



(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)



1-0029866

(51)⁷ C07K 16/24

(13) B

(21) 1-2013-02531

(22) 11/01/2012

(86) PCT/GB2012/050050 11/01/2012

(87) WO/2012/095662 19/07/2012

(30) 61/432,814 14/01/2011 US

(45) 25/10/2021 403

(43) 25/12/2013 309A

(73) UCB Biopharma SRL (BE)

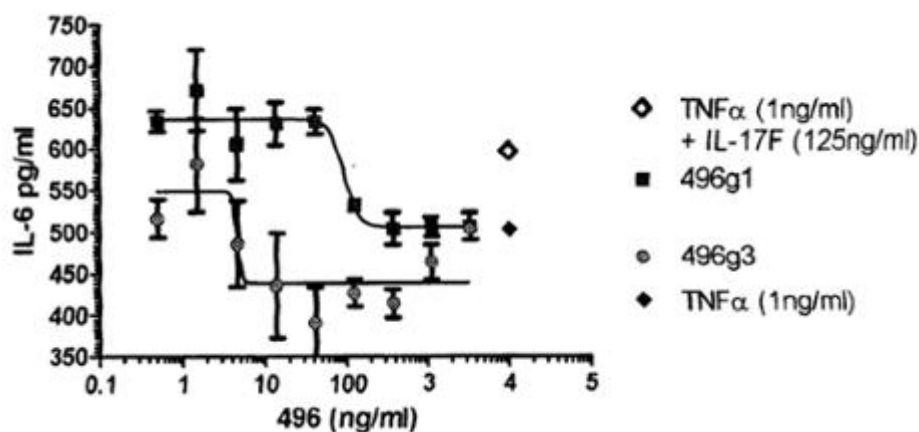
Allée de la Recherche 60, 1070 Brussels, Belgium

(72) ADAMS, Ralph (GB); BAKER, Terence Seward (GB); LAWSON, Alastair David Griffiths (GB).

(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Thảo Thọ Quyền (INVENCO.,LTD)

(54) KHÁNG THỂ TRUNG HÒA LIÊN KẾT VỚI IL-17A VÀ IL-17F NGƯỜI VÀ QUY TRÌNH SẢN XUẤT KHÁNG THỂ NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến các phân tử kháng thể có tính đặc hiệu đối với các yếu tố xác định kháng nguyên của cả hai IL-17A và IL-17F, việc sử dụng các phân tử kháng thể này trong y học và các phương pháp sản xuất các phân tử kháng thể này.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các phân tử kháng thể có tính đặc hiệu đối với các yếu tố xác định kháng nguyên của cả hai IL-17A và IL-17F. Sáng chế cũng đề cập đến việc sử dụng các phân tử kháng thể này trong y học và các phương pháp sản xuất chúng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

IL-17A (được đặt tên ban đầu là CTLA-8 và cũng được biết là IL-17) là xytokin tiền viêm và là thành viên đầu tiên của họ IL-17 (Rouvier *et al.* 1993, *J. Immunol.* 150: 5445-5456). Sau đó năm thành viên bổ sung của họ này đã được xác định (IL-17B – IL-17F) bao gồm các thành viên gần gũi nhất, IL-17F (ML-1) có khoảng 55% trình tự axit amin tương đồng với IL-17A (Moseley *et al.*, 2003, *Cytokine Growth Factor Rev.* 14: 155-174). IL-17A và IL-17F được biểu hiện bởi tiểu nhóm các tế bào T trợ giúp liên quan đến tự miễn được xác định gần đây, Th17, cũng biểu hiện các xytokin tín hiệu IL-21 và IL-22 (Korn *et al.*, 2009, *Annu. Rev. Immunol.* 27:485-517.: 485-517). IL-17A và IL-17F cũng được biểu hiện là các heterodime, nhưng có thể cũng được biểu hiện là heterodime IL-17A/F (Wright *et al.* 2008, *J. Immunol.* 181: 2799-2805). IL-17A và F gây ra tín hiệu thông qua các thụ thể IL-17R, IL-17RC hoặc phức hệ thụ thể IL-17RA/RC (Gaffen 2008, *Cytokine.* 43: 402-407). Cả hai IL-17A và IL-17F là có liên quan đến một số bệnh tự miễn.

Do đó sử dụng chất đối kháng kép của IL-17A và IL-17F có thể là hữu hiệu hơn so với chất đối kháng đơn trong việc điều trị các bệnh gây ra bởi IL-17. Các kháng thể liên kết với IL-17A và IL-17F đã được mô tả trong WO2007/106769, WO2008/047134, WO2009/136286 và WO2010/025400.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất kháng thể trung hòa cải thiện có khả năng liên kết với cả hai IL-17A và IL-17F với ái lực cao có chuỗi nhẹ và chuỗi nặng trong đó khu vực biến đổi của chuỗi nhẹ này chứa trình tự nêu trong SEQ ID NO:7 và khu vực biến đổi của chuỗi nặng này chứa trình tự nêu trong SEQ ID NO:9. Cụ thể là, kháng thể theo sáng

chế có khả năng liên kết đặc hiệu với cả hai IL-17A và IL-17F nghĩa là kháng thể không liên kết với các isoform khác của IL-17. Ưu tiên là kháng thể theo sáng chế cũng liên kết với heterodime IL-17A/IL-17F. Ưu tiên là, kháng thể theo sáng chế trung hòa hoạt tính của cả hai IL-17A và IL-17F. Theo một phương án, kháng thể theo sáng chế cũng trung hòa hoạt tính của heterodime IL-17A/IL-17F. Do đó, các kháng thể theo sáng chế có đặc điểm hữu ích đó là chúng có thể ức chế hoạt tính sinh học của cả hai IL-17A và IL-17F. Do đó, sáng chế cũng đề xuất việc sử dụng các kháng thể này trong điều trị và/hoặc phòng bệnh gây ra bởi một trong hai hoặc cả hai IL-17A hoặc IL-17F như bệnh tự miễn hoặc bệnh viêm hoặc bệnh ung thư.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 a) Vùng V chuỗi nặng của kháng thể CA028_0496g3 (SEQ ID NO:7)

b) Vùng V chuỗi nặng của kháng thể CA028_0496g3 (SEQ ID NO:9)

c) CDRH1 (SEQ ID NO:1), CDRH2 (SEQ ID NO:2), CDRH3 (SEQ ID NO:3), CDRL1 (SEQ ID NO:4), CDRL2 (SEQ ID NO:5), CDRL3 (SEQ ID NO:6) của kháng thể CA028_496g3.

d) Chuỗi nhẹ của kháng thể CA028_496g3 (SEQ ID NO:11).

e) Chuỗi nhẹ của kháng thể CA028_496g3 bao gồm trình tự tín hiệu (SEQ ID NO:12).

Fig. 2 a) Chuỗi nặng của kháng thể CA028_496g3 (SEQ ID NO:15).

b) Chuỗi nặng của kháng thể CA028_496g3 bao gồm trình tự tín hiệu (SEQ ID NO:16).

c) ADN mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể CA028_496g3 (không có trình tự tín hiệu) (SEQ ID NO:13).

Fig. 3 a) ADN mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể CA028_496g3 bao gồm trình tự tín hiệu (SEQ ID NO:14)

b) ADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể CA028_496g3 (SEQ ID NO:8)

c) ADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể CA028_496g3 bao gồm trình tự tín hiệu (SEQ ID NO:10)

Fig. 4: ADN (bao gồm các exon) mã hóa chuỗi nặng của kháng thể CA028_496g3 không có trình tự tín hiệu (SEQ ID NO:17)

Fig. 5: ADN (bao gồm các exon và trình tự tín hiệu) mã hóa chuỗi nặng của kháng thể CA028_496g3 (SEQ ID NO:18)

Fig. 6: cADN mã hóa chuỗi nặng của kháng thể CA028_496g3 bao gồm trình tự tín hiệu (SEQ ID NO:19).

Fig. 7: Hiệu quả của các kháng thể CA028_0496 (ghi chú được chỉ định 496g1) và CA028_00496.g3 (ghi chú được chỉ định 496.g3) đối với IL-17F người gây ra sản sinh IL-6 từ các tế bào Hela.

Mô tả chi tiết sáng chế

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ ‘kháng thể trung hòa’ mô tả kháng thể có khả năng trung hòa hoạt tính tạo tín hiệu sinh học của cả hai IL-17A và IL17F ví dụ bằng cách phong bế liên kết của IL-17A và IL17F với một hoặc nhiều thụ thể của chúng và bằng cách phong bế liên kết của heterodime IL-17A/IL-17F với một hoặc nhiều thụ thể của nó. Sẽ được hiểu rằng thuật ngữ ‘trung hòa’ như được sử dụng ở đây đề cập đến việc giảm hoạt tính tạo ra tín hiệu sinh học mà có thể là một phần hoặc hoàn toàn. Hơn nữa, sẽ được hiểu rằng mức độ trung hòa hoạt tính IL-17A và IL-17F bằng kháng thể này có thể là giống nhau hoặc khác nhau. Theo một phương án mức trung hòa hoạt tính heterodime IL-17A/IL-17F có thể là giống hoặc khác với mức độ trung hòa hoạt tính IL-17A hoặc IL-17F.

Theo một phương án, các kháng thể theo sáng chế liên kết đặc hiệu với IL-17A và IL-17F. Liên kết đặc hiệu nghĩa là kháng thể có ái lực cao hơn nhiều với các polypeptit IL-17A và IL-17F (bao gồm heterodime IL-17A/IL-17F) so với các polypeptit khác. Ưu tiên là, polypeptit IL-17A và IL-17F là của người. Theo một phương án kháng thể này cũng liên kết với IL-17A và IL-17F của xynomolgus.

Các polypeptit IL-17A hoặc IL-17F hoặc hỗn hợp của hai hoặc các tế bào biểu hiện một hoặc cả hai polypeptit này có thể được sử dụng để tạo ra các kháng thể nhận biết đặc hiệu cả hai polypeptit. Các polypeptit IL-17 (IL-17A và IL-17F) có thể là polypeptit ‘thành thực chức năng’ hoặc các mảnh có hoạt tính sinh học hoặc các dẫn xuất của nó mà ưu tiên là bao gồm vị trí liên kết thụ thể này. Ưu tiên là các polypeptit

IL-17 là các polypeptit thành thực chức năng. Các polypeptit IL-17 có thể được điều chế bằng các quy trình được biết nhiều trong lĩnh vực từ các tế bào chủ được cải biến di truyền chứa các hệ thống biểu hiện hoặc chúng có thể được thu hồi từ các nguồn sinh học tự nhiên. Trong đơn này, thuật ngữ “polypeptit” bao gồm các peptit, polypeptit và protein. Các thuật ngữ này có thể được sử dụng thay đổi cho nhau trừ khi được chỉ định cụ thể khác. Polypeptit IL-17 có thể trong một số trường hợp có thể là một phần của protein lớn hơn như protein dung hợp ví dụ được dung hợp với đuôi ái lực. Các kháng thể được tạo ra kháng lại các polypeptit này có thể thu được, trong đó việc gây miễn dịch động vật này là cần thiết, bằng cách dùng các polypeptit này cho động vật, ưu tiên là động vật không phải người, sử dụng quy trình thông thường và được biết nhiều, xem ví dụ Handbook of Experimental Immunology, D. M. Weir (ed.), Vol 4, Blackwell Scientific Publishers, Oxford, England, 1986). Các động vật máu nóng, như thỏ, chuột, chuột rat, cừu, bò hoặc lợn có thể được gây miễn dịch. Tuy nhiên, chuột, thỏ, lợn và chuột rat thường được ưu tiên.

Các kháng thể để sử dụng trong sáng chế bao gồm toàn bộ kháng thể và các mảnh có hoạt tính chức năng hoặc các dẫn xuất của nó và có thể là nhưng không bị giới hạn đến các kháng thể đơn dòng, đa hóa trị, đa đặc hiệu, đặc hiệu kép, được biến đổi giống người hoặc khảm, các kháng thể khu vực ví dụ VH, VL, VHH, các kháng thể chuỗi đơn, Fv, các mảnh Fab, Fab' và các mảnh F(ab')₂ và các mảnh liên kết epitop của các kháng thể bất kỳ trên đây. Các mảnh kháng thể khác bao gồm các mảnh được mô tả trong đơn sáng chế quốc tế số WO2005003169, WO2005003170 và WO2005003171. Các mảnh kháng thể khác bao gồm các mảnh Fab-Fv và Fab-dsFv được mô tả tương ứng trong WO2009040562 và WO2010035012. Các mảnh kháng thể và các phương pháp sản xuất chúng được biết nhiều trong lĩnh vực, xem ví dụ Verma *et al.*, 1998, Journal of Immunological Methods, 216, 165-181; Adair and Lawson, 2005. Therapeutic antibodies. *Drug Design Reviews - Online* 2(3):209-217.

Các kháng thể để sử dụng trong sáng chế bao gồm các phân tử globulin miễn dịch và các phần có hoạt tính miễn dịch của các phân tử globulin miễn dịch, *nghĩa là* phân tử chứa vị trí gắn kết kháng nguyên mà liên kết đặc hiệu với kháng nguyên. Các phân tử globulin miễn dịch theo sáng chế có thể là thuộc lớp bất kỳ (ví dụ IgG, IgE, IgM, IgD và IgA) hoặc dưới lớp của phân tử globulin miễn dịch.

Các kháng thể đơn dòng có thể được điều chế bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực như kỹ thuật khối tế bào lai (Kohler & Milstein, 1975, *Nature*, 256:495-497), kỹ thuật dung hợp tế bào u lympho với khối tế bào lai, kỹ thuật khối tế bào lai tế bào B người (Kozbor *et al.*, 1983, *Immunology Today*, 4:72) và kỹ thuật khối tế bào lai-EBV (Cole *et al.*, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, pp77-96, Alan R Liss, Inc., 1985).

Các kháng thể để sử dụng trong sáng chế có thể cũng được tạo ra sử dụng các phương pháp kháng thể lympho bào riêng lẻ bằng cách tách dòng và biểu hiện các cADN vùng biến đổi của globulin miễn dịch được tạo ra từ các lympho bào riêng lẻ được chọn để sản xuất các kháng thể đặc hiệu ví dụ các phương pháp được mô tả bởi Babcook, J. *et al.*, 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93(15):7843-7848; WO92/02551; WO2004/051268 và Công bố đơn quốc tế số WO2004/106377.

Các kháng thể được làm giống người là các phân tử kháng thể từ loài không phải người có một hoặc nhiều vùng bổ sung (complementarity determining region-CDR) của loài không phải người và vùng khung là của phân tử globulin miễn dịch người (xem, ví dụ US 5,585,089; WO91/09967).

