(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) **1-0028246**

(51)[7] **A61K 39/00**; C12P 21/08; C07K 16/00 (13) **B**

(21) 1-2014-01335 (22) 24/09/2012
(86) PCT/US2012/056886 24/09/2012 (87) WO/2013/044215 28/03/2013
(30) 61/538,454 23/09/2011 US; 61/597,409 10/02/2012 US; 61/692,978 24/08/2012 US
(45) 25/05/2021 398 (43) 25/09/2014 318A
(73) ONCOMED PHARMACEUTICALS, INC. (US)
800 Chesapeake Drive Redwood City, CA 94063 (US)
(72) GURNEY, Austin, L. (US); SATO, Aaron, Ken (US); BOND, Christopher, John (US).
(74) Công ty Cổ phần Hỗ trợ phát triển công nghệ Detech (DETECH)

(54) KHÁNG THỂ ĐẶC HIỆU KÉP VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ ĐẶC HIỆU KÉP NÀY

(57) Sáng chế đề xuất kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết đặc hiệu với VEGF của người và vị trí gắn kết đặc hiệu với DLL4 của người. Sáng chế còn đề xuất dược phẩm chứa kháng thể đặc hiệu kép này, phân tử polynucleotit phân lập được bao gồm trình tự nucleotit mã hóa kháng thể đặc hiệu kép này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các kháng thể và các tác nhân khác gắn kết VEGF, DLL4, hoặc cả VEGF và DLL4, cụ thể là các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4, cũng như đề cập đến các phương pháp sử dụng các kháng thể hoặc các tác nhân khác để điều trị các bệnh như bệnh ung thư.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Sự hình thành mạch đóng vai trò quan trọng đối với sự phát sinh bệnh của một vài rối loạn, bao gồm các khối u rắn và di căn. Việc tạo ra các mạch máu mới cơ bản để cung cấp oxy và các chất dinh dưỡng cho sự phát triển và mở rộng khối u, và do đó sự hình thành mạch là đích thích hợp cho các nghiên cứu điều trị bệnh ung thư.

Sự hình thành mạch liên quan đến họ các protein hoạt động như các chất hoạt hóa sự hình thành mạch, bao gồm nhân tố sinh trưởng màng trong mạch (VEGF-A), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-E, và các thụ thể tương ứng của chúng (VEGFR-1, VEGFR-2, và VEGFR-3). VEGF-A, cũng được đề cập đến như VEGF hoặc nhân tố thấm mạch (VPF), tồn tại ở một vài isoform phát sinh từ việc cắt nối luân phiên mARN của một gen VEGF duy nhất, với $VEGF_{165}$ là isoform liên quan về mặt sinh học nhất.

Các kháng thể kháng VEGF đã được chứng minh là ngăn chặn sự phát triển của các tế bào khối u *in vitro* và *in vivo*. Kháng thể đơn dòng kháng VEGF được làm tương thích với người, bevacizumab (AVASTIN) đã được phát triển và được cấp phép ở Hoa Kỳ như một phương cách chữa bệnh ung thư.

Con đường truyền tín hiệu Notch là hệ truyền tính trạng tín hiệu được bảo toàn toàn phần. Nó được bao gồm trong việc quyết định số phận tế bào trong suốt quá trình phát triển bao gồm sự hình thành mẫu phôi và sự duy trì mô trước

phôi. Ngoài ra, việc truyền tín hiệu Notch đã được xác định là nhân tố then chốt trong việc duy trì của các tế bào gốc tạo máu.

Con đường truyền tín hiệu Notch đã được liên kết với sự phát sinh bệnh của cả các khối u rắn và huyết học và các bệnh ung thư. Nhiều chức năng tế bào và các tín hiệu vi môi trường kết hợp với sự hình thành khối u đã được chứng minh là được điều chỉnh bằng con đường truyền tín hiệu Notch, bao gồm sự tăng sinh, sự chết, sự bám dính tế bào, và sự hình thành mạch (Leong et al., 2006, *Blood*, 107:2223-2233). Ngoài ra, các thụ thể Notch và/hoặc các phối tử Notch đã từng thể hiện vai trò quan trọng về gây bệnh ung thư tiềm tàng ở một số bệnh ung thư ở người, bao gồm bệnh bạch cầu tủy cấp tính, bệnh bạch cầu lympho bào mạn tính tế bào B, ung thư hệ bạch huyết Hodgkin, đa u tủy, rối loạn tăng sinh nguyên bào lympho cấp tính T-tế bào, ung thư não, ung thư vú, ung thư cổ, ung thư ruột kết, ung thư phổi, ung thư tụy, ung thư tuyến tiền liệt, và ung thư da. (Leong et al., 2006, *Blood*, 107:2223-2233).

Phối tử như Delta 4 (DLL4) là một thành phần quan trọng của con đường truyền tín hiệu Notch và được xác định là đích của liệu pháp điều trị bệnh ung thư. DLL4 là phối tử Notch, khác biệt bởi miền tận cùng N, miền Delta/Serrate/Lag-2 (DSL) và sự lặp lại giống như EGF đôi bên trong miền ngoại bào. Đã được báo cáo rằng DLL4 được cảm ứng bằng VEGF và DLL4 có thể hoạt động như yếu tố điều chỉnh thông tin phản hồi kháng lại sự tăng sinh mạch.

Các kháng thể kháng DLL4 đã được chứng minh là tăng cường sự nảy chồi hình thành mạch và phân nhánh dẫn tới sự hình thành mạch không hữu ích và sự phát triển khối u giảm (Noguera-Troise et al., 2006, *Nature*, 444:1032-1037). Ngoài ra, kháng thể kháng DLL4, 21M18, đã từng được thể hiện để ức chế sự phát triển khối u và giảm tần suất của các tế bào gốc ung thư ở các mô hình khối u ghép ngoại lai (Hoey et al., 2009, *Cell Stem Cell*, 5:168-177; Patent Mỹ số 7.750.124; US2011/165162; WO2008042236) và trong các thử nghiệm

lâm sàng (WO2012068098; Smith et al (2010) Tạp chí về ung thư Châu Âu 8 7 73).

Mặc dù đã có các tiến bộ đáng kể về sự phát triển các kháng thể đơn dòng để sử dụng trong việc điều trị bệnh ung thư, vẫn có tiềm năng lớn để có các cải thiện tiếp. Một nhóm các phân tử kháng thể với triển vọng về hiệu lực được cải thiện và/hoặc các tác dụng phụ giảm (ví dụ, độc tính) là các kháng thể đặc hiệu kép (WO2010129304; US2010/076178).

Các phân tử đặc hiệu kép trước đây được tạo ra chủ yếu nhờ sử dụng tạo liên kết ngang hóa học của hai kháng thể, hoặc là khối tế bào lai hoặc "các quadroma". Một thành công của dạng quadroma là các triomab, là các tổ hợp chuột/động vật gặm nhấm biểu hiện sự ghép cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ đặc hiệu loài ưu tiên. Gần đây, các cải tiến về kỹ thuật kháng thể đã cung cấp nhiều dạng khác nhau của các dạng kháng thể mới, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, scFv đôi(bi-scFv), các diabody (kháng thể kép), các diabody đôi (tetra-body), các diabody chuỗi đơn, và các kháng thể miền biến đổi kép.

Một trong các mục đích của sáng chế là đề xuất các phân tử để điều trị bệnh ung thư, cụ thể là các kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu VEGF của người và DLL4 của người.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất các tác nhân gắn kết, như các kháng thể, gắn kết với VEGF, DLL4, hoặc cả VEGF và DLL4 (các tác nhân gắn kết với VEGF/DLL4), cũng như các chế phẩm, như các dược phẩm, bao gồm các tác nhân gắn kết. Các tác nhân gắn kết gắn kết VEGF hoặc DLL4, cũng như ít nhất một kháng nguyên hoặc đích bổ sung, và các dược phẩm của các tác nhân gắn kết này, cũng được cung cấp. Theo các phương án cụ thể, các tác nhân gắn kết là các polypeptit mới, như các kháng thể, các mảnh kháng thể, và các polypeptit khác liên quan đến các kháng thể này. Theo các phương án cụ thể, các tác nhân gắn kết là các kháng thể gắn kết đặc hiệu VEGF của người. Theo một số phương án, các tác

nhân gắn kết là các kháng thể gắn kết đặc hiệu DLL4 của người. Theo một số phương án, các tác nhân gắn kết là các kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu VEGF của người và DLL4 của người. Sáng chế còn mô tả các phương pháp để ức chế sự phát triển của khối u bằng cách cung cấp các tác nhân gắn kết cho đối tượng có khối u. Sáng chế còn mô tả các phương pháp điều trị ung thư bằng cách cung cấp các tác nhân gắn kết cho đối tượng cần chúng. Theo một số phương án, các phương pháp điều trị ung thư hoặc ức chế sự phát triển khối u bao gồm việc tạo đích các tế bào gốc ung thư với các tác nhân gắn kết. Theo các phương án cụ thể, các phương pháp bao gồm việc giảm tần suất của các tế bào gốc ung thư trong khối u, giảm số lượng các tế bào gốc ung thư trong khối u, giảm tình trạng hình thành khối u, và/hoặc giảm tình trạng hình thành khối u bằng cách giảm số lượng hoặc tần suất của các tế bào gốc ung thư trong khối u.

Sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết, như kháng thể, gắn kết đặc hiệu VEGF của người. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết ức chế sự gắn kết của VEGF với ít nhất một thụ thể VEGF. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết ức chế sự gắn kết của VEGF với VEGFR-1 và/hoặc VEGFR-2. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết điều biến sự hình thành mạch. Theo các phương án cụ thể, kháng thể hoặc tác nhân gắn kết khác còn gắn kết đặc hiệu với và/hoặc ức chế DLL4 của người ngoài VEGF của người.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết là kháng thể trong đó bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19); và CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22).

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết là kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11; và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID

NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất 90% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11; và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 90% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11; và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết là kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng của SEQ ID NO:11; và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ của SEQ ID NO:12.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết là kháng thể 219R45, 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R79, 219R45-MB-21R75, hoặc 219R45-MB-21R83.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết, như kháng thể, gắn kết đặc hiệu DLL4 của người. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết ức chế sự gắn kết của DLL4 với ít nhất một thụ thể Notch. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết ức chế sự gắn kết của DLL4 với Notch1, Notch2, Notch3, và/hoặc Notch4. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết ức chế việc truyền tín hiệu Notch. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết đẩy mạnh sự hình thành mạch không hữu ích. Theo các phương án cụ thể, kháng thể hoặc tác nhân gắn kết khác còn gắn kết đặc hiệu với và/hoặc ức chế VEGF của người ngoài DLL4 của người.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết là kháng thể gắn kết DLL4 của người và bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13) hoặc AYYIH (SEQ ID NO:79), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm $YIX_1X_2YX_3X_4ATNYNQKFKG$ (SEQ ID NO:80), trong đó X_1 là serin hoặc alanin, X_2 là serin, asparagin, hoặc glyxin, X_3 là asparagin hoặc lysin, và X_4 là glyxin, arginin, hoặc axit aspartic, và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm

QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, kháng thể bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13) hoặc AYYIH (SEQ ID NO:79), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:14), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22).

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết là kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất 90% hoặc ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:10; và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 90% hoặc ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết là kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng của SEQ ID NO:10; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ của SEQ ID NO:12.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết là kháng thể 21R79 hoặc kháng thể 219R45-MB-21R79.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết là kháng thể trong đó bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13) hoặc AYYIH (SEQ ID NO:79), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22).

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết là kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất 90% hoặc ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:58; và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 90% hoặc ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết là kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng của SEQ ID NO:58; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ của SEQ ID NO:12.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết là kháng thể 21R75 hoặc kháng thể 219R45-MB-21R75.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết là kháng thể trong đó bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13) hoặc AYYIH (SEQ ID NO:79), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22).

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết là kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất 90% hoặc ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:64; và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 90% hoặc ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết là kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng của SEQ ID NO:64; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ của SEQ ID NO:12.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết là kháng thể 21R83 hoặc kháng thể 219R45-MB-21R83.

Theo các phương án cụ thể của mỗi trong các khía cạnh hoặc các phương án nêu trên, cũng như các khía cạnh khác và/hoặc các phương án được mô tả khác ở đây, tác nhân gắn kết là kháng thể đặc hiệu kép. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu VEGF của người và đích thứ hai. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu DLL4 của người và đích thứ hai. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu cả VEGF của người và DLL4 của người. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép điều biến sự hình thành mạch. Theo các phương án cụ thể, kháng thể đặc hiệu kép ức chế việc truyền tín hiệu Notch. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép điều biến sự hình thành mạch và ức chế việc truyền tín hiệu Notch. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép giảm số tần suất của các

tế bào gốc ung thư. Theo các phương án cụ thể, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm hai chuỗi nhẹ giống nhau. Theo các phương án cụ thể kháng thể đặc hiệu kép là kháng thể IgG (ví dụ, IgG2).

Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm: vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép còn bao gồm: CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm: vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm (a) CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19), và (b) CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22).

Theo các phương án cụ thể, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm: vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13) hoặc AYYIH (SEQ ID NO:79), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm $YIX_1X_2YX_3X_4ATNYNQKFKG$ (SEQ ID NO:80), trong đó X_1 là serin hoặc alanin, X_2 là serin, asparagin, hoặc glyxin, X_3 là asparagin hoặc lysin, và X_4 là glyxin, arginin, hoặc axit aspartic, và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm

AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm: vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:14), YISSYNGATNYNQKFKG (SEQ ID NO:15), YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59), hoặc YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép còn bao gồm: CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm: vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm (a) CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:14), YISSYNGATNYNQKFKG (SEQ ID NO:15), YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59), hoặc YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16), và (b) CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22).

Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm: a) vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người, và b) vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ

ID NO:19); trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13) hoặc AYYIH (SEQ ID NO:79), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm $YIX_1X_2YX_3X_4ATNYNQKFKG$ (SEQ ID NO:80), trong đó X_1 là serin hoặc alanin, X_2 là serin, asparagin, hoặc glyxin, X_3 là asparagin hoặc lysin, và X_4 là glyxin, arginin, hoặc axit aspartic, và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm: a) vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người, và b) vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19); trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:14), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và trong đó cả vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm: a) vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người, và b) vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19); trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YISSYNGATNYNQKFKG (SEQ ID

NO:15), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và trong đó cả vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm: a) vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người, và b) vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19); trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và trong đó cả vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm: a) vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người, và b) vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19); trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và trong đó cả vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2

của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22).

Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu VEGF của người, và bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất 90% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11, và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 90% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu VEGF của người, và bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11, và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12.

Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, và bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất 90% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:58, hoặc SEQ ID NO:64; và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 90% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, và bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:58, hoặc SEQ ID NO:64; và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12.

Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu VEGF của người và DLL4 của người, và bao gồm: (a) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất 90% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11; (b) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai có ít nhất 90% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:58, hoặc SEQ ID NO:64; và (c) vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai có ít nhất 90% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép VEGF/DLL4 bao gồm (a) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11; (b) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai có ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:9; và (c) vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai có ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu

kép VEGF/DLL4 bao gồm (a) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11; (b) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai có ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:10; và (c) vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai có ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép VEGF/DLL4 bao gồm (a) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11; (b) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai có ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:58; và (c) vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai có ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép VEGF/DLL4 bao gồm (a) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11; (b) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai có ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:64; và (c) vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai có ít nhất 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm (a) vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết VEGF của người với K_D nằm trong khoảng từ khoảng 0,1 nM đến khoảng 1,0 nM và (b) vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4 của người với K_D nằm trong khoảng từ khoảng 0,1 nM đến khoảng 20 nM. Theo các phương án cụ thể, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm hai chuỗi nhẹ giống nhau.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép được chọn từ nhóm bao gồm 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R79, 219R45-MB-21R75, và 219R45-MB-21R83.

Theo các phương án cụ thể của mỗi trong các khía cạnh nêu trên, cũng như các khía cạnh khác và/hoặc các phương án được mô tả khác ở đây, tác nhân gắn kết hoặc kháng thể được phân lập.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID

NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, và SEQ ID NO:64. Theo một số phương án, polypeptit được phân lập. Theo các phương án cụ thể, polypeptit cơ bản là tinh thiết. Theo các phương án cụ thể, polypeptit là kháng thể hoặc một phần của kháng thể, như mảnh kháng thể.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phân tử polynucleotit phân lập được bao gồm polynucleotit mã hóa các tác nhân gắn kết và/hoặc các polypeptit của mỗi trong các khía cạnh nêu trên, cũng như các khía cạnh khác và/hoặc các phương án được mô tả ở đây. Theo một số phương án, polynucleotit bao gồm trình tự được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, và SEQ ID NO:74. Sáng chế còn đề xuất các vectơ biểu hiện bao gồm các polynucleotit, cũng như các tế bào bao gồm các vectơ biểu hiện và/hoặc các polynucleotit. Theo một số phương án, tế bào là tế bào nhân sơ hoặc tế bào nhân thực.

Theo các khía cạnh khác, sáng chế mô tả các phương pháp ức chế sự sinh trưởng của khối u, bao gồm việc cho khối u tiếp xúc với lượng hữu hiệu của kháng thể (hoặc tác nhân gắn kết khác) gắn kết VEGF, DLL4, hoặc cả VEGF và DLL4, bao gồm mỗi trong các kháng thể đó (hoặc các tác nhân gắn kết khác) được mô tả ở đây.

Theo khía cạnh khác, sáng chế mô tả phương pháp ức chế sự phát triển của khối u ở đối tượng, bao gồm việc cung cấp cho đối tượng lượng điều trị hữu hiệu của kháng thể (hoặc tác nhân gắn kết khác) mà gắn kết với VEGF, DLL4,

hoặc cả VEGF và DLL4, bao gồm mỗi trong số các kháng thể (hoặc các tác nhân gắn kết khác) được mô tả ở đây.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều biến sự hình thành mạch ở đối tượng, bao gồm việc cung cấp cho đối tượng lượng điều trị hữu hiệu của kháng thể (hoặc tác nhân gắn kết khác) gắn kết VEGF, DLL4, hoặc cả VEGF và DLL4, bao gồm mỗi trong số các kháng thể (hoặc các tác nhân gắn kết khác) được mô tả ở đây.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp giảm tình trạng hình thành của khối u ở đối tượng, bao gồm việc cung cấp cho đối tượng lượng điều trị hữu hiệu của kháng thể (hoặc tác nhân gắn kết khác) gắn kết VEGF, DLL4, hoặc cả VEGF và DLL4, bao gồm mỗi trong số các kháng thể (hoặc các tác nhân gắn kết khác) được mô tả ở đây.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp giảm tình trạng hình thành của khối u ở đối tượng by giảm tần suất của các tế bào gốc ung thư trong khối u, bao gồm việc cung cấp cho đối tượng lượng điều trị hữu hiệu của kháng thể (hoặc tác nhân gắn kết khác) gắn kết VEGF, DLL4, hoặc cả VEGF và DLL4, bao gồm mỗi trong các kháng thể đó (hoặc các tác nhân gắn kết khác) được mô tả ở đây.

Theo các khía cạnh khác, sáng chế đề xuất các phương pháp điều trị ung thư ở đối tượng, bao gồm việc cung cấp cho đối tượng lượng điều trị hữu hiệu của kháng thể (hoặc tác nhân gắn kết khác) gắn kết VEGF, DLL4, hoặc cả VEGF và DLL4, bao gồm mỗi trong các kháng thể đó (hoặc các tác nhân gắn kết khác) được mô tả ở đây.

Các dược phẩm bao gồm tác nhân gắn kết (ví dụ, kháng thể) được mô tả ở đây và chất mang dược dụng cũng được cung cấp, như là các dòng tế bào biểu hiện và/hoặc tạo ra các tác nhân gắn kết. Các phương pháp điều trị ung thư và/hoặc ức chế sự phát triển khối u ở đối tượng (ví dụ, người) bao gồm việc

cung cấp cho đối tượng một lượng hữu hiệu chế phẩm bao gồm các tác nhân gắn kết cũng được mô tả.

Trong khi các khía cạnh hoặc các phương án của sáng chế được mô tả dưới dạng nhóm Markush hoặc sự hình thành các nhóm thay thế khác, sáng chế không chỉ bao gồm toàn bộ nhóm được liệt kê toàn bộ, mà còn bao gồm mỗi bộ phận của từng nhóm và tất cả các nhóm phụ có thể của nhóm chính, và ngoài ra nhóm chính thiếu một hoặc nhiều bộ phận nhóm. Ngoài ra, sáng chế dự tính sự loại trừ rõ ràng của một hoặc nhiều bộ phận nhóm bất kỳ theo sáng chế này.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1: 1A) Các CDR của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21M79, 219R45-MB-21M75, và 219R45-MB-21M83; 1B) các SEQ ID NO của vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng; 1C) các SEQ ID NO của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ.

Fig. 2 biểu thị thử nghiệm HTRF về sự gắn kết đồng thời các kháng thể đặc hiệu kép với VEGF của người và DLL4 của người. Các kết quả được báo cáo theo đơn vị huỳnh quang tương đối (RFU), thể hiện tỷ lệ của cường độ huỳnh quang tương đối ở 665nm với cường độ huỳnh quang tương đối ở 620nm. 219R45-MB-21M18 (-●-); 219R45-MB-21R79 (-■-); 219R45 cộng với 21M18 (-▲-); 219R45 cộng với 21R79 (-□-); 219R45 (-▼-); 21M18 (-◊-); 21R79 (-○-); kháng thể đối chứng LZ-1 (-Δ-).

Fig. 3 biểu thị sự ức chế của sự tăng sinh HUVEC được cảm ứng bởi VEGF bởi các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4. Cường độ huỳnh quang được đọc nhờ sử dụng bước sóng kích thích 530nm và bước sóng bức xạ 590. 219R45-MB-21M18 (-●-); 219R45-MB-21R79 (-▲-); 219R45 (-■-); Môi trường không VEGF (-◊-).

Fig. 4 biểu thị sự ức chế truyền tín hiệu Notch được cảm ứng bởi DLL4 bởi các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4. Hoạt tính Luciferaza được đo bằng cách sử dụng kit thử nghiệm luciferaza kép với hoạt tính luciferaza đom đóm được chuẩn hóa với hoạt tính luciferaza Renilla. 219R45-MB-21M18 (-●-); 219R45-MB-21R79 (-■-); 21M18 (-○-); 21R79 (-□-).

Fig. 5. Sự ức chế của sự phát triển khối u ruột kết *in vivo* bởi kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4. Các tế bào khối u ruột kết OMP-C8 được tiêm dưới da trong mô da người trong chuột NOD/SCID. Chuột được điều trị bằng kháng thể đối chứng (-■-), kháng thể kháng hDLL4 21M18 (-▲-),kháng thể kháng VEGF bevacizumab (-○-), hoặc kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18 (-▼-). Dữ liệu được thể hiện như thể tích khối u (các photon/giây) trên ngày điều trị trước. Các kháng thể được cung cấp trong màng bụng ở mức liều 25mg/kg một lần mỗi tuần.

Fig. 6. Tình trạng hình thành của các tế bào khối u tuyến tụy sau khi điều trị bằng các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4. Các tế bào khối u OMP-PN8 từ chuột được điều trị bằng kháng thể đối chứng, kháng thể kháng hDLL4 21M18, kháng thể kháng VEGF bevacizumab, hoặc các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18 hoặc 219R45-MB-21R79 có hoặc không có gemcitabin được xử lý thành các dịch huyền phù tế bào riêng rẽ, và được ghép theo chu kỳ trong chuột. 90 các tế bào từ mỗi nhóm điều trị được tiêm dưới da trong chuột NOD/SCID. Các khối u được cho phát triển không có sự điều trị. Dữ liệu được thể hiện như thể tích khối u (mm^3) vào ngày 55. Tần số khối u được biết đến như số lượng các khối u trên tổng số chuột được tiêm vào mỗi nhóm.

Fig. 7. Kháng thể đặc hiệu kép ELISA. Các kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R79, 219R45-MB-21R75, và 219R45-MB-21R83 được pha loãng trong đệm ngăn chặn (1x PBS, 0,1% gelatin, 0,1% Polysorbat-20, pH 7,4) có chứa 2µg/ml biotin-DLL4-hFc. Các kháng thể được pha loãng theo chu kỳ 3 lần từ 500ng/ml thành 0,008ng/ml. Các mẫu kháng thể

được ủ trong 2 giờ trong đệm ngăn chặn có chứa vitamin H-DLL4-hFc. Sau khi ủ, Các mẫu kháng thể được truyền cho đĩa thử nghiệm được phủ VEGF (100 ul/giếng) và được ủ trong 2 giờ. Streptavidin-HRP được bổ sung vào mỗi giếng và được ủ trong 1 giờ. Thể nền TMB được bổ sung vào các giếng với sự phát triển thuốc màu 10 phút và phản ứng được kết thúc bằng 2M axit sulfuric. Chất hút bám được đọc ở 450–650nm và dữ liệu được phân tích nhờ sử dụng sự điều chỉnh 4 thông số theo chương trình phân tích Softmax Pro.

Fig. 8. Tiêu điểm đẳng điện mao dẫn điển hình của các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4.

Fig. 9. Sự ức chế của sự phát triển khối u ruột kết bằng các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 ở kiểu tái phát khối u. Các tế bào khối u ruột kết OMP-C8 được tiêm dưới da ở chuột NOD/SCID. Chuột được điều trị bằng kháng thể đối chứng (-■-),kháng thể kháng hDLL4 21M18 (-●-),kháng thể kháng VEGF bevacizumab (-▲-), sự kết hợp của 21M18 và bevacizumab (-▼-),kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18 (-◊-), hoặc kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21R79 (-○-), tất cả kết hợp với irinotecan. Các kháng thể 21M18 và bevacizumab được cung cấp trong màng bụng ở mức liều 7,5mg/kg một lần mỗi tuần, các kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18 và 219R45-MB-21R79 được cung cấp trong màng bụng ở mức liều 15mg/kg một lần mỗi tuần, và irinotecan được cung cấp cho 4 tuần thứ nhất ở mức liều 45mg/kg. Dữ liệu được thể hiện như thể tích khối u (mm^3) qua ngày điều trị trước.

Fig. 10. Tình trạng hình thành của các tế bào khối u ruột kết OMP-C3 sau khi điều trị bằng các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4. Các khối u từ chuột được điều trị bằng kháng thể đối chứng, kháng thể kháng hDLL4 21M18, kháng thể kháng VEGF bevacizumab, sự kết hợp của 21M18 và bevacizumab, hoặc các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18 hoặc 219R45-MB-21R79 có hoặc không có irinotecan được xử lý thành các dịch huyền phù tế bào riêng rẽ, và được ghép theo chu kỳ

trong chuột. 150 tế bào từ mỗi nhóm điều trị được tiêm dưới da trong chuột NOD/SCID. Các khối u được cho phát triển không có sự điều trị. Dữ liệu được thể hiện như thể tích khối u (mm^3) vào ngày 68.

Fig. 11. Sự ức chế của sự phát triển khối u ruột kết *in vivo* bằng các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4. Các tế bào khối u ruột kết OMP-C8 được tiêm dưới da trong chuột NOD/SCID. Chuột được điều trị bằng kháng thể đối chứng (-■-),kháng thể kháng VEGF bevacizumab (-▲-), hoặc các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18 (-◊-), 219R45-MB-21R75 (-●-), 219R45-MB-21R79 (-○-), hoặc 219R45-MB-21R83 (-▼-). Chuột được điều trị bằng các kháng thể như các tác nhân riêng rẽ (Fig. 10A) hoặc kết hợp với irinotecan (Fig. 10B). Các kháng thể được cung cấp trong màng bụng ở mức liều 15mg/kg một lần mỗi tuần và irinotecan ở mức liều 7,5mg/kg một tuần. Dữ liệu được thể hiện như thể tích khối u (mm^3) qua ngày điều trị trước.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất các tác nhân gắn kết mới, bao gồm nhưng không bị giới hạn ở các polypeptit như các kháng thể, gắn kết VEGF và/hoặc DLL4 (ví dụ, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4). Các polypeptit liên quan và các polynucleotit, các chế phẩm bao gồm các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4, và các phương pháp tạo thành các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 cũng được cung cấp. Các phương pháp sử dụng các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 mới, như các phương pháp để ức chế sự phát triển khối u, các phương pháp điều trị ung thư, các phương pháp giảm tình trạng hình thành của khối u, các phương pháp giảm tần suất của các tế bào gốc ung thư trong khối u, và/hoặc các phương pháp điều biến sự hình thành mạch, cũng được cung cấp.

Kháng thể đơn dòng gắn kết đặc hiệu VEGF của người đã được đồng nhất, 219R45. Kháng thể này có ái lực gắn kết đối với VEGF của người là khoảng 0,67nM, và ái lực gắn kết đối với VEGF của chuột là khoảng 23nM.

Một vài kháng thể đơn dòng gắn kết đặc hiệu DLL4 của người đã được được đồng nhất, 21R79, 21R75 và 21R83. Kháng thể 21R79 có ái lực gắn kết đối với DLL4 của người là nhỏ hơn 0,1nM. Các kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu VEGF của người và DLL4 của người đã được tạo ra, 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R79, 219R45-MB-21R75, và 219R45-MB-21R83 (các trình tự CDR ở Fig. 1). Như được sử dụng ở đây, "MB" trong tên kháng thể đề cập đến "đơn trị/đặc hiệu kép". Kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18 có ái lực gắn kết đối với VEGF của người là nhỏ hơn 1,0nM và ái lực gắn kết đối với DLL4 của người là khoảng 16nM. Kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R79 có ái lực gắn kết đối với VEGF của người là nhỏ hơn 1,0nM và ái lực gắn kết đối với DLL4 của người là nhỏ hơn 1,0nM. Kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R75 có ái lực gắn kết đối với DLL4 của người là khoảng 5nM, trong khi kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R83 có ái lực gắn kết đối với DLL4 của người là khoảng 1nM. Các kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18 và 219R45-MB-21R79 gắn kết chuột VEGF (Ví dụ 1, Bảng 3). Các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 gắn kết VEGF của người và DLL4 của người đồng thời (Ví dụ 2, Fig. 2). Các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 ức chế sự tăng sinh gây ra VEGF của các tế bào HUVEC (Ví dụ 3, Fig. 3). Các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 ức chế việc truyền tín hiệu Notch gây ra DLL4 (Ví dụ 4, Fig. 4). Các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 ức chế sự phát triển khối u (các Ví dụ 5, 9, 11 và các Fig. 5, 9, 11). Các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 ức chế tình trạng hình thành (các Ví dụ 6 và 10 và các Fig. 6, 10). Các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 gắn kết cả VEGF và DLL4 trong ELISA đặc hiệu kép (Ví dụ 7, Fig. 7). Các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 được phân lập và được tinh chế cho sản phẩm bao gồm ít nhất 90% kháng thể dị dime (Ví dụ 8, Bảng 7).

Các định nghĩa

Để tạo thuận lợi và hiểu rõ sáng chế, một số các thuật ngữ và các cụm từ được xác định như sau.

Thuật ngữ "kháng thể" như được sử dụng ở đây đề cập đến phân tử globulin miễn dịch thừa nhận và gắn kết đặc hiệu một đích, như protein, polypeptit, peptit, carbohydloài gặm nhấm, polynucleotit, lipit, hoặc các sự kết hợp của chúng, thông qua ít nhất một vị trí nhận dạng kháng nguyên trong vùng biến đổi của phân tử globulin miễn dịch. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ bao gồm các kháng thể đa dòng nguyên vẹn, các kháng thể đơn dòng nguyên vẹn, các kháng thể chuỗi đơn, các mảnh kháng thể (như các phần Fab, Fab', F(ab')2, và Fv), các kháng thể chuỗi đơn Fv (scFv), các kháng thể đa đặc hiệu như các kháng thể đặc hiệu kép, các kháng thể đơn đặc hiệu, các kháng thể đơn trị, các kháng thể dạng khảm, các kháng thể được làm tương thích với người, các kháng thể người, hỗn hợp các protein bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên của kháng thể, và bất kỳ phân tử globulin miễn dịch được cải biến khác bao gồm vị trí nhận dạng kháng nguyên (tức là, vị trí gắn kết kháng nguyên) như các kháng thể biểu hiện hoạt tính sinh học mong muốn. Kháng thể có thể là bất kỳ của năm lớp chính của các globulin miễn dịch: IgA, IgD, IgE, IgG, và IgM, hoặc các lớp phụ (các isotyp) của chúng (ví dụ, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, và IgA2), dựa vào sự đồng nhất của các miền ổn định chuỗi nặng của chúng được đề cập đến như alpha, delta, epxilon, gamma, và mu tương ứng. Các lớp khác nhau của các globulin miễn dịch có các cấu trúc nhóm con đã biết và khác nhau và các cấu hình ba chiều. Các kháng thể có thể được che chắn hoặc được tiếp hợp với các phân tử khác, bao gồm nhưng không giới hạn ở, các độc tố và các đồng vị phóng xạ.

Thuật ngữ "mảnh kháng thể" đề cập đến một phần của kháng thể nguyên vẹn và đề cập đến các vùng biến đổi xác định kháng nguyên của kháng thể nguyên vẹn. Các ví dụ về các mảnh kháng thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, Fab, Fab', F(ab')2, và các phần Fv, các kháng thể mạch thẳng, các kháng thể

chuỗi đơn, và các kháng thể đa đặc hiệu được tạo thành từ các mảnh kháng thể. "Mảnh kháng thể" như được sử dụng ở đây bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên hoặc vị trí gắn kết epitop.

Thuật ngữ "vùng biến đổi" của kháng thể đề cập đến vùng biến đổi của kháng thể chuỗi nhẹ, hoặc vùng biến đổi của kháng thể chuỗi nặng, hoặc riêng rẽ hoặc kết hợp. Mỗi vùng biến đổi của các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng bao gồm bốn vùng khung (FR) được liên kết bởi ba vùng xác định liên kết (CDRs), cũng được biến đến như "các vùng siêu biến". Các các CDR trong mỗi chuỗi được giữ cùng nhau ở trạng thái khít bởi vùng khung và, với các các CDR từ chuỗi khác, góp phần vào sự hình thành của vị trí gắn kết kháng nguyên của kháng thể. Có ít nhất hai kỹ thuật để xác định các CDR: (1) phương pháp dựa vào sự biến đổi trình tự dạng ngang (tức là, Kabat et al., 1991, *Sequences of the proteins of Immunological Interest*, *5th Edition*, National Institutes of Health, Bethesda, MD), và (2) phương pháp dựa vào các nghiên cứu tinh thể học về các phức hợp kháng nguyên-kháng thể (Al-Lazikani et al., 1997, *J. Mol. Biol.,* 273:927-948). Ngoài ra, các sự kết hợp của hai phương pháp đó đôi khi được sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật để xác định CDRs.

Thuật ngữ "kháng thể đơn dòng" như được sử dụng ở đây đề cập đến quần thể kháng thể đồng nhất được bao gồm trong sự nhận dạng đặc trưng cao và sự gắn kết của một nhân tố quyết định hoặc epitop kháng nguyên duy nhất. Điều này ngược lại với các kháng thể đa dòng điển hình là bao gồm hỗn hợp của các kháng thể khác nhau trực tiếp chống lại các dạng nhân tố quyết định kháng nguyên khác nhau. Thuật ngữ "kháng thể đơn dòng" bao gồm cả các kháng thể đơn dòng nguyên vẹn và toàn bộ độ dài cũng như các mảnh kháng thể (ví dụ, Fab, Fab', F(ab')2, Fv), chuỗi đơn (scFv) các kháng thể, hỗn hợp các protein bao gồm mảnh kháng thể, và phân tử globulin miễn dịch được cải biến bất kỳ khác bao gồm vị trí nhận dạng kháng nguyên (vị trí gắn kết kháng nguyên). Hơn thế nữa, "kháng thể đơn dòng" đề cập đến các kháng thể này được làm bằng số lượng bất kỳ của các kỹ thuật, bao gồm nhưng không giới hạn ở, sự sản xuất tế

bào lai, sự lựa chọn thể thực khuẩn, sự biểu hiện tái tổ hợp, và các động vật biến đổi gen.

Thuật ngữ "kháng thể được làm tương thích với người" như được sử dụng ở đây đề cập đến các dạng các kháng thể không phải của người (ví dụ, của chuột) là các chuỗi globulin miễn dịch đặc trưng, các globulin miễn dịch dạng khảm, hoặc các phần của chúng chứa tối thiểu các trình tự không của người. Điển hình là, các kháng thể được làm tương thích với người là các globulin miễn dịch người trong đó các gốc của các CDR được thay thế bằng các gốc từ các CDR của các loài không phải người (ví dụ, chuột, loài gặm nhấm, thỏ, hoặc chuột Hamster) có nét đặc trưng, ái lực, và/hoặc khả năng gắn kết mong muốn (Jones et al., 1986, *Nature*, 321:522-525; Riechmann et al., 1988, *Nature*, 332:323-327; Verhoeyen et al., 1988, *Science*, 239:1534-1536). Trong một vài ví dụ, các gốc vùng khung Fv của globulin miễn dịch người được thay thế bằng các gốc tương ứng trong kháng thể từ các loài không phải người có nét đặc trưng, ái lực, và/hoặc khả năng gắn kết mong muốn. Kháng thể được làm tương thích với người còn có thể được cải biến bằng sự thay thế của các gốc bổ sung hoặc trong vùng khung Fv và/hoặc nằm trong các gốc không phải người thay thế để cải thiện và tối ưu hóa nét đặc trưng, ái lực, và/hoặc khả năng gắn kết kháng thể. Nhìn chung, kháng thể được làm tương thích với người sẽ bao gồm về gần như là tất cả của ít nhất một, và điển hình là hai hoặc ba, các miền biến đổi có chứa tất cả hoặc về gần như là tất cả của các CDR mà tương ứng với globulin miễn dịch không phải người trong khi tất cả hoặc về gần như là tất cả của vùng khung là của trình tự đồng nhất globulin miễn dịch người. Kháng thể được làm tương thích với người cũng còn có thể bao gồm ít nhất một phần của globulin vùng hoặc miền ổn định miễn dịch (Fc), điển hình là của globulin miễn dịch người. Các ví dụ về các phương pháp được sử dụng để tạo ra các kháng thể được làm tương thích với người được mô tả trong, ví dụ, Patent Mỹ số 5.225.539.

Thuật ngữ "kháng thể người" như được sử dụng ở đây đề cập đến kháng thể được tạo ra bởi người hoặc kháng thể có trình tự axit amin tương ứng với

kháng thể được tạo ra bởi người. Kháng thể người có thể được tạo thành nhờ sử dụng các kỹ thuật bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Định nghĩa này của kháng thể người ngăn chặn đặc hiệu kháng thể được làm tương thích với người bao gồm các CDR không của người.

Thuật ngữ "kháng thể dạng khảm" như được sử dụng ở đây đề cập đến kháng thể trong đó trình tự axit amin của phân tử globulin miễn dịch bắt nguồn từ hai hoặc nhiều loài. Điển hình là, vùng biến đổi của cả các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ tương ứng với vùng biến đổi của các kháng thể bắt nguồn từ một trong các loài của các động vật có vú (ví dụ, chuột, loài gặm nhấm, thỏ, v.v.) có nét đặc trưng, ái lực, và/hoặc khả năng gắn kết mong muốn, trong khi các vùng cố định tương ứng với các trình tự trong các kháng thể bắt nguồn từ các loài khác (thường là người).

Cụm từ "kháng thể ái lực trưởng thành" như được sử dụng ở đây đề cập đến kháng thể có một hoặc nhiều sự thay thế ở một hoặc nhiều các CDR của chúng dẫn tới sự cải thiện về ái lực của kháng thể đối với kháng nguyên, khi so với kháng thể gốc không sở hữu các sự thay thế này. Định nghĩa cũng bao gồm các sự thay thế trong các gốc không-CDR được tạo thành chung với các sự thay thế cho các gốc CDR. Các kháng thể trưởng thành ái lực được ưu tiên sẽ có các ái lực phân tử nano hoặc thậm chí phân tử pico cho đích kháng nguyên. Các kháng thể trưởng thành ái lực được tạo ra bằng các quy trình đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Ví dụ, Marks et al., 1992, *Bio/Technology* 10:779-783, mô tả sự trưởng thành ái lực bởi việc xê dịch miền VH và VL. Quá trình đột biến ngẫu nhiên của các gốc CDR và/hoặc vùng khung được mô tả bởi Barbas et al., 1994, *PNAS*, 91:3809-3813; Schier et al., 1995, *Gene*, 169:147-155; Yelton et al., 1995, *J. Immunol.* 155:1994-2004; Jackson et al., 1995, *J. Immunol.*, 154:3310-9; và Hawkins et al., 1992, *J. Mol. Biol.*, 226:889-896. Quá trình đột biến hướng vị trí cũng có thể được sử dụng để thu được các kháng thể trưởng thành ái lực.

Các thuật ngữ "epitop" và "nhân tố quyết định kháng nguyên" được sử dụng hoán đổi nhau ở đây và đề cập đến tỷ lệ của kháng nguyên có khả năng

được nhận dạng và được gắn kết đặc hiệu bằng kháng thể cụ thể. Khi kháng nguyên là polypeptit, các epitop có thể được tạo thành cả từ các axit amin liền kề và các axit amin không liền kề được đặt cạnh nhau bằng cách gấp nếp thứ ba của một protein. Các epitop được tạo thành từ các axit amin liền kề (cũng được đề cập đến như các epitop mạch thẳng) điển hình là được giữ lại trên protein biến chất, trong khi các epitop được tạo thành bằng cách gấp nếp thứ ba (cũng được đề cập đến như các epitop đối xứng) điển hình là không còn tồn tại trên protein biến chất. Một epitop điển hình bao gồm ít nhất 3, và thường xuyên hơn, ít nhất 5 hoặc 8-10 axit amin theo hình thể không gian duy nhất.

Các thuật ngữ "phân tử multime khác loại" hoặc "multime khác loại" hoặc "phức hợp multime khác loại" hoặc "polypeptit multime khác loại" được sử dụng hoán đổi nhau ở đây để đề cập đến phân tử bao gồm ít nhất polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai, trong đó polypeptit thứ hai khác về trình tự axit amin từ polypeptit thứ nhất bởi ít nhất một gốc axit amin. Phân tử multime khác loại có thể bao gồm "dimer khác loại" được tạo thành bằng polypeptit thứ nhất và thứ hai hoặc có thể tạo thành các cấu trúc loại thứ ba cao hơn trong đó có mặt các polypeptit.

Các thuật ngữ "chất đối kháng" và "thuộc chất đối kháng" như được sử dụng ở đây đề cập đến phân tử bất kỳ mà ngăn chặn, ức chế, giảm, hoặc trung hòa từng phần hoặc toàn bộ hoạt tính sinh học của đích và/hoặc truyền tín hiệu chuỗi các phản ứng hóa sinh (ví dụ, con đường truyền tín hiệu Notch). Thuật ngữ "chất đối kháng" được sử dụng ở đây bao gồm phân tử bất kỳ mà ngăn chặn, ức chế, giảm, hoặc trung hòa từng phần hoặc toàn bộ hoạt tính của protein. Các phân tử chất đối kháng chù hợp đặc trưng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các kháng thể hoặc các mảnh kháng thể chất đối kháng.

Các thuật ngữ "sự điều biến" và "điều chỉnh" như được sử dụng ở đây đề cập đến sự thay đổi hoặc sự thay thế về hoạt tính sinh học. Sự điều biến bao gồm, nhưng không giới hạn ở, việc kích thích hoặc ức chế hoạt tính. Sự điều biến có thể là việc tăng hoặc giảm về hoạt tính (ví dụ, giảm sự hình thành mạch

hoặc tăng sự hình thành mạch), sự thay đổi về các đặc trưng gắn kết, hoặc sự thay đổi khác bất kỳ về các đặc tính sinh học, chức, hoặc miễn dịch kết hợp với hoạt tính của protein, chuỗi các phản ứng hóa sinh, hoặc mối quan tâm sinh học khác.

Các thuật ngữ "gắn kết lựa chọn" hoặc "gắn kết đặc hiệu" nghĩa là tác nhân gắn kết hoặc kháng thể phản ứng hoặc được kết hợp thường xuyên hơn, nhanh hơn, với độ bền lớn hơn, với ái lực lớn hơn, hoặc với một vài sự kết hợp của các tác nhân trên với epitop, protein, hoặc đích phân tử hơn với các thể nền thay thế, bao gồm các protein không liên quan. Theo các phương án cụ thể "gắn kết đặc hiệu" là, ví dụ, kháng thể gắn kết protein với K_D là khoảng 0,1mM hoặc nhỏ hơn, nhưng thường xuyên hơn là ít hơn khoảng 1μM. Theo các phương án cụ thể, "gắn kết đặc hiệu" có nghĩa là kháng thể gắn kết đích ở các thời điểm với K_D của ít nhất khoảng 0,1μM hoặc nhỏ hơn, ở các thời điểm khác ít nhất khoảng 0,01μM hoặc nhỏ hơn, và ở các thời điểm khác ít nhất khoảng 1nM hoặc nhỏ hơn. Vì trình tự đồng nhất giữa các protein đồng nhất ở các loài khác nhau, sự gắn kết đặc hiệu có thể bao gồm kháng thể thừa nhận protein ở nhiều hơn một trong các loài (ví dụ, VEGF của người và VEGF của chuột). Tương tự, vì tính đồng nhất trong các vùng nhất định của các trình tự polypeptit của các protein khác nhau, sự gắn kết đặc hiệu có thể bao gồm kháng thể (hoặc polypeptit hoặc tác nhân gắn kết khác) thừa nhận nhiều hơn một protein (ví dụ, VEGF của người-A và VEGF của người-B). Cần hiểu rằng, theo các phương án cụ thể, kháng thể hoặc gốc gắn kết gắn kết đặc hiệu đích thứ nhất có thể hoặc không thể gắn kết đặc hiệu đích thứ hai. Như vậy, "sự gắn kết đặc hiệu" không nhất thiết cần đến (mặc dù nó có thể bao gồm) việc gắn kết có chọn lọc, tức là việc gắn kết với một đích duy nhất. Do đó, kháng thể có thể, theo các phương án cụ thể, gắn kết đặc hiệu nhiều hơn một đích. Theo các phương án cụ thể, nhiều đích có thể được gắn kết bằng vị trí gắn kết kháng nguyên giống nhau trên kháng thể. Ví dụ, kháng thể có thể, trong các ví dụ cụ thể, bao gồm hai vị trí gắn kết kháng nguyên đồng nhất, mỗi trong đó gắn kết đặc hiệu cùng epitop trên hai hoặc nhiều

protein. Trong các phương án thay thế cụ thể, kháng thể có thể là đa đặc hiệu và bao gồm ít nhất hai vị trí gắn kết kháng nguyên có các đặc trưng khác nhau. Bằng cách ví dụ không giới hạn, kháng thể đặc hiệu kép có thể bao gồm một vị trí gắn kết kháng nguyên thừa nhận một epitop trên một protein (ví dụ, VEGF của người) và còn bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên khác nhau, thứ hai thừa nhận epitop khác trên protein thứ hai (ví dụ, DLL4 của người). Nhìn chung, nhưng không cần thiết, liên quan đến việc gắn kết bằng cách sự gắn kết đặc hiệu.

Các thuật ngữ "polypeptit" và "peptit" và "protein" được sử dụng hoán đổi nhau ở đây và đề cập đến các polyme của các axit amin có độ dài bất kỳ. Polyme có thể là mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nó có thể bao gồm các axit amin được cải biến, và nó có thể được phá vỡ bởi không phải các axit amin. Các thuật ngữ cũng bao gồm polyme axit amin đã được được cải biến trong tự nhiên hoặc bởi sự can thiệp; ví dụ, sự hình thành gắn kết disulfit, glycosyl hóa, lipit hóa, axetyl hóa, phosphoryl hóa, hoặc hoặc thao tác hoặc sự cải biến bất kỳ khác, như kết hợp với việc dán nhãn thành phần. Cũng được bao gồm trong định nghĩa là, ví dụ, các polypeptit có chứa một hoặc nhiều chất tương tự của một axit amin (bao gồm, ví dụ, các axit amin không tự nhiên), cũng như các cải biến khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Cần hiểu rằng, vì các polypeptit của sáng chế này có thể dựa vào các kháng thể, theo các phương án cụ thể, các polypeptit có thể xuất hiện như các chuỗi đơn hoặc các chuỗi kết hợp.

Các thuật ngữ "polynucleotit" và "axit nucleic" được sử dụng hoán đổi nhau ở đây và đề cập đến các polyme của các nucleotit có độ dài bất kỳ, và bao gồm ADN và ARN. Các nucleotit có thể là các deoxyribonucleotit, các ribonucleotit, các nucleotit hoặc các bazơ được cải biến, và/hoặc các chất tương tự của chúng, hoặc thể nền bất kỳ mà có thể được kết hợp trong polymer bởi polymeraza ADN hoặc ARN.

"Các điều kiện về độ chính xác cao" có thể được đồng nhất bởi các điều kiện mà: (1) sử dụng cường độ ion thấp và nhiệt độ cao để rửa, ví dụ 15mM natri clorua/1,5mM natri xitrat/0,1% natri dodexyl sulfat ở 50°C; (2) sử dụng

trong khi lai hóa tác nhân biến tính, như formamit, ví dụ, 50% (v/v) formamit với 0,1% albumin huyết thanh bò/0,1% Ficoll/0,1% polyvinylpyrolidon/50mM đệm natri phosphat ở pH 6,5 trong 5x SSC (0,75M NaCl, 75mM natri xitrat) ở 42°C; hoặc (3) sử dụng trong khi lai hóa 50% formamit trong 5x SSC, 50mM natri phosphat (pH 6,8), 0,1% natri pyrophosphat, 5x dung dịch Denhardt, ADN dầu cá nhà táng sonicated (50µg/ml), 0,1% SDS, và 10% dextran sulfat ở 42°C, với việc rửa ở 42°C trong 0,2x SSC và 50% formamit, tiếp theo bằng việc rửa độ chính xác cao bao gồm 0,1x SSC có chứa EDTA ở 55°C.

Các thuật ngữ "đồng nhất" hoặc tỷ lệ "đồng nhất" theo ngữ cảnh của hai hoặc nhiều axit nucleic hoặc các polypeptit, đề cập đến hai hoặc nhiều trình tự hoặc các trình tự phụ giống nhau hoặc có tỷ lệ cụ thể của các nucleotit hoặc các gốc axit amin giống nhau, khi được so sánh và được sắp cho thẳng hàng (tạo ra các khoảng trống, nếu cần) cho sự phù hợp tối đa, không được coi là các sự thay thế axit amin bảo toàn bất kỳ như một phần của trình tự đồng nhất. Tỷ lệ đồng nhất có thể được đo nhờ sử dụng trình tự phần mềm so sánh hoặc các thuật toán hoặc bởi sự kiểm tra bằng mắt. Các thuật toán và các phần mềm khác nhau có thể được sử dụng để đạt được sự sắp hàng của các trình tự axit amin hoặc nucleotit đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Chúng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, BLAST, ALIGN, Megalign, BestFit, GCG Wisconsin Package, và các biến thể của chúng. Theo một số phương án, hai axit nucleic hoặc các polypeptit của sáng chế là cơ bản đồng nhất, có nghĩa là chúng có ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, và theo một số phương án ít nhất 95%, 96%, 97%, 98%, 99% nucleotit hoặc gốc axit amin đồng nhất, khi được so sánh và được sắp hàng về sự phù hợp tối đa, như được đo nhờ sử dụng thuật toán so sánh trình tự hoặc bởi sự kiểm tra bằng mắt. Theo một số phương án, sự đồng nhất tồn tại trên một vùng của các trình tự ít nhất là khoảng 10, ít nhất là khoảng 20, ít nhất là khoảng 40-60 gốc, ít nhất là khoảng 60-80 gốc theo độ dài hoặc giá trị đầy đủ bất kỳ giữa chúng. Theo một số phương án, sự đồng nhất tồn tại trên một vùng dài hơn 60-80 gốc, như ít nhất khoảng 80-100 gốc, và theo một số phương

án các trình tự cơ bản đồng nhất trên toàn bộ chiều dài của các trình tự đang được so sánh, như vùng mã hóa của trình tự nucleotit.

"Sự thay thế axit amin bảo toàn" là sự thay thế trong đó một gốc axit amin được thay thế bằng gốc axit amin khác có chuỗi bên tương tự. Các họ của các gốc axit amin có các chuỗi bên tương tự đã được xác định rõ trong lĩnh vực kỹ thuật, bao gồm các chuỗi bên bazơ (ví dụ, lysin, arginin, histidin), các chuỗi bên axit (ví dụ, axit aspartic, axit glutamic), các chuỗi bên cực không đổi (ví dụ, glyxin, asparagin, glutamin, serin, threonin, tyrosin, cystein), các chuỗi bên không cực (ví dụ, alanin, valin, leucin, isoleucin, prolin, phenylalanin, methionin, tryptophan), các chuỗi bên phân nhánh beta- (ví dụ, threonin, valin, isoleucin) và các chuỗi bên thơm (ví dụ, tyrosin, phenylalanin, tryptophan, histidin). Ví dụ, sự thay thế của phenylalanin cho tyrosin là sự thay thế bảo toàn. Tốt hơn là, các sự thay thế bảo toàn trong các trình tự của các polypeptit và các kháng thể của sáng chế không thủ tiêu sự gắn kết củpolypeptit hoặc kháng thể có chứa trình tự axit amin, với kháng nguyên với polypeptit hoặc kháng thể gắn kết. Các phương pháp nhận dạng nucleotit và các sự thay thế bảo toàn axit amin không hạn chế sự gắn kết kháng là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật.

Thuật ngữ "vectơ" như được sử dụng ở đây có nghĩa là là một cấu trúc, có khả năng phân phát, và biểu hiện thường xuyên, một hoặc nhiều gen hoặc trình tự quan tâm trong một tế bào chủ. Các ví dụ về các vectơ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các vectơ virut, các vectơ biểu hiện ADN hoặc ARN trần, plasmit, cosmit, hoặc các vectơ thể thực khuẩn, các vectơ biểu hiện ADN hoặc ARN kết hợp với các tác nhân hóa đặc cation, và các vectơ biểu hiện ADN hoặc ARN được kết nang trong các liposom.

Polypeptit, kháng thể, polynucleotit, vectơ, tế bào, hoặc chế phẩm mà "được phân lập" là polypeptit, kháng thể, polynucleotit, vectơ, tế bào, hoặc chế phẩm ở dạng không có trong tự nhiên. Các polypeptit, các kháng thể, các polynucleotit, các vectơ, các tế bào, hoặc các chế phẩm được phân lập bao gồm chúng đã được tinh chế đến độ mà chúng không dài hơn ở dạng trong đó chúng

được phát hiện trong tự nhiên. Theo một số phương án, polypeptit, kháng thể, polynucleotit, vectơ, tế bào, hoặc chế phẩm được phân lập cơ bản tinh khiết.

Thuật ngữ "cơ bản tinh khiết" như được sử dụng ở đây đề cập đến vật liệu ít nhất 50% tinh khiết (tức là, nhiều từ các chất gây ô nhiễm), ít nhất 90% tinh khiết, ít nhất 95% tinh khiết, ít nhất 98% tinh khiết, hoặc ít nhất 99% tinh khiết.

Các thuật ngữ "bệnh ung thư" và "ung thư" như được sử dụng ở đây đề cập đến hoặc mô tả tình trạng sinh lý học ở các động vật có vú trong đó quần thể của các tế bào được đặc trưng bởi sự phát triển tế bào mất kiểm soát. Các ví dụ về bệnh ung thư bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ung thư biểu mô, u nguyên bào, bướu thịt, và các bệnh ung thư máu như ung thư hệ bạch huyết và bệnh bạch cầu.

Các thuật ngữ "khối u" và "khối u" như được sử dụng ở đây đề cập đến khối lượng bất kỳ của mô tạo ra từ sự phát triển tế bào hoặc sự tăng sinh quá mức, hoặc vô hại (không gây ung thư) hoặc ác tính (gây ung thư) bao gồm các thương tích trước ung thư.

Thuật ngữ "di căn" như được sử dụng ở đây đề cập đến quá trình mà trong đó bệnh ung thư lan hoặc truyền từ vị trí gốc đến các vùng khác của cơ thể với sự phát triển của tổn thương bệnh ung thư tương tự ở vùng mới. Tế bào "di căn" hoặc "đang di căn" là một trong các tế bào gây hại bám dính tiếp xúc với các tế bào cận kề và di cư qua dòng máu trong cơ thể hoặc bạch huyết từ vị trí xuất phát bệnh để xâm chiếm các cấu trúc cơ thể cận kề.

Các thuật ngữ "tế bào gốc bệnh ung thư" và "CSC" và "tế bào gốc khối u" và "tế bào có nguồn gốc từ khối u" được sử dụng hoán đổi nhau ở đây và đề cập đến các tế bào từ bệnh ung thư hoặc khối u mà: (1) có khả năng tăng sinh quá mức; 2) có khả năng phân ly tế bào bất đối xứng để tạo ra một hoặc nhiều loại dòng tế bào khác biệt trong đó các tế bào khác biệt có tiềm năng tăng sinh phát triển hoặc giảm; và (3) có khả năng về các phân ly tế bào để tự duy trì hoặc tự phục hồi. Các đặc tính này được có trên các tế bào gốc bệnh ung thư để có khả

năng tạo thành hoặc thiết lập khối u hoặc bệnh ung thư trên chuỗi cấy ghép trong vật chủ không có khả năng miễn dịch (ví dụ, chuột) khi so với phần lớn các tế bào khối u yếu để tạo thành các khối u. Các tế bào gốc ung thư đã trải qua quá trình tự phục hồi chống lại sự phân biệt theo cách hỗn loại để tạo thành các khối u có các loại tế bào bất thường mà có thể thay đổi qua thời gian khi các đột biến xuất hiện.

Các thuật ngữ "tế bào ung thư" và "tế bào khối u" đề cập đến tổng mật độ của các tế bào bắt nguồn từ bệnh ung thư hoặc khối u hoặc tổn thương bệnh ung thư, bao gồm cả các tế không có xu hướng hình thành, trong đó bao gồm số lượng của mật độ tế bào bệnh ung thư, và các tế bào gốc của khối u (các tế bào gốc ung thư). Như được sử dụng ở đây, các thuật ngữ "tế bào ung thư" hoặc "tế bào khối u" sẽ được cải biến bởi thuật ngữ "không có xu hướng hình thành" khi chỉ đề cập đến các tế bào này không có khả năng phục hồi và phân ly để phân biệt các tế bào khối u đó từ các tế bào gốc ung thư.

Thuật ngữ "có xu hướng hình thành" như được sử dụng ở đây đề cập đến các đặc trưng về mặt chức năng của tế bào gốc bệnh ung thư bao gồm các đặc tính của sự tự phục hồi (mang lại sự tăng các tế bào gốc ung thư có xu hướng hình thành bổ sung) và sự tăng sinh để tạo ra tất cả các tế bào khối u khác (mang lại sự tăng được phân ly và do đó các tế bào khối u không có xu hướng hình thành).

Thuật ngữ "tình trạng hình thành" như được sử dụng ở đây đề cập đến khả năng của một mẫu ngẫu nhiên của các tế bào từ khối u để tạo thành các khối u rõ rệt trên chuỗi cấy ghép trong các vật chủ không có khả năng miễn dịch (ví dụ, chuột). Định nghĩa này cũng bao gồm các mật độ được cải thiện và/hoặc được phân lập của các tế bào gốc ung thư tạo thành các khối u rõ rệt trên chuỗi cấy ghép trong các vật chủ không có khả năng miễn dịch (ví dụ, chuột).

Thuật ngữ "đối tượng" đề cập đến động vật bất kỳ (ví dụ, động vật có vú), bao gồm, nhưng không giới hạn ở, người, các động vật có vú không phải người,

các loài chó, các loài mèo, các loài gặm nhấm, và các loài tương tự, cần được tiếp nhận điều trị cụ thể. Điển hình là, các thuật ngữ "đối tượng" và "bệnh nhân" được sử dụng hoán đổi nhau ở đây liên quan đến đối tượng là người.

Thuật ngữ "dược dụng" đề cập đến sản phẩm hoặc hợp chất được chấp thuận (hoặc có thể chấp thuận) bởi một cơ quan nhà nước chịu trách nhiệm của chính phủ liên bang hoặc chính phủ bang hoặc được liệt kê trong Dược điển Hoa Kỳ hoặc nhìn chung dược điển được chấp nhận khác để sử dụng ở các động vật, bao gồm người.

Các thuật ngữ "tá dược, chất mang hoặc tá dược dược dụng" hoặc "chất mang dược dụng" đề cập đến tá dược, chất mang hoặc tá dược có thể được cung cấp cho đối tượng, cùng với ít nhất một tác nhân gắn kết (ví dụ, kháng thể) của sáng chế này, và không triệt tiêu hoạt tính của tác nhân gắn kết. Tá dược, chất mang hoặc tá dược nên là không độc khi được cung cấp với tác nhân gắn kết trong các liều đủ để mang lại hiệu quả điều trị.

Các thuật ngữ "lượng hữu hiệu" hoặc "lượng điều trị hữu hiệu" hoặc "hiệu quả điều trị" đề cập đến lượng tác nhân gắn kết, kháng thể, polypeptit, polynucleotit, phân tử hữu cơ nhỏ, hoặc thuốc khác hiệu quả để "điều trị" bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng hoặc động vật có vú. Trong trường hợp bệnh ung thư, lượng điều trị hữu hiệu của thuốc (ví dụ, kháng thể) có hiệu quả điều trị và như vậy có thể giảm số lượng của các tế bào bệnh ung thư; giảm tình trạng hình thành, tần suất khối u hoặc hiệu suất khối u; giảm số lượng hoặc tần suất của các tế bào gốc ung thư; giảm kích cỡ khối u; giảm mật độ tế bào bệnh ung thư; ức chế và/hoặc dừng sự thâm nhiễm tế bào ung thư trong các cơ quan ngoại biên bao gồm, ví dụ, sự lan truyền bệnh ung thư trong mô và xương mềm; ức chế và/hoặc dừng di căn khối u hoặc tế bào ung thư; ức chế và/hoặc dừng sự phát triển khối u hoặc tế bào ung thư; làm nhẹ bớt một vài khu vực thì một hoặc nhiều của các triệu chứng kết hợp với bệnh ung thư; giảm sự hoành hoành của bệnh tật và tỷ lệ tử vong; cải thiện chất lượng cuộc sống; hoặc sự kết hợp của các hiệu quả này. Đối với tác nhân khu vực, ví dụ kháng thể, ngăn chặn sự phát

triển và/hoặc giết chết các tế bào bệnh ung thư tồn tại, it có thể được đề cập đến như kìm hãm tế bào và/hoặc gây hại tế bào.

Các thuật ngữ "điều trị" hoặc "điều trị" hoặc "để điều trị" hoặc "làm giảm bớt" hoặc "để giảm bớt" đề cập đến cả 1) các phương pháp điều trị mà điều trị, làm chậm dần, giảm bớt các triệu chứng, và/hoặc dừng sự tiến triển của tình trạng không thể khống chế được đã chẩn đoán hoặc rối loạn và 2) các phương pháp phòng bệnh hoặc ngăn chặn để ngăn chặn hoặc làm chậm sự phát triển của tình trạng hoặc rối loạn không thể khống chế được đã hướng đích. Do đó, cần có nhu cầu điều trị bao gồm việc điều trị ngay từ ban đầu rối loạn; điều trị trước rối loạn; và điều trị sự rối loạn cần được ngăn chặn. Theo một số phương án, đối tượng "được điều trị" thành công theo các phương pháp của sáng chế nếu bệnh nhân thể hiện một hoặc nhiều dấu hiệu sau: giảm số lượng hoặc vắng mặt hoàn toàn các tế bào bệnh ung thư; gảim kích cỡ khối u; sự ức chế hoặc sự vắng mặt của sự thâm nhiễm tế bào ung thư trong các cơ quan ngoại biên bao gồm sự lan truyền các tế bào bệnh ung thư trong mô mềm và xương; sự ức chế của hoặc sự vắng mặt của khối u hoặc tế bào ung thư di căn; ức chế hoặc sự vắng mặt của bệnh ung thư sự phát triển; nhận dạng một hoặc nhiều triệu chứng kết hợp với bệnh ung thư đặc trưng; sự hoành hoành của bệnh tật và tỷ lệ tử vong giảm; cải thiện chất lượng cuộc sống; giảm tình trạng hình thành; giảm số lượng hoặc tần suất của các tế bào gốc ung thư; hoặc một vài sự kết hợp của các hiệu quả.

Như được sử dụng trong phần mô tả và yêu cầu bảo hộ của sáng chế, các dạng số ít bao gồm cả các dạng số nhiều trừ khi nội dung có các tuyên bố khác nữa.

Cần hiểu rằng các phương án bất kỳ được mô tả ở đây với cụm từ "bao gồm" ngoài các phương án tương tự được mô tả dưới dạng "bao gồm" và/hoặc "về cơ bản bao gồm" cũng được cung cấp. Cũng cần hiểu rằng các phương án bất kỳ được mô tả ở đây với cụm từ "về cơ bản bao gồm" ngoài các phương án tương tự được mô tả dưới dạng "bao gồm" cũng được cung cấp.

Thuật ngữ "và/hoặc" như được sử dụng trong cụm từ như "A và/hoặc B" ở đây dự kiến bao gồm cả A và B; A hoặc B; A (trơ trụi); và B (trơ trụi). Tương tự, thuật ngữ "và/hoặc" như được sử dụng trong cụm từ như "A, B, và/hoặc C" dự kiến bao gồm mỗi trong các phương án sau: A, B, và C; A, B, hoặc C; A hoặc C; A hoặc B; B hoặc C; A và C; A và B; B và C; A (trơ trụi); B (trơ trụi); và C (trơ trụi).

II. Các kháng thể

Sáng chế đề xuất các tác nhân gắn kết đặc hiệu VEGF của người các protein và/hoặc các protein DLL4 của người. Các tác nhân này được đề cập đến ở đây như "các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4". Cụm từ "Tác nhân gắn kết VEGF/DLL4" bao gồm các tác nhân gắn kết chỉ VEGF, các tác nhân gắn kết chỉ DLL4, và đặc hiệu kép các tác nhân gắn kết cả VEGF và DLL4. Theo các phương án cụ thể, ngoài gắn kết đặc hiệu VEGF và/hoặc DLL4, các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 còn gắn kết đặc hiệu ít nhất một đích bổ sung hoặc kháng nguyên. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là polypeptit. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 gắn kết đặc hiệu VEGF của người. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 gắn kết đặc hiệu DLL4 của người. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu VEGF của người và DLL4 của người. Toàn bộ độ dài các trình tự axit amin (aa) đối với VEGF của người (VEGF-A) và DLL4 của người là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật và được cung cấp ở đây như SEQ ID NO:27 (VEGF) và SEQ ID NO:23 (DLL4).

