



(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)



1-0029224

(51)⁷ C12N 15/09; A61P 29/00; A61P 35/00; (13) B
A61P 37/00; A61P 7/00; C12P 21/08;
C07K 16/46; C12N 1/15; C12N 1/21;
C12N 5/10; A61K 39/395; C07K 16/18

(21) 1-2017-00797

(22) 06/08/2015

(86) PCT/JP2015/072305 06/08/2015

(87) WO 2016/021674 A1 11/02/2016

(30) 2014-161449 07/08/2014 JP

(45) 25/08/2021 401

(43) 26/06/2017 351A

(73) Daiichi Sankyo Company, Limited (JP)

3-5-1, Nihonbashi Honcho, Chuo-ku, Tokyo 103-8426, Japan

(72) KOMAI, Tomoaki (JP); KIMURA, Takako (JP); BABA, Daichi (JP); ONODERA, Yoshikuni (JP); TANAKA, Kento (JP); KAGARI, Takashi (JP); AKI, Anri (JP); NAGAOKA, Nobumi (JP).

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

(54) KHÁNG THỂ KHÁNG ORAI1, DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY,
POLYNUCLEOTIT MÃ HÓA KHÁNG THỂ NÀY VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN
XUẤT KHÁNG THỂ NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến kháng thể nhận biết đặc hiệu Orai1 ở người và dược phẩm chứa kháng thể này có hoạt tính ức chế sự hoạt hóa tế bào T ở người. Sáng chế cũng đề cập đến polynucleotit mã hóa kháng thể này, và vật truyền và tế bào vật chủ được biến nạp bao gồm polynucleotit này. Sáng chế còn đề cập đến phương pháp sản xuất kháng thể này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến kháng thể kháng Orai1 hoạt động mạnh hơn dùng để điều trị các rối loạn và các bệnh.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các kênh canxi được hoạt hóa giải phóng canxi (CRAC- Calcium release activated calcium) là tập hợp các kênh điều hòa dự trữ (SOC- Store-operated channel) mà được mở khi đáp ứng sự suy kiệt canxi được dự trữ trong lưới nội chất nội bào, và chịu trách nhiệm về việc đưa canxi ngoại bào vào các tế bào không dễ kích thích cụ thể, cụ thể là, các tế bào của hệ miễn dịch bao gồm các tế bào T và các tế bào dưỡng, và sự hoạt hóa thu được của các tế bào. Các chất ức chế hoạt tính kênh CRAC đã được biết đến trong lĩnh vực này, và sự nhận dạng chúng và các tiềm năng chữa bệnh được mô tả bởi Feske et al. (tài liệu phi sáng chế 1 và 2).

Orai1 (CRACM1: chất điều biến canxi được hoạt hóa giải phóng canxi 1, protein chuyển màng 142A: TMEM142A), protein chuyển màng 4 đường gồm có 301 gốc axit amin, đã được nhận dạng là thành phần cấu thành tiểu đơn vị tạo lõi của các kênh CRAC bằng cách tạo ra thể đồng tứ phân (tài liệu sáng chế 1 và tài liệu phi sáng chế 3 đến 5). Họ gen Orai bao gồm gen Orai1 ở người cùng với các gen Orai2 ở người và gen Orai3 ở người mỗi loại có tính tương đồng 90% hoặc cao hơn với gen Orai1 ở người (tài liệu phi sáng chế 6). Trong một số trường hợp, khả năng tạo ra thể dị tứ phân hoặc thể dị lục phân chứa protein Orai2 và/hoặc Orai3 và Orai1 cũng đã được báo cáo (tài liệu phi sáng chế 7 và 8). Orai1 được cấu thành bởi các vùng tế bào chất đầu cuối N và đầu cuối C ghép đôi với STIM-1 (stromal interaction molecule 1-phân tử tương tác mô đệm 1) hoặc STIM-2, mà là protein nhạy suy kiệt canxi được lưu trữ trong lưới nội chất nội bào, và 4 vùng chuyển màng, vùng vòng ngoại bào thứ nhất gồm có xấp

xi 20 gốc axit amin, và vùng vòng ngoại bào thứ hai gồm có xấp xỉ 40 gốc axit amin (tài liệu phi sáng chế 9). Trình tự ADN và trình tự axit amin của Orai1 có sẵn trên cơ sở dữ liệu công khai và có thể kể đến, chẳng hạn, với các số truy nhập NM_032790 và NP_116179 (NCBI).

Đã phát hiện ra rằng khiếm khuyết bẩm sinh về chức năng của gen Orai1 ở người loại bỏ hoạt tính kênh CRAC và hủy các đáp ứng của cơ thể đối với các tác nhân gây miễn dịch, dẫn đến các tình trạng thiếu hụt miễn dịch trầm trọng. Do đó, chức năng phân tử của Orai1 đã được chứng tỏ bản chất đối với sự hoạt hóa các kênh CRAC (tài liệu phi sáng chế 10 và 11). Như vậy, các kháng thể chặn chức năng hướng đích phân tử Orai1 có thể dùng làm các chất ức chế đối với hoạt tính kênh CRAC.

Về thông tin đề xuất rằng các chất ức chế đối với hoạt tính kênh CRAC có thể được sử dụng để điều trị cho các bệnh nhân mắc các bệnh miễn dịch, các bệnh dị ứng, các bệnh viêm, đào thải cấy ghép các tế bào hoặc các cơ quan, chứng huyết khối, các bệnh ung thư, v.v. (tài liệu phi sáng chế 12), các nỗ lực đã được thực hiện để thu được các kháng thể kháng Orai1 với mục đích ức chế chức năng phân tử của Orai1, và các hiệu quả của chúng đã được nghiên cứu (tài liệu sáng chế 2 và 3 và tài liệu phi sáng chế 13 và 14). Mặc dù tài liệu này chỉ ra rằng mỗi kháng thể một mình ức chế sự hoạt hóa của các tế bào T, nhưng hoạt tính ức chế là chưa đủ mạnh. Ứng dụng lâm sàng của các kháng thể này là các chất sinh học hướng đích Orai1 có thể không đáp ứng các yêu cầu chữa bệnh xét về yêu cầu đối với các liều lượng cao hoặc cho dùng thường xuyên, các phương pháp cho dùng bị hạn chế, hoặc tương tự.

Danh sách tài liệu trích dẫn

Tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: Công bố quốc tế số WO07/081804

Tài liệu sáng chế 2: Công bố quốc tế số WO11/063277

Tài liệu sáng chế 3: Công bố quốc tế số WO13/091903

Tài liệu phi sáng chế

Tài liệu phi sáng chế 1: Feske S, Nature Rev. Immunol. 7, p. 690-702 (2007)

Tài liệu phi sáng chế 2: Derler I, et al., Expert Opin. Drug Discovery 3 (7), p. 787-800 (2008)

Tài liệu phi sáng chế 3: Prakriya M, et al., Nature 443, p. 230-233 (2006)

Tài liệu phi sáng chế 4: Vig M, et al., Science 312, p. 1220-1223 (2006)

Tài liệu phi sáng chế 5: Park CY, et al., Cell 136, p. 876-890 (2008)

Tài liệu phi sáng chế 6: Mercer JC, et al., J. Biol. Chem. 281, p. 24979-24990 (2006)

Tài liệu phi sáng chế 7: Gwack Y, et al., J. Biol. Chem. 282, p. 16232-16243 (2007)

Tài liệu phi sáng chế 8: Hou X, et al., Science 338, p. 1308-1313 (2012)

Tài liệu phi sáng chế 9: Vig M, et al., Curr. Biol. 16, p. 2073-2079 (2006)

Tài liệu phi sáng chế 10: Feske S, Nature 441, p. 179-185 (2006)

Tài liệu phi sáng chế 11: McCarl CA, et al., J. Allergy Clin. Immunol. 124, p. 1311-1318 (2009)

Tài liệu phi sáng chế 12: McCarl CA, et al., J. Immunol. 185, p. 5845-5858 (2010)

Tài liệu phi sáng chế 13: Lin F, et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 345, p. 225-238 (2013)

Tài liệu phi sáng chế 14: Cox JH, et al., PLOS ONE 8 (12), e82944 (2013)

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

Mục đích của sáng chế là đề xuất thuốc điều trị và/hoặc phòng ngừa dùng cho các đào thải cấy ghép, các bệnh miễn dịch, các bệnh dị ứng, các bệnh viêm, chứng huyết khối, các bệnh ung thư, v.v..

Biện pháp giải quyết vấn đề

Các tác giả sáng chế đã thu được các kháng thể kháng Orai1 ở chuột dùng cho mục đích nghiên cứu các chất có hiệu quả điều trị và/hoặc phòng ngừa đối với các đào thải cấy ghép, các bệnh miễn dịch, các bệnh dị ứng, các bệnh viêm, chứng huyết khối, hoặc các bệnh ung thư. Các kháng thể kháng Orai1 ở chuột thu được đã được nhân hóa, và các CDR, các bộ khung, và các vùng biến đổi

của các kháng thể được nhân hóa đã được thiết kế. Theo cách này, sáng chế đã được hoàn thành.

Cụ thể là, sáng chế bao gồm các khía cạnh sau:

(1) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể mà liên kết đặc hiệu với trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2, trong đó trình tự chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi có CDRH1, CDRH2, và CDRH3, trong đó CDRH1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 102, CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 104, 106, 107, và 108, và CDRH3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 109 hoặc 110; và

trình tự chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi có CDRL1, CDRL2, và CDRL3, trong đó CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 93, 94, và 95, CDRL2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 96, 97, và 98, và CDRL3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 101.

(2) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (1), trong đó trình tự chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi có CDRH1, CDRH2, và CDRH3, trong đó CDRH1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 102, CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 106, và CDRH3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 110; và trình tự chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi có CDRL1, CDRL2, và CDRL3, trong đó CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 93, CDRL2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 96, và CDRL3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 101.

(3) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (1), trong đó trình tự chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi có CDRH1, CDRH2, và CDRH3, trong đó CDRH1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 102, CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 106, và CDRH3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 110; và

trình tự chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi có CDRL1, CDRL2, và CDRL3, trong đó CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 94, CDRL2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 97, và CDRL3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 101.

(4) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (1), trong đó trình tự chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi có CDRH1, CDRH2, và CDRH3, trong đó CDRH1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 102, CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 106, và CDRH3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 110; và trình tự chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi có CDRL1, CDRL2, và CDRL3, trong đó CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 95, CDRL2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 98, và CDRL3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 101.

(5) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (1), trong đó trình tự chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi có CDRH1, CDRH2, và CDRH3, trong đó CDRH1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 102, CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 107, và CDRH3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 110; và trình tự chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi có CDRL1, CDRL2, và CDRL3, trong đó CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 93, CDRL2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 96, và CDRL3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 101.

(6) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (1), trong đó trình tự chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi có CDRH1, CDRH2, và CDRH3, trong đó CDRH1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 102, CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 108, và CDRH3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 110; và trình tự chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi có CDRL1, CDRL2, và CDRL3, trong đó CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 93,

CDRL2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 96, và CDRL3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 101.

(7) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (1), trong đó trình tự chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi có CDRH1, CDRH2, và CDRH3, trong đó CDRH1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 102, CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 104, và CDRH3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 109; và trình tự chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi có CDRL1, CDRL2, và CDRL3, trong đó CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 93, CDRL2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 96, và CDRL3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 101.

(8) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (1) hoặc (2), trong đó kháng thể bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 62 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 126 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 56.

(9) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (8), trong đó kháng thể gồm có trình tự chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 465 hoặc 20 đến 466 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 62 và trình tự chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 56.

(10) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (8), trong đó kháng thể gồm có trình tự chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 465 hoặc 20 đến 466 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 70 và trình tự chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 56.

(11) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (1) hoặc (3), trong đó kháng thể bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện

bởi SEQ ID NO: 62 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 126 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 58.

(12) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (11), trong đó kháng thể gồm có trình tự chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 465 hoặc 20 đến 466 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 62 và trình tự chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 58.

(13) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (1) hoặc (4), trong đó kháng thể bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 62 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 126 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 60.

(14) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (13), trong đó kháng thể gồm có trình tự chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 465 hoặc 20 đến 466 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 62 và trình tự chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 60.

(15) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (1) hoặc (5), trong đó kháng thể bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 64 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 126 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 56.

(16) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (15), trong đó kháng thể gồm có trình tự chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 465 hoặc 20 đến 466 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 64 và trình tự chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 56.

(17) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (1) hoặc (6), trong đó kháng thể bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 66 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 126 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 56.

(18) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (17), trong đó kháng thể gồm có trình tự chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 465 hoặc 20 đến 466 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 66 và trình tự chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 56.

(19) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (1) hoặc (7), trong đó kháng thể bao gồm trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 43 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 126 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 56.

(20) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (19), trong đó kháng thể gồm có trình tự chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 465 hoặc 20 đến 466 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 43 và trình tự chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 235 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 56.

(21) Mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (20), trong đó mảnh liên kết kháng nguyên được lựa chọn từ nhóm gồm có Fab, F(ab')₂, Fab', và Fv.

(22) Kháng thể theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (8), (11), (13), (15), (17), và (19), trong đó kháng thể là scFv.

(23) Dược phẩm chứa ít nhất bất kỳ kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (1) đến (22).

(24) Dược phẩm theo mục (23), trong đó dược phẩm là thuốc điều trị và/hoặc phòng ngừa các đào thải cấy ghép, các bệnh liên quan đến miễn dịch, các bệnh dị ứng, các bệnh viêm, hoặc các bệnh ung thư, chất hoạt hóa chống kết tập tiểu cầu hoặc chống huyết khối, hoặc chất ức chế sự hoạt hóa tế bào biểu hiện Orai1.

(25) Dược phẩm theo mục (24), trong đó các đào thải cấy ghép là các đáp ứng đào thải và các phản ứng vật chủ chống lại mảnh ghép đối với sự cấy ghép cơ quan hoặc mô như là tim, thận, gan, tủy xương, hoặc da, và bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ gây ra bởi cấy ghép các tế bào tạo máu (tủy xương, máu ngoại vi, máu dây rốn, v.v.).

(26) Dược phẩm theo mục (24), trong đó các bệnh liên quan đến miễn dịch là các bệnh mô liên kết hoặc bộ cơ xương (viêm khớp dạng thấp, viêm đốt sống dạng thấp, luput ban đỏ toàn thân, bệnh cứng bì, viêm đa cơ, viêm bì cơ, v.v.), các bệnh huyết học (thiếu máu không tái tạo, ban xuất huyết giảm tiểu cầu ngẫu phát, v.v.), các bệnh hệ tiêu hóa (bệnh Crohn, bệnh viêm loét đại tràng, v.v.), các bệnh hệ thần kinh (bệnh đa xơ cứng, bệnh nhược cơ, v.v.), các bệnh về mắt (viêm màng bồ đào, v.v.), các bệnh về mạch (bệnh Behcet, bệnh u hạt Wegener, v.v.), các bệnh về da (bệnh vẩy nến, pemphigut (da có bọt nước tự miễn), bệnh bạch biến, v.v.), các bệnh nội tiết (tiểu đường typ 1, viêm tuyến giáp tự miễn, bệnh Graves, bệnh Hashimoto, v.v.), và tương tự, các bệnh dị ứng là viêm da cơ địa, hen, phản vệ, phản ứng giả phản vệ, dị ứng thức ăn, viêm mũi, viêm tai giữa, phản ứng thuốc, phản ứng vết cắn của côn trùng, phản ứng với thực vật, dị ứng với nhựa mủ, viêm kết mạc, mề đay, và tương tự, và các bệnh viêm là các bệnh viêm thận (viêm thận-tiểu cầu, hư thận, v.v.), các bệnh viêm phổi (bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, xơ nang, viêm phổi kẽ, v.v.), các bệnh viêm ruột (bệnh viêm loét đại tràng, viêm ruột hồi, v.v.), các bệnh viêm gan (viêm gan tự miễn, viêm gan do virus, v.v.), các bệnh viêm tim (viêm cơ tim, bệnh tim thiếu máu cục bộ, xơ vữa động mạch, v.v.), các bệnh viêm da (viêm da tiếp xúc, eczema, v.v.), các bệnh viêm mắt (bệnh mắt hột, viêm nội nhãn, v.v.), các bệnh viêm thần kinh trung ương (viêm màng não, viêm não tủy, viêm não tự miễn, v.v.), các bệnh viêm khớp (viêm khớp, viêm xương khớp, v.v.), các loại viêm toàn thân (nhiễm

khuẩn, xuất huyết, tính quá mẫn cảm, các triệu chứng sốc được cho là do hóa trị ung thư hoặc tương tự, v.v.), và tương tự.

(27) Dược phẩm theo mục (24), trong đó các bệnh ung thư là ung thư vú, ung thư phổi, ung thư da, bệnh bạch cầu, và tương tự, và các trường hợp trong đó hoạt tính chống kết tập tiểu cầu hoặc chống huyết khối là hữu ích để điều trị và/hoặc phòng ngừa nhồi máu cơ tim, đột quy, các bệnh tim thiếu máu cục bộ, chứng huyết khối, và tương tự, và các trường hợp trong đó sự ức chế hoạt hóa tế bào biểu hiện Orai1 là hữu ích để điều trị và/hoặc phòng ngừa là bệnh bạch cầu tế bào dưỡng, tăng sinh tế bào dưỡng, bệnh bạch cầu ái kiềm, lạc nội mạc tử cung, bệnh cơ bó ống, hội chứng Stormorken, viêm khớp dạng thấp, viêm đốt sống dạng thấp, viêm da cơ địa, và tương tự.

(28) Polynucleotit mã hóa kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (22).

(29) Vật truyền chứa polynucleotit theo mục (28).

(30) Tế bào vật chủ được biến nạp chứa polynucleotit theo mục (28).

(31) Tế bào vật chủ được biến nạp chứa vật truyền theo mục (29).

(32) Phương pháp sản xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (22), gồm bước nuôi cấy tế bào vật chủ theo mục (30) hoặc (31) và tinh chế kháng thể từ sản phẩm nuôi cấy.

(33) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể mà liên kết đặc hiệu với trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2, trong đó nồng độ tại đó lượng IL-2 được giải phóng từ các tế bào Jurkat được xử lý với PMA và A23187 được ức chế khoảng 50% là 80ng/mL hoặc thấp hơn.

(34) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (33), trong đó nồng độ tại đó lượng IL-2 được giải phóng từ các tế bào Jurkat được xử lý với PMA và A23187 được ức chế khoảng 50% là 10ng/mL hoặc thấp hơn.

(35) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể mà liên kết đặc hiệu với trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2, trong đó nồng độ tại đó lượng IL-2 được giải phóng từ các tế bào đơn nhân trong máu ngoại vi

(PBMC) ở người được xử lý với PMA và A23187 được ức chế khoảng 50% là 100ng/mL hoặc thấp hơn.

(36) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (35), trong đó nồng độ tại đó lượng IL-2 được giải phóng từ PBMC ở người được xử lý với PMA và A23187 được ức chế 50% là 20ng/mL hoặc thấp hơn.

(37) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể mà liên kết đặc hiệu với trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2, trong đó nồng độ tại đó lượng IFN- γ được giải phóng từ PBMC ở người được xử lý với PMA và A23187 được ức chế 50% là 800ng/mL hoặc thấp hơn.

(38) Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục (37), trong đó nồng độ tại đó lượng IFN- γ được giải phóng từ PBMC ở người được xử lý với PMA và A23187 được ức chế 50% là 40ng/mL hoặc thấp hơn.

Các ưu điểm của sáng chế

Theo sáng chế, có thể thu được thuốc điều trị và/hoặc phòng ngừa các đào thải cấy ghép, các bệnh miễn dịch, các bệnh dị ứng, các bệnh viêm, chứng huyết khối, hoặc các bệnh ung thư dựa trên sự ức chế hoạt tính kênh CRAC là cơ chế tác động.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

[Fig.1] Fig.1 là biểu đồ thể hiện rằng R118 và R198 mỗi loại liên kết với các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 theo cách phụ thuộc nồng độ.

[Fig.2] Fig.2 là biểu đồ thể hiện rằng R118 và R198 mỗi loại ức chế, theo cách phụ thuộc nồng độ, sự giải phóng IL-2 từ các tế bào Jurkat được xử lý với PMA và A23187.

[Fig.3] Fig.3 là biểu đồ thể hiện rằng cR118 và cR198 mỗi loại liên kết với các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 theo cách phụ thuộc nồng độ.

[Fig.4] Fig.4 là biểu đồ thể hiện rằng cR118 và cR198 mỗi loại ức chế, theo cách phụ thuộc nồng độ, sự giải phóng IL-2 từ các tế bào Jurkat được xử lý với PMA và A23187.

[Fig.5] Fig.5 là biểu đồ thể hiện rằng các kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa hR198_H1/L1, hR198_H2/L2, hR198_H3/L3, và hR198_H4/L4 mỗi loại liên kết với các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 theo cách phụ thuộc nồng độ, như với kháng thể gốc cR118 hoặc cR198.

[Fig.6] Fig.6 là biểu đồ thể hiện rằng các kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa mỗi loại ức chế, theo cách phụ thuộc nồng độ, sự giải phóng IL-2 từ các tế bào Jurkat được xử lý với PMA và A23187.

[Fig.7] Fig.7 là biểu đồ thể hiện rằng các dòng Fab được đột biến LCDR60, LCDR67, LCDR83, CE151, PE057, HCDR046, HCDR047, HEP087, HEP124, và HEP237 thu được bằng cách biểu thị ribosom mỗi loại liên kết mạnh với các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 so với kháng thể gốc Fab hR198_H4/L4-Fab.

[Fig.8] Fig.8 là biểu đồ thể hiện rằng các kháng thể hoàn thiện ái lực hR198_H3/LG1, hR198_HG1/LG1, hR198_HG1/LG2, hR198_HG1/LG3, hR198_HG2/LG1, và hR198_HG3/LG1 mỗi loại liên kết với các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 ở mức độ bằng hoặc mạnh hơn so với mức độ của kháng thể gốc hR198_H3/L3 hoặc hR198_H4/L4.

[Fig.9] Fig.9 là biểu đồ thể hiện rằng các kháng thể hoàn thiện ái lực mỗi loại ức chế, theo cách phụ thuộc nồng độ, sự giải phóng IL-2 từ các tế bào Jurkat được xử lý với PMA và A23187.

[Fig.10] Fig.10 là biểu đồ thể hiện rằng các kháng thể 10F8, 14F74, và 17F6 mỗi loại liên kết với các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1.

[Fig.11] Fig.11 là biểu đồ thể hiện rằng các kháng thể hR198_HG1/LG1, hR198_HG1-LALA/LG1, 2C1.1, và 5H3.1 mỗi loại liên kết với các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1.

[Fig.12] Fig.12 là biểu đồ thể hiện rằng các kháng thể đơn dòng kháng Orai1 mỗi loại ức chế, theo cách phụ thuộc nồng độ, sự giải phóng IL-2 từ các tế bào Jurkat được xử lý với PMA và A23187.

[Fig.13] Fig.13 là bảng thể hiện các nồng độ ức chế bán cực đại (IC_{50}) và các nồng độ ức chế 80% (IC_{80}) của hR198_HG1/LG1, hR198_HG1-LALA/LG1, 2C1.1, 5H3.1, 10F8, 14F74, và 17F6 chống lại sự giải phóng IL-2 từ các tế bào Jurkat.

[Fig.14] Fig.14 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ R118 và trình tự axit amin của vùng biến đổi.

[Fig.15] Fig.15 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng R118 và trình tự axit amin của vùng biến đổi.

[Fig.16] Fig.16 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ R198 và trình tự axit amin của vùng biến đổi.

[Fig.17] Fig.17 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng R198 và trình tự axit amin của vùng biến đổi.

[Fig.18] Fig.18 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ cR118 được khám ở người và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ.

[Fig.19] Fig.19 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ cR198 được khám ở người và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ.

[Fig.20] Fig.20 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng cR118 được khám ở người và trình tự axit amin của chuỗi nặng.

[Fig.21] Fig.21 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng cR198 được khám ở người và trình tự axit amin của chuỗi nặng.

[Fig.22] Fig.22 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_L1 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ.

[Fig.23] Fig.23 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_L2 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ.

[Fig.24] Fig.24 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_L3 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ.

[Fig.25] Fig.25 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_L4 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ.

[Fig.26] Fig.26 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H1 và trình tự axit amin của chuỗi nặng.

[Fig.27] Fig.27 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H2 và trình tự axit amin của chuỗi nặng.

[Fig.28] Fig.28 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H3 và trình tự axit amin của chuỗi nặng.

[Fig.29] Fig.29 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H4 và trình tự axit amin của chuỗi nặng.

[Fig.30] Fig.30 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG1 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ.

[Fig.31] Fig.31 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG2 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ.

[Fig.32] Fig.32 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG3 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ.

[Fig.33] Fig.33 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_HG1 và trình tự axit amin của chuỗi nặng.

[Fig.34] Fig.34 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_HG2 và trình tự axit amin của chuỗi nặng.

[Fig.35] Fig.35 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_HG3 và trình tự axit amin của chuỗi nặng.

[Fig.36] Fig.36 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H4-LALA và trình tự axit amin của chuỗi nặng.

[Fig.37] Fig.37 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_HG1-LALA và trình tự axit amin của chuỗi nặng.

[Fig.38] Fig.38 là sơ đồ thể hiện các SEQ ID NO tương ứng với các trình tự CDR được chứa trong mỗi chuỗi nhẹ trong số các chuỗi nhẹ cR118, cR198, hR198_L1 đến hR198_L4, và hR198_LG1 đến hR198_LG3 và mỗi chuỗi nặng trong số các chuỗi nặng cR118, cR198, hR198_H1 đến hR198_H4, hR198_HG1 đến hR198_HG3, hR198_H4-LALA, và các chuỗi nặng hR198_HG1-LALA.

[Fig.39] Fig.39 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 2C1.1 và trình tự axit amin của chuỗi nặng.

[Fig.40] Fig.40 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 2C1.1 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ.

[Fig.41] Fig.41 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 5H3.1 và trình tự axit amin của chuỗi nặng.

[Fig.42] Fig.42 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 5H3.1 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ.

[Fig.43] Fig.43 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 10F8 và trình tự axit amin của chuỗi nặng.

[Fig.44] Fig.44 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 10F8 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ.

[Fig.45] Fig.45 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 14F74 và trình tự axit amin của chuỗi nặng.

[Fig.46] Fig.46 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 14F74 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ.

[Fig.47] Fig.47 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 17F6 và trình tự axit amin của chuỗi nặng.

[Fig.48] Fig.48 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 17F6 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ.

[Fig.49] Fig.49 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H0 và trình tự axit amin của chuỗi nặng.

[Fig.50] Fig.50 là sơ đồ thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H5 và trình tự axit amin của chuỗi nặng.

[Fig.51] Fig.51 là biểu đồ thể hiện rằng các kháng thể đơn dòng kháng Orai1 mỗi loại ức chế, theo cách phụ thuộc nồng độ, sự giải phóng IL-2 từ PBMC ở người được xử lý với PMA và A23187.

[Fig.52] Fig.52 là bảng thể hiện các nồng độ ức chế bán cực đại (IC_{50}) và các nồng độ ức chế 80% (IC_{80}) của hR198_HG1/LG1, hR198_HG1-LALA/LG1, 2C1.1, 5H3.1, 10F8, 14F74, và 17F6 chống lại sự giải phóng IL-2 từ PBMC ở người.

[Fig.53] Fig.53 là biểu đồ thể hiện rằng các kháng thể đơn dòng kháng Orai1 mỗi loại ức chế, theo cách phụ thuộc nồng độ, sự giải phóng IFN- γ từ PBMC ở người được xử lý với PMA và A23187.

[Fig.54] Fig.54 là bảng thể hiện các nồng độ ức chế bán cực đại (IC_{50}) và các nồng độ ức chế 80% (IC_{80}) của hR198_HG1/LG1, hR198_HG1-LALA/LG1, 2C1.1, 5H3.1, 10F8, 14F74, và 17F6 chống lại sự giải phóng IFN- γ từ PBMC ở người.

[Fig.55] Fig.55 là biểu đồ thể hiện rằng hR198_HG1/LG1 ức chế sự giảm trọng lượng có liên quan đến bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ mà phát triển bởi sự cấy ghép PBMC ở người vào các con chuột nhất thiếu hụt miễn dịch phối hợp trầm trọng.

[Fig.56] Fig.56 là biểu đồ thể hiện rằng hR198_HG1/LG1 ngăn chặn phản ứng phản vệ da thụ động được kích ứng các con chuột nhất biểu hiện gen nhập Orai1 ở người.

[Fig.57] Fig.57 là biểu đồ thể hiện rằng hR198_HG1/LG1 đã ngăn chặn phản ứng quá mẫn cảm kiểu muộn được kích ứng ở các con chuột nhất biểu hiện gen nhập Orai1 ở người, ở mỗi thời điểm 6 giờ (A), 24 giờ (B), và 48 giờ (C) sau khi cho dùng kháng nguyên.

[Fig.58] Fig.58 là biểu đồ thể hiện độ nhót được đo ở nồng độ là 90mg/mL, 120mg/mL, và 150mg/mL của các kháng thể hR198_HG1/LG1, hR198_H3/LG1, hR198_HG1-LALA/LG1, và 2C1.1.

Mô tả chi tiết sáng chế

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “gen” bao gồm không chỉ ADN mà còn cả ARN thông tin, ADN bổ trợ, và ARN bổ trợ.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “polynucleotit” được sử dụng với cùng ý nghĩa như axit nucleic và cũng bao gồm DNA, RNA, các đoạn dò, các oligonucleotit, và các đoạn mồi.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “polypeptit” và thuật ngữ “protein” được sử dụng có thể thay thế cho nhau.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “phân đoạn ARN” đề cập đến phân đoạn chứa ARN.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “tế bào” bao gồm các tế bào trong cá thể động vật và các tế bào được nuôi cấy.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “Orai1” được sử dụng với cùng ý nghĩa là protein Orai1.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể” nghĩa là mảnh riêng phần của kháng thể có hoạt tính liên kết chống lại kháng nguyên và bao gồm Fab, F(ab')₂, Fv, scFv, các thể kép, các kháng thể tuyến tính, và các kháng thể đa đặc hiệu được tạo ra từ các mảnh kháng thể, v.v.. Mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể cũng bao gồm Fab', là mảnh đơn trị của các vùng biến đổi kháng thể thu được bằng cách xử lý F(ab')₂ ở các điều kiện khử. Tuy nhiên, mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể không giới hạn ở các phân tử này miễn là mảnh liên kết kháng nguyên có khả năng liên kết với kháng nguyên. Mảnh liên kết kháng nguyên như vậy bao gồm không chỉ mảnh thu được bằng cách xử lý phân tử có độ dài đầy đủ của protein kháng thể với enzym phù hợp mà còn cả protein được tạo ra trong các tế bào vật chủ phù hợp sử dụng gen kháng thể được thiết kế di truyền.

Các chuỗi nặng và nhẹ của phân tử kháng thể được biết mỗi loại có ba vùng xác định bổ trợ (CDR-complementarity determining region). Các vùng xác định bổ trợ cũng được gọi là các vùng siêu biến. Các vùng này nằm ở các vùng biến đổi của các chuỗi nặng và nhẹ kháng thể. Các khu vực này có cấu trúc sơ cấp biến đổi đặc biệt cao và được tách ra ở ba vị trí trên các cấu trúc sơ cấp tương ứng của các chuỗi polypeptit chuỗi nặng và nhẹ. Trong bản mô tả này, các vùng xác định bổ trợ của kháng thể được gọi là CDRH1, CDRH2, và CDRH3 từ đầu cuối amino của trình tự axit amin chuỗi nặng đối với các vùng xác định bổ trợ của chuỗi nặng và là CDRL1, CDRL2, và CDRL3 từ đầu cuối amino của trình tự axit amin chuỗi nhẹ đối với các vùng xác định bổ trợ của chuỗi nhẹ. Các điểm này là gần với nhau trên cấu trúc ba chiều và xác định tính đặc hiệu đối với kháng nguyên được liên kết.

Trong sáng chế, cụm từ “lai ở các ở điều kiện nghiêm ngặt” nghĩa là lai ở các điều kiện bao gồm lai ở 68°C trong dung dịch lai có sẵn trên thị trường ExpressHyb Hybridization Solution (Clontech Laboratories, Inc.), hoặc lai ở 68°C với sự có mặt của 0,7 đến 1,0M NaCl sử dụng bộ lọc bất động ADN, tiếp theo là rửa ở 68°C sử dụng dung dịch SSC có 0,1 đến 2× nồng độ (SSC có 1× nồng độ gồm có NaCl 150mM và 15mM natri xitrat) mà cho phép nhận dạng, hoặc lai ở các điều kiện tương đương.

Trong sáng chế, thuật ngữ “phản ứng vật chủ chống lại mảnh ghép” đề cập đến trạng thái miễn dịch quá mức của chủ thể nhận được quan sát sau khi cấy ghép cơ quan, và tổn thương đối với cơ quan được cấy ghép dẫn đến từ đó.

Trong sáng chế, thuật ngữ “bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ” đề cập đến các triệu chứng được biểu lộ bởi sự tấn công miễn dịch của chủ thể nhận bởi các tế bào được cấy ghép sau khi cấy ghép tế bào tạo máu.

1. Orai1

Orai1 được sử dụng trong sáng chế có thể được tinh chế trực tiếp từ các tế bào T hoặc các tế bào dưỡng của người, động vật có vú không phải người (ví dụ, chuột lang, chuột, chuột nhắt, thỏ, lợn, cừu, trâu bò, hoặc khỉ), hoặc gà, hoặc có thể được sử dụng trong phân đoạn màng tế bào được tạo ra từ các tế bào. Theo cách khác, Orai1 có thể được tổng hợp *in vitro* hoặc thu được bằng cách sản xuất từ các tế bào vật chủ bằng kỹ thuật gen. Trong kỹ thuật gen như vậy, cụ thể, Orai1 ADN bổ trợ được chèn vào vật truyền mà cho phép biểu hiện, và sau đó Orai1 có thể được tổng hợp trong dung dịch chứa enzym, chất nền, và chất sinh năng lượng cần cho sự phiên mã và dịch mã, hoặc được biểu hiện bằng sự biến nạp của các tế bào vật chủ của sinh vật chưa có nhân điển hình hoặc sinh vật có nhân điển hình khác nhau để thu protein.

Trình tự nucleotit của Orai1 ADN bổ trợ ở người được đăng ký với số truy nhập: NM_032790 ở cơ quan GenBank. Trình tự nucleotit của Orai1 ADN bổ trợ ở chuột nhắt được đăng ký với số truy nhập: NM_175423 ở cơ quan GenBank. Trình tự nucleotit mã hóa Orai1 ở người được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 của danh mục trình tự, và trình tự axit amin của Orai1 ở người được thể

hiện trong SEQ ID NO: 2 của danh mục trình tự. Orai1 cũng được gọi là chất điều biến canxi được hoạt hóa giải phóng canxi 1 (CRACM1 calcium release activated calcium modulator) hoặc protein chuyển màng 142A (TMEM142A), tất cả biểu thị cùng phân tử.

Orai1 ADN bổ trợ có thể thu được bằng phương pháp được gọi là PCR mà bao gồm thực hiện phản ứng chuỗi polymeraza (dưới đây, được gọi là “PCR”) (Saiki, R.K., et al., Science, (1988) 239, 487-49), chẳng hạn, với thư viện ADN bổ trợ của các cơ quan biểu hiện Orai1 ARN thông tin làm khuôn mẫu sử dụng các đoạn mồi khuếch đại đặc hiệu Orai1 ADN bổ trợ.

Thuật ngữ “Orai1 ADN bổ trợ” cũng bao gồm polynucleotit mà lai hóa ở các điều kiện nghiêm ngặt với polynucleotit gồm có trình tự nucleotit bổ trợ cho trình tự nucleotit mã hóa Orai1 ở người hoặc chuột nhắt và mã hóa protein có hoạt tính sinh học tương đương với Orai1. Thuật ngữ “Orai1 ADN bổ trợ” còn bao gồm ADN bổ trợ dùng cho biến thể cắt ghép mà đã được phiên mã từ locut gen Orai1 ở người hoặc chuột nhắt hoặc polynucleotit lai hóa ở các ở điều kiện nghiêm ngặt với polynucleotit gồm có trình tự nucleotit bổ trợ cho biến thể cắt ghép, và mã hóa protein có hoạt tính sinh học tương đương với Orai1.

Thuật ngữ “Orai1” cũng bao gồm protein mà gồm có trình tự axit amin có nguồn gốc từ trình tự axit amin của Orai1 ở người hoặc chuột nhắt hoặc trình tự axit amin của nó không có trình tự tín hiệu bởi sự thay thế, làm khuyết, hoặc bổ sung 1, 2 hoặc 3, hoặc 4 hoặc 5 axit amin, và có hoạt tính sinh học tương đương với Orai1. Thuật ngữ “Orai1” còn bao gồm protein mà gồm có trình tự axit amin được mã hóa bởi biến thể cắt ghép được phiên mã từ locut gen Orai1 ở người hoặc chuột nhắt, hoặc trình tự axit amin có nguồn gốc từ trình tự axit amin này bởi sự thay thế, làm khuyết, hoặc bổ sung 1, 2 hoặc 3, hoặc 4 hoặc 5 axit amin, và có hoạt tính sinh học tương đương với Orai1.

2. Sản xuất kháng thể kháng Orai1

Kháng thể chống lại Orai1 của sáng chế có thể thu được theo các phương pháp thông thường bằng cách gây miễn dịch động vật bằng Orai1 hoặc polypeptit tùy ý được lựa chọn từ trình tự axit amin của Orai1 và thu gom và

tính chế kháng thể được sinh ra *in vivo*. Loài để Orai1 được sử dụng làm kháng nguyên không giới hạn ở người, và động vật có thể được gây miễn dịch bằng Orai1 có nguồn gốc từ động vật không phải người như là chuột nhắt hoặc chuột. Trong trường hợp này, kháng thể thu được liên kết với Orai1 dị tương đồng có thể được thử nghiệm về tính phản ứng chéo của nó với Orai1 ở người để lựa chọn kháng thể áp dụng được cho các bệnh ở người. Kháng nguyên Orai1 có thể thu được bằng cách cho các tế bào vật chủ sản xuất gen Orai1 bởi kỹ thuật gen. Cụ thể là, vật truyền mà cho phép biểu hiện gen Orai1 được tạo ra và được chuyển tới các tế bào vật chủ để biểu hiện gen. Orai1 được biểu hiện có thể được tinh chế.

Kháng thể chống lại Orai1 của sáng chế có thể cũng thu được bằng cách sử dụng phương pháp gây miễn dịch ADN. Phương pháp gây miễn dịch ADN là cách tiếp cận mà gồm chuyển nhiễm động vật (ví dụ, chuột nhắt hoặc chuột) với plasmit biểu hiện kháng nguyên và biểu hiện kháng nguyên trong động vật để kích ứng sự miễn dịch chống lại kháng nguyên. Cách tiếp cận chuyển nhiễm bao gồm phương pháp tiêm trực tiếp plasmit vào cơ, phương pháp tiêm phức hợp của plasmit và liposom, polyetylenimin, hoặc tương tự vào tĩnh mạch, cách tiếp cận sử dụng vật truyền virus, cách tiếp cận tiêm các hạt vàng được gắn vào plasmit sử dụng súng bắn gen, phương pháp thủy động là tiêm nhanh dung dịch plasmit với lượng lớn vào tĩnh mạch, và tương tự. Một kỹ thuật được gọi là mở lỗ bằng điện *in vivo*, gồm áp dụng mở lỗ bằng điện cho điểm đưa vào plasmit được tiêm trong cơ, được biết là một cách tiếp cận để cải thiện mức độ biểu hiện của phương pháp chuyển nhiễm tiêm plasmit biểu hiện vào cơ (Aihara H, Miyazaki J., Nat Biotechnol. 1998 Sep; 16 (9): 867-70 hoặc Mir LM, Bureau MF, Gehl J, Rangara R, Rouy D, Caillaud JM, Delaere P, Branellec D, Schwartz B, Scherman D., Proc Natl Acad Sci USA. 1999 Apr 13; 96 (8): 4262-7). Cách tiếp cận này còn cải thiện mức độ biểu hiện bằng cách xử lý cơ bằng hyaluronidaza trước khi tiêm trong cơ plasmit (McMahon JM1, Signori E, Wells KE, Fazio VM, Wells DJ., Gene Ther. 2001 Aug; 8 (16): 1264-70).

Kháng thể đơn dòng có thể cũng thu được theo các phương pháp đã biết trong lĩnh vực (ví dụ, Kohler and Milstein, *Nature* (1975) 256, p. 495-497; và Kennet, R. ed., *Monoclonal Antibodies*, p. 365-367, Plenum Press, N.Y. (1980)) bằng cách dung hợp các tế bào sản sinh kháng thể mà sản sinh kháng thể chống lại Orai1 với các tế bào u tủy để thiết lập các tế bào lai. Các ví dụ cụ thể về phương pháp như vậy được mô tả trong các công bố quốc tế số WO09/48072 (được công bố vào 16/4/2009) và WO10/117011 (được công bố vào 14/10/2010).

Các ví dụ thực tế về kháng thể kháng Orai1 ở người của chuột được thiết lập như vậy có thể bao gồm các kháng thể R118 và R198. Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể R118 được thể hiện trong SEQ ID NO: 11 của danh mục trình tự, và trình tự của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể R118 được thể hiện trong SEQ ID NO: 13 của danh mục trình tự. Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể R198 được thể hiện trong SEQ ID NO: 15 của danh mục trình tự, và trình tự của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể R198 được thể hiện trong SEQ ID NO: 17 của danh mục trình tự.

Kháng thể của sáng chế bao gồm kháng thể đơn dòng chống lại Orai1 được mô tả ở trên cũng như kháng thể tái tổ hợp được thiết kế nhân tạo nhằm mục đích, chẳng hạn, giảm tính kháng nguyên không đồng nhất chống lại người, chẳng hạn, kháng thể khảm và kháng thể được nhân hóa, kháng thể người, và tương tự. Các kháng thể này có thể được sản xuất bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết.

Các ví dụ về kháng thể khảm có thể bao gồm kháng thể khảm chứa các vùng biến đổi và các vùng hằng định của các kháng thể có nguồn gốc từ các loài khác nhau, chẳng hạn, các vùng biến đổi của kháng thể có nguồn gốc từ chuột nhất hoặc chuột được ghép với các vùng hằng định có nguồn gốc từ người (xem *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 81, 6851-6855, (1984)).

Các ví dụ về kháng thể khảm có nguồn gốc từ kháng thể kháng Orai1 ở người của chuột R118 có thể bao gồm kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 126 của SEQ ID NO: 23 và chuỗi nặng gồm vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin

ở các vị trí 20 đến 136 của SEQ ID NO: 27. Một ví dụ về kháng thể khảm có nguồn gốc R118 như vậy có thể bao gồm kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 23 và chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 466 của SEQ ID NO: 27. Trong bản mô tả này, kháng thể này được gọi là “cR118” hoặc “kháng thể cR118”.

Các ví dụ về kháng thể khảm có nguồn gốc từ kháng thể kháng Orai1 ở người của chuột R198 có thể bao gồm kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm có vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 126 của SEQ ID NO: 25 và chuỗi nặng gồm vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 của SEQ ID NO: 29. Một ví dụ về kháng thể khảm có nguồn gốc R198 như vậy có thể bao gồm kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 25 và chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 466 của SEQ ID NO: 29. Trong bản mô tả này, kháng thể này được gọi là “cR198” hoặc “kháng thể cR198”.

Trình tự của kháng thể khảm chống lại Orai1 được mô tả ở trên có thể được thiết kế nhân tạo để tạo ra kháng thể được nhân hóa là kháng thể tái tổ hợp gen, nhằm mục đích, chẳng hạn, giảm tính kháng nguyên không đồng nhất chống lại người. Kháng thể của sáng chế bao gồm kháng thể mà các CDR của nó là các CDR được thiết kế của kháng thể được nhân hóa. Các kháng thể này có thể được sản xuất bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết.

Các ví dụ về kháng thể được nhân hóa có thể bao gồm kháng thể gồm các vùng xác định bổ trợ (các CDR) một mình được ghép vào kháng thể có nguồn gốc từ người (xem Nature (1986) 321, p. 522-525), và kháng thể gồm các trình tự CDR cũng như các gốc axit amin của một phần của bộ khung được ghép vào kháng thể người (công bố quốc tế số WO90/07861).

Kháng thể được nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể cR118 hoặc cR198 giữ lại tất cả 6 trình tự CDR có nguồn gốc từ cR118 hoặc cR198 và có hoạt tính ức chế sự hoạt hóa của các tế bào T. Vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể được nhân hóa giữ lại bất kỳ loại nào trong số CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 92 (RASQSIGNSL) và CDRL1 gồm có trình tự

axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 116 (RASQSISSNSLS), CDRL2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 96 (STSTLES), và bất kỳ loại nào trong số CDRL3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 99 (LQFATFPDT) và CDRL3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 100 (LQFATYPDT). Đồng thời, vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể được nhân hóa giữ lại bất kỳ loại nào trong số CDRH1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 102 (AYYIS) và CDRH1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 103 (SYYIS), bất kỳ loại nào trong số CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 104 (YIDMGNGRRTNYNARFKG) và CDRH2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 105 (YVDMGNGRRTNYNEKFKG), và CDRH3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 109 (DSNWGVVDY). Các trình tự axit amin này của các CDR cũng được thể hiện trên Fig.38.

Các ví dụ về kháng thể có sự tổ hợp được ưu tiên của các CDR có thể bao gồm kháng thể gồm CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 92, CDRL2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 96, CDRL3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 100, CDRH1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 103, CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 105, và CDRH3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 109, và kháng thể gồm CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 92, CDRL2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 96, CDRL3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 99, CDRH1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 102, CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 104, và CDRH3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 109.

Các ví dụ được ưu tiên về kháng thể được nhân hóa có thể bao gồm kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 126 của SEQ ID NO: 31 và chuỗi nặng gồm vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 của SEQ ID NO:

39, kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 126 của SEQ ID NO: 33 và chuỗi nặng gồm vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 của SEQ ID NO: 41, kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 126 của SEQ ID NO: 35 và chuỗi nặng gồm vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 của SEQ ID NO: 43, và kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 126 của SEQ ID NO: 37 và chuỗi nặng gồm vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 của SEQ ID NO: 45.

Các ví dụ được ưu tiên hơn của chúng có thể bao gồm kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 31 và chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 466 của SEQ ID NO: 39, kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 33 và chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 466 của SEQ ID NO: 41, kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 35 và chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 466 của SEQ ID NO: 43, và kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 37 và chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 466 của SEQ ID NO: 45.

Kháng thể của sáng chế có thể là kháng thể với khả năng được tăng cường để liên kết với Orai1 thu được bằng cách làm đột biến thêm kháng thể được nhân hóa được mô tả ở trên. Cách tiếp cận như vậy được gọi là hoàn thiện ái lực. Các ví dụ cụ thể về phương pháp này có thể bao gồm phương pháp biểu thị ribosom. Phương pháp biểu thị ribosom là phương pháp gồm sử dụng phức hợp ba phần của protein liên kết với ARN thông tin có thông tin di truyền của nó qua ribosom và cách ly trình tự gen mã hóa protein mà liên kết với phân tử đích (Stafford RL. et al., Protein Eng. Des. Sel. 2014 (4): 97-109).

Vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể được thiết kế di truyền bằng phương pháp được mô tả ở trên giữ lại bất kỳ loại nào trong số CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 93 (RASQSIGGSLS), CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 94 (HASQNIGGSLS), và CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 95 (HASRNIGGSLS), bất kỳ loại nào trong số CDRL2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 96 (STSTLES), CDRL2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 97 (LTSTLDW), và CDRL2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 98 (LTSSLDW), và CDRL3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 101 (LQFAIFPDS). Đồng thời, vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể được thiết kế di truyền giữ lại CDRH1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 102 (AYYIS), bất kỳ loại nào trong số CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 104 (YIDMGNGRRTNYNARFKG), CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 106 (YIDMGNGRRTDYNARFKG), CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 107 (YIDMGNGRRTDYNGRFRFKG), và CDRH2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 108 (YIDMGNGRRTDYNMRFRFKG), và CDRH3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 109 (DSNWGVVDY) hoặc CDRH3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 110 (DSNWGADY). Các trình tự axit amin này của các CDR cũng được thể hiện trên Fig.38.

Các ví dụ về kháng thể có sự tổ hợp được ưu tiên của các CDR có thể bao gồm kháng thể gồm CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 93, CDRL2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 96, CDRL3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 101, CDRH1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 102, CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 106, và CDRH3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 110, kháng thể gồm CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 94, CDRL2 gồm có trình tự

axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 97, CDRL3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 101, CDRH1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 102, CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 106, và CDRH3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 110, kháng thể gồm CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 95, CDRL2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 98, CDRL3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 101, CDRH1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 102, CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 106, và CDRH3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 110, kháng thể gồm CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 93, CDRL2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 96, CDRL3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 101, CDRH1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 102, CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 107, và CDRH3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 110, kháng thể gồm CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 93, CDRL2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 96, CDRL3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 101, CDRH1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 102, CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 108, và CDRH3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 110, và kháng thể gồm CDRL1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 93, CDRL2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 96, CDRL3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 101, CDRH1 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 102, CDRH2 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 104, và CDRH3 gồm có trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 109.

Các ví dụ được ưu tiên về kháng thể CDR được thiết kế di truyền có thể bao gồm kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 126 của SEQ ID NO: 56 và chuỗi nặng gồm

vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 của SEQ ID NO: 62, kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 126 của SEQ ID NO: 58 và chuỗi nặng gồm vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 của SEQ ID NO: 62, kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 126 của SEQ ID NO: 60 và chuỗi nặng gồm vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 của SEQ ID NO: 62, kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 126 của SEQ ID NO: 56 và chuỗi nặng gồm vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 của SEQ ID NO: 64, kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 126 của SEQ ID NO: 56 và chuỗi nặng gồm vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 của SEQ ID NO: 66, và kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 126 của SEQ ID NO: 56 và chuỗi nặng gồm vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 của SEQ ID NO: 43.

Các ví dụ được ưu tiên về kháng thể gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ và vùng biến đổi chuỗi nặng được mô tả ở trên có thể bao gồm kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 56 và chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 466 của SEQ ID NO: 62, kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 58 và chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 466 của SEQ ID NO: 62, kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 60 và chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 466 của SEQ ID NO: 62, kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 56 và chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 466 của SEQ ID NO: 64, kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 56 và chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20

đến 466 của SEQ ID NO: 66, và kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 56 và chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 466 của SEQ ID NO: 43.

Đối với việc phá vỡ tính độc tế bào chống lại các tế bào bình thường biểu hiện Orai1 ở người, mong muốn rằng kháng thể nên có hoạt tính chất tác động thấp. Hoạt tính chất tác động đã biết là khác nhau trong số các phân lớp kháng thể. Các đặc trưng dưới đây được quan sát, chẳng hạn, IgG4 có các hoạt tính ADCC và CDC thấp, và IgG2 có hoạt tính CDC, nhưng có hoạt tính ADCC thấp. Trên cơ sở các dấu hiệu này, có thể tạo ra kháng thể với các hoạt tính ADCC và CDC giảm bằng cách thay thế các vùng hằng định của IgG1 bằng các vùng hằng định của IgG2 hoặc IgG4. Đồng thời, có thể tạo ra kháng thể IgG1 với các hoạt tính ADCC và CDC giảm bằng cách thế một phần các trình tự vùng hằng định của IgG1 so với IgG2 hoặc IgG4. Một ví dụ là, Marjan Hezareh et al., *Journal of Virology*, 75 (24): 12161-12168 (2001) cho thấy rằng các hoạt tính ADCC và CDC của IgG1 giảm đi bằng cách thay thế mỗi loại trong số các gốc leuxin ở các vị trí 234 và 235 (các vị trí được chỉ ra bởi chỉ số EU của Kabat et al.) của IgG1 bằng gốc alanin.

Các ví dụ về chuỗi nặng của kháng thể kháng Orai1 được tạo ra bằng phương pháp được mô tả ở trên có thể bao gồm trình tự chuỗi nặng được thể hiện trong SEQ ID NO: 68 hoặc 70. Chuỗi nặng được thể hiện trong SEQ ID NO: 68 hoặc 70 có thể được kết hợp với mỗi trình tự chuỗi nhẹ được mô tả trong bản mô tả này và được sử dụng làm kháng thể chữa bệnh. Các ví dụ cụ thể về chuỗi nhẹ cần được kết hợp có thể bao gồm chuỗi nhẹ được mô tả trong SEQ ID NO: 31, 33, 35, 37, 56, 58, hoặc 60. Các ví dụ về kháng thể có sự tổ hợp được ưu tiên về chuỗi nhẹ và chuỗi nặng có thể bao gồm kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 56 và chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 466 của SEQ ID NO: 70, kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 58 và chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 466 của SEQ ID NO: 70, và kháng thể gồm có chuỗi nhẹ gồm có các gốc

axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 60 và chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 466 của SEQ ID NO: 70.

Đã biết rằng các gốc lysin đầu cuối carboxyl được làm khuyết trong các chuỗi nặng của các kháng thể được sinh ra trong các tế bào động vật có vú được nuôi cấy (Journal of Chromatography A, 705: 129-134 (1995)). Cũng đã biết rằng hai gốc axit amin đầu cuối carboxyl (glyxin và lysin) được làm khuyết trong các chuỗi nặng, và gốc prolin được định vị mới ở đầu cuối carboxyl được amit hóa (Analytical Biochemistry, 360: 75-83 (2007)). Tuy nhiên, việc làm khuyết và cải biến các trình tự chuỗi nặng như vậy không tác động đến khả năng kháng thể liên kết với kháng nguyên và các chức năng chất tác động (hoạt hóa bổ sung và hiệu quả gây độc tế bào cho tế bào phụ thuộc kháng thể, v.v.) của kháng thể. Như vậy, kháng thể của sáng chế cũng bao gồm kháng thể được cải biến như vậy. Các ví dụ về chúng có thể bao gồm thể đột biến làm khuyết thu được bằng cách làm khuyết 1 hoặc 2 axit amin ở đầu cuối carboxyl chuỗi nặng, và dạng được amit hóa của thể đột biến làm khuyết này (ví dụ, chuỗi nặng được amit hóa ở gốc prolin ở điểm đầu cuối carboxyl). Tuy nhiên, thể đột biến làm khuyết đầu cuối carboxy chuỗi nặng của kháng thể theo sáng chế là không giới hạn ở các loại được mô tả ở trên miễn là thể đột biến làm khuyết duy trì khả năng liên kết với kháng nguyên và các chức năng chất tác động. Hai chuỗi nặng cấu thành kháng thể theo sáng chế có thể là bất kỳ loại nào trong số chuỗi nặng được lựa chọn từ nhóm gồm có các chuỗi nặng có độ dài đầy đủ và các chuỗi nặng của các thể đột biến làm khuyết được mô tả ở trên, hoặc có thể là sự kết hợp của bất kỳ hai loại được lựa chọn từ đó. Tỷ lệ định lượng của mỗi thể đột biến làm khuyết có thể bị tác động bởi loại và các điều kiện nuôi cấy của các tế bào động vật có vú được nuôi cấy sản sinh kháng thể theo sáng chế. Các ví dụ về thành phần chính của kháng thể theo sáng chế có thể bao gồm hai chuỗi nặng, cả hai trong số này thiếu một gốc axit amin đầu cuối carboxy. Cụ thể là, chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 465 trong trình tự chuỗi nặng được thể hiện trong mỗi loại trong số các SEQ ID NO: 27, 29, 39, 41, 43, 45, 62, 64, 66, 68, và 70 của danh mục trình tự, hoặc chuỗi nặng gồm có các gốc axit

amin ở các vị trí 20 đến 464 trong đó có thể cũng được sử dụng trong kháng thể của sáng chế.

Các kháng thể thu được bằng các phương pháp này có thể được đánh giá về hoạt tính liên kết của chúng chống lại kháng nguyên để lựa chọn kháng thể thích hợp. Một ví dụ về chỉ số khác để so sánh các đặc tính kháng thể có thể bao gồm tính ổn định của kháng thể. Phân tích nhiệt quét vi sai (DSC-Differential scanning calorimetry) là phương pháp có khả năng đo nhanh chóng và chính xác trung điểm biến tính nhiệt (T_m), mà dùng làm chỉ số tốt về tính ổn định cấu trúc tương đối của các protein. Các giá trị T_m có thể được đo sử dụng DSC và được so sánh để xác định tính ổn định nhiệt khác biệt. Tính ổn định lưu trữ của kháng thể đã được biết tương quan với tính ổn định nhiệt của kháng thể ở mức độ nhất định (Lori Burton, et al., *Pharmaceutical Development and Technology* (2007) 12, p. 265-273). Kháng thể thích hợp có thể được lựa chọn với tính ổn định nhiệt là chỉ số. Các ví dụ về các chỉ số khác để lựa chọn kháng thể có thể bao gồm các hiệu suất thu hồi cao trong các tế bào vật chủ thích hợp, và sự kết tụ thấp trong dung dịch nước. Chẳng hạn, vì không luôn đúng là kháng thể có hiệu suất thu hồi cao nhất thể hiện tính ổn định nhiệt cao nhất, nên kháng thể phù hợp nhất để dùng cho người cần phải được lựa chọn bằng sự đánh giá tổng hợp dựa trên các chỉ số được nêu ở trên.

Phương pháp thu globulin miễn dịch chuỗi đơn bằng cách kết nối các trình tự chuỗi nặng và nhẹ có độ dài đầy đủ của kháng thể qua tác nhân kết nối thích hợp cũng đã biết (Lee, H-S, et al., *Molecular Immunology* (1999) 36, p. 61-71; và Schirrmann, T. et al., *mAbs* (2010), 2 (1), p. 73-76). Globulin miễn dịch chuỗi đơn như vậy có thể được nhĩ trùng hóa để nhờ đó duy trì cấu trúc và các hoạt tính tương tự với cấu trúc và các hoạt tính của kháng thể, mà ban đầu là thể tứ phân. Ngoài ra, kháng thể của sáng chế có thể là kháng thể mà có vùng biến đổi chuỗi nặng đơn và không có trình tự chuỗi nhẹ. Kháng thể như vậy, được gọi là kháng thể vùng đơn (sdAb) hoặc kháng thể thể nano, đã được quan sát thực tế ở lạc đà và lạc đà không bướu và được báo cáo duy trì khả năng liên kết với kháng nguyên (Muyldemans S. et al., *Protein Eng.* (1994) 7 (9), 1129-35; và

Hamers-Casterman C. et al., Nature (1993) 363 (6428), 446-8). Các kháng thể này có thể được hiểu là một loại mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo sáng chế.

Hoạt tính độc tế bào ở tế bào phụ thuộc kháng thể của kháng thể của sáng chế có thể được tăng cường bằng cách điều chỉnh sự cải biến chuỗi đường liên kết với kháng thể. Chẳng hạn, các phương pháp được mô tả trong các tài liệu WO99/54342, WO00/61739, và WO02/31140 đã được biết là các ví dụ về kỹ thuật như vậy điều chỉnh sự cải biến chuỗi đường của kháng thể, dù kỹ thuật này không giới hạn ở đó.

Trong trường hợp tạo ra kháng thể bằng cách cách ly tạm thời gen kháng thể và sau đó chuyển gen tới vật chủ thích hợp, vật chủ thích hợp có thể được sử dụng kết hợp với vật truyền biểu hiện. Các ví dụ cụ thể về gen kháng thể có thể bao gồm sự kết hợp của gen mã hóa trình tự chuỗi nặng và gen mã hóa trình tự chuỗi nhẹ của kháng thể được mô tả trong bản mô tả này. Đối với sự biến nạp của các tế bào vật chủ, gen trình tự chuỗi nặng và gen trình tự chuỗi nhẹ có thể được chèn vào cùng vật truyền biểu hiện hoặc có thể được chèn vào các vật truyền biểu hiện riêng. Trong trường hợp sử dụng các tế bào có nhân điển hình của vật chủ, các tế bào động vật, các tế bào thực vật, hoặc các vi sinh vật có nhân điển hình có thể được sử dụng. Các ví dụ về các tế bào động vật có thể bao gồm các tế bào động vật có vú, chẳng hạn, các tế bào COS ở khỉ (Gluzman, Y., Cell (1981) 23, p. 175-182, ATCC CRL-1650), nguyên bào sợi chuột nhắt NIH3T3 (ATCC No. CRL-1658), và các dòng khiếm khuyết dihydrofolat reductaza (Urlaub, G. và Chasin, L.A., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1980) 77, p. 4126-4220) của các tế bào buồng trứng chuột đồng Trung Quốc (các tế bào CHO, ATCC CCL-61). Trong trường hợp sử dụng các tế bào chưa có nhân điển hình, các ví dụ về chúng có thể bao gồm *E. coli* và *Bacillus subtilis*. Gen kháng thể quan tâm được chuyển tới các tế bào này bằng biến nạp, và các tế bào được biến nạp được nuôi cấy *in vitro* để thu kháng thể. Phương pháp nuôi cấy như vậy có thể khác nhau về hiệu suất phụ thuộc vào trình tự của kháng thể. Kháng thể

mà dễ sản xuất làm thuốc có thể được lựa chọn, bằng cách sử dụng hiệu suất của nó làm chỉ số, từ trong số các kháng thể có hoạt tính liên kết tương đương.