Các kháng thể khảm là các kháng thể được mã hóa bởi các gen globulin miễn dịch mà đã được cải biến di truyền để cho các gen chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được kết hợp thành các mảnh gen globulin miễn dịch thuộc loài khác. Các kháng thể khảm này có khả năng là ít có tính kháng nguyên hơn.

Các kháng thể hóa trị hai có thể được tạo ra bằng các phương pháp được biết nhiều trong lĩnh vực (Milstein *et al.*, 1983, *Nature* 305:537-539; WO 93/08829, Traunecker *et al.*, 1991, *EMBO J.* 10:3655-3659). Các kháng thể đa hóa trị có thể chứa đa đặc hiệu hoặc có thể là đơn đặc hiệu (xem ví dụ WO 92/22853 và WO05/113605).

Các kháng thể để sử dụng trong sáng chế có thể cũng được tạo ra sử dụng các phương pháp biểu hiện thực khuẩn thể khác nhau được biết nhiều trong lĩnh vực và bao gồm các phương pháp được mô tả bởi Brinkman *et al.* (in *J. Immunol. Methods*, 1995, 182: 41-50), Ames *et al.* (*J. Immunol. Methods*, 1995, 184:177-186), Kettleborough *et al.* (*Eur. J. Immunol.* 1994, 24:952-958), Persic *et al.* (*Gene*, 1997 187 9-18), Burton *et al.* (*Advances in Immunology*, 1994, 57:191-280) và WO 90/02809; WO 91/10737; WO 92/01047; WO 92/18619; WO 93/11236; WO

95/15982; WO 95/20401; và US 5,698,426; 5,223,409; 5,403,484; 5,580,717; 5,427,908; 5,750,753; 5,821,047; 5,571,698; 5,427,908; 5,516,637; 5,780,225; 5,658,727; 5,733,743 và 5,969,108. Các kỹ thuật sản xuất các kháng thể chuỗi đơn, như các kỹ thuật được mô tả trong US 4,946,778 có thể cũng được điều chỉnh để tạo ra các kháng thể chuỗi đơn liên kết với IL-17A và IL-17F. Do đó, chuột chuyển gen, hoặc các sinh vật khác, bao gồm các động vật khác, có thể được sử dụng để biểu hiện các kháng thể được làm giống người.

Sàng lọc các kháng thể có thể được thực hiện sử dụng các thử nghiệm để đo liên kết với IL-17A người và IL-17F người, ví dụ thử nghiệm BIAcore™ được mô tả trong các ví dụ ở đây. Các thử nghiệm trung hòa thích hợp được biết nhiều trong lĩnh vực, xem ví dụ WO2008/047134 và các ví dụ ở đây.

Các gốc trong các vùng biến đổi của kháng thể được đánh số thích hợp theo hệ thống được đưa ra bởi Kabat *et al.* Hệ thống này được trình bày trong Kabat *et al.*, 1987, in Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Department of Health và Human Services, NIH, USA (sau đây gọi là “Kabat *et al.* (*supra*)”). Hệ thống đánh số này được sử dụng trong sáng chế này ngoại trừ được chỉ định khác.

Các chỉ định gốc Kabat luôn luôn không tương ứng trực tiếp với đánh số thẳng hàng các gốc axit amin. Trình tự axit amin thẳng hàng thực tế có thể chứa các axit amin bổ sung hoặc ít hơn so với trong đánh số Kabat nghiêm ngặt tương ứng với làm ngắn bớt, hoặc xen vào trong thành phần cấu trúc, dù là vùng khung hay vùng bổ sung (CDR), của cấu trúc khu vực biến đổi cơ bản. Đánh số Kabat đúng các gốc có thể được xác định cho kháng thể xác định bằng cách duỗi thẳng so sánh các gốc tương đồng trong trình tự của kháng thể này với trình tự được đánh số Kabat “chuẩn”.

Các CDR của vùng biến đổi chuỗi nặng được đặt ở các gốc từ 31-35 (CDR-H1), các gốc từ 50-65 (CDR-H2) và các gốc từ 95-102 (CDR-H3) theo hệ thống đánh số Kabat. Tuy nhiên, theo Chothia (Chothia, C. and Lesk, A.M. J. Mol. Biol., 196, 901-917 (1987)), vòng này tương đương với CDR-H1 kéo dài từ gốc 26 đến gốc 32. Do đó ‘CDR-H1’, như được sử dụng ở đây, gồm các gốc từ 26 đến 35, như được mô tả bằng sự kết hợp hệ thống đánh số Kabat và định nghĩa vòng hình học tô pô Chothia.

Các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ được đặt ở các gốc 24-34 (CDR-L1), các gốc từ 50-56 (CDR-L2) và các gốc từ 89-97 (CDR-L3) theo hệ thống đánh số Kabat.

Kháng thể trung hòa có tính đặc hiệu đối với IL-17A người và IL-17F người, có thể chứa chuỗi nhẹ, trong đó khu vực biến đổi của chuỗi nhẹ này chứa trình tự nêu trong SEQ ID NO:4 cho CDR-L1, trình tự nêu trong SEQ ID NO:5 cho CDR-L2 và trình tự nêu trong SEQ ID NO:6 cho CDR-L3 (Xem fig. 1c).

Các phân tử kháng thể theo sáng chế ưu tiên là chứa vùng bổ sung của chuỗi nặng.

Do đó, kháng thể trung hòa có tính đặc hiệu đối với IL-17A người và IL-17F người, có thể chứa chuỗi nặng, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng này chứa CDR có trình tự nêu trong SEQ ID NO:1 cho CDR-H1, CDR có trình tự nêu trong SEQ ID NO:2 cho CDR-H2 và CDR có trình tự nêu trong SEQ ID NO:3 cho CDR-H3 (Xem fig. 1c).

Theo một phương án kháng thể được đề xuất bởi sáng chế là kháng thể đơn dòng.

Theo một phương án kháng thể được đề xuất bởi sáng chế là phân tử kháng thể được ghép CDR chứa một trong số các CDR được nêu trong trình tự nêu trong SEQ ID NO:1 đến 6. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ ‘phân tử kháng thể được ghép CDR’ đề cập đến phân tử kháng thể trong đó chuỗi nặng và/hoặc nhẹ này chứa một hoặc nhiều CDR (bao gồm nếu muốn, một hoặc nhiều CDR biến đổi) của kháng thể cho (ví dụ kháng thể đơn dòng của chuột) được ghép vào trong khung vùng biến đổi của chuỗi nặng và/hoặc nhẹ của kháng thể nhận (ví dụ kháng thể người). Để tham khảo, xem Vaughan *et al*, Nature Biotechnology, 16, 535-539, 1998. Theo phương án khác chỉ các gốc xác định tính đặc hiệu của mỗi CDR được mô tả ở đây trên đây được chuyển đến vùng khung kháng thể người này.

Khi các CDR này hoặc các gốc xác định tính đặc hiệu được ghép, trình tự khung vùng biến đổi nhận thích hợp bất kỳ có thể được sử dụng có lớp/loại kháng thể cho mà thu lấy các CDR, bao gồm các vùng khung của chuột, linh trưởng và người. Ưu tiên là, kháng thể ghép CDR theo sáng chế có khu vực biến đổi chứa các vùng khung nhận của người cũng như một hoặc nhiều CDR hoặc các gốc xác định tính đặc hiệu được mô tả ở đây. Do đó, được đề xuất theo một phương án là kháng thể ghép CDR trung hòa trong đó khu vực biến đổi chứa các vùng khung nhận của người và các CDR cho không phải của người.

Các ví dụ về các vùng khung của người mà có thể được sử dụng trong sáng chế này là KOL, NEWM, REI, EU, TUR, TEI, LAY và POM (Kabat *et al.*, *supra*). Ví dụ, KOL và NEWM có thể được sử dụng cho chuỗi nặng, REI có thể được sử dụng cho chuỗi nhẹ và EU, LAY và POM có thể được sử dụng cho cả hai chuỗi nặng và chuỗi nhẹ. Theo phương án khác, các trình tự dòng mầm người có thể được sử dụng; các trình tự này có ở: <http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>

Trong kháng thể ghép CDR theo sáng chế, các chuỗi nặng và nhẹ nhận không nhất thiết cần phải được bắt nguồn từ kháng thể giống nhau và có thể, nếu muốn, chứa các chuỗi ghép lại có các vùng khung được bắt nguồn từ các chuỗi khác nhau.

Vùng khung ưu tiên cho chuỗi nặng của kháng thể ghép CDR theo sáng chế được bắt nguồn từ trình tự tiểu nhóm VH3 người 1-3 3-07 cùng với JH4, như được mô tả trước đây trong WO2008/047134. Do đó, được đề xuất là kháng thể ghép CDR trung hòa chứa ít nhất một CDR cho không phải của người trong đó vùng khung chuỗi nặng được bắt nguồn từ trình tự tiểu nhóm người 1-3 3-07 cùng với JH4. Trình tự JH4 người là như sau: (YFDY)WGQGTLVTVSS. Motif YFDY là một phần của CDR-H3 và không phải là một phần của khung 4 (Ravetch, JV. *et al.*, 1981, *Cell*, 27, 583-591).

Vùng khung ưu tiên cho chuỗi nhẹ của kháng thể ghép CDR theo sáng chế được bắt nguồn từ trình tự tiểu nhóm VK1 dòng mầm người 2-1-(1) L4 cùng với JK1, như được mô tả trước đây trong WO2008/047134. Do đó, được đề xuất là kháng thể ghép CDR trung hòa chứa ít nhất một CDR cho không phải của người trong đó vùng khung chuỗi nhẹ này được bắt nguồn từ trình tự tiểu nhóm người VK1 2-1-(1) L4 cùng với JK1. Trình tự JK1 là như sau: (WT)FGQGTKVEIK. Motif WT là một phần của CDR-L3 và không phải là một phần của khung 4 (Hieter, PA., *et al.*, 1982, *J. Biol. Chem.*, 257, 1516-1522).

Do đó, trong kháng thể ghép CDR theo sáng chế, các vùng khung không cần có chính xác trình tự giống như trình tự của kháng thể nhận. Ví dụ, các gốc bất thường có thể được thay đổi thành các gốc xuất hiện thường xuyên hơn đối với lớp hoặc loại chuỗi nhận này. Theo phương án khác, các gốc chọn lọc trong các vùng khung nhận này có thể được thay đổi để cho chúng tương ứng với gốc được tìm thấy ở cùng vị trí này trong kháng thể cho (xem Reichmann *et al.*, 1998, *Nature*, 332, 323-324). Các sự thay đổi này nên được giữ ở mức tối thiểu cần thiết để thu hồi ái lực của kháng thể cho

này. Quy trình chọn lọc các gốc trong các vùng khung nhận có thể cần thiết để được thay đổi như được nêu trong WO 91/09967.

Ưu tiên là, trong phân tử kháng thể được ghép CDR theo sáng chế, nếu chuỗi nặng nhận có trình tự VH3 người 1-3 3-07 cùng với JH4, thì các vùng khung nhận của chuỗi nặng này chứa, ngoài một hoặc nhiều CDR cho, gốc cho ở ít nhất gốc vị trí 94 (theo Kabat et al.,(supra)). Do đó, được đề xuất là kháng thể ghép CDR, trong đó ít nhất gốc ở vị trí 94 của vùng biến đổi của chuỗi nặng này là gốc cho.

Ưu tiên là, trong phân tử kháng thể được ghép CDR theo sáng chế, nếu chuỗi nhẹ nhận này có trình tự tiểu nhóm VK1 người 2-1-(1) L4 cùng với JK1, thì không có gốc cho nào được chuyển nghĩa là chỉ các CDR được chuyển. Do đó, được đề xuất là kháng thể ghép CDR trong đó chỉ các CDR được chuyển đến khung cho.

Các gốc cho là các gốc từ kháng thể cho, nghĩa là kháng thể mà ban đầu lấy các CDR.

Trong sáng chế này kháng thể này được biết là CA028_0496 (được mô tả trước đó trong WO2008/047134) được cải tiến bằng cách thay đổi năm gốc trong chuỗi nhẹ này. Ba gốc là trong các CDR và hai gốc trong vùng khung. Do đó, theo một phương án vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa gốc arginin ở vị trí 30, gốc serin ở vị trí 54, gốc isoleuxin ở vị trí 56, gốc axit aspartic ở vị trí 60 và gốc arginin ở vị trí 72.

Do đó, theo một phương án, kháng thể theo sáng chế chứa chuỗi nhẹ, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ này chứa trình tự nêu trong SEQ ID NO:7 (gL7).

Theo một phương án, kháng thể theo sáng chế chứa chuỗi nặng, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng này chứa trình tự nêu trong SEQ ID NO:9 (gH9).

Theo một phương án kháng thể theo sáng chế chứa chuỗi nặng, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng này chứa trình tự nêu trong SEQ ID NO:9 và chuỗi nhẹ, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ này chứa trình tự nêu trong SEQ ID NO:7.

"Sự tương đồng", như được sử dụng ở đây, chỉ định rằng ở vị trí cụ thể bất kỳ trong các trình tự được duỗi thẳng, gốc axit amin này là giống nhau giữa các trình tự này. "Sự tương tự", như được sử dụng ở đây, chỉ định rằng, ở vị trí cụ thể bất kỳ trong trình tự duỗi thẳng, gốc axit amin này là gốc có dạng tương tự giữa các trình tự này. Ví

dù, leuxin có thể được thay thế cho isoleuxin hoặc valin. Các axit amin khác mà có thể thường được thay thế cho một axit amin khác bao gồm nhưng không giới hạn đến:

- phenylalanin, tyrosin và tryptophan (các axit amin có chuỗi bên thơm);
- lysin, arginin và histidin (các axit amin có chuỗi bên bazơ);
- aspartat và glutamat (các axit amin có chuỗi bên axit);
- asparagin và glutamin (các axit amin có chuỗi bên amit); và

- cystein và methionin (các axit amin có chuỗi bên chứa lưu huỳnh). Mức tương đồng và tương tự có thể được tính toán dễ dàng (Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing. Informatics và Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part 1, Griffin, A.M., and Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; và Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. và Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991).

Phân tử kháng thể theo sáng chế có thể chứa phân tử kháng thể hoàn chỉnh có chuỗi nhẹ và nặng có chiều dài hoàn chỉnh hoặc mảnh của nó, như kháng thể khu vực ví dụ VH, VL, VHH, Fab, Fab cải biến, Fab', F(ab')₂, Fv hoặc mảnh scFv. Các mảnh kháng thể khác bao gồm mảnh Fab-Fv và Fab-dsFv được mô tả tương ứng trong WO2009040562 và WO2010035012. Theo một phương án mảnh kháng thể theo sáng chế được chọn lọc từ nhóm bao gồm mảnh Fab, Fab', F(ab')₂, scFv và Fv.