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 hoặc kháng thể gắn kết VEGF và/hoặc DLL4 có hằng số phân ly (K_D) là khoảng 1μM hoặc nhỏ hơn, khoảng 100nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 40nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 20nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 10nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 1nM hoặc nhỏ hơn, hoặc

khoảng 0,1nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 hoặc kháng thể gắn kết VEGF và/hoặc DLL4 với K_D là khoảng 20nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 hoặc kháng thể gắn kết VEGF và/hoặc DLL4 với K_D là khoảng 10nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 hoặc kháng thể gắn kết VEGF và/hoặc DLL4 với K_D là khoảng 1nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 hoặc kháng thể gắn kết VEGF và/hoặc DLL4 với K_D là khoảng 0,1nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 gắn kết cả VEGF của người và VEGF của chuột với K_D là khoảng 100nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 gắn kết cả VEGF của người và VEGF của chuột với K_D là khoảng 50nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 gắn kết cả DLL4 của người và DLL4 của chuột với K_D là khoảng 100nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 gắn kết cả DLL4 của người và DLL4 của chuột với K_D là khoảng 50nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, hằng số phân ly của tác nhân gắn kết (ví dụ, kháng thể) với VEGF là hằng số phân ly được xác định sử dụng protein hỗn hợp VEGF bao gồm ít nhất một phần của VEGF được giữ cố định trên mạch Biacore. Theo một số phương án, hằng số phân ly của tác nhân gắn kết (ví dụ, kháng thể) với DLL4 là hằng số phân ly được xác định sử dụng protein hỗn hợp DLL4 bao gồm ít nhất một phần của DLL4 được giữ cố định trên mạch Biacore.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 hoặc kháng thể gắn kết cả VEGF và DLL4 với K_D là khoảng 100nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 hoặc kháng thể gắn kết cả VEGF và DLL4 với K_D là khoảng 50nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 hoặc kháng thể gắn kết cả VEGF và DLL4 với K_D là khoảng

20nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 hoặc kháng thể gắn kết cả VEGF và DLL4 với K_D là khoảng 10nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 hoặc kháng thể gắn kết cả VEGF và DLL4 với K_D là khoảng 1nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, ái lực của một trong các vị trí gắn kết kháng nguyên có thể yếu hơn ái lực của vị trí gắn kết kháng nguyên khác. Ví dụ, K_D của một vị trí gắn kết kháng nguyên có thể là khoảng 1nM và K_D của vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai có thể là khoảng 10nM. Theo một số phương án, sự khác biệt về ái lực giữa hai vị trí gắn kết kháng nguyên có thể là khoảng 2 lần hoặc lớn hơn, khoảng 3 lần hoặc lớn hơn, khoảng 5 lần hoặc lớn hơn, khoảng 8 lần hoặc lớn hơn, khoảng 10 lần hoặc lớn hơn, khoảng 15 lần hoặc lớn hơn, khoảng 20 lần hoặc lớn hơn, khoảng 30 lần hoặc lớn hơn, khoảng 50 lần hoặc lớn hơn, hoặc khoảng 100 lần hoặc lớn hơn. Sự điều biến của các ái lực của hai vị trí gắn kết kháng nguyên có thể gây ảnh hưởng đến hoạt tính sinh học của kháng thể đặc hiệu kép. Ví dụ, việc giảm ái lực của vị trí gắn kết kháng nguyên đối với DLL4 hoặc VEGF, có thể có hiệu quả mong muốn, ví dụ độc tính giảm của tác nhân gắn kết hoặc chỉ số điều trị tăng.

Bằng cách của ví dụ không giới hạn, kháng thể đặc hiệu kép có thể bao gồm (a) vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết VEGF của người với K_D giữa khoảng 0,1 nM và khoảng 1,0 nM, và (b) vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4 của người với K_D giữa khoảng 0,1 nM và khoảng 20 nM, giữa khoảng 0,5nM và khoảng 20nM, giữa khoảng 1,0 nM và 10nM. Theo các phương án cụ thể, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm hai chuỗi nhẹ giống nhau.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết VEGF và/hoặc DLL4 với nửa nồng độ hữu hiệu tối đa (EC_{50}) là khoảng 1μM hoặc nhỏ hơn, khoảng 100nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 40nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 20nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 10nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 1nM hoặc nhỏ hơn, hoặc khoảng 0,1nM hoặc nhỏ hơn. Theo các phương án cụ thể,

tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết VEGF và/hoặc DLL4 với nửa nồng độ hữu hiệu tối đa (EC_{50}) là khoảng 1μM hoặc nhỏ hơn, khoảng 100nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 40nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 20nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 10nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 1nM hoặc nhỏ hơn, hoặc khoảng 0,1nM hoặc nhỏ hơn.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể. Theo một số phương án, kháng thể là kháng thể tái tổ hợp. Theo một số phương án, kháng thể là kháng thể đơn dòng. Theo một số phương án, kháng thể là kháng thể dạng khảm. Theo một số phương án, kháng thể là kháng thể được làm tương thích với người. Theo một số phương án, kháng thể là kháng thể người. Theo các phương án cụ thể, kháng thể là kháng thể IgA, IgD, IgE, IgG, hoặc IgM. Theo các phương án cụ thể, kháng thể là kháng thể IgG1. Theo các phương án cụ thể, kháng thể là kháng thể IgG2. Theo các phương án cụ thể, kháng thể là mảnh kháng thể bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên. Theo một số phương án, kháng thể là kháng thể đặc hiệu kép. Theo một số phương án, kháng thể là đơn trị, đơn đặc hiệu, có hóa trị hai, hoặc đa đặc hiệu. Theo một số phương án, kháng thể được tiếp hợp với gốc gây độc tế bào. Theo một số phương án, kháng thể được phân lập. Theo một số phương án, kháng thể cơ bản tinh khiết.

Các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, các kháng thể) của sáng chế có thể được thử nghiệm về sự gắn kết đặc hiệu bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Các thử nghiệm miễn dịch trong đó có thể được sử dụng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các hệ thử nghiệm cạnh tranh và không cạnh tranh nhờ sử dụng các kỹ thuật như phân tích Biacore, phân tích FACS, huỳnh quang miễn dịch, hóa học tế bào miễn dịch, phân tích vết Western, thử nghiệm miễn dịch phóng xạ, ELISA, thử nghiệm miễn dịch "xen kẽ", thử nghiệm kết tủa miễn dịch, kết tủa phản ứng, phản ứng precipitin khuếch tán gel, thử nghiệm khuếch tán miễn dịch, thử nghiệm dính bám, thử nghiệm quá trình dính bám protein với một cặp kháng nguyên-kháng thể, thử nghiệm phóng xạ miễn dịch, thử nghiệm miễn dịch huỳnh quang, thử nghiệm huỳnh quang phân tích thời

gian đồng nhất (HTRF), và thử nghiệm miễn dịch protein. Các thử nghiệm là thông thường và đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật (xem, ví dụ, Ausubel et al., Editors, 1994-present, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc., New York, NY).

Ví dụ, sự gắn kết đặc hiệu của kháng thể cho VEGF của người và/hoặc DLL4 của người có thể là được xác định sử dụng ELISA. Thử nghiệm ELISA bao gồm việc điều chế kháng nguyên, phủ các lỗ của tấm vi chuẩn 96 lỗ với kháng nguyên, bổ sung kháng thể hoặc tác nhân gắn kết khác được tiếp hợp cho hợp chất có thể tìm ra như thể nền của enzym (ví dụ peroxidaza cải ngựa hoặc alkalin phosphataza) cho lỗ, ủ trong một khoảng thời gian, và dò tìm sự có mặt của tác nhân gắn kết được gắn kết với kháng nguyên. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết hoặc kháng thể không được tiếp hợp cho hợp chất có thể tìm ra, but thay vì kháng thể thứ hai thừa nhận tác nhân gắn kết hoặc kháng thể (ví dụ, kháng thể kháng Fc) và được tiếp hợp cho hợp chất có thể tìm ra được bổ sung vào lỗ. Theo một số phương án, thay cho việc phủ lỗ bằng kháng nguyên, tác nhân gắn kết hoặc kháng thể có thể được phủ cho lỗ và kháng thể thứ hai được tiếp hợp cho hợp chất có thể tìm ra có thể được bổ sung sau sự bổ sung của kháng nguyên cho lỗ đã phủ. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ có thể am hiểu về các thông số có thể được cải biến để tăng tín hiệu đã dò cũng như các biến thể khác của ELISAs đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật.

Trong ví dụ khác, sự gắn kết đặc hiệu của kháng thể cho VEGF của người và/hoặc DLL4 của người có thể là được xác định nhờ sử dụng FACS. Thử nghiệm kiểm tra FACS có thể bao gồm việc tạo ra cấu trúc cADN biểu hiện kháng nguyên như một hỗn hợp protein, truyền nhiễm cấu trúc vào trong các tế bào, biểu hiện kháng nguyên trên bề mặt của các tế bào, trộn lẫn tác nhân gắn kết hoặc kháng thể với các tế bào được truyền nhiễm, và ủ trong một khoảng thời gian. Các tế bào được gắn kết bằng tác nhân gắn kết hoặc kháng thể có thể là được đồng nhất bằng cách sử dụng kháng thể thứ cấp được tiếp hợp cho hợp chất có thể tìm ra (ví dụ, kháng thể PE-được tiếp hợp kháng Fc) và đếm tế bào

dòng. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ có thể am hiểu về các thông số có thể được cải biến để tối ưu hóa tín hiệu đã dò cũng như các biến thể khác của FACS mà có thể cải thiện việc kiểm tra (ví dụ, việc kiểm tra để ngăn chặn các kháng thể).

Ái lực gắn kết của kháng thể hoặc tác nhân gắn kết khác với kháng nguyên (ví dụ, VEGF hoặc DLL4) và tỷ lệ giới hạn của sự tương tác kháng thể-kháng nguyên có thể được xác định bởi các thử nghiệm gắn kết cạnh tranh. Một ví dụ về thử nghiệm gắn kết cạnh tranh là thử nghiệm miễn dịch phóng xạ bao gồm việc ủ kháng nguyên được gắn nhãn (ví dụ, ^{3}H hoặc ^{125}I), hoặc phần hoặc biến thể của chúng, với kháng thể quan tâm với sự có mặt các lượng tăng cường của kháng nguyên không được gắn nhãn tiếp theo bởi sự dò tìm của kháng thể được gắn kết với kháng nguyên được gắn nhãn. Ái lực của kháng thể đối với kháng nguyên và sự gắn kết các tỷ lệ giới hạn có thể được xác định từ dữ liệu bởi sự phân tích biểu đồ Scatchard. Theo một số phương án, phân tích động lực Biacore được sử dụng để xác định việc gắn kết với và các tỷ lệ giới hạn của các kháng thể hoặc các tác nhân gắn kết kháng nguyên (ví dụ, VEGF hoặc DLL4). Phân tích động lực Biacore bao gồm việc phân tích sự gắn kết và sự phân ly của các kháng thể từ các mạch với kháng nguyên được giữ cố định (ví dụ, VEGF hoặc DLL4) trên bề mặt của chúng.

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết VEGF (ví dụ, kháng thể) gắn kết đặc hiệu VEGF của người, trong đó tác nhân gắn kết VEGF (ví dụ, kháng thể) bao gồm một, hai, ba, bốn, năm, và/hoặc sáu các CDR của kháng thể 219R45 (xem Bảng 1). Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF bao gồm một hoặc nhiều các CDR là 219R45, hai hoặc nhiều các CDR là 219R45, ba hoặc nhiều các CDR là 219R45, bốn hoặc nhiều các CDR là 219R45, năm hoặc nhiều các CDR là 219R45, hoặc tất cả sáu các CDR là 219R45. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF gắn kết VEGF của người và VEGF của chuột.

Bảng 1

	219R45
HC CDR1	NYWMH (SEQ ID NO:17)
HC CDR2	DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18)
HC CDR3	HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19)
LC CDR1	RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20)
LC CDR2	AASNQGS (SEQ ID NO:21)
LC CDR3	QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22)

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết VEGF (ví dụ, kháng thể) gắn kết đặc hiệu VEGF của người, trong đó tác nhân gắn kết VEGF bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19). Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF còn bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF bao gồm: (a) CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19), và (b) CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22).

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết VEGF (ví dụ, kháng thể) gắn kết đặc hiệu VEGF của người, trong đó tác nhân gắn kết VEGF bao gồm: (a) CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; (b) CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; (c) CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; (d) CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; (e) CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; và (f) CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin. Theo các phương án cụ thể, các sự thay thế axit amin là các thay thế bảo toàn.

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết VEGF (ví dụ, kháng thể) gắn kết đặc hiệu VEGF, trong đó tác nhân gắn kết VEGF bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất khoảng 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF

bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:11, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:11, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:12. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF bao gồm chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:49, và chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:8. Theo một số phương án, kháng thể gắn kết VEGF hoặc tác nhân khác bao gồm chuỗi nặng bao gồm SEQ IDNO:7, và chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:8.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF gắn kết VEGF với K_D là khoảng 10nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF gắn kết VEGF với K_D là khoảng 1nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF gắn kết VEGF với K_D là khoảng 0,1nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF gắn kết VEGF với K_D là khoảng 0,01nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, ít nhất một gốc axit amin trong ít nhất một CDR của tác nhân gắn kết VEGF được thay thế bằng axit amin khác để ái lực của tác nhân gắn kết VEGF đối với VEGF được thay thế. Theo một số phương án, ái lực của tác nhân gắn kết VEGF được tăng cường. Theo một số phương án, ái lực của tác nhân gắn kết VEGF được giảm. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF gắn kết VEGF của người. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF gắn kết VEGF của người và VEGF của chuột.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF bao gồm vùng biến đổi vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của 219R45 kháng thể. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của 219R45 kháng thể (có hoặc không có trình tự dẫn đầu). Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF là 219R45 kháng thể.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF bao gồm, cơ bản bao gồm, hoặc bao gồm, kháng thể 219R45.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF (ví dụ, kháng thể) gắn kết cùng epitop, hoặc về cơ bản cùng epitop, trên VEGF như kháng thể của sáng chế. Theo phương án khác, tác nhân gắn kết VEGF là kháng thể gắn kết một epitop trên VEGF chồng chéo với epitop trên VEGF được gắn kết bằng kháng thể của sáng chế. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF (ví dụ, kháng thể) gắn kết cùng epitop, hoặc về cơ bản cùng epitop, trên VEGF như kháng thể 219R45. Theo phương án khác, tác nhân gắn kết VEGF là kháng thể gắn kết một epitop trên VEGF chồng chéo với epitop trên VEGF được gắn kết bằng kháng thể 219R45.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF ức chế sự gắn kết của VEGF với ít nhất một thụ thể VEGF. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF ức chế sự gắn kết của VEGF của người với VEGFR-1 hoặc VEGFR-2. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF gắn kết đặc hiệu VEGF và điều biến sự hình thành mạch. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF gắn kết đặc hiệu VEGF và ức chế sự hình thành mạch. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF gắn kết đặc hiệu VEGF và ức chế sự phát triển khối u.

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) bao gồm một, hai, ba, bốn, năm, và/hoặc sáu các CDR của kháng thể 21R79 (xem Bảng 2). Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm một hoặc nhiều các CDR là 21R79, hai hoặc nhiều các CDR là 21R79, ba hoặc nhiều các CDR là 21R79, bốn hoặc nhiều các CDR là 21R79, năm hoặc nhiều các CDR là 21R79, hoặc tất cả sáu các CDR là 21R79. Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) bao gồm một, hai, ba, bốn, năm, và/hoặc sáu các CDR của kháng thể 21R75 (xem Bảng 2). Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm một hoặc nhiều các CDR là 21R75, hai hoặc nhiều các CDR là 21R75, ba hoặc nhiều các CDR là 21R75, bốn hoặc nhiều các CDR là 21R75, năm hoặc nhiều các

CDR là 21R75, hoặc tất cả sáu các CDR là 21R75. Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) bao gồm một, hai, ba, bốn, năm, và/hoặc sáu các CDR của kháng thể 21R83 (xem Bảng 2). Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm một hoặc nhiều các CDR là 21R83, hai hoặc nhiều các CDR là 21R83, ba hoặc nhiều các CDR là 21R83, bốn hoặc nhiều các CDR là 21R83, năm hoặc nhiều các CDR là 21R83, hoặc tất cả sáu các CDR là 21R83. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 gắn kết DLL4 của người và DLL4 của chuột.

Bảng 2

	21R79	21R75	21R83
HC CDR1	TAYYIH (SEQ ID NO:13)	TAYYIH (SEQ ID NO:13)	TAYYIH (SEQ ID NO:13)
HC CDR2	YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:14)	YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59)	YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65)
HC CDR3	RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16)	RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16)	RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16)
LC CDR1	RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20)	RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20)	RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20)
LC CDR2	AASNQGS (SEQ ID NO:21)	AASNQGS (SEQ ID NO:21)	AASNQGS (SEQ ID NO:21)
LC CDR3	QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22)	QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22)	QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22)

Theo các phương án cụ thể, CDR1 của chuỗi nặng của kháng thể gắn kết DLL4 là HC CDR1 tối thiểu bao gồm AYYIH (SEQ ID NO:79).

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết là kháng thể gắn kết DLL4 của người và bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13) hoặc AYYIH (SEQ ID NO:79), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm $YIX_1X_2YX_3X_4ATNYNQKFKG$ (SEQ ID NO:80), trong đó X_1 là serin hoặc alanin, X_2 là serin, asparagin, hoặc glyxin, X_3 là asparagin hoặc lysin, và X_4 là glyxin, arginin, hoặc axit aspartic, và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22).

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:14), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16). Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 còn bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm: (a) CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:14), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16), và (b) CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22).

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm: (a) CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; (b)

CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:14), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; (c) CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; (d) CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; (e) CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; và (f) CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin. Theo các phương án cụ thể, các sự thay thế axit amin là các thay thế bảo toàn.

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết đặc hiệu DLL4, trong đó tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất khoảng 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:10, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:10. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:10, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:10, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:10, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:12. Theo một số phương án,

tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:48, và chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:8. Theo một số phương án, kháng thể gắn kết DLL4 hoặc tác nhân khác bao gồm chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:6, và chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:8. Theo một số phương án, kháng thể là kháng thể đặc hiệu kép.

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16). Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 còn bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm: (a) CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16), và (b) CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22).

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm: (a) CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; (b) CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; (c) CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; (d) CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), hoặc biến thể A

của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; (e) CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; và (f) CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin. Theo các phương án cụ thể, các sự thay thế axit amin là các thay thế bảo toàn.

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết đặc hiệu DLL4, trong đó tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất khoảng 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:58, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:58. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:58, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:58, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:58, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:12. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:56, và chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:8.

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13),

CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16). Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 còn bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm: (a) CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16), và (b) CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22).

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm: (a) CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; (b) CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; (c) CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; (d) CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; (e) CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin; và (f) CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22), hoặc biến thể A của chúng bao gồm 1, 2, 3, hoặc 4 sự thay thế axit amin. Theo các phương án cụ thể, các sự thay thế axit amin là các thay thế bảo toàn.

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết đặc hiệu DLL4, trong đó tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm

vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất khoảng 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:64, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:64. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:64, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:64, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:64, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:12. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:62, và chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:8.Theo một số phương án, tác nhân là kháng thể đặc hiệu kép.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 là kháng thể bao gồm chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:5, và chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:8. Theo một số phương án, kháng thể là kháng thể đặc hiệu kép.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 gắn kết DLL4 với K_D là 25nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 gắn kết DLL4 với K_D là 10nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 gắn kết DLL4 với K_D là khoảng 1nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 gắn kết DLL4 với K_D là khoảng 0,1nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 gắn kết DLL4 với K_D là khoảng 0,01nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, ít nhất một gốc axit

amin trong ít nhất một CDR của tác nhân gắn kết DLL4 được thay thế bằng axit amin khác để ái lực của tác nhân gắn kết DLL4 đối với DLL4 được thay thế. Theo một số phương án, ái lực của tác nhân gắn kết DLL4 được tăng cường. Theo một số phương án, ái lực của tác nhân gắn kết DLL4 được giảm.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể 21R79. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể 21R79 (có hoặc không có trình tự dẫn đầu). Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 là kháng thể 21R79.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm, cơ bản bao gồm, hoặc bao gồm, kháng thể 21R79.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể 21R75. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể 21R75 (có hoặc không có trình tự dẫn đầu). Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 là kháng thể 21R75.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm, cơ bản bao gồm, hoặc bao gồm, kháng thể 21R75.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm vùng biến đổi vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể 21R83. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể 21R83 (có hoặc không có trình tự dẫn đầu). Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 là kháng thể 21R83.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm, cơ bản bao gồm, hoặc bao gồm, kháng thể 21R83.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 gắn kết phần tận cùng N của DLL4 của người (các axit amin 1-191 của SEQ ID NO:24). Theo một số

phương án, tác nhân gắn kết DLL4 gắn kết một epitop bao gồm các axit amin 40-47 của SEQ ID NO:25. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 gắn kết một epitop bao gồm các axit amin 113-120 của SEQ ID NO:25. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 gắn kết một epitop bao gồm các axit amin 40-47 của SEQ ID NO:25 và các axit amin 113-120 của SEQ ID NO:25.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết cùng epitop, hoặc về cơ bản cùng epitop, trên DLL4 như kháng thể của sáng chế. Theo phương án khác, tác nhân gắn kết DLL4 là kháng thể gắn kết một epitop trên DLL4 chồng chéo với epitop trên DLL4 được gắn kết bằng kháng thể của sáng chế. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết cùng epitop, hoặc về cơ bản cùng epitop, trên DLL4 như kháng thể 21R79. Theo phương án khác, tác nhân gắn kết DLL4 là kháng thể gắn kết một epitop trên DLL4 chồng chéo với epitop trên DLL4 được gắn kết bằng kháng thể 21R79. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết cùng epitop, hoặc về cơ bản cùng epitop, trên DLL4 như kháng thể 21R75. Theo phương án khác, tác nhân gắn kết DLL4 là kháng thể gắn kết một epitop trên DLL4 chồng chéo với epitop trên DLL4 được gắn kết bằng kháng thể 21R75. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết cùng epitop, hoặc về cơ bản cùng epitop, trên DLL4 như kháng thể 21R83. Theo phương án khác, tác nhân gắn kết DLL4 là kháng thể gắn kết một epitop trên DLL4 chồng chéo với epitop trên DLL4 được gắn kết bằng kháng thể 21R83.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 ức chế sự gắn kết của DLL4 với ít nhất một thụ thể Notch. Theo các phương án cụ thể, thụ thể Notch là Notch1, Notch2, Notch3, hoặc Notch4. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 gắn kết đặc hiệu DLL4 và ức chế hoạt tính DLL4. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 gắn kết đặc hiệu DLL4 và ức chế việc truyền tín hiệu Notch. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 gắn kết đặc hiệu DLL4 và điều biến sự hình thành mạch. Theo một số phương án, tác nhân gắn

kết DLL4 gắn kết đặc hiệu DLL4 và ức chế sự phát triển khối u. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 gắn kết đặc hiệu DLL4 và ức chế tình trạng hình thành. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 gắn kết đặc hiệu DLL4 và giảm số lượng hoặc tần suất của CSCs trong khối u.

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết một đích liên kết khối u. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm: vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép còn bao gồm: CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm: vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm (a) CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19), và (b) CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22).

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất khoảng 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép còn bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân đặc hiệu kép gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12.

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu DLL4 của người. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu DLL4 của người và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết một đích liên kết khối u. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm: vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13) hoặc AYYIH (SEQ ID NO:79), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm $YIX_1X_2YX_3X_4ATNYNQKFKG$ (SEQ ID NO:80), trong đó X_1 là serin hoặc alanin, X_2 là serin, asparagin, hoặc glyxin, X_3 là asparagin hoặc lysin, và X_4 là glyxin, arginin, hoặc axit aspartic, và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm: vị trí gắn kết kháng nguyên

thứ nhất gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:14), YISSYNGATNYNQKFKG (SEQ ID NO:15), YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59), hoặc YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:14), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YISSYNGATNYNQKFKG (SEQ ID NO:15), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép còn bao gồm: CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm: vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm (a) CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID

NO:14), YISSYNGATNYNQKFKG (SEQ ID NO:15), YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59), hoặc YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16), và (b) CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22).

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất khoảng 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:58, hoặc SEQ ID NO:64. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép còn bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân đặc hiệu kép gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:58, hoặc SEQ ID NO:64; và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12.

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể đặc hiệu kép) gắn kết đặc hiệu VEGF của người và DLL4 của người. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm: a) vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người, và b) vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19); trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13) hoặc

AYYIH (SEQ ID NO:79), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm $YIX_1X_2YX_3X_4ATNYNQKFKG$ (SEQ ID NO:80), trong đó X_1 là serin hoặc alanin, X_2 là serin, asparagin, hoặc glyxin, X_3 là asparagin hoặc lysin, và X_4 là glyxin, arginin, hoặc axit aspartic, và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người, và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19), và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:14), YISSYNGATNYNQKFKG (SEQ ID NO:15), YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59), hoặc YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và trong đó cả vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22).

Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người, và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ

ID NO:19), và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:14), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và trong đó cả vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép is 219R45-MB-21R79.

Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người, và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19), và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YISSYNGATNYNQKFKG (SEQ ID NO:15), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và trong đó cả vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép is 219R45-MB-21M18.

Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người, và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất trong đó bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm

DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19), và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và trong đó cả vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép is 219R45-MB-21R75.

Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người, và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19), và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và trong đó cả vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép is 219R45-MB-21R83.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể đặc hiệu kép) bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất khoảng 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11, vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai có ít nhất khoảng 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID

NO:58, hoặc SEQ ID NO:64, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai có ít nhất 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân đặc hiệu kép gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11; vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai có ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:58, hoặc SEQ ID NO:64; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai có ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân đặc hiệu kép gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11, vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:9, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân đặc hiệu kép gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11, vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:10, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân đặc hiệu kép gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11, vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:58, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân đặc hiệu kép gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11, vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:64, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai có ít nhất khoảng 95% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo

các phương án cụ thể, tác nhân đặc hiệu kép gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất bao gồm SEQ ID NO:11, vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai bao gồm SEQ ID NO:9, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai bao gồm SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân đặc hiệu kép gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất bao gồm SEQ ID NO:11, vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai bao gồm SEQ ID NO:10, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai bao gồm SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân đặc hiệu kép gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất bao gồm SEQ ID NO:11, vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai bao gồm SEQ ID NO:58, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai bao gồm SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân đặc hiệu kép gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất bao gồm SEQ ID NO:11, vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai bao gồm SEQ ID NO:64, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai bao gồm SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân đặc hiệu kép gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:11, vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:9, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân đặc hiệu kép gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:11, vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:10, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân đặc hiệu kép gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:11, vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:58, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân đặc hiệu kép gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:11, vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:64, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai về cơ bản bao gồm SEQ ID NO:12.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng từ kháng thể kháng VEGF 219R45. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng từ kháng thể kháng DLL4 21M18. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng từ kháng thể kháng DLL4 21R79. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng từ kháng thể kháng DLL4 21R75. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng từ kháng thể kháng DLL4 21R83. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng từ kháng thể kháng VEGF 219R45, vùng biến đổi chuỗi nặng từ kháng thể kháng DLL4 21R79 và hai vùng biến đổi chuỗi nhẹ đồng nhất. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng từ kháng thể kháng VEGF 219R45, vùng biến đổi chuỗi nặng từ kháng thể kháng DLL4 21M18 và hai vùng biến đổi chuỗi nhẹ đồng nhất. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng từ kháng thể kháng VEGF 219R45, vùng biến đổi chuỗi nặng từ kháng thể kháng DLL4 21R75 và hai vùng biến đổi chuỗi nhẹ đồng nhất. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng từ kháng thể kháng VEGF 219R45, vùng biến đổi chuỗi nặng từ kháng thể kháng DLL4 21R83 và hai vùng biến đổi chuỗi nhẹ đồng nhất.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm miền CH3 thứ nhất và miền CH3 thứ hai, mỗi trong các miền đó được cải biến để đẩy mạnh sự hình thành của multime khác loạis. Theo một số phương án, các miền CH3 thứ nhất và thứ hai được cải biến sử dụng kỹ thuật núm-trong-lỗ. Theo một số phương án, các miền CH3 thứ nhất và

thứ hai bao gồm các thay đổi về các axit amin dẫn tới các tương tác tĩnh điện thay thế. Theo một số phương án, các miền CH3 thứ nhất và thứ hai bao gồm các thay đổi về các axit amin dẫn tới các tương tác kỵ nước/thấm nước thay thế.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm chuỗi nặng các vùng cố định được chọn từ nhóm bao gồm: (a) vùng cố định IgG1 của người thứ nhất, trong đó các axit amin ở các vị trí 253 và 292 được thay thế bằng glutamat hoặc aspartat, và vùng cố định IgG1 của người thứ hai, trong đó các axit amin ở các vị trí 240 và 282 được thay thế bằng lysin; (b) vùng cố định IgG2 của người thứ nhất, trong đó các axit amin ở các vị trí 249 và 288 được thay thế bằng glutamat hoặc aspartat, và vùng cố định IgG2 của người thứ hai trong đó các axit amin ở các vị trí 236 và 278 được thay thế bằng lysin; (c) vùng cố định IgG3 của người thứ nhất, trong đó các axit amin ở các vị trí 300 và 339 được thay thế bằng glutamat hoặc aspartat, và vùng cố định IgG3 của người thứ hai trong đó các axit amin ở các vị trí 287 và 329 được thay thế bằng lysin; và (d) vùng cố định IgG4 của người thứ nhất, trong đó các axit amin ở các vị trí 250 và 289 được thay thế bằng glutamat hoặc aspartat, và vùng cố định IgG4 của người thứ hai trong đó các axit amin ở các vị trí 237 và 279 được thay thế bằng lysin.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vùng cố định IgG1 của người thứ nhất có các sự thay thế axit amin ở các vị trí 253 và 292, trong đó các axit amin là glutamat hoặc aspartat, và vùng cố định IgG1 của người thứ hai có các sự thay thế axit amin ở các vị trí 240 và 282, trong đó các axit amin là lysin. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vùng cố định IgG2 của người thứ nhất có các sự thay thế axit amin ở các vị trí 249 và 288, trong đó các axit amin là glutamat hoặc aspartat, và vùng cố định IgG2 của người thứ hai có các sự thay thế axit amin ở các vị trí 236 và 278, trong đó các axit amin là lysin. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vùng cố định IgG3 của người thứ nhất

có các sự thay thế axit amin ở các vị trí 300 và 339, trong đó các axit amin là glutamat hoặc aspartat, và vùng cố định IgG2 của người thứ hai có các sự thay thế axit amin ở các vị trí 287 và 329, trong đó các axit amin là lysin. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vùng cố định IgG4 của người thứ nhất có các sự thay thế axit amin ở các vị trí 250 và 289, trong đó các axit amin là glutamat hoặc aspartat, và vùng cố định IgG4 của người thứ hai có các sự thay thế axit amin ở các vị trí 237 và 279, trong đó các axit amin là lysin.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vùng cố định IgG2 của người thứ nhất có các sự thay thế axit amin ở các vị trí 249 và 288, trong đó các axit amin là glutamat, và vùng cố định IgG2 của người thứ hai có các sự thay thế axit amin ở các vị trí 236 và 278, trong đó các axit amin là lysin. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vùng cố định IgG2 của người thứ nhất có các sự thay thế axit amin ở các vị trí 249 và 288, trong đó các axit amin là aspaloài gặm nhấm, và vùng cố định IgG2 của người thứ hai có các sự thay thế axit amin ở các vị trí 236 và 278, trong đó các axit amin là lysin.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm chuỗi nặng của SEQ ID NO:7. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm chuỗi nặng của SEQ ID NO:5. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm chuỗi nặng của SEQ ID NO:56. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm chuỗi nặng của SEQ ID NO:62. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép còn bao gồm chuỗi nhẹ của SEQ ID NO:12. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm chuỗi nặng của SEQ ID NO:7, chuỗi nặng của SEQ ID NO:5, và hai chuỗi nhẹ của SEQ ID NO:8. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm chuỗi nặng

của SEQ ID NO:7, chuỗi nặng của SEQ ID NO:6, và hai chuỗi nhẹ của SEQ ID NO:8. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm chuỗi nặng của SEQ ID NO:7, chuỗi nặng của SEQ ID NO:56, và hai chuỗi nhẹ của SEQ ID NO:8. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm chuỗi nặng của SEQ ID NO:7, chuỗi nặng của SEQ ID NO:62, và hai chuỗi nhẹ của SEQ ID NO:8.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó gắn kết VEGF với K_D là khoảng 50nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 25nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 10nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 1nM hoặc nhỏ hơn, hoặc khoảng 0,1nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó gắn kết DLL4 với K_D là khoảng 50nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 25nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 10nM hoặc nhỏ hơn, khoảng 1nM hoặc nhỏ hơn, hoặc khoảng 0,1nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó gắn kết VEGF với K_D là khoảng 50nM hoặc nhỏ hơn và gắn kết DLL4 với K_D là khoảng 50nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép gắn kết VEGF với K_D là khoảng 25nM hoặc nhỏ hơn và gắn kết DLL4 với K_D là khoảng 25nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép gắn kết VEGF với K_D là khoảng 10nM hoặc nhỏ hơn và gắn kết DLL4 với K_D là khoảng 10nM hoặc nhỏ hơn. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép gắn kết VEGF với K_D là khoảng 1nM hoặc nhỏ hơn và gắn kết DLL4 với K_D là khoảng 1nM hoặc nhỏ hơn.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm một vị trí gắn kết kháng nguyên có ái lực gắn kết là yếu hơn ái lực gắn kết của vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai. Ví dụ, theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép có thể gắn kết VEGF với K_D trong khoảng từ khoảng 0,1nM đến 1nM và có thể gắn kết DLL4 với K_D trong khoảng từ khoảng 1nM đến 10nM. Hoặc kháng thể đặc hiệu kép có thể gắn kết VEGF với

K_D trong khoảng từ khoảng 1nM đến 10nM và có thể gắn kết DLL4 với K_D trong khoảng từ khoảng 0,1nM đến 1nM. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép có thể gắn kết DLL4 với K_D trong khoảng từ khoảng 0,1nM đến 1nM và có thể gắn kết VEGF với K_D trong khoảng từ khoảng 1nM đến 10nM. Hoặc kháng thể đặc hiệu kép có thể gắn kết DLL4 với K_D trong khoảng từ khoảng 1nM đến 10nM và có thể gắn kết VEGF với K_D trong khoảng từ khoảng 0,1nM đến 1nM. Theo một số phương án, sự khác biệt về ái lực giữa hai vị trí gắn kết kháng nguyên có thể là khoảng 2 lần hoặc lớn hơn, khoảng 3 lần hoặc lớn hơn, khoảng 5 lần hoặc lớn hơn, khoảng 8 lần hoặc lớn hơn, khoảng 10 lần hoặc lớn hơn, khoảng 15 lần hoặc lớn hơn, khoảng 30 lần hoặc lớn hơn, khoảng 50 lần hoặc lớn hơn, hoặc khoảng 100 lần hoặc lớn hơn. Theo một số phương án, ít nhất một gốc axit amin trong ít nhất một CDR của vị trí gắn kết kháng nguyên đối với VEGF được thay thế bằng axit amin khác để ái lực của vị trí gắn kết VEGF được thay thế. Theo một số phương án, ái lực của vị trí gắn kết VEGF được tăng cường. Theo một số phương án, ái lực của vị trí gắn kết VEGF được giảm. Theo một số phương án, ít nhất một gốc axit amin trong ít nhất một CDR của vị trí gắn kết kháng nguyên đối với DLL4 được thay thế bằng axit amin khác để ái lực của vị trí gắn kết DLL4 được thay thế. Theo một số phương án, ái lực của vị trí gắn kết DLL4 được tăng cường. Theo một số phương án, ái lực của vị trí gắn kết DLL4 được giảm. Theo một số phương án, các ái lực của cả các vị trí gắn kết kháng nguyên VEGF và DLL4 được thay thế.

Sáng chế đề xuất các polypeptit, bao gồm nhưng không giới hạn ở các kháng thể, gắn kết đặc hiệu VEGF và/hoặc DLL4. Theo một số phương án, polypeptit gắn kết VEGF của người. Theo một số phương án, polypeptit gắn kết DLL4 của người. Theo một số phương án, polypeptit gắn kết VEGF của người và VEGF của chuột. Theo một số phương án, polypeptit gắn kết DLL4 của người và DLL4 của chuột.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF bao gồm polypeptit bao gồm trình tự được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ

ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:47, và SEQ ID NO:49.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết DLL4 bao gồm polypeptit bao gồm trình tự được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ NO ID:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, và SEQ ID NO:64.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm polypeptit bao gồm trình tự được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, và SEQ ID NO:64.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm polypeptit bao gồm trình tự được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, và SEQ ID NO:64. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 còn bao gồm polypeptit bao gồm trình tự được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:47, và SEQ ID NO:49. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 còn bao gồm polypeptit bao gồm trình tự được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:8, và SEQ ID NO:12.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm polypeptit bao gồm trình tự được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:47, và SEQ ID NO:49. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 còn bao gồm polypeptit bao gồm

trình tự được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, và SEQ ID NO:64. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 còn bao gồm polypeptit bao gồm trình tự được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:8, và SEQ ID NO:12.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) cạnh tranh để gắn kết đặc hiệu với VEGF với kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:11 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 cạnh tranh với kháng thể 219R45 để gắn kết đặc hiệu với VEGF của người. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 hoặc kháng thể cạnh tranh để gắn kết đặc hiệu với VEGF trong thử nghiệm gắn kết cạnh tranh *in vitro*. Theo một số phương án, VEGF là VEGF của người. Theo một số phương án, VEGF là VEGF của chuột.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết cùng epitop, hoặc về cơ bản cùng epitop, trên VEGF như kháng thể của sáng chế. Theo phương án khác, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể gắn kết một epitop trên VEGF chồng chéo với epitop trên VEGF được gắn kết bằng kháng thể của sáng chế. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết cùng epitop, hoặc về cơ bản cùng epitop, trên VEGF như kháng thể 219R45. Theo phương án khác, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể gắn kết một epitop trên VEGF chồng chéo với epitop trên VEGF được gắn kết bằng kháng thể 219R45.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là tác nhân cạnh tranh để gắn kết đặc hiệu với VEGF với kháng thể 219R45 (ví dụ, trong thử nghiệm gắn kết cạnh tranh).

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) cạnh tranh để gắn kết đặc hiệu với DLL4 với kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:9 SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:58, hoặc SEQ ID NO:64 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:12. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 cạnh tranh với kháng thể 21R79 để gắn kết đặc hiệu với DLL4 của người. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 cạnh tranh với kháng thể 21R75 để gắn kết đặc hiệu với DLL4 của người. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 cạnh tranh với kháng thể 21R83 để gắn kết đặc hiệu với DLL4 của người. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 hoặc kháng thể cạnh tranh để gắn kết đặc hiệu với DLL4 trong thử nghiệm gắn kết cạnh tranh *in vitro*. Theo một số phương án, DLL4 là DLL4 của người. Theo một số phương án, DLL4 là DLL4 của chuột.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) gắn kết cùng epitop, hoặc về cơ bản cùng epitop, trên DLL4 như kháng thể của sáng chế. Theo phương án khác, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể gắn kết một epitop trên DLL4 chồng chéo với epitop trên DLL4 được gắn kết bằng kháng thể của sáng chế. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 gắn kết cùng epitop, hoặc về cơ bản cùng epitop, trên DLL4 như kháng thể 21R79. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 gắn kết cùng epitop, hoặc về cơ bản cùng epitop, trên DLL4 như kháng thể 21R75. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 gắn kết cùng epitop, hoặc về cơ bản cùng epitop, trên DLL4 như kháng thể 21R83. Theo phương án khác, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể gắn kết một epitop trên DLL4 chồng chéo với epitop trên DLL4 được gắn kết bằng kháng thể 21R79. Theo phương án khác, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể gắn kết một epitop trên DLL4 chồng chéo với epitop trên DLL4 được gắn kết bằng kháng thể 21R75. Theo phương án khác, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng

thể gắn kết một epitop trên DLL4 chồng chéo với epitop trên DLL4 được gắn kết bằng kháng thể 21R83.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là tác nhân cạnh tranh để gắn kết đặc hiệu với DLL4 với kháng thể 21R79 (ví dụ, trong thử nghiệm gắn kết cạnh tranh). Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là tác nhân cạnh tranh để gắn kết đặc hiệu với DLL4 với kháng thể 21R75 (ví dụ, trong thử nghiệm gắn kết cạnh tranh). Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là tác nhân cạnh tranh để gắn kết đặc hiệu với DLL4 với kháng thể 21R83 (ví dụ, trong thử nghiệm gắn kết cạnh tranh). Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là tác nhân cạnh tranh để gắn kết đặc hiệu với DLL4 với kháng thể 21M18 (ví dụ, trong thử nghiệm gắn kết cạnh tranh).

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là tác nhân cạnh tranh để gắn kết đặc hiệu với VEGF và/hoặc DLL4 với kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18 (ví dụ, trong thử nghiệm gắn kết cạnh tranh). Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là tác nhân cạnh tranh để gắn kết đặc hiệu với VEGF và/hoặc DLL4 với kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M79 (ví dụ, trong thử nghiệm gắn kết cạnh tranh). Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là tác nhân cạnh tranh để gắn kết đặc hiệu với VEGF và/hoặc DLL4 với kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M75 (ví dụ, trong thử nghiệm gắn kết cạnh tranh). Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là tác nhân cạnh tranh để gắn kết đặc hiệu với VEGF và/hoặc DLL4 với kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M83 (ví dụ, trong thử nghiệm gắn kết cạnh tranh).

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) được mô tả ở đây gắn kết VEGF và điều chỉnh hoạt tính VEGF. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là chất đối kháng VEGF và ức chế hoạt tính VEGF. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là chất đối kháng VEGF và điều biến sự hình thành mạch. Theo một số phương án, tác

nhân gắn kết VEGF/DLL4 là chất đối kháng VEGF và ức chế sự hình thành mạch. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là chất đối kháng VEGF và ức chế sự phát triển khối u.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) được mô tả ở đây gắn kết DLL4 của người và điều chỉnh hoạt tính DLL4. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là chất đối kháng DLL4 và ức chế hoạt tính DLL4. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là chất đối kháng DLL4 và ức chế hoạt tính Notch. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là chất đối kháng DLL4 và ức chế việc truyền tín hiệu Notch. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là chất đối kháng DLL4 và điều biến sự hình thành mạch. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là chất đối kháng DLL4 và đẩy mạnh sự hình thành mạch bất thường. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là chất đối kháng DLL4 và ức chế sự phát triển khối u.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) được mô tả ở đây là kháng thể đặc hiệu kép gắn kết VEGF của người và điều chỉnh hoạt tính VEGF. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) được mô tả ở đây là kháng thể đặc hiệu kép gắn kết DLL4 của người và điều chỉnh hoạt tính DLL4. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) được mô tả ở đây là kháng thể đặc hiệu kép gắn kết VEGF của người và DLL4 của người và điều chỉnh cả hoạt tính VEGF và DLL4. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép là chất đối kháng VEGF và chất đối kháng DLL4 và ức chế cả hoạt tính VEGF và hoạt tính DLL4. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép là chất đối kháng VEGF và chất đối kháng DLL4 và ức chế hoạt tính VEGF và hoạt tính Notch. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép là chất đối kháng VEGF và chất đối kháng DLL4 và ức chế hoạt tính VEGF và việc truyền tín hiệu Notch. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép là chất đối kháng VEGF và chất đối kháng DLL4 và điều biến sự hình thành mạch. Theo một số phương án, kháng

thể đặc hiệu kép là chất đối kháng VEGF và chất đối kháng DLL4 và đẩy mạnh sự hình thành mạch bất thường. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép là chất đối kháng VEGF và chất đối kháng DLL4 và ức chế sự hình thành mạch. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép là chất đối kháng VEGF và chất đối kháng DLL4 và ức chế sự phát triển khối u.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể hoặc kháng thể đặc hiệu kép) là chất đối kháng của VEGF. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là chất đối kháng của VEGF và ức chế hoạt tính VEGF. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế hoạt tính VEGF bởi ít nhất khoảng 10%, ít nhất khoảng 20%, ít nhất khoảng 30%, ít nhất khoảng 50%, ít nhất khoảng 75%, ít nhất khoảng 90%, hoặc Khoảng 100%. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế hoạt tính VEGF của người là kháng thể 219R45. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế hoạt tính VEGF của người là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên là 219R45. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế VEGF của người hoạt tính là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế hoạt tính VEGF của người là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R79. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế hoạt tính VEGF của người là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R75. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế hoạt tính VEGF của người là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R83.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) là chất đối kháng của DLL4. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là chất đối kháng của DLL4 và ức chế hoạt tính DLL4. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế hoạt tính DLL4 bởi ít nhất khoảng 10%, ít nhất khoảng 20%, ít nhất khoảng 30%, ít nhất khoảng 50%, ít nhất khoảng 75%, ít nhất khoảng 90%, hoặc Khoảng 100%. Theo các phương

án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế hoạt tính DLL4 của người là kháng thể 21R79. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế hoạt tính DLL4 của người là kháng thể 21R75. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế hoạt tính DLL4 của người là kháng thể 21R83. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế hoạt tính DLL4 của người là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên là 21R79. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế hoạt tính DLL4 của người là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên là 21R75. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế hoạt tính DLL4 của người là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên là 21R83. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế hoạt tính DLL4 của người là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế hoạt tính DLL4 của người là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R79. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế hoạt tính DLL4 của người là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R75. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế hoạt tính DLL4 của người là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R83.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) là chất đối kháng của Notch việc truyền tín hiệu. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế việc truyền tín hiệu Notch bởi ít nhất khoảng 10%, ít nhất khoảng 20%, ít nhất khoảng 30%, ít nhất khoảng 50%, ít nhất khoảng 75%, ít nhất khoảng 90%, hoặc khoảng 100%. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế việc truyền tín hiệu Notch là kháng thể 21R79. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế việc truyền tín hiệu Notch là kháng thể 21R75. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế việc truyền tín hiệu Notch là kháng thể 21R83. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế việc truyền tín hiệu Notch là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng

nguyên là 21R79. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế việc truyền tín hiệu Notch là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên là 21R75. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế việc truyền tín hiệu Notch là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên là 21R83. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế việc truyền tín hiệu Notch là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế việc truyền tín hiệu Notch là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R79. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế việc truyền tín hiệu Notch là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R75. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế việc truyền tín hiệu Notch là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R83.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) ức chế sự gắn kết của VEGF với ít nhất một thụ thể. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của VEGF với VEGFR-1 hoặc VEGFR-2. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của VEGF với ít nhất một thụ thể VEGF bởi ít nhất khoảng 10%, ít nhất khoảng 25%, ít nhất khoảng 50%, ít nhất khoảng 75%, ít nhất khoảng 90%, hoặc ít nhất khoảng 95%. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của VEGF của người với ít nhất một thụ thể VEGF là kháng thể 219R45. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của VEGF của người với ít nhất một thụ thể VEGF là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên là 219R45. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của VEGF của người với ít nhất một thụ thể VEGF là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của VEGF của người với ít nhất một thụ thể VEGF là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R79. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của VEGF của người với ít

nhất một thụ thể VEGF là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R75. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của VEGF của người với ít nhất một thụ thể VEGF là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R83.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) ức chế sự gắn kết của protein DLL4 với ít nhất một thụ thể Notch. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của DLL4 với Notch1, Notch2, Notch3, và/hoặc Notch4. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của DLL4 với ít nhất một thụ thể Notch bởi ít nhất khoảng 10%, ít nhất khoảng 25%, ít nhất khoảng 50%, ít nhất khoảng 75%, ít nhất khoảng 90%, hoặc ít nhất khoảng 95%. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của DLL4 của người với ít nhất một thụ thể Notch là kháng thể 21R79. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của DLL4 của người với ít nhất một thụ thể Notch là kháng thể 21R75. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của DLL4 của người với ít nhất một thụ thể Notch là kháng thể 21R83. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của DLL4 của người với ít nhất một thụ thể Notch là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên là 21R79. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của DLL4 của người với ít nhất một thụ thể Notch là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên là 21R75. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của DLL4 của người với ít nhất một thụ thể Notch là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên là 21R83. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của DLL4 của người với ít nhất một thụ thể Notch là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của DLL4 của người với ít nhất một thụ thể Notch là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R79. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn

kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của DLL4 của người với ít nhất một thụ thể Notch là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R75. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ức chế sự gắn kết của DLL4 của người với ít nhất một thụ thể Notch là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R83.

Các thử nghiệm *in vivo* và *in vitro* để xác định thêm tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (hoặc tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ứng cử) ức chế VEGF hoặc ảnh hưởng đến sự hình thành mạch là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Các thử nghiệm *in vitro* của sự hình thành mạch bao gồm nhưng không giới hạn ở, các thử nghiệm sự tăng sinh HUVEC, các thử nghiệm hình thành ống tế bào màng trong, các thử nghiệm nảy chồi (hoặc sự hình thành chồi nhú), các thử nghiệm di trú tế bào HUVEC, và các thử nghiệm xâm nhập. Theo một số phương án, các tế bào với sự có mặt của VEGF và sự có mặt của tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 được so sánh với các tế bào với sự có mặt của VEGF không có mặt tác nhân gắn kết VEGF/DLL4, và được tính toán về các hiệu quả lên sự hình thành mạch (hoặc các hiệu quả sinh học kết hợp với sự hình thành mạch). Các thử nghiệm *in vivo* của sự hình thành mạch bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các thử nghiệm chốt matrigel, các thử nghiệm vi túi màng sừng, và các thử nghiệm màng phôi gà (CAM).

Các thử nghiệm *in vivo* và *in vitro* để xác định tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (hoặc tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 ứng viên) có ức chế hay không ức chế sự hoạt hóa hoặc việc truyền tín hiệu Notch là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Ví dụ, các thử nghiệm chất báo cáo luciferaza vào tế bào mà sử dụng vectơ báo cáo TCF/Luc có chứa nhiều bản sao của miền gắn kết TCF ngược dòng các gen báo cáo luciferaza nhấp nháy có thể được sử dụng để đo các mức truyền tín hiệu Notch *in vitro* (Gazit et al., 1999, *Oncogene,* 18; 5959-66; TOPflash, Millipore, Billerica MA). Theo một số phương án, thử nghiệm báo cáo dựa vào tế bào, luciferaza sử dụng vectơ báo cáo CBF/Luc có chứa nhiều bản sao của miền gắn kết CBF ngược dòng các gen báo cáo luciferaza nhấp nháy có thể được sử dụng. Mức truyền tín hiệu Notch với sự có mặt của một

hoặc nhiều phối tử Notch (ví dụ, DLL4 được biểu hiện trên bề mặt của các tế bào được truyền nhiễm hoặc hỗn hợp protein DLL4-Fc hoàn tan) và với sự có mặt của tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 khi so với mức truyền tín hiệu Notch không có sự có mặt tác nhân gắn kết VEGF/DLL4.

Theo các phương án cụ thể, các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 có một hoặc nhiều hiệu quả sau: ức chế sự tăng sinh của các tế bào khối u, ức chế sự phát triển khối u, giảm tình trạng hình thành của khối u, giảm tần suất của các tế bào gốc ung thư trong khối u, gây ra sự chết tế bào của các tế bào khối u, ngăn chặn di căn của các tế bào khối u, giảm sự sống sót các tế bào khối u, điều biến sự hình thành mạch, ức chế sự hình thành mạch, ức chế sự hình thành mạch hữu ích, hoặc đẩy mạnh sự hình thành mạch bất thường.

Theo các phương án cụ thể, các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 có khả năng để ức chế sự phát triển khối u. Theo các phương án cụ thể, các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 có khả năng để ức chế sự phát triển khối u *in vivo* (ví dụ, ở kiểu chuột ghép dị chủng, và/hoặc ở người mắc bệnh ung thư). Theo các phương án cụ thể, sự phát triển khối u được ức chế ít nhất khoảng hai lần, khoảng ba lần, khoảng năm lần, khoảng mười lần, khoảng 50 lần, khoảng 100 lần, hoặc khoảng 1000 lần khi so với khối u không được điều trị.

Theo các phương án cụ thể, các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 có khả năng giảm tình trạng hình thành của khối u. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 hoặc kháng thể có khả năng giảm tình trạng hình thành của khối u bao gồm các tế bào gốc ung thư ở một kiểu động vật, như kiểu ghép dị chủng chuột. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 hoặc kháng thể có khả năng giảm tình trạng hình thành của khối u by việc giảm số lượng hoặc tần suất của các tế bào gốc ung thư trong khối u. Theo các phương án cụ thể, số lượng hoặc tần suất của các tế bào gốc ung thư trong khối u được giảm bởi ít nhất khoảng hai lần, khoảng ba lần, khoảng năm lần, khoảng mười lần, khoảng 50 lần, khoảng 100 lần, hoặc khoảng 1000 lần. Theo các phương án cụ thể, việc giảm về số lượng hoặc tần suất của các tế bào gốc ung thư được xác

định bằng thử nghiệm pha loãng giới hạn nhờ sử dụng một kiểu động vật. Các ví dụ bổ sung và hướng dẫn đề cập đến việc sử dụng các thử nghiệm pha loãng giới hạn để xác định việc giảm về số lượng hoặc tần suất của các tế bào gốc ung thư trong khối u có thể được phát hiện, ví dụ, trong công bố đơn patent quốc tế số WO 2008/042236; Công bố Patent Mỹ số 2008/0064049; và công bố đơn patent Mỹ số 2008/0178305.

Theo các phương án cụ thể, các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 có khả năng điều biến sự hình thành mạch. Theo các phương án cụ thể, các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 có khả năng điều biến sự hình thành mạch *in vivo* (ví dụ, ở kiểu chuột ghép dị chủng, và/hoặc ở người mắc ung thư). Theo các phương án cụ thể, các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 có khả năng để ức chế sự hình thành mạch. Theo các phương án cụ thể, các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 có khả năng đẩy mạnh sự hình thành mạch bất thường. Theo các phương án cụ thể, các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 có khả năng để ức chế sự hình thành mạch và/hoặc đẩy mạnh sự hình thành mạch bất thường, dẫn tới sự phân bố mạch không hữu ích.

Theo các phương án cụ thể, các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 được mô tả ở đây có chu kỳ bán phân rã tuần hoàn ở chuột, các khỉ xynomolgus, hoặc người là ít nhất khoảng 2 giờ, ít nhất khoảng 5 giờ, ít nhất khoảng 10 giờ, ít nhất khoảng 24 giờ, ít nhất khoảng 3 ngày, ít nhất khoảng 1 tuần, hoặc ít nhất khoảng 2 tuần. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là IgG (ví dụ, IgG1 hoặc IgG2) kháng thể có chu kỳ bán phân rã tuần hoàn ở chuột, các khỉ xynomolgus, hoặc người là ít nhất khoảng 2 giờ, ít nhất khoảng 5 giờ, ít nhất khoảng 10 giờ, ít nhất khoảng 24 giờ, ít nhất khoảng 3 ngày, ít nhất khoảng 1 tuần, hoặc ít nhất khoảng 2 tuần. Các phương pháp tăng cường (hoặc giảm) chu kỳ bán phân rã của các tác nhân như các polypeptit và các kháng thể là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Ví dụ, các phương pháp đã biết tăng cường chu kỳ bán phân rã tuần hoàn của IgG các kháng thể bao gồm sự đưa vào các đột biến trong vùng Fc tăng sự gắn kết phụ thuộc pH của kháng thể với thụ thể Fc sơ sinh

(FcRn) ở pH 6,0 (xem, ví dụ, các đơn Patent Mỹ số 2005/0276799, 2007/0148164, và 2007/0122403). Các phương pháp đã biết tăng cường chu kỳ bán phân rã tuần hoàn của các mảnh kháng thể không có vùng Fc bao gồm các kỹ thuật như PEG hóa.

Theo một số phương án, các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là các kháng thể. Các kháng thể đa dòng có thể được điều chế bằng phương pháp bất kỳ đã biết. Theo một số phương án, các kháng thể đa dòng được tạo ra bởi việc gây miễn dịch động vật (ví dụ, thỏ, loài gặm nhấm, chuột, dê, lừa) với kháng nguyên quan tâm (ví dụ, phần peptit được tinh chế, toàn bộ độ dài protein tái tổ hợp, hoặc hỗn hợp protein) bằng nhiều kỹ thuật tiêm dưới da hoặc trong màng bụng. Kháng nguyên có thể tùy ý được tiếp hợp với chất mang như keyhole limpet hemocyanin (KLH) hoặc albumin huyết thanh. Kháng nguyên (có hoặc không có chất mang protein) được pha loãng trong nước muối vô trùng và thường được kết hợp với tá dược (ví dụ, tá dược Freund đầy đủ hoặc không đầy đủ) để tạo thành nhũ tương ổn định. Sau khoảng thời gian thích hợp, các kháng thể đa dòng được khôi phục từ động vật được gây miễn dịch, thường từ máu hoặc bệnh cổ trướng. Các kháng thể đa dòng có thể được tinh chế từ huyết thanh hoặc bệnh cổ trướng theo các phương pháp tiêu chuẩn trong lĩnh vực kỹ thuật bao gồm, nhưng không giới hạn ở, sắc ký ái lực, sắc ký trao đổi ion, hiện tượng điện di chuyển gel, và sự thẩm tách.

Theo một số phương án, các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là các kháng thể đơn dòng. Các kháng thể đơn dòng có thể được điều chế nhờ sử dụng các phương pháp tế bào lai đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật (xem, ví dụ, Kohler và Milstein, 1975, *Nature*, 256:495-497). Theo một số phương án, nhờ sử dụng phương pháp tế bào lai, chuột, chuột Hamster, hoặc động vật chủ thích hợp khác, được gây miễn dịch như được mô tả ở trên để gây ra phản ứng từ các lympho bào sự sản xuất các kháng thể gắn kết đặc hiệu kháng nguyên miễn dịch. Theo một số phương án, các lympho bào có thể được gây miễn dịch *in vitro*. Theo một số phương án, kháng nguyên miễn dịch có thể

là protein người hoặc một phần của chúng. Theo một số phương án, kháng nguyên miễn dịch có thể là protein chuột hoặc một phần của chúng.

Tiếp sau sự tạo miễn dịch, các lympho bào được phân lập và được hợp nhất với dòng tế bào u tủy phù hợp nhờ sử dụng, ví dụ, polyetylen glycol. Các tế bào lai được chọn nhờ sử dụng môi trường thích ứng như đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật và các lympho bào không được hợp nhất và các tế bào u tủy không qua được quá trình chọn lựa. Các tế bào lai tạo ra các kháng thể đơn dòng trực tiếp chống lại đặc trưng kháng nguyên được chọn có thể được đồng nhất bằng các phương pháp khác nhau bao gồm, nhưng không giới hạn ở, sự kết tủa miễn dịch, thấm hút miễn dịch, và các thử nghiệm gắn kết *in vitro* (ví dụ, đo tế bào dòng dòng, FACS, ELISA, và thử nghiệm miễn dịch phóng xạ). Các tế bào lai có thể được nhân giống trong môi trường *in vitro* nhờ sử dụng các phương pháp chuẩn (J.W. Goding, 1996, *Monoclonal: Principles and Practice*, 3rd *Edition*, Academic Press, San Diego, CA) hoặc *in vivo* như các khối u bệnh cổ trướng ở động vật. Các kháng thể đơn dòng có thể được tinh chế từ môi trường nuôi hoặc chất lưu bệnh cổ trướng theo các phương pháp chuẩn trong lĩnh vực kỹ thuật bao gồm, nhưng không giới hạn ở, sắc ký ái lực, sắc ký trao đổi ion, hiện tượng điện di chuyển gel, và sự thẩm tách.

Theo các phương án cụ thể, các kháng thể đơn dòng có thể được làm nhờ sử dụng các kỹ thuật tái tổ hợp ADN đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Các polynucleotit mã hóa kháng thể đơn dòng được phân lập từ các tế bào B trưởng thành hoặc các tế bào lai, như bằng RT-PCR nhờ sử dụng các mồi oligonucleotit khuếch đại đặc trưng các gen mã hóa các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể, và trình tự được xác định của chúng nhờ sử dụng các kỹ thuật chuẩn. Các polynucleotit được phân lập mã hóa các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng sau đó được nhân bản trong các vectơ biểu hiện phù hợp trong đó tạo ra các kháng thể đơn dòng khi được truyền nhiễm trong các tế bào vật chủ như E. coli, các tế bào COS khỉ, các tế bào buồng trứng chuột Hamster

Trung Quốc (CHO), hoặc các tế bào u tủy mà không tạo ra các protein globulin miễn dịch nữa.

Theo các phương án nhất định khác, các kháng thể đơn dòng tái tổ hợp, hoặc các phần của chúng, có thể được phân lập từ thư viện biểu thị trên thể thực khuẩn mà biểu hiện các miền biến đổi hoặc các CDR của các loài mong muốn (xem ví dụ, McCafferty et al., 1990, *Nature*, 348:552-554; Clackson et al., 1991, *Nature*, 352:624-628; và Marks et al., 1991, *J. Mol. Biol.,* 222:581-597).

Các polynucleotit mã hóa kháng thể đơn dòng có thể được cải biến, ví dụ, bằng cách sử dụng kỹ thuật ADN tái tổ hợp để tạo ra các kháng thể thay thế. Theo một số phương án, các miền ổn định của các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của, ví dụ, kháng thể đơn dòng chuột có thể được thay thế cho các vùng đó của, ví dụ, kháng thể người để tạo ra kháng thể dạng khảm, hoặc cho polypeptit không globulin miễn dịch để tạo ra hỗn hợp kháng thể. Theo một số phương án, các vùng cố định bị cắt ngắn hoặc bị loại bỏ để tạo ra mảnh kháng thể mong muốn của kháng thể đơn dòng. Quá trình đột biến cường độ cao hoặc đột biến đặc hiệu vị trí của vùng biến đổi có thể được sử dụng để tối ưu hóa độ đặc hiệu, ái lực, v.v. của kháng thể đơn dòng.

Theo một số phương án, kháng thể đơn dòng kháng lại VEGF và/hoặc DLL4 là kháng thể được làm tương thích với người. Điển hình là, các kháng thể được làm tương thích với người là các globulin miễn dịch người trong đó các gốc từ các CDR được thay thế bằng các gốc từ CDR của các loài không phải người (ví dụ, chuột, loài gặm nhấm, thỏ, chuột Hamster, v.v.) có độ đặc hiệu, ái lực, và/hoặc khả năng gắn kết mong muốn nhờ sử dụng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Theo một số phương án, các gốc vùng khung Fv của globulin miễn dịch người được thay thế bằng các gốc tương ứng trong kháng thể từ các loài không phải người có độ đặc hiệu, ái lực, và/hoặc khả năng gắn kết mong muốn. Theo một số phương án, kháng thể được làm tương thích với người có thể còn được cải biến bằng sự thay thế của các gốc bổ sung hoặc trong vùng khung Fv và/hoặc trong các gốc thay

thế không phải người để cải thiện và tối ưu hóa nét đặc trưng, ái lực, và/hoặc khả năng của kháng thể. Nhìn chung, kháng thể được làm tương thích với người sẽ bao gồm gần như là tất cả của ít nhất một, và điển hình là hai hoặc ba, các vùng miền biến đổi có chứa tất cả, hoặc gần như là tất cả, của các CDR tương ứng với globulin không miễn dịch người trong khi tất cả, hoặc gần như là tất cả, của vùng khung là các vùng khung của trình tự globulin miễn dịch người đồng nhất. Theo một số phương án, kháng thể được làm tương thích với người cũng có thể bao gồm ít nhất một phần của vùng hoặc miền (Fc) ổn định globulin miễn dịch, điển hình là của globulin miễn dịch người. Theo các phương án cụ thể, các kháng thể được làm tương thích với người này được sử dụng về mặt điều trị vì chúng có thể giảm các đáp ứng kháng nguyên và HAMA (kháng thể kháng người-chuột) khi được cung cấp cho đối tượng người. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ có thể thu được kháng thể chức được làm tương thích với người có gen miễn dịch giảm sau các kỹ thuật đã biết (xem, ví dụ, các patent Mỹ số 5,225,539; 5,585,089; 5,693,761; và 5,693,762).

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể người. Các kháng thể người có thể được điều chế trực tiếp nhờ sử dụng các kỹ thuật khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Theo một số phương án, các kháng thể người có thể được tạo ra từ các lympho bào B người được làm cho bất tử được gây miễn dịch *in vitro* hoặc từ các lympho bào được phân lập từ cá thể được gây miễn dịch. Hoặc trong trường hợp, các tế bào tạo ra kháng thể trực tiếp chống lại kháng nguyên đích có thể được tạo ra và được phân lập (xem, ví dụ, Cole et al., 1985, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77; Boemer et al., 1991, *J. Immunol.,* 147:86-95; và các patent Mỹ số 5,750,373; 5,567,610; và 5,229,275). Theo một số phương án, kháng thể người có thể được chọn từ thư viện thể thực khuẩn, trong đó thư viện thể thực khuẩn biểu hiện các kháng thể người (Vaughan et al., 1996, *Nature Biotechnology*, 14:309-314; Sheets et al., 1998, *PNAS,* 95:6157-6162; Hoogenboom và Winter, 1991, *J. Mol. Biol.,* 227:381; Marks et al., 1991, *J. Mol. Biol.,* 222:581). Ngoài ra, kỹ thuật

biểu thị thể thực khuẩn có thể được sử dụng để tạo ra các kháng thể người và các mảnh kháng thể *in vitro*, từ các kho gen miền biến đổi globulin miễn dịch từ các người cho không được gây miễn dịch. Các kỹ thuật để tạo thành và sử dụng các thư viện thể thực khuẩn kháng thể cũng được mô tả trong các Patent Mỹ số 5,969,108; 6,172,197; 5,885,793; 6,521,404; 6,544,731; 6,555,313; 6,582,915; 6,593,081; 6,300,064; 6,653,068; 6,706,484; và 7,264,963; và Rothe et al., 2008, *J. Mol. Bio.,* 376:1182-1200. Một lần nữa các kháng thể được đồng nhất, các chiến lược trưởng thành ái lực đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật, bao gồm nhưng không giới hạn ở, sự xê dịch chuỗi (Marks et al., 1992, *Bio/Technology*, 10:779-783) và quá trình đột biến hướng vị trí, có thể được sử dụng để tạo ra các kháng thể người ái lực cao.

Theo một số phương án, các kháng thể người có thể được làm trong chuột chuyển gen có chứa vị trí gen globulin miễn dịch người. Trong khi tạo miễn dịch chuột này có khả năng tạo ra toàn bộ các kho kháng thể người với sự vắng mặt của sản phẩm globulin miễn dịch nội sinh. Phương pháp này được mô tả trong các Patent Mỹ số 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; và 5,661,016.

Sáng chế này cũng bao gồm các kháng thể đặc hiệu kép. Các kháng thể đặc hiệu kép có khả năng của nhận dạng và gắn kết đặc hiệu ít nhất hai kháng nguyên hoặc epitop khác nhau. Các epitop khác nhau hoặc có thể trong cùng phân tử (ví dụ, hai epitop trên một protein duy nhất) hoặc trên các phân tử khác nhau (ví dụ, một epitop trên một protein và một epitop trên protein thứ hai). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép có tiềm năng cải thiện khi so với một cá thể kháng thể hoặc với sự kết hợp của nhiều hơn một kháng thể. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép có độc tính giảm khi so với một cá thể kháng thể hoặc với sự kết hợp của nhiều hơn một kháng thể. Đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật mà tác nhân gắn kết bất kỳ (ví dụ, kháng thể) có thể có các dược động học đơn nhất (PK) (ví dụ, chu kỳ bán phân rã tuần hoàn). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép có khả

năng làm đồng bộ PK của hai tác nhân gắn kết hoạt tính trong đó hai cá thể tác nhân gắn kết có các profil PK khác nhau. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép có khả năng tập trung các hoạt động của hai tác nhân gắn kết (ví dụ, các kháng thể) trong một vùng thông thường (ví dụ, môi trường khối u và/hoặc khối u). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép có khả năng tập trung các hoạt động của hai tác nhân gắn kết (ví dụ, các kháng thể) với đích thông thường (ví dụ, khối u hoặc tế bào khối u). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép có khả năng tạo đích các hoạt động của hai tác nhân gắn kết (ví dụ, các kháng thể) với nhiều hơn một chuỗi các phản ứng hóa sinh hoặc chức năng sinh học.

