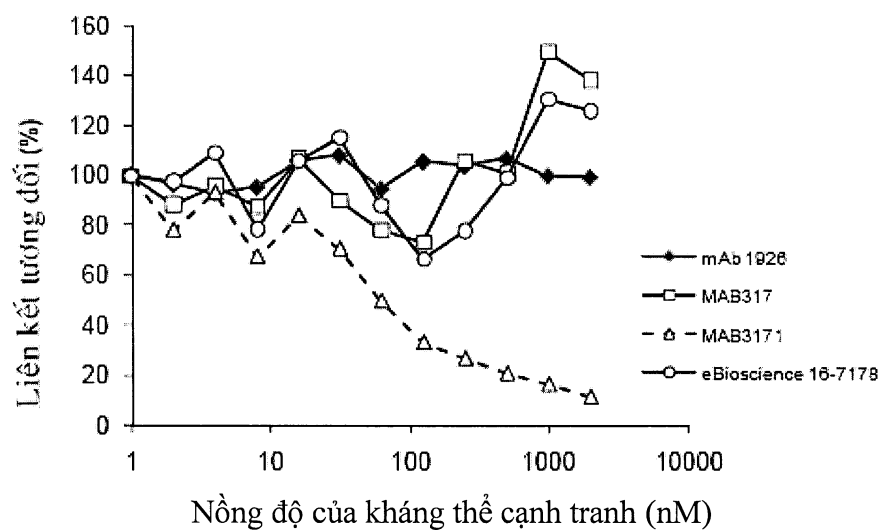


Fig.4

Fig.4E

Sự cạnh tranh của mAb7357 (C1863) với các mAb kháng IL-17A khác

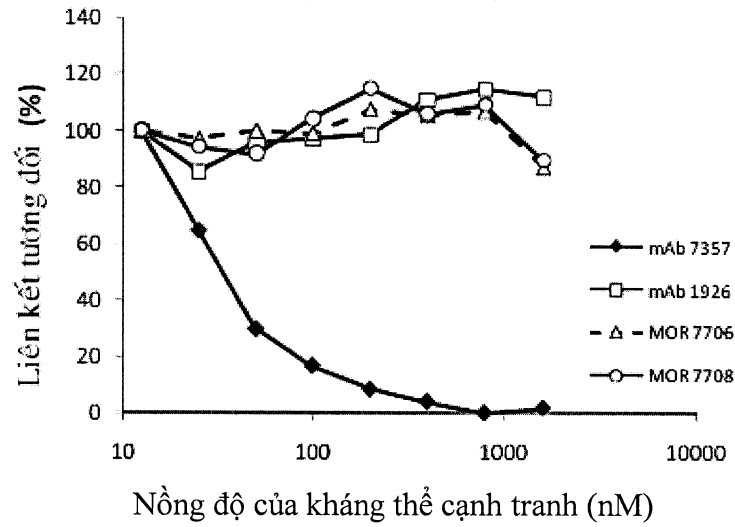


Fig.4F

Sự cạnh tranh của mAb7357 (C1863) với các mAb kháng IL-17A khác

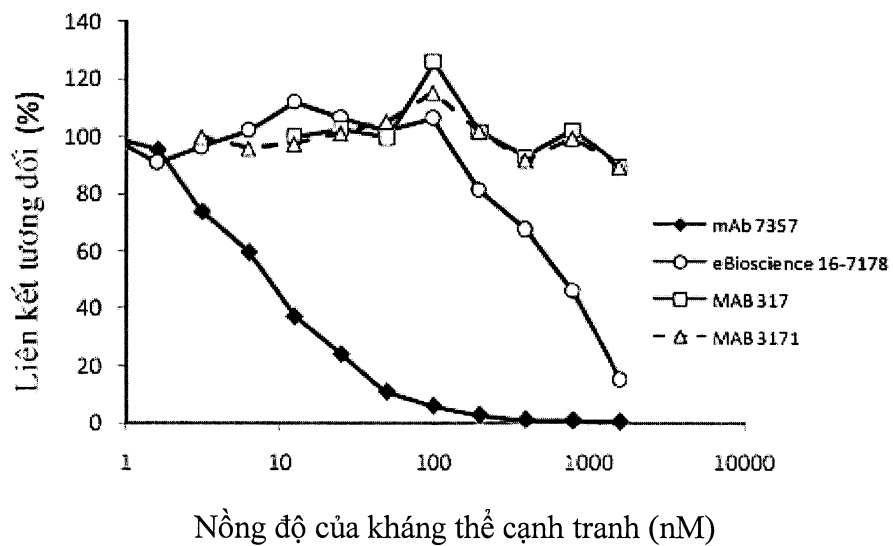
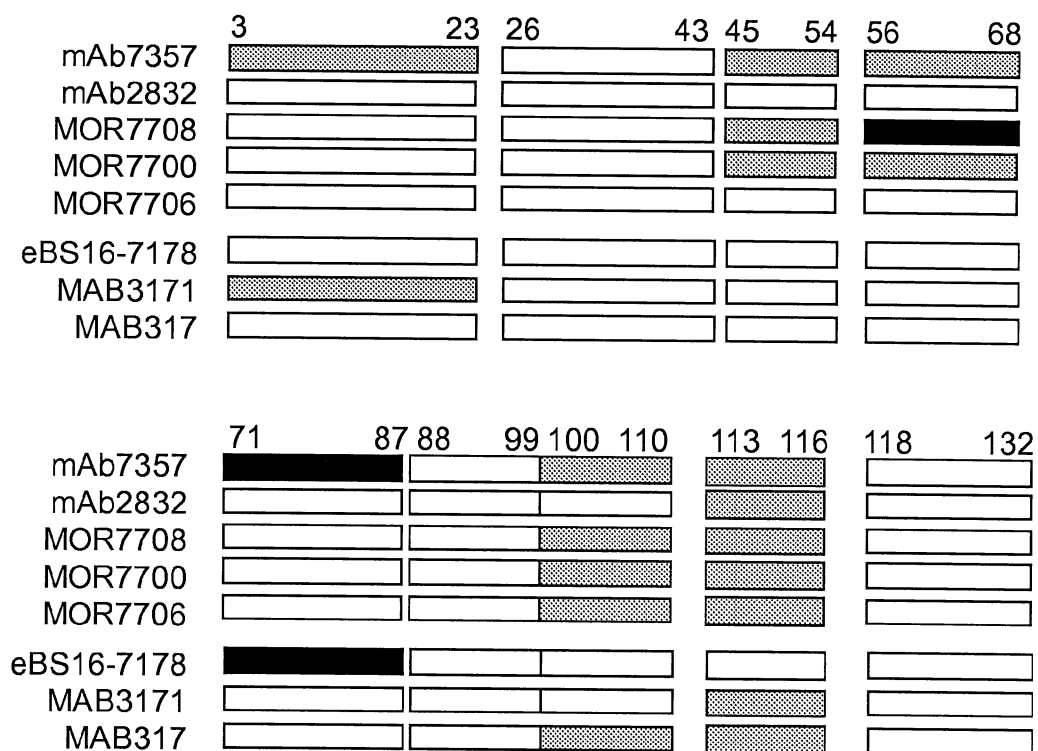