Sẽ được hiểu rằng các kháng thể theo sáng chế, cụ thể là các mảnh kháng thể được mô tả trên đây, có thể được đưa vào trong các dạng kháng thể khác, cụ thể là, các kháng thể đa đặc hiệu, như các kháng thể có hai hoặc ba tính đặc hiệu, trong đó một tính đặc hiệu được tạo ra bởi kháng thể theo sáng chế nghĩa là tính đặc hiệu đối với IL-17A và IL-17F (bao gồm heterodime IL-17A/F). Do đó, theo một phương án sáng chế đề xuất kháng thể đa đặc hiệu chứa một hoặc nhiều mảnh kháng thể được mô tả ở đây trên đây.

Các ví dụ về các kháng thể đa đặc hiệu bao gồm các kháng thể hóa trị hai, ba hoặc bốn, Bis-scFv, các kháng thể đôi, các kháng thể ba, các kháng thể bốn, các thể kép và các thể ba (xem ví dụ Holliger và Hudson, 2005, Nature Biotech 23(9): 1126-

1136; Schoonjans *et al.* 2001, *Biomolecular Engineering*, 17 (6), 193-202). Các kháng thể đa đặc hiệu khác bao gồm các mảnh Fab-Fv, Fab-dsFv, Fab-Fv-Fv, Fab-Fv-Fc và Fab-dsFv-PEG được mô tả tương ứng trong WO2009040562, WO2010035012, WO2011/08609, WO2011/030107 và WO2011/061492.

Các khu vực vùng cố định của phân tử kháng thể theo sáng chế, nếu có, có thể được chọn có về mặt chức năng đề nghị của phân tử kháng thể, và cụ thể là chức năng gây hiệu ứng mà có thể cần thiết. Ví dụ, các khu vực vùng cố định có thể là các khu vực IgA, IgD, IgE, IgG hoặc IgM người. Cụ thể là, các khu vực vùng cố định IgG người có thể được sử dụng, cụ thể là của isotyp IgG1 và IgG3 khi phân tử kháng thể nhằm để sử dụng cho trong điều trị và các chức năng gây hiệu ứng của kháng thể là cần thiết. Theo phương án khác, isotyp IgG2 và IgG4 có thể được sử dụng khi phân tử kháng thể nhằm để dùng cho các mục đích chữa trị và các chức năng hiệu ứng kháng thể không cần thiết, ví dụ cho hoạt tính phong bế IL-17 đơn giản. Sẽ được hiểu rằng các biến đổi trong trình tự của các khu vực vùng cố định này có thể cũng được sử dụng. Ví dụ các phân tử IgG4 trong đó serin ở vị trí 241 đã được thay đổi thành prolin như được mô tả trong Angal *et al.*, *Molecular Immunology*, 1993, 30 (1), 105-108 có thể được sử dụng. Được ưu tiên đặc biệt là khu vực cố định IgG1. Cũng sẽ được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực rằng các kháng thể có thể trải qua nhiều sự thay đổi sau dịch mã khác nhau. Kiểu và mức độ của các thay đổi này thường phụ thuộc vào dòng tế bào chủ được sử dụng để biểu hiện kháng thể này cũng như các điều kiện nuôi cấy. Các sự thay đổi này có thể bao gồm các sự biến đổi về sự glycosyl hóa, ôxy hóa methionin, sự tạo thành diketopiperazin, sự đồng phân hóa aspartat và sự loại bỏ amin hóa asparagin. Sự biến đổi hay xảy ra là mất gốc bazơ đầu tận cùng carboxy (như lysin hoặc arginin) do hoạt động của carboxypeptidaza (như được mô tả trong Harris, RJ. *Journal of Chromatography* 705:129-134, 1995). Do đó, lysin đầu tận cùng C của chuỗi nặng kháng thể, ví dụ như được xác định trong Fig. 2 (a), SEQ ID NO: 15, có thể không có.

Theo một phương án chuỗi nặng kháng thể này chứa khu vực CH1 và chuỗi nhẹ kháng thể này chứa khu vực CL, kappa hoặc lambda.

Theo phương án được ưu tiên kháng thể được đề xuất bởi sáng chế là kháng thể trung hòa có tính đặc hiệu đối với IL-17A người và IL-17F người trong đó vùng cố

định chuỗi nặng chứa vùng cố định IgG1 người. Do đó, sáng chế đề xuất kháng thể trong đó chuỗi nặng chứa hoặc bao gồm trình tự nêu trong SEQ ID NO:15 (Xem fig. 2a).

Theo một phương án phân tử kháng thể theo sáng chế chứa chuỗi nhẹ chứa trình tự nêu trong SEQ ID NO:11 (Xem fig. 1d).

Theo một phương án sáng chế đề xuất kháng thể trong đó chuỗi nặng chứa hoặc bao gồm trình tự nêu trong SEQ ID NO:15 và chuỗi nhẹ này chứa hoặc bao gồm trình tự nêu trong SEQ ID NO:11.

Phân tử kháng thể theo khía cạnh bất kỳ của sáng chế ưu tiên là có ái lực liên kết cao, ưu tiên là picomol. Sẽ được hiểu rằng ái lực liên kết của kháng thể theo sáng chế đối với IL-17A người có thể khác với ái lực liên kết của cùng kháng thể này với IL-17F người và/hoặc heterodime IL-17A/F. Trong một ví dụ phân tử kháng thể theo sáng chế có ái lực đối với IL-17A mà là cao hơn so với ái lực của nó với IL-17F. Trong một ví dụ phân tử kháng thể theo sáng chế có ái lực đối với IL-17A mà là ít nhất lớn hơn gấp năm 5 lần so với ái lực liên kết của nó với IL-17F. Trong một ví dụ phân tử kháng thể theo sáng chế có ái lực đối với IL-17A mà là giống như ái lực của nó với IL-17F. Trong một ví dụ phân tử kháng thể theo sáng chế có ái lực picomol đối với cả hai IL-17A và IL-17F.

Ái lực có thể đo được sử dụng phương pháp thích hợp bất kỳ được biết nhiều trong lĩnh vực, bao gồm BIAcore™, như được mô tả trong các ví dụ ở đây, sử dụng IL-17A và IL-17F tái tổ hợp hoặc được phân lập trong tự nhiên mà cả hai tồn tại là các heterodime.

Ưu tiên là phân tử kháng thể theo sáng chế có ái lực liên kết với IL-17A là 50pM hoặc ít hơn. Theo một phương án phân tử kháng thể theo sáng chế có ái lực với IL-17A là 20pM hoặc ít hơn. Theo một phương án phân tử kháng thể theo sáng chế có ái lực với IL-17A là 10pM hoặc ít hơn. Theo một phương án phân tử kháng thể theo sáng chế có ái lực với IL-17A là 5pM hoặc ít hơn. Theo một phương án kháng thể theo sáng chế có ái lực đối với IL-17A là 3,2pM.

Ưu tiên là phân tử kháng thể theo sáng chế có ái lực với IL-17F là 100pM hoặc ít hơn. Theo một phương án kháng thể theo sáng chế có ái lực đối với IL-17F là 50pM

hoặc ít hơn. Theo một phương án kháng thể theo sáng chế có ái lực đối với IL-17F là 23pM.

Sẽ được hiểu rằng ái lực của các kháng thể được đề xuất bởi sáng chế này có thể được thay đổi sử dụng phương pháp thích hợp bất kỳ được biết nhiều trong lĩnh vực. Do đó, sáng chế cũng đề cập đến các biến thể của các phân tử kháng thể theo sáng chế, mà có ái lực cải thiện với IL-17A và/hoặc IL-17F. Các biến thể này có thể thu được bằng một số quy trình thành thực ái lực bao gồm gây đột biến các CDR (Yang *et al.*, J. Mol. Biol., 254, 392-403, 1995), sự sắp xếp lại chuỗi (Marks *et al.*, Bio/Technology, 10, 779-783, 1992), sử dụng các chủng đột biến *E. coli* (Low *et al.*, J. Mol. Biol., 250, 359-368, 1996), sắp xếp lại ADN (Patten *et al.*, Curr. Opin. Biotechnol., 8, 724-733, 1997), biểu hiện thực khuẩn thể (Thompson *et al.*, J. Mol. Biol., 256, 77-88, 1996) và PCR lai (Cramer *et al.*, Nature, 391, 288-291, 1998). Vaughan *et al.* (*supra*) thảo luận về các phương pháp thành thực ái lực này.

Nếu muốn, kháng thể để sử dụng trong sáng chế này có thể được tiếp hợp với một hoặc nhiều phân tử gây hiệu ứng. Sẽ được hiểu rằng phân tử gây hiệu ứng có thể chứa một phân tử gây hiệu ứng hoặc hai hoặc nhiều phân tử này nhằm liên kết để tạo thành một gốc mà có thể được gắn với các kháng thể theo sáng chế. Trong đó mong muốn thu được mảnh kháng thể được liên kết với phân tử gây hiệu ứng, mảnh kháng thể này có thể được điều chế bằng các quy trình ADN tái tổ hợp hoặc hóa học chuẩn trong đó mảnh kháng thể được liên kết trực tiếp hoặc thông qua tác nhân nối với phân tử gây hiệu ứng này. Các kỹ thuật tiếp hợp các phân tử gây hiệu ứng này với kháng thể được biết nhiều trong lĩnh vực (xem, Hellstrom *et al.*, Controlled Drug Delivery, 2nd Ed., Robinson *et al.*, eds., 1987, pp. 623-53; Thorpe *et al.*, 1982, Immunol. Rev., 62:119-58 và Dubowchik *et al.*, 1999, Pharmacology và Therapeutics, 83, 67-123). Các quy trình hóa học cụ thể bao gồm, ví dụ, các quy trình được mô tả trong WO 93/06231, WO 92/22583, WO 89/00195, WO 89/01476 và WO03031581. Theo cách khác, khi phân tử hiệu ứng này là protein hoặc polypeptit, đoạn nối có thể thu được sử dụng các quy trình ADN tái tổ hợp, ví dụ như được mô tả trong WO 86/01533 và EP0392745.

Thuật ngữ phân tử gây hiệu ứng như được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, các chất chống ung thư, các dược chất, độc tố, protein có hoạt tính sinh học, ví dụ các enzym, các kháng thể hoặc mảnh kháng thể khác, các polyme tổng hợp hoặc có trong

tự nhiên, các axit nucleic và các mảnh của nó ví dụ ADN, ARN và các mảnh của nó, các nuclit phóng xạ, cụ thể là iot phóng xạ, các đồng vị phóng xạ, các kim loại chelat hóa, các hạt nano và các nhóm thông báo như các hợp chất huỳnh quang hoặc các hợp chất có thể được phát hiện bằng quang phổ NMR hoặc ESR.

Các ví dụ về các phân tử gây hiệu ứng có thể bao gồm các chất gây độc tế bào hoặc các tác nhân gây độc tế bào bao gồm tác nhân bất kỳ mà có hại cho (ví dụ giết) tế bào. Các ví dụ bao gồm combrestatin, dolastatin, epothilon, staurosporin, maytansinoid, spongistatin, rhizoxin, halichondrin, roridin, hemiasterlin, taxol, xytochalasin B, gramicidin D, ethidol bromua, emetin, mitomycin, etoposide, tenoposide, vincristin, vinblastin, colchicine, doxorubicin, daunorubicin, dihydroxy anthracin diol, mitoxantron, mithramycin, actinomycin D, 1-dehydrotestosterone, glucocorticoid, procaine, tetracaine, lidocaine, propranolol, và puromycin và các chất tương tự hoặc các đồng đẳng của nó.

Các chất gây hiệu ứng cũng bao gồm nhưng không giới hạn đến, các chất chống chuyển hóa (ví dụ methotrexate, 6-mercaptopurine, 6-thioguanine, cytarabine, 5-fluorouracil decarbazin), các chất ankylosing (ví dụ mechlorethamine, thiopeta chlorambucil, melphalan, carmustine (BSNU) và lomustine (CCNU), cyclophosphamide, busulfan, dibrommannitol, streptozotocin, mitomycin C, và cis-dichlorodiamine platinum (II) (DDP) cisplatin), antracycline (ví dụ daunorubicin (tên gọi cũ daunomycin) và doxorubicin), các chất kháng sinh (ví dụ dactinomycin (tên gọi cũ actinomycin), bleomycin, mithramycin, antramycin (AMC), calicheamicin hoặc duocarmycin), và các chất chống gián phân (ví dụ vincristin và vinblastin).

Các phân tử gây hiệu ứng khác có thể bao gồm các nuclit có hoạt tính phóng xạ như ^{111}In và ^{90}Y , Lu^{177} , Bismuth 213 , Californi 252 , Iridi 192 và Tungsten 188 /Rheni 188 ; hoặc các dược chất như nhưng không giới hạn đến, alkylphosphocholine, các chất ức chế topoisomerase I, taxol và suramin.

Các phân tử gây hiệu ứng khác bao gồm các protein, peptit và enzym. Các enzym quan tâm bao gồm nhưng không bị giới hạn đến, các enzyme thủy phân protein, hydrolase, lyase, isomerase, transferase. Các protein, polypeptit và peptit quan tâm bao gồm nhưng không giới hạn đến, các globulin miễn dịch, các độc tố như abrin, rixin A, ngoại độc tố pseudomonas, hoặc độc tố gây bệnh bạch hầu, protein như

insulin, các yếu tố hoại tử khối u, α -interferon, β -interferon, yếu tố sinh trưởng thần kinh, yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc tiểu cầu hoặc chất hoạt hóa plasminogen mô, tác nhân gây đông máu hoặc tác nhân chống tạo mạch, ví dụ angiostatin hoặc endostatin, hoặc, các chất thay đổi đáp ứng sinh học như lymphokin, intolokin-1 (IL-1), intolokin-2 (IL-2), intolokin-6 (IL-6), yếu tố kích thích cụm đại thực bào bạch cầu hạt (granulocyte macrophage colony stimulating factor-GM-CSF), yếu tố kích thích cụm bạch cầu hạt (granulocyte colony stimulating factor-G-CSF), yếu tố sinh trưởng thần kinh (nerve growth factor-NGF) hoặc yếu tố sinh trưởng khác và các globulin miễn dịch.