Các ví dụ về isotyp của kháng thể của sáng chế có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, IgG (IgG1, IgG2, IgG3, và IgG4), IgM, IgA (IgA1 và IgA2), IgD, và IgE. Ưu tiên isotyp có thể là IgG hoặc IgM, ưu tiên hơn là IgG1 hoặc IgG2.

Kháng thể của sáng chế có thể là mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể có vị trí liên kết kháng nguyên của kháng thể, hoặc dạng được cải biến của nó. Mảnh kháng thể có thể thu được bằng cách xử lý kháng thể với enzym phân giải protein như là papain hoặc pepsin hoặc bằng sự biểu hiện gen kháng thể được thiết kế di truyền trong các tế bào được nuôi cấy thích hợp. Trong số các mảnh kháng thể như vậy, mảnh mà duy trì toàn bộ hoặc một phần các chức năng có được bởi phân tử có độ dài đầy đủ của kháng thể có thể được gọi là mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể.

Các ví dụ về các chức năng của kháng thể có thể thường bao gồm hoạt tính liên kết kháng nguyên, hoạt tính trung hòa hoạt tính của kháng nguyên, hoạt tính tăng cường hoạt tính của kháng nguyên, hoạt tính độc tế bào ở tế bào phụ thuộc kháng thể, hoạt tính độc tế bào phụ thuộc bổ thể, và hoạt tính độc tế bào ở tế bào phụ thuộc bổ thể. Chức năng có được bởi mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo sáng chế là hoạt tính liên kết chống lại Orai1 và ưu tiên là hoạt tính ức chế sự hoạt hóa của các tế bào T, ưu tiên hơn là hoạt tính ức chế sản sinh IL-2 và/hoặc interferon γ bởi các tế bào T.

Các ví dụ về mảnh của kháng thể có thể bao gồm Fab, F(ab')₂, Fv, chuỗi đơn Fv (scFv) gồm chuỗi nặng và nhẹ Fvs được kết nối qua tác nhân kết nối thích hợp, các thể kép, các kháng thể tuyến tính, và các kháng thể đa đặc hiệu được tạo ra từ các mảnh kháng thể. Mảnh của kháng thể cũng bao gồm Fab', là mảnh đơn trị của các vùng biến đổi kháng thể thu được bằng sự xử lý F(ab')₂ ở các điều kiện khử.

Kháng thể của sáng chế có thể là kháng thể đa đặc hiệu có tính đặc hiệu đối với ít nhất hai loại kháng nguyên khác nhau. Phân tử như vậy thường liên

kết với hai loại kháng nguyên (tức là, kháng thể đặc hiệu kép). “Kháng thể đa đặc hiệu” theo sáng chế bao hàm kháng thể có tính đặc hiệu đối với nhiều loại (ví dụ, 3 loại) kháng nguyên.

Kháng thể đa đặc hiệu của sáng chế có thể là kháng thể gồm có kháng thể có độ dài đầy đủ, hoặc có thể là mảnh kháng thể như vậy (ví dụ, kháng thể đặc hiệu kép $F(ab')_2$). Kháng thể đặc hiệu kép có thể được tạo ra bằng cách kết nối các chuỗi nặng và nhẹ (các cặp HL) của hai loại kháng thể, hoặc có thể được tạo ra bằng cách dung hợp các tế bào lai sản sinh các kháng thể đơn dòng khác nhau để tạo ra các tế bào dung hợp sản sinh kháng thể đặc hiệu kép (Millstein et al., *Nature* (1983) 305, p. 537-539).

Kháng thể của sáng chế có thể là kháng thể chuỗi đơn (chuỗi đơn Fv; cũng được gọi là “scFv”). scFv thu được bằng cách kết nối các vùng biến đổi chuỗi nặng và nhẹ của kháng thể qua tác nhân kết nối polypeptit (Pluckthun, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, 113 (Rosenberg and Moore ed., Springer Verlag, New York, p. 269-315 (1994); và *Nature Biotechnology* (2005), 23, p. 1126-1136). Đồng thời, mảnh biscFv được tạo ra bằng cách kết nối hai scFv qua tác nhân kết nối polypeptit có thể cũng được sử dụng làm kháng thể đặc hiệu kép.

Phương pháp tạo ra scFv là đã biết trong lĩnh vực (ví dụ, xem các bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 4.946.778, 5.260.203, 5.091.513, và 5.455.030). Trong scFv này, vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ được kết nối qua tác nhân kết nối, ưu tiên là tác nhân kết nối polypeptit, mà ngăn chặn chúng không tạo ra thể tiếp hợp (Huston, J.S. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (1988), 85, p. 5879-5883). Vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trong scFv có thể có nguồn gốc từ cùng kháng thể hoặc có thể có nguồn gốc từ các kháng thể khác nhau. Chẳng hạn, chuỗi đơn peptide tùy ý gồm có 12 đến 19 gốc được sử dụng làm tác nhân kết nối polypeptit mà kết nối các vùng biến đổi này.

Để thu ADN mã hóa scFv, mỗi phần ADN mã hóa toàn bộ hoặc trình tự axit amin mong muốn trong trình tự của ADN mã hóa chuỗi nặng hoặc vùng

biến đổi chuỗi nặng của kháng thể và ADN mã hóa chuỗi nhẹ hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ của chúng, được sử dụng làm khuôn mẫu và được khuếch đại bằng PCR sử dụng cặp đoạn mồi chặn cả hai đầu của khuôn mẫu. Sau đó, ADN mã hóa phần gốc tác nhân kết nối polypeptit còn được khuếch đại thêm kết hợp với cặp đoạn mồi chặn cả hai đầu của ADN sao cho mảnh thu được có thể được kết nối tương ứng ở các đầu của nó với các ADN chuỗi nặng và nhẹ.

Khi ADN mã hóa scFv được tạo ra, vật truyền biểu hiện chứa ADN và vật chủ được biến nạp với vật truyền biểu hiện có thể thu được theo các phương pháp thông thường. Ngoài ra, vật chủ có thể được sử dụng để thu scFv theo các phương pháp thông thường. Các mảnh kháng thể này có thể được tạo ra bởi vật chủ theo cách tương tự như ở trên bằng cách thu và biểu hiện gen.

Kháng thể của sáng chế có thể được multimer hóa để nhờ đó tăng cường ái lực của nó đối với kháng nguyên. Các kháng thể của cùng loại có thể được multimer hóa, hoặc nhiều kháng thể nhận biết nhiều epitop, tương ứng, của cùng kháng nguyên có thể được multimer hóa. Các ví dụ về phương pháp multimer hóa các kháng thể này có thể bao gồm việc liên kết của hai scFvs với vùng CH3 IgG, việc liên kết của chúng với streptavidin, và đưa vào mô hình xoắn ốc-quay-xoắn ốc.

Kháng thể của sáng chế có thể là kháng thể đa dòng mà là hỗn hợp của nhiều loại kháng thể kháng Orail khác nhau về trình tự axit amin. Một ví dụ về kháng thể đa dòng có thể bao gồm hỗn hợp của nhiều loại kháng thể khác nhau về các CDR. Kháng thể thu được bằng cách nuôi cấy hỗn hợp của các tế bào sản sinh các kháng thể khác nhau, tiếp theo là sự tinh chế từ môi trường nuôi cấy có thể được sử dụng là kháng thể đa dòng như vậy (xem WO2004/061104).

Kháng thể được tiếp hợp với bất kỳ các phân tử khác nhau nào như là polyetylen glycol (PEG) có thể cũng được sử dụng làm dạng được cải biến của kháng thể.

Kháng thể của sáng chế có thể còn là bất kỳ các thể tiếp hợp nào được tạo ra bởi các kháng thể này với các thuốc khác (các thể tiếp hợp miễn dịch). Các ví dụ về kháng thể như vậy có thể bao gồm kháng thể được tiếp hợp với vật liệu

phóng xạ hoặc hợp chất có hiệu quả được lý (Nature Biotechnology (2005) 23, p. 1137-1146).

Kháng thể thu được có thể được tinh chế đến khi đồng nhất. Các phương pháp tách và tinh chế protein thường dùng có thể được sử dụng để tách và tinh chế kháng thể. Kháng thể có thể được tách và được tinh chế bằng (các) cách tiếp cận được lựa chọn hoặc kết hợp thích hợp, chẳng hạn, sắc ký cột, lọc qua máy lọc, siêu lọc, tách bằng muối, thẩm tách, điện di gel polyacrylamit điều chế, và/hoặc tụ tiêu đẳng điện (Strategies for Protein Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual, Daniel R. Marshak et al. eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press (1996); và Antibodies: A Laboratory Manual. Ed Harlow and David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)), nhờ phương pháp tách và tinh chế không giới hạn ở đó.

Các ví dụ về sắc ký như vậy có thể bao gồm sắc ký ái lực, sắc ký trao đổi ion, sắc ký kỵ nước, sắc ký lọc gel, sắc ký pha đảo, và sắc ký hấp phụ. Các cách tiếp cận sắc ký này có thể được thực hiện sử dụng sắc ký lỏng như là HPLC hoặc FPLC. Các ví dụ về cột để sử dụng trong sắc ký ái lực có thể bao gồm các cột protein A và các cột protein G. Các ví dụ về các cột protein A có thể bao gồm Hyper D, POROS, và Sepharose F.F. (Pharmacia Corp.). Đồng thời, kháng thể có thể được tinh chế bằng cách sử dụng hoạt tính liên kết của nó chống lại kháng nguyên sử dụng chất mang được cố định kháng nguyên.

3. Thuốc chứa kháng thể kháng Orai1

Kháng thể trung hòa hoạt tính sinh học của Orai1 có thể thu được từ trong số các kháng thể kháng Orai1 thu được bằng các phương pháp được mô tả ở đoạn “2. Sản xuất kháng thể kháng Orai1” nêu trên. Kháng thể như vậy, trung hòa hoạt tính sinh học của Orai1, có thể ức chế hoạt tính sinh học *in vivo* của Orai1, tức là, sự hoạt hóa của các kênh canxi được hoạt hóa giải phóng canxi (các kênh CRAC) của các tế bào biểu hiện Orai1 điển hình bởi các tế bào T và các dưỡng bào và như vậy, có thể được sử dụng về mặt dược làm thuốc điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh gây ra bởi sự hoạt hóa của các kênh CRAC của các tế bào này.

Các bệnh hoặc các tình trạng gây ra bởi sự hoạt hóa kênh CRAC bao gồm sự đào thải cấy ghép, các bệnh liên quan đến miễn dịch, các bệnh dị ứng, các bệnh viêm, chứng huyết khối, và các bệnh ung thư, v.v..

Các ví dụ về điều trị và/hoặc phòng ngừa sự đào thải cấy ghép bao gồm điều trị và/hoặc phòng ngừa đáp ứng đào thải và phản ứng vật chủ chống lại mảnh ghép đối với sự cấy ghép cơ quan hoặc mô như là tim, thận, gan, tủy xương, hoặc da, và bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ gây ra bởi cấy ghép các tế bào tạo máu (tủy xương, máu ngoại vi, máu dây rốn, v.v.).

Các ví dụ về các bệnh liên quan đến miễn dịch bao gồm các bệnh mô liên kết hoặc các bệnh về bộ cơ xương (viêm khớp dạng thấp, viêm đốt sống dạng thấp, luput ban đỏ toàn thân, bệnh cứng bì, viêm đa cơ, viêm bì cơ, v.v.), các bệnh huyết học (thiếu máu không tái tạo, ban xuất huyết giảm tiểu cầu ngẫu phát, v.v.), các bệnh hệ tiêu hóa (bệnh Crohn, bệnh viêm loét đại tràng, v.v.), các bệnh hệ thần kinh (bệnh đa xơ cứng, bệnh nhược cơ, v.v.), các bệnh về mắt (viêm màng bồ đào, v.v.), các bệnh về mạch (bệnh Behcet, bệnh u hạt Wegener, v.v.), các bệnh về da (bệnh vẩy nến, pemphigut (da có bọt nước tự miễn), bệnh bạch biến, v.v.), và các bệnh nội tiết (tiểu đường typ 1, viêm tuyến giáp tự miễn, bệnh Graves, bệnh Hashimoto, v.v.).

Các ví dụ về các bệnh dị ứng bao gồm viêm da cơ địa, hen, phản vệ, phản ứng giả phản vệ, dị ứng thức ăn, viêm mũi, viêm tai giữa, phản ứng thuốc, phản ứng vết cắn của côn trùng, phản ứng với thực vật, dị ứng với nhựa mủ, viêm kết mạc, và mề đay.

Các ví dụ về các bệnh viêm bao gồm các bệnh viêm thận (viêm thận-tiểu cầu, hư thận, v.v.), các bệnh viêm phổi (bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, xơ nang, viêm phổi kẽ, v.v.), các bệnh viêm ruột (bệnh viêm loét đại tràng, viêm ruột hồi, v.v.), các bệnh viêm gan (viêm gan tự miễn, viêm gan do virus, v.v.), các bệnh viêm tim (viêm cơ tim, bệnh tim thiếu máu cục bộ, xơ vữa động mạch, v.v.), các bệnh viêm da (viêm da tiếp xúc, eczema, v.v.), các bệnh viêm mắt (bệnh mắt hột, viêm nội nhãn, v.v.), các bệnh viêm thần kinh trung ương (viêm màng não, viêm não tủy, viêm não tự miễn, v.v.), các bệnh viêm khớp (viêm khớp, viêm xương

khớp, v.v.), và các loại viêm toàn thân (nhiễm khuẩn, xuất huyết, tính quá mẫn cảm, các triệu chứng sốc được cho là do hóa trị ung thư hoặc tương tự, v.v.).

Các ví dụ về các trường hợp trong đó hoạt tính chống kết tập tiểu cầu hoặc chống huyết khối là hữu ích để điều trị và/hoặc phòng ngừa là các bệnh nhồi máu cơ tim, đột quỵ, tim thiếu máu cục bộ, và chứng huyết khối.

Các ví dụ về điều trị các bệnh ung thư bao gồm ung thư vú, ung thư phổi, ung thư da, và bệnh bạch cầu.

Các ví dụ nữa về các bệnh mà có thể được điều trị bằng kháng thể của sáng chế bao gồm: các tình trạng bệnh lý liên quan đến các tế bào dưỡng và các bạch cầu ưa bazơ, như là bệnh bạch cầu tế bào dưỡng, tăng sinh tế bào dưỡng, bệnh bạch cầu ái kiềm, và lạc nội mạc tử cung; và bệnh cơ bó ống, hội chứng Stormorken, viêm khớp dạng thấp, viêm đốt sống dạng thấp, và viêm da cơ địa, mà phát triển hoặc nguy cơ phát triển của chúng tăng lên bởi tăng chức năng di truyền của các kênh CRAC.

Các ví dụ về kháng thể kháng Orai1 là các thuốc có thể bao gồm các kháng thể được nhân hóa được tạo ra từ kháng thể R118 và/hoặc kháng thể R198, và các dạng được thiết kế CDR của chúng.

Hoạt tính trung hòa *in vitro* của kháng thể kháng Orai1 chống lại hoạt tính sinh học của Orai1 có thể được đo trên cơ sở, chẳng hạn, hoạt tính ức chế chống lại sự hoạt hóa của các tế bào T biểu hiện Orai1. Chẳng hạn, kháng thể kháng Orai1 được bổ sung ở các nồng độ thay đổi cho các tế bào Jurkat dòng tế bào có nguồn gốc từ tế bào T ở người, và hoạt tính ức chế chống lại sự giải phóng IL-2 từ các tế bào Jurkat được kích thích với PMA và A23187 có thể được đo. Đồng thời, kháng thể kháng Orai1 được bổ sung ở các nồng độ thay đổi cho các tế bào đơn nhân trong máu ngoại vi (PBMC) ở người, và hoạt tính ức chế chống lại IL-2 và interferon γ giải phóng từ PBMC được kích thích với PMA và A23187 có thể được đo.

Thực tế được chứng minh về mặt thực nghiệm, và được thừa nhận rộng rãi là các tế bào chịu trách nhiệm về sự phát triển bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ là các tế bào T. Khi các tế bào T được cấy ghép nhận biết chủ thể nhận là ngoại

thể, sự tự nhân dựa trên interleukin 2 (IL-2) được sản sinh bởi chính chúng, và sự giải phóng các xytokin viêm như là interferon gamma (IFN- γ) bởi sự hoạt hóa gây ra phản ứng viêm miễn dịch hệ thống, dẫn đến phát triển bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ. Như vậy, sự ức chế sản sinh các xytokin này dẫn đến ngăn chặn hoặc điều trị bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ, trong khi sự có ích của kháng thể kháng Orai1 là thuốc điều trị có thể được xác định bằng cách sử dụng hoạt tính ức chế của nó là chỉ số.

Các ví dụ được ưu tiên về kháng thể theo sáng chế có thể bao gồm kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể mà liên kết đặc hiệu với trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2, trong đó nồng độ tại đó lượng IL-2 được giải phóng từ các tế bào Jurkat được xử lý với PMA và A23187 được ức chế 50% là 80ng/mL hoặc thấp hơn. Các ví dụ được ưu tiên hơn về kháng thể này có thể bao gồm kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể, trong đó nồng độ tại đó lượng IL-2 được giải phóng từ các tế bào Jurkat được xử lý với PMA và A23187 được ức chế 50% là 10ng/mL hoặc thấp hơn. Kháng thể của sáng chế cũng bao gồm kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể, trong đó nồng độ tại đó lượng IL-2 được giải phóng từ các tế bào Jurkat được xử lý với PMA và A23187 được ức chế 80% là 60000ng/mL hoặc thấp hơn, và kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể, trong đó nồng độ tại đó lượng IL-2 được giải phóng từ các tế bào Jurkat được xử lý với PMA và A23187 được ức chế 80% là 200ng/mL hoặc thấp hơn.

Các ví dụ được ưu tiên khác nữa về kháng thể theo sáng chế có thể bao gồm kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể mà liên kết đặc hiệu với trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2, trong đó nồng độ tại đó lượng IL-2 được giải phóng từ PBMC ở người được xử lý với PMA và A23187 được ức chế 50% là 100ng/mL hoặc thấp hơn. Các ví dụ được ưu tiên hơn về kháng thể này có thể bao gồm kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể, trong đó nồng độ tại đó lượng IL-2 được giải phóng từ PBMC ở người được xử lý với PMA và A23187 được ức chế 50% là 20ng/mL

hoặc thấp hơn. Kháng thể của sáng chế cũng bao gồm kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể, trong đó nồng độ tại đó lượng IL-2 được giải phóng từ PBMC ở người được xử lý với PMA và A23187 được ức chế 80% là 17000ng/mL hoặc thấp hơn, và kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể, trong đó nồng độ tại đó lượng IL-2 được giải phóng từ PBMC ở người được xử lý với PMA và A23187 được ức chế 80% là 400ng/mL hoặc thấp hơn.

Các ví dụ được ưu tiên khác nữa về kháng thể theo sáng chế có thể bao gồm kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể mà liên kết đặc hiệu với trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2, trong đó nồng độ tại đó lượng IFN- γ được giải phóng từ PBMC ở người được xử lý với PMA và A23187 được ức chế 50% là 800ng/mL hoặc thấp hơn. Các ví dụ được ưu tiên hơn về kháng thể này có thể bao gồm kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể, trong đó nồng độ tại đó lượng IFN- γ được giải phóng từ PBMC ở người được xử lý với PMA và A23187 được ức chế 50% là 40ng/mL hoặc thấp hơn. Kháng thể của sáng chế cũng bao gồm kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể, trong đó nồng độ tại đó lượng IFN- γ được giải phóng từ PBMC ở người được xử lý với PMA và A23187 được ức chế 80% là 300000ng/mL hoặc thấp hơn, và kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể, trong đó nồng độ tại đó lượng IFN- γ được giải phóng từ PBMC ở người được xử lý với PMA và A23187 được ức chế 80% là 2000ng/mL hoặc thấp hơn.

Hiệu quả chữa bệnh hoặc phòng ngừa *in vivo* của kháng thể kháng Orai1 đối với bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ trong động vật phòng thí nghiệm có thể được khẳng định, chẳng hạn, bằng cách đo sự ức chế giảm trọng lượng ở mẫu bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ ở chuột nhắt được cấy ghép PBMC người. Cụ thể là, các con chuột nhắt NOG hoặc NSG, mà là các con chuột nhắt thiếu hụt miễn dịch phối hợp trầm trọng, được chiếu các tia X ở mức 2,0 Gy. Vào ngày tiếp theo, 200 μ L dung dịch PBS chứa 15.000.000 đến 50.000.000 tế bào PBMC ở người trên mỗi mL được cấy ghép cho mỗi con chuột nhắt qua tĩnh

mạch đuôi. Nhóm chuột nhất được chiếu tia X mà không nhận PBMC ở người được sử dụng là nhóm không có bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ, và nhóm được cấy ghép PBMC ở người chỉ được cho dung dịch tá được đối với kháng thể được sử dụng làm nhóm bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ. Trước hoặc sau khi cấy ghép PBMC ở người, kháng thể kháng Orai1 được cho dùng trong tĩnh mạch cho đuôi hoặc trong màng bụng để đo hiệu quả ức chế đối với sự giảm trọng lượng ở nhóm bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ.

Ngoài ra, hiệu quả chữa bệnh hoặc phòng ngừa của kháng thể kháng Orai1 đối với các bệnh khác nhau có thể cũng được khẳng định bằng các hệ thống đánh giá *in vivo* dưới đây sử dụng chuột nhất biểu hiện gen nhập Orai1 ở người.

Về hiệu quả đối với bệnh viêm da, dung dịch kháng nguyên protein được cho chuột nhất dùng theo đường trong màng bụng hoặc trong tĩnh mạch, và sau 2 tuần, kháng nguyên được tiêm vào là mũi nhắc lại. Sau đó, dung dịch kháng nguyên protein tương tự như ở trên được cho tác động lặp lại lên tai hoặc lưng 3 đến 6 lần trong khoảng thời gian 3 ngày đến 2 tuần để gây ra bệnh viêm da. Hiệu quả trên bệnh viêm da được đánh giá bằng cách so sánh độ dày tai ngoài, điểm số cho bằng mắt thường về bệnh viêm da ở lưng, các nồng độ của kháng thể, các xytokin, hoặc các chỉ thị sinh học huyết thanh trong máu hoặc các mô, và hoạt tính sinh trưởng, khả năng sản sinh xytokin, hoặc các kháng nguyên bề mặt của các tế bào thu được từ da, máu ngoại vi, tuyến ức, lá lách, hạch bạch huyết, hoặc tủy xương giữa nhóm kháng thể kháng Orai1 và nhóm không cho dùng.

Về hiệu quả đối với bệnh ngứa, kem kháng nguyên ve bét được cho tác động lặp lại lên tai ngoài hoặc lưng 3 đến 6 lần trong các khoảng thời gian 3 ngày đến 2 tuần, hoặc hapten được cho tác động lên tai ngoài, vùng ở bụng, hoặc lưng mọi ngày một lần mỗi tuần, hoặc chất kích ứng bệnh ngứa được cho dùng trong da cho tai ngoài, dưới da cho lưng, hoặc bằng đường trong vỏ. Tác động ngứa được kích ứng bởi phương pháp như vậy được định lượng bằng cách đo số lượng cơn ngứa sử dụng các nam châm được gắn vào phía sau cả hai chân của chuột nhất và thiết bị đo tác động ngứa, hoặc bằng cách kiểm tra các dấu hiệu bệnh lý trên các mô da, máu ngoại vi, hoặc tủy sống. Hiệu quả đối với bệnh

ngừa được đánh giá bằng cách so sánh các kết quả thu được giữa nhóm kháng thể kháng Orai1 và nhóm không cho dùng.

Về hiệu quả đối với bệnh vẩy nến, imiquimod được cho tác động lên cả hai mặt hoặc một mặt của tai ngoài và phần lưng được cạo, hoặc huyền phù zymosan được cho dùng trong màng bụng, hoặc xytokin như là IL-23 được cho dùng trong da cho một mặt của tai ngoài của chuột nhắt. Bệnh viêm da vẩy nến được kích ứng bởi phương pháp như vậy được định lượng bởi sự kiểm tra trọng lượng và độ dày của khu vực viêm, hoạt tính myeloperoxidaza của các bạch cầu trung tính thâm nhập vào khu vực mào, phân tích đo tế bào theo dòng chảy của các tế bào được thâm nhập, phân tích gen, đo nồng độ xytokin, v.v.. Hiệu quả đối với bệnh vẩy nến được đánh giá bằng cách so sánh các kết quả thu được giữa nhóm kháng thể kháng Orai1 và nhóm không cho dùng.

Về hiệu quả đối với bệnh đa xơ cứng, dung dịch myelin oligodendrocyte glycoprotein hoặc kháng nguyên peptit một phần của nó được nhũ hóa bằng cách trộn với dung dịch nước của tá chất phức Freund với các lượng bằng nhau. Nhũ tương này được cho dùng trong da cho vùng sườn hoặc ở bụng của chuột nhắt. Sau đó, dung dịch nước độc tố gây ho gà được cho dùng ở tĩnh mạch đuôi. Sau vài ngày, dung dịch độc tố gây ho gà được cho dùng thêm lần nữa ở tĩnh mạch đuôi để kích ứng viêm não tủy thực nghiệm. Các triệu chứng liệt phát triển sau 1 tuần đến 2 tuần trong thực nghiệm và mở rộng từ đuôi đến các chân dưới và các chi trước được tính điểm bằng quan sát nhìn bằng mắt. Hiệu quả đối với bệnh đa xơ cứng được đánh giá bằng cách so sánh các kết quả thu được giữa nhóm kháng thể kháng Orai1 và nhóm không cho dùng.

Về hiệu quả đối với viêm khớp, nhũ tương thu được bằng cách trộn collagen typ II ở bò và tá chất phức Freund được cho dùng trong da ở gốc đuôi của chuột nhắt. Sau 2 đến 3 tuần, cách cho dùng tương tự như ở trên được thực hiện. Sau đó, hiệu quả đối với viêm khớp được đánh giá bằng cách so sánh điểm số của việc sưng khớp, các nồng độ của kháng thể, các xytokin, hoặc các chỉ thị sinh học huyết thanh trong máu hoặc các mô, hoạt tính sinh trưởng, khả năng sản sinh xytokin, hoặc các kháng nguyên bề mặt của các tế bào thu được từ da,

máu ngoại vi, tuyến ức, lá lách, hạch bạch huyết, hoặc tủy xương, v.v. giữa nhóm kháng thể kháng Orai1 và nhóm không cho dùng.

Về hiệu quả đối với viêm kết tràng, axit trinitrobenzensulfonic được cho dùng trong đường ruột của chuột nhắt được cho nhịn ăn trong 24 giờ, hoặc chuột nhắt được cho uống tùy thích dung dịch nước chứa 1 đến 10% natri dextran sulfat từ chai cấp nước trong 4 ngày đến 2 tuần, hoặc các tế bào T CD4+CD25-CD45RBhi được thu gom và được tinh chế từ hạch bạch huyết và lá lách của chuột nhắt biểu hiện gen nhập Orai1 ở người được cấy ghép trong màng bụng vào chuột nhắt Rag2-/- . Hiệu quả đối với viêm kết tràng được kích ứng bởi phương pháp như vậy được đánh giá bằng cách so sánh trọng lượng cơ thể trong suốt thời gian theo dõi, mức độ dày lên của đường ruột, số lượng và kích thước của các polyp, và các dấu hiệu bệnh lý được kiểm tra bằng mổ khám nghiệm sau khi hoàn thành thử nghiệm, các nồng độ của kháng thể, các xytokin, hoặc các chỉ thị sinh học huyết thanh trong máu hoặc các mô, hoạt tính sinh trưởng, khả năng sản sinh xytokin, hoặc các kháng nguyên bề mặt của các tế bào thu được từ đường ruột, máu ngoại vi, tuyến ức, lá lách, hạch bạch huyết, hoặc tủy xương, v.v. giữa nhóm kháng thể kháng Orai1 và nhóm không cho dùng.

Về hiệu quả đối với luput ban đỏ toàn thân, albumin trứng hoặc kháng nguyên không kích thích được cho dùng trong màng bụng hoặc dưới da tối đa 15 lần trong các khoảng thời gian 5 đến 10 ngày để kích ứng các triệu chứng tương tự luput ban đỏ toàn thân. Hiệu quả đối với luput ban đỏ toàn thân được đánh giá bằng cách so sánh các nồng độ của kháng thể, các xytokin, hoặc các chỉ thị sinh học huyết thanh trong máu hoặc các mô được thu gom theo thời gian trong giai đoạn theo dõi, chuẩn độ kháng thể hoặc nồng độ chỉ thị sinh học trong nước tiểu, các triệu chứng được kích ứng trong chuột nhắt chưa được xử lý bằng cấy ghép các tế bào được tạo ra từ cơ quan như là lá lách hoặc hạch bạch huyết được thu gom sau khi hoàn thành thử nghiệm, v.v., giữa nhóm kháng thể kháng Orai1 và nhóm không cho dùng.

Về hiệu quả đối với viêm gan, D-galactosamin được cho chuột nhắt dùng trong màng bụng một mình hoặc kết hợp với lipopolysacarit, hoặc concanavalin

A được cho dùng trong tĩnh mạch một mình ở đuôi. Hiệu quả đối với viêm gan được kích ứng bởi phương pháp như vậy được đánh giá bằng cách so sánh các nồng độ GOT và GPT trong máu được thu gom 1 giờ đến 1 tuần sau khi cho dùng chất gây bệnh, và các tình trạng mô bệnh học của các tổn thương gan giữa nhóm kháng thể kháng Orai1 và nhóm không cho dùng.

Về hiệu quả đối với tỷ lệ sống của mảnh ghép trong cấy ghép tế bào tủy xương hoặc hiệu quả phòng ngừa đối với bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ, các tế bào bên trong tủy xương được thu gom từ xương đùi hoặc xương chày của chuột nhất biểu hiện gen nhập Orai1 ở người được cấy ghép cho chuột nhất nhận được chiếu tia X một mình hoặc kết hợp với các tế bào lá lách được thu gom từ lá lách của chuột nhất biểu hiện gen nhập Orai1 ở người. Hiệu quả đối với tỷ lệ sống của mảnh ghép hoặc hiệu quả phòng ngừa được đánh giá bằng cách so sánh thay đổi về trọng lượng cơ thể hoặc các tỷ lệ sống trong thời gian 4 đến 16 tuần, các nồng độ của kháng thể, các xytokin, hoặc các chỉ thị sinh học huyết thanh trong máu hoặc các mô ở thời điểm hoàn thành thử nghiệm, và các kháng nguyên bề mặt, hoạt tính sinh trưởng, hoặc khả năng sản sinh xytokin của các tế bào thu được từ đường ruột, máu ngoại vi, tuyến ức, lá lách, hạch bạch huyết, hoặc tủy xương giữa nhóm kháng thể kháng Orai1 và nhóm không cho dùng.

Về hiệu quả đối với tỷ lệ sống của mảnh ghép của cơ quan được cấy ghép, da được thu gom từ gốc đuôi của chuột nhất vật chủ được cố định vào panniculus carnosus (lớp cơ nhẵn dưới tầng mô mỡ dưới da) được để lộ ra bằng cách cắt da ở lưng của chuột nhất biểu hiện gen nhập Orai1 ở người. Kích thước của mảnh cấy ghép và tình trạng ghép vào của nó được tính điểm trong thời gian từ 4 đến 16 tuần sau khi cấy ghép. Hiệu quả đối với tỷ lệ sống của mảnh ghép được đánh giá bằng cách so sánh các kết quả thu được giữa nhóm kháng thể kháng Orai1 và nhóm không cho dùng.

Kháng thể thu được như vậy, mà trung hòa hoạt tính sinh học của Orai1, là hữu ích làm thuốc, cụ thể, là kháng thể dùng để ngăn chặn hoặc điều trị các đào thải cấy ghép, các bệnh liên quan đến miễn dịch, các bệnh dị ứng, các bệnh viêm, chứng huyết khối, hoặc các bệnh ung thư, v.v..

Một ví dụ là, kháng thể kháng Orai1 có thể được cho dùng một mình hoặc kết hợp với ít nhất một tác nhân chữa bệnh bổ sung để điều trị hoặc ngăn chặn các đào thải cấy ghép, các bệnh liên quan đến miễn dịch, các bệnh dị ứng, các bệnh viêm, chứng huyết khối, hoặc các bệnh ung thư. Các ví dụ về tác nhân chữa bệnh bổ sung mà có thể được cho dùng kết hợp với kháng thể kháng Orai1 có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở đó, là các antifolat, các chất ức chế calcineurin, các steroid vỏ thượng thận, các globulin kháng tế bào tuyến ức, các chất chống chuyển hóa axit nucleic, các chất ức chế tổng hợp axit nucleic, các chất sinh học hướng đích các kháng nguyên bề mặt tế bào, và các chất sinh học hướng đích các xytokin hoặc các thụ thể xytokin.

Các ví dụ cụ thể về các tác nhân chữa bệnh này có thể bao gồm: methotrexat như antifolat; cyclosporin và tacrolimus là các chất ức chế calcineurin; methylprednisolon là steroid vỏ thượng thận; cyclophosphamid là chất ức chế tổng hợp axit nucleic; Zetbulin, lymphoglobulin, và thymoglobulin là các globulin kháng tế bào tuyến ức; mycophenolat mofetil là chất chống chuyển hóa axit nucleic; alemtuzumab và rituximab là các chất sinh học hướng đích các kháng nguyên bề mặt tế bào; và infliximab, etanercept, và rituximab là các chất sinh học hướng đích các xytokin hoặc các thụ thể xytokin.

Tùy thuộc vào các tình trạng của các đào thải cấy ghép, các bệnh liên quan đến miễn dịch, các bệnh dị ứng, các bệnh viêm, chứng huyết khối, hoặc các bệnh ung thư hoặc mục đích điều trị và/hoặc phòng ngừa của chúng, 2, 3, hoặc nhiều loại tác nhân chữa bệnh bổ sung có thể được cho dùng, và các tác nhân chữa bệnh bổ sung này có thể được gộp trong cùng chế phẩm và được cho dùng đồng thời. Tác nhân chữa bệnh bổ sung và kháng thể kháng Orai1 có thể được gộp trong cùng chế phẩm và được cho dùng đồng thời. Theo cách khác, kháng thể kháng Orai1 và tác nhân chữa bệnh bổ sung có thể được gộp trong các chế phẩm riêng biệt và được cho dùng đồng thời. Thêm nữa, tác nhân chữa bệnh bổ sung và kháng thể kháng Orai1 có thể được cho dùng riêng biệt theo cách xen kẽ. Cụ thể là, tác nhân chữa bệnh chứa kháng thể kháng Orai1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể là hoạt chất có thể được cho dùng sau khi cho dùng

tác nhân chữa bệnh bổ sung, hoặc tác nhân chữa bệnh bổ sung có thể được cho dùng sau khi cho dùng tác nhân chữa bệnh chứa kháng thể kháng Orai1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể là hoạt chất. Trong trường hợp cho dùng đối với liệu pháp gen, gen của tác nhân chữa bệnh có protein và gen của kháng thể kháng Orai1 có thể được chèn xuôi dòng của các vùng đoạn khởi đầu riêng hoặc cùng vùng đoạn khởi đầu và được đưa vào các vật truyền riêng hoặc cùng vật truyền.

Kháng thể kháng Orai1 hoặc mảnh của nó có thể được tiếp hợp với tác nhân chữa bệnh để tạo ra thể tiếp hợp thuốc hướng đích được mô tả trong tài liệu của M.C. Garnet, "Targeted drug conjugates: principles and progress", *Advanced Drug Delivery Reviews*, (2001) 53, 171-216. Nhằm mục đích này, phân tử kháng thể cũng như bất kỳ mảnh kháng thể nào đều áp dụng được miễn là mảnh kháng thể không hoàn toàn mất đặc tính nhận biết các tế bào T. Các ví dụ về mảnh này có thể bao gồm các mảnh Fab, F(ab')₂, và Fv. Như vậy, kháng thể và mảnh có thể được sử dụng trong sáng chế. Mẫu hình tiếp hợp giữa kháng thể kháng Orai1 hoặc mảnh của kháng thể và tác nhân chữa bệnh có thể là bất kỳ mẫu hình khác nhau nào được mô tả trong tài liệu của M.C. Garnet, "Targeted drug conjugates: principles and progress: principles and progress", *Advanced Drug Delivery Reviews*, (2001) 53, 171-216, G.T. Hermanson, "Bioconjugate Techniques", Academic Press, California (1996), Putnam and J. Kopecek, "Polymer Conjugates with Anticancer Activity", *Advances in Polymer Science* (1995) 122, 55-123, v.v.. Các ví dụ cụ thể về chúng có thể bao gồm mẫu hình trong đó kháng thể kháng Orai1 và tác nhân chữa bệnh được tiếp hợp trực tiếp theo cách hóa học hoặc qua đoạn đệm như là oligopeptit, và mẫu hình trong đó kháng thể kháng Orai1 và tác nhân chữa bệnh được tiếp hợp qua chất mang thuốc thích hợp. Các ví dụ về chất mang thuốc có thể bao gồm các liposom và các polyme tan trong nước. Các ví dụ về mẫu hình như vậy trung gian bởi các chất mang thuốc này cụ thể hơn là có thể bao gồm mẫu hình trong đó kháng thể và tác nhân chữa bệnh được gộp trong liposom bởi sự tiếp hợp của liposom và kháng thể, và mẫu hình trong đó tác nhân chữa bệnh được tiếp hợp với polyme

tan trong nước (hợp chất có trọng lượng phân tử xấp xỉ 1000 đến 100.000) trực tiếp theo cách hóa học hoặc qua đoạn đệm như là oligopeptit trong khi kháng thể được tiếp hợp với polyme tan trong nước. Sự tiếp hợp của kháng thể (hoặc mảnh) với tác nhân chữa bệnh hoặc chất mang thuốc (ví dụ, liposom và polyme tan trong nước) có thể được thực hiện bằng phương pháp đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực, chẳng hạn, phương pháp được mô tả trong tài liệu của G.T. Hermanson, "Bioconjugate Techniques", Academic Press, California (1996), và Putnam and J. Kopecek, "Polymer Conjugates with Anticancer Activity", *Advances in Polymer Science* (1995) 122, 55-123. Việc gộp tác nhân chữa bệnh trong liposom có thể được thực hiện bằng phương pháp đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực, chẳng hạn, phương pháp được mô tả trong tài liệu của D.D. Lasic, "Liposomes: From Physics to Applications", Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam (1993), v.v.. Sự tiếp hợp của tác nhân chữa bệnh với polyme tan trong nước có thể được thực hiện bằng phương pháp đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực, chẳng hạn, phương pháp được mô tả trong tài liệu của D. Putnam và J Kopecek, "Polymer Conjugates with Anticancer Activity", *Advances in Polymer Science* (1995) 122, 55-123. Thể tiếp hợp của kháng thể (hoặc mảnh) và tác nhân chữa bệnh có protein (hoặc mảnh) có thể được tạo ra bằng bất kỳ phương pháp nào trong các phương pháp được mô tả ở trên cũng như các phương pháp kỹ thuật di truyền đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực.

Sáng chế cũng đề xuất được phẩm chứa lượng có hiệu quả chữa bệnh và/hoặc phòng ngừa của kháng thể kháng Orai1 và chất pha loãng, tá dược lỏng, chất làm ổn định, chất nhũ hóa, chất bảo quản, và/hoặc chất phụ gia được dụng.

Sáng chế cũng đề xuất được phẩm chứa lượng có hiệu quả chữa bệnh và/hoặc phòng ngừa của kháng thể kháng Orai1, lượng có hiệu quả chữa bệnh và/hoặc phòng ngừa gồm ít nhất một tác nhân chữa bệnh, và chất pha loãng, tá dược lỏng, chất làm ổn định, chất nhũ hóa, chất bảo quản, và/hoặc chất phụ gia được dụng. Các ví dụ về tác nhân chữa bệnh có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở được nêu ở trên các antifolate, các chất ức chế calcineurin, các steroid vỏ

thượng thận, các globulin kháng tế bào tuyến ức, các chất chống chuyển hóa axit nucleic, các chất ức chế tổng hợp axit nucleic, các chất sinh học hướng đích các kháng nguyên bề mặt tế bào, và các chất sinh học hướng đích các xytokin hoặc các thụ thể xytokin.

Ưu tiên là chất được dùng được sử dụng trong dược phẩm của sáng chế là không độc đối với chủ thể nhận dược phẩm, ưu tiên là xét về liều lượng hoặc nồng độ được cho dùng.

Dược phẩm của sáng chế có thể chứa các vật liệu dược dùng để thay đổi hoặc duy trì độ pH, áp suất thẩm thấu, độ nhớt, độ trong, màu sắc, tính đẳng trương, tính vô khuẩn, tính ổn định, tính hòa tan, giải phóng chậm, khả năng hấp thụ, hoặc khả năng thấm. Các ví dụ về các vật liệu dược có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở đó, dưới đây: các axit amin như là glyxin, alanin, glutamin, asparagin, arginin, và lysin; các tác nhân kháng khuẩn; các chất chống oxy hóa như là axit ascorbic, natri sulfat, và natri bisulfit; các chất đệm như là phosphat, xitrat, hoặc các chất đệm borat, natri bicarbonat, và các dung dịch Tris-HCl; các chất độn như là mannitol và glyxin; các tác nhân chelat như là axit etylenđiamintetraaxetic (EDTA); các tác nhân phức hợp như là cafein, polyvinylpyrolidin, β -xyclodextrin, và hydroxypropyl- β -xyclodextrin; các tác nhân tạo khối như là glucoza, mannoza, và dextrin; các carbohydrat khác như là các monosacarit và các disacarit; các tác nhân tạo màu; các chất cải biến; các chất pha loãng; các chất nhũ hóa; các polyme hút nước như là polyvinylpyrolidin; các polypeptit trọng lượng phân tử thấp; các ion đối tạo muối; các chất sát trùng như là benzalkoni clorua, axit benzoic, axit salixylic, thimerosal, rượu phenetyl, metylparaben, propylparaben, chlorhexidin, axit sorbic, và hydro peroxit; các dung môi như là glyxerin, propylen glycol, và polyetylen glycol; các rượu đường như là mannitol và sorbitol; các tác nhân tạo huyền phù; các chất hoạt động bề mặt như là sorbitan este, các polysorbat như là polysorbat 20 và polysorbat 80, triton, trometamin, lexithin, và cholesterol; các chất tăng cường tính ổn định như là sucroza và sorbitol; các chất tăng cường tính dẻo như là natri clorua, kali clorua, mannitol, và sorbitol; các tác nhân vận

chuyển; các tá dược; và/hoặc các chất phụ gia dược phẩm. Lượng của các vật liệu dược này được bổ sung ưu tiên là 0,01 đến 100 lần, cụ thể, 0,1 đến 10 lần trọng lượng của kháng thể kháng Orai1. Công thức phù hợp cho dược phẩm trong chế phẩm có thể được xác định thích hợp bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực theo bệnh được áp dụng, đường cho dùng được áp dụng, v.v..

Tá dược hoặc tá dược lỏng trong dược phẩm có thể là chất lỏng hoặc chất rắn. Các tá dược hoặc các tá dược lỏng thích hợp có thể là các nguyên liệu khác thường được sử dụng trong nước tiêm dược, nước muối sinh lý, các dịch não tủy nhân tạo, và cho dùng ngoài ruột. Nước muối sinh lý hoặc nước muối sinh lý chứa albumin huyết thanh trung tính có thể được sử dụng làm tá dược lỏng. Dược phẩm có thể chứa chất đệm Tris có độ pH 7,0 đến 8,5, chất đệm axetat có độ pH 4,0 đến 5,5, hoặc chất đệm xitrat có độ pH 3,0 đến 6,2. Các chất đệm này có thể cũng chứa sorbitol hoặc các hợp chất khác. Các ví dụ về dược phẩm của sáng chế có thể bao gồm dược phẩm chứa kháng thể kháng Orai1, và dược phẩm chứa kháng thể kháng Orai1 và ít nhất một tác nhân chữa bệnh. Dược phẩm của sáng chế được tạo ra dưới dạng sản phẩm khô lạnh hoặc chất lỏng làm thuốc có công thức được lựa chọn và độ tinh khiết cần thiết. Dược phẩm chứa kháng thể kháng Orai1, hoặc dược phẩm chứa kháng thể kháng Orai1 và ít nhất một tác nhân chữa bệnh có thể cũng được tạo ra là sản phẩm khô lạnh sử dụng tá dược thích hợp như là sucroza.

Dược phẩm của sáng chế có thể được tạo ra để cho dùng ngoài ruột hoặc có thể được tạo ra để hấp thụ trong đường tiêu hóa qua đường miệng. Công thức và nồng độ của chế phẩm có thể được xác định theo phương pháp cho dùng. Ái lực của kháng thể kháng Orai1 có trong dược phẩm của sáng chế đối với Orai1 cao hơn, tức là, hằng số phân ly thấp hơn (giá trị K_d) đối với Orai1, thì liều lượng của kháng thể kháng Orai1 mà có thể thể hiện hiệu lực ở người là thấp hơn. Do đó, liều lượng dược phẩm của sáng chế đối với người có thể cũng được xác định trên cơ sở kết quả này. Liều lượng để cho dùng kháng thể kháng Orai1 kiểu ở người cho người là xấp xỉ 0,1 đến 100mg/kg, mà có thể được cho dùng một lần trên mỗi 1 đến 180 ngày.

Các ví dụ về dạng của dược phẩm của sáng chế có thể bao gồm dạng tiêm truyền bao gồm truyền nhỏ giọt trong tĩnh mạch, các thuốc đạn, các dạng bào chế qua mũi, các dạng bào chế dùng dưới lưỡi, và các dạng bào chế hấp thụ qua da.

Mặc dù các dạng bào chế kháng thể được chấp nhận nhất là được cho dùng trong tĩnh mạch, sự cho dùng dưới da thường được ưu tiên hơn trong thực tế y khoa. Trong trường hợp như vậy, thể tích được giới hạn ở 1,0 đến 1,5mL. Do đó, dung dịch kháng thể có nồng độ cao cần phụ thuộc vào liều lượng. Tuy nhiên, vì nồng độ cao hơn làm tăng độ nhớt của dung dịch thuốc, nên có thể có tình huống trong đó dung dịch thuốc không được tiêm bằng cách sử dụng kim tiêm có độ dày thường được sử dụng, do độ nhớt cao của nó. Tóm lại, trong trường hợp lựa chọn dịch tiêm truyền là dạng dược phẩm, thì độ nhớt thấp là đặc tính quan trọng mà nên được đặt ra với ưu tiên cao nhất. Như vậy, kháng thể thích hợp có thể được lựa chọn với độ nhớt là chỉ số.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Dưới đây, sáng chế sẽ được mô tả cụ thể dựa vào các ví dụ. Tuy nhiên, sáng chế không bị giới hạn bởi các ví dụ này. Mỗi cách thức liên quan đến kỹ thuật gen trong các ví dụ dưới đây được thực hiện theo các phương pháp được mô tả trong tài liệu “Molecular Cloning” (Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989), hoặc sử dụng các chất phản ứng hoặc các kit có bán trên thị trường theo các tài liệu hướng dẫn của các sản phẩm thương mại, trừ phi được nêu cụ thể theo cách khác.

Ví dụ 1: Tạo kháng thể kháng Orai1 ở người của chuột

1)-1 Tạo miễn dịch

1)-1-1 Xây dựng vật truyền biểu hiện Orai1 ở người (pcDNA3.1-hOrai1)

Dòng ORF cơ bản (Clone No. IOH40869, Life Technologies Corp.) được tách dòng trong pDONR221 (Life Technologies Corp.) được thu và được sử dụng làm trình tự gen của Orai1 ở người. Trình tự gen được thể hiện trong SEQ ID NO: 1 của danh mục trình tự, và trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 2 của danh mục trình tự. Đồng thời, pcDNA3.1(+) được cải biến thành

vật truyền đích bằng Gateway Vector Conversion System (Life Technologies Corp.) để tạo ra pcDNA3.1-DEST. Trình tự gen được tái kết hợp với pcDNA3.1-DEST trong trình tự att sử dụng hỗn hợp Gateway LR Clonase Enzyme (Life Technologies Corp.) để tạo ra vật truyền biểu hiện Orai1 ở người pcDNA3.1-hOrai1. Bộ kit EndoFree Plasmid Giga (Qiagen N.V.) được sử dụng khi tạo ra ở quy mô lớn vật truyền biểu hiện Orai1 ở người.

1)-1-2 Tạo miễn dịch ở chuột

Các con chuột cái WKY/Izm (Japan SLC, Inc.) được sử dụng trong tạo miễn dịch. Đầu tiên, cả hai chân dưới của mỗi con chuột được xử lý sơ bộ với hyaluronidaza (Sigma-Aldrich Corp.), và sau đó, pcDNA3.1-hOrai1 được tiêm trong cơ vào các khu vực này. Sau đó, sự mở lỗ bằng điện *in vivo* được thực hiện ở các khu vực này sử dụng ECM830 (BTX) và điện cực hai kim. Sau khi lặp lại mở lỗ bằng điện *in vivo* tương tự một lần mỗi hai tuần, hạch bạch huyết của chuột được thu gom và được sử dụng trong tạo ra tế bào lai.

1)-2 Tạo ra tế bào lai

Các tế bào hạch bạch huyết được dung hợp điện với các tế bào SP2/0-ag14 u tủy chuột nhắt sử dụng Hybrimmune Hybridoma Production System (Cyto Pulse Sciences Inc.). Các tế bào được dung hợp được pha loãng bằng môi trường lựa chọn ClonaCell-HY D (StemCell Technologies Inc.) và được nuôi cấy. Các khuẩn lạc tế bào lai xuất hiện được thu hồi để tạo ra các tế bào lai đơn dòng. Mỗi khuẩn lạc tế bào lai được thu hồi được nuôi cấy, và phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy tế bào lai thu được được sử dụng để sàng lọc đối với tế bào lai sản sinh kháng thể kháng Orai1 ở người.

1)-3 Sàng lọc sơ cấp bằng Cell-ELISA

1)-3-1 Tạo ra tế bào biểu hiện gen kháng nguyên đối với Cell-ELISA

Các tế bào HEK293 được tạo ra ở $7,5 \times 10^5$ tế bào/mL trong môi trường DMEM chứa FBS 10%. Các tế bào được chuyển nhiễm với pcDNA3.1-hOrai1 hoặc pcDNA3.1-DEST là đối chứng theo các cách thức chuyển nhiễm sử dụng Lipofectamine 2000, được phân phối ở 50 μ L/lỗ vào đĩa 96 lỗ (Corning Inc.), và được nuôi cấy ở 37°C trong hai đêm ở điều kiện CO₂ 5% trong môi trường

DMEM chứa FBS 10%. Các tế bào được chuyển nhiễm thu được được sử dụng theo hướng dẫn kèm theo trong Cell-ELISA.

1)-3-2 Cell-ELISA

Sau khi loại bỏ phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy khỏi các tế bào HEK293 được chuyển nhiễm với vật truyền biểu hiện được tạo ra trong ví dụ 1)-1-1, mỗi phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy tế bào lai được bổ sung vào các tế bào HEK293 được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 hoặc pcDNA3.1-DEST và đĩa được ủ ở 4°C trong 1 giờ. Các tế bào trong các lỗ được rửa một lần bằng PBS chứa 5% FBS. Sau đó, kháng thể kháng IgG-Peroxidaza ở chuột sinh ra ở thỏ (Sigma-Aldrich Corp.) được pha loãng 500 lần bằng PBS chứa 5% FBS được bổ sung vào đó, và đĩa được ủ ở 4°C trong 1 giờ. Các tế bào trong các lỗ được rửa 6 lần bằng PBS chứa 5% FBS. Sau đó, dung dịch tạo sắc tố OPD (dung dịch OPD (o-phenylendiamin dihydroclorua (Wako Pure Chemicals Industries, Ltd.) và H₂O₂ được hòa tan tương ứng ở các nồng độ 0,4 mg/mL và 0,6% (thể tích/thể tích), trong trinitrat 0,05M và dinatri hydro phosphat dodecahydrat 0,1M, pH 4,5)) được bổ sung vào đó ở 25µL/lỗ. Phản ứng tạo màu được thực hiện có khuấy không thường xuyên và dừng lại bằng việc bổ sung HCl 1M ở 25 µL/lỗ. Sau đó, hệ số hấp thụ được đo ở 490 nm sử dụng thiết bị đọc đĩa (ENVISION; PerkinElmer, Inc.). Để lựa chọn tế bào lai sản sinh kháng thể liên kết đặc hiệu với Orai1 ở người được biểu hiện trên bề mặt màng tế bào, các tế bào lai được thu phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy thể hiện hệ số hấp thụ cao hơn đối với các tế bào HEK293 được chuyển nhiễm vật truyền biểu hiện pcDNA3.1-hOrai1 được so sánh với các tế bào HEK293 được chuyển nhiễm pcDNA3.1-DEST đối chứng được lựa chọn làm các tế bào lai dương tính kháng thể kháng Orai1 ở người.

1)-4 Sàng lọc thứ cấp sàng bằng đo tế bào theo dòng chảy

1)-4-1 Tạo tế bào biểu hiện gen kháng nguyên để phân tích tế bào theo dòng chảy

Các tế bào HEK293T được ủ ở 5×10^4 tế bào/cm² vào bình thể tích 225cm² và được nuôi cấy qua đêm ở 37°C ở điều kiện CO₂ 5% trong môi trường DMEM

chứa FBS 10%. Vào ngày tiếp theo, các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm với pcDNA3.1-hOrai1 hoặc pcDNA3.1-DEST là đối chứng sử dụng Lipofectamine 2000 và được nuôi cấy thêm ở 37°C trong hai đêm ở điều kiện CO₂ 5%. Vào ngày tiếp theo, các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm vật truyền biểu hiện được xử lý với TrypLE Express (Life Technologies Corp.), được rửa bằng DMEM chứa FBS 10%, và sau đó được tạo huyền phù trong PBS chứa 5% FBS. Huyền phù tế bào thu được được sử dụng trong phân tích đo tế bào theo dòng chảy.

1)-4-2 Phân tích đo tế bào theo dòng chảy

Tính đặc hiệu liên kết Orai1 ở người của kháng thể được sinh ra bởi mỗi tế bào lai đã được khẳng định là dương tính bởi Cell-ELISA trong ví dụ 1)-3 còn được khẳng định bằng đo tế bào theo dòng chảy. Mỗi huyền phù tế bào HEK293T được tạo ra trong ví dụ 1)-4-1 được ly tâm để loại bỏ phần nổi trên mặt. Sau đó, các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-DEST hoặc các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 được tạo huyền phù bằng sự bổ sung phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy tế bào lai và được ủ ở 4°C trong 1 giờ. Các tế bào được rửa một lần bằng PBS chứa 5% FBS, sau đó được tạo huyền phù bằng cách bổ sung thể tiếp hợp FITC kháng IgG ở chuột (Sigma-Aldrich Corp.) được pha loãng 500 lần bằng PBS chứa 5% FBS, và để nguyên ở 4°C trong 1 giờ. Các tế bào được rửa 3 lần bằng PBS chứa 5% FBS và sau đó được tạo lại huyền phù trong PBS chứa 5% FBS và 2µg/mL 7-aminoactinomycin D (Molecular Probes, Inc.), tiếp theo là phát hiện sử dụng đo tế bào theo dòng chảy (FC500; Beckman Coulter Inc.). Dữ liệu được phân tích sử dụng Flowjo (Tree Star Inc.). Sau khi loại trừ các tế bào chết dương tính với 7-aminoactinomycin D bằng cách gạn, cường độ huỳnh quang FITC của các tế bào sống được vẽ là biểu đồ. Các tế bào lai mà được thu mẫu thể hiện dịch chuyển tới cường độ huỳnh quang mạnh hơn trong biểu đồ của các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 được so sánh với biểu đồ cường độ huỳnh quang của các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-DEST đối chứng thu được là các tế bào lai sản sinh kháng thể kháng

Orai1 ở người. Kết quả là, 225 tế bào lai thể hiện sự dịch chuyển đáng kể thu được.

1)-5 Tạo isotyp của kháng thể

Các kháng thể R118 và R198, mà được đề xuất liên kết mạnh với Orai1 ở người, được lựa chọn trong số các kháng thể kháng Orai1 ở người của chuột được sản sinh bởi các tế bào lai thu được trong mục 1)-4, và được tạo isotyp. Các isotyp của chúng được xác định sử dụng bộ kit thử nghiệm tạo isotyp đơn dòng ở chuột (AbD Serotec). Kết quả là, các isotyp của các kháng thể đơn dòng kháng Orai1 ở người của chuột R118 và R198 cả hai được phát hiện là các chuỗi IgG2a và κ .

1)-6 Tạo ra kháng thể kháng Orai1 ở người của chuột

Mỗi kháng thể đơn dòng kháng Orai1 ở người của chuột được tinh chế từ phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy tế bào lai.

Trước tiên, tế bào lai sản sinh R118 hoặc R198 được cho sinh trưởng tới lượng phù hợp với môi trường lựa chọn ClonaCell-HY E. Sau đó, môi trường này được thay thế bằng Hybridoma SFM (Life Technologies Corp.) được bổ sung với Ultra Low IgG FBS (Life Technologies Corp.) với lượng 20%, tiếp theo là nuôi cấy trong 5 ngày. Phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy được thu gom và được tiệt trùng nhờ bộ lọc cỡ 0,45 μ m.

Kháng thể được tinh chế từ phần nổi trên mặt tế bào lai bằng sắc ký ái lực protein G (ở 4 đến 6°C) trong một bước. Bước thay thế chất đệm sau khi tinh chế bằng sắc ký ái lực protein G được thực hiện ở 4 đến 6°C. Đầu tiên, phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy tế bào lai được cấp vào cột được nạp protein G (GE Healthcare Bio-Sciences Corp.) được làm cân bằng bằng PBS. Sau khi đưa toàn bộ phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy vào cột, cột được rửa bằng PBS với lượng 2 lần thể tích cột hoặc nhiều hơn. Tiếp theo, các phân đoạn chứa kháng thể được thu gom bằng rửa giải với dung dịch nước glyxin hydroclorua 0,1M (pH 2,7). Các phân đoạn được thu gom được tạo ra ở pH 7,0 đến 7,5 bằng bổ sung Tris-HCl 1M (pH 9,0) và sau đó chất đệm được thay thế bằng PBS sử dụng thiết bị lọc UF ly tâm VIVASPIN 20 (chặn theo trọng lượng phân tử:

UF30K, Sartorius Japan K.K., 4 đến 6°C) trong khi được được cô thành nồng độ kháng thể là 0,2 mg/mL hoặc cao hơn. Cuối cùng, dung dịch kháng thể được lọc qua bộ lọc Minisart-Plus (Sartorius Japan K.K.) và được sử dụng làm mẫu được tinh chế.

Ví dụ 2: Đánh giá *In vitro* về kháng thể kháng Orai1 ở người của chuột

2)-1 Đánh giá về khả năng của kháng thể kháng Orai1 ở người của chuột liên kết bởi đo tế bào theo dòng chảy

Để đánh giá tính đặc hiệu liên kết Orai1, huyền phù tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-DEST hoặc huyền phù tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 được tạo ra bằng phương pháp được thể hiện trong mục 1)-4-1 được ly tâm để loại bỏ phần nổi trên mặt. Sau đó, các tế bào HEK293T được tạo huyền phù bằng sự bổ sung kháng thể đơn dòng kháng Orai1 ở người của chuột R118 hoặc R198 được tạo ra trong mục 1)-6 hoặc kháng thể đối chứng IgG ở chuột (Beckman Coulter Inc.), và được ủ ở 4°C trong 30 phút. Các tế bào được rửa hai lần bằng PBS chứa 5% FBS, sau đó được tạo huyền phù bằng bổ sung thể tiếp hợp FITC kháng IgG ở chuột được pha loãng 320 lần bằng PBS chứa 5% FBS, và được ủ ở 4°C trong 30 phút. Các tế bào được rửa hai lần bằng PBS chứa 5% FBS và sau đó được tạo lại huyền phù trong PBS chứa 5% FBS và 1µg/mL propidium iodua (Life Technologies Corp.), tiếp theo là phát hiện sử dụng đo tế bào theo dòng chảy (FC500). Dữ liệu được phân tích sử dụng Flowjo. Sau khi loại trừ các tế bào chết dương tính với propidium iodua bằng cách gạn, cường độ huỳnh quang FITC của các tế bào sống được vẽ là biểu đồ để tính toán cường độ huỳnh quang trung bình (MFI). R118 và R198 không liên kết với các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-DEST và, như được thể hiện trên Fig.1, mỗi loại chỉ liên kết với các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 theo cách phụ thuộc nồng độ, chứng minh rằng các kháng thể này mỗi loại liên kết đặc hiệu với Orai1 ở người. Mặt khác, liên kết như vậy không được quan sát trong kháng thể đối chứng IgG ở chuột.