Theo các phương án cụ thể, kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu VEGF và đích thứ hai. Theo các phương án cụ thể, kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu DLL4 và đích thứ hai. Theo các phương án cụ thể, kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu VEGF và DLL4. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu VEGF của người và DLL4 của người. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép là đơn dòng người hoặc kháng thể được làm tương thích với người. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép ức chế sự hình thành mạch và giảm số lượng hoặc tần suất tế bào gốc bệnh ung thư. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép ức chế sự phát triển mạch máu và ức chế sự trưởng thành mạch máu. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép ngăn chặn sự siêu tăng sinh màng trong. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép có độc tính giảm và/hoặc các tác dụng phụ. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép có độc tính giảm và/hoặc các tác dụng phụ khi so với hỗn hợp của hai cá thể kháng thể hoặc các kháng thể như các tác nhân duy nhất. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép có chỉ số điều trị tăng. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép cón chỉ số điều trị tăng khi so với hỗn hợp của hai cá thể kháng thể hoặc các kháng thể như các tác nhân duy nhất.

Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép có thể nhận dạng và gắn kết đặc hiệu kháng nguyên đích thứ nhất, (ví dụ, DLL4) cũng như kháng nguyên đích thứ hai, như phân tử gây hiệu quả trên bạch cầu (ví dụ, CD2, CD3, CD28, hoặc B7) hoặc thụ thể Fc (ví dụ, CD64, CD32, hoặc CD16) như các cơ chế bảo vệ tế bào trung tâm với tế bào biểu hiện kháng nguyên đích thứ nhất. Theo một số phương án, các kháng thể đặc hiệu kép có thể được sử dụng cho các tác nhân gây hại tế bào trực tiếp với các tế bào biểu hiện kháng nguyên đích cụ thể. Các kháng thể này sở hữu vị trí gắn kết kháng nguyên (ví dụ, với DLL4 của người) và vị trí thứ hai trong đó gắn kết tác nhân gây hại tế bào hoặc chất tạo càng nuclit phóng xạ, như EOTUBE, DPTA, DOTA, hoặc TETA.

Các kỹ thuật để tạo ra các kháng thể đặc hiệu kép là đã biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, xem ví dụ, Millstein et al., 1983, *Nature*, 305:537-539; Brennan et al., 1985, *Science*, 229:81; Suresh et al., 1986, *Methods in Enzymol.*, 121:120; Traunecker et al., 1991, *EMBO J.,* 10:3655-3659; Shalaby et al., 1992, *J. Exp. Med.,* 175:217-225; Kostelny et al., 1992, *J. Immunol.,* 148:1547-1553; Gruber et al., 1994, *J. Immunol.,* 152:5368; Patent Mỹ số 5,731,168; công bố đơn patent quốc tế số WO 2009/089004; và Công bố đơn patent Mỹ số 2011/0123532. Theo một số phương án, các kháng thể đặc hiệu kép bao gồm chuỗi nặng các vùng cố định có các cải biến về các axit amin là một phần của giao diện giữa hai chuỗi nặng. Theo một số phương án, các kháng thể đặc hiệu kép có thể được tạo ra nhờ sử dụng chiến lược "núm-trong-lỗ" (xem, ví dụ, Patent Mỹ số 5,731,168; Ridgway et. al., 1996, *Prot. Engin.*, 9:617-621). Đôi khi, thuật ngữ "các núm" và "các lỗ" được thay thế bằng các thuật ngữ "các phần nhô lên" và "các khoang". Theo một số phương án, các kháng thể đặc hiệu kép có thể bao gồm các vùng bản lề biến thể không có khả năng tạo thành các liên kết disulfit giữa các chuỗi nặng (xem, ví dụ, WO 2006/028936). Theo một số phương án, các cải biến có thể bao gồm các thay đổi về các axit amin dẫn tới các tương tác tĩnh điện biến đổi. Theo một số phương

án, các cải biến có thể bao gồm các thay đổi về các axit amin dẫn tới các tương tác kỵ nước/thấm nước biến đổi.

Các kháng thể đặc hiệu kép có thể là các kháng thể nguyên vẹn hoặc các mảnh kháng thể bao gồm các vị trí gắn kết kháng nguyên. Các kháng thể có nhiều hơn hai hóa trị cũng được dự tính. Ví dụ, các kháng thể ba đặc hiệu có thể được điều chế (Tutt et al., 1991, *J. Immunol*., 147:60). Do đó, theo các phương án cụ thể các kháng thể cho VEGF và/hoặc DLL4 là đa đặc hiệu.

Theo các phương án cụ thể, các kháng thể (hoặc các polypeptit khác) được mô tả ở đây có thể là đơn đặc hiệu. Theo các phương án cụ thể, mỗi trong số một hoặc nhiều vị trí gắn kết kháng nguyên mà kháng thể bao gồm có khả năng gắn kết (hoặc gắn kết) một epitop đồng nhất trên các protein khác nhau.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là mảnh kháng thể. Các mảnh kháng thể có thể có các chức năng hoặc các khả năng khác nhau hơn các kháng thể nguyên vẹn; ví dụ, các mảnh kháng thể có thể có sự hấp thu khối u tăng. Các kỹ thuật khác nhau đã biết để sản xuất các mảnh kháng thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, sự tiêu hóa proteolytic của nguyên vẹn các kháng thể. Theo một số phương án, các mảnh kháng thể bao gồm phần F(ab')2 được tạo ra bởi sự tiêu hóa pepsin của kháng thể phân tử. Theo một số phương án, các mảnh kháng thể bao gồm phần Fab được tạo ra bằng việc giảm các cầu disulfit của phần F(ab')2. Theo các phương án khác, các mảnh kháng thể bao gồm phần Fab được tạo ra bằng việc điều trị của kháng thể phân tử với papain và tác nhân giảm. Theo các phương án cụ thể, các mảnh kháng thể được tạo ra tái tổ hợp. Theo một số phương án, các mảnh kháng thể bao gồm các phần Fv hoặc chuỗi đơn Fv (scFv). Các mảnh kháng thể Fab, Fv, và scFv có thể được biểu hiện trong và được tiết ra từ E. coli hoặc các tế bào vật chủ khác, cho phép sản xuất lượng lớn các phần đó. Theo một số phương án, các mảnh kháng thể được phân lập từ các thư viện thể thực khuẩn kháng thể như được thảo luận ở đây. Ví dụ, các phương pháp có thể được sử dụng để xây dựng các thưu viện biểu hiện Fab (Huse et al., 1989, *Science*, 246:1275-1281) cho phép nhận dạng nhanh và hiệu

quả các phần Fab đơn dòng với nét đặc trưng mong muốn đối với VEGF và/hoặc DLL4 hoặc các dẫn xuất, các phần, các chất tương tự hoặc các chất đồng đẳng của chúng. Theo một số phương án, các mảnh kháng thể là các mảnh kháng thể mạch thẳng. Theo các phương án cụ thể, các mảnh kháng thể là đơn đặc hiệu hoặc đặc hiệu kép. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là scFv. Các kỹ thuật khác nhau có thể được sử dụng để sản xuất các kháng thể chuỗi đơn đặc hiệu với VEGF hoặc DLL4 (xem, ví dụ, Patent Mỹ số 4,946,778).

Còn có thể được mong muốn là, đặc biệt trong trường hợp các mảnh kháng thể, cải biến kháng thể để biến đổi (ví dụ, tăng hoặc giảm) chu kỳ bán phân rã huyết thanh của nó. Điều này có thể đạt được, ví dụ, bằng sự kết hợp của epitop gắn kết thụ thể thu hồi vào mảnh kháng thể này nhờ sự đột biến của vùng thích hợp trong mảnh kháng thể hoặc bằng việc kết hợp epitop vào đuôi tag peptit mà sau đó, được dung hợp vào mảnh kháng thể ở một trong hai đầu hoặc ở phần giữa (ví dụ, nhờ sự tổng hợp ADN hoặc peptit).

Các kháng thể dị liên hợp cũng thuộc phạm vi của sáng chế. Các kháng thể dị liên hợp bao gồm hai các kháng thể liên kết cộng hóa trị. Các kháng thể này có, ví dụ, được dự kiến để nhắm đích các tế bào miễn dịch đến các tế bào không mong muốn (xem, ví dụ, Patent Mỹ số 4,676,980). Các kháng thể dị liên hợp cũng được dự tính rằng có thể được điều chế *in vitro* nhờ sử dụng các phương pháp đã biết trong hóa protein tổng hợp, bao gồm các tác nhân tạo liên kết ngang của chúng. Ví dụ, các độc tố miễn dịch có thể được hình thành nhờ sử dụng phản ứng trao đổi disulfit hoặc bằng việc tạo thành gắn kết thioete. Các ví dụ về các chất phản ứng phù hợp cho mục đích này bao gồm iminothiolat và metyl-4-mercaptobutyrimidat.

Theo các mục đích của sáng chế, cần hiểu rằng các kháng thể được cải biến có thể bao gồm loại bất kỳ của vùng biến đổi mà tạo ra sự kết hợp kháng thể với đích (tức là, VEGF của người hoặc DLL4 của người). Về mặt này, vùng biến đổi có thể bao gồm hoặc được bắt nguồn từ loại bất kỳ của vùng biến đổi

của động vật có vú có thể được cảm ứng để mang đáp ứng thể dịch và tạo ra các globulin miễn dịch chống lại kháng nguyên mong muốn. Như vậy, vùng biến đổi của các kháng thể được cải biến có thể là, ví dụ, của người, của chuột, động vật linh trưởng không phải người (ví dụ, các khỉ xynomolgus, khỉ đuôi ngắn, v.v.) hoặc gốc thỏ. Theo một số phương án, cả các vùng cố định và biến thiên của các globulin miễn dịch được cải biến là người. Theo các phương án khác, các vùng biến đổi của các kháng thể tương thích (thường bắt nguồn từ nguồn không phải người) có thể được sử dụng kỹ thuật di truyền học hoặc được biến đổi đặc trưng để cải thiện các đặc tính gắn kết hoặc giảm sự gây miễn dịch của phân tử. Về khía cạnh này, các vùng biến đổi hữu ích trong sáng chế có thể được làm tương thích với người hoặc ngoài ra, được biến đổi nhờ sự bao gồm các trình tự axit amin được chèn vào.

Theo các phương án cụ thể, các miền biến đổi trong cả chuỗi nhẹ và chuỗi nặng được biến đổi bởi ít nhất sự thay thế từng phần của một hoặc nhiều các CDR và, nếu cần, bởi sự thay thế vùng khung từng phần và trình tự sự cải biến và/hoặc sự thay thế. Mặc dù các CDR có thể bắt nguồn từ kháng thể của cùng lớp hoặc thậm chí lớp phụ như kháng thể từ đó vùng khung được bắt nguồn, được dự tính là các CDR có thể bắt nguồn từ kháng thể của lớp khác và thường từ kháng thể từ các loài khác. Có thể không cần thay thế tất cả các CDR bằng tất cả các CDR từ vật cho vùng biến đổi để truyền khả năng gắn kết kháng nguyên của một miền biến đổi cho miền khác. Đúng hơn, có thể chỉ cần truyền các gốc được yêu cầu đó để duy trì hoạt tính của vị trí gắn kết kháng nguyên.

Về các sự thay thế cho vùng biến đổi bất kỳ, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ hiểu rõ rằng các kháng thể được cải biến của sáng chế sẽ bao gồm các kháng thể (ví dụ, toàn bộ độ dài các kháng thể hoặc các phần phản ứng miễn dịch của chúng) trong đó ít nhất một phần của một hoặc nhiều vùng cố định trên các miền đã được loại bỏ hoặc được ngoài ra biến đổi để cung cấp các đặc tính sinh hóa mong muốn như sự khoanh vùng khối u tăng hoặc chu kỳ bán phân rã huyết thanh tăng khi được so sánh với kháng thể của xấp xỉ như

sự gây miễn dịch bao gồm vùng cố định tự nhiên hoặc không biến đổi. Theo một số phương án, vùng cố định của các kháng thể được cải biến sẽ bao gồm vùng cố định người. Các cải biến cho vùng cố định tương thích với sáng chế này bao gồm việc bổ sung, loại bỏ hoặc thay thế của một hoặc nhiều axit amin trong một hoặc nhiều miền. Các kháng thể được cải biến được bộc lộ ở đây có thể bao gồm các sự thay thế hoặc các cải biến một hoặc nhiều trong số ba miền ổn định chuỗi nặng (CH1, CH2 hoặc CH3) và/hoặc miền ổn định chuỗi nhẹ (CL). Theo một số phương án, một hoặc nhiều miền được loại bỏ một phần hoặc toàn bộ các vùng cố định của các kháng thể được cải biến. Theo một số phương án, các kháng thể được cải biến sẽ bao gồm các cấu trúc hoặc các biến thể được loại bỏ miền trong đó toàn bộ miền CH2 đã được loại bỏ (các cấu trúc ΔCH2). Theo một số phương án, miền trên vùng cố định bị bỏ qua này được thay thế bằng đoạn chiếm chỗ axit amin ngắn (ví dụ, 10 gốc axit amin) cung cấp một phần độ linh hoạt phân tử mà thường được mang lại nhờ việc vắng mặt vùng cố định.

Theo một số phương án, các kháng thể được cải biến sử dụng kỹ thuật di truyền để hợp nhất miền CH3 trực tiếp với vùng bản lề của kháng thể. Theo các phương án khác, đoạn chiếm chỗ peptit được chèn giữa vùng bản lề và các miền CH2 và/hoặc CH3 được cải biến. Ví dụ, các cấu trúc có thể được biểu hiện trong đó miền CH2 đã được loại bỏ và miền CH3 còn lại (được cải biến hoặc không được cải biến) được nối với vùng bản lề bằng đoạn chiếm chỗ có 5-20 axit amin. Đoạn chiếm chỗ này có thể được bổ sung để đảm bảo rằng các yếu tố điều hòa của miền ổn định còn lại tự do và có thể tiếp cận được hoặc vùng bản lề giữ được tính linh hoạt. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng các đoạn chiếm chỗ axit amin có thể, trong một vài trường hợp, chứng minh là gây miễn dịch và gây ra đáp ứng miễn dịch không mong muốn chống lại cấu trúc này. Như vậy, theo các phương án cụ thể, đoạn chiếm chỗ bất kỳ được bổ sung vào cấu trúc sẽ tương đối là không gây miễn dịch để duy trì chất lượng sinh học mong muốn của các kháng thể được cải biến.

Theo một số phương án, các kháng thể được cải biến có thể chỉ có sự loại bỏ từng phần của miền ổn định hoặc sự thay thế một vài hoặc thậm chí một axit amin duy nhất. Ví dụ, sự đột biến của một axit amin duy nhất trong các vùng được chọn của miền CH2 có thể là đủ để giảm đáng kể sự gắn kết Fc và nhờ đó tăng sự khoanh vùng tế bào ung thư và/hoặc sự hấp thu khối u. Tương tự, có thể được mong đợi để loại bỏ dễ dàng một phần của một hoặc nhiều vùng cố định trên các miền mà đối chứng một chức năng phản ứng kích thích cụ thể (ví dụ, gắn kết C1q bổ sung) để được điều chỉnh. Những sự loại bỏ từng phần này của các vùng cố định có thể cải thiện các đặc tính được chọn của kháng thể (chu kỳ bán phân rã huyết thanh) trong khi giữ nguyên các chức năng mong muốn khác kết hợp với vùng cố định đối tượng trên miền nguyên vẹn. Hơn nữa, như được nhắc đến ở trên, các vùng cố định của các kháng thể đã bộc lộ có thể được cải biến thông qua sự đột biến hoặc sự thay thế của một hoặc nhiều axit amin cải thiện profil của cấu trúc tạo thành. Theo khía cạnh này, có thể thực hiện được việc phá vỡ hoạt tính được cung cấp bởi vị trí gắn kết bảo toàn (ví dụ, gắn kết Fc) trong khi cơ bản duy trì hình dạng và profil gây miễn dịch của kháng thể được cải biến. Theo các phương án cụ thể, các kháng thể được cải biến bao gồm việc bổ sung một hoặc nhiều axit amin cho vùng cố định để cải thiện các đặc tính mong muốn như việc giảm hoặc tăng chức năng phản ứng kích thích hoặc cung cấp cho nhiều vị trí gắn kèm độc tố tế bào hoặc carbohydrat.

Đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật rằng vùng cố định trung gian một vài chức năng yếu tố tác động. Ví dụ, sự gắn kết của thành phần C1 của bổ thể với vùng Fc của các kháng thể IgG hoặc IgM (được gắn kết với kháng nguyên) hoạt hóa hệ thống bổ thể. Sự hoạt hóa bổ thể đóng vai trò quan trọng trong phản ứng opsonin hóa và ly giải các mầm bệnh tế bào. Sự hoạt hóa bổ thể cũng kích thích đáp ứng viêm và cũng có thể liên qua đến sự quá mẫn tự miễn dịch. Ngoài ra, vùng Fc của kháng thể có thể gắn kết tế bào biểu hiện thụ thể Fc (FcR). Có một số thụ thể Fc là đặc trưng cho các lớp khác nhau của kháng thể, bao gồm IgG (các thụ thể gama), IgE (các thụ thể epxilon), IgA (các thụ thể alpha) và IgM

(các thụ thể mu). Sự gắn kết của kháng thể với các thụ thể Fc trên các bề mặt tế bào gây ra một số đáp ứng sinh học quan trọng và đa dạng bao gồm sự nhận chìm và phá hủy của các hạt được phủ kháng thể, sự loại bỏ các phức hợp miễn dịch, sự ly giải các tế bào đích được phủ kháng thể bởi các tế bào tiêu diệt (được gọi là gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể hoặc ADCC), sự giải phóng của các chất trung gian viêm, sự dịch chuyển qua nhau thai, và kiểm soát việc sản xuất globulin miễn dịch.

Theo các phương án cụ thể, các kháng thể được cải biến cung cấp các chức năng phản ứng kích thích biến đổi mà, theo đó, tác động đến profil sinh học của kháng thể được cung cấp. Ví dụ, theo một số phương án, sự loại bỏ hoặc không hoạt hóa (nhờ các đột biến điểm hoặc các cách khác) miền thuộc vùng cố định có thể giảm sự gắn kết thụ thể Fc của kháng thể được cải biến tuần hoàn, nhờ đó tăng sự khoanh vùng tế bào ung thư và/hoặc sự hấp thu khối u. Theo các phương án khác, các cải biến vùng cố định tăng chu kỳ bán phân rã huyết thanh của kháng thể. Theo các phương án khác, các cải biến vùng cố định giảm chu kỳ bán phân rã huyết thanh của kháng thể. Theo một số phương án, vùng cố định được cải biến để hạn chế các liên kết disulfit hoặc các gốc oligosaccarit. Các cải biến cho vùng cố định theo sáng chế có thể được thực hiện dễ dàng nhờ sử dụng các kỹ thuật biến đổi di truyền phân tử hoặc hóa sinh đã biết đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể không có một hoặc nhiều chức năng yếu tố tác động. Ví dụ, theo một số phương án, kháng thể không có hoạt tính ADCC, và/hoặc không có hoạt tính gây hại tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC). Theo các phương án cụ thể, kháng thể không gắn kết thụ thể Fc, và/hoặc các nhân tố bổ thể. Theo các phương án cụ thể, kháng thể không có chức năng phản ứng kích thích.

Sáng chế còn bao gồm các biến thể và các tương đương mà về cơ bản là đồng nhất với các kháng thể dạng khảm, được làm tương thích với người, và kháng thể của người, hoặc các mảnh kháng thể của chúng, được thiết lập ở đây.

Những biến thể này có thể bao gồm, ví dụ, sự thay thế bảo toàn các đột biến, tức là sự thay thế của một hoặc nhiều axit amin bằng các axit amin tương tự. Ví dụ, sự thay thế bảo toàn đề cập đến sự thay thế axit amin bằng axit amin khác trong cùng một nhóm chung như là, ví dụ, axit amin gốc axit bằng axit amin gốc axit khác, axit amin gốc bazơ bằng axit amin gốc bazơ khác hoặc axit amin trung tính bằng axit amin trung tính khác. Những sự thay thế axit amin bảo toàn này đã được dự tính bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật và được mô tả ở đây.

Do đó, sáng chế đề xuất các phương pháp để tạo ra kháng thể gắn kết VEGF và/hoặc DLL4, bao gồm các kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu cả VEGF và DLL4. Theo một số phương án, phương pháp để tạo ra kháng thể gắn kết VEGF và/hoặc DLL4 bao gồm việc sử dụng các kỹ thuật tế bào lai. Theo một số phương án, phương pháp tạo ra kháng thể gắn kết VEGF hoặc DLL4 hoặc kháng thể đặc hiệu kép gắn kết VEGF và DLL4 bao gồm việc sàng lọc thư viện thể thực khuẩn của người. Sáng chế còn đề xuất các phương pháp nhận dạng kháng thể gắn kết VEGF và/hoặc DLL4. Theo một số phương án, kháng thể được nhận dạng bằng sàng lọc FACS đối với sự gắn kết với VEGF hoặc phần của chúng. Theo một số phương án, kháng thể được nhận dạng bằng sàng lọc FACS đối với sự gắn kết với DLL4 hoặc phần của chúng. Theo một số phương án, kháng thể được nhận dạng bằng sàng lọc FACS đối với sự gắn kết với cả VEGF và DLL4 hoặc phần của chúng. Theo một số phương án, kháng thể được nhận dạng bằng việc kiểm tra sử dụng ELISA đối với sự gắn kết với VEGF. Theo một số phương án, kháng thể được nhận dạng bằng việc kiểm tra sử dụng ELISA đối với sự gắn kết với DLL4. Theo một số phương án, kháng thể được nhận dạng bằng việc kiểm tra sử dụng ELISA để gắn kết với VEGF và DLL4. Theo một số phương án, kháng thể được nhận dạng bằng sàng lọc FACS đối với sự ngăn chặn sự gắn kết của VEGF của người với thụ thể VEGF của người. Theo một số phương án, kháng thể được nhận dạng bằng sàng lọc FACS đối với sự ngăn chặn sự gắn kết của DLL4 của người với thụ thể Notch của

người. Theo một số phương án, kháng thể được nhận dạng bằng việc kiểm tra đối với sự ức chế hoặc ngăn chặn việc truyền tín hiệu Notch. Theo một số phương án, kháng thể được nhận dạng bằng cách sàng lọc đối với sự ức chế hoặc ngăn chặn hoạt tính VEGF (ví dụ, kích thích sự tăng sinh HUVEC). Theo một số phương án, kháng thể được nhận dạng bằng cách sàng lọc đối với sự điều biến của sự hình thành mạch.

Theo một số phương án, phương pháp tạo ra kháng thể cho VEGF của người bao gồm việc gây miễn dịch động vật có vú bằng polypeptit bao gồm các axit amin 27-232 của VEGF của người. Theo một số phương án, phương pháp tạo ra kháng thể cho VEGF của người bao gồm việc gây miễn dịch động vật có vú bằng polypeptit bao gồm ít nhất một phần của các axit amin 27-232 của VEGF của người. Theo một số phương án, phương pháp còn bao gồm việc phân lập các kháng thể hoặc các tế bào tạo ra kháng thể từ động vật có vú. Theo một số phương án, phương pháp tạo ra kháng thể đơn dòng gắn kết với VEGF bao gồm các bước: gây miễn dịch động vật có vú bằng polypeptit bao gồm ít nhất một phần của các axit amin 27-232 của VEGF của người, và phân lập các tế bào tạo ra kháng thể từ động vật có vú đã miễn dịch. Theo một số phương án, phương pháp này còn bao gồm bước dung hợp các tế bào tạo ra kháng thể với các tế bào của dòng tế bào u tủy để tạo thành các tế bào lai. Theo một số phương án, phương pháp này còn bao gồm bước lựa chọn tế bào lai biểu hiện kháng thể gắn kết VEGF. Theo các phương án cụ thể, động vật có vú là chuột. Theo một số phương án, kháng thể được chọn nhờ sử dụng polypeptit bao gồm ít nhất một phần của các axit amin 27-232 của VEGF của người.

Theo một số phương án, phương pháp tạo ra kháng thể kháng DLL4 của người bao gồm bước gây miễn dịch động vật có vú bằng polypeptit bao gồm các axit amin 27-529 của DLL4 của người. Theo một số phương án, phương pháp tạo ra kháng thể cho DLL4 của người bao gồm bước gây miễn dịch động vật có vú bằng polypeptit bao gồm ít nhất một phần của các axit amin 27-529 của DLL4 của người. Theo một số phương án, phương pháp tạo ra kháng thể đơn

dòng trong đó gắn kết với DLL4 bao gồm: bước gây miễn dịch động vật có vú bằng polypeptit bao gồm ít nhất một phần của các axit amin 27-529 của DLL4 của người, và bước phân lập kháng thể tạo ra các tế bào từ động vật có vú đã miễn dịch. Theo một số phương án, phương pháp này còn bao gồm bước dung hợp các tế bào tạo ra kháng thể với các tế bào của dòng tế bào u tủy để tạo thành các tế bào lai. Theo một số phương án, phương pháp còn bao gồm việc lựa chọn tế bào lai biểu hiện kháng thể gắn kết DLL4. Theo các phương án cụ thể, động vật có vú là chuột. Theo một số phương án, kháng thể được chọn nhờ sử dụng polypeptit bao gồm ít nhất một phần của các axit amin 27-529 của DLL4 của người.

Theo một số phương án, phương pháp tạo ra kháng thể cho VEGF của người bao gồm bước sàng lọc thư viện biểu hiện kháng thể đối với các kháng thể gắn kết VEGF của người. Theo một số phương án, phương pháp tạo ra kháng thể DLL4 của người bao gồm bước sàng lọc thư viện biểu hiện kháng thể đối với các kháng thể gắn kết DLL4 của người. Theo một số phương án, phương pháp tạo ra kháng thể cho VEGF của người và/hoặc DLL4 của người bao gồm bước sàng lọc thư viện biểu hiện kháng thể đối với các kháng thể đặc hiệu kép gắn kết VEGF của người và DLL4 của người. Theo một số phương án, thư viện biểu hiện kháng thể là thư viện thể thực khuẩn. Theo một số phương án, bước sàng lọc bao gồm việc mở rộng thư viện. Theo một số phương án, thư viện biểu hiện kháng thể (ví dụ, thư viện thể thực khuẩn) được sàng lọc nhờ sử dụng ít nhất một phần của các axit amin 27-232 của VEGF của người. Theo một số phương án, các kháng thể được nhận dạng trong lần sàng lọc thứ nhất, được sàng lọc nhờ sử dụng ít nhất một phần của các axit amin 27-529 của DLL4 của người để nhận dạng kháng thể đặc hiệu kép gắn kết VEGF và DLL4. Theo một số phương án, thư viện biểu hiện kháng thể (ví dụ, thư viện thể thực khuẩn) được sàng lọc nhờ sử dụng ít nhất một phần của các axit amin 27-529 của DLL4 của người. Theo một số phương án, các kháng thể được nhận dạng trong lần sàng lọc thứ nhất, được sàng lọc nhờ sử dụng ít nhất một phần của các axit amin

27-232 của VEGF của người để nhận dạng kháng thể đặc hiệu kép gắn kết VEGF và DLL4. Theo một số phương án, kháng thể được nhận dạng trong quá trình sàng lọc là chất đối kháng VEGF. Theo một số phương án, kháng thể được nhận dạng trong quá trình sàng lọc ức chế các hoạt tính sinh học gây ra bởi VEGF. Theo một số phương án, kháng thể được nhận dạng trong quá trình sàng lọc là chất đối kháng DLL4. Theo một số phương án, kháng thể được nhận dạng trong quá trình sàng lọc ức chế việc truyền tín hiệu Notch gây ra bởi DLL4. Theo một số phương án, kháng thể được nhận dạng trong quá trình sàng lọc gắn kết cả với VEGF của người và VEGF của chuột. Theo một số phương án, kháng thể được nhận dạng trong quá trình sàng lọc gắn kết cả DLL4 của người và DLL4 của chuột.

Theo các phương án cụ thể, các kháng thể được mô tả ở đây được phân lập. Theo các phương án cụ thể, các kháng thể được mô tả ở đây về cơ bản tinh khiết.

Theo một số phương án của sáng chế, các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là các polypeptit. Các polypeptit có thể được tái tổ hợp các polypeptit, các polypeptit tự nhiên, hoặc các polypeptit tổng hợp bao gồm kháng thể, hoặc phần của chúng, gắn kết VEGF và/hoặc DLL4. Điều này sẽ được nhận thức rõ trong lĩnh vực kỹ thuật trong đó một vài trình tự axit amin của các tác nhân gắn kết được mô tả ở đây có thể được thay đổi mà không có hiệu quả đáng kể đến cấu trúc hoặc chức năng của protein. Do đó, sáng chế còn bao gồm các biến thể của các polypeptit mà thể hiện hoạt tính cơ bản hoặc bao gồm các vùng của kháng thể, hoặc phần của chúng, kháng lại VEGF của người và/hoặc DLL4. Theo một số phương án, các biến thể trình tự axit amin của các polypeptit gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm việc loại bỏ, chèn thêm, đảo lại, lặp lại, và/hoặc các loại thay thế khác.

Theo một số phương án, các polypeptit được mô tả ở đây được phân lập. Theo một số phương án, các polypeptit được mô tả ở đây cơ bản tinh khiết.

Các polypeptit, các chất tương tự và các biến thể của chúng, có thể còn được cải biến để chứa các gốc hóa học không phải bộ phận thông thường của polypeptit. Các gốc dẫn xuất này có thể cải thiện hoặc ngoài ra điều chỉnh độ tan, chu kỳ bán phân rã sinh học, và/hoặc sự hấp thu của polypeptit. Các gốc cũng có thể giảm hoặc hạn chế các tác dụng phụ không mong muốn của các polypeptit và các biến thể. Tổng quan về các gốc hóa học có thể được tìm thấy trong *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, *21st Edition*, 2005, University of the Sciences, Philadelphia, PA.

Các polypeptit được mô tả ở đây có thể được tạo ra bằng phương pháp phù hợp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Các phương pháp này bao gồm cả các phương pháp tổng hợp protein trực tiếp cũng như việc xây dựng trình tự ADN mã hóa các trình tự polypeptit và việc biểu hiện các trình tự này trong vật chủ phù hợp. Theo một số phương án, trình tự ADN được hình thành nhờ sử dụng kỹ thuật tái tổ hợp bằng cách phân lập hoặc tổng hợp trình tự ADN mã hóa protein kiểu dại quan tâm. Tùy ý, trình tự này có thể được đột biến bởi quá trình đột biến đặc trưng vị trí để cung cấp các chất tương tự về mặt chức năng của chúng. Xem, ví dụ, Zoeller et al., 1984, *PNAS,* 81:5662-5066 và patent Mỹ số 4.588.585.

Theo một số phương án, trình tự ADN mã hóa polypeptit quan tâm có thể được hình thành bằng việc tổng hợp hóa chất nhờ sử dụng chất tổng hợp oligonucleotit. Các oligonucleotit có thể được thiết kế dựa vào trình tự axit amin của polypeptit mong muốn và việc lựa chọn các bộ ba mà được ưu ái trong tế bào chủ trong đó sự tái tổ hợp polypeptit quan tâm sẽ được tạo ra. Các phương pháp chuẩn có thể được áp dụng để tổng hợp trình tự polynucleotit mã hóa polypeptit được phân lập quan tâm. Ví dụ, trình tự axit amin đầy đủ có thể được sử dụng để hình thành gen được truyền trở lại. Ngoài ra, oligome ADN có chứa trình tự nucleotit mã hóa cho polypeptit được phân lập cụ thể có thể được phân tích. Ví dụ, một vài oligonucleotit nhỏ mã hóa cho các phần của polypeptit

mong muốn có thể được tổng hợp và sau đó được nối lại. Các oligonucleotit đơn lẻ thường chứa các phần nhô 5' hoặc 3' để lắp ráp bổ trợ.

Khi được lắp ráp (bằng cách tổng hợp, quá trình đột biến đặc hiệu vị trí, hoặc phương pháp khác), các trình tự polynucleotit mã hóa polypeptit cụ thể quan tâm có thể được chèn vào trong vectơ biểu hiện và được liên kết điều khiển được với trình tự kiểm soát biểu hiện thích hợp cho sự biểu hiện của protein trong vật chủ mong muốn. Sự lắp ráp thích hợp có thể được xác nhận bằng cách giải trình tự nucleotit, lập bản đồ enzym giới hạn, và/hoặc sự biểu hiện của polypeptit có hoạt tính sinh học trong một vật chủ phù hợp. Như đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật, để thu được các mức biểu hiện cao của gen được truyền nhiễm trong vật chủ, gen này cần phải được liên kết điều khiển được với các trình tự kiểm soát biểu hiện về phiên mã hoặc dịch mã mà có chức năng trong vật chủ biểu hiện được chọn.

Theo các phương án cụ thể, các vectơ biểu hiện tái tổ hợp được sử dụng để khuếch đại và biểu hiện ADN mã hóa các kháng thể, hoặc các phần của chúng, chống lại VEGF của người và/hoặc DLL4. Ví dụ, các vectơ biểu hiện tái tổ hợp có thể sao chép các cấu trúc ADN có các phần ADN có nguồn gốc từ cADN hoặc tổng hợp mã hóa chuỗi polypeptit của tác nhân gắn kết VEGF/DLL4, như kháng thể kháng VEGF hoặc kháng thể kháng DLL4, hoặc phần của chúng, được liên kết điều khiển được với các yếu tố điều hòa phiên mã và/hoặc dịch mã phù hợp bắt nguồn từ gen của động vật có vú, vi khuẩn, virut, hoặc côn trùng. Đơn vị phiên mã nhìn chung là bao gồm tập hợp của (1) yếu tố hoặc các yếu tố di truyền có vai trò điều hòa sự biểu hiện gen, ví dụ, các chất tăng cường hoặc promoter (trình tự gen khởi đầu) phiên mã, (2) trình tự mã hóa cấu trúc được phiên mã thành mARN và được dịch mã thành protein, và (3) các trình tự bắt đầu và kết thúc phiên mã và dịch mã thích hợp. Các yếu tố điều hòa có thể bao gồm trình tự điều hành để điều khiển phiên mã. Khả năng sao chép trong vật chủ, thường được mang lại bởi gốc tái bản, và sự chọn lọc gen để tạo thuận lợi cho sự nhận dạng thể biến nạp bổ sung có thể được kết hợp. Các vùng

ADN "được liên kết điều khiển được" khi chúng có mối liên hệ về chức năng với nhau. Ví dụ, ADN mã hóa peptit tín hiệu (yếu tố dẫn tiết) được liên kết điều khiển được với ADN mã hóa polypeptit nếu nó được biểu hiện ở dạng tiền phân tử mà tham gia vào việc tiết polypeptit; promoter được liên kết điều khiển được với trình tự mã hóa nếu nó kiểm soát quá trình phiên mã của trình tự này; hoặc vị trí gắn kết ribosom được liên kết điều khiển được với mã hóa trình tự nếu nó được định vị để cho phép quá trình dịch mã. Theo một số phương án, các yếu tố cấu trúc được dự kiến sử dụng trong các hệ biểu hiện nấm men bao gồm trình tự dẫn đầu có khả năng kích thích sự bài tiết ngoại bào của protein được dịch mã bởi tế bào chủ. Theo các phương án khác, trong các trường hợp mà protein tái tổ hợp được biểu hiện không có trình tự dẫn đầu hoặc vận chuyển, nó có thể bao gồm gốc methionin đầu N. Gốc này có thể tùy ý được tách tiếp nữa từ protein tái tổ hợp được biểu hiện để cung cấp sản phẩm cuối cùng.

Việc lựa chọn trình tự điều khiển biểu hiện và vectơ biểu hiện phụ thuộc vào sự lựa chọn vật chủ. Vô số tổ hợp vật chủ/vectơ khác nhau có thể được sử dụng. Các vectơ biểu hiện hữu ích cho các vật chủ nhân thực bao gồm, ví dụ, các vectơ chứa các trình điều khiển biểu hiện từ SV40, virut u nhú bò, virut gây bệnh đường hô hấp, và virut làm cho tế bào biểu mô to ra. Các vectơ biểu hiện hữu ích cho các vật chủ vi khuẩn bao gồm các plasmit vi khuẩn đã biết, như các plasmit từ E. coli, bao gồm pCR1, pBR322, pMB9, và các dẫn xuất của chúng, và các plasmit có quy mô vật chủ rộng hơn, như M13 và các thể thực khuẩn ADN mạch đơn dạng sợi khác.

Các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, các polypeptit) của sáng chế có thể được biểu hiện từ một hoặc nhiều vectơ. Ví dụ, theo một số phương án, một polypeptit chuỗi nặng được biểu hiện bởi một vectơ, polypeptit chuỗi nặng thứ hai được biểu hiện bởi vectơ thứ hai và polypeptit chuỗi nhẹ được biểu hiện bởi vectơ thứ ba. Theo một số phương án, polypeptit chuỗi nặng thứ nhất và polypeptit chuỗi nhẹ được biểu hiện bởi một vectơ và polypeptit chuỗi nặng thứ hai được biểu hiện bởi vectơ thứ hai. Theo một số phương án, hai polypeptit

chuỗi nặng được biểu hiện bởi một vectơ và polypeptit chuỗi nhẹ được biểu hiện bởi vectơ thứ hai. Theo một số phương án, ba polypeptit được biểu hiện bởi một vectơ. Do đó, theo một số phương án, polypeptit chuỗi nặng thứ nhất, polypeptit chuỗi nặng thứ hai, và polypeptit chuỗi nhẹ được biểu hiện bởi một vectơ duy nhất.

Các tế bào vật chủ phù hợp cho sự biểu hiện của polypeptit gắn kết VEGF/DLL4 hoặc kháng thể (hoặc protein VEGF hoặc DLL4 để sử dụng như một kháng nguyên) bao gồm các sinh vật nhân sơ, các tế bào nấm men, các tế bào côn trùng, hoặc các tế bào nhân thực bậc cao hơn dưới sự điều khiển của các promoter thích hợp. Các sinh vật nhân sơ bao gồm các sinh vật gram âm hoặc gram dương, ví dụ, E. coli hoặc Bacillus. Các tế bào nhân thực bậc cao hơn bao gồm các dòng tế bào được thiết lập của gốc động vật có vú như được mô tả dưới đây. Các hệ thống dịch mã không tế bào cũng có thể được sử dụng. Dòng phân lập và các vectơ biểu hiện thích hợp để sử dụng với vi khuẩn, nấm, nấm men, và các vật chủ tế bào động vật có vú được mô tả trong Pouwels et al., 1985, *Cloning Vectors: A Laboratory Manual*, Elsevier, New York, NY. Thông tin bổ sung đề cập đến các phương pháp sản xuất protein, bao gồm sản xuất kháng thể, có thể được tìm thấy, ví dụ, trong công bố đơn patent Mỹ số 2008/0187954; các công bố patent Mỹ số 6,413,746; 6,660,501; và công bố đơn patent quốc tế số WO 04/009823.

Các hệ nuôi cấy tế bào động vật có vú hoặc tế bào côn trùng khác nhau có thể được sử dụng để biểu hiện các polypeptit tái tổ hợp. Sự biểu hiện các protein tái tổ hợp trong các tế bào động vật có vú có thể được mong đợi vì các protein này nhìn chung là được cuộn gập đúng, được cải biến thích hợp, và có chức năng sinh học. Các ví dụ về các dòng tế bào vật chủ động vật có vú phù hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các dòng tế bào COS-7 (có nguồn gốc từ thận khỉ), L-929 (có nguồn gốc từ nguyên bào sợi chuột), C127 (có nguồn gốc từ khối u vú chuột), 3T3 (có nguồn gốc từ nguyên bào sợi chuột), CHO (có nguồn gốc từ buồng trứng chuột Hamster Trung Quốc), HeLa (có nguồn gốc từ ung thư

cổ tử cung của người), BHK (có nguồn gốc từ nguyên bào sợi thận chuột Hamster), HEK-293 (có nguồn gốc từ thận phôi thai người) và các biến thể của các dòng tế bào này. Các vectơ biểu hiện động vật có vú có thể bao gồm các yếu tố không phiên mã như gốc tái bản, promoter và yếu tố tăng cường thích hợp được liên kết với gen cần được biểu hiện, và các trình tự không được phiên mã bên 5' hoặc 3' khác, và các trình tự không được dịch mã 5' hoặc 3' khác, như các vị trí gắn kết ribosom cần thiết, vị trí polyadenyl hóa, các vị trí cho và nhận cắ nối, và các trình tự kết thúc phiên mã. Sự biểu hiện của các protein tái tổ hợp trong baculovirut cũng cung cấp phương pháp hiệu quả để tạo ra các protein có chức năng sinh học và được cuộn gập đúng. Các hệ baculovirut để sản xuất các protein khác loại trong các tế bào côn trùng là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật (xem, ví dụ, Luckow và Summers, 1988, *Bio/Technology*, 6:47).

Do đó, sáng chế đề xuất các tế bào bao gồm các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 được mô tả ở đây. Theo một số phương án, các tế bào tạo ra các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 được mô tả ở đây. Theo các phương án cụ thể, các tế bào tạo ra kháng thể. Theo một số phương án, các tế bào tạo ra tác nhân gắn kết VEGF, như kháng thể kháng VEGF. Theo một số phương án, các tế bào tạo ra kháng thể đặc hiệu kép gắn kết VEGF. Theo một số phương án, các tế bào tạo ra tác nhân gắn kết DLL4, như kháng thể kháng DLL4. Theo một số phương án, các tế bào tạo ra kháng thể đặc hiệu kép gắn kết DLL4. Theo các phương án cụ thể, các tế bào tạo ra tác nhân gắn kết đặc hiệu kép VEGF/DLL4, như kháng thể đặc hiệu kép gắn kết VEGF và DLL4. Theo các phương án cụ thể, các tế bào tạo ra kháng thể 219R45. Theo các phương án cụ thể, các tế bào tạo ra kháng thể 21R79. Theo các phương án cụ thể, các tế bào tạo ra kháng thể 21R75. Theo các phương án cụ thể, các tế bào tạo ra kháng thể 21R83. Theo các phương án cụ thể, các tế bào tạo ra kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên từ kháng thể 219R45. Theo các phương án cụ thể, các tế bào tạo ra kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên từ

kháng thể 21R79. Theo các phương án cụ thể, các tế bào tạo ra kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên từ kháng thể 21R75. Theo các phương án cụ thể, các tế bào tạo ra kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên từ kháng thể 21R83. Theo các phương án cụ thể, các tế bào tạo ra kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên từ kháng thể 219R45 và vị trí gắn kết kháng nguyên từ kháng thể 21R79. Theo các phương án cụ thể, các tế bào tạo ra kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên từ kháng thể 219R45 và vị trí gắn kết kháng nguyên từ kháng thể 21M18. Theo các phương án cụ thể, các tế bào tạo ra kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên từ kháng thể 219R45 và vị trí gắn kết kháng nguyên từ kháng thể 21R75. Theo các phương án cụ thể, các tế bào tạo ra kháng thể đặc hiệu kép trong đó bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên từ kháng thể 219R45 và vị trí gắn kết kháng nguyên từ kháng thể 21R83. Theo các phương án cụ thể, các tế bào tạo ra kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18. Theo các phương án cụ thể, các tế bào tạo ra kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R79. Theo các phương án cụ thể, các tế bào tạo ra kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R75. Theo các phương án cụ thể, các tế bào tạo ra kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R83.

Các protein được tạo ra bởi một vật chủ biến đổi có thể được tinh chế theo phương pháp phù hợp bất kỳ. Các phương pháp chuẩn bao gồm sắc ký (ví dụ, trao đổi ion, ái lực, và sắc ký cột kích cỡ), ly tâm, tính tan phân biệt, hoặc bằng kỹ thuật chuẩn bất kỳ khác để tinh chế protein. Các đích ái lực như miền gắn kết hexa-histidin, maltoza, trình tự phủ influenza, và glutathion-S-transferaza có thể được gắn kèm với protein để cho phép tinh chế dễ dàng bằng cách cho đi qua cột ái lực phù hợp. Sắc ký ái lực được sử dụng để tinh chế các globulin miễn dịch có thể bao gồm sắc ký Protein A, Protein G, và Protein L. Các protein được phân lập có thể được mô tả theo quy luật tự nhiên nhờ sử dụng các kỹ thuật đó như sự phân giải protein, sắc ký loại trừ kích cỡ (SEC), phổ khối (MS), cộng hưởng từ hạt nhân (NMR), tiêu cự đẳng điện (IEF), sắc ký lỏng hiệu suất cao (HPLC), và

tinh thể học tia x. Sự tinh khiết của các protein được phân lập có thể được xác định nhờ sử dụng các kỹ thuật đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, bao gồm nhưng không giới hạn ở, SDS-PAGE, SEC, hiện tượng điện di chuyển gel mao dẫn, IEF, và tiêu cự đẳng điện mao dẫn (cIEF).

Theo một số phương án, dịch nổi từ các hệ biểu hiện mà tiết protein tái tổ hợp vào trong môi trường nuôi cấy trước hết có thể được cô đặc nhờ sử dụng thiết bị lọc cô đặc protein có trên thị trường, ví dụ, thiết bị siêu lọc Amicon hoặc Millipore Pellicon. Tiếp theo bước cô đặc, thể cô đặc có thể được áp dụng chất nền tinh chế phù hợp. Theo một số phương án, nhựa trao đổi anion có thể được sử dụng, ví dụ, chất nền hoặc cơ chất có các nhóm dietylaminoetyl (DEAE) đối xứng. Các chất nền có thể là acrylamit, agaroza, dextran, xenluloza, hoặc các loại thường được sử dụng trong quá trình tinh chế protein khác. Theo một số phương án, bước trao đổi cation có thể được thực hiện. Các trao đổi cation phù hợp bao gồm nhiều chất nền không hòa tan khác nhau bao gồm các nhóm sulfopropyl hoặc carboxymetyl. Theo một số phương án, môi trường hydroxyapatit có thể được sử dụng, bao gồm nhưng không giới hạn ở, xeramic hydroxyapatit (CHT). Theo các phương án cụ thể, một hoặc nhiều bước HPLC pha đảo sử dụng môi trường RP-HPLC kỵ nước, ví dụ, silica gel có các nhóm metyl đối xứng hoặc các nhóm béo khác, có thể được thực hiện để tinh chế tiếp protein tái tổ hợp (ví dụ, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4). Một số hoặc toàn bộ các bước tinh chế đã nêu, theo các sự kết hợp khác nhau, có thể được thực hiện để cung cấp protein tái tổ hợp đồng hợp.

Theo một số phương án, các protein dị dime như các kháng thể đặc hiệu kép được tinh chế theo các phương pháp bất kỳ được mô tả ở đây. Theo một số phương án, các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 được phân lập và/hoặc được tinh chế nhờ sử dụng ít nhất một bước sắc ký. Theo một số phương án, ít nhất một bước sắc ký bao gồm sắc ký ái lực. Theo một số phương án, ít nhất một bước sắc ký còn bao gồm sắc ký trao đổi anion. Theo một số phương án, sản phẩm kháng thể được phân lập và/hoặc được tinh chế bao gồm ít

nhất 90% kháng thể dị dime. Theo một số phương án, sản phẩm kháng thể được phân lập và/hoặc được tinh chế bao gồm ít nhất 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% kháng thể dị dime. Theo một số phương án, sản phẩm kháng thể được phân lập và/hoặc được tinh chế bao gồm khoảng 100% kháng thể dị dime.

Theo một số phương án, protein tái tổ hợp được tạo ra trong môi trường vi khuẩn có thể được phân lập, ví dụ, bởi sự chiết ban đầu từ tủa tế bào, tiếp theo bởi một hoặc nhiều bước cô đặc, tách muối, trao đổi ion chứa nước, hoặc các bước sắc ký loại trừ theo kích cỡ. HPLC có thể được thực hiện cho các bước tinh chế cuối cùng. Các tế bào vi khuẩn được sử dụng trong sự biểu hiện của protein tái tổ hợp có thể bị phá vỡ bởi phương pháp thông thường bất kỳ, bao gồm sự quay vòng đông lạnh-tan đá, nghiền bằng sóng âm, sự phá vỡ cơ học, hoặc việc sử dụng các tác nhân ly giải tế bào.

Các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật để tinh chế các kháng thể và các protein khác còn bao gồm, ví dụ, được mô tả trong các công bố đơn patent Mỹ số 2008/0312425; 2008/0177048; và 2009/0187005.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là polypeptit không là kháng thể. Nhiều phương pháp khác nhau để nhận dạng và tạo ra các polypeptit không phải kháng thể gắn kết với ái lực cao với protein đích là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Xem, ví dụ, Skerra, 2007, *Curr. Opin. Biotechnol.,* 18:295-304; Hosse et al., 2006, *Protein Science*, 15:14-27; Gill et al., 2006, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 17:653-658; Nygren, 2008, *FEBS J.,* 275:2668-76; và Skerra, 2008, *FEBS J.,* 275:2677-83. Theo các phương án cụ thể, thể thực khuẩn hoặc kỹ thuật biểu thị tế bào động vật có vú có thể được sử dụng để tạo ra và/hoặc nhận dạng polypeptit gắn kết VEGF/DLL4 không phải là kháng thể. Theo các phương án cụ thể, polypeptit bao gồm giàn (scaffold) protein của loại được chọn từ nhóm bao gồm protein A, protein G, lipocalin, miền fibronectin, miền lặp lại liên ứng ankyrin, và thioredoxin.

Theo các phương án cụ thể, các tác nhân hoặc các kháng thể gắn kết với VEGF/DLL4 có thể được sử dụng theo một trong các nhiều dạng liên hợp (tức là thể liên hợp miễn dịch hoặc thể liên hợp phóng xạ) hoặc các dạng không liên hợp. Theo các phương án cụ thể, các kháng thể có thể được sử dụng ở dạng không liên hợp để kích hoạt các cơ chế bảo vệ tự nhiên của đối tượng bao gồm gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể và gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể để tiêu diệt các tế bào ác tính hoặc ung thư.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể hoặc polypeptit) được liên hợp với tác nhân gây độc tế bào. Theo một số phương án, tác nhân gây độc tế bào là tác nhân hóa liệu pháp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, methotrexat, adriamicin, doxorubixin, melphalan, mitomyxin C, clorambucil, daunorubixin hoặc các tác nhân cài xen khác. Theo một số phương án, tác nhân gây độc tế bào là độc tố hoạt hóa enzym có nguồn gốc từ vi khuẩn, nấm, thực vật, hoặc động vật, hoặc các mảnh của chúng, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chuỗi diphtheria A, các mảnh hoạt hóa không gắn kết của độc tố diphtheria, chuỗi exotoxin A, chuỗi ricin A, chuỗi abrin A, chuỗi modeccin A, alpha-sarcin, các protein Aleurites fordii, các protein dianthin, các protein Phytolaca americana (PAPI, PAPII, và PAP-S), chất ức chế Momordica charantia, curcin, crotin, chất ức chế Sapaonaria officinalis, gelonin, mitogellin, restrictocin, phenomyxin, enomyxin, và các tricothecen. Theo một số phương án, tác nhân gây hại tế bào là isotop phóng xạ để tạo ra sự tiếp hợp phóng xạ hoặc kháng thể được tiếp hợp phóng xạ. Các dạng nuclit phóng xạ khác nhau có thể để sản xuất các kháng thể được tiếp hợp phóng xạ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ^{90}Y, ^{125}I, ^{131}I, ^{123}I, ^{111}In, ^{131}In, ^{105}Rh, ^{153}Sm, ^{67}Cu, ^{67}Ga, ^{166}Ho, ^{177}Lu, ^{186}Re, ^{188}Re và $2^{12}Bi$. Các thể liên hợp của kháng thể và một hoặc nhiều độc tố phân tử nhỏ, như các calicheamicin, các maytansinoit, các trichothecen, và CC1065, và các dẫn xuất của các độc tố của chúng có hoạt tính độc, cũng có thể được sử dụng. Các thể liên hợp của kháng thể và tác nhân gây hại tế bào có thể được thực hiện nhờ sử dụng các dạng tác nhân protein-ghép cặp hai chức bao

gồm, nhưng không giới hạn ở, N-sucxinimidyl-3-(2-pyridyidithiol) propionat (SPDP), iminothiolan (IT), các dẫn xuất hai chức của các imidoeste (như dimetyl adipimidat HCl), các este hoạt hóa (như disuccinimidyl subelrat), các aldehyt (như glutareldehyt), các hợp chất bis-azido (như bis(p-azidobenzoyl) hexanediamin), các dẫn xuất bis-diazonium (như bis-(p-diazoniumbenzoyl)-etylenediamin), các diisocyanat (như toluen 2,6-diisocyanat), và các hợp chất bis-flo hoạt hóa (như 1,5-diflo-2,4-dinitrobenzen).

III. Các polynucleotit

Theo các phương án cụ thể, sáng chế bao gồm các polynucleotit bao gồm các polynucleotit mã hóa polypeptit (hoặc một phần của polypeptit) gắn kết đặc hiệu VEGF, DLL4, cả VEGF và DLL4. Thuật ngữ "các polynucleotit mã hóa polypeptit" bao gồm polynucleotit bao gồm chỉ các trình tự mã hóa cho polypeptit, cũng như polynucleotit bao gồm các trình tự mã hóa bổ sung và/hoặc các trình tự không mã hóa. Ví dụ, theo một số phương án, sáng chế đề xuất polynucleotit bao gồm trình tự polynucleotit mã hóa kháng thể cho VEGF của người hoặc mã hóa một phần của kháng thể này (ví dụ, một phần bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên). Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polynucleotit bao gồm trình tự polynucleotit mã hóa kháng thể cho DLL4 của người hoặc mã hóa một phần của kháng thể này (ví dụ, một phần bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên). Các polynucleotit của sáng chế có thể ở dạng ARN hoặc ở dạng ADN. ADN bao gồm cADN, ADN gen, và ADN tổng hợp; và có thể là mạch đôi hoặc mạch đơn, và nếu là mạch đơn, có thể là mạch mã hóa hoặc mạch không mã hóa (đối nghĩa).

Theo các phương án cụ thể, polynucleotit bao gồm polynucleotit mã hóa polypeptit bao gồm trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, và

SEQ ID NO:64. Theo các phương án cụ thể, polynucleotit bao gồm polynucleotit mã hóa polypeptit bao gồm trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:62, và SEQ ID NO: 64. Theo một số phương án, polynucleotit bao gồm trình tự polynucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, và SEQ ID NO:78.

Theo các phương án cụ thể, polynucleotit bao gồm polynucleotit có trình tự nucleotit ít nhất khoảng 80% đồng nhất, ít nhất khoảng 85% đồng nhất, ít nhất khoảng 90% đồng nhất, ít nhất khoảng 95% đồng nhất, và theo một số phương án, ít nhất khoảng 96%, 97%, 98% hoặc 99% đồng nhất với polynucleotit bao gồm trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, và SEQ ID NO:78. Theo các phương án cụ thể, polynucleotit bao gồm polynucleotit có trình tự nucleotit ít nhất khoảng 80% đồng nhất, ít nhất khoảng 85% đồng nhất, ít nhất khoảng 90% đồng nhất, ít nhất khoảng 95% đồng nhất, và theo một số phương án, ít nhất khoảng 96%, 97%, 98% hoặc 99% đồng nhất với polynucleotit bao gồm trình tự được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ

ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, và SEQ ID NO:78. Cũng được cung cấp là polynucleotit bao gồm polynucleotit lai hóa thành SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:71, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, và SEQ ID NO:78. Theo các phương án cụ thể, sự lai hóa theo các điều kiện có độ chính xác cao.

Theo các phương án cụ thể, các polynucleotit bao gồm trình tự mã hóa cho polypeptit trưởng thành được hợp nhất trong cùng khung đọc với polynucleotit hỗ trợ, ví dụ, sự biểu hiện và bài tiết của polypeptit từ tế bào chủ (ví dụ, trình tự dẫn đầu mà trong đó các chức năng như trình tự bài tiết để kiểm soát sự vận chuyển của polypeptit từ tế bào). Polypeptit có trình tự dẫn đầu là tiền protein (preprotein) và có thể có trình tự dẫn đầu được tách bằng tế bào chủ để tạo thành dạng trưởng thành của polypeptit. Các polynucleotit cũng có thể mã hóa cho tiền phân tử protein (proprotein) là protein trưởng thành thêm vào các gốc axit amin 5' bổ sung. Protein trưởng thành có trình tự tiền phân tử là proprotein và là dạng không hoạt hóa của protein. Một khi trình tự tiền phân tử này được phân tách, protein trưởng thành hoạt hóa còn lại.

Theo các phương án cụ thể, các polynucleotit bao gồm trình tự mã hóa cho polypeptit trưởng thành được hợp nhất trong cùng khung đọc với trình tự marker (đánh dấu) mà cho phép, ví dụ, sự tinh chế polypeptit được mã hóa. Ví dụ, trình tự marker có thể là đích hexa-histidin được cung cấp bởi vectơ pQE-9 để cung cấp cho sự tinh chế của polypeptit trưởng thành tập trung vào vật đánh

dấu trong trường hợp vật chủ vi khuẩn, hoặc trình tự đánh dấu có thể là đích hemagglutinin (HA) bắt nguồn từ protein influenza ngưng kết tố hồng cầu khi vật chủ động vật có vú (ví dụ, các tế bào COS-7) được sử dụng. Theo một số phương án, trình tự đánh dấu là đích FLAG, peptit của trình tự DYKDDDDK (SEQ ID NO:45) trong đó có thể được sử dụng kết hợp với các đích ái lực khác.

Sáng chế còn liên quan đến các biến thể của các polynucleotit mã hóa đã mô tả ở trên, ví dụ, các phần, các vật tương tự, và/hoặc các dẫn xuất.

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất các polynucleotit bao gồm các polynucleotit có trình tự nucleotit ít nhất khoảng 80% đồng nhất, ít nhất khoảng 85% đồng nhất, ít nhất khoảng 90% đồng nhất, ít nhất khoảng 95% đồng nhất, và theo một số phương án, ít nhất khoảng 96%, 97%, 98% hoặc 99% đồng nhất với polynucleotit mã hóa polypeptit bao gồm tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể), hoặc phần của chúng, được mô tả ở đây.

Như được sử dụng ở đây, cụm từ polynucleotit có trình tự nucleotit ít nhất, ví dụ, 95% "đồng nhất" với trình tự nucleotit tham chiếu có nghĩa là trình tự nucleotit của polynucleotit là giống với trình tự tham chiếu ngoại trừ việc trình tự polynucleotit này có thể bao gồm lên đến năm đột biến điểm trên mỗi 100 nucleotit của trình tự nucleotit tham chiếu. Nói cách khác, để thu được polynucleotit có trình tự nucleotit ít nhất 95% đồng nhất với trình tự nucleotit tham chiếu, lên đến 5% số nucleotit trong trình tự tham chiếu có thể được loại bỏ hoặc được thay thế bằng nucleotit khác, hoặc số lượng của các nucleotit lên đến 5% trên tổng số các nucleotit trong trình tự tham chiếu có thể được chèn vào trình tự tham chiếu. Các đột biến này của trình tự tham chiếu có thể xảy ra ở các vị trí đầu 5' hoặc 3' của trình tự nucleotit tham chiếu hoặc ở vị trí bất kỳ giữa các vị trí đầu này, được đặt rải rác hoặc riêng rẽ trong các nucleotit trong trình tự tham chiếu hoặc trong một hoặc nhiều nhóm liền kề trong trình tự tham chiếu.

Các biến thể polynucleotit có thể chứa các sự thay thế trong các vùng mã hóa, các vùng không mã hóa, hoặc cả hai. Theo một số phương án, biến thể

polynucleotit chứa các sự thay thế tạo ra các sự thay thế câm, bổ sung, hoặc loại bỏ, nhưng không biến đổi các đặc tính hoặc các hoạt tính của polypeptit được mã hóa. Theo một số phương án, biến thể polynucleotit bao gồm các sự thay thế không đáng kể mà không dẫn tới sự thay đổi trình tự axit amin của polypeptit (do sự thoái hóa của mã di truyền). Các biến thể polynucleotit có thể được tạo ra vì các lý do khác nhau, ví dụ, để tối ưu hóa sự biểu hiện codon cho vật chủ cụ thể (tức là, thay đổi các codon trong mARN người thành các codon được ưu tiên bởi vật chủ vi khuẩn như E. coli). Theo một số phương án, biến thể polynucleotit bao gồm ít nhất một đột biến không đáng kể trong vùng mã hóa hoặc không mã hóa của trình tự này.

Theo một số phương án, biến thể polynucleotit được tạo ra để điều chỉnh hoặc làm thay đổi sự biểu hiện (hoặc các mức biểu hiện) của polypeptit được mã hóa. Theo một số phương án, biến thể polynucleotit được tạo ra để tăng sự biểu hiện của polypeptit được mã hóa. Theo một số phương án, biến thể polynucleotit được tạo ra để giảm sự biểu hiện của polypeptit được mã hóa. Theo một số phương án, biến thể polynucleotit có sự biểu hiện của polypeptit được mã hóa tăng khi so với trình tự polynucleotit gốc. Theo một số phương án, biến thể polynucleotit có sự biểu hiện của polypeptit được mã hóa giảm khi so với trình tự polynucleotit gốc.

Theo một số phương án, ít nhất một biến thể polynucleotit được tạo ra (không có sự thay đổi trình tự axit amin của polypeptit được mã hóa) để tăng cường sự sản xuất của phân tử multime khác loại. Theo một số phương án, ít nhất một biến thể polynucleotit được tạo ra (không có sự thay đổi trình tự axit amin của polypeptit được mã hóa) để tăng cường sự sản xuất của kháng thể đặc hiệu kép.

Theo các phương án cụ thể, các polynucleotit được phân lập. Theo các phương án cụ thể, các polynucleotit cơ bản tinh khiết.

Các vectơ và các tế bào bao gồm các polynucleotit được mô tả ở đây cũng được cung cấp. Theo một số phương án, vectơ biểu hiện bao gồm phân tử polynucleotit. Theo một số phương án, tế bào chủ bao gồm vectơ biểu hiện bao gồm phân tử polynucleotit. Theo một số phương án, tế bào chủ bao gồm phân tử polynucleotit.

IV. Các phương pháp sử dụng và các dược phẩm

Các tác nhân gắn kết (bao gồm các polypeptit và các kháng thể) của sáng chế gắn kết (ví dụ, gắn kết đặc hiệu) VEGF và/hoặc DLL4 là hữu ích trong các ứng dụng khác nhau bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các phương pháp điều trị bệnh, như điều trị bệnh ung thư. Theo các phương án cụ thể, các tác nhân là hữu ích để ức chế hoạt tính VEGF, ức chế việc truyền tín hiệu Notch được cảm ứng bởi DLL4, ức chế sự phát triển khối u, giảm thể tích khối u, giảm tần suất của các tế bào gốc ung thư trong khối u, giảm tình trạng hình thành của khối u, điều biến sự hình thành mạch, và/hoặc ức chế sự hình thành mạch. Các phương pháp sử dụng có thể là *in vitro*, *ex vivo*, hoặc *in vivo*. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là chất đối kháng của VEGF của người. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là chất đối kháng của DLL4 của người. Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là chất đối kháng của cả VEGF và DLL4.

Theo các phương án cụ thể, các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 được sử dụng trong việc điều trị bệnh kết hợp với sự hình thành mạch, tức là sự hình thành mạch tăng và/hoặc sự hình thành mạch bất thường. Theo các phương án cụ thể, bệnh là bệnh phụ thuộc vào sự hình thành mạch. Theo các phương án cụ thể, các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 được sử dụng trong việc điều trị của các rối loạn được đặc trưng bởi các mức tăng của các tế bào gốc và/hoặc các tế bào tiền thân (progenitor).

Sáng chế đề xuất các phương pháp để ức chế sự phát triển của khối u nhờ sử dụng các tác nhân hoặc các kháng thể gắn kết với VEGF/DLL4 được mô tả ở

đây. Theo các phương án cụ thể, phương pháp ức chế sự sinh trưởng của khối u bao gồm cho tế bào khối u tiếp xúc với tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) *in vitro*. Ví dụ, dòng tế bào bất tử hoặc dòng tế bào bệnh ung thư được nuôi cấy trong môi trường được bổ sung kháng thể kháng VEGF, kháng thể kháng DLL4, hoặc kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 để ức chế sự phát triển tế bào khối u. Theo một số phương án, các tế bào khối u được phân lập từ mẫu bệnh nhân như, ví dụ, sinh thiết mô, dịch màng phổi, hoặc mẫu máu và được nuôi cấy trong môi trường được bổ sung tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 để ức chế sự phát triển tế bào khối u.

Theo một số phương án, phương pháp ức chế sự sinh trưởng của khối u bao gồm cho khối u hoặc các tế bào khối u tiếp xúc với tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) *in vivo*. Theo các phương án cụ thể, cho khối u hoặc tế bào khối u tiếp xúc với tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 trong mô hình động vật. Ví dụ, kháng thể kháng VEGF, kháng thể kháng DLL4, hoặc kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 có thể được cung cấp cho động vật chủ không có khả năng miễn dịch (ví dụ, chuột NOD/SCID) có sự ghép dị chủng khối u. Theo một số phương án, các tế bào khối u và/hoặc các tế bào gốc ung thư được phân lập từ mẫu bệnh nhân như, ví dụ, sinh thiết mô, dịch màng phổi, hoặc mẫu máu và được tiêm vào động vật chủ không có khả năng miễn dịch (ví dụ, chuột NOD/SCID) là tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 được cung cấp để ức chế sự phát triển tế bào khối u. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 được cung cấp ở cùng thời điểm hoặc không lâu sau sự đưa vào của các tế bào khối u ở động vật để ngăn chặn sự phát triển khối u ("kiểu ngăn chặn"). Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 được cung cấp như một tác nhân chữa bệnh sau khi các khối u đã được phát triển đến kích cỡ cụ thể ("kiểu điều trị"). Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu VEGF của người và DLL4 của người.

Theo các phương án cụ thể, phương pháp ức chế sự sinh trưởng của khối u bao gồm việc cung cấp cho đối tượng lượng điều trị hữu hiệu tác nhân gắn kết VEGF/DLL4. Theo các phương án cụ thể, đối tượng là người. Theo các phương án cụ thể, đối tượng có khối u hoặc khối u đã được loại bỏ. Theo các phương án cụ thể, khối u bao gồm các tế bào gốc ung thư. Theo các phương án cụ thể, tần suất của các tế bào gốc ung thư trong khối u được giảm bằng việc cung cấp tác nhân gắn kết VEGF/DLL4. Sáng chế cũng cung cấp phương pháp giảm tần suất của các tế bào gốc ung thư trong khối u, bao gồm việc cho khối u tiếp xúc với lượng hữu hiệu tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4). Theo một số phương án, phương pháp giảm tần suất của các tế bào gốc ung thư trong khối u ở đối tượng, bao gồm việc cung cấp cho đối tượng lượng điều trị hữu hiệu tác nhân gắn kết VEGF/DLL4.

Theo một số phương án, khối u là khối u rắn. Theo các phương án cụ thể, khối u là khối u được chọn từ nhóm bao gồm khối u ruột kết và trực tràng, khối u ruột kết, khối u tuyến tụy, u phổi, khối u buồng trứng, u gan, u vú, u thận, khối u tuyến tiền liệt, khối u tuyến dạ dày - ruột, u ác tính, khối u cổ, khối u bàng quang, u nguyên bào thần kinh đệm, và khối u đầu và cổ. Theo các phương án cụ thể, khối u là khối u ruột kết và trực tràng hoặc khối u ruột kết. Theo các phương án cụ thể, khối u là khối u buồng trứng. Theo một số phương án, khối u là u phổi. Theo các phương án cụ thể, khối u là khối u tuyến tụy. Theo các phương án cụ thể, khối u là u vú.