Các phân tử gây hiệu ứng khác có thể bao gồm các chất có thể phát hiện hữu ích ví dụ trong chẩn đoán. Các ví dụ về các chất có thể phát hiện bao gồm các enzym khác nhau, các nhóm ngoại, nguyên liệu huỳnh quang, nguyên liệu phát quang, nguyên liệu phát quang sinh học, nuclit có hoạt tính phóng xạ, kim loại phát positron (để sử dụng trong tập phát positron), và các ion kim loại thuận từ không có hoạt tính phóng xạ. Xem Patent Mỹ số 4,741,900 về các ion kim loại có thể được tiếp hợp với các kháng thể để sử dụng làm chất chẩn đoán. Các enzym thích hợp bao gồm peroxidaza cây cải ngựa, phosphataza kiềm, beta-galactosidaza, hoặc axetylcholinesteraza; các nhóm ngoại thích hợp bao gồm streptavidin, avidin và biotin; các nguyên liệu huỳnh quang thích hợp bao gồm umbelliferon, fluorescein, fluorescein isothiocyanat, rhodamin, diclotriazinylamin fluorescein, dansyl clorua và phycoerythrin; nguyên liệu huỳnh quang thích hợp bao gồm luminol; các nguyên liệu phát quang sinh học thích hợp bao gồm luxiferaza, luxiferin, và aequorin; và các nuclit có hoạt tính phóng xạ thích hợp bao gồm ^{125}I , ^{131}I , ^{111}In và ^{99}Tc .

Các ví dụ khác về phân tử gây hiệu ứng có thể gia tăng thời gian bán hủy kháng thể này *in vivo*, và/hoặc giảm tính sinh miễn dịch của kháng thể này và/hoặc gia tăng sự phân phối kháng thể dọc theo hàng rào biểu mô đến hệ miễn dịch. Các ví dụ về các phân tử hiệu ứng thích hợp thuộc loại này bao gồm các polyme, albumin, các protein liên kết albumin hoặc các hợp chất liên kết albumin như các hợp chất được mô tả trong WO05/117984.

Trong đó phân tử hiệu ứng này là polyme nhìn chung có thể là polyme tổng hợp hoặc có trong tự nhiên, ví dụ polyalkylen phân nhánh hoặc mạch thẳng được thể tùy ý,

polyme polyalkenylen hoặc polyoxyalkylen hoặc polysaccharit phân nhánh hoặc không phân nhánh, ví dụ đồng- hoặc dị- polysaccharit.

Các phần tử thể tùy ý cụ thể mà có thể có trên polyme tổng hợp được đề cập trên đây bao gồm một hoặc nhiều nhóm hydroxy, metyl hoặc metoxy.

Các ví dụ cụ thể về các polyme tổng hợp bao gồm poly(etylen glycol) phân nhánh hoặc mạch thẳng được thể tùy ý, poly(propylen glycol) poly(vinyl alcohol) hoặc các dẫn xuất của nó, đặc biệt là poly(etylen glycol) được thể tùy ý như metoxypoly(etylen glycol) hoặc các dẫn xuất của nó.

Đặc biệt là các polyme có trong tự nhiên bao gồm lactoza, amyloza, dextran, glycogen hoặc các dẫn xuất của nó.

“Dẫn xuất” như được sử dụng ở đây nhằm bao gồm các dẫn xuất dễ phản ứng, ví dụ các nhóm phản ứng chọn lọc thiol như các maleimit và dẫn xuất tương tự. Nhóm phản ứng có thể được liên kết trực tiếp với hoặc thông qua mảnh đoạn nối với polyme này. Sẽ được hiểu rằng gốc của nhóm này trong một số trường hợp sẽ tạo thành một phần của sản phẩm làm nhóm nối giữa mảnh kháng thể và polyme này.

Kích cỡ của polyme này có thể thay đổi như mong muốn, nhưng thường sẽ nằm trong giới hạn phân tử trong khoảng từ 500 Da đến 50000 Da, ưu tiên là nằm trong khoảng từ 5000 đến 40000 Da và ưu tiên hơn nằm trong khoảng từ 20000 đến 40000 Da. Kích cỡ polyme có thể đặc biệt là được chọn dựa trên cơ sở mục đích sử dụng sản phẩm này ví dụ có khả năng định vị đến các mô nhất định như các khối u hoặc thời gian bán hủy trong máu kéo dài (để xem xét xem Chapman, 2002, Advanced Drug Delivery Reviews, 54, 531-545). Do đó, ví dụ, trong đó sản phẩm này nhằm để giữ lại trong máu và mô thâm, ví dụ để sử dụng trong điều trị khối u, có thể sẽ hữu ích khi sử dụng polyme trọng lượng phân tử nhỏ, ví dụ với trọng lượng phân tử khoảng 5000 Da. Cho các ứng dụng trong đó sản phẩm này vẫn còn giữ lại trong máu, có thể hữu ích là sử dụng polyme có trọng lượng phân tử cao hơn, ví dụ có trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 20000 Da đến 40000 Da.

Các polyme được đặc biệt ưu tiên tiên bao gồm polyalkylen polyme, như poly(etylen glycol) hoặc, đặc biệt là, a metoxypoly(etylen glycol) hoặc dẫn xuất của nó, và đặc biệt là với trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 15000 Da đến 40000 Da.

Trong một ví dụ các kháng thể để sử dụng trong sáng chế được gắn với các gốc poly(etylenglycol) (PEG). Trong một ví dụ cụ thể kháng thể này là mảnh kháng thể và các phân tử PEG có thể được gắn thông qua nhóm chức axit amin ở đầu tận cùng hoặc chuỗi bên axit amin sẵn có bất kỳ được đặt trong mảnh kháng thể, ví dụ nhóm amino, imino, thiol, hydroxyl hoặc carboxyl tự do. Các axit amin này có thể có trong tự nhiên trong mảnh kháng thể hoặc có thể được cải biến di truyền trong mảnh này sử dụng các phương pháp ADN tái tổ hợp (xem ví dụ US 5,219,996; US 5,667,425; WO98/25971). Trong một ví dụ phân tử kháng thể theo sáng chế là mảnh Fab cải biến trong đó cải biến bằng cách bổ sung vào đầu tận cùng C của chuỗi nặng một hoặc nhiều axit amin để cho phép gắn phân tử gây hiệu ứng. Ưu tiên là, các axit amin bổ sung tạo thành vùng khớp cải biến chứa một hoặc nhiều các gốc xystein mà có thể được gắn vào phân tử gây hiệu ứng này. Nhiều vị trí này có thể được sử dụng để gắn hai hoặc nhiều phân tử PEG.

Các phân tử PEG ưu tiên được liên kết đồng hóa trị thông qua nhóm thiol của ít nhất một gốc xystein được đặt trong mảnh kháng thể. Mỗi phân tử polyme được gắn với mảnh kháng thể cải biến này có thể được liên kết đồng hóa trị với nguyên tử lưu huỳnh của gốc xystein được đặt trong mảnh này. Liên kết đồng hóa trị này thường sẽ liên kết disulphua hoặc, đặc biệt là, liên kết lưu huỳnh-cacbon. Trong đó nhóm thiol được sử dụng là điểm gắn được hoạt hóa thích hợp các phân tử gây hiệu ứng, ví dụ các dẫn xuất chọn lọc thiol như maleimit và có thể sử dụng các dẫn xuất xystein. Polyme hoạt hóa có thể được sử dụng làm nguyên liệu khởi đầu trong điều chế các mảnh kháng thể được cải biến polyme như được mô tả trên đây. Polyme hoạt hóa này có thể là polyme bất kỳ chứa nhóm hoạt động thiol như axit α -halocacboxylic hoặc este, ví dụ iotaxetamit, imit, ví dụ maleimit, vinyl sulphon hoặc disulphua. Các nguyên liệu khởi đầu này có thể mua được trên thị trường (ví dụ từ Nektar, trước đây gọi là Shearwater Polymers Inc., Huntsville, AL, USA) hoặc có thể được điều chế từ các nguyên liệu sẵn có trên thị trường sử dụng các quy trình hóa học thông thường. Các phân tử PEG cụ thể bao gồm 20K metoxy-PEG-amin (thu được từ Nektar, trước đây gọi là Shearwater; Rapp Polymere; và SunBio) và M-PEG-SPA (thu được từ Nektar, trước đây gọi là Shearwater).

Theo một phương án, kháng thể này là mảnh Fab cải biến mà được PEGyl hóa, nghĩa là có PEG (poly(etylenglycol)) được gắn đồng hóa trị vào nó, ví dụ theo phương

pháp được bộc lộ trong EP 0948544 [cũng xem "Poly(etylenglycol) Chemistry, Biotechnical and Biomedical Applications", 1992, J. Milton Harris (ed), Plenum Press, New York, "Poly(etylenglycol) Chemistry and Biological Applications", 1997, J. Milton Harris and S. Zalipsky (eds), American Chemical Society, Washington DC và "Bioconjugation Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences", 1998, M. Aslam and A. Dent, Grove Publishers, New York; Chapman, A. 2002, Advanced Drug Delivery Reviews 2002, 54:531-545]. Trong một ví dụ PEG được gắn với xystein trong vùng khớp. Trong một ví dụ, mảnh Fab cải biến PEG có nhóm maleimit được liên kết đồng hóa trị với một nhóm thiol trong vùng khớp cải biến. Gốc lysin có thể được liên kết đồng hóa trị với nhóm maleimit và với một trong số các nhóm amin trên gốc lysin này có thể được gắn với polyme metoxypoly(etylenglycol) có trọng lượng phân tử khoảng 20000 Da. Do đó, tổng trọng lượng phân tử của PEG được gắn với mảnh Fab có thể là khoảng 40000 Da.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phân tử kháng thể trung hòa có tính đặc hiệu đối với IL-17A người và IL-17F người, là mảnh Fab cải biến có chuỗi nặng chứa trình tự nêu trong SEQ ID NO:9 và chuỗi nhẹ chứa trình tự nêu trong SEQ ID NO:7 và có ở đầu tận cùng C của chuỗi nặng của nó vùng khớp cải biến chứa ít nhất một gốc xystein mà gắn với phân tử gây hiệu ứng. Ưu tiên là phân tử gây hiệu ứng này là PEG và được gắn sử dụng các phương pháp được mô tả trong (WO98/25971 và WO2004072116) nhờ đó nhóm lysyl-maleimit được gắn với gốc xystein ở đầu tận cùng C của chuỗi nặng này, và mỗi nhóm amino của gốc lysyl đã liên kết đồng hóa trị với nó, gốc metoxypoly(etylenglycol) có trọng lượng phân tử là khoảng 20000 Da. Tổng trọng lượng phân tử của PEG được gắn với kháng thể này do đó là khoảng 40000Da.

Trong ví dụ khác các phân tử gây hiệu ứng có thể được gắn với các mảnh kháng thể sử dụng các phương pháp được mô tả trong các đơn sáng chế quốc tế WO2005/003169, WO2005/003170 và WO2005/003171.

Sáng chế cũng đề xuất trình tự ADN mã hóa (các) chuỗi nặng và/hoặc nhẹ của phân tử kháng thể theo sáng chế. Ưu tiên là, trình tự ADN mã hóa chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của phân tử kháng thể theo sáng chế. Trình tự ADN theo sáng chế có thể chứa ADN tổng hợp, ví dụ được sản xuất bằng quy trình hóa học, cADN, AND hệ gen hoặc các phương pháp kết hợp của các quy trình này.

Các trình tự ADN mã hóa phân tử kháng thể theo sáng chế có thể thu được bằng các phương pháp được biết nhiều trong lĩnh vực. Ví dụ, các trình tự ADN mã hóa một phần hoặc tất cả các chuỗi nặng và nhẹ kháng thể có thể được tổng hợp nếu muốn từ các trình tự ADN xác định hoặc trên cơ sở của các trình tự axit amin tương ứng.

ADN mã hóa các trình tự khung nhận là có sẵn rất nhiều đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực và có thể được tổng hợp dễ dàng trên cơ sở các trình tự axit amin đã biết của chúng.

Các kỹ thuật sinh học phân tử chuẩn có thể được sử dụng để điều chế các trình tự ADN mã hóa phân tử kháng thể theo sáng chế. Các trình tự ADN mong muốn có thể được tổng hợp hoàn toàn hoặc một phần sử dụng các kỹ thuật tổng hợp oligonucleotit. Kỹ thuật phát sinh đột biến trực tiếp vị trí và phản ứng chuỗi polymeraza (polymerase chain reaction-PCR) có thể được sử dụng khi thích hợp.

Các ví dụ về các trình tự thích hợp được đề xuất trong trình tự nêu trong SEQ ID NO:8; SEQ ID NO:10; SEQ ID NO:13; SEQ ID NO:14; SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18 và SEQ ID NO:19.

Sáng chế cũng đề cập đến các vector tách dòng hoặc biểu hiện chứa một hoặc nhiều trình tự ADN của sáng chế. Do đó, được đề xuất là vector tách dòng hoặc biểu hiện chứa một hoặc nhiều trình tự ADN mã hóa kháng thể theo sáng chế. Ưu tiên là, các vector biểu hiện hoặc tách dòng chứa hai trình tự ADN tương ứng mã hóa chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của phân tử kháng thể theo sáng chế, cùng với các trình tự tín hiệu thích hợp. Ưu tiên là, vector theo sáng chế chứa các trình tự được nêu trong SEQ ID NO:14 và SEQ ID NO:18. Theo một phương án vector theo sáng chế chứa các trình tự nêu trong SEQ ID NO:13 và SEQ ID NO:17.

Các phương pháp chung nhờ đó có thể xây dựng được các vector này, các phương pháp chuyển nhiễm và các phương pháp nuôi cấy được biết nhiều trong lĩnh vực. Về khía cạnh này, tham khảo tài liệu “Current Protocols in Molecular Biology”, 1999, F. M. Ausubel (ed), Wiley Interscience, New York và the Maniatis Manual được xuất bản bởi Cold Spring Harbor Publishing.

Cũng được đề xuất là tế bào chủ chứa một hoặc nhiều vector tách dòng hoặc biểu hiện chứa một hoặc nhiều trình tự ADN mã hóa kháng thể theo sáng chế. Tế bào chủ/hệ thống vector thích hợp bất kỳ có thể được sử dụng để biểu hiện các trình tự

ADN mã hóa phân tử kháng thể theo sáng chế. Vi khuẩn, ví dụ *E. coli*, và các hệ thống vi sinh vật khác có thể được sử dụng hoặc các hệ thống biểu hiện tế bào nhân chuẩn, ví dụ tế bào động vật có vú, tế bào chủ có thể cũng được sử dụng. Các tế bào chủ động vật có vú thích hợp bao gồm các tế bào CHO, u tủy hoặc khối tế bào lai.

Sáng chế cũng đề xuất quy trình sản xuất phân tử kháng thể theo sáng chế bao gồm nuôi cấy tế bào chủ chứa vector theo sáng chế dưới các điều kiện thích hợp để dẫn đến biểu hiện protein từ ADN mã hóa phân tử kháng thể theo sáng chế, và phân lập phân tử kháng thể.