2)-2 Hiệu quả ức chế sự hoạt hóa tế bào T của kháng thể kháng Orai1 ở người của chuột

Các tế bào Jurkat dòng tế bào T ở người được tạo ra ở nồng độ $1,5 \times 10^6$ tế bào/mL trong VÒNG/PHÚT1640 (Life Technologies Corp.) chứa FBS 10%, penixilin 100U/mL, và streptomycin 100 μ g/mL (Life Technologies Corp.), được ủ ở 80 μ L/lỗ cho đĩa nuôi cấy tế bào 96 lỗ, và được xử lý sơ bộ với kháng thể đơn dòng kháng Orai1 ở người của chuột R118 hoặc R198 hoặc kháng thể đối chứng IgG ở chuột được bổ sung ở 10 μ L/lỗ ở 37°C trong 60 phút ở điều kiện CO₂ 5%. Sau đó, PMA 100ng/mL (Sigma-Aldrich Corp.) và A23187 1 μ g/mL (Sigma-Aldrich Corp.) được bổ sung ở 10 μ L/lỗ (nồng độ cuối: PMA 10ng/mL và A23187 100ng/mL) và được khuấy kỹ, tiếp theo là nuôi cấy ở 37°C trong xấp xỉ 16 giờ ở điều kiện CO₂ 5%. Đĩa được khuấy kỹ và sau đó được ly tâm ở 600g trong 3 phút. Nồng độ interleukin-2 (IL-2) có trong phần nổi trên mặt được đo bằng ELISA (R&D systems, Inc.). Fig.2 thể hiện rằng các kháng thể đơn dòng kháng Orai1 ở người của chuột thu được mỗi loại ức chế, theo cách phụ thuộc nồng độ, sự giải phóng IL-2 từ các tế bào Jurkat được xử lý với PMA và A23187. R118 và R198 mỗi loại ức chế sự giải phóng IL-2 từ các tế bào Jurkat theo cách phụ thuộc nồng độ. Mặt khác, sự ức chế như vậy không quan sát thấy trong kháng thể đối chứng IgG ở chuột.

Ví dụ 3: Xác định các trình tự nucleotit của các ADN bổ trợ mã hóa các vùng biến đổi của kháng thể kháng Orai1 ở người của chuột

3)-1 Tổng hợp ADN bổ trợ

Dịch tan tế bào (Tris-HCl 50mM (pH 7,5), LiCl 250mM, EDTA 5mM (pH 8), lithi dodexyl sulfat 0,5% (LiDS), dithiothreitol 2,5mM (DTT)) của tế bào lai sản sinh mỗi kháng thể R118 hoặc R198 được trộn với các hạt từ tính (Dynabeads mRNA DIRECT Kit, Invitrogen Corp.) được liên kết với oligo dT25 sao cho ARN thông tin liên kết với các hạt từ tính. Tiếp theo, các hạt từ tính được rửa một lần mỗi hạt bằng dung dịch rửa ARN thông tin A (Tris-HCl 10mM (pH 7,5), LiCl 0,15M, EDTA 1mM, LiDS 0,1%, Triton X-100 0,1%) và dung dịch dùng để tổng hợp ADN bổ trợ (Tris-HCl 50mM (pH 8,3), KCl 75mM,

MgCl₂ 3mM, DTT 5mM, dNTP 0,5mM, Triton X-100 0,2%, 1,2 đơn vị của chất ức chế RNaza (Life Technologies Corp.)), tiếp theo là tổng hợp ADN bổ trợ sử dụng dung dịch dùng để tổng hợp ADN bổ trợ được bổ sung 12 đơn vị SuperScript III Reverse Transcriptase (Life Technologies Corp.). Sau đó, các hạt từ tính được rửa bằng dung dịch phản ứng đuôi 3' (kali phosphat 50mM, MgCl₂ 4mM, dGTP 0,5mM, Triton X-100 0,2%, 1,2 đơn vị chất ức chế RNaza (Life Technologies Corp.)), tiếp theo là phản ứng đuôi 3' sử dụng dung dịch phản ứng được bổ sung 48 đơn vị Terminal Transferase, thể tái tổ hợp (F. Hoffmann-La Roche, Ltd.).

3)-2 Khuếch đại và xác định trình tự của các mảnh gen vùng biến đổi chuỗi nặng và nhẹ globulin miễn dịch ở chuột

Các hạt từ tính được rửa bằng dung dịch TE (Tris-HCl 10mM (pH 7,5), EDTA 1mM, Triton X-100 0,1%), và sau đó các gen chuỗi nặng và nhẹ globulin miễn dịch ở chuột được khuếch đại bởi 5'-RACE PCR. Cụ thể là, các hạt từ tính được chuyển tới dung dịch phản ứng PCR (đoạn mồi 0,2μM, dNTP 0,2mM, 0,25 đơn vị của PrimeSTAR HS DNA Polymerase (Takara Bio Inc.)) và được đưa đi 35 chu kỳ phản ứng mỗi chu kỳ phản ứng gồm 94°C trong 30 giây-68°C trong 90 giây. Các tập hợp đoạn mồi được sử dụng là như sau:

Tập hợp đoạn mồi PCR (đối với chuỗi nặng)

5'-GCTAGCGCTACCGGACTCAGATCCCCCCCCCCCCCDN-3' (Nhe-polyC-S) (SEQ ID NO: 3)

5'-TCACTGAGCTGGTGAGAGTGTAGAGCCC-3' (rIgy-AS1) (SEQ ID NO: 4)

5'-TCACCGAGCTGCTGAGGGTGTAGAGCCC-3' (rIgy-AS2) (SEQ ID NO: 5)

Tập hợp đoạn mồi PCR (đối với chuỗi nhẹ)

5'-GCTAGCGCTACCGGACTCAGATCCCCCCCCCCCCCDN-3' (Nhe-polyC-S) (SEQ ID NO: 6) (tương tự như đối với chuỗi nặng)

5'-TCAGTAACACTGTCCAGGACACCATCTC-3' (rIgk-AS) (SEQ ID NO: 7)

Các mảnh được khuếch đại bởi phản ứng PCR được xác định trình tự để phân tích các trình tự nucleotit của chúng. Oligonucleotit có trình tự nucleotit là 5'-CTGGCTCAGGGAAATAGCC-3' (rIgy-seq) (SEQ ID NO: 8) được sử dụng làm đoạn mồi xác định trình tự cho chuỗi nặng, và oligonucleotit có trình tự nucleotit là 5'-TCCAGTTGCTAACTGTTCC-3' (rIgk-seq) (SEQ ID NO: 9) được sử dụng là đoạn mồi xác định trình tự cho chuỗi nhẹ.

Phân tích xác định trình tự được thực hiện sử dụng thiết bị phân tích trình tự gen (“ABI PRISM 3700 DNA Analyzer; Applied Biosystems, Inc.” hoặc “Applied Biosystems 3730xl Analyzer; Applied Biosystems, Inc.”). Hệ thống xác định trình tự chu kỳ đầu cuối nhuộm màu (Terminator Cycle Sequencing System) với polymeraza AmpliTaq DNA (Life Technologies Corp.) và GeneAmp 9700 (Applied Biosystems, Inc.) được sử dụng trong phản ứng xác định trình tự.

Các trình tự nucleotit được xác định mã hóa các vùng biến đổi chuỗi nặng và nhẹ của R118 và R198 được thể hiện tương ứng trong các SEQ ID NO: 10 (chuỗi nhẹ R118) và 12 (chuỗi nặng R118) và các SEQ ID NO: 14 (chuỗi nhẹ R198) và 16 (chuỗi nặng R198), của danh mục trình tự. Các trình tự axit amin của các vùng biến đổi được thể hiện tương ứng trong các SEQ ID NO: 11 (chuỗi nhẹ R118) và 13 (chuỗi nặng R118) và các SEQ ID NO: 15 (chuỗi nhẹ R198) và 17 (chuỗi nặng R198), của danh mục trình tự. Các SEQ ID NO: 10 và 11 được thể hiện trên Fig.14. Các SEQ ID NO: 12 và 13 được thể hiện trên Fig.15. Các SEQ ID NO: 14 và 15 được thể hiện trên Fig.16. Các SEQ ID NO: 16 và 17 được thể hiện trên Fig.17.

Ví dụ 4: Tạo ra kháng thể kháng Orai1 ở người được khám của người

4)-1 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ được khám và được nhân hóa pCMA-LK

Mảnh xấp xỉ 5,4kb thu được bằng cách cắt plasmit pcDNA3.3-TOPO/LacZ (Life Technologies Corp.) bằng các enzym giới hạn XbaI và PmeI được gắn với mảnh ADN (được thể hiện trong SEQ ID NO: 18 của danh mục trình tự) gồm trình tự mã hóa tín hiệu tiết chuỗi κ ở người và vùng hằng định

chuỗi κ ở người sử dụng kit tách dòng In-Fusion Advantage PCR (Clontech Laboratories, Inc.) để tạo ra pcDNA3.3/LK.

pcDNA3.3/LK được sử dụng làm khuôn mẫu trong PCR sử dụng tập hợp đoạn môi được đưa ra dưới đây. Mảnh thu được là xấp xỉ 3,8kb được phosphoryl hóa và sau đó được tự gắn để xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể được khám và được nhân hóa pCMA-LK có trình tự tín hiệu, vị trí tách dòng, và sau trình tự mã hóa vùng hằng định chuỗi κ ở người của đoạn khởi đầu CMV.

Tập hợp đoạn môi

5'-TATACCGTCGACCTCTAGCTAGAGCTTGGC-3' (SEQ ID NO: 19; đoạn môi 3.3-F1)

5'-GCTATGGCAGGGCCTGCCGCCCCGACGTTG-3' (SEQ ID NO: 20; đoạn môi 3.3-R1)

4)-2 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kiểu IgG1 được khám và được nhân hóa pCMA-G1

Mảnh ADN thu được bằng cách cắt pCMA-LK với XbaI và PmeI để loại bỏ trình tự mã hóa tín hiệu tiết chế chuỗi κ và vùng hằng định chuỗi κ ở người được gắn với mảnh ADN (được thể hiện trong SEQ ID NO: 21 của danh mục trình tự) gồm trình tự mã hóa trình tự tín hiệu chuỗi nặng ở người và các axit amin của vùng hằng định IgG1 ở người sử dụng bộ kit tách dòng In-Fusion Advantage PCR để xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kiểu IgG1 kháng thể khám và được nhân hóa pCMA-G1 có trình tự tín hiệu, khu vực tách dòng, và xuôi dòng trình tự mã hóa vùng hằng định chuỗi nặng IgG1 ở người của đoạn khởi đầu CMV.

4)-3 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể kháng Orai1 ở người được khám của người

4)-3-1 Xây dựng vật truyền biểu hiện cR118_L chuỗi nhẹ R118 được khám ở người

Mảnh ADN gồm trình tự mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ R118 thu được trong ví dụ 3)-2 được tổng hợp (GeneArt Artificial Gene Synthesis service).

Mảnh ADN xấp xỉ 0,7kb thu được bằng cách phân cắt mảnh ADN gồm trình tự mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ R118 bằng các enzym giới hạn XbaI và PmeI được chèn vào mảnh ADN có xấp xỉ 3,4kb thu được bằng cách phân cắt vật truyền mục đích chung pCMA-LK để biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể được khám và được nhân hóa với cùng các enzym giới hạn như ở trên sử dụng Ligation High ver.2 (Toyobo Co., Ltd.) để xây dựng vật truyền biểu hiện (cR118_L) chuỗi nhẹ R118 được khám ở người. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA-LK/cR118_L”. Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ cR118 được khám ở người và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ được thể hiện trong các SEQ ID NO: 22 và 23 (Fig.18), tương ứng, của danh mục trình tự.

4)-3-2 Xây dựng vật truyền biểu hiện cR198_L chuỗi nhẹ R198 được khám ở người

Mảnh ADN gồm trình tự mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ R198 thu được trong ví dụ 3)-2 được tổng hợp (GeneArt Artificial Gene Synthesis service). Mảnh ADN xấp xỉ 0,7kb thu được bằng cách phân cắt mảnh ADN gồm trình tự mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ R198 với các enzym giới hạn XbaI và PmeI được chèn vào mảnh ADN có xấp xỉ 3,4kb thu được bằng cách phân cắt vật truyền mục đích chung pCMA-LK để biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể được khám và được nhân hóa với cùng các enzym giới hạn như ở trên sử dụng Ligation High ver.2 (Toyobo Co., Ltd.) để xây dựng vật truyền biểu hiện (cR198_L) chuỗi nhẹ R198 được khám ở người. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA-LK/cR198_L”. Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ cR198 được khám ở người và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ được thể hiện trong các SEQ ID NO: 24 và 25 (Fig.19), tương ứng, của danh mục trình tự.

4)-4 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kháng thể kháng Orai1 ở người được khám của người

4)-4-1 Xây dựng vật truyền biểu hiện cR118_H chuỗi nặng R118 được khám ở người

Mảnh ADN gồm trình tự mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng R118 thu được trong ví dụ 3)-2 được tổng hợp (GeneArt Artificial Gene Synthesis service).

Mảnh ADN xấp xỉ 0,3kb thu được bằng cách phân cắt mảnh ADN gồm trình tự mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng R118 với enzym giới hạn BlnI được chèn vào mảnh ADN xấp xỉ 4,5kb thu được bằng cách phân cắt vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kiểu IgG1 được khảm và được nhân hóa pCMA-G1 với cùng enzym giới hạn như ở trên sử dụng Ligation High ver.2 để xây dựng vật truyền biểu hiện (cR118_H) chuỗi nặng R118 được khảm ở người. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA-G1/cR118_H”. Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng cR118 được khảm ở người và trình tự axit amin của chuỗi nặng được thể hiện tương ứng trong các SEQ ID NO: 26 và 27 (Fig.20), của danh mục trình tự.

4)-4-2 Xây dựng vật truyền biểu hiện cR198_H chuỗi nặng R198 được khảm ở người

Mảnh ADN gồm trình tự mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng R198 thu được trong ví dụ 3)-2 được tổng hợp (GeneArt Artificial Gene Synthesis service). Mảnh ADN xấp xỉ 0,3kb thu được bằng cách phân cắt mảnh ADN gồm trình tự mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng R198 với enzym giới hạn BlnI được chèn vào mảnh ADN xấp xỉ 4,5kb thu được bằng cách phân cắt vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kiểu IgG1 được khảm và được nhân hóa pCMA-G1 với cùng enzym giới hạn như ở trên sử dụng Ligation High ver.2 để xây dựng vật truyền biểu hiện (cR198_H) chuỗi nặng R198 được khảm ở người. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA-G1/cR198_H”. Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng cR198 được khảm ở người và trình tự axit amin của chuỗi nặng được thể hiện tương ứng trong các SEQ ID NO: 28 và 29 (Fig.21), của danh mục trình tự.

4)-5 Tạo ra kháng thể kháng Orai1 ở người được khảm của người

4)-5-1 Sản xuất kháng thể kháng Orai1 ở người được khảm của người

Các tế bào FreeStyle 293F (Life Technologies Corp.) được cấy truyền và được nuôi cấy theo tài liệu hướng dẫn.

10^7 tế bào FreeStyle 293F (Life Technologies Corp.) ở pha sinh trưởng logarit được ủ vào lọ thể tích 30mL (Thermo Fisher Scientific Inc.), được tạo ra ở 9mL bằng cách pha loãng với môi trường biểu hiện FreeStyle 293 (Life Technologies Corp.), và sau đó được nuôi cấy lắc ở 135 vòng/phút ở 37°C trong

1 giờ trong tủ áp 8% CO₂. 30µg polyetylenimin (Polysciences #24765) được hòa tan trong 500µL Opti-Pro SFM (Life Technologies Corp.). Tiếp theo, mỗi vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kháng thể kháng Orai1 ở người được khảm của người (4µg) và mỗi vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể kháng Orai1 ở người được khảm của người (6µg), được tạo ra sử dụng bộ kit QIAGEN Plasmid Maxi (Qiagen N.V.), được tạo huyền phù trong 500µL Opti-Pro SFM. 500µL dung dịch trộn lẫn vật truyền biểu hiện/Opti-Pro SFM được bổ sung vào 500µL dung dịch trộn lẫn polyetylenimin/Opti-Pro SFM, và hỗn hợp được khuấy nhẹ, được để nguyên tiếp trong 5 phút, và sau đó được bổ sung vào các tế bào FreeStyle 293F. Các tế bào được nuôi cấy lắc ở 95 vòng/phút ở 37°C trong 5 đến 7 ngày trong tủ áp 8% CO₂, và phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy thu được được lọc qua bộ lọc Millex 0,22µm (Millipore Corp.).

R118 được khảm ở người thu được bằng sự kết hợp của pCMA-G1/cR118_H và pCMA-LK/cR118_L được chỉ định là “cR118”. Tương tự như vậy, R198 được khảm ở người thu được bằng sự kết hợp của pCMA-G1/cR198_H và pCMA-LK/cR198_L được chỉ định là “cR198”.

4)-5-2 Tinh chế kháng thể kháng Orai1 ở người được khảm của người

Mỗi phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy thu được trong mục 4)-5-1 được tinh chế bằng sắc ký ái lực rProtein A trong một bước. Trước tiên, 10mL phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy được cấp lên cột MabSelectSuRe (GE Healthcare Bio-Sciences Corp.) được làm cân bằng bằng PBS. Sau khi đưa toàn bộ dung dịch nuôi cấy vào cột, cột được rửa bằng 7mL PBS. Tiếp theo, rửa giải được thực hiện với 5mL arginin-HCl 2M, pH 4,0, và nước giải hấp là chất đệm được thay thế bằng 4mL chất đệm histidin (histidin 25mM, sorbitol 5%, pH 6,0) sử dụng cột khử muối PD-10 (GE Healthcare Bio-Sciences Corp.). Cuối cùng, dung dịch được cô thành xấp xỉ 100µL sử dụng Amicon Ultracel 30K (chặn theo trọng lượng phân tử: 30 K, Millipore Corp.) và được sử dụng làm mẫu được tinh chế.

Ví dụ 5: Hoạt tính *In vitro* của kháng thể kháng Orai1 ở người được khảm của người

5)-1 Hoạt tính liên kết kháng nguyên của kháng thể kháng Orai1 ở người được khám của người bằng đo tế bào theo dòng chảy

Để đánh giá tính đặc hiệu liên kết Orai1 ở người, huyền phù tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-DEST hoặc huyền phù tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 được tạo ra bằng phương pháp được thể hiện trong mục 1)-4-1 được ly tâm để loại bỏ phần nổi trên mặt. Sau đó, các tế bào HEK293T được tạo huyền phù bằng bổ sung kháng thể kháng Orai1 ở người được khám của người cR118 hoặc cR198 được tạo ra trong mục 4)-5 hoặc kháng thể đối chứng IgG ở người (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.), và được ủ ở 4°C trong 30 phút. Các tế bào được rửa hai lần bằng PBS chứa 5% FBS, sau đó được tạo huyền phù bằng bổ sung thể tiếp hợp FITC kháng IgG ở người (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.) được pha loãng 100 lần bằng PBS chứa 5% FBS, và được ủ ở 4°C trong 30 phút. Các tế bào được rửa hai lần bằng PBS chứa 5% FBS và sau đó được tạo lại huyền phù trong PBS chứa 5% FBS và propidium iodua 1µg/mL (Invitrogen Corp.), tiếp theo là phát hiện sử dụng đo tế bào theo dòng chảy (FC500). Dữ liệu được phân tích sử dụng Flowjo. Sau khi loại trừ các tế bào chết dương tính với propidium iodua bằng cách gạn, cường độ huỳnh quang FITC của các tế bào sống được vẽ là biểu đồ để tính toán cường độ huỳnh quang trung bình (MFI). cR118 và cR198 không liên kết với các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-DEST và, như được thể hiện trên Fig.3, mỗi loại chỉ liên kết với các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 theo cách phụ thuộc nồng độ, chứng minh rằng các kháng thể này mỗi loại liên kết đặc hiệu với Orai1 ở người. Mặt khác, liên kết như vậy không quan sát thấy trong kháng thể đối chứng IgG ở người.

5)-2 Hiệu quả ức chế sự hoạt hóa dòng tế bào T ở người của kháng thể kháng Orai1 ở người được khám của người

Các tế bào Jurkat dòng tế bào T ở người được tạo ra ở nồng độ $1,5 \times 10^6$ tế bào/mL trong RPMI1640 chứa FBS 10%, penixilin 100U/mL, và streptomycin 100µg/mL, được ủ ở 80µL/lỗ trên đĩa nuôi cấy tế bào 96 lỗ, và được xử lý sơ bộ

với kháng thể kháng Orai1 ở người được khám của người cR198 hoặc cR118, kháng thể gốc R198, hoặc kháng thể đối chứng IgG ở người được bổ sung ở 10 μ L/lở ở 37°C trong 60 phút ở điều kiện CO₂ 5%. Sau đó, PMA 100ng/mL và A23187 1 μ g/mL được bổ sung ở 10 μ L/lở và được khuấy kỹ, tiếp theo là nuôi cấy ở 37°C trong xấp xỉ 16 giờ ở điều kiện CO₂ 5%. Đĩa được khuấy kỹ và sau đó được ly tâm ở 600g trong 3 phút. Nồng độ IL-2 có trong phần nổi trên mặt được đo bằng ELISA. Fig.4 thể hiện rằng các kháng thể kháng Orai1 ở người được khám ở người được tạo ra mỗi loại ức chế, theo cách phụ thuộc nồng độ, sự giải phóng IL-2 từ các tế bào Jurkat được xử lý với PMA và A23187. cR118 và cR198 mỗi loại ức chế sự giải phóng IL-2 từ các tế bào Jurkat theo cách phụ thuộc nồng độ với mức độ ức chế của chúng tương đương mức độ ức chế của kháng thể gốc R198. Mặt khác, sự ức chế như vậy không quan sát thấy trong kháng thể đối chứng IgG ở người.

Ví dụ 6: Kiến tạo phiên bản được nhân hóa hR198 của kháng thể kháng Orai1 ở người được khám của người cR198

6)-1 Mô hình hóa phân tử của các vùng biến đổi của R198

Mô hình hóa phân tử của các vùng biến đổi của cR198 được thực hiện bằng phương pháp đã biết thông thường là mô hình hóa tương đồng (Methods in Enzymology, 203, 121-153, (1991)). Các vùng biến đổi của R198 được xác định ở trên được so sánh với các trình tự sơ cấp (các cấu trúc ba chiều có nguồn gốc từ các cấu trúc tinh thể tia X là có sẵn) của các vùng biến đổi globulin miễn dịch ở người được đăng ký ở ngân hàng dữ liệu Protein (Protein Data Bank) (Nuc. Acid Res. 28, 235-242 (2000)). Kết quả là, 1AJ7 được lựa chọn là loại có tính tương đồng trình tự cao nhất với vùng biến đổi chuỗi nhẹ của cR198. Đồng thời, 1XGY được lựa chọn là loại có tính tương đồng trình tự cao nhất với vùng biến đổi chuỗi nặng của cR198. Các cấu trúc ba chiều của các vùng bộ khung được tạo ra là “mô hình bộ khung” bằng cách kết hợp các phối hợp của 1AJ7 và 1XGY tương ứng với chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của cR198. Các CDR của cR198 được gán là các cụm 11A, 7A, 9A, 10A, và 10A cho CDRL1, CDRL2, CDRL3, CDRH1, và CDRH2, tương ứng, theo sự phân loại của Thornton et al. (J. Mol.

Biol., 263, 800-815, (1996)). CDRH3 của nó được phân loại thành k(6)- theo quy tắc H3 (FEBS letter, 399, 1-8 (1996)). Sau đó, cấu hình đặc trưng của mỗi CDR được kết hợp vào mô hình bộ khung.

Cuối cùng, tính toán năng lượng để loại trừ tiếp xúc liên nguyên tử bất lợi được thực hiện để thu các mô hình phân tử có thể có của các vùng biến đổi cR198 về mặt năng lượng. Các cách thức này được thực hiện sử dụng chương trình dự báo cấu trúc ba chiều protein Prime và chương trình tìm kiếm cấu hình MacroModel có trên thị trường (Schrodinger, LLC).

6)-2 Kiến tạo trình tự axit amin của R198 được nhân hóa

Kháng thể R198 được nhân hóa được xây dựng bằng phương pháp thường đã biết là ghép CDR (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 10029-10033 (1989)). Kháng thể thể nhận được lựa chọn trên cơ sở tính tương đồng của các axit amin trong các vùng bộ khung.

Trình tự của các vùng bộ khung cR198 được so sánh với trình tự của tất cả các bộ khung của người được đăng ký trong cơ sở dữ liệu Kabat (Nuc. Acid Res., 29, 205-206 (2001)) của các trình tự axit amin kháng thể. Kết quả là, kháng thể 1C10'CL được lựa chọn là thể nhận do tính tương đồng trình tự 71% của nó so với các vùng bộ khung. Các gốc axit amin của các vùng bộ khung trong 1C10'CL được xếp thẳng hàng với các gốc axit amin của các vùng bộ khung cR198 để nhận dạng các vị trí của các axit amin mà không phù hợp giữa chúng. Các vị trí của các gốc này được phân tích sử dụng mô hình ba chiều của cR198 được xây dựng ở trên. Sau đó, các gốc thể cho cần được ghép lên thể nhận được lựa chọn theo các tiêu chuẩn được đưa ra bởi Queen et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 10029-10033 (1989)).

Một số gốc thể cho được lựa chọn như vậy được chuyển tới kháng thể thể nhận để xây dựng trình tự R198 được nhân hóa như được mô tả trong phần các ví dụ dưới đây.

Ngoài ra, 1 đến 5 gốc axit amin trong mỗi CDR hoặc FR của cR198 được thay thế bằng các gốc axit amin của cR118 để xây dựng trình tự R198

được nhân hóa được thiết kế CDR như được mô tả trong phần các ví dụ dưới đây.

6)-3 Kiến tạo của chuỗi nhẹ R198 được nhân hóa hR198_L

6)-3-1 Chuỗi nhẹ kiểu hR198_L1:

Chuỗi nhẹ R198 được nhân hóa được kiến tạo bằng cách thay thế gốc threonin ở vị trí axit amin 30 bằng gốc serin, gốc prolin ở vị trí axit amin 32 bằng gốc serin, gốc leuxin ở vị trí axit amin 35 bằng gốc valin, gốc axit glutamic ở vị trí axit amin 37 bằng gốc axit aspartic, gốc serin ở vị trí axit amin 42 bằng gốc threonin, gốc axit aspartic ở vị trí axit amin 61 bằng gốc glyxin, gốc glyxin ở vị trí axit amin 62 bằng gốc lysin, gốc serin ở vị trí axit amin 63 bằng gốc alanin, gốc valin ở vị trí axit amin 64 bằng gốc prolin, gốc serin ở vị trí axit amin 92 bằng gốc threonin, gốc serin ở vị trí axit amin 94 bằng gốc threonin, gốc threonin ở vị trí axit amin 96 bằng gốc serin, gốc axit glutamic ở vị trí axit amin 99 bằng gốc glutamin, gốc serin ở vị trí axit amin 100 bằng gốc prolin, gốc threonin ở vị trí axit amin 120 bằng gốc glutamin, gốc leuxin ở vị trí axit amin 124 bằng gốc valin, gốc leuxin ở vị trí axit amin 126 bằng gốc isoleuxin, gốc arginin ở vị trí axit amin 127 bằng gốc lysin, và gốc alanin ở vị trí axit amin 129 bằng gốc threonin như cho chuỗi nhẹ cR198 được thể hiện trong SEQ ID NO: 25 của danh mục trình tự được chỉ định là “chuỗi nhẹ kiểu hR198_L1”.

Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_L1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 30 của danh mục trình tự. Các vị trí nucleotit 61 đến 702 mã hóa chuỗi nhẹ hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí nucleotit 61 đến 378 mã hóa vùng biến đổi. Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_L1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 31 của danh mục trình tự. Các vị trí axit amin 21 đến 234 thể hiện chuỗi nhẹ hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí axit amin 21 đến 126 thể hiện vùng biến đổi. Cả hai trình tự của các SEQ ID NO: 30 và 31 cũng được thể hiện trên Fig.22. Mỗi trình tự CDR và SEQ ID NO tương ứng của nó được thể hiện trên Fig.38.

6)-3-2 chuỗi nhẹ kiểu hR198_L2:

Chuỗi nhẹ R198 được nhân hóa được kiến tạo bằng cách thay thế gốc threonin ở vị trí axit amin 30 bằng gốc serin, gốc prolin ở vị trí axit amin 32 bằng gốc serin, gốc leuxin ở vị trí axit amin 35 bằng gốc valin, gốc axit glutamic ở vị trí axit amin 37 bằng gốc axit aspartic, gốc serin ở vị trí axit amin 42 bằng gốc threonin, gốc axit aspartic ở vị trí axit amin 61 bằng gốc glyxin, gốc glyxin ở vị trí axit amin 62 bằng gốc lysin, gốc serin ở vị trí axit amin 63 bằng gốc alanin, gốc serin ở vị trí axit amin 92 bằng gốc threonin, gốc serin ở vị trí axit amin 94 bằng gốc threonin, gốc threonin ở vị trí axit amin 96 bằng gốc serin, gốc axit glutamic ở vị trí axit amin 99 bằng gốc glutamin, gốc serin ở vị trí axit amin 100 bằng gốc prolin, gốc threonin ở vị trí axit amin 120 bằng gốc glutamin, gốc leuxin ở vị trí axit amin 124 bằng gốc valin, gốc leuxin ở vị trí axit amin 126 bằng gốc isoleuxin, gốc arginin ở vị trí axit amin 127 bằng gốc lysin, và gốc alanin ở vị trí axit amin 129 bằng gốc threonin như cho chuỗi nhẹ cR198 được thể hiện trong SEQ ID NO: 25 của danh mục trình tự được chỉ định là “chuỗi nhẹ kiểu hR198_L2”.

Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_L2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 32 của danh mục trình tự. Các vị trí nucleotit 61 đến 702 mã hóa chuỗi nhẹ hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí nucleotit 61 đến 378 mã hóa vùng biến đổi. Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_L2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 33 của danh mục trình tự. Các vị trí axit amin 21 đến 234 thể hiện chuỗi nhẹ hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí axit amin 21 đến 126 thể hiện vùng biến đổi. Cả hai trình tự của các SEQ ID NO: 32 và 33 cũng được thể hiện trên Fig.23. Mỗi trình tự CDR và SEQ ID NO tương ứng của nó được thể hiện trên Fig.38.

6)-3-3 Chuỗi nhẹ kiểu hR198_L3:

Chuỗi nhẹ R198 được nhân hóa được kiến tạo bằng cách thay thế gốc threonin ở vị trí axit amin 30 bằng gốc serin, gốc prolin ở vị trí axit amin 32 bằng gốc serin, gốc leuxin ở vị trí axit amin 35 bằng gốc valin, gốc axit glutamic ở vị trí axit amin 37 bằng gốc axit aspartic, gốc serin ở vị trí axit amin 42 bằng gốc threonin, gốc axit aspartic ở vị trí axit amin 61 bằng gốc glyxin, gốc glyxin

ở vị trí axit amin 62 bằng gốc lysin, gốc serin ở vị trí axit amin 63 bằng gốc alanin, gốc valin ở vị trí axit amin 64 bằng gốc prolin, gốc serin ở vị trí axit amin 92 bằng gốc threonin, gốc serin ở vị trí axit amin 94 bằng gốc threonin, gốc threonin ở vị trí axit amin 96 bằng gốc serin, gốc axit glutamic ở vị trí axit amin 99 bằng gốc glutamin, gốc serin ở vị trí axit amin 100 bằng gốc prolin, gốc tyrosin ở vị trí axit amin 114 bằng gốc phenylalanin, gốc threonin ở vị trí axit amin 120 bằng gốc glutamin, gốc leuxin ở vị trí axit amin 124 bằng gốc valin, gốc leuxin ở vị trí axit amin 126 bằng gốc isoleuxin, gốc arginin ở vị trí axit amin 127 bằng gốc lysin, và gốc alanin ở vị trí axit amin 129 bằng gốc threonin như cho chuỗi nhẹ cR198 được thể hiện trong SEQ ID NO: 25 của danh mục trình tự được chỉ định là “chuỗi nhẹ kiểu hR198_L3”.

Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_L3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 34 của danh mục trình tự. Các vị trí nucleotit 61 đến 702 mã hóa chuỗi nhẹ hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí nucleotit 61 đến 378 mã hóa vùng biến đổi. Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_L3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 35 của danh mục trình tự. Các vị trí axit amin 21 đến 234 thể hiện chuỗi nhẹ hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí axit amin 21 đến 126 thể hiện vùng biến đổi. Cả hai trình tự của các SEQ ID NO: 34 và 35 cũng được thể hiện trên Fig.24. Mỗi trình tự CDR và SEQ ID NO tương ứng của nó được thể hiện trên Fig.38.

6)-3-4 Chuỗi nhẹ kiểu hR198_L4:

Chuỗi nhẹ R198 được nhân hóa được kiến tạo bằng cách thay thế gốc threonin ở vị trí axit amin 30 bằng gốc serin, gốc prolin ở vị trí axit amin 32 bằng gốc serin, gốc leuxin ở vị trí axit amin 35 bằng gốc valin, gốc axit glutamic ở vị trí axit amin 37 bằng gốc axit aspartic, gốc serin ở vị trí axit amin 42 bằng gốc threonin, gốc axit aspartic ở vị trí axit amin 61 bằng gốc glyxin, gốc glyxin ở vị trí axit amin 62 bằng gốc lysin, gốc serin ở vị trí axit amin 63 bằng gốc alanin, gốc serin ở vị trí axit amin 92 bằng gốc threonin, gốc serin ở vị trí axit amin 94 bằng gốc threonin, gốc threonin ở vị trí axit amin 96 bằng gốc serin, gốc axit glutamic ở vị trí axit amin 99 bằng gốc glutamin, gốc serin ở vị trí axit

amin 100 bằng gốc prolin, gốc tyrosin ở vị trí axit amin 114 bằng gốc phenylalanin, gốc threonin ở vị trí axit amin 120 bằng gốc glutamin, gốc leuxin ở vị trí axit amin 124 bằng gốc valin, gốc leuxin ở vị trí axit amin 126 bằng gốc isoleuxin, gốc arginin ở vị trí axit amin 127 bằng gốc lysin, và gốc alanin ở vị trí axit amin 129 bằng gốc threonin như cho chuỗi nhẹ cR198 được thể hiện trong SEQ ID NO: 25 của danh mục trình tự được chỉ định là “chuỗi nhẹ kiểu hR198_L4”.

Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_L4 được thể hiện trong SEQ ID NO: 36 của danh mục trình tự. Các vị trí nucleotit 61 đến 702 mã hóa chuỗi nhẹ hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí nucleotit 61 đến 378 mã hóa vùng biến đổi. Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_L4 được thể hiện trong SEQ ID NO: 37 của danh mục trình tự. Các vị trí axit amin 21 đến 234 thể hiện chuỗi nhẹ hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí axit amin 21 đến 126 thể hiện vùng biến đổi. Cả hai trình tự của các SEQ ID NO: 36 và 37 cũng được thể hiện trên Fig.25. Mỗi trình tự CDR và SEQ ID NO tương ứng của nó được thể hiện trên Fig.38.

6)-4 Kiến tạo chuỗi nặng R198 được nhân hóa hR198_H

6)-4-1 Chuỗi nặng kiểu hR198_H1:

Chuỗi nặng R198 được nhân hóa được kiến tạo bằng cách thay thế gốc glutamin ở vị trí axit amin 24 bằng gốc valin, gốc leuxin ở vị trí axit amin 30 bằng gốc valin, gốc alanin ở vị trí axit amin 31 bằng gốc lysin, gốc serin ở vị trí axit amin 35 bằng gốc alanin, gốc methionin ở vị trí axit amin 37 bằng gốc valin, gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 39 bằng gốc valin, gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 56 bằng gốc valin, gốc lysin ở vị trí axit amin 57 bằng gốc arginin, gốc threonin ở vị trí axit amin 59 bằng gốc alanin, gốc threonin ở vị trí axit amin 60 bằng gốc prolin, gốc lysin ở vị trí axit amin 86 bằng gốc arginin, gốc serin ở vị trí axit amin 95 bằng gốc threonin, gốc phenylalanin ở vị trí axit amin 99 bằng gốc tyrosin, gốc glutamin ở vị trí axit amin 101 bằng gốc axit glutamic, gốc threonin ở vị trí axit amin 106 bằng gốc arginin, gốc prolin ở vị trí axit amin 107 bằng gốc serin, gốc axit aspartic ở vị trí axit amin 108 bằng gốc axit glutamic,

gốc serin ở vị trí axit amin 110 bằng gốc threonin, gốc valin ở vị trí axit amin 130 bằng gốc threonin, và gốc methionin ở vị trí axit amin 131 bằng gốc leuxin như cho chuỗi nặng cR198 được thể hiện trong SEQ ID NO: 29 của danh mục trình tự được chỉ định là “chuỗi nặng kiểu hR198_H1”.

Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 38 của danh mục trình tự. Các vị trí nucleotit 58 đến 1398 mã hóa chuỗi nặng hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí nucleotit 58 đến 408 mã hóa vùng biến đổi. Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_H1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 39 của danh mục trình tự. Các vị trí axit amin 20 đến 466 thể hiện chuỗi nặng hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí axit amin 20 đến 136 thể hiện vùng biến đổi. Cả hai trình tự của các SEQ ID NO: 38 và 39 cũng được thể hiện trên Fig.26. Mỗi trình tự CDR và SEQ ID NO tương ứng của nó được thể hiện trên Fig.38.

6)-4-2 Chuỗi nặng kiểu hR198_H2:

Chuỗi nặng R198 được nhân hóa được kiến tạo bằng cách thay thế gốc glutamin ở vị trí axit amin 24 bằng gốc valin, gốc leuxin ở vị trí axit amin 30 bằng gốc valin, gốc alanin ở vị trí axit amin 31 bằng gốc lysin, gốc serin ở vị trí axit amin 35 bằng gốc alanin, gốc methionin ở vị trí axit amin 37 bằng gốc valin, gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 39 bằng gốc valin, gốc lysin ở vị trí axit amin 57 bằng gốc arginin, gốc threonin ở vị trí axit amin 59 bằng gốc alanin, gốc threonin ở vị trí axit amin 60 bằng gốc prolin, gốc lysin ở vị trí axit amin 86 bằng gốc arginin, gốc serin ở vị trí axit amin 95 bằng gốc threonin, gốc phenylalanin ở vị trí axit amin 99 bằng gốc tyrosin, gốc glutamin ở vị trí axit amin 101 bằng gốc axit glutamic, gốc threonin ở vị trí axit amin 106 bằng gốc arginin, gốc prolin ở vị trí axit amin 107 bằng gốc serin, gốc axit aspartic ở vị trí axit amin 108 bằng gốc axit glutamic, gốc serin ở vị trí axit amin 110 bằng gốc threonin, gốc valin ở vị trí axit amin 130 bằng gốc threonin, và gốc methionin ở vị trí axit amin 131 bằng gốc leuxin như cho chuỗi nặng cR198 được thể hiện trong SEQ ID NO: 29 của danh mục trình tự được chỉ định là “chuỗi nặng kiểu hR198_H2”.

Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 40 của danh mục trình tự. Các vị trí nucleotit 58 đến 1398 mã hóa chuỗi nặng hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí nucleotit 58 đến 408 mã hóa vùng biến đổi. Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_H2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 41 của danh mục trình tự. Các vị trí axit amin 20 đến 466 thể hiện chuỗi nặng hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí axit amin 20 đến 136 thể hiện vùng biến đổi. Cả hai trình tự của các SEQ ID NO: 40 và 41 cũng được thể hiện trên Fig.27. Mỗi trình tự CDR và SEQ ID NO tương ứng của nó được thể hiện trên Fig.38.

6)-4-3 Chuỗi nặng kiểu hR198_H3:

Chuỗi nặng R198 được nhân hóa được kiến tạo bằng cách thay thế gốc glutamin ở vị trí axit amin 24 bằng gốc valin, gốc leuxin ở vị trí axit amin 30 bằng gốc valin, gốc alanin ở vị trí axit amin 31 bằng gốc lysin, gốc serin ở vị trí axit amin 35 bằng gốc alanin, gốc methionin ở vị trí axit amin 37 bằng gốc valin, gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 39 bằng gốc valin, gốc serin ở vị trí axit amin 50 bằng gốc alanin, gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 56 bằng gốc valin, gốc lysin ở vị trí axit amin 57 bằng gốc arginin, gốc threonin ở vị trí axit amin 59 bằng gốc alanin, gốc threonin ở vị trí axit amin 60 bằng gốc prolin, gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 67 bằng gốc valin, gốc valin ở vị trí axit amin 70 bằng gốc isoleuxin, gốc axit glutamic ở vị trí axit amin 81 bằng gốc alanin, gốc lysin ở vị trí axit amin 82 bằng gốc arginin, gốc lysin ở vị trí axit amin 86 bằng gốc arginin, gốc serin ở vị trí axit amin 95 bằng gốc threonin, gốc phenylalanin ở vị trí axit amin 99 bằng gốc tyrosin, gốc glutamin ở vị trí axit amin 101 bằng gốc axit glutamic, gốc threonin ở vị trí axit amin 106 bằng gốc arginin, gốc prolin ở vị trí axit amin 107 bằng gốc serin, gốc axit aspartic ở vị trí axit amin 108 bằng gốc axit glutamic, gốc serin ở vị trí axit amin 110 bằng gốc threonin, gốc valin ở vị trí axit amin 130 bằng gốc threonin, và gốc methionin ở vị trí axit amin 131 bằng gốc leuxin như cho chuỗi nặng cR198 được thể hiện trong SEQ ID NO: 29 của danh mục trình tự được chỉ định là “chuỗi nặng kiểu hR198_H3”.

Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 42 của danh mục trình tự. Các vị trí nucleotit 58 đến 1398 mã hóa chuỗi nặng hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí nucleotit 58 đến 408 mã hóa vùng biến đổi. Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_H3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 43 của danh mục trình tự. Các vị trí axit amin 20 đến 466 thể hiện chuỗi nặng hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí axit amin 20 đến 136 thể hiện vùng biến đổi. Cả hai trình tự của các SEQ ID NO: 42 và 43 cũng được thể hiện trên Fig.28. Mỗi trình tự CDR và SEQ ID NO tương ứng của nó được thể hiện trên Fig.38.

6)-4-4 Chuỗi nặng kiểu hR198_H4:

Chuỗi nặng R198 được nhân hóa được kiến tạo bằng cách thay thế gốc glutamin ở vị trí axit amin 24 bằng gốc valin, gốc leuxin ở vị trí axit amin 30 bằng gốc valin, gốc alanin ở vị trí axit amin 31 bằng gốc lysin, gốc serin ở vị trí axit amin 35 bằng gốc alanin, gốc methionin ở vị trí axit amin 37 bằng gốc valin, gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 39 bằng gốc valin, gốc serin ở vị trí axit amin 50 bằng gốc alanin, gốc lysin ở vị trí axit amin 57 bằng gốc arginin, gốc threonin ở vị trí axit amin 59 bằng gốc alanin, gốc threonin ở vị trí axit amin 60 bằng gốc prolin, gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 67 bằng gốc valin, gốc valin ở vị trí axit amin 70 bằng gốc isoleuxin, gốc axit glutamic ở vị trí axit amin 81 bằng gốc alanin, gốc lysin ở vị trí axit amin 82 bằng gốc arginin, gốc lysin ở vị trí axit amin 86 bằng gốc arginin, gốc serin ở vị trí axit amin 95 bằng gốc threonin, gốc phenylalanin ở vị trí axit amin 99 bằng gốc tyrosin, gốc glutamin ở vị trí axit amin 101 bằng gốc axit glutamic, gốc threonin ở vị trí axit amin 106 bằng gốc arginin, gốc prolin ở vị trí axit amin 107 bằng gốc serin, gốc axit aspartic ở vị trí axit amin 108 bằng gốc axit glutamic, gốc serin ở vị trí axit amin 110 bằng gốc threonin, gốc valin ở vị trí axit amin 130 bằng gốc threonin, và gốc methionin ở vị trí axit amin 131 bằng gốc leuxin như cho chuỗi nặng cR198 được thể hiện trong SEQ ID NO: 29 của danh mục trình tự được chỉ định là “chuỗi nặng kiểu hR198_H4”.

Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H4 được thể hiện trong SEQ ID NO: 44 của danh mục trình tự. Các vị trí nucleotit 58 đến 1398 mã hóa chuỗi nặng hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí nucleotit 58 đến 408 mã hóa vùng biến đổi. Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_H4 được thể hiện trong SEQ ID NO: 45 của danh mục trình tự. Các vị trí axit amin 20 đến 466 thể hiện chuỗi nặng hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí axit amin 20 đến 136 thể hiện vùng biến đổi. Cả hai trình tự của các SEQ ID NO: 44 và 45 cũng được thể hiện trên Fig.29. Mỗi trình tự CDR và SEQ ID NO tương ứng của nó được thể hiện trên Fig.38.

Ví dụ 7: Tạo ra kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa

7)-1 Xây dựng vật truyền biểu hiện hR198_L chuỗi nhẹ kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa

7)-1-1 Xây dựng vật truyền biểu hiện hR198_L1

Mảnh ADN gồm trình tự mã hóa vùng biến đổi hR198_L1 được thể hiện trong các vị trí nucleotit 38 đến 402 trong trình tự nucleotit của hR198_L1 được thể hiện bởi SEQ ID NO: 30 của danh mục trình tự được tổng hợp (GeneArt Artificial Gene Synthesis service). Mảnh ADN được tổng hợp được phân cắt bằng các enzym giới hạn *AvaI* và *EcoRV* và được chèn vào vị trí tương ứng của vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể khảm và được nhân hóa pCMA-LK được phân cắt bằng cùng các enzym giới hạn như ở trên để xây dựng vật truyền biểu hiện hR198_L1. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA-LK/hR198_L1”.

7)-1-2 Xây dựng vật truyền biểu hiện hR198_L2

Mảnh ADN gồm trình tự mã hóa vùng biến đổi hR198_L2 được thể hiện trong các vị trí nucleotit 38 đến 402 trong trình tự nucleotit của hR198_L2 được thể hiện bởi SEQ ID NO: 32 của danh mục trình tự được tổng hợp (GeneArt Artificial Gene Synthesis service). Mảnh ADN gồm trình tự mã hóa vùng biến đổi hR198_L2 được khuếch đại với mảnh ADN được tổng hợp làm khuôn mẫu sử dụng KOD-Plus- (Toyobo Co., Ltd.), được phân cắt bằng enzym giới hạn *BsiWI*, và được chèn vào vị trí tương ứng của vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ

kháng thể khảm và được nhân hóa pCMA-LK được phân cắt bằng enzym giới hạn BsiWI để xây dựng vật truyền biểu hiện hR198_L2. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA-LK/hR198_L2”.

7)-1-3 Xây dựng các vật truyền biểu hiện hR198_L3 và hR198_L4

Mảnh ADN gồm trình tự mã hóa vùng biến đổi hR198_L4 được thể hiện trong các vị trí nucleotit 38 đến 402 trong trình tự nucleotit của hR198_L4 được thể hiện bởi SEQ ID NO: 36 của danh mục trình tự được tổng hợp (GeneArt Artificial Gene Synthesis service). Vật truyền biểu hiện hR198_L4 được xây dựng bằng phương pháp tương tự như trong ví dụ 7)-1-2. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA-LK/hR198_L4”.

Sự đột biến để thay thế gốc valin ở vị trí axit amin 64 bằng gốc prolin được đưa vào với pCMA-LK/hR198_L4 là khuôn mẫu sử dụng bộ kit QuikChange Site-Directed Mutagenesis (Stratagene Corp.). Vật truyền biểu hiện thu được gồm trình tự nucleotit được thể hiện bởi SEQ ID NO: 34 của danh mục trình tự được chỉ định là “pCMA-LK /hR198_L3”.

7)-2 Xây dựng vật truyền biểu hiện hR198_H chuỗi nặng kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa

7)-2-1 Xây dựng các vật truyền biểu hiện hR198_H1 và hR198_H2

Mảnh ADN gồm vùng biến đổi hR198_H0 mã hóa trình tự được thể hiện trong các vị trí nucleotit 36 đến 425 trong trình tự nucleotit của hR198_H0 được thể hiện bởi SEQ ID NO: 111 của danh mục trình tự được tổng hợp là ứng viên cho sự nhân hóa của chuỗi nặng kháng thể kháng Orai1 hR198 (GeneArt Artificial Gene Synthesis service). Mảnh ADN gồm trình tự mã hóa vùng biến đổi hR198_H0 được khuếch đại với mảnh ADN được tổng hợp làm khuôn mẫu sử dụng KOD-Plus- và được chèn vào vị trí tương ứng của vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kiểu IgG1 kháng thể khảm và được nhân hóa pCMA-G1 được phân cắt bằng enzym giới hạn BlnI sử dụng bộ kit tách dòng In-Fusion HD PCR (Clontech Laboratories, Inc.) để xây dựng vật truyền biểu hiện hR198_H0. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA-G1/hR198_H0”. Trình tự axit amin của hR198_H0 được thể hiện trong SEQ ID NO: 112.

Tiếp theo, sự đột biến để thay thế gốc tryptophan ở vị trí axit amin 66 bằng gốc tyrosin được đưa vào với pCMA-G1/hR198_H0 là khuôn mẫu sử dụng bộ kit KOD-Plus-mutagenesis (Toyobo Co., Ltd.). Vật truyền biểu hiện thu được gồm trình tự nucleotit được thể hiện bởi SEQ ID NO: 40 của danh mục trình tự được chỉ định là “pCMA-G1/hR198_H2”.

Tiếp theo, sự đột biến để thay thế gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 56 bằng gốc valin được đưa vào với pCMA-G1/hR198_H2 là khuôn mẫu sử dụng bộ kit QuikChange Site-Directed Mutagenesis (Stratagene Corp.) và tập hợp đoạn môi được đưa ra dưới đây. Vật truyền biểu hiện thu được gồm trình tự nucleotit được thể hiện bởi SEQ ID NO: 38 của danh mục trình tự được chỉ định là “pCMA-G1/hR198_H1”.

7)-2-2 Xây dựng các vật truyền biểu hiện hR198_H3, hR198_H4 và hR198_H5

Mảnh ADN gồm vùng biến đổi hR198_H5 mã hóa trình tự được thể hiện trong các vị trí nucleotit 36 đến 425 trong trình tự nucleotit của hR198_H5 được thể hiện bởi SEQ ID NO: 113 của danh mục trình tự được tổng hợp là ứng viên cho sự nhân hóa của chuỗi nặng kháng thể kháng Orai1 hR198 (GeneArt Artificial Gene Synthesis service). Vật truyền biểu hiện hR198_H5 được xây dựng bằng phương pháp tương tự như trong ví dụ 7)-2-1. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA-G1/hR198_H5”. Trình tự axit amin của hR198_H5 được thể hiện trong SEQ ID NO: 114.

Tiếp theo, những sự đột biến để thay thế gốc tryptophan ở vị trí axit amin 66 và gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 67 bằng gốc tyrosin và gốc valin, tương ứng, được đưa vào với pCMA-G1/H5 là khuôn mẫu sử dụng bộ kit KOD-Plus-mutagenesis. Vật truyền biểu hiện thu được gồm trình tự nucleotit được thể hiện bởi SEQ ID NO: 44 được chỉ định là “pCMA-G1/hR198_H4”.

Tiếp theo, sự đột biến để thay thế gốc isoleuxin ở vị trí axit amin 56 bằng gốc valin được đưa vào bằng phương pháp tương tự như trong ví dụ 7)-2-1 với pCMA-G1/hR198_H4 làm khuôn mẫu. Vật truyền biểu hiện thu được gồm trình tự nucleotit được thể hiện bởi SEQ ID NO: 44 của danh mục trình tự được chỉ định là “pCMA-G1/hR198_H3”.

7)-3 Tạo ra kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa hR198

Các tế bào FreeStyle 293F được chuyển nhiễm với mỗi vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa và mỗi vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa bằng phương pháp tương tự như trong mục 4)-5-1 để thu phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy chứa kháng thể.

Các kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa thu được bằng sự kết hợp của pCMA-G1/hR198_H1 và pCMA-LK/hR198_L1, sự kết hợp của pCMA-G1/hR198_H2 và pCMA-LK/hR198_L2, sự kết hợp của pCMA-G1/hR198_H3 và pCMA-LK/hR198_L3, và sự kết hợp của pCMA-G1/hR198_H4 và pCMA-LK/hR198_L4 được chỉ định tương ứng là “hR198_H1/L1”, “hR198_H2/L2”, “hR198_H3/L3”, và “hR198_H4/L4”.

Mỗi phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy thu được được tinh chế bằng sắc ký ái lực rProtein A bằng phương pháp tương tự như trong mục 4)-5-2 để thu mẫu kháng thể được tinh chế.

Ví dụ 8: Hoạt tính *In vitro* của kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa

8)-1 Hoạt tính liên kết kháng nguyên của kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa bởi đo tế bào theo dòng chảy

Để đánh giá tính đặc hiệu liên kết Orai1 ở người, huyền phù tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-DEST hoặc huyền phù tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 được tạo ra bằng phương pháp được thể hiện trong mục 1)-4-1 được ly tâm để loại bỏ phần nổi trên mặt. Sau đó, các tế bào HEK293T được tạo huyền phù bằng sự bổ sung kháng thể được nhân hóa kháng Orai1 hR198_H1/L1, hR198_H2/L2, hR198_H3/L3, hoặc hR198_H4/L4 được tạo ra trong mục 7)-5 hoặc kháng thể gốc cR118 hoặc cR198, và được ủ ở 4°C trong 30 phút. Các tế bào được rửa hai lần bằng PBS chứa 5% FBS, sau đó được tạo huyền phù bằng bổ sung thể tiếp hợp FITC kháng IgG ở người được pha loãng 100 lần bằng PBS chứa 5% FBS, và được ủ ở 4°C trong 30 phút. Các tế bào được rửa hai lần bằng PBS chứa 5% FBS và sau đó được tạo lại huyền phù trong PBS chứa 5% FBS và propidium iodua 1µg/mL,

tiếp theo là phát hiện sử dụng đo tế bào theo dòng chảy (FC500). Dữ liệu được phân tích sử dụng Flowjo. Sau khi loại trừ các tế bào chết dương tính với propidium iodua bằng cách gạn, cường độ huỳnh quang FITC của các tế bào sống được vẽ là biểu đồ để tính toán cường độ huỳnh quang trung bình (MFI). Các kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa hR198_H1/L1, hR198_H2/L2, hR198_H3/L3, và hR198_H4/L4 không liên kết với các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-DEST và, như được thể hiện trên Fig.5, mỗi loại chỉ liên kết với các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 theo cách phụ thuộc nồng độ, như với kháng thể gốc cR118 hoặc cR198, chứng minh rằng các kháng thể này mỗi loại liên kết đặc hiệu với Orai1 ở người.

8)-2 Hiệu quả ức chế sự hoạt hóa dòng tế bào T ở người của kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa

Các tế bào Jurkat dòng tế bào T ở người được tạo ra ở nồng độ $1,5 \times 10^6$ tế bào/mL trong RPMI1640 chứa FBS 10%, penixilin 100U/mL, và streptomycin 100µg/mL, được ủ ở 80 µL/lỗ cho đĩa nuôi cấy tế bào 96 lỗ, và được xử lý sơ bộ với kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa hR198_H1/L1, hR198_H2/L2, hR198_H3/L3, hoặc hR198_H4/L4 hoặc kháng thể kháng Orai1 ở người được khám của người cR118 hoặc cR198 được bổ sung ở 10µL/lỗ ở 37°C trong 60 phút ở điều kiện CO₂ 5%. Sau đó, PMA 100ng/mL và A23187 1µg/mL được bổ sung ở 10µL/lỗ và được khuấy kỹ, tiếp theo là nuôi cấy ở 37°C trong xấp xỉ 16 giờ ở điều kiện CO₂ 5%. Đĩa được khuấy kỹ và sau đó được ly tâm ở 600g trong 3 phút. Nồng độ IL-2 có trong phần nổi trên mặt được đo bằng ELISA. Fig.6 thể hiện rằng các kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa mỗi loại ức chế, theo cách phụ thuộc nồng độ, sự giải phóng IL-2 từ các tế bào Jurkat được xử lý với PMA và A23187. Các kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa mỗi loại ức chế sự giải phóng IL-2 từ các tế bào Jurkat theo cách phụ thuộc nồng độ, và hoạt tính ức chế của hR198_H1/L1 và hR198_H2/L2 là tương đương với hoạt tính của các kháng thể kháng Orai1 ở người được khám

của người cR118 và cR198. Mặt khác, hR198_H3/L3 và hR198_H4/L4 thể hiện hoạt tính ức chế ở nồng độ thấp hơn so với nồng độ của cR118 và cR198.

Ví dụ 9: Nhận dạng đột biến tăng cường hoạt tính bằng biểu thị ribosom

9)-1 Tạo ra các thư viện chuỗi H và chuỗi L

Thư viện chứa các chuỗi H hoặc các chuỗi L đột biến được xây dựng với kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa hR198_H4/L4 làm khuôn mẫu và được đưa đi nhận dạng đột biến tăng cường hoạt tính bằng biểu thị ribosom.

9)-1-1 Tạo ra thư viện chuỗi H

80 chu kỳ PCR được thực hiện với gen hR198_H4 làm khuôn mẫu sử dụng tập hợp đoạn mồi được đưa ra dưới đây và polymeraza rTaq ADN (Toyobo Co., Ltd.) để gây đột biến vùng gen một cách ngẫu nhiên.

Tập hợp đoạn mồi

5'-ATGCAAGTCCAACCTGGTTCAATC-3' (SEQ ID NO: 46; đoạn mồi Orai1 HF)

5'-TGACGGAGCCAGCGGGAAGAC-3' (SEQ ID NO: 47; đoạn mồi Orai1 CH FR)

Tiếp theo, PCR chồng lấn được thực hiện với mỗi gen chuỗi H đột biến một cách ngẫu nhiên, vị trí 5'UTR gồm đoạn khởi đầu T7, và mảnh gen TolA gồm 5' được bổ sung c-Myc và 3' được bổ sung trình tự SecM làm các khuôn mẫu sử dụng tập hợp đoạn mồi được đưa ra dưới đây để tạo ra thư viện chuỗi H.

Tập hợp đoạn mồi

5'-CAGGAAACAGCTATGACCATG-3' (SEQ ID NO: 48; đoạn mồi M13 rev long)

5'-CTCGAGTTATTCATTAGGTGAGGCGTTGAGG-3' (SEQ ID NO: 49; đoạn mồi SecM Stop R)

9)-1-2 Tạo ra thư viện chuỗi L

80 chu kỳ PCR được thực hiện với gen hR198_L4 làm khuôn mẫu sử dụng tập hợp đoạn mồi được đưa ra dưới đây và rTaq ADN polymeraza để gây đột biến vùng gen một cách ngẫu nhiên.

Tập hợp đoạn mồi

5'-ATGGACATTCAACTGACCCAAAGC-3' (SEQ ID NO: 50; đoạn mồi Orai1 Lc F)

5'-GATAAAAACACTCGGGGCGCCAC-3' (SEQ ID NO: 51; đoạn mồi Orai1 CL-FR)

Theo cách tương tự như trong phần mô tả của mục 9)-1-1, PCR chồng lấn được thực hiện sử dụng mỗi gen chuỗi L đột biến một cách ngẫu nhiên và hai mảnh gen được mô tả ở trên là các khuôn mẫu để tạo ra thư viện chuỗi L.

9)-1-3 Tạo ra mảnh gen chuỗi H

Vùng gen chuỗi H được khuếch đại bằng PCR với gen hR198_H4 làm khuôn mẫu sử dụng tập hợp đoạn mồi được đưa ra dưới đây và KOD-Plus-.

Tập hợp đoạn mồi

5'-ATGCAAGTCCAACCTGGTTCAATC-3' (SEQ ID NO: 46; đoạn mồi Orai1 HF)

5'-

TCATTATTTGTCATCGTCATCTTTATAGTCGAATTCTTCGCCACGATT
AAAGGATTTGGTGAC-3' (SEQ ID NO: 52; đoạn mồi Orai1 HR-FLAG R)

Tiếp theo, PCR chồng lấn được thực hiện với mảnh gen và vị trí 5'UTR gồm đoạn khởi đầu T7 là các khuôn mẫu sử dụng tập hợp đoạn mồi được đưa ra dưới đây để tạo ra mảnh gen chuỗi H.

Tập hợp đoạn mồi

5'-CAGGAAACAGCTATGACCATG-3' (SEQ ID NO: 48; đoạn mồi M13 rev long)

5'-

TCATTATTTGTCATCGTCATCTTTATAGTCGAATTCTTCGCCACGATT
AAAGGATTTGGTGAC-3' (SEQ ID NO: 52; đoạn mồi Orai1 HR-FLAG R)

9)-1-4 Tạo ra mảnh gen chuỗi L

Vùng gen chuỗi L được khuếch đại bằng PCR với gen hR198_L4 làm khuôn mẫu sử dụng tập hợp đoạn mồi được đưa ra dưới đây và KOD-Plus-.

Tập hợp đoạn mồi

5'-ATGGACATTCAACTGACCCAAAGC-3' (SEQ ID NO: 50; đoạn mồi Orai1 Lc F)

5'-

TCATTATTTGTCATCGTCATCTTTATAGTCGAATTCTTCGCCACGATT
AAAGGATTTGGTGAC-3' (SEQ ID NO: 53; đoạn mồi Orai1 CL-FLAG R)

Tiếp theo, theo cách tương tự như trong phần mô tả của mục 9)-1-3 PCR chồng lấn được thực hiện để tạo ra mảnh gen chuỗi L.