Sáng chế còn đề xuất các phương pháp để điều trị bệnh ung thư bao gồm việc cung cấp lượng điều trị hữu hiệu tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 cho đối tượng. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 gắn kết VEGF, và ức chế hoặc giảm sự phát triển của bệnh ung thư. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 gắn kết DLL4, và ức chế hoặc giảm sự phát triển của bệnh ung thư. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép gắn kết VEGF và DLL4, và ức chế hoặc giảm sự phát triển của bệnh ung thư. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 gắn kết

VEGF, tương tác với các sự tương tác thụ thể VEGF/VEGF, và ức chế hoặc giảm sự phát triển của bệnh ung thư. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 gắn kết DLL4, tương tác với các sự tương tác DLL4/Notch, và ức chế hoặc giảm sự phát triển của bệnh ung thư. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 gắn kết cả VEGF và DLL4, tương tác với các sự tương tác thụ thể VEGF/VEGF và với các sự tương tác DLL4/Notch, và ức chế hoặc giảm sự phát triển của bệnh ung thư. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 gắn kết DLL4, và giảm tần suất của các tế bào gốc ung thư ở bệnh ung thư.

Sáng chế đề xuất các phương pháp điều trị ung thư bao gồm việc cung cấp lượng điều trị hữu hiệu tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 cho đối tượng (ví dụ, đối tượng cần điều trị). Theo các phương án cụ thể, đối tượng là người. Theo các phương án cụ thể, đối tượng có khối u ác tính. Theo các phương án cụ thể, đối tượng có khối u bị loại bỏ.

Bệnh ung thư/khối u của đối tượng, có thể, theo một số phương án, là khó chữa với các phép điều trị nhất định. Như một ví dụ không giới hạn, bệnh ung thư (hoặc khối u) của đối tượng có thể là khó chữa bằng hóa liệu pháp. Theo các phương án cụ thể, bệnh ung thư của đối tượng có thể có tính kháng đối với điều trị kháng VEGF hoặc điều trị kháng DLL4, hoặc cả hai.

Theo các phương án cụ thể, bệnh ung thư là bệnh ung thư được chọn từ nhóm bao gồm ung thư ruột kết và trực tràng, ung thư tụy, ung thư phổi, ung thư buồng trứng, ung thư gan, ung thư vú, ung thư thận, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tuyến dạ dày - ruột, u ác tính, ung thư cổ, ung thư bàng quang, u nguyên bào thần kinh đệm, và ung thư đầu và cổ. Theo các phương án cụ thể, bệnh ung thư là ung thư buồng trứng. Theo các phương án cụ thể, bệnh ung thư là ung thư ruột kết và trực tràng hoặc ung thư ruột kết. Theo các phương án cụ thể, bệnh ung thư là ung thư tụy. Theo các phương án cụ thể, bệnh ung thư là ung thư vú. Theo các phương án cụ thể, bệnh ung thư là ung thư tuyến tiền liệt. Theo các phương án cụ thể, bệnh ung thư là ung thư phổi. Theo một số phương án, bệnh

ung thư là bệnh ung thư máu như ung thư bạch cầu hoặc hệ bạch huyết. Theo một số phương án, ung thư bạch cầu hoặc hệ bạch huyết là bệnh bạch cầu tế bào B hoặc ung thư hệ bạch huyết. Theo một số phương án, bệnh bạch cầu hoặc ung thư hệ bạch huyết là bệnh bạch cầu tế bào T hoặc ung thư hệ bạch huyết. Theo một số phương án bệnh ung thư máu là bệnh bạch cầu tủy xương cấp tính, ung thư hệ bạch huyết Hodgkin, ung thư hệ bạch huyết không-Hodgkin, bạch cầu lympho bào cấp tính, bệnh bạch cầu tế bào tóc, bạch cầu lympho bào mạn tính, đa u tủy, ung thư hệ bạch huyết tế bào T da, hoặc bệnh bạch cầu lympho bào cấp tính tế bào T.

Sáng chế cũng cung cấp các phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng, trong đó bệnh hoặc rối loạn được kết hợp với sự hình thành mạch. Theo một số phương án, bệnh hoặc rối loạn được kết hợp với sự hình thành mạch bất thường. Theo một số phương án, bệnh hoặc rối loạn được kết hợp với sự hình thành mạch tăng. Do đó, sáng chế đề xuất các phương pháp để điều biến sự hình thành mạch ở đối tượng, bao gồm việc cung cấp cho đối tượng lượng điều trị hữu hiệu của các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 bất kỳ được mô tả ở đây. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể gắn kết VEGF của người. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể gắn kết DLL4 của người. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép gắn kết VEGF của người. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép gắn kết DLL4 của người. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép gắn kết VEGF của người và DLL4 của người.

Các phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng, trong đó bệnh hoặc rối loạn được đặc trưng bởi mức tăng của các tế bào gốc và/hoặc các tế bào nguyên bản cũng được cung cấp. Theo một số phương án, các phương pháp điều trị bao gồm việc cung cấp lượng điều trị hữu hiệu tác nhân gắn kết VEGF/DLL4, polypeptit, hoặc kháng thể cho đối tượng.

Theo các phương án cụ thể của các phương pháp bất kỳ được mô tả ở đây, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép gắn kết đặc hiệu VEGF của người và DLL4 của người. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19), và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:14), YISSYNGATNYNQKFKG (SEQ ID NO:15), YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59), hoặc YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và trong đó cả vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19), và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:14), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và trong đó cả vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm

QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19), và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YISSYNGATNYNQKFKG (SEQ ID NO:15), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và trong đó cả vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19), và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai trong đó bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và trong đó cả vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu VEGF của người và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu DLL4 của người, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi

nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19), và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và trong đó cả vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22).

Theo các phương án cụ thể của các phương pháp bất kỳ được mô tả ở đây, kháng thể đặc hiệu kép VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất khoảng 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11, vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai có ít nhất khoảng 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:58, hoặc SEQ ID NO:64, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất có ít nhất 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất khoảng 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11, vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai có ít nhất khoảng 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:9, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai có ít nhất 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất khoảng 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11, vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai có ít nhất khoảng 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:10, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai có ít nhất 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất khoảng 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11, vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai có ít nhất khoảng 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:58, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất

và thứ hai có ít nhất 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép VEGF/DLL4 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất khoảng 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11, vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai có ít nhất khoảng 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:64, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và thứ hai có ít nhất 80% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12.

Theo một số phương án của các phương pháp bất kỳ được mô tả ở đây, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể kháng VEGF. Theo một số phương án, kháng thể kháng VEGF là kháng thể 219R45. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể kháng DLL4. Theo một số phương án, kháng thể kháng DLL4 là kháng thể 21R79. Theo một số phương án, kháng thể kháng DLL4 là kháng thể 21R75. Theo một số phương án, kháng thể kháng DLL4 là kháng thể 21R83. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên từ kháng thể 219R45. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên từ kháng thể 21R79. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên từ kháng thể 21R75. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên từ kháng thể 21R83. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất từ kháng thể 219R45 và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai từ kháng thể 21R79. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất từ kháng thể 219R45 và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai từ kháng thể 21M18. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất từ kháng thể 219R45 và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai từ kháng thể 21R75. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết

VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất từ kháng thể 219R45 và vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai từ kháng thể 21R83. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R79. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R75. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R83.

Sáng chế còn đề xuất các dược phẩm bao gồm các tác nhân gắn kết được mô tả ở đây. Theo các phương án cụ thể, các dược phẩm còn bao gồm tá dược dược dụng. Phát hiện được rằng các dược phẩm này sử dụng để ức chế sự phát triển khối u và/hoặc điều trị bệnh ung thư ở đối tượng (ví dụ, bệnh nhân).

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất các dược phẩm bao gồm các kháng thể đặc hiệu kép, trong đó ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 98%, ít nhất khoảng 99% của các kháng thể trong chế phẩm là các kháng thể đặc hiệu kép hoặc các kháng thể dị dime. Theo các phương án cụ thể, các kháng thể đặc hiệu kép là các kháng thể IgG (ví dụ, IgG2 hoặc IgG1). Theo các phương án cụ thể, ít hơn khoảng 10%, ít hơn khoảng 5%, ít hơn khoảng 2% hoặc nhỏ hơn khoảng 1% của tổng kháng thể trong các chế phẩm là các kháng thể đơn đặc hiệu hoặc các kháng thể đồng dime. Theo các phương án cụ thể, các kháng thể trong chế phẩm ít nhất là khoảng 98% dị dime.

Theo các phương án cụ thể, các công thức được điều chế để lưu giữ và sử dụng bằng cách kết hợp kháng thể hoặc tác nhân được tinh chế của sáng chế với tá dược dược dụng (ví dụ, chất mang hoặc tá dược). Các tá dược dược dụng phù hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các đệm không độc như phosphat, xitrat, và các axit hữu cơ khác; các muối như natri clorua; các chất chống oxy hóa bao gồm axit ascorbic và methionin; các chất bảo quản như octadexyldimetylbenzyl amoni clorua, hexamethonium clorua, benzalkonium clorua, benzethonium clorua, phenol, rượu butyl hoặc benzyl, các alkyl paraben, như metyl hoặc

propyl paraben, catechol, resorcinol, xyclohexanol, 3-pentanol, và m-cresol; các polypeptit trọng lượng phân tử thấp (ví dụ, nhỏ hơn 10 gốc axit amin); các protein như albumin huyết thanh, gelatin, hoặc các globulin miễn dịch; các polyme ưa nước như polyvinylpyrolidon; các axit amin như glyxin, glutamin, asparagin, histidin, arginin, hoặc lysin; các carbohydrat như các monosaccarit, các disaccarit, glucoza, mannoza, hoặc các dextrin; các tác nhân tạo càng như EDTA; các đường như sucroza, mannitol, trehaloza hoặc sorbitol; các đối ion tạo muối như natri; các phức hợp kim loại như các phức hợp Zn-protein; và các chất có hoạt tính bề mặt không ion như TWEEN hoặc polyetylen glycol (PEG). (*Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition*, 2005, University of the Sciences, Philadelphia, PA).

Các dược phẩm của sáng chế có thể được cung cấp theo một vài cách cho điều trị cục bộ hoặc điều trị toàn bộ. Việc cung cấp có thể là cung cấp cục bộ bởi miếng dán qua da và biểu bì, các thuốc mỡ, các mỹ phẩm, các kem, các gel, các thuốc nhỏ, các thuốc đạn, các chất lỏng dạng bụi, các chất lỏng, và các bột; trong phổi bằng cách hít hoặc bơm vào các bột hoặc các sol khí, bao gồm bằng cách phun qua mũi hoặc miệng, trong khí quản, và trong mũi; miệng; hoặc ngoài ruột bao gồm trong tĩnh mạch, trong tử cung, trong khối u, dưới da, trong màng bụng, trong cơ (ví dụ, tiêm hoặc sự truyền), hoặc trong sọ (ví dụ, trong tủy sống hoặc trong tâm thất).

Các công thức dược có thể ở dạng liều đơn vị. Các công thức này bao gồm các viên thuốc, các thuốc viên, các bao con nhộng, các bột, các hạt, các dung dịch hoặc các dịch huyền phù trong nước hoặc môi trường không chứa nước, hoặc các thuốc đạn. Trong các chế phẩm rắn như các viên thuốc các thành phần hoạt tính cơ bản được trộn lẫn với chất mang dược. Các thành phần đóng viên thông thường bao gồm tinh bột ngũ cốc, lactoza, sucroza, sorbitol, bột tan, axit stearic, magiê stearat, dicanxi phosphat hoặc các gôm, và các chất pha loãng (ví dụ, nước). Chúng có thể được sử dụng để tạo thành chế phẩm tiền công thức dạng rắn có chứa hỗn hợp đồng nhất của hợp chất của sáng chế, hoặc muối dược

dụng không độc của chúng. Chế phẩm sơ chế dạng rắn sau đó được chia nhỏ thành các dạng liều đơn vị của loại được mô tả ở trên. Các viên thuốc, các thuốc viên, v.v. của công thức hoặc chế phẩm có thể được phủ hoặc ngoài ra được tạo hợp chất để cung cấp dạng liều đủ khả năng tạo thuận lợi cho hoạt động trong thời gian dài. Ví dụ, viên thuốc hoặc thuốc viên có thể bao gồm chế phẩm bên trong được phủ bởi thành phần bên ngoài. Hơn thế nữa, hai thành phần có thể được phân tách bằng lớp của ruột góp phần chống lại sự phân rã và cho phép thành phần bên trong để đi ngang qua dạ dày nguyên vẹn hoặc trì hoãn sự giải phóng. Các dạng vật liệu khác nhau có thể được sử dụng cho các lớp hoặc các chất phủ của ruột, như các vật liệu bao gồm một vài axit polymeric và hỗn hợp của axit polymeric với các vật liệu này như nhựa cánh kiến tinh chế, rượu xetyl và xenluloza axetat.

Các tác nhân hoặc các kháng thể gắn kết với VEGF/DLL4 được mô tả ở đây cũng có thể được bọc trong các vi nang. Các vi nang này được điều chế, ví dụ, bởi các kỹ thuật côaxecva hoặc bởi sự trùng hợp xen kẽ, ví dụ, hydroxymetylxenluloza hoặc các vi nang gelatin và poly-(metylmethacylat) các vi nang, tương ứng, trong các hệ phân phối thuốc dạng keo (ví dụ, các liposom, các vi cầu albumin, các vi nhũ tương, các hạt nano và các viên nang nano) hoặc trong các vi nhũ tương như được mô tả trong *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, *21st Edition*, 2005, University of the Sciences in Philadelphia, PA.

Theo các phương án cụ thể, các công thức dược bao gồm tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) của sáng chế được phức hợp với các liposom. Các phương pháp để tạo ra các liposom là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Ví dụ, một vài liposom có thể được tạo ra bởi sự bay hơi pha ngược với một chế phẩm lipit bao gồm phosphatidylcholin, cholesterol, và phosphatidylethanolamin dẫn xuất PEG (PEG-PE). Các liposom có thể được đây ra qua các thiết bị lọc có cỡ lỗ xác định để thu được các liposom có đường kính mong muốn.

Theo các phương án cụ thể, các điều chế giải phóng duy trì có thể được tạo ra. Các ví dụ phù hợp về các điều chế giải phóng duy trì bao gồm các chất nền bám thấm của các polyme kỵ nước rắn có chứa tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể), trong đó các chất nền ở dạng các hạt có hình dạng được định rõ (ví dụ, các màng hoặc các vi nang). Các ví dụ bổ sung về các chất nền giải phóng duy trì bao gồmcác polyeste, các hydrogel như poly(2-hydroxyetyl-metacrylat) hoặc poly(vinyl ancol), các polylactit, các copolyme của axit L-glutamic và 7 etyl-L-glutamat, etylen-vinyl axetat không phân hủy, các copolyme axit lactic - axit glycolic phân hủy như LUPRTRÊN DEPOT™ (các vi cầu dùng cho tiêm gồm có copolyme axit lactic - axit glycolic và leuprolit axetat), sucroza axetat isobutylrat, và axit poly-D-(-)-3-hydroxybutyric.

Theo các phương án cụ thể, ngoài việc cung cấp tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể), phương pháp hoặc điều trị còn bao gồm việc cung cấp ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung. Tác nhân điều trị bổ sung có thể được cung cấp trước, đồng thời, và/hoặc sau, việc cung cấp của tác nhân gắn kết VEGF/DLL4. Các dược phẩm bao gồm tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 và các tác nhân điều trị bổ sung cũng được cung cấp. Theo một số phương án, ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung bao gồm 1, 2, 3, hoặc nhiều tác nhân điều trị bổ sung.

Điều trị kết hợp với ít nhất hai tác nhân điều trị thường sử dụng các tác nhân hoạt động theo các cơ chế hoạt động khác nhau, mặc dù điều này không bắt buộc. Điều trị kết hợp nhờ sử dụng các tác nhân có các cơ chế hoạt động khác nhau có thể dẫn tới các hiệu quả hiệp đồng hoặc bổ sung. Điều trị kết hợp có thể cho phép liều thấp hơn của mỗi tác nhân hơn được sử dụng trong quá trình điều trị đơn, nhờ đó giảm các tác dụng phụ gây độc và/hoặc tăng chỉ số điều trị của ít nhất một trong các tác nhân. Điều trị kết hợp có thể giảm khả năng xảy ra việc các tế bệnh ung thư kháng điều trị tăng. Theo một số phương án, điều trị kết hợp bao gồm tác nhân điều trị tác động chính (ví dụ, ức chế hoặc giết chết) các tế bào không có xu hướng hình thành khối u và tác nhân điều trị mà tác động chủ yếu (ví dụ, ức chế hoặc giết chết) đến các CSC hình thành khối u.

Các lớp hữu ích của các tác nhân điều trị bao gồm, ví dụ, các tác nhân kháng tubulin, các auristatin, các chất gắn kết khe phụ của ADN, các chất ức chế sao chép ADN, các tác nhân alkyl hóa (ví dụ, các phức hợp platin như cisplatin, mono(platin), bis(platin) và các phức hợp tri-nuclear platin và carboplatin), các antraxyclin, các kháng sinh, các chất kháng folat, các chất kháng chuyển hóa, các chất làm nhạy hóa liệu pháp, các duocarmyxin, các etoposit, các pyrimidin fluorin hóa, các thể mang ion, các lexitropsin, các nitrosourea, các platinol, các chất chống chuyển hóa purin, các puromyxin, các chất nhạy phóng xạ, các steroit, các taxan, các chất ức chế topoisomeraza, các vinca alkaloit, hoặc chất tương tự. Theo các phương án cụ thể, tác nhân điều trị thứ hai là tác nhân alkyl hóa, chất kháng chuyển hóa, ngăn phân bào, chất ức chế topoisomeraza, hoặc chất ức chế sự hình thành mạch. Theo một số phương án, tác nhân điều trị thứ hai là phức hợp platin như carboplatin hoặc cisplatin. Theo một số phương án, tác nhân điều trị bổ sung là phức hợp platin kết hợp với taxan.

Các tác nhân điều trị có thể được cung cấp kết hợp với các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 bao gồm các tác nhân hóa liệu pháp. Do đó, theo một số phương án, phương pháp hoặc điều trị bao gồm việc cung cấp tác nhân gắn kết hoặc kháng thể kháng VEGF của sáng chế kết hợp với tác nhân hóa liệu pháp hoặc hỗn hợp của nhiều tác nhân hóa liệu pháp khác nhau. Theo một số phương án, phương pháp hoặc điều trị bao gồm việc cung cấp tác nhân gắn kết hoặc kháng thể kháng DLL4 của sáng chế kết hợp với tác nhân hóa liệu pháp hoặc hỗn hợp của nhiều tác nhân hóa liệu pháp khác nhau. Theo một số phương án, phương pháp hoặc điều trị bao gồm việc cung cấp của kháng thể đặc hiệu kép của sáng chế gắn kết VEGF và DLL4 kết hợp với tác nhân hóa liệu pháp hoặc hỗn hợp của nhiều tác nhân hóa liệu pháp khác nhau.

Các tác nhân hóa liệu pháp hữu ích theo sáng chế này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các tác nhân alkyl hóa như thiotepa và xyclophosphamit (CYTOXAN); các alkyl sulfonat như busulfan, improsulfan và piposulfan; các aziridin như benzodopa, carboquon, meturedopa, và uredopa; các etylenimin và

các metylamelamin bao gồm altretamin, trietylenemelamin, trietylenphosphoramit, trietylenethiophosphaoramit và trimetylolomelamim; các hợp chất nitơ như clorambucil, chloARNphazin, cholophosphamit, estramustin, ifosfamit, meclorethamin, mecloretamin oxit hydroclorua, melphalan, novembichin, phenesterin, prednimustin, trofosfamit, hợp chất uraxil; các nitrosurea như carmustin, clorozotocin, fotemustin, lomustin, nimustin, ranimustin; các kháng sinh như các aclacinomysin, actinomyxin, authramyxin, azaserin, các bleomyxin, cactinomyxin, calicheamicin, carabixin, caminomyxin, carzinophilin, các chromomyxin, dactinomyxin, daunorubixin, detorubixin, 6-diazo-5-oxo-L-norleuxin, doxorubixin, epirubixin, esorubixin, idarubixin, marcellomyxin, các mitomyxin, axit mycophenolic, nogalamyxin, các olivomyxin, peplomyxin, potfiromyxin, puromyxin, quelamyxin, rodorubixin, streptonigrin, streptozocin, tubercidin, ubenimex, zinostatin, zorubixin; các chất kháng chuyển hóa như methotrexat và 5-fluorouracil (5-FU); các chất tương tự axit folic như denopterin, methotrexat, pteropterin, trimetrexat; các chất tương tự purin như fludarabin, 6-mercaptopurin, thiamiprin, thioguanin; pyrimidin các chất tương tự như ancitabin, azacitidin, 6-azauridin, carmofur, cytosin arabinosit, dideoxyuridin, doxifluridin, enocitabin, floxuridin, 5-FU; các kích thích tố nam như calusteron, dromostanolon propionat, epitiostanol, mepitiostan, testolacton; các chất kháng thượng thận như aminoglutethimit, mitotan, trilostan; các chất độn axit folic như axit folinic; aceglaton; aldophosphamit glycozit; axit aminolevulinic; amsacrin; bestrabucil; bisantren; edatraxat; defofamin; demecolcin; diaziquon; elformithin; elliptinium axetat; etoglucid; gallium nitrat; hydroxyurea; lentinan; lonidamin; mitoguazon; mitoxantron; mopidamol; nitracrin; pentostatin; phenamet; pirarubixin; axit podophyllinic; 2-etylhydrazit; procarbazin; PSK; razoxan; sizofuran; spirogermanium; axit tenuazonic; triaziquon; 2,2',2''-triclorotrietylamin; uretan; vindesin; dacarbazin; mannomustin; mitobronitol; mitolactol; pipobroman; gacytosin; arabinosit (Ara-C); các taxoit, ví dụ paclitaxel (TAXOL) và Docetaxel (TAXOTERE); clorambucil; gemcitabin; 6-thioguanin; mercaptopurin; các chất tương tự platin

như cisplatin và carboplatin; vinblastin; platin; etoposit (VP-16); ifosfamit; mitomyxin C; mitoxantron; vincristin; vinorelbin; navelbin; novantron; teniposit; daunomyxin; aminopterin; ibandronat; CPT11; chất ức chế topoisomeraza RFS 2000; diflometylornithin (DMFO); axit retinoic; các esperamicin; capecitabin (XELODA); và các muối dược dụng, các axit hoặc các dẫn xuất của chất bất kỳ nêu trên. Các tác nhân hóa liệu pháp cũng bao gồm các tác nhân kháng hoócmôn hoạt động để điều chỉnh hoặc ức chế hoạt động của hoócmôn trên các khối u như các chất kháng estrogen bao gồm, ví dụ, tamoxifen, raloxifen, các 4(5)-imidazol ức chế aromataza, 4-hydroxytamoxifen, trioxifen, keoxifen, LY117018, onapriston, và toremifen (FARESTON); và các chất kháng androgen như flutamit, nilutamit, bicalutamit, leuprolit, và goserelin; và các muối dược dụng, các axit hoặc các dẫn xuất của chất bất kỳ nêu trên. Theo các phương án cụ thể, tác nhân điều trị thứ hai là cisplatin. Theo các phương án cụ thể, tác nhân điều trị thứ hai là carboplatin. Theo các phương án cụ thể, tác nhân điều trị thứ hai là paclitaxel.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân hóa liệu pháp là chất ức chế topoisomeraza. Các chất ức chế topoisomeraza là các tác nhân hóa liệu pháp ngăn cản hoạt động của enzym topoisomeraza (ví dụ, topoisomeraza I hoặc II). Các chất ức chế topoisomeraza bao gồm, nhưng không giới hạn ở, doxorubixin HCl, daunorubixin xitrat, mitoxantron HCl, actinomyxin D, etoposide, topotecan HCl, teniposide (VM-26), và irinotecan, cũng như các muối, các axit dược dụng, hoặc các dẫn xuất của bất kỳ trong số chúng. Theo các phương án cụ thể, tác nhân điều trị thứ hai là irinotecan.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân hóa liệu pháp là chất kháng chuyển hóa. Chất kháng chuyển hóa là hóa chất có cấu trúc tương tự với chất chuyển hóa cần thiết cho các phản ứng hóa sinh thông thường, vẫn để khác biệt để cản trở một hoặc nhiều chức năng thông thường của các tế bào, như sự phân chia tế bào. Các chất kháng chuyển hóa bao gồm, nhưng không giới hạn ở, gemcitabin, fluorouracil, capecitabin, natri methotrexat, ralitrexed, pemetrexed, tegafur,

cytosin arabinoside, thioguanin, 5-azacytidin, 6-mercaptopurin, azathioprin, 6-thioguanin, pentostatin, fludarabin phosphat, và cladribin, cũng như các muối, các axit dược dụng, hoặc các dẫn xuất của bất kỳ trong số chúng. Theo các phương án cụ thể, tác nhân điều trị thứ hai là gemcitabin.

Theo các phương án cụ thể, tác nhân hóa liệu pháp là tác nhân ngăn phân bào, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các tác nhân gắn kết tubulin. Theo một số phương án, tác nhân là taxan. Theo các phương án cụ thể, tác nhân là paclitaxel hoặc docetaxel, hoặc muối dược dụng, axit, hoặc dẫn xuất của paclitaxel hoặc docetaxel. Theo các phương án cụ thể, tác nhân là paclitaxel (TAXOL), docetaxel (TAXOTERE), paclitaxel liên kết albumin (ABRAXANE), DHA-paclitaxel, hoặc PG-paclitaxel. Theo các phương án thay thế nhất định, tác nhân ngăn phân bào bao gồm vinca alkaloit, như vincristin, binblastin, vinorelbin, hoặc vindesin, hoặc các muối dược dụng, các axit, hoặc các dẫn xuất của chúng. Theo một số phương án, tác nhân ngăn phân bào là chất ức chế của kinesin Eg5 hoặc chất ức chế của mitotic kinaza như Aurora A hoặc Plk1. Theo các phương án cụ thể, trong đó tác nhân hóa liệu pháp được cung cấp kết hợp với tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 là tác nhân kháng phân bào, bệnh ung thư hoặc khối u được điều trị là ung thư vú hoặc u vú.

Theo một số phương án, tác nhân điều trị thứ hai bao gồm tác nhân ví dụ như một phân tử nhỏ. Ví dụ, điều trị có thể bao gồm việc cung cấp kết hợp tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) của sáng chế với một phân tử nhỏ hoạt động như một chất ức chế chống lại các protein kết hợp khối u bổ sung bao gồm, nhưng không giới hạn ở, EGFR, ErbB2, HER2, và/hoặc VEGF. Theo các phương án cụ thể, tác nhân điều trị thứ hai là phân tử nhỏ ức chế chuỗi các phản ứng hóa sinh tế bào gốc bệnh ung thư. Theo một số phương án, tác nhân điều trị thứ hai là chất ức chế phân tử nhỏ của con đường truyền tín hiệu Notch. Theo một số phương án, tác nhân điều trị thứ hai là chất ức chế phân tử nhỏ của chuỗi các phản ứng hóa sinh Wnt. Theo một số phương án, tác nhân điều trị thứ hai là chất ức chế phân tử nhỏ của chuỗi các phản ứng hóa sinh BMP. Theo một số

phương án, tác nhân điều trị thứ hai là chất ức chế phân tử nhỏ việc truyền tín hiệu β-catenin.

Theo một số phương án, tác nhân điều trị thứ hai bao gồm phân tử sinh học, như kháng thể. Ví dụ, điều trị có thể bao gồm việc cung cấp tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 kết hợp (ví dụ kháng thể) của sáng chế với các kháng thể khác chống lại các protein liên kết khối u bổ sung bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các kháng thể gắn kết EGFR, ErbB2, HER2, và/hoặc VEGF. Theo các phương án cụ thể, tác nhân điều trị thứ hai là kháng thể là kháng thể đánh dấu tế bào gốc kháng bệnh ung thư. Theo một số phương án, tác nhân điều trị thứ hai là kháng thể gắn kết một thành phần của con đường truyền tín hiệu Notch. Theo một số phương án, tác nhân điều trị thứ hai là kháng thể gắn kết một thành phần của chuỗi các phản ứng hóa sinh Wnt. Theo các phương án cụ thể, tác nhân điều trị thứ hai là kháng thể ức chế chuỗi các phản ứng hóa sinh tế bào gốc bệnh ung thư. Theo một số phương án, tác nhân điều trị thứ hai là chất ức chế kháng thể của con đường truyền tín hiệu Notch. Theo một số phương án, tác nhân điều trị thứ hai là chất ức chế kháng thể của chuỗi các phản ứng hóa sinh Wnt. Theo một số phương án, tác nhân điều trị thứ hai là chất ức chế kháng thể của chuỗi các phản ứng hóa sinh BMP. Theo một số phương án, tác nhân điều trị thứ hai là kháng thể ức chế việc truyền tín hiệu β-catenin. Theo các phương án cụ thể, tác nhân điều trị thứ hai là kháng thể là chất ức chế hoặc chất điều biến sự hình thành mạch (ví dụ, kháng VEGF hoặc thụ thể VEGF kháng thể). Theo các phương án cụ thể, tác nhân điều trị thứ hai là bevacizumab (AVASTIN), trastuzumab (HERCEPTIN), panitumumab (VECTIBIX), hoặc cetuximab (ERBITUX). Việc cung cấp kết hợp có thể bao gồm việc cung cấp đồng thời, hoặc theo công thức dược riêng rẽ hoặc nhờ sử dụng các công thức riêng rẽ, hoặc cung cấp liên tiếp theo thứ tự nhưng nhìn chung trong khoảng thời gian để tất cả các tác nhân hoạt tính có thể đồng thời áp dụng các hoạt tính sinh học của chúng.

Hơn thế nữa, điều trị bằng tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 được mô tả ở đây có thể bao gồm điều trị kết hợp bằng các phân tử sinh học khác, như một hoặc nhiều xytokin (ví dụ, các lymphokin, các interleukin, các nhân tố hoại tử khối u, và/hoặc các nhân tố phát triển khối u) hoặc có thể được cung cấp bởi phẫu thuật loại bỏ của các khối u, các tế bào bệnh ung thư, hoặc phương pháp điều trị bất kỳ khác cần thiết bởi bác sỹ đang điều trị.

Theo các phương án cụ thể, điều trị bao gồm việc cung cấp tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) của sáng chế kết hợp với điều trị phóng xạ. Điều trị bằng tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 có thể xảy ra trước, đồng thời với, hoặc sau việc cung cấp điều trị phóng xạ. Lịch trình liều cho điều trị phóng xạ này có thể được xác định bởi chuyên gia dược.

Được đánh giá cao là sự kết hợp của tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 và tác nhân điều trị bổ sung có thể được cung cấp theo thứ tự bất kỳ hoặc đồng thời. Điều trị bằng tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) có thể xảy ra trước, đồng thời với, hoặc sau việc cung cấp điều trị hóa liệu pháp. Việc cung cấp kết hợp có thể bao gồm đồng cung cấp, hoặc theo công thức dược duy nhất hoặc nhờ sử dụng các công thức riêng rẽ, hoặc cung cấp đồng thời hoặc theo thứ tự nhưng nhìn chung trong một khoảng thời gian để tất cả các tác nhân hoạt tính có thể áp dụng các hoạt tính sinh học của chúng đồng thời. Việc điều chế và các lịch trình liều cho các tác nhân hóa liệu pháp này có thể được sử dụng theo các hướng dẫn của nhà sản xuất hoặc như được xác định bởi chuyên gia có kinh nghiệm trong lĩnh vực. Việc điều chế và các lịch trình liều cho điều trị hóa liệu pháp cũng được mô tả trong *The Chemotherapy Source Book, 4th Edition*, 2008, M. C. Perry, Editor, Lippincott, Sẽiams & Wilkins, Philadelphia, PA.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 sẽ được cung cấp cho các bệnh nhân đã trải quan sự điều trị trước đây bằng tác nhân điều trị thứ hai. Theo các phương án cụ thể khác, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 và tác nhân điều trị thứ hai sẽ được cung cấp cơ bản đồng thời hoặc đồng thời. Ví dụ, đối tượng có thể được truyền tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) trong

khi đang được điều trị bằng tác nhân điều trị thứ hai (ví dụ, hóa liệu pháp). Theo các phương án cụ thể, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 sẽ được cung cấp trong 1 năm điều trị bằng tác nhân điều trị thứ hai. Theo các phương án thay thế nhất định, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 sẽ được cung cấp trong 10, 8, 6, 4, hoặc 2 tháng khi điều trị bất kỳ bằng tác nhân điều trị thứ hai. Theo các phương án nhất định khác, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 sẽ được cung cấp trong 4, 3, 2, hoặc 1 tuần khi điều trị bất kỳ bằng tác nhân điều trị thứ hai. Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 sẽ được cung cấp trong 5, 4, 3, 2, hoặc 1 ngày khi điều trị bất kỳ bằng tác nhân điều trị thứ hai. Được đánh giá cao là hai (hoặc nhiều) tác nhân hoặc điều trị có thể được cung cấp cho đối tượng theo giờ hoặc phút (tức là, cơ bản đồng thời).

Để điều trị bệnh, liều thích hợp của tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) của sáng chế phụ thuộc vào loại bệnh cần được điều trị, mức độ nghiêm trọng và diễn biến của bệnh, sự đáp ứng của bệnh, dù tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 hoặc kháng thể được cung cấp cho các mục đích điều trị hoặc ngăn chặn, điều trị ưu tiên, profil lâm sàng của bệnh nhân, và v.v., tất cả tùy thuộc vào sự thận trọng của bác sỹ điều trị. Tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 hoặc kháng thể có thể được cung cấp một lần hoặc theo các chuỗi điều trị lan truyền trên vài ngày đến vài tháng, hoặc cho đến khi việc điều trị đạt hiệu quả hoặc sự giảm bớt tình trạng bệnh đã đạt được (ví dụ, giảm kích cỡ khối u). Các lịch trình liều tối ưu có thể được tính dựa vào các đo đạc của sự tích tụ thuốc trong cơ thể của bệnh nhân và sẽ thay đổi phụ thuộc vào hiệu lực tương đối của từng kháng thể hoặc tác nhân. Bác sỹ có thể xác định các liều tối ưu, các hệ phương pháp tạo liều, và các tỷ lệ nhắc lại. Theo các phương án cụ thể, liều của tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 hoặc kháng thể là từ khoảng 0,01µg đến khoảng 100mg/kg trọng lượng cơ thể, từ khoảng 0,1µg đến khoảng 100mg/kg trọng lượng cơ thể, từ khoảng 1µg đến khoảng 100mg/kg trọng lượng cơ thể, từ khoảng 1mg đến khoảng 100mg/kg trọng lượng cơ thể, khoảng 1mg đến khoảng 80mg/kg trọng lượng cơ thể từ khoảng 10mg đến khoảng 100mg/kg trọng lượng cơ thể, từ

khoảng 10mg đến khoảng 75mg/kg trọng lượng cơ thể, hoặc từ khoảng 10mg đến khoảng 50mg/kg trọng lượng cơ thể. Theo các phương án cụ thể, liều của kháng thể hoặc tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 khác là từ khoảng 0,1mg đến khoảng 20mg/kg trọng lượng cơ thể. Theo các phương án cụ thể, liều có thể đưa vào một lần hoặc nhiều hơn hàng ngày, hàng tuần, hàng tháng, hoặc hàng năm. Theo các phương án cụ thể, kháng thể hoặc tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 khác được đưa vào một lần hàng tuần, một lần mỗi hai tuần, một lần mỗi ba tuần, hoặc một lần hàng tháng.

Theo một số phương án, tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể) có thể là được cung cấp ở liều ban đầu cao hơn "nạp", tiếp theo bằng một hoặc nhiều liều thấp hơn. Theo một số phương án, tần suất của việc cung cấp có thể cũng thay đổi. Theo một số phương án, chế độ liều có thể bao gồm việc cung cấp liều ban đầu, tiếp theo bởi các liều bổ sung (hoặc các liều "duy trì") một lần mỗi tuần, một lần mỗi hai tuần, một lần mỗi ba tuần, hoặc một lần hàng tháng. Ví dụ, chế độ liều có thể bao gồm việc cung cấp liều nạp ban đầu, tiếp theo bởi liều duy trì hàng tuần của, ví dụ, một nửa liều ban đầu. Hoặc chế độ liều có thể bao gồm việc cung cấp liều nạp ban đầu, tiếp theo bởi các liều duy trì của, ví dụ một nửa liều ban đầu hàng tuần khác. Hoặc chế độ liều có thể bao gồm việc cung cấp ba liều ban đầu trong 3 tuần, tiếp theo bởi các liều duy trì của, ví dụ, lượng tương tự hàng tuần khác. Hoặc chế độ liều có thể bao gồm việc cung cấp liều ban đầu tiếp theo bởi các liều ban đầu hằng 3 tuần hoặc một lần một tháng. Bác sỹ điều trị có thể dự tính các tỷ lệ liều nhắc lại cho liều dựa vào số lần lưu trú được đo và các nồng độ của thuốc trong các dịch hoặc các mô cơ thể. Tiến trình điều trị có thể được giám sát bằng các kỹ thuật và các thử nghiệm thông thường.

Như đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, việc cung cấp tác nhân điều trị bất kỳ có thể dẫn tới các tác dụng phụ và/hoặc các độc tính. Trong một vài trường hợp, các tác dụng phụ và/hoặc các độc tính cũng góp phần ngăn ngừa việc cung cấp của tác nhân cụ thể ở liều hữu hiệu về

mặt điều trị. Trong một vài trường hợp, điều trị thuốc phải bị đình chỉ, và các tác nhân khác có thể được thử. Tuy nhiên, nhiều tác nhân trong cùng lớp điều trị thường biểu thị các tác dụng phụ và/hoặc các độc tính giống nhau, nghĩa là bệnh nhân hoặc phải dừng điều trị, hoặc nếu có thể, phải chịu các tác dụng phụ kết hợp với tác nhân điều trị không mong muốn.

Các tác dụng phụ từ các tác nhân điều trị có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chứng phát ban, chứng phát ban da, ngứa, tình trạng buồn nôn, nôn mửa, sự thèm ăn giảm, bệnh tiêu chảy, ớn lạnh, sốt, mệt mỏi, nhức và đau cơ, đau đầu, huyết áp thấp, huyết áp cao, tình trạng thiếu kali trong máu, nồng độ máu giảm, chảy máu, và các vấn đề về rối loạn tim.

Do đó, một khía cạnh của sáng chế là hướng trực tiếp đến các phương pháp điều trị ung thư ở bệnh nhân bao gồm việc cung cấp kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 nhờ sử dụng chế độ liều gián đoạn, mà có thể giảm các tác dụng phụ và/hoặc các độc tính kết hợp với việc cung cấp của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4. Như được sử dụng ở đây, "liều liên tiếp" đề cập đến chế độ liều sử dụng khoảng thời gian cung cấp liều nhiều hơn một lần mỗi tuần, ví dụ, liều một lần hằng 2 tuần, một lần hằng 3 tuần, một lần hằng 4 tuần, v.v. Theo một số phương án, phương pháp để điều trị bệnh ung thư ở người bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân một liều hữu hiệu của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 theo chế độ liều gián đoạn. Theo một số phương án, phương pháp để điều trị bệnh ung thư ở bệnh nhân là người bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân một liều hữu hiệu của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 theo chế độ liều gián đoạn, và tăng chỉ số điều trị của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4. Theo một số phương án, chế độ liều gián đoạn bao gồm việc cung cấp liều ban đầu của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 cho bệnh nhân, và việc cung cấp các liều tiếp sau của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 khoảng một lần hằng 2 tuần. Theo một số phương án, chế độ liều gián đoạn bao gồm việc cung cấp liều ban đầu của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 cho bệnh nhân là

người, và việc cung cấp các liều tiếp sau của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 khoảng một lần hằng 3 tuần. Theo một số phương án, chế độ liều gián đoạn bao gồm việc cung cấp liều ban đầu của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 cho bệnh nhân, và việc cung cấp các liều tiếp sau của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 khoảng một lần hằng 4 tuần.

Theo một số phương án, các liều tiếp sau trong chế độ liều gián đoạn có lượng là khoảng bằng hoặc nhỏ hơn liều ban đầu. Theo các phương án khác, các liều tiếp sau có lượng lớn hơn liều ban đầu. Như được biết đến bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, các liều được sử dụng sẽ khác nhau phụ thuộc vào các mục đích lâm sàng cần đạt được. Theo một số phương án, liều ban đầu là khoảng 0,25mg/kg đến khoảng 20mg/kg. Theo một số phương án, liều ban đầu là khoảng 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, hoặc 20mg/kg. Theo các phương án cụ thể, liều ban đầu là khoảng 0,5mg/kg. Theo các phương án cụ thể, liều ban đầu là khoảng 1mg/kg. Theo các phương án cụ thể, liều ban đầu là khoảng 2,5mg/kg. Theo các phương án cụ thể, liều ban đầu là khoảng 5mg/kg. Theo các phương án cụ thể, liều ban đầu là khoảng 7,5mg/kg. Theo các phương án cụ thể, liều ban đầu là khoảng 10mg/kg. Theo các phương án cụ thể, liều ban đầu là khoảng 12,5mg/kg. Theo các phương án cụ thể, liều ban đầu là khoảng 15mg/kg. Theo các phương án cụ thể, liều ban đầu là khoảng 20mg/kg. Theo một số phương án, các liều tiếp sau là khoảng 0,25mg/kg đến khoảng 15mg/kg. Theo các phương án cụ thể, các liều tiếp sau là khoảng 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 hoặc 15mg/kg. Theo các phương án cụ thể, các liều tiếp sau là khoảng 0,5mg/kg. Theo các phương án cụ thể, các liều tiếp sau là khoảng 1mg/kg. Theo các phương án cụ thể, các liều tiếp sau là khoảng 2,5mg/kg. Theo các phương án cụ thể, các liều tiếp sau là khoảng 5mg/kg. Theo một số phương án, các liều tiếp sau là khoảng 7,5mg/kg. Theo một số phương án, các liều tiếp sau là khoảng 10mg/kg. Theo một số phương án, các liều tiếp sau là khoảng 12,5mg/kg.

Theo một số phương án, chế độ liều gián đoạn bao gồm: (a) việc cung cấp cho bệnh nhân liều ban đầu của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 là khoảng 2,5mg/kg và (b) việc cung cấp các liều tiếp sau là khoảng 2,5 mg/kg một lần hằng 2 tuần. Theo một số phương án, chế độ liều gián đoạn bao gồm: (a) việc cung cấp cho bệnh nhân liều ban đầu của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 là khoảng 5mg/kg và (b) việc cung cấp các liều tiếp sau là khoảng 5 mg/kg một lần hằng 2 tuần. Theo một số phương án, chế độ liều gián đoạn bao gồm: (a) việc cung cấp cho bệnh nhân liều ban đầu của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 là khoảng 2,5mg/kg và (b) việc cung cấp các liều tiếp sau là khoảng 2,5 mg/kg một lần hằng 3 tuần. Theo một số phương án, chế độ liều gián đoạn bao gồm: (a) việc cung cấp cho bệnh nhân liều ban đầu của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 là khoảng 5mg/kg và (b) việc cung cấp các liều tiếp sau là khoảng 5 mg/kg một lần hằng 3 tuần. Theo một số phương án, chế độ liều gián đoạn bao gồm: (a) việc cung cấp cho bệnh nhân liều ban đầu của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 là khoảng 2,5mg/kg và (b) việc cung cấp các liều tiếp sau là khoảng 2,5 mg/kg một lần hằng 4 tuần. Theo một số phương án, chế độ liều gián đoạn bao gồm: (a) việc cung cấp cho bệnh nhân liều ban đầu của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 là khoảng 5mg/kg và (b) việc cung cấp các liều tiếp sau là khoảng 5 mg/kg một lần hằng 4 tuần. Theo các phương án cụ thể, liều ban đầu và các liều duy trì là khác nhau, ví dụ, liều ban đầu là khoảng 5mg/kg và các liều tiếp sau là khoảng 2,5mg/kg. Theo các phương án cụ thể, chế độ liều gián đoạn có thể bao gồm một liều nạp, ví dụ, liều ban đầu là khoảng 20mg/kg và các liều tiếp sau là khoảng 2,5mg/kg hoặc khoảng 5mg/kg được cung cấp một lần hằng 2 tuần, một lần hằng 3 tuần, hoặc một lần hằng 4 tuần.

Khía cạnh khác của sáng chế là hướng trực tiếp đến các phương pháp để giảm độc tính của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 ở bệnh nhân là người bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 nhờ sử dụng chế độ liều gián đoạn. Khía cạnh khác

của sáng chế là hướng trực tiếp đến các phương pháp để giảm các tác dụng phụ của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 ở bệnh nhân là người bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 nhờ sử dụng chế độ liều gián đoạn. Khía cạnh khác của sáng chế là hướng trực tiếp đến các phương pháp để tăng chỉ số điều trị của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 ở bệnh nhân là người bao gồm việc cung cấp cho bệnh nhân kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 nhờ sử dụng chế độ liều gián đoạn.

Sự lựa chọn phương pháp phân phối cho liều ban đầu và các liều tiếp sau được thực hiện theo khả năng của động vật hoặc bệnh nhân là người chịu đựng sự đưa vào của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 trong cơ thể. Do đó, theo các khía cạnh và/hoặc các phương án bất kỳ được mô tả ở đây, việc cung cấp của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 có thể bằng cách tiêm trong tĩnh mạch hoặc trong tĩnh mạch. Theo một số phương án, việc cung cấp bằng cách truyền trong tĩnh mạch. Theo các khía cạnh và/hoặc các phương án bất kỳ được mô tả ở đây, việc cung cấp của kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 có thể bằng tuyến không trong tĩnh mạch.

V. Kit bao gồm các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4

Sáng chế đề xuất các kit bao gồm các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, các kháng thể) được mô tả ở đây và có thể được sử dụng để thực hiện các phương pháp được mô tả ở đây. Theo các phương án cụ thể, kit bao gồm ít nhất một kháng thể được tinh chế kháng lại VEGF và/hoặc DLL4 trong một nhiều vật chứa. Theo một số phương án, các kit chứa tất cả các thành phần cần thiết và/hoặc thích hợp để thực hiện thử nghiệm dò tìm, bao gồm tất cả các đối chứng, các chỉ dẫn để thực hiện các thử nghiệm, và phần mềm cần thiết bất kỳ để trình bày có phân tích các kết quả. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ dễ dàng nhận biết các tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 được bộc lộ của sáng chế có thể dễ dàng kết hợp theo một trong các dạng kit được thiết lập mà đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật.

Được cung cấp hơn nữa là các kit bao gồm tác nhân gắn kết VEGF/DLL4 (ví dụ, kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4), cũng như ít nhất một tác nhân điều trị bổ sung. Theo các phương án cụ thể, tác nhân điều trị thứ hai (hoặc lớn hơn) là tác nhân hóa liệu pháp. Theo các phương án cụ thể, tác nhân điều trị thứ hai (hoặc lớn hơn) là tác nhân ức chế sự hình thành mạch.

Các phương án của sáng chế đã mô tả còn có thể được xác định bởi cả các ví dụ không giới hạn dưới đây, mô tả chi tiết việc điều chế các kháng thể cụ thể của sáng chế và các phương pháp sử dụng các kháng thể của sáng chế. Rõ ràng là người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có thể thực hiện các cải biến, cả về các vật liệu và các phương pháp, mà không trệch khỏi phạm vi của sáng chế này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Các ái lực gắn kết của các kháng thể kháng VEGF/kháng DLL4

K_Ds của các kháng thể kháng VEGF gốc 219R45 (dạng IgG), kháng DLL4 21R79 (dạng IgG), kháng DLL4 21M18 (dạng IgG) gốc và các kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18 và 219R45-MB-21R79 được xác định nhờ sử dụng hệ thống Biacore 2000 từ Biacore LifeSciences (GE Healthcare). Thể tái tổ hợp Fc-DLL4 của người hoặc Fc-DLL4 của chuột được giữ cố định trên các chip CM5 carboxyl nhờ sử dụng hóa học gốc amin chuẩn (NHS/EDC) và được khóa bằng etanolamin. Thể tái tổ hợp $VEGF_{165}$ của người hoặc $VEGF_{165}$ của chuột được biotinyl hóa và được giữ cố định trên các chip streptavidin. Các kháng thể được pha loãng theo chuỗi 2 bậc từ 100nM đến 0,78nM trong HBS-P (0,01M HEPES pH7,4, 0,15M NaCl, 0,005% v/v Polysorbat 20). Đối với mỗi kháng thể, tất cả 8 dung dịch pha loãng được nạp lần lượt trên một mạch đặc trưng. Dữ liệu động lực được thu thập theo thời gian và được điều chỉnh nhờ sử dụng phương trình điều chỉnh toàn bộ đồng thời để thu được các hằng số ái lực (các trị số K_D) cho mỗi kháng thể đặc hiệu kép.

Bảng 3

Kháng thể	hVEGF (nM)	mVEGF(nM)	hDLL4 (nM)	mDLL4 (nM)
219R45	0,67	22,9	NB	NB
21M18	NB	NB	<0,1	NB
21R79	NB	NB	<0,1	NB
219R45-MB-21M18	0,36	25,5	16	NB
219R45-MB-21R79	0,68	12,5	0,53	NB

Như được thể hiện ở Bảng 3, kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18 có hằng số ái lực (K_D) đối với VEGF của người là 0,36nM và K_D đối với DLL4 của người là 16nM. Kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R79 có K_D đối với VEGF của người là 0,68nM và K_D đối với DLL4 của người là 0,53nM. Cả hai kháng thể đặc hiệu kép được biểu thị gắn kết yếu hơn với VEGF của chuột khi so với VEGF của người và cả kháng thể được gắn kết DLL4 của chuột. Do đó, cả các kháng thể đặc hiệu kép đã biểu thị ái lực gắn kết giống với VEGF của người và 219R45-MB-21R79 được biểu thị xấp xỉ 30 lần gắn kết với DLL4 của người mạnh hơn 219R45-MB-21M18. Hơn thế nữa, kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R79 có ái lực gắn kết giống với VEGF của người mặc dù trên thực tế kháng thể đặc hiệu kép là đơn trị đối với VEGF khi so với kháng thể gốc hóa trị hai.

Một vài kháng thể kháng DLL4 khác được xác định là có các ái lực gắn kết trung gian với K_Ds là 21M18 và 21R79. Hai kháng thể kháng DLL4 này được sử dụng để tạo ra các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21R75 và 219R45-MB-21R83. Nhờ sử dụng hệ thống Biacore 2000 được mô tả ở trên, K_Ds của các kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R75 và 219R45-MB-21R83 với DLL4 của người được xác định. Sự so sánh

về ái lực gắn kết với DLL4 của người của bốn kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 đó được thể hiện ở Bảng 4.

Các CDR cho các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R79, 219R45-MB-21R75, và 219R45-MB-21R83 được thể hiện ở Fig. 1A. Các SEQ ID NO của vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng được thể hiện ở Fig. 1B và các SEQ ID NO của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ (có và không có trình tự tín hiệu) được thể hiện ở Fig. 1C.

Kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18 bao gồm (a) chuỗi nặng được mã hóa bằng ADN bao gồm SEQ ID NO:75 được lưu giữ bởi American Type Culture Collection (ATCC), 10801 University Boulevard, Manassas, VA, USA, theo các điều kiện của thỏa ước Budapest vào ngày 21 tháng 9 năm 2012 và mã số nộp lưu là PTA-13233, (b) chuỗi nặng được mã hóa bằng ADN bao gồm SEQ ID NO:33 được lưu giữ bằng ATCC theo các điều kiện của thỏa ước Budapest vào ngày 21 tháng 9 năm 2012 và mã số nộp lưu là PTA-13236, và (c) chuỗi nhẹ được mã hóa bằng ADN bao gồm SEQ ID NO:34 được lưu giữ bằng ATCC theo các điều kiện của thỏa ước Budapest vào ngày 21 tháng 9 năm 2012 và mã số nộp lưu là PTA-13235.

Kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21R79 bao gồm (a) chuỗi nặng được mã hóa bằng ADN bao gồm SEQ ID NO:31 được lưu giữ bằng ATCC theo các điều kiện của thỏa ước Budapest vào ngày 21 tháng 9 năm 2012 và mã số nộp lưu là PTA-13232, (b) chuỗi nặng được mã hóa bằng ADN bao gồm SEQ ID NO:33 được lưu giữ bằng ATCC theo các điều kiện của thỏa ước Budapest vào ngày 21 tháng 9 năm 2012 và mã số nộp lưu là PTA-13236, và (c) chuỗi nhẹ được mã hóa bằng ADN bao gồm SEQ ID NO:34 được lưu giữ bằng ATCC theo các điều kiện của thỏa ước Budapest vào ngày 21 tháng 9 năm 2012 và mã số nộp lưu là PTA-13235.

Kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21R83 bao gồm (a) chuỗi nặng được mã hóa bằng ADN bao gồm SEQ ID NO:72 được

lưu giữ bằng ATCC theo các điều kiện của thỏa ước Budapest vào ngày 24 tháng 10 năm 2012 và mã số nộp lưu là PTA-13278, (b) chuỗi nặng được mã hóa bằng ADN bao gồm SEQ ID NO:33 được lưu giữ bằng ATCC theo các điều kiện của thỏa ước Budapest vào ngày 21 tháng 9 năm 2012 và mã số nộp lưu là PTA-13236, và (c) chuỗi nhẹ được mã hóa bằng ADN bao gồm SEQ ID NO:34 được lưu giữ bằng ATCC theo các điều kiện của thỏa ước Budapest vào ngày 21 tháng 9 năm 2012 và mã số nộp lưu là PTA-13235.

Kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21R75 bao gồm (a) chuỗi nặng được mã hóa bằng ADN bao gồm SEQ ID NO:74 được lưu giữ bằng ATCC theo các điều kiện của thỏa ước Budapest vào ngày 21 tháng 9 năm 2012 và mã số nộp lưu là PTA-13234, (b) chuỗi nặng được mã hóa bằng ADN bao gồm SEQ ID NO:33 được lưu giữ bằng ATCC theo các điều kiện của thỏa ước Budapest vào ngày 21 tháng 9 năm 2012 và mã số nộp lưu là PTA-13236, và (c) chuỗi nhẹ được mã hóa bằng ADN bao gồm SEQ ID NO:34 được lưu giữ bằng ATCC theo các điều kiện của thỏa ước Budapest vào ngày 21 tháng 9 năm 2012 và mã số nộp lưu là PTA-13235.

Bảng 4

Kháng thể	CDR2 của chuỗi nặng	hDLL4 (nM)
219R45-MB-21M18	YISSYNGATNYNQKFKG (SEQ ID NO:15)	16,00
219R45-MB-21R79	YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:14)	0,53
219R45-MB-21R75	YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59)	5,10
219R45-MB-21R83	YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65)	1,30

Ví dụ 2

Thử nghiệm HTRF đối với sự gắn kết đồng thời của các kháng thể đặc hiệu kép với VEGF của người và DLL4 của người

Để mô tả các khả năng gắn kết của các kháng thể và/hoặc các hỗn hợp kháng thể nhất định với cả VEGF và DLL4, các thử nghiệm huỳnh quang phân tích thời gian đồng nhất (HTRF) được thực hiện. Các kháng thể được thử nghiệm là các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18 và 219R45-MB-21R79, các kháng chất nền 219R45 (kháng VEGF), 21M18 (kháng DLL4), 21R79 (kháng DLL4), sự kết hợp của 219R45 và 21M18, hoặc sự kết hợp A của 219R45 và 21R79. Các kháng thể hoặc các hỗn hợp kháng thể được pha loãng theo chuỗi bậc hai từ 3000nM đến 2,9nM trong đệm gắn kết (1X PBS, 0,1% gelatin, 0,1% Polysorbat 20, 400mM kali florua) và được đặt trong đĩa 96 giếng màu trắng. Thể tích trung bình của dung dịch có chứa 4µg/ml của hDLL4-Fc được gắn nhãn D2 và 21,4ng/ml $hVEGF_{165}$ được gắn nhãn Europium crypat được bổ sung vào mỗi giếng đến thể tích cuối cùng là 100µl (các nồng độ cuối cùng của chất nhận và các phân tử có khả năng phát huỳnh quang tương ứng là 2µg/ml và 10,7ng/ml). Các đĩa thử nghiệm được ủ trong 2 giờ qua đêm và được đọc trên đầu đọc SpectraMax M5e Microplate (Molecular Devices, Sunnyvale CA) ở bước sóng kích thích là 314nm.

Như được thể hiện ở Fig. 2, các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18 và 219R45-MB-21R79, có khả năng gắn kết cả hVEGF và hDLL4 đồng thời. Quan trọng là, không một sự kết hợp nào của các tổ hợp kháng thể gốc (tức là, 219R45 và 21M18 hoặc 219R45 và 21R79) có khả năng gắn kết VEGF và DLL4 đồng thời. Các kết quả này biểu hiện rõ ràng rằng các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18 và 219R45-MB-21R79 có khả năng hoạt động khác biệt hơn chỉ một hỗn hợp của hai kháng thể riêng rẽ.

Ví dụ 3

Sự ức chế của sự tăng sinh HUVEC bởi các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4

Các tế bào HUVEC đã thu được từ Lonza (Walkersville MD) và được nuôi cấy trong môi trường phát triển (M199, 10% FBS không hoạt hóa nhiệt (HI-FBS), 50µg/ml EGS, 1X heparin, 1mM L-glutamin). Đối với thử nghiệm tăng sinh HUVEC, đĩa 96 giếng được phủ trước bằng 50µl dung dịch typ I collagen đuôi của chuột 10µg/ml (collagen I trong 0,02N axit axetic) và được ủ ở 4°C qua đêm. Sau khi ủ, đĩa này được hút hoàn toàn để loại bỏ dung dịch collagen I không gắn kết và được rửa một lần bằng 200µl DPBS. Các tế bào HUVEC được loại bỏ từ bề mặt của các bình phát triển nhờ sử dụng chất phản ứng dòng phụ tế bào màng trong và được phân tách ở 1200 vòng/phút trong 5 phút ở 4°C. Các tế bào được tạo huyền phù trong môi trường đói/thử nghiệm (M199 và 2% HI-FBS, 1X heparin, 5U/ml heparin-glutamin) ở cường độ là 10^5 tế bào/ml. Các tế bào được gieo trong đĩa thử nghiệm được phủ collagen ở 5000 tế bào/giếng, 50ul/giếng. Các tế bào được ủ trong 3 giờ ở 37°C, được rửa một lần, được nuôi lại với 100ul môi trường thử nghiệm, và được ủ qua đêm ở 37°C. Ngày tiếp theo, các kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R79, kháng chất nền 219R45, hoặc kháng thể đối chứng LZ1 được điều chế trong hỗn hợp với VEGF của người (R&D Biosystems, Minneapolis MN). Các kháng thể được pha loãng theo dãy 5 bậc từ 20µM đến 0,25nM trong đệm thử nghiệm kết hợp với hVEGF (nồng độ cuối cùng 5ng/ml). Hỗn hợp được ủ trước ở 37°C trong 2 giờ. Môi trường được loại bỏ khỏi đĩa thử nghiệm, và 100µl hỗn hợp kháng thể/hVEGF được bổ sung vào mỗi giếng. Sau 3-4 ngày ủ, môi trường được loại bỏ và phần phân ước mới của hỗn hợp kháng thể/hVEGF được bổ sung vào mỗi giếng và được nuôi cấy trong 4 ngày tiếp theo. Vào ngày 7, 20µl chất phản ứng Alamar Blue (Invitrogen, Carlsbad, CA) được bổ sung vào mỗi giếng và được ủ ở 37°C trong 5-6 giờ. Đĩa này được đọc bằng đầu đọc

SpectraMax M5e Microplate (Molecular Devices, Sunnyvale CA) nhờ sử dụng bước sóng kích thích là 539nm và bước sóng phát xạ là 590nm.

Như được thể hiện ở Fig. 3, các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18 và 219R45-MB-21R79, cũng như kháng thể gốc kháng VEGF 219R45 đã ức chế sự tăng sinh HUVEC. Các kết quả này đã biểu thị rằng các kháng thể đặc hiệu kép có khả năng ức chế sự tăng sinh gây ra bởi VEGF của các tế bào HUVEC.

Ví dụ 4

Sự ức chế của việc truyền tín hiệu Notch gây ra DLL4 bởi các kháng thể đặc hiệu kép

Các tế bào PC3 người được biến nạp vectơ biểu hiện mã hóa toàn bộ độ dài thụ thể Notch2 người và vectơ báo cáo luciferaza nhấp nháy (vật báo cáo luciferaza 8xCBF) mà chịu trách nhiệm cho việc truyền tín hiệu Notch. Các tế bào cũng được biến nạp vật báo cáo luciferaza Renilla (Promega, Madison WI) như một nội đối chứng cho hiệu quả biến nạp. Protein DLL4 của người được tinh chế được phủ trên các đĩa 96 giếng ở nồng độ 100ng/giếng và các tế bào PC3-luc biểu hiện Notch2 được bổ sung vào các giếng. Các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R79, các kháng thể kháng DLL4 gốc 21M18, 21R79 hoặc kháng thể đối chứng LZ1 được pha loãng theo dãy 5 bậc từ 20ug/ml đến 0,064ug/ml, được bổ sung vào các giếng thích hợp, và được ủ qua đêm. Hoạt tính luciferaza được xác định nhờ sử dụng kit thử nghiệm luciferaza kép (Promega, Madison, WI) có hoạt tính luciferaza nhấp nháy được chuẩn hóa bằng hoạt tính luciferaza Renilla.

Như được thể hiện ở Fig. 4, kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21R79 và các kháng thể kháng DLL4 gốc 21M18 và 21R79 ức chế việc truyền tín hiệu Notch gây ra bởi DLL4. Kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18 ức chế việc truyền tín hiệu Notch gây ra bởi DLL4 chỉ ở các nồng độ kháng thể cao. Các kết quả này đã biểu thị rằng kháng thể đặc hiệu

kép 219R45-MB-21R79, và với kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18 ở nồng độ thấp hơn, có khả năng để ức chế việc truyền tín hiệu Notch gây ra bởi DLL4. Do đó, kết hợp với các kết quả ở Ví dụ 3, các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21R79 và 219R45-MB-21M18 đã biểu thị khả năng để ức chế cả việc truyền tín hiệu Notch gây ra bởi DLL4 và gây ra bởi VEGF và/hoặc các chức năng tăng sinh.

Ví dụ 5

Sự ức chế phát triển khối u *in vivo* bởi kháng thể đặc hiệu kép ở mô hình ghép da của người

Mô hình ghép da người đã được báo cáo trong đó bao gồm mảnh ghép da người và các tế bào khối u người. Mảnh ghép mô da người được thiết lập và các tế bào khối u người được cấy vào mảnh ghép da, cho phép các tế bào khối u phát triển trong môi trường có tế bào xoma và hệ mạch người (Tahtis et al., 2003, Mol. Cancer Ther. 2:229-737). Các mẫu da người đã thu được từ mô bao quy đầu trẻ sơ sinh và được ghép mô trên hông bên của chuột NOD-SCID. Sau sự thiết lập của mảnh ghép da, các tế bào khối u ruột kết OMP-C8 được gắn nhãn luciferaza (20.000 tế bào) được tiêm bên trong da vào trong da người. Sự phát triển khối u được giám sát bằng cách tạo ảnh phát quang sinh học nhờ sử dụng hệ tạo ảnh IVIS (Caliper Life Sciences, Mountain View, CA). Các khối u được cho phát triển cho đến khi chúng đạt tới 1,2 x 10^6 photon mỗi giây. Chuột mang khối u (n = 6 chuột/nhóm) được sắp xếp ngẫu nhiên và được điều trị bằng Ab đối chứng, kháng thể kháng hDLL4 21M18, kháng thể kháng VEGF bevacizumab, hoặc kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18. Các động vật được điều trị một lần mỗi tuần và các kháng thể được cung cấp trong màng bụng ở mức liều 25mg/kg. Sự phát triển khối u được giám sát bởi kỹ thuật tạo ảnh phát quang sinh học vào các ngày chỉ định.

Như được thể hiện ở Fig. 5, cả kháng thể kháng hDLL4 21M18 và kháng thể kháng VEGF bevacizumab đã ức chế sự phát triển khối u trong kiểu khối u

ghép mô/người da người này. Hơn thế nữa, kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/đặc hiệu kép kháng DLL4 219R45-MB-21M18 là hiệu quả hơn hoặc kháng thể kháng DLL4 hoặc kháng thể kháng VEGF trơ trụi. Dữ liệu này biểu thị sự hữu ích của việc tạo đích DLL4 và VEGF đồng thời với kháng thể đặc hiệu kép.

Ví dụ 6

Tình trạng hình thành của các tế bào khối u tuyến tụy OMP-PN8 sau khi điều trị bằng các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4

Chuột mang các khối u tuyến tụy OMP-PN8 được điều trị bằng kháng thể đối chứng (15 mg/kg), kháng thể kháng hDLL4 21M18 (15 mg/kg), kháng thể kháng VEGF bevacizumab (15 mg/kg), hoặc các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18 hoặc 219R45-MB-21R79 (30 mg/kg) có hoặc không có gemcitabin (70 mg/kg). Sau bốn tuần điều trị, các khối u được thu hoạch, được xử lý thành các dịch huyền phù tế bào riêng lẻ và các tế bào khối u người được tinh chế bằng sự tan máu từ tính miễn dịch của các tế bào họ chuột. 90 tế bào khối u người từ mỗi nhóm điều trị được truyền cho nhóm chuột mới (n = 10 chuột/nhóm). Các khối u được cho phát triển trong 55 ngày không có bất kỳ sự điều trị nào và các thể tích khối u được đo bằng các compa đo ngoài điện tử.

Fig. 6 thể hiện thể tích khối u từ cá thể chuột ở mỗi nhóm. Các tế bào được phân lập từ chuột được điều trị bằng kháng hDLL4 kháng thể 21M18 đã giảm đáng kể tình trạng hình thành, 5 trong 10 chuột có các khối u, khi so với các tế bào được phân lập từ chuột được điều trị bằng kháng thể đối chứng trong đó 9 trong 10 chuột có các khối u. Việc giảm về tần suất phát triển khối u cho thấy việc giảm về tần suất tế bào gốc bệnh ung thư. Ngược lại, việc điều trị bevacizumab đã dẫn tới việc không giảm về tần suất phát triển khối u, 10 trong 10 chuột có các khối u. Tương tự với bevacizumab, điều trị bằng gemcitabin như một tác nhân duy nhất không có hiệu quả về tần suất phát triển khối u khi 10

trong 10 chuột có các khối u. Cả kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18 và 219R45-MB-21R79 giảm tần suất phát triển khối u (5 trong 10 chuột có các khối u và 4 trong 10 chuột có các khối u, tương ứng). Việc điều trị kết hợp bằng gemcitabin đã cho thấy việc không có hiệu quả về tần suất phát triển khối u. Dữ liệu này cho thấy rằng việc tạo đích DLL4 giảm tần suất tế bào gốc bệnh ung thư trong khi việc tạo đích VEGF trơ trụi không có. Quan trọng là, dữ liệu này cho thấy rằng hoạt tính kháng CSC của kháng thể kháng DLL4 được giữ lại trong kháng thể đặc hiệu kép.

Ví dụ 7

ELISA kháng thể đặc hiệu kép

VEGF (ATGEN, Hàn Quốc) được phủ trên các tấm Nunc maxisorb ở 2ug/ml (100µl/giếng) và được ủ qua đêm ở 2-8°C. Các kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R79, 219R45-MB-21R75, và 219R45-MB-21R83 được pha loãng trong đệm ngăn chặn (1x PBS, 0,1% gelatin, 0,1% Polysorbat-20, pH 7,4) có chứa 2µg/ml biotin-DLL4-hFc. Các kháng thể được pha loãng theo chu kỳ 3 lần từ 500ng/ml đến 0,008ng/ml. Các mẫu kháng thể được ủ trong 2 giờ trong đệm ngăn chặn có chứa biotin-DLL4-hFc. Sau khi ủ, các mẫu kháng thể được truyền cho đĩa thử nghiệm được phủ VEGF (100 ul/giếng) và được ủ trong 2 giờ. Streptavidin-HRP (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) được bổ sung vào mỗi giếng và được ủ trong 1 giờ. Thể nền TMB được bổ sung vào các giếng với sự phát triển màu 10 phút và phản ứng được kết thúc với 2M axit sulfuric. Chất hút bám được đọc ở 450–650nm và dữ liệu được phân tích nhờ sử dụng bộ điều chỉnh 4 thông số trong Chương trình phân tích Softmax Pro (Molecular Devices, Sunnyvale, CA).