Phân tử kháng thể có thể chỉ chứa polypeptit chuỗi nặng hoặc nhẹ, trong trường hợp này chỉ trình tự mã hóa polypeptit chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ cần để được sử dụng để chuyển nhiễm các tế bào chủ này. Để sản xuất các sản phẩm chứa cả hai chuỗi nặng và nhẹ, dòng tế bào này có thể được chuyển nhiễm bằng hai vector, vector thứ nhất mã hóa polypeptit chuỗi nhẹ và vector thứ hai mã hóa polypeptit chuỗi nặng. Theo phương án khác, có thể sử dụng một vector, vector này chứa các trình tự mã hóa polypeptit chuỗi nhẹ và chuỗi nặng.

Vì các kháng thể theo sáng chế là hữu ích trong điều trị và/hoặc phòng tình trạng bệnh, sáng chế cũng đề xuất dược phẩm hoặc chế phẩm để chẩn đoán chứa phân tử kháng thể theo sáng chế kết hợp với một hoặc nhiều tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng. Do đó, được đề xuất là sử dụng kháng thể theo sáng chế để sản xuất dược phẩm. Thành phần này thường sẽ được cung cấp là một phần của dược phẩm vô trùng mà thường sẽ chứa chất mang dược dụng. Dược phẩm theo sáng chế có thể chứa thêm tá dược dược dụng.

Sáng chế cũng đề xuất quy trình bào chế dược phẩm hoặc chế phẩm để chẩn đoán bao gồm bổ sung và trộn phân tử kháng thể theo sáng chế cùng với một hoặc nhiều tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

Phân tử kháng thể có thể là hoạt chất duy nhất trong dược phẩm hoặc chế phẩm để chẩn đoán hoặc có thể kết hợp với các hoạt chất khác bao gồm bao gồm các thành phần kháng thể, ví dụ kháng thể kháng -TNF, kháng- IL-1 β , kháng tế bào-T, kháng-IFN γ hoặc kháng-LPS, hoặc các thành phần không phải kháng thể như xanthin hoặc chất ức chế phân tử nhỏ.

Dược phẩm ưu tiên là chứa khối lượng kháng thể theo sáng chế hữu hiệu để điều trị. Thuật ngữ “khối lượng điều trị hữu hiệu” như được sử dụng ở đây đề cập đến khối lượng dược chất cần để điều trị, làm thuyên giảm hoặc ngăn ngừa bệnh hoặc tình trạng bệnh đích, hoặc thể hiện hiệu quả chữa bệnh hoặc ngăn ngừa rõ rệt. Đối với kháng thể bất kỳ, khối lượng điều trị hữu hiệu có thể được ước tính ban đầu trong thử nghiệm nuôi cấy tế bào hoặc trong các mô hình động vật, thường là trong chuột, thỏ, chó, lợn hoặc linh trưởng. Mô hình động vật có thể cũng được sử dụng để xác định giới hạn nồng độ thích hợp và đường dùng. Thông tin này có thể sau đó được sử dụng để xác định liều dùng và đường dùng hữu hiệu để dùng cho người.

Khối lượng điều trị hữu hiệu thích hợp để sử dụng cho đối tượng người sẽ phụ thuộc vào độ trầm trọng của tình trạng bệnh, tình trạng sức khỏe chung của đối tượng, tuổi, trọng lượng và giới tính của đối tượng, chế độ ăn, thời gian và tần suất dùng, (các) hỗn hợp dược chất, độ nhạy cảm phản ứng và sự dung nạp/đáp ứng đối với liệu pháp. Khối lượng này có thể được xác định bằng thí nghiệm thông thường và thuộc phạm vi của bác sỹ. Thông thường, khối lượng điều trị hữu hiệu sẽ nằm trong khoảng từ 0,01 mg/kg đến 50 mg/kg, ưu tiên là nằm trong khoảng từ 0,1 mg/kg đến 20 mg/kg. Các dược phẩm được trình bày thông thường ở các dạng liều dùng đơn vị chứa lượng xác định trước hoạt chất theo sáng chế cho mỗi liều dùng.

Các chế phẩm có thể được dùng riêng rẽ cho người bệnh hoặc có thể được dùng kết hợp (ví dụ đồng thời, lần lượt hoặc tách biệt) với các chất, dược chất hoặc hormon khác.

Liều lượng dùng phân tử kháng thể theo sáng chế phụ thuộc vào bản chất của tình trạng bệnh được điều trị, mức độ viêm đang xuất hiện và phụ thuộc vào dù là phân tử kháng thể đang được sử dụng để phòng bệnh hoặc để điều trị tình trạng bệnh hiện bị đang mắc.

Tần suất dùng sẽ phụ thuộc vào thời gian bán hủy của phân tử kháng thể và khoảng thời gian gây tác dụng của nó. Nếu phân tử kháng thể có thời gian bán hủy ngắn (ví dụ từ 2 đến 10 giờ) có thể nhất thiết phải cho một hoặc nhiều liều dùng mỗi ngày. Theo phương án khác, nếu phân tử kháng thể có thời gian bán hủy dài (ví dụ từ 2 đến 15 ngày) có thể chỉ cần đưa ra phân liều một lần một ngày, một lần một tuần hoặc thậm chí một lần một tháng 1 hoặc 2 tháng.

Chất mang được dụng nên là bản thân nó không gây ra sản sinh kháng thể có hại cho cá thể nhận chế phẩm này và nên là không độc. Các chất mang thích hợp có thể là các đại phân tử lớn, được chuyển hóa chậm như các protein, polypeptit, liposom, polysaccarit, axit polylactic, axit polyglycolic, các axit amin polyme, copolyme axit amin và hạt virus bất hoạt.

Các muối được dụng có thể được sử dụng, ví dụ các muối axit vô cơ, như hydroclorua, hydrobromua, phosphat và sulphat, hoặc muối axit hữu cơ, như axetat, propionat, malonat và benzoat.

Các chất mang được dụng trong dược phẩm có thể chứa thêm các chất lỏng như nước, nước muối, glyxerol và etanol. Ngoài ra, các chất phụ trợ, như chất làm ướt hoặc chất nhũ hóa hoặc chất đệm pH, có thể có trong các chế phẩm này. Các chất mang này cho phép dược phẩm được bào chế là viên nén, viên tròn, viên bao đường, viên nang, dịch lỏng, gel, xirô, hồ nhão và huyền phù, để dùng theo đường tiêu hóa cho người bệnh.

Các dạng ưu tiên để dùng bao gồm các dạng thích hợp để dùng ngoài đường tiêu hóa, ví dụ bằng cách tiêm hoặc truyền, ví dụ bằng cách tiêm hoặc truyền liên tục. Nếu sản phẩm này để tiêm hoặc truyền, có thể bào chế ở dạng huyền phù, dung dịch hoặc nhũ tương trong tá dược lỏng dầu hoặc chứa nước và có thể chứa các chất sử dụng trong tạo công thức, như các chất tạo huyền phù, chất bảo quản, chất ổn định và/hoặc phân tán. Theo phương án khác, phân tử kháng thể có thể ở dạng khô, để hoàn nguyên trước khi sử dụng bằng dịch lỏng vô trùng thích hợp.

Ngay khi được bào chế, các chế phẩm theo sáng chế có thể được dùng trực tiếp cho người bệnh. Các đối tượng được điều trị có thể là động vật. Tuy nhiên, ưu tiên là các chế phẩm này được điều chỉnh để dùng cho đối tượng là người.

Các dược phẩm theo sáng chế có thể được dùng bằng một số đường dùng bất kỳ bao gồm, nhưng không bị giới hạn đến qua đường miệng, trong tĩnh mạch, trong cơ, trong động mạch, trong tủy, trong vỏ, trong tâm thất, qua da, qua chân bì (ví dụ, see WO 98/20734), dưới da, trong màng bụng, trong mũi, trong ruột, khu trú, dưới lưỡi, trong âm đạo hoặc trực tràng. Phun chậm có thể cũng được sử dụng để dùng dược phẩm theo sáng chế này. Điển hình là, dược phẩm có thể được điều chế là thuốc để

tiêm, là dung dịch lỏng hoặc huyền phù. Các dạng rắn thích hợp cho dung dịch trong, hoặc huyền phù trong, tá dược lỏng trước khi tiêm có thể cùng được bào chế.

Phân phối trực tiếp chế phẩm này sẽ thường được thực hiện bằng cách tiêm, dùng dưới da, trong màng bụng, trong tĩnh mạch hoặc trong cơ, hoặc được phân phối đến khoảng kẽ mô. Các chế phẩm này có thể cũng được dùng vào trong vết thương. Liều dùng điều trị có thể là Liều dùng điều trị có thể là chế độ dùng liều đơn hoặc chế độ dùng đa liều.

Sẽ được hiểu rằng hoạt chất trong chế phẩm này sẽ là phân tử kháng thể. Có nghĩa là, nó sẽ dễ bị phân hủy trong dải dạ dày-ruột. Do đó, nếu chế phẩm này được dùng bằng đường sử dụng dải dạ dày-ruột, chế phẩm này sẽ cần chứa các chất để bảo vệ kháng thể này khỏi bị phân hủy nhưng sẽ giải phóng kháng thể này ngay khi nó đã được hấp thụ từ dải dạ dày-ruột.

Thảo luận kỹ về các chất mang được dụng là có trong Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company, N.J. 1991).

Theo một phương án chế phẩm này được cung cấp là chế phẩm để dùng khu trú bao gồm xông.

Các chế phẩm xông thích hợp bao gồm bột xông, sol khí định liều chứa các khí đẩy hoặc dung dịch xông không chứa khí đẩy. Bột xông theo sáng chế chứa thành phần hoạt tính có thể chỉ chứa các hoạt chất được đề cập trên đây hoặc hỗn hợp hoạt chất được đề cập trên đây với tá dược được dụng.

Bột xông này có thể bao gồm monosaccarit (ví dụ glucoza hoặc arabinoza), disaccarit (ví dụ lactoza, saccharoza, maltoza), oligo- và polysaccarit (ví dụ dextran), rượu đa chức (ví dụ sorbitol, mannitol, xylitol), các muối (ví dụ natri clorua, canxi carbonat) hoặc hỗn hợp của các chất này với nhau. Mono- hoặc disaccarit thích hợp được sử dụng, việc sử dụng lactoza hoặc glucoza, cụ thể không loại trừ ở dạng hydrat của chúng.

Các hạt để động lại trong phổi cần cỡ hạt nhỏ hơn 10 micron, như từ 1-9 micron ví dụ từ 0,1 đến 5 μm , cụ thể là từ 1 đến 5 μm . Cỡ hạt của hoạt chất (như kháng thể hoặc mảnh kháng thể) là quan trọng hàng đầu.

Khí đẩy có thể được sử dụng để bào chế sol khí xông được biết nhiều trong lĩnh vực. Các khí đẩy thích hợp được chọn lọc từ các hydrocarbon như n-propan, n-butan hoặc isobutan và halohydrocarbon như các dẫn xuất được clo hóa và/hoặc flo hóa của metan, etan, propan, butan, xyclopropan hoặc xyclobutan. Các khí đẩy được đề cập trên đây có thể được sử dụng một mình chúng hoặc trong hỗn hợp của chúng.

Các khí đẩy thích hợp đặc biệt là các dẫn xuất alkan được halogen hóa được chọn từ TG 11, TG 12, TG 134a và TG227. Trong số các hydrocarbon được halogen hóa, TG134a (1,1,1,2-tetrafloetan) và TG227 (1,1,1,2,3,3,3-heptafloropropan) và các hỗn hợp của nó là đặc biệt thích hợp.

Các sol khí xông chứa khí đẩy có thể cũng chứa các thành phần khác như các đồng dung môi, các chất ổn định, các chất hoạt tính bề mặt (các chất hoạt động bề mặt), các chất chống oxy hóa, các chất làm trơn và nghĩa là để điều chỉnh pH. Tất cả các thành phần này được biết nhiều trong lĩnh vực.

Các sol khí xông chứa khí đẩy theo sáng chế có thể chứa lên đến 5 % trọng lượng hoạt chất. Sol khí theo sáng chế chứa, ví dụ, nằm trong khoảng từ 0,002 đến 5 % trọng lượng, từ 0,01 đến 3 % trọng lượng, từ 0,015 đến 2 % trọng lượng, từ 0,1 đến 2 % trọng lượng, từ 0,5 đến 2 % trọng lượng hoặc từ 0,5 đến 1 % trọng lượng hoạt chất.

Theo cách khác dùng khu trú cho phổi có thể cũng là bằng cách dùng dung dịch lỏng hoặc chế phẩm huyền phù, ví dụ sử dụng thiết bị như máy khí dung, ví dụ, máy khí dung nối với máy nén (ví dụ, the Pari LC-Jet Plus(R) máy khí dung được nối với máy nén Pari Master(R) được sản xuất bởi hãng Pari Respiratory Equipment, Inc., Richmond, Va.).

Kháng thể theo sáng chế có thể được phân phối phân tán trong dung môi, ví dụ, ở dạng dung dịch hoặc huyền phù. Nó có thể được tạo huyền phù trong dung dịch sinh lý thích hợp, ví dụ, nước muối hoặc dung môi tương thích được lý khác hoặc dung dịch đệm. Các dung dịch đệm được biết nhiều trong lĩnh vực có thể chứa nằm trong khoảng từ 0,05 mg đến 0,15 mg dinatri edetat, nằm trong khoảng từ 8.0 mg đến 9.0 mg NaCl, nằm trong khoảng từ 0,15 mg đến 0,25 mg polysorbat, nằm trong khoảng từ 0,25 mg đến 0,30 mg axit xitric khan, và nằm trong khoảng từ 0,45 mg đến 0,55 mg natri xitrat cho mỗi 1 ml nước để thu được pH nằm trong khoảng từ 4.0 đến 5.0. Huyền phù có thể sử dụng, ví dụ, kháng thể đông khô.

Dược phẩm dạng dung dịch hoặc huyền phù có thể cũng chứa một hoặc nhiều tá dược. Các tá dược được biết nhiều trong lĩnh vực và bao gồm các đệm (ví dụ, đệm xitrat, đệm phosphat, đệm axetat và đệm bicarbonat), các axit amin, urê, rượu, axit ascorbic, phospholipit, protein (ví dụ, albumin huyết thanh), EDTA, natri clorua, liposom, mannitol, sorbitol, và glyxerol. Các dung dịch hoặc huyền phù có thể được bao gói trong các liposom hoặc các vi cầu có thể phân hủy sinh học. Chế phẩm này sẽ thường được cung cấp ở dạng hầu như vô trùng sử dụng các quy trình sản xuất vô trùng.