Tập hợp đoạn mồi

5'-CAGGAAACAGCTATGACCATG-3' (SEQ ID NO: 48; đoạn mồi M13 rev long)

5'-

TCATTATTTGTCATCGTCATCTTTATAGTCGAATTCTTCGCCACGATT
AAAGGATTTGGTGAC-3' (SEQ ID NO: 53; đoạn mồi Orai1 CL-FLAG R)

9)-1-5 Tạo ra ARN thông tin

Mỗi ARN thông tin được tổng hợp với các thư viện và các mảnh gen được tạo ra trong các ví dụ 9)-1-1 đến 9)-1-4 là các khuôn mẫu sử dụng T7 RiboMax Express Large Scale RNA Production System (Promega Corp.).

9)-2 Sàng lọc bằng biểu thị ribosom

Biểu thị ribosom chuỗi H Fabs được tạo ra bằng sự kết hợp của thư viện chuỗi H và mảnh gen chuỗi L, và biểu thị ribosom chuỗi L Fabs được tạo ra bằng sự kết hợp của thư viện chuỗi L và mảnh gen chuỗi H. 20pmol của các ARN thông tin thư viện chuỗi H (hoặc chuỗi L) và 100pmol của các ribosom được bổ sung vào dung dịch phản ứng PUREfrex (GeneFrontier Corp.), và hỗn hợp được ủ ở 30°C trong 45 phút. Tương tự như vậy, 40pmol của các ARN thông tin chuỗi L (hoặc chuỗi H) và 200pmol của các ribosom được bổ sung vào dung dịch phản ứng PUREfrex, và hỗn hợp được ủ ở 30°C trong 45 phút. Tiếp theo, các dung dịch phản ứng sau dịch mã của thư viện chuỗi H (hoặc chuỗi L) và chuỗi L (hoặc chuỗi H) được trộn và được ủ thêm ở 30°C trong 90 phút để tạo ra biểu thị ribosom chuỗi H (hoặc chuỗi L) Fabs. Sau đó, phản ứng được kết thúc bằng cách làm mát đến 4°C. Sau đó, kháng nguyên được bổ sung vào dung

dịch phản ứng, và hỗn hợp được khuấy nhẹ ở 4°C trong 1 giờ sao cho mỗi Fab liên kết với kháng nguyên. Kháng nguyên được sử dụng là mẫu được cố định formalin của các tế bào CHO biểu hiện chủ yếu Orai1 ở người mà được thiết lập bởi sử dụng pcDNA3.1-hOrai1 được tạo ra trong mục 1)-1-1, hoặc peptit vùng vòng Orai1 ở người được biotin-PEGyl hóa (Sigma-Aldrich Corp.) được thể hiện dưới đây.

Peptit vùng vòng Orai1 ở người được Biotin-PEGyl hóa
 Biotin-PEG-
 SGSGFLPLKKQPGQPRPTSKPPASGAAANVSTSGITPGQAAAIASSTI
 (SEQ ID NO: 115)

Biểu thị ribosom Fabs liên kết với kháng nguyên được thu hồi sử dụng các hạt từ tính Nonolink Streptavidin (SoluLink, Inc.). Sau đó, kháng nguyên được rửa với Tris-HCl 50mM (pH 7,4), NaCl 150mM, Mg(OAc)₂ 15mM, Tween 20 0,05%, và ARN nấm men 1mg/mL, và với Tris-HCl 50mM (pH 7,4), NaCl 150mM, Mg(OAc)₂ 15mM, và Tween 20 0,05%. Sau đó, Tris-HCl 50mM (pH 7,4), NaCl 150mM, 15mM Mg(OAc)₂, và 50mM EDTA được bổ sung vào kháng nguyên, và hỗn hợp để nguyên ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút, tiếp theo là thu hồi phần nổi trên mặt chứa các ARN thông tin bằng ly tâm. Các ADN bổ trợ được tạo ra từ các ARN thông tin được thu hồi sử dụng bộ kit Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis (F. Hoffmann-La Roche, Ltd.) và sau đó được khuếch đại là các ADN bằng PCR sử dụng tập hợp đoạn mồi được đưa ra dưới đây và KOD-Plus-. Các ARN thông tin được tổng hợp với các ADN là các khuôn mẫu và được sàng lọc thêm theo cách tương tự như ở trên. Chu kỳ sàng lọc được thực hiện nhiều lần để lựa chọn gen của kháng thể liên kết mạnh với kháng nguyên.

Tập hợp đoạn mồi

5'-ATGGACATTCAACTGACCCAAAGC-3' (SEQ ID NO: 50; đoạn mồi Orai1-LcF)

5'-CAGATCCTCCTCAGAGATCAGCTTCTGCTC-3' (SEQ ID NO: 54; đoạn mồi Myc-R)

9)-3 Tạo ra protein Fab

Các gen được lựa chọn được tạo dòng phụ trong các vật truyền để biểu hiện trong *E. coli* và được sàng lọc bằng Cell ELISA cho các dòng với hoạt tính liên kết được cải thiện chống lại các tế bào CHO biểu hiện chủ yếu Orai1 ở người. Trước tiên, mỗi ADN được lựa chọn được phân cắt bằng các enzym giới hạn EcoRV và XhoI và được chèn vào vật truyền để biểu hiện Fab (GeneFrontier Corp.) được phân cắt bằng cùng các enzym như ở trên, mà sau đó được chuyển sang *E. coli* BL21 (DE3). Các thể biến nạp thu được như vậy được nuôi cấy ở 37°C trong 4 đến 5 giờ trong carbenixilin 150µL/glucoza 0,1%/2xYT mỗi lỗ trên đĩa đáy tròn 96 lỗ. Tiếp theo, đĩa được làm mát đến 4°C, và sau đó, IPTG được bổ sung vào đó ở nồng độ cuối là 0,5mM, tiếp theo là nuôi cấy lắc qua đêm ở 30°C. Tiếp theo, các tế bào vi khuẩn được thu hồi bằng ly tâm, và sau đó chất đệm tiêu hủy (lysozyme 2,5mg/mL, DNase I 100U) được bổ sung vào đó, tiếp theo là lắc ở nhiệt độ trong phòng trong 60 phút. Sau đó, phần nổi trên mặt được thu hồi bằng ly tâm để tạo ra các mẫu Fab.

9)-4 Sàng lọc bằng Cell ELISA

Các tế bào biểu hiện Orai1 ở người được nuôi cấy trong đĩa 384 lỗ đến khi trở thành tám hợp nhất. Sau đó, đĩa được rửa bằng chất đệm rửa (PBS(-), MgSO₄ 20mM, FBS 2,5%). Tiếp theo, các mẫu Fab được bổ sung vào đĩa, và đĩa được lắc ở 4°C trong 1 giờ. Sau khi rửa bốn lần bằng chất đệm rửa, kháng thể ở dê kháng F(ab')₂ ở người được đánh dấu peroxidaza (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.) được bổ sung vào đó, và đĩa được lắc ở 4°C trong 30 phút. Đĩa được rửa ba lần bằng chất đệm rửa và sau đó được rửa ba lần bằng PBS(-) và MgSO₄ 20mM. Sau đó, chất phản ứng sinh màu (tetrametyl-benzidin 0,4mg/mL, natri axetat 200mM (pH 3,4), dung dịch nước hydro peroxit 0,01%) được bổ sung vào đó, và đĩa được lắc ở nhiệt độ trong phòng trong 15 phút. Sau đó, HCl 2N được bổ sung vào đó, tiếp theo là đo OD₄₅₀. Mẫu Fab thể hiện OD₄₅₀ cao hơn chống lại các tế bào CHO biểu hiện chủ yếu Orai1 ở người, được so sánh với các tế bào CHO đối chứng, được lựa chọn.

9)-5 Hoạt tính liên kết kháng nguyên của kháng thể kháng Orai1 ở người Fab bằng đo tế bào theo dòng chảy

Để đánh giá tính đặc hiệu liên kết Orai1 ở người, huyền phù tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-DEST hoặc huyền phù tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 được tạo ra bằng phương pháp được thể hiện trong mục 1)-4-1 được ly tâm để loại bỏ phần nổi trên mặt. Sau đó, các tế bào HEK293T được tạo huyền phù bằng bổ sung dòng đột biến chuỗi nhẹ LCDR60, LCDR67, LCDR83, CE151, hoặc PE057 hoặc dòng đột biến chuỗi nặng HCDR046, HCDR047, HEP087, HEP124, hoặc HEP237 được lựa chọn trong mục 9)-4, hoặc kháng thể gốc Fab hR198_H4/L4-Fab, và để nguyên ở 4°C trong 30 phút. Các tế bào được rửa hai lần bằng PBS chứa 5% FBS, sau đó được tạo huyền phù bằng bổ sung thể tiếp hợp FITC kháng IgG ở người được pha loãng 100 lần bằng PBS chứa 5% FBS, và để nguyên ở 4°C trong 30 phút. Các tế bào được rửa hai lần bằng PBS chứa 5% FBS và sau đó được tạo lại huyền phù trong PBS chứa 5% FBS và propidium iodua 1µg/mL, tiếp theo là phát hiện sử dụng đo tế bào theo dòng chảy (FC500). Dữ liệu được phân tích sử dụng Flowjo. Sau khi loại bỏ các tế bào chết dương tính với propidium iodua bằng cách gạn, cường độ huỳnh quang FITC của các tế bào sống được vẽ cho biểu đồ để tính toán cường độ huỳnh quang trung bình (MFI). Các dòng đột biến chuỗi nhẹ LCDR60, LCDR67, LCDR83, CE151, và PE057 và các dòng đột biến chuỗi nặng HCDR046, HCDR047, HEP087, HEP124, và HEP237 không liên kết với các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-DEST, như với kháng thể gốc Fab hR198_H4/L4-Fab, và, như được thể hiện trên Fig.7, mỗi loại có khuynh hướng liên kết với Orai1 ở người trong các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 ở mức độ bằng hoặc mạnh hơn mức độ của kháng thể gốc Fab.

Ví dụ 10: Tạo ra kháng thể hoàn thiện ái lực của kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa

100 hoặc nhiều loại trong số các kháng thể hR198_H3/L3 được thiết kế được tạo ra bằng chuyển một số đột biến tăng cường hoạt tính được thấy ở các

dòng đột biến chuỗi nhẹ LCDR60, LCDR67, LCDR83, CE151, và PE057 và các dòng đột biến chuỗi nặng HCDR046, HCDR047, HEP087, HEP124, và HEP237 được lựa chọn trong ví dụ 9) tới hR198_H3/L3, và được đánh giá từ quan điểm về ái lực liên kết, hoạt tính *in vitro*, khả năng sản xuất, và tính kháng nguyên không đồng nhất chống lại con người. Kết quả là, các kháng thể được thể hiện dưới đây được lựa chọn.

10)-1 Kiến tạo kháng thể hoàn thiện ái lực của kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa

10)-1-1 Chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG1:

Chuỗi nhẹ R198 được nhân hóa được kiến tạo bằng cách thay thế gốc asparagin ở vị trí axit amin 51 bằng gốc glyxin, gốc threonin ở vị trí axit amin 113 bằng gốc isoleuxin, và gốc threonin ở vị trí axit amin 117 bằng gốc serin như cho chuỗi nhẹ hR198_L3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 35 của danh mục trình tự được chỉ định là “chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG1”.

Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 55 của danh mục trình tự. Các vị trí nucleotit 61 đến 702 mã hóa chuỗi nhẹ hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí nucleotit 61 đến 378 mã hóa vùng biến đổi. Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 56 của danh mục trình tự. Các vị trí axit amin 21 đến 234 thể hiện chuỗi nhẹ hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí axit amin 21 đến 126 thể hiện vùng biến đổi. Cả hai trình tự của các SEQ ID NO: 55 và 56 cũng được thể hiện trên Fig.30. Mỗi trình tự CDR và SEQ ID NO tương ứng của nó được thể hiện trên Fig.38.

10)-1-2 Chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG2:

Chuỗi nhẹ R198 được nhân hóa được kiến tạo bằng cách thay thế gốc arginin ở vị trí axit amin 44 bằng gốc histidin, gốc serin ở vị trí axit amin 48 bằng gốc asparagin, gốc asparagin ở vị trí axit amin 51 bằng gốc glyxin, gốc serin ở vị trí axit amin 70 bằng gốc leuxin, gốc axit glutamic ở vị trí axit amin 75 bằng gốc axit aspartic, gốc serin ở vị trí axit amin 76 bằng gốc tryptophan, gốc threonin ở vị trí axit amin 113 bằng gốc isoleuxin, và gốc threonin ở vị trí

axit amin 117 bằng gốc serin như cho chuỗi nhẹ hR198_L3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 35 của danh mục trình tự được chỉ định là “chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG2”.

Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 57 của danh mục trình tự. Các vị trí nucleotit 61 đến 702 mã hóa chuỗi nhẹ hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí nucleotit 61 đến 378 mã hóa vùng biến đổi. Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 58 của danh mục trình tự. Các vị trí axit amin 21 đến 234 thể hiện chuỗi nhẹ hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí axit amin 21 đến 126 thể hiện vùng biến đổi. Cả hai trình tự của các SEQ ID NO: 57 và 58 cũng được thể hiện trên Fig.31. Mỗi trình tự CDR và SEQ ID NO tương ứng của nó được thể hiện trên Fig.38.

10)-1-3 Chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG3:

Chuỗi nhẹ R198 được nhân hóa được kiến tạo bằng cách thay thế gốc arginin ở vị trí axit amin 44 bằng gốc histidin, gốc glutamin ở vị trí axit amin 47 bằng gốc arginin, gốc serin ở vị trí axit amin 48 bằng gốc asparagin, gốc asparagin ở vị trí axit amin 51 bằng gốc glyxin, gốc serin ở vị trí axit amin 70 bằng gốc leuxin, gốc threonin ở vị trí axit amin 73 bằng gốc serin, gốc axit glutamic ở vị trí axit amin 75 bằng gốc axit aspartic, gốc serin ở vị trí axit amin 76 bằng gốc tryptophan, gốc threonin ở vị trí axit amin 113 bằng gốc isoleuxin, và gốc threonin ở vị trí axit amin 117 bằng gốc serin như cho chuỗi nhẹ hR198_L3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 35 của danh mục trình tự được chỉ định là “chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG3”.

Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 59 của danh mục trình tự. Các vị trí nucleotit 61 đến 702 mã hóa chuỗi nhẹ hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí nucleotit 61 đến 378 mã hóa vùng biến đổi. Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 60 của danh mục trình tự. Các vị trí axit amin 21 đến 234 thể hiện chuỗi nhẹ hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí axit amin 21 đến 126 thể hiện vùng biến đổi.

Cả hai trình tự của các SEQ ID NO: 59 và 60 cũng được thể hiện trên Fig.32. Mỗi trình tự CDR và SEQ ID NO tương ứng của nó được thể hiện trên Fig.38.

10)-1-4 Chuỗi nặng kiểu hR198_HG1:

Chuỗi nặng R198 được nhân hóa được kiến tạo bằng cách thay thế gốc asparagin ở vị trí axit amin 78 bằng gốc axit aspartic, và gốc valin ở vị trí axit amin 123 bằng gốc alanin như cho chuỗi nặng hR198_H3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 43 của danh mục trình tự được chỉ định là “chuỗi nặng kiểu hR198_HG1”.

Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_HG1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 61 của danh mục trình tự. Các vị trí nucleotit 58 đến 1398 mã hóa chuỗi nặng hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí nucleotit 58 đến 408 mã hóa vùng biến đổi. Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_HG1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 62 của danh mục trình tự. Các vị trí axit amin 20 đến 466 thể hiện chuỗi nặng hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí axit amin 20 đến 135 thể hiện vùng biến đổi. Cả hai trình tự của các SEQ ID NO: 61 và 62 cũng được thể hiện trên Fig.33. Mỗi trình tự CDR và SEQ ID NO tương ứng của nó được thể hiện trên Fig.38.

10)-1-5 Chuỗi nặng kiểu hR198_HG2:

Chuỗi nặng R198 được nhân hóa được kiến tạo bằng cách thay thế gốc valin ở vị trí axit amin 48 bằng gốc isoleuxin, gốc asparagin ở vị trí axit amin 78 bằng gốc axit aspartic, gốc alanin ở vị trí axit amin 81 bằng gốc glyxin, và gốc valin ở vị trí axit amin 123 bằng gốc alanin như cho chuỗi nặng hR198_H3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 43 của danh mục trình tự được chỉ định là “chuỗi nặng kiểu hR198_HG2”.

Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_HG2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 63 của danh mục trình tự. Các vị trí nucleotit 58 đến 1398 mã hóa chuỗi nặng hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí nucleotit 58 đến 408 mã hóa vùng biến đổi. Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_HG2 được thể hiện trong SEQ ID NO: 64 của danh mục trình

tự. Các vị trí axit amin 20 đến 466 thể hiện chuỗi nặng hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí axit amin 20 đến 135 thể hiện vùng biến đổi. Cả hai trình tự của các SEQ ID NO: 63 và 64 cũng được thể hiện trên Fig.34. Mỗi trình tự CDR và SEQ ID NO tương ứng của nó được thể hiện trên Fig.38.

10)-1-6 Chuỗi nặng kiểu hR198_HG3:

Chuỗi nặng R198 được nhân hóa được kiến tạo bằng cách thay thế gốc valin ở vị trí axit amin 48 bằng gốc isoleuxin, gốc asparagin ở vị trí axit amin 78 bằng gốc axit aspartic, gốc alanin ở vị trí axit amin 81 bằng gốc methionin, và gốc valin ở vị trí axit amin 123 bằng gốc alanin như cho chuỗi nặng hR198_H3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 43 của danh mục trình tự được chỉ định là “chuỗi nặng kiểu hR198_HG3”.

Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_HG3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 65 của danh mục trình tự. Các vị trí nucleotit 58 đến 1398 mã hóa chuỗi nặng hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí nucleotit 58 đến 408 mã hóa vùng biến đổi. Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_HG3 được thể hiện trong SEQ ID NO: 66 của danh mục trình tự. Các vị trí axit amin 20 đến 466 thể hiện chuỗi nặng hoàn thiện được tạo ra bởi sự phân cắt trình tự tín hiệu. Các vị trí axit amin 20 đến 135 thể hiện vùng biến đổi. Cả hai trình tự của các SEQ ID NO: 65 và 66 cũng được thể hiện trên Fig.35. Mỗi trình tự CDR và SEQ ID NO tương ứng của nó được thể hiện trên Fig.38.

10)-2 Tạo ra vật truyền biểu hiện kháng thể hoàn thiện ái lực của kháng thể kháng Orail ở người được nhân hóa

10)-2-1 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG1

Các đột biến để thay thế gốc asparagin ở vị trí axit amin 51 bằng gốc glyxin, gốc threonin ở vị trí axit amin 113 bằng gốc isoleuxin, và gốc threonin ở vị trí axit amin 117 bằng gốc serin được đưa vào với pCMA-LK/hR198_L3 là khuôn mẫu sử dụng KOD-Plus-mutagenesis. Vật truyền biểu hiện thu được gồm

trình tự nucleotit được thể hiện bởi SEQ ID NO: 55 của danh mục trình tự được chỉ định là “pCMA-LK/hR198_LG1”.

10)-2-2 Xây dựng các vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG2 và LG3

Mảnh ADN gồm trình tự mã hóa vùng biến đổi hR198_LG3 được thể hiện trong các vị trí nucleotit 38 đến 402 trong trình tự nucleotit của hR198_LG3 được thể hiện bởi SEQ ID NO: 59 của danh mục trình tự được tổng hợp (GeneArt Artificial Gene Synthesis service). Mảnh ADN được tổng hợp được phân cắt bằng các enzym giới hạn EcoRV và AvaI và được chèn vào pCMA-LK/hR198_LG1 được phân cắt bằng cùng các enzym giới hạn như ở trên để xây dựng vật truyền biểu hiện hR198_LG3. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA-LK/hR198_LG3”.

Các đột biến để thay thế gốc arginin ở vị trí axit amin 47 bằng gốc glutamin và gốc serin ở vị trí axit amin 73 bằng gốc threonin được đưa vào với pCMA-LK/hR198_LG3 là khuôn mẫu sử dụng KOD-Plus-mutagenesis. Vật truyền biểu hiện thu được gồm trình tự nucleotit được thể hiện bởi SEQ ID NO: 57 của danh mục trình tự được chỉ định là “pCMA-LK/hR198_LG2”.

10)-2-3 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kiểu hR198_HG1

Các đột biến để thay thế gốc asparagin ở vị trí axit amin 78 bằng gốc axit aspartic và gốc valin ở vị trí axit amin 123 bằng gốc alanin được đưa vào với pCMA-G1/hR198_H3 là khuôn mẫu sử dụng KOD-Plus-mutagenesis. Vật truyền biểu hiện thu được gồm trình tự nucleotit được thể hiện bởi SEQ ID NO: 61 của danh mục trình tự được chỉ định là “pCMA-G1/hR198_HG1”.

10)-2-4 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kiểu hR198_HG2

Các đột biến để thay thế gốc valin ở vị trí axit amin 48 bằng gốc isoleuxin và gốc alanin ở vị trí axit amin 81 bằng gốc glyxin được đưa vào với pCMA-G1/hR198_HG1 là khuôn mẫu sử dụng KOD-Plus-mutagenesis. Vật truyền biểu hiện thu được gồm trình tự nucleotit được thể hiện bởi SEQ ID NO: 63 của danh mục trình tự được chỉ định là “pCMA-G1/hR198_HG2”.

10)-2-5 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kiểu hR198_HG3

Sự đột biến để thay thế gốc glyxin ở vị trí axit amin 81 bằng gốc methionin được đưa vào với pCMA-G1/hR198_HG2 là khuôn mẫu sử dụng KOD-Plus-mutagenesis. Vật truyền biểu hiện thu được gồm trình tự nucleotit được thể hiện bởi SEQ ID NO: 65 của danh mục trình tự được chỉ định là “pCMA-G1/hR198_HG3”.

10)-3 Tạo ra kháng thể hoàn thiện ái lực của kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa

Các tế bào FreeStyle 293F được chuyển nhiễm với mỗi vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa và mỗi vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa được tạo ra trong mục 10)-2 bằng phương pháp tương tự như trong mục 4)-5-1 để thu phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy chứa kháng thể.

Các kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa thu được bằng sự kết hợp của pCMA-G1/hR198_H3 hoặc pCMA-G1/hR198_HG1, pCMA-G1/hR198_HG2, hoặc pCMA-G1/hR198_HG3 được tạo khuôn mẫu chứa (các) đột biến với pCMA-LK/hR198_LG1, pCMA-LK/hR198_LG2, hoặc pCMA-LK/hR198_LG3 được chỉ định tương ứng là “hR198_H3/LG1”, “hR198_HG1/LG1”, “hR198_HG1/LG2”, “hR198_HG1/LG3”, “hR198_HG2/LG1”, và “hR198_HG3/LG1”.

Mỗi phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy thu được được tinh chế bằng sắc ký ái lực rProtein A bằng phương pháp tương tự như trong mục 4)-5-2 để thu mẫu kháng thể được tinh chế.

Ví dụ 11: Hoạt tính *In vitro* của kháng thể hoàn thiện ái lực

11)-1 Đánh giá khả năng của kháng thể hoàn thiện ái lực để liên kết bằng đo tế bào theo dòng chảy

Để đánh giá tính đặc hiệu liên kết Orai1 ở người, huyền phù tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-DEST hoặc huyền phù tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 được tạo ra bằng phương pháp được thể hiện trong mục 1)-4-1 được ly tâm để loại bỏ phần nổi trên mặt. Sau đó, các tế bào HEK293T được tạo huyền phù bằng bổ sung kháng thể hoàn

thiện ái lực hR198_H3/LG1, hR198_HG1/LG1, hR198_HG1/LG2, hR198_HG1/LG3, hR198_HG2/LG1, hoặc hR198_HG3/LG1 được tạo ra trong mục 10)-3 hoặc kháng thể gốc hR198_H3/L3 hoặc hR198_H4/L4, và được ủ ở 4°C trong 30 phút. Các tế bào được rửa hai lần bằng PBS chứa 5% FBS, sau đó được tạo huyền phù bằng bổ sung thể tiếp hợp FITC kháng IgG ở người được pha loãng 100 lần bằng PBS chứa 5% FBS, và được ủ ở 4°C trong 30 phút. Các tế bào được rửa hai lần bằng PBS chứa 5% FBS và sau đó được tạo lại huyền phù trong PBS chứa 5% FBS và propidium iodide 1 µg/mL, tiếp theo là phát hiện sử dụng đo tế bào theo dòng chảy (FC500). Dữ liệu được phân tích sử dụng Flowjo. Sau khi loại trừ các tế bào chết dương tính với propidium iodide bằng cách gạn, cường độ huỳnh quang FITC của các tế bào sống được vẽ là biểu đồ để tính toán cường độ huỳnh quang trung bình (MFI). Các kháng thể hoàn thiện ái lực hR198_H3/LG1, hR198_HG1/LG1, hR198_HG1/LG2, hR198_HG1/LG3, hR198_HG2/LG1, và hR198_HG3/LG1 không liên kết với các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-DEST, như với kháng thể gốc hR198_H3/L3 hoặc hR198_H4/L4, và, như được thể hiện trên Fig.8, mỗi loại có khuynh hướng liên kết với Orai1 ở người trong các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 ở mức độ bằng hoặc mạnh hơn mức độ của kháng thể gốc.

11)-2 Hiệu quả ức chế sự hoạt hóa tế bào T của kháng thể hoàn thiện ái lực

Các tế bào Jurkat dòng tế bào T ở người được tạo ra ở nồng độ $1,5 \times 10^6$ tế bào/mL trong RPMI1640 chứa FBS 10%, penicillin 100U/mL, và streptomycin 100 µg/mL, được ủ ở 80 µL/lỗ trên đĩa nuôi cấy tế bào 96 lỗ, và được xử lý sơ bộ với kháng thể hoàn thiện ái lực hR198_H3/LG1, hR198_HG1/LG1, hR198_HG1/LG2, hR198_HG1/LG3, hR198_HG2/LG1, hoặc hR198_HG3/LG1 hoặc kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa hR198_H3/L3 hoặc hR198_H4/L4 được bổ sung ở 10 µL/lỗ ở 37°C trong 60 phút ở điều kiện CO₂ 5%. Sau đó, PMA 100ng/mL và A23187 1 µg/mL được bổ sung ở 10 µL/lỗ và được khuấy kỹ, tiếp theo là nuôi cấy ở 37°C trong xấp xỉ 16 giờ ở điều kiện CO₂ 5%. Đĩa được khuấy kỹ và sau đó được ly tâm ở 600g trong 3 phút. Nồng độ IL-2 có trong phần nổi trên mặt được đo bằng ELISA. Fig.9 thể

hiện rằng các kháng thể hoàn thiện ái lực mỗi loại ức chế, theo cách phụ thuộc nồng độ, sự giải phóng IL-2 từ các tế bào Jurkat được xử lý với PMA và A23187. Các kháng thể hoàn thiện ái lực mỗi loại ức chế sự giải phóng IL-2 từ các tế bào Jurkat theo cách phụ thuộc nồng độ và tất cả là tốt hơn về hoạt tính ức chế đối với các kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa hH3/L3 và hH4/L4, mà là các kháng thể gốc.

Ví dụ 12: Tạo ra dạng được thiết kế với hoạt tính chất tác động khử của kháng thể hoàn thiện ái lực

Trình tự hR198_HG1-LALA được thiết kế vùng hằng định có nguồn gốc từ hR198_HG1 bằng sự thay thế hai gốc axit amin trong vùng hằng định được xây dựng như được mô tả trong các ví dụ dưới đây.

12)-1 Kiến tạo vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kiểu LALA

Đối với việc phá vỡ tính độc tế bào chống lại các tế bào thông thường biểu hiện Orai1 ở người, mong muốn rằng kháng thể sẽ có hoạt tính chất tác động thấp. Hoạt tính chất tác động đã biết là khác nhau trong số các phân lớp kháng thể. Các đặc trưng sau đây được quan sát, chẳng hạn, IgG4 có các hoạt tính ADCC và CDC thấp, và IgG2 có hoạt tính CDC, nhưng có hoạt tính ADCC thấp. Trên cơ sở các đặc điểm này, có thể tạo ra kháng thể IgG1 với các hoạt tính ADCC và CDC được khử bằng cách thay thế một phần các trình tự vùng hằng định của IgG1 liên quan tới IgG2 hoặc IgG4. Một ví dụ là, Marjan Hezareh et al., Journal of Virology, 75 (24): 12161-12168 (2001) thể hiện rằng các hoạt tính ADCC và CDC của IgG1 được khử bằng cách thay thế mỗi gốc leuxin ở các vị trí 234 và 235 (các vị trí được chỉ định bởi chỉ số EU của Kabat et al.) của IgG1 bằng gốc alanin. Theo đó, chuỗi nặng kháng thể kháng Orai1 ở người được nhân hóa được kiến tạo bằng cách thay thế gốc leuxin ở vị trí axit amin 253 bằng gốc alanin và gốc leuxin ở vị trí axit amin 254 bằng gốc alanin như cho chuỗi nặng kiểu hR198_HG1 được tạo ra trong mục 10)-1 được chỉ định là “chuỗi nặng kiểu hR198_HG1-LALA”.

12)-2 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kiểu LALA

12)-2-1 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kiểu hR198_HG1-LALA

Các đột biến được đưa vào với chuỗi nặng kiểu hR198_H4 pCMA-G1/hR198_H4 được tạo ra trong mục 7)-2 làm khuôn mẫu sử dụng bộ kit KOD-Plus-mutagenesis để xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kiểu hR198_H4-LALA. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA-G1-LALA/hR198_H4”. Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H4-LALA và trình tự axit amin của chuỗi nặng được thể hiện tương ứng trong các SEQ ID NO: 67 và 68 (Fig.36), của danh mục trình tự.

Mảnh ADN xấp xỉ 0,6kb gồm kháng thể trình tự mã hóa vùng biến đổi thu được bằng cách cắt pCMA-G1/hR198_HG1 được tạo ra trong mục 10)-2 bằng các enzym giới hạn PstI và XbaI, và được chèn vào mảnh ADN xấp xỉ 4,2kb thu được bằng cách cắt pCMA-G1-LALA/hR198_H4 bằng các enzym giới hạn tương tự ở trên sử dụng Ligation High ver.2 để xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kiểu hR198_HG1-LALA. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA-G1-LALA/hR198_HG1”. Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_HG1-LALA và trình tự axit amin của chuỗi nặng được thể hiện tương ứng trong các SEQ ID NO: 69 và 70 (Fig.37), của danh mục trình tự.

12)-3 Tạo ra dạng được thiết kế với hoạt tính chất tác động khử của kháng thể hoàn thiện ái lực

12)-3-1 Sản xuất dạng được thiết kế với hoạt tính chất tác động khử của kháng thể hoàn thiện ái lực

Các tế bào FreeStyle 293F (Life Technologies Corp.) được cấy truyền và được nuôi cấy theo tài liệu hướng dẫn. $1,2 \times 10^9$ tế bào FreeStyle 293F (Life Technologies Corp.) ở pha sinh trưởng logarit được ủ vào bình Fernbach Erlenmeyer thể tích 3L (Corning Inc.), được tạo ra ở $1,0 \times 10^6$ tế bào/mL bằng cách pha loãng với môi trường biểu hiện FreeStyle 293 (Invitrogen Corp.), và sau đó được nuôi cấy lắc ở 90 vòng/phút ở 37°C trong 1 giờ trong tủ áp 8% CO₂. 3,6mg polyetylenimin (Polysciences #24765) được hòa tan trong 20mL Opti-Pro SFM (Life Technologies Corp.). Tiếp theo, mỗi vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ (0,8mg) và mỗi vật truyền biểu hiện chuỗi nặng (0,4 mg) được tạo ra sử dụng bộ kit PureLink HiPure Plasmid (Life Technologies Corp.) được bổ sung vào 20mL

Opti-Pro SFM (Life Technologies Corp.). 20mL dung dịch trộn lẫn vật truyền biểu hiện/Opti-Pro SFM được bổ sung vào 20mL dung dịch trộn lẫn polyetylenimin/Opti-Pro SFM, và hỗn hợp được khuấy nhẹ, được để nguyên thêm trong 5 phút, và sau đó được bổ sung vào các tế bào FreeStyle 293F. Các tế bào được nuôi cấy lắc ở 90 vòng/phút ở 37°C trong 7 ngày trong tủ áp 8% CO₂, và phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy thu được được lọc qua bộ lọc Disposable Capsule (ADVANTEC #CCS-045-E1H). hR198_HG1/LG1 được sinh ra bởi sự kết hợp của pCMA-G1/hR198_HG1 và pCMA-LK/hR198_LG1, và hR198_HG1-LALA/LG1 được sinh ra bởi sự kết hợp của pCMA-G1-LALA/hR198_HG1 và pCMA-LK/hR198_LG1.

12)-3-2 Tinh chế theo hai bước dạng được thiết kế với hoạt tính chất tác động khử của kháng thể hoàn thiện ái lực

Mỗi kháng thể được tinh chế từ phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy thu được trong ví dụ 12)-3-1 theo hai bước sử dụng sắc ký ái lực rProtein A (ở 4 đến 6°C) và hydroxyapatit gồm (ở nhiệt độ trong phòng). Bước thay thế chất đệm sau khi tinh chế bằng sắc ký ái lực rProtein A và sau khi tinh chế bằng hydroxyapatit gồm được thực hiện ở 4 đến 6°C. Phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy được cấp vào cột MabSelectSuRe (GE Healthcare Bio-Sciences Corp., HiTrap column) được làm cân bằng bằng PBS. Sau khi đưa toàn bộ phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy lên cột, cột được rửa bằng PBS với 2 lần thể tích cột hoặc nhiều hơn. Tiếp theo, các phân đoạn chứa kháng thể được thu gom bằng rửa giải với dung dịch arginin hydroclorua 2M (pH 4,0). Các chất đệm của các phân đoạn được thay thế bởi PBS bằng thẩm tách (Thermo Fisher Scientific Inc., Slide-A-Lyzer Dialysis Cassette) và sau đó được pha loãng 5 lần bằng chất đệm là natri phosphat 5mM/MES 50mM (pH 7,0). Dung dịch kháng thể thu được được cấp lên cột hydroxyapatit gồm (Bio-Rad Laboratories, Inc., Bio-Scale CHT Type-1 Hydroxyapatite Column) được làm cân bằng bằng chất đệm là NaPi 5mM/MES 50mM/NaCl 30mM (pH 7,0). Các phân đoạn chứa kháng thể được thu gom bằng rửa giải gradien nồng độ tuyến tính với natri clorua. Các chất đệm của các phân đoạn được thay thế bằng HBSor (histidin 25mM/sorbitol

5%, pH 6,0) bằng thẩm tách (Thermo Fisher Scientific Inc., Slide-A-Lyzer Dialysis Cassette). Dung dịch được cô thành nồng độ IgG là 5mg/mL hoặc cao hơn sử dụng Centrifugal UF Filter Device VIVASPIN 20 (chặn theo trọng lượng phân tử: UF10K, Sartorius Japan K.K., 4°C). Cuối cùng, dung dịch kháng thể được lọc qua bộ lọc Minisart-Plus (Sartorius Japan K.K.) và được sử dụng là mẫu được tinh chế.

Ví dụ 13: Tạo ra các vật truyền biểu hiện 2C1.1 và 5H3.1 kháng thể kháng Orai1 ở người của người

Các kháng thể 2C1.1 và 5H3.1 được tạo ra trên cơ sở trình tự các axit amin của các chuỗi nhẹ và nặng được mô tả trong WO2011063277A1.

13)-1 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kiểu IgG2 được khảm và được nhân hóa pCMA-G2

Mảnh ADN thu được bằng cách cắt pCMA-LK bằng XbaI và PmeI để loại bỏ trình tự mã hóa tín hiệu tiết chế chuỗi κ và vùng hằng định chuỗi κ ở người được gắn với mảnh ADN (được thể hiện trong SEQ ID NO: 71 của danh mục trình tự) gồm trình tự mã hóa tín hiệu tiết chế chuỗi nặng ở người và các axit amin của vùng hằng định IgG2 ở người sử dụng bộ kit tách dòng In-Fusion Advantage PCR để xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kiểu IgG2 khảm và được nhân hóa pCMA-G2 có trình tự tín hiệu, khu vực tách dòng, và xuôi dòng trình tự mã hóa vùng hằng định chuỗi nặng IgG2 ở người của đoạn khởi đầu CMV.

13)-2 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kháng thể 2C1.1

Mảnh ADN gồm trình tự mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể 2C1.1 được thể hiện trong các vị trí nucleotit 36 đến 434 trong trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 2C1.1 được thể hiện bởi SEQ ID NO: 72 của danh mục trình tự được tổng hợp (GeneArt Artificial Gene Synthesis service). Mảnh ADN gồm trình tự mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể 2C1.1 được khuếch đại với mảnh ADN được tổng hợp làm khuôn mẫu sử dụng KOD-Plus- và được chèn vào vị trí tương ứng của vật truyền biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 kháng thể khảm và được nhân hóa pCMA-G2 được phân cắt bằng enzym giới

hạn BlnI sử dụng bộ kit tách dòng In-Fusion HD PCR để xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kháng thể 2C1.1. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA-G2/2C1.1”.

Trình tự axit amin của chuỗi nặng kháng thể 2C1.1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 73 của danh mục trình tự.

13)-3 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể 2C1.1

Mảnh ADN gồm các trình tự mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ và vùng hằng định (chuỗi λ) kháng thể 2C1.1 được thể hiện trong các vị trí nucleotit 38 đến 739 trong trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 2C1.1 được thể hiện bởi SEQ ID NO: 74 của danh mục trình tự được tổng hợp (GeneArt Artificial Gene Synthesis service). Mảnh ADN gồm các trình tự mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ và vùng hằng định kháng thể 2C1.1 được khuếch đại với mảnh ADN được tổng hợp làm khuôn mẫu sử dụng KOD-Plus- và được chèn vào vị trí tương ứng của vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể khảm và được nhân hóa pCMA-LK được phân cắt bằng các enzym giới hạn BsiWI và PmeI sử dụng bộ kit tách dòng In-Fusion HD PCR để xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể 2C1.1. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA-L/2C1.1”.

Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kháng thể 2C1.1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 75 của danh mục trình tự.

13)-4 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kháng thể 5H3.1

Mảnh ADN gồm trình tự mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể 5H3.1 được thể hiện trong các vị trí nucleotit 36 đến 434 trong trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 5H3.1 được thể hiện bởi SEQ ID NO: 76 của danh mục trình tự được tổng hợp (GeneArt Artificial Gene Synthesis service). Vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kháng thể 5H3.1 được xây dựng bằng phương pháp tương tự như trong ví dụ 13)-2. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA-G2/5H3.1”.

Trình tự axit amin của chuỗi nặng kháng thể 5H3.1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 77 của danh mục trình tự.

13)-5 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể 5H3.1

Mảnh ADN gồm các trình tự mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ và vùng hằng định kháng thể 5H3.1 được thể hiện trong các vị trí nucleotit 38 đến 742 trong trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 5H3.1 được thể hiện bởi SEQ ID NO: 78 của danh mục trình tự được tổng hợp (GeneArt Artificial Gene Synthesis service). Vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể 5H3.1 được xây dựng bằng phương pháp tương tự như trong ví dụ 13)-3. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA-L/5H3.1”.

Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kháng thể 5H3.1 được thể hiện trong SEQ ID NO: 79 của danh mục trình tự.

13)-6 Tạo ra các kháng thể 2C1.1 và 5H3.1

13)-6-1 Sản xuất các kháng thể 2C1.1 và 5H3.1

Mỗi kháng thể được sản xuất bằng phương pháp tương tự như trong ví dụ 12)-3-1. Kháng thể 2C1.1 được sản xuất bằng sự kết hợp của pCMA-G2/2C1.1 và pCMA-L/2C1.1, và kháng thể 5H3.1 được sản xuất bằng sự kết hợp của pCMA-G2/5H3.1 và pCMA-L/5H3.1.

13)-6-2 Tinh chế theo hai bước các kháng thể 2C1.1 và 5H3.1

Mỗi kháng thể được tinh chế theo hai bước bằng phương pháp tương tự như trong ví dụ 12)-3-2 từ phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy được sản xuất trong ví dụ 13)-6-1.

Ví dụ 14: Tạo ra các kháng thể kháng Orai1 ở người của chuột nhắt 10F8, 14F74, và 17F6

Các kháng thể 10F8, 14F74, và 17F6 được tạo ra trên cơ sở trình tự các axit amin các chuỗi nhẹ và nặng được mô tả trong WO2013091903A1.

14)-1 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kháng thể 10F8

Mảnh ADN gồm trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 10F8 được thể hiện bởi SEQ ID NO: 80 của danh mục trình tự được tổng hợp (GeneArt Artificial Gene Synthesis service). Mảnh ADN gồm trình tự mã hóa chuỗi nặng kháng thể 10F8 được khuếch đại với mảnh ADN được tổng hợp làm khuôn mẫu sử dụng KOD-Plus- và được chèn vào vị trí từ đó trình tự mã

hóa tín hiệu tiết chế chuỗi κ và vùng hằng định chuỗi κ ở người được loại bỏ bằng cắt vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể khảm và được nhân hóa pCMA-LK bằng các enzym giới hạn XbaI và PmeI, sử dụng bộ kit tách dòng In-Fusion HD PCR để xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kháng thể 10F8. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA/10F8H”.

Trình tự axit amin của chuỗi nặng kháng thể 10F8 được thể hiện trong SEQ ID NO: 81 của danh mục trình tự.

14)-2 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể 10F8

Mảnh ADN gồm trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 10F8 được thể hiện bởi SEQ ID NO: 82 của danh mục trình tự được tổng hợp (GeneArt Strings DNA Fragments). Mảnh ADN được tổng hợp được chèn vào vị trí từ đó trình tự mã hóa tín hiệu tiết chế chuỗi κ và vùng hằng định chuỗi κ ở người được loại bỏ bằng cắt vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể khảm và được nhân hóa pCMA-LK bằng các enzym giới hạn XbaI và PmeI, sử dụng bộ kit tách dòng In-Fusion HD PCR để xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể 10F8. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA/10F8L”.

Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kháng thể 10F8 được thể hiện trong SEQ ID NO: 83 của danh mục trình tự.

14)-3 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kháng thể 14F74

Mảnh ADN gồm trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 14F74 được thể hiện bởi SEQ ID NO: 84 của danh mục trình tự được tổng hợp (GeneArt Artificial Gene Synthesis service). Vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kháng thể 14F74 được xây dựng bằng phương pháp tương tự như trong ví dụ 14)-1. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA/14F74H”.

Trình tự axit amin của chuỗi nặng kháng thể 14F74 được thể hiện trong SEQ ID NO: 85 của danh mục trình tự.

14)-4 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể 14F74

Mảnh ADN gồm trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 14F74 được thể hiện bởi SEQ ID NO: 86 của danh mục trình tự được tổng hợp (GeneArt Strings DNA Fragments). Vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể

14F74 được xây dựng bằng phương pháp tương tự như trong ví dụ 14)-2. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA/14F74L”.

Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kháng thể 14F74 được thể hiện trong SEQ ID NO: 87 của danh mục trình tự.

14)-5 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kháng thể 17F6

Mảnh ADN gồm trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 17F6 được thể hiện bởi SEQ ID NO: 88 của danh mục trình tự được tổng hợp (GeneArt Artificial Gene Synthesis service). Vật truyền biểu hiện chuỗi nặng kháng thể 17F6 được xây dựng bằng phương pháp tương tự như trong ví dụ 14)-1. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA/17F6H”.

Trình tự axit amin của chuỗi nặng kháng thể 17F6 được thể hiện trong SEQ ID NO: 89 của danh mục trình tự.

14)-6 Xây dựng vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể 17F6

Mảnh ADN gồm trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 17F6 được thể hiện bởi SEQ ID NO: 90 của danh mục trình tự được tổng hợp (GeneArt Strings DNA Fragments). Vật truyền biểu hiện chuỗi nhẹ kháng thể 17F6 được xây dựng bằng phương pháp tương tự như trong ví dụ 14)-2. Vật truyền biểu hiện thu được được chỉ định là “pCMA/17F6L”.

Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kháng thể 17F6 được thể hiện trong SEQ ID NO: 91 của danh mục trình tự.

14)-7 Tạo ra các kháng thể 10F8, 14F74, và 17F6

14)-7-1 Sản xuất các kháng thể 10F8, 14F74, và 17F6

Mỗi kháng thể được sản xuất bằng phương pháp tương tự như trong ví dụ 12)-3-1. Kháng thể 10F8 được sản xuất bằng sự kết hợp của pCMA/10F8H và pCMA/10F8L. Kháng thể 14F74 được sản xuất bằng sự kết hợp của pCMA/14F74H và pCMA/14F74L. Kháng thể 17F6 được sản xuất bằng sự kết hợp của pCMA/17F6H và pCMA/17F6L.

14)-7-2 Tinh chế theo hai bước các kháng thể 10F8, 14F74, và 17F6

Mỗi kháng thể được tinh chế theo hai bước bằng phương pháp tương tự như trong ví dụ 12)-3-2 từ phần nổi trên mặt môi trường nuôi cấy thu được trong ví dụ 14)-7-1.

Ví dụ 15: So sánh hoạt tính *In vitro* của dạng được thiết kế với hoạt tính chất tác động khử của kháng thể hoàn thiện ái lực với các kháng thể kháng Orai1 ở người khác

15)-1 Hoạt tính liên kết kháng nguyên của kháng thể kháng Orai1 ở người bằng đo tế bào theo dòng chảy

Huyền phù tế bào của các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm bằng phương pháp được thể hiện trong mục 1)-4-2 với mỗi vật truyền biểu hiện Orai1 ở người được xây dựng trong mục 1)-1-1 được ly tâm để loại bỏ phần nổi trên mặt. Sau đó, các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1 hoặc các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-DEST được tạo huyền phù bằng bổ sung hR198_HG1/LG1 hoặc hR198_HG1/LG1-LALA được tạo ra trong mục 12)-3, 2C1.1 hoặc 5H3.1 được tạo ra trong mục 13)-6, 10F8, 14F74, hoặc 17F6 được tạo ra trong mục 14)-7, hoặc kháng thể đối chứng IgG ở người hoặc kháng thể đối chứng IgG ở chuột nhất là đối chứng, và được ủ ở 4°C trong 30 phút. Các tế bào được rửa hai lần bằng PBS chứa 5% FBS, sau đó được tạo huyền phù bằng bổ sung thể tiếp hợp FITC kháng IgG ở người được pha loãng 100 lần bằng PBS chứa 5% FBS đối với các kháng thể ở người hoặc thể tiếp hợp FITC kháng IgG ở chuột nhất (Cappel Laboratories, Inc.) đối với các kháng thể ở chuột nhất, và được ủ ở 4°C trong 30 phút. Các tế bào được rửa hai lần bằng PBS chứa 5% FBS và sau đó được tạo lại huyền phù trong PBS chứa 5% FBS và propidium iodua 1µg/mL, tiếp theo là phát hiện sử dụng đo tế bào theo dòng chảy (FC500). Dữ liệu được phân tích sử dụng Flowjo. Sau khi loại trừ các tế bào chết dương tính với propidium iodua bằng cách gạt, cường độ huỳnh quang FITC của các tế bào sống được vẽ là biểu đồ để tính toán cường độ huỳnh quang trung bình (MFI). hR198_HG1/LG1, hR198_HG1-LALA/LG1, 2C1.1, 5H3.1, 10F8, 14F74, và 17F6 không liên kết với các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-DEST, và, như được thể hiện trên Fig.10 (các kháng thể ở

chuột nhất) và Fig.11 (các kháng thể ở người), mỗi loại liên kết với các tế bào HEK293T được chuyển nhiễm pcDNA3.1-hOrai1, chứng minh rằng tất cả các kháng thể này liên kết đặc hiệu với Orai1 ở người. Mặt khác, không có liên kết như vậy được quan sát trong kháng thể đối chứng IgG ở chuột nhất.

15)-2 Hiệu quả ức chế sự hoạt hóa dòng tế bào T ở người của kháng thể kháng Orai1 ở người

Các tế bào Jurkat dòng tế bào T ở người được tạo ra ở nồng độ $1,5 \times 10^6$ tế bào/mL trong RPMI1640 (chứa FBS 10%, penixilin 100U/mL, và streptomycin 100µg/mL), được ủ ở 80 µL/lỗ trên đĩa nuôi cấy tế bào 96 lỗ, và được xử lý sơ bộ với hR198_HG1/LG1, hR198_HG1-LALA/LG1, 2C1.1, 5H3.1, 10F8, 14F74, hoặc 17F6 được bổ sung ở 10µL/lỗ ở 37°C trong 60 phút ở điều kiện CO₂ 5%. Sau đó, PMA 100ng/mL và A23187 1µg/mL được bổ sung ở 10µL/lỗ (nồng độ cuối: PMA 10ng/mL và A23187 100ng/mL) và được khuấy kỹ, tiếp theo là nuôi cấy ở 37°C trong xấp xỉ 16 giờ ở điều kiện CO₂ 5%. Đĩa được khuấy kỹ và sau đó được ly tâm ở 600g trong 3 phút. Nồng độ IL-2 có trong phần nổi trên mặt được đo bằng ELISA. Fig.12 thể hiện rằng các kháng thể kháng Orai1 ở người mỗi loại ức chế, theo cách phụ thuộc nồng độ, sự giải phóng IL-2 từ các tế bào Jurkat được xử lý với PMA và A23187. Fig.13 thể hiện các nồng độ ức chế bán cực đại (IC₅₀) và các nồng độ ức chế 80% (IC₈₀) của hR198_HG1/LG1, hR198_HG1-LALA/LG1, 2C1.1, 5H3.1, 10F8, 14F74, và 17F6 với nồng độ IL-2 không có mặt kháng thể được xác định là 100%. IC₅₀ của các kháng thể của các kỹ thuật đã biết là 80ng/mL hoặc cao hơn, ngược lại IC₅₀ của các kháng thể đặc trưng của sáng chế là 10ng/mL hoặc thấp hơn. IC₈₀ của các kháng thể của các kỹ thuật đã biết là 60000ng/mL hoặc cao hơn, ngược lại IC₈₀ của các kháng thể đặc trưng của sáng chế là 200ng/mL hoặc thấp hơn.

15)-3 Các hiệu quả ức chế sự hoạt hóa tế bào đơn nhân máu ngoại vi ở người của dạng được thiết kế với hoạt tính chất tác động khử của kháng thể hoàn thiện ái lực và các kháng thể kháng Orai1 ở người khác

Các tế bào đơn nhân trong máu ngoại vi (PBMC) ở người được thu là sản phẩm đông lạnh từ Cellular Technology Ltd. và được sử dụng sau khi rã đông

theo tài liệu hướng dẫn. PBMC được tạo ra ở nồng độ $2,0 \times 10^6$ tế bào/mL trong RPMI1640 chứa FBS 10%, penixilin 100U/mL, và streptomycin 100 μ g/mL được ủ ở 80 μ L/lỗ trên đĩa nuôi cấy tế bào 96 lỗ, và được xử lý sơ bộ với mỗi kháng thể kháng Orai1 ở người được bổ sung ở 10 μ L/lỗ trong 60 phút trong tủ áp ở 37°C. Sau đó, PMA 100ng/mL và A23187 1 μ g/mL được bổ sung ở 10 μ L/lỗ và được khuấy kỹ, tiếp theo là nuôi cấy ở 37°C trong xấp xỉ 16 giờ ở điều kiện CO₂ 5%. Đĩa được khuấy kỹ và sau đó được ly tâm ở 600g trong 3 phút. Nồng độ IL-2 và nồng độ interferon gamma (IFN- γ) (Mabtech AB) có trong phần nổi trên mặt được đo bằng ELISA. Fig.51 thể hiện rằng các kháng thể kháng Orai1 ở người mỗi loại ức chế, theo cách phụ thuộc nồng độ, sự giải phóng IL-2 từ PBMC ở người được xử lý với PMA và A23187. Fig.52 thể hiện các nồng độ ức chế bán cực đại (IC₅₀) và các nồng độ ức chế 80% (IC₈₀) của hR198_HG1/LG1, hR198_HG1-LALA/LG1, 2C1.1, 5H3.1, 10F8, 14F74, và 17F6 với nồng độ IL-2 khi không có mặt kháng thể được xác định là 100%. IC₅₀ của các kháng thể của các kỹ thuật đã biết là 100ng/mL hoặc cao hơn, ngược lại IC₅₀ của các kháng thể đặc trưng của sáng chế là 20ng/mL hoặc thấp hơn. IC₈₀ của các kháng thể của các kỹ thuật đã biết là 17000ng/mL hoặc cao hơn, ngược lại IC₈₀ của các kháng thể đặc trưng của sáng chế là 400ng/mL hoặc thấp hơn. Fig.53 thể hiện rằng các kháng thể kháng Orai1 ở người mỗi loại ức chế, theo cách phụ thuộc nồng độ, sự giải phóng IFN- γ từ PBMC ở người được xử lý với PMA và A23187. Fig.54 thể hiện các nồng độ ức chế bán cực đại (IC₅₀) và các nồng độ ức chế 80% (IC₈₀) của hR198_HG1/LG1, hR198_HG1-LALA/LG1, 2C1.1, 5H3.1, 10F8, 14F74, và 17F6 với nồng độ IFN- γ khi không có mặt kháng thể được xác định là 100%. IC₅₀ của các kháng thể của các kỹ thuật đã biết là 800ng/mL hoặc cao hơn, ngược lại IC₅₀ của các kháng thể đặc trưng của sáng chế là 40ng/mL hoặc thấp hơn. IC₈₀ của các kháng thể của các kỹ thuật đã biết là 300000ng/mL hoặc cao hơn, ngược lại IC₈₀ của các kháng thể đặc trưng của sáng chế là 2000ng/mL hoặc thấp hơn.

Ví dụ 16: Hoạt tính *In vivo* của hR198_HG1/LG1

16)-1 Hiệu quả cho dùng hR198_HG1/LG1 đối với mô hình bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ ở chuột nhất được cấy ghép PBMC ở người

Đã biết phản ứng tương tự bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ ở người có thể được kích ứng bởi cấy ghép PBMC ở người cho các con chuột nhất NSG (NOD.Cg-*Prkdc*^{scid}*Il2rg*^{tm1Wjl}/SzJ), mà là các con chuột thiếu hụt miễn dịch phối hợp trầm trọng (Clinical and Experimental Immunology, 157: 104-118 (2009)). 17 con chuột đực NSG sáu tuần tuổi được thu từ Charles River Laboratories Japan, Inc. được chiếu các tia X ở 2,0 Gy (Hitachi X-ray irradiation apparatus MBR-1520R-4). Sau đó, các con chuột được chia thành 1 nhóm gồm hai con chuột và 3 nhóm mỗi nhóm gồm 5 con chuột. hR198_HG1/LG1 được tạo ra ở 3mg/mL và 6mg/mL với HBSor (histidin 25mM /sorbitol 5%, pH 6,0) được cho dùng trong tĩnh mạch ở 10mL/kg, tức là, 30mg/kg và 60mg/kg, cho đuôi của các con chuột của 2 nhóm (n = 5). Chỉ HBSor được cho dùng cho 1 nhóm nữa (n = 5) là nhóm tá dược lỏng. Vào ngày tiếp theo, PBMC ở người đông lạnh (Cellular Technology Ltd.) được rã đông sử dụng CTL-antiaggregate (Cellular Technology Ltd.) theo cách thức, và 3.000.000 tế bào PBMC ở người được tạo huyền phù trong 200µL PBS và được cấy ghép vào các con chuột của 3 nhóm (n = 5), trong khi PBMC ở người không được cấy ghép cho 1 nhóm (n = 2), mà được quan sát theo thời gian là nhóm đối chứng được chiếu tia X. 0, 7, 14, và 21 ngày sau khi chiếu tia X, hR198_HG1/LG1 hoặc HBSor được cho dùng ở cùng liều lượng như ở trên cho các nhóm cho dùng. Trọng lượng cơ thể của mỗi chuột nhất được đo ở ngày 0, 1, 4, 7, 9, 10, 11, và 13, và sau đó là mọi ngày. Thay đổi về trọng lượng cơ thể được tính toán theo phần trăm so với trọng lượng cơ thể ở ngày 0 được xác định là 100%. Thay đổi về trọng lượng cơ thể trung bình của mỗi nhóm được thể hiện trên Fig.55. Suy giảm về trọng lượng cơ thể trung bình của nhóm cho dùng tá dược lỏng bắt đầu được quan sát từ ngày 16. Thực nghiệm được kết thúc ở ngày 21 khi trọng lượng cơ thể trung bình của nhóm cho dùng tá dược lỏng xuống dưới 80%. Ở thời điểm này, nhóm đối chứng được chiếu tia X mà không nhận PBMC ở người không thể hiện giảm trọng lượng. Các con chuột được cho dùng hR198_HG1/LG1 ở 30mg/kg và

60mg/kg không giảm trọng lượng cơ thể của chúng, và trọng lượng cơ thể trung bình bằng trọng lượng của các con chuột không được cấy ghép PBMC ở người. hR198_HG1/LG1 (kháng thể kháng Orai1) ngăn chặn đáng kể các triệu chứng của bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ gây ra bởi sự hoạt hóa PBMC ở người trong hệ thống này được mong đợi có hiệu quả điều trị và/hoặc phòng ngừa đối với bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ ở người.

16)-2 Đánh giá hoạt tính *In vivo* của hR198_HG1/LG1 sử dụng chuột nhất biểu hiện gen nhập Orai1 ở người

16)-2-1 Tạo ra chuột nhất biểu hiện gen nhập Orai1 ở người

Các con chuột nhất biểu hiện gen nhập Orai1 ở người trong đó trình tự axit amin của vùng vòng ngoại bào của Orai1 chuột nhất được thay thế bằng trình tự Orai1 ở người được tạo ra bởi Institute of Immunology Co., Ltd. theo phương pháp tiêu chuẩn là tạo ra chuột nhất được thiết kế di truyền. Tóm lại, vật truyền hướng đích biểu hiện gen nhập gen Orai1 ở người được xây dựng bằng cách thay thế trình tự ADN của vùng mã tách dòng BAC gồm locut gen Orai1 ở chuột nhất bằng locut gen Orai1 ở người trong khi đưa vào đó gen kháng neomycin được chặn bằng các trình tự loxP. Các tế bào chuột nhất ES được chuyển nhiễm với vật truyền hướng đích để thiết lập dòng kháng G418. Dòng tế bào ES có locut gen đích tái tổ hợp đặc hiệu được sàng lọc bằng lai hóa Southern. Chỉ thị lựa chọn được loại bỏ bằng chuyển nhiễm với vật truyền biểu hiện Cre, và dòng tế bào ES thu được được sử dụng để tạo ra các con chuột F1 khảm. Tạo kiểu gen được thực hiện bằng lai Southern để lựa chọn các cá thể đột biến dị hợp tử trong số các con chuột F1. Các cá thể đột biến dị hợp tử được lựa chọn F1 được cho giao phối để tạo ra các con chuột biểu hiện gen nhập Orai1 ở người là các đột biến đồng hợp tử F2.

16)-2-2 Hiệu quả ngăn chặn phản ứng phản vệ da thụ động (PCA-Passive cutaneous anaphylaxis) của hR198_HG1/LG1

Phản ứng PCA ở chuột nhất được thực hiện theo phương pháp tiêu chuẩn. Các con chuột biểu hiện gen nhập Orai1 ở người tám tuần tuổi được tạo ra bởi Immunology Co., Ltd., hoặc các con chuột để kiểu hoang được giữ nguyên trạng

thái. Sau đó, hR198_HG1/LG1 được tạo ra ở 6mg/mL với HBSor được cho dùng trong tĩnh mạch ở 10mL/kg, tức là, 60mg/kg, ở đuôi các con chuột. Chỉ HBSor được cho dùng đối với nhóm tá dược lỏng. Vào ngày tiếp theo, Monoclonal anti-OVA IgE (IgE kháng OVA đơn dòng) 10 μ L (Chondrex, Inc.) được điều chỉnh đến 10 μ g/mL bằng nước muối sinh lý được cho dùng trong da đối với tai ngoài của mỗi con chuột nhất chịu gây tê xông bằng isofluran (Pfizer Japan Inc.). Sau 24 giờ, nước muối sinh lý chứa OVA 2mg/mL (Albumin từ lòng trắng trứng gà, Sigma-Aldrich Corp.) và Evans blue (thuốc xanh Evans) 20mg/mL (Merck KGaA) được cho dùng trong tĩnh mạch ở OVA là 5mg/kg và Evans blue là 100mg/kg cho đuôi. Sau 30 phút, mỗi chuột nhất được gây tử vong bằng cách trích máu chịu gây tê sâu bằng isofluran, và tai ngoài được cắt và được nhúng trong 0,5mL DMSO, tiếp theo là chiết Evans blue (37°C, 72 giờ). Dung dịch DMSO chứa Evans blue được chiết được chuyển ở 200 μ L/lỗ lên vi đĩa 96 lỗ, và O.D. 650 nm được đo sử dụng thiết bị đọc vi đĩa (Molecular Devices Corp., SpectraMax M5e). Hệ số hấp thụ của Evans blue thoát ra được xác định theo phương pháp tính được đưa ra dưới đây và được biểu thị với giá trị trung bình của nhóm cho dùng tá dược lỏng được xác định là 100%. Hệ số hấp thụ của dung dịch DMSO được xác định là trị trống. % = (mẫu OD650 – trị trống OD650)/(OD650 tá dược lỏng – trị trống OD650). Fig.56 thể hiện rằng hR198_HG1/LG1 ngăn chặn phản ứng PCA được kích ứng ở các con chuột nhất biểu hiện gen nhập Orai1 ở người. Phản ứng PCA ở chuột nhất là hệ thống mô hình cơ bản của dị ứng loại trực tiếp tái tạo phản vệ, là phản ứng dị ứng typ I ở con người, và hệ thống này là hữu ích trong đánh giá các thuốc chống dị ứng (Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie, 165: 92-102 (1967); và International archives of allergy and applied immunology, 78: 113-117 (1985)). hR198_HG1/LG1 (kháng thể kháng Orai1), được khẳng định trong hệ thống này có hoạt tính ức chế chống lại sự mất hạt tế bào dưỡng phụ thuộc IgE, được mong đợi có hiệu quả điều trị và/hoặc phòng ngừa đối với suyễn cuồng phổi, viêm mũi dị ứng, và viêm da cơ địa được thấy ở các chất ức chế mất

hạt tế bào dưỡng hiện có, và các bệnh dị ứng typ I ở người, chẳng hạn, hen dị ứng.