Fig. 7 thể hiện các đường cong chuẩn độ của các kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18 (các hình tròn rỗng), 219R45-MB-21R79 (các hình vuông rỗng), 219R45-MB-21R75 (các tam giác rỗng), và 219R45-MB-21R83 (các hình thoi rỗng) khi so với kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4

tham chiếu (các hình tròn đặc). Các hiệu lực tương đối cho các kháng thể đặc hiệu kép khi so với kháng thể đặc hiệu kép tham khảo được thể hiện ở Bảng 5.

Bảng 5

Kháng thể	Hiệu lực tương đối (%)
219R45-MB-21M18	67
219R45-MB-21R79	501
219R45-MB-21R75	422
219R45-MB-21R83	222

Kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21R79 có hiệu lực nhất, hơn khoảng 7 lần hiệu lực so với 219R45-MB-21M18, mà phản ánh ái lực cao hơn của vị trí gắn kết kháng nguyên 21R79.

Ví dụ 8

Sản xuất kháng thể đặc hiệu kép

Các kháng thể đặc hiệu kép được tạo ra nhờ sử dụng dòng tế bào GS-CHO. Các tế bào CHOK1SV (Lonza Biologics) được truyền nhiễm nhờ thẩm thấu điện với các gen quan tâm được ghép cặp với glutamin synthetaza (GS) như vật đánh dấu được chọn. Các chất gây nhiễm và các lớp phụ được che đối với khả năng sản xuất kháng thể và các sản phẩm cao được chọn cho việc sản xuất tăng thêm. Các tế bào được phát triển nhờ sử dụng quy trình nuôi theo mẻ và các bể phản ứng sinh học theo mẻ. Kháng thể tích lũy trong chất lỏng nuôi cấy tế bào được thu hoạch (HCCF) được phân lập và được tinh chế nhờ sử dụng sắc ký các kỹ thuật.

Các dòng tế bào kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18.010.017 và 219R45-MB-21R79.017.003 được nuôi cấy trong các bể phản ứng sinh học bình có bộ khuấy 5L trong 14 ngày. Dòng tế bào 219R45-MB-21M18.010.017 được

tạo ra độ chuẩn kháng thể cuối cùng là 3,0g/L và dòng tế bào 219R45-MB-21R79.017.003 được tạo ra độ chuẩn kháng thể cuối cùng là 0,8g/L. Các dòng tế bào 219R45-MB-21R75.101 và 219R45-MB-21R83.113 được nuôi cấy trong các bể phản ứng sinh học 25L WAVE (GE Healthcare) nhờ sử dụng quy trình bể cung cấp đạt được các độ chuẩn kháng thể cuối cùng là 0,4g/L. Các dòng tế bào kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18AG.138.007, 219R45-MB-21M18AG.038.009, 219R45-MB-21M18AG.142.002, 219R45-MB-21R79AG.072.014 và 219R45-MB-21R83AG.129.003 được nuôi cấy trong 5 L các bể phản ứng sinh học bình có bộ khuấy trong 14 - 15 ngày. Dòng tế bào 219R45-MB-21M18AG.138.007 được tạo ra độ chuẩn kháng thể cuối cùng là 1,0 g/L sau 14 ngày. Dòng tế bào 219R45-MB-21M18AG.038.009 được tạo ra độ chuẩn kháng thể cuối cùng là 1,6 g/L sau 14 ngày. Dòng tế bào 219R45-MB-21M18AG.142.002 được tạo ra độ chuẩn kháng thể cuối cùng là 2,6 g/L sau 14 ngày. Dòng tế bào 219R45-MB-21R79AG.072.014 được tạo ra độ chuẩn kháng thể cuối cùng là 2,1 g/L sau 15 ngày. Dòng tế bào 219R45-MB-21M18AG.038.009 được tạo ra độ chuẩn kháng thể cuối cùng là 2,4 g/L sau 15 ngày. Chất lỏng nuôi cấy được thu hoạch bằng phương pháp lọc từ mỗi trong số bốn dòng tế bào và được cho qua sắc ký ái lực protein. Cột protein được rửa bàng một chuỗi các đệm và các kháng thể được tách rửa nhờ sử dụng đệm tách rửa pH thấp. Đặc điểm ban đầu về sự tinh khiết của các kháng thể đặc hiệu kép được thực hiện nhờ sử dụng sắc ký ngăn chặn kích cỡ (SEC-HPLC) và tiêu cự đẳng điện (IEF).

Sắc ký ngăn chặn kích cỡ (SEC) được sử dụng để xác định sự tinh khiết của sản phẩm kháng thể. SEC là phương pháp sắc ký đã biết trong đó các phân tử (ví dụ, các kháng thể) trong dung dịch được phân tách bằngir kích cỡ của chúng. SEC có thể được sử dụng để phân biệt kháng thể tạo ra từ việc kết tập và/hoặc tinh khiết, và để xác định tỷ lệ phần trăm của sản phẩm kháng thể khi so với tổnghỗn hợp. Như được sử dụng ở đây, SEC không phân biệt giữa kháng thể đồng nhất và kháng thể đặc hiệu kép dị dime.

Tiêu cự đẳng điện mao dẫn hình ảnh (icIEF) được sử dụng để xác định sự đồng nhất và sự tinh khiết của các dimer khác loại kháng thể đặc hiệu kép. Nhờ sử dụng icIEF, các isoform tích điện của kháng thể được phân tách theo pI của chúng và dẫn đến sự phân bổ tích điện của kháng thể "dấu vân tay". Phương pháp icIEF cũng có thể đóng góp như sự xác định về sự tinh khiết bằng sự phân tách các dimer khác loại kháng thể đặc hiệu kép bằng pI phân biệt của chúng từ các sản phẩm hoặc các tạp chất đồng dime bất kỳ.

Các mẫu kháng thể đặc hiệu kép được phân tích bằng icIEF trên công cụ proteinimple ICE280 (proteinimple, Santa Clara, CA). Để phân tích, một hỗn hợp protein được đưa vào trong mao dẫn, điện áp cao được áp dụng ngang mao dẫn và các chất điện ly lưỡng tính gradien thiết lập pH tuyến tính dọc theo chiều dài của mao dẫn. Dưới ảnh hưởng của trường điện từ, các vật ghi pI cao và hỗn hợp protein cả di trú chiều dài của mao dẫn cho đến khi trị số pH đạt tới trong đó điện tích mạng là 0. Tập trung một lần nữa, dụng cụ ICE280 sử dụng sự dò tìm nhiệt toàn bộ cột với máy ảnh 280-nm UV cho mẫu giám sát của các isoform protein trong mao dẫn. Điện di đồ tạo thành được định cỡ nhờ sử dụng các vật ghi pI bên trong và được tích hợp để thiết lập các vùng tỷ lệ tương ứng của các dạng isoform đã tích điện khác nhau của hỗn hợp protein. Các profil tích điện từ một vài kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 được thể hiện ở Fig. 8. Đối với thử nghiệm này, các nước giải hấp protein được pha loãng bằng nước MilliQ đến nồng độ 6,6mg/ml. Tổng số 18µl của mẫu được trộn lẫn với 100µL của 8M urê, 70µl của 0,5% metylxenluloza, 8µL của 3-10 Pharmalyt, 2µl của vật đánh dấu pI cao và 2µl của vật đánh dấu pI thấp đến thể tích cuối là 200µl. Bảng 6 thể hiện tỷ lệ phần trăm của kháng thể tạo ra từ các dòng tế bào 219R45-MB-21M18.010.017, 219R45-MB-21R79.017.002, 219R45-MB-21R75.101, 219R45-MB-21R83.113, 219R45-MB-21M18.138.007, 219R45-MB-21M18AG.038.009, 219R45-MB-21M18AG.142.002, 219R45-MB-21R79AG.072.014, và 219R45-MB-21R83AG.129.003 sau khi sắc ký ái lực Protein A như được xác định bằng SEC-HPLC. Bảng 6 cũng thể hiện tỷ lệ phần

trăm của các kháng thể dị dime từ các dòng tế bào 219R45-MB-21M18.010.017, 219R45-MB-21R79.017.002, 219R45-MB-21R75.101, 219R45-MB-21R83.113, 219R45-MB-21M18.138.007, 219R45-MB-21M18AG.038.009, 219R45-MB-21M18AG.142.002, 219R45-MB-21R79AG.072.014, và 219R45-MB-21R83AG.129.003 sau khi sắc ký ái lực Protein A như được phân tích bằng icIEF.

Bảng 6

Dòng tế bào	Độ chuẩn kháng thể (g/L)	Sự tinh khiết bằng SEC (%)	Sự tinh khiết bằng IEF (% dimer khác loại)
219R45-MB-21M18.010.017	3,0	73,9	47,2
219R45-MB-21R79.017.002	0,8	79,3	72,5
219R45-MB-21R75.101	0,4	91,2	84,9
219R45-MB-21R83.113	0,4	91,8	91,4
219R45-MB-21M18.138.007	1,0	92,6	95,8
219R45-MB-21M18AG.038.009	1,6	89,6	89,0
219R45-MB-21M18AG.142.002	2,6	91,2	84,6
219R45-MB-21R79AG.072.014	2,1	87,8	84,9
219R45-MB-21R83AG.129.003	2,4	89,4	90,5

Sự tinh khiết của sản phẩm kháng thể đặc hiệu kép còn có thể được tăng cường bằng các bước sắc ký bổ sung. Sau khi sắc ký ái lực Protein A, phần giải hấp được giữ lại ở pH thấp trong tối thiểu 60 phút ở nhiệt độ phòng để không

hoạt hóa virut. Dung dịch kháng thể (giải hấp cột Protein A, pH được điều chỉnh) được nập trên cột trao đổi ion mạnh. Các tạp chất liên quan đến sản phẩm- và quy trình- được gắn kết với gốc sắc ký trao đổi ion và phần qua dòng (sản phẩm kháng thể) được gom. Trong một vài trường hợp, sự tinh khiết còn được cải thiện bằng việc sử dụng nhựa sắc ký đa phương thức như xeramic canxi photphat hydrat hóa trong tự nhiên. Trong một vài trường hợp, sự trao đổi đệm của sản phẩm kháng thể được đảm bảo nhờ sử dụng các kỹ thuật siêu lọc và lọc có pha loãng, sau khi các tá dược được bổ sung. Kháng thể được tạo công thức được lọc vô trùng trong bình chứa vô trùng và được chứa lạnh hoặc được làm lạnh. Sự tinh khiết của các kháng thể đặc hiệu kép được đánh giá lại nhờ sử dụng SEC-HPLC và IEF.

Bảng 7

Dòng tế bào	Tinh chế bằng SEC (%)	Tinh chế bằng IEF (% dimer khác loại)
219R45-MB-21M18.010.017	98,9	98,5
219R45-MB-21R79.017.002	95,1	99,3
219R45-MB-21R75.101	97,2	98,2
219R45-MB-21R83.113	95,3	91,4
219R45-MB-21M18.138.007	98,1	100
219R45-MB-21M18AG.142.002	99,6	100
219R45-MB-21R79AG.072.014	98,2	100
219R45-MB-21R83AG.129.003	998,6	100

Như được thể hiện ở Bảng 7, sự tinh chế các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 với các bước sắc ký bổ sung sau Protein A dẫn tới sự phân lập về các sản phẩm kháng thể là 95% đến khoảng 99% tinh khiết như được phân tích bằng SEC. Phân tích bằng IEF đã xác định rằng kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 được tinh chế từ dòng tế bào 219R45-MB-21M18.010.017 là 98,5% dị dime, kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 từ dòng tế bào 219R45-MB-21R79.017.002 là 99,3% dị dime, kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 từ dòng tế bào 219R45-MB-21R75.101 là 98,2% dị dime, kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 từ dòng tế bào 219R45-MB-21R83.113 là 91,4% dị dime, kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 từ dòng tế bào 219R45-MB-21M18.138.007 là 100% dị dime, kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 từ dòng tế bào 219R45-MB-21M18AG.142.002 là 100% dị dime, kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 từ dòng tế bào 219R45-MB-21R79AG.072.014 là 100% dị dime, và kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 từ dòng tế bào 219R45-MB-21R83AG.129.003 là 100% dị dime. Các kết quả này đã biểu thị rằng bước sắc ký trao đổi ion đã tăng đáng kể tỷ lệ phần trăm của các kháng thể dị dime khi so với sự tinh chế bằng sắc ký trơ trụi Protein A. Sự bổ sung của bước sắc ký đa phương thức như canxi photphat hydrat hóa trong tự nhiên xeramic cũng có thể cải thiện sự tinh khiết đơn phân (như được xác định bằng SEP-HPLC).

Ví dụ 9

Ức chế phát triển khối u ruột kết OMP-C8 mô hình tái phát khối u *in vivo*

Các dịch huyền phù tế bào riêng rẽ của các sự ghép dị chủng khối u ruột kết OMP-C8 (20.000 tế bào) được tiêm dưới da ở các bên hông của chuột 6-8 tuần tuổi NOD/SCID. Các khối u được cho phát triển trong 33 ngày cho đến khi chúng đạt tới thể tích trung bình là 240mm^3. Chuột được sắp xếp ngẫu nhiên (n = 10 cho mỗi nhóm) và được điều trị bằng kháng hDLL4 kháng thể 21M18, kháng thể kháng VEGF bevacizumab, sự kết hợp của các kháng thể 21M18 và

bevacizumab, kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18, kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21R79, hoặc kháng thể đối chứng, tất cả kết hợp với irinotecan. Các kháng thể và irinotecan được tạo liều hàng tuần bằng cách tiêm trong khoang trong màng bụng. Các kháng thể 21M18 và bevacizumab được tạo liều ở 7,5mg/kg, các kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18 và 219R45-MB-21R79 được tạo liều ở 15mg/kg, và irinotecan được tạo liều ở 45mg/kg. Irinotecan được tạo liều trong bốn tuần, ở thời điểm mà, nó bị gián đoạn và việc cung cấp của các kháng thể được tiếp tục. Sự phát triển khối u được giám sát và các thể tích khối u được đo bằng các compa đo ngoài điện tử ở các thời điểm chỉ định. Dữ liệu được biểu hiện như giá trị trung bình ± S.E.M.

Như được thể hiện ở Fig. 9, kháng thể kháng hDLL4 21M18 được tiếp tục ức chế sự phát triển khối u sau khi điều trị bằng irinotecan được kết thúc. Ngược lại, kháng thể kháng VEGF bevacizumab không có khả năng ức chế sự tái phát triển của khối u sau khi irinotecan đã được kết thúc. Sự kết hợp của kháng thể kháng DLL4 21M18 và kháng thể kháng VEGF bevacizumab dẫn tới sự ức chế mạnh nhất của sự tái phát triển khối u hơn cả tác nhân trơ trụi. Hơn thế nữa, kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18 có hiệu quả ức chế sự tái phát triển khối u hơn hỗn hợp của hai kháng thể.

Ví dụ 10

Sự giảm tình trạng hình thành của các khối u ruột kết OMP-C8

Các dịch huyền phù tế bào riêng rẽ của các sự ghép dị chủng khối u ruột kết OMP-C8 (20.000 tế bào) được tiêm dưới da ở các bên hông của chuột 6-8 tuần tuổi NOD/SCID. Các khối u được cho phát triển trong 33 ngày cho đến khi chúng đạt tới thể tích trung bình là 300mm^3. Chuột được sắp xếp ngẫu nhiên (n = 5 cho mỗi nhóm) và được điều trị bằng kháng thể kháng DLL4 21M18, kháng thể kháng VEGF bevacizumab, sự kết hợp của các kháng thể 21M18 và bevacizumab, kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-

21M18, kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21R79, hoặc kháng thể đối chứng, hoặc kết hợp với irinotecan hoạc không có irinotecan. Các kháng thể và irinotecan được tạo liều hàng tuần bằng cách tiêm vào trong khoang trong màng bụng. Các kháng thể 21M18 và bevacizumab được tạo liều ở 7,5mg/kg, các kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18 và 219R45-MB-21R79 được tạo liều ở 15mg/kg, và irinotecan được tạo liều ở 45mg/kg. Các khối u được thu hoạch sau khi 4 tuần, được xử lý thành các dịch huyền phù tế bào riêng rẽ, và các tế bào khối u người được phân lập. 150 tế bào khối u từ mỗi nhóm thí nghiệm được tiêm dưới da trong nhóm có số thống kê tương tự mới của chuột (n = 10 cho mỗi nhóm) và các khối u được cho phát triển không có sự điều trị. Sự phát triển khối u được giám sát và các thể tích khối u được đo bằng các compa đo ngoài điện tử.

Các thể tích khối u riêng rẽ ở ngày 68 được thể hiện ở Fig. 10. Kháng thể kháng DLL4 21M18, sự kết hợp của 21M18 với kháng thể kháng VEGF bevacizumab, các kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18 và 219R45-MB-21R79, và tất cả irinotecan được giảm tần suất phát triển khối u như các tác nhân đơn. Ngược lại, bevacizumab kháng VEGF như một tác nhân đơn không có hiệu quả về tần suất phát triển khối u khi so với kháng thể đối chứng. Trong các nhóm được điều trị bằng sự kết hợp của irinotecan và các kháng thể, kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18 có hiệu quả mạnh nhất để giảm tần suất phát triển khối u.

Ví dụ 11

Sự ức chế của sự phát triển khối u ruột kết OMP-C8 *in vivo*

Các dịch huyền phù tế bào riêng rẽ của các sự ghép dị chủng khối u ruột kết OMP-C8 (50,000 các tế bào) được tiêm dưới da ở các bên hông của chuột 6-8 tuần tuổi NOD/SCID. Các khối u được cho phát triển trong 21 ngày cho đến khi chúng đạt tới thể tích trung bình là 80mm^3. Chuột được sắp xếp ngẫu nhiên (n = 8 cho mỗi nhóm) và được điều trị bằng kháng thể kháng DLL4 21M18,

kháng thể kháng VEGF bevacizumab, các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R75, 219R45-MB-21R79, 219R45-MB-21R83, hoặc kháng thể đối chứng, hoặc trơ trụi hoặc kết hợp với irinotecan. Các kháng thể và irinotecan được tạo liều hàng tuần bằng cách tiêm vào khoang trong màng bụng. Bevacizumab và các kháng thể đặc hiệu kép 219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R75, 219R45-MB-21R79, và 219R45-MB-21R83 được tạo liều ở 15mg/kg, và irinotecan được tạo liều ở 7,5mg/kg. Sự phát triển khối u được giám sát và các thể tích khối u được đo bằng các compa đo ngoài điện tử ở các thời điểm chỉ định. Dữ liệu được biểu hiện như giá trị trung bình ± S.E.M.

Như là các tác nhân riêng lẻ, toàn bộ bốn kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 đã thể hiện hoạt tính kháng khối u cải thiện liên quan đến kháng thể kháng VEGF bevacizumab. Kết hợp với irinotecan, việc điều trị bằng các kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF/kháng DLL4 219R45-MB-21M18 và 219R45-MB-21R83 dẫn tới việc ức chế sự phát triển khối u mạnh nhất (Fig. 11).

Tiếp sau giai đoạn điều trị, các phần khối u được điều chế và được phân tích bằng cách nhuộm màu hematoxylin và eozin (H&E. Các khối u được điều trị bằng 219R45-MB-21M18 và 219R45-MB-21R83 kết hợp với irinotecan đã thể hiện các vùng nhuộm màu hồng đậm cung cấp các bằng chứng về sự hóa vôi rộng. Đây là đặc trưng của mô khối u hoại tử cao.

Ví dụ 12

Nghiên cứu độc tính không GLP của các kháng thể đặc hiệu kép ở các khỉ xynomolgus

Nghiên cứu độc tính không GLP ở các khỉ xynomolgus được bắt đầu để đánh giá và so sánh profil độc tính của một vài kháng thể đặc hiệu kép. Các động vật được tạo liều với 0 mg/kg (đối chứng), 5 mg/kg (liều thấp), hoặc 30 mg/kg (liều cao) của kháng thể đặc hiệu kép kháng DLL4/kháng VEGF (219R45-MB-21M18, 219R45-MB-21R83, hoặc 219R45-MB-21R79) hằng 2

tuần nhờ sự truyền IV. 3 con khỉ đực và 3 khỉ cái được tạo liều ở mỗi nhóm. Sau 15 tuần, các trọng lượng cơ thể trung bình là thấp hơn ở các động vật tiếp nhận liều cao là 219R45-MB-21R79 hơn ở các động vật được tiếp nhận liều cao của hoặc 219R45-MB-21R18 hoặc 219R45-MB-21R83. Ngoài ra, các mức albumin huyết thanh trung bình là thấp hơn ở các động vật được tiếp nhận 219R45-MB-21R79 hơn ở các động vật được tiếp nhận hoặc 219R45-MB-21R18 hoặc 219R45-MB-21R83. Mặc dù sơ bộ về bản chất, dữ liệu sớm này đề xuất rằng 219R45-MB-21R18 và 219R45-MB-21R83 có thể có profil độc tính cao hơn khi so với 219R45-MB-21R79.

Các trình tự được đề cập trong bản mô tả

Chuỗi nặng 21M18 có trình tự tín hiệu (được gạch dưới) (SEQ ID NO:1)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAP
GQGLEWIGYISSYNGATNYNQKFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYD
YDVGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKC
CVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGS
FFLYSELTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Chuỗi nặng 21R79 có trình tự tín hiệu (được gạch dưới) (SEQ ID NO:2)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAP
GQGLEWIGYIANYNRATNYNQKFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYD
YDVGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKC
CVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGS
FFLYSELTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Chuỗi nặng 219R45 có trình tự tín hiệu (được gạch dưới) (SEQ ID NO:3)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAP
GQGLEWMGDINPSNGRTSYKEKFKRRVTLSVDKSSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCTIHYD
DKYYPLMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVER
KCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG
QPREPQVYTLPPSREKMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLKSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Chuỗi nhẹ có trình tự tín hiệu (được gạch dưới) (SEQ ID NO:4)

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASESVDNYGISFMKWF
QQKPGQPPKLLIYAASNQGSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKEVPW
TFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVADNLQS
GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Chuỗi nặng 21M18 không có trình tự tín hiệu tiên đoán (SEQ ID NO:5)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAPGQGLEWIGYISSYNGATNY
NQKFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQGTLVTVSSA
STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV
VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSELTVDKSRWQQGNV
FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Chuỗi nặng 21R79 không có trình tự tín hiệu tiên đoán (SEQ ID NO:6)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAPGQGLEWIGYIANYNRATNY
NQKFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQGTLVTVSSA
STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV
VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSELTVDKSRWQQGNV
FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Chuỗi nặng 219R45 không có trình tự tín hiệu tiên đoán (SEQ ID NO:7)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGDINPSNGRTSY
KEKFKRRVTLSVDKSSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCTIHYDDKYYPLMDYWGQGTLVTVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF
RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREKMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Chuỗi nhẹ không có trình tự tín hiệu tiên đoán (SEQ ID NO:8)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASESVDNYGISFMKWFQQKPGQPPKLLIYAASNQGSGVPDRFSGSG
SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKEVPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL
NNFYPREAKVQWKVADNLQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP
VTKSFNRGEC

Vùng biến đổi chuỗi nặng 21M18 (SEQ ID NO:9)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAPGQGLEWIGYISSYNGATNY
NQKFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQGTLVTVSS

Vùng biến đổi chuỗi nặng 21R79 (SEQ ID NO:10)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAPGQGLEWIGYIANYNRATNY
NQKFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQGTLVTVSS

Vùng biến đổi chuỗi nặng 219R45 (SEQ ID NO:11)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGDINPSNGRTSY
KEKFKRRVTLSVDKSSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCTIHYDDKYYPLMDYWGQGTLVTVSS

Vùng biến đổi chuỗi nhẹ (SEQ ID NO:12)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCRASESVDNYGISFMKWFQQKPGQPPKLLIYAASNQGS
GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKEVPWTFGGGTKVEIK

CDR1 của chuỗi nặng 21R75, 21R79, 21R83, và 21M18 (SEQ ID NO:13)

TAYYIH

CDR1 của chuỗi nặng 21R75, 21R79, 21R83, và 21M18 thay thế (SEQ ID NO:79)

AYYIH

CDR2 của chuỗi nặng 21R79 (SEQ ID NO:14)

YIANYNRATNYNQKFKG

CDR2 của chuỗi nặng 21M18 (SEQ ID NO:15)

YISSYNGATNYNQKFKG

CDR3 của chuỗi nặng 21R75, 21R79, 21R83, và 21M18 (SEQ ID NO:16)

RDYDYDVGMDY

CDR1 của chuỗi nặng 219R45 (SEQ ID NO:17)

NYWMH

CDR2 của chuỗi nặng 219R45 (SEQ ID NO:18)

DINPSNGRTSYKEKFKR

CDR3 của chuỗi nặng 219R45 (SEQ ID NO:19)

HYDDKYYPLMDY

CDR1 của chuỗi nhẹ (SEQ ID NO:20)

RASESVDNYGISFMK

CDR2 của chuỗi nhẹ (SEQ ID NO:21)

AASNQGS

CDR3 của chuỗi nhẹ (SEQ ID NO:22)

QQSKEVPWTFGG

DLL4 của người có trình tự tín hiệu (được gạch dưới) (SEQ ID NO:23)

MAAASRSASGWALLLLVALWQQRAAGSGVFQLQLQEFINERGVLASGRPCEPGCRTFFRV
CLKHFQAVVSPGPCTFGTVSTPVLGTNSFAVRDDSSGGGRNPLQLPFNFTWPGTFSLIIE
AWHAPGDDLRPEALPPDALISKIAIQGSLAVGQNWLLDEQTSTLTRLRYSYRVICSDNYY
GDNCSRLCKKRNDHFGHYVCQPDGNLSCLPGWTGEYCQQPICLSGCHEQNGYCSKPAECL
CRPGWQGRLCNECIPHNGCRHGTCSTPWQCTCDEGWGGLFCDQDLNYCTHHSPCKNGATC
SNSGQRSYTCTCRPGYTGVDCELELSECDSNPCRNGGSCKDQEDGYHCLCPPGYYGLHCE
HSTLSCADSPCFNGGSCRERNQGANYACECPPNFTGSNCEKKVDRCTSNPCANGGQCLNR
GPSRMCRCRPGFTGTYCELHVSDCARNPCAHGGTCHDLENGLMCTCPAGFSGRRCEVRTS
IDACASSPCFNLOÀI GặM NHấMCYTDLSTDTFVCNCPYGFVGSRCEFPVG

DLL4 của người không có trình tự tín hiệu tiên đoán (SEQ ID NO:24)

SGVFQLQLQEFINERGVLASGRPCEPGCRTFFRVCLKHFQAVVSPGPCTFGTVSTPVLGT
NSFAVRDDSSGGGRNPLQLPFNFTWPGTFSLIIEAWHAPGDDLRPEALPPDALISKIAIQ
GSLAVGQNWLLDEQTSTLTRLRYSYRVICSDNYYGDNCSRLCKKRNDHFGHYVCQPDGNL
SCLPGWTGEYCQQPICLSGCHEQNGYCSKPAECLCRPGWQGRLCNECIPHNGCRHGTCST
PWQCTCDEGWGGLFCDQDLNYCTHHSPCKNGATCSNSGQRSYTCTCRPGYTGVDCELELS
ECDSNPCRNGGSCKDQEDGYHCLCPPGYYGLHCEHSTLSCADSPCFNGGSCRERNQGANY
ACECPPNFTGSNCEKKVDRCTSNPCANGGQCLNRGPSRMCRCRPGFTGTYCELHVSDCAR
NPCAHGGTCHDLENGLMCTCPAGFSGRRCEVRTSIDACASSPCFNLOÀI GặM NHấMCYTDLSTDTFVC
NCPYGFVGSRCEFPVG

Vùng tận cùng N DLL4 của người (SEQ ID NO:25)

SGVFQLQLQEFINERGVLASGRPCEPGCRTFFRVCLKHFQAVVSPGPCTFGTVSTPVLGT
NSFAVRDDSSGGGRNPLQLPFNFTWPGTFSLIIEAWHAPGDDLRPEALPPDALISKIAIQ

GSLAVGQN

Miền DSL DLL4 của người (SEQ ID NO:26)

WLLDEQTSTLTRLRYSYRVICSDNYYGDNCSRLCKKRNDHFGHYVCQPDGNLSCLPGWTG
EYC

VEGF của người-A có trình tự tín hiệu (được gạch dưới)(SEQ ID NO:27)

MNFLLSWVHWSLALLLYLHHAKWSQAAPMAEGGGQNHHEVVKFMDVYQRSYCHPIETLVD
IFQEYPDEIEYIFKPSCVPLMRCGGCCNDEGLECVPTEESNITMQIMRIKPHQGQHIGEM
SFLQHNKCECRPKKDRARQEKKSVRGKGKGQKRKRKKSRYKSWSVYVGARCCLMPWSLPG
PHPCGPCSERRKHLFVQDPQTCKCSCKNTDSRCKARQLELNERTCRCDKPRR

VEGF của người-A không có trình tự tín hiệu tiên đoán (SEQ ID NO:28)

APMAEGGGQNHHEVVKFMDVYQRSYCHPIETLVDIFQEYPDEIEYIFKPSCVPLMRCGGC
CNDEGLECVPTEESNITMQIMRIKPHQGQHIGEMSFLQHNKCECRPKKDRARQEKKSVRG
KGKGQKRKRKKSRYKSWSVYVGARCCLMPWSLPGPHPCGPCSERRKHLFVQDPQTCKCSC
KNTDSRCKARQLELNERTCRCDKPRR

Trình tự nucleotit chuỗi nặng 21M18 (13B Phiên bản 1) (SEQ ID NO:29)

ATGAAGCACCTGTGGTTCTTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGGTGCTGTCCCAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATCTCC
TGCAAGGCCTCCGGCTACTCCTTCACCGCTTACTACATCCACTGGGTCAAGCAGGCCCCT
GGGCAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTCCTCCTACAACGGCGCCACCAACTACAAC
CAGAAATTCAAGGGCCGCGTGACCTTCACCACCGACACCTCCACCTCCACCGCCTACATG
GAACTGCGGTCCCTGCGGAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTACGAC
TACGACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCCTCTGCCTCC
ACCAAGGGCCCATCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGCTCCCGGTCCACCTCTGAGTCTACC
GCCGCTCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTGTCCTGGAAC
TCTGGCGCCCTGACCTCTGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTG
TACTCCCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC
TGTAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGCGGAAGTGC
TGCGTGGAGTGCCCTCCTTGTCCTGCTCCTCCTGTGGCTGGCCCTTCTGTGTTCCTGTTC
CCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTG
GTGGACGTGTCCCACGAGGACCCTGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAG
GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTG
TCTGTGCTGACCGTGGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAGGTG
TCCAACAAGGGCCTGCCTGCCCCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCT
CGCGAGCCTCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCGGGAAGAAATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGGAGGGCTTCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCT

AACGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACCACCCCTCCTATGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCCTGTACTCCGAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC
TCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTG
TCTCCTGGCAAGTAG

Trình tự nucleotit chuỗi nặng 21R79 (13B Phiên bản 1) (SEQ ID NO:30)

ATGAAGCACCTGTGGTTCTTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGGTGCTGTCCCAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATCTCC
TGCAAGGCCTCCGGCTACTCCTTCACCGCCTACTACATCCACTGGGTGAAACAGGCACCA
GGCCAGGGACTGGAATGGATCGGCTATATCGCCAACTACAACCGGGCCACCAACTACAAC
CAGAAATTCAAGGGCCGCGTGACCTTCACCACCGACACCTCCACCTCCACAGCCTACATG
GAACTGCGGTCCCTGCGGAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTACGAC
TACGACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCCTCCGCCTCC
ACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGCTCCCGGTCCACCTCTGAGTCTACC
GCCGCTCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTGTCCTGGAAC
TCTGGCGCCCTGACCTCTGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTG
TACTCCCTGTCTAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCTCCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC
TGTAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGCGGAAGTGC
TGCGTGGAGTGCCCTCCTTGTCCTGCTCCTCCTGTGGCTGGCCCTTCTGTGTTCCTGTTC
CCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGGTG
GTGGACGTGTCCCACGAGGACCCTGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAG
GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTG
TCTGTGCTGACCGTGGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAGGTG
TCCAACAAGGGCCTGCCTGCCCCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCT
CGCGAGCCTCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCGGGAAGAAATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGGAGGGCTTCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCT
AACGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACCACCCCTCCTATGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCCTGTACTCCGAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC
TCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTG
TCTCCTGGCAAGTAG

Trình tự nucleotit chuỗi nặng 21R79 (13B Phiên bản 2) (SEQ ID NO:31)

ATGAAGCACCTATGGTTCTTTCTATTATTAGTGGCCGCTCCCCGTTGGGTGTTATCGCAG
GTTCAGCTAGTTCAGTCTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAATAAGT
TGCAAGGCATCCGGTTACTCGTTCACCGCATACTATATCCACTGGGTTAAACAGGCACCA
GGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCGCTAATTATAATAGAGCTACAAACTATAAC
CAAAAATTCAAAGGACGCGTGACTTTCACAACTGACACCTCAACCTCGACAGCATACATG
GAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGCGCTAGAGATTATGAT
TATGATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCATCC
ACTAAGGGACCATCCGTGTTCCCTTTGGCCCCTTGCTCTCGTTCGACCTCTGAATCGACT

GCCGCTCTGGGATGCCTCGTGAAAGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTTTCCTGGAAC
TCGGGCGCCCTAACCTCTGGCGTGCACACATTCCCTGCCGTGCTACAGTCTTCTGGCCTA
TACTCTTTATCTTCGGTTGTTACCGTACCTTCTTCTAACTTCGGAACCCAAACTTACACC
TGTAACGTAGACCACAAGCCTTCGAACACCAAGGTGGACAAGACTGTTGAGCGAAAGTGC
TGCGTTGAGTGCCCTCCATGTCCTGCACCTCCTGTGGCTGGCCCTTCTGTGTTCCTGTTC
CCTCCAAAACCTAAGGACACTCTAATGATCTCTCGGACTCCTGAGGTGACTTGCGTGGTT
GTGGACGTGTCCCACGAGGACCCTGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGAGTCGAG
GTGCACAATGCAAAGACCAAGCCTCGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTT
TCTGTGTTGACCGTTGTGCACCAAGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAGGTG
TCCAACAAGGGCCTGCCTGCCCCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCT
CGCGAGCCTCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCGGGAAGAAATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGGAGGGCTTCTACCCTTCCGACATCGCCGTTGAGTGGGAGTCT
AACGGACAGCCGGAGAACAACTACAAGACTACGCCTCCAATGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCCTGTACTCCGAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC
TCATGCTCCGTAATGCACGAAGCCTTGCACAATCACTACACTCAAAAGTCCCTATCCTTA
TCTCCTGGCAAGTAG

Trình tự nucleotit chuỗi nặng 219R45 (13A Phiên bản 1) (SEQ ID NO:32)

ATGAAGCATCTGTGGTTTTTCCTGTTGCTCGTGGCGGCACCCAGATGGGTGTTGTCCCAA
GTGCAGCTGGTCCAGAGCGGGGCTGAGGTGAAGAAACCCGGAGCAAGCGTAAAAGTATCG
TGTAAGGCCTCGGGGTACACGTTTACAAACTACTGGATGCATTGGGTGCGGCAGGCTCCG
GGACAGGGGTTGGAATGGATGGGTGACATTAACCCCTCAAATGGCAGAACATCATATAAG
GAAAAGTTCAAACGCCGCGTCACACTCTCCGTGGACAAGTCAAGCTCGACTGCGTACATG
GAACTTTCGTCGCTGAGGTCGGAGGACACGGCAGTGTACTTTTGCACCATCCATTATGAT
GACAAGTATTACCCTCTGATGGATTATTGGGGTCAGGGTACGTTGGTCACCGTCTCCAGC
GCGTCGACGAAAGGTCCCTCGGTATTTCCCCTCGCCCCCTGCTCGAGGTCGACATCCGAA
TCAACAGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAAGACTACTTCCCAGAGCCGGTAACGGTGTCG
TGGAACTCGGGAGCGCTTACGTCCGGAGTCCACACATTTCCGGCGGTACTGCAATCCTCG
GGACTGTATTCGTTGTCGTCAGTGGTGACTGTCCCGTCCTCCAATTTCGGGACTCAGACC
TATACGTGCAACGTCGACCACAAACCCTCAAACACCAAGGTGGATAAGACAGTGGAGCGC
AAGTGCTGCGTGGAGTGTCCCCCGTGTCCGGCACCCCCTGTCGCCGGACCCTCAGTCTTT
TTGTTTCCGCCGAAGCCCAAAGATACACTCATGATCTCAAGAACGCCCGAGGTAACATGC
GTGGTGGTCGATGTAAGCCACGAGGATCCAGAAGTACAATTCAATTGGTATGTAGACGGG
GTCGAGGTCCATAACGCAAAGACGAAACCGAGGGAAGAGCAGTTCAATTCGACTTTCCGG
GTGGTGTCGGTGCTTACAGTCGTACATCAGGACTGGTTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGT
AAAGTATCGAATAAGGGCCTTCCAGCGCCGATTGAAAAGACCATCTCCAAGACCAAAGGA
CAGCCACGAGAGCCGCAAGTCTATACGCTTCCTCCCAGCCGAGAAAAGATGACTAAAAAC
CAGGTATCGCTTACGTGTCTCGTCAAGGGTTTCTACCCTTCGGACATCGCGGTGGAATGG
GAGAGCAATGGACAACCGGAAAACAACTACAAGACGACACCGCCTATGTTGAAAAGCGAT
GGATCGTTTTTCCTCTATTCGAAACTCACGGTCGATAAGTCACGGTGGCAGCAGGGGAAT
GTGTTCTCCTGTTCAGTGATGCACGAGGCGCTCCACAATCACTATACCCAGAAAAGCCTG

TCACTTTCCCCGGGAAAATGA

Trình tự nucleotit chuỗi nặng 219R45 (13A Phiên bản 2) (SEQ ID NO:33)

ATGAAGCACCTCTGGTTCTTCCTGCTCCTCGTGGCTGCTCCTCGGTGGGTCCTCTCCCAA
GTGCAGCTGGTCCAGAGCGGGGCTGAGGTGAAGAAACCCGGAGCTTCCGTCAAAGTCTCC
TGTAAGGCTTCCGGATACACCTTTACCAACTATTGGATGCACTGGGTGCGGCAGGCTCCT
GGACAAGGGCTGGAATGGATGGGAGACATCAATCCTTCCAATGGCAGAACCTCCTACAAG
GAAAAATTCAAACGGCGGGTCACACTCTCCGTGGACAAGTCTAGCTCCACAGCTTACATG
GAACTCTCCTCCCTGCGGTCCGAAGACACAGCTGTCTACTTCTGCACCATCCACTACGAC
GACAAGTACTACCCTCTGATGGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTCCAGC
GCTTCCACAAAAGGACCCTCCGTCTTTCCCCTCGCCCCCTGCTCCCGGTCCACATCCGAA
TCAACAGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAAGACTACTTCCCAGAGCCTGTCACAGTGTCC
TGGAACTCCGGAGCTCTCACATCCGGAGTCCACACATTTCCTGCTGTGCTCCAATCCTCC
GGACTGTATTCCCTCTCCTCCGTGGTGACAGTGCCTTCCTCCAATTTCGGGACACAGACC
TATACATGCAACGTGGACCACAAACCCTCCAACACCAAAGTCGATAAGACAGTGGAGCGC
AAGTGCTGCGTGGAGTGTCCCCCTTGTCCTGCTCCCCCTGTGGCTGGACCTTCCGTCTTT
CTGTTTCCTCCTAAACCTAAAGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCCGAGGTCACATGC
GTGGTCGTCGATGTGAGCCACGAGGACCCCGAAGTCCAATTTAATTGGTATGTGGACGGG
GTGGAGGTCCATAACGCTAAGACCAAACCTAGGGAAGAGCAGTTCAATTCCACTTTCCGG
GTGGTGTCCGTGCTGACCGTCGTTCATCAGGACTGGCTCAACGGGAAAGAATACAAATGC
AAAGTCTCTAATAAGGGCCTCCCTGCTCCTATTGAAAAAACAATTTCCAAAACAAAAGGA
CAACCTCGGGAGCCTCAAGTCTACACACTGCCACCTTCCCGGGAAAAAATGACAAAAAAT
CAAGTCTCCCTCACATGTCTCGTCAAGGGATTCTACCCTTCCGACATTGCTGTGGAATGG
GAATCCAATGGACAACCTGAAAACAACTACAAGACAACACCTCCTATGCTCAAAAGCGAT
GGGTCCTTTTTCCTCTATTCCAAACTCACAGTCGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGGAAT
GTGTTCTCCTGTTCCGTGATGCACGAGGCTCTCCACAATCACTATACCCAGAAAAGCCTG
TCCCTCTCCCCTGGAAAATGA

Trình tự nucleotit chuỗi nhẹ (SEQ ID NO:34)

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCCTACGGC
GACATCGTGATGACCCAGTCCCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGAGAGCGGGCCACC
ATCTCTTGCAGAGCCTCCGAGTCCGTGGACAACTACGGCATCTCCTTCATGAAGTGGTTC
CAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAAAGCTGCTGATCTACGCCGCCTCCAACCAGGGATCT
GGCGTGCCCGACCGGTTCTCTGGATCCGGCTCTGGCACCGACTTTACCCTGACCATCAGC
TCCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTCCAAAGAGGTGCCCTGG
ACCTTCGGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTC
ATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGAACCGCCTCCGTCGTGTGCCTGCTG
AACAACTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCC
GGCAACTCCCAGGAATCCGTCACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCC
TCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTG

ACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGCGAGTGTTAG

Trình tự nucleotit vùng biến đổi chuỗi nặng 21M18 (SEQ ID NO:35)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATC
TCCTGCAAGGCCTCCGGCTACTCCTTCACCGCTTACTACATCCACTGGGTCAAGCAGGCC
CCTGGGCAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTCCTCCTACAACGGCGCCACCAACTAC
AACCAGAAATTCAAGGGCCGCGTGACCTTCACCACCGACACCTCCACCTCCACCGCCTAC
ATGGAACTGCGGTCCCTGCGGAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTAC
GACTACGACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTGTCCTCT

Trình tự nucleotit vùng biến đổi chuỗi nặng 21R79 (13B) (SEQ ID NO:36)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATC
TCCTGCAAGGCCTCCGGCTACTCCTTCACCGCCTACTACATCCACTGGGTGAAACAGGCA
CCAGGCCAGGGACTGGAATGGATCGGCTATATCGCCAACTACAACCGGGCCACCAACTAC
AACCAGAAATTCAAGGGCCGCGTGACCTTCACCACCGACACCTCCACCTCCACAGCCTAC
ATGGAACTGCGGTCCCTGCGGAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTAC
GACTACGACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCCTCC

Trình tự nucleotit vùng biến đổi chuỗi nặng 21R79 (13B Phiên bản 2) (SEQ ID NO:37)

CAGGTTCAGCTAGTTCAGTCTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAATA
AGTTGCAAGGCATCCGGTTACTCGTTCACCGCATACTATATCCACTGGGTTAAACAGGCA
CCAGGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCGCTAATTATAATAGAGCTACAAACTAT
AACCAAAAATTCAAAGGACGCGTGACTTTCACAACTGACACCTCAACCTCGACAGCATAC
ATGGAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGCGCTAGAGATTAT
GATTATGATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCT

Trình tự nucleotit vùng biến đổi chuỗi nặng 219R45 (13A phiên bản 1) (SEQ ID NO:38)

CAAGTGCAGCTGGTCCAGAGCGGGGCTGAGGTGAAGAAACCCGGAGCAAGCGTAAAAGTA
TCGTGTAAGGCCTCGGGGTACACGTTTACAAACTACTGGATGCATTGGGTGCGGCAGGCT
CCGGGACAGGGGTTGGAATGGATGGGTGACATTAACCCCTCAAATGGCAGAACATCATAT
AAGGAAAAGTTCAAACGCCGCGTCACACTCTCCGTGGACAAGTCAAGCTCGACTGCGTAC
ATGGAACTTTCGTCGCTGAGGTCGGAGGACACGGCAGTGTACTTTTGCACCATCCATTAT
GATGACAAGTATTACCCTCTGATGGATTATTGGGGTCAGGGTACGTTGGTCACCGTCTCC
AGC

Trình tự nucleotit vùng biến đổi chuỗi nặng 219R45 (13A Phiên bản 2) (SEQ ID NO:39)

CAAGTGCAGCTGGTCCAGAGCGGGGCTGAGGTGAAGAAACCCGGAGCTTCCGTCAAAGTC
TCCTGTAAGGCTTCCGGATACACCTTTACCAACTATTGGATGCACTGGGTGCGGCAGGCT
CCTGGACAAGGGCTGGAATGGATGGGAGACATCAATCCTTCCAATGGCAGAACCTCCTAC
AAGGAAAAATTCAAACGGCGGGTCACACTCTCCGTGGACAAGTCTAGCTCCACAGCTTAC
ATGGAACTCTCCTCCCTGCGGTCCGAAGACACAGCTGTCTACTTCTGCACCATCCACTAC
GACGACAAGTACTACCCTCTGATGGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTCC
AGC

Trình tự nucleotit vùng biến đổi chuỗi nhẹ (SEQ ID NO:40)

GACATCGTGATGACCCAGTCCCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGAGAGCGGGCCACC
ATCTCTTGCAGAGCCTCCGAGTCCGTGGACAACTACGGCATCTCCTTCATGAAGTGGTTC
CAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAAAGCTGCTGATCTACGCCGCCTCCAACCAGGGATCT
GGCGTGCCCGACCGGTTCTCTGGATCCGGCTCTGGCACCGACTTTACCCTGACCATCAGC
TCCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTCCAAAGAGGTGCCCTGG
ACCTTCGGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG

Vùng cố định chuỗi nặng IgG1 của người (SEQ ID NO:41)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Vùng cố định chuỗi nặng IgG2 của người (SEQ ID NO:42)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFR
VVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Vùng cố định chuỗi nặng IgG3 của người (SEQ ID NO:43)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRVELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSC
DTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVVSVLTVLH

QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMHE
ALHNRFTQKSLSLSPGK

Vùng cố định chuỗi nặng IgG4 của người (SEQ ID NO:44)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

Peptit FLAG (SEQ ID NO:45)

DYKDDDDK

Chuỗi nặng 21R79 gốc có chuỗi không thay đổi trình tự tín hiệu được gạch dưới (SEQ ID NO:46)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAP
GQGLEWIGYIANYNRATNYNQKFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYD
YDVGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKC
CVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Chuỗi nặng 219R45 gốc có trình tự tín hiệu được gạch dưới (SEQ ID NO:47)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAP
GQGLEWMGDINPSNGRTSYKEKFKRRVTLSVDKSSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCTIHYD
DKYYPLMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVER
KCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG
QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Chuỗi nặng 21R79 gốc không có trình tự tín hiệu tiên đoán (SEQ ID NO:48)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAPGQGLEWIGYIANYNRATNY

NQKFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQGTLVTVSSA
STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV
VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV
FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Chuỗi nặng 219R45 gốc không có trình tự tín hiệu (SEQ ID NO:49)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMHWVRQAPGQGLEWMGDINPSNGRTSY
KEKFKRRVTLSVDKSSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCTIHYDDKYYPLMDYWGQGTLVTVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF
RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự nucleotit vùng biến đổi chuỗi nặng 21R79 gốc (SEQ ID NO:50)

CAAGTGCAGCTCGTGCAGTCAGGGGCGGAGGTCAAGAAGCCGGGAGCATCGGTCAAAATC
TCGTGTAAGGCCTCGGGGTACTCCTTTACTGCGTATTACATCCATTGGGTAAAGCAGGCG
CCAGGGCAGGGATTGGAGTGGATTGGGTATATCGCCAATTACAATCGCGCGACGAACTAT
AACCAGAAATTCAAGGGAAGGGTGACCTTCACAACGGATACATCGACATCGACGGCCTAC
ATGGAACTTCGCAGCCTGCGATCAGATGACACGGCGGTATACTATTGCGCAAGAGATTAC
GACTATGATGTGGGAATGGACTATTGGGGTCAAGGTACTCTGGTCACAGTCTCCTCC

Trình tự nucleotit vùng biến đổi chuỗi nặng 219R45 gốc (SEQ ID NO:51)

CAGGTACAGCTCGTGCAATCGGGGGCAGAGGTCAAAAAGCCCGGTGCGTCGGTAAAGGTC
AGCTGCAAAGCGTCAGGTTATACATTCACGAATTACTGGATGCATTGGGTCAGACAGGCC
CCTGGACAAGGGCTTGAATGGATGGGAGATATCAATCCGTCGAACGGACGGACTAGCTAT
AAGGAGAAGTTTAAGAGGCGCGTAACACTGTCGGTGGACAAATCGTCCTCAACGGCCTAC
ATGGAGTTGTCATCCCTGCGGTCGGAAGATACGGCGGTCTACTTCTGTACTATCCACTAT
GACGATAAGTACTACCCGCTTATGGACTACTGGGGTCAGGGAACATTGGTAACCGTGAGC
AGC

Trình tự nucleotit chuỗi nặng 21R79 gốc có trình tự tín hiệu (SEQ ID NO:52)

ATGAAACACTTGTGGTTTTTCCTCTTGCTCGTGGCAGCTCCTCGGTGGGTACTTTCACAA
GTGCAGCTCGTGCAGTCAGGGGCGGAGGTCAAGAAGCCGGGAGCATCGGTCAAAATCTCG
TGTAAGGCCTCGGGGTACTCCTTTACTGCGTATTACATCCATTGGGTAAAGCAGGCGCCA

GGGCAGGGATTGGAGTGGATTGGGTATATCGCCAATTACAATCGCGCGACGAACTATAAC
CAGAAATTCAAGGGAAGGGTGACCTTCACAACGGATACATCGACATCGACGGCCTACATG
GAACTTCGCAGCCTGCGATCAGATGACACGGCGGTATACTATTGCGCAAGAGATTACGAC
TATGATGTGGGAATGGACTATTGGGGTCAAGGTACTCTGGTCACAGTCTCCTCCGCCAGC
ACCAAGGGCCCTAGCGTCTTCCCTCTGGCTCCCTGCAGCAGGAGCACCAGCGAGAGCACA
GCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAAC
TCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTC
TACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC
TGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGT
TGTGTCGAGTGCCCACCGTGCCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCTCTTC
CCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTG
GTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG
GTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTC
AGCGTCCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC
TCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCC
CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTC
AGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC
AATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTC
TCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTG
TCTCCGGGTAAA

Trình tự nucleotit chuỗi nặng 219R45 gốc có trình tự tín hiệu (SEQ ID NO:53)

ATGAAACACCTCTGGTTCTTTTTGCTCCTGGTGGCAGCTCCCCGATGGGTGCTTAGCCAG
GTACAGCTCGTGCAATCGGGGGCAGAGGTCAAAAAGCCCGGTGCGTCGGTAAAGGTCAGC
TGCAAAGCGTCAGGTTATACATTCACGAATTACTGGATGCATTGGGTCAGACAGGCCCCT
GGACAAGGGCTTGAATGGATGGGAGATATCAATCCGTCGAACGGACGGACTAGCTATAAG
GAGAAGTTTAAGAGGCGCGTAACACTGTCGGTGGACAAATCGTCCTCAACGGCCTACATG
GAGTTGTCATCCCTGCGGTCGGAAGATACGGCGGTCTACTTCTGTACTATCCACTATGAC
GATAAGTACTACCCGCTTATGGACTACTGGGGTCAGGGAACATTGGTAACCGTGAGCAGC
GCGTCCACAAAGGGCCCTAGCGTCTTCCCTCTGGCTCCCTGCAGCAGGAGCACCAGCGAG
AGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCG
TGGAACTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTACAGTCCTCA
GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACC
TACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGC
AAATGTTGTGTCGAGTGCCCACCGTGCCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTC
CTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGC
GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGC
GTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGT
GTGGTCAGCGTCCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGC
AAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGG

CAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAAC
CAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGG
GAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGAC
GGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC
GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAA

Trình tự nucleotit vùng biến đổi chuỗi nhẹ 21R79 và 219R45 gốc (SEQ ID NO:54)

GACATCGTGATGACCCAGTCCCCTGACTCCCTGGCTGTGTCCCTGGGCGAGAGGGCCACC
ATCTCCTGCAGAGCCAGCGAATCCGTCGATAATTATGGCATTTCCTTTATGAAGTGGTTC
CAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACGCTGCATCCAACCAAGGGTCC
GGGGTCCCTGACAGGTTCTCCGGCAGCGGGTCCGGAACAGATTTCACTCTCACCATCAGC
AGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCTGTCTATTACTGTCAGCAAAGCAAGGAGGTGCCTTGG
ACATTCGGAGGAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA

Trình tự nucleotit chuỗi nhẹ 21R79 và 219R45 gốc (SEQ ID NO:55)

ATGGTGCTCCAGACCCAGGTCTTCATTTCCCTGCTGCTCTGGATCAGCGGAGCCTACGGG
GACATCGTGATGACCCAGTCCCCTGACTCCCTGGCTGTGTCCCTGGGCGAGAGGGCCACC
ATCTCCTGCAGAGCCAGCGAATCCGTCGATAATTATGGCATTTCCTTTATGAAGTGGTTC
CAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACGCTGCATCCAACCAAGGGTCC
GGGGTCCCTGACAGGTTCTCCGGCAGCGGGTCCGGAACAGATTTCACTCTCACCATCAGC
AGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCTGTCTATTACTGTCAGCAAAGCAAGGAGGTGCCTTGG
ACATTCGGAGGAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCCCCCTCCGTCTTC
ATCTTCCCCCCCAGCGATGAGCAGCTGAAAAGCGGCACTGCCAGCGTGGTGTGCCTGCTG
AATAACTTCTATCCCCGGGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAAGC
GGCAACTCCCAGGAGAGCGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGC
AGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC
ACCCATCAGGGCCTGAGCAGCCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGTTGA

Chuỗi nặng 21R75 không có trình tự tín hiệu tiên đoán (SEQ ID NO:56)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAPGQGLEWIGYIAGYKDATNY
NQKFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQGTLVTVSSA
STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV
VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSELTVDKSRWQQGNV
FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Chuỗi nặng 21R75 có trình tự tín hiệu tiên đoán (được gạch dưới) (SEQ ID NO:57)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAP
GQGLEWIGYIAGYKDATNYNQKFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYD
YDVGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKC
CVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGS
FFLYSELTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Vùng biến đổi chuỗi nặng 21R75 (SEQ ID NO:58)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAPGQGLEWIGYIAGYKDATNY
NQKFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQGTLVTVSS

CDR2 của chuỗi nặng 21R75 (SEQ ID NO:59)

YIAGYKDATNYNQKFKG

Trình tự nucleotit chuỗi nặng 21R75 có trình tự tín hiệu (13B Phiên bản 1) (SEQ ID NO:60)

ATGAAGCACCTGTGGTTCTTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGGTGCTGTCCCAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATCTCC
TGCAAGGCCTCCGGCTACTCCTTCACCGCCTACTACATCCACTGGGTCAAGCAGGCCCCT
GGACAGGGCCTGGAATGGATCGGCTATATCGCCGGCTACAAGGACGCCACCAACTACAAC
CAGAAATTCAAGGGCAGAGTGACCTTCACCACCGACACCTCCACCTCTACCGCCTACATG
GAACTGCGGTCCCTGCGGAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTACGAC
TACGACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCCTCTGCTTCC
ACCAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCCCTTGCTCCAGATCCACCTCCGAGTCTACC
GCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGGAAC
TCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTG
TACTCCCTGTCCTCCGTCGTGACTGTGCCCTCCTCCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC
TGTAACGTGGACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAACGGAAGTGC
TGCGTGGAATGCCCCCCTTGTCCTGCCCCTCCTGTGGCTGGCCCTAGCGTGTTCCTGTTC
CCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTG
GTGGATGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAA
GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTG
TCCGTGCTGACCGTGGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTG

TCCAACAAGGGCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCTCTAAGACCAAGGGACAGCCC
CGCGAGCCCCAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGGAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCC
AACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCA
TTCTTCCTGTACAGCGAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC
TCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTG
AGCCCCGGCAAG

Trình tự nucleotit chuỗi nặng 21R75 có trình tự tín hiệu (13B Phiên bản 1T) (SEQ ID NO:77)

ATGAAGCACCTGTGGTTCTTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGGTGCTGTCTCAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATCTCC
TGCAAGGCCTCCGGCTACTCCTTCACCGCCTACTACATCCACTGGGTCAAGCAGGCCCCT
GGACAGGGCCTGGAATGGATCGGCTATATCGCCGGCTACAAGGACGCCACCAACTACAAC
CAGAAATTCAAGGGCAGAGTGACCTTCACCACCGACACCTCCACCTCTACCGCCTACATG
GAACTGCGGTCCCTGCGGAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTACGAC
TACGACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCCTCTGCTTCC
ACCAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCCCTTGCTCCAGATCCACCTCCGAGTCTACC
GCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCTTGGAAC
TCTGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTG
TACTCCCTGTCCTCCGTCGTGACTGTGCCCTCCTCCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC
TGTAACGTGGACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAACGGAAGTGC
TGCGTGGAATGCCCCCCTTGTCCTGCCCCTCCTGTGGCTGGCCCTAGCGTGTTCCTGTTC
CCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTG
GTGGATGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAA
GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTG
TCCGTGCTGACCGTGGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTG
TCCAACAAGGGCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCTCTAAGACCAAGGGACAGCCC
CGCGAGCCCCAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGGAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCC
AACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCA
TTCTTCCTGTACAGCGAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC
TCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTG
AGCCCCGGCAAG

Trình tự nucleotit chuỗi nặng 21R75 có trình tự tín hiệu (13B Phiên bản S1-2) (SEQ ID NO:61)

ATGAAGCACCTGTGGTTCTTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGGTGCTGTCCCAG
GTTCAGCTAGTTCAGTCTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAATAAGT
TGCAAGGCATCCGGTTACTCGTTCACCGCATACTATATCCACTGGGTTAAACAGGCACCA

GGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCGCTGGATATAAAGATGCTACAAACTATAAC
CAAAAATTCAAAGGACGCGTGACTTTCACAACTGACACCTCAACCTCGACAGCATACATG
GAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGCGCTAGAGATTATGAT
TATGATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCATCC
ACTAAGGGACCATCCGTGTTCCCTTTGGCCCCTTGCTCTCGTTCGACCTCTGAATCGACT
GCCGCTCTGGGATGCCTCGTGAAAGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTTTCCTGGAAC
TCGGGCGCCCTAACCTCTGGCGTGCACACATTCCCTGCCGTGCTACAGTCTTCTGGCCTA
TACTCTTTATCTTCGGTTGTTACCGTACCTTCTTCTAACTTCGGAACCCAAACTTACACC
TGTAACGTAGACCACAAGCCTTCGAACACCAAGGTGGACAAGACTGTTGAGCGAAAGTGC
TGCGTTGAGTGCCCTCCATGTCCTGCACCTCCTGTGGCTGGCCCTTCTGTGTTCCTGTTC
CCTCCAAAACCTAAGGACACTCTAATGATCTCTCGGACTCCTGAGGTGACTTGCGTGGTT
GTGGACGTGTCCCACGAGGACCCTGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGAGTCGAG
GTGCACAATGCAAAGACCAAGCCTCGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTT
TCTGTGTTGACCGTTGTGCACCAAGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAGGTG
TCCAACAAGGGCCTGCCTGCCCCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCT
CGCGAGCCTCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCGGGAAGAAATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGGAGGGCTTCTACCCTTCCGACATCGCCGTTGAGTGGGAGTCT
AACGGACAGCCGGAGAACAACTACAAGACTACGCCTCCAATGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCCTGTACTCCGAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC
TCATGCTCCGTAATGCACGAAGCCTTGCACAATCACTACACTCAAAAGTCCCTATCCTTA
TCTCCTGGCAAG

Chuỗi nặng 21R83 không có trình tự tín hiệu tiên đoán (SEQ ID NO:62)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAPGQGLEWIGYISNYNRATNY
NQKFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQGTLVTVSSA
STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV
VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSELTVDKSRWQQGNV
FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Chuỗi nặng 21R83 có trình tự tín hiệu tiên đoán (được gạch dưới) (SEQ ID NO:63)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAP
GQGLEWIGYISNYNRATNYNQKFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYD
YDVGMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKC
CVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP

REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGS
FFLYSELTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Vùng biến đổi chuỗi nặng 21R83 (SEQ ID NO:64)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQAPGQGLEWIGYISNYNRATNY
NQKFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYDYDVGMDYWGQGTLVTVSS

CDR2 của chuỗi nặng 21R83 (SEQ ID NO:65)

YISNYNRATNYNQKFKG

Trình tự nucleotit chuỗi nặng 21R83 có trình tự tín hiệu được gạch dưới (13B Phiên bản 1) (SEQ ID NO:66)

ATGAAGCACCTGTGGTTCTTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGGTGCTGTCCCAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATCTCC
TGCAAGGCCTCCGGCTACTCCTTCACCGCCTACTACATCCACTGGGTCAAGCAGGCCCCT
GGACAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTCCAACTACAACCGGGCCACCAATTACAAC
CAGAAATTCAAGGGCCGCGTGACCTTCACCACCGACACCTCTACCTCTACCGCCTACATG
GAACTGCGGTCCCTGCGGAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTACGAC
TACGACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCTAGCGCTTCC
ACCAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCCCTTGCTCCAGATCCACCTCCGAGTCTACC
GCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGGAAC
TCTGGCGCTCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTG
TACTCCCTGTCCTCCGTCGTGACTGTGCCCTCCTCCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC
TGTAACGTGGACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAACGGAAGTGC
TGCGTGGAATGCCCCCCTTGTCCTGCCCCTCCTGTGGCTGGCCCTAGCGTGTTCCTGTTC
CCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTG
GTGGATGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAA
GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTG
TCCGTGCTGACCGTGGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTG
TCCAACAAGGGCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCTCTAAGACCAAGGGACAGCCC
CGCGAGCCCCAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGGAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCC
AACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCA
TTCTTCCTGTACAGCGAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC
TCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTG
AGCCCCGGCAAG

Trình tự nucleotit chuỗi nặng 21R83 có trình tự tín hiệu được gạch dưới (13B Phiên bản 1T) (SEQ ID NO:78)

ATGAAGCACCTGTGGTTCTTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGGTGCTGTCTCAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATCTCC
TGCAAGGCCTCCGGCTACTCCTTCACCGCCTACTACATCCACTGGGTCAAGCAGGCCCCT
GGACAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTCCAACTACAACCGGGCCACCAATTACAAC
CAGAAATTCAAGGGCCGCGTGACCTTCACCACCGACACCTCTACCTCTACCGCCTACATG
GAACTGCGGTCCCTGCGGAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTACGAC
TACGACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCTAGCGCTTCC
ACCAAGGGCCCCTCCGTGTTTCCTCTGGCCCCTTGCTCCAGATCCACCTCCGAGTCTACC
GCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGGAAC
TCTGGCGCTCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAGTCCTCCGGCCTG
TACTCCCTGTCCTCCGTCGTGACTGTGCCCTCCTCCAACTTCGGCACCCAGACCTACACC
TGTAACGTGGACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAACGGAAGTGC
TGCGTGGAATGCCCCCCTTGTCCTGCCCCTCCTGTGGCTGGCCCTAGCGTGTTCCTGTTC
CCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTG
GTGGATGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAA
GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTG
TCCGTGCTGACCGTGGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTG
TCCAACAAGGGCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCTCTAAGACCAAGGGACAGCCC
CGCGAGCCCCAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGGAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCC
AACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCA
TTCTTCCTGTACAGCGAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC
TCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTG
AGCCCCGGCAAG

Trình tự nucleotit chuỗi nặng 21R75 có trình tự tín hiệu được gạch dưới (13B Phiên bản S1-2) (SEQ ID NO:67)

ATGAAGCACCTGTGGTTCTTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGGTGCTGTCCCAG
GTTCAGCTAGTTCAGTCTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAATAAGT
TGCAAGGCATCCGGTTACTCGTTCACCGCATACTATATCCACTGGGTTAAACAGGCACCA
GGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCGCTGGATATAAAGATGCTACAAACTATAAC
CAAAAATTCAAAGGACGCGTGACTTTCACAACTGACACCTCAACCTCGACAGCATACATG
GAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGCGCTAGAGATTATGAT
TATGATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCATCC
ACTAAGGGACCATCCGTGTTCCCTTTGGCCCCTTGCTCTCGTTCGACCTCTGAATCGACT
GCCGCTCTGGGATGCCTCGTGAAAGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTTTCCTGGAAC
TCGGGCGCCCTAACCTCTGGCGTGCACACATTCCCTGCCGTGCTACAGTCTTCTGGCCTA
TACTCTTTATCTTCGGTTGTTACCGTACCTTCTTCTAACTTCGGAACCCAAACTTACACC

TGTAACGTAGACCACAAGCCTTCGAACACCAAGGTGGACAAGACTGTTGAGCGAAAGTGC
TGCGTTGAGTGCCCTCCATGTCCTGCACCTCCTGTGGCTGGCCCTTCTGTGTTCCTGTTC
CCTCCAAAACCTAAGGACACTCTAATGATCTCTCGGACTCCTGAGGTGACTTGCGTGGTT
GTGGACGTGTCCCACGAGGACCCTGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGAGTCGAG
GTGCACAATGCAAAGACCAAGCCTCGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTT
TCTGTGTTGACCGTTGTGCACCAAGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAGGTG
TCCAACAAGGGCCTGCCTGCCCCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCT
CGCGAGCCTCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCGGGAAGAAATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGGAGGGCTTCTACCCTTCCGACATCGCCGTTGAGTGGGAGTCT
AACGGACAGCCGGAGAACAACTACAAGACTACGCCTCCAATGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCCTGTACTCCGAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC
TCATGCTCCGTAATGCACGAAGCCTTGCACAATCACTACACTCAAAAGTCCCTATCCTTA
TCTCCTGGCAAG

Trình tự nucleotit vùng biến đổi chuỗi nặng 21R75 (13B Phiên bản 1) (SEQ ID NO:68)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATC
TCCTGCAAGGCCTCCGGCTACTCCTTCACCGCCTACTACATCCACTGGGTCAAGCAGGCC
CCTGGACAGGGCCTGGAATGGATCGGCTATATCGCCGGCTACAAGGACGCCACCAACTAC
AACCAGAAATTCAAGGGCAGAGTGACCTTCACCACCGACACCTCCACCTCTACCGCCTAC
ATGGAACTGCGGTCCCTGCGGAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTAC
GACTACGACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCCTCT

Trình tự nucleotit vùng biến đổi chuỗi nặng 21R75 (13B Phiên bản 2) (SEQ ID NO:69)

CAGGTTCAGCTAGTTCAGTCTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAATA
AGTTGCAAGGCATCCGGTTACTCGTTCACCGCATACTATATCCACTGGGTTAAACAGGCA
CCAGGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCGCTGGATATAAAGATGCTACAAACTAT
AACCAAAAAATTCAAAGGACGCGTGACTTTCACAACTGACACCTCAACCTCGACAGCATAC
ATGGAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGCGCTAGAGATTAT
GATTATGATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCT

Trình tự nucleotit vùng biến đổi chuỗi nặng 21R83 (13B Phiên bản 1) (SEQ ID NO:70)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCCTCCGTGAAGATC
TCCTGCAAGGCCTCCGGCTACTCCTTCACCGCCTACTACATCCACTGGGTCAAGCAGGCC
CCTGGACAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTCCAACTACAACCGGGCCACCAATTAC
AACCAGAAATTCAAGGGCCGCGTGACCTTCACCACCGACACCTCTACCTCTACCGCCTAC

ATGGAACTGCGGTCCCTGCGGAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACTAC
GACTACGACGTGGGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCTAGC

Trình tự nucleotit vùng biến đổi chuỗi nặng 21R75 (13B Phiên bản 2) (SEQ ID NO:71)

CAGGTTCAGCTAGTTCAGTCTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAATA
AGTTGCAAGGCATCCGGTTACTCGTTCACCGCATACTATATCCACTGGGTTAAACAGGCA
CCAGGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCGCTGGATATAAAGATGCTACAAACTAT
AACCAAAAATTCAAAGGACGCGTGACTTTCACAACTGACACCTCAACCTCGACAGCATAC
ATGGAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGCGCTAGAGATTAT
GATTATGATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCT

Trình tự nucleotit chuỗi nặng 21R83 có trình tự tín hiệu được gạch dưới (13B Phiên bản 2) (SEQ ID NO:72)

ATGAAGCACCTATGGTTCTTTCTATTATTAGTGGCCGCTCCCCGTTGGGTGTTATCGCAG
GTTCAGCTAGTTCAGTCTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAATAAGT
TGCAAGGCATCCGGTTACTCGTTCACCGCATACTATATCCACTGGGTTAAACAGGCACCA
GGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCTCCAATTATAATAGAGCTACAAACTATAAC
CAAAAATTCAAAGGACGCGTGACTTTCACAACTGACACCTCAACCTCGACAGCATACATG
GAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGCGCTAGAGATTATGAT
TATGATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCATCC
ACTAAGGGACCATCCGTGTTCCCTTTGGCCCCTTGCTCTCGTTCGACCTCTGAATCGACT
GCCGCTCTGGGATGCCTCGTGAAAGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTTTCCTGGAAC
TCGGGCGCCCTAACCTCTGGCGTGCACACATTCCCTGCCGTGCTACAGTCTTCTGGCCTA
TACTCTTTATCTTCGGTTGTTACCGTACCTTCTTCTAACTTCGGAACCCAAACTTACACC
TGTAACGTAGACCACAAGCCTTCGAACACCAAGGTGGACAAGACTGTTGAGCGAAAGTGC
TGCGTTGAGTGCCCTCCATGTCCTGCACCTCCTGTGGCTGGCCCTTCTGTGTTCCTGTTC
CCTCCAAAACCTAAGGACACTCTAATGATCTCTCGGACTCCTGAGGTGACTTGCGTGGTT
GTGGACGTGTCCCACGAGGACCCTGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGAGTCGAG
GTGCACAATGCAAAGACCAAGCCTCGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTT
TCTGTGTTGACCGTTGTGCACCAAGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAGGTG
TCCAACAAGGGCCTGCCTGCCCCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCT
CGCGAGCCTCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCGGGAAGAAATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGGAGGGCTTCTACCCTTCCGACATCGCCGTTGAGTGGGAGTCT
AACGGACAGCCGGAGAACAACTACAAGACTACGCCTCCAATGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCCTGTACTCCGAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC
TCATGCTCCGTAATGCACGAAGCCTTGCACAATCACTACACTCAAAAGTCCCTATCCTTA
TCTCCTGGCAAGTAG

Trình tự nucleotit vùng biến đổi chuỗi nặng 21R83 (13B Phiên bản 2) (SEQ ID NO:73)

CAGGTTCAGCTAGTTCAGTCTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAATA
AGTTGCAAGGCATCCGGTTACTCGTTCACCGCATACTATATCCACTGGGTTAAACAGGCA
CCAGGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCTCCAATTATAATAGAGCTACAAACTAT
AACCAAAAATTCAAAGGACGCGTGACTTTCACAACTGACACCTCAACCTCGACAGCATAC
ATGGAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGCGCTAGAGATTAT
GATTATGATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCT

Trình tự nucleotit chuỗi nặng 21R75 có trình tự tín hiệu được gạch dưới (13B Phiên bản 2) (SEQ ID NO:74)

ATGAAGCACCTATGGTTCTTTCTATTATTAGTGGCCGCTCCCCGTTGGGTGTTATCGCAG
GTTCAGCTAGTTCAGTCTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAATAAGT
TGCAAGGCATCCGGTTACTCGTTCACCGCATACTATATCCACTGGGTTAAACAGGCACCA
GGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCGCTGGATATAAAGATGCTACAAACTATAAC
CAAAAATTCAAAGGACGCGTGACTTTCACAACTGACACCTCAACCTCGACAGCATACATG
GAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGCGCTAGAGATTATGAT
TATGATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCATCC
ACTAAGGGACCATCCGTGTTCCCTTTGGCCCCTTGCTCTCGTTCGACCTCTGAATCGACT
GCCGCTCTGGGATGCCTCGTGAAAGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTTTCCTGGAAC
TCGGGCGCCCTAACCTCTGGCGTGCACACATTCCCTGCCGTGCTACAGTCTTCTGGCCTA
TACTCTTTATCTTCGGTTGTTACCGTACCTTCTTCTAACTTCGGAACCCAAACTTACACC
TGTAACGTAGACCACAAGCCTTCGAACACCAAGGTGGACAAGACTGTTGAGCGAAAGTGC
TGCGTTGAGTGCCCTCCATGTCCTGCACCTCCTGTGGCTGGCCCTTCTGTGTTCCTGTTC
CCTCCAAAACCTAAGGACACTCTAATGATCTCTCGGACTCCTGAGGTGACTTGCGTGGTT
GTGGACGTGTCCCACGAGGACCCTGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGAGTCGAG
GTGCACAATGCAAAGACCAAGCCTCGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTT
TCTGTGTTGACCGTTGTGCACCAAGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAGGTG
TCCAACAAGGGCCTGCCTGCCCCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCT
CGCGAGCCTCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCGGGAAGAAATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGGAGGGCTTCTACCCTTCCGACATCGCCGTTGAGTGGGAGTCT
AACGGACAGCCGGAGAACAACTACAAGACTACGCCTCCAATGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCCTGTACTCCGAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC
TCATGCTCCGTAATGCACGAAGCCTTGCACAATCACTACACTCAAAAGTCCCTATCCTTA
TCTCCTGGCAAGTAG

Trình tự nucleotit chuỗi nặng 21M18 (phiên bản 2) (SEQ ID NO:75)

ATGAAGCACCTATGGTTCTTTCTATTATTAGTGGCCGCTCCCCGTTGGGTGTTATCGCAG
GTTCAGCTAGTTCAGTCTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAATAAGT

TGCAAGGCATCCGGTTACTCGTTCACCGCATACTATATCCACTGGGTTAAACAGGCACCA
GGACAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCTCCTCTTATAATGGAGCTACAAACTATAAC
CAAAAATTCAAAGGACGCGTGACTTTCACAACTGACACCTCAACCTCGACAGCATACATG
GAATTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGCGCTAGAGATTATGAT
TATGATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCTGCATCC
ACTAAGGGACCATCCGTGTTCCCTTTGGCCCCTTGCTCTCGTTCGACCTCTGAATCGACT
GCCGCTCTGGGATGCCTCGTGAAAGATTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTTTCCTGGAAC
TCGGGCGCCCTAACCTCTGGCGTGCACACATTCCCTGCCGTGCTACAGTCTTCTGGCCTA
TACTCTTTATCTTCGGTTGTTACCGTACCTTCTTCTAACTTCGGAACCCAAACTTACACC
TGTAACGTAGACCACAAGCCTTCGAACACCAAGGTGGACAAGACTGTTGAGCGAAAGTGC
TGCGTTGAGTGCCCTCCATGTCCTGCACCTCCTGTGGCTGGCCCTTCTGTGTTCCTGTTC
CCTCCAAAACCTAAGGACACTCTAATGATCTCTCGGACTCCTGAGGTGACTTGCGTGGTT
GTGGACGTGTCCCACGAGGACCCTGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGAGTCGAG
GTGCACAATGCAAAGACCAAGCCTCGGGAGGAACAGTTCAACTCCACCTTCCGGGTGGTT
TCTGTGTTGACCGTTGTGCACCAAGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAGGTG
TCCAACAAGGGCCTGCCTGCCCCTATCGAAAAGACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCT
CGCGAGCCTCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCGGGAAGAAATGACCAAGAACCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTGGTGGAGGGCTTCTACCCTTCCGACATCGCCGTTGAGTGGGAGTCT
AACGGACAGCCGGAGAACAACTACAAGACTACGCCTCCAATGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCCTGTACTCCGAACTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC
TCATGCTCCGTAATGCACGAAGCCTTGCACAATCACTACACTCAAAAGTCCCTATCCTTA
TCTCCTGGCAAGTAG

Vùng biến đổi chuỗi nặng 21M18 (phiên bản 2) (SEQ ID NO:76)

CAGCTAGTTCAGTCTGGAGCGGAAGTTAAGAAACCTGGAGCATCCGTGAAAATAAGTTGC
AAGGCATCCGGTTACTCGTTCACCGCATACTATATCCACTGGGTTAAACAGGCACCAGGA
CAGGGACTTGAATGGATCGGATATATCTCCTCTTATAATGGAGCTACAAACTATAACCAA
AAATTCAAAGGACGCGTGACTTTCACAACTGACACCTCAACCTCGACAGCATACATGGAA
TTACGGTCCCTACGGTCTGACGACACTGCCGTTTACTATTGCGCTAGAGATTATGATTAT
GATGTTGGAATGGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTGACAGTGTCTTCT

Trình tự liên ứng CDR2 của chuỗi nặng kháng DLL4 (SEQ ID NO:80): $YIX_1X_2YX_3X_4ATNYNQKFKG$, trong đó X_1 là serin hoặc alanin, X_2 là serin, asparagin, hoặc glyxin, X_3 là asparagin hoặc lysin, và X_4 là glyxin, arginin, hoặc axit aspartic

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể đặc hiệu kép bao gồm:

a) vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất gắn kết đặc hiệu với nhân tố sinh trưởng màng trong mạch (VEGF) của người, và

b) vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai gắn kết đặc hiệu với phối tử giống delta 4 (DLL4) của người,

trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm NYWMH (SEQ ID NO:17), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19);

trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13) hoặc AYYIH (SEQ ID NO:79), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm $YIX_1X_2YX_3X_4ATNYNQKFKG$ (SEQ ID NO:80), trong đó X_1 là serin hoặc alanin, X_2 là serin, asparagin, hoặc glyxin, X_3 là asparagin hoặc lysin, và X_4 là glyxin, arginin, hoặc axit aspartic, và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16); và

trong đó cả vị trí gắn kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nhẹ bao gồm RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20), CDR2 của chuỗi nhẹ bao gồm AASNQGS (SEQ ID NO:21), và CDR3 của chuỗi nhẹ bao gồm QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22).

2. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 1, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65), YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:14), YISSYNGATNYNQKFKG

(SEQ ID NO:15), hoặc YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16).

3. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 2, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16).

4. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 2, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:14), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16).

5. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 2, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YISSYNGATNYNQKFKG (SEQ ID NO:15), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16).

6. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 2, trong đó vị trí gắn kết kháng nguyên thứ hai bao gồm CDR1 của chuỗi nặng bao gồm TAYYIH (SEQ ID NO:13), CDR2 của chuỗi nặng bao gồm YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59), và CDR3 của chuỗi nặng bao gồm RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16).

7. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 1 hoặc 2, trong đó kháng thể này bao gồm:

a) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất có ít nhất 90% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:11;

b) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai có ít nhất 90% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, hoặc SEQ ID NO:58; và

c) vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ hai có ít nhất 90% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:12.

8. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 7, trong đó kháng thể này bao gồm:

a) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất bao gồm SEQ ID NO:11;

b) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai bao gồm SEQ ID NO:64; và

c) vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ hai bao gồm SEQ ID NO:12.

9. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 7, trong đó kháng thể này bao gồm:

a) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất bao gồm SEQ ID NO:11;

b) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai bao gồm SEQ ID NO:9, và

c) vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ hai bao gồm SEQ ID NO:12.

10. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 7, trong đó kháng thể này bao gồm:

a) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất bao gồm SEQ ID NO:11;

b) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai bao gồm SEQ ID NO:10; và

c) vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ hai bao gồm SEQ ID NO:12.

11. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 7, trong đó kháng thể này bao gồm:

a) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ nhất bao gồm SEQ ID NO:11;

b) vùng biến đổi chuỗi nặng thứ hai bao gồm SEQ ID NO:58; và

c) vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và vùng biến đổi chuỗi nhẹ thứ hai bao gồm SEQ ID NO:12.

12. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11, trong đó kháng thể này bao gồm vùng cố định IgG2 của người thứ nhất có các

sự thay thế axit amin ở các vị trí tương ứng với các vị trí 249 và 288 của SEQ ID NO:42, trong đó các axit amin được thay thế bằng glutamat hoặc aspartat, và vùng cố định IgG2 của người thứ hai có các sự thay thế axit amin ở các vị trí tương ứng với các vị trí 236 và 278 của SEQ ID NO:42, trong đó các axit amin được thay thế bằng lysin.

13. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 1, kháng thể này bao gồm:

a) chuỗi nặng của SEQ ID NO:7;

b) chuỗi nặng của SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, hoặc SEQ ID NO:56; và

c) hai chuỗi nhẹ của SEQ ID NO:8.

14. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm 13, kháng thể này bao gồm:

a) chuỗi nặng của SEQ ID NO:7;

b) chuỗi nặng của SEQ ID NO:62; và

c) hai chuỗi nhẹ của SEQ ID NO:8.

15. Kháng thể đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 14, kháng thể này là kháng thể tái tổ hợp, kháng thể dạng khảm, kháng thể được làm tương thích với người, kháng thể của người, kháng thể IgG1, kháng thể IgG2, hoặc mảnh kháng thể bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên.

16. Dược phẩm chứa kháng thể đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 15 và chất mang dược dụng.

17. Phân tử polynucleotit phân lập được bao gồm trình tự nucleotit mã hóa kháng thể đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 15.

18. Polypeptit bao gồm trình tự được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11,

SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, và SEQ ID NO:64.

Fig.1A

Kháng thể đặc trị kép	Vùng gắn kết kháng VEGF			Vùng gắn kết kháng DLL4		
	Chuỗi nặng			Chuỗi nặng		
	CDR1	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3
219R45-MB-21M18	NYWMH (SEQ ID NO:17)	DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18)	HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19)	TAYYIH (SEQ ID NO:13)	YISSYNGATNYNQKFKG (SEQ ID NO:15)	RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16)
219R45-MB-21R79	NYWMH (SEQ ID NO:17)	DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18)	HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19)	TAYYIH (SEQ ID NO:13)	YIANYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:14)	RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16)
219R45-MB-21R75	NYWMH (SEQ ID NO:17)	DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18)	HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19)	TAYYIH (SEQ ID NO:13)	YIAGYKDATNYNQKFKG (SEQ ID NO:59)	RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16)
219R45-MB-21R83	NYWMH (SEQ ID NO:17)	DINPSNGRTSYKEKFKR (SEQ ID NO:18)	HYDDKYYPLMDY (SEQ ID NO:19)	TAYYIH (SEQ ID NO:13)	YISNYNRATNYNQKFKG (SEQ ID NO:65)	RDYDYDVGMDY (SEQ ID NO:16)

Kháng thể đặc trị kép	Các vùng gắn kết kháng VEGF và kháng DLL4		
	Chuỗi nhẹ		
	CDR1	CDR2	CDR3
219R45-MB-21M18	RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20)	AASNQGS (SEQ ID NO:21)	QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22)
219R45-MB-21R79	RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20)	AASNQGS (SEQ ID NO:21)	QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22)
219R45-MB-21R75	RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20)	AASNQGS (SEQ ID NO:21)	QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22)
219R45-MB-21R83	RASESVDNYGISFMK (SEQ ID NO:20)	AASNQGS (SEQ ID NO:21)	QQSKEVPWTFGG (SEQ ID NO:22)

Fig.1B

Kháng thể đặc trị kép	Vùng gắn kết kháng VEGF		Vùng gắn kết kháng DLL4	
	Vùng biến đổi chuỗi nặng	Vùng biến đổi chuỗi nhẹ	Vùng biến đổi chuỗi nặng	Vùng biến đổi chuỗi nhẹ
219R45-MB-21M18	SEQ ID NO:11	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:9	SEQ ID NO:12
219R45-MB-21R79	SEQ ID NO:11	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:12
219R45-MB-21R75	SEQ ID NO:11	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:58	SEQ ID NO:12
219R45-MB-21R83	SEQ ID NO:11	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:64	SEQ ID NO:12

Fig.1C

Kháng thể đặc trị kép	Vùng gắn kết kháng VEGF		Vùng gắn kết kháng DLL4	
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ
219R45-MB-21M18	SEQ ID NO:3 SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:4 SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:1 SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:4 SEQ ID NO:8
219R45-MB-21R79	SEQ ID NO:3 SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:4 SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:2 SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:4 SEQ ID NO:8
219R45-MB-21R75	SEQ ID NO:3 SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:4 SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:57 SEQ ID NO:56	SEQ ID NO:4 SEQ ID NO:8
219R45-MB-21R83	SEQ ID NO:3 SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:4 SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:63 SEQ ID NO:62	SEQ ID NO:4 SEQ ID NO:8

Fig.2

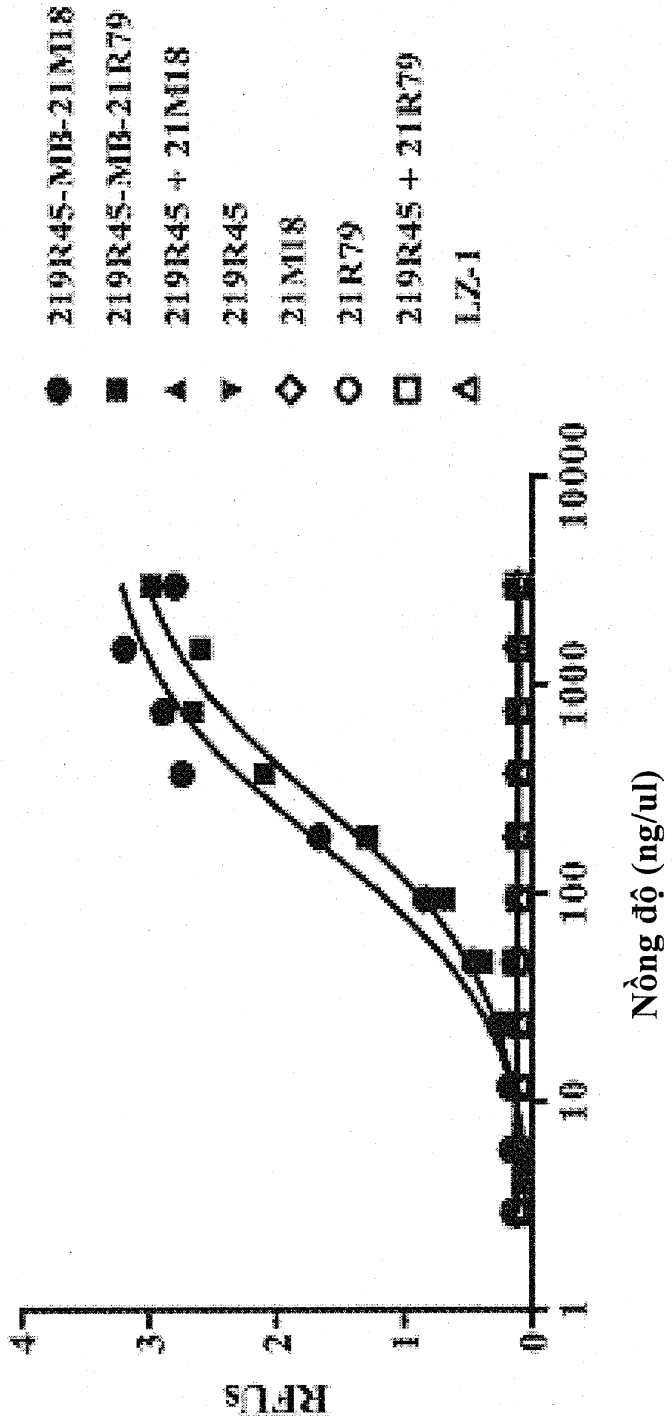

219R45-MB-21M18
219R45-MB-21R79
219R45 + 21M18
219R45
21M18
21R79
219R45 + 21R79
LZ-1
RFLS
0
1
2
3
4
1
10
100
1000
10000
Nồng độ (ng/ul)

Fig.3

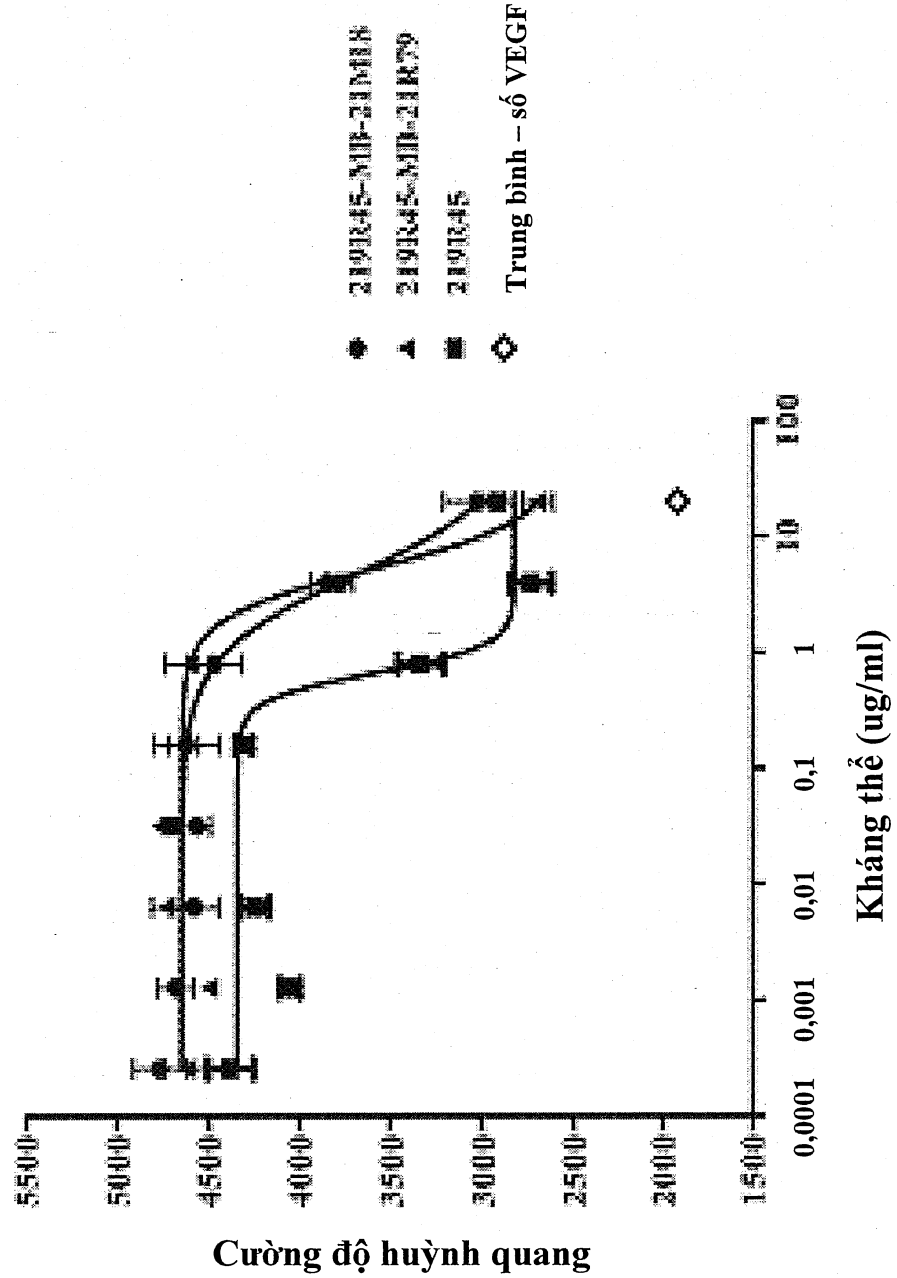

219845-MB-21MB
219845-MB-21B79
219845
Trung bình – số VEGF
5500
5000
4500
4000
3500
3000
2500
2000
1500
0,0001
0,001
0,01
0,1
1
10
100
Cường độ huỳnh quang
Kháng thể (ug/ml)

Fig.4

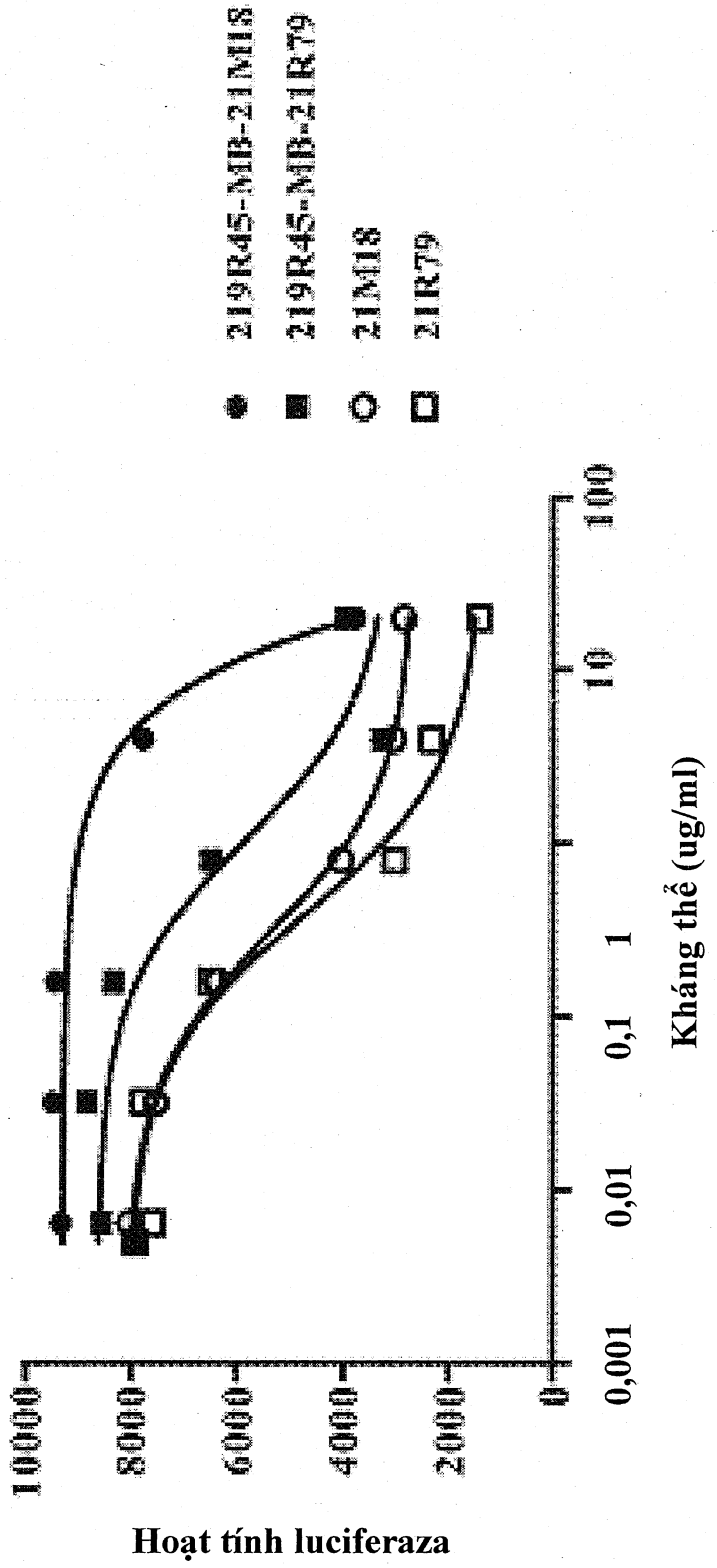

219R45-MB-21M18
219R45-MB-21R79
21M18
21R79
100000
80000
60000
40000
20000
0
0,001
0,01
0,1
1
10
100
Kháng thể (ug/ml)
Hoạt tính luciferaza

Fig.5

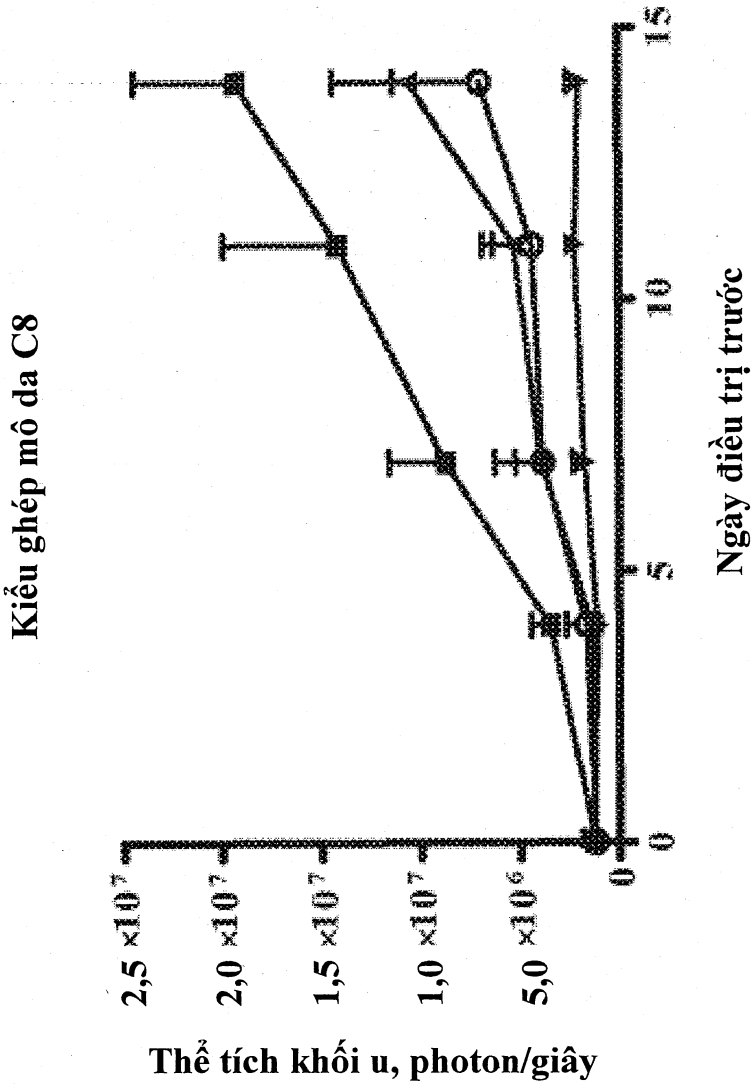

Kiểu ghép mô da C8
Ab đối chứng
Kháng hDLL4 Ab-21M18
Kháng VEGF Ab – bevacizumab
Kháng VEGF/DLL4 đặc trị kép
219R45-MB-21M18
2,5 ×10⁷
2,0 ×10⁷
1,5 ×10⁷
1,0 ×10⁷
5,0 ×10⁶
0
0
5
10
15
Thể tích khối u, photon/giây
Ngày điều trị trước

Fig.6

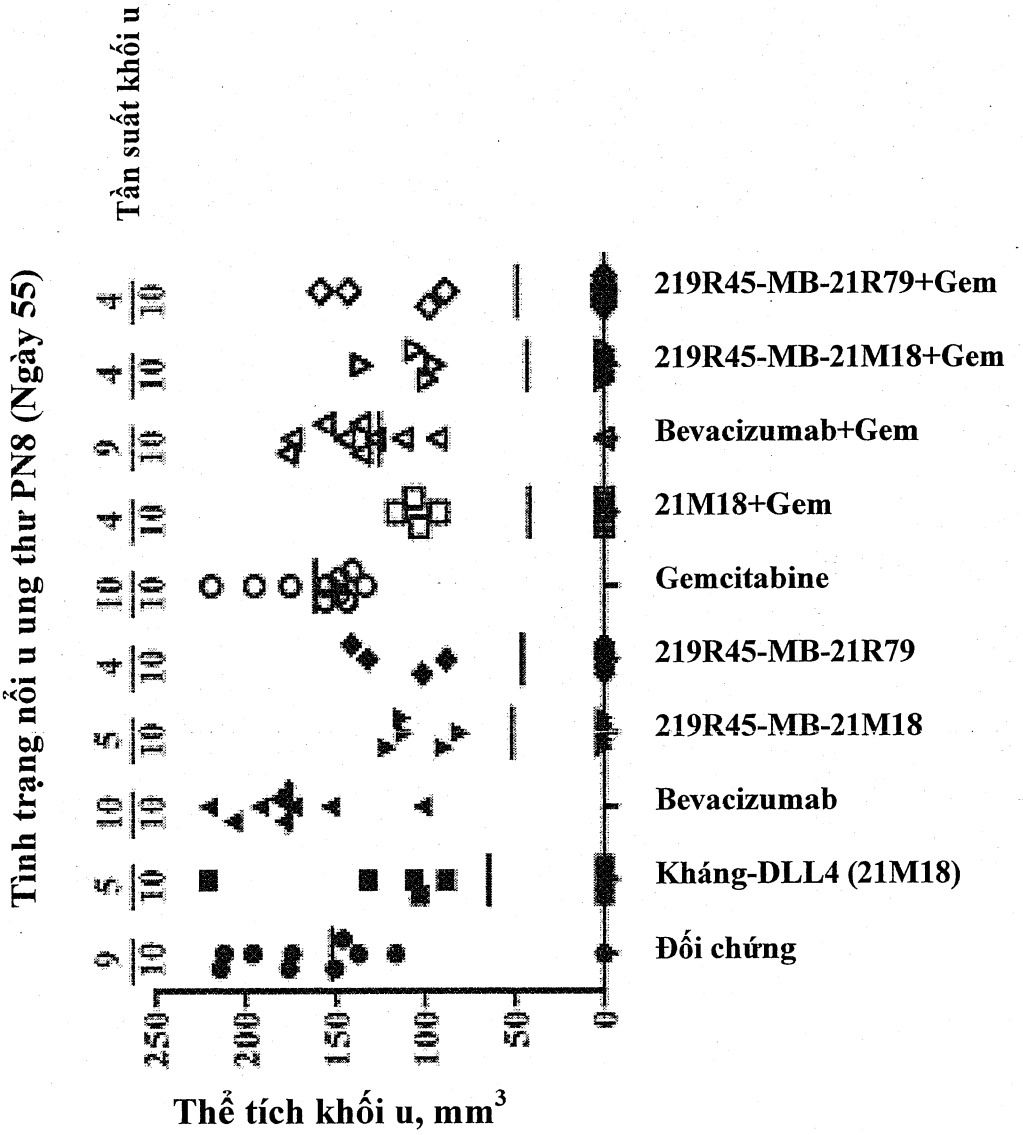

Tần suất khối u
Tình trạng nổi u ung thư PN8 (Ngày 55)
4/10
4/10
9/10
4/10
10/10
4/10
5/10
10/10
5/10
9/10
250
200
150
100
50
0
Thể tích khối u, mm3
219R45-MB-21R79+Gem
219R45-MB-21M18+Gem
Bevacizumab+Gem
21M18+Gem
Gemcitabine
219R45-MB-21R79
219R45-MB-21M18
Bevacizumab
Kháng-DLL4 (21M18)
Đối chứng

Fig.7

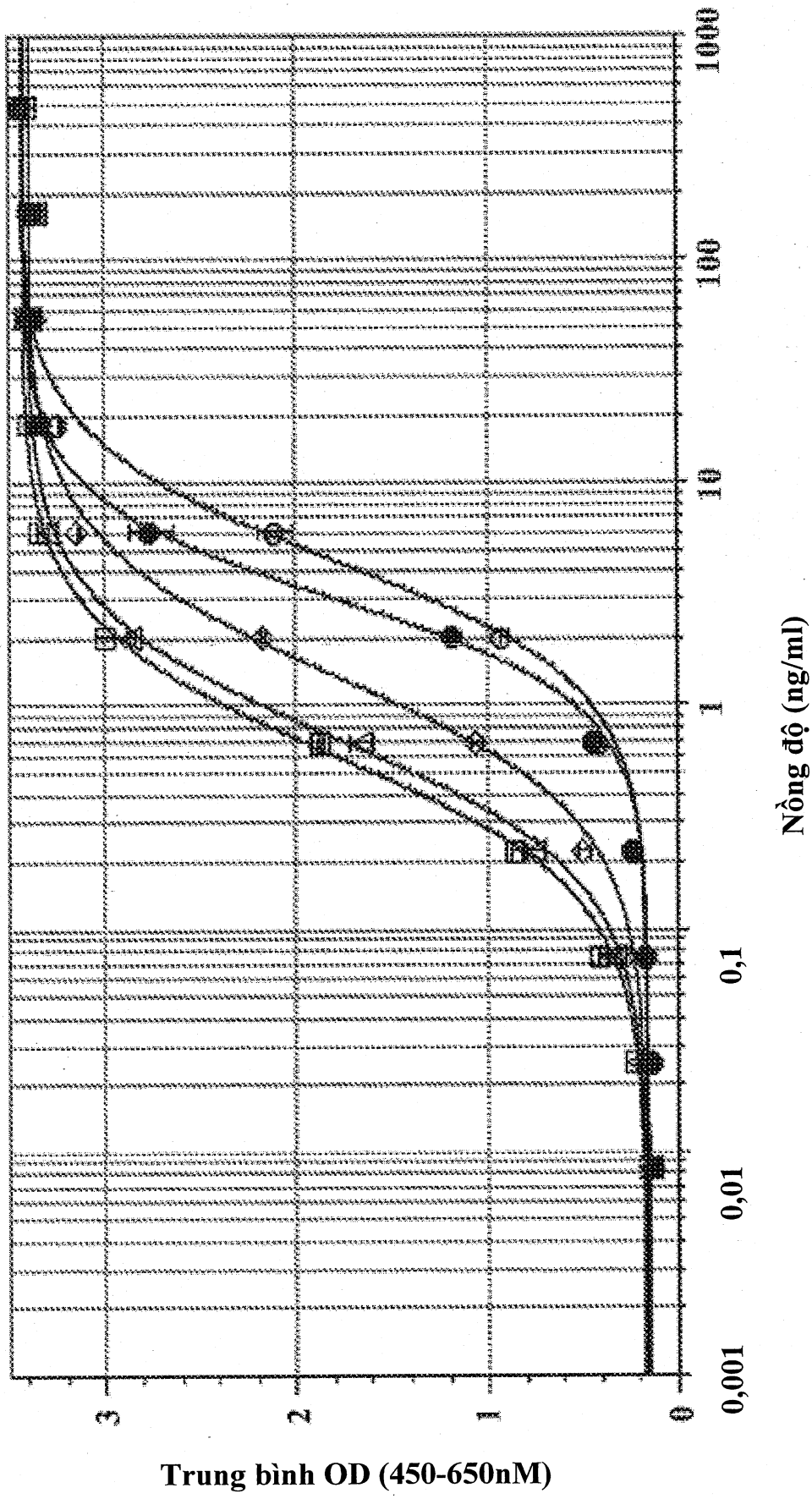

Trung bình OD (450-650nM)
0
1
2
3
Nồng độ (ng/ml)
0,001
0,01
0,1
1
10
100
1000

Fig.8

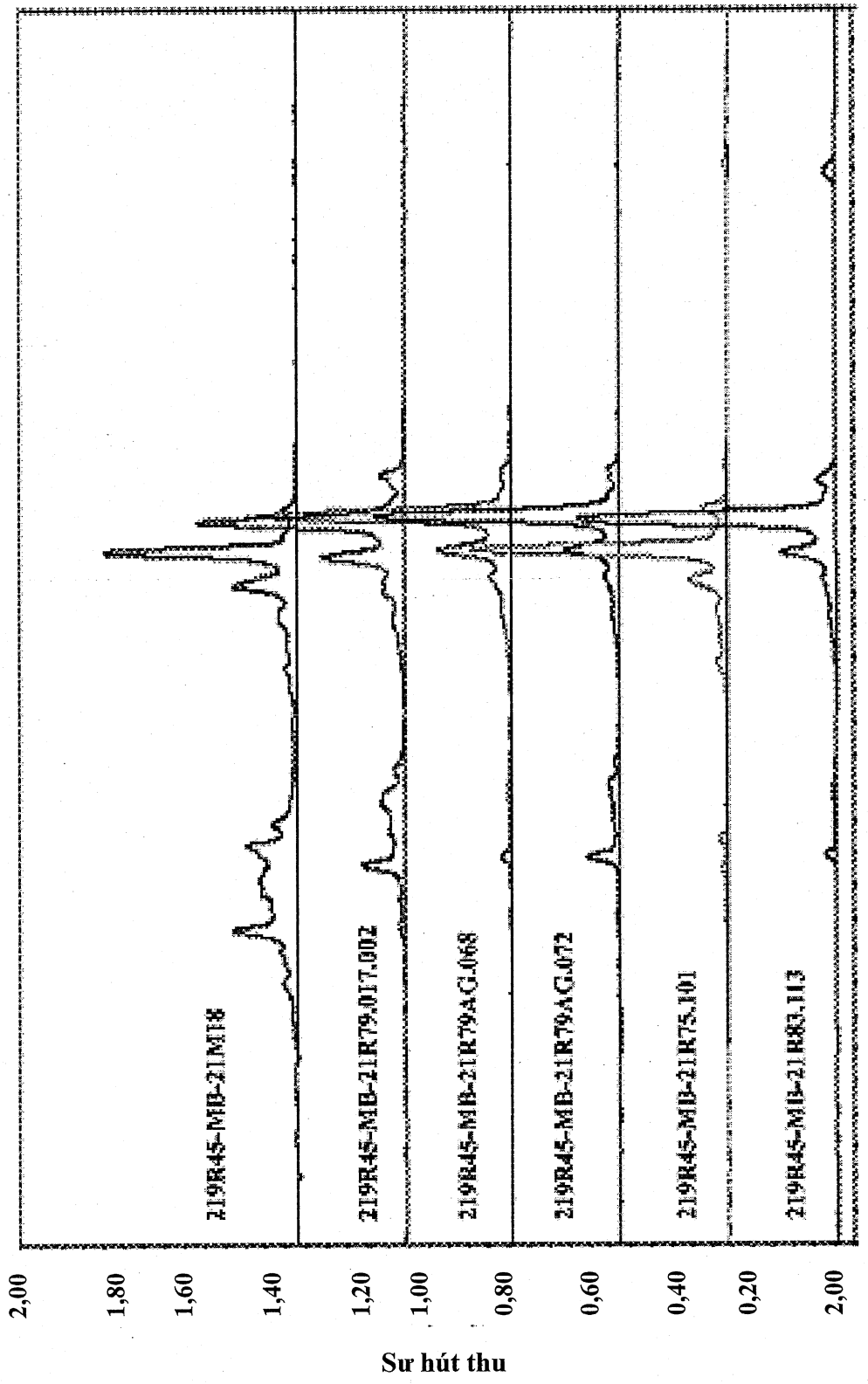

219R45-MB-21M18
219R45-MB-21R79.017.002
219R45-MB-21R79AG.068
219R45-MB-21R79AG.072
219R45-MB-21R75.101
219R45-MB-21R83.113
2,00
1,80
1,60
1,40
1,20
1,00
0,80
0,60
0,40
0,20
2,00
Sự hút thu
5,50
6,00
6,50
7,00
7,50
8,00
8,50
9,00
pH

Fig.9

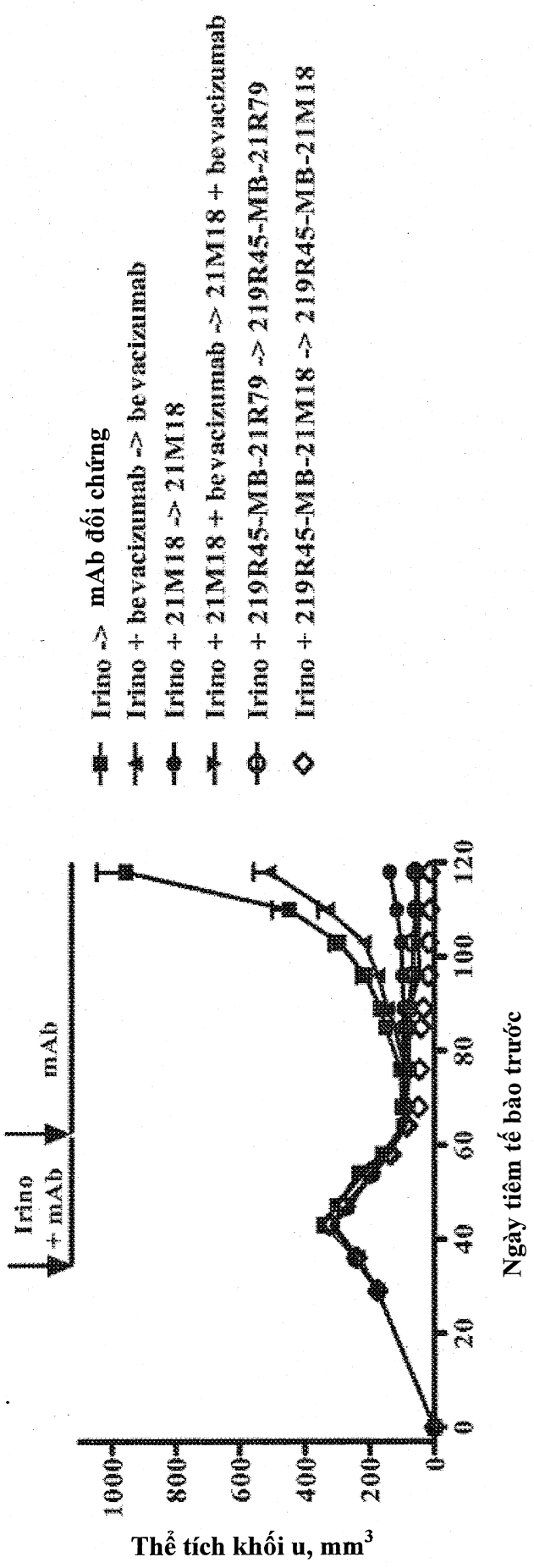

Irino -> mAb đối chứng
Irino + bevacizumab -> bevacizumab
Irino + 21M18 -> 21M18
Irino + 21M18 + bevacizumab -> 21M18 + bevacizumab
Irino + 219R45-MB-21R79 -> 219R45-MB-21R79
Irino + 219R45-MB-21M18 -> 219R45-MB-21M18
Irino + mAb
mAb
Thể tích khối u, mm3
Ngày tiêm tế bào trước
0
200
400
600
800
1000
0
20
40
60
80
100
120

Fig.10

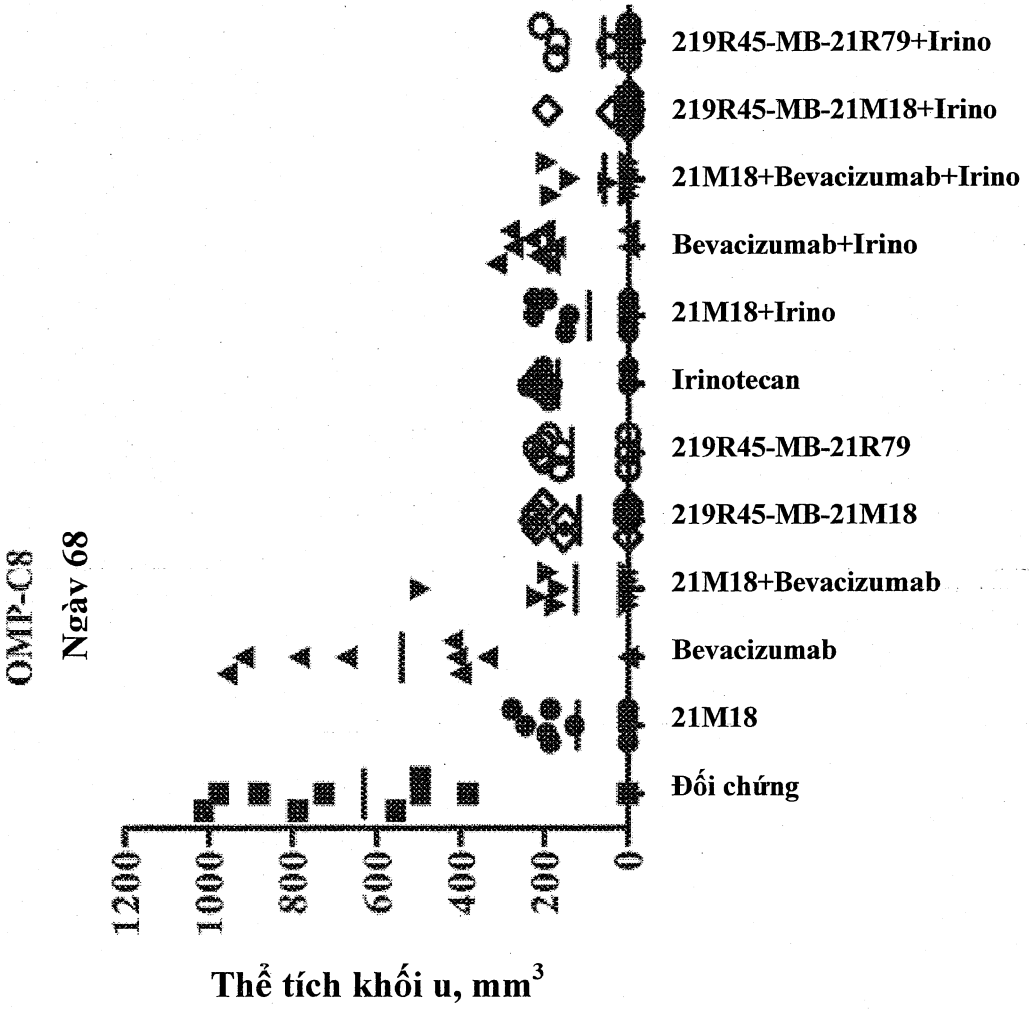
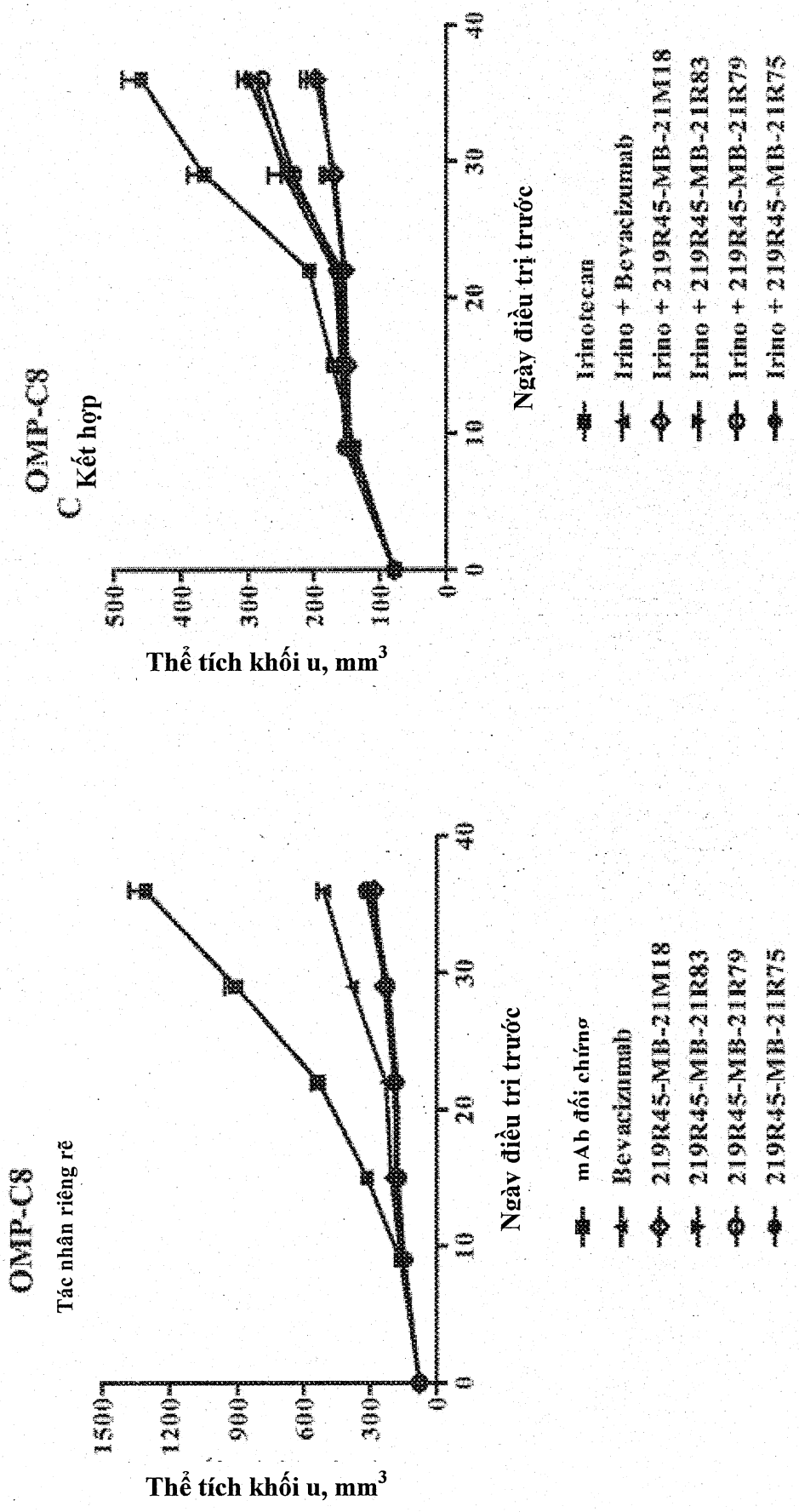

OMP-C8
Ngày 68
219R45-MB-21R79+Irino
219R45-MB-21M18+Irino
21M18+Bevacizumab+Irino
Bevacizumab+Irino
21M18+Irino
Irinotecan
219R45-MB-21R79
219R45-MB-21M18
21M18+Bevacizumab
Bevacizumab
21M18
Đối chứng
1200
1000
800
600
400
200
0
Thể tích khối u, mm3

Fig.11


OMP-C8
Tác nhân riêng rẽ
Thể tích khối u, mm3
Ngày điều trị trước
mAb đối chứng
Bevacizumab
219R45-MB-21M18
219R45-MB-21R83
219R45-MB-21R79
219R45-MB-21R75
OMP-C8
C Kết hợp
Thể tích khối u, mm3
Ngày điều trị trước
Irinotecan
Irino + Bevacizumab
Irino + 219R45-MB-21M18
Irino + 219R45-MB-21R83
Irino + 219R45-MB-21R79
Irino + 219R45-MB-21R75

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> ONCOMED PHARMACEUTICALS, INC.

<120> KHÁNG THỂ ĐẶC HIỆU KÉP VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ ĐẶC HIỆU KÉP NÀY

<130> 2293,084PC03

<140> PCT/US2012/056886
<141> 2012-09-24

<150> US 61/692,978
<151> 2012-08-24

<150> US 61/597,409
<151> 2012-02-10

<150> US 61/538,454
<151> 2011-09-23

<160> 80

<170> PHIÊN BẢN PATENT 3.5

<210> 1
<211> 464
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21M18 CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU

<400> 1

MET LYS HIS LEU TRP PHE PHE LEU LEU LEU VAL ALA ALA PRO ARG TRP
1 5 10 15

VAL LEU SER GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS
20 25 30

PRO GLY ALA SER VAL LYS ILE SER CYS LYS ALA SER GLY TYR SER PHE
35 40 45

THR ALA TYR TYR ILE HIS TRP VAL LYS GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU
50 55 60

GLU TRP ILE GLY TYR ILE SER SER TYR ASN GLY ALA THR ASN TYR ASN
65 70 75 80

GLN LYS PHE LYS GLY ARG VAL THR PHE THR THR ASP THR SER THR SER
85 90 95

THR ALA TYR MET GLU LEU ARG SER LEU ARG SER ASP ASP THR ALA VAL
100 105 110

TYR TYR CYS ALA ARG ASP TYR ASP TYR ASP VAL GLY MET ASP TYR TRP
115 120 125

GLY GLN GLY THR LEU VAL THR VAL SER SER ALA SER THR LYS GLY PRO
130 135 140

SER VAL PHE PRO LEU ALA PRO CYS SER ARG SER THR SER GLU SER THR
145 150 155 160

ALA ALA LEU GLY CYS LEU VAL LYS ASP TYR PHE PRO GLU PRO VAL THR
165 170 175

VAL SER TRP ASN SER GLY ALA LEU THR SER GLY VAL HIS THR PHE PRO
180 185 190

ALA VAL LEU GLN SER SER GLY LEU TYR SER LEU SER SER VAL VAL THR
195 200 205

VAL PRO SER SER ASN PHE GLY THR GLN THR TYR THR CYS ASN VAL ASP
210 215 220

HIS LYS PRO SER ASN THR LYS VAL ASP LYS THR VAL GLU ARG LYS CYS
225 230 235 240

CYS VAL GLU CYS PRO PRO CYS PRO ALA PRO PRO VAL ALA GLY PRO SER
245 250 255

VAL PHE LEU PHE PRO PRO LYS PRO LYS ASP THR LEU MET ILE SER ARG

260 265 270

THR PRO GLU VAL THR CYS VAL VAL VAL ASP VAL SER HIS GLU ASP PRO
275 280 285

GLU VAL GLN PHE ASN TRP TYR VAL ASP GLY VAL GLU VAL HIS ASN ALA
290 295 300

LYS THR LYS PRO ARG GLU GLU GLN PHE ASN SER THR PHE ARG VAL VAL
305 310 315 320

SER VAL LEU THR VAL VAL HIS GLN ASP TRP LEU ASN GLY LYS GLU TYR
325 330 335

LYS CYS LYS VAL SER ASN LYS GLY LEU PRO ALA PRO ILE GLU LYS THR
340 345 350

ILE SER LYS THR LYS GLY GLN PRO ARG GLU PRO GLN VAL TYR THR LEU
355 360 365

PRO PRO SER ARG GLU GLU MET THR LYS ASN GLN VAL SER LEU THR CYS
370 375 380

LEU VAL GLU GLY PHE TYR PRO SER ASP ILE ALA VAL GLU TRP GLU SER
385 390 395 400

ASN GLY GLN PRO GLU ASN ASN TYR LYS THR THR PRO PRO MET LEU ASP
405 410 415

SER ASP GLY SER PHE PHE LEU TYR SER GLU LEU THR VAL ASP LYS SER
420 425 430

ARG TRP GLN GLN GLY ASN VAL PHE SER CYS SER VAL MET HIS GLU ALA
435 440 445

LEU HIS ASN HIS TYR THR GLN LYS SER LEU SER LEU SER PRO GLY LYS
450 455 460

<210> 2
<211> 464
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21R79 CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU

<400> 2

MET LYS HIS LEU TRP PHE PHE LEU LEU LEU VAL ALA ALA PRO ARG TRP
1 5 10 15

VAL LEU SER GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS
20 25 30

PRO GLY ALA SER VAL LYS ILE SER CYS LYS ALA SER GLY TYR SER PHE
35 40 45

THR ALA TYR TYR ILE HIS TRP VAL LYS GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU
50 55 60

GLU TRP ILE GLY TYR ILE ALA ASN TYR ASN ARG ALA THR ASN TYR ASN
65 70 75 80

GLN LYS PHE LYS GLY ARG VAL THR PHE THR THR ASP THR SER THR SER
85 90 95

THR ALA TYR MET GLU LEU ARG SER LEU ARG SER ASP ASP THR ALA VAL
100 105 110

TYR TYR CYS ALA ARG ASP TYR ASP TYR ASP VAL GLY MET ASP TYR TRP
115 120 125

GLY GLN GLY THR LEU VAL THR VAL SER SER ALA SER THR LYS GLY PRO
130 135 140

SER VAL PHE PRO LEU ALA PRO CYS SER ARG SER THR SER GLU SER THR
145 150 155 160

ALA ALA LEU GLY CYS LEU VAL LYS ASP TYR PHE PRO GLU PRO VAL THR
165 170 175

VAL SER TRP ASN SER GLY ALA LEU THR SER GLY VAL HIS THR PHE PRO
180 185 190

ALA VAL LEU GLN SER SER GLY LEU TYR SER LEU SER SER VAL VAL THR
195 200 205

VAL PRO SER SER ASN PHE GLY THR GLN THR TYR THR CYS ASN VAL ASP
210 215 220

HIS LYS PRO SER ASN THR LYS VAL ASP LYS THR VAL GLU ARG LYS CYS
225 230 235 240

CYS VAL GLU CYS PRO PRO CYS PRO ALA PRO PRO VAL ALA GLY PRO SER
245 250 255

VAL PHE LEU PHE PRO PRO LYS PRO LYS ASP THR LEU MET ILE SER ARG
260 265 270

THR PRO GLU VAL THR CYS VAL VAL VAL ASP VAL SER HIS GLU ASP PRO
275 280 285

GLU VAL GLN PHE ASN TRP TYR VAL ASP GLY VAL GLU VAL HIS ASN ALA
290 295 300

LYS THR LYS PRO ARG GLU GLU GLN PHE ASN SER THR PHE ARG VAL VAL
305 310 315 320

SER VAL LEU THR VAL VAL HIS GLN ASP TRP LEU ASN GLY LYS GLU TYR
325 330 335

LYS CYS LYS VAL SER ASN LYS GLY LEU PRO ALA PRO ILE GLU LYS THR
340 345 350

ILE SER LYS THR LYS GLY GLN PRO ARG GLU PRO GLN VAL TYR THR LEU

355 360 365

PRO PRO SER ARG GLU GLU MET THR LYS ASN GLN VAL SER LEU THR CYS
370 375 380

LEU VAL GLU GLY PHE TYR PRO SER ASP ILE ALA VAL GLU TRP GLU SER
385 390 395 400

ASN GLY GLN PRO GLU ASN ASN TYR LYS THR THR PRO PRO MET LEU ASP
405 410 415

SER ASP GLY SER PHE PHE LEU TYR SER GLU LEU THR VAL ASP LYS SER
420 425 430

ARG TRP GLN GLN GLY ASN VAL PHE SER CYS SER VAL MET HIS GLU ALA
435 440 445

LEU HIS ASN HIS TYR THR GLN LYS SER LEU SER LEU SER PRO GLY LYS
450 455 460

<210> 3
<211> 466
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 219R45 CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU

<400> 3

MET LYS HIS LEU TRP PHE PHE LEU LEU LEU VAL ALA ALA PRO ARG TRP
1 5 10 15

VAL LEU SER GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS
20 25 30

PRO GLY ALA SER VAL LYS VAL SER CYS LYS ALA SER GLY TYR THR PHE
35 40 45

THR ASN TYR TRP MET HIS TRP VAL ARG GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU

50 55 60

GLU TRP MET GLY ASP ILE ASN PRO SER ASN GLY ARG THR SER TYR LYS
65 70 75 80

GLU LYS PHE LYS ARG ARG VAL THR LEU SER VAL ASP LYS SER SER SER
85 90 95

THR ALA TYR MET GLU LEU SER SER LEU ARG SER GLU ASP THR ALA VAL
100 105 110

TYR PHE CYS THR ILE HIS TYR ASP ASP LYS TYR TYR PRO LEU MET ASP
115 120 125

TYR TRP GLY GLN GLY THR LEU VAL THR VAL SER SER ALA SER THR LYS
130 135 140

GLY PRO SER VAL PHE PRO LEU ALA PRO CYS SER ARG SER THR SER GLU
145 150 155 160

SER THR ALA ALA LEU GLY CYS LEU VAL LYS ASP TYR PHE PRO GLU PRO
165 170 175

VAL THR VAL SER TRP ASN SER GLY ALA LEU THR SER GLY VAL HIS THR
180 185 190

PHE PRO ALA VAL LEU GLN SER SER GLY LEU TYR SER LEU SER SER VAL
195 200 205

VAL THR VAL PRO SER SER ASN PHE GLY THR GLN THR TYR THR CYS ASN
210 215 220

VAL ASP HIS LYS PRO SER ASN THR LYS VAL ASP LYS THR VAL GLU ARG
225 230 235 240

LYS CYS CYS VAL GLU CYS PRO PRO CYS PRO ALA PRO PRO VAL ALA GLY
245 250 255

PRO SER VAL PHE LEU PHE PRO PRO LYS PRO LYS ASP THR LEU MET ILE
260 265 270

SER ARG THR PRO GLU VAL THR CYS VAL VAL VAL ASP VAL SER HIS GLU
275 280 285

ASP PRO GLU VAL GLN PHE ASN TRP TYR VAL ASP GLY VAL GLU VAL HIS
290 295 300

ASN ALA LYS THR LYS PRO ARG GLU GLU GLN PHE ASN SER THR PHE ARG
305 310 315 320

VAL VAL SER VAL LEU THR VAL VAL HIS GLN ASP TRP LEU ASN GLY LYS
325 330 335

GLU TYR LYS CYS LYS VAL SER ASN LYS GLY LEU PRO ALA PRO ILE GLU
340 345 350

LYS THR ILE SER LYS THR LYS GLY GLN PRO ARG GLU PRO GLN VAL TYR
355 360 365

THR LEU PRO PRO SER ARG GLU LYS MET THR LYS ASN GLN VAL SER LEU
370 375 380

THR CYS LEU VAL LYS GLY PHE TYR PRO SER ASP ILE ALA VAL GLU TRP
385 390 395 400

GLU SER ASN GLY GLN PRO GLU ASN ASN TYR LYS THR THR PRO PRO MET
405 410 415

LEU LYS SER ASP GLY SER PHE PHE LEU TYR SER LYS LEU THR VAL ASP
420 425 430

LYS SER ARG TRP GLN GLN GLY ASN VAL PHE SER CYS SER VAL MET HIS
435 440 445

GLU ALA LEU HIS ASN HIS TYR THR GLN LYS SER LEU SER LEU SER PRO

450 455 460

GLY LYS
465

<210> 4
<211> 238
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NHẸ CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU

<400> 4

MET VAL LEU GLN THR GLN VAL PHE ILE SER LEU LEU LEU TRP ILE SER
1 5 10 15

GLY ALA TYR GLY ASP ILE VAL MET THR GLN SER PRO ASP SER LEU ALA
20 25 30

VAL SER LEU GLY GLU ARG ALA THR ILE SER CYS ARG ALA SER GLU SER
35 40 45

VAL ASP ASN TYR GLY ILE SER PHE MET LYS TRP PHE GLN GLN LYS PRO
50 55 60

GLY GLN PRO PRO LYS LEU LEU ILE TYR ALA ALA SER ASN GLN GLY SER
65 70 75 80

GLY VAL PRO ASP ARG PHE SER GLY SER GLY SER GLY THR ASP PHE THR
85 90 95

LEU THR ILE SER SER LEU GLN ALA GLU ASP VAL ALA VAL TYR TYR CYS
100 105 110

GLN GLN SER LYS GLU VAL PRO TRP THR PHE GLY GLY GLY THR LYS VAL
115 120 125

GLU ILE LYS ARG THR VAL ALA ALA PRO SER VAL PHE ILE PHE PRO PRO

130 135 140

SER ASP GLU GLN LEU LYS SER GLY THR ALA SER VAL VAL CYS LEU LEU
145 150 155 160

ASN ASN PHE TYR PRO ARG GLU ALA LYS VAL GLN TRP LYS VAL ASP ASN
165 170 175

ALA LEU GLN SER GLY ASN SER GLN GLU SER VAL THR GLU GLN ASP SER
180 185 190

LYS ASP SER THR TYR SER LEU SER SER THR LEU THR LEU SER LYS ALA
195 200 205

ASP TYR GLU LYS HIS LYS VAL TYR ALA CYS GLU VAL THR HIS GLN GLY
210 215 220

LEU SER SER PRO VAL THR LYS SER PHE ASN ARG GLY GLU CYS
225 230 235

<210> 5
<211> 445
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21M18 KHÔNG CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU TIÊN ĐOÁN

<400> 5

GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS PRO GLY ALA
1 5 10 15

SER VAL LYS ILE SER CYS LYS ALA SER GLY TYR SER PHE THR ALA TYR
20 25 30

TYR ILE HIS TRP VAL LYS GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU GLU TRP ILE
35 40 45