Đây có thể bao gồm sản xuất và vô trùng hóa bằng cách lọc dung môi/dung dịch đệm được sử dụng để bào chế, huyền phù kháng thể vô khuẩn trong dung dịch dung môi đệm vô trùng, và phân tán chế phẩm này vào trong các vật chứa vô trùng bằng các phương pháp tương tự như các phương pháp đã biết nhiều trong lĩnh vực.

Chế phẩm dùng cho khí dung theo sáng chế có thể được đề xuất, ví dụ, là các đơn vị liều đơn (ví dụ, vật chứa nhựa hoặc lọ được hàn kín) được đóng gói trong vỏ thiếc. Mỗi lọ chứa liều đơn vị trong thể tích, ví dụ, 2 mL, dung môi/đệm dung dịch.

Các kháng thể được bộc lộ ở đây có thể thích hợp để phân phối thông qua khí dung hóa.

Cũng được dự tính rằng kháng thể theo sáng chế có thể được dùng bằng cách sử dụng liệu pháp gen. Để thu được điều này, các trình tự ADN mã hóa chuỗi nặng và nhẹ của phân tử kháng thể dưới sự điều khiển của các thành phần ADN thích hợp được đưa vào trong người bệnh sao cho các chuỗi kháng thể này được biểu hiện từ các trình tự ADN và quần tụ *in situ*.

Sáng chế cũng đề xuất phân tử kháng thể để sử dụng trong kiểm soát các bệnh viêm. Ưu tiên là, phân tử kháng thể có thể được sử dụng để giảm quá trình viêm hoặc ngăn ngừa quá trình viêm.

Sáng chế cũng đề xuất phân tử kháng thể theo sáng chế để sử dụng trong điều trị hoặc phòng các rối loạn bệnh lý mà gây ra bởi IL-17A và/hoặc IL-17F hoặc có liên quan đến mức IL-17A và/hoặc IL-17F cao. Ưu tiên là, tình trạng bệnh lý được chọn lọc từ nhóm bao gồm các bệnh nhiễm trùng (virut, vi khuẩn, nấm và nguyên sinh động vật), sốc nội độc tố liên quan đến nhiễm trùng, bệnh viêm khớp, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh viêm khớp vảy nến, bệnh viêm khớp tự phát khởi ở tuổi vị thành niên toàn

thân (juvenile idiopathic bệnh viêm khớp-JIA), bệnh luput ban đỏ toàn thân (systemic lupus erythematosus-SLE), bệnh hen, bệnh tắc nghẽn đường thở mạn tính (chronic obstructive airways disease-COAD), bệnh tắc nghẽn phổi mạn tính (chronic obstructive pulmonary disease-COPD), tổn thương phổi cấp tính, bệnh viêm chậu hông, bệnh Alzheimer, bệnh Crohn, bệnh viêm ruột, hội chứng ruột kích thích, bệnh viêm ruột kết mạn loét, bệnh Castleman, viêm đốt sống dạng thấp và các bệnh khớp đốt sống khác, viêm da cơ, viêm cơ tim, viêm màng mạch nhỏ, chứng lồi mắt, viêm tuyến giáp tự miễn, bệnh Peyronie, bệnh tiêu chảy mỡ, bệnh túi mật, bệnh ổ lông, viêm màng bụng, bệnh vảy nến, viêm da dị ứng, viêm mạch, dính do phẫu thuật, đột quỵ, bệnh đái tháo đường tự miễn, đái tháo đường typ I, viêm khớp kinh niên, viêm não-màng não, các bệnh viêm hệ thần kinh trung ương và ngoại vi do hệ miễn dịch gây ra như bệnh xơ cứng rải rác và hội chứng Guillain-Barré, các bệnh tự miễn khác, viêm tụy, chấn thương (phẫu thuật), bệnh vật chủ kháng lại mảnh ghép, thải bỏ mảnh ghép, các bệnh xơ hóa bao gồm xơ hóa phổi, xơ hóa gan, xơ hóa thận, bệnh cứng bì hoặc xơ cứng toàn thân, bệnh ung thư (cả khối u rắn như các u melanin, các u nguyên bào gan, sarcoma, carcinoma tế bào có vảy, các bệnh ung thư tế bào chuyển tiếp, bệnh ung thư buồng trứng và bệnh máu ác tính và cụ thể là bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh bạch cầu tủy bào mạn tính, bệnh bạch cầu lympho mạn tính, bệnh ung thư dạ dày và bệnh ung thư ruột kết), bệnh tim bao gồm các bệnh thiếu máu cục bộ như chứng nhồi máu cơ tim cũng như xơ vữa động mạch, đông trong mạch máu, bệnh tiêu xương, chứng loãng xương, viêm nha chu và bệnh giảm toan dịch vị.

Theo một phương án kháng thể theo sáng chế được sử dụng trong điều trị hoặc phòng rối loạn bệnh lý được chọn từ nhóm bao gồm bệnh viêm khớp, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh vảy nến, bệnh viêm khớp vảy nến, bệnh viêm khớp tự phát khởi ở tuổi vị thành niên toàn thân (JIA), bệnh luput ban đỏ toàn thân (SLE), bệnh hen, bệnh tắc nghẽn đường thở mạn tính, bệnh tắc nghẽn phổi mạn tính, viêm da dị ứng, bệnh cứng bì, xơ cứng toàn thân, xơ hóa phổi, bệnh viêm ruột, viêm đốt sống dạng thấp và các bệnh khớp đốt sống khác và bệnh ung thư.

Theo một phương án kháng thể theo sáng chế được sử dụng trong điều trị hoặc phòng rối loạn bệnh lý được chọn từ nhóm bao gồm bệnh viêm khớp, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh vảy nến, bệnh viêm khớp vảy nến, bệnh viêm khớp tự phát khởi ở tuổi vị thành niên toàn thân (JIA), bệnh luput ban đỏ toàn thân (SLE), bệnh hen, bệnh tắc

ngheñ đường thở mạn tính, bệnh tắc ngheñ phổi mạn tính, viêm da dị ứng, bệnh cứng bì, xơ cứng toàn thân, xơ hóa phổi, bệnh Crohn, viêm ruột kết mạn loét, viêm đốt sống dạng thấp và các bệnh khớp đốt sống khác và bệnh ung thư.

Theo một phương án kháng thể theo sáng chế được sử dụng trong điều trị hoặc phòng rối loạn bệnh lý được chọn từ nhóm bao gồm bệnh viêm khớp, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh vẩy nến, bệnh viêm khớp vẩy nến, bệnh viêm khớp tự phát khởi ở tuổi vị thành niên toàn thân (JIA), bệnh luput ban đỏ toàn thân (SLE), bệnh hen, bệnh tắc ngheñ đường thở mạn tính, bệnh tắc ngheñ phổi mạn tính, viêm da dị ứng, bệnh cứng bì, xơ cứng toàn thân, xơ hóa phổi, bệnh Crohn, viêm ruột kết mạn loét, viêm đốt sống dạng thấp và các bệnh khớp đốt sống khác.

Theo một phương án rối loạn bệnh lý là bệnh viêm khớp dạng thấp.

Theo một phương án rối loạn bệnh lý là bệnh Crohn.

Theo một phương án rối loạn bệnh lý là viêm ruột kết mạn loét.

Trong một ví dụ kháng thể theo sáng chế được sử dụng trong điều trị bệnh viêm hoặc bệnh liên quan đến miễn dịch. Trong một ví dụ bệnh viêm hoặc bệnh liên quan đến miễn dịch được chọn lọc từ nhóm bao gồm bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh Crohn và viêm ruột kết mạn loét.

Sáng chế cũng đề xuất phân tử kháng thể theo sáng chế để sử dụng trong điều trị hoặc phòng bệnh đau, cụ thể là đau liên quan đến viêm.

Sáng chế đề cập tiếp đến việc sử dụng phân tử kháng thể theo sáng chế trong sản xuất dược phẩm để điều trị hoặc phòng bệnh lý gây ra bởi IL-17A và/hoặc IL-17F hoặc liên quan đến mức IL-17A và/hoặc IL-17F cao. Đặc biệt là rối loạn bệnh lý là một trong số các chỉ định được mô tả ở đây trên đây. Sáng chế đề cập tiếp đến việc sử dụng phân tử kháng thể theo sáng chế trong sản xuất dược phẩm để phòng hoặc điều trị đau, đặc biệt là đau liên quan đến viêm.

Phân tử kháng thể theo sáng chế có thể được sử dụng trong liệu pháp bất kỳ trong đó mong muốn giảm tác dụng của IL-17A và/hoặc IL-17F trong cơ thể người và động vật. IL-17 A và/hoặc IL-17F có thể tuần hoàn trong máu trong cơ thể hoặc có thể có mặt ở mức cao không mong muốn ở những vị trí cụ thể trong cơ thể, ví dụ vị trí viêm.

Phân tử kháng thể theo sáng chế được ưu tiên sử dụng để kiểm soát bệnh viêm, bệnh tự miễn hoặc bệnh ung thư.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều trị cho đối tượng người hoặc động vật bị hoặc có nguy cơ bị mắc rối loạn liên gây ra bởi IL-17A và/hoặc IL-17F, phương pháp này bao gồm dùng cho đối tượng này khối lượng hữu hiệu phân tử kháng thể theo sáng chế.

Phân tử kháng thể theo sáng chế có thể cũng được sử dụng trong chẩn đoán, ví dụ trong chẩn đoán *in vivo* và hình dung các trạng thái bệnh liên quan đến IL-17A và/hoặc IL-17F.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Sản xuất kháng thể trung hòa cải thiện liên kết với IL-17A và IL-17F

Phân lập và nhân hóa kháng thể CA028_0496 đã được mô tả trước đó trong WO2008/047134. CA028_0496 là kháng thể trung hòa biến đổi giống người liên kết với cả hai IL-17A và IL-17F và chứa các vùng biến đổi được ghép vào gL7 và gH9, trình tự của chúng được cung cấp trong WO2008/047134. Vùng khung nhận chuỗi nặng là trình tự dòng mầm người VH3 1-3 3-07 với vùng khung 4 lấy từ phần này của dòng mầm vùng JH người JH4. Vùng khung nhận chuỗi nhẹ là trình tự dòng mầm người VK1 2-1-(1) L4, với vùng khung 4 lấy từ phần này của dòng mầm vùng JK người JK1.

Kháng thể CA028_00496 là ái lực được thành thực để cải thiện ái lực của kháng thể đối với IL-17F trong khi vẫn giữ ái lực với IL-17A. Ngược với kháng thể CA028_00496, kháng thể thành thực ái lực, được biết là CA028_00496.g3, được biểu hiện là IgG1 hơn là IgG4. Các gen được cải biến để tạo ra các dạng thành thực ái lực bằng cách gây phát sinh đột biến trực tiếp oligonucleotit. Các trình tự gen vùng biến đổi chuỗi nhẹ thành thực ái lực (gL57) được tách dòng phụ vào trong vector biểu hiện chuỗi nhẹ người UCB Celltech pKH10.1, chứa ADN mã hóa vùng cố định C-Kappa người (allotyp Km3). Trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng không thay đổi (gH9) được tách dòng phụ vào trong vector biểu hiện UCB Celltech pVhg1 FL, chứa ADN mã hóa các vùng cố định gamma-1 chuỗi nặng người. Các plasmit được đồng chuyển nhiễm vào trong các tế bào CHO sử dụng quy trình Lipofectamine™ 2000 theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Invitrogen, catalogue No. 11668).

Trình tự cuối cùng của các vùng biến đổi thành thực ái lực của kháng thể CA028_00496.g3 được đưa ra trong Fig. 1a và 1b. Trong kháng thể CA028_00496.g3 trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng là giống như trình tự của kháng thể gốc ban đầu CA028_00496. Ngược lại, vùng biến đổi chuỗi nhẹ khác ở 5 axit amin. Năm gốc này khác nhau giữa chuỗi nhẹ của kháng thể CA028_00496 và kháng thể CA028_00496.g3 được gạch chân trong Fig. 1a.

Ví dụ 2: BIACORE

Như được mô tả dưới đây, dạng thử nghiệm là bắt giữ kháng thể CA028_00496.g3 bằng kháng thể đặc hiệu kháng IgG Fc người cố định, sau đó chuẩn độ IL-17A người và IL-17F người qua bề mặt bắt giữ.

Phân tích tương tác phân tử sinh học được thực hiện sử dụng Biacore 3000 (Biacore AB). Các thử nghiệm được thực hiện ở 25°C. Mảnh F(ab')₂ tinh khiết có ái lực đặc hiệu kháng IgG Fc người của dê (Jackson ImmunoResearch) được bất động trên chip cảm ứng CM5 (Biacore AB) thông qua hóa học nối amin đến mức khoảng 6000 đơn vị đáp ứng (response unit-RU). Đệm HBS-EP (10mM HEPES pH7.4, 0.15M NaCl, 3mM EDTA, 0,005% Chất hoạt động bề mặt P20, Biacore AB) được sử dụng làm đệm chạy với tốc độ dòng là 10µL/phút (min). Tiêm 10µL CA028_00496.g3 với 0,5µg/mL được sử dụng để bắt giữ bằng Fc kháng IgG người bất động. IL-17A người (được tạo ra trong phòng bởi UCB) được chuẩn độ qua CA028_00496.g3 bắt giữ từ 5nM với tốc độ dòng là 30µL/phút trong 3 phút sau đó hòa tan 20 phút. IL-17F người (R&D systems) được chuẩn độ qua CA028_00496.g3 bắt giữ từ 10nM với tốc độ dòng là 30µL/phút trong 3 phút sau đó hòa tan trong 5 phút. Tái tạo bề mặt này với tốc độ dòng là 10µL/phút bằng cách tiêm 10µL 40mM HCl sau đó tiêm 5µL NaOH5mM.

Bảng 1: Ái lực của CA028_496.g3 kháng lại IL-17F và IL-17A người

	k_a (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_d (s ⁻¹)	K_D (M)	KD (pM)
hIL-17F	2,49E+06	8,74E-05	3,51E-11	35
	3,49E+06	5,08E-05	1,46E-11	15
	2,99E+06	6,91E-05	2,31E-11	23
hIL-17A	4,66E+06	2,04E-05	4,38E-12	4,4
	4,52E+06	8,66E-06	1,92E-12	1,9
	4,89E+06	4,5E-05	8,17E-12	8,2

Các đường cong liên kết trừ giá trị nền tham chiếu kép được phân tích sử dụng phần mềm BIAevaluation (phiên bản 4.1) theo quy trình chuẩn. Các thông số động học được xác định từ thuật toán điều chỉnh cho khớp. Dữ liệu chi tiết trong bảng 1, các giá trị trung bình được tô màu xám.