Fig.5

 trao đổi H/D được bảo vệ mạnh bởi kháng thể

 trao đổi H/D được bảo vệ yếu bởi kháng thể

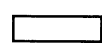
 không được bảo vệ

Fig.6

Fig.6A

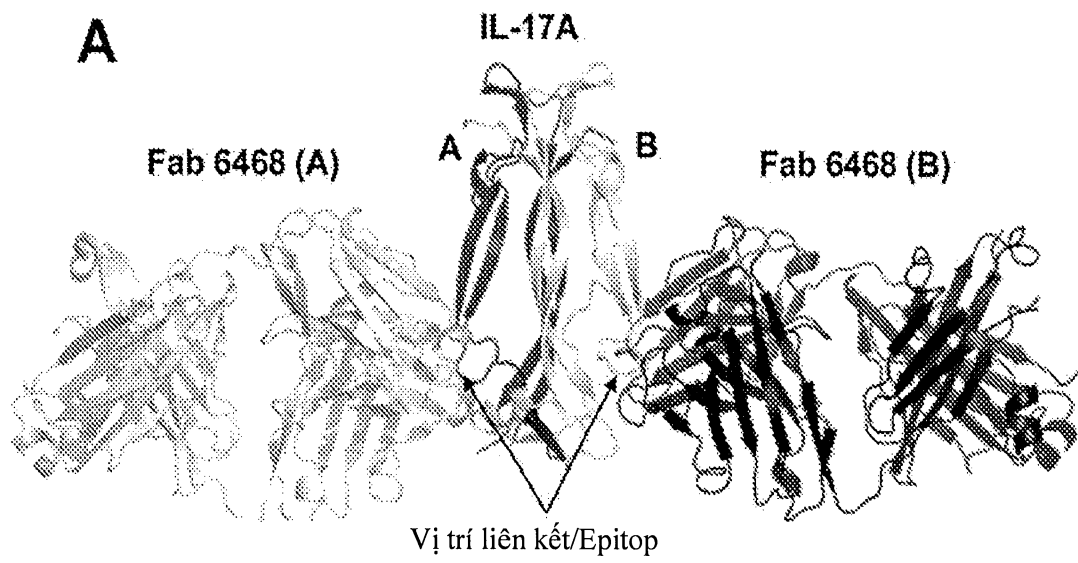


Fig.6B

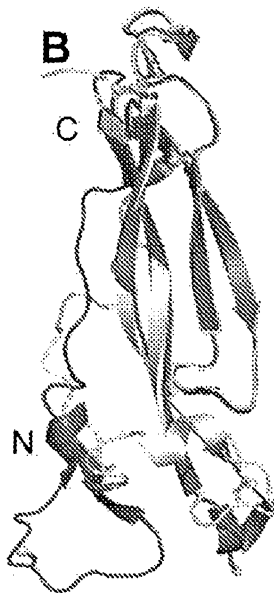


Fig.6C



Fig.6D



Fig.7

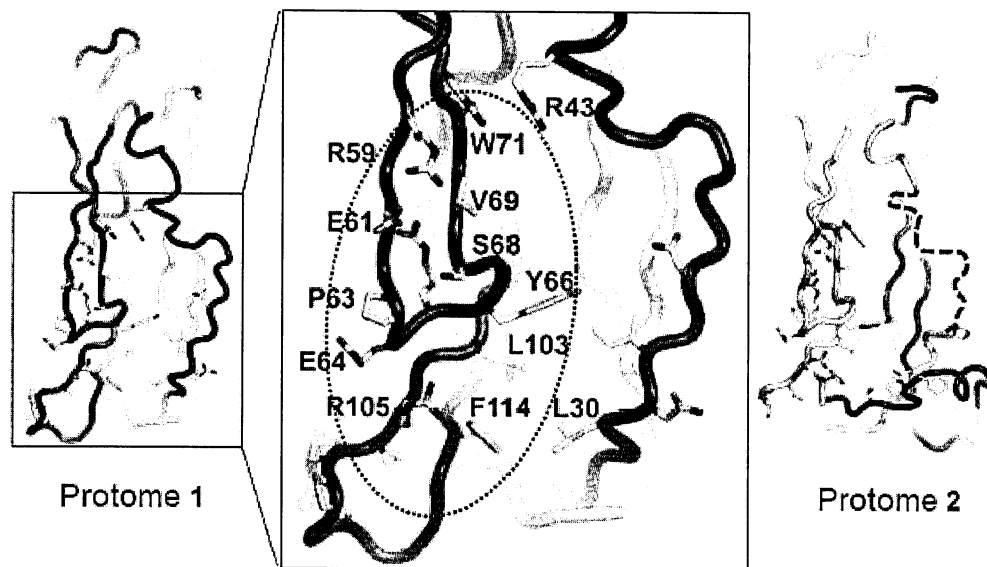


Fig.8

Fig.8A

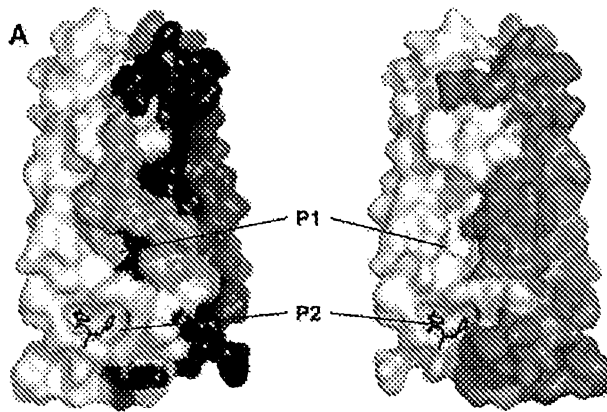


Fig.8B

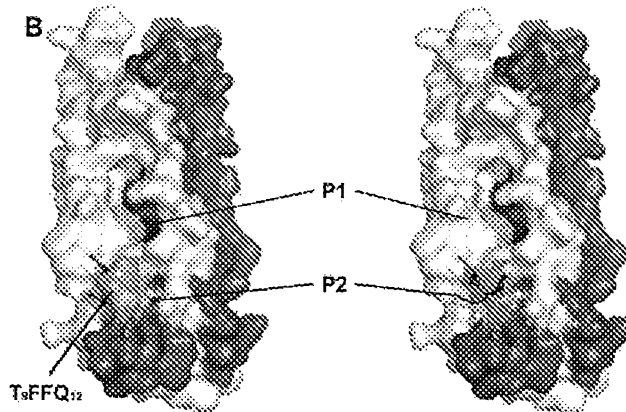


Fig.8C

C

◆◆ các gốc ở ổ P1

▲▲ các gốc ở ổ P2

Biểu tượng được tô đậm hoàn toàn dùng để chỉ các gốc từ hai monome của dime IL-17A

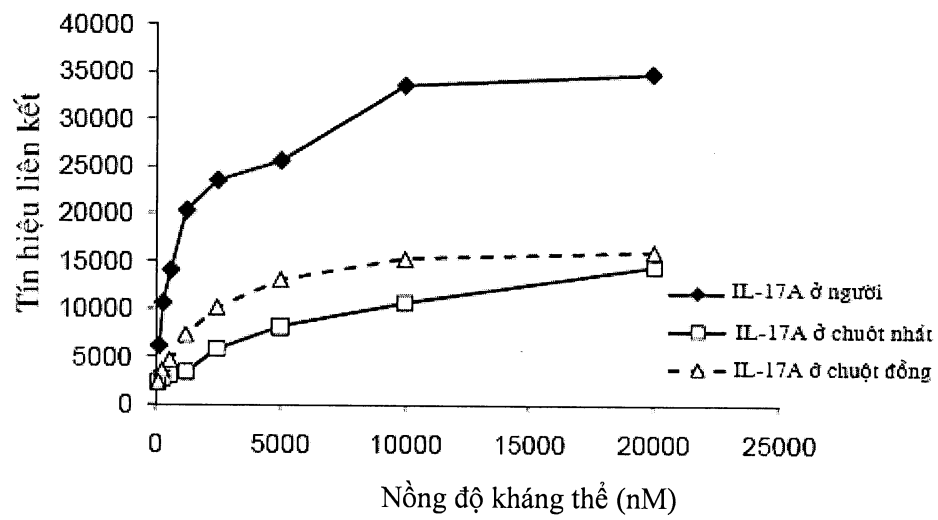
IL-17A (1) --IVRAGITIPRNP-GCPNSEDKNFPRTVMYNLNHNRRNTNTNPKRSSDY
 IL-17F (1) RKIPKVGHTFFQKPESCFFVPGG-----SMKLDIGIINENQRVSMRN

IL-17A (48) YNRSTSPWNLHRNEDPERYPSPVWEAQCRHLGCINADGNVDYHMNSVPVQ
 IL-17F (45) ESRSTSPWNYTVTWDENRYPSEVVOAQCRLGCINAQ GKEDI SMNSVPVQ

IL-17A (98) QEILVLRREPPHCPNSERLEKILVSVGCTCVTPVHHVQ
 IL-17F (95) QETLVVRRKHQGCVSFQLEKVLVTVGCTCVTPVHHVQ

Fig.9

Liên kết của mAb 1926 với các loài IL-17A khác



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> CENTOCOR ORTHO BIOTECH INC.

<120> KHÁNG THỂ LIÊN KẾT ĐẶC HIỆU VỚI IL-17A Ở NGƯỜI VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

<130> CEN5276PCT

<140> PCT/US2010/054662

<141> 2010-10-29

<150> 61256862

<151> 2009-10-30

<150> 61310919

<151> 2010-03-05

<160> 160

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR1 của kháng thể họ 2

<400> 1

Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ser	Asn	Trp	Leu	Asn
1				5					10	

<210> 2

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR1 của kháng thể họ 6a và 6b

<400> 2

Arg	Ala	Ser	Gln	Asn	Val	Trp	Ala	Phe	Tyr	Leu	Ala
1				5					10		

<210> 3

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR1 của kháng thể họ 19a và 19b

<400> 3

Ser Gly Asp Asn Leu Gly Asp Lys Tyr Ala Asn
1 5 10

<210> 4

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR2 của kháng thể họ 2

<400> 4

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR2 của kháng thể họ 6a và 6b

<400> 5

Gly Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 6

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR2 của kháng thể họ 19a và 19b

<400> 6

Asp Asp Ile Asp Arg Pro Ser
1 5

<210> 7

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR3 của kháng thể họ 2

<400> 7

Gln Gln Tyr Ser Asp Asp Pro Thr
1 5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR3 của kháng thể họ 6a dòng vô tính 10

<400> 8

His Gln Phe Thr Ile Pro Ser His Thr
1 5

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR3 của kháng thể họ 6a dòng vô tính 11

<400> 9

Gln Gln Phe Val Thr Pro Ser Phe Thr
1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR3 của kháng thể họ 6a dòng vô tính 12

<400> 10

Gln Gln Gly Asn Tyr Arg Pro Leu Thr
1 5

<210> 11

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR3 liên ứng của kháng thể họ 6a, công thức
II

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> 1
 <223> Xaa có thể là His hoặc Gln

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> 3
 <223> Xaa có thể là Phe hoặc Gly

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> 4
 <223> Xaa có thể là Thr, Val hoặc Asn

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> 5
 <223> Xaa có thể là Ile, Thr hoặc Tyr

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> 6
 <223> Xaa có thể là Pro hoặc Arg

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> 7
 <223> Xaa có thể là Ser hoặc Pro

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> 8
 <223> Xaa có thể là His, Phe hoặc Leu

<400> 11
 Xaa Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5

<210> 12
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> LCDR3 của họ 6b dòng vô tính 13

<400> 12

Gln Gln Ser Asn His Ile Pro Pro Ala Thr

1 5 10

```
<210> 13
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

<223> LCDR3 của họ 6b MOR7706, 8299, 8300, 8301

<400> 13
Gln Gln Tyr Arg Ser Thr Leu Ser Leu Thr
1 5 10

```
<210> 14
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

<220>
<223> LCDR3 của họ 6b dòng vô tính 15

<400> 14
Gln Gln Tyr Val Ser Leu Ser Phe Asp Thr
1 5 10

```
<210> 15
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

<220>
<223> LCDR3 của họ 6b dòng vô tính 16

<400> 15
Gln Gln Tyr Tyr Ser Ala Pro Leu Leu Thr
1 5 10

```
<210> 16
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

<220>
<223> LCDR3 của họ 6b MOR7775, 8101, 8102, 8103

```
<400> 16
Thr Gln Tyr Tyr Ser Ser Pro Ser Leu Thr
  1             5             10
```

<210> 17
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> LCDR3 liên ứng của kháng thể họ 6b, công thức
III

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa có thể là Gln hoặc Thr

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa có thể là Ser hoặc Tyr

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa có thể là Asn, Arg, Val hoặc Tyr