GLY TYR ILE SER SER TYR ASN GLY ALA THR ASN TYR ASN GLN LYS PHE

50 55 60

LYS GLY ARG VAL THR PHE THR THR ASP THR SER THR SER THR ALA TYR
65 70 75 80

MET GLU LEU ARG SER LEU ARG SER ASP ASP THR ALA VAL TYR TYR CYS
85 90 95

ALA ARG ASP TYR ASP TYR ASP VAL GLY MET ASP TYR TRP GLY GLN GLY
100 105 110

THR LEU VAL THR VAL SER SER ALA SER THR LYS GLY PRO SER VAL PHE
115 120 125

PRO LEU ALA PRO CYS SER ARG SER THR SER GLU SER THR ALA ALA LEU
130 135 140

GLY CYS LEU VAL LYS ASP TYR PHE PRO GLU PRO VAL THR VAL SER TRP
145 150 155 160

ASN SER GLY ALA LEU THR SER GLY VAL HIS THR PHE PRO ALA VAL LEU
165 170 175

GLN SER SER GLY LEU TYR SER LEU SER SER VAL VAL THR VAL PRO SER
180 185 190

SER ASN PHE GLY THR GLN THR TYR THR CYS ASN VAL ASP HIS LYS PRO
195 200 205

SER ASN THR LYS VAL ASP LYS THR VAL GLU ARG LYS CYS CYS VAL GLU
210 215 220

CYS PRO PRO CYS PRO ALA PRO PRO VAL ALA 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 GLN
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 PHE ASN SER THR PHE ARG VAL VAL SER VAL LEU
290 295 300

THR VAL VAL HIS GLN ASP TRP LEU ASN GLY LYS GLU TYR LYS CYS LYS
305 310 315 320

VAL SER ASN LYS GLY LEU PRO ALA PRO ILE GLU LYS THR ILE SER LYS
325 330 335

THR LYS GLY GLN PRO ARG GLU PRO GLN VAL TYR THR LEU PRO PRO SER
340 345 350

ARG GLU GLU MET THR LYS ASN GLN VAL SER LEU THR CYS LEU VAL GLU
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 MET LEU ASP SER ASP GLY
385 390 395 400

SER PHE PHE LEU TYR SER GLU 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> 6

<211> 445
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21R79 KHÔNG CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU TIÊN ĐOÁN

<400> 6

GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS PRO GLY ALA
1 5 10 15

SER VAL LYS ILE SER CYS LYS ALA SER GLY TYR SER PHE THR ALA TYR
20 25 30

TYR ILE HIS TRP VAL LYS GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU GLU TRP ILE
35 40 45

GLY TYR ILE ALA ASN TYR ASN ARG ALA THR ASN TYR ASN GLN LYS PHE
50 55 60

LYS GLY ARG VAL THR PHE THR THR ASP THR SER THR SER THR ALA TYR
65 70 75 80

MET GLU LEU ARG SER LEU ARG SER ASP ASP THR ALA VAL TYR TYR CYS
85 90 95

ALA ARG ASP TYR ASP TYR ASP VAL GLY MET ASP TYR TRP GLY GLN GLY
100 105 110

THR LEU VAL THR VAL SER SER ALA SER THR LYS GLY PRO SER VAL PHE
115 120 125

PRO LEU ALA PRO CYS SER ARG SER THR SER GLU SER THR ALA ALA LEU
130 135 140

GLY CYS LEU VAL LYS ASP TYR PHE PRO GLU PRO VAL THR VAL SER TRP
145 150 155 160

ASN SER GLY ALA LEU THR SER GLY VAL HIS THR PHE PRO ALA VAL LEU

165 170 175

GLN SER SER GLY LEU TYR SER LEU SER SER VAL VAL THR VAL PRO SER
180 185 190

SER ASN PHE GLY THR GLN THR TYR THR CYS ASN VAL ASP HIS LYS PRO
195 200 205

SER ASN THR LYS VAL ASP LYS THR VAL GLU ARG LYS CYS CYS VAL GLU
210 215 220

CYS PRO PRO CYS PRO ALA PRO PRO VAL ALA 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 GLN
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 PHE ASN SER THR PHE ARG VAL VAL SER VAL LEU
290 295 300

THR VAL VAL HIS GLN ASP TRP LEU ASN GLY LYS GLU TYR LYS CYS LYS
305 310 315 320

VAL SER ASN LYS GLY LEU PRO ALA PRO ILE GLU LYS THR ILE SER LYS
325 330 335

THR LYS GLY GLN PRO ARG GLU PRO GLN VAL TYR THR LEU PRO PRO SER
340 345 350

ARG GLU GLU MET THR LYS ASN GLN VAL SER LEU THR CYS LEU VAL GLU
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 MET LEU ASP SER ASP GLY
385 390 395 400

SER PHE PHE LEU TYR SER GLU 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> 7
<211> 447
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21R79 KHÔNG CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU TIÊN ĐOÁN

<400> 7

GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS PRO GLY ALA
1 5 10 15

SER VAL LYS VAL SER CYS LYS ALA SER GLY TYR THR PHE THR ASN TYR
20 25 30

TRP MET HIS TRP VAL ARG GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU GLU TRP MET
35 40 45

GLY ASP ILE ASN PRO SER ASN GLY ARG THR SER TYR LYS GLU LYS PHE
50 55 60

LYS ARG ARG VAL THR LEU SER VAL ASP LYS SER SER SER THR ALA TYR
65 70 75 80

MET GLU LEU SER SER LEU ARG SER GLU ASP THR ALA VAL TYR PHE CYS
85 90 95

THR ILE HIS TYR ASP ASP LYS TYR TYR PRO LEU MET ASP TYR TRP GLY
100 105 110

GLN GLY THR LEU VAL THR VAL SER SER ALA SER THR LYS GLY PRO SER
115 120 125

VAL PHE PRO LEU ALA PRO CYS SER ARG SER THR SER GLU SER THR ALA
130 135 140

ALA LEU GLY CYS LEU VAL LYS ASP TYR PHE PRO GLU PRO VAL THR VAL
145 150 155 160

SER TRP ASN SER GLY ALA LEU THR SER GLY VAL HIS THR PHE PRO ALA
165 170 175

VAL LEU GLN SER SER GLY LEU TYR SER LEU SER SER VAL VAL THR VAL
180 185 190

PRO SER SER ASN PHE GLY THR GLN THR TYR THR CYS ASN VAL ASP HIS
195 200 205

LYS PRO SER ASN THR LYS VAL ASP LYS THR VAL GLU ARG LYS CYS CYS
210 215 220

VAL GLU CYS PRO PRO CYS PRO ALA PRO PRO VAL ALA 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 GLN PHE ASN TRP TYR VAL ASP GLY VAL GLU VAL HIS ASN ALA LYS

275 280 285

THR LYS PRO ARG GLU GLU GLN PHE ASN SER THR PHE ARG VAL VAL SER
290 295 300

VAL LEU THR VAL VAL HIS GLN ASP TRP LEU ASN GLY LYS GLU TYR LYS
305 310 315 320

CYS LYS VAL SER ASN LYS GLY LEU PRO ALA PRO ILE GLU LYS THR ILE
325 330 335

SER LYS THR LYS GLY GLN PRO ARG GLU PRO GLN VAL TYR THR LEU PRO
340 345 350

PRO SER ARG GLU LYS MET 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 MET LEU LYS 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> 8
<211> 217
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NHẸ KHÔNG CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU TIÊN ĐOÁN

<400> 8

ASP ILE VAL MET THR GLN SER PRO ASP SER LEU ALA VAL SER LEU GLY
1 5 10 15

GLU ARG ALA THR ILE SER CYS ARG ALA SER GLU SER VAL ASP ASN TYR
20 25 30

GLY ILE SER PHE MET LYS TRP PHE GLN GLN LYS PRO GLY GLN PRO PRO
35 40 45

LYS LEU LEU ILE TYR ALA ALA SER ASN GLN GLY SER GLY VAL PRO ASP
50 55 60

ARG PHE SER GLY SER GLY SER GLY THR ASP PHE THR LEU THR ILE SER
65 70 75 80

SER LEU GLN ALA GLU ASP VAL ALA VAL TYR TYR CYS GLN GLN SER LYS
85 90 95

GLU VAL PRO TRP THR PHE GLY GLY GLY THR LYS VAL GLU ILE LYS ARG
100 105 110

THR VAL ALA ALA PRO SER VAL ILE PHE PRO PRO SER ASP GLU GLN LEU
115 120 125

LYS SER GLY THR ALA SER VAL VAL CYS LEU LEU ASN ASN PHE TYR PRO
130 135 140

ARG GLU ALA LYS VAL GLN TRP LYS VAL ASP ASN ALA LEU GLN SER GLY
145 150 155 160

ASN SER GLN GLU SER VAL THR GLU GLN ASP SER LYS ASP SER THR TYR
165 170 175

SER LEU SER SER THR LEU THR LEU SER LYS ALA ASP TYR GLU LYS HIS
180 185 190

LYS VAL TYR ALA CYS GLU VAL THR HIS GLN GLY LEU SER SER PRO VAL
195 200 205

THR LYS SER PHE ASN ARG GLY GLU CYS
210 215

<210> 9
<211> 119
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NẶNG 21M18

<400> 9

GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS PRO GLY ALA
1 5 10 15

SER VAL LYS ILE SER CYS LYS ALA SER GLY TYR SER PHE THR ALA TYR
20 25 30

TYR ILE HIS TRP VAL LYS GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU GLU TRP ILE
35 40 45

GLY TYR ILE SER SER TYR ASN GLY ALA THR ASN TYR ASN GLN LYS PHE
50 55 60

LYS GLY ARG VAL THR PHE THR THR ASP THR SER THR SER THR ALA TYR
65 70 75 80

MET GLU LEU ARG SER LEU ARG SER ASP ASP THR ALA VAL TYR TYR CYS
85 90 95

ALA ARG ASP TYR ASP TYR ASP VAL GLY MET ASP TYR TRP GLY GLN GLY
100 105 110

THR LEU VAL THR VAL SER SER
115

<210> 10
<211> 119
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NẶNG 21R79

<400> 10

GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS PRO GLY ALA
1 5 10 15

SER VAL LYS ILE SER CYS LYS ALA SER GLY TYR SER PHE THR ALA TYR
20 25 30

TYR ILE HIS TRP VAL LYS GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU GLU TRP ILE
35 40 45

GLY TYR ILE ALA ASN TYR ASN ARG ALA THR ASN TYR ASN GLN LYS PHE
50 55 60

LYS GLY ARG VAL THR PHE THR THR ASP THR SER THR SER THR ALA TYR
65 70 75 80

MET GLU LEU ARG SER LEU ARG SER ASP ASP THR ALA VAL TYR TYR CYS
85 90 95

ALA ARG ASP TYR ASP TYR ASP VAL GLY MET ASP TYR TRP GLY GLN GLY
100 105 110

THR LEU VAL THR VAL SER SER
115

<210> 11
<211> 121
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NẶNG 21R79

<400> 11

GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS PRO GLY ALA
1 5 10 15

SER VAL LYS VAL SER CYS LYS ALA SER GLY TYR THR PHE THR ASN TYR
20 25 30

TRP MET HIS TRP VAL ARG GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU GLU TRP MET
35 40 45

GLY ASP ILE ASN PRO SER ASN GLY ARG THR SER TYR LYS GLU LYS PHE
50 55 60

LYS ARG ARG VAL THR LEU SER VAL ASP LYS SER SER SER THR ALA TYR
65 70 75 80

MET GLU LEU SER SER LEU ARG SER GLU ASP THR ALA VAL TYR PHE CYS
85 90 95

THR ILE HIS TYR ASP ASP LYS TYR TYR PRO LEU MET ASP TYR TRP GLY
100 105 110

GLN GLY THR LEU VAL THR VAL SER SER
115 120

<210> 12
<211> 111
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NHẸ

<400> 12

ASP ILE VAL MET THR GLN SER PRO ASP SER LEU ALA VAL SER LEU GLY
1 5 10 15

GLU ARG ALA THR ILE SER CYS ARG ALA SER GLU SER VAL ASP ASN TYR

20 25 30

GLY ILE SER PHE MET LYS TRP PHE GLN GLN LYS PRO GLY GLN PRO PRO
35 40 45

LYS LEU LEU ILE TYR ALA ALA SER ASN GLN GLY SER GLY VAL PRO ASP
50 55 60

ARG PHE SER GLY SER GLY SER GLY THR ASP PHE THR LEU THR ILE SER
65 70 75 80

SER LEU GLN ALA GLU ASP VAL ALA VAL TYR TYR CYS GLN GLN SER LYS
85 90 95

GLU VAL PRO TRP THR PHE GLY GLY GLY THR LYS VAL GLU ILE LYS
100 105 110

<210> 13
<211> 6
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> 21R75, 21R79, 21R83, VÀ 21M18 CDR1 CỦA CHUỖI NẶNG

<400> 13

THR ALA TYR TYR ILE HIS
1 5

<210> 14
<211> 17
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> 21R79 CDR2 CỦA CHUỖI NẶNG

<400> 14

TYR ILE ALA ASN TYR ASN ARG ALA THR ASN TYR ASN GLN LYS PHE LYS
1 5 10 15

GLY

<210> 15
<211> 17
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> 21M18 CDR2 CỦA CHUỖI NẶNG

<400> 15

TYR ILE SER SER TYR ASN GLY ALA THR ASN TYR ASN GLN LYS PHE LYS
1 5 10 15

GLY

<210> 16
<211> 11
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> 21R75, 21R79, 21R83, VÀ 21M18 CDR3 CỦA CHUỖI NẶNG

<400> 16

ARG ASP TYR ASP TYR ASP VAL GLY MET ASP TYR
1 5 10

<210> 17
<211> 5
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> 219R45 CDR1 CỦA CHUỖI NẶNG

<400> 17

ASN TYR TRP MET HIS
1 5

<210> 18
<211> 17
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> 219R45 CDR2 CỦA CHUỖI NẶNG

<400> 18

ASP ILE ASN PRO SER ASN GLY ARG THR SER TYR LYS GLU LYS PHE LYS
1 5 10 15

ARG

<210> 19
<211> 12
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> 219R45 CDR3 CỦA CHUỖI NẶNG

<400> 19

HIS TYR ASP ASP LYS TYR TYR PRO LEU MET ASP TYR
1 5 10

<210> 20
<211> 15
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CDR1 CỦA CHUỖI NHẸ

<400> 20

ARG ALA SER GLU SER VAL ASP ASN TYR GLY ILE SER PHE MET LYS
1 5 10 15

<210> 21
<211> 7

<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CDR2 CỦA CHUỖI NHẸ

<400> 21

ALA ALA SER ASN GLN GLY SER
1 5

<210> 22
<211> 12
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CDR3 CỦA CHUỖI NHẸ

<400> 22

GLN GLN SER LYS GLU VAL PRO TRP THR PHE GLY GLY
1 5 10

<210> 23
<211> 522
<212> PRT
<213> HOMO SAPIENS

<400> 23

MET ALA ALA ALA SER ARG SER ALA SER GLY TRP ALA LEU LEU LEU LEU
1 5 10 15

VAL ALA LEU TRP GLN GLN ARG ALA ALA GLY SER GLY VAL PHE GLN LEU
20 25 30

GLN LEU GLN GLU PHE ILE ASN GLU ARG GLY VAL LEU ALA SER GLY ARG
35 40 45

PRO CYS GLU PRO GLY CYS ARG THR PHE PHE ARG VAL CYS LEU LYS HIS
50 55 60

PHE GLN ALA VAL VAL SER PRO GLY PRO CYS THR PHE GLY THR VAL SER

65 70 75 80

THR PRO VAL LEU GLY THR ASN SER PHE ALA VAL ARG ASP ASP SER SER
85 90 95

GLY GLY GLY ARG ASN PRO LEU GLN LEU PRO PHE ASN PHE THR TRP PRO
100 105 110

GLY THR PHE SER LEU ILE ILE GLU ALA TRP HIS ALA PRO GLY ASP ASP
115 120 125

LEU ARG PRO GLU ALA LEU PRO PRO ASP ALA LEU ILE SER LYS ILE ALA
130 135 140

ILE GLN GLY SER LEU ALA VAL GLY GLN ASN TRP LEU LEU ASP GLU GLN
145 150 155 160

THR SER THR LEU THR ARG LEU ARG TYR SER TYR ARG VAL ILE CYS SER
165 170 175

ASP ASN TYR TYR GLY ASP ASN CYS SER ARG LEU CYS LYS LYS ARG ASN
180 185 190

ASP HIS PHE GLY HIS TYR VAL CYS GLN PRO ASP GLY ASN LEU SER CYS
195 200 205

LEU PRO GLY TRP THR GLY GLU TYR CYS GLN GLN PRO ILE CYS LEU SER
210 215 220

GLY CYS HIS GLU GLN ASN GLY TYR CYS SER LYS PRO ALA GLU CYS LEU
225 230 235 240

CYS ARG PRO GLY TRP GLN GLY ARG LEU CYS ASN GLU CYS ILE PRO HIS
245 250 255

ASN GLY CYS ARG HIS GLY THR CYS SER THR PRO TRP GLN CYS THR CYS
260 265 270

ASP GLU GLY TRP GLY GLY LEU PHE CYS ASP GLN ASP LEU ASN TYR CYS
275 280 285

THR HIS HIS SER PRO CYS LYS ASN GLY ALA THR CYS SER ASN SER GLY
290 295 300

GLN ARG SER TYR THR CYS THR CYS ARG PRO GLY TYR THR GLY VAL ASP
305 310 315 320

CYS GLU LEU GLU LEU SER GLU CYS ASP SER ASN PRO CYS ARG ASN GLY
325 330 335

GLY SER CYS LYS ASP GLN GLU ASP GLY TYR HIS CYS LEU CYS PRO PRO
340 345 350

GLY TYR TYR GLY LEU HIS CYS GLU HIS SER THR LEU SER CYS ALA ASP
355 360 365

SER PRO CYS PHE ASN GLY GLY SER CYS ARG GLU ARG ASN GLN GLY ALA
370 375 380

ASN TYR ALA CYS GLU CYS PRO PRO ASN PHE THR GLY SER ASN CYS GLU
385 390 395 400

LYS LYS VAL ASP ARG CYS THR SER ASN PRO CYS ALA ASN GLY GLY GLN
405 410 415

CYS LEU ASN ARG GLY PRO SER ARG MET CYS ARG CYS ARG PRO GLY PHE
420 425 430

THR GLY THR TYR CYS GLU LEU HLÀ VAL SER ASP CYS ALA ARG ASN PRO
435 440 445

CYS ALA HIS GLY GLY THR CYS HIS ASP LEU GLU ASN GLY LEU MET CYS
450 455 460

THR CYS PRO ALA GLY PHE SER GLY ARG ARG CYS GLU VAL ARG THR SER

465 470 475 480

ILE ASP ALA CYS ALA SER SER PRO CYS PHE ASN ARG ALA THR CYS TYR
485 490 495

THR ASP LEU SER THR ASP THR PHE VAL CYS ASN CYS PRO TYR GLY PHE
500 505 510

VAL GLY SER ARG CYS GLU PHE PRO VAL GLY
515 520

<210> 24
<211> 496
<212> PRT
<213> HOMO SAPIENS

<400> 24

SER GLY VAL PHE GLN LEU GLN LEU GLN GLU PHE ILE ASN GLU ARG GLY
1 5 10 15

VAL LEU ALA SER GLY ARG PRO CYS GLU PRO GLY CYS ARG THR PHE PHE
20 25 30

ARG VAL CYS LEU LYS HIS PHE GLN ALA VAL VAL SER PRO GLY PRO CYS
35 40 45

THR PHE GLY THR VAL SER THR PRO VAL LEU GLY THR ASN SER PHE ALA
50 55 60

VAL ARG ASP ASP SER SER GLY GLY GLY ARG ASN PRO LEU GLN LEU PRO
65 70 75 80

PHE ASN PHE THR TRP PRO GLY THR PHE SER LEU ILE ILE GLU ALA TRP
85 90 95

HIS ALA PRO GLY ASP ASP LEU ARG PRO GLU ALA LEU PRO PRO ASP ALA
100 105 110

LEU ILE SER LYS ILE ALA ILE GLN GLY SER LEU ALA VAL GLY GLN ASN
115 120 125

TRP LEU LEU ASP GLU GLN THR SER THR LEU THR ARG LEU ARG TYR SER
130 135 140

TYR ARG VAL ILE CYS SER ASP ASN TYR TYR GLY ASP ASN CYS SER ARG
145 150 155 160

LEU CYS LYS LYS ARG ASN ASP HIS PHE GLY HIS TYR VAL CYS GLN PRO
165 170 175

ASP GLY ASN LEU SER CYS LEU PRO GLY TRP THR GLY GLU TYR CYS GLN
180 185 190

GLN PRO ILE CYS LEU SER GLY CYS HIS GLU GLN ASN GLY TYR CYS SER
195 200 205

LYS PRO ALA GLU CYS LEU CYS ARG PRO GLY TRP GLN GLY ARG LEU CYS
210 215 220

ASN GLU CYS ILE PRO HIS ASN GLY CYS ARG HIS GLY THR CYS SER THR
225 230 235 240

PRO TRP GLN CYS THR CYS ASP GLU GLY TRP GLY GLY LEU PHE CYS ASP
245 250 255

GLN ASP LEU ASN TYR CYS THR HIS HIS SER PRO CYS LYS ASN GLY ALA
260 265 270

THR CYS SER ASN SER GLY GLN ARG SER TYR THR CYS THR CYS ARG PRO
275 280 285

GLY TYR THR GLY VAL ASP CYS GLU LEU GLU LEU SER GLU CYS ASP SER
290 295 300

ASN PRO CYS ARG ASN GLY GLY SER CYS LYS ASP GLN GLU ASP GLY TYR
305 310 315 320

HIS CYS LEU CYS PRO PRO GLY TYR TYR GLY LEU HIS CYS GLU HIS SER
325 330 335

THR LEU SER CYS ALA ASP SER PRO CYS PHE ASN GLY GLY SER CYS ARG
340 345 350

GLU ARG ASN GLN GLY ALA ASN TYR ALA CYS GLU CYS PRO PRO ASN PHE
355 360 365

THR GLY SER ASN CYS GLU LYS LYS VAL ASP ARG CYS THR SER ASN PRO
370 375 380

CYS ALA ASN GLY GLY GLN CYS LEU ASN ARG GLY PRO SER ARG MET CYS
385 390 395 400

ARG CYS ARG PRO GLY PHE THR GLY THR TYR CYS GLU LEU HLÀ VAL SER
405 410 415

ASP CYS ALA ARG ASN PRO CYS ALA HIS GLY GLY THR CYS HIS ASP LEU
420 425 430

GLU ASN GLY LEU MET CYS THR CYS PRO ALA GLY PHE SER GLY ARG ARG
435 440 445

CYS GLU VAL ARG THR SER ILE ASP ALA CYS ALA SER SER PRO CYS PHE
450 455 460

ASN ARG ALA THR CYS TYR THR ASP LEU SER THR ASP THR PHE VAL CYS
465 470 475 480

ASN CYS PRO TYR GLY PHE VAL GLY SER ARG CYS GLU PHE PRO VAL GLY
485 490 495

<210> 25
<211> 128
<212> PRT
<213> HOMO SAPIENS

<400> 25

SER GLY VAL PHE GLN LEU GLN LEU GLN GLU PHE ILE ASN GLU ARG GLY
1 5 10 15

VAL LEU ALA SER GLY ARG PRO CYS GLU PRO GLY CYS ARG THR PHE PHE
20 25 30

ARG VAL CYS LEU LYS HIS PHE GLN ALA VAL VAL SER PRO GLY PRO CYS
35 40 45

THR PHE GLY THR VAL SER THR PRO VAL LEU GLY THR ASN SER PHE ALA
50 55 60

VAL ARG ASP ASP SER SER GLY GLY GLY ARG ASN PRO LEU GLN LEU PRO
65 70 75 80

PHE ASN PHE THR TRP PRO GLY THR PHE SER LEU ILE ILE GLU ALA TRP
85 90 95

HIS ALA PRO GLY ASP ASP LEU ARG PRO GLU ALA LEU PRO PRO ASP ALA
100 105 110

LEU ILE SER LYS ILE ALA ILE GLN GLY SER LEU ALA VAL GLY GLN ASN
115 120 125

<210> 26
<211> 63
<212> PRT
<213> HOMO SAPIENS

<400> 26

TRP LEU LEU ASP GLU GLN THR SER THR LEU THR ARG LEU ARG TYR SER
1 5 10 15

TYR ARG VAL ILE CYS SER ASP ASN TYR TYR GLY ASP ASN CYS SER ARG
20 25 30

LEU CYS LYS LYS ARG ASN ASP HIS PHE GLY HIS TYR VAL CYS GLN PRO
35 40 45

ASP GLY ASN LEU SER CYS LEU PRO GLY TRP THR GLY GLU TYR CYS
50 55 60

<210> 27
<211> 232
<212> PRT
<213> HOMO SAPIENS

<400> 27

MET ASN PHE LEU LEU SER TRP VAL HIS TRP SER LEU ALA LEU LEU LEU
1 5 10 15

TYR LEU HIS HIS ALA LYS TRP SER GLN ALA ALA PRO MET ALA GLU GLY
20 25 30

GLY GLY GLN ASN HIS HIS GLU VAL VAL LYS PHE MET ASP VAL TYR GLN
35 40 45

ARG SER TYR CYS HIS PRO ILE GLU THR LEU VAL ASP ILE PHE GLN GLU
50 55 60

TYR PRO ASP GLU ILE GLU TYR ILE PHE LYS PRO SER CYS VAL PRO LEU
65 70 75 80

MET ARG CYS GLY GLY CYS CYS ASN ASP GLU GLY LEU GLU CYS VAL PRO
85 90 95

THR GLU GLU SER ASN ILE THR MET GLN ILE MET ARG ILE LYS PRO HIS
100 105 110

GLN GLY GLN HIS ILE GLY GLU MET SER PHE LEU GLN HIS ASN LYS CYS
115 120 125

GLU CYS ARG PRO LYS LYS ASP ARG ALA ARG GLN GLU LYS LYS SER VAL
130 135 140

ARG GLY LYS GLY LYS GLY GLN LYS ARG LYS ARG LYS LYS SER ARG TYR
145 150 155 160

LYS SER TRP SER VAL TYR VAL GLY ALA ARG CYS CYS LEU MET PRO TRP
165 170 175

SER LEU PRO GLY PRO HIS PRO CYS GLY PRO CYS SER GLU ARG ARG LYS
180 185 190

HIS LEU PHE VAL GLN ASP PRO GLN THR CYS LYS CYS SER CYS LYS ASN
195 200 205

THR ASP SER ARG CYS LYS ALA ARG GLN LEU GLU LEU ASN GLU ARG THR
210 215 220

CYS ARG CYS ASP LYS PRO ARG ARG
225 230

<210> 28
<211> 206
<212> PRT
<213> HOMO SAPIENS

<400> 28

ALA PRO MET ALA GLU GLY GLY GLY GLN ASN HIS HIS GLU VAL VAL LYS
1 5 10 15

PHE MET ASP VAL TYR GLN ARG SER TYR CYS HIS PRO ILE GLU THR LEU
20 25 30

VAL ASP ILE PHE GLN GLU TYR PRO ASP GLU ILE GLU TYR ILE PHE LYS
35 40 45

PRO SER CYS VAL PRO LEU MET ARG CYS GLY GLY CYS CYS ASN ASP GLU
50 55 60

GLY LEU GLU CYS VAL PRO THR GLU GLU SER ASN ILE THR MET GLN ILE
65 70 75 80

MET ARG ILE LYS PRO HIS GLN GLY GLN HIS ILE GLY GLU MET SER PHE
85 90 95

LEU GLN HIS ASN LYS CYS GLU CYS ARG PRO LYS LYS ASP ARG ALA ARG
100 105 110

GLN GLU LYS LYS SER VAL ARG GLY LYS GLY LYS GLY GLN LYS ARG LYS
115 120 125

ARG LYS LYS SER ARG TYR LYS SER TRP SER VAL TYR VAL GLY ALA ARG
130 135 140

CYS CYS LEU MET PRO TRP SER LEU PRO GLY PRO HIS PRO CYS GLY PRO
145 150 155 160

CYS SER GLU ARG ARG LYS HIS LEU PHE VAL GLN ASP PRO GLN THR CYS
165 170 175

LYS CYS SER CYS LYS ASN THR ASP SER ARG CYS LYS ALA ARG GLN LEU
180 185 190

GLU LEU ASN GLU ARG THR CYS ARG CYS ASP LYS PRO ARG ARG
195 200 205

<210> 29
<211> 1395
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> 21M18 CHUỖI NẶNG TRÌNH TỰ NUCLEOTIT (13B PHIÊN BẢN 1)

<400> 29
ATGAAGCACC TGTGGTTCTT TCTGCTGCTG GTGGCCGCTC CCAGATGGGT
GCTGTCCCAG 60

GTGCAGCTGG TGCAGTCTGG CGCCGAAGTG AAGAAACCTG GCGCCTCCGT
GAAGATCTCC 120

TGCAAGGCCT CCGGCTACTC CTTCACCGCT TACTACATCC ACTGGGTCAA GCAGGCCCCT 180

GGGCAGGGCC TGGAATGGAT CGGCTACATC TCCTCCTACA ACGGCGCCAC CAACTACAAC 240

CAGAAATTCA AGGGCCGCGT GACCTTCACC ACCGACACCT CCACCTCCAC CGCCTACATG 300

GAACTGCGGT CCCTGCGGAG CGACGACACC GCCGTGTACT ACTGCGCCAG AGACTACGAC 360

TACGACGTGG GCATGGACTA CTGGGGCCAG GGCACCCTGG TCACCGTGTC CTCTGCCTCC 420

ACCAAGGGCC CATCCGTGTT CCCTCTGGCC CCTTGCTCCC GGTCCACCTC TGAGTCTACC 480

GCCGCTCTGG GCTGCCTGGT GAAGGACTAC TTCCCTGAGC CTGTGACCGT GTCCTGGAAC 540

TCTGGCGCCC TGACCTCTGG CGTGCACACC TTCCCTGCCG TGCTGCAGTC CTCCGGCCTG 600

TACTCCCTGT CTAGCGTGGT GACCGTGCCT TCCTCCAACT TCGGCACCCA GACCTACACC 660

TGTAACGTGG ACCACAAGCC TTCCAACACC AAGGTGGACA AGACCGTGGA GCGGAAGTGC 720

TGCGTGGAGT GCCCTCCTTG TCCTGCTCCT CCTGTGGCTG GCCCTTCTGT GTTCCTGTTC 780

CCTCCAAAGC CTAAGGACAC CCTGATGATC TCCCGGACCC CTGAAGTGAC CTGCGTGGTG 840

GTGGACGTGT CCCACGAGGA CCCTGAGGTG CAGTTCAATT GGTACGTGGA CGGCGTGGAG 900

GTGCACAACG CCAAGACCAA GCCTCGGGAG GAACAGTTCA ACTCCACCTT CCGGGTGGTG 960

TCTGTGCTGA CCGTGGTGCA CCAGGACTGG CTGAACGGCA AAGAATACAA GTGCAAGGTG 1020

TCCAACAAGG GCCTGCCTGC CCCTATCGAA AAGACCATCA GCAAGACCAA GGGCCAGCCT 1080

CGCGAGCCTC AGGTGTACAC CCTGCCTCCC AGCCGGGAAG AAATGACCAA GAACCAGGTG 1140

TCCCTGACCT GTCTGGTGGA GGGCTTCTAC CCTTCCGATA TCGCCGTGGA GTGGGAGTCT 1200

AACGGCCAGC CTGAGAACAA CTACAAGACC ACCCCTCCTA TGCTGGACTC CGACGGCTCC 1260

TTCTTCCTGT ACTCCGAACT GACCGTGGAC AAGTCCCGGT GGCAGCAGGG CAACGTGTTC 1320

TCCTGCTCCG TGATGCACGA GGCCCTGCAC AACCACTACA CCCAGAAGTC CCTGTCCCTG 1380

TCTCCTGGCA AGTAG 1395

<210> 30
<211> 1395
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> 21R79 CHUỖI NẶNG TRÌNH TỰ NUCLEOTIT (13B PHIÊN BẢN 1)

<400> 30
ATGAAGCACC TGTGGTTCTT TCTGCTGCTG GTGGCCGCTC CCAGATGGGT GCTGTCCCAG 60

GTGCAGCTGG TGCAGTCTGG CGCCGAAGTG AAGAAACCTG GCGCCTCCGT GAAGATCTCC 120

TGCAAGGCCT CCGGCTACTC CTTCACCGCC TACTACATCC ACTGGGTGAA ACAGGCACCA 180

GGCCAGGGAC TGGAATGGAT CGGCTATATC GCCAACTACA ACCGGGCCAC CAACTACAAC 240

CAGAAATTCA AGGGCCGCGT GACCTTCACC ACCGACACCT CCACCTCCAC AGCCTACATG 300

GAACTGCGGT CCCTGCGGAG CGACGACACC GCCGTGTACT ACTGCGCCAG AGACTACGAC 360

TACGACGTGG GCATGGACTA CTGGGGCCAG GGCACCCTGG TGACAGTGTC CTCCGCCTCC 420

ACCAAGGGCC CCTCCGTGTT CCCTCTGGCC CCTTGCTCCC GGTCCACCTC TGAGTCTACC 480

GCCGCTCTGG GCTGCCTGGT GAAGGACTAC TTCCCTGAGC CTGTGACCGT GTCCTGGAAC 540

TCTGGCGCCC TGACCTCTGG CGTGCACACC TTCCCTGCCG TGCTGCAGTC CTCCGGCCTG 600

TACTCCCTGT CTAGCGTGGT GACCGTGCCT TCCTCCAACT TCGGCACCCA GACCTACACC 660

TGTAACGTGG ACCACAAGCC TTCCAACACC AAGGTGGACA AGACCGTGGA GCGGAAGTGC 720

TGCGTGGAGT GCCCTCCTTG TCCTGCTCCT CCTGTGGCTG GCCCTTCTGT GTTCCTGTTC 780

CCTCCAAAGC CTAAGGACAC CCTGATGATC TCCCGGACCC CTGAAGTGAC CTGCGTGGTG 840

GTGGACGTGT CCCACGAGGA CCCTGAGGTG CAGTTCAATT GGTACGTGGA CGGCGTGGAG 900

GTGCACAACG CCAAGACCAA GCCTCGGGAG GAACAGTTCA ACTCCACCTT CCGGGTGGTG 960

TCTGTGCTGA CCGTGGTGCA CCAGGACTGG CTGAACGGCA AAGAATACAA GTGCAAGGTG 1020

TCCAACAAGG GCCTGCCTGC CCCTATCGAA AAGACCATCA GCAAGACCAA GGGCCAGCCT 1080

CGCGAGCCTC AGGTGTACAC CCTGCCTCCC AGCCGGGAAG AAATGACCAA GAACCAGGTG 1140

TCCCTGACCT GTCTGGTGGA GGGCTTCTAC CCTTCCGATA TCGCCGTGGA GTGGGAGTCT 1200

AACGGCCAGC CTGAGAACAA CTACAAGACC ACCCCTCCTA TGCTGGACTC CGACGGCTCC 1260

TTCTTCCTGT ACTCCGAACT GACCGTGGAC AAGTCCCGGT GGCAGCAGGG CAACGTGTTC 1320

TCCTGCTCCG TGATGCACGA GGCCCTGCAC AACCACTACA CCCAGAAGTC CCTGTCCCTG 1380

TCTCCTGGCA AGTAG 1395

<210> 31
<211> 1395

<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> 21R79 CHUỖI NẶNG TRÌNH TỰ NUCLEOTIT (13B PHIÊN BẢN 2)

<400> 31
ATGAAGCACC TATGGTTCTT TCTATTATTA GTGGCCGCTC CCCGTTGGGT GTTATCGCAG 60

GTTCAGCTAG TTCAGTCTGG AGCGGAAGTT AAGAAACCTG GAGCATCCGT GAAAATAAGT 120

TGCAAGGCAT CCGGTTACTC GTTCACCGCA TACTATATCC ACTGGGTTAA ACAGGCACCA 180

GGACAGGGAC TTGAATGGAT CGGATATATC GCTAATTATA ATAGAGCTAC AAACTATAAC 240

CAAAAATTCA AAGGACGCGT GACTTTCACA ACTGACACCT CAACCTCGAC AGCATACATG 300

GAATTACGGT CCCTACGGTC TGACGACACT GCCGTTTACT ATTGCGCTAG AGATTATGAT 360

TATGATGTTG GAATGGACTA TTGGGGCCAG GGAACACTGG TGACAGTGTC TTCTGCATCC 420

ACTAAGGGAC CATCCGTGTT CCCTTTGGCC CCTTGCTCTC GTTCGACCTC TGAATCGACT 480

GCCGCTCTGG GATGCCTCGT GAAAGATTAC TTCCCTGAGC CTGTGACCGT TTCCTGGAAC 540

TCGGGCGCCC TAACCTCTGG CGTGCACACA TTCCCTGCCG TGCTACAGTC TTCTGGCCTA 600

TACTCTTTAT CTTCGGTTGT TACCGTACCT TCTTCTAACT TCGGAACCCA AACTTACACC 660

TGTAACGTAG ACCACAAGCC TTCGAACACC AAGGTGGACA AGACTGTTGA GCGAAAGTGC 720

TGCGTTGAGT GCCCTCCATG TCCTGCACCT CCTGTGGCTG GCCCTTCTGT GTTCCTGTTC 780

CCTCCAAAAC CTAAGGACAC TCTAATGATC TCTCGGACTC CTGAGGTGAC TTGCGTGGTT 840

GTGGACGTGT CCCACGAGGA CCCTGAGGTG CAGTTCAATT GGTACGTGGA CGGAGTCGAG 900

GTGCACAATG CAAAGACCAA GCCTCGGGAG GAACAGTTCA ACTCCACCTT CCGGGTGGTT 960

TCTGTGTTGA CCGTTGTGCA CCAAGACTGG CTGAACGGCA AGAATACAA GTGCAAGGTG 1020

TCCAACAAGG GCCTGCCTGC CCCTATCGAA AAGACCATCA GCAAGACCAA GGGCCAGCCT 1080

CGCGAGCCTC AGGTGTACAC CCTGCCTCCC AGCCGGGAAG AAATGACCAA GAACCAGGTG 1140

TCCCTGACCT GTCTGGTGGA GGGCTTCTAC CCTTCCGACA TCGCCGTTGA GTGGGAGTCT 1200

AACGGACAGC CGGAGAACAA CTACAAGACT ACGCCTCCAA TGCTGGACTC CGACGGCTCC 1260

TTCTTCCTGT ACTCCGAACT GACCGTGGAC AAGTCCCGGT GGCAGCAGGG CAACGTGTTC 1320

TCATGCTCCG TAATGCACGA AGCCTTGCAC AATCACTACA CTCAAAAGTC CCTATCCTTA 1380

TCTCCTGGCA AGTAG 1395

<210> 32
<211> 1401
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> 219R45 CHUỖI NẶNG TRÌNH TỰ NUCLEOTIT (13A PHIÊN BẢN 1)

<400> 32
ATGAAGCATC TGTGGTTTTT CCTGTTGCTC GTGGCGGCAC CCAGATGGGT GTTGTCCCAA 60

GTGCAGCTGG TCCAGAGCGG GGCTGAGGTG AAGAAACCCG GAGCAAGCGT AAAAGTATCG 120

TGTAAGGCCT CGGGGTACAC GTTTACAAAC TACTGGATGC ATTGGGTGCG GCAGGCTCCG 180

GGACAGGGGT TGGAATGGAT GGGTGACATT AACCCCTCAA ATGGCAGAAC ATCATATAAG 240

GAAAAGTTCA AACGCCGCGT CACACTCTCC GTGGACAAGT CAAGCTCGAC TGCGTACATG 300

GAACTTTCGT CGCTGAGGTC GGAGGACACG GCAGTGTACT TTTGCACCAT CCATTATGAT 360

GACAAGTATT ACCCTCTGAT GGATTATTGG GGTCAGGGTA CGTTGGTCAC CGTCTCCAGC 420

GCGTCGACGA AAGGTCCCTC GGTATTTCCC CTCGCCCCCT GCTCGAGGTC GACATCCGAA 480

TCAACAGCTG CCCTCGGCTG CCTGGTCAAA GACTACTTCC CAGAGCCGGT AACGGTGTCG 540

TGGAACTCGG GAGCGCTTAC GTCCGGAGTC CACACATTTC CGGCGGTACT GCAATCCTCG 600

GGACTGTATT CGTTGTCGTC AGTGGTGACT GTCCCGTCCT CCAATTTCGG GACTCAGACC 660

TATACGTGCA ACGTCGACCA CAAACCCTCA AACACCAAGG TGGATAAGAC AGTGGAGCGC 720

AAGTGCTGCG TGGAGTGTCC CCCGTGTCCG GCACCCCCTG TCGCCGGACC CTCAGTCTTT 780

TTGTTTCCGC CGAAGCCCAA AGATACACTC ATGATCTCAA GAACGCCCGA GGTAACATGC 840

GTGGTGGTCG ATGTAAGCCA CGAGGATCCA GAAGTACAAT TCAATTGGTA TGTAGACGGG 900

GTCGAGGTCC ATAACGCAAA GACGAAACCG AGGGAAGAGC AGTTCAATTC GACTTTCCGG 960

GTGGTGTCGG TGCTTACAGT CGTACATCAG GACTGGTTGA ACGGGAAGGA GTACAAGTGT 1020

AAAGTATCGA ATAAGGGCCT TCCAGCGCCG ATTGAAAAGA CCATCTCCAA GACCAAAGGA 1080

CAGCCACGAG AGCCGCAAGT CTATACGCTT CCTCCCAGCC GAGAAAAGAT GACTAAAAAC 1140

CAGGTATCGC TTACGTGTCT CGTCAAGGGT TTCTACCCTT CGGACATCGC GGTGGAATGG 1200

GAGAGCAATG GACAACCGGA AAACAACTAC AAGACGACAC CGCCTATGTT GAAAAGCGAT 1260

GGATCGTTTT TCCTCTATTC GAAACTCACG GTCGATAAGT CACGGTGGCA GCAGGGGAAT 1320

GTGTTCTCCT GTTCAGTGAT GCACGAGGCG CTCCACAATC ACTATACCCA GAAAAGCCTG 1380

TCACTTTCCC CGGGAAAATG A 1401

<210> 33
<211> 1401
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> 219R45 CHUỖI NẶNG TRÌNH TỰ NUCLEOTIT (13A PHIÊN BẢN 2)

<400> 33
ATGAAGCACC TCTGGTTCTT CCTGCTCCTC GTGGCTGCTC CTCGGTGGGT CCTCTCCCAA 60

GTGCAGCTGG TCCAGAGCGG GGCTGAGGTG AAGAAACCCG GAGCTTCCGT CAAAGTCTCC 120

TGTAAGGCTT CCGGATACAC CTTTACCAAC TATTGGATGC ACTGGGTGCG GCAGGCTCCT 180

GGACAAGGGC TGGAATGGAT GGGAGACATC AATCCTTCCA ATGGCAGAAC CTCCTACAAG 240

GAAAAATTCA AACGGCGGGT CACACTCTCC GTGGACAAGT CTAGCTCCAC AGCTTACATG 300

GAACTCTCCT CCCTGCGGTC CGAAGACACA GCTGTCTACT TCTGCACCAT CCACTACGAC 360

GACAAGTACT ACCCTCTGAT GGACTACTGG GGCCAGGGAA CCCTGGTCAC CGTGTCCAGC 420

GCTTCCACAA AAGGACCCTC CGTCTTTCCC CTCGCCCCCT GCTCCCGGTC CACATCCGAA 480

TCAACAGCTG CCCTCGGCTG CCTGGTCAAA GACTACTTCC CAGAGCCTGT CACAGTGTCC 540

TGGAACTCCG GAGCTCTCAC ATCCGGAGTC CACACATTTC CTGCTGTGCT CCAATCCTCC 600

GGACTGTATT CCCTCTCCTC CGTGGTGACA GTGCCTTCCT CCAATTTCGG GACACAGACC 660

TATACATGCA ACGTGGACCA CAAACCCTCC AACACCAAAG TCGATAAGAC AGTGGAGCGC 720

AAGTGCTGCG TGGAGTGTCC CCCTTGTCCT GCTCCCCCTG TGGCTGGACC TTCCGTCTTT 780

CTGTTTCCTC CTAAACCTAA AGACACCCTC ATGATCTCCC GGACCCCCGA GGTCACATGC 840

GTGGTCGTCG ATGTGAGCCA CGAGGACCCC GAAGTCCAAT TTAATTGGTA TGTGGACGGG 900

GTGGAGGTCC ATAACGCTAA GACCAAACCT AGGGAAGAGC AGTTCAATTC CACTTTCCGG 960

GTGGTGTCCG TGCTGACCGT CGTTCATCAG GACTGGCTCA ACGGGAAAGA ATACAAATGC 1020

AAAGTCTCTA ATAAGGGCCT CCCTGCTCCT ATTGAAAAAA CAATTTCCAA AACAAAAGGA 1080

CAACCTCGGG AGCCTCAAGT CTACACACTG CCACCTTCCC GGGAAAAAAT GACAAAAAAT 1140

CAAGTCTCCC TCACATGTCT CGTCAAGGGA TTCTACCCTT CCGACATTGC TGTGGAATGG 1200

GAATCCAATG GACAACCTGA AAACAACTAC AAGACAACAC CTCCTATGCT CAAAAGCGAT 1260

GGGTCCTTTT TCCTCTATTC CAAACTCACA GTCGATAAGT CTCGGTGGCA GCAGGGGAAT 1320

GTGTTCTCCT GTTCCGTGAT GCACGAGGCT CTCCACAATC ACTATACCCA GAAAAGCCTG 1380

TCCCTCTCCC CTGGAAAATG A 1401

<210> 34
<211> 717
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NHẸ TRÌNH TỰ NUCLEOTIT

<400> 34
ATGGTGCTGC AGACCCAGGT GTTCATCTCC CTGCTGCTGT GGATCTCCGG CGCCTACGGC 60

GACATCGTGA TGACCCAGTC CCCAGACTCC CTGGCTGTGT CTCTGGGAGA GCGGGCCACC 120

ATCTCTTGCA GAGCCTCCGA GTCCGTGGAC AACTACGGCA TCTCCTTCAT GAAGTGGTTC 180

CAGCAGAAGC CCGGCCAGCC CCCAAAGCTG CTGATCTACG CCGCCTCCAA CCAGGGATCT 240

GGCGTGCCCG ACCGGTTCTC TGGATCCGGC TCTGGCACCG ACTTTACCCT GACCATCAGC 300

TCCCTGCAGG CCGAGGACGT GGCCGTGTAC TACTGCCAGC AGTCCAAAGA GGTGCCCTGG 360

ACCTTCGGCG GAGGCACCAA GGTGGAAATC AAGCGGACCG TGGCCGCTCC CTCCGTGTTC 420

ATCTTCCCAC CTCCGACGA GCAGCTGAAG TCCGGAACCG CCTCCGTCGT GTGCCTGCTG 480

AACAACTTCT ACCCCCGCGA GGCCAAGGTG CAGTGGAAGG TGGACAACGC CCTGCAGTCC 540

GGCAACTCCC AGGAATCCGT CACCGAGCAG GACTCCAAGG ACAGCACCTA CTCCCTGTCC 600

TCCACCCTGA CCCTGTCCAA GGCCGACTAC GAGAAGCACA AGGTGTACGC CTGCGAAGTG 660

ACCCACCAGG GCCTGTCCAG CCCCGTGACC AAGTCCTTCA ACCGGGGCGA GTGTTAG 717

<210> 35
<211> 357
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> 21M18 VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NẶNG TRÌNH TỰ NUCLEOTIT

<400> 35
CAGGTGCAGC TGGTGCAGTC TGGCGCCGAA GTGAAGAAAC CTGGCGCCTC CGTGAAGATC 60

TCCTGCAAGG CCTCCGGCTA CTCCTTCACC GCTTACTACA TCCACTGGGT CAAGCAGGCC 120

CCTGGGCAGG GCCTGGAATG GATCGGCTAC ATCTCCTCCT ACAACGGCGC CACCAACTAC 180

AACCAGAAAT TCAAGGGCCG CGTGACCTTC ACCACCGACA CCTCCACCTC CACCGCCTAC 240

ATGGAACTGC GGTCCCTGCG GAGCGACGAC ACCGCCGTGT ACTACTGCGC CAGAGACTAC 300

GACTACGACG TGGGCATGGA CTACTGGGGC CAGGGCACCC TGGTCACCGT GTCCTCT 357

<210> 36
<211> 357
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> 21R79 VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NẶNG TRÌNH TỰ NUCLEOTIT (13B)

<400> 36
CAGGTGCAGC TGGTGCAGTC TGGCGCCGAA GTGAAGAAAC CTGGCGCCTC CGTGAAGATC 60

TCCTGCAAGG CCTCCGGCTA CTCCTTCACC GCCTACTACA TCCACTGGGT GAAACAGGCA 120

CCAGGCCAGG GACTGGAATG GATCGGCTAT ATCGCCAACT ACAACCGGGC CACCAACTAC 180

AACCAGAAAT TCAAGGGCCG CGTGACCTTC ACCACCGACA CCTCCACCTC CACAGCCTAC 240

ATGGAACTGC GGTCCCTGCG GAGCGACGAC ACCGCCGTGT ACTACTGCGC CAGAGACTAC 300

GACTACGACG TGGGCATGGA CTACTGGGGC CAGGGCACCC TGGTGACAGT GTCCTCC 357

<210> 37
<211> 357
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> 21R79 VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NẶNG TRÌNH TỰ NUCLEOTIT (13B PHIÊN BẢN 2)

<400> 37
CAGGTTCAGC TAGTTCAGTC TGGAGCGGAA GTTAAGAAAC CTGGAGCATC CGTGAAAATA 60

AGTTGCAAGG CATCCGGTTA CTCGTTCACC GCATACTATA TCCACTGGGT TAAACAGGCA 120

CCAGGACAGG GACTTGAATG GATCGGATAT ATCGCTAATT ATAATAGAGC TACAAACTAT 180

AACCAAAAAT TCAAAGGACG CGTGACTTTC ACAACTGACA CCTCAACCTC GACAGCATAC 240

ATGGAATTAC GGTCCCTACG GTCTGACGAC ACTGCCGTTT ACTATTGCGC TAGAGATTAT 300

GATTATGATG TTGGAATGGA CTATTGGGGC CAGGGAACAC TGGTGACAGT GTCTTCT 357

<210> 38
<211> 363
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> 219R45 VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NẶNG TRÌNH TỰ NUCLEOTIT (13A PHIÊN BẢN 1)

<400> 38
CAAGTGCAGC TGGTCCAGAG CGGGGCTGAG GTGAAGAAAC CCGGAGCAAG CGTAAAAGTA 60

TCGTGTAAGG CCTCGGGGTA CACGTTTACA AACTACTGGA TGCATTGGGT GCGGCAGGCT 120

CCGGGACAGG GGTTGGAATG GATGGGTGAC ATTAACCCCT CAAATGGCAG AACATCATAT 180

AAGGAAAAGT TCAAACGCCG CGTCACACTC TCCGTGGACA AGTCAAGCTC GACTGCGTAC 240

ATGGAACTTT CGTCGCTGAG GTCGGAGGAC ACGGCAGTGT ACTTTTGCAC CATCCATTAT 300

GATGACAAGT ATTACCCTCT GATGGATTAT TGGGGTCAGG GTACGTTGGT CACCGTCTCC 360

AGC 363

<210> 39
<211> 363
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> 219R45 VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NẶNG TRÌNH TỰ NUCLEOTIT (13A PHIÊN BẢN 2)

<400> 39
CAAGTGCAGC TGGTCCAGAG CGGGGCTGAG GTGAAGAAAC CCGGAGCTTC CGTCAAAGTC 60

TCCTGTAAGG CTTCCGGATA CACCTTTACC AACTATTGGA TGCACTGGGT GCGGCAGGCT 120

CCTGGACAAG GGCTGGAATG GATGGGAGAC ATCAATCCTT CCAATGGCAG AACCTCCTAC 180

AAGGAAAAAT TCAAACGGCG GGTCACACTC TCCGTGGACA AGTCTAGCTC CACAGCTTAC 240

ATGGAACTCT CCTCCCTGCG GTCCGAAGAC ACAGCTGTCT ACTTCTGCAC CATCCACTAC 300

GACGACAAGT ACTACCCTCT GATGGACTAC TGGGGCCAGG GAACCCTGGT CACCGTGTCC 360

AGC 363

<210> 40
<211> 333
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NHẸ TRÌNH TỰ NUCLEOTIT

<400> 40
GACATCGTGA TGACCCAGTC CCCAGACTCC CTGGCTGTGT CTCTGGGAGA GCGGGCCACC 60

ATCTCTTGCA GAGCCTCCGA GTCCGTGGAC AACTACGGCA TCTCCTTCAT GAAGTGGTTC 120

CAGCAGAAGC CCGGCCAGCC CCCAAAGCTG CTGATCTACG CCGCCTCCAA CCAGGGATCT 180

GGCGTGCCCG ACCGGTTCTC TGGATCCGGC TCTGGCACCG ACTTTACCCT GACCATCAGC 240

TCCCTGCAGG CCGAGGACGT GGCCGTGTAC TACTGCCAGC AGTCCAAAGA GGTGCCCTGG 300

ACCTTCGGCG GAGGCACCAA GGTGGAAATC AAG 333

<210> 41
<211> 330
<212> PRT
<213> HOMO SAPIENS

<400> 41

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> 42
<211> 326
<212> PRT
<213> HOMO SAPIENS

<400> 42

ALA SER THR LYS GLY PRO SER VAL PHE PRO LEU ALA PRO CYS SER ARG
1 5 10 15

SER THR SER GLU SER 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 ASN PHE GLY THR GLN THR
65 70 75 80

TYR THR CYS ASN VAL ASP HIS LYS PRO SER ASN THR LYS VAL ASP LYS
85 90 95

THR VAL GLU ARG LYS CYS CYS VAL GLU CYS PRO PRO CYS PRO ALA PRO
100 105 110

PRO VAL ALA GLY PRO SER VAL PHE LEU PHE PRO PRO LYS PRO LYS ASP
115 120 125

THR LEU MET ILE SER ARG THR PRO GLU VAL THR CYS VAL VAL VAL ASP
130 135 140

VAL SER HIS GLU ASP PRO GLU VAL GLN PHE ASN TRP TYR VAL ASP GLY

145 150 155 160

VAL GLU VAL HIS ASN ALA LYS THR LYS PRO ARG GLU GLU GLN PHE ASN
165 170 175

SER THR PHE ARG VAL VAL SER VAL LEU THR VAL VAL HIS GLN ASP TRP
180 185 190

LEU ASN GLY LYS GLU TYR LYS CYS LYS VAL SER ASN LYS GLY LEU PRO
195 200 205

ALA PRO ILE GLU LYS THR ILE SER LYS THR LYS GLY GLN PRO ARG GLU
210 215 220

PRO GLN VAL TYR THR LEU PRO PRO SER ARG GLU GLU MET THR LYS ASN
225 230 235 240

GLN VAL SER LEU THR CYS LEU VAL LYS GLY PHE TYR PRO SER ASP ILE
245 250 255

ALA VAL GLU TRP GLU SER ASN GLY GLN PRO GLU ASN ASN TYR LYS THR
260 265 270

THR PRO PRO MET LEU ASP SER ASP GLY SER PHE PHE LEU TYR SER LYS
275 280 285

LEU THR VAL ASP LYS SER ARG TRP GLN GLN GLY ASN VAL PHE SER CYS
290 295 300

SER VAL MET HIS GLU ALA LEU HIS ASN HIS TYR THR GLN LYS SER LEU
305 310 315 320

SER LEU SER PRO GLY LYS
325

<210> 43
<211> 377
<212> PRT

<213> HOMO SAPIENS

<400> 43

ALA SER THR LYS GLY PRO SER VAL PHE PRO LEU ALA PRO CYS SER ARG
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 THR CYS ASN VAL ASN HIS LYS PRO SER ASN THR LYS VAL ASP LYS
85 90 95

ARG VAL GLU LEU LYS THR PRO LEU GLY ASP THR THR HIS THR CYS PRO
100 105 110

ARG CYS PRO GLU PRO LYS SER CYS ASP THR PRO PRO PRO CYS PRO ARG
115 120 125

CYS PRO GLU PRO LYS SER CYS ASP THR PRO PRO PRO CYS PRO ARG CYS
130 135 140

PRO GLU PRO LYS SER CYS ASP THR PRO PRO PRO CYS PRO ARG CYS PRO
145 150 155 160

ALA PRO GLU LEU LEU GLY GLY PRO SER VAL PHE LEU PHE PRO PRO LYS
165 170 175

PRO LYS ASP THR LEU MET ILE SER ARG THR PRO GLU VAL THR CYS VAL
180 185 190

VAL VAL ASP VAL SER HIS GLU ASP PRO GLU VAL GLN PHE LYS TRP TYR
195 200 205

VAL ASP GLY VAL GLU VAL HIS ASN ALA LYS THR LYS PRO ARG GLU GLU
210 215 220

GLN TYR ASN SER THR PHE ARG VAL VAL SER VAL LEU THR VAL LEU HIS
225 230 235 240

GLN ASP TRP LEU ASN GLY LYS GLU TYR LYS CYS LYS VAL SER ASN LYS
245 250 255

ALA LEU PRO ALA PRO ILE GLU LYS THR ILE SER LYS THR LYS GLY GLN
260 265 270

PRO ARG GLU PRO GLN VAL TYR THR LEU PRO PRO SER ARG GLU GLU MET
275 280 285

THR LYS ASN GLN VAL SER LEU THR CYS LEU VAL LYS GLY PHE TYR PRO
290 295 300

SER ASP ILE ALA VAL GLU TRP GLU SER SER GLY GLN PRO GLU ASN ASN
305 310 315 320

TYR ASN THR THR PRO PRO MET LEU ASP SER ASP GLY SER PHE PHE LEU
325 330 335

TYR SER LYS LEU THR VAL ASP LYS SER ARG TRP GLN GLN GLY ASN ILE
340 345 350

PHE SER CYS SER VAL MET HIS GLU ALA LEU HIS ASN ARG PHE THR GLN
355 360 365

LYS SER LEU SER LEU SER PRO GLY LYS
370 375

<210> 44
<211> 327
<212> PRT
<213> HOMO SAPIENS

<400> 44

ALA SER THR LYS GLY PRO SER VAL PHE PRO LEU ALA PRO CYS SER ARG
1 5 10 15

SER THR SER GLU SER 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 LYS THR
65 70 75 80

TYR THR CYS ASN VAL ASP HIS LYS PRO SER ASN THR LYS VAL ASP LYS
85 90 95

ARG VAL GLU SER LYS TYR GLY PRO PRO CYS PRO SER CYS PRO ALA PRO
100 105 110

GLU PHE LEU GLY GLY PRO SER VAL PHE LEU PHE PRO PRO LYS PRO LYS
115 120 125

ASP THR LEU MET ILE SER ARG THR PRO GLU VAL THR CYS VAL VAL VAL
130 135 140

ASP VAL SER GLN GLU ASP PRO GLU VAL GLN PHE ASN TRP TYR VAL ASP
145 150 155 160

GLY VAL GLU VAL HIS ASN ALA LYS THR LYS PRO ARG GLU GLU GLN PHE
165 170 175

ASN SER THR TYR ARG VAL VAL SER VAL LEU THR VAL LEU HIS GLN ASP
180 185 190

TRP LEU ASN GLY LYS GLU TYR LYS CYS LYS VAL SER ASN LYS GLY LEU
195 200 205

PRO SER SER ILE GLU LYS THR ILE SER LYS ALA LYS GLY GLN PRO ARG
210 215 220

GLU PRO GLN VAL TYR THR LEU PRO PRO SER GLN GLU GLU MET THR LYS
225 230 235 240

ASN GLN VAL SER LEU THR CYS LEU VAL LYS GLY PHE TYR PRO SER ASP
245 250 255

ILE ALA VAL GLU TRP GLU SER ASN GLY GLN PRO GLU ASN ASN TYR LYS
260 265 270

THR THR PRO PRO VAL LEU ASP SER ASP GLY SER PHE PHE LEU TYR SER
275 280 285

ARG LEU THR VAL ASP LYS SER ARG TRP GLN GLU GLY ASN VAL PHE SER
290 295 300

CYS SER VAL MET HIS GLU ALA LEU HIS ASN HIS TYR THR GLN LYS SER
305 310 315 320

LEU SER LEU SER LEU GLY LYS
325

<210> 45
<211> 8
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> FLAG PEPTIT

<400> 45

ASP TYR LYS ASP ASP ASP ASP LYS
1 5

<210> 46
<211> 464
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21R79 GỐC

<400> 46

MET LYS HIS LEU TRP PHE PHE LEU LEU LEU VAL ALA ALA PRO ARG TRP
1 5 10 15

VAL LEU SER GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS
20 25 30

PRO GLY ALA SER VAL LYS ILE SER CYS LYS ALA SER GLY TYR SER PHE
35 40 45

THR ALA TYR TYR ILE HIS TRP VAL LYS GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU
50 55 60

GLU TRP ILE GLY TYR ILE ALA ASN TYR ASN ARG ALA THR ASN TYR ASN
65 70 75 80

GLN LYS PHE LYS GLY ARG VAL THR PHE THR THR ASP THR SER THR SER
85 90 95

THR ALA TYR MET GLU LEU ARG SER LEU ARG SER ASP ASP THR ALA VAL
100 105 110

TYR TYR CYS ALA ARG ASP TYR ASP TYR ASP VAL GLY MET ASP TYR TRP
115 120 125

GLY GLN GLY THR LEU VAL THR VAL SER SER ALA SER THR LYS GLY PRO
130 135 140

SER VAL PHE PRO LEU ALA PRO CYS SER ARG SER THR SER GLU SER THR
145 150 155 160

ALA ALA LEU GLY CYS LEU VAL LYS ASP TYR PHE PRO GLU PRO VAL THR
165 170 175

VAL SER TRP ASN SER GLY ALA LEU THR SER GLY VAL HIS THR PHE PRO
180 185 190

ALA VAL LEU GLN SER SER GLY LEU TYR SER LEU SER SER VAL VAL THR
195 200 205

VAL PRO SER SER ASN PHE GLY THR GLN THR TYR THR CYS ASN VAL ASP
210 215 220

HIS LYS PRO SER ASN THR LYS VAL ASP LYS THR VAL GLU ARG LYS CYS
225 230 235 240

CYS VAL GLU CYS PRO PRO CYS PRO ALA PRO PRO VAL ALA GLY PRO SER
245 250 255

VAL PHE LEU PHE PRO PRO LYS PRO LYS ASP THR LEU MET ILE SER ARG
260 265 270

THR PRO GLU VAL THR CYS VAL VAL VAL ASP VAL SER HIS GLU ASP PRO
275 280 285

GLU VAL GLN PHE ASN TRP TYR VAL ASP GLY VAL GLU VAL HIS ASN ALA
290 295 300

LYS THR LYS PRO ARG GLU GLU GLN PHE ASN SER THR PHE ARG VAL VAL
305 310 315 320

SER VAL LEU THR VAL VAL HIS GLN ASP TRP LEU ASN GLY LYS GLU TYR
325 330 335

LYS CYS LYS VAL SER ASN LYS GLY LEU PRO ALA PRO ILE GLU LYS THR

340 345 350

ILE SER LYS THR LYS GLY GLN PRO ARG GLU PRO GLN VAL TYR THR LEU
355 360 365

PRO PRO SER ARG GLU GLU MET THR LYS ASN GLN VAL SER LEU THR CYS
370 375 380

LEU VAL LYS GLY PHE TYR PRO SER ASP ILE ALA VAL GLU TRP GLU SER
385 390 395 400

ASN GLY GLN PRO GLU ASN ASN TYR LYS THR THR PRO PRO MET LEU ASP
405 410 415

SER ASP GLY SER PHE PHE LEU TYR SER LYS LEU THR VAL ASP LYS SER
420 425 430

ARG TRP GLN GLN GLY ASN VAL PHE SER CYS SER VAL MET HIS GLU ALA
435 440 445

LEU HIS ASN HIS TYR THR GLN LYS SER LEU SER LEU SER PRO GLY LYS
450 455 460

<210> 47
<211> 466
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 219R45 GỐC

<400> 47

MET LYS HIS LEU TRP PHE PHE LEU LEU LEU VAL ALA ALA PRO ARG TRP
1 5 10 15

VAL LEU SER GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS
20 25 30

PRO GLY ALA SER VAL LYS VAL SER CYS LYS ALA SER GLY TYR THR PHE

35 40 45

THR ASN TYR TRP MET HIS TRP VAL ARG GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU
50 55 60

GLU TRP MET GLY ASP ILE ASN PRO SER ASN GLY ARG THR SER TYR LYS
65 70 75 80

GLU LYS PHE LYS ARG ARG VAL THR LEU SER VAL ASP LYS SER SER SER
85 90 95

THR ALA TYR MET GLU LEU SER SER LEU ARG SER GLU ASP THR ALA VAL
100 105 110

TYR PHE CYS THR ILE HIS TYR ASP ASP LYS TYR TYR PRO LEU MET ASP
115 120 125

TYR TRP GLY GLN GLY THR LEU VAL THR VAL SER SER ALA SER THR LYS
130 135 140

GLY PRO SER VAL PHE PRO LEU ALA PRO CYS SER ARG SER THR SER GLU
145 150 155 160

SER THR ALA ALA LEU GLY CYS LEU VAL LYS ASP TYR PHE PRO GLU PRO
165 170 175

VAL THR VAL SER TRP ASN SER GLY ALA LEU THR SER GLY VAL HIS THR
180 185 190

PHE PRO ALA VAL LEU GLN SER SER GLY LEU TYR SER LEU SER SER VAL
195 200 205

VAL THR VAL PRO SER SER ASN PHE GLY THR GLN THR TYR THR CYS ASN
210 215 220

VAL ASP HIS LYS PRO SER ASN THR LYS VAL ASP LYS THR VAL GLU ARG
225 230 235 240

LYS CYS CYS VAL GLU CYS PRO PRO CYS PRO ALA PRO PRO VAL ALA GLY
245 250 255

PRO SER VAL PHE LEU PHE PRO PRO LYS PRO LYS ASP THR LEU MET ILE
260 265 270

SER ARG THR PRO GLU VAL THR CYS VAL VAL VAL ASP VAL SER HIS GLU
275 280 285

ASP PRO GLU VAL GLN PHE ASN TRP TYR VAL ASP GLY VAL GLU VAL HIS
290 295 300

ASN ALA LYS THR LYS PRO ARG GLU GLU GLN PHE ASN SER THR PHE ARG
305 310 315 320

VAL VAL SER VAL LEU THR VAL VAL HIS GLN ASP TRP LEU ASN GLY LYS
325 330 335

GLU TYR LYS CYS LYS VAL SER ASN LYS GLY LEU PRO ALA PRO ILE GLU
340 345 350

LYS THR ILE SER LYS THR LYS GLY GLN PRO ARG GLU PRO GLN VAL TYR
355 360 365

THR LEU PRO PRO SER ARG GLU GLU MET THR LYS ASN GLN VAL SER LEU
370 375 380

THR CYS LEU VAL LYS GLY PHE TYR PRO SER ASP ILE ALA VAL GLU TRP
385 390 395 400

GLU SER ASN GLY GLN PRO GLU ASN ASN TYR LYS THR THR PRO PRO MET
405 410 415

LEU ASP SER ASP GLY SER PHE PHE LEU TYR SER LYS LEU THR VAL ASP
420 425 430

LYS SER ARG TRP GLN GLN GLY ASN VAL PHE SER CYS SER VAL MET HIS

435 440 445

GLU ALA LEU HIS ASN HIS TYR THR GLN LYS SER LEU SER LEU SER PRO
450 455 460

GLY LYS
465

<210> 48
<211> 445
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21R79 GỐC KHÔNG CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU TIÊN ĐOÁN