16)-2-3 Hiệu quả ngăn chặn phản ứng quá mẫn cảm kiểu muộn (DTH -Delayed type hypersensitivity) của hR198_HG1/LG1

Phản ứng DTH ở chuột nhắt được thực hiện theo phương pháp tiêu chuẩn. Các con chuột nhắt biểu hiện gen nhập Orai1 ở người tám tuần tuổi được tạo ra bởi Institute of Immunology Co., Ltd., hoặc các con chuột nhắt đẻ kiểu hoang được giữ nguyên trạng thái. Sau đó, hR198_HG1/LG1 được tạo ra ở 6mg/mL với HBSor được cho dùng trong tĩnh mạch ở 10mL/kg, tức là, 60mg/kg, ở đuôi các con chuột. Chỉ HBSor được cho dùng cho nhóm tá dược lỏng. Vào ngày tiếp theo, 50 μ L nhũ tương được tạo ra bằng cách trộn mBSA (Albumin Bovine Metylated, Sigma-Aldrich Corp.) được pha loãng thành 5mg/mL với nước muối sinh lý và tá chất phức Freund (Difco Laboratories) với các lượng tương đương được cho dùng dưới da cho mỗi nơi của cả hai nách của mỗi chuột nhắt để gây miễn dịch. Sau 6 ngày, hR198_HG1/LG1 được cho dùng trong tĩnh mạch lần nữa ở 60mg/kg cho đuôi. Vào ngày tiếp theo, mBSA được tạo ra ở 0,5mg/mL với nước muối sinh lý, và nước muối sinh lý mỗi loại được cho dùng trong da cho chân dưới chịu gây tê xông bằng isofluran. 6, 24, và 48 giờ sau khi cho dùng, vết sưng ở chân được đo sử dụng dụng cụ đo mặt số. Thay đổi phụ thuộc thời gian độ dày của vết sưng ở chân được tính toán với vết sưng ở 0 giờ là 0 (10^{-2} mm) và được xác định với giá trị trung bình của nhóm cho dùng tá dược lỏng được xác định là 100%. Fig.57 thể hiện rằng hR198_HG1/LG1 ngăn chặn phản ứng DTH được kích ứng ở các con chuột nhắt biểu hiện gen nhập Orai1 ở người ở mỗi thời điểm 6 giờ (A), 24 giờ (B), và 48 giờ (C) sau khi cho dùng kháng nguyên. Phản ứng DTH ở chuột nhắt là hệ thống để quan sát sự thiết lập và đáp ứng miễn dịch phụ thuộc tế bào T, và đã biết rõ rằng thuốc thể hiện hoạt tính trong hệ thống này được phát triển là chất ngăn chặn miễn dịch mạnh (Clinical and Experimental Immunology, 52: 599-606 (1983)). hR198_HG1/LG1 (kháng thể kháng Orai1), được khẳng định trong hệ thống này có hoạt tính ngăn chặn chống lại miễn dịch tế bào T, được mong đợi có hiệu quả điều trị và/hoặc phòng

ngừa đối với các đáp ứng của cơ thể hoặc các bệnh gây ra bởi hoạt tính của các tế bào T ở người, chẳng hạn, các đào thải cấy ghép, các bệnh miễn dịch, và các bệnh viêm.

16)-2-4 Nghiên cứu về hoạt tính ngăn chặn của kháng thể kháng Orai1 chống lại bệnh viêm da

Bệnh viêm da được kích ứng bởi bất kỳ phương pháp nào dưới đây: 0,5mL dung dịch kháng nguyên albumin được cho dùng trong màng bụng cho chuột nhắt, và sau 2 tuần, lượng tương tự như ở trên của kháng nguyên được tiêm vào là mũi nhắc lại. Sau đó, dung dịch kháng nguyên albumin được cho tác động lặp lại lên tai (20 μ L) hoặc lưng (100 μ L) 3 đến 6 lần ở trong các khoảng thời gian 3 ngày đến 2 tuần. Theo cách khác, kem kháng nguyên ve bét được cho tác động lặp lại lên tai (20 μ L) hoặc lưng (100 μ L) 3 đến 6 lần ở trong các khoảng thời gian 3 ngày đến 2 tuần. Hapten picryl clorua hoặc dinitroflobenzen được tạo ra theo cách thức và được phủ lên tai (20 μ L) hoặc lưng (100 μ L) một lần hoặc hai lần một tuần trong 8 tuần ở lượng tối đa. Theo cách khác, chất gây kích ứng phản ứng da histamin, Hợp chất 40/80, este 5- (và 6-)carboxyfloresxein diacetat succinimidyl, floresxein isothioxyanat, hoặc peptit tương tự bombesin được cho dùng cho tai (20 μ L), lưng (100 μ L), hoặc tủy sống (5 μ L). Kháng thể kháng Orai1 được cho dùng trong tĩnh mạch hoặc dưới da một ngày trước khi kích ứng bệnh viêm da hoặc 1 giờ đến 4 giờ trước khi kích ứng bệnh viêm da. Sau đó, tuần suất cho dùng được thiết lập cho các khoảng thời gian 7 ngày đến 28 ngày để tiếp tục cho dùng kháng thể. Sau khi kích ứng bệnh viêm da, phép đo độ dày tai ngoài sử dụng dụng cụ đo độ dày mặt số hoặc cách tính điểm nhìn bằng mắt của bệnh viêm da được thực hiện theo thời gian. Sau khi hoàn thành thời gian thử nghiệm, sự định lượng các nồng độ của kháng thể, các xytokin, hoặc các chỉ thị sinh học huyết thanh trong máu hoặc các mô, sự kiểm tra hoạt tính sinh trưởng, khả năng sản sinh xytokin, các kháng nguyên bề mặt, hoặc tương tự của các tế bào thu được từ da, máu ngoại vi, tuyến ức, lá lách, hạch bạch huyết, hoặc tủy xương, phân tích bệnh lý, v.v. được thực hiện để xác định hoạt tính ngăn chặn của kháng thể kháng Orai1 chống lại bệnh viêm da.

16)-2-5 Nghiên cứu về hoạt tính ngăn chặn của kháng thể kháng Orai1 chống lại bệnh vảy nến

Trong trường hợp sử dụng imiquimod, bệnh viêm da vảy nến được kích ứng bởi phủ cả hai mặt hoặc một mặt của tai ngoài (5 đến 30mg) và phần lưng được cạo (50 đến 100mg). Theo cách khác, bệnh viêm da được kích ứng bởi cho dùng trong màng bụng 200 μ L huyền phù zymosan 10mg/mL trong dung dịch chất đệm phosphat. Trong trường hợp sử dụng xytokin (IL-23, v.v.) là chất sinh viêm mô (prophlogistic), bệnh viêm da vảy nến được kích ứng bởi cho dùng trong da 20 đến 50 μ L dung dịch chứa 0,1 đến 2 μ g xytokin cho một mặt của tai ngoài chuột nhắt chịu gây tê sâu bằng isofluran 1 đến 5%. Kháng thể kháng Orai1 được cho dùng trong tĩnh mạch hoặc dưới da một ngày trước khi kích ứng bệnh viêm da hoặc 1 giờ đến 4 giờ trước khi kích ứng bệnh viêm da. Sau đó, tần suất cho dùng được thiết lập trong các khoảng thời gian 7 ngày đến 28 ngày để tiếp tục cho dùng kháng thể. Sau khi kích ứng bệnh viêm da, phép đo độ dày tai ngoài sử dụng dụng cụ đo độ dày mặt số hoặc cách tính điểm nhìn bằng mắt của bệnh viêm da được thực hiện theo thời gian. Sau khi hoàn thành giai đoạn thử nghiệm, sự kiểm tra về trọng lượng của khu vực viêm, hoạt tính myeloperoxidaza của các bạch cầu trung tính được thâm nhập vào khu vực này, phân tích đo tế bào theo dòng chảy của các tế bào được thâm nhập, phân tích gen, đo nồng độ xytokin, v.v. được thực hiện để xác định hoạt tính ngăn chặn của kháng thể kháng Orai1 chống lại bệnh vảy nến.

16)-2-6 Nghiên cứu về hoạt tính ngăn chặn của kháng thể kháng Orai1 chống lại bệnh đa xơ cứng

Myelin oligodendrocyte glycoprotein hoặc kháng nguyên peptit của nó được điều chỉnh đến 4 mg/mL bằng nước muối sinh lý và được nhũ hóa bằng cách trộn với tá chất phức Freund được điều chỉnh tới 8mg/mL bằng nước muối sinh lý, với các lượng tương đương. 200 μ L dung dịch trộn lẫn này được cho dùng trong da cho vùng sườn hoặc ở bụng của chuột nhắt. Ngay sau đó, 100 μ L dung dịch nước độc tố gây ho gà 2 μ g/mL được cho dùng cho chuột nhắt từ tĩnh mạch đuôi. Sau khi 2 ngày, dung dịch độc tố gây ho gà được nêu ở trên được

cho dùng thêm lần nữa từ tĩnh mạch đuôi để kích ứng viêm não tủy thực nghiệm. Sau 1 tuần đến 2 tuần trong thực nghiệm, viêm não tủy phát triển, và liệt mở rộng từ đuôi đến các chân dưới và các chi trước. Mức độ liệt này được tính điểm bằng quan sát nhìn bằng mắt cử động của các chi và đuôi. Kháng thể kháng Orai1 được cho dùng trong tĩnh mạch hoặc dưới da một ngày trước khi kích ứng viêm não tủy hoặc 1 giờ đến 4 giờ trước khi kích ứng viêm não tủy. Sau đó, tần suất cho dùng được thiết lập trong các khoảng thời gian 7 ngày đến 28 ngày để tiếp tục cho dùng kháng thể. Hiệu quả của cho dùng của kháng thể kháng Orai1 lên bệnh đa xơ cứng được xác định.

16)-2-7 Nghiên cứu về hoạt tính ngăn chặn của kháng thể kháng Orai1 chống lại viêm khớp

100 μ L nhũ tương thu được bằng cách trộn collagen typ II ở bò 2mg/mL và tá chất phức Freund ở tỷ lệ thể tích là 1:1,3 được cho dùng trong da cho gốc đuôi của chuột nhắt sử dụng xyranh 1mL và kim tuberculin. Sau khi 2 đến 3 tuần, điều trị tương tự như ở trên được thực hiện. Sau đó, sưng khớp ở các chi được tính điểm bằng cách nhìn bằng mắt hoặc sử dụng dụng cụ đo độ dày mắt số. Ở thời điểm hoàn thành giai đoạn thử nghiệm, các nồng độ của kháng thể, các xytokin, hoặc các chỉ thị sinh học huyết thanh trong máu hoặc các mô, hoạt tính sinh trưởng, khả năng sản sinh xytokin, hoặc các kháng nguyên bề mặt của các tế bào thu được từ da, máu ngoại vi, tuyến ức, lá lách, hạch bạch huyết, hoặc tủy xương, v.v. được đo. Kháng thể kháng Orai1 được cho dùng trong tĩnh mạch hoặc dưới da một ngày trước khi kích ứng viêm khớp hoặc 1 giờ đến 4 giờ trước khi kích ứng viêm khớp. Sau đó, tần suất cho dùng được thiết lập trong các khoảng thời gian 7 ngày đến 28 ngày để tiếp tục cho dùng kháng thể. Hiệu quả của cho dùng của kháng thể kháng Orai1 đối với viêm khớp được xác định.

16)-2-8 Nghiên cứu về hoạt tính ngăn chặn của kháng thể kháng Orai1 chống lại viêm kết tràng

Các lympho bào được thu gom và được tinh chế từ hạch bạch huyết và lá lách của chuột nhắt biểu hiện gen nhập Orai1 ở người được tách bằng máy sàng lọc tế bào sử dụng kháng thể kháng CD4 GK1.5, kháng thể kháng CD25 PC61.5,

và kháng thể kháng CD45R C363.16A (tất cả từ eBioscience). Các tế bào thu được bằng phương pháp này được khẳng định trong đo tế bào theo dòng chảy là các tế bào T CD4+CD25-CD45RBhi có độ tinh khiết 95% hoặc cao hơn. Sau đó, 500.000 tế bào được cấy ghép trong màng bụng cho chuột nhất Rag2-/- 12 đến 16 tuần tuổi. Sau đó, đo trọng lượng cơ thể và quan sát các triệu chứng như là tiêu chảy được thực hiện trong 12 tuần. Sau khi hoàn thành giai đoạn quan sát, mức độ làm dày đường ruột, số lượng và kích cỡ của các polyp, và sự xuất hiện hoặc không xuất hiện các dấu hiệu bệnh lý được kiểm tra bằng khám nghiệm xác. Đồng thời, các nồng độ của kháng thể, các xytokin, hoặc các chỉ thị sinh học huyết thanh trong máu hoặc các mô được định lượng, và hoạt tính sinh trưởng, khả năng sản sinh xytokin, các kháng nguyên bề mặt, hoặc tương tự của các tế bào thu được từ đường ruột, máu ngoại vi, tuyến ức, lá lách, hạch bạch huyết, hoặc tủy xương được phân tích. Kháng thể kháng Orai1 được cho dùng trong tĩnh mạch hoặc dưới da một ngày trước khi cấy ghép tế bào hoặc 1 giờ đến 4 giờ trước khi cấy ghép tế bào. Sau đó, tần suất cho dùng được thiết lập trong các khoảng thời gian 7 ngày đến 28 ngày để tiếp tục cho dùng kháng thể. Hiệu quả của cho dùng của kháng thể kháng Orai1 đối với viêm kết tràng được xác định.

16)-2-9 Nghiên cứu về hiệu quả của kháng thể kháng Orai1 đối với hệ thống cấy ghép tế bào tủy xương

Xương đùi và xương chày được cắt ra từ chuột nhất biểu hiện gen nhập Orai1 ở người, và các tế bào trong tủy xương được đẩy ra bằng tiêm từ 1 đến 5mL môi trường RPMI1640 chứa FBS 10% từ máu não sử dụng ống tiêm có kim. Sau khi xử lý bằng lọc tế bào, các tế bào tủy xương được thu hồi bằng ly tâm và được điều chỉnh sao cho 10.000.000 tế bào tủy xương có trong 200 μ L chất đệm tiêm chứa HEPES 10mM, EDTA 0,5mM, và penixilin/streptomycin 0,5%. Đồng thời ở đó, các tế bào lá lách được thu gom từ lá lách của chuột nhất biểu hiện gen nhập Orai1 ở người theo phương pháp tiêu chuẩn. Chuột nhất BALB/c 10 đến 13 tuần tuổi là chủ thể nhận được chiếu tia X từ 2,0 đến 8,0 Gy. Sau đó, 0 đến 4.000.000 tế bào lá lách thể cho được bổ sung vào 200 μ L tế bào

tủy xương thể cho, và dung dịch trộn lẫn tế bào này được tiêm vào tĩnh mạch đuôi của chủ thể nhận. Sau đó, thay đổi về trọng lượng cơ thể và tỷ lệ sống được kiểm tra trong 4 đến 16 tuần. Ở thời điểm hoàn thành thử nghiệm, các nồng độ của kháng thể, các xytokin, hoặc các chỉ thị sinh học huyết thanh trong máu hoặc các mô của chuột nhất chủ thể nhận, và các kháng nguyên bề mặt, hoạt tính sinh trưởng, hoặc khả năng sản sinh xytokin của các tế bào thu được từ đường ruột, máu ngoại vi, tuyến ức, lá lách, hạch bạch huyết, hoặc tủy xương được đo. Kháng thể kháng Orai1 được cho dùng trong tĩnh mạch hoặc dưới da cho chuột nhất chủ thể nhận một ngày trước khi cấy ghép tủy xương hoặc 1 giờ đến 4 giờ trước khi cấy ghép tủy xương. Sau đó, tần suất cho dùng được thiết lập trong các khoảng thời gian 7 ngày đến 28 ngày để tiếp tục cho dùng kháng thể. Hiệu quả của kháng thể kháng Orai1 đối với sự cấy ghép các tế bào được cấy ghép hoặc tỷ lệ mắc bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ được xác định.

Ví dụ 17: So sánh các đặc tính lý hóa giữa kháng thể hoàn thiện ái lực và các kháng thể kháng Orai1 ở người khác

Đo độ nhớt sử dụng m-VROC

hR198_HG1/LG1 hoặc hR198_H3/LG1 được tạo ra trong mục 10)-3, hR198_HG1-LALA/LG1 được tạo ra trong mục 12)-3, hoặc 2C1.1 được tạo ra trong mục 13)-6 được cô đến 150 mg/mL hoặc cao hơn bằng VIVAPORE 5 (Sartorius Japan K.K.) và sau đó được tạo ra ở 90, 120, và 150 mg/mL với HBSor. Độ nhớt ở 25°C được đo ba lần cho mỗi nồng độ sử dụng m-VROC (RheoSense, Inc.) để tính toán độ nhớt trung bình (mPa.s). Các kết quả được thể hiện trên Fig.58 và bảng 1. Các độ nhớt của hR198_HG1/LG1, hR198_H3/LG1, và hR198_HG1-LALA/LG1 ở tất cả các nồng độ là thấp hơn so với độ nhớt của 2C1.1. Cụ thể, ở 150mg/mL, các độ nhớt của hR198_HG1/LG1, hR198_H3/LG1, và hR198_HG1-LALA/LG1 tương ứng là 11,4, 10,0, và 10,8 mPa.s, ngược lại độ nhớt của 2C1.1 là 21,0 mPa.s, chứng minh rằng các kháng thể hoàn thiện ái lực có độ nhớt thấp ngay cả ở nồng độ cao, so với 2C1.1.

Bảng 1

Mẫu	Nồng độ	Độ nhớt trung bình	SD độ nhớt
	[mg/mL]	[mPa.s]	[mPa.s]
hR198_HG1/LG1	90	3,74	0,05
	120	6,11	0,02
	150	11,43	0,09
hR198_H3/LG1	90	3,66	0,04
	120	5,78	0,07
	150	9,98	0,10
hR198_HG1-LALA/LG1	90	3,74	0,06
	120	5,68	0,20
	150	10,82	0,37
2C1.1	90	4,05	0,02
	120	8,67	0,12
	150	20,96	0,08

Khả năng áp dụng công nghiệp

Kháng thể kháng Orai1 được nhân hóa của sáng chế có hiệu quả ức chế hoạt tính tế bào T mạnh hơn so với hiệu quả ức chế của các kháng thể đã biết trong lĩnh vực, và có thể dùng làm tác nhân điều trị hoặc phòng ngừa đối với đào thải cấy ghép, v.v..

Ký hiệu của danh mục trình tự

SEQ ID NO: 1: Trình tự gen của Orai1 ở người

SEQ ID NO: 2: Trình tự axit amin của Orai1 ở người

SEQ ID NO: 3: Đoạn mồi PCR Nhe-polyC-S

SEQ ID NO: 4: Đoạn mồi PCR rIg γ -AS1

SEQ ID NO: 5: Đoạn mồi PCR rIg γ -AS2

SEQ ID NO: 6: Đoạn mồi PCR Nhe-polyC-S

SEQ ID NO: 7: Đoạn mồi PCR rIg κ -AS

SEQ ID NO: 8: Đoạn mồi xác định trình tự rIg γ -seq

SEQ ID NO: 9: Đoạn mồi xác định trình tự rIg κ -seq

SEQ ID NO: 10: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ R118

SEQ ID NO: 11: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ R118

SEQ ID NO: 12: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng R118

- SEQ ID NO: 13: Trình tự axit amin của chuỗi nặng R118
- SEQ ID NO: 14: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ R198
- SEQ ID NO: 15: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ R198
- SEQ ID NO: 16: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng R198
- SEQ ID NO: 17: Trình tự axit amin của chuỗi nặng R198
- SEQ ID NO: 18: Mảnh ADN gồm trình tự mã hóa tính hiệu chế tiết chuỗi κ ở người và vùng hằng định chuỗi κ ở người
- SEQ ID NO: 19: Đoạn môi PCR 3.3-F1
- SEQ ID NO: 20: Đoạn môi PCR 3.3-R1
- SEQ ID NO: 21: Mảnh ADN gồm trình tự mã hóa trình tự tín hiệu chuỗi nặng ở người và các axit amin của vùng hằng định IgG1 ở người
- SEQ ID NO: 22: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ cR118 được khám ở người
- SEQ ID NO: 23: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ cR118 được khám ở người
- SEQ ID NO: 24: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ cR198 được khám ở người
- SEQ ID NO: 25: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ cR198 được khám ở người
- SEQ ID NO: 26: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng cR118 được khám ở người
- SEQ ID NO: 27: Trình tự axit amin của chuỗi nặng cR118 được khám ở người
- SEQ ID NO: 28: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng cR198 được khám ở người
- SEQ ID NO: 29: Trình tự axit amin của chuỗi nặng cR198 được khám ở người
- SEQ ID NO: 30: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_L1
- SEQ ID NO: 31: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_L1
- SEQ ID NO: 32: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_L2
- SEQ ID NO: 33: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_L2
- SEQ ID NO: 34: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_L3
- SEQ ID NO: 35: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_L3
- SEQ ID NO: 36: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_L4
- SEQ ID NO: 37: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_L4
- SEQ ID NO: 38: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H1

SEQ ID NO: 39: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_H1
 SEQ ID NO: 40: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H2
 SEQ ID NO: 41: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_H2
 SEQ ID NO: 42: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H3
 SEQ ID NO: 43: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_H3
 SEQ ID NO: 44: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H4
 SEQ ID NO: 45: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_H4
 SEQ ID NO: 46: Đoạn mồi PCR Orai1 HF
 SEQ ID NO: 47: Đoạn mồi PCR Orai1 CH FR
 SEQ ID NO: 48: Đoạn mồi PCR M13 rev long
 SEQ ID NO: 49: Đoạn mồi PCR SecM Stop R
 SEQ ID NO: 50: Đoạn mồi PCR Orai1 Lc F
 SEQ ID NO: 51: Đoạn mồi PCR Orai1 CL-FR
 SEQ ID NO: 52: Đoạn mồi PCR Orai1 HR-FLAG R
 SEQ ID NO: 53: Đoạn mồi PCR Orai1 CL-FLAG R
 SEQ ID NO: 54: Đoạn mồi PCR Myc-R
 SEQ ID NO: 55: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG1
 SEQ ID NO: 56: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG1
 SEQ ID NO: 57: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG2
 SEQ ID NO: 58: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG2
 SEQ ID NO: 59: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG3
 SEQ ID NO: 60: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG3
 SEQ ID NO: 61: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_HG1
 SEQ ID NO: 62: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_HG1
 SEQ ID NO: 63: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_HG2
 SEQ ID NO: 64: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_HG2
 SEQ ID NO: 65: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_HG3
 SEQ ID NO: 66: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_HG3
 SEQ ID NO: 67: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H4-LALA
 SEQ ID NO: 68: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_H4-LALA

- SEQ ID NO: 69: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_HG1-LALA
- SEQ ID NO: 70: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_HG1-LALA
- SEQ ID NO: 71: Mảnh ADN gồm trình tự mã hóa tín hiệu tiết chuỗi nặng ở người và các axit amin của vùng hằng định IgG2 ở người
- SEQ ID NO: 72: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 2C1.1
- SEQ ID NO: 73: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kháng thể 2C1.1
- SEQ ID NO: 74: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 2C1.1
- SEQ ID NO: 75: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kháng thể 2C1.1
- SEQ ID NO: 76: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 5H3.1
- SEQ ID NO: 77: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kháng thể 5H3.1
- SEQ ID NO: 78: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 5H3.1
- SEQ ID NO: 79: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kháng thể 5H3.1
- SEQ ID NO: 80: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 10F8
- SEQ ID NO: 81: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kháng thể 10F8
- SEQ ID NO: 82: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 10F8
- SEQ ID NO: 83: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kháng thể 10F8
- SEQ ID NO: 84: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 14F74
- SEQ ID NO: 85: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kháng thể 14F74
- SEQ ID NO: 86: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 14F74
- SEQ ID NO: 87: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kháng thể 14F74
- SEQ ID NO: 88: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 17F6
- SEQ ID NO: 89: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kháng thể 17F6
- SEQ ID NO: 90: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 17F6
- SEQ ID NO: 91: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kháng thể 17F6
- SEQ ID NO: 92: CDRL1 ở chuột (có nguồn gốc từ R198 và được sử dụng cho các chuỗi nhẹ kiểu hR198_L1 đến hR198_L4)
- SEQ ID NO: 93: CDRL1 được thiết kế (được sử dụng cho chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG1)
- SEQ ID NO: 94: CDRL1 được thiết kế (được sử dụng cho chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG2)

SEQ ID NO: 95: CDRL1 được thiết kế (được sử dụng cho chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG3)

SEQ ID NO: 96: CDRL2 ở chuột (là chung cho R118 và R198 và được sử dụng cho các chuỗi nhẹ kiểu hR198_L1 đến hR198_L4 và hR198_LG1)

SEQ ID NO: 97: CDRL2 được thiết kế (được sử dụng cho chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG2)

SEQ ID NO: 98: CDRL2 được thiết kế (được sử dụng cho chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG3)

SEQ ID NO: 99: CDRL3 ở chuột (có nguồn gốc từ R118 và được sử dụng cho các chuỗi nhẹ kiểu hR198_L3 và hR198_L4)

SEQ ID NO: 100: CDRL3 ở chuột (có nguồn gốc từ R198 và được sử dụng cho các chuỗi nhẹ kiểu hR198_L1 và hR198_L2)

SEQ ID NO: 101: CDRL3 được thiết kế (được sử dụng cho các chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG1 đến hR198_LG3)

SEQ ID NO: 102: CDRH1 ở chuột (có nguồn gốc từ R118 và được sử dụng cho đến các chuỗi nặng kiểu hR198_H3, hR198_H4, và hR198_HG1 đến hR198_HG3)

SEQ ID NO: 103: CDRH1 ở chuột (có nguồn gốc từ R198 và được sử dụng cho các chuỗi nặng kiểu hR198_H1 và hR198_H2)

SEQ ID NO: 104: CDRH2 ở chuột (có nguồn gốc từ R118 và được sử dụng cho các chuỗi nặng kiểu hR198_H3 và hR198_H4)

SEQ ID NO: 105: CDRH2 ở chuột (có nguồn gốc từ R198 và được sử dụng cho các chuỗi nặng kiểu hR198_H1 và hR198_H2)

SEQ ID NO: 106: CDRH2 được thiết kế (được sử dụng cho chuỗi nặng kiểu hR198_HG1)

SEQ ID NO: 107: CDRH2 được thiết kế (được sử dụng cho chuỗi nặng kiểu hR198_HG2)

SEQ ID NO: 108: CDRH2 được thiết kế (được sử dụng cho chuỗi nặng kiểu hR198_HG3)

SEQ ID NO: 109: CDRH3 ở chuột (là chung cho R118 và R198 và được sử dụng cho chuỗi nặng kiểu hR198_H1 đến hR198_H4

SEQ ID NO: 110: CDRH3 được thiết kế (được sử dụng cho các chuỗi nặng kiểu hR198_HG1 đến hR198_HG3)

SEQ ID NO: 111: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H0

SEQ ID NO: 112: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_H0

SEQ ID NO: 113: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H5

SEQ ID NO: 114: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_H5

SEQ ID NO: 115: Trình tự peptit vùng vòng Orail ở người được Biotin-PEGyl hóa

SEQ ID NO: 116: CDRL1 ở chuột (có nguồn gốc từ R118, nhưng không được sử dụng cho các kháng thể được nhân hóa)

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể mà liên kết đặc hiệu với trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2, trong đó kháng thể bao gồm:

a) trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 62 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 126 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 56;

b) trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 62 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 126 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 58;

c) trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 62 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 126 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 60;

d) trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 64 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 126 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 56;

e) trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 66 và trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 126 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 56; hoặc

f) trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 43 và trình tự

vùng biến đổi chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 126 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 56.

2. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể gồm có:

a) trình tự chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 465 hoặc 20 đến 466 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 62 và trình tự chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 56;

b) trình tự chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 465 hoặc 20 đến 466 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 70 và trình tự chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 56;

c) trình tự chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 465 hoặc 20 đến 466 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 62 và trình tự chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 58;

d) trình tự chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 465 hoặc 20 đến 466 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 62 và trình tự chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 60;

e) trình tự chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 465 hoặc 20 đến 466 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 64 và trình tự chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 56;

f) trình tự chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 465 hoặc 20 đến 466 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 66 và trình tự

chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 56; hoặc

g) trình tự chuỗi nặng gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 20 đến 465 hoặc 20 đến 466 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 43 và trình tự chuỗi nhẹ gồm có các gốc axit amin từ các vị trí 21 đến 235 trong trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 56.

3. Mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo điểm 1, trong đó mảnh liên kết kháng nguyên được lựa chọn từ nhóm gồm có Fab, F(ab')₂, Fab', và Fv.

4. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể là scFv.

5. Dược phẩm chứa ít nhất bất kỳ kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo các điểm 1 đến 4.

6. Polynucleotit mã hóa kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4.

7. Vật truyền gồm polynucleotit theo điểm 6.

8. Tế bào vật chủ được biến nạp gồm polynucleotit theo điểm 6 hoặc vật truyền theo điểm 7.

9. Phương pháp sản xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, gồm bước nuôi cấy tế bào vật chủ theo điểm 8 và tinh chế kháng thể từ sản phẩm nuôi cấy.

FIG.1

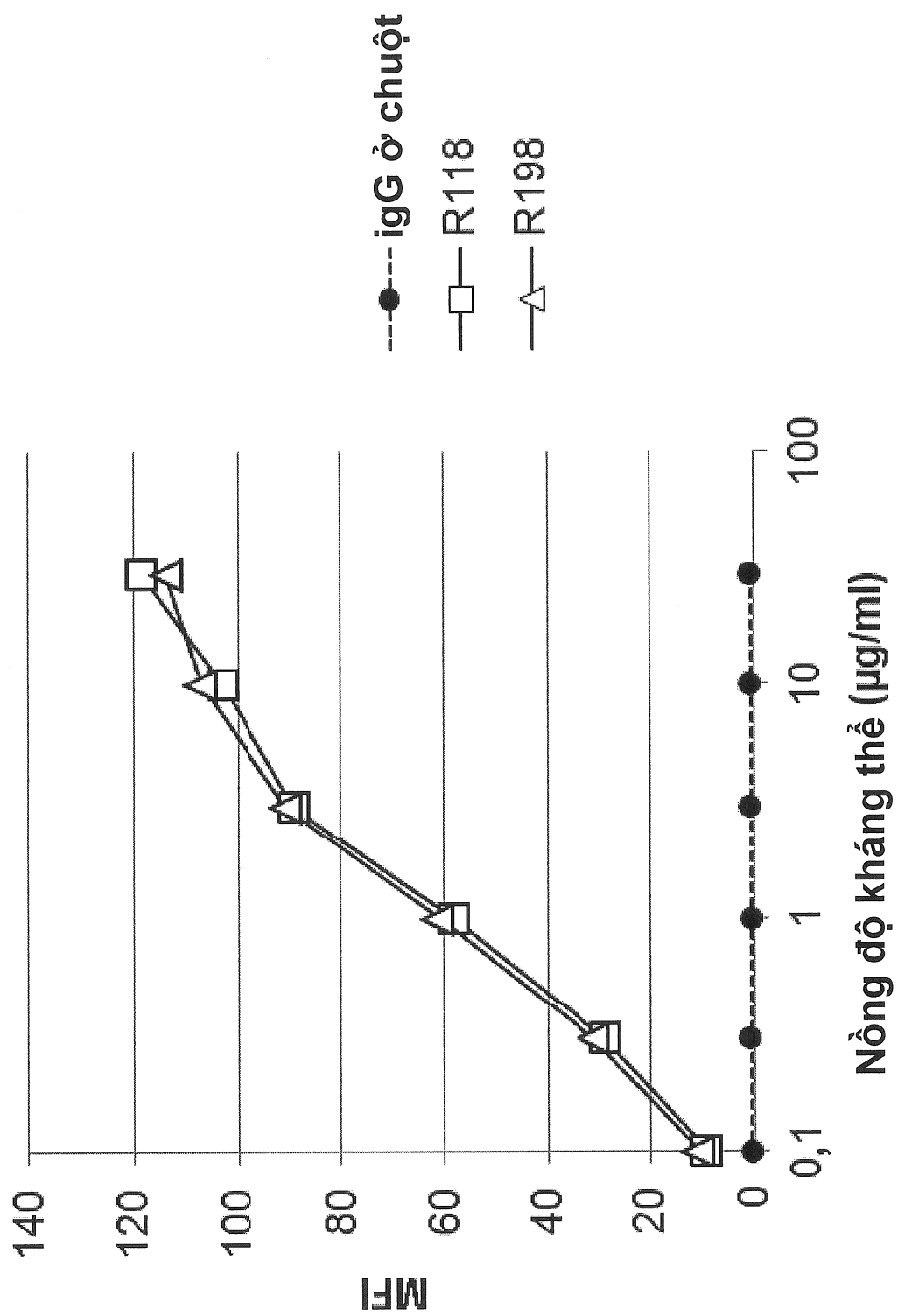


FIG.2

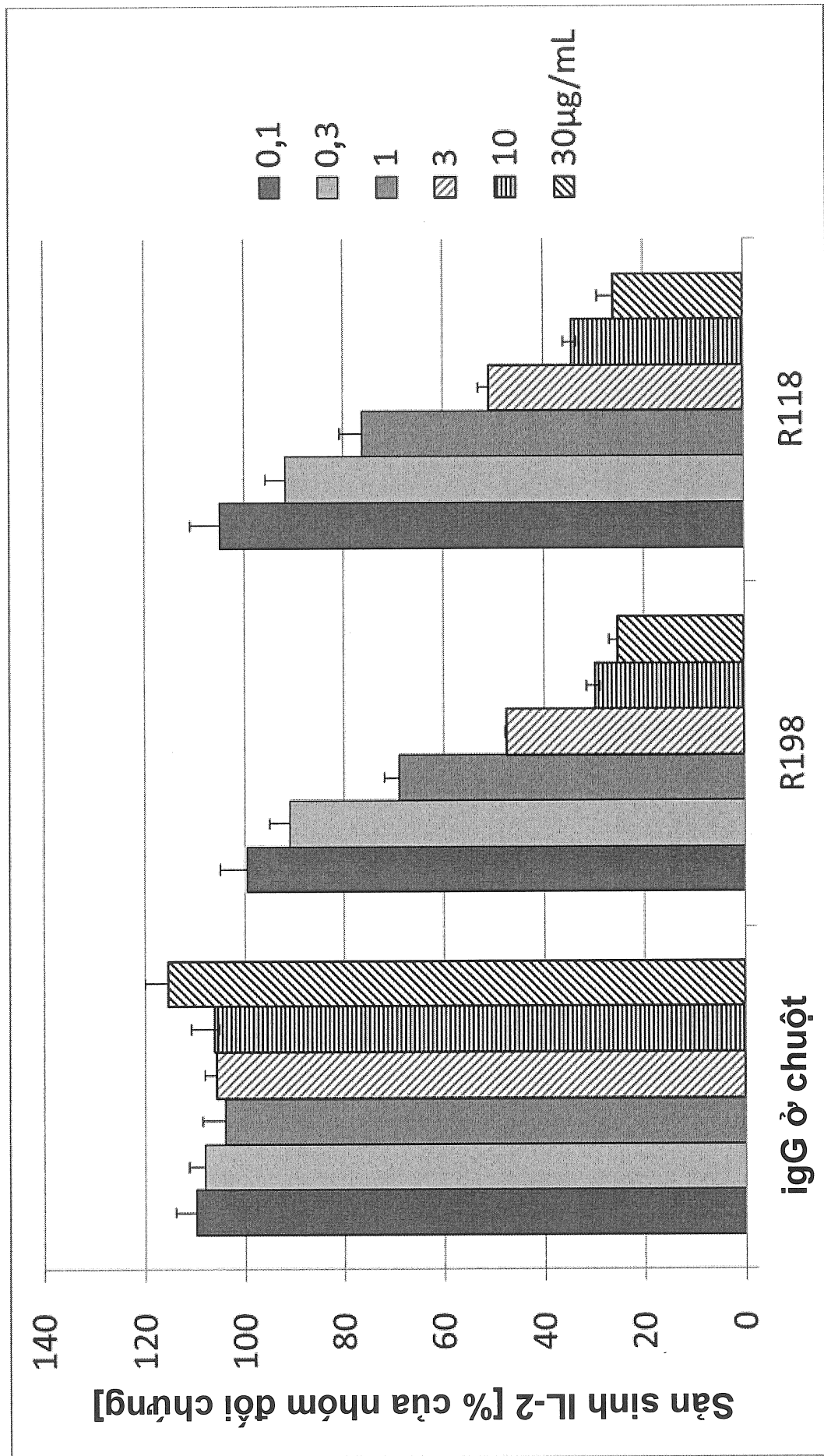


FIG.3

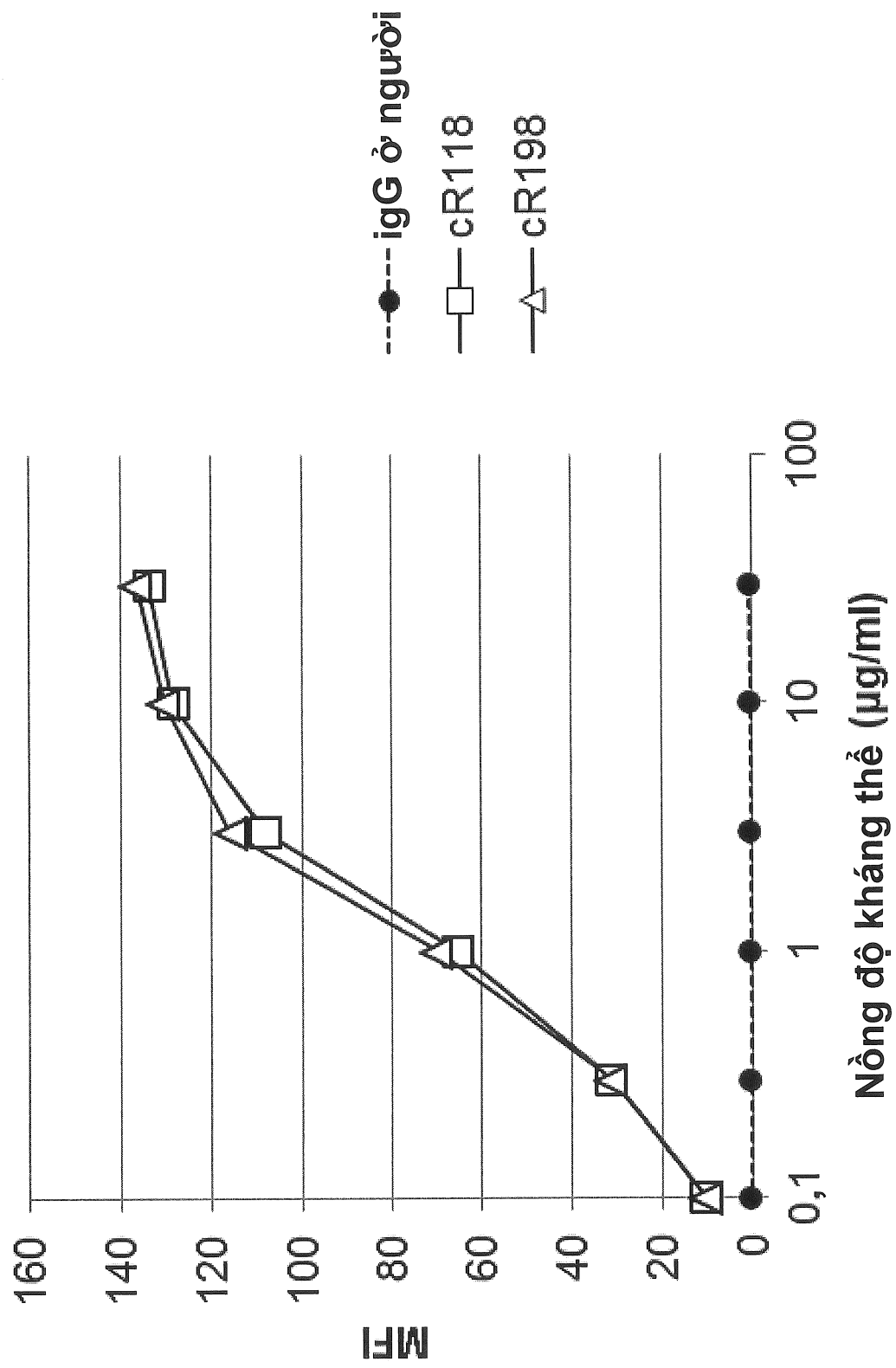


FIG.4

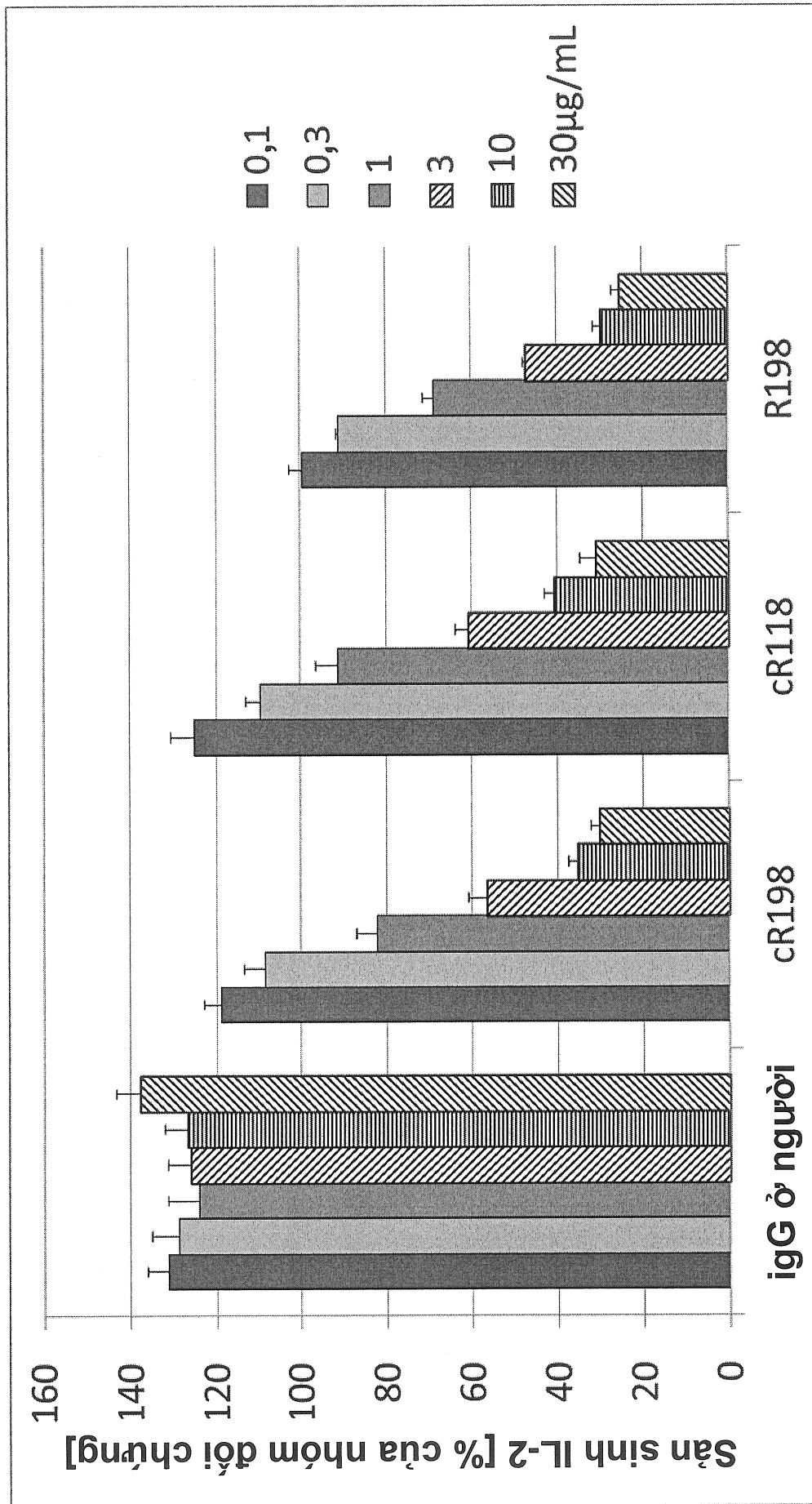


FIG.5

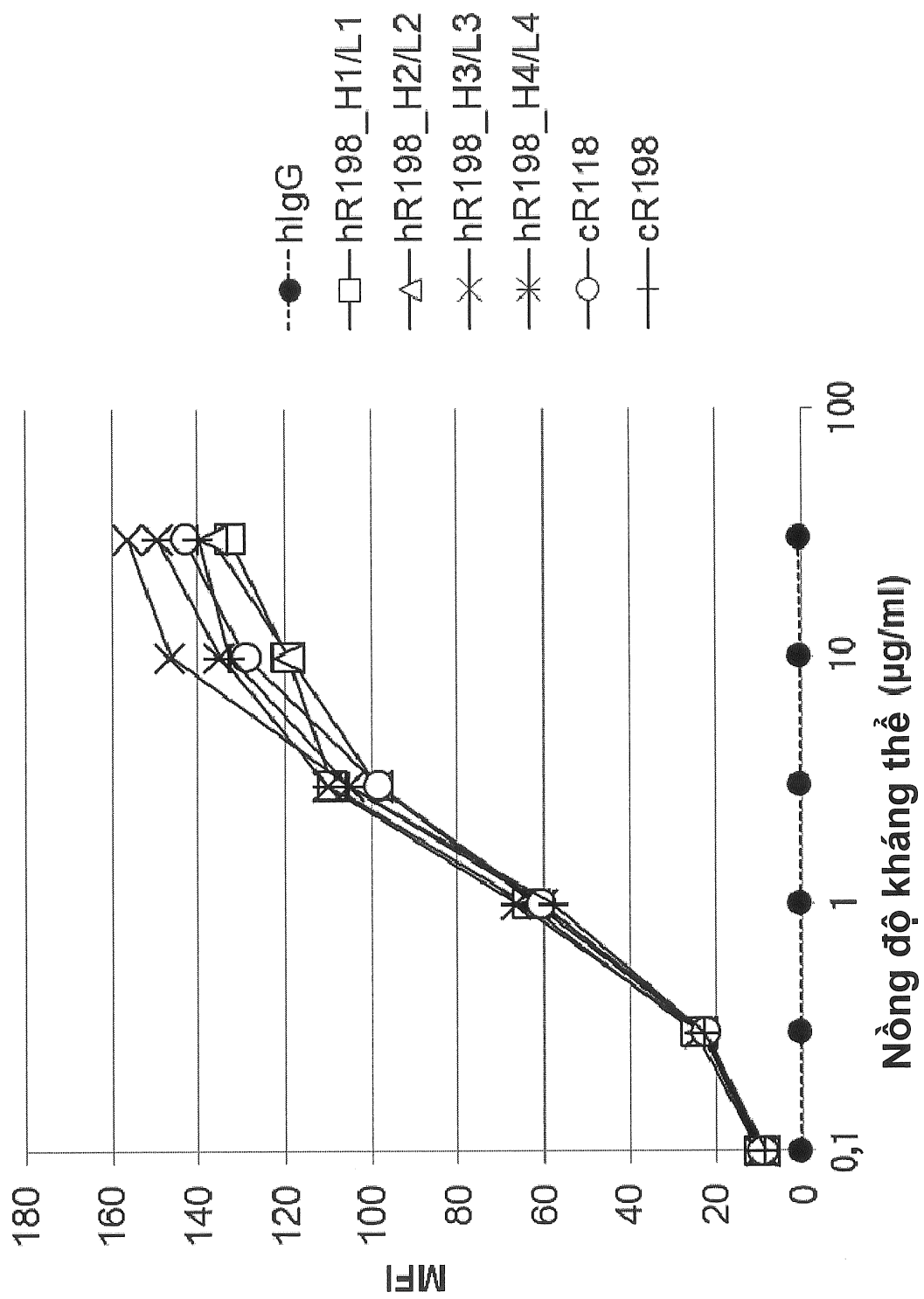


FIG.6

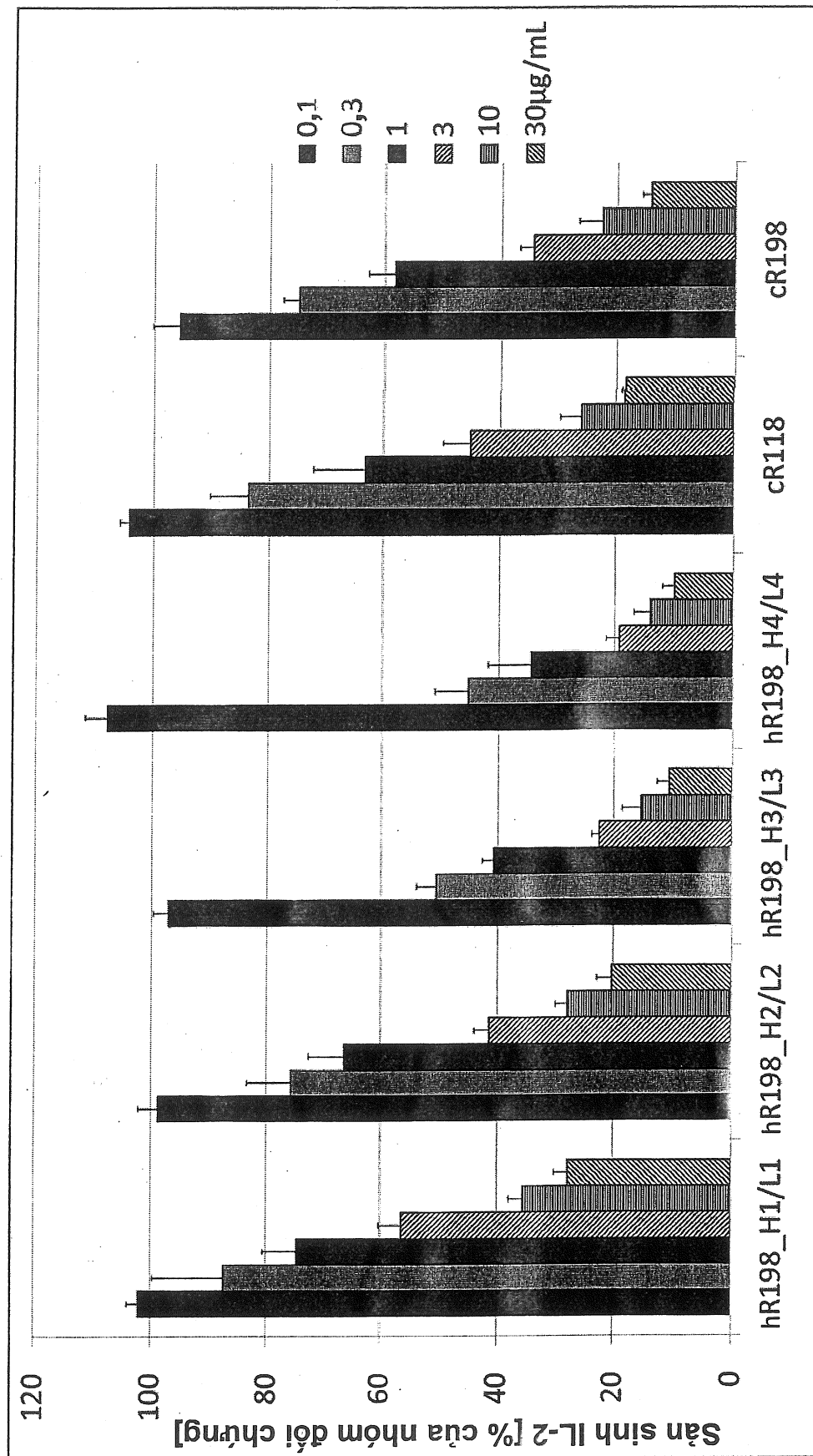
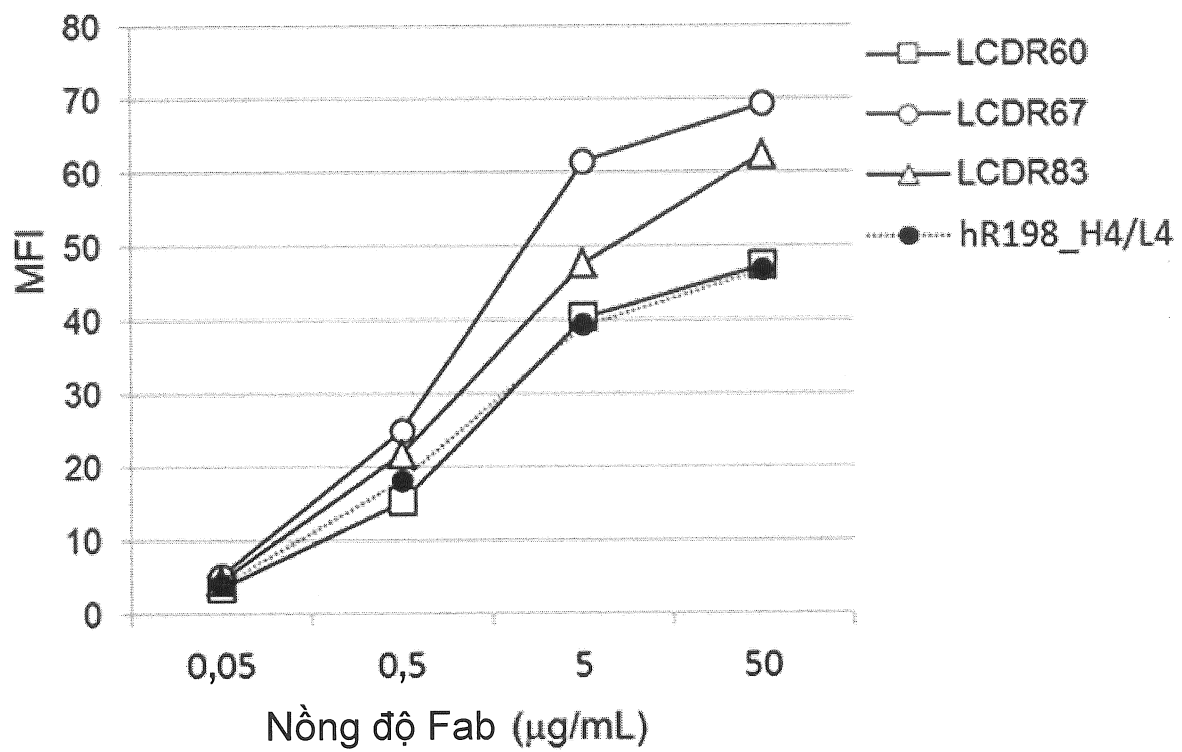
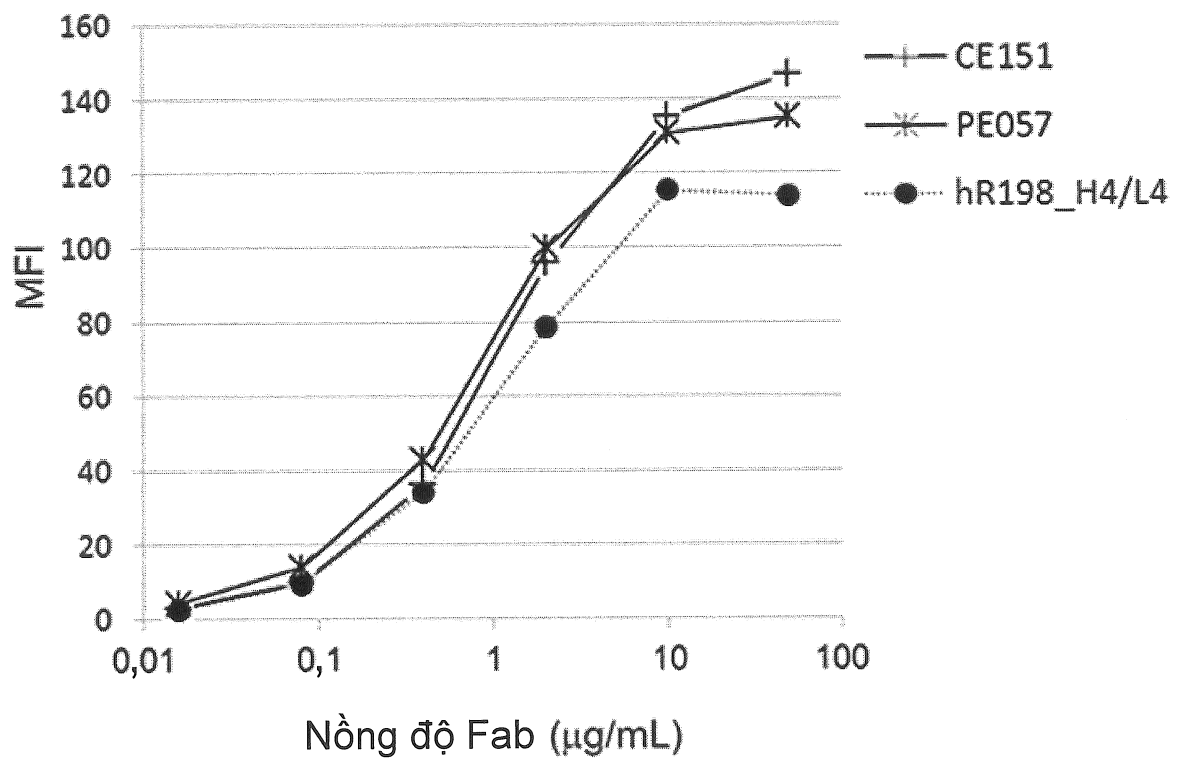


FIG.7

(A)



(B)



(C)