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa có thể là His hoặc Ser

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa có thể là Ile, Thr, Leu, Ala hoặc Ser

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 7
<223> Xaa có thể là Pro, Leu hoặc Ser

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 8
<223> Xaa có thể là Pro, Ser, Phe hoặc Leu

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 9
<223> Xaa có thể là Ala, Leu hoặc Asp

<400> 17

Xaa Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Thr
1 5 10

<210> 18

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR3 của họ 19a dòng vô tính 178, 179, 181, 184, MOR
7709, 7700, 8095, 8097, 8098, 8302, 8096, 7768 và
họ 19b

<400> 18

Gly Ser Tyr Asp Phe Phe Leu Gly Met Ile Val
1 5 10

<210> 19

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR3 của họ 19a dòng vô tính MOR 8141, 8160, mAb 5548

<400> 19

Gly Ser Tyr Asp Phe Phe Leu Gly Leu Ile Val
1 5 10

<210> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR3 của họ 19a dòng vô tính MOR 8142, 8161, 8303

<400> 20

Gly Ser Tyr Asp Phe Phe Leu Gly Thr Ile Val
1 5 10

<210> 21

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR3 của họ 19a dòng vô tính MOR 8143, 8162

<400> 21

Gly Ser Tyr Asp Phe Phe Leu Gly Tyr Ile Val
1 5 10

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR3 liên ứng của kháng thể họ 19a, công thức
V

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 9

<223> Xaa có thể là Met, Leu, Thr hoặc Tyr

<400> 22

Gly Ser Tyr Asp Phe Phe Leu Gly Xaa Ile Val
1 5 10

<210> 23

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR1 của họ 2

<400> 23

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR1 của họ 6a và 6b

<400> 24

Ser Ser Ser Ala Ala Trp Gly
1 5

<210> 25

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR1 của họ 19a và 19b

<400> 25

Ser	Tyr	Ala	Met	Ser
1				5

<210> 26

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR2 của họ 2 7702

<400> 26

His	Ile	Ile	Pro	Trp	Phe	Gly	Trp	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 27

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR2 của họ 2 7701

<400> 27

Met	Ile	Ile	Pro	Trp	Phe	Gly	Thr	Thr	Phe	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR2 của họ 2 7708

<400> 28

Arg	Ile	Ile	Pro	Trp	Phe	Gly	Trp	Thr	Ser	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 29
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HCDR2 của họ 2 8297

<400> 29
 Arg Ile Ile Pro Trp Phe Gly Thr Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 30
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HCDR2 của họ 2 8298

<400> 30
 Arg Ile Ile Pro Trp Phe Gly Tyr Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 31
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HCDR2 của họ 2 7785

<400> 31
 Ser Ile Ile Pro Trp Phe Gly Trp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 32
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HCDR2 của họ 2 8104

<400> 32

Ser Ile Ile Pro Trp Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 33
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HCDR2 của họ 2 8105

<400> 33
 Ser Ile Ile Pro Trp Phe Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 34
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HCDR2 của họ 2 7786

<400> 34
 Tyr Ile Ile Pro Trp Phe Gly Trp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 35
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> LCDR2 liên ứng của họ 2 công thức I

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> 1
 <223> Xaa có thể là His, Met, Arg, Ser hoặc Tyr

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> 8
 <223> Xaa có thể là Trp, Thr hoặc Tyr

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 10

<223> Xaa có thể là Tyr, Phe, Ser hoặc Asp

<400> 35

Xaa	Ile	Ile	Pro	Trp	Phe	Gly	Xaa	Thr	Xaa	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 36

<211> 18

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR2 của họ 6a

<400> 36

Arg	Ile	Ser	Tyr	Arg	Ser	Lys	Trp	Tyr	Asn	Asp	Tyr	Ala	Val	Ser	Val
1				5					10					15	

Lys Ser

<210> 37

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR2 của họ 19a dòng vô tính 179

<400> 37

Ala	Ile	Asn	Gly	Leu	Gly	Thr	His	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 38

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR2 của họ 19a dòng vô tính 180

<400> 38

Ala	Ile	Ser	Met	Asp	Gly	Gly	Trp	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 39
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HCDR2 của họ 19a MOR 7709

<400> 39
 Gly Ile Asn Lys Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 40
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HCDR2 của họ 19a dòng vô tính 182

<400> 40
 Gly Ile Ser Gly His Gly Gly Tyr Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 41
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HCDR2 của họ 19a MOR 7700, 8097, 8098, 8141,
 8142, 8143, 8160, 8161, 8162

<400> 41
 Thr Ile Ser Met Thr Ser Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 42
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HCDR2 của họ 19a MOR 8095

<400> 42

Thr	Ile	Ser	Ile	Thr	Ser	Gly	Phe	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 43

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR2 của họ 19a MOR 8096, 8302, 8303, mAb 5548

<400> 43

Thr	Ile	Ser	Leu	Thr	Ser	Gly	Phe	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 44

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR2 của họ 19a MOR 7768

<400> 44

Val	Ile	Asn	Lys	Gly	Gly	Asp	Phe	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 45

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR2 của họ 19a dòng vô tính 185

<400> 45

Val	Ile	Ser	His	Ser	Gly	Gly	Trp	Ile	Asn	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 46

<211> 17

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> LCDR2 liên ứng của họ 19a, công thức VI

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa có thể là Ala, Gly, Thr hoặc Val

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa có thể là Asn hoặc Ser

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa có thể là Gly, Met, Lys, Ile, Leu hoặc His

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa có thể là Leu, Asp, Ala, His, Thr, Gly hoặc Ser

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa có thể là Gly hoặc Ser

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 7
<223> Xaa có thể là Thr, Gly, Tyr hoặc Asp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 8
<223> Xaa có thể là His, Trp, Tyr hoặc Phe

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 9
<223> Xaa có thể là Lys, Thr hoặc Ile

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 10

<223> Xaa có thể là Tyr, Phe hoặc Asn

<400> 46

Xaa	Ile	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 47

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR2 của họ 19b dòng vô tính 186

<400> 47

Val	Thr	Ser	Ala	Asn	Gly	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly
1				5					10					15	

<210> 48

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR2 của họ 19b dòng vô tính 187

<400> 48

Val	Thr	Ser	Lys	Met	Gly	His	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly
1				5					10					15	

<210> 49

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR2 của họ 19b dòng vô tính 188

<400> 49

Val	Thr	Ser	Met	Thr	Gly	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly
1				5					10					15	

<210> 50

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR2 của họ 19b dòng vô tính 189

<400> 50

Val	Thr	Ser	His	Arg	Asp	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Gly	Ser	Val	Lys	Gly
1				5				10						15	

<210> 51

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR2 liên ứng của họ 19b, công thức VIII

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 4

<223> Xaa có thể là Ala, Lys, Met hoặc His

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 5

<223> Xaa có thể là Asn, Met, Thr hoặc Arg

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 6

<223> Xaa có thể là Gly hoặc Asp

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 7

<223> Xaa có thể là Arg, His hoặc Asn

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 12

<223> Xaa có thể là Asp hoặc Gly

<400> 51

Val	Thr	Ser	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Xaa	Ser	Val	Lys	Gly
1				5				10						15	

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR3 của họ 2

<400> 52
 Asp Ser Glu Tyr Tyr Phe Asp His
 1 5

<210> 53
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HCDR3 của họ 6a, 6b các dòng vô tính 13, 15, 16, Mor
 7706, 7775

<400> 53
 Glu Val Asp Ser Met Tyr Tyr Ser Tyr Phe Asp Ile
 1 5 10

<210> 54
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HCDR3 của họ 6b MOR 8299, 8101

<400> 54
 Glu Val Asp Ser Ile Tyr Tyr Ser Tyr Phe Asp Ile
 1 5 10

<210> 55
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HCDR3 của họ 6b MOR 8300, 8102

<400> 55
 Glu Val Asp Ser Leu Tyr Tyr Ser Tyr Phe Asp Ile
 1 5 10

<210> 56
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HCDR3 của họ 6b MOR 8301, 8103

<400> 56

Glu Val Asp Ser Thr Tyr Tyr Ser Tyr Phe Asp Ile
 1 5 10

<210> 57
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HCDR3 liên ứng của họ 6b, công thức IV

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> 5
 <223> Xaa có thể là Met, Ile, Leu hoặc Thr

<400> 57
 Glu Val Asp Ser Xaa Tyr Tyr Ser Tyr Phe Asp Ile
 1 5 10

<210> 58
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HCDR3 của họ 19a dòng vô tính 179, 180, 182, MOR
 7709, 7700, 8095, 8096, 8141, 8142, 8143, 7768,
 họ 19b

<400> 58
 Gln Leu Met Leu Asp Val
 1 5

<210> 59
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> HCDR3 của họ 19a MOR 8097

<400> 59
 Gln Leu Leu Leu Asp Val
 1 5

<210> 60
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR3 của họ 19a MOR 8098, 8160, 8161, 8162,
8302, 8303, mAb5548

<400> 60

Gln Leu Thr Leu Asp Val
1 5

<210> 61

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR3 liên ứng của họ 19a, công thức VII

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 3

<223> Xaa có thể là Met, Leu hoặc Thr

<400> 61

Gln Leu Xaa Leu Asp Val
1 5

<210> 62

<211> 106

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> VL hoặc họ 2

<400> 62

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

<210> 63
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> VL hoặc họ 6b MOR 7706, 8299, 8300, 8301

<400> 63

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

<210> 64
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> VL của họ 6b MOR 7775, 8010, 8102, 8103

<400> 64

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

<210> 65
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> VL hoặc họ 19a dòng vô tính 179, 180, 182, MOR 7709,
7700, 8095, 8096, 8097, 8098, 8302, 7768, họ
19b

<400> 65

```

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

```

<210> 66

<211> 108

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> VL hoặc họ 19a MOR 8016, mAb 5548

<400> 66

```

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

```

<210> 67

<211> 117

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> VH hoặc họ 2 MOR 7708

<400> 67

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

<210> 68

<211> 117

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> VH hoặc họ 2 MOR 7785

<400> 68

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

<210> 69

<211> 117

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> VH hoặc họ 2 MOR 8104

<400> 69

[illegible]