<400> 48

GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS PRO GLY ALA
1 5 10 15

SER VAL LYS ILE SER CYS LYS ALA SER GLY TYR SER PHE THR ALA TYR
20 25 30

TYR ILE HIS TRP VAL LYS GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU GLU TRP ILE
35 40 45

GLY TYR ILE ALA ASN TYR ASN ARG ALA THR ASN TYR ASN GLN LYS PHE
50 55 60

LYS GLY ARG VAL THR PHE THR THR ASP THR SER THR SER THR ALA TYR
65 70 75 80

MET GLU LEU ARG SER LEU ARG SER ASP ASP THR ALA VAL TYR TYR CYS
85 90 95

ALA ARG ASP TYR ASP TYR ASP VAL GLY MET ASP TYR TRP GLY GLN GLY
100 105 110

THR LEU VAL THR VAL SER SER ALA SER THR LYS GLY PRO SER VAL PHE

115 120 125

PRO LEU ALA PRO CYS SER ARG SER THR SER GLU SER THR ALA ALA LEU
130 135 140

GLY CYS LEU VAL LYS ASP TYR PHE PRO GLU PRO VAL THR VAL SER TRP
145 150 155 160

ASN SER GLY ALA LEU THR SER GLY VAL HIS THR PHE PRO ALA VAL LEU
165 170 175

GLN SER SER GLY LEU TYR SER LEU SER SER VAL VAL THR VAL PRO SER
180 185 190

SER ASN PHE GLY THR GLN THR TYR THR CYS ASN VAL ASP HIS LYS PRO
195 200 205

SER ASN THR LYS VAL ASP LYS THR VAL GLU ARG LYS CYS CYS VAL GLU
210 215 220

CYS PRO PRO CYS PRO ALA PRO PRO VAL ALA 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 GLN
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 PHE ASN SER THR PHE ARG VAL VAL SER VAL LEU
290 295 300

THR VAL VAL HIS GLN ASP TRP LEU ASN GLY LYS GLU TYR LYS CYS LYS
305 310 315 320

VAL SER ASN LYS GLY LEU PRO ALA PRO ILE GLU LYS THR ILE SER LYS
325 330 335

THR LYS GLY GLN PRO ARG GLU PRO GLN VAL TYR THR LEU PRO PRO SER
340 345 350

ARG GLU GLU MET 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 MET 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> 49
<211> 447
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 219R45 GỐC KHÔNG CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU

<400> 49

GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS PRO GLY ALA
1 5 10 15

SER VAL LYS VAL SER CYS LYS ALA SER GLY TYR THR PHE THR ASN TYR
20 25 30

TRP MET HIS TRP VAL ARG GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU GLU TRP MET
35 40 45

GLY ASP ILE ASN PRO SER ASN GLY ARG THR SER TYR LYS GLU LYS PHE
50 55 60

LYS ARG ARG VAL THR LEU SER VAL ASP LYS SER SER SER THR ALA TYR
65 70 75 80

MET GLU LEU SER SER LEU ARG SER GLU ASP THR ALA VAL TYR PHE CYS
85 90 95

THR ILE HIS TYR ASP ASP LYS TYR TYR PRO LEU MET ASP TYR TRP GLY
100 105 110

GLN GLY THR LEU VAL THR VAL SER SER ALA SER THR LYS GLY PRO SER
115 120 125

VAL PHE PRO LEU ALA PRO CYS SER ARG SER THR SER GLU SER THR ALA
130 135 140

ALA LEU GLY CYS LEU VAL LYS ASP TYR PHE PRO GLU PRO VAL THR VAL
145 150 155 160

SER TRP ASN SER GLY ALA LEU THR SER GLY VAL HIS THR PHE PRO ALA
165 170 175

VAL LEU GLN SER SER GLY LEU TYR SER LEU SER SER VAL VAL THR VAL
180 185 190

PRO SER SER ASN PHE GLY THR GLN THR TYR THR CYS ASN VAL ASP HIS
195 200 205

LYS PRO SER ASN THR LYS VAL ASP LYS THR VAL GLU ARG LYS CYS CYS
210 215 220

VAL GLU CYS PRO PRO CYS PRO ALA PRO PRO VAL ALA 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 GLN PHE ASN TRP TYR VAL ASP GLY VAL GLU VAL HIS ASN ALA LYS
275 280 285

THR LYS PRO ARG GLU GLU GLN PHE ASN SER THR PHE ARG VAL VAL SER
290 295 300

VAL LEU THR VAL VAL HIS GLN ASP TRP LEU ASN GLY LYS GLU TYR LYS
305 310 315 320

CYS LYS VAL SER ASN LYS GLY LEU PRO ALA PRO ILE GLU LYS THR ILE
325 330 335

SER LYS THR LYS GLY GLN PRO ARG GLU PRO GLN VAL TYR THR LEU PRO
340 345 350

PRO SER ARG GLU GLU MET 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 MET 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> 50
<211> 357
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NẶNG 21R79 GỐC

<400> 50
CAAGTGCAGC TCGTGCAGTC AGGGGCGGAG GTCAAGAAGC CGGGAGCATC GGTCAAAATC 60

TCGTGTAAGG CCTCGGGGTA CTCCTTTACT GCGTATTACA TCCATTGGGT AAAGCAGGCG 120

CCAGGGCAGG GATTGGAGTG GATTGGGTAT ATCGCCAATT ACAATCGCGC GACGAACTAT 180

AACCAGAAAT TCAAGGGAAG GGTGACCTTC ACAACGGATA CATCGACATC GACGGCCTAC 240

ATGGAACTTC GCAGCCTGCG ATCAGATGAC ACGGCGGTAT ACTATTGCGC AAGAGATTAC 300

GACTATGATG TGGGAATGGA CTATTGGGGT CAAGGTACTC TGGTCACAGT CTCCTCC 357

<210> 51
<211> 363
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NẶNG 219R45 GỐC

<400> 51
CAGGTACAGC TCGTGCAATC GGGGGCAGAG GTCAAAAAGC CCGGTGCGTC GGTAAAGGTC 60

AGCTGCAAAG CGTCAGGTTA TACATTCACG AATTACTGGA TGCATTGGGT CAGACAGGCC 120

CCTGGACAAG GGCTTGAATG GATGGGAGAT ATCAATCCGT CGAACGGACG GACTAGCTAT 180

AAGGAGAAGT TTAAGAGGCG CGTAACACTG TCGGTGGACA AATCGTCCTC AACGGCCTAC 240

ATGGAGTTGT CATCCCTGCG GTCGGAAGAT ACGGCGGTCT ACTTCTGTAC TATCCACTAT 300

GACGATAAGT ACTACCCGCT TATGGACTAC TGGGGTCAGG GAACATTGGT AACCGTGAGC 360

AGC 363

<210> 52
<211> 1392
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21R79 GỐC CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU

<400> 52
ATGAAACACT TGTGGTTTTT CCTCTTGCTC GTGGCAGCTC CTCGGTGGGT ACTTTCACAA 60

GTGCAGCTCG TGCAGTCAGG GGCGGAGGTC AAGAAGCCGG GAGCATCGGT CAAAATCTCG 120

TGTAAGGCCT CGGGGTACTC CTTTACTGCG TATTACATCC ATTGGGTAAA GCAGGCGCCA 180

GGGCAGGGAT TGGAGTGGAT TGGGTATATC GCCAATTACA ATCGCGCGAC GAACTATAAC 240

CAGAAATTCA AGGGAAGGGT GACCTTCACA ACGGATACAT CGACATCGAC GGCCTACATG 300

GAACTTCGCA GCCTGCGATC AGATGACACG GCGGTATACT ATTGCGCAAG AGATTACGAC 360

TATGATGTGG GAATGGACTA TTGGGGTCAA GGTACTCTGG TCACAGTCTC CTCCGCCAGC 420

ACCAAGGGCC CTAGCGTCTT CCCTCTGGCT CCCTGCAGCA GGAGCACCAG CGAGAGCACA 480

GCCGCCCTGG GCTGCCTGGT CAAGGACTAC TTCCCCGAAC CGGTGACGGT GTCGTGGAAC 540

TCAGGCGCTC TGACCAGCGG CGTGCACACC TTCCCAGCTG TCCTACAGTC CTCAGGACTC 600

TACTCCCTCA GCAGCGTGGT GACCGTGCCC TCCAGCAACT TCGGCACCCA GACCTACACC 660

TGCAACGTAG ATCACAAGCC CAGCAACACC AAGGTGGACA AGACAGTTGA GCGCAAATGT 720

TGTGTCGAGT GCCCACCGTG CCCAGCACCA CCTGTGGCAG GACCGTCAGT CTTCCTCTTC 780

CCCCCAAAAC CCAAGGACAC CCTCATGATC TCCCGGACCC CTGAGGTCAC GTGCGTGGTG 840

GTGGACGTGA GCCACGAAGA CCCCGAGGTC CAGTTCAACT GGTACGTGGA CGGCGTGGAG 900

GTGCATAATG CCAAGACAAA GCCACGGGAG GAGCAGTTCA ACAGCACGTT CCGTGTGGTC 960

AGCGTCCTCA CCGTTGTGCA CCAGGACTGG CTGAACGGCA AGGAGTACAA GTGCAAGGTC 1020

TCCAACAAAG GCCTCCCAGC CCCCATCGAG AAAACCATCT CCAAAACCAA AGGGCAGCCC 1080

CGAGAACCAC AGGTGTACAC CCTGCCCCCA TCCCGGGAGG AGATGACCAA GAACCAGGTC 1140

AGCCTGACCT GCCTGGTCAA AGGCTTCTAC CCCAGCGACA TCGCCGTGGA GTGGGAGAGC 1200

AATGGGCAGC CGGAGAACAA CTACAAGACC ACACCTCCCA TGCTGGACTC CGACGGCTCC 1260

TTCTTCCTCT ACAGCAAGCT CACCGTGGAC AAGAGCAGGT GGCAGCAGGG GAACGTCTTC 1320

TCATGCTCCG TGATGCATGA GGCTCTGCAC AACCACTACA CGCAGAAGAG CCTCTCCCTG 1380

TCTCCGGGTA AA 1392

<210> 53
<211> 1398
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 219R45 GỐC CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU

<400> 53
ATGAAACACC TCTGGTTCTT TTTGCTCCTG GTGGCAGCTC CCCGATGGGT GCTTAGCCAG 60

GTACAGCTCG TGCAATCGGG GGCAGAGGTC AAAAAGCCCG GTGCGTCGGT AAAGGTCAGC 120

TGCAAAGCGT CAGGTTATAC ATTCACGAAT TACTGGATGC ATTGGGTCAG ACAGGCCCCT 180

GGACAAGGGC TTGAATGGAT GGGAGATATC AATCCGTCGA ACGGACGGAC TAGCTATAAG 240

GAGAAGTTTA AGAGGCGCGT AACACTGTCG GTGGACAAAT CGTCCTCAAC GGCCTACATG 300

GAGTTGTCAT CCCTGCGGTC GGAAGATACG GCGGTCTACT TCTGTACTAT CCACTATGAC 360

GATAAGTACT ACCCGCTTAT GGACTACTGG GGTCAGGGAA CATTGGTAAC CGTGAGCAGC 420

GCGTCCACAA AGGGCCCTAG CGTCTTCCCT CTGGCTCCCT GCAGCAGGAG CACCAGCGAG 480

AGCACAGCCG CCCTGGGCTG CCTGGTCAAG GACTACTTCC CCGAACCGGT GACGGTGTCG 540

TGGAACTCAG GCGCTCTGAC CAGCGGCGTG CACACCTTCC CAGCTGTCCT ACAGTCCTCA 600

GGACTCTACT CCCTCAGCAG CGTGGTGACC GTGCCCTCCA GCAACTTCGG CACCCAGACC 660

TACACCTGCA ACGTAGATCA CAAGCCCAGC AACACCAAGG TGGACAAGAC AGTTGAGCGC 720

AAATGTTGTG TCGAGTGCCC ACCGTGCCCA GCACCACCTG TGGCAGGACC GTCAGTCTTC 780

CTCTTCCCCC CAAAACCCAA GGACACCCTC ATGATCTCCC GGACCCCTGA GGTCACGTGC 840

GTGGTGGTGG ACGTGAGCCA CGAAGACCCC GAGGTCCAGT TCAACTGGTA CGTGGACGGC 900

GTGGAGGTGC ATAATGCCAA GACAAAGCCA CGGGAGGAGC AGTTCAACAG CACGTTCCGT 960

GTGGTCAGCG TCCTCACCGT TGTGCACCAG GACTGGCTGA ACGGCAAGGA GTACAAGTGC 1020

AAGGTCTCCA ACAAAGGCCT CCCAGCCCCC ATCGAGAAAA CCATCTCCAA AACCAAAGGG 1080

CAGCCCCGAG AACCACAGGT GTACACCCTG CCCCCATCCC GGGAGGAGAT GACCAAGAAC 1140

CAGGTCAGCC TGACCTGCCT GGTCAAAGGC TTCTACCCCA GCGACATCGC CGTGGAGTGG 1200

GAGAGCAATG GGCAGCCGGA GAACAACTAC AAGACCACAC CTCCCATGCT GGACTCCGAC 1260

GGCTCCTTCT TCCTCTACAG CAAGCTCACC GTGGACAAGA GCAGGTGGCA GCAGGGGAAC 1320

GTCTTCTCAT GCTCCGTGAT GCATGAGGCT CTGCACAACC ACTACACGCA GAAGAGCCTC 1380

TCCCTGTCTC CGGGTAAA 1398

<210> 54
<211> 333
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NHẸ 21R79 VÀ 219R45 GỐC

<400> 54
GACATCGTGA TGACCCAGTC CCCTGACTCC CTGGCTGTGT CCCTGGGCGA GAGGGCCACC 60

ATCTCCTGCA GAGCCAGCGA ATCCGTCGAT AATTATGGCA TTTCCTTTAT GAAGTGGTTC 120

CAGCAGAAAC CAGGACAGCC TCCTAAGCTG CTCATTTACG CTGCATCCAA CCAAGGGTCC 180

GGGGTCCCTG ACAGGTTCTC CGGCAGCGGG TCCGGAACAG ATTTCACTCT CACCATCAGC 240

AGCCTGCAGG CTGAAGATGT GGCTGTCTAT TACTGTCAGC AAAGCAAGGA GGTGCCTTGG 300

ACATTCGGAG GAGGGACCAA GGTGGAAATC AAA 333

<210> 55
<211> 717
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NHẸ 21R79 VÀ 219R45 GỐC

<400> 55
ATGGTGCTCC AGACCCAGGT CTTCATTTCC CTGCTGCTCT GGATCAGCGG AGCCTACGGG 60

GACATCGTGA TGACCCAGTC CCCTGACTCC CTGGCTGTGT CCCTGGGCGA GAGGGCCACC 120

ATCTCCTGCA GAGCCAGCGA ATCCGTCGAT AATTATGGCA TTTCCTTTAT GAAGTGGTTC 180

CAGCAGAAAC CAGGACAGCC TCCTAAGCTG CTCATTTACG CTGCATCCAA CCAAGGGTCC 240

GGGGTCCCTG ACAGGTTCTC CGGCAGCGGG TCCGGAACAG ATTTCACTCT CACCATCAGC 300

AGCCTGCAGG CTGAAGATGT GGCTGTCTAT TACTGTCAGC AAAGCAAGGA GGTGCCTTGG 360

ACATTCGGAG GAGGGACCAA GGTGGAAATC AAACGTACGG TGGCTGCCCC CTCCGTCTTC 420

ATCTTCCCCC CCAGCGATGA GCAGCTGAAA AGCGGCACTG CCAGCGTGGT GTGCCTGCTG 480

AATAACTTCT ATCCCCGGGA GGCCAAAGTG CAGTGGAAGG TGGATAACGC CCTCCAAAGC 540

GGCAACTCCC AGGAGAGCGT CACAGAGCAG GACAGCAAGG ACAGCACCTA CAGCCTCAGC 600

AGCACCCTGA CCCTGAGCAA AGCCGACTAC GAGAAACACA AAGTCTACGC CTGCGAAGTC 660

ACCCATCAGG GCCTGAGCAG CCCCGTCACA AAGAGCTTCA ACAGGGGCGA GTGTTGA 717

<210> 56
<211> 445
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21R75 KHÔNG CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU TIÊN ĐOÁN

<400> 56

GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS PRO GLY ALA
1 5 10 15

SER VAL LYS ILE SER CYS LYS ALA SER GLY TYR SER PHE THR ALA TYR
20 25 30

TYR ILE HIS TRP VAL LYS GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU GLU TRP ILE
35 40 45

GLY TYR ILE ALA GLY TYR LYS ASP ALA THR ASN TYR ASN GLN LYS PHE
50 55 60

LYS GLY ARG VAL THR PHE THR THR ASP THR SER THR SER THR ALA TYR
65 70 75 80

MET GLU LEU ARG SER LEU ARG SER ASP ASP THR ALA VAL TYR TYR CYS
85 90 95

ALA ARG ASP TYR ASP TYR ASP VAL GLY MET ASP TYR TRP GLY GLN GLY
100 105 110

THR LEU VAL THR VAL SER SER ALA SER THR LYS GLY PRO SER VAL PHE
115 120 125

PRO LEU ALA PRO CYS SER ARG SER THR SER GLU SER THR ALA ALA LEU
130 135 140

GLY CYS LEU VAL LYS ASP TYR PHE PRO GLU PRO VAL THR VAL SER TRP
145 150 155 160

ASN SER GLY ALA LEU THR SER GLY VAL HIS THR PHE PRO ALA VAL LEU
165 170 175

GLN SER SER GLY LEU TYR SER LEU SER SER VAL VAL THR VAL PRO SER
180 185 190

SER ASN PHE GLY THR GLN THR TYR THR CYS ASN VAL ASP HIS LYS PRO
195 200 205

SER ASN THR LYS VAL ASP LYS THR VAL GLU ARG LYS CYS CYS VAL GLU
210 215 220

CYS PRO PRO CYS PRO ALA PRO PRO VAL ALA 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 GLN
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 PHE ASN SER THR PHE ARG VAL VAL SER VAL LEU
290 295 300

THR VAL VAL HIS GLN ASP TRP LEU ASN GLY LYS GLU TYR LYS CYS LYS
305 310 315 320

VAL SER ASN LYS GLY LEU PRO ALA PRO ILE GLU LYS THR ILE SER LYS
325 330 335

THR LYS GLY GLN PRO ARG GLU PRO GLN VAL TYR THR LEU PRO PRO SER
340 345 350

ARG GLU GLU MET THR LYS ASN GLN VAL SER LEU THR CYS LEU VAL GLU
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 MET LEU ASP SER ASP GLY
385 390 395 400

SER PHE PHE LEU TYR SER GLU 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> 57
<211> 464
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21R75 CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU DỰ ĐOÁN

<400> 57

MET LYS HIS LEU TRP PHE PHE LEU LEU LEU VAL ALA ALA PRO ARG TRP
1 5 10 15

VAL LEU SER GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS
20 25 30

PRO GLY ALA SER VAL LYS ILE SER CYS LYS ALA SER GLY TYR SER PHE
35 40 45

THR ALA TYR TYR ILE HIS TRP VAL LYS GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU
50 55 60

GLU TRP ILE GLY TYR ILE ALA GLY TYR LYS ASP ALA THR ASN TYR ASN
65 70 75 80

GLN LYS PHE LYS GLY ARG VAL THR PHE THR THR ASP THR SER THR SER
85 90 95

THR ALA TYR MET GLU LEU ARG SER LEU ARG SER ASP ASP THR ALA VAL
100 105 110

TYR TYR CYS ALA ARG ASP TYR ASP TYR ASP VAL GLY MET ASP TYR TRP
115 120 125

GLY GLN GLY THR LEU VAL THR VAL SER SER ALA SER THR LYS GLY PRO
130 135 140

SER VAL PHE PRO LEU ALA PRO CYS SER ARG SER THR SER GLU SER THR
145 150 155 160

ALA ALA LEU GLY CYS LEU VAL LYS ASP TYR PHE PRO GLU PRO VAL THR
165 170 175

VAL SER TRP ASN SER GLY ALA LEU THR SER GLY VAL HIS THR PHE PRO
180 185 190

ALA VAL LEU GLN SER SER GLY LEU TYR SER LEU SER SER VAL VAL THR
195 200 205

VAL PRO SER SER ASN PHE GLY THR GLN THR TYR THR CYS ASN VAL ASP
210 215 220

HIS LYS PRO SER ASN THR LYS VAL ASP LYS THR VAL GLU ARG LYS CYS
225 230 235 240

CYS VAL GLU CYS PRO PRO CYS PRO ALA PRO PRO VAL ALA GLY PRO SER
245 250 255

VAL PHE LEU PHE PRO PRO LYS PRO LYS ASP THR LEU MET ILE SER ARG
260 265 270

THR PRO GLU VAL THR CYS VAL VAL VAL ASP VAL SER HIS GLU ASP PRO
275 280 285

GLU VAL GLN PHE ASN TRP TYR VAL ASP GLY VAL GLU VAL HIS ASN ALA
290 295 300

LYS THR LYS PRO ARG GLU GLU GLN PHE ASN SER THR PHE ARG VAL VAL
305 310 315 320

SER VAL LEU THR VAL VAL HIS GLN ASP TRP LEU ASN GLY LYS GLU TYR
325 330 335

LYS CYS LYS VAL SER ASN LYS GLY LEU PRO ALA PRO ILE GLU LYS THR
340 345 350

ILE SER LYS THR LYS GLY GLN PRO ARG GLU PRO GLN VAL TYR THR LEU
355 360 365

PRO PRO SER ARG GLU GLU MET THR LYS ASN GLN VAL SER LEU THR CYS
370 375 380

LEU VAL GLU GLY PHE TYR PRO SER ASP ILE ALA VAL GLU TRP GLU SER
385 390 395 400

ASN GLY GLN PRO GLU ASN ASN TYR LYS THR THR PRO PRO MET LEU ASP
405 410 415

SER ASP GLY SER PHE PHE LEU TYR SER GLU LEU THR VAL ASP LYS SER
420 425 430

ARG TRP GLN GLN GLY ASN VAL PHE SER CYS SER VAL MET HIS GLU ALA
435 440 445

LEU HIS ASN HIS TYR THR GLN LYS SER LEU SER LEU SER PRO GLY LYS
450 455 460

<210> 58
<211> 119

<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NẶNG 21R75

<400> 58

GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS PRO GLY ALA
1 5 10 15

SER VAL LYS ILE SER CYS LYS ALA SER GLY TYR SER PHE THR ALA TYR
20 25 30

TYR ILE HIS TRP VAL LYS GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU GLU TRP ILE
35 40 45

GLY TYR ILE ALA GLY TYR LYS ASP ALA THR ASN TYR ASN GLN LYS PHE
50 55 60

LYS GLY ARG VAL THR PHE THR THR ASP THR SER THR SER THR ALA TYR
65 70 75 80

MET GLU LEU ARG SER LEU ARG SER ASP ASP THR ALA VAL TYR TYR CYS
85 90 95

ALA ARG ASP TYR ASP TYR ASP VAL GLY MET ASP TYR TRP GLY GLN GLY
100 105 110

THR LEU VAL THR VAL SER SER
115

<210> 59
<211> 17
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CDR2 CỦA CHUỖI NẶNG 21R75

<400> 59

TYR ILE ALA GLY TYR LYS ASP ALA THR ASN TYR ASN GLN LYS PHE LYS
1 5 10 15

GLY

<210> 60
<211> 1392
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21R75 CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU (13B PHIÊN BẢN 1)

<400> 60
ATGAAGCACC TGTGGTTCTT TCTGCTGCTG GTGGCCGCTC CCAGATGGGT GCTGTCCCAG 60

GTGCAGCTGG TGCAGTCTGG CGCCGAAGTG AAGAAACCTG GCGCCTCCGT GAAGATCTCC 120

TGCAAGGCCT CCGGCTACTC CTTCACCGCC TACTACATCC ACTGGGTCAA GCAGGCCCCT 180

GGACAGGGCC TGGAATGGAT CGGCTATATC GCCGGCTACA AGGACGCCAC CAACTACAAC 240

CAGAAATTCA AGGGCAGAGT GACCTTCACC ACCGACACCT CCACCTCTAC CGCCTACATG 300

GAACTGCGGT CCCTGCGGAG CGACGACACC GCCGTGTACT ACTGCGCCAG AGACTACGAC 360

TACGACGTGG GCATGGACTA CTGGGGCCAG GGCACACTCG TGACCGTGTC CTCTGCTTCC 420

ACCAAGGGCC CCTCCGTGTT TCCTCTGGCC CCTTGCTCCA GATCCACCTC CGAGTCTACC 480

GCCGCTCTGG GCTGCCTCGT GAAGGACTAC TTCCCCGAGC CCGTGACAGT GTCTTGGAAC 540

TCTGGCGCCC TGACCTCCGG CGTGCACACC TTTCCAGCTG TGCTGCAGTC CTCCGGCCTG 600

TACTCCCTGT CCTCCGTCGT GACTGTGCCC TCCTCCAACT TCGGCACCCA GACCTACACC 660

TGTAACGTGG ACCACAAGCC CTCCAACACC AAGGTGGACA AGACCGTGGA ACGGAAGTGC 720

TGCGTGGAAT GCCCCCCTTG TCCTGCCCCT CCTGTGGCTG GCCCTAGCGT GTTCCTGTTC 780

CCCCCAAAGC CCAAGGACAC CCTGATGATC TCCCGGACCC CCGAAGTGAC CTGCGTGGTG 840

GTGGATGTGT CCCACGAGGA CCCCGAGGTG CAGTTCAATT GGTACGTGGA CGGCGTGGAA 900

GTGCACAACG CCAAGACCAA GCCCAGAGAG GAACAGTTCA ACTCCACCTT CCGGGTGGTG 960

TCCGTGCTGA CCGTGGTGCA TCAGGACTGG CTGAACGGCA AAGAGTACAA GTGCAAGGTG 1020

TCCAACAAGG GCCTGCCTGC CCCCATCGAA AAGACCATCT CTAAGACCAA GGGACAGCCC 1080

CGCGAGCCCC AGGTGTACAC ACTGCCTCCA TCCCGGGAAG AGATGACCAA GAACCAGGTG 1140

TCCCTGACCT GTCTGGTGGA AGGCTTCTAC CCCTCCGATA TCGCCGTGGA ATGGGAGTCC 1200

AACGGCCAGC CCGAGAACAA CTACAAGACC ACCCCCCCCA TGCTGGACTC CGACGGCTCA 1260

TTCTTCCTGT ACAGCGAGCT GACAGTGGAC AAGTCCCGGT GGCAGCAGGG CAACGTGTTC 1320

TCCTGCTCCG TGATGCACGA GGCCCTGCAC AACCACTACA CCCAGAAGTC CCTGTCCCTG 1380

AGCCCCGGCA AG 1392

<210> 61
<211> 1392
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21R75 CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU (13B PHIÊN BẢN S1-2)

<400> 61
ATGAAGCACC TGTGGTTCTT TCTGCTGCTG GTGGCCGCTC CCAGATGGGT GCTGTCCCAG 60

GTTCAGCTAG TTCAGTCTGG AGCGGAAGTT AAGAAACCTG GAGCATCCGT GAAAATAAGT 120

TGCAAGGCAT CCGGTTACTC GTTCACCGCA TACTATATCC ACTGGGTTAA ACAGGCACCA 180

GGACAGGGAC TTGAATGGAT CGGATATATC GCTGGATATA AAGATGCTAC AAACTATAAC 240

CAAAAATTCA AAGGACGCGT GACTTTCACA ACTGACACCT CAACCTCGAC AGCATACATG 300

GAATTACGGT CCCTACGGTC TGACGACACT GCCGTTTACT ATTGCGCTAG AGATTATGAT 360

TATGATGTTG GAATGGACTA TTGGGGCCAG GGAACACTGG TGACAGTGTC TTCTGCATCC 420

ACTAAGGGAC CATCCGTGTT CCCTTTGGCC CCTTGCTCTC GTTCGACCTC TGAATCGACT 480

GCCGCTCTGG GATGCCTCGT GAAAGATTAC TTCCCTGAGC CTGTGACCGT TTCCTGGAAC 540

TCGGGCGCCC TAACCTCTGG CGTGCACACA TTCCCTGCCG TGCTACAGTC TTCTGGCCTA 600

TACTCTTTAT CTTCGGTTGT TACCGTACCT TCTTCTAACT TCGGAACCCA AACTTACACC 660

TGTAACGTAG ACCACAAGCC TTCGAACACC AAGGTGGACA AGACTGTTGA GCGAAAGTGC 720

TGCGTTGAGT GCCCTCCATG TCCTGCACCT CCTGTGGCTG GCCCTTCTGT GTTCCTGTTC 780

CCTCCAAAAC CTAAGGACAC TCTAATGATC TCTCGGACTC CTGAGGTGAC TTGCGTGGTT 840

GTGGACGTGT CCCACGAGGA CCCTGAGGTG CAGTTCAATT GGTACGTGGA CGGAGTCGAG 900

GTGCACAATG CAAAGACCAA GCCTCGGGAG GAACAGTTCA ACTCCACCTT CCGGGTGGTT 960

TCTGTGTTGA CCGTTGTGCA CCAAGACTGG CTGAACGGCA AAGAATACAA GTGCAAGGTG 1020

TCCAACAAGG GCCTGCCTGC CCCTATCGAA AAGACCATCA GCAAGACCAA GGGCCAGCCT 1080

CGCGAGCCTC AGGTGTACAC CCTGCCTCCC AGCCGGGAAG AAATGACCAA GAACCAGGTG 1140

TCCCTGACCT GTCTGGTGGA GGGCTTCTAC CCTTCCGACA TCGCCGTTGA GTGGGAGTCT 1200

AACGGACAGC CGGAGAACAA CTACAAGACT ACGCCTCCAA TGCTGGACTC CGACGGCTCC 1260

TTCTTCCTGT ACTCCGAACT GACCGTGGAC AAGTCCCGGT GGCAGCAGGG CAACGTGTTC 1320

TCATGCTCCG TAATGCACGA AGCCTTGCAC AATCACTACA CTCAAAAGTC CCTATCCTTA 1380

TCTCCTGGCA AG 1392

<210> 62
<211> 445
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21R83 KHÔNG CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU TIÊN ĐOÁN

<400> 62

GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS PRO GLY ALA
1 5 10 15

SER VAL LYS ILE SER CYS LYS ALA SER GLY TYR SER PHE THR ALA TYR
20 25 30

TYR ILE HIS TRP VAL LYS GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU GLU TRP ILE
35 40 45

GLY TYR ILE SER ASN TYR ASN ARG ALA THR ASN TYR ASN GLN LYS PHE
50 55 60

LYS GLY ARG VAL THR PHE THR THR ASP THR SER THR SER THR ALA TYR
65 70 75 80

MET GLU LEU ARG SER LEU ARG SER ASP ASP THR ALA VAL TYR TYR CYS
85 90 95

ALA ARG ASP TYR ASP TYR ASP VAL GLY MET ASP TYR TRP GLY GLN GLY
100 105 110

THR LEU VAL THR VAL SER SER ALA SER THR LYS GLY PRO SER VAL PHE
115 120 125

PRO LEU ALA PRO CYS SER ARG SER THR SER GLU SER THR ALA ALA LEU
130 135 140

GLY CYS LEU VAL LYS ASP TYR PHE PRO GLU PRO VAL THR VAL SER TRP
145 150 155 160

ASN SER GLY ALA LEU THR SER GLY VAL HIS THR PHE PRO ALA VAL LEU
165 170 175

GLN SER SER GLY LEU TYR SER LEU SER SER VAL VAL THR VAL PRO SER
180 185 190

SER ASN PHE GLY THR GLN THR TYR THR CYS ASN VAL ASP HIS LYS PRO
195 200 205

SER ASN THR LYS VAL ASP LYS THR VAL GLU ARG LYS CYS CYS VAL GLU
210 215 220

CYS PRO PRO CYS PRO ALA PRO PRO VAL ALA 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 GLN
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 PHE ASN SER THR PHE ARG VAL VAL SER VAL LEU
290 295 300

THR VAL VAL HIS GLN ASP TRP LEU ASN GLY LYS GLU TYR LYS CYS LYS
305 310 315 320

VAL SER ASN LYS GLY LEU PRO ALA PRO ILE GLU LYS THR ILE SER LYS
325 330 335

THR LYS GLY GLN PRO ARG GLU PRO GLN VAL TYR THR LEU PRO PRO SER
340 345 350

ARG GLU GLU MET THR LYS ASN GLN VAL SER LEU THR CYS LEU VAL GLU
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 MET LEU ASP SER ASP GLY
385 390 395 400

SER PHE PHE LEU TYR SER GLU 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> 63
<211> 464
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21R83 CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU DỰ ĐOÁN

<400> 63

MET LYS HIS LEU TRP PHE PHE LEU LEU LEU VAL ALA ALA PRO ARG TRP
1 5 10 15

VAL LEU SER GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS
20 25 30

PRO GLY ALA SER VAL LYS ILE SER CYS LYS ALA SER GLY TYR SER PHE
35 40 45

THR ALA TYR TYR ILE HIS TRP VAL LYS GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU
50 55 60

GLU TRP ILE GLY TYR ILE SER ASN TYR ASN ARG ALA THR ASN TYR ASN
65 70 75 80

GLN LYS PHE LYS GLY ARG VAL THR PHE THR THR ASP THR SER THR SER
85 90 95

THR ALA TYR MET GLU LEU ARG SER LEU ARG SER ASP ASP THR ALA VAL
100 105 110

TYR TYR CYS ALA ARG ASP TYR ASP TYR ASP VAL GLY MET ASP TYR TRP
115 120 125

GLY GLN GLY THR LEU VAL THR VAL SER SER ALA SER THR LYS GLY PRO
130 135 140

SER VAL PHE PRO LEU ALA PRO CYS SER ARG SER THR SER GLU SER THR
145 150 155 160

ALA ALA LEU GLY CYS LEU VAL LYS ASP TYR PHE PRO GLU PRO VAL THR
165 170 175

VAL SER TRP ASN SER GLY ALA LEU THR SER GLY VAL HIS THR PHE PRO
180 185 190

ALA VAL LEU GLN SER SER GLY LEU TYR SER LEU SER SER VAL VAL THR
195 200 205

VAL PRO SER SER ASN PHE GLY THR GLN THR TYR THR CYS ASN VAL ASP
210 215 220

HIS LYS PRO SER ASN THR LYS VAL ASP LYS THR VAL GLU ARG LYS CYS
225 230 235 240

CYS VAL GLU CYS PRO PRO CYS PRO ALA PRO PRO VAL ALA GLY PRO SER
245 250 255

VAL PHE LEU PHE PRO PRO LYS PRO LYS ASP THR LEU MET ILE SER ARG
260 265 270

THR PRO GLU VAL THR CYS VAL VAL VAL ASP VAL SER HIS GLU ASP PRO
275 280 285

GLU VAL GLN PHE ASN TRP TYR VAL ASP GLY VAL GLU VAL HIS ASN ALA
290 295 300

LYS THR LYS PRO ARG GLU GLU GLN PHE ASN SER THR PHE ARG VAL VAL
305 310 315 320

SER VAL LEU THR VAL VAL HIS GLN ASP TRP LEU ASN GLY LYS GLU TYR
325 330 335

LYS CYS LYS VAL SER ASN LYS GLY LEU PRO ALA PRO ILE GLU LYS THR
340 345 350

ILE SER LYS THR LYS GLY GLN PRO ARG GLU PRO GLN VAL TYR THR LEU
355 360 365

PRO PRO SER ARG GLU GLU MET THR LYS ASN GLN VAL SER LEU THR CYS
370 375 380

LEU VAL GLU GLY PHE TYR PRO SER ASP ILE ALA VAL GLU TRP GLU SER

385 390 395 400

ASN GLY GLN PRO GLU ASN ASN TYR LYS THR THR PRO PRO MET LEU ASP
405 410 415

SER ASP GLY SER PHE PHE LEU TYR SER GLU LEU THR VAL ASP LYS SER
420 425 430

ARG TRP GLN GLN GLY ASN VAL PHE SER CYS SER VAL MET HIS GLU ALA
435 440 445

LEU HIS ASN HIS TYR THR GLN LYS SER LEU SER LEU SER PRO GLY LYS
450 455 460

<210> 64
<211> 119
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NẶNG 21R83

<400> 64

GLN VAL GLN LEU VAL GLN SER GLY ALA GLU VAL LYS LYS PRO GLY ALA
1 5 10 15

SER VAL LYS ILE SER CYS LYS ALA SER GLY TYR SER PHE THR ALA TYR
20 25 30

TYR ILE HIS TRP VAL LYS GLN ALA PRO GLY GLN GLY LEU GLU TRP ILE
35 40 45

GLY TYR ILE SER ASN TYR ASN ARG ALA THR ASN TYR ASN GLN LYS PHE
50 55 60

LYS GLY ARG VAL THR PHE THR THR ASP THR SER THR SER THR ALA TYR
65 70 75 80

MET GLU LEU ARG SER LEU ARG SER ASP ASP THR ALA VAL TYR TYR CYS

85 90 95

ALA ARG ASP TYR ASP TYR ASP VAL GLY MET ASP TYR TRP GLY GLN GLY
100 105 110

THR LEU VAL THR VAL SER SER
115

<210> 65
<211> 17
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CDR2 CỦA CHUỖI NẶNG 21R83

<400> 65

TYR ILE SER ASN TYR ASN ARG ALA THR ASN TYR ASN GLN LYS PHE LYS
1 5 10 15

GLY

<210> 66
<211> 1392
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21R83 CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU (13B PHIÊN BẢN 1)

<400> 66
ATGAAGCACC TGTGGTTCTT TCTGCTGCTG GTGGCCGCTC CCAGATGGGT
GCTGTCCCAG 60

GTGCAGCTGG TGCAGTCTGG CGCCGAAGTG AAGAAACCTG GCGCCTCCGT
GAAGATCTCC 120

TGCAAGGCCT CCGGCTACTC CTTCACCGCC TACTACATCC ACTGGGTCAA
GCAGGCCCCT 180

GGACAGGGCC TGGAATGGAT CGGCTACATC TCCAACTACA ACCGGGCCAC
CAATTACAAC 240

CAGAAATTCA AGGGCCGCGT GACCTTCACC ACCGACACCT CTACCTCTAC CGCCTACATG 300

GAACTGCGGT CCCTGCGGAG CGACGACACC GCCGTGTACT ACTGCGCCAG AGACTACGAC 360

TACGACGTGG GCATGGACTA CTGGGGCCAG GGCACACTCG TGACCGTGTC TAGCGCTTCC 420

ACCAAGGGCC CCTCCGTGTT TCCTCTGGCC CCTTGCTCCA GATCCACCTC CGAGTCTACC 480

GCCGCTCTGG GCTGCCTCGT GAAGGACTAC TTCCCCGAGC CCGTGACAGT GTCCTGGAAC 540

TCTGGCGCTC TGACCTCCGG CGTGCACACC TTTCCAGCTG TGCTGCAGTC CTCCGGCCTG 600

TACTCCCTGT CCTCCGTCGT GACTGTGCCC TCCTCCAACT TCGGCACCCA GACCTACACC 660

TGTAACGTGG ACCACAAGCC CTCCAACACC AAGGTGGACA AGACCGTGGA ACGGAAGTGC 720

TGCGTGGAAT GCCCCCCTTG TCCTGCCCCT CCTGTGGCTG GCCCTAGCGT GTTCCTGTTC 780

CCCCCAAAGC CCAAGGACAC CCTGATGATC TCCCGGACCC CCGAAGTGAC CTGCGTGGTG 840

GTGGATGTGT CCCACGAGGA CCCCGAGGTG CAGTTCAATT GGTACGTGGA CGGCGTGGAA 900

GTGCACAACG CCAAGACCAA GCCCAGAGAG GAACAGTTCA ACTCCACCTT CCGGGTGGTG 960

TCCGTGCTGA CCGTGGTGCA TCAGGACTGG CTGAACGGCA AAGAGTACAA GTGCAAGGTG 1020

TCCAACAAGG GCCTGCCTGC CCCCATCGAA AAGACCATCT CTAAGACCAA GGGACAGCCC 1080

CGCGAGCCCC AGGTGTACAC ACTGCCTCCA TCCCGGGAAG AGATGACCAA GAACCAGGTG 1140

TCCCTGACCT GTCTGGTGGA AGGCTTCTAC CCCTCCGATA TCGCCGTGGA ATGGGAGTCC 1200

AACGGCCAGC CCGAGAACAA CTACAAGACC ACCCCCCCCA TGCTGGACTC CGACGGCTCA 1260

TTCTTCCTGT ACAGCGAGCT GACAGTGGAC AAGTCCCGGT GGCAGCAGGG CAACGTGTTC 1320

TCCTGCTCCG TGATGCACGA GGCCCTGCAC AACCACTACA CCCAGAAGTC CCTGTCCCTG 1380

AGCCCCGGCA AG 1392

<210> 67
<211> 1392
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21R75 CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU(13B PHIÊN BẢN S1-2)

<400> 67
ATGAAGCACC TGTGGTTCTT TCTGCTGCTG GTGGCCGCTC CCAGATGGGT GCTGTCCCAG 60

GTTCAGCTAG TTCAGTCTGG AGCGGAAGTT AAGAAACCTG GAGCATCCGT GAAAATAAGT 120

TGCAAGGCAT CCGGTTACTC GTTCACCGCA TACTATATCC ACTGGGTTAA ACAGGCACCA 180

GGACAGGGAC TTGAATGGAT CGGATATATC GCTGGATATA AAGATGCTAC AAACTATAAC 240

CAAAAATTCA AAGGACGCGT GACTTTCACA ACTGACACCT CAACCTCGAC AGCATACATG 300

GAATTACGGT CCCTACGGTC TGACGACACT GCCGTTTACT ATTGCGCTAG AGATTATGAT 360

TATGATGTTG GAATGGACTA TTGGGGCCAG GGAACACTGG TGACAGTGTC TTCTGCATCC 420

ACTAAGGGAC CATCCGTGTT CCCTTTGGCC CCTTGCTCTC GTTCGACCTC TGAATCGACT 480

GCCGCTCTGG GATGCCTCGT GAAAGATTAC TTCCCTGAGC CTGTGACCGT TTCCTGGAAC 540

TCGGGCGCCC TAACCTCTGG CGTGCACACA TTCCCTGCCG TGCTACAGTC TTCTGGCCTA 600

TACTCTTTAT CTTCGGTTGT TACCGTACCT TCTTCTAACT TCGGAACCCA AACTTACACC 660

TGTAACGTAG ACCACAAGCC TTCGAACACC AAGGTGGACA AGACTGTTGA GCGAAAGTGC 720

TGCGTTGAGT GCCCTCCATG TCCTGCACCT CCTGTGGCTG GCCCTTCTGT GTTCCTGTTC 780

CCTCCAAAAC CTAAGGACAC TCTAATGATC TCTCGGACTC CTGAGGTGAC TTGCGTGGTT 840

GTGGACGTGT CCCACGAGGA CCCTGAGGTG CAGTTCAATT GGTACGTGGA CGGAGTCGAG 900

GTGCACAATG CAAAGACCAA GCCTCGGGAG GAACAGTTCA ACTCCACCTT CCGGGTGGTT 960

TCTGTGTTGA CCGTTGTGCA CCAAGACTGG CTGAACGGCA AAGAATACAA GTGCAAGGTG 1020

TCCAACAAGG GCCTGCCTGC CCCTATCGAA AAGACCATCA GCAAGACCAA GGGCCAGCCT 1080

CGCGAGCCTC AGGTGTACAC CCTGCCTCCC AGCCGGGAAG AAATGACCAA GAACCAGGTG 1140

TCCCTGACCT GTCTGGTGGA GGGCTTCTAC CCTTCCGACA TCGCCGTTGA GTGGGAGTCT 1200

AACGGACAGC CGGAGAACAA CTACAAGACT ACGCCTCCAA TGCTGGACTC CGACGGCTCC 1260

TTCTTCCTGT ACTCCGAACT GACCGTGGAC AAGTCCCGGT GGCAGCAGGG CAACGTGTTC 1320

TCATGCTCCG TAATGCACGA AGCCTTGCAC AATCACTACA CTCAAAAGTC CCTATCCTTA 1380

TCTCCTGGCA AG 1392

<210> 68
<211> 357
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NẶNG 21R75 (13B PHIÊN BẢN 1)

<400> 68
CAGGTGCAGC TGGTGCAGTC TGGCGCCGAA GTGAAGAAAC CTGGCGCCTC CGTGAAGATC 60

TCCTGCAAGG CCTCCGGCTA CTCCTTCACC GCCTACTACA TCCACTGGGT CAAGCAGGCC 120

CCTGGACAGG GCCTGGAATG GATCGGCTAT ATCGCCGGCT ACAAGGACGC CACCAACTAC 180

AACCAGAAAT TCAAGGGCAG AGTGACCTTC ACCACCGACA CCTCCACCTC TACCGCCTAC 240

ATGGAACTGC GGTCCCTGCG GAGCGACGAC ACCGCCGTGT ACTACTGCGC CAGAGACTAC 300

GACTACGACG TGGGCATGGA CTACTGGGGC CAGGGCACAC TCGTGACCGT GTCCTCT 357

<210> 69
<211> 357
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NẶNG 21R75 (13B PHIÊN BẢN 2)

<400> 69
CAGGTTCAGC TAGTTCAGTC TGGAGCGGAA GTTAAGAAAC CTGGAGCATC CGTGAAAATA 60

AGTTGCAAGG CATCCGGTTA CTCGTTCACC GCATACTATA TCCACTGGGT TAAACAGGCA 120

CCAGGACAGG GACTTGAATG GATCGGATAT ATCGCTGGAT ATAAAGATGC TACAAACTAT 180

AACCAAAAAT TCAAAGGACG CGTGACTTTC ACAACTGACA CCTCAACCTC GACAGCATAC 240

ATGGAATTAC GGTCCCTACG GTCTGACGAC ACTGCCGTTT ACTATTGCGC TAGAGATTAT 300

GATTATGATG TTGGAATGGA CTATTGGGGC CAGGGAACAC TGGTGACAGT GTCTTCT 357

<210> 70
<211> 357

<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NẶNG 21R83 (13B PHIÊN BẢN 1)

<400> 70
CAGGTGCAGC TGGTGCAGTC TGGCGCCGAA GTGAAGAAAC CTGGCGCCTC CGTGAAGATC 60

TCCTGCAAGG CCTCCGGCTA CTCCTTCACC GCCTACTACA TCCACTGGGT CAAGCAGGCC 120

CCTGGACAGG GCCTGGAATG GATCGGCTAC ATCTCCAACT ACAACCGGGC CACCAATTAC 180

AACCAGAAAT TCAAGGGCCG CGTGACCTTC ACCACCGACA CCTCTACCTC TACCGCCTAC 240

ATGGAACTGC GGTCCCTGCG GAGCGACGAC ACCGCCGTGT ACTACTGCGC CAGAGACTAC 300

GACTACGACG TGGGCATGGA CTACTGGGGC CAGGGCACAC TCGTGACCGT GTCTAGC 357

<210> 71
<211> 357
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NẶNG 21R75 (13B PHIÊN BẢN 2)

<400> 71
CAGGTTCAGC TAGTTCAGTC TGGAGCGGAA GTTAAGAAAC CTGGAGCATC CGTGAAAATA 60

AGTTGCAAGG CATCCGGTTA CTCGTTCACC GCATACTATA TCCACTGGGT TAAACAGGCA 120

CCAGGACAGG GACTTGAATG GATCGGATAT ATCGCTGGAT ATAAAGATGC TACAAACTAT 180

AACCAAAAAT TCAAAGGACG CGTGACTTTC ACAACTGACA CCTCAACCTC GACAGCATAC 240

ATGGAATTAC GGTCCCTACG GTCTGACGAC ACTGCCGTTT ACTATTGCGC TAGAGATTAT 300

GATTATGATG TTGGAATGGA CTATTGGGGC CAGGGAACAC TGGTGACAGT GTCTTCT 357

<210> 72
<211> 1395
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21R83 CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU (13B PHIÊN BẢN 2)

<400> 72
ATGAAGCACC TATGGTTCTT TCTATTATTA GTGGCCGCTC CCCGTTGGGT GTTATCGCAG 60

GTTCAGCTAG TTCAGTCTGG AGCGGAAGTT AAGAAACCTG GAGCATCCGT GAAAATAAGT 120

TGCAAGGCAT CCGGTTACTC GTTCACCGCA TACTATATCC ACTGGGTTAA ACAGGCACCA 180

GGACAGGGAC TTGAATGGAT CGGATATATC TCCAATTATA ATAGAGCTAC AAACTATAAC 240

CAAAAATTCA AAGGACGCGT GACTTTCACA ACTGACACCT CAACCTCGAC AGCATACATG 300

GAATTACGGT CCCTACGGTC TGACGACACT GCCGTTTACT ATTGCGCTAG AGATTATGAT 360

TATGATGTTG GAATGGACTA TTGGGGCCAG GGAACACTGG TGACAGTGTC TTCTGCATCC 420

ACTAAGGGAC CATCCGTGTT CCCTTTGGCC CCTTGCTCTC GTTCGACCTC TGAATCGACT 480

GCCGCTCTGG GATGCCTCGT GAAAGATTAC TTCCCTGAGC CTGTGACCGT TTCCTGGAAC 540

TCGGGCGCCC TAACCTCTGG CGTGCACACA TTCCCTGCCG TGCTACAGTC TTCTGGCCTA 600

TACTCTTTAT CTTCGGTTGT TACCGTACCT TCTTCTAACT TCGGAACCCA AACTTACACC 660

TGTAACGTAG ACCACAAGCC TTCGAACACC AAGGTGGACA AGACTGTTGA GCGAAAGTGC 720

TGCGTTGAGT GCCCTCCATG TCCTGCACCT CCTGTGGCTG GCCCTTCTGT GTTCCTGTTC 780

CCTCCAAAAC CTAAGGACAC TCTAATGATC TCTCGGACTC CTGAGGTGAC TTGCGTGGTT 840

GTGGACGTGT CCCACGAGGA CCCTGAGGTG CAGTTCAATT GGTACGTGGA CGGAGTCGAG 900

GTGCACAATG CAAAGACCAA GCCTCGGGAG GAACAGTTCA ACTCCACCTT CCGGGTGGTT 960

TCTGTGTTGA CCGTTGTGCA CCAAGACTGG CTGAACGGCA AGGAATACAA GTGCAAGGTG 1020

TCCAACAAGG GCCTGCCTGC CCCTATCGAA AAGACCATCA GCAAGACCAA GGGCCAGCCT 1080

CGCGAGCCTC AGGTGTACAC CCTGCCTCCC AGCCGGGAAG AAATGACCAA GAACCAGGTG 1140

TCCCTGACCT GTCTGGTGGA GGGCTTCTAC CCTTCCGACA TCGCCGTTGA GTGGGAGTCT 1200

AACGGACAGC CGGAGAACAA CTACAAGACT ACGCCTCCAA TGCTGGACTC CGACGGCTCC 1260

TTCTTCCTGT ACTCCGAACT GACCGTGGAC AAGTCCCGGT GGCAGCAGGG CAACGTGTTC 1320

TCATGCTCCG TAATGCACGA AGCCTTGCAC AATCACTACA CTCAAAAGTC CCTATCCTTA 1380

TCTCCTGGCA AGTAG 1395

<210> 73
<211> 357
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NẶNG 21R83 (13B PHIÊN BẢN 2)

<400> 73
CAGGTTCAGC TAGTTCAGTC TGGAGCGGAA GTTAAGAAAC CTGGAGCATC CGTGAAAATA 60

AGTTGCAAGG CATCCGGTTA CTCGTTCACC GCATACTATA TCCACTGGGT TAAACAGGCA 120

CCAGGACAGG GACTTGAATG GATCGGATAT ATCTCCAATT ATAATAGAGC TACAAACTAT 180

AACCAAAAAT TCAAAGGACG CGTGACTTTC ACAACTGACA CCTCAACCTC GACAGCATAC 240

ATGGAATTAC GGTCCCTACG GTCTGACGAC ACTGCCGTTT ACTATTGCGC TAGAGATTAT 300

GATTATGATG TTGGAATGGA CTATTGGGGC CAGGGAACAC TGGTGACAGT GTCTTCT 357

<210> 74
<211> 1395
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21R75 CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU (13B PHIÊN BẢN 2)

<400> 74
ATGAAGCACC TATGGTTCTT TCTATTATTA GTGGCCGCTC CCCGTTGGGT GTTATCGCAG 60

GTTCAGCTAG TTCAGTCTGG AGCGGAAGTT AAGAAACCTG GAGCATCCGT GAAAATAAGT 120

TGCAAGGCAT CCGGTTACTC GTTCACCGCA TACTATATCC ACTGGGTTAA ACAGGCACCA 180

GGACAGGGAC TTGAATGGAT CGGATATATC GCTGGATATA AAGATGCTAC AAACTATAAC 240

CAAAAATTCA AAGGACGCGT GACTTTCACA ACTGACACCT CAACCTCGAC AGCATACATG 300

GAATTACGGT CCCTACGGTC TGACGACACT GCCGTTTACT ATTGCGCTAG AGATTATGAT 360

TATGATGTTG GAATGGACTA TTGGGGCCAG GGAACACTGG TGACAGTGTC TTCTGCATCC 420

ACTAAGGGAC CATCCGTGTT CCCTTTGGCC CCTTGCTCTC GTTCGACCTC TGAATCGACT 480

GCCGCTCTGG GATGCCTCGT GAAAGATTAC TTCCCTGAGC CTGTGACCGT TTCCTGGAAC 540

TCGGGCGCCC TAACCTCTGG CGTGCACACA TTCCCTGCCG TGCTACAGTC TTCTGGCCTA 600

TACTCTTTAT CTTCGGTTGT TACCGTACCT TCTTCTAACT TCGGAACCCA AACTTACACC 660

TGTAACGTAG ACCACAAGCC TTCGAACACC AAGGTGGACA AGACTGTTGA GCGAAAGTGC 720

TGCGTTGAGT GCCCTCCATG TCCTGCACCT CCTGTGGCTG GCCCTTCTGT GTTCCTGTTC 780

CCTCCAAAAC CTAAGGACAC TCTAATGATC TCTCGGACTC CTGAGGTGAC TTGCGTGGTT 840

GTGGACGTGT CCCACGAGGA CCCTGAGGTG CAGTTCAATT GGTACGTGGA CGGAGTCGAG 900

GTGCACAATG CAAAGACCAA GCCTCGGGAG GAACAGTTCA ACTCCACCTT CCGGGTGGTT 960

TCTGTGTTGA CCGTTGTGCA CCAAGACTGG CTGAACGGCA AAGAATACAA GTGCAAGGTG 1020

TCCAACAAGG GCCTGCCTGC CCCTATCGAA AAGACCATCA GCAAGACCAA GGGCCAGCCT 1080

CGCGAGCCTC AGGTGTACAC CCTGCCTCCC AGCCGGGAAG AAATGACCAA GAACCAGGTG 1140

TCCCTGACCT GTCTGGTGGA GGGCTTCTAC CCTTCCGACA TCGCCGTTGA GTGGGAGTCT 1200

AACGGACAGC CGGAGAACAA CTACAAGACT ACGCCTCCAA TGCTGGACTC CGACGGCTCC 1260

TTCTTCCTGT ACTCCGAACT GACCGTGGAC AAGTCCCGGT GGCAGCAGGG CAACGTGTTC 1320

TCATGCTCCG TAATGCACGA AGCCTTGCAC AATCACTACA CTCAAAAGTC CCTATCCTTA 1380

TCTCCTGGCA AGTAG 1395

<210> 75
<211> 1395
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21M18 (PHIÊN BẢN 2)

<400> 75
ATGAAGCACC TATGGTTCTT TCTATTATTA GTGGCCGCTC CCCGTTGGGT GTTATCGCAG 60

GTTCAGCTAG TTCAGTCTGG AGCGGAAGTT AAGAAACCTG GAGCATCCGT GAAAATAAGT 120

TGCAAGGCAT CCGGTTACTC GTTCACCGCA TACTATATCC ACTGGGTTAA ACAGGCACCA 180

GGACAGGGAC TTGAATGGAT CGGATATATC TCCTCTTATA ATGGAGCTAC AAACTATAAC 240

CAAAAATTCA AAGGACGCGT GACTTTCACA ACTGACACCT CAACCTCGAC AGCATACATG 300

GAATTACGGT CCCTACGGTC TGACGACACT GCCGTTTACT ATTGCGCTAG AGATTATGAT 360

TATGATGTTG GAATGGACTA TTGGGGCCAG GGAACACTGG TGACAGTGTC TTCTGCATCC 420

ACTAAGGGAC CATCCGTGTT CCCTTTGGCC CCTTGCTCTC GTTCGACCTC TGAATCGACT 480

GCCGCTCTGG GATGCCTCGT GAAAGATTAC TTCCCTGAGC CTGTGACCGT TTCCTGGAAC 540

TCGGGCGCCC TAACCTCTGG CGTGCACACA TTCCCTGCCG TGCTACAGTC TTCTGGCCTA 600

TACTCTTTAT CTTCGGTTGT TACCGTACCT TCTTCTAACT TCGGAACCCA AACTTACACC 660

TGTAACGTAG ACCACAAGCC TTCGAACACC AAGGTGGACA AGACTGTTGA GCGAAAGTGC 720

TGCGTTGAGT GCCCTCCATG TCCTGCACCT CCTGTGGCTG GCCCTTCTGT GTTCCTGTTC 780

CCTCCAAAAC CTAAGGACAC TCTAATGATC TCTCGGACTC CTGAGGTGAC TTGCGTGGTT 840

GTGGACGTGT CCCACGAGGA CCCTGAGGTG CAGTTCAATT GGTACGTGGA CGGAGTCGAG 900

GTGCACAATG CAAAGACCAA GCCTCGGGAG GAACAGTTCA ACTCCACCTT CCGGGTGGTT 960

TCTGTGTTGA CCGTTGTGCA CCAAGACTGG CTGAACGGCA AGAATACAA GTGCAAGGTG 1020

TCCAACAAGG GCCTGCCTGC CCCTATCGAA AAGACCATCA GCAAGACCAA GGGCCAGCCT 1080

CGCGAGCCTC AGGTGTACAC CCTGCCTCCC AGCCGGGAAG AAATGACCAA GAACCAGGTG 1140

TCCCTGACCT GTCTGGTGGA GGGCTTCTAC CCTTCCGACA TCGCCGTTGA GTGGGAGTCT 1200

AACGGACAGC CGGAGAACAA CTACAAGACT ACGCCTCCAA TGCTGGACTC CGACGGCTCC 1260

TTCTTCCTGT ACTCCGAACT GACCGTGGAC AAGTCCCGGT GGCAGCAGGG CAACGTGTTC 1320

TCATGCTCCG TAATGCACGA AGCCTTGCAC AATCACTACA CTCAAAAGTC CCTATCCTTA 1380

TCTCCTGGCA AGTAG 1395

<210> 76
<211> 351
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> VÙNG BIẾN ĐỔI CHUỖI NẶNG 21M18 (PHIÊN BẢN 2)

<400> 76
CAGCTAGTTC AGTCTGGAGC GGAAGTTAAG AAACCTGGAG CATCCGTGAA AATAAGTTGC 60

AAGGCATCCG GTTACTCGTT CACCGCATAC TATATCCACT GGGTTAAACA GGCACCAGGA 120

CAGGGACTTG AATGGATCGG ATATATCTCC TCTTATAATG GAGCTACAAA CTATAACCAA 180

AAATTCAAAG GACGCGTGAC TTTCACAACT GACACCTCAA CCTCGACAGC ATACATGGAA 240

TTACGGTCCC TACGGTCTGA CGACACTGCC GTTTACTATT GCGCTAGAGA TTATGATTAT 300

GATGTTGGAA TGGACTATTG GGGCCAGGGA ACACTGGTGA CAGTGTCTTC T
351

<210> 77
<211> 1392
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21R75 CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU (13B PHIÊN BẢN 1T)

<400> 77
ATGAAGCACC TGTGGTTCTT TCTGCTGCTG GTGGCCGCTC CCAGATGGGT
GCTGTCTCAG 60

GTGCAGCTGG TGCAGTCTGG CGCCGAAGTG AAGAAACCTG GCGCCTCCGT
GAAGATCTCC 120

TGCAAGGCCT CCGGCTACTC CTTCACCGCC TACTACATCC ACTGGGTCAA
GCAGGCCCCT 180

GGACAGGGCC TGGAATGGAT CGGCTATATC GCCGGCTACA AGGACGCCAC
CAACTACAAC 240

CAGAAATTCA AGGGCAGAGT GACCTTCACC ACCGACACCT CCACCTCTAC
CGCCTACATG 300

GAACTGCGGT CCCTGCGGAG CGACGACACC GCCGTGTACT ACTGCGCCAG
AGACTACGAC 360

TACGACGTGG GCATGGACTA CTGGGGCCAG GGCACACTCG TGACCGTGTC
CTCTGCTTCC 420

ACCAAGGGCC CCTCCGTGTT TCCTCTGGCC CCTTGCTCCA GATCCACCTC
CGAGTCTACC 480

GCCGCTCTGG GCTGCCTCGT GAAGGACTAC TTCCCCGAGC CCGTGACAGT
GTCTTGGAAC 540

TCTGGCGCCC TGACCTCCGG CGTGCACACC TTTCCAGCTG TGCTGCAGTC
CTCCGGCCTG 600

TACTCCCTGT CCTCCGTCGT GACTGTGCCC TCCTCCAACT TCGGCACCCA
GACCTACACC 660

TGTAACGTGG ACCACAAGCC CTCCAACACC AAGGTGGACA AGACCGTGGA
ACGGAAGTGC 720

TGCGTGGAAT GCCCCCCTTG TCCTGCCCCT CCTGTGGCTG GCCCTAGCGT GTTCCTGTTC 780

CCCCCAAAGC CCAAGGACAC CCTGATGATC TCCCGGACCC CGAAGTGAC CTGCGTGGTG 840

GTGGATGTGT CCCACGAGGA CCCCGAGGTG CAGTTCAATT GGTACGTGGA CGGCGTGGAA 900

GTGCACAACG CCAAGACCAA GCCCAGAGAG GAACAGTTCA ACTCCACCTT CCGGGTGGTG 960

TCCGTGCTGA CCGTGGTGCA TCAGGACTGG CTGAACGGCA AAGAGTACAA GTGCAAGGTG 1020

TCCAACAAGG GCCTGCCTGC CCCCATCGAA AAGACCATCT CTAAGACCAA GGGACAGCCC 1080

CGCGAGCCCC AGGTGTACAC ACTGCCTCCA TCCCGGGAAG AGATGACCAA GAACCAGGTG 1140

TCCCTGACCT GTCTGGTGGA AGGCTTCTAC CCCTCCGATA TCGCCGTGGA ATGGGAGTCC 1200

AACGGCCAGC CCGAGAACAA CTACAAGACC ACCCCCCCCA TGCTGGACTC CGACGGCTCA 1260

TTCTTCCTGT ACAGCGAGCT GACAGTGGAC AAGTCCCGGT GGCAGCAGGG CAACGTGTTC 1320

TCCTGCTCCG TGATGCACGA GGCCCTGCAC AACCACTACA CCCAGAAGTC CCTGTCCCTG 1380

AGCCCCGGCA AG 1392

<210> 78
<211> 1392
<212> ADN
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CHUỖI NẶNG 21R83 CÓ TRÌNH TỰ TÍN HIỆU (13B PHIÊN BẢN 1T)

<400> 78
ATGAAGCACC TGTGGTTCTT TCTGCTGCTG GTGGCCGCTC CCAGATGGGT GCTGTCTCAG 60

GTGCAGCTGG TGCAGTCTGG CGCCGAAGTG AAGAAACCTG GCGCCTCCGT GAAGATCTCC 120

TGCAAGGCCT CCGGCTACTC CTTCACCGCC TACTACATCC ACTGGGTCAA GCAGGCCCCT 180

GGACAGGGCC TGGAATGGAT CGGCTACATC TCCAACTACA ACCGGGCCAC CAATTACAAC 240

CAGAAATTCA AGGGCCGCGT GACCTTCACC ACCGACACCT CTACCTCTAC CGCCTACATG 300

GAACTGCGGT CCCTGCGGAG CGACGACACC GCCGTGTACT ACTGCGCCAG AGACTACGAC 360

TACGACGTGG GCATGGACTA CTGGGGCCAG GGCACACTCG TGACCGTGTC TAGCGCTTCC 420

ACCAAGGGCC CCTCCGTGTT TCCTCTGGCC CCTTGCTCCA GATCCACCTC CGAGTCTACC 480

GCCGCTCTGG GCTGCCTCGT GAAGGACTAC TTCCCCGAGC CCGTGACAGT GTCCTGGAAC 540

TCTGGCGCTC TGACCTCCGG CGTGCACACC TTTCCAGCTG TGCTGCAGTC CTCCGGCCTG 600

TACTCCCTGT CCTCCGTCGT GACTGTGCCC TCCTCCAACT TCGGCACCCA GACCTACACC 660

TGTAACGTGG ACCACAAGCC CTCCAACACC AAGGTGGACA AGACCGTGGA ACGGAAGTGC 720

TGCGTGGAAT GCCCCCCTTG TCCTGCCCCT CCTGTGGCTG GCCCTAGCGT GTTCCTGTTC 780

CCCCCAAAGC CCAAGGACAC CCTGATGATC TCCCGGACCC CCGAAGTGAC CTGCGTGGTG 840

GTGGATGTGT CCCACGAGGA CCCCGAGGTG CAGTTCAATT GGTACGTGGA CGGCGTGGAA 900

GTGCACAACG CCAAGACCAA GCCCAGAGAG GAACAGTTCA ACTCCACCTT CCGGGTGGTG 960

TCCGTGCTGA CCGTGGTGCA TCAGGACTGG CTGAACGGCA AAGAGTACAA GTGCAAGGTG 1020

TCCAACAAGG GCCTGCCTGC CCCCATCGAA AAGACCATCT CTAAGACCAA GGGACAGCCC 1080

CGCGAGCCCC AGGTGTACAC ACTGCCTCCA TCCCGGGAAG AGATGACCAA GAACCAGGTG 1140

TCCCTGACCT GTCTGGTGGA AGGCTTCTAC CCCTCCGATA TCGCCGTGGA ATGGGAGTCC 1200

AACGGCCAGC CCGAGAACAA CTACAAGACC ACCCCCCCCA TGCTGGACTC CGACGGCTCA 1260

TTCTTCCTGT ACAGCGAGCT GACAGTGGAC AAGTCCCGGT GGCAGCAGGG CAACGTGTTC 1320

TCCTGCTCCG TGATGCACGA GGCCCTGCAC AACCACTACA CCCAGAAGTC CCTGTCCCTG 1380

AGCCCCGGCA AG 1392

<210> 79
<211> 5
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> CDR1 CỦA CHUỖI NẶNG 21R75, 21R79, 21R83, VÀ 21M18 BIẾN THỂ

<400> 79

ALA TYR TYR ILE HIS
1 5

<210> 80
<211> 17
<212> PRT
<213> TRÌNH TỰ NHÂN TẠO

<220>
<223> TRÌNH TỰ LIÊN ỨNG CDR2 CỦA CHUỖI NẶNG KHÁNG DLL4

<220>
<221> ĐẶC TÍNH MISC
<222> (3)..(3)
<223> XAA LÀ SERIN HOẶC ALANIN

<220>
<221> ĐẶC TÍNH MISC
<222> (4)..(4)
<223> XAA LÀ SERIN, ASPARAGIN, HOẶC GLYXIN

<220>
<221> ĐẶC TÍNH MISC
<222> (6)..(6)
<223> XAA LÀ ASPARAGIN HOẶC LYSIN

<220>
<221> ĐẶC TÍNH MISC
<222> (7)..(7)
<223> XAA LÀ GLYXIN, ARGININ, HOẶC AXIT ASPARTIC

<400> 80

TYR ILE XAA XAA TYR XAA XAA ALA THR ASN TYR ASN GLN LYS PHE LYS
1 5 10 15

GLY