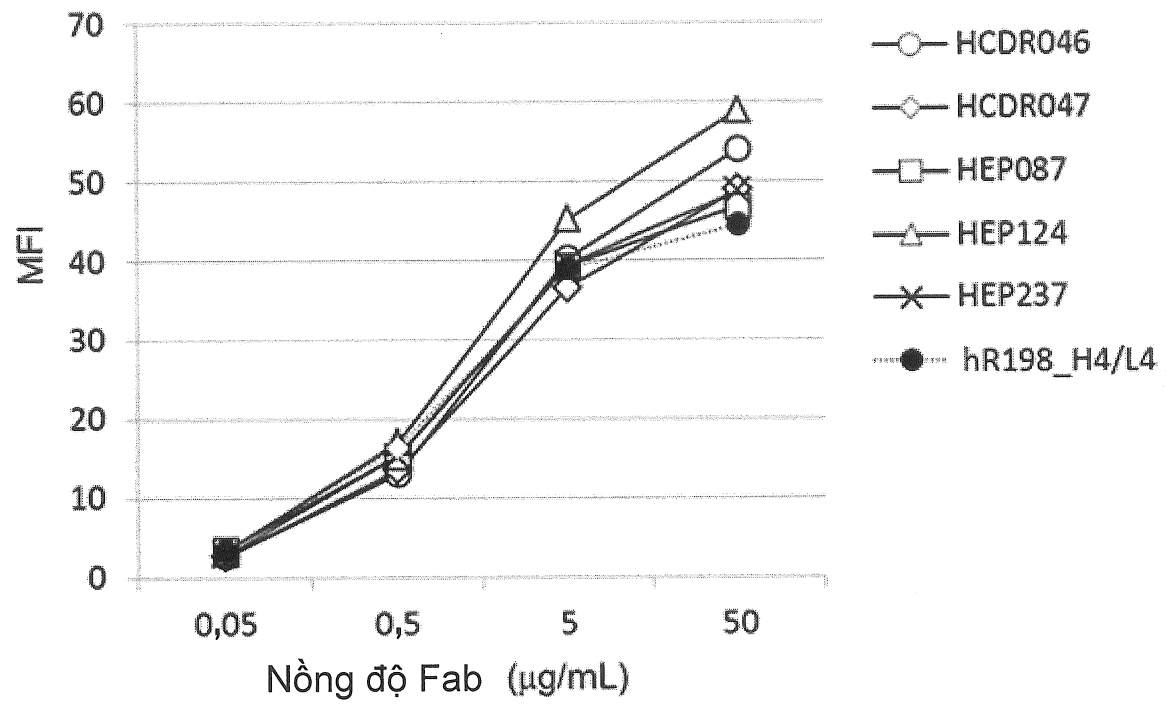


FIG.8

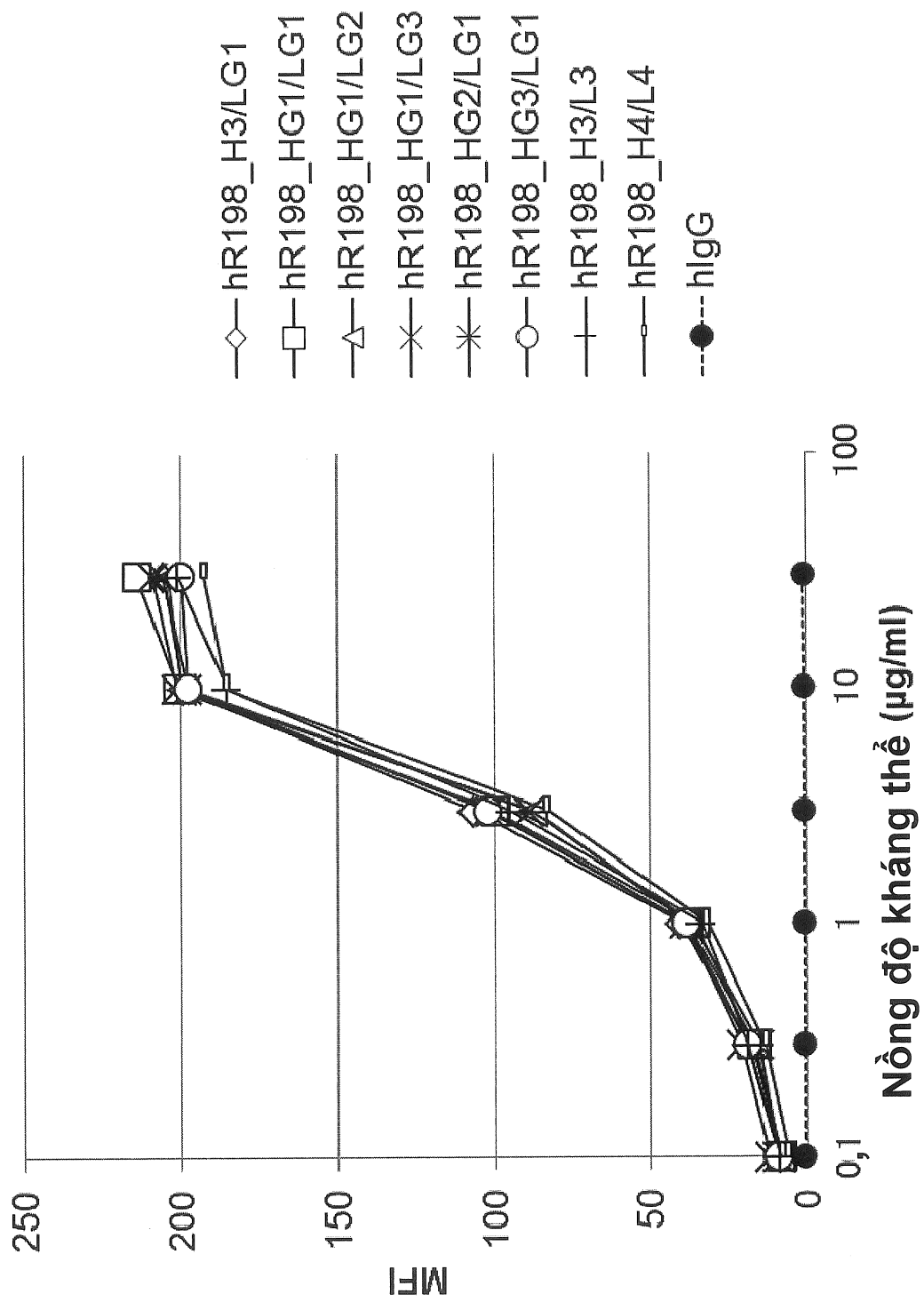
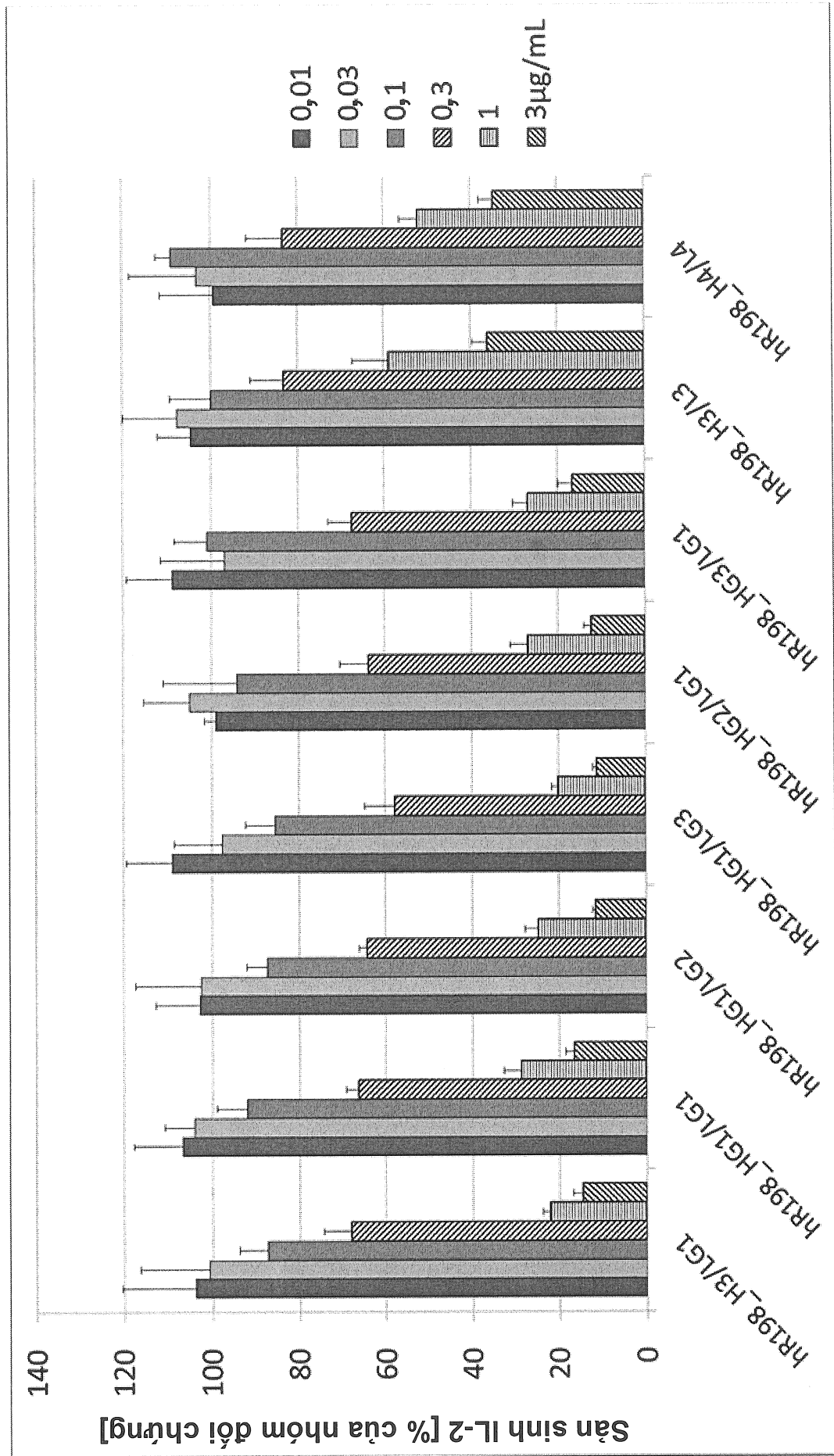


FIG.9



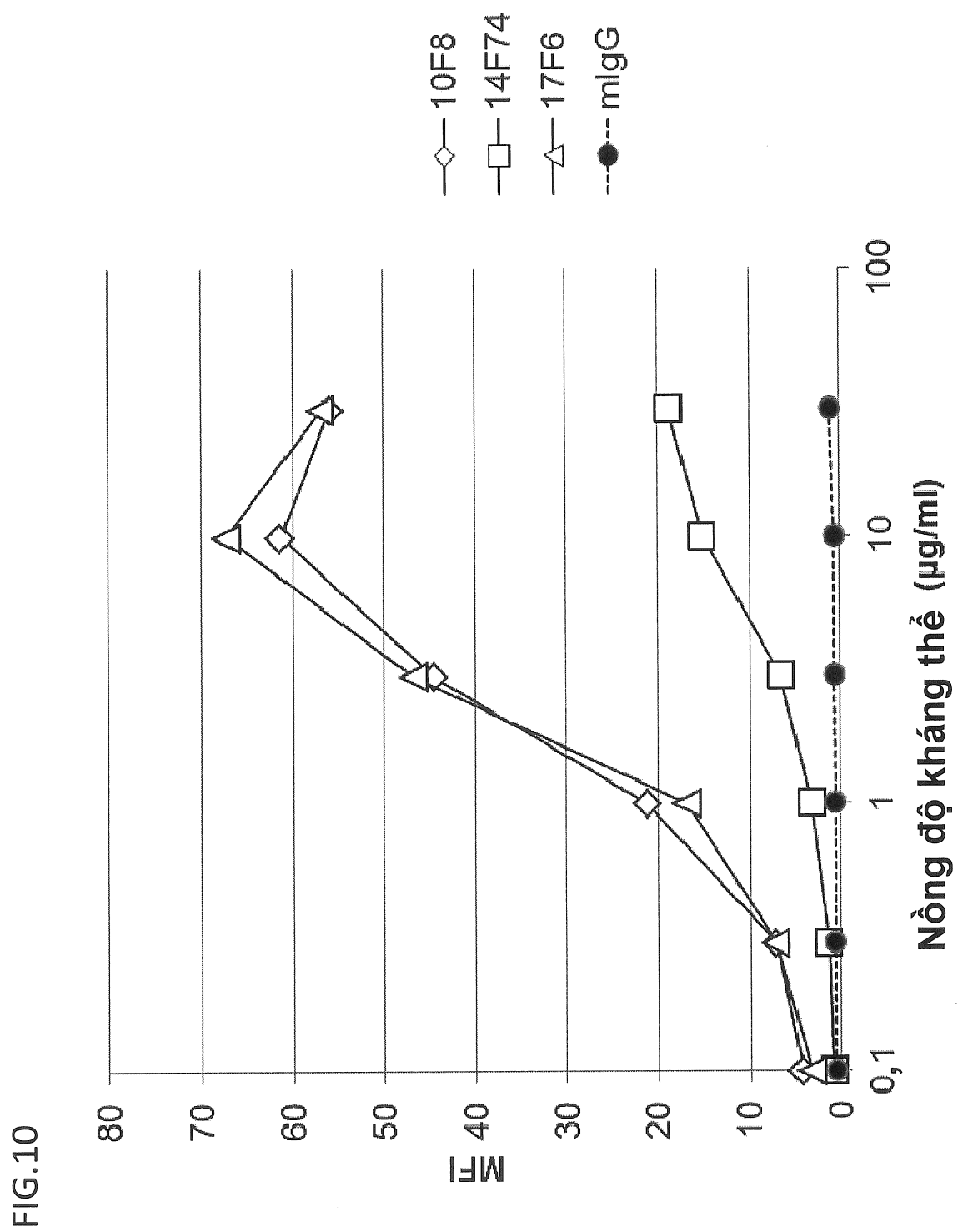


FIG.11

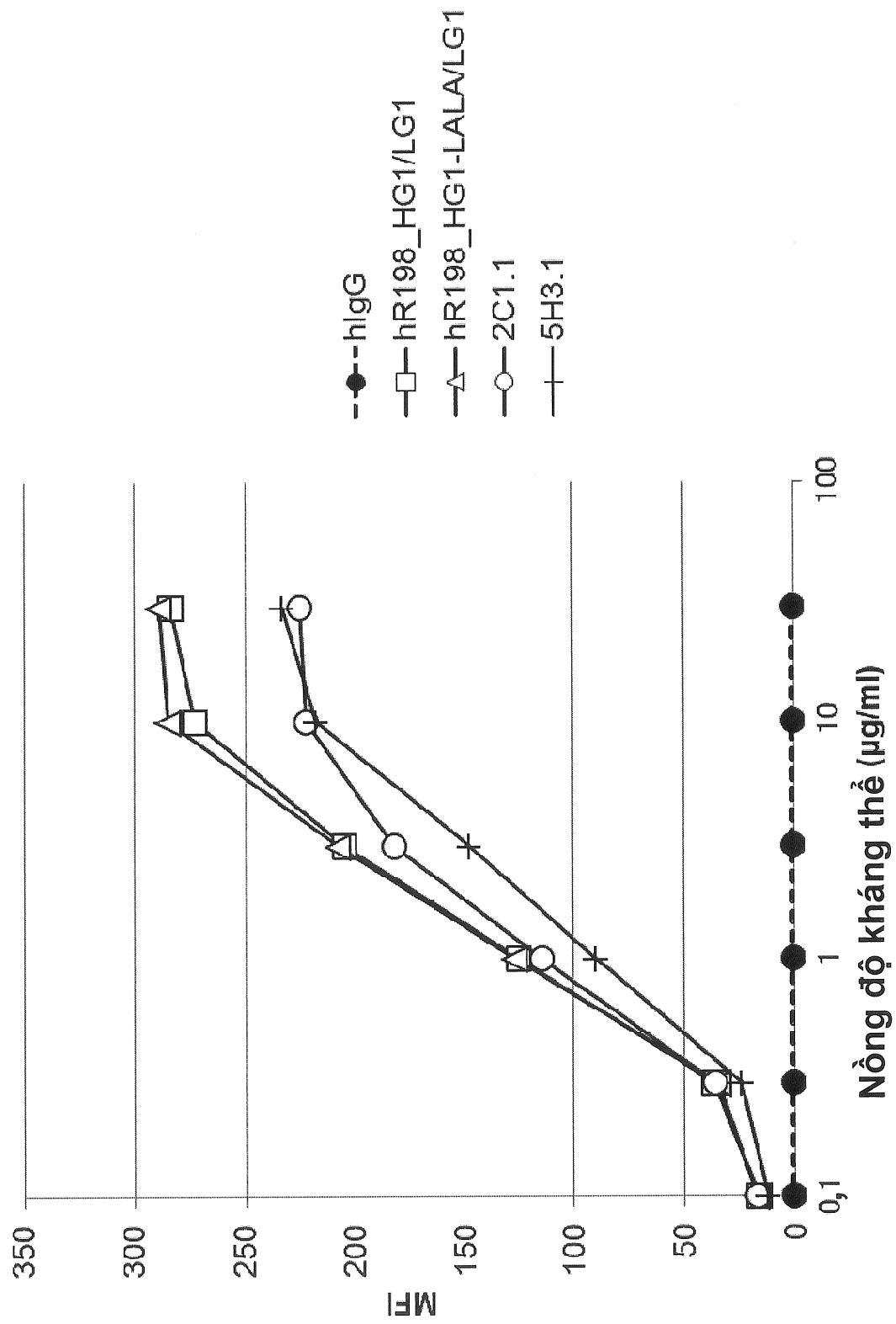


FIG.12

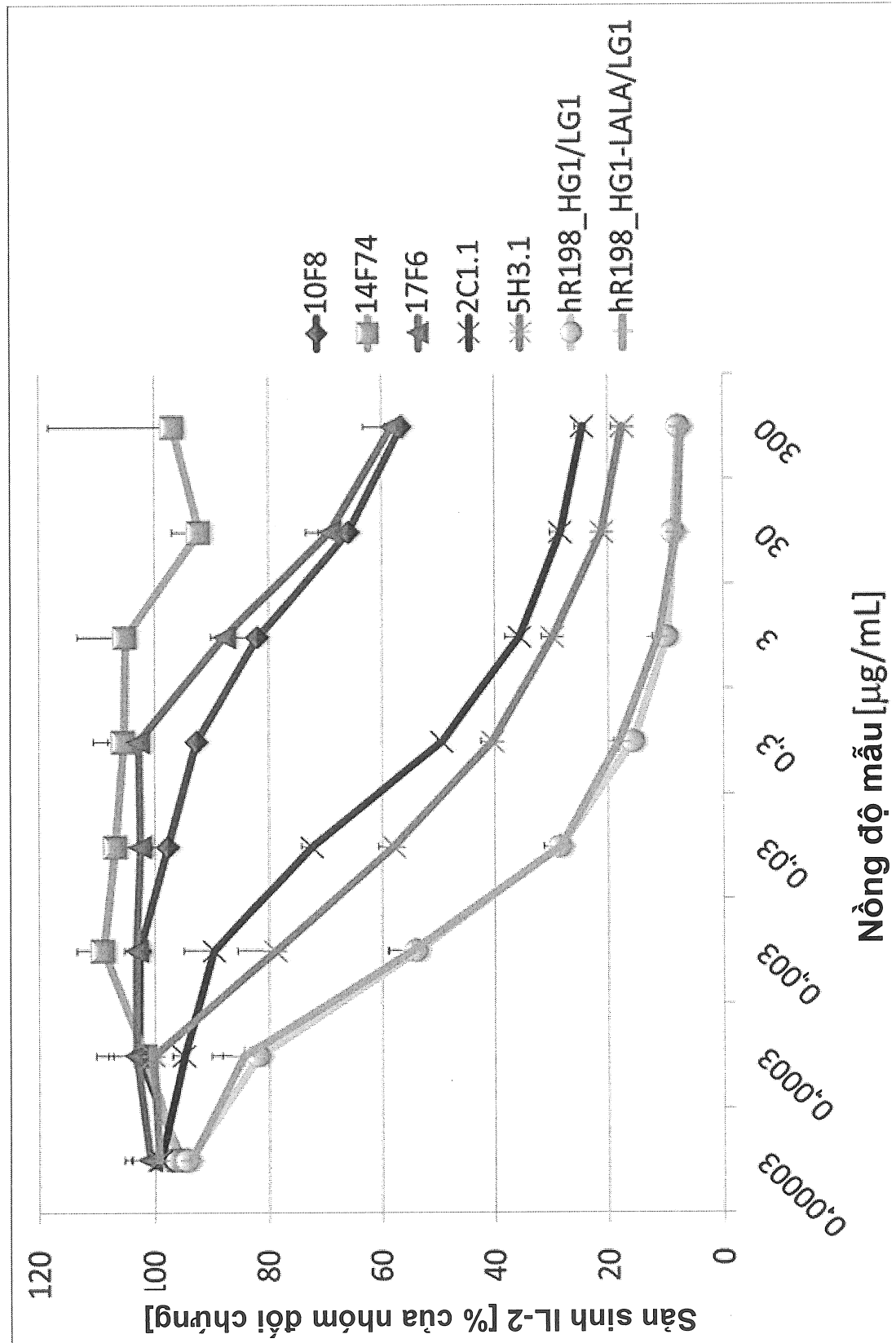


FIG.13

	IC ₅₀ [ng/mL]	IC ₈₀ [ng/mL]
10F8	>300000	>300000
14F74	>300000	>300000
17F6	>300000	>300000
2C1.1	279	>300000
5H3.1	83	60621
hR198_HG1/LG1	4	137
hR198_HG1-LALA/LG1	4	195

FIG.14

SEQ ID NO: 10: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ R118

ATGAAAATGACGACACCTGCTCAGTTCCTTGGGCTTCTGTTGCTCTGGTTTCCAGGTGCCAGGTGTGACATCCA
 GTTGACCCAGTCTCCATCCACATTGCCTGCATCCCTGGGAGAGAGAGAGTCACCATCAGTTGCAGAGCAAGTCAGA
 GTATTAGCAATAGTTTAAGCTGGTTTCAACAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACGCCTGATCTATTCTACATCC
 ACTTTAGAATCTGGTGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTATTCTCTCTCCATCACCAG
 TCTTGAGTCTGAAGATTTTGCAATGTATTACTGTCTACAGTTTGCTACTTTTCCGGACACGTTTGGAAGTGGGA
 CCAAAGTGAANTGAGACGGGCTGATGCTGCANCA

Trình tự tín hiệu (1-66), Vùng biến đổi (67-384)

SEQ ID NO: 11: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ R118

MKMTTPAQFLGLLLLWFPGARCDIQLTQSPSTLPASLGERVTISCRASQSIENSLSWFQQKPDGTVKRLIYSTS
 TLESGVPSRFSGSGSGTDYSLISLSESEDFAMYYCLQFATFPDTFGTGTKLEXRRADAAX

Trình tự tín hiệu (1-22), Vùng biến đổi (23-128)

FIG.15

SEQ ID NO: 12: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng R118

ATGGAATGGAAGTGGGTCTTTCTCCTCCTCTGTCAGTAACTGCAGAAGTCCAGTCCCAGGTCCAGCTGCAGCA
 GTCTGGAGCGGAGCTGGCAAAGCCTGGCTCCTCAGTGAAGATTTCTGCAAGGCTTCCGGCTACACCGTCACCG
 CCTATTATATAAGTTGGATAAGGCAGACGATTGGACAGGGCCTTGAGTATGTTGGATATATTGACATGGGAAAT
 GGAAGGACTAACTACAATGCGAGGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTGGACAAATCCTCCAGCACAGCCTT
 CATGCAACTCAGCAGCCTGACACCTGACGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGGGACTCCAAGTGGGGGGTTG
 ATTACTGGGGCCAAGGAGTCATGGTCACAGTCTCCTCAGCTGAAACAACAGCCCCATCTGTCTATCCACTGGCT
 CCTGGAAGTCTTCTCAAAAGTNA

Trình tự tín hiệu (1-57), Vùng biến đổi (58-408)

SEQ ID NO: 13: Trình tự axit amin của chuỗi nặng R118

MEWNWVFLLLSVTAEVQSQVQLQQSGAELAKPGSSVKISCKASGYTVTAYYISWIRQTIGQGLETVGYIDMGN
 GRTNYNARFKGKATLTVDKSSSTAFMQLSSLTPDDSAVYYCARDSNWGVVDYWGQGVMTVSSAETTAPSVYPLA
 PGTASQKX

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-136)

FIG.16

SEQ ID NO: 14: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ R198

ATGAAAATGACGACACCTGCTCAGTTCCTTGGGCTTCTGTTGCTCTGGTTTCCAGGTGCCAGGTGTGACATCCA
 GTTGACCCAGTCTCCATCCACATTGCCTGCATCTCTGGGAGAGAGAGTCAACATCAGTTGCAGAGCAAGTCAGA
 GTATTGGCAATAGTTTAAGCTGGTTTCAGCAGAAACCAGATGGATCTGTTAAACGCCTGATCTACTCTACATCC
 ACTTTAGAATCTGGTGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTATTCTCTCTCCATCACCAG
 TCTTGAGTCTGAAGATTTTGCAATGTATTACTGTCTACAGTTTGCTACTTATCCGGACACGTTTGGAAGTGGGA
 CCAAAGTGGAACTGAGACGGGCTGATGCTGCANCAACT

Trình tự tín hiệu (1-66), Vùng biến đổi (67-384)

SEQ ID NO: 15: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ R198

MKMTTPAQFLGLLLLWFPGARCDIQLTQSPSTLPASLGERVTISCRASQSIGNSLSWFQQKPDGSKRLIYSTS
 TLESGVPSRFSGSGSGTDYSLSITSLSEDFAMYYCLQFATYPDTFGTGTKLELRRADAAXT

Trình tự tín hiệu (1-22), Vùng biến đổi (23-128)

FIG.17

SEQ ID NO: 16: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng R198

ATGGAATGGAAGTGGGTCTTTCTCTTCCTCCTGTCAAGTGCAGAAGTCCAGTCCCAGGTCCAGCTGCAGCA
 GTCTGGAGCGGAGCTGGCAAAGCCTGGCTCCTCAATGAAGATTTCTGCAAGGCTTCCGGCTACCCCGTCACCA
 GCTATTATATAAGTTGGATAAAGCAGACGACTGGACAGGGCCTTGAGTATATTGGATATGTTGACATGGGAAAT
 GGACGGACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTT
 CATGCAACTCAGCAGCCTGACACCTGACGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGGGACTCCAAGTGGGGGGTTG
 ATTACTGGGGCCAAGGAGTCATGGTCACAGTCTCCTCAGCTGAAACAACAGCCCCATCTGTCTATCCACTGGCT
 CCTGGAAGTGTCTCAAAAGTAACNCC

Trình tự tín hiệu (1-57), Vùng biến đổi (58-408)

SEQ ID NO: 17: Trình tự axit amin của chuỗi nặng R198

MEWNWVFLFLLSVTAEVQSQVQLQQSGAELAKPGSSMKISCKASGYPVTSYYISWIKQTTGQGLEVIGYVDMGN
 GRTNYNEKFKGKATLTVDKSSSTAFMQLSSLTPDDSAVYYCARDSNWGVDYWGQGVMTVSSAETTAPSVYPLA
 PGTALKSNX

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-136)

FIG.18

SEQ ID NO: 22: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ cR118 được khám ở người

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGACATCCAGTTGAC
CCAGTCTCCATCCACATTGCCTGCATCCCTGGGAGAGAGAGTACCATCAGTTGCAGAGCAAGTCAGAGTATTA
GCAATAGTTTAAGCTGGTTTCAACAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACGCCTGATCTATTCTACATCCACTTTA
GAATCTGGTGTCCCATCAAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTATTCTCTCTCCATCACCAGTCTTGA
GTCTGAAGATTTTGCAATGTATTACTGTCTACAGTTTGTACTTTTCCGGACACGTTTGGAAGTGGGACCAAAC
TGGAAGTGAAGCGGGCTGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGC
ACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGC
CCTGCAGTCCGGGAAGTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA
CCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC
TCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGTTAG

Trình tự tín hiệu (1-60), Vùng biến đổi (61-378), Vùng hằng định (379-702)

SEQ ID NO: 23: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ cR118 được khám ở người

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQLTQSPSTLPASLGERVTISCRASQSISSLSWFFQKPDGTVKRLIYSTSTL
ESGVPSRFSGSGSGTDYSLISITSEDFAMYYCLQFATFPDTFGTGTLELRRVAAPSVEIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
SPVTKSFNRGEC

Trình tự tín hiệu (1-20), Vùng biến đổi (21-126), Vùng hằng định (127-234)

FIG.19

SEQ ID NO: 24: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ cR198 được khám ở người

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGACATCCAGTTGAC
CCAGTCTCCATCCACATTGCCTGCATCTCTGGGAGAGAGAGTACCATCAGTTGCAGAGCAAGTCAGAGTATTG
GCAATAGTTTAAGCTGGTTTCAGCAGAAACCAGATGGATCTGTTAAACGCCTGATCTACTCTACATCCACTTTA
GAATCTGGTGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTATTCTCTCTCCATCACCAGTCTTGA
GTCTGAAGATTTTGCAATGTATTACTGTCTACAGTTTGCTACTTATCCGGACACGTTTGGAAGTGGGACCAAAC
TGGAAGTGAAGACGGGCTGTGGCCGCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGC
ACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGC
CCTGCAGTCCGGGAAGTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA
CCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC
TCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGTTAG

Trình tự tín hiệu (1-60), Vùng biến đổi (61-378), Vùng hằng định (379-702)

SEQ ID NO: 25: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ cR198 được khám ở người

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQLTQSPSTLPASLGERVTISCRASQSIGNSLSWFQQKPDGSKVRLIYSTSTL
ESGVPSRFSGSGSGTDYLSITSLESEDFAMYYCLQFATYPDTFGTGTLELRRVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
TASVVCLLNNFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
SPVTKSFNRGEC

Trình tự tín hiệu (1-20), Vùng biến đổi (21-126), Vùng hằng định (127-234)

FIG.20

SEQ ID NO: 26: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng cR118 được khám ở người

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTCCAGCTGCAGCA
 GTCTGGAGCGGAGCTGGCAAAGCCTGGCTCCTCAGTGAAGATTTCTGCAAGGCTTCCGGCTACACCGTCACCG
 CCTATTATATAAGTTGGATAAGGCAGACGATTGGACAGGGCCTTGAGTATGTTGGATATATTGACATGGGAAAT
 GGAAGGACTAACTACAATGCGAGGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTGGACAAATCCTCCAGCACAGCCTT
 CATGCAACTCAGCAGCCTGACACCTGACGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGGGACTCCAAGTGGGGGGTTG
 ATTACTGGGGCCAAGGAGTCATGGTCACAGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
 CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
 GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCCTGCAGTCCTCAGGAC
 TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
 CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAATCACACATGCCCACC
 CTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCCTAGTCTTCTCTTCCCCC AAAACCAAGGACACCCTCATGA
 TCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
 TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
 GGTGAGCGTCCTCACCCTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAG
 CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTG
 CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
 CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAATACAAGACCACCCCTCCCGTGTGACTCCG
 ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
 TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Trình tự tín hiệu (1-57), Vùng biến đổi (58-408), Vùng hằng định (409-1398)

SEQ ID NO: 27: Trình tự axit amin của chuỗi nặng cR118 được khám ở người

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQQSGAELAKPGSSVKISCKASGYTVTAYYISWIRQTIGQGLEIVGYIDMGN
 GRTNYNARFKGKATLTVDKSSSTAFMQLSSLTPDDSAVYYCARDNWDYWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLA
 PSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
 SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-136), Vùng hằng định (137-466)

FIG.21

SEQ ID NO: 28: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng cR198 được khám ở người

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTCCAGCTGCAGCA
GTCTGGAGCGGAGCTGGCAAAGCCTGGCTCCTCAATGAAGATTTCTGCAAGGCTTCCGGCTACCCCGTCACCA
GCTATTATATAAGTTGGATAAAGCAGACGACTGGACAGGGCCTTGAGTATATTGGATATGTTGACATGGGAAAT
GGACGGACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTT
CATGCAACTCAGCAGCCTGACACCTGACGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGGGACTCCAAGTGGGGGGTTG
ATTACTGGGGCCAAGGAGTCATGGTCACAGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGGCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCCGCTGCTCTGCAGTCCTCAGGAC
TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAATCACACATGCCCACC
CTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGA
TCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
GGTCAGCGTCCTCACCCTGCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAG
CCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAACATAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCG
ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Trình tự tín hiệu (1-57), Vùng biến đổi (58-408), Vùng hằng định (409-1398)

SEQ ID NO: 29: Trình tự axit amin của chuỗi nặng cR198 được khám ở người

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQQSGAELAKPGSSMKISCKASGYPVTSYYISWIKQTTGQGLEYGIVDMGN
GRNTYNEKFKGKATLTVDKSSSTAFMQLSSLTPDDSAVYYCARDNWSGVDYWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-136), Vùng hằng định (137-466)

FIG.22

SEQ ID NO: 30: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_L1

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGCTGAC
 CCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCG
 GCAACAGCCTGAGCTGGTTCCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCCAAGCGGCTGATCTACAGCACCAGCACCTG
 GAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACAATCAGCAGCCTGCA
 GCCCGAGGACTTCGCCATGTACTACTGCCTGCAGTTCGCCACCTACCCCGACACCTTTGGCCAGGGCACCAAGG
 TGGAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGC
 ACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGC
 CCTGCAGTCCGGGAACCTCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA
 CCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC
 TCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGTTAG

Trình tự tín hiệu (1-60), Vùng biến đổi (61-378), Vùng hằng định (379-702)

SEQ ID NO: 31: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_L1

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGNSLSWFQQKPGKAPKRLIYSTSTL
 ESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAMYYCLQFATYPDTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
 TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
 SPVTKSFNRGEC

Trình tự tín hiệu (1-20), Vùng biến đổi (21-126), Vùng hằng định (127-234)

FIG.23

SEQ ID NO: 32: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_L2

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGCTGAC
 CCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCG
 GCAACAGCCTGAGCTGGTTCCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCGTGAAGCGGCTGATCTACAGCACCAGCACCTG
 GAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACAATCAGCAGCCTGCA
 GCCCGAGGACTTCGCCATGTACTACTGCCTGCAGTTCGCCACCTACCCCGACACCTTTGGCCAGGGCACCAAGG
 TGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGC
 ACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGC
 CCTGCAGTCCGGGAACCTCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA
 CCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC
 TCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGTTAG

Trình tự tín hiệu (1-60), Vùng biến đổi (61-378), Vùng hằng định (379-702)

SEQ ID NO: 33: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_L2

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGNSLSWFQQKPGKAVKRLIYSTSTL
 ESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAMYYCLQFATYPDTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
 TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLS
 SPVTKSFNRGEC

Trình tự tín hiệu (1-20), Vùng biến đổi (21-126), Vùng hằng định (127-234)

FIG.24

SEQ ID NO: 34: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_L3

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGCTGAC
 CCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCG
 GCAACAGCCTGAGCTGGTTCCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCCAAGCGGCTGATCTACAGCACCAGCACCTG
 GAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACAATCAGCAGCCTGCA
 GCCCGAGGACTTCGCCATGTACTACTGCCTGCAGTTCGCCACCTTCCCCGACACCTTTGGCCAGGGCACCAAGG
 TGGAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGC
 ACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGC
 CCTGCAGTCCGGGAACCTCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA
 CCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC
 TCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGTTAG

Trình tự tín hiệu (1-60), Vùng biến đổi (61-378), Vùng hằng định (379-702)

SEQ ID NO: 35: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_L3

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSIGNSLSWFQQKPGKAPKRLIYSTSTL
 ESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAMYYCLQFATFPDTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
 TASVVCLLNFPYAPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
 SPVTKSFNRGEC

Trình tự tín hiệu (1-20), Vùng biến đổi (21-126), Vùng hằng định (127-234)

FIG.25

SEQ ID NO: 36: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_L4

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGCTGAC
 CCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCG
 GCAACAGCCTGAGCTGGTTCCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCGTGAAGCGGCTGATCTACAGCACCAGCACCTG
 GAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACAATCAGCAGCCTGCA
 GCCCGAGGACTTCGCCATGTACTACTGCCTGCAGTTCGCCACCTTCCCCGACACCTTTGGCCAGGGCACCAAGG
 TGGAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGC
 ACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGC
 CCTGCAGTCCGGGAACCTCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA
 CCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC
 TCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGTTAG

Trình tự tín hiệu (1-60), Vùng biến đổi (61-378), Vùng hằng định (379-702)

SEQ ID NO: 37: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_L4

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGNSLSWFQQKPGKAVKRLIYSTSTL
 ESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAMYYCLQFATFPDTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
 TASVVCLLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLS
 SPVTKSFNRGEC

Trình tự tín hiệu (1-20), Vùng biến đổi (21-126), Vùng hằng định (127-234)

FIG.26

SEQ ID NO: 38: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H1

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
 GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCGTGACCA
 GCTACTACATCAGCTGGGTGAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATACATCGGCTATGTGGACATGGGCAAC
 GGCCGGACCAACTACAACGAGAAGTTCAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
 CATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGTGG
 ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGGCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
 CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
 GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCTGCAAGTCTCAGGAC
 TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
 CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCACC
 CTGCCCAGCACCTGAAGTCTGGGGGGACCCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGA
 TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
 TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
 GGTGAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAG
 CCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTG
 CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
 CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGTGGACTCCG
 ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
 TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAATGA

Trình tự tín hiệu (1-57), Vùng biến đổi (58-408), Vùng hằng định (409-1398)

SEQ ID NO: 39: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_H1

MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPVTSYYISWVRQAPQGLEYIGYVDMGN
 GRTNYNEKFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDSDNWVDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
 PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
 SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-136), Vùng hằng định (137-466)

FIG.27

SEQ ID NO: 40: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hr198_H2

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
 GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCGTGACCA
 GCTACTACATCAGCTGGATCAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATACATCGGCTATGTGGACATGGGCAAC
 GGCCGGACCAACTACAACGAGAAGTTCAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
 CATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGTGG
 ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGGCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
 CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
 GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCCGCTGCTCTGCAGTCTCAGGAC
 TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
 CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCACC
 CTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGA
 TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
 TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
 GGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAG
 CCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTG
 CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
 CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAACATAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCG
 ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
 TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAATGA

Trình tự tín hiệu (1-57), Vùng biến đổi (58-408), Vùng hằng định (409-1398)

SEQ ID NO: 41: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hr198_H2

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPVTSYYISWIRQAPQGLEYIGYVDMGN
 GRTNYNEKFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDNHWGVDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
 PSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC
 SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-136), Vùng hằng định (137-466)

FIG.28

SEQ ID NO: 42: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H3

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCGTGACCG
CCTACTACATCAGCTGGGTGAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATACGTGGGCTACATCGACATGGGCAAC
GGCCGGACCAACTACAACGCCCCGTTTAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
CATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGTGG
ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCCTGCAGTCCTCAGGAC
TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACC
CTGCCCAGCACCTGAAGTCTGGGGGGACCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGA
TCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
GGTCAGCGTCTCACCCTGCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAG
CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGAACACAGGTGTACACCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCAGAACTACAAGACCACCCTCCCGTGCTGGACTCCG
ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAATGA

Trình tự tín hiệu (1-57), Vùng biến đổi (58-408), Vùng hằng định (409-1398)

SEQ ID NO: 43: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_H3

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYPTAYYISWVRQAPGQGLEIVGYIDMGN
GRNTNYNARFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDAVYYCARDNWDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-136), Vùng hằng định (137-466)

FIG.29

SEQ ID NO: 44: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H4

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
 GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCGTGACCG
 CCTACTACATCAGCTGGATCAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATACGTGGGCTACATCGACATGGGCAAC
 GGCCGGACCAACTACAACGCCCGGTTTAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGACACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
 CATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGTGG
 ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGGCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
 CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
 GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCCGCTGTCTGTCAGTCTCAGGAC
 TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
 CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCACC
 CTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGA
 TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
 TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
 GGTCAGCGTCCTCACCCTGTCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAG
 CCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTG
 CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
 CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACTCCG
 ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
 TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Trình tự tín hiệu (1-57), Vùng biến đổi (58-408), Vùng hằng định (409-1398)

SEQ ID NO: 45: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_H4

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPTAYYISWIRQAPQGLEYVGYIDMGN
 GRTNYNARFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDSTNWGVVDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
 PSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
 SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-136), Vùng hằng định (137-466)

FIG.30

SEQ ID NO: 55: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG1

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGCTGAC
 CCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCG
 GCGGCAGCCTGAGCTGGTTCCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCCAAGCGGCTGATCTACAGCACCAGCACCTG
 GAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACAATCAGCAGCCTGCA
 GCCCGAGGACTTCGCCATGTACTACTGCCTGCAGTTCGCCATCTTCCCCGACAGCTTTGGCCAGGGCACCAAGG
 TGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGC
 ACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGC
 CCTGCAGTCCGGGAACCTCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA
 CCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC
 TCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGTTAG

Trình tự tín hiệu (1-60), Vùng biến đổi (61-378), Vùng hằng định (379-702)

SEQ ID NO: 56: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG1

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGGSLSWFQQKPGKAPKRLIYSTSTL
 ESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAMYYCLQFAIFPDSFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
 TASVVCLLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
 SPVTKSFNRGEC

Trình tự tín hiệu (1-20), Vùng biến đổi (21-126), Vùng hằng định (127-234)

FIG.31

SEQ ID NO: 57: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG2

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGCTGAC
 CCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCACGCCAGCCAGAACATCG
 GCGGCAGCCTGAGCTGGTTCCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCCAAGCGGCTGATCTACCTGACCAGCACCCCTG
 GACTGGGGCGTGCCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACAATCAGCAGCCTGCA
 GCCCGAGGACTTCGCCATGTACTACTGCCTGCAGTTCGCCATCTTCCCCGACAGCTTTGGCCAGGGCACCAAGG
 TGGAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGC
 ACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGC
 CCTGCAGTCCGGGAACCTCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA
 CCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC
 TCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGTTAG

Trình tự tín hiệu (1-60), Vùng biến đổi (61-378), Vùng hằng định (379-702)

SEQ ID NO: 58: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG2

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQLTQSPSSLSASVGDRTITCHASQNIIGGSLSWFQQKPGKAPKRLIYLTSTL
 DWGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAMYYCLQFAIFPDSFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
 TASVVCLLNFPYAPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
 SPVTKSFNRGEC

Trình tự tín hiệu (1-20), Vùng biến đổi (21-126), Vùng hằng định (127-234)

FIG.32

SEQ ID NO: 59: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG3

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGCTGAC
 CCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCACGCCAGCCGGAACATCG
 GCGGCAGCCTGAGCTGGTTCCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCCAAGCGGCTGATCTACCTGACCAGCAGCCTG
 GACTGGGGCGTGCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTACACCCTGACAATCAGCAGCCTGCA
 GCCCGAGGACTTCGCCATGTACTACTGCCTGCAGTTTCGCCATCTTCCCCGACAGCTTTGGCCAGGGCACCAAGG
 TGGAATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGC
 ACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGC
 CCTGCAGTCCGGGAACCTCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTGAGCAGCA
 CCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAGC
 TCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGTTAG

Trình tự tín hiệu (1-60), Vùng biến đổi (61-378), Vùng hằng định (379-702)

SEQ ID NO: 60: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kiểu hR198_LG3

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQLTQSPSSLASVGDRTITCHASRNIGGSLSWFQQKPGKAPKRLIYLTSSL
 DWGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAMYYCLQFAIFPDSFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
 TASVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS
 SPVTKSFNRGEC

Trình tự tín hiệu (1-20), Vùng biến đổi (21-126), Vùng hằng định (127-234)

FIG.33

SEQ ID NO: 61: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_HG1

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
 GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCGTGACCG
 CCTACTACATCAGCTGGGTGAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATACGTGGGCTACATCGACATGGGCAAC
 GGCCGGACCGACTACAACGCCCGGTTTAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
 CATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGCCG
 ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
 CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
 GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCTGCAGTCTCAGGAC
 TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
 CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACC
 CTGCCCAGCACCTGAAGTCTTGGGGGGACCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCCAAGGACACCCTCATGA
 TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
 TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
 GGTGAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAG
 CCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTG
 CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
 CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCCGTGTGGACTCCG
 ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
 TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACCCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Trình tự tín hiệu (1-57), Vùng biến đổi (58-408), Vùng hằng định (409-1398)

SEQ ID NO: 62: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_HG1

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPTAYYISWVRQAPGQGLEYYGYIDMGN
 GRTDYNARFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDYAVYYCARDNHWGADYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
 PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
 SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-136), Vùng hằng định (137-466)

FIG.34

SEQ ID NO: 63: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_HG2

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
 GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCATCACCG
 CCTACTACATCAGCTGGGTGAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATACGTGGGCTACATCGACATGGGCAAC
 GGCCGGACCGACTACAACGGCCGGTTTAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
 CATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGCCG
 ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
 CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
 GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCTGCAGTCTCAGGAC
 TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
 CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCCCCACC
 CTGCCCAGCACCTGAAGTCTGGGGGGACCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGA
 TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
 TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
 GGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAG
 CCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCAAGGTGTACACCCTG
 CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
 CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGTGGACTCCG
 ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
 TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Trình tự tín hiệu (1-57), Vùng biến đổi (58-408), Vùng hằng định (409-1398)

SEQ ID NO: 64: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_HG2

MKHLWFFLLVAAPRWLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPI TAYYISWVRQAPGQGLEYYVGYIDMGN
 GRTDYNGRFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARD SNWGADYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
 PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKRVEPKSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
 SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-136), Vùng hằng định (137-466)

FIG.35

SEQ ID NO: 65: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_HG3

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
 GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCATCACCG
 CCTACTACATCAGCTGGGTGAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATACGTGGGCTACATCGACATGGGCAAC
 GGCCGGACCGACTACAACATGCGGTTTAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
 CATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGCCG
 ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
 CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
 GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCCTGCAGTCCTCAGGAC
 TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
 CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCACC
 CTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCCAAGGACACCCTCATGA
 TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
 TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
 GGTCAGCGTCCTCACCCTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAG
 CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTG
 CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
 CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCCGTGTGGACTCCG
 ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
 TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Trình tự tín hiệu (1-57), Vùng biến đổi (58-408), Vùng hằng định (409-1398)

SEQ ID NO: 66: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_HG3

MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPIITAYYISWVRQAPQGLEYVGYIDMGN
 GRTDYNMRFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDYAVYYCARDNWDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
 PSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKRVKPKCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
 SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-136), Vùng hằng định (137-466)

FIG.36

SEQ ID NO: 67: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_H4-LALA

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
 GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCGTGACCG
 CCTACTACATCAGCTGGATCAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATACGTGGGCTACATCGACATGGGCAAC
 GGCCGGACCAACTACAACGCCCGGTTTAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
 CATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGTGG
 ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGGCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
 CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
 GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCTGCAGTCCTCAGGAC
 TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
 CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACC
 CTGCCCAGCACCTGAAGCCGCGGGGGGACCCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGA
 TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
 TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
 GGTGAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAG
 CCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTG
 CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
 CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGTGGACTCCG
 ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
 TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Trình tự tín hiệu (1-57), Vùng biến đổi (58-408), Vùng hằng định (409-1398)

SEQ ID NO: 68: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_H4-LALA

MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPVTAYYISWIRQAPQGLEYVGYIDMGN
 GRTNYNARFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDYAVYYCARDSDNWGVQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
 PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
 SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-136), Vùng hằng định (137-466)

FIG.37

SEQ ID NO: 69: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kiểu hR198_HG1-LALA

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
 GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCGTGACCG
 CCTACTACATCAGCTGGGTGAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATACGTGGGCTACATCGACATGGGCAAC
 GGCCGGACCGACTACAACGCCCGGTTTAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
 CATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGCCG
 ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGGCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
 CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
 GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCTGCAAGTCTCAGGAC
 TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAGCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
 CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCACC
 CTGCCCAGCACCTGAAGCCGCGGGGGGACCCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGA
 TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
 TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
 GGTGAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAG
 CCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTG
 CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
 CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCTCCCGTGTGGACTCCG
 ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
 TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Trình tự tín hiệu (1-57), Vùng biến đổi (58-408), Vùng hằng định (409-1398)

SEQ ID NO: 70: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kiểu hR198_HG1-LALA

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPTAYYISWVRQAPQGLEYVGYIDMGN
 GRTDYNARFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDYAVYYCARDSTNWGADYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
 PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
 SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-136), Vùng hằng định (137-466)

FIG.38

Chuỗi L	SEQ ID	CDRL1	SEQ ID	CDRL2	SEQ ID	CDRL3	SEQ ID
cR118_L	NO: 23	RASQSIGNSL	NO: 116	STSTLES	NO: 96	LQFATFPDT	NO: 99
cR198_L	NO: 25	RASQSIGNSL	NO: 92	STSTLES	NO: 96	LQFATYPDT	NO: 100
hR198_L1	NO: 31	RASQSIGNSL	NO: 92	STSTLES	NO: 96	LQFATYPDT	NO: 100
hR198_L2	NO: 33	RASQSIGNSL	NO: 92	STSTLES	NO: 96	LQFATYPDT	NO: 100
hR198_L3	NO: 35	RASQSIGNSL	NO: 92	STSTLES	NO: 96	LQFATFPDT	NO: 99
hR198_L4	NO: 37	RASQSIGNSL	NO: 92	STSTLES	NO: 96	LQFATFPDT	NO: 99
hR198_LG1	NO: 56	RASQSIGGSL	NO: 93	STSTLES	NO: 96	LQFAIFPDS	NO: 101
hR198_LG2	NO: 58	HASQNIGGSL	NO: 94	LTSTLDW	NO: 97	LQFAIFPDS	NO: 101
hR198_LG3	NO: 60	HASRNIGGSL	NO: 95	LTSSLDW	NO: 98	LQFAIFPDS	NO: 101

Chuỗi H	SEQ ID	CDRH1	SEQ ID	CDRH2	SEQ ID	CDRH3	SEQ ID
cR118_H	NO: 27	AYYIS	NO: 102	YIDMGNGRTNARFKG	NO: 104	DSNWGVY	NO: 109
cR198_H	NO: 29	SYYSIS	NO: 103	YVDMGNGRTNNEKFKG	NO: 105	DSNWGVY	NO: 109
hR198_H1	NO: 39	SYYSIS	NO: 103	YVDMGNGRTNNEKFKG	NO: 105	DSNWGVY	NO: 109
hR198_H2	NO: 41	SYYSIS	NO: 103	YVDMGNGRTNNEKFKG	NO: 105	DSNWGVY	NO: 109
hR198_H3	NO: 43	AYYIS	NO: 102	YIDMGNGRTNARFKG	NO: 104	DSNWGVY	NO: 109
hR198_H4	NO: 45	AYYIS	NO: 102	YIDMGNGRTNARFKG	NO: 104	DSNWGVY	NO: 109
hR198_HG1	NO: 62	AYYIS	NO: 102	YIDMGNGRTDYNARFKG	NO: 106	DSNWGADY	NO: 110
hR198_HG2	NO: 64	AYYIS	NO: 102	YIDMGNGRTDYNARFKG	NO: 107	DSNWGADY	NO: 110
hR198_HG3	NO: 66	AYYIS	NO: 102	YIDMGNGRTDYNMRFKG	NO: 108	DSNWGADY	NO: 110
hR198_H4-LALA	NO: 68	AYYIS	NO: 102	YIDMGNGRTNARFKG	NO: 104	DSNWGVY	NO: 109
hR198_HG1-LALA	NO: 70	AYYIS	NO: 102	YIDMGNGRTDYNARFKG	NO: 106	DSNWGADY	NO: 110

FIG.39

SEQ ID NO: 72: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 2C1.1

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGCAGCA
 GTGGGGAGCCGGCCTGCTGAAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCGCTGTGTACGGAGGCAGCTTCAGCG
 GCTACTACTGGTCCTGGATCCGGCAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGCGAGATCGACCACAGCGGC
 AGCACCAACTACAACCCCGCCCTGAAGTCCCGGCTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCAGCCT
 GAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAGCCGGCAGCGGCGGCTACGAGG
 ATGGTTCGATCCTTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTCAGCTCAGCCAGCACCAAGGGCCCTTCCGTGTTCC
 CCTCTGGCCCCCTTGTAGCCGTTCCACCAGCGAGTCCACCGCCGCCCTTGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCC
 TGAGCCTGTGACCGTGAGCTGGAACCTCCGGAGCCCTTACCAGCGGCGTGACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGT
 CCAGCGGCCTTTACTCCCTGAGCTCCGTGGTGACCGTGCCTAGCTCCAACCTTCGGCACCCAAACCTACACCTGT
 AACGTGGACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGCGTAAGTGTTGTGGAGTGTCTCC
 TTGTCCTGCCCTCCTGTGGCCGGACCTTCCGTGTTCCCTTTCCCTCCTAAGCCTAAGGACACCCCTGATGATCA
 GCCGTACCCCTGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCTGAGGTGCAGTTCAACTGGTAC
 GTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGTGAGGAGCAATTCAACAGCACCTTCCGTGTGGT
 GTCCGTGCTTACCGTGGTGACCAAGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGAGCAACAAGGGAC
 TTCCTGCCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGACCAAGGGCCAACCTCGTGAGCCTCAAGTGTACACCCTTCCCT
 CCTAGCCGTGAGGAGATGACCAAGAACCAAGTGTCCCTTACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGACAT
 CGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGACAACCTGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCTATGCTTGACAGCGACG
 GCTCCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGTTGGCAACAAGGCAACGTGTTAGCTGTTCC
 GTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAAAAGAGCCTTTCCTGAGCCCTGGAAAG

Trình tự tín hiệu (1-57), Vùng biến đổi (58-417), Vùng hằng định (418-1395)

SEQ ID NO: 73: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kháng thể 2C1.1

MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLQQWAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKLEWIGEIDHSG
 STNYPALKSRLTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARAGSGGYEDWFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVF
 PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTC
 NVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWY
 VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLTP
 PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
 CS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-139), Vùng hằng định (140-465)

FIG.40

SEQ ID NO: 74: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 2C1.1

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCCAGTCCGTGCTGAC
 CCAGCCTCCTTCCGTGTCTGGCGCCCCTGGCCAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCAGCAACATCG
 GAGCCGGCTACAACGTGCACTGGTATCAGCAGTTCCCCCGGACCGACCCCAAGCTGCTGATCTACGTGTACAAC
 ATCCGGCCCAGCGGCGTGCCCGACCGGTTTTCTGGCAGCAGAAGCGGCACAAGCGCCAGCCTGGCCATCACCGG
 CCTGCAGACCGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCCAGAGCTACGACAGCAGCCTGAGCGGCGTGGTGTTCGGCG
 GAGGCACCAAGCTGACAGTGCTGGGCCAGCCCAAGGCCAACCCACCGTGACCCTGTTCCCCCAAGCAGCGAG
 GAACTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCTGGCGCCGTGACAGTGGCCTG
 GAAGGCCGATGGATCTCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAACCACCAAGCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAATACG
 CCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACCGGTCTACAGCTGCCAGGTGACACAC
 GAGGGCAGCACCGTGGAAGACCGTGCCCCCACCAGGTGCAGCtagggggccggtttaaacgggggaggcta

Trình tự tín hiệu (1-60), Vùng biến đổi (61-393), Vùng hằng định (394-711)

SEQ ID NO: 75: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kháng thể 2C1.1

MVLQTQVFISLLLWISGAYGQSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYNVHWYQQFPRTPDKLLIYVYN
 IRPSGVPDRFSGSRSGTSASLAITGLQTEDEADYYCQSYDSSLSGVVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSE
 ELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTH
 EGSTVEKTVAPTECS

Trình tự tín hiệu (1-20), Vùng biến đổi (21-131), Vùng hằng định (132-237)

FIG.41

SEQ ID NO: 76: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 5H3.1

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
 GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCGCTAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCG
 ACTACTACATGAACTGGGTGCGCCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCTGGATCAACCCCAACAGC
 GGCGGCACCAAATACGCCAGAAATTCCAGGGCAGAGTGACCATGACCCGGGACACCAGCATCCGGACCGCCTA
 CATGGAAGTGAAGCGGCTGAGAAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGAGTACGGCGGCAACAGCG
 ATGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTCAGCTCAGCCAGCACCAAGGGCCCTTCCGTGTTT
 CCTCTGGCCCTTGTAGCCGTTCCACCAGCGAGTCCACCGCCGCCCTTGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCC
 TGAGCCTGTGACCGTGAGCTGGAAGTCCGGAGCCCTTACCAGCGGCGTGACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGT
 CCAGCGGCCTTTACTCCCTGAGCTCCGTGGTGACCGTGCCTAGCTCCAAGTTCGGCACCCAAACCTACACCTGT
 AACGTGGACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGCGTAAGTGTTGTGTGGAGTGTCTCC
 TTGTCCTGCCCTCCTGTGGCCGGACCTTCCGTGTTTCTTTCCCTCCTAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCA
 GCCGTACCCCTGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCTGAGGTGCAGTTCAACTGGTAC
 GTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGTGAGGAGCAATTCAACAGCACCTTCCGTGTGGT
 GTCCGTGCTTACCGTGGTGACCAAGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAAGTGAAGGTGAGCAACAAGGGAC
 TTCCTGCCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGACCAAGGGCCAACCTCGTGAGCCTCAAGTGTACACCTTCCCT
 CCTAGCCGTGAGGAGATGACCAAGAACCAAGTGTCCCTTACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGACAT
 CGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGACAACCTGAGAACAACCTACAAGACCACCCCTCCTATGCTTGACAGCGACG
 GCTCCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGTTGGCAACAAGGCAACGTGTTGAGCTGTTCC
 GTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAAAAGAGCCTTCCCTGAGCCCTGGAAAG

Trình tự tín hiệu (1-57), Vùng biến đổi (58-417), Vùng hằng định (418-1395)

SEQ ID NO: 77: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kháng thể 5H3.1

MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDYIMNWVRQAPGQGLEWMGWINPNS
 GGTKYAQKFQGRVTMTRDTSIRTAIMEISRLRSDDTAVYYCAREYGGNSDWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVF
 PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTC
 NVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPPEPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWY
 VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSFLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTL
 PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
 VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-139), Vùng hằng định (140-465)

FIG.42

SEQ ID NO: 78: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 5H3.1

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCCAGTCCGTGCTGAC
 CCAGCCTCCTTCCGTGTCTGGCGCCCCTGGCCAGAGAGTGACCATCAGCTGTACCGGCAGCAGCAGCAACATCG
 GAGCTGGATACGACGTGCACTGGTATCAGCAGCTGCCCCGCCACCGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGGCAACAGC
 AACCGGCCAGCGCGTGTGCGGATAGATTAGCGGCAGCAAGAGCGGCACCAGCGCCAGCCTGGCCATTACCGG
 ACTGCAGGCCGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCCAGAGCTACGACAACCGGCTGAGCGACAGCGTGGTGATCG
 GCGGAGGCACCAAGCTGGCCGTGCAGGGACAGCCCAAGGCCAACCCACCGTGACCCTGTTCCCCCAAGCAGC
 GAGGAAGTGCAGGCCAACAAAGGCCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCTGGCGCCGTGACAGTGGC
 CTGGAAGGCCGATGGATCTCCCGTGAAGGCCGGCGTGAAACCACCAAGCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAAT
 ACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACCGGTCCTACAGCTGCCAGGTGACA
 CACGAGGGCAGCACCGTGAAAAAGACCGTGGCCCCCACCAGTGACAGCtagggggcccggtttaaacgggggaggc
 ta

Trình tự tín hiệu (1-60), Vùng biến đổi (61-396), Vùng hằng định (397-714)

SEQ ID NO: 79: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kháng thể 5H3.1

MVLQTQVFISLLLWISGAYGQSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNS
 NRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDNRLSDSVVIGGGTKLAVQGQPKANPTVTLFPPSS
 EELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVT
 HEGSTVEKTVAPTECS

Trình tự tín hiệu (1-20), Vùng biến đổi (21-132), Vùng hằng định (133-238)

FIG.43

SEQ ID NO: 80: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 10F8

ccagcctccggactctagagccaccATGAAGCACCTGTGGTTCTTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGG
 TGCTGTCTCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGCGCCGAACCTCGTGCGGCCTGGAAGCAGCGTGAAGATCAGCTGC
 AAGGCCAGCGGCTACGCCTTCCGGTCCTACTGGATGAACTGGGTCAAGCAGAGGCCAGGCCAGGGCCTGGAATG
 GATCGGCCACATCTATCCCGGCGACGGCGACACCAACTACAACGGCAAGTTCAAGGGCAAGGCCACCCTGACCG
 CCGACAAGAGCAGCAGCACAGCCTACATGCAGCTGTCCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACCTGTGT
 GGCAGAGGGCGGCACAACCGTGGTGGTGGATTATTGGGGCCAGGGCACCACACTGACCGTGTCCAGCGCCAAGAC
 CACCCCCCATCTGTGTATCCTCTGGCCCCCTGGATCTGCCGCCCAGACCAACAGCATGGTCACCCTGGGCTGCC
 TCGTGAAGGGCTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTGACCTGGAACAGCGGCTCTCTGTCTAGCGGCGTGACACAC
 TTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCGACCTGTACACCCTGAGCAGCTCCGTGACCGTGCCTAGCAGCACCTGGCCTAG
 CGAGACAGTGACCTGCAACGTGGCCACCCTGCCAGCTCTACCAAGGTGGACAAGAAAAATCGTGCCCCGGGACT
 GCGGCTGCAAGCCCTGTATCTGTACCGTGCCCGAGGTGTCCTCCGTGTTTCTTCCCACCCAAGCCCAAGGAC
 GTGCTGACCATCACCTGACACCCAAAGTGACATGTGTGGTGGTGGACATCAGCAAGGACGACCCCGAGGTGCA
 GTTCAGTTGGTTCTGTGGACGACGTGGAAGTGACACAGCCCAGACCCAGCCCAGAGAGGAACAGTTCAACAGCA
 CCTTCAGAAGCGTGTCCGAGCTGCCCATCATGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATTCAAGTGCAGAGTG
 AACAGCGCCGCCTTCCCTGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGACCAAGGGCAGACCCAAGGCCCCCAGGT
 GTACACAATCCCCCACCCAAAGAACAGATGGCCAAGGACAAGGTGTCCCTGACCTGCATGATCACCGATTTCT
 TCCCAGAGGACATCACCGTGAATGGCAGTGGAACGGCCAGCCCGCCGAGAACTACAAGAACACCCAGCCTATC
 ATGGACACCGACGGCAGCTACTTCGTGTACAGCAAGCTGAACGTGCAGAAAGTCCAAGTGGGAGGCCGGCAACAC
 CTTACCTGTAGCGTGTGTCAGAGGGCCTGCACAATCACCACACCGAGAAGTCCCTGTCCCACAGCCCCGGCA
 AAtgagtttaaacgggggaggctaact

Trình tự tín hiệu (26-82), Vùng biến đổi (83-436), Vùng hằng định (437-1408)

SEQ ID NO: 81: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kháng thể 10F8

MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFRSYWMNWVKQRPQGQLEWIGHIYPGD
 GDTNYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYLCGRGGTTVVVDYWGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPL
 APGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTPVPSSTWPSSETVTCNVA
 HPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITITLTPKVTCTVVDISKDDPEVQFSWFVDDV
 EVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKE
 QMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVQKSNWEAGNTFTCSVLHE
 GLHNHHTKSLSHSPGK

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-137), Vùng hằng định (138-461)