$\langle 210 \rangle$ 70

 $\langle 211 \rangle$ 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

 $\langle 220 \rangle$

<223> VH hoặc họ 6b MOR 7706, 7775

$\langle 400 \rangle$ 70

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

<210> 71

$\langle 211 \rangle$ 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

 $\langle 220 \rangle$

<223> VH hoặc họ 6b MOR 8299, 8101

<400> 71

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

<210> 72

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> VH hoặc họ 6b MOR 8103, 8301

<400> 72

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

<210> 73

<211> 115

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> VH hoặc họ 19a MOR 7700, 8141, 8142, 8143

<400> 73

[illegible]

<210> 74

<211> 115

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

 $\langle 220 \rangle$

<223> VH hoặc họ 19a MOR 8096, 8160, 8161, 8162

<400> 74

[illegible]

<210> 75

$\langle 211 \rangle$ 115

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

 $\langle 220 \rangle$

<223> VH hoặc họ 19a MOR 8302, 8303, mAb 5548

<400> 75

```

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

```

<210> 76

<211> 106

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> VL hoặc họ 2 mAb

<400> 76

```

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

```

<210> 77

<211> 109

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> VL hoặc họ 6b mAb 4538, 3584

<400> 77

```

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

```

<210> 78

<211> 109

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> VL của họ 6b mAb 732, 4168

<400> 78

```

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

```

<210> 79

<211> 108

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> VL hoặc họ 19a mAb 1926, 6785, họ 19b

<400> 79

```

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

```

```

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

```

<210> 80
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> VL hoặc họ 19a mAb 7146, 5584

```

<400> 80
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
 1      5      10      15
Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
      20      25      30
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
      35      40      45
Asp Asp Ile Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
      50      55      60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65      70      75      80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Asp Phe Phe Leu Gly Leu
      85      90      95
Ile Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
      100      105

```

<210> 81
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> VH hoặc họ 6b mAb 4583, 732

```

<400> 81
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1      5      10      15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Ser
      20      25      30
Ser Ala Ala Trp Gly Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
      35      40      45
Trp Leu Gly Arg Ile Ser Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
      50      55      60

```

```

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65          70          75          80
Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
          85          90          95
Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Val Asp Ser Met Tyr Tyr Ser Tyr Phe Asp
          100        105        110
Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115          120

```

<210> 82
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> VH hoặc họ 6b mAb 3584

```

<400> 82
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1          5          10          15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Ser
          20          25          30
Ser Ala Ala Trp Gly Trp Ile Arg Gln Ser Pro Arg Gly Leu Glu Trp
          35          40          45
Leu Gly Arg Ile Ser Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala Val
          50          55          60
Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn Gln
65          70          75          80
Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
          85          90          95
Tyr Cys Ala Arg Glu Val Asp Ser Ile Tyr Tyr Ser Tyr Phe Asp Ile
          100        105        110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115          120

```

<210> 83
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> VH hoặc họ 6b mAb 4168

```

<400> 83
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1          5          10          15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Ser
          20          25          30
Ser Ala Ala Trp Gly Trp Ile Arg Gln Ser Pro Arg Gly Leu Glu Trp
          35          40          45
Leu Gly Arg Ile Ser Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala Val
          50          55          60

```

```

Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn Gln
65          70          75          80
Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
          85          90          95
Tyr Cys Ala Arg Glu Val Asp Ser Thr Tyr Tyr Ser Tyr Phe Asp Ile
          100          105          110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115          120

```

<210> 84
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> VH hoặc họ 19a mAb 1926

```

<400> 84
Gln Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1          5          10          15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
          20          25          30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
          35          40          45
Ser Thr Ile Ser Met Thr Ser Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
          50          55          60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
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 Gln Leu Met Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
          100          105          110
Val Ser Ser
          115

```

<210> 85
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> VH hoặc họ 19a mAb 7146

```

<400> 85
Gln Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1          5          10          15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
          20          25          30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
          35          40          45
Ser Thr Ile Ser Met Thr Ser Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
          50          55          60

```

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 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 Gln Leu Thr Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 86
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> VH hoặc họ 19a mAb 6785, 5548

<400> 86
 Gln Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Thr Ile Ser Leu Thr Ser Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 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 Gln Leu Thr Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 87
 <211> 212
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Chuỗi nhẹ của mAb 624, 3077, 7024 họ 2

<400> 87
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

```

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65          70          75          80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Asp Asp Pro Thr
          85          90          95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gln Pro Lys Ala Ala
          100          105          110
Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn
          115          120          125
Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val
          130          135          140
Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu
145          150          155          160
Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser
          165          170          175
Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser
          180          185          190
Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro
          195          200          205
Thr Glu Cys Ser
          210

```

<210> 88

<211> 215

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nhẹ của mAb họ 6b mAb 4538, 3584

<400> 88

```

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

```

			180					185						190			
Ser	Tyr	Ser	Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val	Glu	Lys	Thr		
		195					200										
Val	Ala	Pro	Thr	Glu	Cys	Ser											
	210					215											

<210> 89
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Chuỗi nhẹ của mAb họ 6b mAb 732, 4168

<400> 89

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

<210> 90
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Chuỗi nhẹ của mAb họ 19a mAb 1926, 6785

<400> 90

```

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

```

<210> 91

<211> 214

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nhẹ của mAb họ 19a mAb 7146, 5548

<400> 91

```

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

```

```

<210> 92
<211> 447
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

```

```

<220>
<223> Chuỗi nặng của họ 2 mAb 624

```

```

<400> 92
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1      5      10      15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
      20      25      30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
      35      40      45
Gly Arg Ile Ile Pro Trp Phe Gly Trp Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
      50      55      60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65      70      75      80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85      90      95
Ala Arg Asp Ser Glu Tyr Tyr Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu
      100     105     110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
      115     120     125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
      130     135     140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145     150     155     160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
      165     170     175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
      180     185     190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
      195     200     205
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
      210     215     220
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val

```

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

<210> 93

<211> 447

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nặng của họ 2 mAb 3077

<400> 93

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

Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys		
	130					135					140						
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser		
145					150					155					160		
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser		
				165					170					175			
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser		
			180					185					190				
Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn		
	195						200					205					
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His		
	210					215					220						
Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val		
225					230					235					240		
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr		
				245					250					255			
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu		
			260					265					270				
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys		
	275						280					285					
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser		
	290					295						300					
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys		
305					310					315					320		
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile		
				325					330					335			
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro		
			340					345					350				
Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu		
	355						360					365					
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn		
	370					375					380						
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser		
385					390					395					400		
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg		
			405						410					415			
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu		
			420					425					430				
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys			
	435						440					445					

<210> 94

<211> 447

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nặng của họ 2 mAb 7024

<400> 94

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser		
1				5					10				15				
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr		

[illegible]

<210> 95

<211> 454

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

 $\langle 220 \rangle$

<223> Chuỗi nặng của họ 6b mAb 4538, 732

<400> 95

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Gln
1				5				10					15	
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ala	Ile	Ser	Gly	Asp	Ser	Val	Ser	Ser
			20					25				30		
Ser	Ala	Ala	Trp	Gly	Trp	Ile	Arg	Gln	Ser	Pro	Ser	Arg	Gly	Leu
		35					40					45		Glu
Trp	Leu	Gly	Arg	Ile	Ser	Tyr	Arg	Ser	Lys	Trp	Tyr	Asn	Asp	Tyr
	50					55					60			Ala
Val	Ser	Val	Lys	Ser	Arg	Ile	Thr	Ile	Asn	Pro	Asp	Thr	Ser	Lys
65					70					75				Asn
Gln	Phe	Ser	Leu	Gln	Leu	Asn	Ser	Val	Thr	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala
				85					90					Val
Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Glu	Val	Asp	Ser	Met	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Phe
			100					105					110	Asp
Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr
		115					120					125		Lys
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser
	130					135					140			Gly
Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu
145					150					155				Pro
Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His
				165					170					Thr
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Val
			180					185					190	
Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys
		195					200					205		Asn
Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu
	210					215					220			Pro
Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
225					230					235				Glu
Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
				245					250					255
Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
			260					265					270	Asp
Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
		275					280					285		Gly
Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr
	290					295					300			Asn
Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
305					310					315				Trp
Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu
				325					330					Pro
Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
			340					345					350	Glu

```

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
      355                      360                      365
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
      370                      375                      380
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
      385                      390                      395                      400
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
      405                      410                      415
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
      420                      425                      430
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
      435                      440                      445
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
      450

```

```

<210> 96
<211> 454
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

```

```

<220>
<223> Chuỗi nặng của họ 6b mãb 3584

```

```

<400> 96
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
  1                      5                      10                      15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Ser
      20                      25                      30
Ser Ala Ala Trp Gly Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
      35                      40                      45
Trp Leu Gly Arg Ile Ser Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
      50                      55                      60
Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
      65                      70                      75                      80
Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
      85                      90                      95
Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Val Asp Ser Ile Tyr Tyr Ser Tyr Phe Asp
      100                      105                      110
Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
      115                      120                      125
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
      130                      135                      140
Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
      145                      150                      155                      160
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
      165                      170                      175
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
      180                      185                      190
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
      195                      200                      205
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
      210                      215                      220
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu

```

```

225                230                235                240
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
                245                250                255
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
                260                265                270
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
                275                280                285
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
                290                295                300
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305                310                315                320
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
                325                330                335
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
                340                345                350
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
                355                360                365
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
                370                375                380
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385                390                395                400
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
                405                410                415
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
                420                425                430
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
                435                440                445
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450

```

<210> 97

<211> 454

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nặng của họ 6b mAb 4168

<400> 97

```

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

```

```

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
      115                      120                      125
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
      130                      135                      140
Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145      150                      155                      160
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
      165                      170                      175
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
      180                      185                      190
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
      195                      200                      205
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
210      215                      220
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
225      230                      235                      240
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
      245                      250                      255
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
      260                      265                      270
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
      275                      280                      285
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
290      295                      300
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305      310                      315                      320
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
      325                      330                      335
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
      340                      345                      350
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
      355                      360                      365
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
      370                      375                      380
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385      390                      395                      400
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
      405                      410                      415
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
      420                      425                      430
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
      435                      440                      445
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
      450