Giá trị ái lực được xác định cho kháng thể gốc CA028_0496 liên kết với IL-17A là 16 pM và 1750pM đối với IL-17F. Ngược lại, kháng thể cải tiến CA028_0496 g3 có ái lực đối với IL-17A là 3,2pM và đối với IL-17F là 23pM. Ái lực của kháng thể CA028_0496 đối với IL-17F được cải thiện gấp 70 lần không làm giảm ái lực của kháng thể đối với IL-17A. Thực tế, ái lực đối với IL-17A đã gia tăng gấp năm lần. Ái lực của CA028_0496 g3 cũng được cải thiện đối với heterodime IL-17A/F (được sản xuất như được mô tả trong WO2008/047134) trong đó ái lực đã được tìm thấy là 26pM (dữ liệu không được thể hiện).

Ví dụ 3

Tiềm năng của CA028_00496.g1 (được mô tả trước đó trong WO2008/047134) và CA028_00496.g3 để trung hòa IL-17F người được xác định sử dụng thử nghiệm sinh học tế bào HeLa. Tế bào Hela thu được từ ngân hàng tế bào ở ATCC (ATCC CCL-2). Các tế bào được sinh trưởng trong môi trường Eagle cải biến Dulbecco (Dulbecco's modified Eagle's medium-DMEM) được bổ sung 10% huyết thanh thai bò, penixilin, gentamycin và glutamin. 1×10^4 tế bào được dàn vào trong đĩa nuôi cấy mô đáy bằng phẳng 96 lỗ. Ủ các tế bào này qua đêm và rửa một lần trong đệm thử nghiệm. Các tế bào HeLa được kích thích bằng hỗn hợp IL-17F người tái tổ hợp (125ng/ml) và yếu tố alpha hoại tử khối u (tumour necrosis factor-alpha-TNF- α) (1ng/ml) trong 48 giờ cùng với các nồng độ kháng thể khác nhau. Trong dòng tế bào HeLa, IL-17F hiệp đồng với TNF-alpha để khiến cho sản xuất IL-6 mà có thể được định lượng sử dụng kit thử nghiệm MSD cụ thể. Khối lượng IL-6 tiết thu được được đo lại sử dụng công nghệ thử nghiệm phát hiện mức trung gian (Meso Scale Discovery-MSD) và các giá trị IC50 được tính toán. CA028_00496.g1 và CA028_00496.g3 cho thấy sự ức chế hoạt tính sinh học của IL-17F phụ thuộc liều khi được đo trong thử nghiệm sinh học tế bào HeLa (Fig. 7). Hoạt tính của CA028_00496.g1 và CA028_00496.g3 trong thử nghiệm HeLa được biểu diễn là liều

dùng cần để ức chế 50% hoạt tính IL-17F (IC_{50}). IC_{50} đối với CA028_00496.g1 là 92mg/mL và đối với CA0 496.g3 là 4ng/mL.

Khả năng của CA028_00496.g3 để trung hòa IL-17A, như được mô tả trước đó đối với CA028_00496.g1 trong WO2008/047134, được khẳng định sử dụng thử nghiệm tương tự trong đó IL-17F được thay bằng IL-17A (dữ liệu không được thể hiện).

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể trung hòa liên kết với IL-17A người và IL-17F người có chuỗi nhẹ và chuỗi nặng, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự nêu trong SEQ ID NO:7 và vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự nêu trong SEQ ID NO:9.
2. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể này cũng gắn kết với heterodime IL-17A/IL-17F.
3. Kháng thể theo điểm 1 hoặc 2, trong đó kháng thể này là kháng thể nguyên vẹn hoặc mảnh kháng thể có hoạt tính chức năng của nó.
4. Kháng thể theo điểm 3, trong đó mảnh kháng thể này được chọn từ nhóm bao gồm mảnh Fab, Fab', F(ab')₂, scFv và Fv.
5. Kháng thể theo điểm 1 hoặc điểm 2, trong đó kháng thể này là kháng thể đa đặc hiệu.
6. Kháng thể trung hòa liên kết với IL-17A người và IL-17F người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, có chuỗi nặng có trình tự nêu trong SEQ ID NO: 15 và chuỗi nhẹ có trình tự nêu trong SEQ ID NO:11.
7. Trình tự ADN phân lập mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6.
8. Vector biểu hiện hoặc tách dòng chứa trình tự ADN theo điểm 7.
9. Vector theo điểm 8, trong đó vector này có trình tự nêu trong SEQ ID NO:13 và SEQ ID NO:17.
10. Tế bào chủ để biểu hiện kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó tế bào chủ này chứa:
 - (i) trình tự ADN mã hóa chuỗi nặng của kháng thể, và
 - (ii) trình tự ADN mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể,
 trong đó các trình tự ADN được cung cấp trong một hoặc nhiều vector biểu hiện hoặc tách dòng.
11. Tế bào chủ chứa một hoặc nhiều vector biểu hiện hoặc tách dòng theo điểm 8 hoặc 9.

12. Quy trình sản xuất kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó quy trình này bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ theo điểm 10 hoặc 11 và bước phân lập kháng thể.
13. Dược phẩm chứa kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, kết hợp với một hoặc nhiều tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.
14. Dược phẩm theo điểm 13, trong đó dược phẩm này chứa thêm các hoạt chất khác.

Fig. 1

(a) Vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể CA028_496 g3 (SEQ ID NO:7)

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRADESVRTLMHWYQQKPGKAPKLLIYLVSNSEIGVPDRF
SGSGSGTDFRLTISSSLQPEDFATYYCQQTWSDPWTFGQGTKVEIK

(b) Vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể CA028_496 g3 (SEQ ID NO:9)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYNMAWVRQAPGKGLEWVATITYEGRNTYYRD
SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPPQYYEGSIYRLWFAHWGQGLTVTS
S

(c)

CDRH1: GFTFSDYNMA (SEQ ID NO:1)
CDRH2: TITYEGRNTYYRDSVKG (SEQ ID NO:2)
CDRH3: PPQYYEGSIYRLWFAH (SEQ ID NO:3)
CDRL1: RADESVRTLMH (SEQ ID NO:4)
CDRL2: LVSNSEI (SEQ ID NO:5)
CDRL3: QQTWSDPWT (SEQ ID NO:6)

(d) Chuỗi nhẹ của kháng thể CA028_496g3 (SEQ ID NO:11)

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRADESVRTLMHWYQQKPGKAPKLLIYLVSNSEIGVPDRF
SGSGSGTDFRLTISSSLQPEDFATYYCQQTWSDPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADY
EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(e) Chuỗi nhẹ của kháng thể CA028_496g3 bao gồm cả trình tự tín hiệu (SEQ ID NO:12)

MSVPTQVLGLLLLWLTDARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRADESVRTLMHWYQQKPGK
APKLLIYLVSNSEIGVPDRFSGSGSGTDFRLTISSSLQPEDFATYYCQQTWSDPWTFGQGTKV
EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Fig. 2

(a) Chuỗi nặng của kháng thể CA028_496g3 (SEQ ID NO:15)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYNMAWVRQAPGKGLEWVATITYEGRNTYYRD
SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPPQYYEGSIYRLWFAHWGQGTTLTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS
VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(b) Chuỗi nặng của kháng thể CA028_496g3 bao gồm cả trình tự tín hiệu (SEQ ID NO:16)

MEWSWVFLFFLSVTTGVHSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYNMAWVRQAPGK
GLEWVATITYEGRNTYYRDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPPQYYEG
SIYRLWFAHWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(c) ADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể CA028_496g3 (không có trình tự tín hiệu) (SEQ ID NO:13)

gccatccagctgacccagagcccttcctctctcagcgccagtggtcgagagacagagtgactat
tacctgcagggctgacgaaagcgtgagaacattgatgcactggtaccaacagaagcctggca
aagccccaagctcctgatctatctggtttccaattcggagattggagtcctccgacaggttc
agcggcagtggtctggaactgactttcgctgacaatctcctcactccagccgaagattt
cgccacctactattgccagcagacttggagcgacccttggacatttggacagggcacaag
tgagatcaagcgtacggttagcgccccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcag
ttgaaatctggaactgcctctgttggtgctgctgaataacttctatcccagagaggccaa
agtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtggtcacagagc
aggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactac
gagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccggtcacaag
gagcttcaacaggggagagtgtag

Fig. 3

(a) ADN mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể CA028_496g3 bao gồm cả trình tự tín hiệu (SEQ ID NO:14)

```
atgtcagttcccacacaggtgctgggcctgcttctgttggtggctcaccgatgctaggtgtgc
catccagctgaccagagcccttcctctctcagcgccagtgctcgagacagagtgactatta
cctgcagggctgacgaaagcgtgagaacattgatgcactggtaccaacagaagcctggcaaa
gcccccaagctcctgatctatctgggtttccaattcggagattggagtcctccgacaggttcag
cggcagtggtctggaactgactttcgctgacaatctcctcactccagcccgaagatttcg
ccacctactattgccagcagacttggagcgacccttggacatttggacaggggcacaaaagtg
gagatcaagcgtacggtagcgccccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagtt
gaaatctggaactgcctctgttggtgctgctgaataacttctatcccagagaggccaaag
tacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtggtcacagagcag
gacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacga
gaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaaaga
gcttcaacaggggagagtgtag
```

(b) ADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể CA028_496 g3 (SEQ ID NO:8)

```
gccatccagctgaccagagcccttcctctctcagcgccagtgctcgagacagagtgactat
tacctgcagggctgacgaaagcgtgagaacattgatgcactggtaccaacagaagcctggca
aagcccccaagctcctgatctatctgggtttccaattcggagattggagtcctccgacaggttc
agcggcagtggtctggaactgactttcgctgacaatctcctcactccagcccgaagatttc
cgccacctactattgccagcagacttggagcgacccttggacatttggacaggggcacaaaag
tggagatcaag
```

(c) ADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể CA028_496 g3 (SEQ ID NO:10)

```
gaggttcagctcggttgaatccggaggcggactcgtgcagcctgggggctccttgcggctgag
ctgcgctgccagtggttctactttcagcgattacaatatggcctgggtgcgccaggccccag
gcaagggctctggagtggttggccacaattacctatgagggcagaaacacttattaccgggat
tcagtgaagggcgatttaccatcagcaggggataatgcaaagaacagtcgtgtacctgcagat
gaactctctgagagctgaggacaccgctgtctactattgtgcaagcccaccccagttactatg
agggtcaatctacagattgtgggttggccattggggccagggaacactggtgaccgtctcg
agc
```

Fig. 4

ADN (bao gồm cả các exon) mã hóa chuỗi nặng của kháng thể CA028_496g3 không có trình tự tín hiệu (SEQ ID NO:17)

```

gaggttcagctcgttgaatccggaggcggactcgtgcagcctgggggctccttgcggtgag
ctgctgctgccagtggcttcactttcagcgattacaatatggcctgggtgcgccaggccccag
gcaaggggtctggagtgggtggccacaattacctatgagggcagaaacacttattaccgggat
tcagtgaagggcgatttaccatcagcagggataatgcaaagaacagtctgtacctgcagat
gaactctctgagagctgaggacaccgctgtctactattgtgcaagcccaccccagtgactatg
agggctcaatctacagattgtggtttgccattggggccagggaacactgggtgaccgtctcg
agcgcttctacaaagggcccatcgggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacctctgg
gggcacagcggccctgggctgcctgggtcaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgctgt
ggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggtgtctctacagtcctcagga
ctctactccctcagcagcgtgggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacat
ctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtcgacaagaaagttgagcccaaattctt
gtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagtc
ttcctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatg
cgtgggtgggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcg
tgaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtg
gtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactgggtgaatggcaaggagtacaagtgcagggt
ctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagcgcagcccc
gagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagc
ctgacctgcctgggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgg
gcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcc
tctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgtcc
gtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaa

```

a

Fig. 5: ADN mã hóa chuỗi nặng của kháng thể CA028_496g3 bao gồm cả trình tự tín hiệu và các exon (SEQ ID NO:18)

```

atggaatggctcctgggtcttcctgtttttcctttctgtcacaaccggggtgcacagcgaggt
tcagctcggtgaatccggaggcggactcgtgcagcctgggggctccttgccggtgagctgcg
ctgccagtggcttcactttcagcgattacaatatggcctgggtgcgccaggccccaggcaag
ggtctggagtggggtggccacaattacctatgagggcagaaacacttattaccgggattcagt
gaaagggcgattttaccatcagcagggataatgcaaagaacagtctgtacctgcagatgaact
ctctgagagctgaggacaccgctgtctactattgtgcaagcccaccccagtgactatgagggc
tcaatctacagattgtggtttgccattggggccagggaacactgggtgaccgtctcgagcgc
ttctacaaagggcccatcgggtcttccccctggcacccctcctccaagagcacctctgggggca
cagcggccctggggtgcctgggtcaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgtcgtggaac
tcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggtgtcctacagtcctcaggactcta
ctccctcagcagcgtgggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctaactctgca
acgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtcgacaagaaagttgagcccaaactcttgtagc
aaaactcacacatgccaccgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagtccttct
cttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtgg
tggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggag
gtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcag
cgtcctcacctcctgcaccaggactgggtgaatggcaaggagtacaagtgcagggtctcca
acaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagcgcagccccgagaa
ccacaggtgtacaccctgcccccatcccggtatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgac
ctgcctgggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagc
cggagaacaactacaagaccacgcctcccggtgctggactccgacggctccttcttcctctac
agcaagctcacctgggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgat
gcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagccctctccctgtctccgggtaaa

```

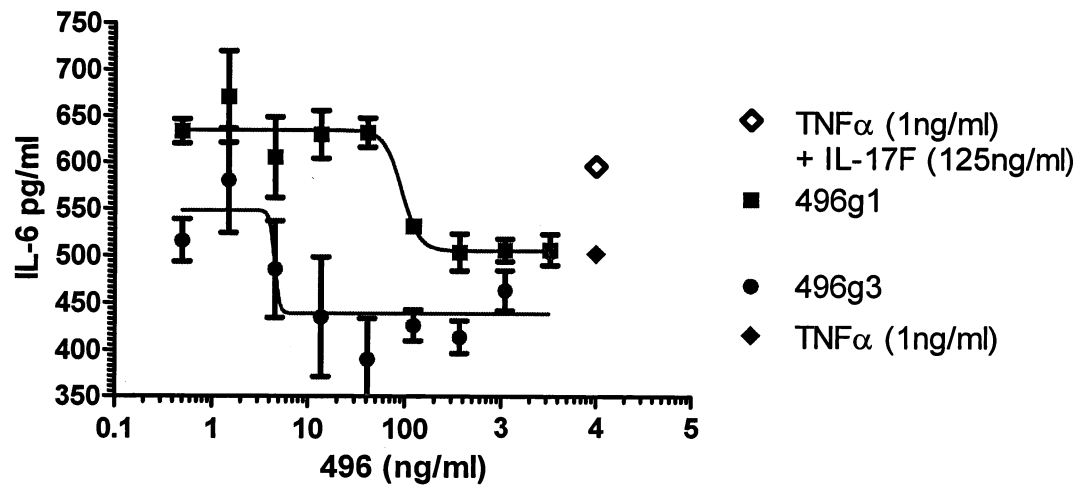
Fig.6: cADN mã hóa chuỗi nặng của kháng thể CA028_496g3 bao gồm cả trình tự tín hiệu (SEQ ID NO:19)

```

atggaatggtcctgggtcttcctgtttttcctttctgtcacaaccggggtgcacagcgaggt
tcagctcgttgaatccggaggcggactcgtgcagcctgggggctccttgcggtgagctgcg
ctgccagtggttctactttcagcgtattacaatatggcctgggtgcgccaggccccaggcaag
ggtctggagtgggtggccacaattacctatgagggcagaaacacttattaccgggattcagt
gaaagggcgatttaccatcagcagggataatgcaaagaacagctctgtacctgcagatgaact
ctctgagagctgaggacaccgctgtctactattgtgcaagcccaccccagtactatgagggc
tcaatctacagattgtggtttgccattggggccagggaacactgggtgaccgtctcgagcgc
ttctacaaagggcccatcgggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggca
cagcggccctgggctgcctgggtcaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgcgtggaac
tcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactcta
ctccctcagcagcgtgggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgca
acgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggctcgacaagaaagttgagcccaaatcttgtgac
aaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctggggggaccgtcagttctcct
cttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtgg
tggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggag
gtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcag
cgtcctcaccgtcctgcaccaggactgggtgaatggcaaggagtacaagtgaagggtctcca
acaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagcgcagccccgagaa
ccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgac
ctgcctgggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagc
cggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacgggtccttcttcctctac
agcaagctcacctgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgat
gcatgagggtctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

```

Fig.7



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> UCB Pharma S.A.
Adams, Ralph
Baker, Terence
Lawson, Alastair

<120> Kháng thể trung hòa liên kết với IL-17A và IL-17F người và quy trình sản xuất kháng thể này

<130> G0141

<160> 19

<170> Phiên bản PatentIn 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> CDRH1

<400> 1

Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asp	Tyr	Asn	Met	Ala
1				5					10

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> CDRH2

<400> 2

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

Gly

<210> 3

<211> 16

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> CDRH3

<400> 3

Pro	Pro	Gln	Tyr	Tyr	Glu	Gly	Ser	Ile	Tyr	Arg	Leu	Trp	Phe	Ala	His
1				5					10					15	

<210> 4
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> CDRL1

<400> 4

Arg Ala Asp Glu Ser Val Arg Thr Leu Met His
 1 5 10

<210> 5
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> CDRL2

<400> 5

Leu Val Ser Asn Ser Glu Ile
 1 5

<210> 6
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> CDRL3

<400> 6

Gln Gln Thr Trp Ser Asp Pro Trp Thr
 1 5

<210> 7
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Vùng biến đổi chuỗi nhẹ

<400> 7

Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Asp Glu Ser Val Arg Thr Leu
 20 25 30

Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Leu Val Ser Asn Ser Glu Ile Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Arg Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Trp Ser Asp Pro Trp
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 8
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> ADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ

<220>
 <223> CDR

<400> 8
 gccatccagc tgaccagag cccttcctct ctacgcgcca gtgtcggaga cagagtgact 60
 attacctgca gggctgacga aagcgtgaga acattgatgc actggtacca acagaagcct 120
 ggcaaagccc ccaagctcct gatctatctg gtttccaatt cggagattgg agtccccgac 180
 aggttcagcg gcagtgggtc tggaactgac tttcgctga caatctcctc actccagccc 240
 gaagatttcg ccacctacta ttgccagcag acttggagcg acccttgagc atttggacag 300
 ggcacaaaag tggagatcaa g 321

<210> 9
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Vùng biến đổi chuỗi nặng

<400> 9

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

Asn Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Thr Ile Thr Tyr Glu Gly Arg Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Ser Pro Pro Gln Tyr Tyr Glu Gly Ser Ile Tyr Arg Leu Trp Phe
 100 105 110

Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 10
 <211> 375
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> ADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng

<400> 10
 gaggttcagc tcgttgaatc cggaggcgga ctctgtgcagc ctgggggctc cttgcggctg 60
 agctgcgctg ccagtggctt cactttcagc gattacaata tggcctgggt gcgccaggcc 120
 ccaggcaagg gtctggagtg ggtggccaca attacctatg agggcagaaa cacttattac 180
 cgggattcag tgaaaggcg atttaccatc agcagggata atgcaaagaa cagtctgtac 240
 ctgcagatga actctctgag agctgaggac accgctgtct actattgtgc aagcccaccc 300
 cagtactatg agggctcaat ctacagattg tggtttgccc attggggcca gggaacactg 360
 gtgaccgtct cgagc 375

<210> 11
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> Chuỗi nhẹ của kháng thể CA028_496g3

<400> 11

Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Asp Glu Ser Val Arg Thr Leu
 20 25 30
 Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Leu Val Ser Asn Ser Glu Ile Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Arg Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Trp Ser Asp Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 12
 <211> 234
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nhẹ của kháng thể CA028_496g3 bao gồm trình tự tín hiệu

<400> 12

Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Trp Leu Thr
 1 5 10 15

Asp Ala Arg Cys Ala 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 Asp Glu Ser
 35 40 45

Val Arg Thr Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Asn Ser Glu Ile Gly Val Pro Asp
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Arg Leu Thr Ile Ser
 85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Trp
 100 105 110

Ser Asp Pro Trp 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> 13
<211> 645
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>

<223> ADN mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể CA028_496g3

<400> 13

```
gccatccagc tgaccagag cccttcctct ctccagcgcca gtgtcggaga cagagtgact      60
attacctgca gggctgacga aagcgtgaga acattgatgc actggtacca acagaagcct      120
ggcaaagccc ccaagctcct gatctatctg gtttccaatt cggagattgg agtccccgac      180
aggttcagcg gcagtgggtc tggaactgac ttctgcctga caatctcttc actccagccc      240
gaagatttcg ccacctacta ttgccagcag acttgagcgc acccttgagc atttggacag      300
ggcacaaaag tggagatcaa gcgtacggta gcggcccccatt ctgtcttcat cttcccgcca      360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgtttgtgt gcctgctgaa taacttctat      420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag      480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg      540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc      600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagaggt gttag                      645
```

<210> 14
<211> 705
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>

<223> ADN mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể CA028_496g3 bao gồm trình tự tín hiệu

<400> 14

```
atgtcagttc ccacacaggt gctgggcctg cttctgttgt ggctcaccga tgctaggtgt      60
gccatccagc tgaccagag cccttcctct ctccagcgcca gtgtcggaga cagagtgact      120
attacctgca gggctgacga aagcgtgaga acattgatgc actggtacca acagaagcct      180
ggcaaagccc ccaagctcct gatctatctg gtttccaatt cggagattgg agtccccgac      240
aggttcagcg gcagtgggtc tggaactgac ttctgcctga caatctcttc actccagccc      300
gaagatttcg ccacctacta ttgccagcag acttgagcgc acccttgagc atttggacag      360
```

```

ggcacaaaag tggagatcaa gcgtacggtg gcggcccat ctgtcttcat cttcccgcc 420
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 705

```

```

<210> 15
<211> 455
<212> PRT
<213> Nhân tạo

```

```

<220>
<223> Chuỗi nặng của kháng thể CA028_496g3

```

```

<400> 15

```

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1          5          10          15

```

```

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20          25          30

```

```

Asn Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35          40          45

```

```

Ala Thr Ile Thr Tyr Glu Gly Arg Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
50          55          60

```

```

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65          70          75          80

```

```

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

```

```

Ala Ser Pro Pro Gln Tyr Tyr Glu Gly Ser Ile Tyr Arg Leu Trp Phe
100          105          110

```

```

Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115          120          125

```

```

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
130          135          140

```

```

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

```

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

385 390 395 400
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 405 410 415
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 420 425 430
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 435 440 445
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455
 <210> 16
 <211> 474
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo
 <220>
 <223> Chuỗi nặng của kháng thể CA028_496g3 bao gồm trình tự tín hiệu
 <400> 16
 Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 20 25 30
 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45
 Ser Asp Tyr Asn Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Val Ala Thr Ile Thr Tyr Glu Gly Arg Asn Thr Tyr Tyr Arg
 65 70 75 80
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
 85 90 95
 Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Ser Pro Pro Gln Tyr Tyr Glu Gly Ser Ile Tyr Arg
 115 120 125

Leu Trp Phe Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 130 135 140

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 145 150 155 160

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 165 170 175

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 180 185 190

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 195 200 205

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 210 215 220

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 225 230 235 240

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

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 260 265 270

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 275 280 285

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 290 295 300

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 305 310 315 320

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 325 330 335

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 340 345 350

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 355 360 365

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
370 375 380

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
385 390 395 400

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
405 410 415

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
420 425 430

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
435 440 445

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
450 455 460

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 17
<211> 1365
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> ADN (bao gồm các exon) mã hóa chuỗi nặng của kháng thể CA028_496g3

<400> 17
gaggttcagc tcgttgaatc cggaggcgga ctcgtgcagc ctgggggctc cttgcggctg 60
agctgcgctg ccagtggctt cactttcagc gattacaata tggcctgggt gcgccaggcc 120
ccaggcaagg gtctggagtg ggtggccaca attacctatg agggcagaaa cacttattac 180
cgggattcag tgaaagggcg atttaccatc agcagggata atgcaaagaa cagtctgtac 240
ctgcagatga actctctgag agctgaggac accgctgtct actattgtgc aagcccaccc 300
cagtactatg agggctcaat ctacagattg tggtttgccc attggggcca gggaacactg 360
gtgaccgtct cgagcgcttc tacaaagggc ccatcggtct tccccctggc accctcctcc 420
aagagcacct ctggggggcac agcggccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa 480
ccggtgacgg tgctgtggaa ctcaggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct 540
gtcctacagt cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc 600
ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg aatcacaagc ccagcaacac caaggtcgac 660

aagaaagtgt agcccaaatt ttgtgacaaa actcacacat gccaccgtg cccagcacct 720
gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcctc ttccccccaa aaccaagga caccctcatg 780
atctcccga cccctgaggt cacatgctgt gtggtggacg tgagccacga agaccctgag 840
gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg 900
gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac 960
tggtggaatg gcaaggagta caagtgcag gtctccaaca aagccctccc agcccccatc 1020
gagaaaacca tctccaaagc caaagcgcag ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc 1080
ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggg caaaggcttc 1140
tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag 1200
accagcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg 1260
gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 1320
cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtaaa 1365

<210> 18
<211> 1422
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> ADN (bao gồm các exon) mã hóa chuỗi nặng của kháng thể CA028_496g3 có trình tự tín hiệu

<400> 18
atggaatggt cctgggtctt cctgtttttc ctttctgtca caaccggggt gcacagcgag 60
gttcagctcg ttgaatccgg aggcggactc gtgcagcctg ggggctcctt gcggctgagc 120
tgcgctgcca gtggcttcac tttcagcgat tacaatatgg cctgggtgcg ccaggcccca 180
ggcaagggtc tggagtgggt ggccacaatt acctatgagg gcagaaacac ttattaccgg 240
gattcagtga aagggcgatt taccatcagc agggataatg caaagaacag tctgtacctg 300
cagatgaact ctctgagagc tgaggacacc gctgtctact attgtgcaag cccaccccag 360
tactatgagg gctcaatcta cagattgtgg tttgccatt ggggccaggg aacactgggtg 420
accgtctcga gcgcttctac aaagggccca tcggtcttcc ccctggcacc ctctccaag 480
agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc tgcttggtca aggactactt cccgaaccg 540
gtgacggtgt cgtggaactc aggcgcctg accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc 600
ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcagcttg 660
ggcaccaga cctacatctg caacgtgaat cacaagcca gcaacaccaa ggtcgacaag 720
aaagttgagc ccaaattctg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa 780

ctcctggggg gaccgtcagt cttcctcttc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc 840
 tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc 900
 aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag 960
 gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg 1020
 ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag 1080
 aaaaccatct ccaaagccaa agcgcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca 1140
 tcccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctggtcaa aggcttctat 1200
 cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc 1260
 acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttctctt acagcaagct caccgtggac 1320
 aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac 1380
 aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggta aa 1422

<210> 19
 <211> 1422
 <212> ADN
 <213> Nhân tạo

<220>
 <223> CADN mã hóa chuỗi nặng của kháng thể CA028_496g3 bao gồm trình tự tín hiệu

<400> 19
 atggaatggt cctgggtctt cctgtttttc ctttctgtca caaccggggt gcacagcgag 60
 gttcagctcg ttgaatccgg aggcggactc gtgcagcctg ggggctcctt gcggctgagc 120
 tgcgctgcca gtggcttcac tttcagcgat tacaatatgg cctgggtgcg ccaggcccca 180
 ggcaagggtc tggagtgggt ggccacaatt acctatgagg gcagaaacac ttattaccgg 240
 gattcagtga aagggcgatt taccatcagc agggataatg caaagaacag tctgtacctg 300
 cagatgaact ctctgagagc tgaggacacc gctgtctact attgtgcaag cccaccccag 360
 tactatgagg gctcaatcta cagattgtgg tttgccatt ggggccaggg aacactgggtg 420
 accgtctcga gcgcttctac aaagggccca tcggtcttcc ccctggcacc ctctccaag 480
 agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc tgcttgggtc aggactactt cccgaaccg 540
 gtgacggtgt cgtggaactc aggcgcctg accagcggcg tgcacacctt cccggtgtc 600
 ctacagtcct caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcagcttg 660
 ggcaccaga cctacatctg caacgtgaat cacaagccca gcaacaccaa ggtcgacaag 720
 aaagttgagc ccaaattctt tgacaaaact cacacatgcc caccgtgcc agcacctgaa 780

ctcctggggg gaccgtcagt cttcctcttc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc	840
tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc	900
aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag	960
gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg	1020
ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag ccctcccage ccccatcgag	1080
aaaaccatct ccaaagccaa agcgcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca	1140
tcccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctgggtcaa aggcttctat	1200
cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc	1260
acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttcctct acagcaagct caccgtggac	1320
aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac	1380
aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggta aa	1422