FIG.44

SEQ ID NO: 82: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 10F8

ccagcctccggactctagagccaccATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCAGCG
 GCGCCTACGGCGACATCGTGATGAGCCAGAGCCCTAGCAGCCTGGCCGTGTCTGCCGGCGAGAAAAGTGACCATG
 AGCTGCAAGAGCAGCCAGTCCCTGCTGAACAGCCGGACCCGGAAGAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCC
 CGGCCAGTCCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAGAGAAAAGCGGCGTGCCCGATAGATTCACCGGCA
 GCGGCTCTGGCACCAGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCGTGCAGGCCGAGGACCTGGCTGTGTACTACTGCAAG
 CAGAGCTACAACCTGCCCTGGACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAGAGAGCCGACGCCGCTCCCAC
 CGTGTCCATCTTTCCACCTAGCAGCGAGCAGCTGACCAGCGGCGGAGCTAGCGTCGTGTGCTTCCTGAACAACT
 TCTACCCCAAGGACATCAACGTGAAGTGGAAGATCGACGGCAGCGAGCGGCAGAACGGCGTGCTGAATAGCTGG
 ACCGACCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCATGTCCAGCACCCCTGACCCTGACCAAGGACGAGTACGAGCG
 GCACAACAGCTACACATGCGAGGCCACCCACAAGACCAGCACCTCCCCATCGTGAAGTCCTTCAACCGGAACG
 AGTGCTgagtttaaacgggggaggctaact

Trình tự tín hiệu (26-85), Vùng biến đổi (86-430), Vùng hằng định (431-745)

SEQ ID NO: 83: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kháng thể 10F8

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLNSRTRKKNYLAWYQQKPGQSPKLLI
 YWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCKQSYNLPWTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSS
 EQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEA
 THKTSTSPIVKSFNRNEC

Trình tự tín hiệu (1-20), Vùng biến đổi (21-135), Vùng hằng định (136-240)

FIG.45

SEQ ID NO: 84: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 14F74

ccagcctccggactctagagccaccATGAAGCACCTGTGGTTCTTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGG
 TGCTGTCTCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGCGCCGAACCTGCTGCGGCCTGGAAGCAGCGTGAAGATCAGCTGC
 AAGGCCAGCGGCTACGCCTTCAGCAGCTACTGGATGAACTGGGTCAAGCAGCGGCCAGGCCAGGGCCTGGAATG
 GATCGGCCATATCTATCCCGGCGACGGCGACACCAACTACAACGGCAAGTTCAAGGGCAAGGCCACCCTGACCG
 CCGACAAGAGCAGCAGCACAGCCTACATGCAGCTGAGCGGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTTCTGC
 GCCAGAAGCGGCAGACTGAGATTGCGCATGGACTACTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACAGTGTCTAGCGCCAA
 GACCACCCCCCAGCGTGTACCCTCTGGCTCCTGGATCTGCCGCCAGACCAACAGCATGGTCACCCTGGGCT
 GCCTCGTGAAGGGCTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTGACCTGGAACAGCGGCTCTCTGTCTAGCGGCGTGCAC
 ACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCGACCTGTACACCCTGAGCAGCTCCGTGACCGTGCCTAGCAGCACCTGGCC
 TAGCGAGACAGTGACCTGCAACGTGGCCACCCTGCCAGCTCTACCAAGGTGGACAAGAAAATCGTGCCCCGGG
 ACTGCGGCTGCAAGCCCTGTATCTGTACCGTGCCCCGAGGTGTCCAGCGTGTTCATCTTCCCACCCAAGCCCAAG
 GACGTGCTGACCATCACCTGACACCCAAAGTGACCTGTGTGGTGGTGGACATCAGCAAGGACGACCCGAGGT
 GCAGTTCAGTTGGTTCGTGGACGACGTGGAAGTGACACAGCCCAGACCCAGCCAGAGAGGAACAGTTCAACA
 GCACCTTCAGAAGCGTGTCCGAGCTGCCCATCATGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATTCAAGTGCAGA
 GTGAACAGCGCCGCTTCCCTGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGACCAAGGGCAGACCCAAGGCCCTCA
 GGTGTACACAATCCCCCACCCAAAGAACAGATGGCCAAGGACAAGGTGTCCCTGACCTGCATGATCACCGATT
 TCTTCCCAGAGGACATCACCGTGAATGGCAGTGAACGGCCAGCCCGCCGAGAACTACAAGAACACCCAGCCT
 ATCATGGACACCGACGGCAGCTACTTCGTGTACAGCAAGCTGAACGTGCAGAAAGTCCAAGTGGGAGGCCGGCAA
 CACCTTACCTGTAGCGTGTGCACGAGGGCCTGCACAATCACACACCGAGAAGTCCCTGTCCCACAGCCCCG
 GCAAAAtgagtttaaacgggggaggctaact

Trình tự tín hiệu (26-82), Vùng biến đổi (83-439), Vùng hằng định (440-1411)

SEQ ID NO: 85: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kháng thể 14F74

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPQGGLWIGHIYPGD
 GDTNYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYFCARSGRLRFAMDYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSVYP
 LAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTPSSTWPSETVTCNV
 AHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFFPKPKDVLITITLTPKVTVCVVVDISKDDPEVQFSWFVDD
 VEVHTAQTPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPK
 EQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLNQKSNWEAGNTFTCSVLH
 EGLHNHTEKSLSHSPGK

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-138), Vùng hằng định (139-462)

FIG.46

SEQ ID NO: 86: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 14F74

ccagcctccggactctagagccaccATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCAGCG
 GCGCCTACGGCGACATCGTGATGAGCCAGAGCCCTAGCAGCCTGGCCGTGTCTGCCGGCGAGAAAGTGACCATG
 AGCTGCAAGAGCAGCCAGTCCCTGCTGAACAGCCGGACCCGGAAGAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCC
 CGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAGAGAAAGCGGCGTGCCCGATAGATTACCCGGCA
 GCGGCTCTGGCACCAGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCGTGCAGGCCGAGGACCTGGCTGTGTACTACTGCAAG
 CAGAGCTACAACCTGCGGACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCCAGAGAGCCGACGCCGCTCCCACCGT
 GTCCATCTTTCCACCTAGCAGCGAGCAGCTGACCAGCGGCGGAGCTAGCGTCTGTGCTTCCTGAACAACTTCT
 ACCCCAAGGACATCAACGTGAAGTGAAGATCGACGGCAGCGAGCGGCAGAACGGCGTGCTGAATAGCTGGACC
 GACCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCATGTCCAGCACCTGACCCTGACCAAGGACGAGTACGAGCGGCA
 CAACAGCTACACATGCGAGGCCACCCACAAGACCAGCACCTCCCCATCGTGAAGTCCTCAACCGGAACGAGT
 GCtgagtttaaacgggggaggctaact

Trình tự tín hiệu (26-85), Vùng biến đổi (86-427), Vùng hằng định (428-742)

SEQ ID NO: 87: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kháng thể 14F74

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLLNSRTRKKNYLAWYQQKPGQSPKLLI
 YWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFLTISSVQAEDLAVYYCKQSYNLRTEFGGGTKLEIQRADAAPTVSIFPPSSE
 QLTSGGASVVCFLNPFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEAT
 HKTSTSPIVKSFNRNEC

Trình tự tín hiệu (1-20), Vùng biến đổi (21-134), Vùng hằng định (135-239)

FIG.47

SEQ ID NO: 88: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng kháng thể 17F6

ccagcctccggactctagagccaccATGAAGCACCTGTGGTTCTTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCAGATGGG
 TGCTGTCTCAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGCGCCGAACCTCGTGCGGCCTGGAAGCAGCGTGAAGATCAGCTGC
 AAGGCCAGCGGCTACGCCTTCAGCAGCTACTGGATGAACTGGGTCAAGCAGCGGCCAGGCCAGGGCCTGGAATG
 GATCGGCCATATCTATCCCGGCGACGCCGACCAACTACAACGGCAAGTTCAAGGGCAAGGCCACCCTGACCG
 CCGACAAGAGCAGCAGCACAGCCTACATGCACCTGTCCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTTCTGC
 AGCCGGCAGCTGGGCTTCAGATACGCCATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCAGCGTGACCGTGTCTAGCGCCAA
 GACCACCCCCCTAGCGTGTACCCTCTGGCCCCCTGGATCTGCCGCCCAGACCAACAGCATGGTCAACCCTGGGCT
 GCCTCGTGAAGGGCTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTGACCTGGAACAGCGGCTCTCTGTCTAGCGGCGTGCAC
 ACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCGACCTGTACACCCTGAGCAGCTCCGTGACAGTGCCCGAGCTCTACCTGGCC
 CAGCGAGACAGTGACCTGCAACGTGGCCCCACCCTGCCAGCAGCACCAAGGTGGACAAGAAAATCGTGCCCCGGG
 ACTGCGGCTGCAAGCCCTGTATCTGTACCGTGCCCCGAGGTGTCCAGCGTGTTTCATCTTCCCAACCAAGCCCAAG
 GACGTGCTGACCATCACCTGACACCCAAAGTGACCTGTGTGGTGGTGGACATCAGCAAGGACGACCCGAGGT
 GCAGTTCAGTTGGTTCGTGGACGACGTGGAAGTGACACAGCCCAGACCCAGCCCAGAGAGGAACAGTTCAACA
 GCACCTTCAGAAGCGTGTCCGAGCTGCCCATCATGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATTCAAGTGCAGA
 GTGAACAGCGCCGCTTCCCTGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGACCAAGGGCAGACCCCAAGGCCCCCCA
 GGTGTACACAATCCCCCACCCAAAGAACAGATGGCCAAGGACAAGGTGTCCCTGACCTGCATGATCACCGATT
 TCTTCCAGAGGACATCACCGTGAATGGCAGTGAACGGCCAGCCCGCGAGAACTACAAGAACACCCAGCCT
 ATCATGGACACCGACGGCAGCTACTTCGTGTACAGCAAGCTGAACGTGCAGAAGTCCAAGTGGGAGGCCGGCAA
 CACCTTACCTGTAGCGTGTGCACGAGGGCCTGCACAATCACCACACCGAGAAAGTCCCTGTCCCACAGCCCCG
 GCAAAAtgagtttaaacggggaggagtaact

Trình tự tín hiệu (26-82), Vùng biến đổi (83-439), Vùng hằng định (440-1411)

SEQ ID NO: 89: Trình tự axit amin của chuỗi nặng kháng thể 17F6

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPQGQLEWIGHIYPGD
 ADTNYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCRQLGFRYAMDYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSVYP
 LAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTPSPSTWPSSETVTCNV
 AHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITITLTPKVTCTVVDISKDDPEVQFSWFVDD
 VEVHTAQTPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPK
 EQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVNQSNEAGNTFTCSVLH
 EGLNHHTEKSLSHSPGK

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-138), Vùng hằng định (139-462)

FIG.48

SEQ ID NO: 90: Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể 17F6

ccagcctccggactctagagccaccATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCAGCG
 GCGCCTACGGCGACATCGTGATGAGCCAGAGCCCTAGCAGCCTGGCCGTGTCTGCCGGCGAGAAAAGTGACCATG
 AGCTGCAAGAGCAGCCAGTCCCTGCTGAACAGCCGGACCCGGAAGAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCC
 CGGCCAGTCCCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAGAGAAAAGCGGCGTGCCCGATAGATTACCCGGCA
 GCGGCTCTGGCACCAGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCGTGCAGGCCGAGGACCTGGCTGTGTACTACTGCAAG
 CAGAGCTACAACCTGCGGACCTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAGAGAGCCGACGCCGCTCCCACCGT
 GTCCATCTTTCCACCTAGCAGCGAGCAGCTGACCAGCGGCGGAGCTAGCGTCGTGTGCTTCCTGAACAACCTTCT
 ACCCCAAGGACATCAACGTGAAGTGAAGATCGACGGCAGCGAGCGGCAGAACGGCGTGCTGAATAGCTGGACC
 GACCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACAGCATGTCCAGCACCCCTGACCCTGACCAAGGACGAGTACGAGCGGCA
 CAACAGCTACACATGCGAGGCCACCCACAAGACCAGCACCTCCCCCATCGTGAAGTCCTTCAACCGGAACGAGT
 GCtgagtttaaacgggggaggctaact

Trình tự tín hiệu (26-85), Vùng biến đổi (86-427), Vùng hằng định (428-742)

SEQ ID NO: 91: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ kháng thể 17F6

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLLNSRTRKKNYLAWYQQKPGQSPKLLI
 YWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISVQAEDLAVYYCKQSYNLRTEFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSE
 QLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKEYERHNSYTCEAT
 HKTSTSPIVKSFNRNEC

Trình tự tín hiệu (1-20), Vùng biến đổi (21-134), Vùng hằng định (135-239)

FIG.49

SEQ ID NO: 111: Trình tự nucleotit mã hóa hR198_H0

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
 GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCGTGACCA
 GCTACTACATCAGCTGGATCAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCTATGTGGACATGGGCAAC
 GGCCGGACCAACTACAACGAGAAGTTCAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACC GCCTA
 CATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGTGG
 ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
 CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
 GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCCGCTGTCTGTCAGTCTCAGGAC
 TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
 CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCACC
 CTGCCCAGCACCTGAAGTCTTGGGGGGACCCCTAGTCTTCTCTTCCCCCAGAACCCCAAGGACACCCTCATGA
 TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
 TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGT
 GGTGAGCGTCTCACCGTCTGACCCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAG
 CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTG
 CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
 CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCTCCCGTGTGGAAGTCCG
 ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
 TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Trình tự tín hiệu (1-57), Vùng biến đổi (58-408), Vùng hằng định (409-1398)

SEQ ID NO: 112: Trình tự axit amin of hR198_H0

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPVTSYYISWIRQAPGQGLEWIGYVDMGN
 GRTNYNEKFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDSTNWDVYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
 PSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
 SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-136), Vùng hằng định (137-466)

FIG.50

SEQ ID NO: 113: Trình tự nucleotit mã hóa hR198_H5

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCA
 GTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCTGGCTACCCCGTGACCG
 CCTACTACATCAGCTGGATCAGACAGGCCCCAGGCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCGACATGGGCAAC
 GGCCGGACCAACTACAACGCCCCGTTTAAAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCCTA
 CATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGACAGCAACTGGGGCGTGG
 ACTATTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCAAGCGTCTTCCCCCTGGCA
 CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGT
 GACCGTGAGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCCGCTGTCCTGCAGTCCTCAGGAC
 TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT
 CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAACTTGTGACAAAACACACATGCCCACC
 CTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCCCTAGTCTTCTCTTCCCCCAGAACCCCAAGGACACCCTCATGA
 TCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
 TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACCGGGT
 GGTGAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAG
 CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCCAGCCCCGGGAACCACAGGTGTACACCCTG
 CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA
 CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAATAACAAGACCACCCTCCCGTGTCTGGACTCCG
 ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTCTTCTCATGC
 TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGCAAATGA

Trình tự tín hiệu (1-57), Vùng biến đổi (58-408), Vùng hằng định (409-1398)

SEQ ID NO: 114: Trình tự axit amin of hR198_H5

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYPTVAYYISWIRQAPGQGLEWIGYIDMGN
 GRTNYNARFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDSDNWGVDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA
 PSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
 PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC
 SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự tín hiệu (1-19), Vùng biến đổi (20-136), Vùng hằng định (137-466)

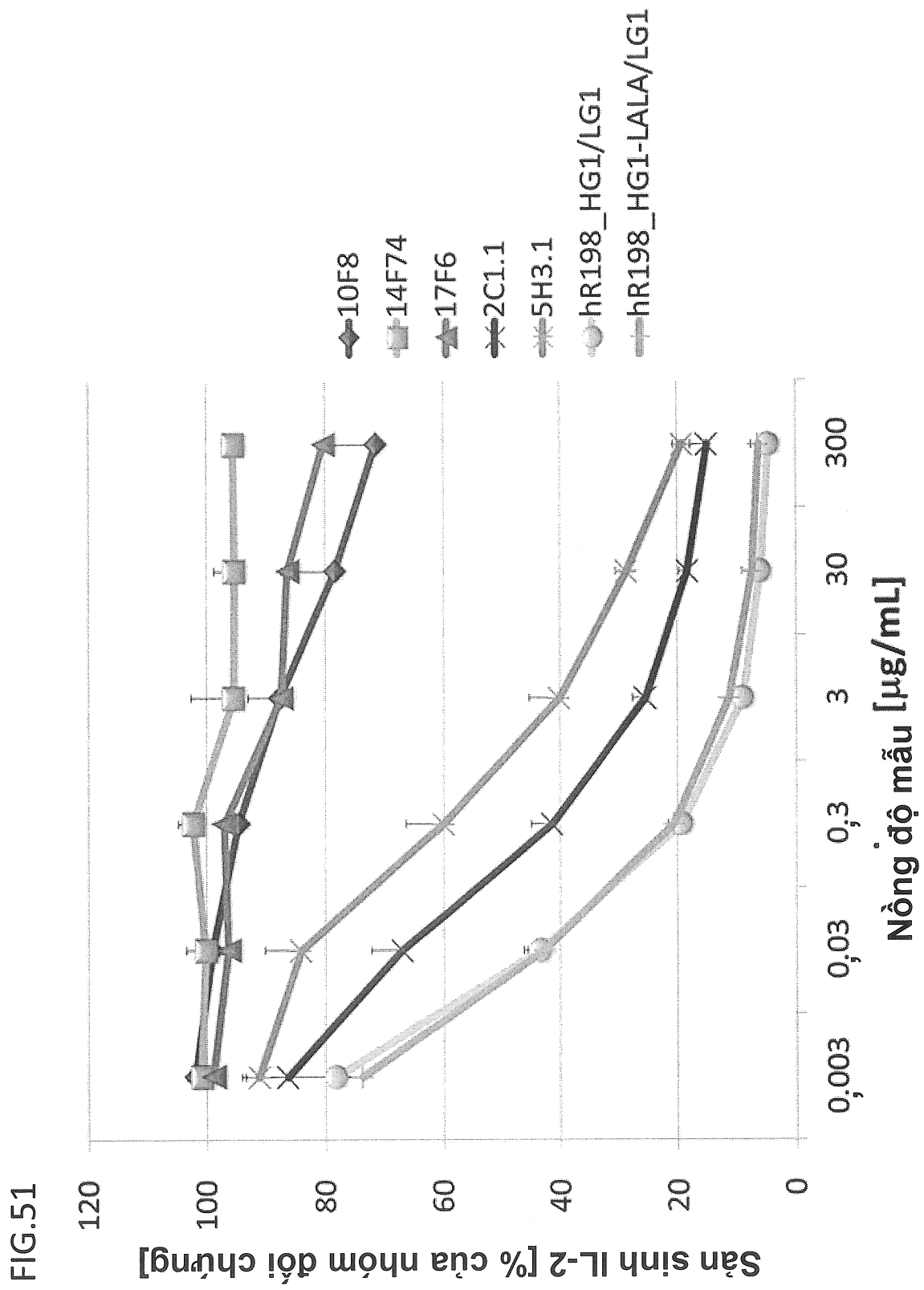


FIG.52

	IC ₅₀ [ng/mL]	IC ₈₀ [ng/mL]
10F8	>300000	>300000
14F74	>300000	>300000
17F6	>300000	>300000
2C1.1	137	17572
5H3.1	950	250617
hR198_HG1/LG1	19	282
hR198_HG1-LALA/LG1	17	347

FIG.53

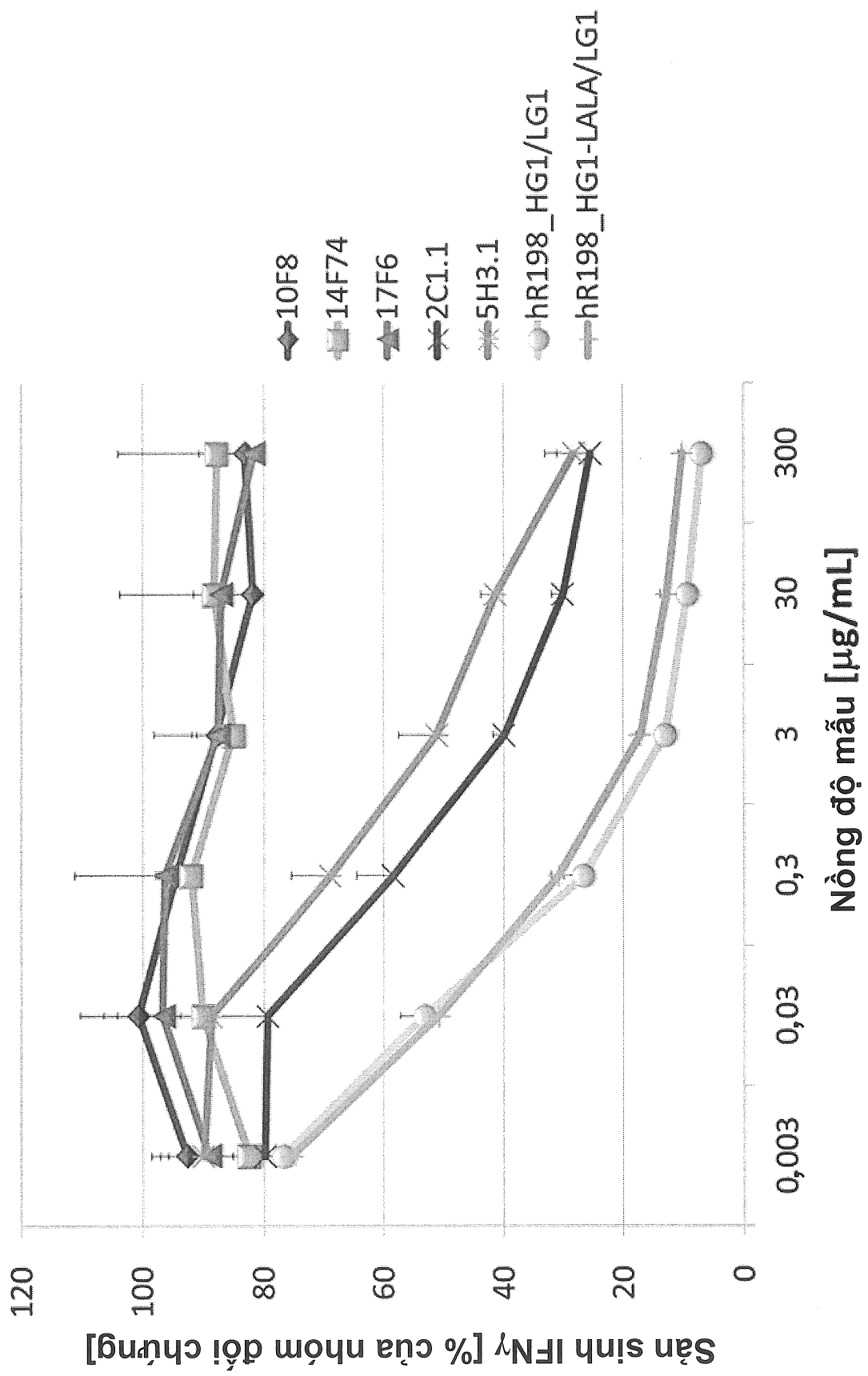


FIG.54

	IC ₅₀ [ng/mL]	IC ₈₀ [ng/mL]
10F8	>300000	>300000
14F74	>300000	>300000
17F6	>300000	>300000
2C1.1	852	>300000
5H3.1	3917	>300000
hR198_HG1/LG1	39	915
hR198_HG1-LALA/LG1	33	1840

FIG.55

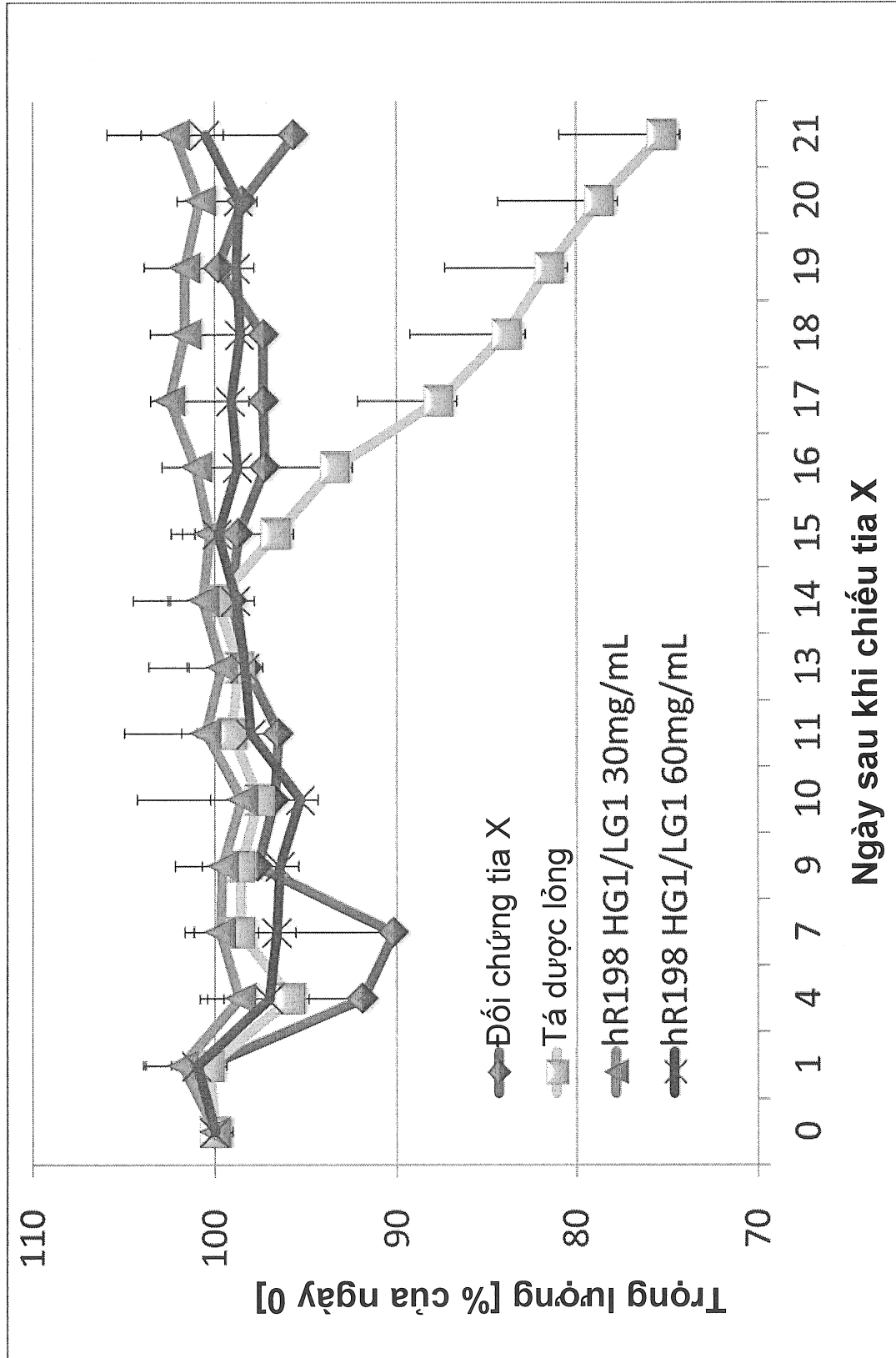


FIG.56

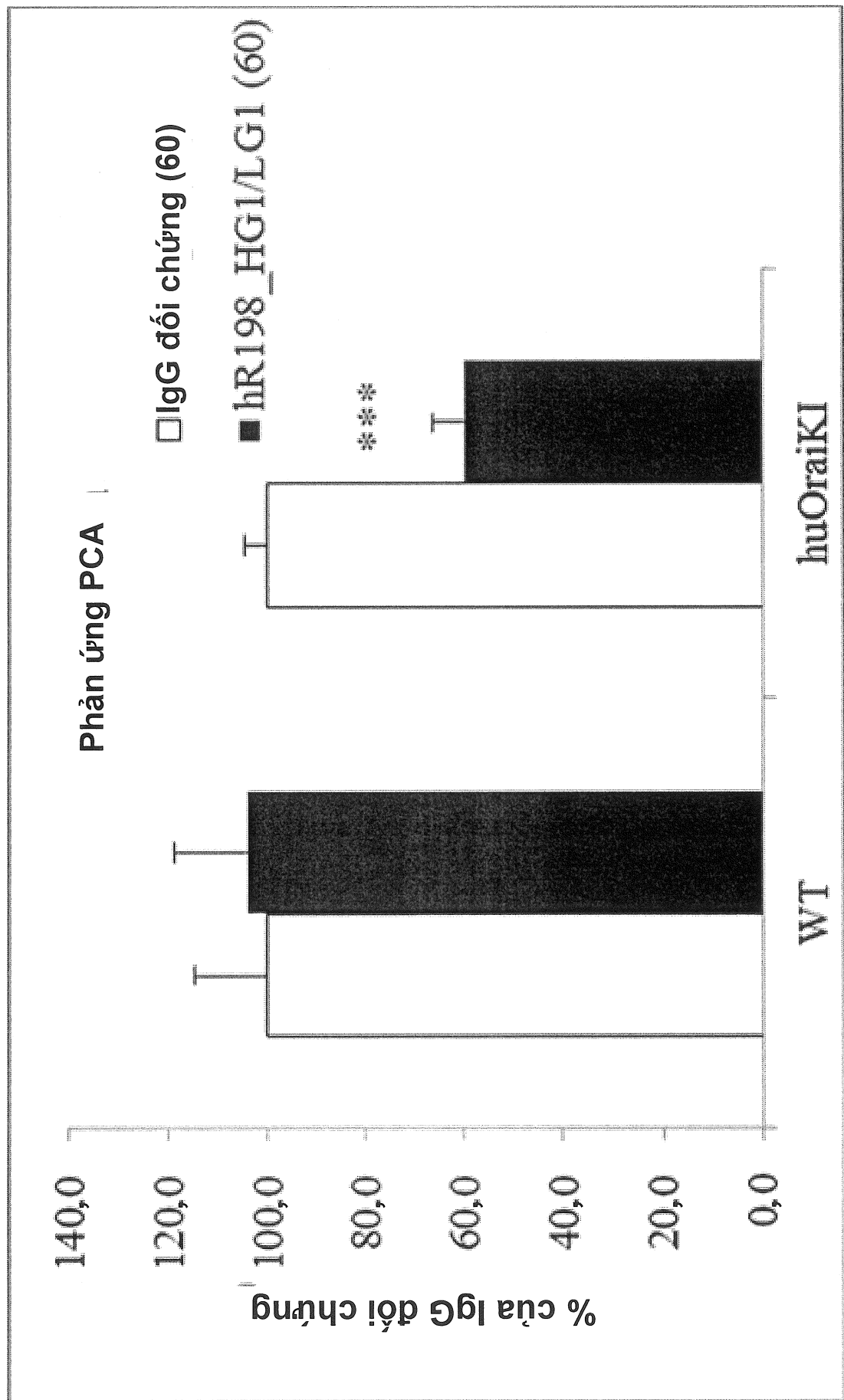
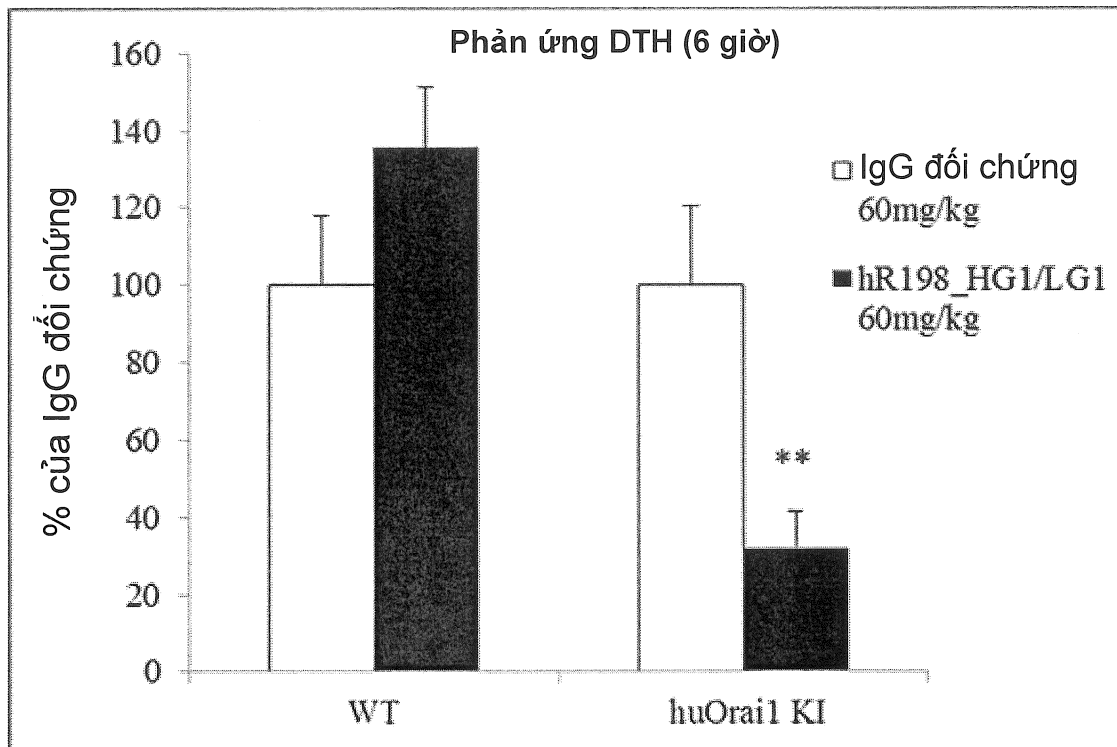
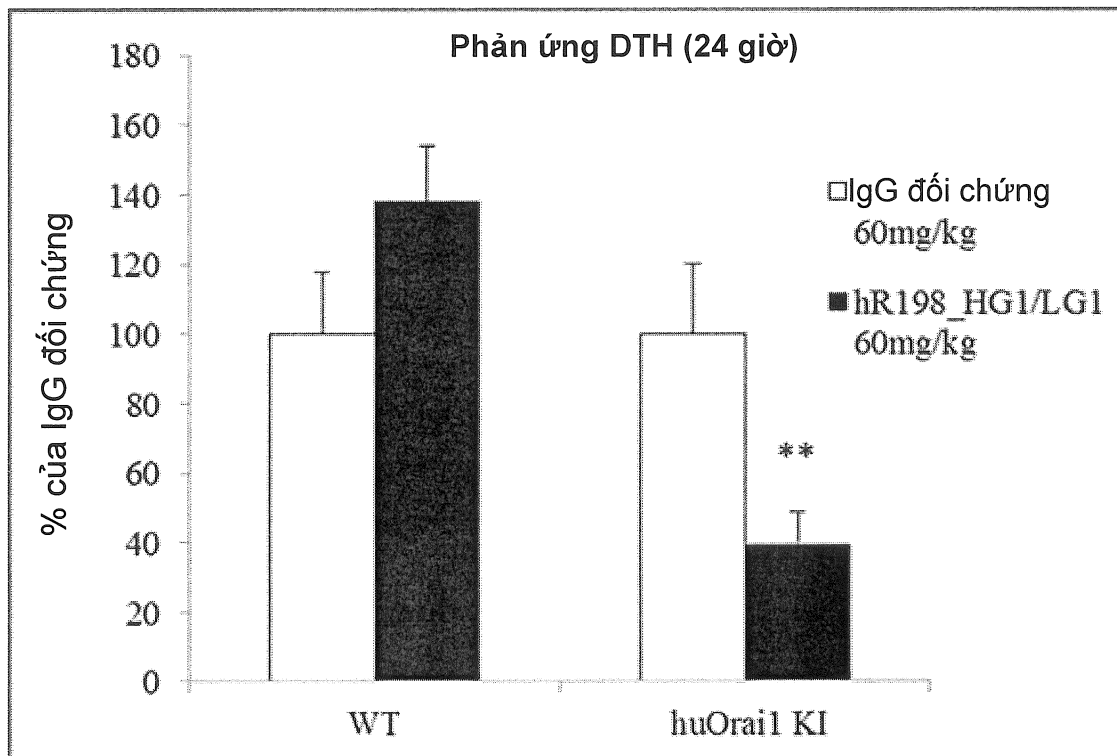


FIG.57

(A)



(B)



(C)

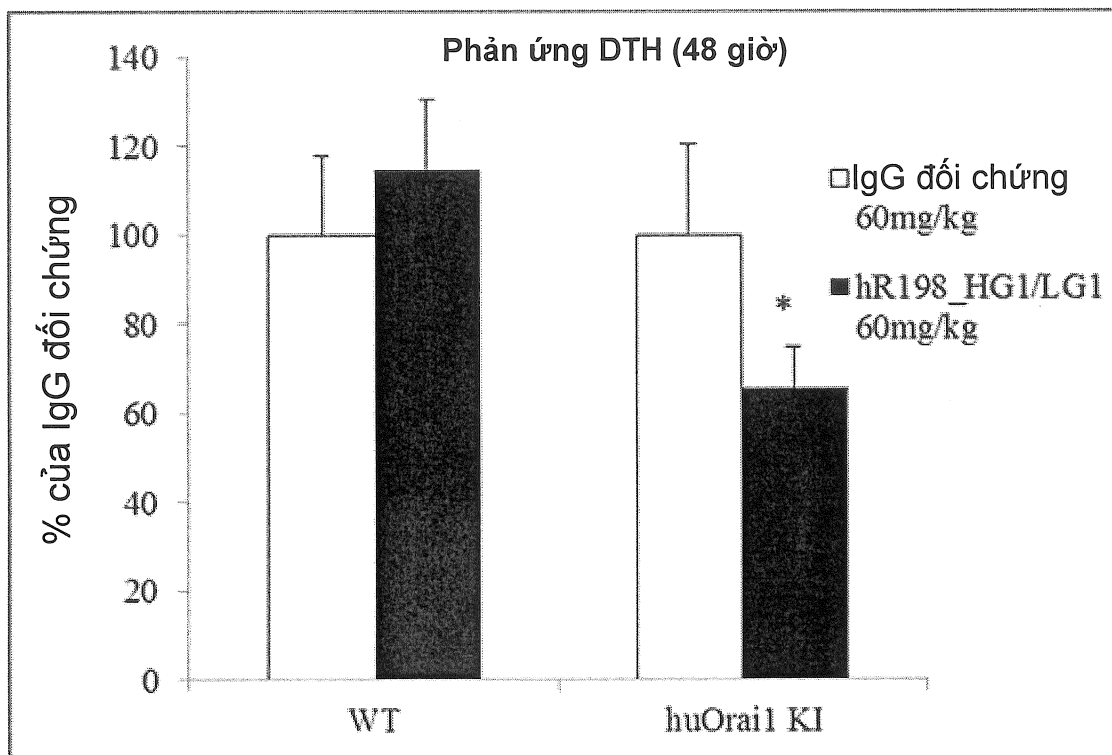
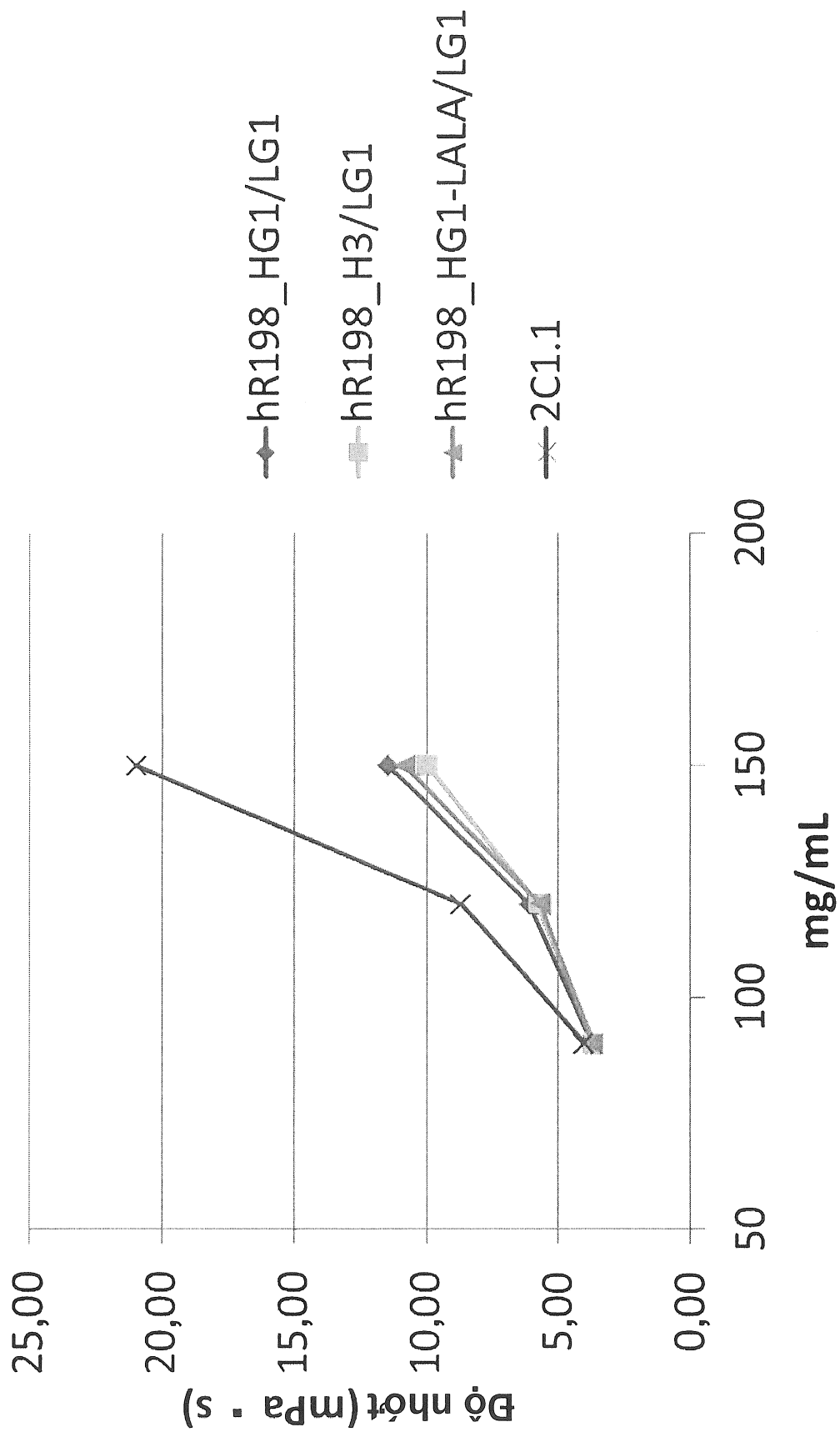


FIG.58



Danh mục trình tự

<110> Daiichi Sankyo Co., Ltd.

<120> Kháng thể kháng Orai 1, dược phẩm chứa kháng thể này, polynucleotit mã hóa kháng thể này và phương pháp sản xuất kháng thể này

<130> FP1522

<160> 116

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 906

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 1

atgcatccgg agcccgcccc gcccccgagc cgtagcagtc ccgagcttcc cccaagcggc
60

ggcagcacca ccagcggcag ccgccggagc cgccgccgca gcggggacgg ggagcccccg
120

ggggccccgc caccgccgcc gtccgccgtc acctaccggg actggatcgg ccagagttac
180

tccgaggtga tgagcctcaa cgagcactcc atgcaggcgc tgcctgggcg caagctctac
240

ttgagccgcg ccaagcttaa agcctccagc cggacctcgg ctctgctctc cggcttcgcc
300

atggtggcaa tgggtggaggt gcagctggac gctgaccacg actaccaccc ggggctgctc
360

atgccttca gtgcctgcac cacagtgtg gtggctgtgc acctgtttgc gtcctatgatc
420

agcacctgca tcctgccccaa catcgaggcg gtgagcaacg tgcacaatct caactcggtc
480

aaggagtccc cccatgagcg catgcaccgc cacatcgagc tggcctgggc cttctccacc
540

gtcattggca cgtgtgtctt cctagctgag gtgggtgtgc tctgtgggt caagttcttg
600

cccctcaaga agcagccagg ccagccaagg cccaccagca agccccccgc cagtggcgca
660

gcagccaacg tcagcaccag cggcatcacc ccgggccagg cagctgccat cgcctcgacc
720

accatcatgg tgcccttcgg cctgatcttt atcgtcttcg ccgtccactt ctaccgctca
780

ctggtttagcc ataagaccga ccgacagttc caggagctca acgagctggc ggagtttgcc
840

cgcttacagg accagctgga ccacagaggg gaccaccccc tgacgcccgg cagccactat
900

gcctag
906

<210> 2
<211> 301
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

Met His Pro Glu Pro Ala Pro Pro Pro Ser Arg Ser Ser Pro Glu Leu
1 5 10 15

Pro Pro Ser Gly Gly Ser Thr Thr Ser Gly Ser Arg Arg Ser Arg Arg
20 25 30

Arg Ser Gly Asp Gly Glu Pro Pro Gly Ala Pro Pro Pro Pro Ser
35 40 45

Ala Val Thr Tyr Pro Asp Trp Ile Gly Gln Ser Tyr Ser Glu Val Met
50 55 60

Ser Leu Asn Glu His Ser Met Gln Ala Leu Ser Trp Arg Lys Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Ser Arg Ala Lys Leu Lys Ala Ser Ser Arg Thr Ser Ala Leu Leu
85 90 95

Ser Gly Phe Ala Met Val Ala Met Val Glu Val Gln Leu Asp Ala Asp
100 105 110

His Asp Tyr Pro Pro Gly Leu Leu Ile Ala Phe Ser Ala Cys Thr Thr
 115 120 125

Val Leu Val Ala Val His Leu Phe Ala Leu Met Ile Ser Thr Cys Ile
 130 135 140

Leu Pro Asn Ile Glu Ala Val Ser Asn Val His Asn Leu Asn Ser Val
 145 150 155 160

Lys Glu Ser Pro His Glu Arg Met His Arg His Ile Glu Leu Ala Trp
 165 170 175

Ala Phe Ser Thr Val Ile Gly Thr Leu Leu Phe Leu Ala Glu Val Val
 180 185 190

Leu Leu Cys Trp Val Lys Phe Leu Pro Leu Lys Lys Gln Pro Gly Gln
 195 200 205

Pro Arg Pro Thr Ser Lys Pro Pro Ala Ser Gly Ala Ala Ala Asn Val
 210 215 220

Ser Thr Ser Gly Ile Thr Pro Gly Gln Ala Ala Ala Ile Ala Ser Thr
 225 230 235 240

Thr Ile Met Val Pro Phe Gly Leu Ile Phe Ile Val Phe Ala Val His
 245 250 255

Phe Tyr Arg Ser Leu Val Ser His Lys Thr Asp Arg Gln Phe Gln Glu
 260 265 270

Leu Asn Glu Leu Ala Glu Phe Ala Arg Leu Gln Asp Gln Leu Asp His
 275 280 285

Arg Gly Asp His Pro Leu Thr Pro Gly Ser His Tyr Ala
 290 295 300

<210> 3
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Đoạn mồi PCR Nhe-polyC-S

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(37)
 <223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 3
 gctagcgcta ccggactcag atcccccccc cccccdn
 37

<210> 4
 <211> 28
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Đoạn mồi PCR rIg gamma-AS1

<400> 4
 tcactgagct ggtgagagt tagagccc
 28

<210> 5
 <211> 28
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Đoạn mồi PCR rIG gamma-AS2

<400> 5
 tcaccgagct gctgagggtg tagagccc
 28

<210> 6
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Đoạn mồi PCR Nhe-polyC-S

<220>
 <221> misc_feature

<222> (37)..(37)

<223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 6

gctagcgcta ccggactcag atcccccccc cccccdn
37

<210> 7

<211> 28

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> rIg kappa-AS

<400> 7

tcagtaacac tgtccaggac accatctc
28

<210> 8

<211> 19

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> rIG gamma-seq

<400> 8

ctggctcagg gaaatagcc
19

<210> 9

<211> 19

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> rIG kappa-seq

<400> 9

tccagttgct aactgttcc
19

<210> 10

<211> 405

<212> ADN

<213> Rattus rattus

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (382)..(382)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<220>
<221> misc_feature
<222> (403)..(403)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 10
atgaaaatga cgacacctgc tcagttcctt gggcttctgt tgctctgggt tccaggtgcc
60

aggtgtgaca tccagttgac ccagttctcca tccacattgc ctgcatccct gggagagaga
120

gtcaccatca gttgcagagc aagtcagagt attagcaata gtttaagctg gtttcaacag
180

aaaccagatg gaactgttaa acgcctgac tattctacat ccactttaga atctgggtgc
240

ccatcaaggt tcagtggcag tgggtctggg acagattatt ctctctccat caccagtctt
300

gagtctgaag attttgcaat gtattactgt ctacagtttg ctacttttcc ggacacgttt
360

ggaactggga ccaaactgga antgagacgg gctgatgctg canca
405

<210> 11
<211> 135
<212> PRT
<213> Rattus rattus

<220>
<221> misc_feature
<222> (128)..(128)
<223> Xaa có thể là bất kỳ axit amin nào xuất hiện tự nhiên

<220>
<221> misc_feature
<222> (135)..(135)
<223> Xaa có thể là bất kỳ axit amin nào xuất hiện tự nhiên