```

<210> 98

<211> 445

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nặng của họ 19a mAb 1926

<400> 98

Gln	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly		
1				5				10						15			
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr		
			20					25					30				
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val		
		35				40						45					
Ser	Thr	Ile	Ser	Met	Thr	Ser	Gly	Phe	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val		
	50					55					60						
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr		
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	Gln	Leu	Met	Leu	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr		
			100					105					110				
Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro		
		115					120					125					
Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val		
	130					135					140						
Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala		
145					150				155						160		
Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly		
			165					170							175		
Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly		
		180						185					190				
Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys		
	195					200						205					
Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys		
	210				215					220							
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu		
225					230				235						240		
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu		
			245					250						255			
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys		
		260						265					270				
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys		
	275					280					285						
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu		
	290				295					300							
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys		
305				310					315						320		
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys		
			325					330						335			
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser		
		340						345					350				
Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys		
	355					360						365					
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln		
	370				375					380							
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly		
385				390					395						400		
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln		
			405					410					415				
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn		

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

```
<210> 99
<211> 445
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

<220>
<223> Chuỗi nặng của họ 19a mAb 7146

<400> 99															
Gln 1	Val	Gln	Leu	Leu 5	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly 10	Leu	Val	Gln	Pro	Gly 15	Gly
Ser	Leu	Arg	Leu 20	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly 25	Phe	Thr	Phe	Ser 30	Ser	Tyr
Ala	Met	Ser 35	Trp	Val	Arg	Gln	Ala 40	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu 45	Glu	Trp	Val
Ser	Thr 50	Ile	Ser	Met	Thr	Ser 55	Gly	Phe	Thr	Tyr	Tyr 60	Ala	Asp	Ser	Val
Lys 65	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile 70	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser 75	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr 80
Leu	Gln	Met	Asn 85	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp 90	Thr	Ala	Val	Tyr 95	Tyr	Cys
Ala	Arg	Gln	Leu 100	Thr	Leu	Asp	Val	Trp 105	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu 110	Val	Thr
Val	Ser 115	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly 120	Pro	Ser	Val	Phe	Pro 125	Leu	Ala	Pro
Ser	Ser 130	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly 135	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu 140	Gly	Cys	Leu	Val
Lys 145	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu 150	Pro	Val	Thr	Val	Ser 155	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala 160
Leu	Thr	Ser	Gly 165	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala 170	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly 175
Leu	Tyr	Ser 180	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr 185	Val	Pro	Ser	Ser	Ser 190	Leu	Gly
Thr	Gln 195	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn 200	Val	Asn	His	Lys	Pro 205	Ser	Asn	Thr	Lys
Val	Asp 210	Lys	Lys	Val	Glu	Pro 215	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys 220	Thr	His	Thr	Cys
Pro 225	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro 230	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly 235	Pro	Ser	Val	Phe	Leu 240
Phe	Pro	Pro	Lys 245	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met 250	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
Val	Thr	Cys 260	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His 265	Glu	Asp	Pro	Glu 270	Val	Lys
Phe	Asn 275	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val 280	Glu	Val	His	Asn 285	Ala	Lys	Thr	Lys
Pro	Arg 290	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn 295	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val 300	Val	Ser	Val	Leu
Thr 305	Val	Leu	His	Gln	Asp 310	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys 315	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys 320

```

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
      325                      330                      335
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
      340                      345                      350
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
      355                      360                      365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
      370                      375                      380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385                      390                      395                      400
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
      405                      410                      415
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
      420                      425                      430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
      435                      440                      445

```

<210> 100

<211> 445

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nặng của mAb họ 19a mAb 6785, 5548

<400> 100

```

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

```

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

<210> 101

<211> 1392

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> chuỗi nặng mAb 6785 được tối ưu hóa cADN codon có trình tự dẫn đầu

<400> 101

atggcttggg	tgtggacctt	gctattcctg	atggcagctg	cccaaagtat	acaggcccaa	60
gtgcagctgc	tgagagcg	cggcgcctg	gtgcagccc	gcggcagcct	gcggctgagc	120
tgcgccgcca	gcggcttcac	cttcagcagc	tacgccatga	gctgggtg	gcaggccccc	180
ggcaagggcc	tgagtggt	gagcaccatc	agcctgacca	gcggcttcac	ctactacgcc	240
gacagcgtga	agggccggtt	caccatcagc	cgggacaaca	gcaagaacac	cctgtacctg	300
cagatgaaca	gcctgcgggc	cgaggacacc	gccgtgtact	actgcgccc	gcagctgacc	360
ctggacgtgt	ggggccaggg	caccctgggt	accgtgagca	gcgcctccac	caagggccca	420
tcggtcttcc	ccctggcacc	ctcctccaag	agcacctctg	ggggcacagc	ggccctgggc	480
tgcttggtca	aggactactt	ccccgaaccg	gtgacggtgt	cgtggaactc	aggcgccctg	540
accagcggcg	tgcacacctt	cccggctgtc	ctacagtcct	caggactcta	ctccctcagc	600
agcgtggtga	ccgtgccctc	cagcagcttg	ggcaccacaga	cctacatctg	caacgtgaat	660
cacaagccca	gcaacaccaa	ggtggacaag	aaagttgagc	ccaaatcttg	tgacaaaact	720
cacacatgcc	caccgtgccc	agcacctgaa	ctcctggggg	gaccgtcagt	cttcctcttc	780

ccccaaaac	ccaaggacac	cctcatgac	tcccggaccc	ctgaggtcac	atgcgtggtg	840
gtggacgtga	gccacgaaga	ccctgaggtc	aagttcaact	ggtacgtgga	cggcgtggag	900
gtgcataatg	ccaagacaaa	gccgcgggag	gagcagtaca	acagcacgta	ccgtgtggtc	960
agcgtcctca	ccgtcctgca	ccaggactgg	ctgaatggca	aggagtacaa	gtgcaaggtc	1020
tccaacaaag	ccctcccagc	ccccatcgag	aaaaccatct	ccaaagccaa	agggcagccc	1080
cgagaaccac	aggtgtacac	cctgccccca	tcccgggatg	agctgaccaa	gaaccaggtc	1140
agcctgacct	gcctgggtcaa	aggcttctat	cccagcgaca	tcgccgtgga	gtgggagagc	1200
aatgggcagc	cggagaacaa	ctacaagacc	acgcctcccg	tgctggactc	cgacggctcc	1260
ttcttcctct	acagcaagct	caccgtggac	aagagcaggt	ggcagcaggg	gaacgtcttc	1320
tcatgctccg	tgatgcatga	ggctctgcac	aaccactaca	cgcagaagag	cctctccctg	1380
tctccgggta	aa					

1392

<210> 102

<211> 1335

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> chuỗi nặng mAb 6785 được tối ưu hóa cADN codon mà không có trình tự dẫn đầu

<400> 102

caagtgcagc	tgctggagag	cggcggcggc	ctggtgcagc	ccggcggcag	cctgcccgtg	60
agctgcgccg	ccagcggctt	caccttcagc	agctacgcc	tgagctgggt	gcggcaggcc	120
cccggcaagg	gcctggagtg	ggtgagcacc	atcagcctga	ccagcggctt	cacctactac	180
gccgacagcg	tgaagggccg	gttcaccatc	agccgggaca	acagcaagaa	caccctgtac	240
ctgcagatga	acagcctgcg	ggccgaggac	accgccgtgt	actactgcgc	ccggcagctg	300
accctggacg	tgtggggcca	gggcaccctg	gtgaccgtga	gcagcgcctc	caccaagggc	360
ccatcggtct	tccccctggc	accctcctcc	aagagcacct	ctggggggcac	agcggccctg	420
ggctgcctgg	tcaaggacta	cttccccgaa	ccggtgacgg	tgctcgtgga	ctcaggcgcc	480
ctgaccagcg	gcgtgcacac	cttcccggct	gtcctacagt	cctcaggact	ctactccctc	540
agcagcgtgg	tgaccgtgcc	ctccagcagc	ttgggcaccc	agacctacat	ctgcaacgtg	600
aatcacaagc	ccagcaacac	caaggtggac	aagaaagtgt	agcccaaata	ttgtgacaaa	660
actcacacat	gcccaccgtg	cccagcacct	gaactcctgg	ggggaccgtc	agtcttcctc	720
ttccccccaa	aacccaagga	cacctcatg	atctcccggg	cccctgaggt	cacatgcgtg	780
gtggtggacg	tgagccacga	agaccctgag	gtcaagttca	actggtacgt	ggacggcgtg	840
gaggtgcata	atgccaagac	aaagccgcgg	gaggagcagt	acaacagcac	gtaccgtgtg	900
gtcagcgtcc	tcaccgtcct	gcaccaggac	tgggtgaatg	gcaaggagta	caagtgcaag	960
gtctccaaca	aagccctccc	agcccccatc	gagaaaacca	tctccaaagc	caaagggcag	1020
ccccgagaac	cacaggtgta	cacctgccc	ccatcccggg	atgagctgac	caagaaccag	1080
gtcagcctga	cctgcctggg	caaaggcttc	tatcccagcg	acatcgccgt	ggagtgggag	1140
agcaatgggc	agccggagaa	caactacaag	accacgcctc	ccgtgctgga	ctccgacggc	1200
tccttcttcc	tctacagcaa	gctcaccgtg	gacaagagca	ggtggcagca	ggggaacgtc	1260
ttctcatgct	ccgtgatgca	tgaggctctg	cacaaccact	acacgcagaa	gagcctctcc	1320
ctgtctccgg	gtaaa					

1335

<210> 103

<211> 699

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> chuỗi nhẹ mAb 6785 được tối ưu hóa cADN codon có trình tự dẫn đầu

<400> 103

```

atggcctggt ctcctctcct cctcactctc ctcgctcact gcacagggtc ctgggcccag 60
agcgtgctga cccagccccc cagcgtgagc gtggcccccg gccagaccgc ccggatcagc 120
tgcagcggcg acaacctggg cgacaagtac gccaaactggt accagcagaa gcccggccag 180
gcccccgtag tggtgatcta cgacgacatc gaccggccca gcggcatccc cgagcgggtc 240
agcggcagca acagcggcaa caccgccacc ctgaccatca gcggcaccca ggccgaggac 300
gaggccgact actactgcgg cagctacgac ttcttcctgg gcatgatcgt gttcggcggc 360
ggcaccaagc tgaccgtgct gggtcagccc aaggctgcac ccagtgtcac tctgttcccg 420
ccctcctctg aggagcttca agccaacaag gccacactgg tgtgtctcat aagtgacttc 480
taccggggag ccgtgacagt ggcctggaag gccgatagca gccccgtcaa ggcgaggagt 540
gagaccacca caccctccaa acaaagcaac aacaagtacg cggccagcag ctatctgagc 600
ctgacgcctg agcagtggaa gtcccacaga agctacagct gccaggtcac gcatgaaggg 660
agcaccgtgg agaagacagt ggcccctaca gaatgttca
699

```

<210> 104

<211> 642

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> chuỗi nhẹ mAb 6785 được tối ưu hóa cADN codon mà không có trình tự dẫn đầu

<400> 104

```

cagagcgtgc tgaccagcc cccagcgtg agcgtggccc ccggccagac cgcccggatc 60
agctgcagcg gcgacaacct gggcgacaag tacgccaact ggtaccagca gaagcccggc 120
caggcccccg tgctggtgat ctacgacgac atcgaccggc ccagcggcat ccccgagcgg 180
ttcagcggca gcaacagcgg caacaccgcc accctgacca tcagcggcac ccaggccgag 240
gacgaggccg actactactg cggcagctac gacttcttcc tgggcatgat cgtgttcggc 300
ggcggcacca agctgaccgt gctgggtcag cccaaggctg caccagtggt cactctgttc 360
ccgccctcct ctgaggagct tcaagccaac aaggccacac tgggtgtgtc cataagtgac 420
ttctacccgg gagccgtgac agtggcctgg aaggccgata gcagccccgt caaggcgga 480
gtggagacca ccacaccctc caaacaagc aacaacaagt acgcggccag cagctatctg 540
agcctgacgc ctgagcagtg gaagtccac agaagctaca gctgccaggt cacgcatgaa 600
gggagcaccg tggagaagac agtggcccct acagaatgtt ca
642

```

<210> 105

<211> 132

<212> PRT

<213> Người

<400> 105

```

Gly Ile Thr Ile Pro Arg Asn Pro Gly Cys Pro Asn Ser Glu Asp Lys
1           5           10           15
Asn Phe Pro Arg Thr Val Met Val Asn Leu Asn Ile His Asn Arg Asn
20           25           30
Thr Asn Thr Asn Pro Lys Arg Ser Ser Asp Tyr Tyr Asn Arg Ser Thr
35           40           45
Ser Pro Trp Asn Leu His Arg Asn Glu Asp Pro Glu Arg Tyr Pro Ser

```

```

      50              55              60
Val Ile Trp Glu Ala Lys Cys Arg His Leu Gly Cys Ile Asn Ala Asp
65              70              75              80
Gly Asn Val Asp Tyr His Met Asn Ser Val Pro Ile Gln Gln Glu Ile
      85              90              95
Leu Val Leu Arg Arg Glu Pro Pro His Cys Pro Asn Ser Phe Arg Leu
      100              105              110
Glu Lys Ile Leu Val Ser Val Gly Cys Thr Cys Val Thr Pro Ile Val
      115              120              125
His His Val Ala
      130

```

<210> 106
 <211> 132
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> IL-17Amut6 thành thực

```

<400> 106
Gly Ile Thr Ile Pro Arg Asn Pro Gly Cys Pro Asn Ser Glu Asp Lys
1              5              10              15
Asn Phe Pro Arg Thr Val Met Val Asn Leu Asn Ile His Asn Arg Asn
      20              25              30
Thr Asn Thr Asn Pro Lys Arg Ser Ser Asp Tyr Tyr Asn Arg Ser Thr
      35              40              45
Ser Pro Trp Asn Leu His Arg Asn Glu Asp Pro Glu Arg Tyr Pro Ser
      50              55              60
Val Ile Trp Glu Ala Gln Cys Arg His Leu Gly Cys Ile Asn Ala Asp
65              70              75              80
Gly Asn Val Asp Tyr His Met Asn Ser Val Pro Ile Gln Gln Glu Ile
      85              90              95
Leu Val Leu Arg Arg Glu Pro Pro His Cys Pro Asn Ser Phe Arg Leu
      100              105              110
Glu Lys Ile Leu Val Ser Val Gly Cys Thr Cys Val Thr Pro Ile Val
      115              120              125
His His Val Gln
      130

```

<210> 107
 <211> 866
 <212> PRT
 <213> Người

```

<400> 107
Met Gly Ala Ala Arg Ser Pro Pro Ser Ala Val Pro Gly Pro Leu Leu
1              5              10              15
Gly Leu Leu Leu Leu Leu Gly Val Leu Ala Pro Gly Gly Ala Ser
      20              25              30
Leu Arg Leu Leu Asp His Arg Ala Leu Val Cys Ser Gln Pro Gly Leu

```

[illegible]

465					470					475				480	
Ala	Ala	Met	Asn	Met	Ile	Leu	Pro	Asp	Phe	Lys	Arg	Pro	Ala	Cys	Phe
				485					490					495	
Gly	Thr	Tyr	Val	Val	Cys	Tyr	Phe	Ser	Glu	Val	Ser	Cys	Asp	Gly	Asp
			500					505					510		
Val	Pro	Asp	Leu	Phe	Gly	Ala	Ala	Pro	Arg	Tyr	Pro	Leu	Met	Asp	Arg
		515					520					525			
Phe	Glu	Glu	Val	Tyr	Phe	Arg	Ile	Gln	Asp	Leu	Glu	Met	Phe	Gln	Pro
	530					535					540				
Gly	Arg	Met	His	Arg	Val	Gly	Glu	Leu	Ser	Gly	Asp	Asn	Tyr	Leu	Arg
545					550					555					560
Ser	Pro	Gly	Gly	Arg	Gln	Leu	Arg	Ala	Ala	Leu	Asp	Arg	Phe	Arg	Asp
				565				570						575	
Trp	Gln	Val	Arg	Cys	Pro	Asp	Trp	Phe	Glu	Cys	Glu	Asn	Leu	Tyr	Ser
			580					585					590		
Ala	Asp	Asp	Gln	Asp	Ala	Pro	Ser	Leu	Asp	Glu	Glu	Val	Phe	Glu	Glu
	595						600					605			
Pro	Leu	Leu	Pro	Pro	Gly	Thr	Gly	Ile	Val	Lys	Arg	Ala	Pro	Leu	Val
	610					615					620				
Arg	Glu	Pro	Gly	Ser	Gln	Ala	Cys	Leu	Ala	Ile	Asp	Pro	Leu	Val	Gly
625					630					635					640
Glu	Glu	Gly	Gly	Ala	Ala	Val	Ala	Lys	Leu	Glu	Pro	His	Leu	Gln	Pro
				645				650						655	
Arg	Gly	Gln	Pro	Ala	Pro	Gln	Pro	Leu	His	Thr	Leu	Val	Leu	Ala	Ala
			660					665					670		
Glu	Glu	Gly	Ala	Leu	Val	Ala	Ala	Val	Glu	Pro	Gly	Pro	Leu	Ala	Asp
	675						680					685			
Gly	Ala	Ala	Val	Arg	Leu	Ala	Leu	Ala	Gly	Glu	Gly	Glu	Ala	Cys	Pro
	690					695					700				
Leu	Leu	Gly	Ser	Pro	Gly	Ala	Gly	Arg	Asn	Ser	Val	Leu	Phe	Leu	Pro
705					710					715					720
Val	Asp	Pro	Glu	Asp	Ser	Pro	Leu	Gly	Ser	Ser	Thr	Pro	Met	Ala	Ser
				725				730						735	
Pro	Asp	Leu	Leu	Pro	Glu	Asp	Val	Arg	Glu	His	Leu	Glu	Gly	Leu	Met
		740						745					750		
Leu	Ser	Leu	Phe	Glu	Gln	Ser	Leu	Ser	Cys	Gln	Ala	Gln	Gly	Gly	Cys
	755						760					765			
Ser	Arg	Pro	Ala	Met	Val	Leu	Thr	Asp	Pro	His	Thr	Pro	Tyr	Glu	Glu
	770					775					780				
Glu	Gln	Arg	Gln	Ser	Val	Gln	Ser	Asp	Gln	Gly	Tyr	Ile	Ser	Arg	Ser
785					790					795					800
Ser	Pro	Gln	Pro	Pro	Glu	Gly	Leu	Thr	Glu	Met	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu
				805					810					815	
Glu	Glu	Gln	Asp	Pro	Gly	Lys	Pro	Ala	Leu	Pro	Leu	Ser	Pro	Glu	Asp
			820					825					830		
Leu	Glu	Ser	Leu	Arg	Ser	Leu	Gln	Arg	Gln	Leu	Leu	Phe	Arg	Gln	Leu
	835						840					845			
Gln	Lys	Asn	Ser	Gly	Trp	Asp	Thr	Met	Gly	Ser	Glu	Ser	Glu	Gly	Pro
	850					855					860				
Ser	Ala														
865															

<210> 108

<211> 155
 <212> PRT
 <213> Khỉ Cynocephalus

<400> 108