<400> 11

```

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

Phe Pro Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr
 20 25 30

Leu Pro Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser
 35 40 45

Gln Ser Ile Ser Asn Ser Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Asp Gly
 50 55 60

Thr Val Lys Arg Leu Ile Tyr Ser Thr Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val
 65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Ser
 85 90 95

Ile Thr Ser Leu Glu Ser Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Leu Gln
 100 105 110

Phe Ala Thr Phe Pro Asp Thr Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Xaa
 115 120 125

Arg Arg Ala Asp Ala Ala Xaa
 130 135

<210> 12
 <211> 468
 <212> ADN
 <213> Rattus rattus

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (467)..(467)
 <223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 12
 atggaatgga actgggtctt tctcctctc ctgtcagtaa ctgcagaagt ccagtcccag
 60

gtccagctgc agcagtctgg agcggagctg gcaaagcctg gctcctcagt gaagatttcc
120

tgcaaggctt ccggctacac cgtcaccgcc tattatataa gttggataag gcagacgatt
180

ggacagggcc ttgagtatgt tggatatatt gacatgggaa atggaaggac taactacaat
240

gcgaggttca agggcaaggc cacattgact gtggacaaat cctccagcac agccttcatg
300

caactcagca gcctgacacc tgacgactct gcggtctatt actgtgcaag ggactccaac
360

tgggggggttg attactgggg ccaaggagtc atggtcacag tctcctcagc tgaacaaca
420

gccccatctg tctatccact ggctcctgga actgcttctc aaaagtna
468

<210> 13
<211> 156
<212> PRT
<213> Rattus rattus

<220>
<221> misc_feature
<222> (156)..(156)
<223> Xaa có thể là bất kỳ axit amin nào xuất hiện tự nhiên

<400> 13

Met	Glu	Trp	Asn	Trp	Val	Phe	Leu	Leu	Leu	Leu	Ser	Val	Thr	Ala	Glu
1				5					10					15	

Val	Gln	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Ala	Lys
			20					25					30		

Pro	Gly	Ser	Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Val
		35					40					45			

Thr	Ala	Tyr	Tyr	Ile	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Thr	Ile	Gly	Gln	Gly	Leu
	50					55					60				

Glu Tyr Val Gly Tyr Ile Asp Met Gly Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Asn
65 70 75 80

Ala Arg Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser
85 90 95

Thr Ala Phe Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Pro Asp Asp Ser Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Asn Trp Gly Val Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Glu Thr Thr Ala Pro Ser Val
130 135 140

Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Thr Ala Ser Gln Lys Xaa
145 150 155

<210> 14
<211> 408
<212> ADN
<213> Rattus rattus

<220>
<221> misc_feature
<222> (403)..(403)
<223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 14
atgaaaatga cgacacctgc tcagttcctt gggcttctgt tgctctgggt tccaggtgcc
60

aggtgtgaca tccagttgac ccagttctcca tccacattgc ctgcatctct gggagagaga
120

gtcaccatca gttgcagagc aagtcagagt attggcaata gtttaagctg gtttcagcag
180

aaaccagatg gatctgttaa acgcctgac tactctacat ccactttaga atctgggtgtc
240

ccatcaaggt tcagtggcag tgggtctggg acagattatt ctctctccat caccagtctt
300

gagtcctgaag attttgcaat gtattactgt ctacagtttg ctacttatcc ggacacgttt
360

ggaactggga ccaaactgga actgagacgg gctgatgctg cancaact
408

<210> 15
<211> 136
<212> PRT
<213> Rattus rattus

<220>
<221> misc_feature
<222> (135)..(135)
<223> Xaa có thể là bất kỳ axit amin nào xuất hiện tự nhiên

<400> 15

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

Phe Pro Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr
20 25 30

Leu Pro Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser
35 40 45

Gln Ser Ile Gly Asn Ser Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Asp Gly
50 55 60

Ser Val Lys Arg Leu Ile Tyr Ser Thr Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val
65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Ser
85 90 95

Ile Thr Ser Leu Glu Ser Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Leu Gln
100 105 110

Phe Ala Thr Tyr Pro Asp Thr Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Leu
115 120 125

Arg Arg Ala Asp Ala Ala Xaa Thr
 130 135

<210> 16
 <211> 471
 <212> ADN
 <213> Rattus rattus

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (469)..(469)
 <223> n là a, c, g, hoặc t

<400> 16
 atggaatgga actgggtctt tctcttcctc ctgtcagtaa ctgcagaagt ccagtcccag
 60

gtccagctgc agcagtctgg agcggagctg gcaaagcctg gctcctcaat gaagatttcc
 120

tgcaaggctt ccggctaccc cgtcaccagc tattatataa gttggataaa gcagacgact
 180

ggacagggcc ttgagtatat tggatatgtt gacatgggaa atggacggac taactacaat
 240

gagaagttca agggcaaggc cacattgact gtagacaaat cctccagcac agccttcatg
 300

caactcagca gcctgacacc tgacgactct gcggtctatt actgtgcaag ggactccaac
 360

tgggggggttg attactgggg ccaaggagtc atggtcacag tctcctcagc tgaacaaca
 420

gccccatctg tctatccact ggctcctgga actgctctca aaagtaacnc c
 471

<210> 17
 <211> 157
 <212> PRT
 <213> Rattus rattus

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (157)..(157)
 <223> Xaa có thể là bất kỳ axit amin nào xuất hiện tự nhiên

<400> 17

Met Glu Trp Asn Trp Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Glu
 1 5 10 15

Val Gln Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Lys
 20 25 30

Pro Gly Ser Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Pro Val
 35 40 45

Thr Ser Tyr Tyr Ile Ser Trp Ile Lys Gln Thr Thr Gly Gln Gly Leu
 50 55 60

Glu Tyr Ile Gly Tyr Val Asp Met Gly Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Asn
 65 70 75 80

Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser
 85 90 95

Thr Ala Phe Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Pro Asp Asp Ser Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Asn Trp Gly Val Asp Tyr Trp Gly Gln
 115 120 125

Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Glu Thr Thr Ala Pro Ser Val
 130 135 140

Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Thr Ala Leu Lys Ser Asn Xaa
 145 150 155

<210> 18

<211> 449

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nucleotit mã hóa tín hiệu tiết chuỗi nhẹ ở người và
 vùng hằng định Kappa ở người

<400> 18
 gcctccggac tctagagcca ccatggtgct gcagaccag gtgttcatct ccctgctgct
 60

gtgatctcc ggcgcgtacg gcgatatcgt gatgattaaa cgtacggtgg ccgccccctc
 120

cgtgttcatc ttccccccct ccgacgagca gctgaagtcc ggcaccgcct ccgtggtgtg
 180

cctgctgaat aacttctacc ccagagaggc caaggtgcag tggaagggtg acaacgcct
 240

gcagtccggg aactcccagg agagcgtgac cgagcaggac agcaaggaca gcacctacag
 300

cctgagcagc accctgaccc tgagcaaagc cgactacgag aagcacaagg tgtacgcctg
 360

cgaggtgacc caccagggcc tgagctcccc cgtcaccaag agcttcaaca ggggggagtg
 420

ttaggggccc gtttaaacgg gggaggcta
 449

<210> 19
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Đoạn mồi PCR 3.3-F1

<400> 19
 tataccgtcg acctctagct agagcttggc
 30

<210> 20
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Đoạn mồi PCR 3.3-R1

<400> 20
 gctatggcag ggccctgccgc cccgacgttg
 30

<210> 21
 <211> 1132
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nucleotit mã hóa tín hiệu tiết chuỗi nặng ở người và vùng hằng định IgG1 ở người

<400> 21

gcctccggac tctagagcca ccatgaaaca cctgtggttc ttcctcctgc tgggtggcagc
 60

tcccagatgg gtgctgagcc aggtgcaatt gtgcaggcgg ttagctcagc ctccaccaag
 120

ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc
 180

ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccctga ccgtgagctg gaactcaggc
 240

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc
 300

ctcagcagcg tgggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac
 360

gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac
 420

aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tggggggacc ctcagtcttc
 480

ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
 540

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
 600

gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg
 660

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
 720

aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc
 780

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac
 840

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg
900

gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac
960

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac
1020

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacaccca gaagagcctc
1080

tcctgtctc ccggcaaatg agatatcggg cccgtttaa cgggggaggc ta
1132

<210> 22

<211> 705

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nucleotit mã hóa cR118_L

<400> 22

atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc
60

gacatccagt tgaccagtc tccatccaca ttgcctgcat ccctgggaga gagagtcacc
120

atcagttgca gagcaagtca gagtattagc aatagtttaa gctggtttca acagaaacca
180

gatggaactg ttaaacgcct gatctattct acatccactt tagaatctgg tgtcccatca
240

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat tattctctct ccatcaccag tcttgagtct
300

gaagattttg caatgtatta ctgtctacag tttgctactt ttccggacac gtttggaact
360

gggaccaaac tggaactgag acgggctgtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc
420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac
480

cccagagagg ccaagggtgca gtggaagggt gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag
540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc
600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc
660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggaggt gttag
705

<210> 23
<211> 234
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của cR118_L

<400> 23

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 Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Pro
20 25 30

Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
35 40 45

Ile Ser Asn Ser Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val
50 55 60

Lys Arg Leu Ile Tyr Ser Thr Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Ser Ile Thr
85 90 95

Ser Leu Glu Ser Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Leu Gln Phe Ala
100 105 110

Thr Phe Pro Asp Thr Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Leu Arg Arg
115 120 125

Ala Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230

<210> 24
 <211> 705
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự nucleotit mã hóa cR198_L

<400> 24
 atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc
 60

gacatccagt tgaccagtc tccatccaca ttgcctgcat ctctgggaga gagagtcacc
 120

atcagttgca gagcaagtca gagtattggc aatagtttaa gctggtttca gcagaaacca
 180

gatggatctg ttaaacgcct gatctactct acatccactt tagaatctgg tgtcccatca
 240

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat tattctctct ccatcaccag tcttgagtct
 300

gaagattttg caatgtatta ctgtctacag tttgctactt atccggacac gtttggaact
360

gggaccaaac tggaactgag acgggctgtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc
420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac
480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag
540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc
600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc
660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gttag
705

<210> 25

<211> 234

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin của cR198_L

<400> 25

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	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Thr	Leu	Pro
			20					25					30		

Ala	Ser	Leu	Gly	Glu	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser
		35					40					45			

Ile	Gly	Asn	Ser	Leu	Ser	Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Asp	Gly	Ser	Val
	50					55					60				

Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr	Ser	Thr	Ser	Thr	Leu	Glu	Ser	Gly	Val	Pro	Ser
65					70					75					80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Ser Ile Thr
85 90 95

Ser Leu Glu Ser Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Leu Gln Phe Ala
100 105 110

Thr Tyr Pro Asp Thr Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Leu Arg Arg
115 120 125

Ala Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 26
<211> 1401
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa cR118_H

<400> 26
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag
60

gtccagctgc agcagtctgg agcggagctg gcaaagcctg gctcctcagt gaagatttcc
120

tgcaaggctt ccggctacac cgtcaccgcc tattatataa gttggataag gcagacgatt
180

ggacagggcc ttgagtatgt tggatatatt gacatgggaa atggaaggac taactacaat
240

gcgaggttca agggcaaggc cacattgact gtggacaaat cctccagcac agccttcatg
300

caactcagca gcctgacacc tgacgactct gcggtctatt actgtgcaag ggactccaac
360

tggggggttg attactgggg ccaaggagtc atggtcacag tcagctcagc ctccaccaag
420

ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc
480

ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccctga cgtgagctg gaactcaggc
540

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc
600

ctcagcagcg tgggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac
660

gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac
720

aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tgggggggacc ctcagtcttc
780

ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
840

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
900

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccc cgaggaggagc agtacaacag cacgtaccgg
960

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
1020

aaggctctcca acaaagccct ccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc
1080

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac
1140

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg
1200

gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac
1260

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac
1320

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacaccca gaagagcctc
1380

tcctgtctc ccggcaaattg a
1401

<210> 27
<211> 466
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của cR118_H

<400> 27

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	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Ala	Lys
			20					25						30	

Pro	Gly	Ser	Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Val
		35					40					45			

Thr	Ala	Tyr	Tyr	Ile	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Thr	Ile	Gly	Gln	Gly	Leu
	50					55					60				

Glu	Tyr	Val	Gly	Tyr	Ile	Asp	Met	Gly	Asn	Gly	Arg	Thr	Asn	Tyr	Asn
65					70					75					80

Ala	Arg	Phe	Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser
				85					90					95	

Thr	Ala	Phe	Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Pro	Asp	Asp	Ser	Ala	Val	100	105	110	
Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Asp	Ser	Asn	Trp	Gly	Val	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	115	120	125	
Gly	Val	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	130	135	140	
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	145	150	155	160
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	165	170	175	
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	180	185	190	
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	195	200	205	
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	210	215	220	
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	225	230	235	240
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	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	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	290	295	300	

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala 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 Val
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> 28
<211> 1401
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa cR198_H

<400> 28

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag
60

gtccagctgc agcagtctgg agcggagctg gcaaagcctg gctcctcaat gaagatttcc
120

tgcaaggctt ccggctaccc cgtcaccagc tattatataa gttggataaa gcagacgact
180

ggacagggcc ttgagtatat tggatatgtt gacatgggaa atggacggac taactacaat
240

gagaagttca agggcaaggc cacattgact gtagacaaat cctccagcac agccttcatg
300

caactcagca gcctgacacc tgacgactct gcggtctatt actgtgcaag ggactccaac
360

tggggggttg attactgggg ccaaggagtc atggtcacag tcagctcagc ctccaccaag
420

ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc
480

ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccctga ccgtgagctg gaactcaggc
540

gccctgacca ggggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc
600

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac
660

gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttgagccaa atcttgtgac
720

aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tggggggacc ctcagtcttc
780

ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
840

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
900

gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg
960

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
1020

aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccattctcaa agccaaaggc
1080

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac
1140

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg
1200

gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac
1260

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac
1320

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacaccca gaagagcctc
1380

tccctgtctc ccggcaaattg a
1401

<210> 29

<211> 466

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin của cR198_H

<400> 29

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	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Ala	Lys
			20				25						30		

Pro	Gly	Ser	Ser	Met	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Pro	Val
		35				40						45			

Thr	Ser	Tyr	Tyr	Ile	Ser	Trp	Ile	Lys	Gln	Thr	Thr	Gly	Gln	Gly	Leu
	50					55					60				

Glu	Tyr	Ile	Gly	Tyr	Val	Asp	Met	Gly	Asn	Gly	Arg	Thr	Asn	Tyr	Asn
65					70				75						80

Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser
 85 90 95

Thr Ala Phe Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Pro Asp Asp Ser Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Asn Trp Gly Val Asp Tyr Trp Gly Gln
 115 120 125

Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 130 135 140

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 165 170 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 195 200 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 225 230 235 240

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly 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 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala 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 Val
 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> 30
 <211> 705
 <212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nucleotit mã hóa hR198_L1

<400> 30

atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc
60

gatatccagc tgaccagag ccctagcagc ctgtctgccg gcgtgggcga cagagtgacc
120

atcacctgta gagccagcca gagcatcggc aacagcctga gctgggtcca gcagaaaccc
180

ggcaaggccc ccaagcggct gatctacagc accagcaccc tggaaagcgg cgtgcccagc
240

agattttctg gcagcggctc cggcaccgac tacaccctga caatcagcag cctgcagccc
300

gaggacttcg ccatgtacta ctgcctgcag ttgcgccact accccgacac ctttggccag
360

ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc
420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac
480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggt gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag
540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc
600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc
660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gttag
705

<210> 31

<211> 234

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin của hR198_L1

<400> 31

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

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230

<210> 32
 <211> 705
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự nucleotit mã hóa hR198_L2

<400> 32
 atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc
 60

gatatccagc tgaccagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtgggcga cagagtgacc
 120

atcacctgta gagccagcca gagcatcggc aacagcctga gctggttcca gcagaaaccc
 180

ggcaaggccg tgaagcggct gatctacagc accagcaccc tggaagcgg cgtgccccagc
 240

agattttctg gcagcggctc cggcaccgac tacaccctga caatcagcag cctgcagccc
 300

gaggacttcg ccatgtacta ctgcctgcag ttcgccacct accccgacac ctttggccag
 360

ggcaccaagg tggaatatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc
 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac
 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag
 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc
 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc
 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gtttag
705

<210> 33
<211> 234
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của hR198_L2

<400> 33

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 Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser
35 40 45

Ile Gly Asn Ser Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Val
50 55 60

Lys Arg Leu Ile Tyr Ser Thr Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Leu Gln Phe Ala
100 105 110

Thr Tyr Pro Asp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230

<210> 34
 <211> 705
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự nucleotit mã hóa hR198_L3

<400> 34
 atgggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc
 60

gatatccagc tgaccagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtggggcga cagagtgacc
 120

atcacctgta gagccagcca gagcatcggc aacagcctga gctgggtcca gcagaaaccc
 180

ggcaaggccc ccaagcggct gatctacagc accagcacc tggaaagcgg cgtgcccagc
 240

agattttctg gcagcggctc cggcaccgac tacaccctga caatcagcag cctgcagccc
 300

gaggacttcg ccatgtacta ctgcctgcag ttcgccacct tccccgacac ctttggccag
 360

ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc
 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac
480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag
540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc
600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc
660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gttag
705

<210> 35

<211> 234

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin của hR198_L3

<400> 35

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	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser
			20					25					30		

Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser
		35					40					45			

Ile	Gly	Asn	Ser	Leu	Ser	Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro
	50					55					60				

Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr	Ser	Thr	Ser	Thr	Leu	Glu	Ser	Gly	Val	Pro	Ser
65					70					75				80	

Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser
				85				90						95	

Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Phe	Ala
			100					105					110		

Thr Phe Pro Asp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230

<210> 36
 <211> 705
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự nucleotit mã hóa hR198_L4

<400> 36
 atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc
 60

gatatccagc tgaccagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtggggcga cagagtgacc
 120

atcacctgta gagccagcca gagcatcggc aacagcctga gctgggtcca gcagaaaccc
 180

ggcaaggccg tgaagcggct gatctacagc accagcaccc tggaaagcgg cgtgcccagc
240

agattttctg gcagcggctc cggcaccgac tacaccctga caatcagcag cctgcagccc
300

gaggacttcg ccatgtacta ctgcctgcag ttgcgccacct tccccgacac ctttggccag
360

ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc
420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac
480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag
540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc
600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc
660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gttag
705

<210> 37
<211> 234
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của hR198_L4

<400> 37

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	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser
			20					25					30		

Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser
		35					40					45			

Ile	Gly	Asn	Ser	Leu	Ser	Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Val
	50					55					60				

Lys Arg Leu Ile Tyr Ser Thr Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Leu Gln Phe Ala
100 105 110

Thr Phe Pro Asp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 38

<211> 1401

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nucleotit mã hóa hR198_H1

<400> 38

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag
60

gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc
120

tgcaaggcct ctggctaccc cgtgaccagc tactacatca gctgggtcag acaggcccca
180

ggccagggcc tggaatacat cggctatgtg gacatgggca acggccggac caactacaac
240

gagaagttca agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgctacatg
300

gaactgagca gcctgcggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac
360

tggggcgctgg actattgggg ccagggcaca ctctgtaccg tcagctcagc ctccaccaag
420

ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc
480

ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccctga cctgtgagctg gaactcaggc
540

gccctgacca ggggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc
600

ctcagcagcg tgggtgaccgt gccctccagc agcttgggca ccagaccta catctgcaac
660

gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac
720

aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tggggggacc ctcagtcttc
780

ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
840

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
900

gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg
960

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
1020

aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc
1080

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac
1140

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg
1200

gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac
1260

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac
1320

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacaccca gaagagcctc
1380

tccctgtctc ccggcaaattg a
1401

<210> 39
<211> 466
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của hR198_H1

<400> 39

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	Pro	Val
		35					40					45			

Thr	Ser	Tyr	Tyr	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu
	50					55					60				

Glu	Tyr	Ile	Gly	Tyr	Val	Asp	Met	Gly	Asn	Gly	Arg	Thr	Asn	Tyr	Asn
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

65					70					75					80
Glu	Lys	Phe	Lys	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser
				85					90					95	
Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val
			100					105					110		
Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Asp	Ser	Asn	Trp	Gly	Val	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
		115					120					125			
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
	130					135					140				
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala
145					150					155					160
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
				165					170					175	
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
			180					185					190		
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
		195					200					205			
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys
	210					215					220				
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp
225					230					235					240
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	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	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
290						295					300				
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg
305					310					315					320
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys
				325					330					335	
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu
			340					345					350		
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	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	Val
				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>	40														

<211> 1401
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự nucleotit mã hóa hR198_H2

<400> 40
 atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag
 60
 gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc
 120
 tgcaaggcct ctggctaccc cgtgaccagc tactacatca gctggatcag acaggcccca
 180
 ggccagggcc tggaatacat cggctatgtg gacatgggca acggccggac caactacaac
 240
 gagaagttca agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgcctacatg
 300
 gaactgagca gcctgcggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac
 360
 tggggcgtgg actattgggg ccagggcaca ctcgtgaccg tcagctcagc ctccaccaag
 420
 ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc
 480
 ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccctga cgtgagctg gaactcaggc
 540
 gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc
 600
 ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca ccagaccta catctgcaac
 660
 gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagagag ttgagccaa atcttgtgac
 720
 aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tggggggacc ctcagtcttc
 780
 ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
 840
 gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
 900

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg
960

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
1020

aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc
1080

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac
1140

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg
1200

gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac
1260

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac
1320

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacca gaagagcctc
1380

tccctgtctc ccggcaaattg a
1401

<210> 41
<211> 466
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của hR198_H2

<400> 41

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 Pro Val
35 40 45

Thr Ser Tyr Tyr Ile Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu

50		55		60
Glu Tyr Ile Gly Tyr Val Asp Met Gly Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Asn				
65		70		75 80
Glu Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser				
	85		90	95
Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val				
	100		105	110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Asn Trp Gly Val Asp Tyr Trp Gly Gln				
	115		120	125
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val				
	130		135	140
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala				
145		150		155 160
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser				
	165		170	175
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val				
	180		185	190
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro				
	195		200	205
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys				
	210		215	220
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp				
225		230		235 240
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly				
	245		250	255
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile				

[illegible]

465

<210> 42
 <211> 1401
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự nucleotit mã hóa hR198_H3

<400> 42
 atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag
 60

gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc
 120

tgcaaggcct ctggctaccc cgtgaccgcc tactacatca gctgggtcag acaggcccca
 180

ggccagggcc tggaatacgt gggctacatc gacatgggca acggccggac caactacaac
 240

gcccggttta agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgcctacatg
 300

gaactgagca gcctgcggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac
 360

tggggcgtgg actattgggg ccagggcaca ctcgtgaccg tcagctcagc ctccaccaag
 420

ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc
 480

ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccctga ccgtgagctg gaactcaggc
 540

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc
 600

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac
 660

gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac
 720

aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tggggggacc ctcagtcttc
 780

ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
840

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
900

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg
960

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
1020

aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc
1080

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac
1140

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg
1200

gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac
1260

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac
1320

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacca gaagagcctc
1380

tccctgtctc ccggcaaattg a
1401

<210> 43
<211> 466
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của hR198_H3

<400> 43

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	Pro	Val	35	40	45	
Thr	Ala	Tyr	Tyr	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	50	55	60	
Glu	Tyr	Val	Gly	Tyr	Ile	Asp	Met	Gly	Asn	Gly	Arg	Thr	Asn	Tyr	Asn	65	70	75	80
Ala	Arg	Phe	Lys	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	85	90	95	
Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	100	105	110	
Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Asp	Ser	Asn	Trp	Gly	Val	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	115	120	125	
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	130	135	140	
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	145	150	155	160
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	165	170	175	
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	180	185	190	
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	195	200	205	
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	210	215	220	
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	225	230	235	240

Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	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	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His		
	290					295					300						
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg		
305					310					315					320		
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys		
				325					330					335			
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu		
			340					345					350				
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	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	Val		
				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> 44
 <211> 1401
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự nucleotit mã hóa hR198_H4

<400> 44
 atgaaacacc tgtgggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag
 60
 gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc
 120
 tgcaaggcct ctggctaccc cgtgaccgcc tactacatca gctggatcag acaggcccca
 180
 ggccagggcc tggaatacgt gggctacatc gacatgggca acggccggac caactacaac
 240
 gcccggttta agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgctacatg
 300
 gaactgagca gcctgcggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac
 360
 tggggcgctgg actattgggg ccagggcaca ctcgtgaccg tcagctcagc ctccaccaag
 420
 ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc
 480
 ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccctga cctgagctg gaactcaggc
 540
 gccctgacca gggcgctgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc
 600
 ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca ccagaccta catctgcaac
 660
 gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac
 720

aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tggggggacc ctgagtcttc
780

ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
840

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
900

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg
960

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
1020

aaggtctcca acaaagccct ccagccccc atcgagaaaa ccattctcaa agccaaaggc
1080

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac
1140

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg
1200

gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccacc ctcccgtgct ggactccgac
1260

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac
1320

gtctttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacca gaagagcctc
1380

tcctgtctc ccggcaaagt a
1401

<210> 45
<211> 466
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của hR198_H4

<400> 45

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

Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp
225					230					235					240
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	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	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
	290					295					300				
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg
305					310					315					320
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys
				325					330					335	
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu
			340					345					350		
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	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	Val
				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> 46
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Đoạn mỗi PCR Orail HF

<400> 46
 atgcaagtcc aactggttca atc
 23

<210> 47
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Đoạn mỗi PCR Orail CH FR

<400> 47
 tgacggagcc agcgggaaga c
 21

<210> 48
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Đoạn mỗi PCR M13 rev long

<400> 48
 caggaaacag ctatgaccat g
 21

<210> 49

<211> 31
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Đoạn mồi PCR SecM Stop R

<400> 49
 ctcgagttat tcattaggtg aggcgttgag g
 31

<210> 50
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Đoạn mồi PCR Orail Lc F

<400> 50
 atggacattc aactgaccca aagc
 24

<210> 51
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Đoạn mồi PCR Orail CL-FR

<400> 51
 gataaaaaca ctcggggccg ccac
 24

<210> 52
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Đoạn mồi PCR Orail HR-FLAG R

<400> 52
 tcattatttg tcatcgatcat ctttatagtc gaattcttcg ccacgattaa aggatttggt
 60

gac
 63

<210> 53
 <211> 63
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Đoạn mồi PCR Orail CL -FLAG R

<400> 53
 tcattatttg tcatcgatcat ctttatagtc gaattcttcg ccacgattaa aggatttggg
 60

gac
 63

<210> 54
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Đoạn mồi PCR Myc-R

<400> 54
 cagatcctcc tcagagatca gcttctgctc
 30

<210> 55
 <211> 705
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự nucleotit mã hóa hR198_LG1

<400> 55
 atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc
 60

gatatccagc tgaccagag cctagcagc ctgtctgcca gctggggcga cagagtgacc
 120

atcacctgta gagccagcca gagcatcggc ggcagcctga gctgggtcca gcagaaaccc
 180

ggcaaggccc ccaagcggct gatctacagc accagcaccg tggaaagcgg cgtgcccagc
 240

agattttctg gcagcggctc cggcaccgac tacaccctga caatcagcag cctgcagccc
300

gaggacttcg ccatgtacta ctgcctgcag ttcgccatct tccccgacag ctttggccag
360

ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc
420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac
480

cccagagagg ccaagggtgca gtggaagggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag
540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc
600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc
660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gttag
705

<210> 56
<211> 234
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của hR198_LG1

<400> 56

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	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser
			20					25					30		

Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser
		35					40					45			

Ile	Gly	Gly	Ser	Leu	Ser	Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro
	50					55					60				

Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr	Ser	Thr	Ser	Thr	Leu	Glu	Ser	Gly	Val	Pro	Ser
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

65					70					75					80		
Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser		
				85					90					95			
Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Phe	Ala		
				100					105					110			
Ile	Phe	Pro	Asp	Ser	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg		
				115					120					125			
Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln		
				130					135					140			
Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr		
145					150					155					160		
Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser		
				165					170					175			
Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr		
				180					185					190			
Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys		
				195					200					205			
His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro		
				210					215					220			
Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys								
225					230												

```
<210> 57
<211> 705
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa hR198_LG2

<400> 57
```


atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc
60

gatatccagc tgaccagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtgggcga cagagtgacc
120

atcacctgtc acgccagcca gaacatcggc ggcagcctga gctgggtcca gcagaaaccc
180

ggcaaggccc ccaagcggct gatctacctg accagcacc cttgactgggg cgtgccccagc
240

agattttctg gcagcggctc cggcaccgac tacaccctga caatcagcag cctgcagccc
300

gaggacttcg ccatgtacta ctgcctgcag ttcgccatct tccccgacag ctttggccag
360

ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc
420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac
480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag
540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc
600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc
660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gttag
705

<210> 58
<211> 234
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của hR198_LG2

<400> 58

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 Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser

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

225

230

<210> 59
 <211> 705
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nucleotit mã hóa hR198_LG3

<400> 59

atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc
 60

gatatccagc tgaccagag ccctagcagc ctgtctgccg gcgtgggcga cagagtgacc
 120

atcacctgtc acgccagccg gaacatcggc ggcagcctga gctgggtcca gcagaaaccc
 180

ggcaaggccc ccaagcggct gatctacctg accagcagcc tggactgggg cgtgcccagc
 240

agattttctg gcagcggctc cggcacccgac tacaccctga caatcagcag cctgcagccc
 300

gaggacttcg ccatgtacta ctgcctgcag ttcgccatct tccccgacag ctttggccag
 360

ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgccccct ccgtgttcat cttccccccc
 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcacccgc tccgtggtgt gcctgctgaa taactttctac
 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaagggt gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag
 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc
 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc
 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gttag
 705

<210> 60
 <211> 234
 <212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin của hR198_LG3

<400> 60

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 Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Arg Asn
35 40 45

Ile Gly Gly Ser Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Thr Ser Ser Leu Asp Trp Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Leu Gln Phe Ala
100 105 110

Ile Phe Pro Asp Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

180 185 190
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 195 200 205
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 210 215 220
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230
 <210> 61
 <211> 1401
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự nucleotit mã hóa hR198_HG1
 <400> 61
 atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag
 60
 gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc
 120
 tgcaaggcct ctggctaccc cgtgaccgcc tactacatca gctgggtcag acaggcccca
 180
 ggccagggcc tggaatacgt gggctacatc gacatgggca acggccggac cgactacaac
 240
 gcccggttta agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgcctacatg
 300
 gaactgagca gcctgcggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac
 360
 tggggcgccg actattgggg ccagggcaca ctcgtgaccg tcagctcagc ctccaccaag
 420
 ggccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc
 480
 ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccctga ccgtgagctg gaactcaggc
 540

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc
600

ctcagcagcg tgggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac
660

gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac
720

aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tgggggggacc ctcagtcttc
780

ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
840

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
900

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg
960

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
1020

aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc
1080

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac
1140

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg
1200

gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac
1260

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac
1320

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacca gaagagcctc
1380

tcctgtctc ccggcaaagt a
1401

<210> 62

<211> 466

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin của hR198_HG1

<400> 62

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 Pro Val
35 40 45

Thr Ala Tyr Tyr Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Tyr Val Gly Tyr Ile Asp Met Gly Asn Gly Arg Thr Asp Tyr Asn
65 70 75 80

Ala Arg Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Asn Trp Gly Ala Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
130 135 140

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
165 170 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
180 185 190

29224

Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
		195					200					205			
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys
	210					215					220				
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp
225					230					235					240
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	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	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
	290					295					300				
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg
305					310					315					320
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys
				325					330					335	
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu
			340					345					350		
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	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 Val
 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> 63
 <211> 1401
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự nucleotit mã hóa hR198_HG2

<400> 63
 atgaaacacc tgtgggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag
 60

gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc
 120

tgcaaggcct ctggctaccc catcaccgcc tactacatca gctgggtcag acaggcccca
 180

ggccagggcc tggaatacgt gggctacatc gacatgggca acggccggac cgactacaac
 240

ggccggttta agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgcctacatg
 300

gaactgagca gcctgcggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac
 360

tggggcgccg actattgggg ccagggcaca ctcgtgaccg tcagctcagc ctccaccaag
 420

ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc
 480

ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccctga cctgagctg gaactcaggc
540

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc
600

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac
660

gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggt gacaagagag ttgagccaa atcttgtgac
720

aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tggggggacc ctcagtcttc
780

ctcttcccc caaaaccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
840

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
900

gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg
960

gtggtcagcg tcctcacctg cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
1020

aaggctctcca acaaagccct ccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc
1080

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac
1140

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatgc cgtggagtgg
1200

gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac
1260

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac
1320

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacca gaagagcctc
1380

tccctgtctc ccggcaaagt a
1401

<210> 64

<211> 466

cttccc

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin của hR198_HG2

<400> 64

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 Pro Ile
 35 40 45

Thr Ala Tyr Tyr Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60

Glu Tyr Val Gly Tyr Ile Asp Met Gly Asn Gly Arg Thr Asp Tyr Asn
 65 70 75 80

Gly Arg Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
 85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Asn Trp Gly Ala Asp Tyr Trp Gly Gln
 115 120 125

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 130 135 140

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 165 170 175

29224

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 195 200 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 225 230 235 240

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly 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 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala 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 Val
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> 65
<211> 1401
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa hR198_HG3

<400> 65
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag
60

gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc
120

tgcaaggcct ctggctaccc catcacccgc tactacatca gctgggtcag acaggcccca
180

ggccagggcc tggaatacgt gggctacatc gacatgggca acggccggac cgactacaac
240

atgcggttta agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgcctacatg
300

gaactgagca gcctgcggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac
360

tggggcgccg actattgggg ccagggcaca ctctgaccg tcagctcagc ctccaccaag
420

ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc
480

ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccctga ccgtgagctg gaactcaggc
540

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc
600

ctcagcagcg tgggtgaccgt gccctccagc agcttgggca ccagaccta catctgcaac
660

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac
720

aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tggggggacc ctcagtcttc
780

ctcttcccc caaaaccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
840

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
900

gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg
960

gtggtcagcg tcctcacctg cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
1020

aaggtctcca acaaagccct cccagcccc atcgagaaaa ccatctcaa agccaaaggc
1080

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac
1140

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatgc cgtggagtgg
1200

gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccacc ctcccgtgct ggactccgac
1260

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac
1320

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacca gaagagcctc
1380

tccctgtctc ccggcaaata a
1401

<210> 66
<211> 466
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của hR198_HG3

<400> 66

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 Pro Ile
35 40 45

Thr Ala Tyr Tyr Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Tyr Val Gly Tyr Ile Asp Met Gly Asn Gly Arg Thr Asp Tyr Asn
65 70 75 80

Met Arg Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Asn Trp Gly Ala Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
130 135 140

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 165 170 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 195 200 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 225 230 235 240

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly 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 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala 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 Val
 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> 67
 <211> 1401
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự nucleotit mã hóa hR198_H4-LALA

<400> 67
 atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag
 60

gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc
 120

tgcaaggcct ctggctaccc cgtgaccgcc tactacatca gctggatcag acaggcccca
 180

ggccagggcc tggaatacgt gggctacatc gacatgggca acggccggac caactacaac
 240

gcccggttta agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgcctacatg
300

gaactgagca gcctgcggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac
360

tggggcgtgg actattgggg ccagggcaca ctctgtaccg tcagctcagc ctccaccaag
420

ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc
480

ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccctga ccgtgagctg gaactcaggc
540

gccctgacca ggggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc
600

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac
660

gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggt gacaagagag ttgagccaa atcttgtgac
720

aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaagccg cggggggacc ctcagtcttc
780

ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
840

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
900

gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg
960

gtggtcagcg tcctcacctg cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
1020

aaggtctcca acaaagccct cccagcccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc
1080

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac
1140

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatgc cgtggagtgg
1200

gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac
1260

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac
1320

gtctttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacaccca gaagagcctc
1380

tccctgtctc ccggcaaatg a
1401

<210> 68

<211> 466

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin của hR198_H4-LALA

<400> 68

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	Pro	Val
		35					40					45			

Thr	Ala	Tyr	Tyr	Ile	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu
	50					55					60				

Glu	Tyr	Val	Gly	Tyr	Ile	Asp	Met	Gly	Asn	Gly	Arg	Thr	Asn	Tyr	Asn
65					70					75					80

Ala	Arg	Phe	Lys	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser
				85					90					95	

Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val
			100					105					110		

Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Asp	Ser	Asn	Trp	Gly	Val	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
		115					120					125			

Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
130						135					140				
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala
145					150					155					160
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
				165					170					175	
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
			180					185					190		
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
		195					200					205			
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys
	210					215					220				
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp
225					230					235					240
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	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	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
	290					295					300				
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg
305					310					315					320
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys
				325					330					335	

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala 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 Val
 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> 69
 <211> 1401
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự nucleotit mã hóa hR198_HG1-LALA

<400> 69
 atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag
 60

gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc
 120

tgcaaggcct ctggctaccc cgtgaccgcc tactacatca gctgggtcag acaggcccca
180

ggccagggcc tggaatacgt gggctacatc gacatgggca acggccggac cgactacaac
240

gcccggttta agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgcctacatg
300

gaactgagca gcctgcggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac
360

tggggcgccg actattgggg ccagggcaca ctcgtgaccg tcagctcagc ctccaccaag
420

ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc
480

ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccctga ccgtgagctg gaactcaggc
540

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc
600

ctcagcagcg tgggtgaccgt gccctccagc agcttgggca ccagaccta catctgcaac
660

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac
720

aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaagccg cgggggggacc ctcagtcttc
780

ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
840

gtgggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
900

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccc cgaggaggagc agtacaacag cacgtaccgg
960

gtgggtcagcg tcctcacctg cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
1020

aaggctctcca acaaagccct ccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc
1080

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac
1140

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg
1200

gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac
1260

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac
1320

gtctttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacaccca gaagagcctc
1380

tccctgtctc ccggcaaattg a
1401

<210> 70

<211> 466

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin của hR198_HG1-LALA

<400> 70

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 Pro Val
35 40 45

Thr Ala Tyr Tyr Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Tyr Val Gly Tyr Ile Asp Met Gly Asn Gly Arg Thr Asp Tyr Asn
65 70 75 80

Ala Arg Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Asp	Ser	Asn	Trp	Gly	Ala	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	115	120	125	
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	130	135	140	
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	145	150	155	160
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	165	170	175	
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	180	185	190	
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	195	200	205	
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	210	215	220	
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	225	230	235	240
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	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	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	290	295	300	
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	305	310	315	320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala 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 Val
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> 71
<211> 1118
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nucleotit mã hóa tín hiệu tiết chuỗi nặng ở người và vùng hằng định IgG2 của người

<400> 71

gcctccggac tctagagcca ccatgaaaca cctgtggttc ttcctcctgc tggtaggcagc
60

tcccagatgg gtgctgagcc aggtgcaatt gtgcaggcgg ttagctcagc cagcaccaag
120

ggcccttccg tgttcctctt ggcccttgtt agccgttcca ccagcgagtc caccgccgcc
180

cttggctgtc tggtagaagga ctacttcctt gagcctgtga ccgtgagctg gaactccgga
240

gcccttacca ggggcgtgca caccttcctt gccgtgctgc agtccagcgg cctttactcc
300

ctgagctccg tggtagaccgt gcctagctcc aacttcggca cccaaaccta cacctgtaac
360

gtggaccaca agcctagcaa caccaagggt gacaagaccg tggagcgtaa gtgttggtgtg
420

gagtgtcctc cttgtcctgc ccctcctgtg gccggacctt ccgtgttcc tttccctcct
480

aagcctaagg acaccctgat gatcagccgt acccctgagg tgacctgtgt ggtggtggac
540

gtgtcccacg aggaccctga ggtgcagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcac
600

aacgccaaaga ccaagcctcg tgaggagcaa ttcaacagca ccttcctgtg ggtgtccgtg
660

cttaccgtgg tgcaccaaga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgtaa ggtgagcaac
720

aagggacttc ctgccctat cgagaagacc atctccaaga ccaagggcca acctcgtgag
780

cctcaagtgt acacccttcc tcctagccgt gaggagatga ccaagaacca agtgtccctt
840

acctgtctgg tgaagggtt ctaccctagc gacatcgccg tggagtggga gtccaacgga
900

caacctgaga acaactacaa gaccaccctt cctatgcttg acagcgacgg ctcccttctt
960

ctgtacagca agctgaccgt ggacaagtcc cgttggcaac aaggcaacgt gttcagctgt
1020

tccgtgatgc acgaggccct gcacaaccac tacacccaaa agagcctttc cctgagccct
1080

ggaaagtgat atcgggcccg tttaaacggg ggaggcta
1118

<210> 72
<211> 1395
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng của 2C1.1

<400> 72
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag
60

gtgcagctgc agcagtgggg agccggcctg ctgaagccca gcgagacact gagcctgacc
120

tgcgctgtgt acggaggcag cttcagcggc tactactggt cctggatccg gcagccccct
180

ggcaagggcc tggaatggat cggcgagatc gaccacagcg gcagcaccaa ctacaacccc
240

gccctgaagt cccggctgac catcagcgtg gacaccagca agaaccagtt cagcctgaag
300

ctgagcagcg tgacagccgc cgacaccgcc gtgtactact gtgccagagc cggcagcggc
360

ggctacgagg attggttcga tccttggggc cagggcaccc tggtgaccgt cagctcagcc
420

agcaccaagg gcccttcctg gttccctctg gcccttgta gccgttccac cagcgagtcc
480

accgccgccc ttggctgtct ggtgaaggac tacttccttg agcctgtgac cgtgagctgg
540

aactccggag cccttaccag cggcgtgcac accttccttg ccgtgctgca gtccagcggc
600

ctttactccc tgagctccgt ggtgaccgtg cctagctcca acttcggcac ccaaacctac
660

acctgtaacg tggaccacaa gcctagcaac accaaggtgg acaagaccgt ggagcgtaag
720

tgttgtgtgg agtgtcctcc ttgtcctgcc cctcctgtgg ccggaccttc cgtgttcctt
780

ttccctccta agcctaagga caccctgatg atcagccgta cccctgaggt gacctgtgtg
840

gtggtggacg tgtcccacga ggaccctgag gtgcagttca actggtacgt ggacggcgtg
900

gaggtgcaca acgccaagac caagcctcgt gaggagcaat tcaacagcac cttccgtgtg
960

gtgtccgtgc ttaccgtggt gcaccaagac tggctgaacg gcaaggagta caagtgtgtaag
1020

gtgagcaaca agggacttcc tgcccctatc gagaagacca tctccaagac caagggccaa
1080

cctcgtgagc ctcaagtgtg cacccttctt cctagccgtg aggagatgac caagaaccaa
1140

gtgtccctta cctgtctggt gaagggcttc taccctagcg acatcgccgt ggagtgggag
1200

tccaacggac aacctgagaa caactacaag accacccttc ctatgcttga cagcgacggc
1260

tccttcttcc tgtacagcaa gctgaccgtg gacaagtccc gttggcaaca aggcaacgtg
1320

ttcagctgtt ccgtgatgca cgaggccctg cacaaccact acacccaaaa gagcctttcc
1380

ctgagccctg gaaag
1395

<210> 73
<211> 465
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin của chuỗi nặng của 2C1.1

<400> 73

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 Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys

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

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

435

440

445

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 450 455 460

Lys
 465

<210> 74
 <211> 739
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ của 2C1.1

<400> 74
 atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtagggc
 60

cagtccgtgc tgaccagcc tccttccgtg tctggcgccc ctggccagag agtgaccatc
 120

agctgtaccg gcagcagcag caacatcgga gccggctaca acgtgcactg gtatcagcag
 180

ttcccccgga ccgaccccaa gctgctgac tacgtgtaca acatccggcc cagcggcggtg
 240

cccgaccggt tttctggcag cagaagcggc acaagcgcca gcctggccat caccggcctg
 300

cagaccgagg acgaggccga ctactactgc cagagctacg acagcagcct gagcggcggtg
 360

gtgttcggcg gaggcaccaa gctgacagtg ctgggcccagc ccaaggccaa ccccaccgtg
 420

accctgttcc cccaagcag cgaggaactg caggccaaca aggccaccct ggtgtgcctg
 480

atcagcgact tctaccctgg cgccgtgaca gtggcctgga aggccgatgg atctcccgtg
 540

aaggccggcg tggaaaccac caagcccagc aagcagagca acaacaaata cgccgccagc
 600

agctacctga gcctgacccc cgagcagtgg aagtcccacc ggtcctacag ctgccagggtg
 660

acacacgagg gcagcacctt ggaaaagacc gtggccccc cccaggtgcag ctagggggccc
720

gttttaaacgg gggaggcta
739

<210> 75
<211> 237
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của 2C1.1

<400> 75

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

Gly Ala Tyr Gly Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly
20 25 30

Ala Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn
35 40 45

Ile Gly Ala Gly Tyr Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Arg Thr
50 55 60

Asp Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Val Tyr Asn Ile Arg Pro Ser Gly Val
65 70 75 80

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala
85 90 95

Ile Thr Gly Leu Gln Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser
100 105 110

Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
115 120 125

Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro
130 135 140

ccggcc

Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu
145 150 155 160

Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp
165 170 175

Gly Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln
180 185 190

Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu
195 200 205

Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly
210 215 220

Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225 230 235

<210> 76
<211> 1395
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng của 5H3.1

<400> 76
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag
60

gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaacctg gcgctagcgt gaaggtgtcc
120

tgcaaggcca gcggctacac cttcacccgac tactacatga actgggtgcg ccaggctcca
180

ggacagggcc tggaatggat gggctggatc aacccaaca gcggcggcac caaatagcc
240

cagaaattcc agggcagagt gaccatgacc cgggacacca gcatccggac cgcctacatg
300

gaactgagcc ggctgagaag cgacgacacc gccgtgtact actgcgccag agagtacggc
360

ggcaacagcg attggttcga cccctggggc cagggcaccc tggtgaccgt cagctcagcc
420

agcaccaagg gcccttccgt gttccctctg gcccttgta gccgttccac cagcgagtcc
480

accgccgccc ttggctgtct ggtgaaggac tacttccctg agcctgtgac cgtgagctgg
540

aactccggag cccttaccag cggcgtgcac accttccctg ccgtgctgca gtccagcggc
600

ctttactccc tgagctccgt ggtgaccgtg cctagctcca acttcggcac ccaaacctac
660

acctgtaacg tggaccacaa gcctagcaac accaaggtgg acaagaccgt ggagcgtaag
720

tgttggtggg agtgtcctcc ttgtcctgcc cctcctgtgg ccggaccttc cgtgttcctt
780

ttccctccta agcctaagga caccctgatg atcagccgta cccctgaggt gacctgtgtg
840

gtggtggacg tgtcccacga ggaccctgag gtgcagttca actggtacgt ggacggcgtg
900

gaggtgcaca acgccaagac caagcctcgt gaggagcaat tcaacagcac cttccgtgtg
960

gtgtccgtgc ttaccgtggt gcaccaagac tggctgaacg gcaaggagta caagtgtaag
1020

gtgagcaaca agggacttcc tgcccctatc gagaagacca tctccaagac caagggccaa
1080

cctcgtgagc ctcaagtgtg cacccttcct cctagccgtg aggagatgac caagaaccaa
1140

gtgtccctta cctgtctggt gaagggcttc taccctagcg acatcgccgt ggagtgggag
1200

tccaacggac aacctgagaa caactacaag accaccctc ctatgcttga cagcgacggc
1260

tccttcttcc tgtacagcaa gctgaccgtg gacaagtccc gttggcaaca aggcaacgtg
1320

ttcagctgtt ccgtgatgca cgaggccctg cacaaccact acacccaaaa gagcctttcc
1380

ctgagccctg gaaag
1395

<210> 77
<211> 465
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của chuỗi nặng của 5H3.1

<400> 77

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 Asp Tyr Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Lys Tyr Ala
65 70 75 80

Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Arg
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Tyr Gly Gly Asn Ser Asp Trp Phe Asp Pro
115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
130 135 140

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
145 150 155 160

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

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 370 375 380

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 385 390 395 400

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
 405 410 415

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 420 425 430

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 435 440 445

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 450 455 460

Lys
 465

<210> 78
 <211> 742
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ của 5H3.1

<400> 78
 atggtgctgc agaccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc
 60

cagtccgtgc tgaccagcc tccttccgtg tctggcgccc ctggccagag agtgaccatc
 120

agctgtaccg gcagcagcag caacatcgga gctggatacg acgtgcactg gtatcagcag
 180

ctgcccggca ccgcccccaa gctgctgata tacggcaaca gcaaccggcc cagcggcgtg
 240

cccgatagat tcagcggcag caagagcggc accagcgcca gcctggccat taccggactg
300

caggccgagg acgaggccga ctactactgc cagagctacg acaaccggct gagcgacagc
360

gtggtgatcg gcggaggcac caagctggcc gtgcaggac agcccaaggc caaccccacc
420

gtgaccctgt tcccccaag cagcgaggaa ctgcaggcca acaaggccac cctggtgtgc
480

ctgatcagcg acttctaccc tggcgccgtg acagtggcct ggaaggccga tggatctccc
540

gtgaaggccg gcgtggaaac caccaagccc agcaagcaga gcaacaacaa atacgccgcc
600

agcagctacc tgagcctgac ccccgagcag tggaagtccc accggtccta cagctgccag
660

gtgacacacg agggcagcac cgtggaaaag accgtggccc ccaccgagtg cagctagggg
720

cccgtttaaa cgggggaggc ta
742

<210> 79

<211> 238

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của 5H3.1

<400> 79

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

Gly	Ala	Tyr	Gly	Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Gly
			20					25					30		

Ala	Pro	Gly	Gln	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn
		35					40					45			

Ile	Gly	Ala	Gly	Tyr	Asp	Val	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr
	50						55				60				

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val
65 70 75 80

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala
85 90 95

Ile Thr Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser
100 105 110

Tyr Asp Asn Arg Leu Ser Asp Ser Val Val Ile Gly Gly Gly Thr Lys
115 120 125

Leu Ala Val Gln Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe
130 135 140

Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys
145 150 155 160

Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala
165 170 175

Asp Gly Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys
180 185 190

Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro
195 200 205

Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu
210 215 220

Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225 230 235

<210> 80

<211> 1433

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng của 10F8

<400> 80

ccagcctccg gactctagag ccaccatgaa gcacctgtgg ttcttttctgc tgctgggtggc
60

cgctcccaga tgggtgctgt ctcaggtgca gctgcagcag tctggcgccg aactcgtgcg
120

gcctggaagc agcgtgaaga tcagctgcaa ggccagcggc tacgccttcc ggtcctactg
180

gatgaactgg gtcaagcaga ggccaggcca gggcctggaa tggatcggcc acatctatcc
240

cggcgacggc gacaccaact acaacggcaa gttcaagggc aaggccaccc tgaccgccga
300

caagagcagc agcacagcct acatgcagct gtccagcctg accagcgagg acagcgccgt
360

gtacctgtgt ggagagggcg gcacaaccgt ggtgggtggat tattggggcc agggcaccac
420

actgaccgtg tccagcgcca agaccacccc cccatctgtg taccctctgg cccctggatc
480

tgccgcccag accaacagca tggtcaccct gggctgcctc gtgaagggtt acttcctga
540

gcctgtgacc gtgacctgga acagcggctc tctgtctagc ggcgtgcaca cctttccagc
600

cgtgctgcag agcgacctgt acaccctgag cagctccgtg accgtgccta gcagcacctg
660

gcctagcgag acagtgacct gcaacgtggc ccaccctgcc agctctacca aggtggacaa
720

gaaaatcgtg ccccgggact gcggctgcaa gccctgtatc tgtaccgtgc ccgaggtgtc
780

ctccgtgttc atcttccac ccaagcccaa ggacgtgctg accatcaccc tgacacccaa
840

agtgacatgt gtggtgggtg acatcagcaa ggacgacccc gaggtgcagt tcagttggtt
900

cgtggacgac gtggaagtgc acacagccca gaccagccc agagaggaac agttcaacag
960

caccttcaga agcgtgtccg agctgcccac catgcaccag gactgggtga acggcaaaga
1020

attcaagtgc agagtgaaca gcgcgcctt ccttgccccc atcgagaaaa ccatctccaa
1080

gaccaagggc agaccaagg cccccaggt gtacacaatc cccccacca aagaacagat
1140

ggccaaggac aaggtgtccc tgacctgcat gatcaccgat ttcttcccag aggacatcac
1200

cgtggaatgg cagtggaacg gccagccgc cgagaactac aagaacaccc agcctatcat
1260

ggacaccgac ggcagctact tcgtgtacag caagctgaac gtgcagaagt ccaactggga
1320

ggccggcaac accttcacct gtagcgtgct gcacgagggc ctgcacaatc accacaccga
1380

gaagtccctg tcccacagcc ccggcaaagt agtttaaacg ggggaggcta act
1433

<210> 81

<211> 461

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin của chuỗi nặng của 10F8

<400> 81

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	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Val	Arg
			20					25					30		

Pro	Gly	Ser	Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ala	Phe
		35					40					45			

Arg	Ser	Tyr	Trp	Met	Asn	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu
	50					55					60				

Glu Trp Ile Gly His Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn

65					70					75					80
Gly	Lys	Phe	Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser
				85					90					95	
Thr	Ala	Tyr	Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val
			100					105					110		
Tyr	Leu	Cys	Gly	Arg	Gly	Gly	Thr	Thr	Val	Val	Val	Asp	Tyr	Trp	Gly
		115					120					125			
Gln	Gly	Thr	Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Ser
	130					135					140				
Val	Tyr	Pro	Leu	Ala	Pro	Gly	Ser	Ala	Ala	Gln	Thr	Asn	Ser	Met	Val
145					150					155					160
Thr	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val
				165					170					175	
Thr	Trp	Asn	Ser	Gly	Ser	Leu	Ser	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
			180					185					190		
Val	Leu	Gln	Ser	Asp	Leu	Tyr	Thr	Leu	Ser	Ser	Ser	Val	Thr	Val	Pro
		195					200					205			
Ser	Ser	Thr	Trp	Pro	Ser	Glu	Thr	Val	Thr	Cys	Asn	Val	Ala	His	Pro
	210					215					220				
Ala	Ser	Ser	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Ile	Val	Pro	Arg	Asp	Cys	Gly
225					230					235					240
Cys	Lys	Pro	Cys	Ile	Cys	Thr	Val	Pro	Glu	Val	Ser	Ser	Val	Phe	Ile
				245					250					255	
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Val	Leu	Thr	Ile	Thr	Leu	Thr	Pro	Lys
			260					265					270		
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Ile	Ser	Lys	Asp	Asp	Pro	Glu	Val	Gln

275	280	285
Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln 290 295 300		
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu 305 310 315 320		
Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg 325 330 335		
Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys 340 345 350		
Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro 355 360 365		
Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr 370 375 380		
Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln 385 390 395 400		
Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly 405 410 415		
Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu 420 425 430		
Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn 435 440 445		
His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys 450 455 460		

<210> 82
 <211> 770
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ của 10F8

<400> 82

ccagcctccg gactctagag ccacccatggg gctgcagacc caggtgttca tcagcctgct
60

gctgtggatc agcggcgccct acggcgacat cgtgatgagc cagagcccta gcagcctggc
120

cgtgtctgcc ggcgagaaag tgacccatgag ctgcaagagc agccagtccc tgctgaacag
180

ccggacccgg aagaactacc tggcctggta tcagcagaag cccggccagt cccccaagct
240

gctgatctac tggggccagca ccagagaaag cggcgtgccc gatagattca ccggcagcgg
300

ctctggcacc gacttcaccc tgacaatcag cagcgtgcag gccgaggacc tggctgtgta
360

ctactgcaag cagagctaca acctgccctg gaccttcggc ggaggcacca agctggaaat
420

caagagagcc gacgccgctc ccaccgtgtc catctttcca cctagcagcg agcagctgac
480

cagcggcgga gctagcgtcg tgtgcttcct gaacaacttc taccccaagg acatcaacgt
540

gaagtggaag atcgacggca gcgagcggca gaacggcgtg ctgaatagct ggaccgacca
600

ggacagcaag gactccacct acagcatgtc cagcaccctg accctgacca aggacgagta
660

cgagcggcac aacagctaca catgcgaggc caccacaag accagcacct ccccatcgt
720

gaagtccttc aaccggaacg agtgctgagt ttaaacgggg gaggctaact
770

<210> 83

<211> 240

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của 10F8

<400> 83

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 Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala
 20 25 30

Val Ser Ala Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
 35 40 45

Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln
 50 55 60

Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg
 65 70 75 80

Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
 85 90 95

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr
 100 105 110

Tyr Cys Lys Gln Ser Tyr Asn Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr
 115 120 125

Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe
 130 135 140

Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys
 145 150 155 160

Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile
 165 170 175

Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln
 180 185 190

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr
 195 200 205

Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His
 210 215 220

Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
 225 230 235 240

<210> 84

<211> 1436

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng của 14F74

<400> 84

ccagcctccg gactctagag ccaccatgaa gcacctgtgg ttctttctgc tgctgggtggc
 60

cgctcccaga tgggtgctgt ctcaggtgca gctgcagcag tctggcgccg aactcgtgcg
 120

gcctggaagc agcgtgaaga tcagctgcaa ggccagcggc tacgccttca gcagctactg
 180

gatgaactgg gtcaagcagc ggccaggcca gggcctggaa tggatcggcc atatctatcc
 240

cggcgacggc gacaccaact acaacggcaa gttcaagggc aaggccaccc tgaccgccga
 300

caagagcagc agcacagcct acatgcagct gagcggcctg accagcgagg acagcgccgt
 360

gtacttctgc gccagaagcg gcagactgag attcgccatg gactactggg gccagggcac
 420

cagcgtgaca gtgtctagcg ccaagaccac cccccccagc gtgtaccctc tggctcctgg
 480

atctgccgcc cagaccaaca gcatggtcac cctgggctgc ctcgtgaagg gctacttccc
 540

tgagcctgtg accgtgacct ggaacagcgg ctctctgtct agcggcgtgc acacctttcc
 600

agccgtgctg cagagcgacc tgtacaccct gagcagctcc gtgaccgtgc ctagcagcac
 660

ctggcctagc gagacagtga cctgcaacgt ggcccaccct gccagctcta ccaaggtgga
720

caagaaaatc gtgccccggg actgcggctg caagccctgt atctgtaccg tgcccagagt
780

gtccagcgtg ttcattcttc cacccaagcc caaggacgtg ctgaccatca ccctgacacc
840

caaagtgacc tgtgtggtgg tggacatcag caaggacgac cccgaggtgc agttcagttg
900

gttcgtggac gacgtggaag tgcacacagc ccagaccag cccagagagg aacagttcaa
960

cagcaccttc agaagcgtgt ccgagctgcc catcatgcac caggactggc tgaacggcaa
1020

agaattcaag tgcagagtga acagcgccgc cttccctgcc cccatcgaga aaaccatctc
1080

caagaccaag ggcagacca aggcccctca ggtgtacaca atccccccac ccaaagaaca
1140

gatggccaag gacaaggtgt ccctgacctg catgatcacc gatttcttcc cagaggacat
1200

caccgtgga tggcagtgga acggccagcc cgccgagaac tacaagaaca cccagcctat
1260

catggacacc gacggcagct acttcgtgta cagcaagctg aacgtgcaga agtccaactg
1320

ggaggccggc aacaccttca cctgtagcgt gctgcacgag ggcctgcaca atcaccacac
1380

cgagaagtcc ctgtcccaca gccccggcaa atgagtttaa acgggggagg ctaact
1436

<210> 85

<211> 462

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin của chuỗi nặng của 14F74

<400> 85

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

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

Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His
 435 440 445

Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
 450 455 460

<210> 86
 <211> 767
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ của 14F74

<400> 86
 ccagcctccg gactctagag ccaccatggg gctgcagacc caggtgttca tcagcctgct
 60

gctgtggatc agcggcgcct acggcgacat cgtgatgagc cagagcccta gcagcctggc
 120

cgtgtctgcc ggcgagaaag tgaccatgag ctgcaagagc agccagtccc tgctgaacag
 180

ccggacccgg aagaactacc tggcctggta tcagcagaag cccggccagt cccccaagct
 240

gctgatctac tggggcagca ccagagaaaag cggcgtgccc gatagattca ccggcagcgg
 300

ctctggcacc gacttcaccc tgacaatcag cagcgtgcag gccgaggacc tggctgtgta
 360

ctactgcaag cagagctaca acctgcggac cttcggcgga ggcaccaagc tggaaatcca
 420

gagagccgac gccgctccca ccgtgtccat ctttccacct agcagcgagc agctgaccag
 480

cggcggagct agcgtcgtgt gcttcctgaa caacttctac cccaaggaca tcaacgtgaa
 540

gtggaagatc gacggcagcg agcggcagaa cggcgtgctg aatagctgga ccgaccagga
 600

cagcaaggac tccacctaca gcatgtccag caccctgacc ctgaccaagg acgagtacga
 660

gcggcacaac agctacacat gcgaggccac ccacaagacc agcacctccc ccatcgtgaa
720

gtccttcaac cggaacgagt gctgagttta aacgggggag gctaact
767

<210> 87

<211> 239

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của 14F74

<400> 87

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	Ser	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ala
			20					25					30		

Val	Ser	Ala	Gly	Glu	Lys	Val	Thr	Met	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser
		35					40					45			

Leu	Leu	Asn	Ser	Arg	Thr	Arg	Lys	Asn	Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln
	50					55					60				

Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg
65					70					75					80

Glu	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp
				85					90					95	

Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Val	Gln	Ala	Glu	Asp	Leu	Ala	Val	Tyr
			100					105					110		

Tyr	Cys	Lys	Gln	Ser	Tyr	Asn	Leu	Arg	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys
		115					120					125			

Leu	Glu	Ile	Gln	Arg	Ala	Asp	Ala	Ala	Pro	Thr	Val	Ser	Ile	Phe	Pro
	130					135					140				

Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe
145 150 155 160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp
165 170 175

Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp
180 185 190

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys
195 200 205

Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys
210 215 220

Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
225 230 235

<210> 88
<211> 1436
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng của 17F6

<400> 88
ccagcctccg gactctagag ccaccatgaa gcacctgtgg ttcttttctgc tgctggtggc
60

cgctcccaga tgggtgctgt ctcaggtgca gctgcagcag tctggcgccg aactcgtgcg
120

gcctggaagc agcgtgaaga tcagctgcaa ggccagcggc tacgccttca gcagctactg
180

gatgaactgg gtcaagcagc ggccaggcca gggcctggaa tggatcggcc atatctatcc
240

cggcgacgcc gacaccaact acaacggcaa gttcaagggc aaggccaccc tgaccgccga
300

caagagcagc agcacagcct acatgcacct gtccagcctg accagcgagg acagcgccgt
360

gtactttctgc agccggcagc tgggcttcag atacgccatg gactattggg gccagggcac
420

cagcgtgacc gtgtctagcg ccaagaccac ccccccctagc gtgtaccctc tggcccctgg
480

atctgccgcc cagaccaaca gcatggtcac cctgggctgc ctcgatgaagg gctacttccc
540

tgagcctgtg accgtgacct ggaacagcgg ctctctgtct agcggcgtgc acacctttcc
600

agccgtgctg cagagcgacc tgtacaccct gagcagctcc gtgacagtgc ccagctctac
660

ctggcccagc gagacagtga cctgcaacgt ggcccaccct gccagcagca ccaaggtgga
720

caagaaaatc gtgccccggg actgcggctg caagccctgt atctgtaccg tgcccagagt
780

gtccagcgtg ttcattcttc caccgaagcc caaggacgtg ctgaccatca ccctgacacc
840

caaagtgacc tgtgtggtgg tggacatcag caaggacgac cccgaggtgc agttcagttg
900

gttcgtggac gacgtggaag tgcacacagc ccagaccag cccagagagg aacagttcaa
960

cagcaccttc agaagcgtgt ccgagctgcc catcatgcac caggactggc tgaacggcaa
1020

agaattcaag tgcagagtga acagcgccgc cttccctgcc cccatcgaga aaacctctc
1080

caagaccaag ggcagacca agggccccca ggtgtacaca atccccccac ccaaagaaca
1140

gatggccaag gacaaggtgt ccctgacctg catgatcacc gatttcttcc cagaggacat
1200

caccgtggaa tggcagtgga acggccagcc cgccgagaac tacaagaaca cccagcctat
1260

catggacacc gacggcagct acttcgtgta cagcaagctg aacgtgcaga agtccaactg
1320

ggaggccggc aacaccttca cctgtagcgt gctgcacgag ggccctgcaca atcaccacac
1380

cgagaagtcc ctgtcccaca gccccggcaa atgagtttaa acggggggagg ctaact
1436

<210> 89
<211> 462
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của chuỗi nặng của 17F6

<400> 89

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 Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg
20 25 30

Pro Gly Ser Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe
35 40 45

Ser Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly His Ile Tyr Pro Gly Asp Ala Asp Thr Asn Tyr Asn
65 70 75 80

Gly Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met His Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
100 105 110

Tyr Phe Cys Ser Arg Gln Leu Gly Phe Arg Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
115 120 125

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro
130 135 140

Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met
145 150 155 160

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

Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile
 370 375 380

Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly
 385 390 395 400

Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp
 405 410 415

Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp
 420 425 430

Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His
 435 440 445

Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
 450 455 460

<210> 90

<211> 767

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ của 17F6

<400> 90

ccagcctccg gactctagag ccaccatggg gctgcagacc caggtgttca tcagcctgct
 60

gctgtggatc agcggcgcct acggcgacat cgtgatgagc cagagcccta gcagcctggc
 120

cgtgtctgcc ggcgagaaag tgaccatgag ctgcaagagc agccagtccc tgctgaacag
 180

ccggacccgg aagaactacc tggcctggta tcagcagaag cccggccagt cccccaagct
 240

gctgatctac tgggccagca ccagagaaag cggcgtgccc gatagattca ccggcagcgg
 300

ctctggcacc gacttcaccc tgacaatcag cagcgtgcag gccgaggacc tggctgtgta
 360

ctactgcaag cagagctaca acctgcggac cttcggcgga ggcaccaagc tggaaatcaa
420

gagagccgac gccgctccca ccgtgtccat ctttccacct agcagcgagc agctgaccag
480

cggcggagct agcgtcgtgt gcttcctgaa caacttctac cccaaggaca tcaacgtgaa
540

gtggaagatc gacggcagcg agcggcagaa cggcgtgctg aatagctgga ccgaccagga
600

cagcaaggac tccacctaca gcatgtccag caccctgacc ctgaccaagg acgagtacga
660

gcggcacaac agctacacat gcgaggccac ccacaagacc agcacctccc ccatcgtgaa
720

gtccttcaac cggaacgagt gctgagttta aacgggggag gctaact
767

<210> 91

<211> 239

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của 17F6

<400> 91

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	Ser	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ala
			20					25					30		

Val	Ser	Ala	Gly	Glu	Lys	Val	Thr	Met	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser
		35					40					45			

Leu	Leu	Asn	Ser	Arg	Thr	Arg	Lys	Asn	Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln
	50					55					60				

Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg
65					70					75					80

Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
85 90 95

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr
100 105 110

Tyr Cys Lys Gln Ser Tyr Asn Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
115 120 125

Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro
130 135 140

Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe
145 150 155 160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp
165 170 175

Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp
180 185 190

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys
195 200 205

Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys
210 215 220

Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
225 230 235

<210> 92

<211> 11

<212> PRT

<213> Rattus rattus

<400> 92

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

<210> 93
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> CDRL1 của hR198_LG1

<400> 93

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

<210> 94
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> CDRL1 của hR198_LG2

<400> 94

His Ala Ser Gln Asn Ile Gly Gly Ser Leu Ser
 1 5 10

<210> 95
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> CDRL1 của hR198_LG3

<400> 95

His Ala Ser Arg Asn Ile Gly Gly Ser Leu Ser
 1 5 10

<210> 96
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Rattus rattus

<400> 96

Ser Thr Ser Thr Leu Glu Ser
 1 5

<210> 97
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> CDRL2 của hR198_LG2

<400> 97

Leu Thr Ser Thr Leu Asp Trp
 1 5

<210> 98
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> CDRL2 của hR198_LG3

<400> 98

Leu Thr Ser Ser Leu Asp Trp
 1 5

<210> 99
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Rattus rattus

<400> 99

Leu Gln Phe Ala Thr Phe Pro Asp Thr
 1 5

<210> 100
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Rattus rattus

<400> 100

Leu Gln Phe Ala Thr Tyr Pro Asp Thr
 1 5

<210> 101

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> CDRL3 của hR198_LG1 đến LG3

<400> 101

Leu Gln Phe Ala Ile Phe Pro Asp Ser
 1 5

<210> 102
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Rattus rattus

<400> 102

Ala Tyr Tyr Ile Ser
 1 5

<210> 103
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Rattus rattus

<400> 103

Ser Tyr Tyr Ile Ser
 1 5

<210> 104
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Rattus rattus

<400> 104

Tyr Ile Asp Met Gly Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Ala Arg Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 105
 <211> 17

<212> PRT
 <213> Rattus rattus

<400> 105

Tyr	Val	Asp	Met	Gly	Asn	Gly	Arg	Thr	Asn	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 106
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> CDRH2 của hR198_HG1

<400> 106

Tyr	Ile	Asp	Met	Gly	Asn	Gly	Arg	Thr	Asp	Tyr	Asn	Ala	Arg	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 107
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> CDRH2 của hR198_HG2

<400> 107

Tyr	Ile	Asp	Met	Gly	Asn	Gly	Arg	Thr	Asp	Tyr	Asn	Gly	Arg	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 108
 <211> 17
 <212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> CDRH2 của hR198_HG3

<400> 108

Tyr	Ile	Asp	Met	Gly	Asn	Gly	Arg	Thr	Asp	Tyr	Asn	Met	Arg	Phe	Lys
1				5				10						15	

Gly

<210> 109

<211> 8

<212> PRT

<213> Rattus rattus

<400> 109

Asp	Ser	Asn	Trp	Gly	Val	Asp	Tyr
1				5			

<210> 110

<211> 8

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> CDRH3 của hR198_HG1 đến HG3

<400> 110

Asp	Ser	Asn	Trp	Gly	Ala	Asp	Tyr
1				5			

<210> 111

<211> 1401

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nucleotit mã hóa hR198_H0

<400> 111

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag
60

gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc
120

tgcaaggcct ctggctaccc cgtgaccagc tactacatca gctggatcag acaggcccca
180

ggccagggcc tggaatggat cggctatgtg gacatgggca acggccggac caactacaac
240

gagaagttca agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgcctacatg
300

gaactgagca gcttgcgag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac
360

tggggcgtgg actattgggg ccagggcaca ctcgtagcgg tcagctcage ctccaccaag
420

ggccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc
480

ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccctga ccgtgagctg gaactcaggc
540

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc
600

ctcagcagcg tggtagaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac
660

gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac
720

aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tggggggacc ctcagtcttc
780

ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
840

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
900

gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg
960

gtggtcagcg tcctcacctg cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
1020

aaggtctcca acaaagccct cccagcccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc
1080

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac
1140

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg
1200

gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac
1260

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcagggtggca gcagggcaac
1320

gtcttctcat gtcctgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacaccca gaagagcctc
1380

tccctgtctc ccggcaaatg a
1401

<210> 112

<211> 466

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin của hR198_H0

<400> 112

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	Pro	Val
		35					40					45			

Thr	Ser	Tyr	Tyr	Ile	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu
	50					55					60				

Glu	Trp	Ile	Gly	Tyr	Val	Asp	Met	Gly	Asn	Gly	Arg	Thr	Asn	Tyr	Asn
65					70				75						80

Glu	Lys	Phe	Lys	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser
				85					90					95	

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Asn Trp Gly Val Asp Tyr Trp Gly Gln
 115 120 125

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 130 135 140

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 165 170 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 195 200 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 225 230 235 240

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly 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 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala 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 Val
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> 113
<211> 1401
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa hR198_H5

<400> 113

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag
60

gtgcagctgg tgcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaagggtgtcc
120

tgcaaggcct ctggctaccc cgtgaccgcc tactacatca gctggatcag acaggcccca
180

ggccagggcc tggaatggat cggctacatc gacatgggca acggccggac caactacaac
240

gcccggttta agggcagagc caccctgacc gtggacaaga gcaccagcac cgcctacatg
300

gaactgagca gcctgcggag cgaggacacc gccgtgtact actgcgccag agacagcaac
360

tggggcggtg actattgggg ccagggcaca ctcgtagccg tcagctcagc ctccaccaag
420

ggcccaagcg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc
480

ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccctgta cctgagctg gaactcaggc
540

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc
600

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca ccagaccta catctgcaac
660

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac
720

aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tggggggacc ctcagtcttc
780

ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc
840

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc
900

gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg
960

gtggtcagcg tcctcacgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc
1020

aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc
1080

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg ccccatccc gggaggagat gaccaagaac
1140

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg
1200

gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac
1260

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac
1320

gtcttctcat gtcctgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacca gaagagcctc
1380

tccctgtctc ccggcaaattg a
1401

<210> 114
<211> 466
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của hR198_H5

<400> 114

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	Pro	Val
		35					40					45			

Thr	Ala	Tyr	Tyr	Ile	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu
	50					55					60				

Glu	Trp	Ile	Gly	Tyr	Ile	Asp	Met	Gly	Asn	Gly	Arg	Thr	Asn	Tyr	Asn
65					70				75						80

Ala	Arg	Phe	Lys	Gly	Arg	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	
				85					90					95		
Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	
			100					105					110			
Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Asp	Ser	Asn	Trp	Gly	Val	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	
		115					120					125				
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	
	130					135					140					
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	
145					150					155					160	
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	
				165					170					175		
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	
			180					185					190			
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	
		195					200					205				
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	
	210					215					220					
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	
225					230					235					240	
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	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 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala 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 Val
 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> 115
 <211> 48
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 115

Ser Gly Ser Gly Phe Leu Pro Leu Lys Lys Gln Pro Gly Gln Pro Arg
1 5 10 15

Pro Thr Ser Lys Pro Pro Ala Ser Gly Ala Ala Ala Asn Val Ser Thr
20 25 30

Ser Gly Ile Thr Pro Gly Gln Ala Ala Ala Ile Ala Ser Thr Thr Ile
35 40 45

<210> 116

<211> 11

<212> PRT

<213> Rattus rattus

<400> 116

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