```
Met Thr Pro Gly Lys Thr Ser Leu Val Ser Leu Leu Leu Leu Leu Ser
 1          5          10          15
Leu Glu Ala Ile Val Lys Ala Gly Ile Ala Ile Pro Arg Asn Ser Gly
          20          25          30
Cys Pro Asn Ser Glu Asp Lys Asn Phe Pro Arg Thr Val Met Val Asn
          35          40          45
Leu Asn Ile His Asn Arg Asn Thr Ser Thr Asn Pro Lys Arg Ser Ser
          50          55          60
Asp Tyr Tyr Asn Arg Ser Thr Ser Pro Trp Asn Leu His Arg Asn Glu
65          70          75          80
Asp Pro Glu Arg Tyr Pro Ser Val Ile Trp Glu Ala Lys Cys Arg His
          85          90          95
Leu Gly Cys Val Lys Ala Asp Gly Asn Val Asp Tyr His Met Asn Ser
          100          105          110
Val Pro Ile Gln Gln Glu Ile Leu Val Leu Arg Arg Glu Pro Arg His
          115          120          125
Cys Pro Asn Ser Phe Arg Leu Glu Lys Ile Leu Val Ser Val Gly Cys
          130          135          140
Thr Cys Val Thr Pro Ile Val His His Val Ala
145          150          155
```

<210> 109
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự dẫn đầu có đầu cuối N đối với sự biểu hiện của chuỗi nặng

<400> 109

```
Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Leu Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser
 1          5          10          15
Ile Gln Ala
```

<210> 110
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự dẫn đầu có đầu cuối N đối với sự biểu hiện của chuỗi nhẹ

<400> 110

```
Met Gly Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
 1          5          10          15
Asp Ala Arg Cys
```

20

<210> 111
 <211> 224
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> chuỗi nặng Fab6468 có His tag

<400> 111
 Gln Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Thr Ile Ser Leu Thr Ser Gly Phe Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 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 Gln Leu Thr Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
 115 120 125
 Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
 130 135 140
 Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
 145 150 155 160
 Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
 165 170 175
 Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
 180 185 190
 Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
 195 200 205
 Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys His His His His His
 210 215 220

<210> 112
 <211> 399
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự cADN IL-17Amut6 thành thực (biến đổi 2 aa
 vs. WT IL-17A)

<400> 112
 ggcataacca taccccggaa ccccggtgt cccaacagcg aagataaaaa tttccacgt 60

```

accgttatgg tgaatctcaa tattcacaat cgaaacacta acactaacc c taagcggagc 120
agcgactatt ataatcggag cactagcccc tggaacctgc atcggaacga agatcccgaa 180
cggtaccccca gcgtaatttg ggaagcccaa tgtcggcatc tgggttgat taatgccgac 240
ggcaatgtcg attatcatat gaatagcgtg cctattcaac aggaaattct agtgctacgg 300
cgggaaacccc cccattgtcc taatagcttt cgcctcgaaa aaatcctcgt cagcgtcggg 360
tgtacgtgcg tgacgcccac cgtgcatcac gtccaatga
399

```

<210> 113
 <211> 791
 <212> PRT
 <213> Nguòì

<400> 113

```

Met Pro Val Pro Trp Phe Leu Leu Ser Leu Ala Leu Gly Arg Ser Pro
1 5 10 15
Val Val Leu Ser Leu Glu Arg Leu Val Gly Pro Gln Asp Ala Thr His
20 25 30
Cys Ser Pro Val Ser Leu Glu Pro Trp Gly Asp Glu Glu Arg Leu Arg
35 40 45
Val Gln Phe Leu Ala Gln Gln Ser Leu Ser Leu Ala Pro Val Thr Ala
50 55 60
Ala Thr Ala Arg Thr Ala Leu Ser Gly Leu Ser Gly Ala Asp Gly Arg
65 70 75 80
Arg Glu Glu Arg Gly Arg Gly Lys Ser Trp Val Cys Leu Ser Leu Gly
85 90 95
Gly Ser Gly Asn Thr Glu Pro Gln Lys Lys Gly Leu Ser Cys Arg Leu
100 105 110
Trp Asp Ser Asp Ile Leu Cys Leu Pro Gly Asp Ile Val Pro Ala Pro
115 120 125
Gly Pro Val Leu Ala Pro Thr His Leu Gln Thr Glu Leu Val Leu Arg
130 135 140
Cys Gln Lys Glu Thr Asp Cys Asp Leu Cys Leu Arg Val Ala Val His
145 150 155 160
Leu Ala Val His Gly His Trp Glu Glu Pro Glu Asp Glu Glu Lys Phe
165 170 175
Gly Gly Ala Ala Asp Ser Gly Val Glu Glu Pro Arg Asn Ala Ser Leu
180 185 190
Gln Ala Gln Val Val Leu Ser Phe Gln Ala Tyr Pro Thr Ala Arg Cys
195 200 205
Val Leu Leu Glu Val Gln Val Pro Ala Ala Leu Val Gln Phe Gly Gln
210 215 220
Ser Val Gly Ser Val Val Tyr Asp Cys Phe Glu Ala Ala Leu Gly Ser
225 230 235 240
Glu Val Arg Ile Trp Ser Tyr Thr Gln Pro Arg Tyr Glu Lys Glu Leu
245 250 255
Asn His Thr Gln Gln Leu Pro Asp Cys Arg Gly Leu Glu Val Trp Asn
260 265 270
Ser Ile Pro Ser Cys Trp Ala Leu Pro Trp Leu Asn Val Ser Ala Asp
275 280 285
Gly Asp Asn Val His Leu Val Leu Asn Val Ser Glu Glu Gln His Phe
290 295 300
Gly Leu Ser Leu Tyr Trp Asn Gln Val Gln Gly Pro Pro Lys Pro Arg

```

305					310					315				320	
Trp	His	Lys	Asn	Leu	Thr	Gly	Pro	Gln	Ile	Ile	Thr	Leu	Asn	His	Thr
				325					330					335	
Asp	Leu	Val	Pro	Cys	Leu	Cys	Ile	Gln	Val	Trp	Pro	Leu	Glu	Pro	Asp
			340					345					350		
Ser	Val	Arg	Thr	Asn	Ile	Cys	Pro	Phe	Arg	Glu	Asp	Pro	Arg	Ala	His
		355					360					365			
Gln	Asn	Leu	Trp	Gln	Ala	Ala	Arg	Leu	Arg	Leu	Leu	Thr	Leu	Gln	Ser
	370					375					380				
Trp	Leu	Leu	Asp	Ala	Pro	Cys	Ser	Leu	Pro	Ala	Glu	Ala	Ala	Leu	Cys
385					390					395					400
Trp	Arg	Ala	Pro	Gly	Gly	Asp	Pro	Cys	Gln	Pro	Leu	Val	Pro	Pro	Leu
				405					410					415	
Ser	Trp	Glu	Asn	Val	Thr	Val	Asp	Lys	Val	Leu	Glu	Phe	Pro	Leu	Leu
			420					425					430		
Lys	Gly	His	Pro	Asn	Leu	Cys	Val	Gln	Val	Asn	Ser	Ser	Glu	Lys	Leu
		435					440					445			
Gln	Leu	Gln	Glu	Cys	Leu	Trp	Ala	Asp	Ser	Leu	Gly	Pro	Leu	Lys	Asp
	450					455					460				
Asp	Val	Leu	Leu	Leu	Glu	Thr	Arg	Gly	Pro	Gln	Asp	Asn	Arg	Ser	Leu
465					470					475					480
Cys	Ala	Leu	Glu	Pro	Ser	Gly	Cys	Thr	Ser	Leu	Pro	Ser	Lys	Ala	Ser
				485					490					495	
Thr	Arg	Ala	Ala	Arg	Leu	Gly	Glu	Tyr	Leu	Leu	Gln	Asp	Leu	Gln	Ser
			500					505					510		
Gly	Gln	Cys	Leu	Gln	Leu	Trp	Asp	Asp	Asp	Leu	Gly	Ala	Leu	Trp	Ala
		515					520					525			
Cys	Pro	Met	Asp	Lys	Tyr	Ile	His	Lys	Arg	Trp	Ala	Leu	Val	Trp	Leu
	530					535					540				
Ala	Cys	Leu	Leu	Phe	Ala	Ala	Ala	Leu	Ser	Leu	Ile	Leu	Leu	Leu	Lys
545					550					555					560
Lys	Asp	His	Ala	Lys	Gly	Trp	Leu	Arg	Leu	Leu	Lys	Gln	Asp	Val	Arg
				565					570					575	
Ser	Gly	Ala	Ala	Ala	Arg	Gly	Arg	Ala	Ala	Leu	Leu	Leu	Tyr	Ser	Ala
			580				585						590		
Asp	Asp	Ser	Gly	Phe	Glu	Arg	Leu	Val	Gly	Ala	Leu	Ala	Ser	Ala	Leu
	595						600					605			
Cys	Gln	Leu	Pro	Leu	Arg	Val	Ala	Val	Asp	Leu	Trp	Ser	Arg	Arg	Glu
	610					615					620				
Leu	Ser	Ala	Gln	Gly	Pro	Val	Ala	Trp	Phe	His	Ala	Gln	Arg	Arg	Gln
625					630					635					640
Thr	Leu	Gln	Glu	Gly	Gly	Val	Val	Val	Leu	Leu	Phe	Ser	Pro	Gly	Ala
				645					650					655	
Val	Ala	Leu	Cys	Ser	Glu	Trp	Leu	Gln	Asp	Gly	Val	Ser	Gly	Pro	Gly
			660					665					670		
Ala	His	Gly	Pro	His	Asp	Ala	Phe	Arg	Ala	Ser	Leu	Ser	Cys	Val	Leu
		675					680						685		
Pro	Asp	Phe	Leu	Gln	Gly	Arg	Ala	Pro	Gly	Ser	Tyr	Val	Gly	Ala	Cys
	690					695					700				
Phe	Asp	Arg	Leu	Leu	His	Pro	Asp	Ala	Val	Pro	Ala	Leu	Phe	Arg	Thr
705					710					715					720
Val	Pro	Val	Phe	Thr	Leu	Pro	Ser	Gln	Leu	Pro	Asp	Phe	Leu	Gly	Ala
				725					730					735	
Leu	Gln	Gln	Pro	Arg	Ala	Pro	Arg	Ser	Gly	Arg	Leu	Gln	Glu	Arg	Ala

			740						745				750				
Glu	Gln	Val	Ser	Arg	Ala	Leu	Gln	Pro	Ala	Leu	Asp	Ser	Tyr	Phe	His		
		755					760					765					
Pro	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Pro	Gly	Arg	Gly	Val	Gly	Pro	Gly	Ala	Gly		
	770					775					780						
Pro	Gly	Ala	Gly	Asp	Gly	Thr											
785					790												

<210> 114
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Nguòì

<400> 114

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys		
1				5					10					15			
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr		
		20						25					30				
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser		
	35						40					45					
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser		
	50					55					60						
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr		
65					70					75					80		
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys		
			85					90						95			
Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys		
		100						105					110				
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro		
	115					120						125					
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys		
	130				135						140						
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp		
145					150					155					160		
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu		
		165						170						175			
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu		
		180					185						190				
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn		
	195					200						205					
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly		
	210					215					220						
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu		
225					230					235					240		
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr		
		245							250					255			
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn		
	260							265					270				
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe		
	275						280					285					
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn		
	290					295					300						
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr		

305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210>	115
<211>	327
<212>	PRT
<213>	Người
<400>	115

Ala 1	Ser	Thr	Lys	Gly 5	Pro	Ser	Val	Phe	Pro 10	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser 15	Arg
Ser	Thr	Ser	Glu 20	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu 25	Gly	Cys	Leu	Val	Lys 30	Asp	Tyr
Phe	Pro	Glu 35	Pro	Val	Thr	Val	Ser 40	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala 45	Leu	Thr	Ser
Gly	Val 50	His	Thr	Phe	Pro	Ala 55	Val	Leu	Gln	Ser	Ser 60	Gly	Leu	Tyr	Ser
Leu 65	Ser	Ser	Val	Val	Thr 70	Val	Pro	Ser	Ser	Ser 75	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr 80
Tyr	Thr	Cys	Asn 85	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser 90	Asn	Thr	Lys	Val	Asp 95	Lys
Arg	Val	Glu	Ser 100	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro 105	Cys	Pro	Ser	Cys	Pro 110	Ala	Pro
Glu	Phe 115	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val 120	Phe	Leu	Phe	Pro 125	Pro	Lys	Pro	Lys
Asp	Thr 130	Leu	Met	Ile	Ser	Arg 135	Thr	Pro	Glu	Val 140	Thr	Cys	Val	Val	Val
Asp 145	Val	Ser	Gln	Glu	Asp 150	Pro	Glu	Val	Gln	Phe 155	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp 160
Gly	Val	Glu	Val 165	His	Asn	Ala	Lys	Thr 170	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu 175	Gln	Phe
Asn	Ser	Thr 180	Tyr	Arg	Val	Val	Ser 185	Val	Leu	Thr	Val 190	Leu	His	Gln	Asp
Trp	Leu 195	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys 200	Cys	Lys	Val	Ser 205	Asn	Lys	Gly	Leu
Pro	Ser 210	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr 215	Ile	Ser	Lys	Ala 220	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
Glu 225	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr 230	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln 235	Glu	Glu	Met	Thr	Lys 240
Asn	Gln	Val	Ser 245	Leu	Thr	Cys	Leu	Val 250	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro 255	Ser	Asp
Ile	Ala	Val 260	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn 265	Gly	Gln	Pro	Glu 270	Asn	Asn	Tyr	Lys
Thr	Thr 275	Pro	Pro	Val	Leu	Asp 280	Ser	Asp	Gly	Ser 285	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser
Arg	Leu 290	Thr	Val	Asp	Lys	Ser 295	Arg	Trp	Gln	Glu 300	Gly	Asn	Val	Phe	Ser
Cys 305	Ser	Val	Met	His	Glu 310	Ala	Leu	His	Asn 315	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser 320
Leu	Ser	Leu	Ser	Leu 325	Gly	Lys									

<210> 116
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự dẫn đầu đối với biểu hiện của chuỗi nhẹ

<400> 116
 Met Ala Trp Ser Pro Leu Leu Leu Thr Leu Leu Ala His Cys Thr Gly
 1 5 10 15
 Ser Trp Ala

<210> 117
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 117
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 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

<210> 118
 <211> 99
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 118
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asp

<210> 119
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 119
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 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

<210> 120
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 120
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ser
 20 25 30
 Asp Met Asn Trp Ala Arg Lys Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Val Ser Trp Asn Gly Ser Arg Thr His Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Arg Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Lys Asn Arg Arg Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Arg

<210> 121
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 121

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

<210> 122

<211> 98

<212> PRT

<213> Người

<400> 122

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

<210> 123

<211> 98

<212> PRT

<213> Người

<400> 123

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		
Ser	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ser	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Tyr	Ile	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				

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

<210> 124
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 124
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys

<210> 125
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 125
 Gln Val 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 Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 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

<210> 126
 <211> 98

<212> PRT
<213> Người

<400> 126

Gln	Val	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	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		
Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35				40						45			
Ala	Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50				55					60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
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

<210> 127
<211> 98
<212> PRT
<213> Người

<400> 127

Gln	Val	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	Ser	Ser	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	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50				55					60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
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

<210> 128
<211> 98
<212> PRT
<213> Người

<400> 128

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asn	Ser
			20					25					30		
Asp	Met	Asn	Trp	Val	His	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35				40						45			

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

<210> 129
 <211> 99
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 129
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
 Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Leu Ile Ser Trp Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Asp

<210> 130
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 130
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 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

<210> 131
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 131

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

Ala Arg

<210> 132
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 132

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		
Trp	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Val	Trp	Val
		35				40						45			
Ser	Arg	Ile	Asn	Ser	Asp	Gly	Ser	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50				55					60					
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
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

<210> 133
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 133

Ala	Glu	Tyr	Phe	Gln	His	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser
1				5					10					15	

Ser

<210> 134
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 134
 Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 1 5 10 15
 Ser

<210> 135
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 135
 Ala Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10 15

<210> 136
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 136
 Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10 15

<210> 137
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 137
 Asn Trp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10 15

<210> 138
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 138
 Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
 1 5 10 15
 Thr Val Ser Ser
 20

<210> 139
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 139

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

<210> 140
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 140

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

<210> 141
 <211> 96
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 141

Ser	Tyr	Glu	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Gln
1				5					10					15	
Thr	Ala	Arg	Ile	Thr	Cys	Ser	Gly	Asp	Ala	Leu	Pro	Lys	Lys	Tyr	Ala
			20					25					30		
Tyr	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Ser	Gly	Gln	Ala	Pro	Val	Leu	Val	Ile	Tyr
		35					40					45			

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

<210> 142
 <211> 96
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 142
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Val Ala Thr Ala Gln
 1 5 10 15
 Met Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ala Val
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Asp Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45
 Ser Asp Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Asn Pro Gly Asn Thr Thr Thr Leu Thr Ile Ser Arg Ile 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

<210> 143
 <211> 96
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 143
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 Met Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Glu Ala Leu Pro Lys Lys Tyr Ala
 20 25 30
 Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Phe Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45
 Lys Asp Ser Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Ser Ser Gly Thr Ile Val Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Ala Glu
 65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ser Ala Asp Ser Ser Gly Thr Tyr
 85 90 95

<210> 144
 <211> 96
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 144

```

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

```

<210> 145
 <211> 96
 <212> PRT
 <213> Người

```

<400> 145
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
 1      5      10      15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
      20      25      30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
      35      40      45
Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
      50      55      60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val 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

```

<210> 146
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> Người

```

<400> 146
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Leu Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
 1      5      10      15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Val Leu Gly Glu Asn Tyr Ala
      20      25      30
Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Val Ile Tyr
      35      40      45
Glu Asp Ser Glu Arg Tyr Pro Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
      50      55      60
Thr Ser Gly Asn Thr Thr Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Leu Thr Glu
65      70      75      80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ser Gly Asp Glu Asp Asn
      85      90

```

<210> 147
 <211> 96
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 147

```

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

```

<210> 148
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 148

```

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

```

<210> 149
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 149

```

Ser Ser Gly Pro Thr Gln Val Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1          5          10          15
Met Ala Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Met Glu Gly Ser Tyr Glu
          20          25          30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
          35          40          45
Asp Ser Ser Asp Arg Pro Ser Arg Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
          50          55          60

```

Lys Ser Gly Asn Thr Thr Thr Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
 65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Tyr Gln Leu Ile Asp Asn His Ala
 85 90

<210> 150
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 150
 Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 1 5 10

<210> 151
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 151
 Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 1 5 10

<210> 152
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 152
 Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 1 5 10

<210> 153
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 153
 Phe Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Ile Ile Leu
 1 5 10

<210> 154
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 154
 Trp Val Phe Gly Glu Gly Thr Glu Leu Thr Val Leu
 1 5 10

<210> 155
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 155
 Asn Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 1 5 10

<210> 156
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Người

<400> 156
 Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
 1 5 10

<210> 157
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Người

<220>
 <223> Các gốc 56-68 của IL-17A ở người trưởng thành

<400> 157
 Asn Glu Asp Pro Glu Arg Tyr Pro Ser Val Ile Trp Glu
 1 5 10

<210> 158
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Các gốc 100-116 của IL-17A ở người trưởng thành

<400> 158
 Arg Arg Glu Pro Pro His Cys Pro Asn Ser Phe Arg Leu Glu Lys Ile
 1 5 10 15
 Leu

<210> 159
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Các gốc 45-54 của IL-17A ở người trưởng thành

<400> 159

Asn	Arg	Ser	Thr	Ser	Pro	Trp	Asn	Leu	His
1				5				10	

<210> 160

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Các gốc 71-87 của IL-17A ở người trưởng thành

<400> 160

Cys	Arg	His	Leu	Gly	Cys	Ile	Asn	Ala	Asp	Gly	Asn	Val	Asp	Tyr	His
1				5					10					15	
Met															